



УКРАЇНА

(19) UA (11) 30796 (13) U
(51) МПК (2006)
A61B 5/107МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КРИТЕРІЇВ ІНФОРМАТИВНОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ СТРУКТУР СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ТЕЛЯТ

1

2

(21) u200713100

(22) 26.11.2007

(24) 11.03.2008

(72) КРИШТОФОРОВА БЕСА ВЛАДИСЛАВІВНА,
UA, КОРАБЛЬОВА ТЕТЯНА РАФАІЛІВНА, UA(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
UA

(56)

(57) 1. Спосіб визначення критеріїв інформативності морфофункціонального стану імунокомпетентних структур слизової оболонки дванадцятипалої кишки телят, що включає візуальні морфологічні дослідження (додатково гістологічні), який **відрізняється** тим, що після загибелі (або вимушеного забою) дванадцятипалу кишку відокремлюють з черевної порожнини, розтинають її по малій кривині, видаляють вміст, промивають водою та видаляють залишок вологи, після чого проводять візуальну оцінку типу

кишкових бляшок, кількості та відношення їх площі та судять про структурні особливості місцевого імунітету і його кооперації в імунному захисті всього організму.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що візуально визначають наявність і розмір складчастих, складчасто-пластинчастих лімфоїдних бляшок, що містять поздовжні та поперечні складки, та пластинчастих лімфоїдних бляшок, що випинаються пластинкою на поверхні слизової оболонки дванадцятипалої кишки у телят.

3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що незалежно від типу лімфоїдних бляшок на поверхні їх слизової оболонки спостерігають наявні кратери, у яких випинаються лімфоепітеліальні куполи скупчених лімфоїдних вузликів.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема до ветеринарної неонатології, імуноморфології, клінічної діагностики, мікробіології, вірусології та терапії.

Головним чинником виникнення і розвитку імунодефіцитного стану у тварин і людини є зменшення (або його відсутність) місцевого імунітету, який забезпечується імунокомпетентними структурами асоційованими із слизовими оболонками трубкоподібних органів. У кооперації забезпечення місцевого імунітету, що безпосередньо приймає участь у захисті всього організму, є лімфоїдні утвори слизової оболонки органів травлення. Серед них особливе місце займають лімфоїдні бляшки дванадцятипалої кишки. Ці структури першими взаємодіють із чужерідними білками різного походження. Крім того, у тонкій кішці мають місце оптимальні умови (постійна температура, рідка консистенція споживаних речовин у вигляді хімусу) для розвитку різного роду мікроорганізмів.

Імунокомпетентні структури є не тільки перепорою для проникнення чужерідних білків (антигенів) у кров і лімфу, але й певним чином

затримують її інтенсивний розвиток та накопичення мікроорганізмів у просвіті дванадцятипалої кишки. Це найбільше притаманно для тварин новонародженого і молочного періодів постнатального онтогенезу, основним кормом для яких є молозиво (молоко). Імуноглобуліни молозива є стартовими антигенами, які спонукають інтенсивний розвиток органів імунної системи на різних рівнях структурної організації. Наявність асоційованих із слизовими оболонками органів травлення імунокомпетентних утворень є підставою для застосування імунізації антигенами *reg os*, що широко використовується для диких тварин. Певне місце у підвищенні імунного статусу мають також імунні утвори асоційовані із слизовими оболонками дванадцятипалої кишки при проведенні заходів щодо примінення *reg os* різного роду імуностимуляторів, для тварин, що вирощуються в умовах екології за високої негативної технізації виробництва і дії антропогенних чинників.

Проте на сьогодні, не дивлячись на значну кількість робіт присвячених імунокомпетентним

(13) U

(11) 30796

(19) UA

структурам слизових оболонок на субклітинних і клітинних рівнях організації відомості, їх особливості морфології на макроскопічному рівні, майже відсутні. Зустрічаються лише поодинокі дослідження, що свідчать про наявність лімфоїдних утворів (бляшок) у дванадцятипалій кишці лабораторних тварин. Відсутність відомостей про критерії морфології імунокомпетентних утворень слизових оболонок кишечника призводить до припущення помилок, як у лікуванні так і профілактиці імунодефіцитів та їх діагностиці, особливо патологоанатомічній.

З'ясуванню морфології імунокомпетентних утворень слизової оболонки дванадцятипалої кишки у тварин до теперішнього часу дослідники не приділяли повної уваги, визначаючи імунний стан організму за показниками крові, або її плазми і ще менше - лімфи. У зв'язку з цим у довідкових та навчальних посібниках з курсу анатомії свійських тварин, цитології, ембріології і гістології тварин, ветеринарної імунології, мікробіології і вірусології, та внутрішніх незаразних хвороб повністю відсутні відомості про структурно-функціональні особливості імунокомпетентних утворень слизової оболонки дванадцятипалої кишки. [Бонашевская Т.П. Компенсаторно-приспособительные реакции эпителиальных покровов и клеточные системы местного иммунитета // Гигиена и санитария. - 1989. - №12. - С.9-13. Бродский Р.А. Слистая оболочка тонкой кишки млекопитающих в раннем онтогенезе в норме и патологии. - Автореф. дис. д-ра мед. наук. - М., 1970. Внутрішні хвороби тварин /В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, М.О. Судаков та інш.; За ред В.І. Левченка.- Біла Церква, 1999.-41. 376с. Гистология /Под ред. Ю.И. Афанасьева, С.Л. Кузнецова и Н.А. Юриной 6- изд. перераб. и доп. М., Медицина, 2004. 389с. Анатомія свійських тварин Підручник /С.К. Рудик, Ю.О. Павловський, Б.В. Криштофорова та ін. За ред. С.К. Рудика.- К.: Аграрна освіта, 2001.- 575с. Жаров А.В. Морфофункциональные изменения органов иммунной системы телят при острых желудочно-кишечных и респираторных болезнях //Ветеринария. -1995. -№2.-С.23-26. Князева Л.С., и др. Структурно-функциональные особенности иммунной системы слизистых оболочек /Материалы докладов 8 Конгресса Международной ассоциации морфологов, Орёл, 15 сентября 2006. //Морфология, №4.- 2006.- С.132. Маслянюк Р.П. та ін. Морфофізіологічні особливості розвитку вторинних лімфоїдних органів у тварин //науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького.-2005.- Т.7 (№2), Частина 2.- С.31-37. Сапин М.Р. Иммунные структуры пищеварительной системы М., 1987.- 245с.].

Недоліком даного способу є певні витрати часу для візуального визначення критеріїв морфології імунокомпетентних структур слизової оболонки дванадцятипалої кишки тварин.

Корисною моделлю становиться завдання своєчасно і відповідно корегувати становлення імунного захисту організму тварин з метою підвищення збереження їх життєздатності та продуктивності, а також пероральної імунізації проти інфекційних хвороб.

Поставлене корисною моделлю завдання досягається тим, що у способі визначення критеріїв інформативності морфофункціонального стану імунокомпетентних структур слизової оболонки дванадцятипалої кишки телят, що включає візуальні морфологічні дослідження (додатково гістологічні), згідно корисній моделі, після загибелі (або вимушеного забою) дванадцятипалу кишку відокремлюють з черевної порожнини, розтинають її по малій кривині, видаляють вміст, промивають водою та видаляють залишок вологи, після чого проводять візуальну оцінку типу кишкових бляшок, кількості та відношення їх площі, чим визначають морфофункціональний стан місцевого імунітету та його кооперацію у загальному захисті організму, причому візуально визначають наявність і розмір складчастих, складчасто-пластинчастих лімфоїдних бляшок, що містять повздовжні та поперечні складки, та пластинчастих лімфоїдних бляшок, що випинаються пластинкою на поверхні слизової оболонки дванадцятипалої кишки у телят, а також незалежно від типу лімфоїдних бляшок на поверхні їх слизової оболонки спостерігають наявні кратери, у яких випинаються лімфоєпітеліальні купола скупчених лімфоїдних вузликів.

Визначенням критеріїв морфології лімфоїдних бляшок (ЛБ) дванадцятипалої кишки у телят після загибелі (або вимушеного забою) за критеріями лімфоїдних утворень, визначають їх морфофункціональний стан, та судять про структурні особливості місцевого імунітету і його кооперації в імунному захисті всього організму.

Досліджували імунокомпетентні структури одно-, 10-, 30- і у 120-добових телят червоної степової породи. Дванадцятипалу кишку методом анатомічного препарування виділяли із черевної порожнини телят. Виділену дванадцятипалу кишку за допомогою кишкових ножниць розтинали по малій кривині (з боку прикріплення до брижі), промивали водою і розкладали на столі слизовою оболонкою вверх, а залишки вологи видаляли бавовняною серветкою. Візуально визначали наявність лімфоїдних бляшок різних типів.

Спосіб ілюстровано фігурами:

Фіг.1. Складчаста лімфоїдна бляшка дванадцятипалої кишки теляти добового віку. Макропрепарат. 1.

Фіг.2. Складчаста лімфоїдна бляшка дванадцятипалої кишки теляти добового віку (фрагмент). Макропрепарат. 3б. 8×2. 1.

Фіг.3. Складчасто-пластинчаста лімфоїдна бляшка дванадцятипалої кишки теляти добового віку. Макропрепарат. 1.

Фіг.4. Динаміка коефіцієнта відношення ширини основи скупчених лімфоєпітеліальних вузликів до ширини їх куполів.

Фіг.5. Динаміка коефіцієнта відношення висоти скупчених лімфоєпітеліальних вузликів до ширини їх основи - $p < 0,05$.

Фіг.6. Динаміка відносної площі лімфоїдних вузликів і міжвузликової лімфоїдної тканини.

Перший тип, або складчаста лімфоїдна бляшка (СКЛБ) візуально визначається наявністю поздовжньо розташованих паралельних двох

складок (Фіг.1, 2) на відстані 0,5см одна від одної поміж якими візуально виділяються кратери 1 діаметром 520-750мкм, в яких випинаються купола лімфоїдних вузликів.

Другий тип лімфоїдних бляшок - складчато-пластинчастий (Фіг.3) (СПЛБ), для якого притаманні поздовжні паралельно розташовані на відстані 0,5-1,0см одна від одної складки слизової оболонки, які з'єднуються між собою короткими поперечними складками, між якими також виявляються кратери 1, що містять купола лімфоїдних вузликів.

Третій тип - пластинчаста лімфоїдна бляшка (ПЛБ) візуально визначається як овальна пластинка слизової оболонки, що випинається на тлі звичайних ворсинок, та містить численні отвори кратерів із скупченими лімфоїдними вузликами.

Наявність і співвідношення різних типів лімфоїдних бляшок у дванадцятипалій кишці залежить від пренатального розвитку і віку телят (табл.1). Складчасті лімфоїдні бляшки найбільшу площу слизової оболонки дванадцятипалої кишки займають у одно- і 10- добових телят. Поступово їх кількість та площа зменшується, а зростає площа складчато-пластинчастих і пластинчастих бляшок у 120-добових телят.

Проведені гістологічні дослідження показують, що певний тип лімфоїдних бляшок містить скупчені лімфатичні вузлики, які починаючи з 10-добового віку тварин мають вірогідну різницю один від одного за структурою та лінійними параметрами (висота і ширина їх основи, висота і ширина їх куполів) (табл.2).

Тип ЛБ	В1 Ш1	Ш1 Ш2
однодобові телята		
СКЛБ	0,61±0,10	0,97±0,10
СПЛБ	0,53±0,13	1,09±0,13
ПЛБ	0,42±0,12	1,46±0,12
10- добові телята		
СКЛБ	0,92±0,23	1,07±0,23
СПЛБ	0,53±0,11	1,16±0,11
ПЛБ	1,44±0,23*-	1,15±0,23
30-добові телята		
СКЛБ	0,92±0,21	1,02±0,21
СПЛБ	0,73±0,12	1,23±0,12
ПЛБ	1,44±0,22*	1,58±0,22
120-добові телята		
СКЛБ	0,82±0,13	1,12±0,13
СПЛБ	0,80±0,22	1,23±0,22
ПЛБ	2,14±0,36*	1,07±0,36

Примітка: В1 - висота лімфатичного вузлика; В2 - висота купола л
Ш1 - ширина лімфатичного вузлика ; Ш2 - ширина основи купола

На 1см² поверхні складок складчастих і складчато-пластинчастих лімфоїдних бляшок дванадцятипалої кишки телят міститься від 27 до 36 лімфоєпітеліальних куполів скупчених лімфоєпітеліальних вузликів (табл.3). Лімфоєпітеліальні куполи на поверхні складчастих лімфоїдних бляшок дванадцятипалої кишки телят розміщуються один від одного на відстані 0,9-1,14мм.

Таблиця 1

Відношення площі різних типів лімфоїдних бляшок дванадцятипалої кишки телят

Тип лімфоїдної бляшки	Абсолютна площа, см ²		Відносна площа, %	Площа складової кишківника, см ²	Вік тварин (діб)
	Мин-макс	М±м			
однодобові телята					
СКЛБ	7,4-16,5	10,90±3,10	9,0±2,90	120,50±2,40	10
СПЛБ	0,2-0,3	0,60±0,20	0,50±0,29	30,66±0,84	30
ПЛБ	0,6-2,0	1,42±0,52	1,20±0,49	30,33±0,84	32
10-добові телята			32,60±1,20	35,80±1,01**	40,
СКЛБ	9,5-16,5	11,71±1,14	9,04±1,04	129,42±9,02	Примітка: 1-850,05
СПЛБ	0-3	1,02±0,32	0,82±0,25		
ПЛБ	0,6-3	1,43±0,61	1,11±0,22		
30-добові телята					
СКЛБ	10-16	13,84±1,05	7,23±0,82	192,94±19,71	де містяться
СПЛБ	0-6	2,72±0,94	1,42±0,53	30,66±0,84	лімфоєпітеліальні вузлики, коливальні
ПЛБ	1-3	1,70±0,32	0,93±0,22	30,33±0,84	від 560 до 720 мм. Щільність розташування
120-добові телята					
СКЛБ	3,6-11,0	7,32±1,12	3,02±0,51	34,47±12,63	куполів склупчених лімфоєпітеліальних вузликів на
СПЛБ	4,0-8,8	5,61±0,86	2,36±0,38	34,47±12,63	поверхні складок складчастих лімфоїдних бляшок і
ПЛБ	1,2-7,0	3,53±1,91	1,93±0,51	34,47±12,63	складчасто-пластинчастих лімфоїдних бляшок

Примітка: СКЛБ- складчаста лімфоїдна бляшка; СПЛБ- складчато-пластинчаста лімфоїдна бляшка; ПЛБ- пластинчаста лімфоїдна бляшка; ЛБ-лімфоїдна бляшка

Аналіз динаміки коефіцієнта відношення висоти скупчених лімфоєпітеліальних вузликів до ширини їх основи у лімфоїдних бляшках дванадцятипалої кишки телят свідчить, що він зростає (р<0,05) у лімфоїдних бляшках дванадцятипалої кишки телят 10-, 30- і 120-добових віку у 2 рази (62,33±1,81).

120-добового віку у порівнянні з добовими тваринами (Фіг.4).

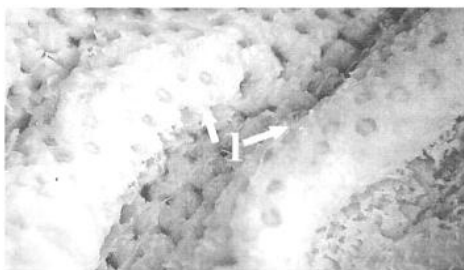
У 10-добових телят в порівнянні з добовими коефіцієнт, відношення ширини скупчених лімфоєпітеліальних вузликів до ширини основи їх куполу достовірно ($p < 0,05$) менше ($1,44 \pm 0,22$ проти $0,40 \pm 0,12$). Абсолютні показники ширини основи скупчених лімфоєпітеліальних вузликів і ширини основи їх куполів у ЛБ дванадцятипалої кишки тварин 10-добового віку нижче ($p < 0,05$) ніж у добових телят (Фіг.5).

Отже, дослідження показують, що візуально виявляються різні типи лімфоїдних бляшок слизової оболонки дванадцятипалої кишки не є наслідком катарального її запалення, як вважають деякі дослідники. Вони відрізняються від хаотично розташованих звичайних складок слизової оболонки наявністю на своїй поверхні отворів кратерів, у які випинаються куполи скупчених лімфоїдних вузликів. Різні типи ЛБ забезпечують місцевий імунітет з перших хвилин після народження телят та змінюються на різних рівнях структурної організації із віком тварин.

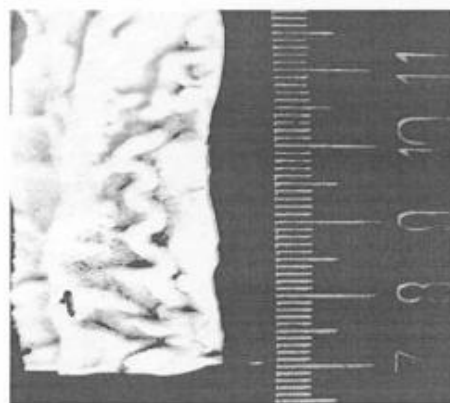
З віком телят відносна площа скупчених лімфоєпітеліальних вузликів зростає, тоді як міжвузликової дифузної лімфоїдної тканини зменшується, що свідчить з одного боку про краніальну направленість становлення імункомпетентності лімфоїдних органів, а з другого є доказом структурно-функціональної зрілості, особливо лімфоїдних бляшок дванадцятипалої кишки телят, які містять компоненти, здатні реагувати на дію антигенів (Фіг.6).



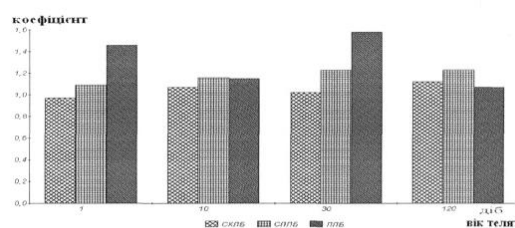
Фіг. 1



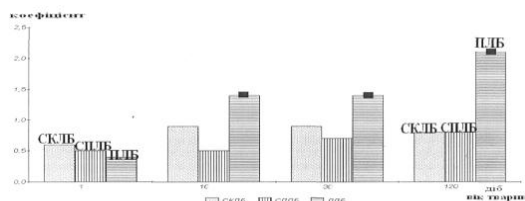
Фіг. 2



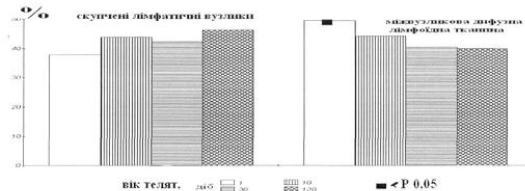
Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6