

В.Г. Гринь
Ю.П. Костиленко

Украинская медицинская стоматологическая академия,
Полтава


Надійшла: 07.07.2019

Прийнята: 14.08.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.32-39>

УДК 591.434.001.4

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КИШЕЧНЫХ КРИПТ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС

Hryn V.H.  ✉, Kostylenko Y.P. Architecture of the intestinal crypts of the payers' patches of the albino rats' small intestine.

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine

ABSTRACT. Background. In the Peyer's patches, intestinal crypts are topographically differentiated with respect to their lymphoid nodules. Consequently, two types are distinguished. The first type is associated with the lymphoid tissue of the corresponding nodules, and the second one is located outside of them. **Objective.** To study the features of architecture of the intestinal crypts of the Payer's patches of albino rats' small intestine. **Methods.** 30 mature albino male rats weighted 200,0±20,0 g were involved into the study. Sections of the small intestine with Peyer's patches were fixed in 10% neutral buffered formalin solution. Subsequently, serial paraffin sections of 4 µm thick (Microm HM 325), stained with hematoxylin-eosin, were obtained using the conventional histological methods. Another part of the preparations was plasticized in the epoxy. The analysis of the obtained preparations was carried out using the MBS-9 binocular magnifier and "Konus" light microscope equipped with Sigeta DCM-900 9.0MP digital microphotographic attachment, object-micrometer Sigeta X 1 mm/100 Div.x0.01mm. **Results.** Payer's patches contain two types of the intestinal crypts, discrete by the bundles of smooth muscle fibers. Lymphoid-associated crypts (i.e., intranodular) are actually offshoots of the extranodular crypt network laid at the base of the intestinal villi of the Peyer's patches. Their penetration into the thickness of the lymphoid nodules occurs around their circumference through local splitting of the bundles of smooth muscle fibers, as a result of which they appear in the thickness of their peripheral regions, corresponding to T-dependent zones. **Conclusions.** Despite the common origin, these crypts, differing in localization, differ in thickness (the diameter of lymphoid-associated crypts is on the average of 70 µm, while extranodular crypts are 10 µm narrower in the diameter), as well as in the cytological composition and contents of the internal lumen.

Key words: albino rats, intestinal crypts, Payer's patches, small intestine.

Citation:

Hryn VH, Kostylenko YP. [Architecture of the intestinal crypts of the payers' patches of the albino rats' small intestine]. Morphologia. 2019;13(3):32-9. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.32-39>

 Hryn V.H. 0000-0001-5894-4416

✉ vogrin034@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Введение

С функциональной точки зрения основная роль в пищеварительном процессе тонкой кишки принадлежит ее слизистой оболочке, которая, как известно, состоит из соединительнотканной основы, называемой собственной пластинкой, и покрывающим ее поляризованным монослоем специализированных эпителиальных клеток – энтероцитов. При этом, предельным стратификационным слоем слизистой оболочки в кишечной стенке является ее мышечная пластинка [1-8]. В обобщенном виде можно сказать, что морфофункциональная специфика слизистой оболочки тонкой кишки определяется наличием свой-

ственных ей трех типов структурных образований, представленных кишечными ворсинками, либеркюновыми железами (кишечными криптами) и организованными лимфоидными узелками (одиночными и групповыми), наиболее тесная и показательная консолидация между которыми имеет место в составе групповых лимфоидных узелков, которые известны под названием пейеровых бляшек [9-14]. В их организации особое внимание заслуживают кишечные крипты, которые рассматриваются в качестве простых трубчатых, микроскопических по размерам, желез, образующихся в процессе эмбриогенеза путем локального прорастания в подлежащую соедини-

тельную ткань собственной пластинки кишечного эпителия. При этом предельной глубиной данного прорастания является мышечная пластинка слизистой оболочки, к которой тесно примыкают, слепо заканчивающиеся, донные отделы кишечных крипт, а их устья скрыты в глубине между основаниями кишечных ворсинок. Следовательно, согласно существующим представлениям, длина кишечных крипт является соразмерной с толщиной собственной пластинки слизистой оболочки. Действительно, гистологические срезы, полученные в поперечном сечении тонкой кишки, выявляют данные трубчатые образования именно в таком ракурсе [15-20].

Но в литературе имеются данные, согласно которым в пейеровых бляшках кишечные крипты подвержены топографической дифференцировке относительно к их лимфоидным узелкам, в связи с чем среди них выделяются две разновидности, одна из которых ассоциирована с лимфоидной тканью соответствующих узелков, тогда как вторая – находится за их пределами. При этом они разделены между собой пучками гладких мышечных клеток [21]. Согласно данным этих авторов, первые из них, отличаясь по форме и цитологическому составу от вторых, являются источниками обновления эпителия, покрывающего купол соответствующего лимфоидного узелка, в составе которого находится особый тип энтероцитов, обладающих фагоцитарными свойствами. Это так называемые М-клетки, которым в настоящее время придается большое значение в развитии инициальных иммунных реакций слизистых оболочек пищеварительного тракта [22].

Однако этих данных еще недостаточно, чтобы досконально разобраться в вопросах о топографических, структурных и цитологических различиях между указанными выше разновидностями кишечных крипт, сосредоточенных в пейеровых бляшках тонкой кишки, в связи с чем данное исследование направлено на их выяснение.

Цель

Изучить особенности организации кишечных крипт пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс.

Материалы и методы

Исследование осуществлено на 30 белых крысах-самцах репродуктивного возраста, массой $200,0 \pm 20,0$ грамм. Материалом служили, фиксированные в 10% растворе нейтрального формалина, участки тонкой кишки с пейеровыми бляшками, которые были получены после вивисекции. Эвтаназия проводилась путем передозировки тиопенталового наркоза (75 мг/кг массы тела животного внутримышечно в верхнюю треть бедра задней лапы) [23,24].

До этого все животные находились в стандартных условиях экспериментально-

биологической клиники (виварий) Украинской медицинской стоматологической академии, согласно правилам содержания экспериментальных животных, установленных Директивой Европейского Парламента и Совета (2010/63/EU), приказом Министерства образования и науки, молодежи и спорта Украина от 01.03.2012 г. № 249 «Об утверждении порядка проведения научными учреждениями опытов, экспериментов на животных» и «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013), (Протокол № 155 от 26.04.2017 г. заседание Комиссии по биомедицинской этике при Украинской медицинской стоматологической академии) [25,26, 27].

В дальнейшем прибегали к традиционным гистологическим методам получения серийных парафиновых срезов толщиной 4 мкм (Microm HM 325), которые окрашивали гематоксилин-эозином. Другая часть препаратов подверглась пластикации в эпоксидной смоле по апробированному в нашей практике методу [28,29]. После полной полимеризации из эпоксидных блоков изготавливали полированные шлифы различной толщины в желаемых ракурсах сечения, которые красили 1% раствором метиленового синего на 1% растворе буры. Изучение полученных препаратов осуществлено с помощью бинокулярной лупы МБС-9 и светового микроскопа «Копус», оснащенного цифровой микрофотонасадкой Sigeta DCM-900 9.0MP с адаптированной для данных исследований программой Biogex 3 (серийный номер 5604).

Морфометрические характеристики тканевых структур соответствующих препаратов получали, используя систему визуального анализа гистологических препаратов, а также с помощью объект-микрометра Sigeta X 1 мм/100 Div.x0.01мм, масштабная шкала которого (равна 1 мм, где малое деление соответствует 10 мкм) наносилась на соответствующую микрофотографию, полученную при равнозначном увеличении.

Результаты и их обсуждение

Результаты изучения серийных парафиновых срезов, а также эпоксидных шлифов, дополненных полутонкими срезами в разных плоскостях сечения пейеровых бляшек, подтверждают данные цитируемых выше авторов о наличии в них двух, разнящихся по топографии и строению, разновидностей кишечных крипт [21]. При этом, в процессе исследования, в более наглядной форме установлено, что одни из них своими донными отделами глубоко погружены в толщу той сферы лимфоидных узелков, которая относится к Т-зависимой зоне. Следует отметить, что именно этими зонами лимфоидные узелки граничат между собой, будучи разделенными тонкими пучками гладких мышечных волокон. На

парафиновых срезах их удается визуализировать в косом и продольном сечении, что дает возможность проследить их на относительно большом протяжении. При больших увеличениях светового микроскопа представляется возможность отчетливо запечатлеть процесс диапедеза лимфатических клеток через эпителиальную стенку крипты в ее просвет (рис. 1 А).

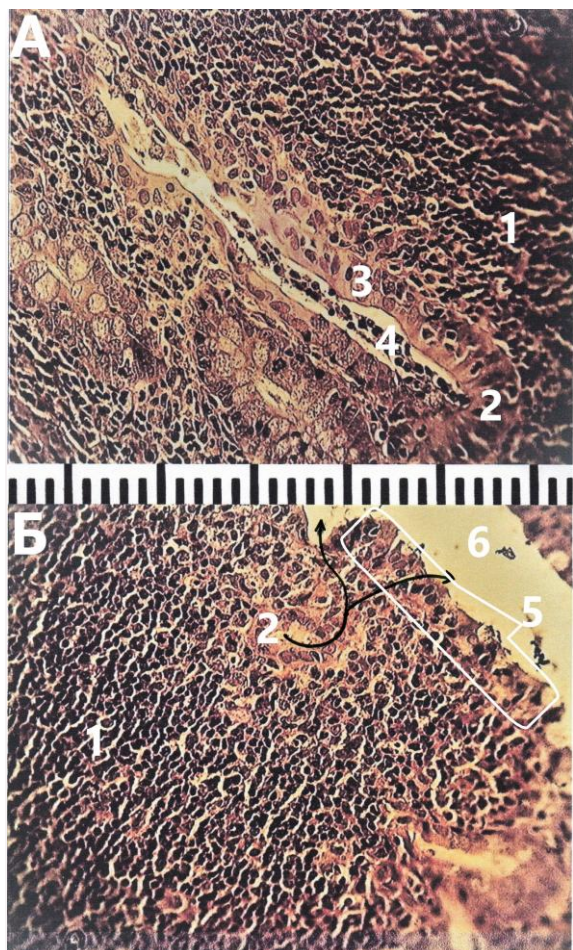


Рис. 1 (А, Б). Тканевые структуры лимфоидных узелков пейеровой бляшки тонкой кишки. 1 – лимфоидная ткань; 2 – внутриузелковые крипты; 3 – их стенка и 4 – внутреннее содержимое; 5 – фолликул-ассоциированный эпителий; 6 – полость тонкой кишки. Полуокружными стрелками указана связь эпителиальной стенки крипт с фолликул-ассоциированным эпителием. Парафиновые срезы; окраска гематоксилин-эозином; объектов 40. Малое деление масштабной шкалы равно 10 мкм.

Последовательные стадии данного процесса прослеживаются по глубине расположения лимфоцитов между эпителиальными клетками, начиная от их базального отдела до апикальной поверхности. Обычно такие лимфоциты называются интраэпителиальными, которые относятся к цитотоксическим Т-лимфоцитам [30]. На представленной микрофотографии отчетливо видно, что, проходя эпителиальную стенку насквозь,

оказываются слоисто расположенными во внутренних просветах крипт и, по-видимому, подвергаются дальнейшему продвижению по ним по направлению к их устьям, которые находятся на апикальной поверхности купола соответствующего лимфоидного узелка в его краевой зоне (рис. 1 Б), на что указывают цитируемые выше авторы. Однако, они отрицают связь данных узелковых крипт с лимфоцитарными элементами.

Представленная картина ассоциированных с лимфоидными узелками кишечных крипт, производит впечатление, что они являются своеобразными дренажными трубками, осуществляющими выведение из периферической толщи узелков пейеровых бляшек лимфоцитарных элементов на их люминальную поверхность, где они могут вступать во взаимодействие с соответствующими штаммами патогенных микроорганизмов. Это никак не исключает участие данного типа крипт в процессе обновления эпителиального слоя апикальной поверхности лимфоидных узелков. В контексте с этим, можно рассматривать наличие между лимфоидными узелками пучков гладкомышечных клеток, которые являются производными мышечной пластинки слизистой оболочки. В результате этого каждый лимфоидный узелок в пределах пейеровой бляшки оказывается в обхвате сократительных элементов, активность которых должна приводить к компрессионному воздействию на них. Вполне возможно, что данная сила сжатия внутри узелков, способствует экстррузии содержимого из погруженных в них, кишечных крипт. Все сказанное дает основание назвать данную разновидность кишечных крипт в пейеровых бляшках – лимфоидно-ассоциированными криптами, что в некоторой степени перекликается с выделением в небных миндалинах структурных единиц под названием криптолимфонов [31, 32].

Но, как известно, каждый лимфоидный узелок пейеровой бляшки со стороны полости тонкой кишки кустисто окаймлен кишечными ворсинками, в основании которых (в толще собственной пластинки слизистой оболочки) сосредоточена другая разновидность кишечных крипт. На обычных гистологических срезах, полученных в поперечной плоскости кишечной трубки, они имеют вид коротких эпителиальных трубок, устья которых находятся между основаниями соответствующих ворсинок (рис.2 А).

Однако, в противоположном ракурсе сечения (параллельно плоскости слизистой оболочки), в котором получены эпоксидные шлифы и полутонкие срезы пейеровых бляшек, они представляются совсем по-другому, что оказалось неожиданным фактом, требующим коренного пересмотра сложившихся представлений об их форме.

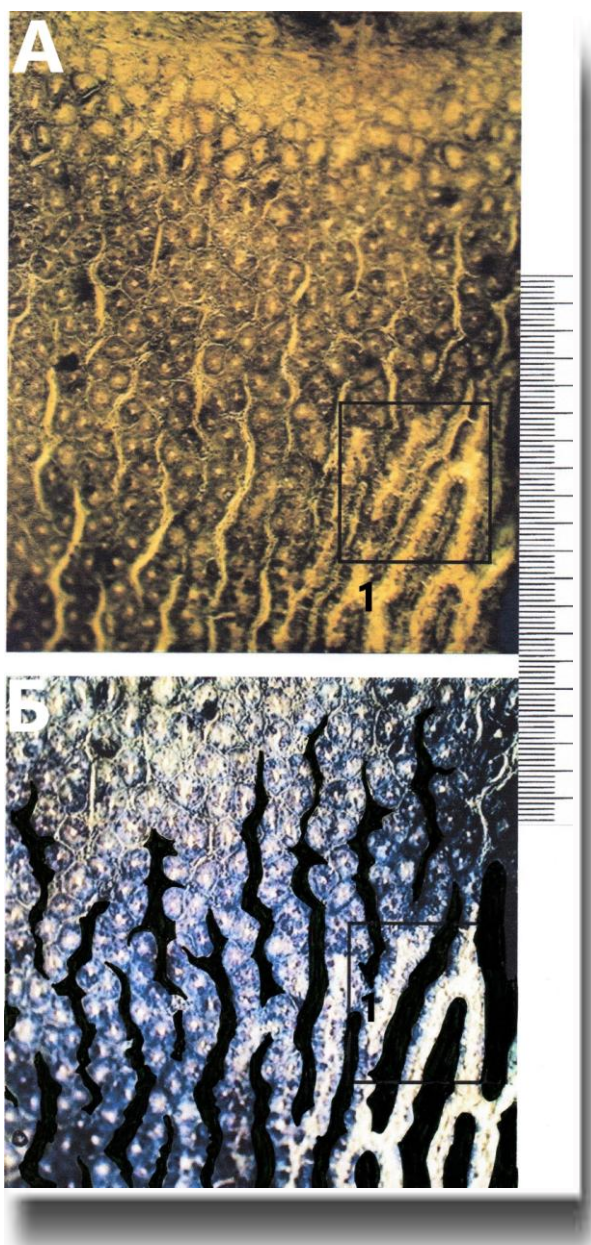


Рис. 2 (А, Б). Разветвленная сеть эпителиальных трубок внеузелковых кишечных крипт в зоне пейеровых бляшек тонкой кишки. 1 – анастомозы между эпителиальными трубками кишечных крипт. Полутоновый срез в плоскости параллельной основанию пейеровой бляшки. Окраска метиленовым синим. Объектив 10. Самое малое деление масштабной шкалы – 10 мкм. На нижнем снимке в целях разборчивой визуализации трубчатых структур проведено зачернение разделяющих их интерстициальных прослоек. Квадратом очерчен участок, который при большом увеличении представлен на рис. 3.

В данной плоскости сечения в основании кишечных ворсинок пейеровой бляшки были обнаружены распростертые сети тесно расположенных эпителиальных трубчатых образований, разделенных между собой тонкими интерстициальными прослойками, в объективности которых можно удостовериться по микрофотографиям полутоновых срезов, представленных на рисунках

2 и 3. Данные сети образуются за счет коротких анастомозов между смежными, параллельно расположенными эпителиальными трубками. Для придания большей очевидности этому факту на одной дублирующей микрофотографии (рис. 2 Б) произведено зачернение разделяющих их интерстициальных прослоек. При рассмотрении их общей формы обращает внимание, что по своему протяжению они имеют четкообразные расширения, от которых начинаются выпрямленные короткие эпителиальные трубки, открывающиеся устьями между основаниями кишечных ворсинок, которые собственно и фигурируют под названием кишечных крипт. Вполне естественно возникает вопрос: почему данная картина не проявляется при проведении гистологических исследований? Это объясняется тем, что обычно используются срезы тонкой кишки преимущественно в одной, поперечной плоскости сечения, в которой на любом гистологическом срезе данная тесно сконцентрированная сеть эпителиальных трубок будет выявляться в виде разобщенных между собой усеченных профилей разной конфигурации в зависимости от их позиционной ориентации. В настоящее время нет оснований распространять представленную картину организации крипт (либеркюновых желез) на всю тонкую кишку. Вполне возможно, что это относится только к особенностям их строения в пейеровых бляшках.

Для того, чтобы выяснить природу данных трубчатых эпителиальных структур, необходимо познакомиться с цитологическим составом их стенки, для чего можно воспользоваться микрофотографией, полученной при большом увеличении того участка, который очерчен квадратом на предыдущем рисунке (рис. 3).

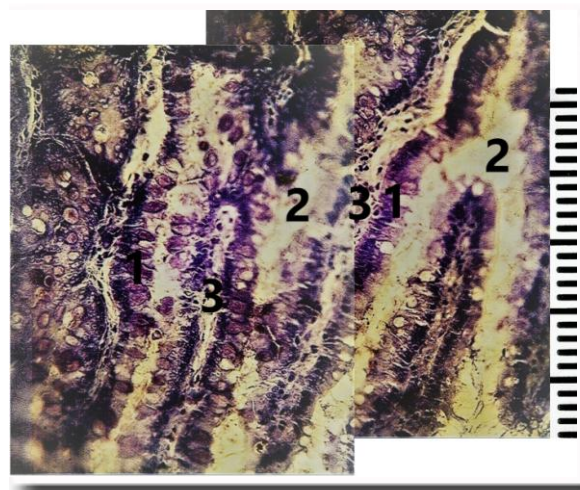


Рис. 3. Участок полутонового среза (очерченный квадратом на предыдущем рисунке) при большом увеличении (объектив 40). 1 – стенки эпителиальных трубок кишечных крипт; 2 – их внутренние просветы; 3 – соединительнотканые прослойки (интерстиций). Малое деление масштабной шкалы – 10 мкм.

Можно удостовериться, что стенки смежных эпителиальных трубок разделены тонкими интерстициальными прослойками, в которых отчетливо визуализируются малые формы лимфоцитарных элементов, имеющих различное отношение к эпителиальной стенке; одни из них находятся вблизи от ее базальной поверхности, а другие занимают различную глубину между эпителиальными клетками. То есть здесь наблюдается то же явление диапедеза лимфоцитов через стенку данных эпителиальных трубок в их просвет, что и в криптах ассоциированных с лимфоидными узелками. Обращает на себя внимание, что, в противоположность к последним, стенка внеузелковых крипт, сочетающихся с кишечными ворсинками пейеровых бляшек по своему продольному протяжению имеет очень неровный, изрытый контур, особенно с апикальной поверхности за счет неравных по высоте разнообразных по форме эпителиоцитов, которые отличаются разными тинкториальными свойствами в реакции с метиленовым синим. При этом спектр базофильной окраски очень широк: от интенсивно пахихроматического до самого светлого. В этом отношении наиболее контрастно выделяются бокаловидные клетки, которые в изобилии, в регулярном порядке, рассредоточены среди других клеток. Наряду с ними, но в меньшем количестве находятся эндокриноциты и клетки Панета. Имеются также признаки, указывающие на наличие герминативных элементов, за счет митотической активности которых, согласно данным литературы, осуществляется процесс дифференциального обновления не только клеточного состава крипт, но и всех типов энтероцитов кишечных ворсинок в пределах пейеровых бляшек.

Выводы

Из всего сказанного выше, складывается

представление, что в пейеровых бляшках находится две, разобщенные между собой, посредством пучков гладкомышечных волокон, разновидности кишечных крипт. Однако, такая точка зрения не является верной, ибо, по полученным в последнее время данным, лимфоидно-ассоциированные крипты (то есть внутриузелковые) являются на самом деле ответвлениями внеузелковой криптовой сети, заложенной в основании кишечных ворсинок пейеровых бляшек. Проникновение их в толщу лимфоидных узелков происходит по их окружности через локальные расщепления пучков гладкомышечных волокон, в результате чего они оказываются в толще их периферических отделов, соответствующих Т-зависимым зонам. Но, несмотря на общность происхождения, эти разные по локализации крипты отличаются между собой по толщине (диаметр лимфоидно-ассоциированных крипт в среднем равен 70 мкм, тогда как внеузелковые крипты уже их примерно на 10 мкм), а также, как было показано выше, по цитологическому составу и содержанию внутреннего просвета.

Перспективы дальнейших разработок

Исследовать структурные формы фолликул-ассоциированного эпителия пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс

Информация о конфликте интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент публикации не существует и не предвидится.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской темы «Возрастные аспекты структурной организации органов иммунной системы, желез желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы человека в норме и патологии» (номер государственной регистрации 0116U004192).

Литературные источники References

1. Hryn VH, Kostylenko YuP, Yushchenko YuP, Ryabushko MM, Lavrenko DO. Comparative histological structure of the gastrointestinal mucosa in human and white rat: A bibliographic analysis. *Wiad Lek.* 2018;7:1398-1403. PMID: 30448817
2. Herasymyuk IYe, Miz' AV. [Age morphological characteristics of the wall of the small intestine in rats]. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurgiya.* 2013;12(1):12-16. Ukrainian.
3. Hryn VH. [General anatomical characteristics of the small intestine of white rats]. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi.* 2018;4(64):18:88-93. Ukrainian. DOI:10.31718/2077-1096.18.4.88
4. Hryn VH, Kostylenko YuP, Bilash VP, Ryabushko OB. Microscopic structure of albino rats' small intestine. *Wiadomosci Lekarskie.* 2019;LXXII,5,(I):733-738. PMID: 31175762
5. China AM, Hill DR, Aurorac M, Spence JR. Morphogenesis and maturation of the embryonic and postnatal Intestine. *Seminars in Cell and Developmental Biology.* 2017;66:81-93. PMID: 28161556 PMID: PMC5487846 DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.01.011
6. Erben U, Loddenkemper C, Doerfel K, Spieckermann S, Haller D, Heimesaat MM, Zeitz M, Siegmund B, Kühl AA. A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology.*

- 2014;15,7(8):4557-4576. PMID: 25197329 PMCID: PMC4152019
7. Yelyasin PA, Zalavina SV, Mashak AN, Nadeyev AP, Aydagulova SV. [Morphology of the small intestine of rats-adolescent in chronic intoxication with cadmium sulfate]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2018;3:151-156. Russian. DOI 10.23648/UMBJ.2018.31.17226
 8. Tumilovich GA, Bashura AV. [Structural organization of the small intestine of calves]. *Aktual'nyye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva*. 2014;17(2):322-332. Russian. <https://cyberleninka.ru/article/n/strukturnaya-organizatsiya-tonkogo-kishechnika-telyat>
 9. Morozova OM. [Microscopic structure of Peyer's patches small intestine of intact rats of different breeds]. *Ukrayins'kyi morfologichnyy al'manakh*. 2014;12(1):117-122. Ukrainian. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Umora_2014_12_1_32
 10. Hryn VH. Planimetric correlations between Peyer's patches and the area of small intestine of white rats. *Reports of Morphology*. 2018;24(2):66-72. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(2)-10
 11. Guseynov TS, Guseynova ST. [Discussion questions of the anatomy of Peyer's patches of the small intestine]. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2012;8(3):687-691. Russian.
 12. Hryn VH. [The general principle of the structure of lymphoid nodules of peyer's patches of the small intestine of white rats]. 2019;2,2(151):200-204. Ukrainian. DOI 10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-200-204
 13. Guseynov TS, Guseynova ST, Esedova AE. [Morphology of villi, crypts and lymphoid nodules during dehydration and correction with saline]. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012;7(4):98-101. Russian. <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologiya-vorsinok-kript-i-limfoidnyh-uzelkov-pri-degidratsii-i-korreksii-fiziologicheskim-rastvorom>
 14. Richard C. van der Wath, Bruce S. Gardiner, Antony W. Burgess, David W. Smith. Cell Organisation in the Colonic Crypt: A Theoretical Comparison of the Pedigree and Niche Concepts. *PLoS One*. 2013;12;8(9):1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0073204. eCollection 2013. PMID: 24069177 PMCID: PMC3771985 DOI: 10.1371/journal.pone.0073204
 15. Serysheva OYu, Bryukhin GV. [Morphological and functional characteristics of the duodenal crypt epithelium in the offspring of female rats with experimental liver damage]. *Morfologiya : nauch.-teor. med. zhurn*. 2013;144(4):36-40. Russian. <https://rucont.ru/efd/547284>
 16. Hryn VH. [Features of the histological structure of the albino rat cecum]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2019;17(3):296-302. Russian. doi:10.25298/2221-8785-2019-17-3-296-302
 17. Clevers H. The Intestinal Crypt, A Prototype Stem Cell Compartment. *Cell*. 2013;154(2):274-284. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.004>
 18. Sumigray KD, Terwilliger M, Lechler T. Morphogenesis and Compartmentalization of the Intestinal Crypt. *Developmental Cell*. 2018;45(2):183-197. doi: 10.1016/j.devcel.2018.03.024. PMCID: PMC5987226
 19. Altay G, Larrañaga E, Tosi S, Barriga FM, Batlle E, Fernández-Majada V, Martínez E. Self-organized intestinal epithelial monolayers in crypt and villus-like domains show effective barrier function. *Scientific Reports*. 2019;9:1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46497-x>
 20. Horazna M, Janeckova L, Svec J, Babosova O, Hrckulak D, Vojtechova M, Galuskova K, Sloncova E, Kolar M, Strnad H, Korinek V. Mx1 loss suppresses formation of the ectopic crypts developed in the Apc-deficient small intestinal epithelium. *Scientific Reports*. 2019;9(1):1629. doi:10.1038/s41598-018-38310-y
 21. Gebert A, Fassbender S, Werner K, Weissferdt A. The development of M cells in Peyer's patches is restricted to specialized dome-associated crypts. *The American Journal of Pathology*. 1999;154(5):1573-82. PMID: 10329609 PMCID: PMC1866609 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65410-7
 22. Bykov AS, Karaulov AV, Tsomartova DA, Kartashkina NL, Goriachkina VL, Kuznetsov SL, Stonogina DA, Cheresheva YV. [M-cells are the important post in the initiation of immune response in intestine]. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2018;8(3):263-272. Russian. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-263-272>
 23. Vasyutina ML, Smirnova SV. [Comparative analysis of drugs used for general anesthesia in rats]. *Vestnik novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015;86(1):41-43. Russian. <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyy-analiz-preparatov-ispolzuemyh-dlya-obschey-anestezii-ukrks>
 24. Novosad NV. Laboratorni tvaryny i tekhnika biolohichnoho eksperymentu [Laboratory Animals and Techniques Biological Experiment]. *Navchal'no-metodychnyy posibnyk dlya studentiv biolohichnoho fakul'tetu dennoho ta zaochnoho viddilen' (napryam pidhotovky: «Biolohiya»; haluz' znan': «Pryrodnychi nauky»)*. Zaporizhzhya: ZNU; 2011. 85 p. Ukrainian.
 25. Karkishchenko NN, Gracheva SV, redaktory. *Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh [Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research]*. Moskva: Profil'-2S; 2010. 358 p. Russian. <https://www.twirpx.com/file/883478/>
 26. 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 L. 20.10.2010;276:0033-0079. Russian. <https://docplayer.ru/49033909-Direktiva-2010-63-eu-evropeyskogo-parlamenta-i-soveta-evropeyskogo-soyuza.html>

27. Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine No. 249 «About approval of the procedure of carrying out scientific experiments, experiments on animals». Ofitsiyny visnyk Ukrayiny 06.04.2012;24:82. Ukrainian. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12>

28. Belokon' SA, Vitko YUN, Tkachenko PI, Starchenko II, Grin' VG. [Optimization of the study of structural elements of biological tissues on histological sections]. Molodoyuchenyy. 2014;15:134-137.

Russian. URL <https://moluch.ru/archive/74/12603/>

29. Kostilenko YuP, Boyko IV, Starchenko II, Prilutskiy AK. [Method for the manufacture of his-

tological preparations equivalent to semi-thin sections of a large viewing surface for multi-purpose morphological studies]. Morfologiya. 2007;132(6):77-82. Russian.

30. Kudryavtsev IV, Borisov AG, Vasil'yeva YEV, Krobinets II, Savchenko AA, Serebryakova MK, Totolyan AA. [Phenotypic characterization of cytotoxic T-lymphocytes: regulatory and effector molecules]. Meditsinskaya immunologiya. 2018;20(2):227-240. Russian. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-227-240>

31. Drannik HM, Pryluts'kyi OS, Bazhora YuI. Klinichna imunohiya ta alerholohiya [Clinical immunology and allergology]. Pidruchnyk. Kyiv: Zdorov'ya, 2006. 888 p. Ukrainian.

32. Shepit'ko VI, Pelypenko LB, Lysachenko OD, Boruta NV. Spetsial'nayagistologiyaiembriologiyaregulyatornikh isensornykh sistem [Special histology and embryology of regulatory and sensory systems]. Uchebnoyeposobiye. Poltava: VGUZU «UMSA», 2018. 159 p. Russian.

Гринь В.Г., Костиленко Ю.П. Структурна організація кишкових крипт пейєрових бляшок тонкої кишки білих щурів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. У пейєрових бляшках кишкові крипти схильні до топографічного диференціювання по відношенню до їх лімфоїдних вузликів, в зв'язку з чим серед них виділяються два різновиди, один з яких асоційований з лімфоїдною тканиною відповідних вузликів, тоді як другий – знаходиться за їх межами. **Мета.** Вивчити особливості організації кишкових крипт пейєрових бляшок тонкої кишки білих щурів. **Методи.** Дослідження здійснено на 30 білих щурах-самцях репродуктивного віку, масою $200,0 \pm 20,0$ грам. Матеріалом слугували, фіксовані в 10% розчині нейтрального формаліну, ділянки тонкої кишки з пейєровими бляшками. Надалі вдавалися до традиційних гістологічних методів отримання серійних парафінових зрізів товщиною 4 мкм (Microm HM 325), які фарбували гематоксилін-еозинном. Інша частина препаратів піддавалася пластинації в епоксидній смолі. Вивчення отриманих препаратів здійснено за допомогою біокулярної лупи МБС-9 і світлового мікроскопа «Konus», оснащеного цифровою мікрофотонасадкою Sigeta DCM-900 9.0MP, об'єкт-мікрометра Sigeta X 1 мм/100 Div.x0.01мм. **Результати.** У пейєрових бляшках знаходяться два, роз'єднаних між собою, за допомогою пучків гладком'язових волокон, різновиди кишкових крипт. Лімфоїдно-асоційовані крипти (тобто внутрішньовузликові) є насправді відгалуженнями позавузликової криптової сітки, закладеної в основі кишкових ворсинок пейєрових бляшок. Проникнення їх в товщу лімфоїдних вузликів відбувається по їх окружності через локальні розщеплення пучків гладком'язових волокон, в результаті чого вони виявляються у товщі їх периферичних відділів, відповідних Т-залежним зонам. **Висновки.** Незважаючи на спільне походження, ці різні по локалізації крипти відрізняються між собою за товщиною (діаметр лімфоїдно-асоційованих крипт в середньому дорівнює 70 мкм, тоді як позавузликові крипти вужче їх приблизно на 10 мкм), а також за цитологічним складом і вмістом внутрішнього просвіту.

Ключові слова: білі щури, кишкові крипти, пейєрові бляшки, тонка кишка.

Гринь В. Г., Костиленко Ю.П. Структурная организация кишечных крипт пейєровых бляшек тонкой кишки белых крыс.

РЕФЕРАТ. Актуальность. В пейєровых бляшках кишечные крипты подвержены топографической дифференцировке относительно к их лимфоидным узелкам, в связи с чем среди них выделяются две разновидности, одна из которых ассоциирована с лимфоидной тканью соответствующих узелков, тогда как вторая – находится за их пределами. **Цель.** Изучить особенности организации кишечных крипт пейєровых бляшек тонкой кишки белых крыс. **Методы.** Исследование осуществлено на 30 белых крысах-самцах репродуктивного возраста, массой $200,0 \pm 20,0$ грамм. Материалом служили, фиксированные в 10% растворе нейтрального формалина, участки тонкой кишки с пейєровыми бляшками. В дальнейшем прибегали к традиционным гистологическим методам получения серийных парафиновых срезов толщиной 4 мкм (Microm HM 325), которые окрашивали гематоксилин-еозинном. Другая часть препаратов под-

верглась пластинации в эпоксидной смоле. Изучение полученных препаратов осуществлено с помощью бинокулярной лупы МБС-9 и светового микроскопа «Konus», оснащенного цифровой микрофотонасадкой Sigeta DCM-900 9.0MP, объект-микрометра Sigeta X 1 мм/100 Div.x0.01мм. **Результаты.** В пейеровых бляшках находятся две, разобщенные между собой, посредством пучков гладкомышечных волокон, разновидности кишечных крипт. Лимфоидно-ассоциированные крипты (то есть внутриузелковые) являются на самом деле ответвлениями внеузелковой криптовой сети, заложенной в основании кишечных ворсинок пейеровых бляшек. Проникновение их в толщу лимфоидных узелков происходит по их окружности через локальные расщепления пучков гладкомышечных волокон, в результате чего они оказываются в толще их периферических отделов, соответствующих Т-зависимым зонам. **Выводы.** Несмотря на общность происхождения, эти разные по локализации крипты отличаются между собой по толщине (диаметр лимфоидно-ассоциированных крипт в среднем равен 70 мкм, тогда как внеузелковые крипты уже их примерно на 10 мкм), а также по цитологическому составу и содержанию внутреннего просвета.

Ключевые слова: белые крысы, кишечные крипты, пейеровы бляшки, тонкая кишка.

О.В. Іщенко
А.О. Юхименко
І.П. Кошова
С.І. Ільченко
Д.О. Степанський

Державний заклад
«Дніпропетровська ме-
дична академія
Міністерства охорони
здоров'я України»

Надійшла: 28.07.2019

Прийнята: 24.08.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.40-47>

УДК 615.28:579.861.2:579.61:616-078

БІОПЛІВКОУТВОРЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ІЗОЛЯТІВ PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ВИДІЛЕНИХ ВІД ДІТЕЙ ХВОРИХ НА МУКОВІСЦИДОЗ, ТА МОЖЛИВОСТІ ВПЛИВУ BACILLUS SUBTILIS НА НИХ IN VITRO

Ishchenko O.V.  ✉, Yukhymenko A.O., Koshova I.P. , Ilchenko S.I. , Stepanskyi D.O.  **Biofilm-forming properties of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* collected from children with Cystic Fibrosis and potential *Bacillus subtilis* impact in vitro.**

State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine», Dnipro, Ukraine

ABSTRACT. Background. *Pseudomonas aeruginosa* infection determines clinical prognosis in patients with Cystic Fibrosis. Mucoid strains of *P. aeruginosa* are capable of forming biofilms and growing in them. Given the multiple resistance of microorganisms forming biofilms, the perspective of using *Bacillus spp.* for the purpose of sanitizing surfaces where pathogens may persist is being discussed. **Objective.** To study the biofilm-forming ability of *P. aeruginosa* clinical isolates from children with Cystic Fibrosis and to determine the impact of *B. subtilis* on them *in vitro*. **Methods.** Sputum and/or mucus samples from a deep smear from the posterior pharyngeal wall were collected from children with Cystic Fibrosis. Bacteriological, microscopic, biochemical and statistical research methods were used. The antagonistic properties of *P. aeruginosa* and *B. subtilis* were studied by the method of delayed antagonism and inco-cultivation experiments in a liquid nutrient medium followed by inoculation serial dilutions. Biofilm forming ability was determined by express-method using 96-well plates. **Results.** Bacteriological survey showed that *P. Aeruginosa* was isolated from 34.21% (95% CI 32.50-35.92) of samples. It was found that *B. subtilis* has direct moderate antagonism against *P. aeruginosa* in the delayed antagonism study as well as after their co-cultivation in a liquid nutrient medium. After co-cultivation the abundant growth of bacilli in all experiments at all repetitions as well as limitation of the *P. aeruginosa* growth was showed. The biofilm formation was determined in 76.92% (95% CI 73.02-80.77) of *P. aeruginosa* clinical isolates, and in 100% of *B. subtilis* samples. The *B. subtilis* was able to form biofilm in the presence of *P. aeruginosa* in most cases during co-cultivation experiments. **Conclusion.** Clinical isolates of *P. aeruginosa* isolated from children with Cystic Fibrosis are moderately susceptible to *B. subtilis* *in vitro*. Biofilm formation of *P. aeruginosa* can be suppressed by *B. subtilis* *in vitro*.

Key words: cystic fibrosis, *P. aeruginosa*, mucoid phenotype, biofilm, *B. subtilis*, antagonism.

Citation:


Ishchenko OV, Yukhymenko AO, Koshova IP, Ilchenko SI, Stepanskyi DO. [Biofilm-forming properties of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* collected from children with Cystic Fibrosis and potential *Bacillus subtilis* impact in vitro]. *Morphologia*. 2019;13(3):40-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.40-47>

 Ishchenko O.V. 0000-0001-6350-8176

 Koshova I.P. 0000-0002-5631-8005

 Ilchenko S.I. 0000-0003-2181-1833

 Stepanskyi D.O. 0000-0001-6350-8176

✉ med.oksana2017@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ
Муковісцидоз (МВ) – генетичне захворювання з аутосомно-рецесивним типом успадкування,

поширене в усіх етнічних групах, і є найчастішою спадковою патологією у світі. Природний перебіг МВ тяжкий, і без лікування