

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕЙЕРОВИХ БЛЯШОК ТОНКОЇ КИШКИ  
БІЛИХ ЩУРІВ У НОРМІ**

Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

vogrin034@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота є фрагментом НДР кафедри анатомії людини: «Вікові аспекти структурної організації органів імунної системи, залоз шлунково-кишкового тракту і сечостатевої системи людини в нормі і патології», № державної реєстрації 0116U004192.

**Вступ.** Пейерові бляшки є інтеграцією певної кількості окремих лімфоїдних вузликів, в кожному з яких прийнято виділяти зони з переважною локалізацією в них Т- і В-лімфоцитів. Крім того, їх ключовою структурою, в якій здійснюється ініціація імунних реакцій, є покриваючий їх апікальні відділи, поляризований моношар різних за спеціалізацією типів ентероцитів, серед яких виділяються в основному абсорбційні, келихоподібні і так звані М-клітини. При цьому М-клітинам в літературі приділяється особлива увага у зв'язку з тим, що вони, згідно існуючої концепції, розглядаються в якості головних елементів наділені здатністю до поглинання патогенів з вмісту кишечника і трансцитозу їх до імунокомпетентних клітин [1,2,3].

Але в теперішній час виявилися деякі істотні факти, які викликають сумнів в повній обґрунтованості такого трактування. Передусім це пов'язано з появою в літературі даних, що в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейерових бляшок, разом з М-клітинами, фагоцитарними властивостями наділені й інші ентероцити [4,5,6]. У попередніх дослідженнях виявлено наявність таких епітеліальних фагоцитів. Але якщо вони чітко візуалізуються за допомогою традиційних гістологічних методів, то М-клітини з великими труднощами піддаються розбірливому цитологічному розпізнаванню [7,8]. Тому, розраховуючи на прояснення цього питання, звернулися до можливостей, якими володіють методи імуногістохімічних досліджень.

**Метою дослідження** було проведення імуногістохімічного аналізу і з'ясування зон переважної локалізації основних типів імунокомпетентних клітин пейерових бляшок тонкої кишки білих щурів у нормі.

**Об'єкт і методи дослідження.** В експерименті задіяні 30 білих щурів-самців репродуктивного віку, масою 200,0±20,0 грам. До цього всі тварини знаходилися в 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 етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013), (Протокол № 155 від 26.04.2017 р. за-

сідання Комісії з біомедичної етики при Українській медичній стоматологічній академії) [9,10,11].

Після вівісекції тваринам проводилося розкриття порожнини живота, промивання усього його вмісту фізіологічним розчином і вибіркоче висічення коротких ділянок брижової частини тонкої кишки, в яких знаходилися пейерові бляшки.

Імуногістохімічні дослідження виконані в лабораторії «Прайм Тест» при кафедрі патологічної анатомії ХМАПО (м. Харків). Для вивчення імуногістохімічних (ІГХ) особливостей пейерових бляшок матеріал фіксували у 10% нейтральному формаліні впродовж 24 годин, заливали в парафін, готували зрізи товщиною 4 мкм, які наносили на високоадгезивні стекла Super Frost і висушували при температурі 37°C впродовж 18 годин. Демаскуюча термічна обробка була виконана за методом кип'ятіння зрізів в цитратному буфері (рН 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовувалася система детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). В якості хромогену використовувався DAB (діамінобензидин).

Оцінку клітинного складу і імунних клітинних реакцій в пейерових бляшках, їх лімфоїдних вузликів і лімфоїдно-асоційованому епітелії виявляли за експресією Т- і В-клітинних кластерів диференціювання (CD3, CD79), маркера плазматичних клітин (CD38), маркера макрофагів (CD68(KP1)), маркера дендритних клітин (CD23), маркера епітеліальних клітин ПАН-цитокератину (Cytokeratin PAN AE1/AE3). Використовувалися первинні моноклональні антитіла (МКАТ) фірми Thermo scientific (Німеччина), Ready-to-Use.

Результати підраховували за допомогою окулярної сітки Автанділова [12] у 10 довільно вибраних полях зору при збільшенні х400. Оцінку ІГХ мітки проводили за ступенем поширення. Ступінь поширення мітки враховували за процентним вмістом позитивно забарвлених в коричневий колір мембран (і цитоплазми – для CD68) клітин від загальної кількості клітин в полі зору.

Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програми AxioCam (ERc 5s).

**Результати дослідження та їх обговорення.** В процесі дослідження встановлено, що В-клітинна зона пейерових бляшок тонкої кишки інтактних тварин знаходиться під епітелієм куполу їх лімфоїдних вузликів, яка переважно складається з малих CD79+ В-клітин (на їх частку доводиться до 45,0% від загального пулу) (табл.).

Крім того, тут знаходяться антигенпрезентуючі дендритні клітини, довгі розгалужені відростки яких при ІГХ-фарбуванні виявляються у вигляді ледве помітної сітки. Серед них поодинокі зустрічаються Т-лімфоцити і макрофаги.

Зародкові (гермінативні) центри вторинних лімфоїдних вузликів пейерових бляшок тонкої кишки

інтактних тварин складалися в основному з CD79+ бластних клітин (центробластів) і їх нащадків – центроцитів. Із-за вираженої базофілії цитоплазми центробласти формували темну зону, центроцити – світлу зону гермінативного центру. У темній зоні відзначаються ознаки мітотичної активності. Але разом з цією помірною проліферацією бластних клітин відзначаються ознаки апоптозу. Ці центри знаходяться в оточенні мантийної зони, які складаються з малих лімфоцитів (рис. 1).

Їх фенотип відповідає основній масі лімфоцитів первинних лімфоїдних вузликів. Крім того, звертає на себе увагу, що у вторинних лімфоїдних вузликах міститься більш розгалужена сітка дендритних клітин, відростки яких візуалізуються при забарвленні зрізів з CD23 (рис. 2).

У частковому відношенні ці дендритні клітини складають приблизно від 5,0 до 6,7% (табл.). Разом з цим зустрічалися поодинокі малі CD3+ Т-лімфоцити і CD68+ макрофаги, на частку яких доводилося приблизно від 1,4 до 2,2% (рис. 3). Не були виключенням і поодинокі плазматичні клітини (CD38+).

Т-залежна зона, що відповідає в основному периферичним (навколо-крайовим) відділам лімфоїдних вузликів пейєрових бляшок тонкої кишки інтактних тварин складалася переважно з CD3+ Т-лімфоцитів і розсіяних серед них CD79+ В-лімфоцитів (рис. 4).

Примітною була наявність в цій зоні артеріальних мікросудин (артеріол). Тут же виявлялися венули з характерними високими ендотеліальними клітинами кубічної форми з фіксованими на їх стиках і базальній мембрані мігруючими малими лімфоцитами. Крім того зустрічалися поодинокі тканинні макрофаги (CD68+) і CD79+ В-лімфоцити. Судячи з рідкісної наявності фігур мітозу ця Т-залежна зона відрізняється низькою проліферативною активністю.

Але особлива увага була приділена імуногістохімічному аналізу епітелію, пов'язаного з куполом лімфоїдних вузликів. Згідно з існуючими уявленнями, кишковий епітелій, який покриває апікальну поверхню лімфоїдних вузликів пейєрових бляшок, наділений здатністю вибіркового реагування з антигенним складом вмісту тонкої кишки, будучи тією самою ініціальною ланкою у формуванні імунних реакцій в шлунково-кишковому тракті, і який названий нами лімфоїдно-асоційованим епітелієм. В теперішній час постулюється, що провідна роль в цих процесах належить спеціалізованим ентероцитам, що мають фагоцитарні властивості, які відомі під назвою М-клітин. Але, згідно з даними літератури, підтвердженими результатами наших досліджень, такими ж властивостями наділені й інші типи клітин лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок, які схильні до функціонального поліморфізму [4,7,8,13]. В ході дослідження представлені переконливі аргументи, що наочна ідентифікація М-клітин за допомогою одних тільки рутинних гістологічних методів є досить скрутною. І планувалося, що розібратися в цьому допоможуть імуногістохімічні методи.

Для цього була зроблена спроба фарбування гістологічних зрізів пейєрових бляшок тонкої кишки інтактних тварин за допомогою низькомолекулярних цитокератинів. Це рішення продиктоване тим, що М-клітини, які відомі в літературі як «печеристі клітини», мають добре розвинений внутрішньоклітинний

Таблиця – Співвідношення імунокомпетентних клітин в пейєрових бляшках тонкої кишки білих щурів в нормі

Клітинні елементи	Зона	Досліджувана група (n=30)
В-лімфоцити	В-зона	40,0-45,0%
	Т-зона	<1%
	Купол	до 2,0%
Т-лімфоцити	В-зона	<1%
	Т-зона	27,6-30,7%
	Купол	3,7-4,1%
Плазмоцити	В-зона	<1%
	Т-зона	1,0-1,6%
	Купол	2,8-3,2%
Макрофаги	В-зона	1,4-2,2%
	Т-зона	1,1-1,8%
	Купол	1,3-1,9%
Дендритні клітини	В-зона	5-6,7%

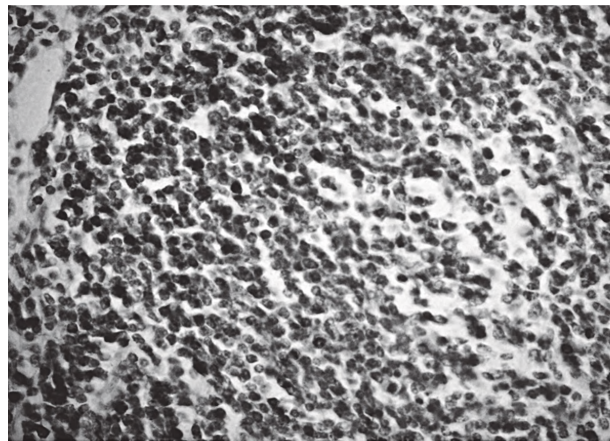


Рисунок 1 – Гермінативний центр лімфоїдного вузлика пейєрової бляшки тонкої кишки білого щура в нормі. Позитивно забарвлені малі В-лімфоцити. Реакція з МКАТ до CD79, x400.

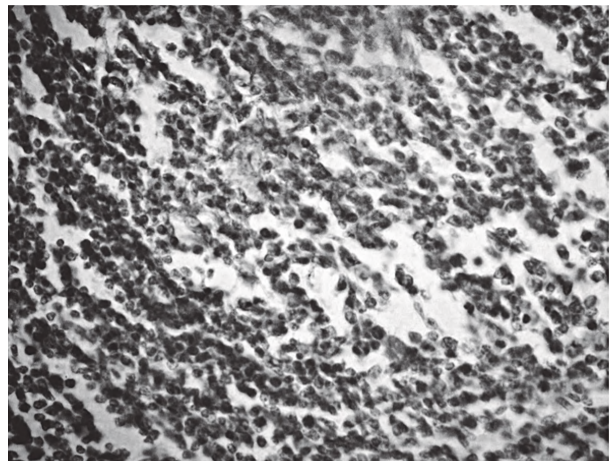


Рисунок 2 – Сітка дендритних клітин у вторинному лімфоїдному вузлику пейєрової бляшки. Реакція з МКАТ до CD23, x400.

опорний компонент у вигляді цитоскелету, що складається з тривимірної сітки мікрофібрил проміжного типу. Ці мікрофібрили (або тонофіламенти) складаються з різних, але дуже схожих між собою, білків-кератинів [14].

Проте в результаті використання цього маркера було отримано рівнозначне позитивне фарбування усіх ентероцитів лімфоїдно-асоційованого епітелію

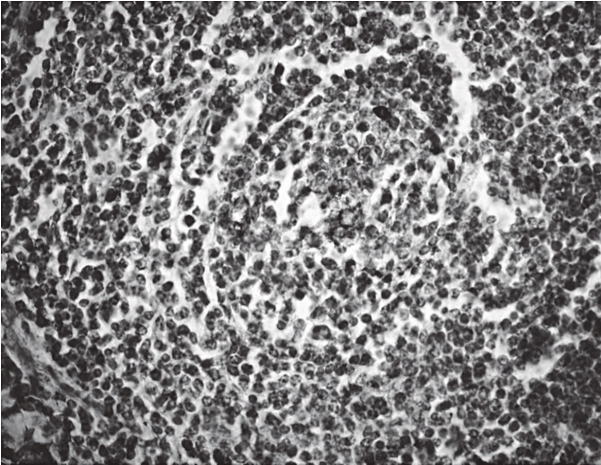


Рисунок 3 – Одиничні макрофаги з внутрішньоклітинними включеннями в гермінативному центрі лімфоїдного вузлика пейєрової бляшки тонкої кишки білого щура в нормі. Реакція з МКАТ до CD68 KP1, x400.

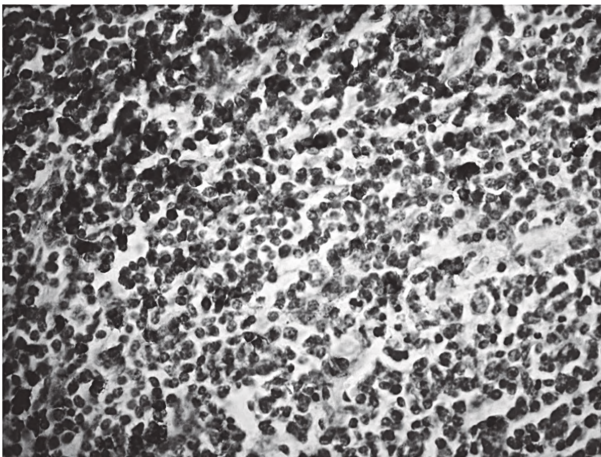


Рисунок 4 – Т-зона лімфоїдного вузлика пейєрової бляшки тонкої кишки білого щура в нормі. Позитивно забарвлені Т-лімфоцити. Реакція з МКАТ до CD3, x400.

пейєрових бляшок тонкої кишки інтактних тварин. Це явище стало причиною додаткового пошуку в літературі необхідної інформації. Виявилось, що подібні спроби ідентифікації М-клітин проводилися деякими авторами. Найбільш ґрунтовною роботою з цього питання є дослідження Т. Кучарзика із співавт. [15]. Автори пояснюють це тим, що експресія проміжних мікрофібрил М-клітин і сусідніх ентероцитів у складі лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок є однорідною із-за наявності в усіх них дуже схожого між собою за хімічним складом цитоскелета.

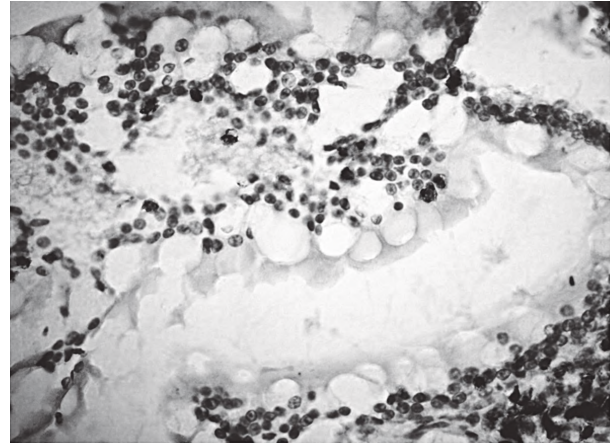


Рисунок 5 – CD3+ інтраепітеліальні лімфоцити лімфоїдного вузлика пейєрової бляшки тонкої кишки білого щура в нормі. Реакція з МКАТ до CD3, x400.

Крім того, автори, як і ми, приходять до висновку, що самі М-клітини не піддаються виразній візуалізації за допомогою одних тільки методів світлової мікроскопії. Проте їх наявність підтверджується при електронномікроскопічних дослідженнях [1,16,17].

В процесі досліджень встановлено, що серед ентероцитів лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок розташовуються поодиноці внутрішньоепітеліальні лімфоцити, представлені переважно Т-клітинами. На **рисунку 5** показана позитивна реакція цих лімфоцитів з ПАН-Т-лімфоцитарним маркером.

**Висновки.** У результаті імуногістохімічного аналізу пейєрових бляшок тонкої кишки інтактних тварин отримані узагальнені дані про кількісне співвідношення в них між основними популяціями імунокомпетентних клітин, які представлені в **таблиці**. Згідно з цими даними основну масу їх склали В-лімфоцити (близько 47%) і Т-лімфоцити (близько 35%), тоді як на частку плазмочитів, макрофагів і дендритних клітин доводилося приблизно по 5% на кожні з них. Але, при цьому, не вдалося отримати не лише даних про кількість в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок М-клітин, але навіть виявилось безрезультатним прагнення до їх чіткішої елективної ідентифікації.

**Перспективи подальших досліджень.** Надалі планується проведення детального імуногістохімічного аналізу імунокомпетентних клітин пейєрових бляшок тонкої кишки щурів після курсового прийому антибіотика широкого спектру дії – кларитроміцину.

## Література

1. Dillon A, Lo DD. M Cells: Intelligent Engineering of Mucosal Immune Surveillance. *Front. Immunol.* 2019;10:1499. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01499
2. Bykov AS, Karaulov AV, Tsomartova DA, Kartashkina NL, Goryachkina VL, Kuznetsov SL, i dr. M-kletki – odin iz vaznykh komponentov v initsiatsii immunogo otveta v kishechnike. *Infektsiya i immunitet.* 2018;8(3):263-72. Dostupno: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-263-272> [in Russian].
3. 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
4. Da Silva C, Wagner C, Bonnardel J, Gorvel JP, Lelouard H. The Peyer's Patch Mononuclear Phagocyte System at Steady State and during Infection. *Frontiers in immunology.* 2017;8:1254. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01254 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5630697/>
5. Morikawa M, Tsujibe S, Kiyoshima-Shibata J, Watanabe Y, Kato-Nagaoka N, Shida K, et al. Microbiota of the Small Intestine Is Selectively Engulfed by Phagocytes of the Lamina Propria and Peyer's Patches. *PLoS one.* 2016;11(10):e0163607. DOI: 10.1371/journal.pone.0163607 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5049916/>
6. Lelouard H, Fallet M, de Bovis B, Méresse S, Gorvel JP. Peyer's patch dendritic cells sample antigens by extending dendrites through M cell-specific transcellular pores. *Gastroenterology.* 2012;142(3):592-601. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016508511016374>

7. Hryn VH, Kostylenko YuP, Korchan NA, Lavrenko DA. Structural form of the follicle-associated epithelium of peyers' patches of the albino rats' small intestine. Georgian medical news. 2019;9(294):118-23. Available from: <http://www.geomednews.org/shared/issues/med294.pdf>
8. Hryn V. Internal structure of the lymphoid nodules of the peyer's patches of small intestine in albino rats. Georgian Medical News. 2019;11(296):122-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31889718>
9. Rybakova AV, Makarova MN. Sanitarnyy kontrol' eksperimental'nykh klinik (vivariyev) v sootvetstvi s lokal'nymi i mezhdunarodnymi trebovaniyami. Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii. 2015;4:81-9. Dostupno: <https://rucont.ru/efd/379080> [in Russian].
10. Dobrel'ya NV, Boytsova LV, Danova IV. Pravova baza dlya provedeniya etychnoyi ekspertyzy doklinichnykh doslidzhen' likars'kykh zasobiv z vykorystanniam laboratornykh tvaryn. Farmakolohiya ta likars'ka toksykolohiya. 2015;2:95-100. Dostupno: [http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP\\_meta&C21COM=S&2\\_S21P03=FILA=&2\\_S21STR=flt\\_2015\\_2\\_16](http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=flt_2015_2_16) [in Ukrainian].
11. Svitlychnyy O, Bereheliya I. Administratyvnyy zakhyst tvaryn, yaki vykorystovuyut'sya v naukovykh eksperymentakh, navchal'nomu protsesi ta vyrobnytstvi biolohichnykh preparativ, vid zhorstokoho povodzhennya. Pidpryemnytstvo, hospodarstvo i pravo. 2017;2:150-4. Dostupno: [http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP\\_meta&C21COM=S&2\\_S21P03=FILA=&2\\_S21STR=Pgip\\_2017\\_2\\_30](http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Pgip_2017_2_30) [in Ukrainian].
12. Avtandilov GG. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii [monografiya]. M.: Meditsina; 2002. 240 s. Dostupno: <https://www.mmbook.ru/catalog/patanatomija-gistologija-morfologija/105036-detail> [in Russian].
13. Fal'chuk YL, Markov AG. Izuchenye bar'yernykh kharakteristik epiteliya peyerovykh blyashek krysy. Vestnik SPbGU. Seriya 3: Biologiya. 2015;3(3):75-86. Dostupno: <http://proxy.library.spbu.ru:2110/item.asp?id=24307669> [in Russian].
14. Al'berts B, Dzhonson A, L'yuis D. Molekulyarnaya biologiya kletki: v 3-kh tomakh. M.: Izhevsk: NITS «Regulyarnaya i khaoticheskaya dinamika», Institut komp'yuternykh issledovaniy. 2013;III. 1028 s. Dostupno: <http://chembaby.com/wp-content/uploads/2015/12/MBK3.pdf> [in Russian].
15. Kucharzik T, Lügering N, Schmid KW, Schmidt MA, Stoll R, Domschke W. Human intestinal M cells exhibit enterocyte – like intermediate filaments. Gut. 1998 Jan;42(1):54-62. DOI: 10.1136/gut.42.1.54
16. Madara JL. Functional morphology of Epithelium of the Small Intestine. Comprehensive Physiology. Handbook of Physiology, The Gastrointestinal System, Intestinal Absorption and Secretion. 2011;19:83-120. Available from: <https://doi.org/10.1002/cphy.cp060403>
17. Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. Nature Immunology. 2001;2:1004-9. DOI: 10.1038/ni1101-1004

### ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕЙЕРОВИХ БЛЯШОК ТОНКОЇ КИШКИ БІЛИХ ЩУРІВ У НОРМІ

Гринь В. Г.

**Резюме.** Ключовою структурою пейєрових бляшок, в якій здійснюється ініціація імунних реакцій, є покриваючий їх апікальні відділи, поляризований моношар різних за спеціалізацією типів ентероцитів, серед яких виділяються в основному абсорбційні, келихоподібні і так звані М-клітини.

*Метою дослідження* було проведення імуногістохімічного аналізу і з'ясування зон переважної локалізації основних типів імунокомпетентних клітин пейєрових бляшок тонкої кишки білих щурів у нормі.

*Об'єкт і методи дослідження.* В експерименті задіяні 30 білих щурів-самців репродуктивного віку. Для дослідження використані ділянки тонкої кишки, в яких знаходилися пейєрові бляшки. Імуногістохімічну оцінку клітинного складу і імунних клітинних реакцій в пейєрових бляшках, їх лімфоїдних вузликах і лімфоїдно-асоційованому епітелії виявляли за експресією Т- і В-клітинних кластерів диференціювання (CD3, CD79), маркера плазматичних клітин (CD38), маркера макрофагів (CD68(КР1)), маркера дендритних клітин (CD23), маркера епітеліальних клітин ПАН-цитокератину (Cytokeratin PAN AE1/AE3). Використовувалися первинні моноклональні антитіла (МКАТ) фірми Thermo scientific (Німеччина), Ready-to-Use.

Результати підраховували за допомогою окулярної сітки Автанділова у 10 довільно вибраних полях зору при збільшенні х400. Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програми АхіоСам (ERc 5s).

*Результати роботи.* У результаті імуногістохімічного аналізу пейєрових бляшок тонкої кишки інтактних тварин отримані узагальнені дані про кількісне співвідношення в них між основними популяціями імунокомпетентних клітин.

*Висновки.* Основну масу імунокомпетентних клітин склали В-лімфоцити (близько 47%) і Т-лімфоцити (близько 35%), тоді як на долю плазмоцитів, макрофагів і дендритних клітин доводилося приблизно по 5% на кожні з них. Але при цьому не вдалося отримати не лише даних про кількість в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок М-клітин, але навіть виявилось безрезультатним прагнення до їх чіткої елективної ідентифікації.

**Ключові слова:** імуногістохімічний метод, пейєрові бляшки, лімфоїдно-асоційований епітелій, М-клітини, дендритні клітини, плазмоцити, В- і Т-лімфоцити.

### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ

Гринь В. Г.

**Резюме.** Ключевой структурой пейєровых бляшек, в которой осуществляется инициация иммунных реакций, является, покрывающий их апикальные отделы, поляризованный монослой разных по специализации типов энтероцитов, среди которых выделяются в основном абсорбционные, бокаловидные и так называемые М-клетки.

*Целью исследования* было проведение иммуногистохимического анализа и выяснения зон преимущественной локализации основных типов иммунокомпетентных клеток пейєровых бляшек тонкой кишки белых крыс в норме.

*Объект и методы исследования.* В эксперименте задействовано 30 белых крыс-самцов репродуктивного возраста. Для исследования использованы участки тонкой кишки, в которых находились пейєровы бляшки. Иммуногистохимическую оценку клеточного состава и иммунных клеточных реакций в пейєровых бляшках, их лимфоидных узелках и лимфоидно-ассоциированном эпителии выявляли по экспрессии Т- и В-клеточных кластеров дифференцировки (CD3, CD79), маркера плазматических клеток (CD38), маркера макрофагов (CD68

(KP1)), маркера дендритних кліток (CD23), маркера епітеліальних кліток ПАН-цитокератина (Cytokeratin PAN AE1/AE3). Використовували первинні моноклональні антитіла (МКАТ) фірми Thermo scientific (Германія), Ready-to-Use.

Результати підсчитували з допомогою окулярної сітки Автандилова в 10 произвольно выбранных полях зору при збільшенні  $\times 400$ . Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програми AxioCam (ERc 5s).

*Результати роботи.* В итоге иммуногистохимического анализа пейеровых бляшек тонкой кишки интактных животных получены обобщенные данные о количественном соотношении в них между основными популяциями иммунокомпетентных клеток.

*Выводы.* Основную массу иммунокомпетентных клеток составили В-лимфоциты (около 47%) и Т-лимфоциты (около 35%), тогда как на долю плазмацитов, макрофагов и дендритных клеток приходилось примерно по 5% на каждые из них. Но при этом не удалось получить не только данных о количестве в лимфоидно-ассоциированном эпителии пейеровых бляшек М-клеток, но даже оказалось безрезультатным стремление к их более четкой селективной идентификации.

**Ключевые слова:** иммуногистохимический метод, пейеровы бляшки, лимфоидно-ассоциированный эпителий, М-клетки, дендритные клетки, плазмациты, В- и Т-лимфоциты.

### IMMUNOGISTOCHEMICAL ANALYSIS OF PEYER'S PATCHES OF THE ALBINO RATS' SMALL INTESTINE IS NORMAL Hryn V. H.

**Abstract.** Peyer's patches are the integration of a number of individual lymphoid nodules, each of which usually distinguished zones with their predominant localization in the T- and B-lymphocytes. In addition, their key structure in which the initiation of immune reactions is carried out is their apical sections, a polarized monolayer of different types of enterocytes, among which mainly absorption, goblet and so-called M-cells.

*The aim* of this study was to carry out an immunohistochemical analysis and clarify areas of primary localization of the main types of immunocompetent cells of Peyer's patches of the albino rats small intestine is normal.

*Object and methods of research.* 30 mature albino male rats weighted  $200,0 \pm 20,0$  g were involved into the study. For the study used portions of the small intestine, which are the Peyer's patches. To study the immunohistochemical (IHC) features of Peyer's patches, the material was fixed with 10% neutral formalin for 24 h, embedded in paraffin, sections were prepared with a thickness of 4  $\mu\text{m}$ , which were applied to highly adhesive Super Frost glasses and dried at a temperature of  $37^\circ\text{C}$  for 18 hours. The unmasking heat treatment was performed by the method of boiling sections in citrate buffer (pH 6.0). For visualize primary antibody detection system used Ultra Vision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). It was used as the chromogen DAB (diaminobenzidine).

Assessment of cell composition and immune cell responses in Peyer's patches, their lymphoid nodules, and lymphoid-associated epithelium was detected by expression of T- and B-cell differentiation clusters (CD3, CD79), plasma cell marker (CD38), macrophage marker (CD68 (KP1)), a dendritic cell marker (CD23), an epithelial cell marker of PAN-cytokeratin (Cytokeratin PAN AE1/AE3). Used primary monoclonal antibodies (moAb) firm Thermo scientific (Germany), Ready-to-Use.

Results were calculated using the eyepiece grid Avtandilov a 10 randomly selected fields at  $\times 400$  magnification. Evaluation IHC label was determined by the distribution. The extent of the label into account for the percentage of positively stained in brown color of the membranes (and the cytoplasm – for CD68) cells by the total number of cells in the visual field.

The complex morphological studies carried out on microscope Primo Star (Carl Zeiss) using a AxioCam program (ERc 5s).

*Results of work.* As a result, immunohistochemistry Peyer's patches of the small intestine intact animals received generalized data on the quantitative ratio therein between main populations of immunocompetent cells.

*Conclusions.* The bulk of immunocompetent cells were B-lymphocytes (about 47%) and T-lymphocytes (about 35%), while plasmacytes, macrophages and dendritic cells accounted for about 5% for each of them. But it was not possible to obtain not only information about the number of lymphoid-associated epithelium of the Peyer's patch M cells, but even proved fruitless pursuit of their elective clearer identification.

**Key words:** immunohistochemical method, Peyer's patches, lymphoid-associated epithelium, M-cells, dendritic cells, plasmacytes, B- and T-lymphocytes.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.  
Стаття надійшла 03.02.2020 року