

УДК 57.085:[599.323.452:591.438]

DOI <https://doi.org/10.32782/NSER/2025-1.13>

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТОПОГРАФІЇ І ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНИХ ПЛЯМ БРИЖІ ТОВСТОГО КИШКІВНИКА БІЛИХ ЩУРІВ В НОРМІ

Новосад Наталя Василівна

кандидат біологічних наук,
доцент кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом
цивільного захисту та медицини біологічного факультету
Запорізького національного університету
ORCID ID: 0000-0001-5993-9870
Scopus author ID: 57073808600
Researcher ID: ABA-1628-2021

З моменту вивчення молочні плями ідентифікували як структури зі здатністю фагоцитувати чужорідні речовини в перитонеальній порожнині, пізніше вони були визнані лімфоїдною тканиною, яка бере активну участь в імунних реакціях серозних порожнин. Детальна будова молочних плям і на сьогодні залишається відкритою проблемою морфології. Тому виникає потреба розробити спосіб детальнішої візуалізації молочних плям в структурі серозних оболонок. **Мета:** виявити молочні плями, дослідити топографію і їх структуру в брижі товстого кишківника у самців білих щурів в нормі. **Матеріали і методи.** Дослідження виконували на самцях білих щурів масою тіла 168–220 г ($n=10$). Виявлення та дослідження молочних плям у структурах брижі товстого кишківника проводили шляхом нанесення розчину пікринової кислоти на поверхню брижі товстого кишківника. Вивчали нативні препарати брижі товстого кишківника з деталізацією розташування молочних плям в препараті. Фіксували в розчині Буена протягом 24 годин з наступним 2-годинним промиванням у проточній воді. Забарвлення гематоксилином та еозином проводили звичайним способом. **Результати.** Експериментально підтверджена наявність молочних плям переважно неправильної еліпсоподібної форми, що нагадували поодинокі білясту зернистість, і локалізувалися поблизу лімфоїдних вузлів та кровоносних капілярів. Кількість молочних плям в середньому склала $4,0 \pm 0,02$ одиниць на стандартну досліджувану площу серозної оболонки брижі товстого кишківника; площа лімфоїдних утворень в середньому склала $0,8 \pm 0,04$ мм². Встановлено дифузну локалізацію лімфоцитів, або наявність невеликих скупчень, що містили до 3-х клітин на стандартну досліджувану одиницю площі. Число лімфоцитів в середньому склало $5,8 \pm 0,02$ клітини на стандартну площу брижі товстого кишківника (1000 мкм²), що знаходиться в межах норми.

Ключові слова: кишківник, плівкові препарати, лімфоцити, черевна порожнина, брижа кишківника, шлунково-кишковий тракт.

Novosad N. V. Study of the features of the topography and characteristics of milky spots in the mesophysis of the colon intestinal of normal white rats

Since the study, milk spots have been identified as structures with the ability to phagocytize foreign substances in the peritoneal cavity, later they were recognized as lymphoid tissue that takes an active part in the immune reactions of serous cavities. The detailed structure of milk spots remains an open problem of morphology to this day. Therefore, there is a need to develop a method for more detailed visualization of milk spots in the structure of serous membranes. **Aim:** to detect milk spots, to investigate the topography and their structure in the mesentery of the large intestine in normal male white rats. **Materials and methods.** The study was performed on male white rats with a body weight of 168–220 g ($n=10$). Detection and study of milk spots in the structures of the mesentery of the large intestine was carried out by applying a solution of picric acid to the surface of the mesentery of the large intestine. Native preparations of the colon mesentery were studied with a detailed description of the location of milk spots in the preparation. They were fixed in Bouin's solution for 24 hours, followed by a 2-hour wash in running water. Staining with hematoxylin and eosin was performed in the usual way. **Results.** The presence of milk spots of predominantly irregular elliptical shape, resembling single whitish granules, and localized near lymphoid nodes and blood capillaries was experimentally confirmed. The number of milk spots averaged 4.0 ± 0.02 units per standard studied area of the serous membrane of the colon mesentery; the area of lymphoid formations averaged 0.8 ± 0.04 mm². Diffuse localization of lymphocytes was established, or the presence of small clusters containing up to 3 cells

per standard studied unit of area. The number of lymphocytes averaged 5.8 ± 0.02 cells per standard area of the colon mesentery ($1000 \mu\text{m}^2$), which is within normal limits.

Key words: *intestine, film preparations, lymphocytes, abdominal cavity, intestinal mesentery, gastrointestinal tract.*

Вступ. Відомо, що плевральна, перикардіальна та перитонеальна порожнини вистелені серозними мембранами з імуноактивним мезотелієм і містять жирові клітини, які відіграють специфічну роль у вродженому та адаптивному імунитеті. Разом вони утворюють імунну систему серозних оболонок [1, с. 383].

З моменту вивчення молочні плями ідентифікували як структури зі здатністю фагоцитувати чужорідні речовини в перитонеальній порожнині, пізніше вони були визнані лімфоїдною тканиною, яка відіграє ключову роль в імунних реакціях серозних оболонок [2, 182].

Серозно-асоційовані лімфоїдні скупчення SALC (serosa-associated lymphoid clusters) виявляються в безжировій частині серозної оболонки очеревини; SALC переважно локалізуються в очеревині, осерді, середостінні та перикарді і вважаються периферичними лімфоїдними органами [3, с. 135].

Жироасоційовані скупчення лімфоцитів FALC (fat-associated lymphoid clusters), також відомі як молочні плямоподібні структури, присутні в жирових резервуарах очеревини, перикарда, середостіння та плеври, характеризуються структурною подібністю, містять різні субпопуляції лімфоцитів і виконують функції, подібні до SALC. В мікрооточенні даних лімфоїдних кластерів важливу роль відіграє склад цих скупчень, що потребує подальшого детального вивчення [4, с. 717].

SALC та FALC були описані як важливі центри забезпечення першої лінії захисту в структурі слизових оболонок за рахунок вродженого і набутого імунітету [5, с. 699]. Дані елементи характеризуються структурною подібністю, містять однакові популяції лімфоцитарних клітин і виконують схожі функції. Однак молочні плями відрізняються найбільшою кількістю клітинних популяцій на одиницю площі досліджуваної тканини, порівняно з FALC [6, с. 863].

На сьогоднішній момент серед морфологів існує дискусія щодо приналежності лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною, FALC до молочних плям [7, с. 443].

Помічено, що молочні плями з'являються в ембріональному періоді і зберігаються до кінця життя [2, с. 184]. У середньому віці вони менш помітні через відкладення жирової тканини [4, с. 719].

Детальна будова молочних плям і на сьогодні залишається відкритою проблемою морфології. Тому виникає потреба розробити спосіб детальної візуалізації молочних плям в структурі серозних оболонок.

За даними Schurink B. (2019) залежно від віку та загального стану серозних оболонок клітинний склад плям може варіюватися [8, с. 429]. Враховуючи існуючі дані про будову молочних плям, Liu Y. (2021) вважає їх ретикулоендотеліальними [9, с. 609]. Скупчення лімфоїдної тканини в серозній оболонці і її структурах розглядаються як молочна пляма, функції якої тісно пов'язані з лімфатичною системою. Тому Yildirim A. (2010) і Hryn V. (2022) вважають подібні лімфоїдні скупчення імунними фабриками серозних оболонок [10, с. 759]. Незважаючи на те, що ще в 1921 році вчені наголошували на наявності молочних плям у черевній порожнині та їх велике біологічне значення, результатів експериментальних досліджень, пов'язаних з молочними плямами все ще залишається відносно мало.

На сьогодні існує необхідність у деталізації клітинного складу молочних плям в нормі і під дією чинників різної природи.

Новизна роботи полягає у дослідженні особливостей розподілу молочних плям у брижі товстого кишківника у самців білих щурів.

Мета: виявити молочні плями, дослідити топографію і їх структуру в брижі товстого кишківника у самців білих щурів в нормі.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконували на 10 самцях білих щурів масою тіла 168–220 г ($n=20$). Лабораторні тварини утримувались в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом освітлення при температурі (22 ± 2)°C, відносній вологості повітря (55 ± 5)%. Тварин тримали у віварії з природним циклом світло-темрява, регулювали температуру та вологість навколишнього середовища на стандартному раціоні харчування за умов вільного доступу до корму і питної води.

Розтин і забір матеріалу для подальших досліджень виконувалися в умовах адекватної анестезії з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р).

Виявлення та дослідження молочних плям у структурах брижі товстого кишківника проводили за допомогою пікринової кислоти з подальшим вивченням їх топографії та морфологічних особливостей за допомогою лупи [11, с. 170].

Вивчали нативні плівкові препарати брижі товстого кишківника з деталізацією розташування молочних плям в препараті [12, с. 97].

Фіксували в розчині Буена протягом 24 годин з наступним 2-годинним промиванням у проточній воді. Забарвлення гематоксиліном та еозином проводили звичайним способом (2–5 хв у гематоксиліні Ерліха, 0,5–1 хв в 1% розчині еозину з періодичною диференціацією 1% HCL). Підготовлені плівкові зразки фіксували в канадському бальзамі вивчали на різних збільшеннях мікроскопа.

Результати дослідження. В ході морфологічного дослідження серозної оболонки брижі товстого кишківника у самців білих щурів отримано дані про топографію, морфологію молочних плям в умовах норми.

Шляхом нанесення розчину пікринової кислоти на поверхню брижі товстого кишківника визначали топографію, розмір і морфологію лімфоїдної тканини її серозних оболонок (за методикою Волошина М.А.).

Виявлено, що в нормі молочні плями брижі товстого кишківника самців білих щурів представлені утвореннями округлої форми; діаметром 1–2 мкм; білого кольору; розташованими переважно поодинокі по досліджуваній площі брижі товстого кишківника (рис. 1).

Експериментально підтверджена наявність молочних плям переважно неправильної еліпсоподібної форми, що нагадували поодинокі білясту зернистість, і локалізувалися поблизу лімфоїдних вузлів і кровоносних капілярів.

Результати дослідження показали, що кількість молочних плям в середньому склала $4,0 \pm 0,02$ одиниць на стандартну досліджувану площу серозної оболонки брижі товстого кишківника; площа лімфоїдних утворень в середньому склала $0,8 \pm 0,04$ мм².

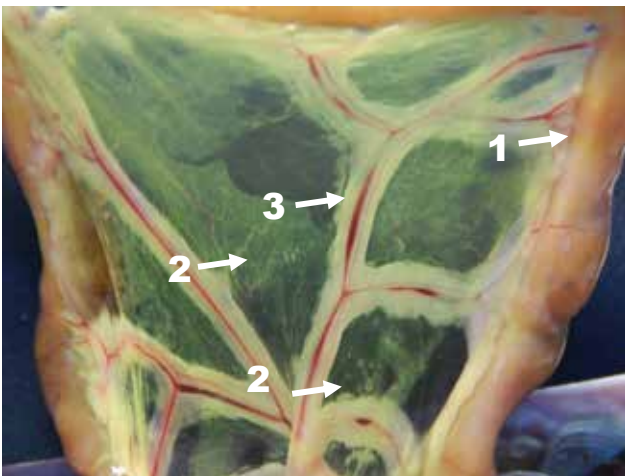


Рис. 1. Брижа товстого кишківника. Нативний плівковий препарат. Візуалізація молочних плям в структурі брижі шляхом підфарбування структур брижі пікриновою кислотою: 1 – товстий кишківник, 2 – молочні плями, 3 – кровоносні судини

В ході дослідження мікроскопічної будови молочних плям брижі товстого кишківника встановлена дифузна локалізація лімфоцитів, або наявність невеликих скупчень, що містили до 3-х клітин на стандартну досліджувану одиницю площі (рис. 2). Мікроскопічний аналіз дозволяє описати лімфоцити тканин брижі товстого кишківника як невеликі округлі клітини діаметром до 7 мкм з чіткими ядрами.

В ході кількісного аналізу встановили, що число досліджуваних клітин в середньому склало $5,8 \pm 0,02$ клітини на стандартну площу брижі товстого кишківника (1000 мкм²), що знаходиться в межах норми.

Молочні плями – це спеціалізовані утворення, що беруть участь у специфічних імунологічних реакціях, а клітини, що входять до складу плям, здійснюють фагоцитоз сторонніх структур, поглинають бактерії, мікрочастинки, а також синтезують антитіла [3, с. 138; 8, с. 433]. Завдяки цьому лімфоїдна тканина має здатність до очищення черевної порожнини. Вважається, що плями також беруть участь у резорбції рідини черевної порожнини [4, с. с. 727]. Молочні плями мають овоїдну, округлу або неправильну форму, непрозорі, білуваті, блідо-жовтого кольору і дуже схожі на жирові скупчення [10, с. 760].

За клітинним складом розрізняють наступні види молочних плям: 1) первинні, що присутні у великому чепці плодів, новонароджених та дітей молодшого віку і містять численні недиференційовані мезенхімальні клітини і не містять адипоцитів; 2) пасивні молочні плями містять численні адипоцити, невелику кількість імунокомпетентних клітин та недиференційовані мезенхімальні

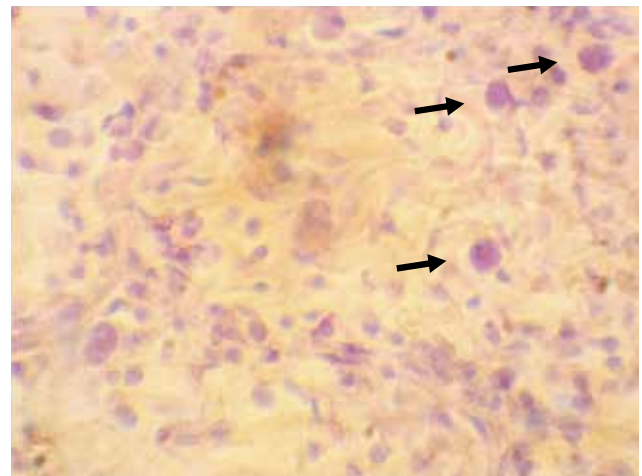


Рис. 2. Брижа товстого кишківника. Топографія лімфоцитів: дифузне розташування у самців білих щурів в нормі. Плівчастий препарат. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Заключення в канадський бальзам. Збільшення: 10x40

клітини; 3) активні молочні плями містять численні лімфоцити, недиференційовані мезенхімальні клітини, фібробласти та макрофаги і невелику кількість адипоцитів [5, с. 708; 9, с. 632].

Фізіологічне значення тісного зв'язку молочних плям з серозними оболонками вісцеральної і парієтальної очеревини потребує подальшого вивчення. Можливе припущення, що молочні плями відіграють своєспецифічну роль в підтримці імунної відповіді [10, с. 763].

Відкритим залишається питання щодо належності виявлених в молочних плямах лімфоцитів до різних субпопуляцій, динаміки їх кількості при дії чинників різної природи, що і стане метою подальших наукових досліджень.

Висновки. Результати досліджень розширили уявлення про топографію та структуру молочних плям в брижі товстого кишківника самців білих щурів у нормі. Виявлено молочні плями округлої форми, діаметром 1-2 мкм, білого кольору, поодинокі розташованими по площі брижі товстого кишківника. Кількість їх в середньому склала $4,0 \pm 0,02$ одиниць на досліджувану площу серозної оболонки брижі товстого кишківника; середній показник площі – $0,8 \pm 0,04$ мм². Виявлено і описано лімфоцити діаметром до 7 мкм з чіткими ядрами, кількість яких в середньому склала $5,8 \pm 0,02$ клітин на стандартну площу брижі товстого кишківника (1000 мкм²).

Література:

1. Havrlentová L., Faistová H., Mazur M., et al. Omentum majus and milky spots as an important part of the immune system. *Rozhl Chir.* 2017. № 96(9). P. 383–386.
2. Valerio D.N. Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. *Regenerative Therapy.* 2019. № 8(11). P. 182–91.
3. Ксьонз І.В., Костиленко Ю.П., Ляховський В.І., Коноплицький В.С., Максимовський В.С. Молочні плями великого чепця. 2023. №23(82). P.135–140.
4. Liu M., Silva-Sanchez A., Randall T.D., Meza-Perez S. Specialized immune responses in the peritoneal cavity and omentum. *J. Leukoc. Biol.* 2021. № 109(4). P. 717–729.
5. Kai Y. Intestinal villus structure contributes to even shedding of epithelial cells. *Biophysical Journal.* 2021. № 120. P. 699–710.
6. D'Alessio S., Correale C., Tacconi C., et al. VEGF-C-dependent stimulation of lymphatic function ameliorates experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest.* 2014. № 124. P. 3863–3878.
7. Daisuke S., Ji H.K., Shunichi S., Gen M., José F.R. Topographical anatomy of the greater omentum and transverse mesocolon: a study using human fetuses. *Anatomy and Cell Biology.* 2019. № 52. P. 443–454.
8. Schurink B., Cleypool C.J., Bleys R.L. A rapid and simple method for visualizing milky spots in large fixed tissue samples of the human greater omentum. *Biotech Histochem.* 2019. № 94(6). P. 429–434.
9. Liu Y., Hu J., Luo N., Zhao J., Liu S., Ma T. The Essential Involvement of the Omentum in the Peritoneal Defensive Mechanisms During Intra-Abdominal Sepsis. *Front Immunol.* 2021. № 18(12). P. 609–631.
10. Yildirim A., Aktaş A., Nergiz Y., Akkuş M. Analysis of human omentum-associated lymphoid tissue components with S-100: an immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol.* 2010. № 51(4). P. 759–764.
11. Волошин М.А., Чайковський Ю.Б., Куц О.Г. Основи імунології та імуноморфології. Запоріжжя-Київ. 2010. с. 170.
12. Пайдаркіна А. П., Куц О. Г. (2024) Морфофункціональні зміни очеревини і її структури при спайковій хворобі. *Вісник проблем біології і медицини.* 2024. № 1(172), С. 97–106.

References:

1. Havrlentová, L., Faistová, H., Mazur, M., et al. (2017). Omentum majus and milky spots as an important part of the immune system. *Rozhl Chir.* № 96(9), 383–386.
2. Valerio, D. N. (2019). Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. *Regenerative Therapy.* № 8(11), 182–91.
3. Ksonz, I.V., Kostylenko, Yu.P., Lyakhovskyy, VI, Konoplitsky, V.S., & Maksymovskyy, V.Ye. (2023). Molochni plyamy velykoho cheptsya [Milk spots of the big cap]. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny*, 23(82), 135–140 [in Ukrainian].
4. Liu, M., Silva-Sanchez, A., Randall, T. D., & Meza-Perez, S. (2021). Specialized immune responses in the peritoneal cavity and omentum. *J. Leukoc. Biol.* № 109(4), 717–729.
5. Kai, Y. (2021). Intestinal villus structure contributes to even shedding of epithelial cells. *Biophysical Journal*, 120, 699–710.
6. D'Alessio, S., Correale, C., Tacconi, C., et al. (2014). VEGF-C-dependent stimulation of lymphatic function ameliorates experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest.* № 124, 3863–78.
7. Daisuke, S., Ji, H.K., Shunichi, S., Gen, M., & José, F.R. (2019) Topographical anatomy of the greater omentum and transverse mesocolon: a study using human fetuses. *Anatomy and Cell Biology*, 52, 443–454.
8. Schurink, B., Cleypool, C. J., & Bleys, R. L. (2019). A rapid and simple method for visualizing milky spots in large fixed tissue samples of the human greater omentum. *Biotech Histochem*, 94(6), 429–34.

9. Liu, Y., Hu, J., Luo, N., Zhao, J., Liu, S., Ma, T. (2021) The Essential Involvement of the Omentum in the Peritoneal Defensive Mechanisms During Intra-Abdominal Sepsis. *Front Immunol*, 18(12), 631609.
 10. Yildirim, A., Aktaş, A., Nergiz, Y., Akkuş, M. (2010) Analysis of human omentum- associated lymphoid tissue components with S-100: an immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol*, 51(4), 759–64.
 11. Voloshyn, M.A., Chaykovskyy, Yu. B., Kushch, O.G. (2010) Osnovy imunolohiyi ta imunomorfolohiyi. [Fundamentals of immunology and immunomorphology]. Navchalno – metodychnyy posibnyk. Zaporizhzhya-Kyiv. 170 s. [in Ukrainian].
 12. Paidarkina, A. P., & Kushch, O. G. (2024). Morfofunktsional'ni zminy ochirevyny i yiyi struktury pry spaykoviy khvorobi [Morphofunctional changes of the peritoneum and its structures in adhesion disease]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*, 1(172), 97–106. [in Ukrainian].
-