

УДК 619:617:636.4

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С КОНЬЮНКТИВОЙ, У СВИНЕЙ

¹З.К. Каландарова, соискатель

²М. Райнахер, доктор ветеринарных наук, профессор

¹ Кыргызский национальный аграрный университет
им. К. И. Скрябина, Бишкек, Кыргызская Республика

² Институт ветеринарной патологии, Justus-Liebig-

University Giessen, Гисен, Германия

E-mail: zakiaoph@mail.ru

Ключевые слова: лимфoidная
ткань, ассоциированная с конь-
юнктивой, морфология, иммуно-
гистохимия, возраст, свиньи

Реферат. В конъюнктиве у свиней имеется локальная иммунная система – лимфoidная ткань, ассоциированная с конъюнктивой (ЛТАК). Она представлена лимфoidными клетками и лимфoidными узелками, а также высокоэндотелиальными венулами в субэпителиальной соединительной ткани конъюнктивы и непосредственно связана с конъюнктивальным эпителием. Проведенные исследования показывают, что ЛТАК является частью слизисто-ассоциированной лимфoidной ткани и морфологически похожа на кишечно-ассоциированную лимфoidную ткань и бронхо-ассоциированную лимфoidную ткань. Иммуногистохимические методы исследования стали неотъемлемой частью в проведении морфологических исследований лимфoidной ткани у разных видов животных. В литературе отсутствуют сведения о иммуногистохимических исследованиях ЛТАК у свиней, направленных на выявление основных иммунокомпетентных клеток и их распределения. Иммуногистохимическое окрашивание зафиксированных в формалине парафиновых срезов век у поросят и свиней с помощью стандартных иммуногистохимических (АВС и ПАП) методов с применением первичных антител к маркерам CD3, CD79a и PCNA соответственно дало положительные реакции с Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и бластными клетками в ЛТАК. Описано место расположения Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и бластных клеток в ЛТАК. Установлены морфофункциональные изменения в ЛТАК у свиней в зависимости от их возраста.

MORPHOLOGICAL AND IMMUNE HISTOCHEMICAL RESEARCH ON PIGS' ADENOID TISSUE ASSOCIATED WITH CONJUNCTIVAL TISSUE OF PIGS

¹Kalandarova Z.K., PhD-student

²Reinaher M., Dr. of Veterinary Sc., Professor

¹Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic

² Institute of Veterinary Pathology, Justus-Liebig-University Giessen, Giessen (Hessen), Germany

Key words: conjunctiva associated lymphoid tissue, morphology, immunohistochemistry, age, pigs.

Abstract. Pig's conjunctiva has local immune system, which is conjunctiva associated lymphoid tissue. It is represented by lymphoid cells and lymphoid tubercles as well as high endothelium venules in subepithelial connective tissue of conjunctiva connected with conjunctiva epithelium. The research shows that conjunctiva associated lymphoid tissue is a part of mucosal associated lymphoid tissue and morphologically similar to gut-associated lymphoid tissue and bronchoassociated lymphoid tissue. Immunohistochemical research methods are essential part of morphological research on lymphoid tissue of different animals. There are no data in literature about immunohistochemical research of pigs conjunctiva associated lymphoid tissue that are aimed at revealing main immune cells and their distribution. Immunohistochemical staining of paraffin section of pigs' lids fixed in formaline by means of standard immunohistochemical methods (ABC and PAP) with application of primary antibodies to markers CD3, CD79a and PCNA showed positive reactions with T-lymphocytes, B-lymphocytes and blast cells in conjunctiva associated lymphoid tissue. The paper describes location of T-lymphocytes, B-lymphocytes and blast cells in conjunctiva associated lymphoid tissue. The authors found out morphofunctional changes in pigs' conjunctiva associated lymphoid tissue in dependence of their age.

Вопросы морфологии, топографии и клеточного состава лимфоидной ткани, ассоциированной с конъюнктивой (ЛТАК), как часть лимфоидной системы организма, исследованы у человека [1–8], кроликов [9, 1, 10], индеек [11], макак [12, 13], коз [14], мышей [15], собак [16], бабуина (*Papio anubis*) [17], японской обезьяны [18], крупного рогатого скота [19], грызунов [20] и кошек [21]. Исследована часть гистологического строения ЛТАК у поросят и свиней в возрастном аспекте [22].

Проведенные исследования показывают, что ЛТАК является частью слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани и морфологически похожа на кишечно-ассоциированную лимфоидную ткань и бронхо-ассоциированную лимфоидную ткань [23].

Иммуногистохимические методы исследования стали неотъемлемой частью в проведении морфологических исследований лимфоидной ткани у разных видов животных [24–26].

Иммуногистохимическое выявление основных клеток иммунной системы и описание их распределения в ЛТАК проведены у человека [7, 8], крупного рогатого скота [19], кошек [21], грызунов [20], бабуинов [17], кроликов [9] и мышей [15].

В литературе отсутствуют сведения о иммуногистохимических исследованиях ЛТАК у свиней, направленных на выявление основных иммунокомпетентных клеток и их распределения.

Наличие ЛТАК у человека и вышеисследованных животных как локальной иммунной системы и их роль в защите глаз и паракриальных тканей вызвали научный интерес в исследовании ЛТАК и у других видов животных, в данном случае у свиней, используемых как продуктивное, так и экспериментальное животное в биомедицине.

Цель исследований – морфологическое исследование строения ЛТАК у свиней в возрастном аспекте и выявление в нем основных иммунокомпетентных клеток с помощью гистологических и иммуногистохимических методов исследований.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материал для исследования брали во время забоя поросят и свиней в убойном пункте, расположенном недалеко от г. Бишкека. После забоя 18 голов поросят и свиней все их органы были подвергнуты детальному осмотру для исключения каких-либо патологий в органах. Объектами исследования служили конъюнктивы нижних и верхних век глаз от 18 голов поросят и свиней крупной белой поро-

ды, в том числе 3 головы – 5–7-дневные поросята, 3 головы – 2-месячные поросята, 6 голов – 6-месячные подсывинки и 6 голов – 12-месячные свиньи.

При взятии материала от поросят и свиней соблюдали общепринятые требования международной Хельсинской декларации о гуманном отношении к подопытным животным. Сбор материала и ряд гистологических исследований проведены на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии КНАУ им. К.И. Скрябина, а другая часть гистологических, гистохимических и иммуногистохимических исследований – в Институте ветеринарной патологии факультета ветеринарной медицины Юстус-Либих университета (Гисен, Германия).

Верхние и нижние веки глаз поросят и свиней сразу же после забоя и осмотра были зафиксированы в 4%-м водном растворе нейтрального формалина (в соответствии с методикой). После фиксации дальнейшая гистологическая процедура (обезвоживание, заключение в парафин кусочков век и приготовление парафиновых блоков) производилась в обычных лабораторных условиях (вручную) и в гистологическом процессоре Tissue-Tek VIP (Sakura Finetek Germany GmbH, Staufen, Германия) и в системе заливки парафиновых блоков Tissue-Tek (Sakura Finetek Germany GmbH, Staufen, Германия). Из парафиновых блоков готовились серийные срезы толщиной 5 мкм на ротационном микротоме RM 2255 (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Германия). Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином для общего описания структуры и клеток ЛТАК, по ШИК-реакции для выявления бокаловидных клеток, по Эластика-ван Гизону и по Гомори соответственно для выявления коллагеновых и ретикулярных волокон.

Для демонстрации Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и пролиферации клеток в парафиновых срезах применяли следующие первичные антитела и стандартные иммуногистохимические методы: поликлональное кроличье антитело к маркеру Т-лимфоцитов CD3 (номер кода А 0452, DakoCytomation, Дания) (пероксидазно-антипероксидазный (ПАП) метод) для выявления Т-лимфоцитов; моноклональное мышиное антитело к маркеру В-лимфоцитов CD79a – очищенное (клон НМ 57, Acris Antibodies GmbH, Германия) (АВС-метод – метод с использованием авидин-биотинных комплексов) для выявления В-лимфоцитов; моноклональное мышиное антитело к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA-ядерный антиген пролиферирующих клеток) (клон PC 10, номер кода 0879, DakoCytomation,

Дания) (ПАП-метод) для выявления пролиферации клеток. Для визуализации реакций применяли субстрат и краситель: 0,05 ДАБ (3,3-диамино-бензидин-тетрагидрохлорид дигидрат) (Fluka, номер по каталогу 32750, Германия).

В ходе проведения иммуногистохимического окрашивания для контроля параллельно проводились отрицательные контрольные исследования.

Иммуногистохимическое исследование исследуемого материала проводилось согласно протоколам фирм-производителей с применением специального планшета Coverplates, Shandon Racks, Thermo Scientific (Германия), предназначенного для ручного иммуногистохимического окрашивания. При положительной реакции CD3-позитивные клетки (Т-лимфоциты), CD79a-позитивные клетки (В-лимфоциты), клетки в состоянии пролиферации окрашивались в коричневый цвет. После проведения иммуногистохимических реакций срезы докрашивали гематоксилином.

Препараты просматривали под бинокулярным микроскопом Nikon ECLIPSE 80 i с экраном (Nikon GmbH, Duesseldorf, Германия).

Электронные версии микрофотографий также готовили на данном микроскопе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование ЛТАК у поросят и свиней. У 5–7-дневных поросят слоистый эпителий конъюнктивы состоит из цилиндрических и кубических эпителиальных клеток, бокаловидных клеток и содержит единичные лимфоциты в субэпителиальной соединительной ткани (рис. 1, а). Бокаловидные клетки из-за слабого развития не были распределены равномерно по всей поверхности конъюнктивы (см. рис. 1, б). Лимфоидные узелки в субэпителиальной соединительной ткани конъюнктивы отсутствуют. В субэпителиальной соединительной ткани содержатся коллагеновые, эластические (см. рис. 1, в) и ретикулярные волокна (см. рис. 1, г) с преобладанием коллагеновых (см. рис. 1, в) волокон. Гистологически КАЛТ у поросят в возрасте 5–7 дней имеет морфологическую схожесть с КАЛТ у новорожденных кроликов и индекса [9,11].

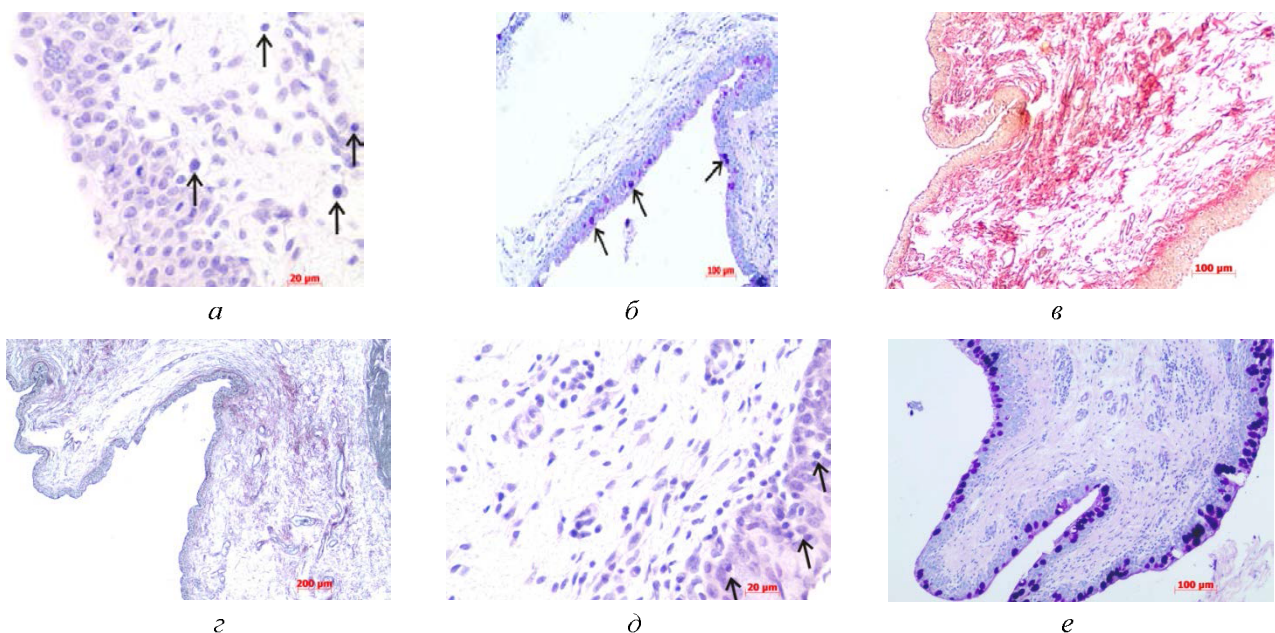


Рис. 1. Конъюнктива глаз 5-дневного (а–г) поросенка и двухмесячного поросенка (д–е): а – наличие единичных субэпителиальных лимфоцитов (стрелки), гематоксилин-эозин, Bar = 20 µm; б – наличие отдельных бокаловидных клеток в эпителиальном слое конъюнктивы (стрелки), ШИК-реакция, Bar = 100 µm; в – преобладание коллагеновых волокон над эластическими в субэпителиальной соединительной ткани, Эластика – ван Гизон, Bar = 100 µm; г – ретикулярные волокна в субэпителиальной соединительной ткани, Гомори, Bar = 200 µm; д – наличие субэпителиальных лимфоцитов, плазматических клеток и интраэпителиальных лимфоцитов (стрелки), гематоксилин-эозин, Bar = 20 µm; е – количество бокаловидных клеток увеличено по сравнению с 5–7 дневными поросятами, ШИК-реакция, Bar = 100 µm. Conjunctiva of the piglets aged 5 days (a-d) and 2 months (e-f): a – sporadic subepithelial lymphocytes, hematoxylin-eosin, Bar = 20 µm; b – beaker cells in epithelium of conjunctiva. Periodic acid Schiff reaction, Bar = 100 µm; c – domination of collagen fibres over elastic fibres in subepithelium of conjunctive tissue. Elastic–van Gieson's stain, Bar = 100 µm; d - argyrophilic fibers in subepithelial conjunctive tissue, Gomori, Bar = 200 µm; e – subepithelial lymphocytes, plasma cells, and intraepithelial lymphocytes, hematoxylin-eosin, Bar = 20 µm; f – the number of beaker cells is higher in comparison with piglets aged 5-7 days, Periodic acid Schiff reaction, Bar = 100 µm

У двухмесячных поросят лимфоциты и плазматические клетки (см. рис. 1, *д*), а также небольшое скопление лимфоцитов были обнаружены в субэпителиальной соединительной ткани и вокруг сосудов. Также в эпителиальном слое конъюнктивы встречаются интраэпителиальные лимфоциты (см. рис. 1, *д*). Бокаловидных клеток в конъюнктиве у двухмесячных поросят больше по сравнению с 5–7-дневными поросятами (см. рис. 1, *е*).

У свиней как 6-месячного, так и 12-месячного возраста субэпителиальная ткань конъюнктивы содержит лимфоциты и плазматические клетки, а также типичные лимфоидные узелки (рис. 2, *а*). Лимфоидные узелки могут располагаться единично или в одном месте может быть несколько лимфоидных узелков (см. рис. 2, *б*). В местах

конъюнктивы, где под эпителием располагаются лимфоидные узелки, эпителий истончен и содержит отдельные бокаловидные клетки или бокаловидные клетки отсутствуют (см. рис. 2, *б*). Тонкий, истонченный слой конъюнктивального эпителия, покрывающий лимфоидные узелки, содержал многочисленные интраэпителиальные лимфоциты. В субэпителиальной ткани конъюнктивы и на периферии лимфоидных узелков присутствовали высокоэндотелиальные венулы (см. рис. 2, *в*). Отдельные лимфоидные узелки имели герминативные центры. Лимфоидные узелки ЛТАК были окружены коллагеновыми, эластическими (см. рис. 2, *г*) и ретикулярными волокнами (см. рис. 2, *д*).

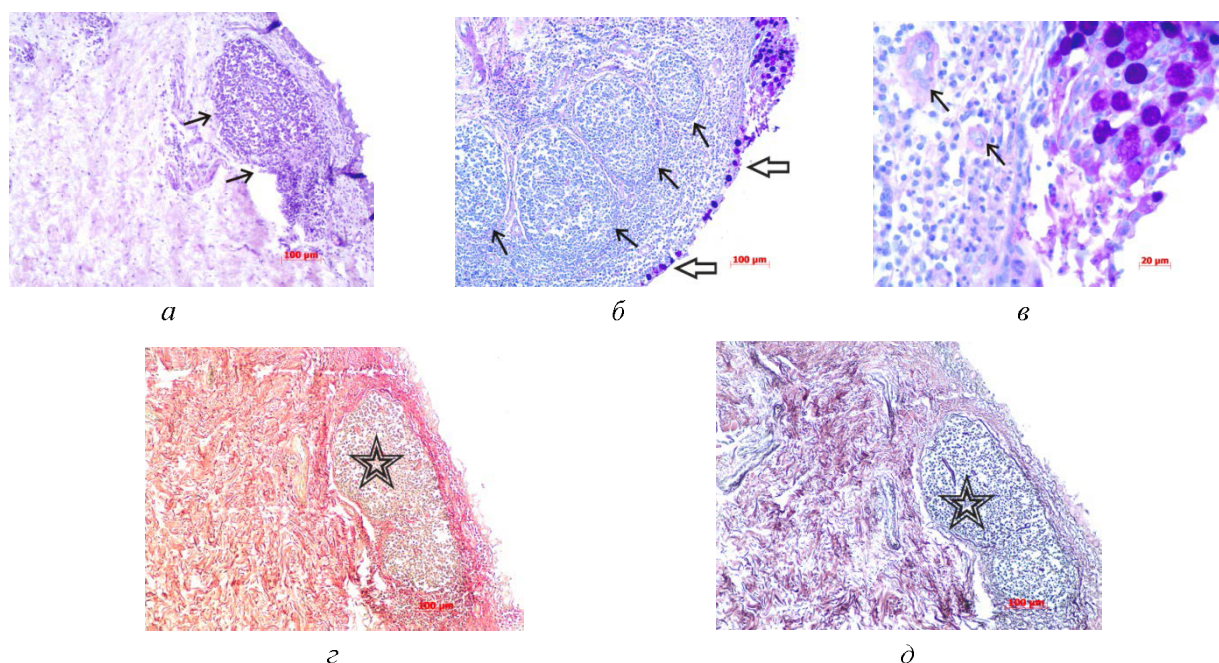


Рис. 2. Конъюнктива глаз 6-месячной свиньи: а – в субэпителиальной ткани конъюнктивы наличие лимфоидной ткани с типичным лимфоидным узелком (стрелки), гематоксилин-эозин, Bar = 100 µm; б – отмечено расположение 4 лимфоидных узелков различных размеров в субэпителиальной ткани конъюнктивы (черные стрелки); эпителий, покрывающий лимфоидные узелки, состоит из тонкого слоя эпителиальных клеток, включая отдельные бокаловидные клетки (белые стрелки), ШИК-реакция, Bar = 100 µm; в – увеличение участка рис. 2, б, видно наличие высокоэндотелиальных венул по периферии лимфоидных узелков в субэпителиальной ткани конъюнктивы (стрелки), ШИК-реакция, Bar = 20 µm; г – коллагеновые и эластические волокна окружают лимфоидные узелки, Эластика – ван Гизон, Bar = 100 µm; д – тот же участок, ретикулярные волокна окружают лимфоидные узелки, Гомори, Bar = 100 µm (Звездочками указаны места локализации лимфоидных узелков в ЛТАК)

Conjunctiva of 6 month pig: а – lymphoid tissue with typical lymphoid papules in subepithelial tissue of conjunctiva, hematoxylin-eosin, Bar = 100 µm; б – observed 4 lymphoid papules of different size in subepithelial tissue of conjunctiva; epithelium covering lymphoid papules consists of thin layer of epithelium cells and beaker cells, Periodic acid Schiff reaction, Bar = 100 µm; в – expansion of the plot picture 2, б, observed high endothelium venules on the surface of lymphoid papules in subepithelium tissue of conjunctiva, Periodic acid Schiff reaction, Bar = 20 µm; д – collagen and elastic tissues surround lymphoid papules, Elastic–van Gieson's stain, Bar = 100 µm; е – the same plot, reticular tissues surround lymphoid papules, Gomori, Bar = 100 µm, (pointed locations of lymphoid papules in conjunctiva associated lymphoid tissue)

Проведенными гистологическими и гистохимическими исследованиями показано, что у свиней в конъюнктиве имеется локальная лимфоидная ткань, ассоциированная с конъюнктивой. Эта специфическая структура представлена наличием лимфоидных клеток и лимфоидных узелков, а также высокоэндотелиальных венул в субэпителиальной соединительной ткани конъюнктивы и непосредственно связана с конъюнктивальным эпителием. Эта структура имеет морфологическое сходство с ЛТАК, которая исследована у других видов животных и человека [1–21].

Иммуногистохимическое исследование ЛТАК у поросят и свиней. У 5–7 дневных поросят в субэпителиальной соединительной ткани конъюнктивы содержались единичные CD3+

Т-лимфоциты (рис. 3, а), в то время как CD79a+ В-лимфоциты отсутствовали. Между многослойным эпителием конъюнктивы располагались единичные интраэпителиальные CD3+ Т-лимфоциты.

У двухмесячных поросят в субэпителиальной ткани конъюнктивы содержались как CD79a+ В-лимфоциты (см. рис. 3, б), так и CD3+ Т-лимфоциты (см. рис. 3, в). Между многослойным эпителием конъюнктивы имеются интраэпителиальные CD3+ Т-лимфоциты (см. рис. 3, в). Наличие пролиферации бластных клеток в субэпителиальном и эпителиальном слое конъюнктивы продемонстрировано с помощью моноклонального антитела к ядерному антигену пролиферирующих клеток (см. рис. 3, г).

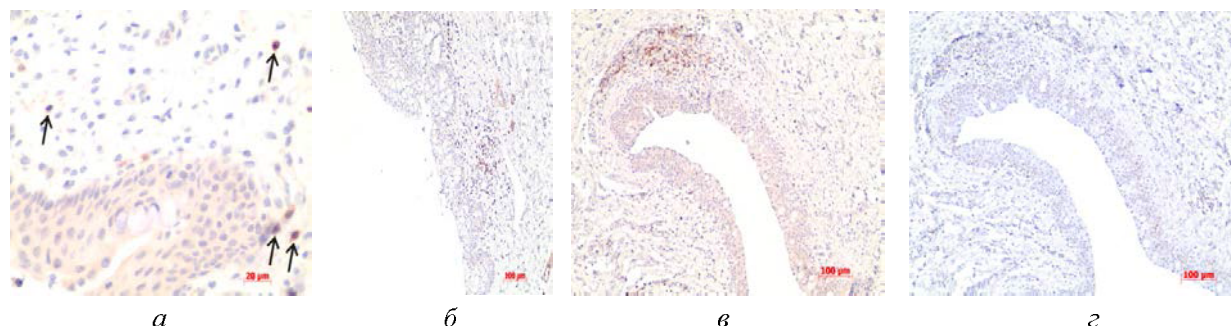


Рис. 3. Конъюнктура глаз 5-дневного (а) поросенка и двухмесячного (б – г): а – иммуногистохимическое окрашивание с анти-CD3-антителом, единичные CD3+ Т-лимфоциты в субэпителиальной соединительной ткани, PAP-метод, докраска гематоксилином, Bar = 20 μm; б – иммуногистохимическое окрашивание с анти-CD79a антителом, CD79a+ В-лимфоциты в субэпителиальной ткани конъюнктивы, ABC-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μm; в – иммуногистохимическое окрашивание с анти-CD3 антителом, CD3+ Т-лимфоциты в субэпителиальной ткани конъюнктивы, наличие интраэпителиальных CD3+ Т-лимфоцитов между эпителиальными клетками конъюнктивы, PAP-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μm; г – иммуногистохимическое окрашивание с анти-PCNA антителом, пролиферация бластных клеток в субэпителиальном и эпителиальном слое конъюнктивы, пролиферирующие клетки окрашены коричневым цветом, PAP-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μm

Conjunctiva of 5-days piglet (a) and 2-months piglet (b-d): a – Immunohistochemical staining with anti-CD3-antibodies, sporadic CD3 + T-lymphocytes in subepithelial conjunctive tissue, PAP-method, hematoxylin staining, Bar = 20 μm; b – Immunohistochemical staining with anti-CD79a antibody, CD79a+ B-lymphocytes in subepithelial tissue of conjunctiva, ABC-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μm; c - Immunohistochemical staining with anti-CD3 antibody, CD3+ T-lymphocytes in subepithelial conjunctive tissue, intraepithelial CD3+ T- lymphocytes between epithelial cells of conjunctiva, PAP-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μm; d - Immunohistochemical staining with anti -PCNA antibody, proliferation of blast cells in subepithelial and epithelium layer of conjunctiva, dividing cells are stained with brown colour, PAP-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μm

У свиней 6-месячного и 12-месячного возраста субэпителиальная ткань конъюнктивы содержала CD3+ Т-лимфоциты и CD79a+ В-лимфоциты. Лимфоидные узелки в основном состояли из CD79a+ В-лимфоцитов (рис. 4, а). Пролiferация лимфобластов была отмечена в герминативных центрах лимфоидных узелков (см. рис. 4, б). Большинство CD3+ Т-лимфоцитов было расположено вокруг лимфоидных узелков (см. рис. 4, в) и малое количество в герминативном центре лимфоидных узелков. CD3+

Т-лимфоциты имели прямой контакт с конъюнктивальным эпителием (см. рис. 4, в).

Таким образом, как показано на рис. 4, а и рис. 4, в, лимфоидные узелки и лимфоидные клетки, имея непосредственный контакт с эпителием конъюнктивы, создают структуру, называемую лимфоидная ткань, ассоциированная с конъюнктивой (ЛТАК), которая участвует в образовании локальной иммунной реакции против различных антигенов.

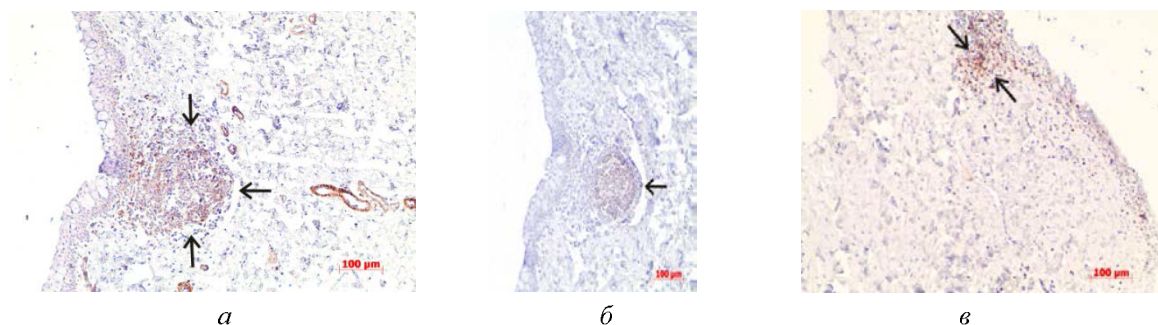


Рис. 4. Конъюнктива глаз 6-месячной (а, б) и 12-месячной (в) свиньи: а – иммуногистохимическое окрашивание с анти-CD79 α антителом, лимфоидный узелок в конъюнктиве состоит из CD79 α + В-лимфоцитов (стрелки), АВС-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μ m; б – иммуногистохимическое окрашивание с анти-PCNA антителом, отмечена пролиферация лимфоидных клеток в герминативном центре лимфоидного узелка (стрелки), РАР-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μ m; в – иммуногистохимическое окрашивание с анти-CD3 антителом. CD3+ Т-лимфоциты распределены вокруг небольшого лимфоидного узелка (стрелки), РАР-метод, докраска гематоксилином, Bar = 100 μ m

Conjunctiva of 6-months pig (a and b) and 12-months (c) pig: a – Immunohistochemical staining with anti-CD79 α antibody, lymphoid papule in the conjunctiva consists of CD79 α + В- lymphocytes, ABC-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μ m; b – Immunohistochemical staining with anti-PCNA antibody, proliferation of lymphoid cells in germinal center of lymphoid papule, PAP-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μ m; c – Immunohistochemical staining with anti-CD3 antibody. CD3+ Т- lymphocytes surround small lymphoid papule, PAP-method, hematoxylin staining, Bar = 100 μ m

Таким образом, иммуногистохимическое окрашивание зафиксированных в формалине парафиновых срезов век у поросят и свиней с помощью стандартных иммуногистохимических (АВС и ПАП) методов с применением первичных антител к маркерам CD3, CD79 α и PCNA соответственно дало положительные реакции с Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и бластными клетками.

ВЫВОДЫ

1. В конъюнктиве у свиней локализуется лимфоидная ткань (ЛТАК), состоящая из лимфоидных клеток, лимфоидных узелков, высоко-

эндотелиальных венул, которые предназначены для формирования локальной иммунной реакции и защиты паракриальных тканей глаз.

2. Первичные антитела: поликлональное кроличье антитело к маркеру Т-лимфоцитов CD3, моноклональное мышинное антитело к маркеру В-лимфоцитов CD79 α и моноклональное мышинное антитело к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA) – можно применять соответственно для выявления Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и пролиферации клеток в зафиксированных в формалине парафиновых срезах свиней.

3. Установлены морфофункциональные изменения в ЛТАК у свиней в зависимости от их возраста.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Knop E., Knop N. MALT tissue of the conjunctiva and nasolacrimal system in the rabbit and human// Vision Res. –1996. – Vol. 36. – P. 60.
2. Knop E., Knop N. Fine structure of high endothelial venules in the human conjunctiva// Ophthalmic Res. –1998. – Vol. 30. – P. 169.
3. Knop E., Knop N. High endothelial venules are a normal component of lymphoid tissue in the human conjunctiv and lacrimal sac// Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. –1998. – Vol. 39. – P. 548.
4. Knop E., Knop N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye – Components and topographical distribution// Ophthalmic Res. –1999. – Vol. 31. – P. 156.
5. Knop E., Knop N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye – Morphometric analysis of lymphoid follicles// Ophthalmic Res. –1999. – Vol. 31. – P. 63.
6. Knop E., Knop N. Eye-associated lymphoid tissue (EALT) is continuously spread throughout the ocular surface from the lacrimal gland to the lacrimal drainage system// Ophthalmologie. –2003. – Vol. 100. – P. 929–942.

7. Knop N., Knop E. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye// Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. –2000. – Vol. 42. – P.1270–1279.
8. Knop E., Knop N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection // J. Anat. –2005. – Vol. 206. – P.271–285.
9. Franklin R.M., Remus L. E. Conjunctival-associated lymphoid tissue: evidence for a role in the secretory immune system// Inv. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1984. – Vol. 25. – P.181–187.
10. Knop N., Knop E. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit reveals characteristics of M-cells, germinal centres and high endothelial venules// J. Anat. – 2005. – Vol. 207. – P. 409–426.
11. Fix A.S., Arp L. H. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in normal and Bordetella avium-infected turkeys// Vet. Pathol. –1989. – Vol. 26. – P. 222–230.
12. Ruskell G. L. Organization and cytology of lymphoid tissue in the cynomolgus monkey conjunctiva// Anat. Rec. –1995. – Vol. 243. – P.153–164.
13. Ruskell G. L. Sensory innervation of conjunctival lymph follicles in cynomolgus monkeys// Vision Research. – Vol. 35. – P. 149.
14. Light microscopic studies on the conjunctiva associated lymphoid tissue (CALT) of Angora goats / R.N. Asti, N. Kurtde, H. Altunay, A. Ozen // AU Vet. Fak. Derg. – 2000. – Vol. 47. – P. 31–37.
15. Histological study of conjunctiva-associated lymphoid tissue in mouse / T. Sakimoto, J. Shoji, N. Inada [et al.] // Jap. J. Ophthalmol. –2002. – Vol.46. – P. 364–369.
16. Giuliano E.A., Moore C.P., Phillips T.E. Morphological evidence of M cells in healthy canine conjunctiva-associated lymphoid tissue// Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 2002. – Vol. 240. – P. 220–226.
17. Astley R.A., Kennedy R. C., Chodosh J. Structural and cellular architecture of conjunctival lymphoid follicles in the baboon (Papio anubis) // Exp. Eye Res. –2003. – Vol. 76. – P. 685–694.
18. Ocular defense mechanisms with special reference to the demonstration and functional morphology of the conjunctiva-associated lymphoid tissue in Japanese monkeys / M. Kageyama, K. Nakatsuka, T. Yamaguchi [et al.] // Arch Histol Cytol. –2006. – Vol. 69 (5). – P.311–322.
19. Bayraktaroglu A. G., Asti R. N. Light and electron microscopic studies on Conjunctiva Associated Lymphoid Tissue (CALT) in cattle// Revue Med. Vet. – 2009. – Vol. 160, N 5. – P. 252–257.
20. Conjunctival Lymphoid Follicles in New World Rodents / R.A. Astley, J. Chodosh, W. Caire, G.M. Wilson // The Anatomical Record. –2007. – Vol. 290. – P.1190–1194.
21. Giuliano EA, Finn K. Characterization of membranous (M) cells in normal feline conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) // Vet. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 14, N 1. – P.60–66.
22. Каландарова З.К., Иргашев А.Ш., Арбаев К.С. Гистологическое строение конъюнктивно-ассоциированной лимфоидной ткани у свиней в возрастном аспекте // Вестн. АПК Верхневолжья. – 2016. – № 1 (33). – С. 55–59.
23. Liebler-Tenorio E., Pabst R. MALT structure and function in farm animals// Vet. Res. – 2006. – Vol. 37. – P. 257–280.
24. Асанова Э., Иргашев И.Ш., Manfred Reinacher. Иммуногистохимическое исследование лимфатических узлов яка // Исследования, результаты. –2008. – № 1. – С. 182–185.
25. Иргашев А. Ш., Касиева Г.К. Результаты гистологических и иммуногистохимических исследований лимфатических узлов крупного рогатого скота// Наука, новые технологии и инновации. –2013. –№ 4. – С. 158–161.
26. Алдаяров Н.С., Иргашев А. Ш. Гистологические и иммуногистохимические методы при диагностике чумы собак// Аграр. вестн. Верхневолжья. –2016. –№ 3. – С. 58–64.

REFERENCES

1. Knop E., Knop N., Vision Res., 1996, Vol. 36, 60 p.
2. Knop E., Knop N., Ophthalmic Res., 1998, Vol. 30, 169 p.
3. Knop E., Knop N., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1998, Vol. 39, 548 p.
4. Knop E., Knop N., Ophthalmic Res., 1999, Vol. 31, 156 p.
5. Knop E., Knop N., Ophthalmic Res., 1999, Vol.31, 63 p.
6. Knop E., Knop N., Ophthalmologe, 2003, Vol. 100, pp. 929–942.
7. Knop N., Knop E., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000, Vol. 42, pp.1270–1279.
8. Knop E., Knop N., J. Anat., 2005, Vol. 206, pp. 271–285.

9. Franklin R.M., Remus L.E., *Inv. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1984, Vol.25, pp. 181–187.
10. Knop N., Knop E., *J. Anat.*, 2005, Vol. 207, pp. 409–426.
11. Fix A.S., Arp L.H., *Vet. Pathol.*, 1989, Vol. 26, pp. 222–230.
12. Ruskell G.L., *Anat. Rec.*, 1995, Vol. 243, pp.153–164.
13. Ruskell G.L., *Vision Research.*, Vol. 35, 149 p.
14. Asti R.N., Kurtdede N., Altunay H., Ozen A., *AU Vet. Fak. Derg.*, 2000, Vol. 47, pp. 31–37.
15. Sakimoto T., Shoji J., Inada N., Saito K., Iwasaki Y., Sawa M., *Jap. J. Ophthalmol.*, 2002, Vol. 46, pp. 364–369.
16. Giuliano E.A., Moore C.P., Phillips T.E., *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2002, Vol. 240, pp. 220–226.
17. Astley R.A., Kennedy R.C., *Exp. Eye Res.*, 2003, Vol. 76, pp. 685–694.
18. Kageyama M, Nakatsuka K, Yamaguchi T, Owen RL, Shimada T., *Arch Histol Cytol.*, 2006, No. 5 (69), pp. 311–322.
19. Bayraktaroglu A.G., Asti R.N., *Revue Med. Vet.*, 2009, No. 5 (160), pp. 252–257.
20. Astley R.A., Chodosh J., Caire W. and Wilson G.M., *The Anatomical Record.*, 2007, Vol. 290, pp.1190–1194.
21. Giuliano EA, Finn K., *Vet. Ophthalmol.*, 2011, No. 1 (14), pp. 60–66.
22. Kalandarova Z.K., Irgashev A. Sh., Arbaev K.S., *Vestnik APK Verkhnevolzh'ya*, 2016, No. 1 (33), pp. 55–59. (In Russ.)
23. Liebler-Tenorio E., Pabst R., *Vet. Res.*, 2006, Vol. 37, pp. 257–280.
24. Asanova E., Irgashev I. Sh., Reinacher M., *Issledovaniya, rezul'taty*, 2008., No. 1, pp.182–185. (In Russ.)
25. Irgashev A. Sh., Kasieva G.K., *Nauka, novye tekhnologii i innovatsii*, 2013, No. 4, pp. 158–161. (In Russ.)
26. Aldayarov N.S., Irgashev A. Sh., *Agrarnyy Vestnik Verkhnevolzh'ya*, 2016, No. 3, pp. 58–64. (In Russ.)