

УДК (622.41+612.42):636.21

П.Н. Гаврилин

д. вет. н.

М.А. Лещева

к. вет. н.

Днепропетровский государственный аграрный университет

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТАНОВЛЕНИЯ ЗОНАЛЬНОЙ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ ПАРЕНХИМЫ ВТОРИЧНЫХ
ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ У ЗРЕЛОРОЖДАЮЩИХ ПРОДУКТИВНЫХ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

*Установлены закономерности структурно-функциональной дифференциации, специализации и интеграции паренхимы периферических лимфоидных органов у продуктивных зрелорождающих млекопитающих с плацентой десмохориального типа в пренатальном периоде онтогенеза (на примере вида *Bos primigenius taurus L.*). Выяснено, что в лимфатических узлах и селезенке быка домашнего (крупного рогатого скота) морфологические признаки иммунокомпетентности выявляются, начиная со второй половины внутриутробного периода (5-месячного возраста), а полный комплекс структурных маркеров иммунобиологической функции формируется на протяжении последних двух месяцев плодного периода.*

Постановка проблемы и анализ исследований

Итогом внедрения в последние годы в практику иммуноморфологии и иммунологии гистохимических методик стало установление факта структурно-функциональной специализации участков паренхимы периферических лимфоидных органов у млекопитающих и птиц при реализации их иммунобиологической функции [4, 9]. Выяснено, что отдельные зоны лимфоидной паренхимы состоят преимущественно из В-лимфоцитов, другие – из Т-лимфоцитов, третьи – из клеток обеих популяций [8].

Доказано также, что структурно-функциональные зоны в периферических лимфоидных органах формируют ряд идентичных по архитектонике комплексов – функциональных сегментов или компартментов [1]. Кроме того, в научных работах по иммунологии появилось целый ряд сообщений о выявлении в организме лабораторных животных на самых ранних стадиях их развития комплекса дефинитивных гуморальных и клеточных факторов иммунитета, что указывает на пренатальное становление основных механизмов иммунологической реактивности у млекопитающих [3, 6].

В ветеринарной медицине у продуктивных животных аспекты структурно-функциональной специализации паренхимы вторичных лимфоидных органов до настоящего времени практически не исследованы. Отсутствие единой точки зрения относительно становления морфологических критериев неспецифической и иммунологической реактивности у зрелорождающих домашних млекопитающих на ранних этапах онтогенеза в значительной степени затрудняет раскрытие патогенеза иммунодефицитных состояний у новорожденных, а также разработки эффективных методов иммунопрофилактики и иммунокоррекции в продуктивном животноводстве.

Цель и задачи исследований: определить особенности формирования структуры и возрастных преобразований функциональных зон и сегментов в паренхиме периферических лимфоидных органов (лимфатических узлах (ЛУ) и селезенке) у зрелорождающих млекопитающих с десмохориальным типом плаценты (на примере вида *Bos primigenius taurus L.* или крупного рогатого скота (КРС) в пренатальном онтогенезе на тканевом и клеточном уровнях структурной организации.

Объекты и методы исследований

Исследовали соматические, висцеральные ЛУ и селезенку у 2–9-месячных плодов крупного рогатого скота. Структурно-функциональные зоны паренхимы органов (корковое плато, паракортикальная зона (совокупность единиц глубокой коры), лимфатические узелки (ЛУЗ), мозговые тяжи, периартериальные лимфоидные муфты) и особенности их синтопии в пределах функциональных сегментов выявляли при помощи методики импрегнации тотальных срединных срезов органов серебром по Футу в авторской модификации [2], учитывая специфичность архитектоники сетей ретикулярных волокон в той или иной функциональной зоне паренхимы. Микроанатомические и цитологические качественные и количественные характеристики функциональных зон и сегментов органов определяли в гистопрепаратах окрашенных гематоксилином и эозином, азур II-еозином и метиловым зеленым-пиронином по Браше с использованием микроскопов МБС-10, Olympus CH-20 и CX-41. Относительную площадь функциональных зон паренхимы органов определяли гистометрической методикой „точечного счета” по Г.Г. Автандилову при помощи окулярных тестовых систем (вставок) с равноудаленными точками. Диаметр ЛУЗ – на микроскопе МБС-10 с окуляром 8×, имеющим вмонтированную морфометрическую линейную шкалу. Цитограммы отдельных функциональных зон органов определяли путем дифференциального подсчета 100 клеток в той или иной зоне не менее чем на 10 препаратах каждого органа в каждой возрастной группе с использованием иммерсионного объектива микроскопа Olympus CH-20, при тысячекратном увеличении.

Результаты исследований

При исследовании особенностей морфогенеза паренхимы вторичных лимфоидных органов у крупного рогатого скота в плодном периоде онтогенеза установлено, что четко выраженные признаки ее структурно-функциональной специализации впервые обнаруживаются у 5-месячных плодов. Характерно, что топографическое обособление функциональных зон в пределах паренхимы органов в ЛУ плодов связано с окончанием формирования системы лимфатических синусов, а в селезенке – периартериальных лимфоидных муфт.

Для структурно-функциональных зон паренхимы ЛУ 5-месячных плодов КРС характерна специфическая архитектоника ретикулярного остова и клеточный состав. Архитектоника сетей ретикулярных волокон в корковом

плато ЛУ плодов КРС – плетеновидная, единиц глубокой коры – сотовидная, мозговых тяжей – войлокоподобная, а в лимфатических узелках – в виде равномерных средне- и крупнопетлистых сетей. Функциональные зоны в паренхиме ЛУ 5-месячных плодов располагаются в определенной закономерности и в плоскости срединных сегментарных срезов образуют ряд идентичных сегментов или компартментов, отграниченных друг от друга мощными капсулярными трабекулами (рис. 1).



Рис. 1. Гистопрепарат нижнечелюстного лимфатического узла
5-месячного плода КРС:

1 – капсула, 2 – капсулярные трабекулы;
3 – корковое плато, 4 – единицы глубокой коры, 5 – мозговые тяжи.
Импрегнация серебром по Футу. × 100

Основой каждого сегмента ЛУ является участок паракортикальной зоны или единица глубокой коры (ЕГК), на периферии которой в виде относительно неширокой полоски локализуется корковое плато, на основе которого формируются единичные лимфатические узелки (ЛУЗ). Между единицами глубокой коры и воротным утолщением капсулы узлов располагаются многочисленные мозговые тяжи.

Наиболее развитыми структурно-функциональными зонами сегментов паренхимы ЛУ у 5-месячных плодов КРС являются ЕГК (относительная площадь 35,0–39,0%), затем следуют мозговые тяжи (34,0–36,0%). Относительная площадь коркового плато в ЛУ 5-месячных плодов не превышает 3,0–6,0%. ЛУЗ обнаруживаются во всех без исключения ЛУ 5-месячных плодов КРС, большая их часть при этом относится к первичным узелкам (без центров размножения) и локализуется преимущественно вдоль краевого синуса узлов и, как исключение, на боковых поверхностях ЕГК.

Общая относительная площадь ЛУЗ у 5-месячных плодов КРС не превышает 0,5–1,5%, а диаметр узелков варьирует от 87 до 237 мкм.

Относительная площадь периартериальных лимфоидных муфт в селезенке 5-месячных плодов КРС не превышает 11,0%. ЛУЗ на основе муфт не обнаруживаются.

На протяжении плодного периода количественное соотношение структурно-функциональных зон в паренхиме ЛУ плодов КРС существенно не изменяется. Относительная площадь ЕГК при этом характеризуется тенденцией к постепенному уменьшению (табл. 1), что связано, прежде всего, с развитием системы корковых синусов и капсулярных трабекул и особенно выражено в соматических ЛУ.

Таблица 1. Динамика относительной площади функциональных зон паренхимы ЛУ плодов КРС, % ($M \pm m$, $n=6$)

Функциональные зоны	Возраст, мес				
	5	6	7	8	9
Поверхностный шейный ЛУ					
Корковое плато	3,0±1,11	3,6±0,39	3,0±1,17	5,4±0,75	3,4±0,31*
Паракортикальная зона (ЕГК)	38,8±1,08	39,0±2,13	29,8±0,70**	26,6±1,34	23,7±1,60
Лимф. узелки (ЛВУ)	0,6±0,09	0,9±0,07*	1,0±0,12	1,5±0,20	0,9±0,01*
Мозговые тяжи	35,4±1,44	31,7±0,53*	40,2±1,23***	41,2±2,62	39,7±1,25
ЛУ тощей кишки					
Корковое плато	6,0±0,58	4,4±0,20*	3,6±0,19*	5,7±0,38**	4,5±0,32*
Паракортикальная зона (ЕГК)	35,1±0,94	29,4±2,16*	28,0±0,49	32,8±0,98**	32,2±0,95
Лимф. узелки (ЛВУ)	1,3±0,19	1,6±0,27	2,6±0,19*	2,1±0,39	2,4±0,46
Мозговые тяжи	36,8±0,96	42,6±0,97**	44,8±0,76	36,6±2,16**	36,8±1,82

Примечание: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

В отличие от ЕГК относительная площадь мозговых тяжей у плодов в соматических узлах на протяжении всего плодного периода умеренно увеличивается. В висцеральных же ЛУ данная тенденция наблюдается только до 7-месячного возраста. Динамика относительной площади коркового плато в ЛУ плодов КРС отличается выраженным периодическим характером, при этом максимальные значения данного показателя отмечаются у 5–6 и 8–9-месячных плодов, а минимальные – у 7-месячных. Относительная площадь ЛУЗ в ЛУ плодов КРС изменяется незначительно, с тенденцией до некоторого увеличения, что более всего выражено у 6–7-месячных плодов. В отличие от относительной площади диаметр ЛУЗ у плодов КРС до конца плодного периода постепенно увеличивается (до 150–400 мкм), что особенно выражено в висцеральных узлах. Характерно, что некоторое увеличение количества и

абсолютных размеров узелков не сопровождается ростом доли узелков с центрами размножения, которые до конца плодного периода выявляются как единичные. При этом в висцеральных узлах наблюдается начало процесса „проникновения” узелков в толщу лимфоидной паренхимы, что связано с развитием их на боковых поверхностях ЕГК, вдоль корковых промежуточных синусов. Динамика относительной площади периартериальных лимфоидных муфт в селезенке плодов КРС аналогична таковой в корковом плато ЛУ. Максимальный ее показатель (12,8%) отмечается у 9-месячных плодов, а минимальный (9,6%) – у 8-месячных. Признаки формирования ЛУЗ на основе периартериальных лимфоидных муфт в виде их незначительных боковых утолщений обнаруживаются только у 9-месячных плодов.

Плазматические клетки как маркеры иммунобиологической активности ЛУ впервые выявляются в мозговых тяжах ЛУ 6-месячных плодов КРС (табл. 2), их относительное количество в данной функциональной зоне до конца плодного периода достоверно возрастает. Единичные плазматические клетки обнаруживаются во всех функциональных зонах ЛУ плодов в последнюю треть плодного периода, при этом их относительное количество увеличивается в направлении ворот узлов, а максимальная концентрация наблюдается в висцеральных ЛУ 9-месячных плодов. В лимфоидной ткани селезенки плодов КРС плазматические клетки на протяжении всего плодного периода не обнаруживаются.

Таким образом, относительно высокая степень изоляции организма плода от антигенов, циркулирующих в крови матери, что характерно для продуктивных млекопитающих с десмохориальным типом взаимосвязи фетальной и материнской частей плаценты, к которым относится и крупный рогатый скот, не является лимитирующим фактором для дифференцировки паренхимы периферических лимфоидных органов плодов на структурно-функциональные зоны и сегменты с формированием комплекса морфологических признаков их иммунокомпетентности начиная со второй трети плодного периода. При этом становление в лимфоидных органах плодов системы маркеров иммунобиологической функции происходит на фоне сохранения целого ряда “эмбриональных” черт морфогенеза, к которым, прежде всего, принадлежат – относительная стабильность относительной площади всех функциональных зон узлов и, особенно, ЛУЗ на протяжении всего периода внутриутробного развития, а также минимальная степень развития узелков с центрами размножения в ЛУ и узелковой формы лимфоидной ткани в целом в селезенке.

Таблиця 2. Динаміка відносного кількості кліток в окремих функціональних зонах паренхіми поверхностного шийного ЛУ у плодів КРС, % (M±m, n=6)

Функц. зона	Клітки	Вік, міс						
		3 ¹	4 ¹	5	6	7	8	9
Коркове речовина								
Паракортикальна зона (ЕГК)	бласті і великі лімф.	3,4± 0,09	2,7± 0,03** *	1,0± 0,35	3,2± 1,39	1,0± 0,04	0,9± 0,04	0,9± 0,03
	середні лімф.	10,3± 1,47	9,6± 0,15	13,4± 0,57	19,8± 2,07*	16,8± 1,34	21,6± 3,41	30,7± 3,06
	малі лімф.	39,7± 2,91	42,2± 4,09	45,0± 3,00	49,6± 3,82*	58,4± 3,53	55,3± 4,03	53,8± 2,65
	ретиккулярні	45,7± 3,34	44,1± 1,14	39,4± 2,49	25,0± 4,79	22,2± 2,90	20,8± 1,17	13,1± 2,12**
	плазмат.	–	–	–	–	–	–	+
	макрофаги	–	0,4± 0,07	0,2± 0,02	+	0,2± 0,02	0,2± 0,02	0,5± 0,02
	гранулоцити	0,9± 0,03	1,0± 0,07	1,0± 0,04	2,4± 0,15***	1,4± 0,07***	1,2± 0,04*	1,0± 0,05**
Мозгове речовина								
Мозгові тяжі	бласті і великі лімф.	3,6± 0,08	2,3± 0,33**	1,8± 0,06	1,4± 0,45	1,2± 0,04	1,0± 0,19	0,3± 0,01**
	середні лімф.	9,2± 0,16	12,2± 0,14**	12,4± 1,98	9,6± 0,52	13,0± 2,47	23,3± 2,16**	20,2± 2,37
	малі лімф.	24,9± 2,18	25,7± 3,11	26,2± 2,07	34,6± 4,56	28,8± 3,05	30,7± 2,44	33,9± 3,58
	ретиккулярні	58,4± 3,37	55,1± 2,89	54,2± 2,28	45,8± 2,30*	54,4± 3,13*	41,8± 4,02*	43,0± 5,24
	плазмат.	–	–	–	0,6± 0,07	0,2± 0,02***	1,0± 0,02***	1,4± 0,06***
	макрофаги	+	+	0,2± 0,02	0,4± 0,07*	0,6± 0,03*	0,6± 0,02	0,3± 0,06***
	гранулоцити	3,9± 0,12	4,7± 0,70	5,2± 0,47	7,6± 0,57**	1,8± 0,21**	1,6± 0,30	0,9± 0,03*

Примечание: ¹ – відносне кількість кліток в корковому і мозговому речовині ЛУ при відсутності морфологічних ознак розділення їх на окремі функціональні зони;

+ – одиничні клітки в окремих полях зору;

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Формування в ЛУ плодів КРС окремих ЛУЗ з центрами розмноження може бути обумовлено антигенною стимуляцією відповідних частин їх паренхіми власними білками в стані денатурації [10], а також компонентами, якими мають антигенні властивості, які поступають з амніотичною рідиною і проникають без змін через ентероцити кишечника в внутрішню середовище організму [7].

Відносно висока ступінь пренатальної структурно-функціональної

зрелости периферических лимфоидных органов у КРС может быть, обусловлена значительным развитием у плодов данного вида млекопитающих костного скелета и костного мозга как структур обеспечивающих статус системы органов кроветворения и иммунной защиты в целом [5].

Формирование полного комплекса структурных маркеров иммунобиологической функции в большинстве вторичных лимфоидных органов КРС к концу плодного периода свидетельствует о соответствующих их функциональных возможностях в реализации процесса постнатальной адаптации новорожденных телят к условиям внеутробного существования, что необходимо учитывать при совершенствовании технологии выращивания телят молочного периода, а также проведении иммунопрофилактики и иммунокоррекции у молодняка данного вида животных на ранних этапах постнатального онтогенеза.

Выводы

Комплекс морфологических маркеров зональной структурно-функциональной специализации паренхимы в большинстве периферических лимфоидных органов плодов КРС выявляется начиная со второй половины плодного периода (у 5-месячных плодов).

Процесс зональной специализации паренхимы периферических лимфоидных органов у крупного рогатого скота в плодном периоде онтогенеза происходит в определенной последовательности:

- на первом этапе (5–7-месячные плоды) – формирование основных функциональных зон и сегментов с характерным стромальным микроокружением, в том числе лимфатических узелков с центрами размножения в лимфатических узлах;

- на втором этапе (8–9-месячные плоды) – становление полного комплекса морфологических признаков иммунокомпетентности функциональных сегментов во всех без исключения органах, в том числе и появление первичных лимфатических узелков в селезенке.

Специфичность клеточного состава функциональных зон паренхимы периферических лимфоидных органов у плодов крупного рогатого скота наблюдается с момента их структурного обособления. Плазматические клетки обнаруживаются только в функциональных зонах паренхимы лимфатических узлов, граничащих с лимфатическими синусами, начиная со второй трети плодного периода, а их относительное количество с возрастом имеет тенденцию к увеличению, что особенно характерно для мозговых тяжей висцеральных узлов.

Функциональные сегменты в лимфатических узлах крупного рогатого скота в пренатальном онтогенезе формируются параллельно с развитием структурно-функциональных зон и характеризуются единым принципом строения и морфологической полярностью (концентрацией основных зон у устья приносящих лимфатических синусов, вдоль краевого синуса). Зоны функциональных сегментов с потенциалом антигензависимой клеточной пролиферации отличаются шаровидной пространственной конфигурацией, а с

потенциалом антителогенеза – цилиндроподобной. Развитие в пределах функциональных сегментов лимфатических узелков сопровождается изменением характера их локализации – проникновение в толщу паренхимы вдоль корковых синусов и боковых поверхностей единиц глубокой коры.

Перспективы дальнейших исследований

Установленные особенности морфогенеза структурно-функциональных зон и сегментов у крупного рогатого скота в пренатальном онтогенезе на тканевом и клеточном уровнях структурной организации указывают на необходимость определения закономерностей динамики специфичных молекул-рецепторов или молекулярных маркеров различных субпопуляций и групп иммунокомпетентных клеток методами иммуногисто- и цитохимии. Это позволит сформировать целостное и максимально объективное представление об особенностях внутриутробного структурно-функционального статуса потенциально антигенреактивных структур у зрелорождающих млекопитающих с непроницаемой для материнских антител плацентой, что может быть использовано при решении проблемы иммунопрофилактики и иммунокоррекции у домашних млекопитающих на ранних этапах онтогенеза.

Литература

1. *Выренков Ю.Е., Шишло В.К., Антропова Ю.Г.* Компаратмент – структурно-функциональная единица лимфатического узла // Пробл. клинической и экспериментальной морфологии. – Новосибирск, 1992. – С. 40–42.
2. *Гаврилин П.Н.* Модификация способа импрегнации серебром по Футу гистотопограмм органов кроветворения, изготовленных на микротоме-криостате // Вісник морфології. – 1999. – Т.5, №1. – С. 106–108.
3. *Иммунология / Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых, Д.А. Девришов и др.* – М.: “Колос-Пресс”, 2002. – 345 с.
4. *Красников Г.А., Шутченко П.А.* Субпопуляции иммунокомпетентных клеток в селезенке и фабрициевой бурсе SPF-цыплят // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2005. – Т.1., Вип. 85. – С. 608–611.
5. *Криштофорова Б.В., Лемеценко В.В., Стегней Ж.Г.* Біологічні основи ветеринарної неонатології. – Сімферополь: “Редакція газети Терра Таврика”, 2007. – 368 с.
6. *Маслянюк Г.П.* Основи імунобіології. – Львів: Вертикаль, 1999. – 345 с.
7. *Мельничук Д.О., Усаток П.В., Цвіліховський М.І.* Трансепітеліальний механізм формування колострального імунітету у новонароджених телят // Наук. вісн. Нац. аграр. ун-ту. – К.: НАУ, 1998. – №11. – С. 17–19.
8. *Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.* Иммунология : Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – С. 44–58.
9. *Ройт А.* Основы иммунологии : Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – С. 101–105.
10. *Сапин М.Р., Этинген Л.Е.* Иммуная система человека. – М.: Медицина, 1996. – 304 с.