

С.К. Рудик

д. вет. н.

Ю.Б. Борисевич

аспірант

Національний аграрний університет, м. Київ

ГІСТОМОРФОЛОГІЯ І ГІСТОХІМІЯ ЛІМФОЇДНОГО ШАРУ КОН'ЮНКТИВИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Лімфоїдний апарат кон'юнктиви молодняка великої рогатої худоби є відносно незрілим; він знаходиться у стадії незавершеного формування. Лімфоїдний апарат кон'юнктиви корів є остаточно сформованим і характеризується здатністю до місцевої імунної відповіді.

Постановка проблеми

У виконанні бар'єрної функції кон'юнктиви поряд з епітелієм важливу роль відіграє підслизистий лімфоїдний прошарок, у зв'язку з чим цілісне уявлення про

приспосувально-захисні механізми сполучної оболонки ока без вивчення лімфоїдного апарату останньої буде неповним.

Мета та завдання дослідження – вивчити морфофункціональні особливості лімфоїдного шару кон'юнктиви великої рогатої худоби.

Об'єкти та методика дослідження

У молодняку і корів після їх забою висікали шматочки сполучної оболонки ока; фіксацію проводили в 10 %-му нейтральному формаліні і рідині Карнуа. Заморожені і парафінові зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за Ван Гізон; гістохімічно визначали ДНК (за Фельгеним), РНК (за Браше), глікоген за Шабадашем, лужну (ЛФ) і кислу фосфатазу (КФ) за методом Гоморі-Такамачу [1, 2]. Цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням т-критерію за Стьюдентом на персональному комп'ютері (програма «Статистика»).

Результати досліджень

Елементи лімфоїдного апарату сполучної оболонки ока у вигляді дифузних лімфоїдних скупчень і лімфоїдних вузликів розташовуються під епітелієм кон'юнктиви повік і склепіння. Основна маса клітинних елементів лімфоїдного прошарку представлена лімфоцитами. Їх розмір 10–12 мкм, форма кругла або овальна, цитоплазма нешироким обідком оточує ядро, її колір синювато-блакитний, перинуклеарне просвітлення відсутнє, зернистості немає або видні окремі пилоподібні зернятка. Ядро, як правило, розташоване дещо ексцентрично, хроматин має характерну грубогрудкувату структуру.

Лімфоїмуноцити – лімфоцити, які зустрічаються в основному у корів. Це крупні (15–20 мкм) клітини, часто овальної або неправильної форми. Цитоплазма широка, нерідко займає половину площі клітини.

Такий трансформований лімфоцит нагадує плазмоцит; в його цитоплазмі виявляється чітка реакція на РНК, що вважається ознакою синтезу імуноглобулінів [3, 4].

Імуноцит – варіант лімфоїмуноцита; власне це плазматична клітина (плазмоцит) – основний продуцент імуноглобулінів [4, 5]. Клітина розміром 12–17 мкм, округла або овальна, цитоплазма світло-блакитна, іноді з темним кантом по периферії і з вакуолізацією. Нерідко зустрічається азурофільна зернистість. Навколо ядра перинуклеарне просвітлення цитоплазми. Цитоплазма округлої або овальної форми, нагадує вуаль. Ядро займає дещо менше половини площі клітини, розташовується центрально або дещо ексцентрично. Структура хроматину в ядрі нагадує розміщення позначок на циферблаті годинника або спиць у колесі. Гістохімічною відмінністю типових зрілих плазмоцидів є виражена реакція на РНК, яка особливо чітко проявляється при застосуванні реакції Браше (метиловий зелений – піронін) з контролем РНК-азою.

Більшість типових лімфоцитів у гістопрепараті – це відносно невеликі (7–8 мкм) клітини (малі лімфоцити) з дуже вузьким обідком цитоплазми, яка може лише частково охоплювати ядро; частина лімфоцитів має дещо більші

розміри (9–12 мкм); ці лімфоцити називають середніми. Останні мають більш розвинену цитоплазму, нерідко з ознаками піронінофільії. Крупні лімфоцити мають розміри 13–15 мкм, характеризуються розвинутою піронінофільною цитоплазмою; їх також відносять до продуцентів імуноглобулінів. Ядро має всі риси зрілої клітини з грубою структурою хроматину, часто воно розташовується так само ексцентрично, як і у плазматичних клітинах.

Унаслідок слабо розвинутої основної пластинки (базальної мембрани) епітелій кон'юнктиви тісно контактує з підсліднім лімфоїдним шаром. Структура і клітинний склад лімфоїдної тканини кон'юнктиви свідчать про її здатність продукувати імуноглобуліни. Постійно виявляються ретикулярні клітини, макрофаги, малі, середні і великі лімфоцити, лімфоцитоподібні елементи з розвинутою цитоплазмою, а також клітини плазмоцитарного ряду (незрілі перехідні і зрілі плазмоцити).

Широкоплазменні лімфоцити і плазматичні клітини є основними продуцентами антитіл [3, 4].

У молодняку підепітеліальна лімфоїдна тканина відносно мало розвинута. Тут переважають дифузні скупчення рідко розсіяних лімфоїдних клітинних елементів і міститься порівняно мало лімфоїдних вузликів. У дорослих тварин під епітелієм кон'юнктиви залягають обширні поля дифузної лімфоїдної тканини, серед якої розташовані або окремі лімфоїдні вузлики, або цілі групи таких утворень.

Особливості будови лімфоїдного шару сполучної оболонки ока представлені у таблиці 1.

Таблиця 1. Характеристика лімфоїдних вузликів кон'юнктиви великої рогатої худоби при дослідженні у полі зору мікроскопа (об'єктив 8, окуляр 10)

| Лімфоїдні вузлики | Телички 2–4міс. | Телиці 15–18 міс. | Корови 4–5 років | Корови 10–12 років |
|--|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|
| Кількість лімфатичних вузликів у полі зору мікроскопа | 1,6±0,27 | 2,26±0,27 | 5,0±0,22 | 4,4±0,49 |
| Лімфоїдні вузлики з гермінативними центрами у полі зору мікроскопа | 0,6±0,27 | 1,4±0,27 | 4,0±0,22 | 3,4±0,27 |
| Відсоток лімфоїдних вузликів з гермінативними центрами | 30,0±13,45 | 53,33±5,98 | 80,67±4,93 | 81,0±8,52 |
| Діаметр лімфоїдних вузликів, мкм | 131,8±2,56 | 173,4±2,65 | 247,0±5,83 | 250±4,48 |

Як видно з таблиці 1, кількість лімфатичних вузликів з віком у групі телички–телиці–корови 4–5-річного віку достовірно зростає ($P < 0,001$). У старих корів даний показник у зв'язку з інволютивними процесами достовірно зменшується ($P < 0,05$). У першому випадку це зумовлено посиленням здатності

кон'юнктиви до місцевої імунної функції, у другому випадку засвідчує сильне її зниження.

Найбільш активними є лімфоїдні вузлики зі світлими центрами, які вважаються продуцентами клітин лімфоцитарного ряду [4, 5]. Кількість таких вузликів у кон'юнктиві з віком тварин достовірно зростає ($P < 0,001$), що засвідчує вікове зростання імунологічної активності сполучної оболонки ока. Проте у старих корів припиняється зростання імунологічної активності кон'юнктиви, і остання залишається приблизно на такому ж рівні, як і у молодих корів, про що свідчать як абсолютні, так і відносні показники.

Важливим у характеристиці імунологічної активності лімфоїдної тканини є показники її клітинного складу (табл. 2).

Таблиця 2. Клітинний склад дифузної лімфоїдної тканини кон'юнктиви скелення великої рогатої худоби (об'єктів 90, окуляр 10)

| Клітини | Телички 2–4-міс | Телиці 15–18-міс | Корови 4–5-міс | Корови 10–12-років |
|---------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| Лімфоцити | 14,0±0,43 | 16,0±0,43 | 12,8±0,43 | 11,8±0,81 |
| Плазматичні клітини | 1,0±0,21 | 2,8±0,64 | 5,2±0,43 | 6,8±0,36 |
| Моноцити | 4,4±0,43 | 2,2±0,43 | 2,0±0,43 | 1,4±0,27 |
| Макрофаги | 2,8±0,43 | 4,6±0,43 | 6,0±0,64 | 5,0±0,67 |
| Тканинні базофіли | 1,6±0,21 | 2,2±0,43 | 2,2±0,43 | 3,2±0,76 |
| Фібробласти | 6,2±0,64 | 2,2±0,86 | 1,8±0,43 | 3,6±0,49 |

Як видно з таблиці 2, лімфоїдна тканина кон'юнктиви великої рогатої худоби містить переважно лімфоцити, серед яких постійно диференціюємо малі лімфоцити (діаметр – 7–9 мкм), середні (діаметр – 10–12 мкм) і великі (діаметр – 13–15 мкм). Плазматичні клітини як продуценти імуноглобулінів по відношенню до лімфоцитів складають: а) у теличок 2–4-х місяців – 7,14 %; б) у телиць 15–18 місяців – 17,5 %; в) у корів 4–5 років – 40,6 %; г) у корів 10–12 років – 57,63 %. Отже, з віком у великої рогатої худоби плазматизація лімфоїдної тканини помітно зростає, і при цьому, очевидно, збільшується продукування імуноглобулінів.

Моноцити є попередниками макрофагів. Макрофаги розглядаються як початкова ланка формування імунної відповіді. Ці клітини захоплюють і переробляють корпускулярні антигени до активної стартової молекулярної форми, яку презентують Т-лімфоцитам. Взаємодія макрофагів і Т-лімфоцитів вважається обов'язковою умовою для дозрівання Т-ефекторних клітин [6].

Тканинні базофіли є обов'язковим елементом розгортання імунологічної функції. Тучні клітини (мастоцити), які входять до складу лімфоїдної тканини, взаємодіють з усіма клітинами імунної системи, причому ця взаємодія здійснюється як дистантно, так і при безпосередньому контакті [5, 6].

Інтенсивна реакція в цитоплазмі лімфоцитарних елементів на РНК, глікоген та лужну фосфатазу свідчить про високу функціональну активність лімфоїдної тканини кон'юнктиви корів. Паралельно із цим у дифузних лімфоїдних скупченнях значно збільшується кількість кислофосфатазо-позитивних лімфоцитів, що, очевидно, зумовлено збільшенням вмісту цитотоксичних лімфоцитів, наскільки реакція на даний ензим відображає гідролітичну здатність клітинних елементів [7].

Утворення гермінативних (світлих) центрів у лімфатичних вузликах будь-якої локалізації, у тому числі і в кон'юнктиві, пов'язане з процесом поділу лімфоїдних клітин, тобто відображає інтенсивність місцевого лімфопоезу. У світлих центрах виявляються численні фігури мітотичного поділу лімфоїдних клітин. Останні нерідко тісно прилягають до розташованих тут ретикулоцитів та зрідка до фібробластів, що поодиночки виявляються у гермінативних центрах лімфоїдних вузликів.

У гермінативних центрах лімфоїдних вузликів кон'юнктиви виявляється значна кількість дендритних клітинних елементів, які згідно із сучасними поглядами [3, 4, 5] належать до системи мононуклеарних фагоцитів. Останні переформуються у своєрідні відросчаті макрофагальні клітини із збільшеною поверхнею захоплення антигенних часток. Ці клітинні елементи відіграють стартерну роль у процесах взаємодії в імунній відповіді [6].

Про активну роль лімфоїдної тканини сполучної оболонки ока у ділянці повік свідчить високий вміст у ній структурних і енергетичних речовин – ДНК, РНК, білків, полісахаридів, найбільша кількість яких виявляється у лімфоїдних вузликах [7]. Останні також містять максимальну кількість ЛФ та КФ.

У активно функціонуючих лімфоїдних вузликах, про що свідчить наявність світлих центрів, фігур мітозу, накопичення гранул глікогену, формується обширна крайова зона, так звана мантия, з великих і малих лімфоцитів, які масово мігрують від центру на периферію у випадках посилення антигенного подразнення.

У корів мантиї лімфоїдних вузликів дещо витягнуті у бік епітеліального шару, тісно з ним контактує. У лімфоїдних вузликах кон'юнктиви молодняка мантиї не виражені або відсутні зовсім.

Отже, лімфатичні вузлики з наявністю світлих гермінативних центрів є своєрідними зрілими лімфоїдними органами, які здатні здійснювати реакції імунітету. На нашу думку, у даному випадку ми маємо всі підстави трактувати гістофізіологічні параметри лімфоїдних утворень кон'юнктиви як відображення активно функціонуючого у дорослих тварин місцевого імунітету.

Лімфатичні вузлики без світлих центрів є “незрілими”; переважна більшість лімфоцитів у них не продукується *in situ*, а надходить з кровоносних капілярів.

Отже, формування дефінітивного лімфоїдного апарату кон'юнктиви здійснюється в основному у дорослих тварин. Лімфоїдна тканина у молодняка великої рогатої худоби не досягає дефінітивних кондицій, характерних для дорослих тварин, тому її можна вважати недостатньо зрілою.

Висновки

1. Лімфоїдний апарат кон'юнктиви молодняка великої рогатої худоби є відносно незрілим; він знаходиться у стадії незавершеного формування.
2. Лімфоїдний апарат кон'юнктиви корів є остаточно сформованим і характеризується здатністю до місцевої імунної відповіді.

Перспективи подальших досліджень

Деталізувати взаємовідношення епітеліального і лімфоїдного шарів кон'юнктиви у віковому аспекті.

Література

1. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навчальний посібник. – Житомир: «Полісся», 2005. – 258 с.
2. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов. – М.: Медицина, 1996. – 877 с.
3. Петров Р.В. Иммунология. – М.: Медицина, 1987. – 457 с.
4. Масляно Р.П. Основи імунобіології. – Львів: Вертикаль, 1999. – 472 с.
5. Кораблева Т.Р., Барсуков Н.П. Иммунные структуры органов пищеварения (учебное пособие). – Симферополь, 1997. – 79 с.
6. Борисевич В.Б. Защитно-приспособительные и патогенетические механизмы конъюнктивы домашних животных (Лекция). – К.: Изд-во УСХА, 1991. – 33 с.