

УДК 612.65:612.42:636.47

Н.М. Тішкіна

ст. викладач

П.М. Гаврилін

д. вет. н.

Дніпропетровський державний аграрний університет

**ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОАРХІТЕКТОНІКИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗОН
ПАРЕНХІМИ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У ПОРОСЯТ НЕОНАТАЛЬНОГО
І МОЛОЧНОГО ПЕРІОДІВ**

Досліджено динаміку клітинного складу функціональних зон паренхіми лімфатичних вузлів поросят 1-60 добового віку. Встановлено, що у поросят у перші дні після народження (до 15-добового віку) на тлі колострального імунітету, ріст популяції лімфоїдних клітин у всіх без винятку функціональних зонах паренхіми лімфатичних вузлів відбувається переважно за рахунок малих лімфоцитів. У подальшому (до 60-добового віку) – за рахунок плазматичних клітин і макрофагів, кількість яких збільшується в напрямку від ворітного до крайового синусів вузлів.

Постановка проблеми

У біології і ветеринарній медицині наразі домінуючим є положення про структурно-функціональну незрілість периферійних лімфоїдних органів у ссавців на ранніх стадіях постнатального періоду онтогенезу [1]. Це компенсується формуванням у перші години після народження так званого колострального пасивного імунітету в результаті трансепітеліальної міграції імуноглобулінів молозива до внутрішнього середовища організму новонародженого [2]. Ряд дослідників при цьому відмічають, що колостральний імунітет не є винятково пасивним, так як імуноглобуліни та інші біологічно активні речовини молозива викликають в організмі новонародженого “тахіфілаксогенний” ефект, результатом чого є активація клітинних факторів імунітету [3]. Б.В. Криштофоровою [4] висунута гіпотеза щодо ролі материнських імуноглобулінів як “стартових” антигенів, які активізують функції імунокомпетентних органів новонароджених тварин. Гіпотеза про стимулюючий вплив молозивних імуноглобулінів потребує експериментального і, передусім, морфологічного обґрунтування. Але закономірності морфогенезу органів імунної системи у новонароджених ссавців у період постнатальної адаптації на тлі колострального імунітету практично не досліджені. Встановлення особливостей структурно-функціональних перетворень паренхіми лімфоїдних органів у продуктивних ссавців на перших етапах постнатального періоду онтогенезу, з урахуванням її зональної спеціалізації, необхідне для формування адекватної уяви про можливу роль тих чи інших звичайних антигенних подразників, які поступають у відносно “стерильний” організм новонародженої тварини.

Мета наших досліджень – визначення особливостей динаміки цитоархітектоніки функціональних зон паренхіми лімфатичних вузлів у поросят неонатального і молочного періодів.

Об'єкти та методика досліджень

Досліджували лімфатичні вузли (ЛВ): соматичні (поверхневий шийний, поверхневий пахвинний, пахвовий ЛВ 1-го ребра) та вісцеральні (ЛВ порожньої кишки, ободової кишки, трахеобронхіальний ЛВ) відібрані від новонароджених, 3-, 5-, 10-, 15-, 20-, 30-добових (n=6) та 60-добових (n=5) поросят білої української породи – клінічно здорових, з характерними для породи та віку динамікою маси тіла та її середньодобовими приростами. Відібрані органи фіксували в 10%-му розчині нейтрального формаліну з подальшим заливанням у парафін-віск. Підрахунок клітин у функціональних зонах паренхіми ЛВ (кірковому плато, паракортикальній зоні або одиницях глибокої корі (ОГК), мозкових тяжах і лімфатичних вузликах (ЛВУЗ)) проводили на тонких (товщиною 3–5 мкм) парафінових зрізах, забарвлених азур II-еозином та метиловим зеленим-піроніном за Браше, з використанням світлового мікроскопа “Olympus CH-20” при тисячкратному збільшенні. Визначали цитограми в окремих функціональних зонах паренхіми вузлів підрахунком 100 клітин не менш ніж в 5 препаратах кожного органа у кожній віковій групі. На основі одержаних даних визначали середній відсотковий вміст або відносну кількість (ВК) кожного виду клітин (бластів, великих, середніх і малих лімфоцитів, плазматичних і ретикулярних клітин, макрофагів і гранулоцитів) в тій чи іншій функціональній зоні [5]. Статистичну обробку цифрових показників виконували з використанням стандартних програмних пакетів “Microsoft Excel”.

Результати дослідження

Отримані результати свідчать, що ознаки зональної структурно-функціональної спеціалізації паренхіми на клітинному рівні структурної організації в ЛВ поросят виявляються безпосередньо з моменту народження та характеризуються вираженою гетерогенністю клітинного складу в межах окремих ділянок лімфоїдної тканини зі значною перевагою лімфоїдних клітин над клітинами ретикулярної стромы і гранулоцитами. В цілому, у функціональних зонах паренхіми ЛВ у новонароджених поросят пропорційно їх віддаленню від ворітного синуса спостерігається тенденція до зменшення відносної кількості лімфоїдних клітин з відповідним збільшенням показника плазмоцитів.

Характерно, що цитограми окремих функціональних зон паренхіми лімфатичних вузлів новонароджених поросят щодо основних популяцій лімфоїдних клітин, за винятком плазматичних, не мають принципових відмінностей від аналогічних показників у поросят старших вікових груп. При цьому відносна кількість клітин кровотворного мікрооточення (ретикулярних клітин) у соматичних вузлах більша, ніж у вісцеральних, а у кровотворних (лімфоїдних клітин, макрофагів і гранулоцитів), навпаки – менша.

Серед лімфоїдних клітин у всіх без винятку функціональних зонах ЛВ новонароджених поросят переважають малі лімфоцити. ВК цих клітин має тенденцію до зменшення в межах кожного сегмента вузлів у напрямі від воріт вузла до крайового синуса. У результаті максимальна кількість малих

лімфоцитів реєструється в кірковому плато, а мінімальна – у мозкових тяжках, що більш виражено у вісцеральних ЛВ. ВК середніх лімфоцитів у всіх функціональних зонах ЛВ добових поросят майже рівнозначна і не перевищує 20–25 % загальної кількості клітин. ВК бластів і великих лімфоцитів серед лімфоїдних клітин мінімальна і не перевищує 1,5 %, при цьому їх відсоток значно вищий у функціональних зонах вісцеральних ЛВ, де він максимальний в лімфатичних вузликах (1,33–1,47 %), а мінімальний – у мозкових тяжках (0,27–0,33 %). Частка плазматичних клітин серед лімфоїдних клітин ЛВ новонароджених поросят також мінімальна і на відміну від малих лімфоцитів їх ВК зростає у напрямі від воріт органа до крайового синуса, що також більш виражено у вісцеральних вузлах. При чому максимальна їх кількість характерна для мозкових тяжів, а мінімальна – для кіркового плато. Кількість клітин кровотворного мікрооточення (ретикулярних клітин) у різних функціональних зонах паренхіми ЛВ новонароджених поросят не перевищує 8–15 %, причому більш чисельні вони в мозкових тяжках та паракортикальних зонах (одинацях глибокої кори) і менш чисельні у кірковому плато і лімфатичних вузликах. Макрофаги у ЛВ новонароджених поросят найбільш численні у лімфатичних вузликах і паракортикальних зонах, причому в кірковому плато і мозкових тяжках їх ВК майже рівнозначна і не перевищує 0,2–0,5 %. Гранулоцитів, на відміну від лімфоїдних клітин і макрофагів, більше в соматичних ЛВ новонароджених поросят. Їх ВК максимальна в мозкових тяжках і одинацях глибокої кори ЛВ, а мінімальна – у кірковому плато і лімфатичних вузликах. Характерно, що в окремих функціональних зонах ЛВ новонароджених поросят максимальна кількість гранулоцитів становить 4,5 %, а мінімальна не перевищує 0,2 %. Отримані нами результати свідчать, що у поросят до моменту народження морфологічні ознаки імунокомпетентності на клітинному рівні структурної організації найбільш виражені у вісцеральних ЛВ. Різний ступінь структурно-функціональної зрілості паренхіми ЛВ у новонароджених поросят може бути обумовлений особливостями взаємодії організму плода з факторами внутрішньоутробного середовища (амніотичною рідиною, вмістом травного каналу та інших трубкоподібних органів) [6].

Найбільш суттєві зміни цитограми лімфоїдної тканини ЛВ поросят протягом неонатального і молочного періодів зумовлені поступовим наростанням кількості лімфоїдних клітин у функціональних сегментах на тлі відповідного зменшення частки ретикулярних клітин, що особливо виражено у період новонародженості (до 15-добового віку). Серед функціональних зон ЛВ у поросят у перші два місяці їхнього життя найбільш насиченими кровотворними клітинами є кіркове плато, ЛВУЗ і паракортикальна зона, а найменш насиченими – мозкові тяжі. При цьому в мозкових тяжках ВК клітин ретикулярної стромы має максимальні показники упродовж всього неонатального та молочного періодів. При цьому більшою мірою вищевказана тенденція спостерігається в соматичних ЛВ, а саме в одинацях глибокої кори і кірковому плато.

Серед лімфоїдних клітин у поросят до 60-добового віку в функціональних зонах усіх ЛВ у найбільшій мірі зростає ВК бластів і великих лімфоцитів, а також плазматичних клітин. Максимально ВК клітин обох популяцій зростає в мозкових тяжах і менш виражено – у великих лімфоцитів у ЛВУЗ, а плазматичних клітин – у кірковому плато. Характерно, що ВК бластів і великих лімфоцитів у ЛВ поросят усіх вікових груп має тенденцію до збільшення в напрямі, протилежному течії лімфи – від мозкових тяжів до кіркового плато з ЛВУЗ, а ВК плазматичних клітин, навпаки – від функціональних зон кори вузлів до крайового синуса. При цьому ВК бластів, великих і малих лімфоцитів та динаміка її зростання у аналогічних функціональних зонах соматичних і вісцеральних ЛВ поросят не мають суттєвих відмінностей. ВК плазматичних клітин у всіх зонах функціональних сегментів вісцеральних ЛВ у поросят усіх вікових груп, починаючи з періоду новонародженості, перевищує відповідний показник соматичних ЛВ, а інтенсивність її зростання протягом неонатального та молочного періодів, навпаки, більш виражена в ЛВ соми.

На відміну від бластів, великих лімфоцитів і плазматичних клітин ВК малих лімфоцитів у функціональних зонах ЛВ поросят інтенсивно зростає тільки до 20-добового віку. Характерно, що інтенсивність збільшення ВК малих лімфоцитів в окремих функціональних зонах ЛВ обернено пропорційна їх відносному вмісту в добових поросят. Отже, найбільш виражене зростання ВК малих лімфоцитів відмічається в мозкових тяжах ЛВ, а мінімальне – в кірковому плато та ЛВУЗ, що у більшій мірі характерно для соматичних ЛВ поросят, ніж для вісцеральних.

Зниження ВК малих лімфоцитів у функціональних зонах ЛВ поросят з 20 до 60-добового віку, навпаки, прямо пропорційне їхній ВК у 20-добових тварин, що також більш виражено у соматичних ЛВ щодо вісцеральних. При цьому ВК малих лімфоцитів у вісцеральних ЛВ залишається на досить високому рівні практично до кінця молочного періоду. ВК середніх лімфоцитів у функціональних зонах ЛВ поросят протягом неонатального та молочного періодів координувана з відповідним показником малих лімфоцитів. При цьому збільшення ВК малих лімфоцитів супроводжується тенденцією до зменшення ВК середніх і навпаки. Отже, у більшості, насамперед, соматичних ЛВ поросят ВК середніх лімфоцитів у всіх без винятку функціональних зонах до 20-добового віку зменшується, а до 60-добового – зростає, але ніколи не досягає рівня, характерного для новонароджених тварин.

ВК макрофагів у ЛВ поросят протягом всього неонатального та молочного періодів не перевищує 1 % і з моменту народження і до 60-добового віку має виражену тенденцію до збільшення. У більшості соматичних і вісцеральних ЛВ поросят ВК макрофагів до кінця молочного періоду найбільш виражено зростає у функціональних зонах, які безпосередньо межують з лімфатичними синусами – у кірковому плато та мозкових тяжах, а найменше – в ОГК.

У поросят до 60-добового віку динаміка ВК гранулоцитів у більшості функціональних зон ЛВ як соматичних, так і вісцеральних не має чітко

виражених закономірностей. При цьому в функціональних зонах соматичних ЛВ максимальна, їх кількість характерна для новонароджених і 15–20-добових поросят, а у вісцеральних – для 3–5 і 10–15-добових.

Таким чином, протягом неонатального періоду (до 15-добового віку) збільшення відносної кількості лімфоїдних клітин у паренхімі ЛВ поросят відбувається переважно за рахунок великих і, особливо, малих лімфоцитів за відсутності суттєвих змін відносної кількості плазматичних клітин, частка яких вірогідно зростає лише у лімфатичних вузликах соматичних вузлів.

Враховуючи дані функціональної морфології лімфоїдних клітин у різних ділянках паренхіми ЛВ [7], можна припустити, що становлення потенціалу імунологічної реактивності у периферійних лімфоїдних органах свиней у неонатальному періоді на тлі наявності в організмі тварин максимальної кількості колостральних імуноглобулінів пов'язане, передусім, з розвитком клітинних факторів імунітету – Т-лімфоцитів в одиницях глибокої кори та клітин імунологічної пам'яті у лімфатичних вузликах.

На відміну від неонатального, у молочному періоді зростання популяції лімфоцитів у паренхімі ЛВ поросят зумовлене інтенсивною проліферацією плазматичних клітин, відносна кількість яких до кінця молочного періоду (60-добового віку) у різних функціональних зонах вузлів збільшується у 2–8 рази, більше у соматичних ЛВ у цілому і серед окремих зон у функціональних зонах кіркової речовини.

Аналіз закономірностей динаміки відносної кількості клітин паренхіми лімфатичних вузлів у поросят протягом молочного періоду дозволяє зробити припущення, що природне падіння рівня колострального імунітету компенсується посиленням синтезу гуморальних факторів імунологічної реактивності на зміну попередньої фази пріоритетного розвитку її клітинних компонентів.

Інтенсивний розвиток у поросят протягом молочного періоду морфологічних ознак функціональної активності гуморальної ланки імунітету супроводжується вираженим ростом відносної кількості макрофагів з функцією антигенпрезентуючих клітин [8], а також великих лімфоцитів, імовірно з функцією нормальних кілерів. Як наслідок, у тварин даного виду до кінця молочного періоду формується дефінітивна цитоархітектоніка лімфовузлів характерна для раннього постнатального періоду онтогенезу в цілому.

Отже, аналіз результатів наших досліджень свідчить, що у лімфатичних вузлах поросят до моменту народження формується повний комплекс морфологічних маркерів імунокомпетентності на клітинному рівні структурної організації. Інтенсивний розвиток функціональних клітинних структур у всіх зонах паренхіми вузлів починається з перших днів позаутробного існування з формуванням дефінітивної цитоархітектоніки функціональних сегментів органів до кінця молочного періоду. Отримані нами результати свідчать, що формування у поросят у перші дні після народження колострального імунітету [9] не є перешкодою для становлення антигенреактивних структур у периферійних лімфоїдних органах. Характер морфологічних змін, що

встановлений у паренхімі ЛВ поросят у неонатальний період, узгоджується з гіпотезою Б.В. Криштофорової [4] про стимулюючий вплив материнських антитіл на розвиток лімфоїдних органів і тканин новонароджених.

Висновки

1. Вікові зміни клітинного складу лімфатичних вузлів у поросят у перші два місяці їхнього життя зумовлені поступовим наростанням кількості лімфоїдних клітин у всіх функціональних зонах сегментів на тлі відповідного зменшення частки ретикулоцитів: у неонатальний період (до 15-добового віку) – переважно за рахунок малих лімфоцитів в одиницях глибокої кори і у лімфатичних вузликах; у молочний (до 60-добового віку) – плазматичних клітин у всіх без винятку зонах на тлі помірного збільшення відносної кількості макрофагів та великих лімфоцитів.

2. Встановлене зниження інтенсивності розвитку клітинних маркерів імунного статусу у поросят наприкінці неонатального періоду (до 15–20-добового віку) може бути наслідком природного зменшення стимулюючого впливу колостральних антитіл на відповідні функціональні зони периферійних лімфоїдних органів на тлі становлення їхніх власних адаптивних механізмів з відповідною стабілізацією розвитку морфологічних ознак функціональної активності.

Перспективи подальших досліджень

Для остаточного з'ясування механізмів структурно-функціонального перетворення паренхіми вторинних лімфоїдних органів під впливом імуноглобулінів молозива необхідно розширити комплекс методів досліджень з використанням радіоавтографічних, цитохімічних та імуногістохімічних методик.

Література

1. *Маслянюк Р.П.* Основи імунобіології // Органи імунної системи – Львів: Вертикаль, 1999. – С. 64–91.
2. *Штайнбах Г., Майер Х.* Основы иммунитета // Иммунопрофилактика болезней животных. – М.: Колос, 1981. – С. 41–103.
3. Специальные методы исследования новорожденных животных: Справочник / *И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др.* // Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. – М.: Агропромиздат, 1985. – С. 211–226.
4. *Криштофорова Б.В.* Вірогідні шляхи міграції материнських імуноглобулінів та їх вплив на розвиток плодів і життєздатність новонароджених телят // *Вет. медицина України.* – 2000. – № 8. – С. 14–15.
5. *Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І.* Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: Навч. посіб. – Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.
6. *Емельяненко П.А.* Иммунология животных в период внутриутробного развития. – М.: Агропромиздат, 1987. – 215 с.

7. Сапін М.Р., Этинген Л.Е. Иммуная система человека – М.: Медицина, 1996. – 304 с.
8. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
9. Тішкіна Н.М., Гаврилін П.М. Особливості динаміки клітинного складу функціональних зон паренхіми лімфатичних вузлів у поросят неонатального і молочного періодів // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Зб. наук. праць / Харківська держ. зоовет. акад. – Х.: РВВ ХДЗВА, 2006. – Вип. 13 (38). – Ч. 2: Ветеринарні науки. – С. 152–159.