

ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОАРХІТЕКТОНІКИ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ПЛОДІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Викладені результати аналізу динаміки клітинного складу лімфоїдної тканини селезінки у великої рогатої худоби в пренатальному періоді онтогенезу. Встановлені особливості цитоархітекτονіки білої пульпи селезінки у плодів 2–9-ти місячного віку. Встановлено, що початок формування периартеріальних лімфоїдних піхв починається у плодів 3-х місячного віку; чіткий розподіл паренхіми на червону та білу виявлено у плодів 5-ти місячного віку; а формування комплексу імунокомпетентності (первинних лімфоїдних вузликів) відбувається починаючи з 8-го місяця внутрішньоутробного розвитку. Основними клітинними елементами лімфоїдної тканини селезінки плодів великої рогатої худоби є малі і середні лімфоцити та ретикулярні клітини, а їх кількісна динаміка характеризується переважним збільшенням відсоткового вмісту малих лімфоцитів, поступовим зменшенням кількості середніх і великих лімфоцитів та бластних форм.

Ключові слова: селезінка, велика рогата худоба, біла пульпа, периартеріальні лімфоїдні піхви, клітинний склад.

Постановка проблеми

Широке використання імуногісто- та цитохімічних методик у класичній біології та гуманній медицині дозволило визначити закономірності локалізації різних груп і популяцій імунокомпетентних клітин в органах і тканинах ссавців [3, 6].

Аналіз даних закономірностей надав можливість сформулювати ряд нових положень відносно структурно-функціональної організації органів кровотворення та імунного захисту у людини і лабораторних тварин, основними

з яких є концепція про функціональну спеціалізацію (структурно-функціональну зональність) паренхіми, периферійних лімфоїдних органів та морфофункціональну інтеграцію різних клітинних зон із формуванням функціональних сегментів чи компартментів [7, 2].

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Відомо, що біла пульпа селезінки ссавців розділена на ряд функціональних зон, які локалізуються вздовж артеріального русла селезінки та мають специфічний клітинний склад. Основою усіх зон білої пульпи селезінки є ретикулярна тканина, а переважну більшість клітинних елементів складають клітини лімфоїдного ряду (малі та середні лімфоцити, плазматичні клітини). У незначній кількості серед клітин білої пульпи селезінки зустрічаються формені елементи крові. Пульпарні артерії оточені периартеріальними лімфатичними піхвами (ПАЛП), де основними клітинами є Т-лімфоцити, а також інтердигітатними антигенпрезентуючими клітинами, що здатні фіксувати на своїй поверхні комплекси антитіл з антигенами і сприяти проліферації та дозріванню Т-лімфоцитів. На основі ПАЛП формуються лімфатичні вузлики – В-залежні зони, що поділені на декілька зон: світлий центр, мантийну та маргінальну зону. В останній час до елементів білої пульпи селезінки віднесені так звані еліпсоїди (перикапілярні піхви), що сформовані ретикулярними клітинами, лімфоцитами і макрофагами [4, 5].

У той же час, особливості формування та динаміка клітинного складу даних структур у пренатальному періоді онтогенезу у продуктивних тварин, зокрема, великої рогатої худоби до теперішнього часу практично не досліджені.

Мета, завдання та методика досліджень

Метою наших досліджень було встановлення закономірності структурно-функціональної диференціації та спеціалізації білої пульпи селезінки та динаміки цитоархітектоніки її основних функціональних зон у бика свійського (великої рогатої худоби (ВРХ) в пренатальному періоді онтогенезу.

Робота виконана в лабораторії гістології, імуноцитохімії і патоморфології Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпропетровського ДАЕУ. Досліджували селезінку плодів ВРХ (2–9-місячного віку) по $n=3$ у кожній віковій групі. Відібраний матеріал фіксували у 10%-ому водному розчині нейтрального формаліну з подальшим заливанням у парафін за загальноприйнятими методиками [1]. Парафінові тонкі (3–5 мкм) гістозрізи селезінки отримували на санному мікромомі і фарбували гематоксиліном та еозином, азур II-еозином. Імпрегнацію зрізів азотнокислим сріблом за Футом проводили у модифікації Гавриліна. Імуногістохімічне забарвлення з метою виявлення Т-лімфоцитів проводили непрямим двоетапним методом Кунса з використанням моноклональних антитіл CD4 Ab-8 (моноклон 4B12, фірма Thermo Scientific). Підрахунок абсолютної кількості малих, середніх і великих

лімфоцитів, плазмочитів, макрофагів, ретикулярних клітин та інших у структурних компонентах білої пульпи селезінки (периартеріальній, мантийній, маргінальній зоні і центру розмноження лімфоїдних вузликів) здійснювали на кожні 100 клітин по кожній віковій групі на 3 препаратах і в 5 полях зору за допомогою мікроскопа «Olympus CX-41». На основі отриманих даних розраховували середній відсотковий вміст кожного з видів клітин лімфоїдної паренхіми органа.

Результати досліджень

Селезінка 2-місячних плодів представлена скупченням низько диференційованих клітин мезенхіми, серед яких зустрічаються поодинокі лімфоїдні клітини. По периферії та у товщі органа фібробластоподібні клітини формують капсулу. У товщі паренхіми органа можна розрізнити просвіти тонкостінних судин, які містять великі ядерні клітини еритроїдного ряду. Паренхіма не диференційована на червону та білу пульпу [рис. 1].

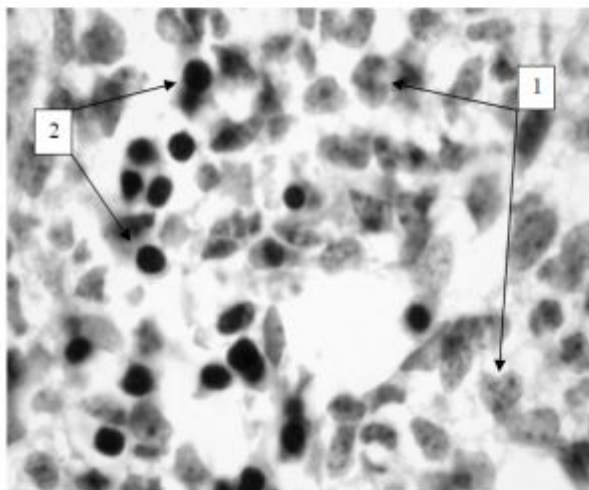


Рис. 1. Гістопрепарат селезінки 2-місячного плода ВРХ.

Заб. азур II і еозином, $\times 1000$.

1 – мезенхімальні клітини. 2 – скупчення лімфоцитоподібних клітин

Чітко виражене диференціювання селезінки на строму і паренхіму виявляється тільки у 3-місячних плодів ВРХ. Сполучнотканинна строма представлена капсулою і трабекулами. Паренхіма органа являє собою сітку ретикулярних волокон, що концентруються переважно поблизу капсули, навкруги судин, а також між синусоидами.

Навколо пульпарних судин відбувається концентрація клітин лімфоїдної тканини, а саме малими і середніми лімфоцитами, ретикулярними клітинами, макрофагами, бластами, великими лімфоцитами та іншими клітинами.

Найбільш чисельними клітинними елементами є малі ($51,22 \pm 0,40$ %) та середні ($27,56 \pm 0,35$ %) лімфоцити і ретикулярні клітини ($17,71 \pm 0,27$ %). Відносна кількість (ВК) бластів і великих лімфоцитів у плодів на початку плідного періоду є досить висока ($2,66 \pm 0,10$ %). Вміст макрофагів не перевищує $0,47 \pm 0,22$ %, а інших клітин (гранулоцитів, мегакаріоцитів, клітин мієлоїдного ряду) $0,38 \pm 0,17$ % (рис. 2).

У плодів 4-місячного віку унаслідок початку диференціації артеріального русла, формується ретикулярна строма білої пульпи селезінки (БПС) із циркулярно розміщених ретикулярних волокон навколо судин.

У лімфоїдній тканині (ЛТ) плодів відмічається незначне збільшення ВК бластів і великих лімфоцитів (до $3,20 \pm 0,36$ %), зменшенням кількості ретикулярних клітин (до $15,60 \pm 0,08$ %). Відносний вміст малих ($51,01 \pm 0,18$ %) та середніх лімфоцитів ($28,60 \pm 0,49$ %) практично не змінюється. У лімфоїдній паренхімі селезінки 4-місячних плодів ВРХ різко зростає ВК макрофагів (до $1,43 \pm 0,03$ %). Серед інших клітин зустрічаються еритробласти, мегакаріоцити та гранулоцити, їх ВК у 4-місячних плодів дещо зменшується (до $0,16 \pm 0,11$ %) у порівнянні з 3-місячними.



Рис. 2. Клітинний склад ЛТ селезінки 3-місячних плодів ВРХ, %

З 5-місячного віку в паренхімі селезінки плодів ВРХ спостерігаються перші ознаки її структурно-функціональної диференціації, внаслідок чого паренхіма поділяється на червону та білу пульпу. Червона пульпа селезінки окрім синусоїдів утворена і селезінковими клітинними тяжами, основою яких також є волокна ретикулярної тканини.

ПАЛП формуються навколо пульпарних артерій, утворені середньопетлистою сіткою аргірофільних волокон (рис. 3). Їх клітинний склад представлений, в основному, малими лімфоцитами, серед яких переважають Т-лімфоцити (рис. 4). Серед інших клітинних компонентів зустрічаються ретикулярні клітини, макрофаги та клітини крові (табл. 1).

У порівнянні з 4-місячними плодами у 5-місячних різко збільшується вміст бластів і великих лімфоцитів (до $8,11 \pm 0,02$ %) та ретикулярних клітин (до $21,36 \pm 0,35$ %), проте зменшується ВК середніх лімфоцитів (до $19,54 \pm 0,17$ %).

До 6-місячного віку в селезінці плодів ВРХ збільшуються товщина капсули і трабекул, основа яких представлена щільною волокнистою сполучною тканиною та гладкими м'язовими клітинами. Волокна ретикулярної стромы потовщуються. Зміни клітинного складу ЛТ селезінки помірні. Вміст бластів, великих і середніх лімфоцитів поступово зменшується (до $7,06 \pm 0,36$ та $17,74 \pm 0,28$ % відповідно), малих лімфоцитів зростає (до $52,45 \pm 0,20$ %), а ВК ретикулярних клітин ($22,38 \pm 0,73$) і макрофагів ($0,20 \pm 0,04$) практично не змінюється.

Структура сполучнотканинної стромы 7-ми місячних плодів майже не відрізняється від 6-ти місячних. Ретикулярний остов ПАЛП селезінки представлений рідкою сіткою товстих ретикулярних волокон, які мають чітку концентричну орієнтацію навкруги пульпарних артерій.

У ПАЛП відмічається різке зменшення ВК незрілих форм лімфоцитів, а саме бластів і великих лімфоцитів (до $2,14 \pm 0,03$ %) та дещо менше середніх (до $16,06 \pm 0,15$ %). ВК малих лімфоцитів зростає більш ніж на 4% (до $56,54 \pm 0,33$ %), а ретикулярних клітини – більше ніж на 1,5% (до $24,17 \pm 0,41$ %), макрофагів зменшуються ($0,07 \pm 0,01$ %), інших клітин зростає ($0,40 \pm 0,12$ %).

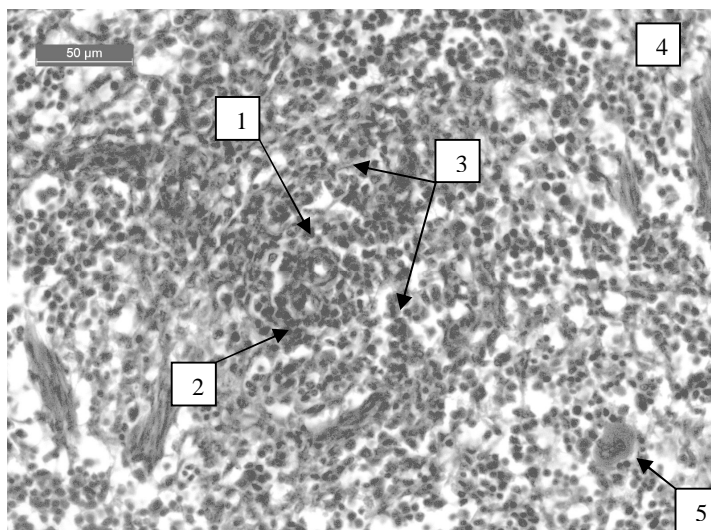


Рис. 3. Гістопрепарат селезінки 5-місячного плода ВРХ. Заб. гематоксиліном та еозином, $\times 200$. 1 – пульпарна артерія, 2 – скупчення лімфоцитів, 3 – ПАЛП, 4 – червона пульпа, 5 – мегакаріоцит

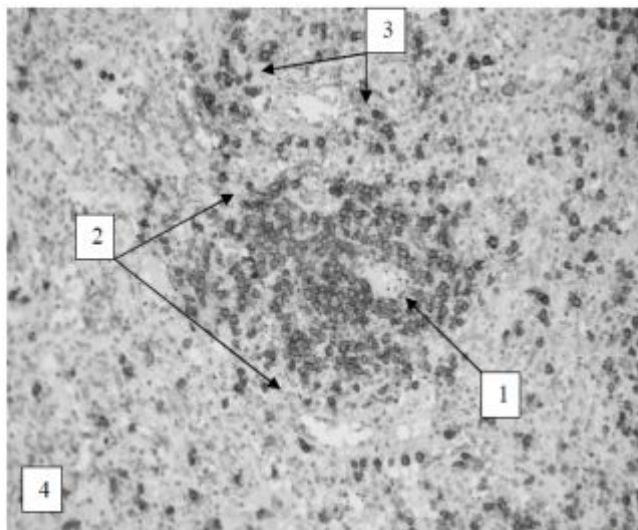


Рис. 4. Гістопрепарат селезінки 5-місячного плода ВРХ.

Заб. гематоксилином та еозином, $\times 200$.

1 – пульсарна артерія, 2 – ПАЛП, 3 – скупчення Т – лімфоцитів, 4 – червона пульпа

У 8-ми місячних плодів спостерігається зменшення білої пульпи на тлі зростання червоної. На основі ПАЛП з'являються поодинокі скупчення лімфоцитів основою яких, є рідкі великопетлисті сітки ретикулярних волокон, що являється ознакою формування лімфоїдних вузликів.

Клітинний склад ПАЛП змінюється незначно. Основними клітинними компонентами є малі і середні лімфоцити, ретикулярні клітини (74,14 %; 16,07 %; 8,20 %, відповідно). ВК великих лімфоцитів, макрофагів та інших клітин не перевищує 1% (0,81 %; 0,28 %; 0,50 % відповідно).

Таблиця 1. Динаміка відносної кількості клітин ПАЛП, %

Вид клітин	Вік плодів, міс				
	5	6	7	8	9
Великі лімфоцити	8,11 \pm 0,02	7,06 \pm 0,36*	2,14 \pm 0,03***	1,90 \pm 0,16	1,56 \pm 0,10
Середні лімфоцити	19,54 \pm 0,17	17,74 \pm 0,28**	16,06 \pm 0,15**	15,86 \pm 0,05	13,55 \pm 0,27***
Малі лімфоцити	50,45 \pm 0,68	52,45 \pm 0,20*	56,54 \pm 0,33***	57,08 \pm 0,46	58,35 \pm 0,90
Ретикулярні клітини	21,36 \pm 0,35	22,38 \pm 0,38	24,17 \pm 0,41*	24,93 \pm 0,30	26,14 \pm 0,18*
Макрофаги	0,10 \pm 0,01	0,20 \pm 0,04	0,07 \pm 0,01*	0,08 \pm 0,06	0,12 \pm 0,03
Інші	0,44 \pm 0,14	0,17 \pm 0,07	0,40 \pm 0,12	0,15 \pm 0,25	0,28 \pm 0,44

$P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$

Характерною особливістю лімфоїдної паренхіми селезінки 8-ми місячних плодів є її розмежування на периартеріальні і маргінальні зони. У маргінальних зонах ретикулярні волокна стають тоншими і утворюють сітку з вовноподібною архітектонікою.

Основними клітинними компонентами маргінальної зони є ретикулярні клітини ($46,50 \pm 0,24$ %), середні і малі лімфоцити ($14,10 \pm 0,10$ % та $36,79 \pm 0,32$ % відповідно).

Упродовж 9-го місяця пренатального періоду онтогенезу відмічається значний розвиток сполучнотканинної строми та чітка диференціація лімфоїдної паренхіми на функціональні зони. Ретикулярна строма ПАЛП представлена середньовічковою, рівномірною сіткою аргірофільних волокон. У маргінальній зоні ретикулярні волокна формують середньовічкові сітки з комірками. Основа ЛВУ – рідкі, середньовічкові сітки з округлими комірками.

У ПАЛП 9-ти місячних плодів відмічається незначне зменшення кількості середніх лімфоцитів (до $13,05 \pm 0,27$ %) на тлі відносно стабільних показників інших клітин. ВК незрілих форм лімфоцитів поступово зменшується і на момент народження, є мінімальною (табл. 1).

Клітинний склад ЛВУ без центрів розмноження в цей період характеризується незначним збільшенням великих, середніх, малих лімфоцитів, ретикулярних клітин та макрофагів (0,86 %; 15,65 %; 74,40 %; 8,54 %; 0,30 відповідно), в той час як ВК інших клітин дещо знижується до $0,25 \pm 0,54$ %.

У маргінальній зоні частка середніх лімфоцитів, макрофагів та плазмоцитів дещо зростає (12,38 %; 0,73 %; 0,91 %, відповідно), а малих лімфоцитів і ретикулярних клітин знижується (38,01 % та 45,28 % відповідно).

Отже, у ЛТ селезінки 9-ти місячних плодів ВРХ у порівнянні з 5-ти місячними ВК бластів і великих лімфоцитів зменшується на 6,55 %, середніх лімфоцитів майже на 6 %. Вміст малих лімфоцитів змінюється збільшується протягом усього плідного періоду, максимальна їхня ВК зареєстрована у 9-ти місячних ($58,35 \pm 0,90$ %), а мінімальна у 5-ти місячних плодів ($50,45 \pm 0,68$ %).

ВК ретикулярних клітин упродовж внутрішньоутробного розвитку поступово збільшується (на 6,5 %). Найбільша кількість макрофагів у ЛТ селезінки відмічена у 6-місячних плодів ВРХ ($0,20 \pm 0,04$ %), а найменша у 8-ми місячних ($0,72 \pm 0,12$ %). Серед інших клітин найбільш чисельними є клітини мієлоїдного кровотворення і мегакаріоцити їх ВК протягом плідного періоду незначна ($0,15 \pm 0,25$ % у 8-ми місячних плодів) і лише на момент народження дещо зростає (до $0,28 \pm 0,44$ %).

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Структурно-функціональна спеціалізація паренхіми селезінки у пренатальному періоді онтогенезу відбувається у такій послідовності: початок формування ПАЛП навколо центральних артерій із 3-х місячного віку; чіткий розподіл пульпи на червону та білу, яка складається із повністю сформованих ПАЛП у плодів 5-ти місячного віку; поява первинних лімфатичних вузликів та

формування повного комплексу морфологічних ознак імункомпетентності лімфоїдної тканини з 8-ми місячного віку і до моменту народження.

2. Основними клітинними елементами лімфоїдної тканини селезінки плодів великої рогатої худоби є малі і середні лімфоцити та ретикулярні клітини, а їх кількісна динаміка характеризується переважним збільшенням відсоткового вмісту малих лімфоцитів, поступовим зменшенням кількості середніх і великих лімфоцитів та бластних форм.

3. Особливості пренатальної клітинної організації лімфоїдної тканини селезінки великої рогатої худоби свідчать про становлення потенційної імунцитопоетичної функції органа переважно в останні місяці плідного періоду, що може бути характерною рисою морфогенезу органів кровотворення та імуногенезу великої рогатої худоби, обумовленою специфікою структурно-функціональної організації плацентарного бар'єру в даного виду зрілонороджуючих ссавців.

Наші дослідження розкрили особливості морфофункціональної організації та клітинного складу функціональних зон лімфоїдної паренхіми селезінки у великої рогатої худоби в пренатальному періоді онтогенезу.

Література

1. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2005. – 277 с.

2. Выренков Ю. Е. Компаратмент – структурно-функциональная единица лимфатического узла / Ю. Е. Выренков, В. К. Шишло, Ю. Г. Антропова // Проблемы клинической и экспериментальной морфологии. – Новосибирск, 1992. – С. 40–42.

3. Красников Г. А. Применение иммуногистохимических методов исследования при изучении иммунитета животных / Г. А. Красников, П. А. Шутченко, А. Бернедт // Матеріали III конф. Всеукр. товариства вет. патологів. – Харків : ХДЗВА, 2004. – Ч. 1. – С. 35–38.

4. Лецова М. О. Особливості динаміки клітинного складу лімфоїдної тканини селезінки плодів великої рогатої худоби / М. О. Лецова // Вісн. Дніпропетровського держ. аграр. ун-ту. – 2005. – № 2. – С. 99–101.

5. Моталов В. Г. Возрастные изменения состава белой пульпы селезенки у человека в норме / В. Г. Моталов // III-Всерос. науч.-практ. конф., посвященная 80-летию проф. В. Г. Петрухина (Москва, 1–2 ноября 2001 г.) / МГАФК. – М., 2001. – С. 272–274.

6. Ройтт А. Иммунология / А. Ройтт, Д. Б. Бростофф, Д. Б. Рот – М. : Мир, 2000. – С. 44–57.

7. Sainte-Marie G. M. The formation of “compartment relics” in the lymph nodes at athymic animals / G. M. Sainte-Marie, F. S. Peng // Cell Tiss. Research. – 1987. – № 248. – P. 323–333.