

Węzły chłonne szyjne powierzchowne dogrzebietowe świni w rozwoju prenatalnym

MONIKA WOJNAR, NORBERT POSPIESZNY

Katedra Anatomii i Histologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Kożuchowska 1-3, 53-163 Wrocław

Wojnar M., Pospieszny N.

Dorsal cervical superficial lymph nodes in pigs during prenatal development

Summary

The aim of the study was to define the topography, number, size and development, and organization level of DCSL in the 5th, 8th and 14th week of pregnancy in pigs. Examinations were carried out on 25 pig fetuses (at the 40th, 60th and the 97th day of gestation), coming from one breeding farm. The material was fixed in 10% formalin solution before carrying out topological, morphological and histological examinations. Observations concentrated on the dorsal superficial cervical lymph nodes (DSCL). Topological analysis confirmed that DSCL location in fetal life is different than in postnatal life. A slight shift in the caudal-ventral direction was observed during the prenatal development. It was revealed that DSCL have different shapes, with a tendency to oval-shapes in the oldest age group and the growth in size between the 60th and 97th day of gestation is more intense than in length of fetus bodies. One lymph node on each side of the body was observed in the majority of subjects. Histological examinations facilitated observing the development of the histological structures from germs - in the form of accumulated mesenchymal cells with singly transforming lymphoblasts, through to the intermediate stage - with more transforming lymphoblasts and lymphatic nodules lying in the center and in the periphery of lymph node's parenchyma, to the mature fetal lymph nodes - with lymphocytes, and with lymphatic nodules present only in the lymph node's center.

Keywords: pig, prenatal life, lymph nodes

Do ośrodka chłonnego szyjnego powierzchownego (*lymphocentrum cervicale superficiale*) u świni należą węzły chłonne szyjne powierzchowne dogrzebietowe, środkowe i dobrzuszne (*lymphonodi cervicales superficiales dorsales, medii et ventrales*) (12).

U osobników dorosłych ośrodek ten leży doczaszkowo od stawu ramiennego, przykryty jest przez mięsień ramiennie-głowy i łopatkowo-poprzeczny (5, 6). Według Sacka (15), węzły chłonne szyjne powierzchowne dogrzebietowe (WSPD) układają się w kierunku doczaszkowo-dogrzebietowym od ramienia, przykryte częściowo przez mięsień łopatkowo-poprzeczny. U świni WSPD odpowiada swoim położeniem węzłom chłonnym szyjnym powierzchownym innych gatunków zwierząt. Można więc przyjąć, że WSPD leżą doczaszkowo-dogrzebietowo od ramienia, w obszarze między mięśniem czworobocznym, mięśniem podobojczykowym oraz mięśniem łopatkowo-poprzeczny, na mięśni zębatym dobrzuszny. Wsuwają się one w większej części pod mięsień czworoboczny, w mniejszej pod mięsień łopatkowo-poprzeczny (11).

WSPD u świni nazywane są również przedłopatkowymi. Omacuje się je podczas badania klinicznego.

Węzły chłonne powstają w środkowym okresie życia płodowego (3, 7, 8) z nagromadzenia komórek mezenchymy, w miejscu ich późniejszej lokalizacji, wzdłuż naczyń chłonnych (3, 7, 8, 10, 12).

Praca dotyczy badań nad budową WSPD u świni w okresie prenatalnym. Jej celem było określenie topografii, wielkości oraz stopnia rozwoju i organizacji WSPD w piątym, ósmym i czternastym tygodniu ciąży. Celem pracy było również określenie biodynamiki rozwoju badanych węzłów chłonnych. Świnia jest interesującym obiektem badawczym, a to ze względu na swoją wysoką plenność (możliwość uzyskania większej ilości materiału badawczego w krótkim czasie), a także perspektywy, jakie niesie biotechnologia w dziedzinie wykorzystania transgenicznych zwierząt w medycynie (1, 4, 16).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 25 płodach świni, mieszańców ras: polska biała zwisłoucha i wielka biała polska, obu płci. Podzielono je na grupy: grupa I – 40. dzień ciąży, grupa II – 60. dzień ciąży, grupa III – 97. dzień ciąży (tab. 1). Materiał został utrwalony w 10% roztworze formaliny. Płody oznaczono zgodnie z ułożeniem w rogach macicznych

Tab. 1. Materiał użyty do badań z podziałem na grupy wiekowe

Grupa	Wiek płodów w tyg.	Liczba płodów ogółem	Płeć	
			♀	♂
I	5	5	2	3
II	8	9	3	6
III	14	11	6	5

(poczynając od fragmentu leżącego najbliżej jajnika, w kierunku trzonu macicy). Pomiarów długości płodów dokonano za pomocą miarki metrycznej (metoda wg Marrable (9)), pozostałych – za pomocą suwmiarki elektronicznej.

Po wypreparowaniu liczono węzły chłonne po obu stronach ciała oraz mierzono ich długość (wymiar poziomy) i szerokość (wymiar pionowy). Obserwowano ułożenie węzłów chłonnych względem okolicznych mięśni i innych struktur anatomicznych (holotopia, skeletotopia, syntopia). Posługiwano się mikroskopem stereoskopowym przy powiększeniu 10×-16×.

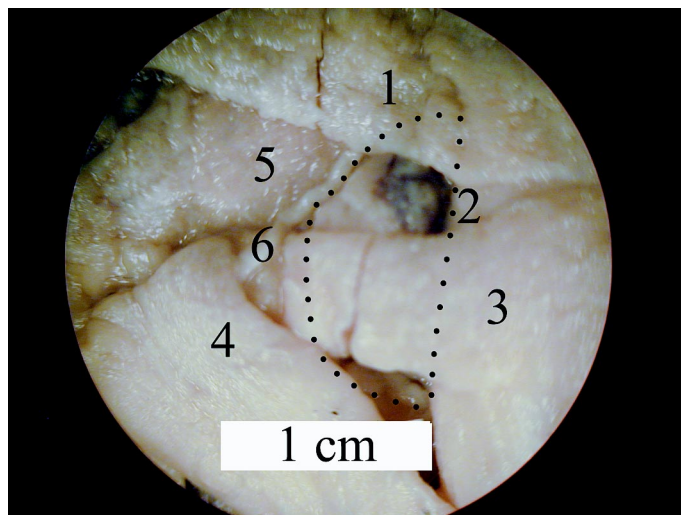
Obserwacje makroskopowe poparto badaniem histologicznym. Pobierano całe węzły chłonne bądź, w przypadku braku wykształconych węzłów chłonnych (u najmłodszej grupy płodów), wycinki tkanek z miejsc, w których w późniejszym czasie rozwiną się węzły chłonne. Posłużono się barwieniem rutynowym hematoksyliną i eozyną. Preparaty oceniano pod mikroskopem świetlnym, pod powiększeniem 5×-100×.

Wykonano dokumentację tabelaryczną i fotograficzną. Zdjęcia preparatów anatomicznych i histologicznych wykonano przy pomocy aparatu cyfrowego Nikon Digital Camera Coolpix 950, pod powiększeniem 10×-16× (preparatów anatomicznych) oraz 40×-200× (preparatów histologicznych).

Wyniki i omówienie

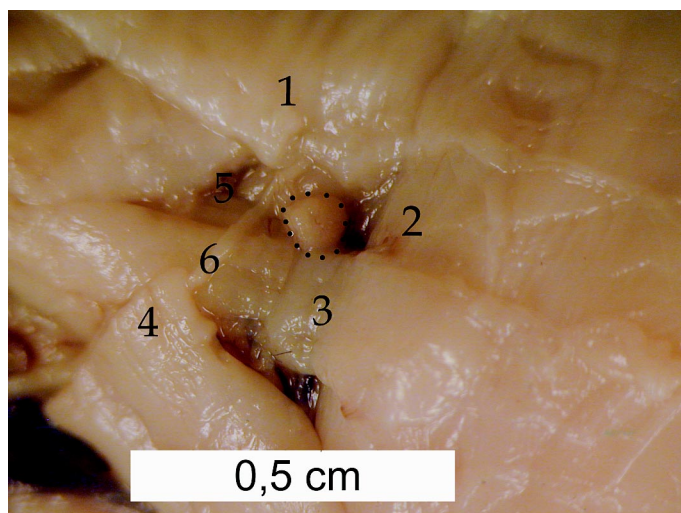
Makromorfologia. WSPD u najmłodszej grupy płodów (5. tydzień) oceniano jedynie w badaniu histologicznym. W średniej grupie płodów (8. tydzień) WSPD leżą w kierunku dogłowym od doczaszkowego brzeżu łopatki (*margo cranialis scapulae*), w ½ jej wysokości (ryc. 1 i 2). Przykryte są przez mięsień czworoboczny (*m. trapezius*), a częściowo przez m. łopatkowo-poprzeczny (*m. omotransversarius*). Leżą na m. zębatym brzuszno-szyi (*m. serratus ventralis cervicis*). Oddalone są w równej mierze od m. podobojczykowego (*m. subclavius*) i m. nadgrzebieniowego (*m. supraspinatus*), jak i gałęzi dogrzebniowej n. dodatkowego (*r. dorsalis n. accessorii*). W kierunku brzuszno-głowym od WSPD układu się m. ramiennogłowy (*m. brachiocephalicus*).

W grupie II stwierdzono występowanie na ogół jednego takiego węzła po obu stronach ciała. Przyjmuje on kształt okrągły lub owalny, w dwóch przypadkach nieforemny. Średnia wielkość po stronie prawej jest mniejsza (1,21 mm × 1,31 mm) niż po stronie lewej (1,52 mm × 1,53 mm), przy średniej liczbie większej po stronie prawej (1,33) niż po stronie lewej (1,00) (tab. 2).



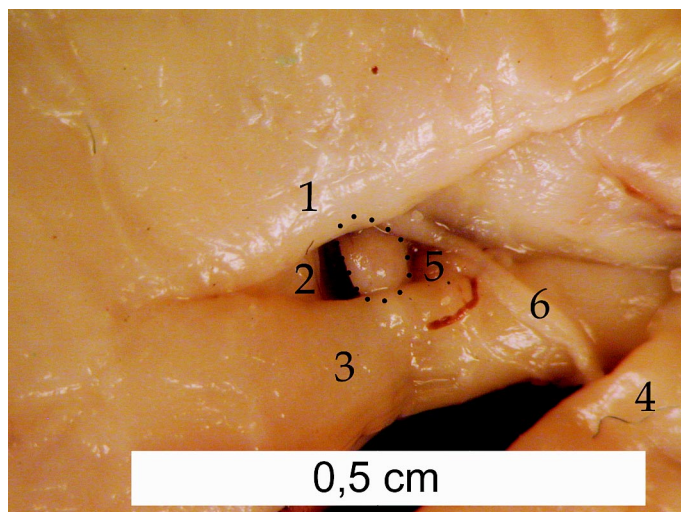
Ryc. 1. WSPD w średniej grupie płodów (prawa strona preparatu)

Oznaczenia: 1 – mięsień czworoboczny; 2 – mięsień podobojczykowy; 3 – mięsień łopatkowo-poprzeczny; 4 – mięsień ramiennogłowy; 5 – mięsień zębaty brzuszny; 6 – nerw dodatkowy



Ryc. 2. WSPD w średniej grupie płodów (lewa strona preparatu)

Oznaczenia: jak na ryc. 1.



Ryc. 3. WSPD w najstarszej grupie płodów (lewa strona preparatu)

Oznaczenia: jak na ryc. 1.

Tab. 2. Liczba, długość i szerokość WSPD u płodów świni w 8. tygodniu ciąży

Róg macicy, nr płodu, płeć płodu	Długość płodu (mm)	Liczba WSPD		Długość WSPD (mm)		Szerokość WSPD (mm)	
		lewa	prawa	lewa	prawa	lewa	prawa
S 1 ♀	105	1	1	1,23	1,24	1,18	1,14
S 2 ♂	125	1	2	1,95	1,26 + 0,52	1,33	1,82 + 0,6
S 3 ♀	117	1	1	1,05	1,04	1,56	1,41
S 4 ♂	127	1	1	1,36	1,3	1,95	1,66
S 6 ♂	124	1	1	1,51	1,72	1,49	1,42
D 1 ♀	118	1	1	1,81	1,04	1,77	1,65
D 2 ♂	120	1	2	1,69	1,29 + 0,45	1,72	1,46 + 0,78
D 3 ♂	129	1	1	1,17	2,41	1,3	1,61
D 4 ♂	111	1	2	1,94	1,17 + 1,1	1,45	1,4 + 0,77

Tab. 3. Liczba, długość i szerokość WSPD u płodów świni w 14. tygodniu ciąży

Róg macicy, nr płodu, płeć płodu	Długość płodu (mm)	Liczba WSPD		Długość WSPD (mm)		Szerokość WSPD (mm)	
		lewa	prawa	lewa	prawa	lewa	prawa
S 2 ♀	240	1	1	5,44	5,06	7,51	8,26
S 3 ♂	230	1	1	5,1	4,38	6,7	8,92
S 4 ♀	260	1	1	5,17	5,39	8,78	9,09
S 5 ♀	200	1	1	6,52	7,17	8,9	10,1
D 1 ♂	250	1	2	4,58	4,13 + 1,77	7,38	8,63 + 2,42
D 2 ♀	230	1	1	4,72	4,72	6,01	8,52
D 3 ♂	235	1	1	6,38	4,27	8,12	7,64
D 4 ♀	255	2	1	3,22 + 2,23	5,03	5,26 + 2,57	6,39
D 5 ♀	220	1	-	4,64	-	4,92	-
D 6 ♂	240	1	1	4,55	6,77	8,3	6,16
D 8 ♂	250	1	1	6,43	5,85	9,81	8,64

U najstarszej grupy płodów (grupa III) interesujące nas węzły chłonne układają się podobnie jak w poprzedniej grupie wiekowej, jednak zajmują większy obszar, szczególnie w kierunku doogonowo-dobrzusznym (ryc. 3). Mianowicie, leżą ściśle przy krawędzi m. podobojczykowego, od góry przylega do nich gałąź dogrzbietowa n. dodatkowego. Przykryte są przez m. łopatkowo-poprzeczny i częściowo przez m. czworoboczny oraz częściowo wciskają się pod m. ramienno-głowy, układając się nieco doogonowo-dogrzbietowo od niego.

U większości osobników również występują jako pojedynczy węzeł (w dwóch przypadkach zaobserwowano jednostronnie podwójny węzeł, a w jednym – brak), tab. 3. Węzeł prawostronny jest nieco większy (4,96 mm × 7,71 mm) niż lewostronny (4,94 mm × 7,02 mm) (tab. 3). Przyjmuje kształt podobny jak w poprzedniej grupie wiekowej, z tendencją do owalnego.

Badania histologiczne. U najmłodszych płodów (grupa I) badany węzeł chłonny obserwowano jako nagromadzenie komórek mezenchymy (*mesenchyma*),

przy czym są to komórki embrionalnej, niewykształconej tkanki łącznej (ryc. 4). Jednocześnie można stwierdzić zasiedlanie transformującymi limfoblastami. Występują również nieliczne komórki siateczki.

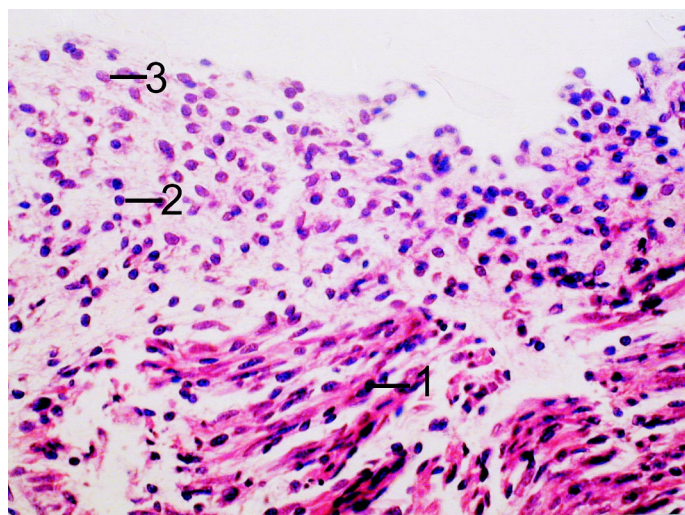
W grupie II stwierdzono słaby stopień wykształcenia tkanki limfatycznej, obecność limfoblastów transformujących (ryc. 5 i 6). Występujące grudki chłonne reprezentowane są przez grudki chłonne pierwotne, brak jest w nich zróżnicowania na strefę peryferyczną i centralną. Lokalizują się one w węzle chłonnym – zarówno na obwodzie, jak i w centrum.

W grupie III obok transformujących limfoblastów, zaobserwowano nieliczne dojrzałe limfocyty (ryc. 7). Grudki chłonne występowały tylko w centrum węzła chłonnego. Widoczne są komórki siateczki oraz makrofagi. Tkanka łączna zrębu wnika w utkanie mięszu.

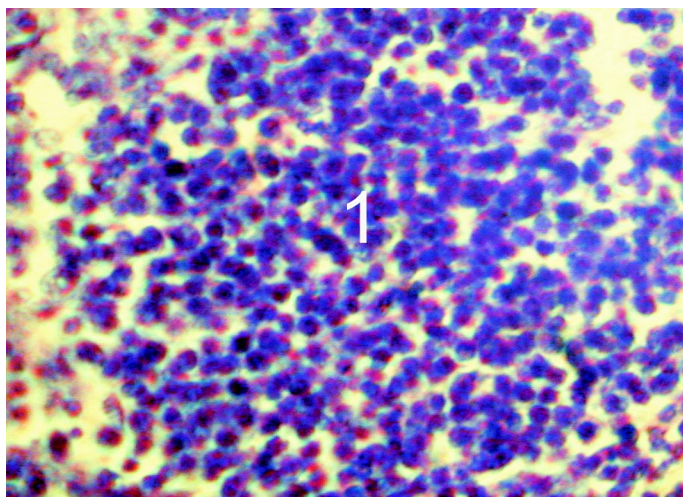
U świni, podobnie jak u innych zwierząt domowych, narządy chłonne są w pełni rozwinięte i funkcjonują przed urodzeniem. Immunologicznie kompetentne komórki można wykryć w większości narządów pod koniec drugiego trymestru ciąży (8).

Autorzy niniejszej pracy podejmowali już poprzednio temat mor-

fologii węzłów chłonnych w okresie prenatalnym u świni. Dotyczyły one węzłów chłonnych w ośrodku

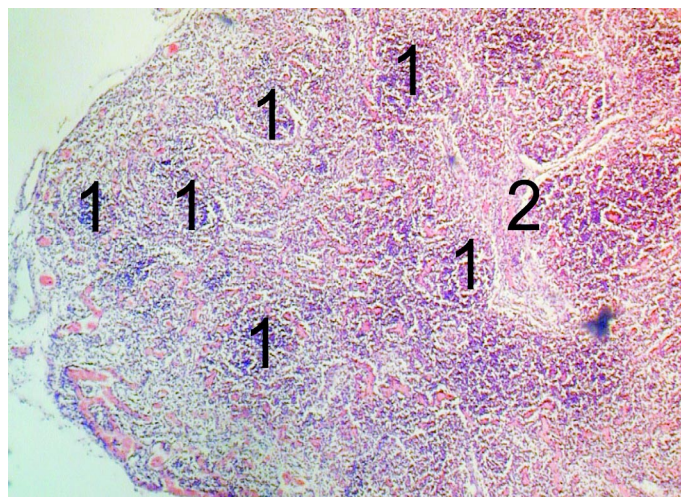


Ryc. 4. WSPD w najmłodszej grupie płodów (HE, 200×)
Oznaczenia: 1 – komórki mezenchymy; 2 – limfoblasty; 3 – komórki siateczki



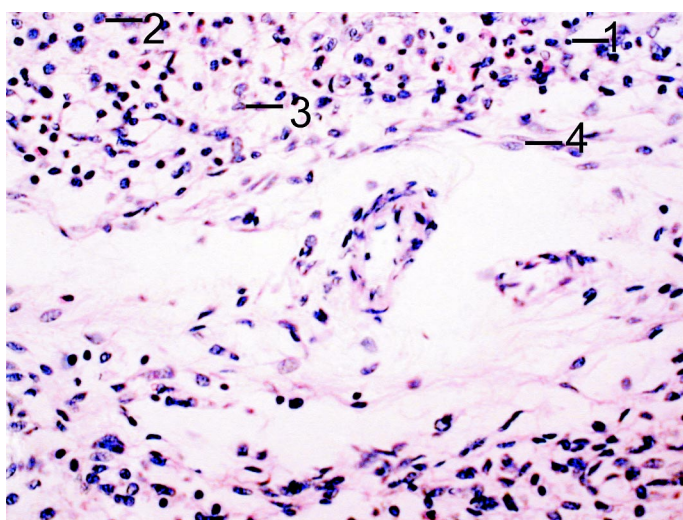
Ryc. 5. WSPD u średniej grupy płodów (HE, 100×)

Oznaczenie: 1 – grudka chłonna pierwotna



Ryc. 6. WSPD u średniej grupy płodów (HE, 40×)

Oznaczenia: 1 – grudka chłonna pierwotna; 2 – centrum węzła chłonnego



Ryc. 7. WSPD u najstarszej grupy płodów (HE, 200×)

Oznaczenia: 1 – limfocyty; 2 – limfoblasty; 3 – komórki siateczki; 4 – fibroblast

chłonnym żuchwowym i zagardłowym (18, 19). Dokonano w nich kilku interesujących spostrzeżeń natury morfologicznej, dotyczących lokalizacji, stosunków anatomicznych, interakcji tkankowych rozwijających się węzłów chłonnych. Poczynione obserwacje pozostają w ścisłym związku z przedmiotem niniejszej pracy, szczególnie dotyczyło to węzłów chłonnych zagardłowych.

Węzły chłonne pochodzą z mezodermy przylegającej do naczyń limfatycznych (12). Ich zawiązki pojawiają się w trakcie środkowej fazy życia płodowego (3, 8). U świni zaczynają się rozwijać na początku drugiej połowy ciąży, a już w 5. tygodniu życia płodowego można stwierdzić ich zawiązki (14).

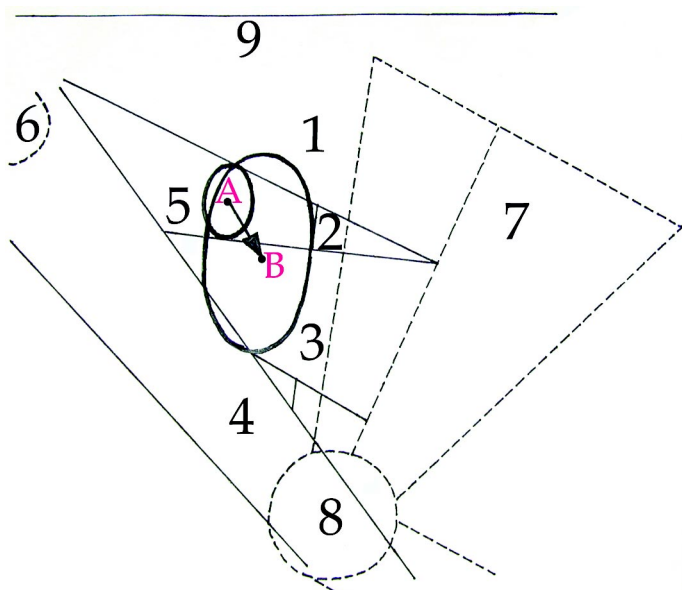
Jakkolwiek przeprowadzone badania histologiczne II i III grupy wiekowej pozwalają na potwierdzenie wyników obserwacji makroskopowej, to w grupie I (u której brak jest uformowanych węzłów chłonnych) stanowią jedyną metodę umożliwiającą ocenę stopnia rozwoju badanych węzłów chłonnych.

Obecność nagromadzonych komórek mezenchymy, nielicznych transformujących limfoblastów oraz komórek siateczki jest jedynym, w tym wieku, dowodem zaistnienia procesów powstawania węzłów chłonnych. W średniej i najstarszej grupie wiekowej można zaobserwować poszczególne struktury węzła chłonnego (grudki chłonne, zatoki węzła, torebka węzła i zrąb łącznotkankowy), powstające z komórek mezenchymy. Zaobserwowana lokalizacja grudek chłonnych nasuwa przypuszczenie, że początkowo powstają one w całym mięszu, a dopiero potem układają się w centrum węzła, a więc typowo dla świni (5, 11).

Ósmy tydzień ciąży przedstawia obraz, co prawda już uformowanego, ale jeszcze niedojrzałego węzła chłonnego (pierwotne grudki chłonne, kształtujące się naczynia krwionośne, nie w pełni wykształcone zatoki węzła z komórkami siateczki i makrofagami). W tym czasie występuje już zrąb węzła, reprezentowany przez torebkę łącznotkankową oraz wnikaające w głąb beleczki łącznotkankowe.

W 14. tygodniu ciąży mamy do czynienia z prawie w pełni wykształconymi węzłami, na co wskazuje obecność nielicznych dojrzałych limfocytów, zatoki węzła są w tym okresie jeszcze zawężone (choć i u dorosłych świni są i tak węższe niż u innych gatunków zwierząt), można zaobserwować wyraźne grudki chłonne, które są liczniejsze niż w poprzedniej grupie wiekowej. Obecność w pełni wykształconych naczyń krwionośnych w zrębie, infiltrujących wraz z beleczkami mięsz węzła, dowodzi intensywnego rozwoju węzłów, a co za tym idzie – zwiększonego zapotrzebowania na unaczynienie.

Stwierdzono, że w 14. tygodniu ciąży (faza izometryczna) następuje intensywny wzrost WSPD. Ich wielkość wzrasta w okresie między 60. a 97. d.c. bardziej niż długość ciała płodów: ok. 5-krotnie (wymiar pionowy) oraz ok. 3,5-krotnie (wymiar poziomy), przy przyroście długości ciała płodów ok. 2-krotnym. Intensywny wzrost badanych węzłów chłonnych w tym



Ryc. 8. Schemat przesunięcia WSPD w trakcie rozwoju prenatalnego

Oznaczenia: 1 – mięsień czworoboczny; 2 – mięsień podobojczykowy; 3 – mięsień łopatkowo-poprzeczny; 4 – mięsień ramienno-główny; 5 – mięsień zębaty do brzuszny; 6 – kąt żuchwy; 7 – łopata; 8 – staw ramienny; 9 – linia grzbietu; → kierunek przesunięcia (od A do B)

okresie jest prawdopodobnie jest zjawiskiem dotyczącym ogółu węzłów chłonnych.

W związku z zaobserwowanym przesunięciem węzła chłonnego szyjnego powierzchownego do grzbietowego w kierunku doogonowo-dobrzusznym (ryc. 8), nasuwa się przypuszczenie, że jest to spowodowane prostowaniem się linii kręgosłupa oraz głowy. Badane węzły chłonne zostają niejako „przytrzymane” przy klatce piersiowej. W związku z tym należy przyjąć, że naczynia chłonne doprowadzające chłonkę z węzłów chłonnych zagardłowych ulegają wydłużeniu, co potwierdzają wyniki poprzedniej pracy (19). Zaobserwowana zmiana lokalizacji badanych węzłów chłonnych związana jest z rozwojem okolicy przedłopatkowej, okolicznych naczyń i nerwów, co wskazuje na istnienie zjawisk indukcji embrionalnej i płodowej.

Topografia WSPD u płodów świni w 14. tygodniu ciąży wykazuje różnice w stosunku do lokalizacji w życiu postnatalnym, podawanej przez licznych autorów (5, 12, 15). Należy przypuszczać, że WSPD w tym okresie przemieszczają się jeszcze bardziej do brzusznie.

Zjawiska indukcji w okresie embrionalnym zaobserwował jako pierwszy Hans Spemann 1938, on też jest autorem określenia „indukcja” oraz teorii „indukcyjnej interakcji tkanek” (12). Na podstawie poczynionych obserwacji stwierdzono zachodzenie podobnych mechanizmów w okresie życia płodowego.

W okresie życia płodowego zaobserwowano różnice w zakresie wielkości WSPD między lewą i prawą stroną, jednakże bez żadnych prawidłowości, podobnie jak w życiu postnatalnym (11). Stwierdzono bilateralną asymetrię, którą można zaklasyfikować wg

podziału Van Valena jako fluktuacyjną, bowiem żadna ze stron nie wykazuje tendencji do przybierania wyższych wartości, cechuje się losowymi różnicami (17). Podobny typ asymetrii opisano w przypadku innych węzłów chłonnych (2).

Morfologia WSPD u świni w okresie prenatalnym jest zagadnieniem słabo opracowanym. Poczynione obserwacje, choć na nielicznym materiale, dają podstawy do dalszych badań na istotnej statystycznie liczbie preparatów.

Piśmiennictwo

1. Cott K. E. Van, Lubon H., Gwazdauskas F. C., Knight J., Drohan W. N., Velander W. H.: Recombinant human C expression in the effect on endogenous milk immunoglobulin and transferring levels. *Transgenic Res.* 2001, 10, 43-51.
2. Goleczyńska A.: Węzły chłonne nerkowe (lymphonodi renales) u płodów świni w drugiej połowie życia prenatalnego. *Zesz. Nauk. AR Wrocław. Weterynaria* 1999, LIX, 19-29.
3. Hinrichsen K. V.: *Humanembryologie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong-Kong, Barcelona 1990.
4. Jakóbskiak M.: *Immunologia*. PWN, Warszawa 1996.
5. König H. E., Liebich H.-G.: *Anatomie der Haussäugetiere*. T. 2., Schattauer F. K., Stuttgart, New York 1999.
6. Krysiak K., Kobryń H., Kobryńczuk F.: *Anatomia zwierząt*. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2001.
7. Kurysko J., Zarzycki J.: *Histologia zwierząt*. PWRiL, Warszawa 2000.
8. Latschaw W. K.: *Veterinary Developmental Anatomy*. Decker B. C. INC, Toronto, Philadelphia 1987.
9. Marrable A. W.: *The Embryonic Pig a Chronological Account*. Pitman Medical, London 1971.
10. Michel G.: *Kompendium der Embryologie der Haustiere*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1983.
11. Nickel R., Schummer A., Seiferle E.: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. T. 3, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg 1984.
12. Noden D. M., de Lahunta A.: *The Embryology of Domestic Animals*. Williams & Wilkins, Baltimore 1985.
13. *Nomina Anatomica Veterinaria* (4th Edition), *Nomina Histologica* (2nd Edition), *Nomina Embryologica Veterinaria* (1st Edition). Zürich and Ithaca, New York 1994.
14. Patten B. M.: *Embryology of the Pig*. Blackstone, Philadelphia 1948.
15. Sack W. O.: *Essential of pig anatomy*, Horowitz/Kramer atlas of musculockeletal anatomy of the pig. *Veterinary Textbooks*, Ithaca, New York 1982.
16. Storck M., Abendroth D., White D. J., Pino-Chavez G., Fakler J. A., Hammer C.: Transgenic swine as potential organ donors? Results of the ex-vivo hemoperfusion hDAF transgenic kidney with human blood. *Zntlbl. Chir.* 1998, 123, 785-792.
17. Walata K., Markowski J.: Asymetria fluktuacyjna jako wskaźnik stanu biologicznego osobników i populacji. *Przeł. Zool.* 1999, XLIII, 53-66.
18. Wojnar M., Pospieszny N.: Morphology of the mandibular lymphcenter (lymphocentrum mandibulare) in pig's fetuses. *Morphological Days in České Budějovice, Proc. Internat. Sci. Conf.* 31.01. – 1.02.2002, s. 6-7.
19. Wojnar M., Pospieszny M.: Morphology and development of the retropharyngeal lymph nodes (*lymphonodi retropharyngei*) during the prenatal period in pigs. *Morphological Days in České Budějovice, Proc. Internat. Sci. Conf.* 31.01.-1.02.2002, s. 53-54.

Adres autora: dr Monika Wojnar, ul. Koźuchowska 1/3, 51-631 Wrocław; e-mail: monika.wojnar@wp.pl