JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika
Studijní obor: Zootechnika
Katedra: Zootechnických věd
Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

LYMFATICKÉ ORGÁNY OVCÍ

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.

Autor bakalářské práce: Radka Doležalová

České Budějovice, 2015

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	Radka DOLEŽALOVÁ
Osobní číslo:	Z11191
Studijní program:	B4103 Zootechnika
Studijní obor:	Zootechnika
Název tématu:	Lymfatické orgány ovcí
Zadávající katedra:	Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

Zásady pro vypracování:

Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů se dlouhodobě zabývá problematikou vysokých a nízkých dávek různých mikroelementů u ovcí (Se, I). Bylo prokázáno, že tyto prvky mají jak pozitivní, tak negativní účinek na buňky imunitního systému a lymfatické orgány.

Cílem práce bude zpracování literárního přehledu k problematice lymfatických orgánů a tkání ovcí.

Bakalářská práce bude vypracována na základě pokynů uvedených na http://www.zf.jcu.cz/copy_of_studenti/informace-pro-studujici/dokumenty-studijniho-oddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf podle následující rámcové osnovy:

1. **Úvod** - charakteristika a význam řešené problematiky
2. **Cíl práce** - bude zpracovat literární přehled týkající se lymfatických orgánů a tkání ovcí
3. **Současný stav poznání** dané problematiky s ohledem na cíle práce, zpracovaný formou literárního přehledu na základě studia soudobé vědecké a odborné literatury
4. **Závěr** - shrnutí získaných informací, návrhy a doporučení vyplývající z problematiky
5. **Summary** - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
6. **Seznam literatury** - jednotný, podle platných citačních zásad

Rozsah grafických prací: tabulky a grafy dle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 35-50 stran textu

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- Liebler-Tenorio E.M., Pabst R.: MALT structure and function in farm animals. Veterinary Research, 2006, 37 (3): 257-280.
- Eurell J. A., Frappier B. L.: Dellmann's Textbook of Veterinary Histology. 6th ed. Wiley-Blackwell, Ames, 2007, 416 s. ISBN 0781741483
- Samuelson D. A.: Textbook of Veterinary Histology. 1th ed. Sauders, St. Louis, 2006, 546 s. ISBN 0721681743
- Mage, R. G. (1998): Lymphoid organs, their anatomical distribution and ontogeny of the immune system. In: (Pastoret, P. P., Griebel, P., Bazin, H., Govaerts, A. (Eds.). Handbook of vertebrate immunology. 1st ed. San Diego: Academic Press, s. 4858-555. ISBN 0125464010.
- Toman M.: Veterinární imunologie. 2. vydání. Grada, Praha, 2009, 392 s. ISBN 978-80-247-2464-5

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman KONEČNÝ, Ph.D.
Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

Datum zadání bakalářské práce: 26. března 2013

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2014

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 26. března 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne ……

Doležalová

Poděkování

Tímto bych chtěla velice poděkovat vedoucímu práce, Ing. Romanu Konečnému, Ph.D. za cenné rady a obětavost při vypracování bakalářské práce.

Abstrakt

Ovce jsou využívány jako experimentální modelová zvířata zejména v zootechnických a biomedicínských vědních oborech. Imunitní systém a proměnlivost jeho složek je ukazatelem nejen odolnosti, ale také úrovně homeostatických mechanizmů a adaptability.

Předkládaná bakalářská práce se zabývá imunitním systémem ovcí zvláště pak lymfatickými orgány. V jednotlivých kapitolách jsou popsány buňky, primární a sekundární lymfatické orgány, jejich stavba, lokalizace a funkce. Významná část práce je věnována lymfatické tkáni asociované se sliznicemi.

Klíčová slova: ovce, buňky imunitního systému, lymfatické orgány a tkáně

Abstract

Sheep are used as model animals for experimentation not only in many areas of livestock breeding but also in some fields of study within biomedicine. Immune system and changeability of its components is an indicator of resistance and a level of homeostatic mechanisms and adaptability as well. This bachelor's thesis deals with an immune system of sheep which is represented by lymphatic organs in particular. Cells, primarily and secondary lymphatic organs, their structure, localization and functions are described in separate chapters. Significant part of the thesis is devoted to lymphatic tissue associated with mucosa.

Key words: sheep, immune cells, lymphatic organs and tissues

Seznam zkratek

BALT	lymfatická tkáň asociována s bronchy
BCR	specifický receptor B-lymfocytů pro antigen
CALT	lymfatická tkáň asociovaná se spojivkou
CD	diferenciační antigen
CNS	centrální nervová soustava
CP	cryptopatches
EALT	lymfatická tkáň asociovaná s okem
FAE	epitel asociovaný s noduly
Fc receptor	vazebné místo pro Fc domény imunoglobulinu
GALT	lymfatická tkáň asociovaná s gastrointestinálním traktem
HE	barvení hematoxylin-eozin
HEV	postkapilární venuly s vysokým endotelem
IgA, IgD, IgE, IgG, IgM	izotopy protilátek
ILN	izolovaný lymfatický nodulus
IPP	Peyerovy plaky v kyčelníku
IS	imunitní systém
JPP	Peyerovy plaky v lačníku
LDALT	lymfatická tkáň asociovaná se slzným kanálkem
LN	lymfatické noduly
LTALT	lymfatická tkáň Waldeyrova kruhu
MALT	lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi
MHC I	hlavní histokompatibilní komplex I
MHC II	hlavní histokompatibilní komplex II
NALT	lymfatická tkáň asociovaná s nosní sliznicí
PALP	periarteriální lymfatické pláště sleziny
PP	Peyerovy plaky
RALT	lymfatická tkáň asociovaná s konečníkem
TCR	specifický receptor T-lymfocytů pro antigen
Th	pomocný T lymfocyt
Th1, Th2, Th17, Treg	subtypy pomocných T lymfocytů

Obsah

1. ÚVOD A CÍL 11
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED 12
2.1 Imunitní systém 12
2.2 Buňky imunitního systému 13
2.2.1 Buňky nespecifické imunity 14
2.2.1.1 Granulocyty 14
2.2.1.1.1 Neutrofilní granulocyty 14
2.2.1.1.2 Eozinofilní granulocyty 14
2.2.1.1.3 Bazofilní granulocyty 15
2.2.1.2 Žírné buňky 15
2.2.1.3 Monocyty 16
2.2.1.4 Makrofágy 16
2.2.1.5 Dendritické buňky 16
2.2.1.6 NK buňky 17
2.2.2 Buňky specifické imunity 18
2.2.2.1 Lymfocyty 18
2.3 Orgány imunitního systému 22
2.3.1 Primární (centrální) lymfatické orgány 22
2.3.1.1 Kostní dřeň (*medulla ossium*) 22
2.3.1.2 Brzlík (*thymus*) 24
2.3.2 Sekundární lymfatické orgány 26
2.3.2.1 Slezina (*lien*) 26
2.3.2.2 Mízní uzliny (*lymphonodi*) 28
2.3.2.3 Krevní uzlina (l*ymphonodus heamalis*) 31
2.3.2.4 Lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi (MALT) 31
2.3.2.4.1 Lymfatická tkáň asociovaná s okem (EALT) 32

2.3.2.4.2 Lymfatická tkáň asociovaná s nosem (NALT) 33
2.3.2.4.3 Lymfatická tkáň asociovaná s bronchy (BALT) 34
2.3.2.4.4 Lymfatická tkáň Waldeyerova kruhu (LTALT) 35
2.3.2.4.4.1 Jazyková mandle (*tonsilla lingualis*) 36
2.3.2.4.4.2 Mandle měkkého patra (*tonsilla palatum molle*) 38
2.3.2.4.4.3 Patrová mandle (*tonsilla palatina*) 38
2.3.2.4.4.4 Příklopková mandle (*tonsilla paraepiglottica*) 38
2.3.2.4.4.5 Mandle sluchové trubice (*tonsilla tubaria*) 40
2.3.2.4.4.6 Hltanová mandle (*tonsilla pharyngea*) 40
2.3.2.4.5 Lymfatická tkáň asociovaná s gastrointestinálním traktem (GALT) 41
2.3.2.4.5.1 Peyerovy plaky 42
2.3.2.4.5.2 Cryptopatches 45
2.3.2.4.5.3 Izolované lymfatické noduly 45
2.3.2.4.5.4 Lymfatická tkáň tračníku 45
2.3.2.4.5.5 Lymfatická tkáň asociovaná s konečníkem (RALT) 46
3. ZÁVĚR 48
4. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK 49
5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 50

1. ÚVOD A CÍL

Ovce domácí (*Ovis aries*) je malý přežvýkavec, který se v posledních letech začal hojně chovat nejen v horských, ale i v podhorských oblastech. Na rozdíl od skotu a prasat nedochází u tohoto druhu k neustále redukci počtu zvířat, ale naopak díky zájmu drobnochovatelů k postupnému nárůstu stavů. Využití tohoto druhu není pouze v produkci mléka, masa, vypásání chráněných území či špatně přístupných míst, ale také v biomedicínském výzkumu. Ovce jsou pro chovatelskou nenáročnost a pořizovací cenu často využívány jako velké modelové zvíře, například pro studium reprodukčních, endokrinologických a imunitních funkcí.

Imunitní systém spolu s endokrinní a nervovou soustavou udržují homeostázu organizmu. Při nevhodných zoohygienických podmínkách, nutričních chybách a stresových situacích dochází k narušení imunitního systému. Narušení imunitního systému se projevuje jak morfologickými tak funkčními změnami buněk a lymfatických orgánů.

Cílem bakalářské práce bylo z dostupných literárních zdrojů vypracovat literární přehled o lymfatických orgánech a tkáních ovcí.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Imunitní systém

Imunitní systém (IS) je adaptační a regulační soustava, která se spolu s nervovým a endokrinním systémem podílí na zajištění integrity mnohobuněčného živočišného organizmu a udržení jeho funkcí ve vitálních mezích (Toman, 2009). Imunitní systém je tvořen buňkami a molekulami, které jsou jednak rozptýleny po celém organizmu nebo vytváří specializované lymfatické tkáně a orgány (Toman, 2009).

Exogenní nebo endogenní látky, které IS rozpozná a reaguje na ně, se nazývají antigeny (Hořejší a Bartůňková, 2005). Mechanizmy jakými IS reaguje na přítomnost antigenu, lze rozdělit do dvou základních vzájemně komunikujících kategorií: nespecifické a antigenně specifické (Junquiera a Carneiro, 2005; Hořejší a Bartůňková, 2005).

Nespecifické (neadaptivní, vrozené) mechanizmy jsou evolučně starší, nedisponují imunologickou pamětí a jsou založeny na molekulách a buňkách, které jsou v organizmu připraveny předem (Hořejší a Bartůňková, 2005). Tyto mechanizmy jsou obvykle účinné proti mnoha různým patogenům tím, že reagují na strukturální a funkční rysy, které jsou jim společné (Hořejší a Bartůňková, 2005).

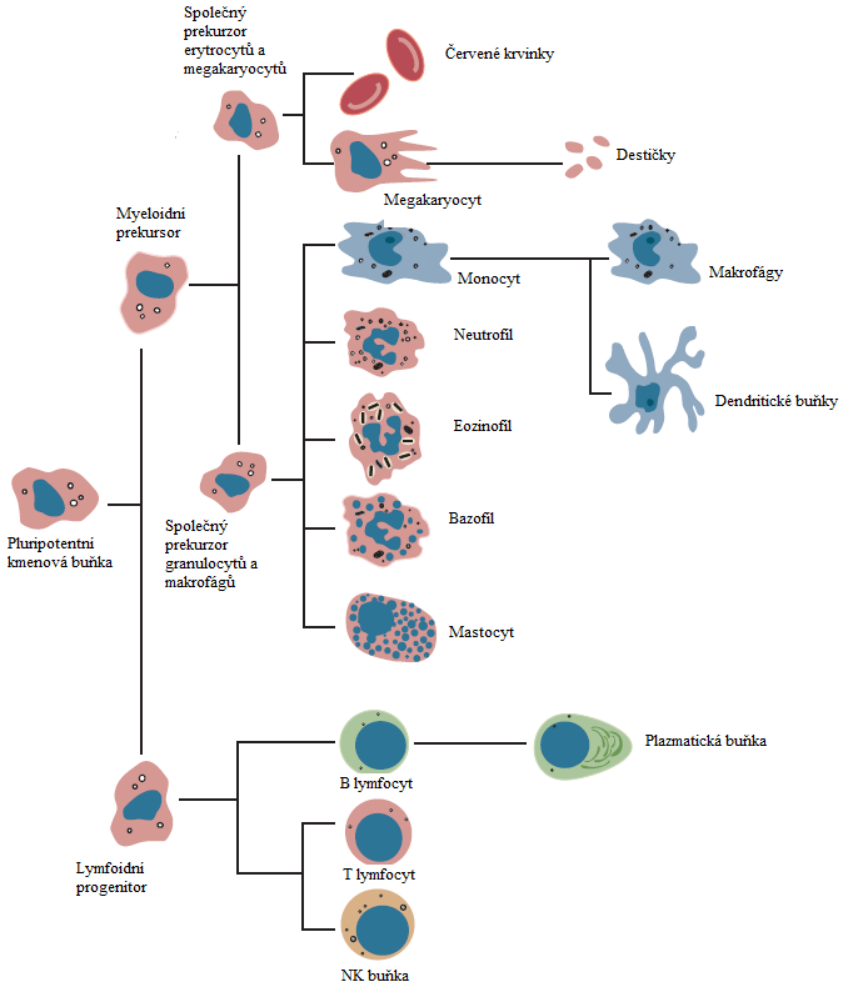
Nespecifické imunitní mechanizmy tvoří anatomické (kůže, sliznice), fyzikálně - chemické (teplota, pH) a mikrobiální bariéry, buňky (fagocytující buňky, NK buňky) a hormony (komplementový systém, interferony, lektiny a další sérové proteiny), (Hořejší a Bartůňková, 2005; Toman, 2009; Tizard, 2013).

Specifické (adaptivní, získané) mechanizmy jsou evolučně mladší, mají imunologickou paměť a na přítomnost antigenu reagují prostřednictvím specifických molekul (Hořejší a Bartůňková, 2005). Mezi specifické mechanizmy řadíme mechanizmy humorální a buněčně zprostředkované (Hořejší a Bartůňková, 2005; Tizard, 2013).

2.2 Buňky imunitního systému

Podstatnou část IS tvoří různé druhy leukocytů odvozené z pluripotentních kmenových buněk. Pluripotentní kmenové buňky vznikají v kostní dřeni a jejich charakteristickým znakem je exprese adhezivní molekuly CD34 (Hořejší a Bartůňková, 2005). Pod vlivem různých faktorů se část pluripotentní buněk diferencuje v myeloidní a lymfoidní linii buněk (Hořejší a Bartůňková, 2005), (Obrázek 1). Z myeloidní linie následně vznikají monocyty (makrofágy), granulocyty, žírné a dendritické buňky, naproti tomu z lymfoidní linie se diferencují NK buňky, T a B lymfocyty (Hořejší a Bartůňková, 2005). V IS hrají také důležitou úlohu buňky, které nepocházejí z hematopoetických kmenových buněk (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Obrázek 1: Vývojové krevní řady krvetvorby



Zdroj: Tizard, 2013

2.2.1 Buňky nespecifické imunity

2.2.1.1 Granulocyty

Do skupiny granulocytů patří buňky s různými obrannými funkcemi nespecifické imunity (Toman, 2009). Granulocyty jsou středně velké buňky, jejichž jádra mají laločnatý až segmentovaný tvar a v cytoplazmě obsahují četná granula (Toman, 2009; Tizard, 2013). Na základě barvitelnosti granul se tyto buňky dělí na neutrofilní, eozinofilní a bazofilní granulocyty (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009; Tizard, 2013).

2.2.1.1.1 Neutrofilní granulocyty

Neutrofilní granulocyty jsou krátkověké fagocytující buňky, které představují hlavní buněčnou populaci akutního bakteriálního zánětu (Toman, 2009). Neutrofilní granulocyty tvoří v průměru 20 – 30 % leukocytů v krvi ovcí (Byers a Kramer, 2010; Tizard, 2013). Velikost zralých neutrofilních granulocytů se pohybuje v rozmezí mezi 12 – 15 μm (Eurell a Frappier, 2006). Typickým znakem neutrofilních granulocytů je segmentované jádro sestávající se ze tří až čtyř laloků a dále přítomnost drobných různě se barvících granul (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009). Pomocí elektronové mikroskopie bylo prokázáno, že v cytoplazmě buněk se vyskytují tři typy granul obsahující různé enzymy (Eurell a Frappier, 2006; Tizard, 2013). Primární (azurofilní) granula jsou velká, peroxidáza pozitivní a obsahují myeloperoxidázu, defenziny, kationické proteiny, proteázy a hydrolázy (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009; Tizard, 2013). Sekundární granula jsou menší, peroxidáza negativní a obsahují alkalickou fosfatázu, kolagenázu a laktoferin (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009; Tizard, 2013). Terciární granula jsou v ovčích neutrofilních granulocytech velká, četná a obsahují gelatinázu (Toman, 2009; Byers a Kramer, 2010). Na rozdíl od ostatních druhů zvířat se v neutrofilních granulocytech ovcí nevyskytuje lyzozym (Styrt, 1989).

2.2.1.1.2 Eozinofilní granulocyty

Eozinofilní granulocyty tvoří v průměru 5 % krevních leukocytů ovcí (Byers a Kramer, 2010). Velikost eozinofilních granulocytů odpovídá velikosti neutrofilních

granulocytů (Eurell a Frappier, 2006). Na rozdíl od neutrofilních granulocytů mají jádro ve tvaru pruhu nebo jsou dvoulaločné (Byers a Kramer, 2010). Cytoplazma je vyplněna malými, kulovitými, intenzivně červeně zbarvenými granuly s centrálním krystaloidem (Eurell a Frappier, 2006; Byers a Kramer, 2010). Granula obsahují histaminázu, peroxidázu a lyzozomální enzymy (Toman, 2009). Eozinofilní granulocyty mají na svém povrchu receptory pro komplement, nízko vazebné Fc receptory pro izotopy protilátek (Ig) E a IgG (Toman, 2009). Funkce eozinofilních granulocytů je fagocytóza imunitních komplexů a zabíjení mnohobuněčných parazitů (Toman, 2009).

2.2.1.1.3 Bazofilní granulocyty

Bazofilní granulocyty jsou induktory zánětu, regulují cévní prostupnost, hladkou svalovinu a sekreci hlenu (Toman, 2009). V periferní krvi ovcí se bazofilní granulocyty vyskytují nepravidelně a jejich počty se pohybují v rozmezí od 0 do 3 % (Byers a Kramer, 2010). Velikost bazofilních granulocytů je 10 – 15 μm. Jádro bazofilních granulocytů je segmentované a celé překryto malými, intenzivně bazofilně zbarvenými granuly (Eurell a Frappier, 2006; Byers a Kramer, 2010). Tato granula obsahují histamin, proteoglykany a proteázy (Toman, 2009).

2.2.1.2 Žírné buňky

Žírné buňky (mastocyty) hrají důležitou roli v nespecifické imunitní odpovědi a alergických reakcích (Tizard, 2013). Jsou to velké, sférické nebo ovoidní buňky s výrazným centrálně uloženým jádrem (Eurell a Frappier, 2006). V cytoplazmě obsahují četná sekreční granula, jejichž součástí je řada hydrolytických enzymů, proteoglykany (heparin) a hlavně biogenní aminy (histamin, serotonin), (Hořejší a Bartůňková, 2005; Eurell a Frappier, 2006). Na povrchu žírných buněk se nachází vysoko afinní Fc receptor pro IgE, Fc receptor pro IgG a receptor pro komplementový fragment (C5a), (Hořejší a Bartůňková, 2005). Podle lokalizace a typu proteáz se rozlišují tři typy žírných buněk (Eurell a Frappier, 2006). Slizniční žírné buňky obsahují pouze tryptázu, pojivové mimo tryptázy obsahují chymázu, karboxypeptidázu a katepsin (Eurell a Frappier, 2006). Třetí typ obsahuje pouze chymázu a karboxypeptidázů (Eurell a Frappier, 2006).

2.2.1.3 Monocyty

Monocyty jsou největší leukocyty v krvi (Eurell a Frappier, 2006). Velikost monocytů se pohybuje v rozmezí od 13 do 19 μm (Byers a Kramer, 2010). Jsou to kulovité až nepravidelně kulovité buňky (Byers a Kramer, 2010). Jádro monocytů je velké, kulovitého, fazolovitého nebo členitého tvaru (Eurell a Frappier, 2006; Tizard, 2013). V hojné cytoplazmě šedomodré barvy se často vyskytují vakuoly nebo nepatrná azurofilní granula (Eurell a Frappier, 2006). Počet monocytů se pohybuje v rozmezí od 0 do 6 % z celkového počtu leukocytů ovcí (Byers a Kramer, 2010). Funkcí monocytů je fagocytóza, regulační funkce a produkce cytokinů (Jelínek a Jelínek, 2002; Toman 2009).

2.2.1.4 Makrofágy

Makrofágy jsou velké oválné nebo kulovité fagocytující, antigen prezentující buňky, které jsou lokalizovány na různých místech v organizmu (Eurell a Frappier, 2006). Makrofágy vznikají z monocytů, které migrují přes stěnu krevních cév do vaziva nebo orgánů (Eurell a Frappier, 2006). Během přeměny monocytů na makrofágy se zvyšuje proteosyntéza i velikost buňky (Junqueira a Carneiro, 2005).

Makrofágy, které putují různými tkáněmi, označujeme jako mobilní tkáňové makrofágy, naproti tomu fixní tkáňové makrofágy jsou standardní součástí tkání (Jelínek a Jelínek, 2002). Mezi fixní makrofágy se řadí Kupfferovy buňky jater, alveolární a perivaskulární plicní makrofágy, histiocyty pojiva, osteoklasty v kostech, synoviální A buňky, mikroglie CNS, mezangiální buňky, makrofágy marginální zóny sleziny a germinálních center, peritoneální a pleurální makrofágy, makrofágy žilných splavů a červené pulpy sleziny (Toman, 2009).

2.2.1.5 Dendritické buňky

Dendritické buňky jsou považovány za nejúčinnější buňky prezentující antigen, jejichž účinnost je nejméně 100krát větší nežli u makrofágů a B lymfocytů (Hořejší a Bartůňková, 2005; Tizar, 2013). Dendritické buňky tvoří spojovací článek mezi antigenně specifickou a nespecifickou složkou IS (Tizard, 2013). Jsou to

dynamicky migrující buňky mezi krví a lymfou, které se vyskytují s výjimkou mozku, očí a varlat ve všech orgánech (Hořejší a Bartůňková, 2005; Tizard, 2013). Nejvyšší zastoupení těchto buněk je v lymfatických orgánech, kůži a sliznicích (Tizard, 2013). Tvar dendritických buněk je závislý na stádiu aktivace. Obecně jsou to malé buňky s velkým množstvím dlouhých cytoplazmatických výběžků (Tizard, 2013). Dendritické buňky tvoří různé populace buněk, které se liší aktivačními mechanizmy a přítomností respektive nepřítomností některých molekul (Pascale a kol., 2008; Toman, 2009).

Myeloidní dendritické buňky ($CD11c^+$) vznikají v kostní dřeni ze společného prekurzoru s makrofágy (Toman, 2009). Mezi myeloidní dendritické buňky patří Langerhansovy buňky, folikulární a interdigitující dendritické buňky.

Langerhansovy buňky se nacházejí v epitelu kůže (Tizard, 2013). Pro tyto buňky jsou typická válcovitá Birbeckova cytoplazmatická granula (Toman, 2009; Tizard, 2013).

Folikulární dendritické buňky jsou stromální buňky, které se vyskytují v sekundárních lymfatických orgánech (Eurell a Frappier, 2006). Na povrchu těchto buněk chybí MHC II molekuly (Tizard, 2013). Folikulární dendritické buňky prezentují antigeny B lymfocytům.

V T buněčných oblastech se vyskytuje další typ myeloidních dendritických buněk - interdigitující dendritické buňky. Interdigitující dendritické buňky prezentují antigeny T lymfocytům (Eurell a Frappier, 2006).

Plazmocytoidní dendritické buňky ($CD11c^-$) jsou dlouho žijící buňky přítomné v krvi, kostní dřeni a lymfatických orgánech (Tizard, 2013; Pascale a kol., 2008). Plazmocytoidní dendritické buňky produkují velké množství interferonu 1 (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.2.1.6 NK buňky

NK buňky jsou velké granulární lymfocyty, které představují populaci cytotoxických buněk nespecifické imunity (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009).

Na rozdíl od T a B lymfocytů nemají antigenně specifické receptory (TCR, BCR), ale exprimují např. molekuly T lymfocytů jako jsou (CD2) a (CD7), (Toman, 2009).

2.2.2 Buňky specifické imunity

2.2.2.1 Lymfocyty

Lymfocyty jsou hlavní složkou antigenně specifické imunity, které se vyskytují v krvi, lymfatických orgánech a sliznicích (Tizard, 2013). Procentuální zastoupení hlavních typů lymfocytů v periferní krvi ovcí znázorňuje Tabulka 1.

Lymfocyty jsou kulovité buňky, které se dle velikosti dělí na malé (7 – 8 μm), střední a velké (do 10 μm), (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009). U ovcí se vyskytují zejména malé a střední lymfocyty (Byers a Kramer, 2010). Lymfocyty mají velké, kulovité intenzivně zbarvené jádro obklopené malým pruhem cytoplazmy (Eurell a Frappier, 2006; Toman, 2009). Ačkoliv patří tyto buňky mezi agranulocyty, některé z nich mohou v cytoplazmě obsahovat azurofilní granula (Eurell a Frappier, 2006).

Přestože lymfocyty vykazují stejný vzhled, jsou rozmanitou směsí subpopulací buněk, které lze rozlišit na základě vlastností a povrchových molekul (fenotypu), (Tizard, 2013). Lymfocyty se dělí na dvě velké základní skupiny, a to na T a B lymfocyty.

T lymfocyty jsou buňky nezbytné pro antigenně specifické buněčně zprostředkované i protilátkové imunitní reakce (Hořejší a Bartůňková, 2005). Název těchto buněk byl odvozen od tymu (místa jejich diferenciace), (Jelínek a Jelínek, 2002). Na povrchu T lymfocytů se nachází několik desítek tisíc identických klonálně specifických receptorů rozpoznávajících antigeny (TCR), (Tizard, 2013). S tímto receptorem je spojena komplexní molekula CD3, která přenáší signál z TCR do buňky (Tizard, 2013).

Podle typu peptidových řetězců, které tvoří TCR, lze T lymfocyty dále dělit na buňky nesoucí αβ TCR nebo γδ TCR (Hořejší a Bartůňková, 2005). Procentuální zastoupení T lymfocytů s různými povrchovými molekulami zobrazuje Tabulka 2.

T lymfocyty exprimující αβ TCR lze rozdělit dále na ty, které nesou molekuly CD8 (koreceptor pro MHC I) a ty, které mají na povrchu CD4 (koreceptor pro MHC II), (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Většina $CD8^+$ T lymfocytů jsou prekurzory cytotoxických T buněk nebo paměťové buňky tohoto typu. Úkolem $CD8^+$ T lymfocytů je eliminace nádorových buněk a buněk infikovaných virem nebo jiným intracelulárním parazitem (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Podstatná část $CD4^+$ T lymfocytů jsou prekurzory pomocných T buněk (Th), jejichž hlavní úlohou je regulace imunitní odpovědi (Hořejší a Bartůňková, 2005, Tizard, 2013). Th lymfocyty se dle produkce hlavních cytokinů dělí na subtypy Th1, Th2, Th17, Treg (regulační), (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Tabulka 1: Procentuální zastoupení lymfocytů v periferní krvi ovcí

B lymfocyty	**T lymfocyty**	**$CD4^+$**	**$CD8^+$**	**Poměr CD4/CD8**
56–64	11–50	8–22	4–22	1,55

Zdroj: Tizard, 2013

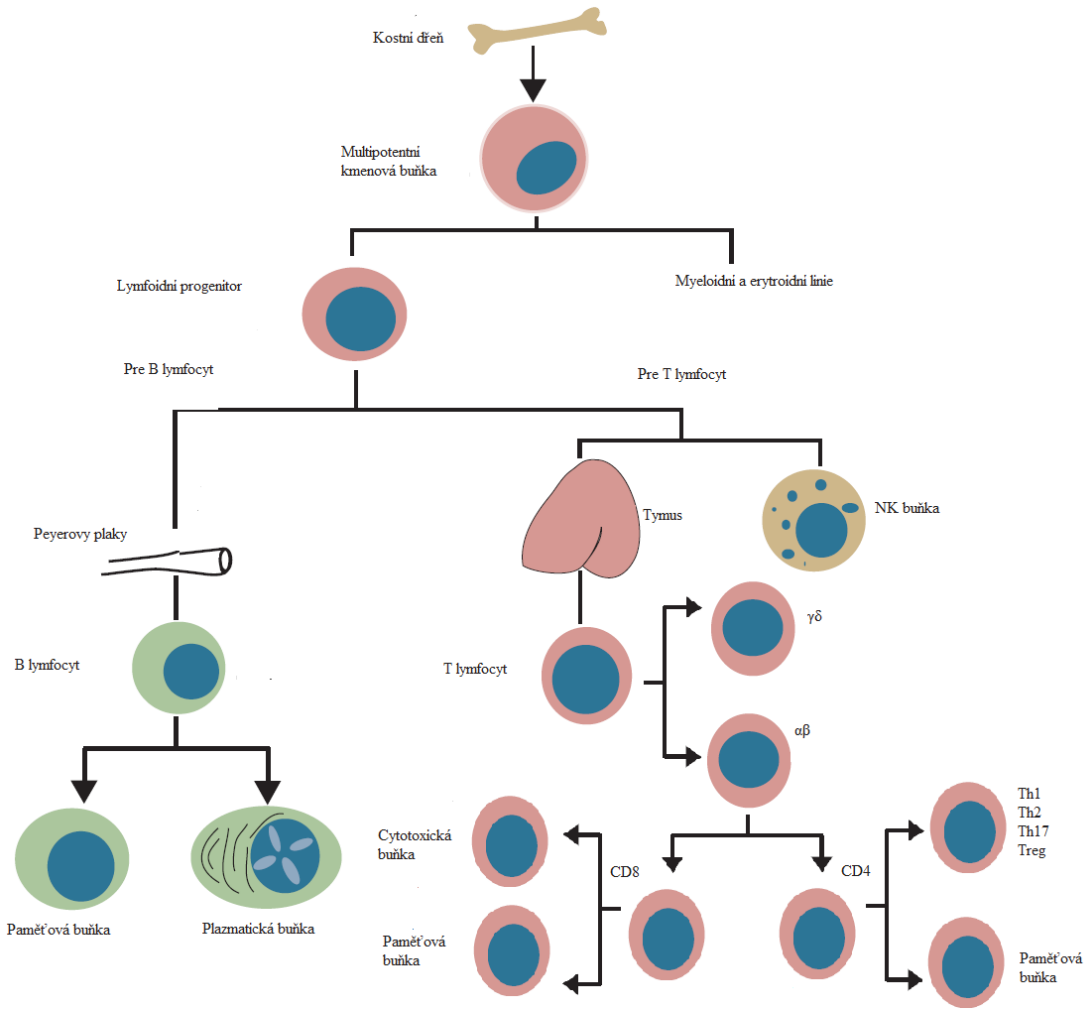
Tabulka 2: Procentuální zastoupení T lymfocytů s různými povrchovými molekulami v periferní krvi ovcí

TCRα/β	**TCRγ/δ**	**$CD2^+$**	**$CD4^+$**	**$CD8^+$**
5–30	22–68	10–36	8–22	4–22

Zdroj: Tizard, 2013

T lymfocyty exprimující γδ TCR se mohou vyvíjet mimo tymus (Toman, 2009). U ovcí je poměrně velké zastoupení γδ TCR^+ buněk, a to zejména v krvi, až 60 % (Hein a Mackay, 1991). Méně četné jsou v solidních lymfatických orgánech, kde představují 1–14 % z populace rezidentních leukocytů nebo například v lačníku, v oblastech, kde se nevyskytují Peyerovy plaky, je 18 % intraepiteliálních leukocytů γδ TCR^+ (Gyorffy a kol., 1992).

Obrázek 2: Vývoj lymfocytů



Zdroj: Tizard, 2013

B lymfocyty vznikají prenatálně a postnatálně v kostní dřeni a jejich další diferenciace probíhá u ovcí v Peyerových placích kyčelníku (Jeong a kol., 2001; Jelínek a Jelínek, 2002).

Název těchto buněk byl odvozen od Fabriciovy burzy ptáků, kde byly tyto buňky detekovány jako první. Procentuální zastoupení B lymfocytů v periferní krvi znázorňuje Tabulka 1.

Podobně jako u T lymfocytů se na povrchu B lymfocytů vyskytuje velké množství identických receptorů (200-300 000) rozpoznávající antigeny (BCR), které jsou v komplexu s transmembránovým dimerem CD79 (Tizard, 2013).

Terminálním diferenciačním stádiem B lymfocytů jsou plazmatické a paměťové buňky (Obrázek 2).

Plazmatické buňky jsou odpovědné za syntézu protilátek nacházejících se v krvi a z B lymfocytů se vyvíjejí po jejich antigenní stimulaci (Junqueira a Carneiro, 2005; Tizard, 2013). Velké množství těchto buněk se nachází ve slezině, dřeni mízních uzlin a kostní dřeni (Tizard, 2013). Plazmatické buňky jsou kulovité, vejčité nebo hruškovité buňky o velikosti 8 – 9 μm (Eurell a Frappier, 2006; Tizard, 2013). Bohatá cytoplazma má sklovitý vzhled, je silně bazofilní a intenzivně se barví na periferii buňky (Novotný a kol., 1966). Typickým znakem plazmatických buněk je okrouhlé, excentricky umístěné jádro, ve kterém se střídá kompaktní hrubý heterochromatin se světlejšími stejně velkými úseky (Junqueira a Carneiro, 2005).

Tabulka 3: Povrchové molekuly leukocytů ovcí

CD	Buňky/tkáně
CD1b	Dendritické buňky v dermis, aferentní lymfě, lymfatických uzlinách, slezině, tymu
CD1c	Dendritické buňky v dermis, aferentní lymfě, lymfatických uzlinách, slezině, tymu, B lymfocyty
CD2	CD4 T lymfocyty, CD8 T lymfocyty, 60–70 % tymocytů, Dendritické buňky a makrofágy, nevyskytuje se na B lymfocytech a γδ T lymfocytech
CD3	Všechny buňky exprimující αβ/γδ TCR
CD4	Subpopulace αβ T buněk
CD5	Pan T lymfocyty, část B lymfocytů
CD6	Tymocyty a většina T lymfocytů
CD8	Subpopulace αβ T buněk
CD11a	Lymfocyty, granulocyty, monocyty, makrofágy
CD11b	Granulocyty, mononukleární buňky, alveolární makrofágy
CD11c	Makrofágy, eozinofily, aferentní dendritické buňky
CD18	Lymfocyty, granulocyty, monocyty, makrofágy
CD20	B lymfocyty
CD21	Folikulární dendritické buňky
CD25	Aktivované T lymfocyty, 30–40 % T lymfocytů v krvi

Zdroj: Griebel, 1998; Knop a Knop, 2000; Hořejší a Bartůňková, 2005; Baptista a kol., 2013

pokračování Tabulky 3

CD	Buňky/tkáně
CD34	Pluripotentní kmenové buňky
CD40	B lymfocyty
CD44	Leukocyty, tymocyty
CD45	Lymfocyty, makrofágy, granulocyty
CD58	Zralé a nezralé hematopoetické buňky, erytrocyty, endotel
CD59	Erytrocyty, lymfocyty
CD79	B lymfocyty
MHC I	Všechny somatické buňky, mimo neuronů
MHC II	Většina B lymfocytů, monocyty, makrofágy, dendritické buňky, epiteliální buňky tymu, aktivované T lymfocyty

Zdroj: Griebel, 1998; Knop a Knop, 2000; Hořejší a Bartůňková, 2005; Baptista a kol., 2013

2.3 Orgány imunitního systému

Z funkčního hlediska se lymfatické orgány rozlišují na primární (centrální) a sekundarní (periferní). V primárních lymfatických orgánech dochází ke vzniku, diferenciaci a zrání imunokompetentních buněk. Hlavní antigenně specifické imunitní reakce probíhají v sekundárních lymfatických orgánech a tkáních (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.3.1 Primární (centrální) lymfatické orgány

2.3.1.1 Kostní dřeň *(medulla ossium)*

Kostní dřeň je měkká, želatinózní tkáň mezenchymálního původu vyplňující dřeňovou dutinu dlouhých kostí, prostory mezi trámci a lamelami kosti houbovité a štěrbiny kolem cév a nervů v Haversových kanálcích (Novotný a kol., 1966). Hlavní funkcí kostní dřeně je postnatální krvetvorba (Toman, 2009). Kostní dřeň se skládá z cév, specializovaných sinů, hematopoetických prekurzorových buněk a z buněk mikroprostředí (Eurell a Frappier, 2006; Ross a Pawlina, 2010). Buňky mikroprostředí zahrnují jednak buňky stroma kostní dřeně, mezi které náleží

fibroblasty, tukové buňky, makrofágy, endotelové buňky a také akcesorní buňky, které zastupují T lymfocyty, monocyty, NK buňky, žírné buňky (Eurell a Frappier, 2006; Ross a Pawlina, 2010). Ve vyvíjejících se kostech se dále vyskytují osteoblasty a osteoklasty (Wilkins, 1992). Struktura kostní dřeně se liší v různých kostech a i na různých místech dané kosti. Nejvýznamnější změny kostní dřeně korelují s věkem jedince (Wilkins, 1992; Marvan a kol., 2003). Zastoupení buněk kostní dřeně u dospělých ovcí znázorňuje Tabulka 4.

Tabulka 4: Procentuální zastoupení buněk vkostní dřeni dospělých ovcí

Typ buněk	**Procentuální zastoupení (%)**
Myeloidní řada	
Myeloblasty	0,96 ±0,15
Promyelocyty	2,04±0,23
Neutrofilní myelocyty	4,52±0,61
Eozinofilní myelocyty	0,80±0,61
Bazofilní myelocyty	0,04± 0,08
Neutrofilní metamyelocyty	7,27±1,47
Eozinofilní metamyelocyty	2,16±1,08
Bazofilní metamyelocyty	0,04±0,08
Nezrálé neutrofilní granulocyty	14,68±1,83
Nezralé eozinofilní granulocyty	3,20±1,59
Nezrálé bazofilní granulocyty	0,16±0,23
Neutrofilní granulocyty	3,52±1,50
Eozinofilní granulocyty	1,20±0,73
Bazofilní granulocyty	0,16±0,19
Celkový počet	**40,75±2,95**

Zdroj: Al Izzi a kol., 2007

pokračování Tabulky 4

Typ buněk	Procentuální zastoupení (%)
Erytroidní řada	
Erytroblasty	0,68±0,16
Proerytroblasty	1,36±0,29
Bazofilní erytroblasty	5,08±0,50
Polychromatofilní erytroblasty	31,96±1,91
Ortochromatofilní erytroblasty	16,65 ±2,26
Celkový počet	**55,73±2,54**
Myeloidní*:*erytroidní poměr	0,73±0,08
Lymfocyty	1,88±0,59
Plazmatické buňky	0,24±0,15
Monocyty	0,60±0,28
Megakaryocyty	0,32±0,20

Zdroj: Al Izzi a kol., 2007

2.3.1.2 Brzlík *(thymus)*

Brzlík je plochý laločnatý lymfoepiteliální orgán, žlutorůžové barvy tuhé konzistence (Černý, 2002), ve kterém se progenitory T lymfocytů množí, diferencují a dozrávají, což vede ke vzniku funkčního T buněčného repertoáru (Pearse, 2006).

Podle rozsahu orgánu a jeho topografického uložení brzlík ovcí řadíme do krčněhrudního (cervikothorakálního) typu (Černý, 2002). Podobně jako u skotu je tvořen nepárovým hrudním lalokem, který se nachází v mediastinu dorzokraniálně od perikardu a z lateroventrálně uloženého párového krčního laloku (Najbrt a kol., 1973).

Průměrná hmotnost brzlíku závisí na stáří jedince, např. v 7 týdnech věku váží 42 g, ve dvou letech 21 g (Černý, 2002). Největšího rozvoje dosahuje do období puberty, poté dochází pod vlivem zvýšené produkce pohlavních hormonů k jeho involuci (Marvan a kol., 2003). V průběhu involuce je parenchym nahrazován vazivovou a tukovou tkání, avšak fragmenty parenchymu zůstávají po celý život (Tichý a kol., 2004). Proto odstranění brzlíku (thymektomie) u dospělých jedinců nemá podstatný vliv na imunitní funkce v organizmu, naproti tomu u novorozenců

odstranění nebo nevyvinutí brzlíku vede k atrofii ostatních lymfatických orgánu a poklesu cirkulujících lymfocytů (Tichý a kol., 2004).

Na povrchu brzlíku se nachází vazivové pouzdro (*capsula thymi*) z kolagenního vaziva obsahující krevní cévy, eferentní lymfatické cévy a nervy. Z vazivového pouzdra odstupují do parenchymu septa, která jej dělí na jednotlivé, v hloubce neúplně oddělené lalůčky různé velikosti a tvaru (*lobuli thymi*), (Tichý a kol., 2004; Samuelson, 2006).

Prostory mezi trámci vyplňuje epitelové retikulum, které je tvořeno několika typy buněk. Prvním typem jsou buňky hvězdicovitého tvaru, které se vzájemně spojují a formují jako síť. Další epitelové buňky ohraničují vnitřní prostor každého lalůčku v podobě souvislé vrstvy (Samuelson, 2006).

Každý lalůček se skládá z periferní tmavé zóny (kůra) a z centrální světlé zóny (dřeň), (Junqueira a Carneiro, 2005).

Kůra se sestává z různých vývojových stádií T lymfocytů a makrofágů fagocytujících apoptoticky zanikající buňky. V oblasti kortikomedulární junkce se kromě T lymfocytů vyskytují také dendritické buňky, perivaskulární B lymfocyty a plazmatické buňky (Pearse, 2006).

Dřeň brzlíku vzhledem k nižší hustotě lymfocytů a většímu zastoupení epitelových buněk tvoří světlou zónu lalůčků (Samuelson, 2006). Dřeň sousedních lalůčků není od sebe jednoznačně oddělena, ale splývá ve složitý strom (Novotný a kol., 1966).

Typickou strukturou dřeně jsou kruhová nebo nepravidelně sférická tymická (Hassalova) tělíska, která jsou tvořena kalcifikovanými nebo degenerovanými centrálními buňkami, obklopenými koncentricky uspořádanými plochými epiteliálními buňkami (Eurell a Frappier, 2006).

Mezi další zastoupené buňky patří podobně jako v oblasti kortikomedulární junkce dendritické buňky, B lymfocyty, ale také mastocyty a eozinofilní granulocyty (Pearse, 2006).

2.3.2 Sekundární lymfatické orgány

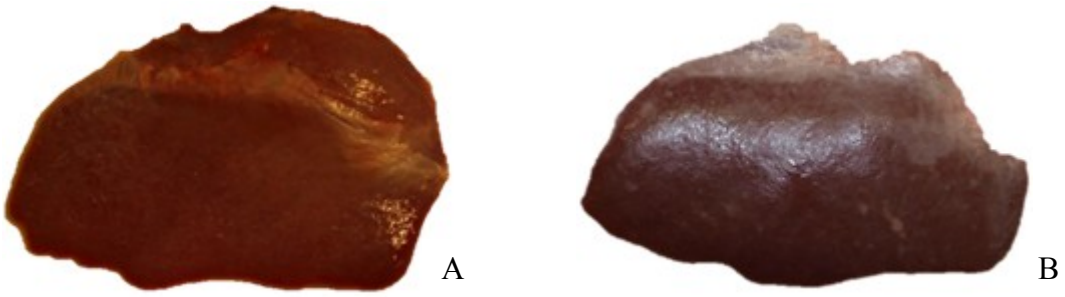
2.3.2.1 Slezina *(lien)*

Slezina je největší sekundární lymfatický orgán v těle zvířat (Cesta, 2006), který zajišťuje zachycení krevních antigenů, odstraňování starých nebo poškozených erytrocytů, metabolizmus hemoglobinu a železa, erytropoézu a lymfopoézu (Banks, 1993; Mebius a Kraal, 2005; Cesta, 2006). Dle funkčního hlediska se slezina ovce řadí mezi přechodný typ (Banks, 1993).

Slezina (Obrázek 3) je relativně malý orgán červenohnědé barvy, trojúhelníkovitého tvaru, o průměrné hmotnosti ve stáří pěti měsíců 69 g (Eman a Khalel, 2010).

Topograficky se slezina nachází vysoko dorzálně u páteře mezi bachorem a bránicí v rozsahu 10. – 13. žebra (Černý, 2002). Parietální plocha (Obrázek 3B) sleziny je mírně vyklenutá a orientována k bránici, naproti tomu mírně vydutou viscerální plochou naléhá slezina na bachor (Najbrt a kol., 1973; Černý, 2002). Na viscerální ploše se nachází úponová linie serózy, která ji dělí na dvě části. V dorzální části viscerální plochy vstupují v místě slezinné branky *(hilus lienalis)* do sleziny cévy a nervy (Najbrt a kol., 1973). *Hilus* sleziny je na rozdíl od prasete oválného tvaru a relativně malý.

Obrázek 3: Makroskopický snímek viscerální (A) a parietální (B) plochy sleziny



A B

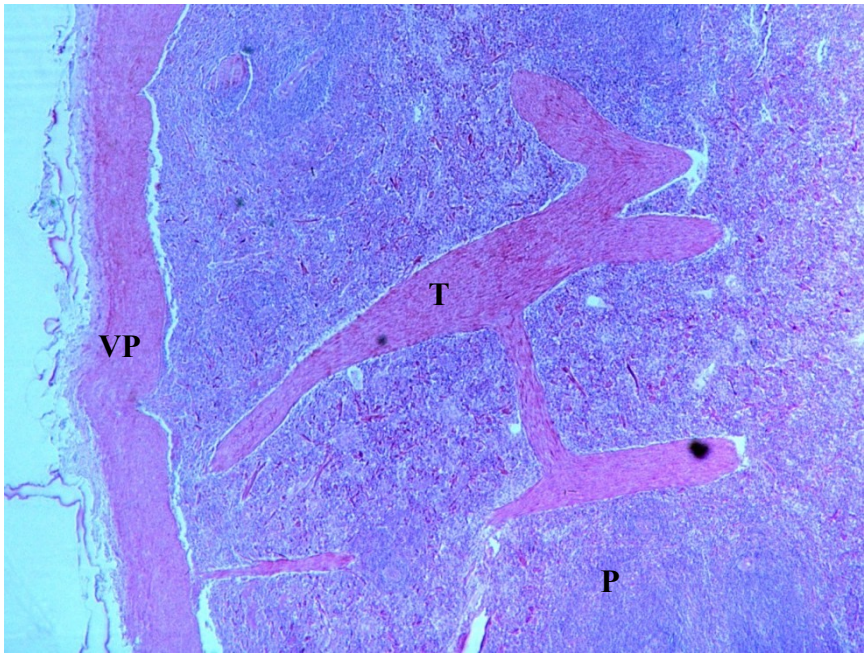
viscerální parietální

Zdroj: Konečný a Doležalová

Slezina je obalena silným (140,5 μ) vazivovým pouzdrem, které tvoří husté kolagenní vazivo s příměsí elastických vláken a hladkosvalových buněk. Na povrchu pouzdra se nachází vrstva mezotelových buněk (Cesta, 2006; Eman a Khalel 2010).

Z vazivového pouzdra (Obrázek 4) do nitra orgánu pronikají poměrně silné trámce složené z kolagenních a elastických vláken s převahou hladkosvalových buněk. Tyto trámce nesou arterie, žíly, lymfatické cévy a nervy (Reece, 1998; Bacha a Bacha 2002; Marvan a kol., 2003; Mebius a Kraal, 2005). Mezi trámci se rozprostírá parenchym, jenž se dělí na dvě strukturálně a funkčně odlišné jednotky: červenou a bílou pulpu (dřeň), (Bacha a Bacha, 2002; Toman, 2009).

Obrázek 4: Histologický řez slezinou ovce



Vazivové pouzdro (VP), vazivové trámce (T), parenchym (P), (HE)

Zdroj: Konečný a Doležalová

Červená pulpa tvoří 75 – 80 % hmotnosti sleziny (Novotný a kol., 1966) a skládá se z trojrozměrné sítě slezinných provazců a venul (Cesta, 2006; Eurell a Frappier, 2006). Podobně jako u skotu se v červené pulpě sleziny ovcí vyskytuje hojné množství hladkosvalových buněk (Bacha a Bacha, 2002).

Slezinné (Billrothovy) provazce jsou tvořeny sítí fibroblastů, retikulárních buněk a retikulárních vláken, v jejíchž okách se nacházejí různé populace buněk, jako jsou erytrocyty, granulocyty, megakaryocyty, makrofágy, dendritické buňky, plazmablasty, plazmatické buňky (Novotný a kol., 1966; Mebius a Kraal, 2005; Cesta, 2006; Eurell a Frappier, 2006). Mezi provazci se vyskytují venuly s širokým lumen a nepravidelnou stěnou. Stěnu venul tvoří endotel nasedající na nesouvislou

bazální membránu, podporovanou retikulárními buňkami s retikulárními vlákny (Bacha a Bacha, 2002; Eurell a Frappier, 2006). U ovcí podobně jako u prasat a koní se nevyskytují nebo jen ojediněle typické venózní siny (Bacha a Bacha, 2002).

Marginální zóna tvoří hranici mezi bílou a červenou pulpou. Je to důležitá tranzitní zóna pro buňky, které opouštějí krevní řečiště a vstupují do bílé pulpy (Mebius a Kraal, 2005). Strukturálně marginální zónu tvoří síť retikulárních buněk, ve které se kromě tranzitních buněk nachází také velké množství buněk rezidentních (Mebius a Kraal, 2005). Mezi rezidentní buňky patří makrofágy marginální zóny a „*metallophilic macrophages*“, které jsou lokalizovány v blízkosti bílé pulpy. Obě populace makrofágů exprimují specifické receptory (Mebius a Kraal, 2005), podobně jako B lymfocyty marginální zóny (Van Rees a kol., 1996). Vmarginální zóně se také vyskytuje oblast anastomozujících kanálků, do které ústí kapiláry – marginální sinus (Eurell a Frappier, 2006).

Bílá pulpa má podobu lymfatického pláště, který obklopuje větvící se arterie (Mebius a Kraal, 2005). Bílá pulpa se dělí dle zastoupení jednotlivých typů buněk na periarteriální lymfatické pláště (PALP) a lymfatické noduly (LN).

PALP vznikají kumulací lymfatických buněk v místě, kde arterie vystupují z vazivových trámců (Jelínek a Jelínek, 2002). Skládají se z lymfocytů, koncentrických vrstev retikulárních vláken a plochých retikulárních buněk (Cesta, 2006). PALP se dělí na vnitřní zónu, (intenzivnějšího zbarvení) obsahující zejména populaci $CD4^+$ T lymfocytů, méně $CD8^+$ T lymfocytů a interdigitujících dendritických buněk a vnější zónu, ve které jsou B a T lymfocyty, makrofágy, případně po antigenní stimulaci plazmatické buňky (Van Rees a kol., 1996).

LN se nacházejí v průběhu PALP zejména v oblastech, kde se větví centrální arterie (Ward a kol., 1999). LN tvoří populace B lymfocytů, folikulárních dendritických buněk a $CD4^+$ T lymfocytů (Van Rees a kol., 1996).

2.3.2.2 **Mízní uzliny** *(lymphonodi)*

Mízní uzliny jsou orgány lymforetikulární tkáně vložené do průběhu mízních cév (Novotný a kol., 1966). Tvar mízních uzlin může být různý, od oválného přes protáhlý, laločnatý anebo nepravidelný.

Velikost mízních uzlin se pohybuje v závislosti na věku, antigenní stimulaci a lokalizaci od několika milimetrů až po několik centimetrů (Novotný a kol., 1966; Banks, 1993).

Barva mízních uzlin je rovněž různá, od šedobílé až po načervenalou (Novotný a kol. 1966).

Mízní uzliny jsou v těle lokalizovány na typických místech, kde mají za úkol zachytávat antigeny z lymfy z určité tributární oblasti před návratem do krevního řečiště (Červený, 1999; Eurell a Frappier, 2006). Soubor mízních uzlin z určité tělní krajiny formuje mízní centra (Červený, 1999). Mízní uzliny se nacházejí v podkoží, v intersticiu mezi svaly, v sousedství nebo v blízkosti téměř všech vnitřních orgánů (Jelínek a Jelínek, 2002).

Na povrchu mízních uzlin se nachází vazivové pouzdro z hustého neuspořádaného kolagenní ho vaziva s příměsí elastických vláken a hladkosvalových buněk (Bacha a Bacha, 2002). Z vazivového pouzdra odstupují do parenchymu vazivové trámce nesoucí krevní cévy a nervy (Novotný a kol., 1966; Eurell a Frappier, 2006). Tloušťka trámců závisí na velikosti mízní uzliny (Novotný a kol. 1966). Mezi vazivovými trámci se rozprostírají retikulární buňky a retikulární vlákna formující nosné stroma, ve kterém jsou uloženy lymfocyty, makrofágy a plazmatické buňky (Eurell a Frappier, 2006).

Vlastní parenchym mízní uzliny se dělí na tři oddíly: kůru, parakortex a dřeň.

Kůra je uložena pod vazivovým pouzdrem a skládá se z primárních a sekundárních LN vzájemně od sebe oddělených difuzní lymfatickou tkání společně s internodulárními septy a siny (Tichý a kol., 2004; Willard – Mack, 2006).

Mezi kůrou a dření je oblast bohatá na T lymfocyty ($CD4^+$, $CD8^+$) a dendritické buňky **- parakortex** (Obrázek 5), **(**Aughey a Frye, 2001; Samuelson, 2006). Buňky jsou zde organizovány do provazců mezi lymfatickými siny (Tizard, 2013).

V centru každého provazce se vyskytují charakteristické cévy vystlané kubickými až cylindrickými endoteliálními buňkami (HEV). HEV představují hlavní místo migrace lymfocytů do mízní uzliny (Young a kol., 2006).

Dřeň vyplňuje centrální oblast uzliny (Tichý a kol., 2004). Lymfatická tkáň dřeně odstupuje z předchozího oddílu v podobě větvících a vzájemně se propojujících dřeňových provazců, které jsou od sebe odděleny medulárními siny

a vazivovými trámci (Eurell a Frappier, 2006). Vazivové trámce jsou oproti trámcům v kůře značně slabší (Novotný a kol., 1966).

Strukturu dřeňových provazců tvoří retikulární buňky s retikulárními vlákny, četné plazmatické buňky, dále makrofágy a B lymfocyty (Eurell a Frappier, 2006). Při porovnání s kůrou je ve dřeni menší agregace buněk (Aughey a Frye, 2001).

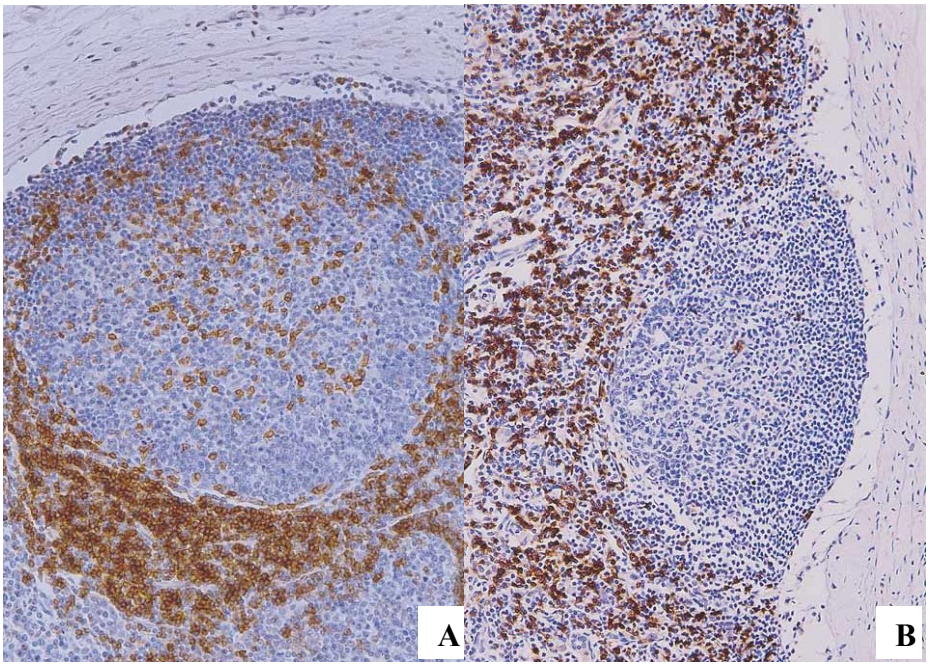
Mízní uzlina je od povrchu směrem k *hilu* prostoupena systémem vzájemně propojených sinů, kterými protéká lymfa. Lymfu do mízní uzliny přivádějí aferentní mízní cévy, které na různých místech uzliny prostupují vazivovým pouzdrem a otevírají se do subkapsulárního sinu mezi kůrou a pouzdrem (Novotný a kol., 1966; Eurell a Frappier, 2006). Ze subkapsulárního sinu lymfa protéká podél vazivových trámců trabekulárními siny do dřeňových sinů (Ross a Pawlina, 2010).

Dřeňové siny se větví, vzájemně propojují a směřují k *hilu*, kde na ně navazují eferentní lymfatické cévy, které lymfu odvádějí z mízní uzliny. Eferentní lymfatické cévy jsou obvykle méně četné než aferentních (Tichý a kol., 2004).

Mízní uzliny jsou jediné lymfatické orgány, které mají jak aferentní, tak i eferentní lymfatické cévy (Eurell a Frappier, 2006).

Mezi buňky zastoupené v sinech patří makrofágy, lymfocyty a dendritické buňky (Eurell a Frappier, 2006).

Obrázek 5: Distribuce $CD4^+$ (A) $CD8^+$ (B) buněk v oblasti parakortexu mízní uzliny



Zdroj: Deane a kol., 2001

2.3.2.3 **Krevní uzlina** *(lymphonodus heamalis)*

Krevní uzliny jsou makroskopicky patrné drobné, kulovité, červené nebo fialové útvary, které se vyskytují v různých oblastech těla ovcí, zejména v retroperitoneálním tuku (Tichý a kol., 2004; Novotný a kol., 1966). Krevní uzliny vznikají během fetálního vývoje z primordiálních základů lymfatických uzlin, jež ztratily lymfatické cévy (Eurell a Frappier, 2006). Podobně jako u mízních uzlin se zde vyskytuje *hilus*, kde vstupuje arterie a vystupuje véna. Povrch krevních uzlin kryje subtilní vazivové pouzdro, ze kterého do nitra orgánu odstupují jemná vazivová septa (Tichý a kol., 2004), obsahující ojedinělé buňky hladké svaloviny (Novotný a kol., 1966). Pod vazivovým pouzdrem se rozprostírá subkapsulární sinus a LN (Bacha a Bacha, 2002). Ze subkapsulárního sinu odstupují trabekulární siny, které oddělují provazce lymfatické tkáně (Zidan a Pabst, 2010). Při porovnání proti mezenteriálním mízním uzlinám jsou v krevních uzlinách četněji zastoupeny γδ T lymfocyty, zatímco CD8+T lymfocyty jsou zde v menším množství (Thorp a kol., 1991).

2.3.2.4 **Lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi** *(MALT)*

Povrch sliznic je neustále vystaven antigenům prostředí, kolonizován komenzální mikroflórou a také místo pro vstup patogenů do organizmu (Randall a Mebius, 2014). V organizmu se vytvořil mukózní lymfatický systém (*mucosa associated lymphoid tissue* – MALT), který indukuje imunitní odpověď na specifické antigeny vyskytující se podél všech slizničních povrchů v těle (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Důležitost MALT dokládá fakt, že okolo 50 % lymfocytů imunitního systému organizmu se nachází právě v MALT (Croitoru a Bienenstock, 1994). Na základě anatomické lokalizace se MALT dělí na následující oblasti (Cesta, 2006):

- lymfatická tkáň asociovaná s okem *(eye-associated lymphoid tissue* - EALT*)*
- lymfatická tkáň asociovaná s nosní sliznicí (*nose associated lymphoid tissue* - NALT)
- lymfatická tkáň Waldeyerova kruhu (*larynx associated lymphoid tissue* - LTALT)
- lymfatická tkáň asociovaná s bronchy (*bronchus associated lymphoid tissue* - BALT)

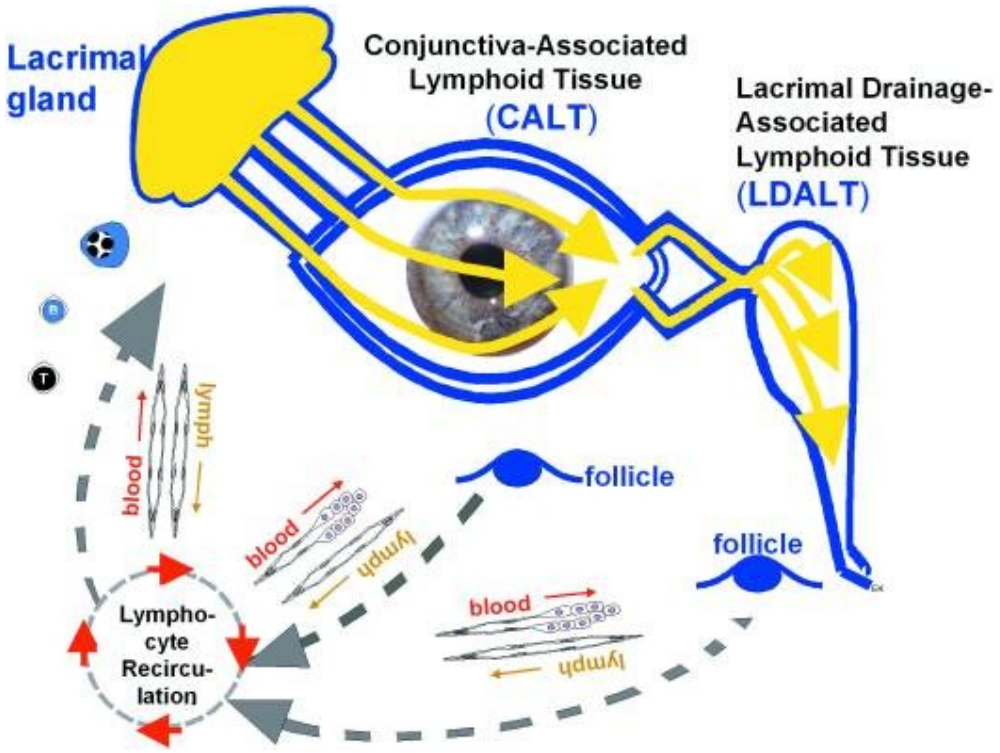
- lymfatická tkáň asociovaná s gastrointestinálním traktem (*gut associated lymphoid tissue* - GALT)

  Z funkčního hlediska se MALT dělí na indukční část, kde dochází ke stimulaci naivních T a B lymfocytů antigeny z povrchů sliznic a efektorovou část, kde efektorové buňky po extravazaci, retenci a diferenciaci působí (probíhají vlastní imunitní odpovědi), (vlastní imunitní odpověď), (Brandtzaeg a kol., 2008).

2.3.2.4.1 Lymfatická tkáň asociovaná s okem (EALT)

Lymfatickou tkáň asociovaná s okem (Obrázek 6) tvoří lymfatické tkáň ve sliznici spojivky (*conjunctiva associated lymphoid tissue* - CALT) a v oblasti slzného kanálku (*lacrimal drainage associated lymphoid tissue* - LDALT), (Knop a Knop, 2005).

Obrázek 6: Schématický nákres lymfatické tkáně asociované s okem (EALT)



Zdroj: Sakimoto a kol., 2002

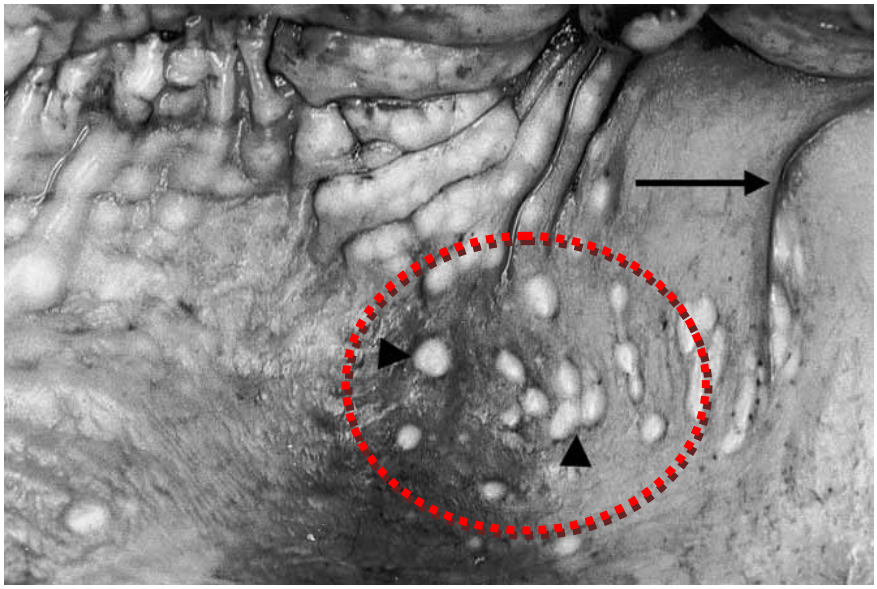
Jak CALT tak LDALT se skládají z LN, difuzní lymfatická tkáně (Sakimoto a kol., 2002; Knop a Knop, 2005). Difúzní lymfatická tkáň má podobu úzké subepiteliální vrstvy v *lamina propria*, s nejvyšší hustotou v oblasti tarzální a orbitální spojivky, přičemž směrem ke klenbě dochází ke snižování hustoty (Knop a Knop, 1999). Z buněčné populace jsou zde zastoupeny zejména lymfocyty $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ T lymfocyty a plazmatické buňky (IgA^+), (Knop a Knop, 1999; Sakimoto a kol., 2002). V difuzní lymfatické tkáni se jako v parakortexu mízní uzliny vyskytují HEV (Sakimoto a kol., 2002; Knop a Knop, 2005).

LN tvoří podstatu CALT a LDALT, tak jako difuzní lymfatická tkáň se nacházejí zejména v orbitální a tarzální oblasti horních a dolních víček a jen mírně prominují nad povrch spojivky (Knop a Knop, 2000). Větší LN se vyskytují i oblasti slzného kanálu (Knop a Knop, 2005). LN jsou osídleny folikulárními dendritickými buňkami (Shoji a kol., 1997), B lymfocyty ($CD20^+$), méně $CD3^+$ T lymfocyty (Knop a Knop, 2000). Podobně jako v jiných částech MALT se nad LN vyskytuje FAE se specializovanými membranóznimi (M) buňkami bez přítomnosti pohárkových buněk (Kageyama a kol., 2006).

2.3.2.4.2 Lymfatická tkáň asociovaná s nosem (NALT)

Lymfatická tkáň asociovaná s nosem (NALT) společně s hltanovou mandlí tvoří hlavní struktury obrany horních dýchacích cest. NALT se skládá z makroskopicky patrných agregátů LN, jež jsou lokalizovány na dorzální ploše nosohltanu zasahující až k Eustachově trubici (Stanley a kol., 2001), (Obrázek 7). Počet, lokalizace a velikost LN závisí na stáří jedince. (Stanley a kol., 2001; Van de Pavert a Mebius, 2010). Podobně jako u myší v NALT ovcí převládá populace B lymfocytů (LN) nad T lymfocyty přítomných v paranodulární oblasti NALT. Plazmatické buňky jsou přítomny zejména v oblastech, kde se nevyskytují LN (Sminia a Kraal, 1999). Lymfatické noduly jsou pokryty FAE sestávajícím se z řasinkových buněk respiratorního epitelu, M buněk, bez přítomnosti pohárkových buněk (Stanley a kol., 2001).

Obrázek 7: Lymfatické noduly tvořící NALT(červený kruh) na dorzální ploše nosohltanu směřující k Eustachově trubici



Zdroj: Stanley a kol., 2001

2.3.2.4.3 Lymfatická tkáň asociovaná s bronchy (BALT)

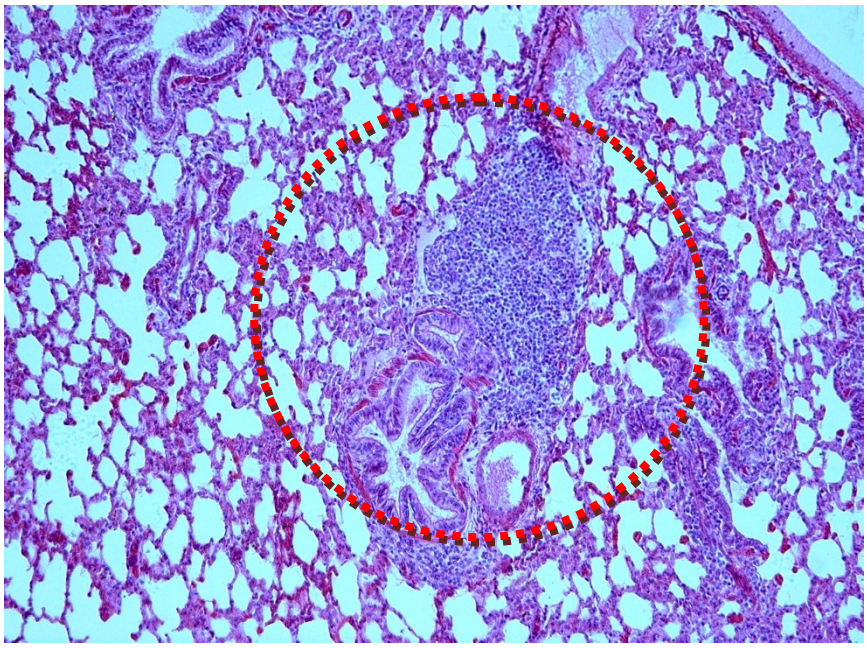
Lymfatická tkáň bronchů není konstitutivní složkou MALT přežvýkavců, prasat a koní (Anderson a kol., 1986; Barman a kol., 1996). K utváření BALT dochází v postnatálním období života v důsledku chronických zánětů, infekce nebo autoimunity (Randall a Mebius, 2014).

BALT (Obrázek 8) se vyskytuje podél bronchů ve všech plicních lalocích, zejména při bifurkacích bronchů a bronchiolů (Toman, 2009).

Struktura BALT je rozdílná. Chen a kol. (1989) u ovcí zaznamenali od 6 měsíců do 9 let věku pouze husté agregáty lymfatických buněk. Na druhé straně může být BALT tvořen velkými centrálními LN oddělenými T dependentní oblastí s HEV nebo LN bez uspořádané T dependentní oblasti. V dobře vyvinutých oblastech BALT lymfatické noduly pokrývá FAE, bez pohárkových buněk s přítomností M buněk, podobně jako je tomu v Peyerových placích, (Bienenstock a McDermott, 2005; Pabst a Tcherning, 2010; Randall a Mebius, 2014).

Imunofenotypicky je BALT tvořen B lymfocyty, plazmatickými buňkami (IgM^+, IgG^+, IgA^+, IgE^+), (Otsuki a kol., 1989), T lymfocyty, dendritickými ($CD11^+$) a folikulárními dendritickými buňkami ($CD21^+$), (Foo a Phipss, 2010).

Obrázek 8: Lymfatická tkáň asociovaná s bronchy (BALT)



BALT (červený kruh), (HE)

Zdroj: Konečný a Doležalová

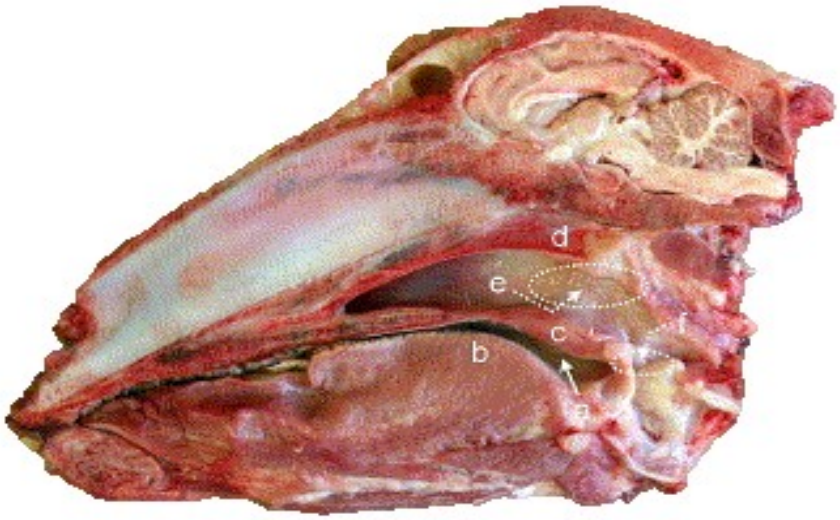
2.3.2.4.4 Lymfatická tkáň Waldeyerova kruhu (LTALT)

Mandle *(tonsilla)* jsou agregáty lymfatické tkáně, uložené v *lamina propria* sliznice dutiny ústní, ústní úžině (*isthmus faucium*) a hltanu (Tichý a kol., 2004; Cesta, 2006). Tyto struktury představují první obrannou linii proti bakteriím, virům nebo potravním antigenům (Bernstein a kol., 1999). Nejvyšší velikosti mandle dosahují do stáří dvou let, poté dochází k jejich involuci (Liebler-Tenorio a Pabst, 2006; Toman, 2009).

V oblasti ústní úžiny mandle formují systém ve tvaru kruhu (prstence), označovaný jako Waldeyerův kruh (Novotný a kol., 1966; Tichý a kol., 2004).

Waldeyerův kruh se sestává z mandle jazykové, patrové, hltanové, sluchové trubice a příklopkové (Tichý a kol., 2004), (Obrázek 9). Oproti skotu je Waldeyerův kruh ovcí méně rozvinut (Bernstein a kol., 1999).

Obrázek 9: Medianní řez hlavou ovce



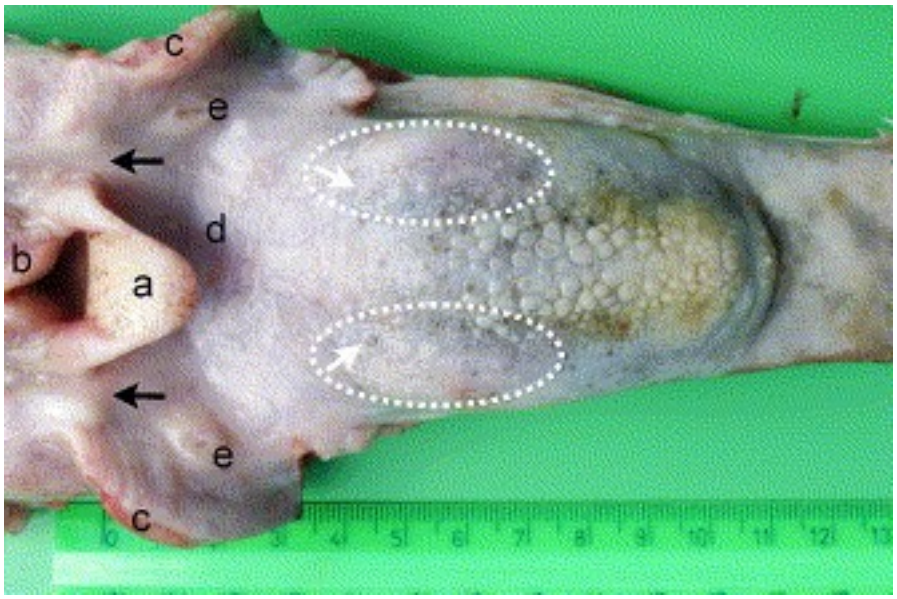
(a) patrová mandle, (b) jazyková mandle, (c) mandle měkkého patra,
(d) hltanová mandle, (e) mandle sluchové trubice, (f) příklopková mandle

Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

*2.3.2.4.4.1 **Jazyková mandle** (tonsilla lingualis)*

Jazyková mandle (Obrázek 10) se nachází ve sliznici dorzální části kořene jazyka a je tvořena malými okrsky difuzní lymfatické tkáně (Obrázek 11), (Liebler-Tenorio a Pabst, 2006). Povrch mandle je hladký, pokrytý vrstevnatým dlaždicovým epitelem bez infiltrace lymfocytů (Cocquyt a kol., 2005).

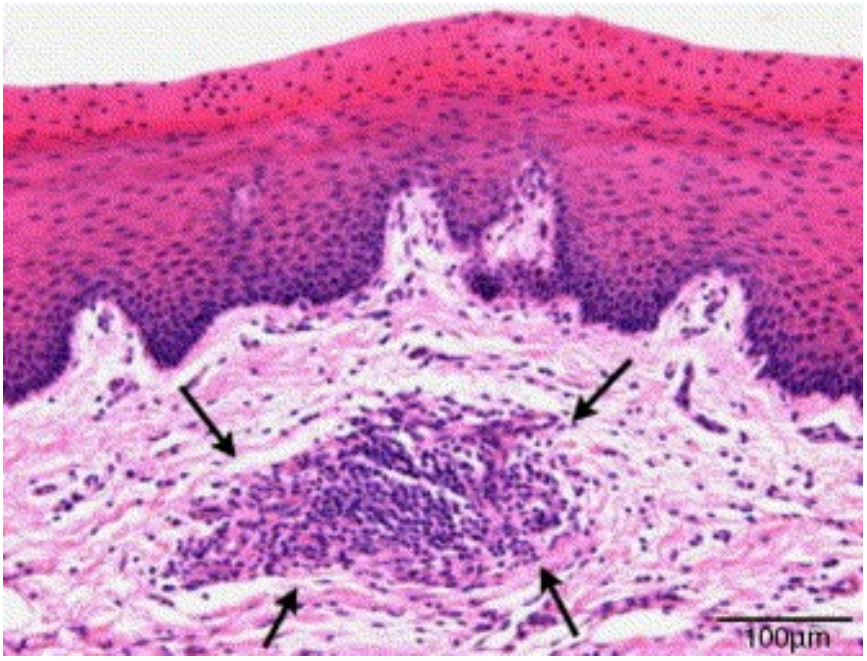
Obrázek 10: Dorzální pohled na hrtan a jazyk ovce



Elipsy: lokalizace jazykové mandle; bílá šipka: hrazené papily; (a) hrtanová příklopka; (b) konvicovitá chrupavka;
(c) měkké patro; (d) kořen jazyka; (e) patrová mandle

Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

Obrázek 11: Histologický řez jazykovou mandlí



Šipky znázorňují agregáty lymfocytů v subepiteálním vazivu, (HE)

Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

*2.3.2.4.4.2 **Mandle měkkého patra** (tonsilla palatum molle)*

Mandle měkkého patra (Obrázek 9c) je lokalizována na ventrální ploše měkkého patra a podobně jako u jazykové mandle ji tvoří malé okrsky difuzní lymfatické tkáně s ojedinělými LN (Černý, 2002; Liebler- Tenorio a Pabst, 2006; Kumar a Singh, 2014).

*2.3.2.4.4.3 **Patrová mandle** (tonsilla palatina)*

Patrová mandle (Obrázek 9a) je uložena v jazykopatrovém oblouku, mezi měkkým patrem a kořenem jazyka (Černý, 2002). Velikost této mandle odpovídá lískovému ořechu (Cocquyt a kol., 2005).

Od okolní tkáně je oddělena výrazným vazivovým pouzdrem, ze kterého do nitra mandle pronikají vazivová septa. Výrazným středním septem je mandle rozdělena na dva laloky (Eurell a Frappier, 2006; Raju a kol., 2012).

Povrch mandle pokrývá vrstevnatý dlaždicový epitel, který se v podobě primárních případně sekundárních krypt zanořuje do podslizničního vaziva (Raju a kol., 2012). Krypty mají široké lumen a v oblasti LN je epitel silně infiltrován lymfocyty, makrofágy, plazmatickými buňkami, mohou se zde také vyskytovat dendritické buňky a neutrofilní granulocyty (Cocquyt a kol., 2005; Eurell a Frappier, 2006; Raju a kol., 2012).

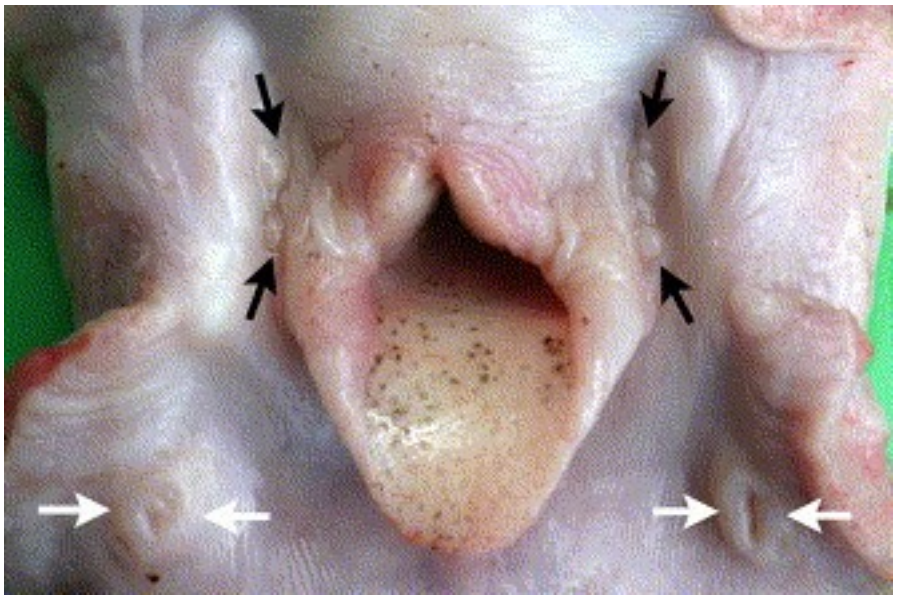
Lymfatická tkáň je tvořena primárními a sekundárními LN obklopenými difuzní lymfatickou tkání (Chen a kol., 1989; Liebler-Tenorio a Pabst, 2006; Raju a kol., 2012).

*2.3.2.4.4.4 **Příklopková mandle** (tonsilla paraepiglottica)*

Příklopková mandle (Obrázek 9f, 12) představuje makroskopicky patrné agregáty lymfatické tkáně po stranách, hltanové příklopky (Černý, 2002). Délka příklopkové mandle se pohybuje mezi 5 až 14mm a šířka od 2 do 5 mm (Cocquyt a kol., 2005).

Příklopkovou mandli tvoří primární a sekundární LN obklopené difuzní lymfatickou tkání (Obrázek 13). Cocquyt a kol. (2005) popisují výskyt primárních LN zejména na periferii agregací a lymfocytární infiltraci vrstevnatého dlaždicového epitelu.

Obrázek 12: Pohled na hrtan ovce



Patrová mandle (bílé šipky), příklopková mandle (černé šipky)

Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

Obrázek 13: Histologický řez příklopkovou mandlí

Na řezu jsou patrné agregáty lymfatických nodulů, bez přítomnosti krypt.Hvězdičky: vazivové septum, černé šipky: invaginace epitelu

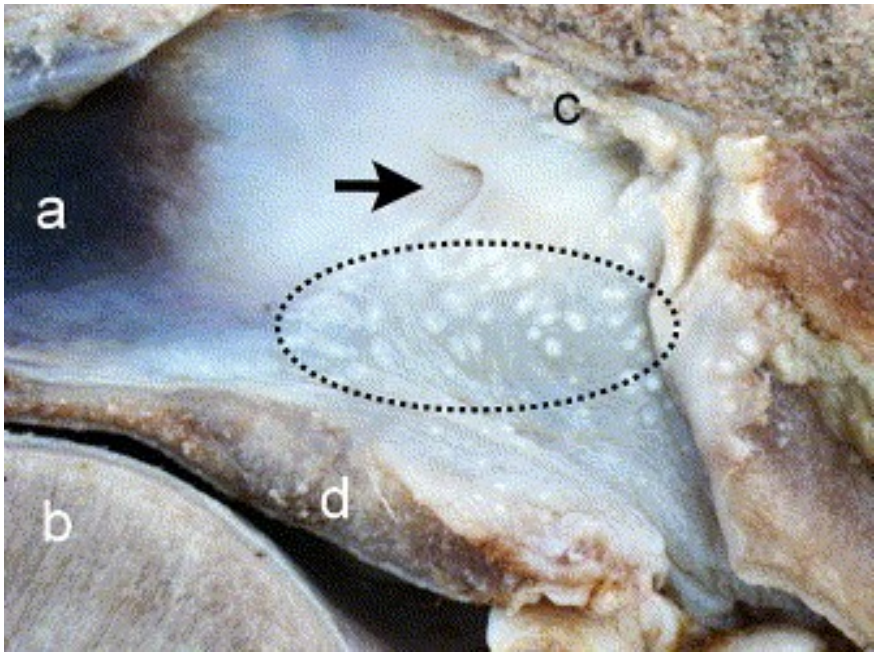
Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

2.3.2.4.4.5 Mandle sluchové trubice (tonsilla tubaria)

Mandle sluchové trubice je uložena ve sliznici při ústí sluchové trubice do nosohltanu (Černý, 2002). Tato mandle má makroskopicky podobu nodulů (Obrázek 14). Počet nodulů v každé mandli se pohybuje v rozmezí od 41 do 150 (Cocquyt a kol., 2005).

Každý nodulus je tvořen LN (B lymfocyty, folikulární dendritické buňky), dómem a paranodulární oblastí ($CD4^+$ a $CD8^+$, γδT lymfocyty), (Stanley a kol., 2001). Epitel mandle bývá ojediněle infiltrován lymfocyty a v oblasti nad dómem se sestává z řasinkových buněk a M buněk (Stanley a kol., 2001).

Obrázek 14: Mediální pohled na pravou stranu nosohltanu po fixaci 2% kyselinou octovou



Elipsa: noduly mandle, šipka: ústí sluchové trubice; (a) nosohltan; (b) jazyk; (c) hltanová přepážka po odstranění hltanové mandle; (d) měkké patro

Zdroj: Cocquyt a kol., 2005

2.3.2.4.4.6 *Hltanová mandle* (tonsilla pharyngea)

Hltanová mandle (Obrázek 9d) je uložena v klenbě hltanu na kaudálním konci hltanové přepážky (Černý, 2002; Cocquyt a kol., 2005). Délka hltanové mandle se pohybuje v rozmezí od 18 do 40 mm, šířka od 12 do 21 mm (Cocquyt a kol., 2005; Toppets a kol., 2011).

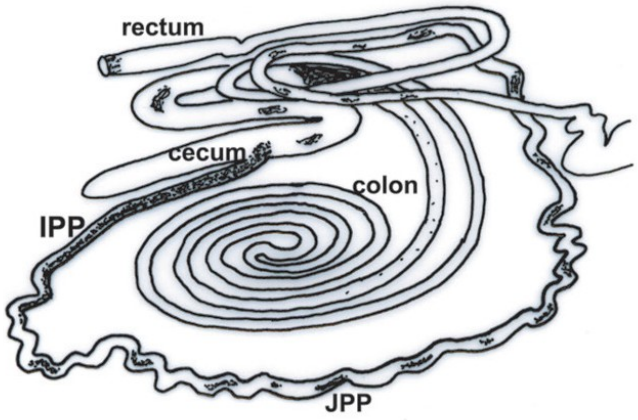
Povrch mandle je hluboce rozbrázděn a pokryt víceřadým řasinkovým epitelem s pohárkovými buňkami (Cocquyt a kol., 2005). V některých místech bývá epitel infiltrován lymfocyty a ztrácí tak vzhled víceřadého epitelu (Toppets a kol., 2011).

V slizničním vazivu se nachází primární a sekundární LN obklopené internodulární oblastí (Cocquyt a kol., 2005; Toppets a kol., 2011). Toppets a kol. (2011) prokázali přítomnost $CD79^+$ buněk, folikulárních dendritických buněk v germinálních centrech a plášťové zóně LN s ojedinělým výskytem $CD3^+$ buněk. Interfolikulární oblast tvoří zejména T lymfocyty.

2.3.2.4.5 Lymfatická tkáň asociovaná s gastrointestinálním traktem (GALT)

Lymfatická tkáň gastrointestinálního traktu je tvořena organizovanou lymfatickou tkání a difúzně distribuovanými imunokompetentními buňkami ve sliznici střeva (Hitotsumatsu a kol., 2005). GALT ovcí se skládá z Peyerových plaků v tenkém střevě, izolovaných LN a plaků na přechodu kyčelníku ve slepé střevo, v proximální kličce tračníku, na začátku deskové spirály vzestupného tračníku a v oblasti řitního otvoru (Obrázek 15), (Liebler-Tenorio a Pabst, 2006). Intraepiteliální lymfocyty a lymfocyty v *lamina propria* představují difuzně distribuované imunokompetentní buňky (Hitotsumatsu a kol., 2005). Autoři Guy-Grand a kol. (1991) uvádějí, že převážná část intraepiteliálních lymfocytů jsou $CD8^+$.

Obrázek 15: Distribuce Peyerových plaků a izolovaných lymfatických nodulů v tenkém a tlustém střevě ovcí



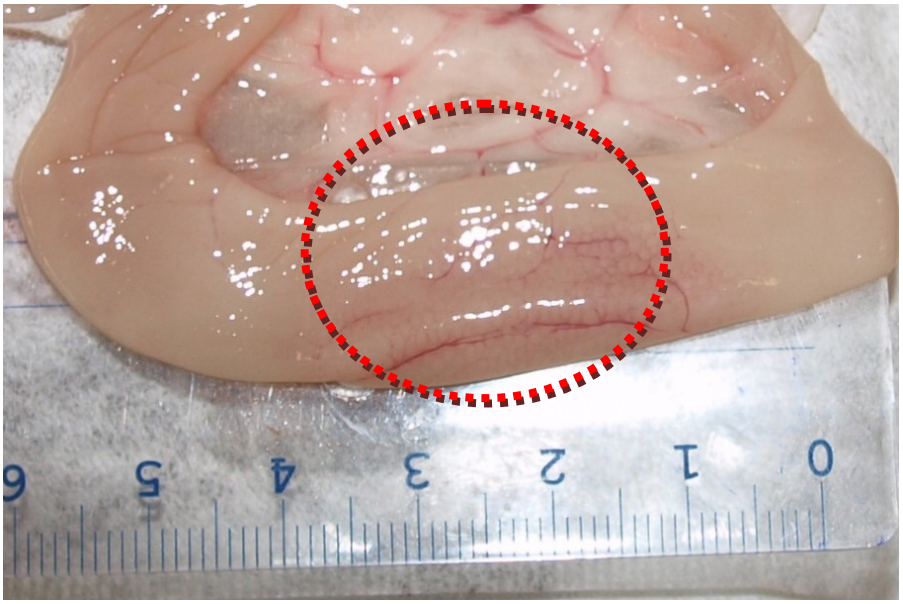
PPJ - Peyerovy plaky v lačníku; PPI - Peyerovy plaky v kyčelníku

Zdroj Liebler-Tenorio a Pabst, 2006

2.3.2.4.5.1 Peyerovy plaky

Většina organizované lymfatické tkáně v tenkém střevě je soustředěna do Peyerových plaků (PP), (Toman, 2009). PP (Obrázek 15,16) jsou makroskopicky patrné útvary oválného nebo protáhlého tvaru vyskytující se na antimezenteriální straně střeva (Junquiera a Carneiro, 2005). Jejich velikost je pozitivně regulována přítomností mikrobiomu (Bauer a Horowitz, 1963; Savidge a Smith, 1991).

Obrázek 16: Makroskopický snímek lačníku



Makroskopicky patrný Peyerovův plak v lačníku (červený kruh)

Zdroj: Konečný a Doležalová

Podobně jako u skotu a koz se v tenkém střevě ovcí vyskytují dva typy PP, které se vzájemně liší funkcí, stavbou a také dobou vzniku (Yasuda a kol., 2013).

Peyerovy plaky kyčelníku (PPI) vykonávají funkci primárního lymfatického orgánů, podobně jako Fabriciova bursa u ptáků (Jeong a kol., 2001).

V kyčelníku lze detekovat PP od 110. dne věku plodu (Aleksandersen a kol. 1991). Po narození se v tomto úseku tenkého střeva vyskytuje pouze jeden plak, který zvětšuje svoji velikost od 6. do 8. týdne věku jedince (Reynolds a Morris, 1983). V tomto období dosahuje délky až 2,5 m. Od 16. do 18. týdne dochází k postupné redukci lymfatické tkáně, která se zachovává pouze v podobně několika

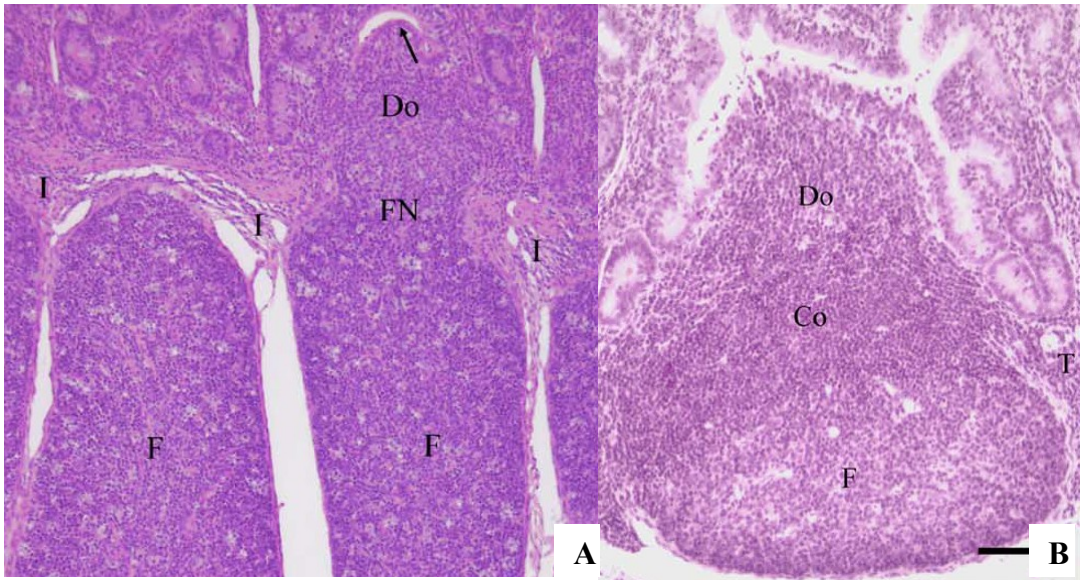
malých LN v podslizničním vazivu kyčelníku (Obrázek 16), (Reynolds a Morris, 1983; Lie a kol., 2005).

PPI tvoří zpočátku souvislá lymfatická tkáň, sestávající se z 100 000 těsně k sobě nahlučených dlouhých LN, s malou internodulární T dependentní buněčnou oblastí (Reynolds a Morris, 1983). B lymfocyty představují 95 % buněčné populace a T lymfocyty 1 % (do 1% $CD4^+$ a do 1% $CD8^+$), (Hein a kol., 1989).

LN (Obrázek 17) mají v závislosti na věku různý tvar, u jehňat připomínají váčky a u jedinců starších 11 měsíců přecházejí ve sférický tvar (Lie a kol., 2005). V LN nevznikají germinální centra (Yasuda a kol., 2004). Povrch každého LN pokrývá FAE sestávající se z enterocytů, M buněk a ojedinělých pohárkových buněk (Obrázek 15), (Yamanaka a Helgeland 2003; Lie a kol., 2005).

U starších zvířat 1,5 měsíce zaznamenali Lie a kol. (2005) v kyčelníku výskyt atypických LN hruškovitého tvaru s velkou internodulární T buněčnou oblastí (Obrázek 17B). Ve FAE pokrývající tyto LN se na rozdíl od typických LN vyskytují četné intraepiteliální lymfocyty (Lie a kol., 2005).

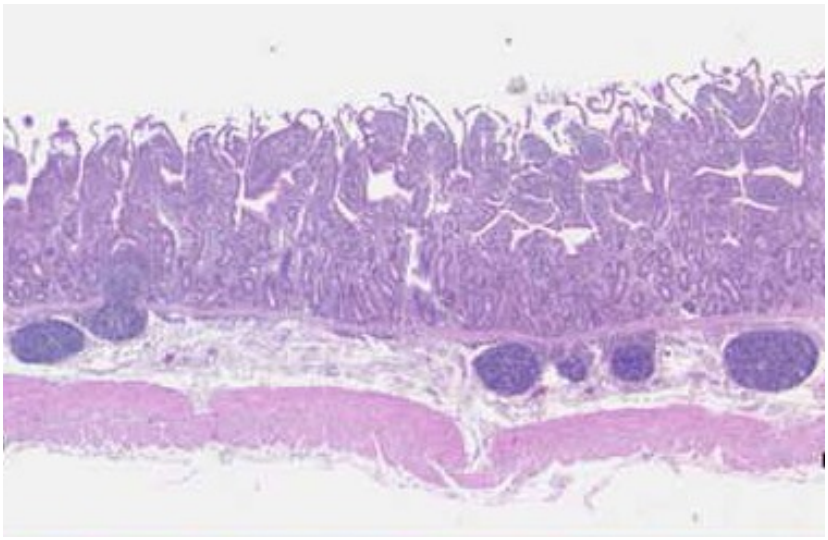
Obrázek 17: Rozdíl uspořádání typického (A) a atypického (B) lymfatického nodulu



Lymfatické noduly (F), korona (Co), dóm (Do), internodulární oblast (I), FAE(černá šipka)

Zdroj: Lie a kol., 2005

Obrázek 18: Histologický řez kyčelníkem 18 měsíčního jedince



Na histologickém řezu jsou patrné malé, rozptýlené LN, (HE)

Zdroj: Lie a kol., 2005

Peyerovy plaky lačníku (PPJ), (Obrázek 16) se řadí mezi sekundární lymfatické orgány, které lze detekovat od 60. dne věku plodu (Aleksandersen a kol. 1991). Ve sliznici a v podslizničním vazivu lačníku se na rozdíl od kyčelníku vyskytuje větší počet těchto útvarů. Liebler-Tenorio a Pabst (2006) uvádí, že počet PPJ se po narození pohybuje od 25 do 40. Na rozdíl od PPI nepodléhají PPJ redukci (Liebler-Tenorio a Pabst, 2006). Každý z Peyerových plaků je tvořen 10000 LN vzájemně od sebe oddělených internodulární T dependentní oblasti s výskytem HEV (Reynolds a Morris, 1983; Eurell a Frappier, 2006). Nad LN se rozprostírá vyvýšená oblast dómu (Eurell a Frappier, 2006). Dóm je tvořen směsnou populací buněk, jako jsou lymfocyty, plazmatické buňky, dendritické buňky a makrofágy (MacDonald, 2003). V PPJ převládají B lymfocyty (75 %) z toho 35–45 % IgM^+ . T lymfocyty tvoří 16 % buněčné populace z toho 10–15 % $CD4^+$ a do 2 % $CD8^+$ lymfocyty. Plazmatické buňky zastupují 4–6 % buněčné populace (Hein a kol., 1989; Liebler-Tenorio a Pabst, 2006).

2.3.2.4.5.2 Cryptopatches

Součástí GALT jsou také náhodně distribuované agregáty lymfoidních buněk v *lamina propria* v oblasti střevních krypt - „*Cryptopatches* (CP)“ (Kanamori a kol., 1996). CP vznikají v postnatálním období života v závislosti na přítomnosti střevních antigenů. CP tvoří nezralé lymfatické buňky spolu s dendritickými buňkami (Eberl a Sawa, 2009; Van de Pavert a Mebius, 2010; Butler a Sinkora, 2013). Přítomnost těchto struktur ve střevě ovcí nebyla doposud prokázána.

2.3.2.4.5.3 Izolované lymfatické noduly

V průběhu ontogeneze se pod vlivem změny střevní mikroflóry vyvíjí z CP izolované lymfatické noduly (ILN), (Van de Pavert a Mebius, 2010). Četnost ILN je při porovnání s CP nižší (Cesta, 2006).

ILN se vyskytují ve dvou vývojových stádiích. Nezralé ILN tvoří shluk B lymfocytů s přítomností $CD11^+$ dendritických buněk a $CD4^+$ T lymfocytů (Knoop a Newberry, 2012). Nezralé ILN jsou lokalizovány v *lamina propria* v oblasti intestinálních krypt podobně jako CP. Zvýšení počtu B lymfocytů v nezralých ILN vede ke vzniku zralých ILN s germinálním centrem. Zralé ILN jsou také kryty FAE (Lorenz a kol., 2003).

2.3.2.4.5.4 Lymfatická tkáň tračníku

V tračníku se vyskytují dva rozdílné typy lymfatické tkáně, a to v podobě plaků nebo ILN (Baptista a kol., 2013).

Plaky v tračníku se začínají vyvíjet prenatálně a lze je pozorovat od 90. dne věku plodu (Aleksandersen a kol., 1991). Plného vývoje dosahují až po narození (Baptista a kol., 2013). Plaky tračníku se rozprostírají v submukóze stěny střeva, mezi svalovou vrstvou a slizniční svalovou vrstvou (Baptista a kol., 2013). Svalová slizniční vrstva je přerušena epiteliálními kryptami (Aleksandersen a kol., 1991; Baptista a kol., 2013). Strukturálně se tyto plaky podobají stavbě PP v tenkém střevě (Aleksandersen a kol., 1991). Skládají se z velkých LN oddělených internodulární T dependentní oblastí s HEV. Buněčná populace je tvořena folikulárními dendritickými buňkami ($CD35^+$) a dendritickými buňkami ($CD11c^+$), B a T lymfocyty (Baptista a kol., 2013).

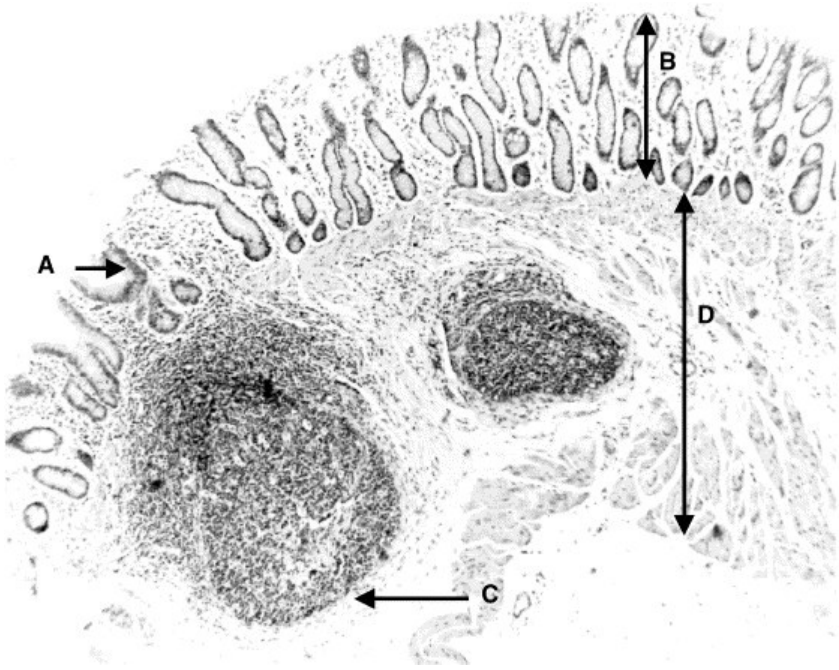
ILN se vyvíjejí po porodu pod vlivem komenzální případně patogenní mikroflóry (Randall a kol., 2008). Zralé ILN se nacházejí ve slizničním vazivu stěny tračníku a skládají se z jednoho LN (B lymfocyty, $CD35^+$ folikulární dendritické buňky), který je obklopen prstencem z T (zejména $CD4^+$) lymfocytů a dendritickými buňkami ($CD11c^+$). T lymfocyty tedy nevytvářejí internodulární oblast, rovněž zde nejsou přítomny HEV (Baptista a kol., 2013). V epitelu, který pokrývá LN, se nevyskytují pohárkové buňky.

2.3.2.4.5.5 Lymfatická tkáň asociovaná s konečníkem **(RALT)**

Lymfatická tkáň v konečníku má podobu prstence, který se nachází kraniálně před hraniční čárou (Dagleish a kol., 2012). Prstenec lymfatické tkáně je tvořen agregáty LN vzájemně oddělených internodulární zónou (González a kol., 2006) a svojí stavbou připomíná PP tenkého střeva (Aleksandersen a kol., 1991). Nejvyšší počet LN se nachází v oblasti hraniční čáry, kraniálním směrem dochází k výraznému poklesu jejich počtu (González a kol., 2006).

Sedgmen a kol. (2002) a Dagleish a kol. (2012) provedli imunofenotypizaci buněk a prokázali, že LN v konečníku jsou tvořeny $CD79^+$ a $CD21^+$ B lymfocyty. $CD4^+$ T lymfocyty pozorovali zejména v internodulární oblasti a disseminováné uvnitř a na periferii LN (Obrázek 19). Podobně $CD8^+$ T lymfocyty zaznamenali v okolí LN a navíc disseminované ve slizničním a podslizničním vazivu.

Obrázek 19: Histologický řez konečníkem



A – buňky epitelu, B – lamina propria, C – lymfatický nodulus,
D – podslizniční vazivo, (HE)

Zdroj: Sedgmen a kol., 2002

3. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární přehled o lymfatických orgánech a tkáních ovcí. Tak jako u jiných druhů zvířat se imunitní systém ovcí skládá z molekul a buněk, které jsou rozptýleny v organizmu nebo jsou uspořádány do tkání a orgánů. Imunitní systém ovcí tvoří buňky odvozené od pluripotentních kmenových buněk tak i buňky jiného původu. Lymfatické orgány ovcí se z funkčního hlediska dělí na primární a sekundární. Mezi primární lymfatické orgány se řadí brzlík, kde dozrávají T lymfocyty a Peyerovy plaky kyčelníku, kde maturují B lymfocyty. Do skupiny sekundárních lymfatických orgánů řadíme slezinu, mízní uzliny, krevní uzliny.

Důležitou roli v imunitním systému hraje lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi (MALT). MALT se dle lokalizace člení na lymfatickou tkáň asociovanou s okem (EALT), nosní sliznicí (NALT), Waldeyerova kruhu (LTALT), s bronchy (BALT) a s gastrointestinálním traktem (GALT). Lymfatickou tkáň asociovanou s okem tvoří lymfatická tkáň v oblasti spojivky a slzného kanálů. Lymfatická tkáň Waldeyerova kruhu se sestává z mandle, jazykové, patrové, hltanové, sluchové trubice a příklopkové. GALT ovcí tvoří Peyerovy plaky tenkého střeva, které se dle stavby, funkce a doby vzniku dělí na Peyerovy plaky lačníku a Peyerovy plaky kyčelníku. Další součástí GALT jsou izolované lymfatické noduly a plaky na přechodu kyčelníku ve slepé střevo, v proximální kličce tračníku, na začátku deskové spirály vzestupného tračníku a v oblasti řitního otvoru.

Za významné z dostupných literárních zdrojů lze považovat to, že u ovcí se v krvi vyskytuje velké množství T lymfocyty s γδ T receptorem a v granulích neutrofilních granulocytů není přítomen lysozym. Ve struktuře lymfatických orgánů nejsou významné odlišnosti od dalších přežvýkavců.

V dostupných literárních zdrojích nebyla u tohoto druhu popsána přítomnost „*cryptopatches*“, což by mohlo být námětem pro další studie.

4. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1: Vývojové krevní řady krvetvorby 13
Obrázek 2: Vývoj lymfocytů 20
Obrázek 3: Makroskopický snímek viscerální (A) a parietální (B) plochy sleziny ovce 26
Obrázek 4: Histologický řez slezinou ovce 27
Obrázek 5: Distribuce $CD4^+$ (A) $CD8^+$ (B) buněk v oblasti parakortexu mízní uzliny 30
Obrázek 6: Schématický nákres lymfatické tkáně asociované s okem (EALT) 32
Obrázek 7: Lymfatické noduly tvořící NALT(červený kruh) na dorzální plošenosohltanu směřující k Eustachově trubici 34
Obrázek 8: Lymfatická tkáň asociovaná s bronchy (BALT) 35
Obrázek 9: Medianní řez hlavou ovce 36
Obrázek 10: Dorzální pohled na hrtan a jazyk ovce 37
Obrázek 11: Histologický řez jazykovou mandlí 37
Obrázek 12: Pohled na hrtan ovce 39
Obrázek 13: Histologický řez příklopkovou mandlí 39
Obrázek 14: Mediální pohled na pravou stranu nosohltanu po fixaci 2% kyselinou octovou 40
Obrázek 15: Distribuce Peyerových plaků a izolovaných lymfatických nodulů v tenkém a tlustém střevě ovcí 41
Obrázek 16: Makroskopický snímek lačníku 42
Obrázek 17: Rozdíl uspořádání typického (A) a atypického (B) lymfatického 43
Obrázek 18: Histologický řez kyčelníkem 18 měsíčního jedince 44
Obrázek 19: Histologický řez konečníkem 47

Tabulka 1:Procentuální zastoupení lymfocytů v periferní krvi ovcí 19
Tabulka 2: Procentuální zastoupení T lymfocytů s různými povrchovými molekulami v periferní krvi ovcí 19
Tabulka 3: Povrchové molekuly leukocytů ovcí 21
Tabulka 4: Procentuální zastoupení buněk vkostní dřeni dospělých ovcí 23

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Aleksandersen M., Nicander L., Landsverk T. (1991): Ontogeny, distribution and structure of aggregated lymphoid follicles in the large intestine of sheep. Journal Developmental and Comparative Immunology. 15, 413–422.

2. Anderson M. L., Moore P. F., Hyde D. M., Dungworth D. L. (1986): Bronchus associated lymphoid tissue in the lungs of cattle: relationship to age. Journal Research in Veterinary Science. 41, 211–220.

3. Aughey E., Fredric L. F., (2001): Comparative Veterinary Histology. Publishing Ltd.(Verlag), 269 p. ISBN 978–1–874545–66–8

4. Bacha W. J., Bacha L. M. (2002): Color atlas of veterinary histology. 2nd., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 336 p. ISBN 0683306189

5. Banks W. J. (1993): Applied veterinary histology. 3rd., St. Louis: Mosby-Year Book. 527 p. ISBN 0801666104

6. Baptista A. P., Olivier B. J., Goverse G., Greuter M., Knippenberg M., Kusser K., Domingues R. G., Veiga-Fernandes H., Luster A. D., Lugering A., Randall T. D., Cupedo T., Mebius R. E. (2013): Colonic patch and colonic SILT development are independent and differentially regulated events. Journal Mucosal Immunology. 6, 511–521.

7. Barman N. N., Bhattacharyya R., Upadhyaya T. N., Baishya G. (1996): Development of bronchusassociated lymphoid tissue in goats. Lung. 174, 127–131.

8. Bauer H., Horowitz R. (1963): The response of the lymphatic tissue to the microbial flora. Studies on germfree mice. The American Journal of Pathology. 42, 471–483.

9. Bernstein J. M., Gorfien J., Brandtzaeg P. (1999): The immunobiology of the tonsils and adenoids. In: Handbook of Mucosal Immunology (Ogra P. L., Mestecky J., Lamm M. E., Strober W., McGhee J. R. and Bienenstock J.). Academic Press, San Diego. pp. 1339-1362.

10. Bienenstock J., McDermott M. R. (2005): Bronchus and nasal-associated lymphoid tissues. Journal Immunological Reviews. 206, 22–31.

11. Brandtzaeg P., Kiyono H., Pabst R., Russell M. W. (2008): Terminology nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. Journal Mucosal Immunology. 1, 31–37.

12. Butler J. E., Sinkora M. (2013): The enigma of the lower gut-associated lymphoid tissue (GALT). Journal of Leukocyte Biology. 94(2), 259–270.

13. Byers S. R., Kramer J. W. (2010): Normal hematology of sheep and goats. In: Schalm's veterinary hematology (Weiss D. J., Wardrop K. J., eds.),. 5.th., Wiley-Blackwell, Ames I. A. pp. 836–842.

14. Cesta M. F. (2006): Normal Structure, Function and Histology of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue. Journal Toxicologic Pathology. 34, 455–465.

15. Cocquyt G., Baten T., Simoens P., Van Den Broeck W., (2005): Anatomical localisation and histology of the ovine tonsils. Veterinary Immunology and Immunopathology. 107(1–2), 79–86.

16. Croitoru K., Bienenstock J. (1994): Characteristics and Functions of mucosa-associated lymphoid tissue. In: Handbook of Mucosal Immunology (Ogra P., Mestecky L. J., Lamm M. E., Strober W., McGhee J. R. and Bienenstock J.). Academic Press, San Diego. pp. 141–151.

17. Černý H. (2002): Veterinární anatomie pro studium a praxi. Brno, Noviko. 528 s. ISBN 80–86542–01–7

18. Červený Č., Komárek V., Štěrba O. (1999): Koldův atlas veterinární anatomie. 1.vyd., Praha, Grada. 701 s. ISBN 80– 7169–352–9

19. Dagleish M. P., Finlayson P. J., Steele Y., Pang S., Hamilton S. L., Eaton J., Sales L., González L., Chianini F. (2012): Immunophenotype of Cells within Cervine Rectoanal Mucosa-Associated Lymphoid Tissue and Mesenteric Lymph Nodes. Journal of Comparative Pathology. 146, 365–371.

20. Eberl G., Sawa S. (2009): Opening the crypt: current facts and hypotheses on the function of cryptopatches. Journal Trends Immunology. 31(2), 50–55.

21. Eman M., Khalel E. M. (2010): Anatomical and histological study of the spleen in araqi sheep (Awasi sheep). 10(2), 163.

22. Eurell J. A., Frappier B. L. (2006): Dellmann's Textbook of Veterinary Histology. 6.th., USA, Blackwell Publishing. pp. 414–415. ISBN 0–7817–4148–3

23. Foo S., Phipps S. (2010): Regulation of inducible BALT formation and contribution to immunity and patology. Journal Mucosal Immunology. 3(6), 537–544.

24. González L., Dagleish M. P., Bellworthy S. J., Siso S., Stack M. J. (2006): Postmortem diagnosis of preclinical and clinical scrapie in sheep, by the detection of diseaseassociated PrP in their rectal mucosa. Journal Veterinary Record. 158, 325–331.

25. Guy-Grand D., Cerf-Bensussan N., Malissen B., Malassis-Seris M., Briottet C., Vassalli P. (1991): Two gut intraepithelial CD8+ lymphocyte populations with different T cell receptors: a role for the gut epithelium in T cell differentiation. Journal Experimental Medicine. 173, 471–481.

26. Gyorffy E. J., Glogauer M., Kennedy L., Reynolds J. D. (1992): T-cell receptor-Tc association with lymphocyte populations in sheep intestinal mucosa. Journal Immunology. 77, 25–30.

27. Hein W. R., Dudler L., Mackay C. R. (1989): Surface expression of differentiation antigens on lymphocytes in the ileal and jejunal Peyer's patches of lambs. Journal Immunology. 68, 365–370.

28. Hein W. R., Mackay C. R. (1991): Prominence of 28 T cells in the ruminant immune system. Immunology Today. 12, 30–34.

29. Hitotsumatsu O., Hamada H., Naganuma M., Inoue N., Ishii H., Hibi T., Ishikawa H. (2005): Identification and characterization of novel gut-associated lymphoid tissues in rat small intestine. Journal of Gastroenterology. 40, 956–963.

30. Hořejší V., Bartůňková J. (2005): Základy imunologie. 2.vyd., Praha, Triton. 279 s. ISBN 80–7254–686–4

31. Chen W., Alley M. R., Manktelow B. W. (1989): Respiratory tract-associated lymphoid tissue in conventionally raised sheep. Journal of Comparative Pathology. 101, 327–340.

32. Jelínek F., Jelínek K. (2002): Morfologie hospodářských zvířat. 1.vyd., České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 289 s.

33. Jeong Y., Osborne B. A., Goldsby R. A. (2001): Early Vlambda diversification in sheep. Journal Immunology. 103, 26–34.

34. Junqueira L. C. U., Carneiro J. (2005): Basic histology. 11th., New York: McGraw-Hill Medical. 479 p. ISBN 3–540–21965

35. Kageyama M., Nakatsuka K., Yamaguchi T., Owen R. L., Shimada T. (2006): Ocular defense mechanisms with special reference to the demonstration and functional morphology of the conjunctiva-associated lymphoid tissue in Japanese monkeys. 69(5), 311–322.

36. Kanamori Y., Ishimaru K., Nanno M., Maki K., Ikuta K., Nariuchi H., Ishikawa H. (1996): Identification of novel lymphoid tissues in murine intestinal mucosa where clusters of c-kit+ IL-7R+ Thy1+ lymphohemopoietic progenitors develop. Journal Experimental Medicine. 184, 1449–1459.

37. Knoop K. A., Newberry R. D. (2012): Isolated Lymphoid Follicles are dynamic reservoirs for the induction of intestinal IgA. Frontiers in Immunology. 3(84), 1–7.

38. Knop E., Knop N. (1999): Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye – Components and topographical distribution. Journal Ophthalmic Research. 31, 156.

39. Knop E., Knop N. (2000): Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. Investigative Ophthalmology. Journal Research in Veterinary. 41, 1270–1279.

40. Knop E., Knop N. (2005): The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. Journal Anatomy. 206(3), 271–285.

41. Kumar P., Singh G. (2014): Histology and histochemistry of tonsil of soft palate of the sheep (ovis aries). Indian Journal of Veterinary Anatomy. 26 (1), 36–39.

42. Lie K. I., Aleksandersen M., Landsverk T. (2005): Lymphoid follicles of different phenotype appear in ileum during involution of the sheep ileal Peyer's patch Developmental. Journal Comparative Immunology. 29(6), 539–553.

43. Liebler-Tenorio E. M., Pabst R. (2006): MALT structure and function in farm animals. Veterinary Research. 37, 257–280.

44. Lorenz R. G., Chaplin D. D., Mcdonald K. G., Mcdonough J. S., Newberry R. D. (2003): Isolated lymphoid follicle formation is inducible and dependent upon lymphotoxinsufficient B lymphocytes, lymphotoxin β receptor, and TNF receptor I function. Journal of Immunology. 170, 5475–5482.

45. MacDonald T. T. (2003): The mucosal immune system. Journal Parasite Immunology. 25, 235–246.

46. Marvan F. a kolektiv (2003): Morfologie hospodářských zvířat. 1.vyd., Praha, Brázda. s. 204-207. ISBN 80–209–0319–4

47. Mebius R. E., Kraal G. (2005): Structure and function of the spleen. Journal Nature Reviews Immunology. 5(8), 606–616.

48. Najbrt R. a kolektiv (1973): Veterinární anatomie. 1.vyd., Praha, Státní zemědělské nakladatelství. s. 338–405.

49. Novotný E., Bőhm R., Geissel V., Holman J. (1966): Veterinární histologie. 1.vyd., Praha, Státní zemědělské nakladatelství. s. 182–191.

50. Otsuki Y., Ito Y., Magari S. (1989): Lymphocyte subpopulations in high endothelial venules and lymphatic capillaries of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the rat. American Journal Anatomy. 184, 139–146.

51. Pabst R., Tschernig T. (2010): Bronchus-Associated Lymphoid Tissue. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 43(2), 137–141.

52. Pascale F., Contreras V., Bonneau M., Courbet A., Chilmonczyk S., Bevilacqua C., Epardaud M., Niborski V., Riffault S., Balazuc A. M. (2008): Plasmacytoid dendritic cells migrate in afferent skin lymph. Journal Immunology. 180, 5963–5972.

53. Pearse G. (2006): Normal Structure, Function and Histology of the Thymus. Journal Toxicologic Pathology. 34, 504–551.

54. Raju N. K. B., Ramesh G., Basha S. H., Ushakumary S., Kumar R. S. (2012): Histochemical Studies On the Peyer's Patches of Sheep. Global Journal of Medical Research. 12(6). 1–5.

55. Randall T. D., Carragher D. M., Rangel-Moreno J. (2008): Development of secondary lymphoid organs. Journal Annual review of imunology. 26, 627–650.

56. Randall T. D., Mebius R. E. (2014): The development and function of mucosal lymphoid tissues: a balancing act with micro-organisms. Journal Mucosal Immunology. 7(3), 455–466.

57. Reece W. O. (1998): Fyziologie domácích zvířat. 1.vyd., Praha, Grada. s. 162-165 ISBN 80–7169–547–5

58. Reynolds J. D., Morris B. (1983): The evolution and involution of Peyer's patches in fetal and postnatal sheep. European Journal of Immunology. 13, 627–635.

59. Ross M. H., Paulina W. (2010): Histology Text a Atlas. 6.th. 974 p. ISBN-13:978–0781772006

60. Sakimoto T., Shoji J., Inada N., Saito K., Iwasaki Y., Sawa M., (2002): Histological Study of Conjunctiva-associated Lymphoid Tissue in Mouse. Japanes Journal of Ophthalmology. 46(4), 364–369.

61. Samuelson D. A. (2006): Textbook of Veterinary Histology. 1.th., Sauders, St. Louis. 546 p. ISBN 0721681743

62. Savidge T., Smith M. (1991): Salmonella-induced M-cell formation in germ-free mouse Peyer's patch tissue. The American Journal of Pathology. 139, 177–184.

63. Sedgmen B. J., Lofthouse S. A., Scheerlinck J. P. Y., Meeusen E. N. T. (2002): Cellular and molecular characterisation of the ovine rectal mucosal environment. Veterinary Immunology and Immunopathology. 86, 215–220.

64. Shoji J., Inada N., Saito K., Takaura N., Iwasaki Y., Sawa M. (1997): Immunohistochemical study on follicular dendritic cell of conjunctiva-associated lymphoid tissue. Japanese Journal of Ophthalmology. 42(1), 1–7.

65. Sminia T., Kraal G. (1999): Nasal-associated lymphoid tissue. In: Mucosal Immunity (Pearay O. L., Mestecky J., Lamm M. E., Strober W., Bienenstock J. and McGhee J. R., eds.). Academic Press, San Diego. pp. 357–364.

66. Stanley A. C., Huntley J. F., Jeffrey M., Buxton D. (2001): Characterization of Ovine Nasal-associated Lymphoid Tissue and Identification of M Cells in the Overlying Follicle-associated Epithelium. Journal of Comparative Pathology. 125, 262–270.

67. Styrt B. (1989): Species variation in neutrophil biochemistry and function. Journal of leukocyte Biology. 46, 63–74.

68. Thorp B. H., Seneque S., Staute K., Kimpton W. G. (1991): Characterization and distribution of lymphocyte subsets in sheep hemal nodes. Developmental and Comparative Immunology Journal. 15, 393–400.

69. Tichý F., Horký D., Buchtová M., Gorošová A., Kociánová I., Páral F., Zibrín M. (2004): Histologie, Mikroskopická anatomie. 1.vyd., Brno, Veterinární a farmaceutická univerzita. s. 24–33. ISBN 80–7305–495–7

70. Tizard I. R. (2013): Veterinary imunology. 9.th., Texas, Elsevier. 127–136. ISBN 978–1–4557–0362–3

71. Toman M. (2009):Veterinární imunologie. 2.ed., Praha, Grada. 392 s. ISBN 978–80–2472–464–5

72. Toppets V., Defaweux V., Piret J., Kirschvink N., Grobet L., Antoine N. (2011): Features of follicular dendritic cells in ovine pharyngeal tonsil: an in vivo and in vitro study in the context of scrapie pathogenesis. Veterinary Immunology and Immunopathology. 141, 26– 32.

73. Van de Pavert S. A., Mebius R. E. (2010): New insights into the development of lymphoid tissues. Journal Nature Immunology Rewie. 10(9), 664–674.

74. Van Rees E. P., Sminia T., Dijkstra C. D. (1996): Structure and Development of the Lymphoid Organs. In: Pathobiology of the Aging Mouse (Mohr U., D. L. Dungworth, C. C. Capen, W. W. Carlton, J. P. Sundberg and J. M. Ward, eds.). Washington, D.C, ILSI Press; 1. pp. 173–187.

75. Ward J. M., Mann P. C., Morishima H., Frith C. H. (1999): Thymus, Spleen, and Lymph Nodes. In Pathology of the mouse: reference and atlas. pp. 333–360.

76. Wilkins B. S. (1992): Histology of normal haemopoiesis: Bone marrow histology I. Journal of Clinical Pathology. 45, 645–649.

77. Willard-Mack C. (2006): Normal structure, function and histology of the lymph nodes. Journal Toxicologic Pathology. 34, 409–424.

78. Yamanaka T., Helgeland L. (2003): Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. Journal of Immunology. 170, 816–822.

79. Yasuda M., Fujino M., Nasu T., Murakami T. (2004): Histological studies on the ontogeny of bovine gut-associated lymphoid tissue: appearance of T cells and development of IgG+ and IgA+ cells in lymphoid follicles. Journal Developmental and Comparative Immunology. 357–369.

80. Yasuda M., Kikukawa R., Nasu T., Kimura J. (2013): Gross Anatomical Characterization of Jejunal and Ileal Peyer's Patches in Japanese Black Calves. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 8, 135–138.

81. Young B., Lowe J. S., Stevens A., Heath J. W. Deakin P. J. (2006): Wheater's functional histology a text and colour atlas. 5.th., Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier. 448 p. ISBN 044306850X

82. Zidan M., Pabst R.(2010): Histology of hemal nodes of the water buffalo (Bos bubalus). Journal Cell a Tissue Research. 340(3), 491–496.