

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet8813
http://nvlvet.com.ua

UDC 619:611.1/.8: 611.018

Structural-functional characteristics of thymus in piglets with signs of latent and subclenic PCV2-infection

V.V. Evert

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 16.08.2018
Received in revised form
11.09.2018
Accepted 12.09.2018

Dnipro State Agrarian and
Economic University, Dnipro,
Mandrikovskaya Str., 276,
49100, Ukraine.
Tel.: +38-099-545-33-31
E-mail: morfologagro@gmail.com

Evert, V.V. (2018). Structural-functional characteristics of thymus in piglets with signs of latent and subclenic PCV2-infection. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(88), 72–79. doi: 10.32718/nvlvet8813

Circovirus type II disease is an infectious disease with significant economic impacts on the pig industry, which has become global in the pig population (PCVD). The most common form of PCV2-infection has long been considered a PCV2-systemic disease, but recently latent and subclinical forms of PCV2-infection have become of particular importance. The main "target" for PCV-2 is the immune system, and the multiplication of PCV-2 in the cells of the immune system leads to their death and development of immunodeficiency state. The immune system, together with the nervous and endocrine systems, plays an important role in maintaining the body's homeostasis and ensures its adaptation to the effects of unfavorable environmental factors. The organs of the immune system of pigs include bone organs, thymus, spleen, lymph nodes, as well as diffuse and aggregated lymphatic formations of the walls of the digestive canal and respiratory tract. Thymus is the central organ of lymphocytopoiesis and immunopoiesis, in it occurs differentiation of all cellular forms of mature T-lymphocytes in the pre-T-lymphocyte stage, which migrate from the bone marrow to the bloodstream. The growth and development of the thymus, as well as the bone organs, is in direct interaction with the growth and development of the spleen, lymph nodes and is reflected in the structure of the interstitial connective tissue and lymphoid parenchyma, and the question of the structural and functional characteristics of the thymus piglets with signs of latent and subclinical PCV-2 infection in accessible the scientific literature is not sufficiently elucidated and requires a detailed study. Purpose: determination of the structural and functional characteristics of the thymus of piglets with signs of latent and subclinical PCV-2-infection. The work was carried out in pig farms of Ukraine, with intensive technology of pig rearing, at the department of normal and pathological anatomy of agricultural animals and the Scientific and Research Center for Biosafety and Environmental Control of the Agroindustrial Complex Resources of Dnipro State Agrarian and Economic University. To determine the structural and functional characteristics of the thymus of piglets at different forms of the of PCV-2-infection, monitoring studies of blood sera were carried out by quantitative PCR-analysis. A total of 275 samples of blood serum from piglets of 5–16 weeks of age were investigated. For pathomorphological studies with the method of acute bleeding, animals with signs of latent PCV2-infection (in 1 cm³ of blood serum of 10³–10⁴ copies of the genome of PCV-2 equivalents) were slaughtered and animals with signs of subclinical PCV2 infection (in 1 cm³ of blood serum 10⁵–10⁶ copies of the gene equivalents of PCV-2) 6 heads. By anatomical preparation, the thymus was removed, fixed in a 10% solution of neutral formalin, poured into paraffin, sections were stained with hematoxylin and eosin and azur II eosin according to generally accepted techniques. In the paraffin sections, the presence of PCV-2 antigen (immunohistochemical staining) was also determined. In the lymphoid parenchyma of the thymus, the percentage ratio between individual cells (large, medium, small lymphocytes, plasmocytes and reticular cells), macrophages and other cells was determined. Cell counting of parenchyma was performed on dasgs stained with azur II eosin at an increase of 10 x 100 under the immersion for every 100 cells on ten preparations in 20 fields of vision for each individual group of animals. Based on the data obtained, the average percent content of each cell type was determined. The author, on the basis of pathohistological and immunohistochemical studies, determined the structural and functional characteristics of the thymus of piglets with signs of latent and subclinical PCV2-infection. It has been established that in piglets with signs of subclinical and latent PCV2-infection, pathogistological changes of the thymus do not differ significantly from the corresponding thymus parameters of clinically healthy animals free from PCV-2. At the same time, there is a tendency to decrease the number of lymphoid cells, mainly immunoblasts and lymphocytes, and, accordingly, the area of the particle cortex, which is more pronounced in thymus of pigs with signs of subclinical PCV2-infection.

Key words: PCV2-infection, subclinical and latent forms, viral load, thymus, immunohistochemistry.

Структурно-функціональна характеристика тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу

В.В. Еверт

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

PCV2-інфекція набула глобального значення серед популяції свиней та має значний економічний вплив на галузь свинарства. Найбільш розповсюдженою формою прояву PCV2-інфекції тривалий час вважали – PCV2-системне захворювання, але останнім часом особливого значення набуває латентна та субклінічна форми прояву PCV2-інфекції. Основною “мішенню” для PCV-2 є імунна система, а розмноження збудника у клітинах імунної системи приводить до їх гибелі і розвитку імунodefіцитного стану. Тимус – центральний орган лімфоцитопоеза та імунопоеза, в ньому закінчується диференціація всіх клітинних форм зрілих Т-лімфоцитів на стадії пре-Т-лімфоцитів, що мігрують з кісткового мозку з кровотоком. Ріст і розвиток тимуса, як і кісткових органів, перебуває в прямій взаємодії з ростом і розвитком селезінки, лімфатичних вузлів, що відображається в будові міжчасточкової сполучної тканини та лімфоїдної паренхіми, а питання структурно-функціональних характеристик тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної PCV2-інфекції потребують детального вивчення. Метою дослідження було визначення структурних та функціональних характеристик тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної PCV2-інфекції. Для досягнення мети проведено моніторингові дослідження 275 проб сироваток крові 5–16-тижневих поросят методом кількісного ПЛР-аналізу. Для патоморфологічних досліджень методом гострого знекровлення проводили забій поросят з ознаками латентної PCV2-інфекції (в 1 см³ сироватки крові 10³–10⁴ копій геном еквівалентів PCV-2) та субклінічної PCV2-інфекції (в 1 см³ сироватки – 10⁵–10⁶ копій геном еквівалентів PCV-2). Шляхом анатомічного препарування відбирали тимус, фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін, зрізи забарвлювали гематоксильном та еозином та азур II еозином. В парафінових зрізах також визначали наявність антигену PCV-2 (імуногістохімічне забарвлення). Автором на підставі патогістологічного та імуногістохімічного досліджень визначена структурно-функціональна характеристика тимуса свиней з ознаками латентної і субклінічної PCV2-інфекції. Встановлено, що у поросят з ознаками субклінічної і латентної PCV2-інфекції патогістологічні зміни тимуса не мають суттєвих відмінностей порівняно з відповідними показниками тимуса клінічно здорових та вільних від PCV-2 тварин. Водночас спостерігається тенденція до зменшення кількості лімфоїдних клітин, в основному імунобластів і лімфоцитів, а також, відповідно, площі коркової речовини часточок, що більше виражено в тимусі свиней з ознаками субклінічної PCV2-інфекції.

Ключові слова: PCV2-інфекція, субклінічна і латентна форми, вірусне навантаження, тимус, імуногістохімія.

Вступ

Цирковірусна хвороба II типу – інфекційне захворювання, що набуло глобального значення серед популяції свиней та має значний економічний вплив на галузь свинарства (Chianini et al., 2003; Opriessnig et al., 2007; Alarcon et al., 2013; Oliver-Ferrando et al., 2016).

Найбільш розповсюдженою формою прояву PCV2-інфекції тривалий час вважали – PCV2-системне захворювання, але останнім часом особливого значення набуває латентна та субклінічна форми прояву PCV2-інфекції. Для діагностики цих форм прояву PCV2-інфекції визначають вірусне навантаження PCV-2 за допомогою кількісного ПЛР у сироватках крові тварин (Brunborg et al., 2004; McIntosh et al., 2009; Young et al., 2011; Lopez-Rodriguez et al., 2016).

Основною “мішенню” для PCV-2 є імунна система, а розмноження збудника у клітинах імунної системи призводить до їх гибелі і розвитку імунodefіцитного стану. Імунна система з нервовою та ендокринною системами виконує важливу роль у підтриманні гомеостазу організму і забезпечує його адаптацію до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища. До органів імунної системи свиней, відносяться кісткові органи, тимус, селезінка, лімфатичні вузли, а також дифузні та агреговані лімфатичні утвори стінок травного каналу і дихальних шляхів (Krakowka et al., 2001; Goralsky et al., 2011; Nauwynck et al., 2012; Gavrilin and Evert, 2015; Gavrilina and Evert, 2016).

Тимус – центральний орган лімфоцитопоеза та імунопоеза, в ньому закінчується диференціація всіх клітинних форм зрілих Т-лімфоцитів на стадії пре-Т-

лімфоцитів, що мігрують з кісткового мозку з кровотоком. Ріст і розвиток тимуса, як і кісткових органів, перебуває в прямій взаємодії з ростом і розвитком селезінки, лімфатичних вузлів, що відображається в будові міжчасточкової сполучної тканини та лімфоїдної паренхіми, а питання структурно-функціональних характеристик тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної PCV-2 інфекції у доступній науковій літературі не висвітлені та потребують детального вивчення (Baimishev et al., 2009; Doster et al., 2010; Dvorak et al., 2013; Gavrilin et al., 2017).

Мета і завдання дослідження: визначення структурно-функціональної характеристики тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної PCV2-інфекції.

Матеріал і методи дослідження

Робота виконувалась у свинарських господарствах України з інтенсивною технологією вирощування свиней, на кафедрі нормальної і патологічної анатомії с.-г. тварин і науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Для визначення структурно-функціональних характеристик тимуса поросят за різних форм перебігу PCV2-інфекції проводили моніторингові дослідження сироваток крові методом кількісного ПЛР-аналізу. Всього було досліджено 275 зразків сироваток крові від поросят 5–16-тижневого віку. За результатами досліджень згідно з рекомендаціями (Т. Opriessnig et al.) всі тварини були поділені на 4 групи: 1 група – менше 10³ копій геном еквівалентів в 1 см³ сироватки крові – умовно негативні по відношенню до PCV-2

(n = 63); 2 група – 10^3 – 10^4 копій геном еквівалентів в 1 см^3 сироватки – тварини з ознаками латентної PCV2-інфекції (n = 57); 3 група – 10^5 – 10^6 копій геном еквівалентів у 1 см^3 сироватки – тварини з ознаками субклінічної PCV2-інфекції (n = 48); 4 група – 10^7 та більше копій геном еквівалентів в 1 см^3 сироватки – тварини клінічно хворі на PCV2-інфекцію (n = 107) (Opriessnig et al., 2007).

Для патоморфологічних досліджень методом гострого знекровлення проводили забії поросят другої та третьої груп по 6 голів. Шляхом анатомічного препарування відбирали тимус, фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін (гістопласт), зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином та азур II еозином за загальноприйнятими методиками (Goralsky et al., 2011). В парафінових зрізах також визначали наявність антигенів PCV-2 (імуногістохімічне забарвлення) (Gavrulina and Evert, 2016).

У тимусі методом крапкового підрахунку визначали відносну площу міжчасточкової сполучної тканини та лімфоїдної паренхіми, а також відносну площу кіркової та мозкової зон часточок. Для цього проводили диференційований підрахунок крапок, які потрапили на відповідну складову гістопрепарату, не менше ніж на п'яти зрізах, отриманих з кожного фрагменту, за формулою $S_{\text{відн}} = P_t : P_z \cdot 100\%$, де $S_{\text{відн}}$ – відносна площа відповідних компонентів, %; P_t – кількість крапок, що потрапили на відповідні тканинні компоненти; P_z – загальна кількість крапок, що потрапили на всю площу гістопрепарату.

В лімфоїдній паренхімі тимуса визначали відсоткове співвідношення між окремими клітинами (великі, середні, малі лімфоцити, плазматичні та ретикулярні клітини), макрофаги та інші клітини. Підрахунок клітин паренхіми проводили на препаратах забарвлених азур II еозином при збільшенні 10 x 100 під іммерсією із розрахунку на кожні 100 клітин на десяти пре-

паратах у 20 полях зору по кожній окремій групі тварин. На основі одержаних даних визначали середній відсотковий вміст кожного виду клітин.

Цифрові показники результатів досліджень обробляли варіаційно статистичними методами на персональному комп'ютері за допомогою комп'ютерної програми "Excel" з пакетом "Microsoft Office 2010". Гістологічні препарати проглядали за допомогою світлового мікроскопа Olympus CX, а мікрофотографування здійснювали з використанням відеокамери мікроскопа системи Leica DM 1000.

Результати та їх обговорення

Тимус є центральним органом імунного захисту ссавців і птиці. У ньому відбувається антигеннезалежна проліферація і диференціація Т-лімфоцитів та ендокринна функція, що полягає у виробленні біологічно активних речовин (тирозин, ти муліт, тимопоетин).

У поросят тимус є сформованим паренхіматозним органом, який анатомічно поділений на шийну та грудну частки, шийна частка своєю чергою розділена на парну та непарну ділянки.

У поросят за PCV2-інфекції тимус макроскопічно не мав патологічних змін. У поросят із латентною формою інфекції абсолютна маса складала $10,83 \pm 1,01 \text{ г}$, а відносна – $0,06 \pm 0,006\%$ (табл. 1). Довжина шийної парної ділянки тимуса сягала $71,23 \pm 6,65 \text{ мм}$, шийної непарної – $65,55 \pm 6,12 \text{ мм}$, а грудної лише $28,13 \pm 2,63 \text{ мм}$.

У поросят за субклінічної форми PCV2-інфекції дані показники суттєво не відрізняються. Так, абсолютна маса органу в середньому становить $9,30 \pm 0,87 \text{ г}$, відносна – $0,05 \pm 0,004\%$, довжина шийної частки: парної ділянки – $69,14 \pm 6,46 \text{ мм}$, непарної ділянки – $64,41 \pm 6,01 \text{ мм}$, а грудної – $31,47 \pm 2,93 \text{ мм}$.

Таблиця 1

Органометричні показники тимуса поросят за PCV2-інфекції, (M ± m, n = 6)

Морфометричні показники	Форми PCV2-інфекції	
	Латентна	Субклінічна
Абсолютна маса, г	$10,83 \pm 1,01$	$9,30 \pm 0,87$
Відносна маса, %	$0,06 \pm 0,006$	$0,05 \pm 0,004$
довжина шийної парної частки, мм	$71,23 \pm 6,65$	$69,14 \pm 6,46$
довжина шийної непарної частки, мм	$65,55 \pm 6,12$	$64,41 \pm 6,01$
довжина грудної частки, мм	$28,13 \pm 2,63$	$31,47 \pm 2,93$

Гістологічно тимус складається з сполучнотканинної строми, що представлена тоненькою капсулою і міжчасточковими сполучнотканинними перетинками із численними кровоносними та лімфатичними судинами, елементами нервової тканини. Сполучнотканинна строма побудована пухкою сполучною тканиною та адипоцитами, кількість яких, разом із іншими показниками, є ознакою вікової інволюції даного органу. Паренхіму органу утворює лімфоїдна тканина, що представлена окремими часточками, розділеними між собою прошарками міжчасточкової сполучної тканини. У кожній часточці розрізняють кіркову периферійну зону і мозкову – центральну.

Морфофункціональні особливості тканинних компонентів тимуса поросят характеризуються значним розвитком лімфоїдної тканини і слабким стромальних структур. Так, кількість лімфоїдної тканини у всіх частках тимуса є максимальною незалежно від форми інфекційного процесу та варіює у межах 80–86% (табл. 2).

Найменша відносна площа лімфоїдної тканини відмічена у шийній парній частці тимуса, тимчасом як у шийній непарній і грудній частці суттєво не відрізняється. При порівнянні кількості лімфоїдної тканини тимуса поросят за різної форми інфекційного процесу встановлено, що у поросят із латентною формою вона

вища, ніж із субклінічною. Так, у тимусі поросят із латентною формою *PCV2*-інфекції відносна площа лімфоїдної тканини у шийній парній частці складає $82,16 \pm 7,67\%$, у шийній непарній – $85,25 \pm 7,96\%$, у грудній – $86,64 \pm 8,09\%$. У тимусі поросят за субклі-

нічної інфекції даний показник не перевищує $80,03 \pm 7,47\%$ у шийній парній частці, $83,19 \pm 7,76\%$ у шийній непарній частці та $82,96 \pm 7,75\%$ у грудній частці.

Таблиця 2

Відносна площа тканинних компонентів тимуса поросят за латентної і субклінічної *PCV2*-інфекції, % (M ± m, n = 6)

Показники	Шийна парна частка	Шийна непарна частка	Грудна частка	Середнє значення
за латентної форми <i>PCV2</i> -інфекції				
Лімфоїдна тканина, %	$82,16 \pm 7,67$	$85,25 \pm 7,96$	$86,64 \pm 8,09$	84,68
кіркова зона, %	$55,93 \pm 5,22$	$60,23 \pm 5,63$	$59,81 \pm 5,59$	58,66
мозкова зона, %	$26,23 \pm 2,45$	$25,02 \pm 2,34$	$26,83 \pm 2,51$	26,03
Співвідношення кіркової / мозкової зони	1 : 2,13	1 : 2,41	1 : 2,23	1 : 2,26
Сполучнотканинна строма, %	$17,84 \pm 1,67$	$14,75 \pm 1,38$	$13,36 \pm 1,25$	15,32
Середня кількість тимусних тілець (Гасала) на одну часточку	$1,70 \pm 0,09$	$1,4 \pm 0,13$	$1,5 \pm 0,14$	1,53
Середній діаметр тимусних тілець, мкм	$28,03 \pm 2,62$	$30,16 \pm 2,82$	$19,11 \pm 1,78$	25,77
за субклінічної форми <i>PCV2</i> -інфекції				
Лімфоїдна тканина, %	$80,03 \pm 7,47$	$83,19 \pm 7,76$	$82,96 \pm 7,75$	82,06
кіркова зона, %	$53,19 \pm 4,97$	$57,09 \pm 5,33$	$54,32 \pm 5,07$	54,87
мозкова зона, %	$26,84 \pm 2,51$	$26,10 \pm 2,43$	$28,64 \pm 2,67$	27,19
Співвідношення кіркової / мозкової зони	1 : 1,98	1 : 2,19	1 : 1,90	1 : 2,02
Сполучнотканинна строма, %	$19,97 \pm 1,86$	$16,81 \pm 1,57$	$17,04 \pm 1,59$	17,94
Середня кількість тимусних тілець (Гасала) на одну часточку	$1,6 \pm 0,15$	$1,5 \pm 0,14$	$1,1 \pm 0,10$	1,40
Середній діаметр тимусних тілець, мкм	$18,9 \pm 1,76$	$21,34 \pm 1,99$	$20,71 \pm 1,93$	20,32

Відносна площа сполучнотканинної строми тимуса поросят відповідно варіює від 13 до майже 20%. Найбільше значення даного показника характерне для тимуса поросят із субклінічною формою *PCV2*-інфекції: $19,97 \pm 1,86\%$ у шийній парній частці та $17,04 \pm 1,59\%$ у грудній частці, $16,81 \pm 1,57$ у шийній непарній частці. За латентної інфекції відносна площа сполучнотканинної строми тимуса у парній шийній частці не перевищує $17,84 \pm 1,67\%$, у непарній шийній $14,75 \pm 1,38\%$, і грудній $13,36 \pm 1,25\%$.

При гістологічних дослідженнях встановлена добре виражена часточковість тимуса. Форма часточок різноманітна – округла, овальна, трикутна, полігона-

льна, розміри варіюють від дрібних до крупних. Деякі часточки неповністю розділені між собою прошарками пухкої сполучної тканини. Лімфоїдна тканина у часточках розділена на периферійну темнішу і центральну світлішу зони, межа між якими чітко виражена. У всіх без винятку часточках тимуса периферійна (кіркова) зона переважає над центральною (мозковою).

При морфометричних дослідженнях було встановлено, що у поросят із латентною формою *PCV2*-інфекції у часточках тимуса відносна площа кіркової зони вища порівняно з поросятами із субклінічною формою (рис. 1).

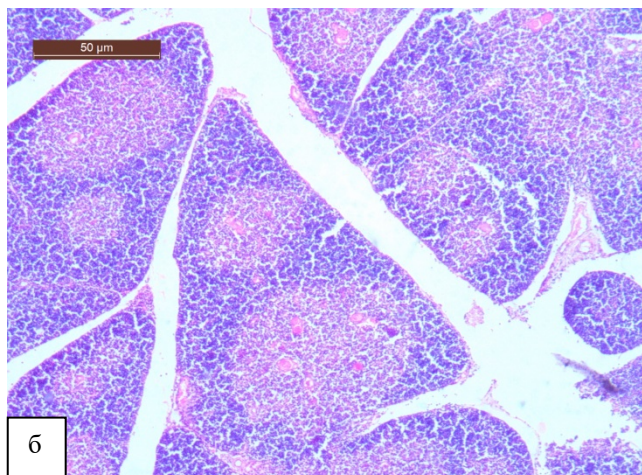
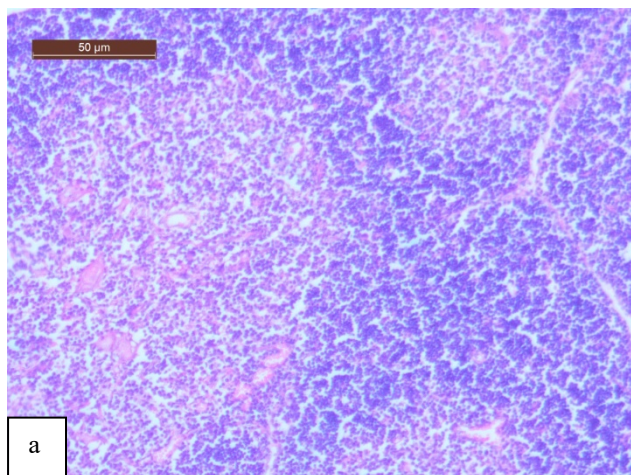


Рис. 1. Гістологічні препарати грудної частки тимуса поросят: а – з ознаками латентної форми *PCV2*-інфекції; б – з ознаками субклінічної форми *PCV2*-інфекції. Зменшення площі кіркової речовини за субклінічної форми *PCV2*-інфекції. Гематоксилін та еозин. х 200

Так у тимусі поросят за латентної *PCV2*-інфекції максимальну відносну площу кіркової зони часточок відмічено у шийній непарній частці $60,23 \pm 5,63\%$ та грудній $59,81 \pm 5,59$, і майже на 5% менше у парній шийній частці $55,93 \pm 5,22\%$. За субклінічної інфекції даний показник у шийній непарній частці тимуса сягає $57,09 \pm 5,33\%$, і не перевищує $54,32 \pm 5,07\%$ у грудній та $53,19 \pm 4,97\%$ у шийній парній частці. Слід зазначити, що відносна площа кіркової зони часточок тимуса та її товщина є показником функціональної активності даного органа. Зважаючи на це можна сказати, що виявлені показники вказують на досить високий морфофункціональний стан органа і відповідає показникам здорових тварин.

Відносна площа мозкової зони часточок тимуса у поросят за субклінічної *PCV2*-інфекції майже однакова у шийній парній частці – $26,23 \pm 2,45\%$ і грудній частці $26,83 \pm 2,51\%$ та дещо нижче у шийній непарній частці $25,02 \pm 2,34\%$. За латентної *PCV2*-інфекції даний показник у шийній парній частці майже однаковий із відповідною часткою тимуса поросят з латентною формою $26,84 \pm 2,51\%$, дещо вищий у шийній непарній частці – $26,10 \pm 2,43\%$ та вище у грудній частці $28,64 \pm 2,67\%$.

Щодо співвідношення кіркової і мозкової зони часточок, то бачимо, що воно високе у часточках тимуса

поросят із латентною формою і дещо нижче у поросят із субклінічною формою. Так, у шийній парній частці тимуса поросят з латентною *PCV2*-інфекцією співвідношення кіркової і мозкової зони складає $1 : 2,13$, а з субклінічною – $1 : 1,98$; у шийній непарній – $1 : 2,41$ та $1 : 2,19$; у грудній – $1 : 2,23$ та $1 : 1,9$ відповідно.

У мозковій зоні часточок тимуса виявляються епітеліальні тимусні тільця (Гасаля), проте їхні розміри неоднакові, у деяких часточках вони можуть бути відсутні, поодинокі чи утворювати скупчення. Також зустрічаються прості тимусні тільця, вони однорідні, гомогенні, еозинофільні з невеликими розмірами та шаруваті, утворені багатьма епітеліоретикулоцитами у стані дистрофії, вони переважно більші за розмірами і утворюють скупчення.

Встановлено, що у тимусі поросят із латентною формою *PCV2*-інфекції середня кількість тимусних тілець на одну часточку не перевищує $1,70 \pm 0,09$ із середнім діаметром $28,03 \pm 2,62$ мкм у шийній парній частці, дещо менше $1,4 \pm 0,13$, але із більшим середнім діаметром – $30,16 \pm 2,82$ мкм у шийній непарній частці та середньою кількістю $1,5 \pm 0,14$ і мінімальним діаметром $19,11 \pm 1,78$ мкм у грудній частці (рис. 2).

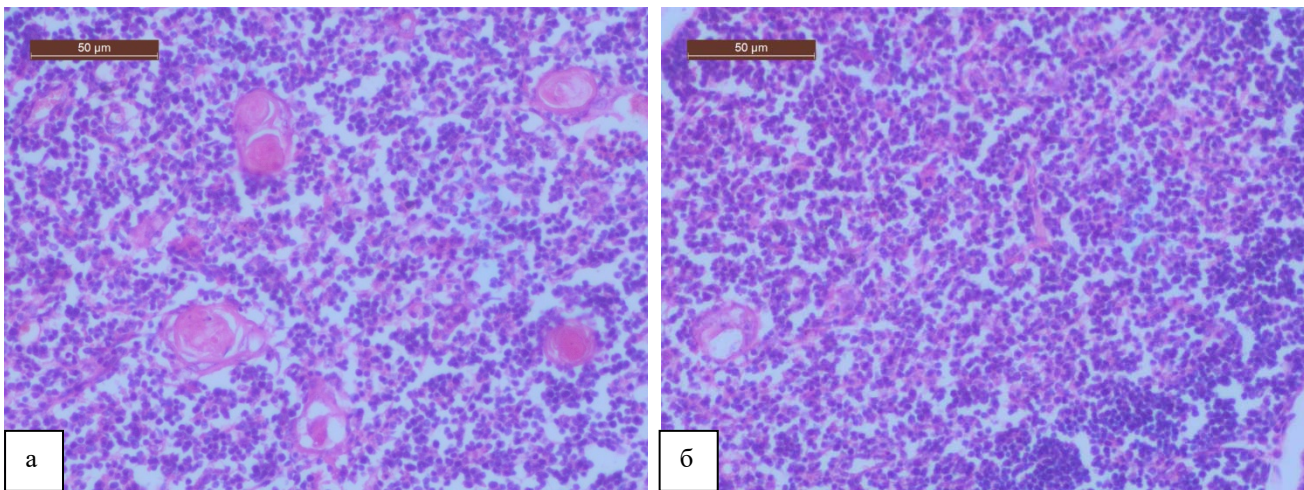


Рис. 2. Гістологічний препарат грудної частки тимуса поросяти: а – з знаками латентної форми *PCV2*-інфекції; б – з ознаками субклінічної форми *PCV2*-інфекції. Зменшення кількості та діаметру тимусних тілець за субклінічної форми *PCV2*-інфекції. Гематоксилін та еозин. х 200

Порівняно меншу кількість тимусних тілець і менший їх діаметр відмічено у тимусі поросят із субклінічною *PCV2*-інфекцією. Так, у найменшу середню кількість тимусних тілець мають часточки тимуса грудної частки $1,1 \pm 0,10$, проте вони достатньо великих розмірів, їхній середній діаметр сягає $20,71 \pm 1,93$ мкм. У часточках шийної непарної частки тимуса середня кількість тимусних тілець складає $1,5 \pm 0,14$ із середнім діаметром $21,34 \pm 1,99$ мкм. У шийній парній частці тимуса середня кількість тимусних тілець достатньо висока – $1,6 \pm 0,15$, проте їхній діаметр найменший і не перевищує $18,9 \pm 1,76$ мкм.

Отже, на тканинному рівні структурної організації у тимусі не відмічено суттєвих порушень за *PCV2*-

інфекції другого типу, окрім незначного зниження відносної площі кіркової зони часточок тимуса, зменшення середньої кількості тимусних тілець і їх шаруватої структури, що більше виражено за субклінічної форми інфекції.

Цитоархітектоніка часточок тимуса поросят представлена різноманітними клітинами гематогенного та епітеліального походження. До клітин гематогенного походження відносять усі форми лімфоцитів (малі, середні, великі, імунобласти), макрофаги та клітини крові (еритроцити, еозинофіли, базофіли, нейтрофіли). Щільність їх розміщення неоднакова у кірковій і мозковій зонах часточок, так, у кірковій зоні клітини,

особливо лімфоцити розташовані щільно, а у мозковій – значно рідше.

Окрім клітин гематогенного походження, остов часточок тимуса формують епітеліоретикулярні клітини декількох видів: опорні клітини, з яких утворений кортико-медулярний бар'єр, зірчасті клітини, що продукують біологічно активні речовини, та клітининяньки, які й забезпечують антигеннезалежну проліферацію та диференціацію лімфоцитів. Ці клітини присутні як у кірковій, так і в мозковій зоні часточок тимуса, проте у зв'язку із різною щільністю розмі-

щення лімфоцитів, епітеліоретикулоцити краще проглядаються у мозковій зоні, гірше у кірковій.

Клітинний склад часточок тимуса поросят характеризується переважанням клітин лімфоїдного ряду, насамперед малих і середніх лімфоцитів, бластів і великих лімфоцитів. Загальна кількість цих клітин значно вища у кірковій зоні часточок тимуса, сягаючи 90-80%, і дещо нижча у мозковій зоні – лише 80-75%. Порівнюючи загальну кількість лімфоїдних клітин у часточках тимуса поросят за PCV2-інфекції, бачимо, що за субклінічної її форми кількість їх менша ніж у тимусі поросят за латентної форми (рис. 3).

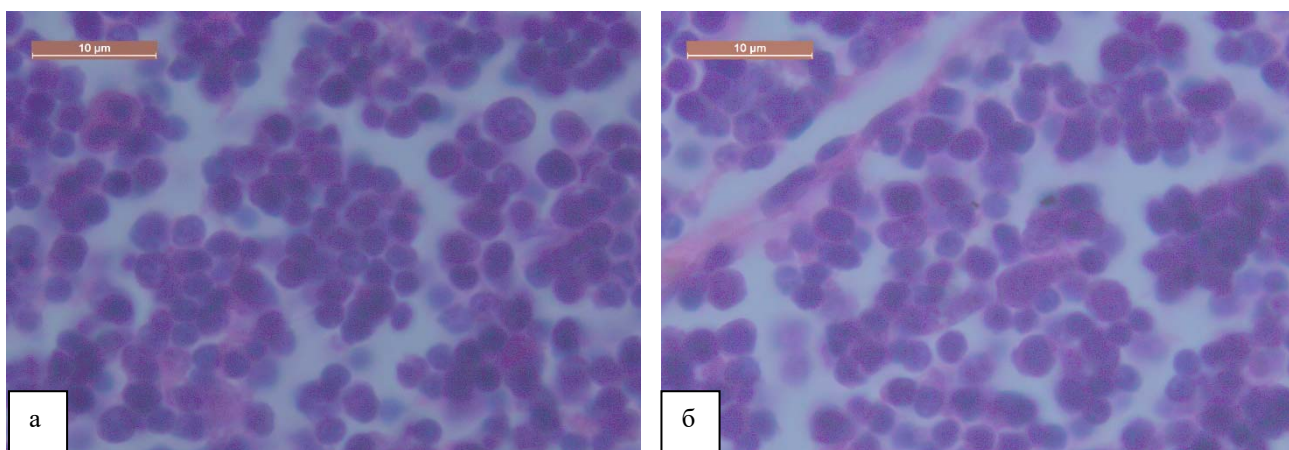


Рис. 3. Гістологічний препарат грудної частки тимуса поросяті (кіркова речовина): а – з ознаками латентної форми PCV2-інфекції; б – з ознаками субклінічної форми PCV2-інфекції. Зменшення кількості лімфатичних клітин за субклінічної форми PCV2-інфекції. Гематоксилін та еозин. х 1000

Серед лімфоїдних клітин максимальну кількість складають малі лімфоцити як у кірковій, так і в мозковій зоні часточок, незалежно від форми перебігу PCV2-інфекції. У поросят за латентної форми PCV2-інфекції у кірковій зоні часточок тимуса їх відносна кількість складає $75,15 \pm 7,02\%$, а у мозковій – $68,93 \pm 6,43\%$ (табл. 3). Другою за кількістю популя-

цією лімфоцитів є середні, їх відносна кількість скла-ла у кірковій $12,33 \pm 1,15\%$, і $10,16 \pm 0,95\%$ у мозковій зонах. Імунобласти і великі лімфоцити виявляли також у обох зонах часточок, їхня кількість у кірковій зоні сягала $3,80 \pm 0,35\%$, а у мозковій не перевищувала $1,60 \pm 0,15\%$.

Таблиця 3

Динаміка відносної кількості клітин кіркової та мозкової зони тимуса поросят за PCV2-інфекції, % (M ± m, n = 6)

Клітинні компоненти	Форми PCV2-інфекції			
	Латентна		Субклінічна	
	Кіркова зона	Мозкова зона	Кіркова зона	Мозкова зона
Імунобласти і великі лімфоцити	$3,80 \pm 0,35$	$1,60 \pm 0,15$	$2,31 \pm 0,22$	$1,10 \pm 0,10$
Середні лімфоцити	$12,33 \pm 1,15$	$10,16 \pm 0,95$	$7,30 \pm 0,68$	$6,14 \pm 0,57$
Малі лімфоцити	$75,15 \pm 7,02$	$68,93 \pm 6,43$	$72,07 \pm 6,73$	$66,89 \pm 6,25$
Макрофаги	$1,83 \pm 0,17$	$1,60 \pm 0,15$	$3,80 \pm 0,35$	$3,40 \pm 0,32$
Епітеліо-ретикулоцити	$5,67 \pm 0,53$	$15,01 \pm 1,40$	$10,19 \pm 0,95$	$16,33 \pm 1,53$
Інші клітини ¹	$1,22 \pm 0,11$	$2,70 \pm 0,25$	$4,33 \pm 0,40$	$6,14 \pm 0,57$

Примітка: 1 – нейтрофільні, еозинофільні гранулоцити, еритроцити

У поросят за субклінічної PCV2-інфекції у часточках тимуса кількість лімфоцитів була нижчою. Так, відносна кількість малих лімфоцитів у кірковій і мозковій зонах складала $72,07 \pm 6,73$ і $66,89 \pm 6,25\%$; середніх лімфоцитів: $7,30 \pm 0,68$ і $6,14 \pm 0,57\%$; імунобластів і великих лімфоцитів: $2,31 \pm 0,22$, $2,31 \pm 0,22$ і $1,10 \pm 0,01$, $10 \pm 0,10\%$ відповідно.

Варто зазначити, що серед лімфоїдних клітин практично не зустрічалися клітини з фігурами мітозу, а у частини лімфоцитів ядра були у стані рекситу чи пікнозу, особливо у тимусі поросят із субклінічною формою PCV2-інфекції.

Відносна кількість епітеліоретикулоцитів була мінімальною у кірковій речовині часточок поросят із латентною формою інфекції і не перевищувала

5,67 ± 0,53%, дещо більше їх спостерігали у кірковій зоні часточок тимуса за субклінічної форми – 10,19 ± 0,95%. У мозковій зоні часточок тимуса на даний вид клітин припадало 15,01 ± 1,40 і 16,33 ± 1,53% відповідно у поросят із латентною і субклінічною PCV2-інфекцією.

Найбільші зміни нами були відмічені у макрофагах часточок тимуса і їх відносній кількості. Так, у тимусі поросят із латентною формою PCV2-інфекції відносна кількість макрофагів у кірковій зоні часточок була на рівні 1,83 ± 0,17%, а у мозковій не перевищувала 1,60 ± 0,15%. Самі клітини були звичних розмірів і мали помірну кількість фагоцитованого матеріалу. У тимусі поросят із субклінічною формою PCV2-інфекції у кірковій зоні відносна кількість макрофагів склала 3,80 ± 0,35%, а у мозковій 3,40 ± 0,32%. Ці клітини часто були гіпертрофовані і містили значну кількість фагоцитованого матеріалу, що вказує на активні процеси загибелі клітин у даній функціональній зоні.

Серед інших клітин у зонах часточок тимуса зустрічалися клітини крові та сполучної тканини. Ми у своїх дослідженнях враховували лише клітини крові, а саме еритроцити, еозинофільні, базофільні та нейтрофільні гранулоцити. Їх відносна кількість була мінімальною у тимусі поросят за латентної інфекції, і у кірковій зоні часточок тимуса не досягала навіть 1% (1,22 ± 0,11%), а у мозковій зоні не перевищувала 2,70 ± 0,25%. У поросят із субклінічною PCV2-інфекцією даний показник був значно вище, так у кірковій зоні часточок тимуса він склав 4,33 ± 0,40%, а у мозковій – 6,14 ± 0,57%.

За результатами імуногістохімічних досліджень в обох групах свиней встановлений незначний рівень експресії антигенів збудника в лімфоїдних клітинах. Характерно, що позитивне імунозabarвлення виявляється переважно в мозковій речовині часточок. При цьому рівень експресії імуногістохімічних маркерів цирковірусної хвороби у свиней з ознаками латентної інфекції не перевищував 1–2% від загальної кількості лімфоїдних клітин, а у свиней з ознаками субклінічної PCV2-інфекції – 2–4%.

Висновки

Структурні характеристики тимуса у свиней з ознаками латентної та субклінічної PCV2-інфекції не мають суттєвих відмінностей порівняно з відповідними показниками тимуса клінічно здорових та вільних від PCV-2 тварин. Водночас спостерігається тенденція до зменшення кількості лімфоїдних клітин, в основному імунобластів та лімфоцитів, а також відповідно площі кіркової речовини часточок, що більше виражено в тимусі свиней з ознаками субклінічної PCV2-інфекції.

За результатами імуногістохімічних досліджень в обох групах свиней встановлений незначний рівень експресії антигенів збудника в лімфоїдних клітинах. Позитивне імунозabarвлення найбільш виражено в мозковій речовині часточок, де рівень експресії відповідних маркерів PCV2-інфекції у свиней з ознаками латентної інфекції не перевищував 1–2% від загальної

кількості лімфоїдних клітин, а у свиней з ознаками субклінічної PCV2-інфекції – 2–4%.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження структурно-функціональних характеристик тимуса у поросят будуть спрямовані на встановлення особливостей патогістологічних змін лімфоїдної паренхіми органа на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції – від стадії ранньої активної інфекції до стадії розривання.

References

- Baimishev, H.B., Shevchenko, B.P., & Seitov, M.S. (2009). Anatomy of the organs of internal secretion and hemocytogenesis. Samara: Book.
- Gavrilin, P.N., & Evert, V.V. (2015). *Konceptsiya mehanizmov povrezhdeniya organov immunoj sistemy u svinej pri cirkovirusnoj infekcii (sindrom mul'tisistemnogo istowenija)*. Naukovo-tekhnichnyi biuletен NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK, 3(2), 12–20 (in Russian).
- Gavrilina, O.G., & Evert, V.V. (2016). *Metodychni osoblyvosti zastosuvannya imunohistokhimichnoї diahnostyky tsyrkovirusnoї infektsii svynei*. Problems of animal science and veterinary medicine: Veterinary sciences. Collection of scientific works of the Kharkov State Zooveterinary Academy, 32, 294–301 (in Ukrainian).
- Goralsky, L.P., Khomich, V.T., & Kononsky, O.I. (2011). *Osnovy histolohichnoї tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhennia u normi ta pry patolohii*. Zhitomir: Polissya (in Ukrainian).
- Krakowka, S., Ellis, J.A., McNeilly, F., Ringler, S., Rings, D.M., & Allan, G. (2001). Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). *Veterinary Pathology*, 38, 31–42. doi: 10.1354/vp.38-1-31.
- Alarcon, P., Rushton, J., & Wieland, B. (2013). Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England - an economic disease model. *Preventive Veterinary Medicine*, 110, 88–102. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.02.010.
- Brunborg, I.M., Moldal, T.S., & Jonassen, C.M. (2004). Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *Journal of Virological Methods*, 122 (2), 171–178. doi: 10.1016/j.jviromet.2004.08.014.
- Nauwynck, H.J., Sanchez, R., Meerts, P., Lefebvre, D.J., Saha, D., Huang, L., & Misinzio, G. (2012). Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. *Virus Research*, 164, 43–45. doi: 10.1016/j.virusres.2011.11.003.
- McIntosh, K.A., Tumber, A., Harding, J.C., Krakowka, S., Ellis, J.A., & Hill, J.E. (2009). Development and validation of a SYBR green real-time PCR for the quantification of porcine circovirus type 2 in serum, buffy coat, feces, and multiple tissues. *Veterinary Microbiology*, 133, 23–33. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.06.010.

- Doster, A., Subramaniam, S., Yhee, J., Kwon, B., Yu, C., Kwon, S., & Osorio, F. (2010). Distribution and characterization of IL-10-secreting cells in lymphoid tissues of PCV2-infected pigs. *Journal of Veterinary Science*, 11, 177–183. doi: 10.4142/jvs.2010.11.3.177.
- Dvorak, C.M., Puvanendiran, S., & Murtaugh, M.P. (2013). Cellular pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection. *Virus Research*, 174, 60–68. doi: 10.1016/j.virusres.2013.03.001.
- Lopez-Rodriguez, A., Dewulf, J., Meyns, T., Del-Pozo-Sacristan, R., Andreoni, C., Goubier, A., Chapat, L. et al. (2016). Effect of sow vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) on virological profiles in herds with or without PCV2 systemic disease. *The Canadian Veterinary Journal*, 57, 619–628. <http://hdl.handle.net/1854/LU-8047986>.
- Oliver-Ferrando, S., Segales, J., Lopez-Soria, S., Callen, A., Merdy, O., Joisel, F., & Sibila, M. (2016). Evaluation of natural porcine circovirus type 2 (PCV2) sub-clinical infection and seroconversion dynamics in piglets vaccinated at different ages. *Veterinary Research*, 47, 121–140. doi: 10.1186/s13567-016-0405-2.
- Gavrilin, P.N., Gavrilina, E.G., & Evert, V.V. (2017). Histoarchitectonics of the parenchyma of lymph nodes of mammals with different structure of intranodal lymphatic channel. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(3), 96–107. doi: 10.15421/2017_54.
- Chianini, F., Majo, N., Segales, J., Dominguez, J., & Domingo, M. (2003). Immunohistochemical characterisation of PCV2 associate lesions in lymphoid and non-lymphoid tissues of pigs 185 with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94, 63–75. doi: 10.1016/s0165-2427(03)00079-5.
- Opriessnig, T., Meng, X.J., & Halbur, P.G. (2007). Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(6), 591–615. doi: 10.1177 / 104063870701900601.
- Young, M.G., Cunningham, G.L., & Sanford, S.E. (2011). Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *Journal of Swine Health and Production*, 19, 175–180.