

УДК 619:611.081:616.988:636.4

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КРОВОТВОРНИХ КОМПОНЕНТІВ
СКЕЛЕТА СВИНЕЙ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ КЛІНІЧНО
ВИРАЖЕНОЇ ЦИРКОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ II ТИПУ**

Евєрт В.В.

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

*Автором на підставі патогістологічного дослідження визначено патологічні зміни
кровотворних компонентів скелета поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої*

PCV2-інфекції. Встановлено, що патологічні зміни клітинного складу кісткового мозку в поросят за різних стадій розвитку PCV2-інфекції мають переважно компенсаторний та дегенеративний характер, без виражених запальних змін і полягають у поступовому виснаженні паренхіми зі зменшенням кількості усіх без винятку кровотворних клітин на тлі патологічної проліферації клітин стромы з формуванням кісткоподібних структур.

Ключові слова: *стадії PCV2-інфекції, тканинні та клітинні кровотворні компоненти, кістковий мозок*

Вступ. Свинарство – одна з найважливіших галузей тваринництва в Україні, яка успішно розвивається і конкурує на міжнародному продовольчому ринку. На жаль успішному розвитку галузі перешкоджають інфекційні захворювання і перш за все цирковірусна інфекція 2 типу через значний економічний вплив. Збудник захворювання - цирковірус (PCV-2) в першу чергу уражує імунну систему, яка поряд з нервовою та ендокринною виконує важливу роль у підтриманні гомеостазу організму та забезпечує його адаптацію до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища [2, 9, 11, 14, 15, 17, 20].

До органів імунної системи свиней відносяться кісткові органи (червоний кістковий мозок), тимус, селезінка, лімфатичні вузли, а також дифузні та агреговані лімфатичні утворення стінок травного каналу (мигдалики, лімфатичні бляшки кишечника) і дихальних шляхів. Формування червоного кісткового мозку починається на другому місяці ембріонального розвитку ембріона, з п'ятого-сьомого місяця ембріогенезу червоний кістковий мозок функціонує як основний кровотворний орган з переважанням процесів еритропоезу. Після народження червоний кістковий мозок заповнює діафізи та епіфізи трубчастих кісток, плоскі кістки. До моменту статевого дозрівання червоний кістковий мозок у діафізах трубчастих кісток заміщується на жовтий кістковий мозок, що з віком перетворюється на желатинозний кістковий мозок [1, 4, 5, 10, 16, 19, 21].

Розмноження PCV-2 у клітинах імунної системи приводить до їх гибелі і розвитку імунодефіцитного стану, а питання патоморфологічних змін кровотворних компонентів скелета свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції (підгострої, хронічної та розрішення) у доступній науковій літературі недостатньо висвітлені та потребують детального вивчення. Оскільки функція кісткових органів, як і тимуса, знаходиться в прямій взаємодії зі зростанням і розвитком селезінки і лімфатичних вузлів, це відображається в будові їх паренхіматозних і стромальних структур [3, 8, 12, 13, 18, 22, 23].

Мета роботи – визначення патоморфологічних змін кровотворних компонентів скелета (кісткового мозку) свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції.

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

Для визначення патоморфологічних змін кровотворних компонентів скелета поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції відбирали тварин з позитивними показниками оптичної щільності специфічних антитіл (*Ig G* і *Ig M*) в сироватці крові, а також поросят з клінічними ознаками активної PCV2-інфекції, в 1 см³ цільної крові яких, містилося понад 10⁷ копій геном еквівалентів PCV-2 вірусу [17].

Стадію розвитку PCV2-інфекції визначали шляхом порівняння діагностичних (позитивних) значень оптичної щільності *Ig G* і *Ig M* методом ІФА-аналізу з використанням тест-систем Ingezim Circovirus *Ig G/Ig M* 11 PCV_{k2} (Ingenasa, Іспанія) [20]. За результатами ІФА-аналізу виділено 3 групи тварин: 1 – рання активна (або підгостра) PCV2-інфекція - $Ig M \geq Ig G$; 2 - активна (хронічна) PCV2-інфекція - $Ig M < Ig G$; 3 - пізня PCV2-інфекція (стадія розрешення) – відсутність *Ig M* на тлі високих показників *Ig G*.

Методом гострого знекровлення проводили забій поросят трьох груп по 6 голів та шляхом анатомічного препарування відбирали необхідний матеріал: кістки з червоним кістковим мозком (5 грудний хребець, 5 реберна кістка, 3 сегмент грудної кістки). Відібраний матеріал фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну за загальноприйнятими методиками. Після фіксації кістки декальцинували в 10 % розчині трилону Б на 4 % розчині формаліну та в розчині Шморля (мурашина кислота 90 % - 500 см³, формальдегід 40 % - 50 см³, дистильована вода – 450 см³) та заливали в парафін (гістопласт). Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином та азур II еозином за загальноприйнятими методиками [7]. В парафінових зрізах також визначали наявність антигену PCV-2 (імуногістохімічне забарвлення) [6].

Відносну площу тканинних компонентів у гістологічних препаратах визначали шляхом диференційованого підрахунку крапок, які потрапили на відповідну складову гістологічного препарату, не менше ніж на 5 зрізах отриманих з кожного фрагменту, за формулою $S_{відн} = P_t : P_z \cdot 100 \%$, де $S_{відн}$ – відносна площа відповідних компонентів, %; P_t – кількість крапок, що потрапили на відповідні тканинні компоненти; P_z – загальна кількість крапок, що потрапили на всю площу гістологічного препарату.

В кістках методом крапкового підрахунку визначали відносну площу кісткового мозку, кісткової та хрящової тканин, а також відносну площу окремих клітинних компонентів кісткового мозку: кровотворних, остеогенних, жирових клітин та клітин строми (ретикулярні та ендотеліальні клітини, макрофаги, фібробласти).

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

Результати досліджень. Структурна організація кровотворних компонентів скелета поросят на тканинному рівні представлена трьома

основними компонентами: кістковим мозком, кістковою та хрящової тканинами. Саме по співвідношенню цих трьох компонентів, визначається функціональна активність кісткових органів. Поряд із цим, хрящова і кісткова тканини є одними з основних компонентів кровотворного мікрооточення, що визначають морфофункціональний стан кісткового мозку і його гемопоетичної функції в нормі та при різних патологічних станах.

У результаті гістологічних досліджень встановлено, що за клінічно вираженої *PCV2*-інфекції в кісткових органах поросят спостерігаються зміни як на тканинному, так і на клітинному рівні їх структурної організації. Так у досліджених кістках виявлено зміни співвідношення тканинних компонентів, що проявляються різким зниженням відносної площі кровотворних компонентів (кісткового мозку), одночасним різким зростанням площі інших структур, зокрема патологічних осередків проліферації клітин строми кісткового мозку та формування кістозних утворень, кровоносних судин та сполучнотканинних структур (окістя, охрястя) на тлі стабільних показників кісткової та хрящової тканини. Інтенсивність цих змін прямо залежала від стадії розвитку *PCV2*-інфекції.

У поросят на ранній активній (підгострій) стадії *PCV2*-інфекції основним тканинним компонентом кісткових органів є кістковий мозок. Максимальну відносну площу він займає у 3-му сегменті груднини ($75,19 \pm 5,36$ %), значно менше у 5-му грудному хребці ($59,63 \pm 3,46$ %) та 5-й реберній кістці ($56,84 \pm 4,33$ %) (табл. 1).

Таблиця 1

Відносна площа тканинних компонентів кісткових органів поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції, % (M±m, n=6)

| Тканинний компонент | Стадія розвитку PCV2-інфекції | | |
|-----------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| | Рання активна (підгостра) | Активна (хронічна) | Пізня (стадія розрішення) |
| 5 грудний хребець | | | |
| Кістковий мозок | 59,63 ± 3,46 | 38,42 ± 2,45** | 35,19 ± 1,13 |
| Кісткова тканина | 27,18 ± 2,01 | 26,63 ± 2,32 | 25,18 ± 1,51 |
| Хрящова тканина | 9,97 ± 0,44 | 10,14 ± 3,69 | 9,07 ± 0,25 |
| Інші структурні компоненти ¹ | 3,22 ± 0,08 | 24,81 ± 4,62** | 30,56 ± 1,73 |
| 5 реберна кістка | | | |
| Кістковий мозок | 56,84 ± 4,33 | 36,19 ± 2,55** | 32,93 ± 3,13 |
| Кісткова тканина | 31,65 ± 2,14 | 30,25 ± 4,03 | 29,37 ± 2,11 |
| Хрящова тканина | 8,16 ± 0,47 | 8,53 ± 0,70 | 7,63 ± 0,25 |
| Інші структурні компоненти ¹ | 3,35 ± 0,77 | 25,03 ± 4,42** | 30,07 ± 2,26 |
| 3 сегмент груднини | | | |
| Кістковий мозок | 75,19 ± 5,36 | 49,34 ± 0,45** | 47,08 ± 2,13 |
| Кісткова тканина | 19,17 ± 1,13 | 18,87 ± 4,03 | 17,19 ± 0,15 |
| Хрящова тканина | 4,37 ± 0,47 | 4,62 ± 0,69 | 3,97 ± 0,25 |
| Інші структурні компоненти ¹ | 1,27 ± 0,08 | 27,17 ± 2,52*** | 31,76 ± 1,63 |

Примітка: ¹ – кровоносні судини (окрім судин мікроциркуляторного русла), окістя, охрястя, патологічні кістозні та інші утворення; ** – P < 0,01, *** – P < 0,001 порівняно з попередньою групою.

Структура кісткового мозку не мала будь яких виражених патологічних змін. У межах кістковомозкових вічок, переважно в їх середині, розташована значна кількість скупчень гемопоетичних острівців та дифузних скупчень клітин мієлоїдного ряду, відокремлених капілярами синусоїдного типу та невеликими осередками жирових клітин (адипоцитів). Osteогенні клітини сконцентровані вздовж кісткових балок, клітини строми кісткового мозку (ретикулярні клітини, макрофаги) внаслідок значного розвитку гемопоетичних клітин виявляються як поодинокі структури серед острівців кровотворення.

Біля капілярів синусоїдного типу знаходяться поодинокі не чисельні мегакаріоцити (рис. 1-2).

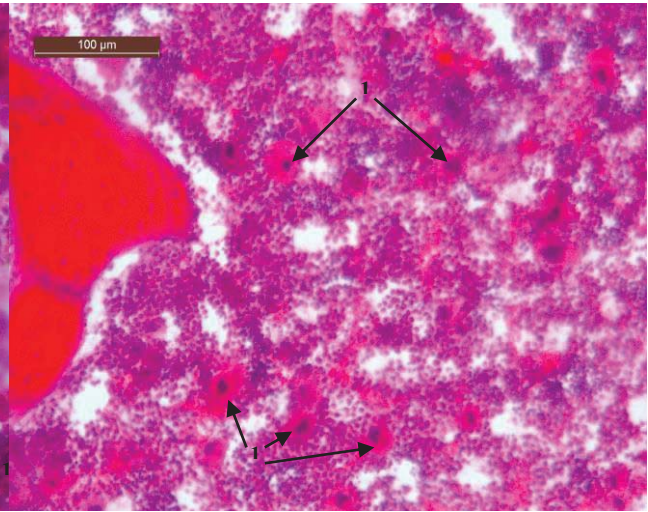
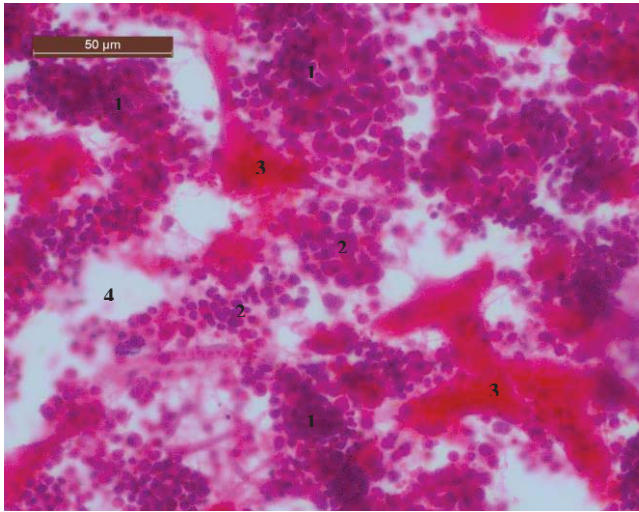


Рис. 1. Червоний кістковий мозок 3 сегменту груднини поросяти на стадії ранньої активної (підгострої) *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 200$; 1 - кровотворні острівці; 2 - дифузні скупчення кровотворних клітин; 3 - капіляри синусоїдного типу; 4- адипоцити; 5 - ретикулярні клітини.

Рис. 2. Кістковий мозок тіла 5 грудного хребця поросяти на стадії ранньої активної (підгострої) *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 100$; 1 - дифузне скупчення мегакаріоцитів у червоному кістковому мозку.

Також достатньо високою була відносна площа кісткової тканини: у 5-й реберній кістці - $31,65 \pm 2,14$ %, у 5-му грудному хребці – $27,18 \pm 2,01$ %, у 3-му сегменті груднини – $19,17 \pm 1,13$ %, а хрящової тканини не перевищувала $9,97 \pm 0,44$ % у 5-му грудному хребці, $8,16 \pm 0,47$ % у 5-реберній кістці та $4,37 \pm 0,47$ % у 3-му сегменті груднини.

Окрім названих тканинних компонентів у кісткових органах поросят ми виділяли і інші компоненти, зокрема кровоносні судини (окрім судин мікроциркуляторного русла), окістя, охрястя, та різні патологічні кістозні та інші утворення. Їх загальна відносна площа була найнижчою у ранню активну стадію *PCV2*-інфекції. Так у 5-му грудному хребці відносна площа інших структур не перевищувала $3,22 \pm 0,08$ %, у 5-й реберній кістці – $3,35 \pm 0,77$ %, а груднині – $1,27 \pm 0,08$ %. Патологічні утворення в стромі кісткового мозку на цій стадії розвитку хвороби не виявлялися.

За активної хронічної стадії *PCV2*-інфекції поросят у кісткових органах на тканинному рівні структурної організації встановили різке і суттєве зниження відносної площі саме кровотворних компонентів. Спостерігали помітне «розрідження» кровотворних компонентів кісткового мозку за рахунок зменшення кількості кровотворних острівців і дифузних скупчень кровотворних клітин. У цілому кровотворні компоненти кісткового мозку були представлені невеликими кровотворними острівцями між якими, знаходилися чисельні адипоцити, розширені капіляри синусоїдного типу та дифузні зони

клітин строми кісткового мозку. Тобто на цій стадії хвороби спостерігалися чіткі ознаки «акцидентальної» інволюції кровотворних компонентів із ефектом чіткої візуалізації ретикулярної строми органа.

Найінтенсивніше зменшення характерно для груднини, де відносна площа кісткового мозку знизилася майже на 26 % порівняно із ранньою активною (підгострою) формою *PCV2*-інфекції і не перевищує $49,34 \pm 0,45$ %. У інших кісткових органах спостерігали зменшення відносної площі даного тканинного компоненту на рівні 20-21 %. У 5-му грудному хребці відносна площа кісткового мозку становила $38,42 \pm 2,45$ %, а у 5-й реберній кістці – $36,19 \pm 2,55$ %.

Для активної хронічної стадії *PCV2*-інфекції, характерно різке збільшення в кістковому мозку відносної площі строми. Внаслідок «виснаження» кісткового мозку, спостерігається осередкова проліферація ретикулярних клітин у вигляді дифузних острівців у різних зонах губчастої кісткової речовини (від зон росту до центральних ділянок осередків осифікації) (рис. 3, 4).

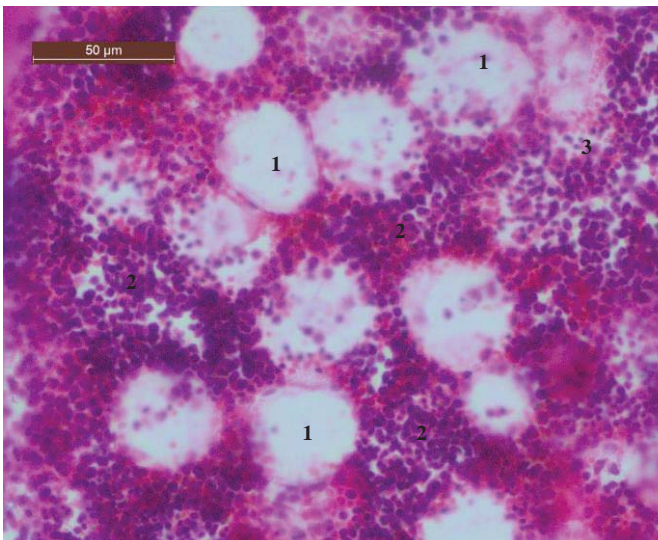


Рис. 3. Кістковий мозок тіла 5 реберної кістки поросяти на стадії активної хронічної *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 200$; 1 – числені адипоцити; 2 – дифузні скупчення кровотворних клітин; 3 – осередки ретикулярних клітин.

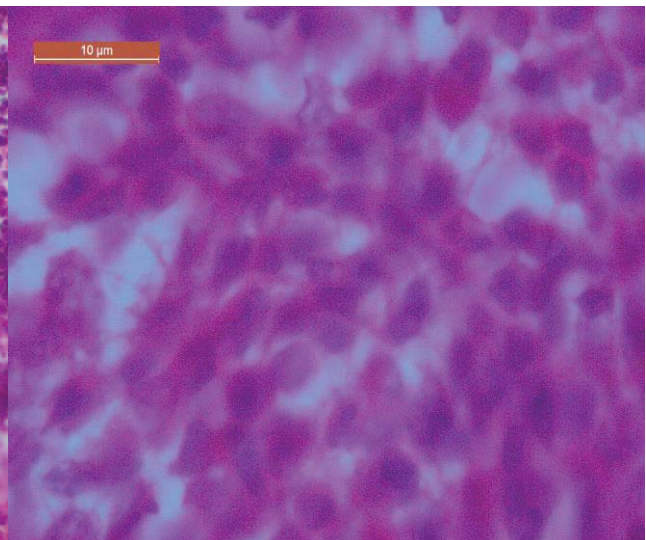


Рис. 4. Ретикулярні клітини в центральній зоні проліферату з кістково-мозкових механоцитів у тілі 5 грудного хребця поросяти на стадії активної хронічної *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 1000$.

В окремих клітинах у центральних зонах проліфератів спостерігаються ознаки вакуолізації цитоплазми за типом гідропічної дистрофії без виражених некротичних змін. Серед ретикулярних клітин зустрічалися поодинокі макрофаги. Скупчення макрофагів, епітеліоїдних клітин, у тому числі полікаріоцитів, не виявили. У 3-му сегменті груднини відносна площа стромальних компонентів зросла до $27,17 \pm 2,52$ %, у 5-й реберній кістці до $25,03 \pm 4,42$ %, а 5-му грудному хребці до $24,81 \pm 4,62$ %.

Відносна площа кісткової та хрящової тканини у кісткових органах поросят за активної (хронічної) стадії *PCV2*-інфекції суттєво не змінилася порівняно із ранньою активною (підгострою) стадією. Так відносна площа кісткової тканини у 5-й реберній кістці склала $30,25 \pm 4,03$ %, у 5-му грудному хребці – $30,25 \pm 4,03$ %, а у 3-му сегменті груднини – $18,87 \pm 4,03$ %. Відносна площа хрящової тканини у 5-му грудному хребці склала $10,14 \pm 3,69$ %, у 5-й реберній кістці $8,53 \pm 0,70$ %, у 3-му сегменті груднини – $4,62 \pm 0,69$ %.

У поросят за пізньої *PCV2*-інфекції (стадії розрешення) у кісткових органах спостерігали збереження тенденції до зниження відносної площі кісткового мозку, збільшення кількості патологічних утворень і відносно незмінні показники кісткової та хрящової тканини. Так у 5-му грудному хребці відносна площа кісткового мозку знизилася до $35,19 \pm 1,13$ %, у 5-реберній кістці до $32,93 \pm 3,13$ %, а у груднині до $47,08 \pm 2,13$ %. Відносна площа інших структур суттєво зросла. Так у 3-му сегменті груднини їх відносна площа склала $31,76 \pm 1,63$ %, у 5-му грудному хребці – $30,56 \pm 1,73$ %, а у 5-й реберній кістці – $30,56 \pm 1,73$ %.

Острівці кровотворних клітин у кістковому мозку майже не виявлені. Кровотворні клітини були представлені невеликими дифузними скупченнями гематобластів. Кількість скупчень адипоцитів у кістковому мозку суттєво зросла. В центральних ділянках проліфератів з ретикулярних клітин виявляються чітко виражені ознаки гідропічної та балонної дистрофії й як наслідок некрозу цих клітин. У зонах некрозу формувалися безклітинні кістоподібні утворення, які містили клітинний детрит (рис. 5, 6).

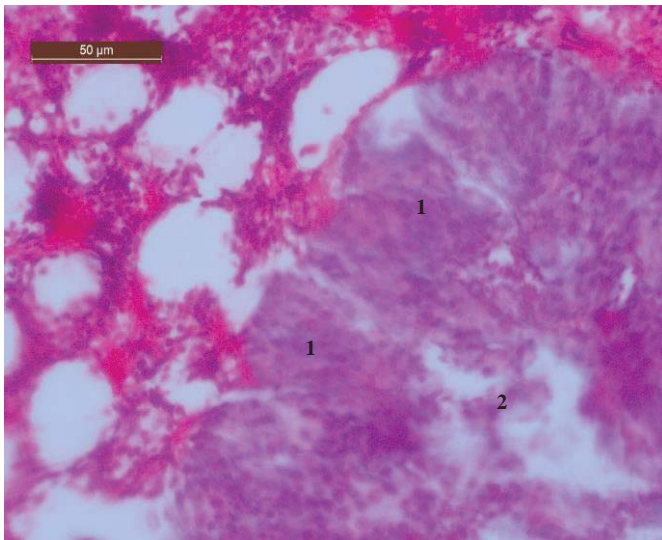


Рис. 5. Кістковий мозок тіла 5 реберної кістки поросяти на стадії пізньої *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 400$; 1 – осередок проліферації ретикулярних клітин; 2 – дистрофія і некроз ретикулярних клітин в центральній зоні осередку.

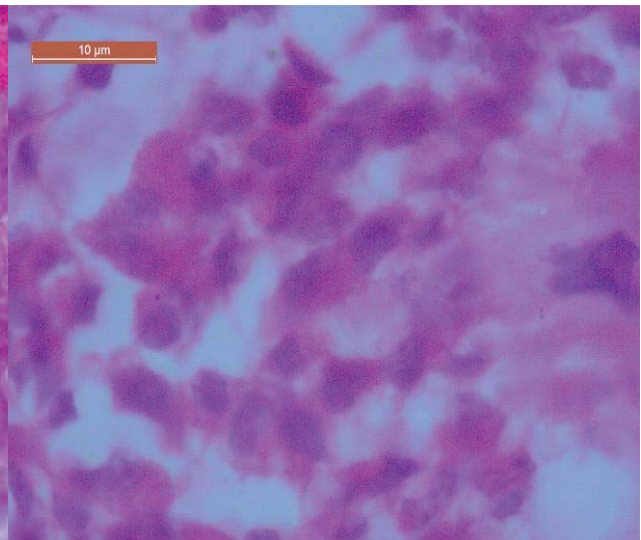


Рис. 6. Дистрофія і некроз ретикулярних клітин в центральній зоні проліферату з механоцитів кісткового мозку в 3 сегменті груднини поросяти на стадії пізньої *PCV2*-інфекції. Заб. гематоксиліном і еозином, $\times 1000$

У межах клітинного кістковомозкового вічка спостерігали декілька вищезазначених кіст. При цьому збільшення кількості макрофагів не відбувалося, епітеліоїдні клітини та полікаріюцити не виявили.

Відносна площа кісткової і хрящової тканини суттєво не змінилася, так у 5-му грудному хребці відносна площа кісткової тканини склала $25,18 \pm 1,51$ %, а хрящової $9,07 \pm 0,25$ %, у 5-реберній кістці – $29,37 \pm 2,11$ % кісткової і $7,63 \pm 0,25$ % хрящової, у груднині – $17,19 \pm 0,15$ % кісткової і $3,97 \pm 0,25$ % хрящової відповідно.

Відомо, що цитоархітектоніка кісткового мозку в кістках є показником функціональної активності органу. Osteогенні та кровотворні клітини кісткового мозку з комплексом структур мікрооточення мали зональну або дискретну локалізацію, специфічну для різних осередків окостеніння. Ступінь розвитку компонентів стромы, а також остеогенних, кровотворних та жирових клітин кісткового мозку в скелеті різниався значною варіабельністю як відносно осередків окостеніння в цілому, так і їх окремих ділянок.

У наших дослідженнях встановлено, що основними клітинними компонентами кісткового мозку поросят незалежно від стадії розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції залишаються кровотворні, остеогенні, жирові та стромальні клітини. Їх відносна площа і співвідношення варіювали залежно від кісткового органу та локалізації (первинна чи вторинна губчаста кісткова речовина). За клінічно вираженої PCV2-інфекції циторархітектоніка кісткового мозку поросят залежала від стадії розвитку. Так відмічено різке зниження кількості кровотворних клітин, в основному за рахунок збільшення відносної площі стромальних і жирових клітин та тлі відносно стабільних показників остеогенних клітин.

У поросят за ранньої активної (підгострої) стадії PCV2-інфекції у всіх без винятку кісткових органах максимальну відносну площу займали кровотворні клітинні компоненти, як первинної, так вторинної губчастої кісткової речовини (табл. 2).

У 5-му грудному хребці відносна площа кровотворних клітин була максимальною у зонах первинної губчастої кісткової речовини ($71,84 \pm ,31$ %); у вторинній зоні також була високою, проте не перевищувала $66,34 \pm 2,01$ %. У 5-й реберній кістці відносна площа гемопоетичних клітин у зоні вторинної губчастої кісткової тканини виявилася значно вищою ($50,16 \pm 3,37$ %), ніж у зоні первинної губчастої речовини ($36,52 \pm 2,54$ %). У 3-му сегменті груднини даний показник майже однаковий як у зоні первинної ($43,16 \pm 2,17$ %) так і вторинної ($44,76 \pm 2,22$ %) кісткової речовини.

Таблиця 2.

Відносна площа клітинних компонентів кісткового мозку поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції, % (M±m, n=6)

| Клітинний компонент | Стадія розвитку PCV2-інфекції | | | |
|---------------------------------------------|-------------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------|
| | Рання активна (підгостра) | Активна (хронічна) | Пізня (стадія розрешення) | |
| 5 грудний хребець | | | | |
| зона первинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 12,73 ± 1,46 | 13,16 ± 0,45 | 11,43 ± 1,43 |
| | кровотворні | 71,84 ± 2,31 | 47,21 ± 2,22*** | 32,18 ± 2,41*** |
| | жирові | 9,62 ± 0,44 | 14,07 ± 1,64* | 16,34 ± 0,57 |
| | стромальні ¹ | 5,81 ± 0,08 | 25,56 ± 2,52*** | 40,05 ± 3,63* |
| зона вторинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 1,98 ± 0,04 | 1,72 ± 0,04** | 1,81 ± 0,05 |
| | кровотворні | 66,34 ± 2,01 | 41,56 ± 2,59*** | 28,55 ± 1,31** |
| | жирові | 22,19 ± 2,84 | 28,16 ± 2,49 | 30,41 ± 3,24 |
| | стромальні ¹ | 9,49 ± 0,08 | 28,56 ± 3,60** | 39,23 ± 4,12 |
| 5 реберна кістка | | | | |
| зона первинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 21,76 ± 2,31 | 19,94 ± 1,56 | 18,06 ± 0,47 |
| | кровотворні | 36,52 ± 2,54 | 15,82 ± 0,43*** | 7,09 ± 0,12*** |
| | жирові | 14,01 ± 0,47 | 19,13 ± 0,82** | 19,67 ± 0,85 |
| | стромальні ¹ | 27,71 ± 1,79 | 45,11 ± 3,32** | 55,18 ± 4,62 |
| зона вторинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 9,95 ± 0,46 | 8,51 ± 0,65 | 8,07 ± 0,41 |
| | кровотворні | 50,16 ± 3,37 | 25,09 ± 1,23*** | 13,12 ± 0,23*** |
| | жирові | 16,62 ± 1,76 | 17,02 ± 1,96 | 19,44 ± 1,24 |
| | стромальні ¹ | 23,27 ± 1,26 | 49,41 ± 1,26*** | 59,37 ± 2,26* |
| 3 сегмент груднини | | | | |
| зона первинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 12,25 ± 0,63 | 13,10 ± 0,45 | 11,83 ± 2,13 |
| | кровотворні | 43,16 ± 2,17 | 19,37 ± 1,13*** | 8,62 ± 0,15*** |
| | жирові | 11,68 ± 0,57 | 16,28 ± 1,70 | 17,14 ± 1,22 |
| | стромальні ¹ | 32,91 ± 2,80 | 51,25 ± 2,52** | 62,41 ± 3,36* |

| Продовження таблиці | | | | |
|---------------------------------------------|-------------------------|--------------|-----------------|----------------|
| зона вторинної губчастої кісткової речовини | остеогенні | 3,06 ± 0,35 | 3,26 ± 0,25 | 2,27 ± 0,15* |
| | кровотворні | 44,76 ± 2,22 | 18,91 ± 1,32*** | 9,12 ± 0,23*** |
| | жирові | 37,42 ± 3,71 | 43,61 ± 5,74 | 44,20 ± 3,41 |
| | стромальні ¹ | 14,76 ± 0,26 | 34,22 ± 3,63** | 44,41 ± 4,62 |

Примітка: ¹ – ретикулярні, ендотеліальні клітини, макрофаги, фібробласти; * – P < 0,05, ** - P < 0,01, *** - P < 0,001, порівняно з попередньою групою.

Відносна кількість остеогенних клітин значно варіювала залежно від зони кісткової тканини. У зонах первинної губчастої кісткової тканини їх відносна площа сягає 21,76 ± 2,31 % у 5-й реберній кістці, 12,73 ± 1,46 % та 12,25 ± 0,63 % у 5-му грудному хребці та 3-му сегменті груднини відповідно. У зоні вторинної губчастої кісткової речовини відносна площа остеогенних клітин виявилася значно меншою: у 5-й реберній кістці даний показник складав майже 10 % (9,95 ± 0,46 %), у 3-му сегменті груднини 3,06 ± 0,35 %, а у 5-му грудному хребці не перевищує 1,98 ± 0,04 %.

Для ранньої активної стадії PCV2-інфекції також спостерігали високий вміст стромальних клітинних компонентів у кістковому мозку, особливо у 5-й реберній кістці та 3-му сегменті груднини і в меншій мірі у 5-му грудному хребці. Відносна площа стромальних компонентів у зоні первинної губчастої речовини становила 32,91 ± 2,80 % в 3-му сегменті груднини, 27,71 ± 1,79 % в 5-й реберній кістці, і лише 9,49 ± 0,08 % у 5-му грудному хребці. У зоні вторинної губчастої речовини відносна площа стромальних клітинних компонентів була достатньо високою у 5-й реберній кістці (23,27 ± 1,26 %), значно нижче у 3-му сегменті груднини (14,76 ± 0,26 %) і не перевищувала 10 % (9,49 ± 0,08 %) у 5-му грудному хребці.

У кістковому мозку поросят в ранню активну стадію PCV2-інфекції в усіх кісткових органах ми виявляли адипоцити. Їх відносна кількість була вищою у зонах середньо- і великокомірчастої вторинної губчастої кісткової речовини, де вони розміщувалися групами і значно менше у зонах дрібновічкової первинної губчастої кісткової речовини, де ми їх зустрічали рідше поодинокі та невеликими групами по 2–3 клітини. У первинній губчастій кістковій тканині максимальну відносну площу жирових клітин ми виявили у 5-й реберній кістці (14,01 ± 0,47 %), дещо менше у 3-му сегменті груднини (11,68 ± 0,57 %) і 5-му грудному хребці (9,62 ± 0,44 %). У зонах вторинної губчастої кісткової речовини відносна площа адипоцитів була значно вище порівняно із зоною первинної губчастої речовини. Так у 3-му сегменті груднини відносна площа, що займають жирові клітини сягала 37,42 ± 3,71 %, у 5-му грудному хребці – 22,19 ± 2,84 %, а в 5-й реберній кістці – 16,62 ± 1,76 %.

Для поросят за активної (хронічної) стадії розвитку PCV2-інфекції характерні значні зміни цитоархітекτονіки кісткового мозку порівняно із

ранньою активною (підгострою) стадією PCV2-інфекції. Основні зміни стосуються гемопоетичних клітин, кількість яких, різко знизилася та стромальних, рівень яких навпаки, значно виріс, що характерно для кісткових органів незалежно від зони кісткової речовини. Так у 5-му грудному хребці відносна площа кровотворних клітин знизилася на 25 % як у зоні первинної (до $47,21 \pm 2,22$ %), так і вторинної (до $41,56 \pm 2,59$ %) губчастої речовини. Незважаючи на це у 5-му грудному хребці кровотворні клітинні кісткового мозку залишилися найчисельнішим компонентом.

У 3-му сегменті груднини у зоні первинної губчастої кісткової речовини вміст кровотворних клітин знизився майже на 24 % (до $19,37 \pm 1,13$ %), а в зоні вторинної губчастої кісткової речовини майже на 26 % (до $18,91 \pm 1,32$ %). У 5-й реберній кістці відносна площа кровотворних клітин зменшилася у зоні первинної кісткової речовини майже на 21 % (до $15,82 \pm 0,43$ %), а в зоні вторинної губчастої кісткової речовини на 25 % (до $25,09 \pm 1,23$ %).

Вміст стромальних клітинних компонентів у кістковому мозку поросят за активної хронічної PCV2-інфекції різко зріс, що характерно для усіх досліджених кісткових органів. У зоні первинної губчастої кісткової речовини максимальний ріст даного показника майже на 20 % відмічено в 5-му грудному хребці ($25,56 \pm 2,52$ %) та майже на 19 % 3-му сегменті груднини ($34,22 \pm 3,63$ %), на 17 % у 5-й реберній кістці ($25,56 \pm 2,52$ %). У зоні вторинної губчастої кісткової речовини найбільше зросла площа стромальних клітинних компонентів у 5-й реберній кістці (до $49,41 \pm 1,26$ %), дещо менше у 5-му грудному хребці (до $28,56 \pm 3,60$ %) та 3-му сегменті груднини (до $34,22 \pm 3,63$ %) порівняно із органами поросят за підгострої стадії PCV2-інфекції. У результаті цього стромальні компоненти у зоні первинної і вторинної губчастої кісткової речовини у 5-й реберній кістці та первинній губчастій кістковій речовині 3-го сегменту груднини стали найчисельнішою популяцією клітин, їх відносна площа склала практично 50 % від усіх клітинних компонентів кісткового мозку.

Досить суттєво змінився показник і кількості жирових клітин у кістковому мозку поросят за хронічної стадії PCV2-інфекції, а саме їх відносна кількість зросла у всіх зонах кісткової речовини незалежно від кісткового органу. У 5-му грудному хребці відносна площа адипоцитів у зоні первинної губчастої кісткової речовини збільшилася майже на 5 % (до $14,07 \pm 1,64$ %), а в зоні вторинної губчастої кісткової речовини майже на 6 % (до $28,16 \pm 2,49$ %), порівняно із кістковими органами поросят за ранньої активної (підгострій) стадії PCV2-інфекції. У 3-му сегменті груднини у зоні первинної губчастої кісткової речовини відносна площа жирових клітин збільшилася на 4,6 % (до $19,13 \pm 0,82$ %), у зоні вторинної губчастої кісткової речовини практично на 6 % (до $43,61 \pm 5,74$ %). У 5-й реберній кістці у зоні первинної губчастої кісткової тканини відносна площа адипоцитів теж збільшилася на 5% (до $19,13 \pm 0,82$ %), а у зоні вторинної губчастої кісткової речовини залишилася практично без змін ($19,13 \pm 0,82$ %).

Практично незмінними залишилися показники площі остеогенних клітин у зонах первинної та вторинної губчастої кісткової речовини кісток поросят за хронічної стадії розвитку PCV2-інфекції. У 5-му грудному хребці у зоні первинної губчастої кісткової речовини їх відносна площа дещо збільшилася і досягла $13,16 \pm 0,45$ %, у зоні вторинної губчастої кісткової речовини практично не змінилася і склала лише $1,72 \pm 0,04$ %. У 5-й реберній кістці відносна площа остеогенних клітин кісткового мозку незначно зменшилася: у зоні первинної губчастої кісткової речовини до $19,94 \pm 1,56$ %, у зоні вторинної – до $8,51 \pm 0,65$ %. У 3-му сегменті груднини відносна площа остеогенних клітин незначно збільшилася у первинній губчастій кістковій речовині до $13,10 \pm 0,45$ %, у зоні вторинної губчастої кісткової речовини до $3,26 \pm 0,25$ %.

Для пізньої стадії (розрішення) PCV2-інфекції поросят тенденції до зниження вмісту кровотворних компонентів на тлі зростання кількості стромальних і жирових клітин зберігаються.

Серед досліджених кісткових органів поросят у даній стадії PCV2-інфекції площа кровотворних клітин найбільше знизилася у 5-му грудному хребці, так у зоні первинної кісткової речовини на 15 % (до $32,18 \pm 2,41$ %), а вторинної - на 13 % (до $28,55 \pm 1,31$ %). Проте незважаючи на це відносна площа цих клітинних елементів залишається високою порівняно із іншими кістковими органами. У 5-реберній кістці у зоні первинної губчастої кісткової речовини відносна площа кровотворних клітин знизилася майже на 9 % і досягла мінімальних показників ($7,09 \pm 0,12$ %) серед усіх кісткових органів. У зоні вторинної кісткової речовини цієї кістки відносна площа кровотворних клітин знизилася на 12 % і не перевищувала $13,12 \pm 1,23$ %. У 3-му сегменті груднини даний показник знизився як у зоні первинної, так і вторинної кісткової речовини майже на 10 %. У зоні первинної кісткової речовини 3-го сегменту груднини відносна площа кровотворних клітин не перевищувала $8,62 \pm 0,15$ %, а у зоні вторинної кісткової речовини – $9,12 \pm 0,23$ %.

Також серед змін цитоархітекτονіки кісткового мозку поросят за пізньої стадії PCV2-інфекції можна відмітити різке збільшення кількості стромальних клітин, переважно за рахунок макрофагів у стані активного фагоцитозу і клітин сполучної тканини (фібробластів, фіброцитів). Найбільший ріст даного показника ми відмітили у зоні первинної кісткової речовини 5-го грудного хребця на 14,5% та 3-го сегменту груднини – на 11 %. У зонах вторинної кісткової речовини збільшення вмісту стромальних клітинних компонентів було на рівні 10 %. У результаті цього відносна площа стромальних клітинних компонентів зросла у 5-му грудному хребці у зоні первинної кісткової речовини до $40,05 \pm 3,63$ %, а у зоні вторинної кісткової речовини до $39,23 \pm 4,12$ %. У 5-й реберній кістці відносна площа стромальних компонентів збільшилася у зоні первинної кісткової речовини до $55,18 \pm ,62$ %, а у зоні вторинної кісткової речовини майже до 60 %. У 3-му сегменті груднини кількість стромальних клітин встановлено на рівні $62,41 \pm 3,36$ %, а у зоні вторинної кісткової речовини $44,41 \pm 4,62$ %.

Жирові клітини і їх скупчення є постійними клітинними компонентами кісткового мозку. У кістках поросят за пізньої стадії PCV2-інфекції їх кількість незначно збільшилася. Так у 5-му грудному хребці у зонах первинної і вторинної кісткової речовини та у 5-й реберній кістці у зоні вторинної кісткової речовини збільшення даного показника було в межах 2–2,5 %, а в 3-му сегменті груднини не перевищувало 1 % як у зоні первинної, так і вторинної кісткової речовини. У результаті цього відносна площа жирових клітин була мінімальною у зоні первинної кісткової речовини 5-го грудного хребця лише $16,34 \pm 0,57$ % та 3-го сегменту груднини $17,14 \pm 1,22$ %. Максимальні значення даного показника відмічені у зонах вторинної губчастої речовини 5-грудного хребця ($30,41 \pm 3,24$ %) та 3-сегменту груднини ($44,20 \pm 3,41$ %), а 5-й реберній кістці поросят за пізньої PCV2-інфекції відносна площа адипоцитів не перевищувала 20 % як у зоні первинної ($19,67 \pm 0,85$ %), так і вторинної кісткової речовини ($19,44 \pm 1,24$ %).

Відносна площа остеогенних клітин у кістковому мозку поросят за пізньої стадії PCV2-інфекції варіювала у межах 18–12 % у зонах первинної і 8–2,5 % у зонах вторинної кісткової речовини. Порівняно із попередньою стадією (активної хронічної) PCV2-інфекції даний показник або залишався практично не змінним або незначно знижувався. Так у зонах первинної кісткової речовини відносна площа остеогенних клітин знизилася менше ніж на 2 % у 5-у грудному хребці до $11,43 \pm 1,43$ %, у 5-й реберній кістці до $18,06 \pm 0,47$ % і 3-му сегменті груднини до $18,06 \pm 0,47$ %. У зонах вторинної кісткової речовини даний показник залишився на рівні $1,81 \pm 0,05$ % у 5-му грудному хребці, $8,07 \pm 0,41$ % у 5-й реберній кістці та $2,27 \pm 0,15$ % у 3-му грудному хребці.

Висновки

Патологічні зміни клітинного складу кісткового мозку в поросят за різних стадій розвитку PCV2-інфекції мають переважно дегенеративний характер, без виражених запальних змін і полягають у поступовому виснаженні паренхіми зі зменшенням кількості усіх без винятку кровотворних клітин. На тлі «акцидентальної» інволюції кісткового мозку відбувається збільшення вмісту в кістковому мозку адипоцитів і проліферація стромальних клітин, переважно стромальних механоцитів (ретикулярних клітин). Проліферати з ретикулярних клітин формуються в осередках максимального «розрідження» кровотворних компонентів, на початкових етапах свого розвитку мають вигляд дифузних скупчень, у середині яких, з часом формуються некротичні ділянки, а відповідний осередок набуває кістозоподібного вигляду. Запальні гострі або хронічні процеси в кістковому мозку не розвиваються, проліферація макрофагів, епітеліоїдних клітин або полікаріоцитів відсутня.

Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення особливостей патогістологічних змін центральних і периферійних лімфоїдних органів: тимуса, селезінки, лімфатичних вузлів поросят на різних стадіях розвитку клінічно

вираженої PCV2-інфекції від стадії ранньої активної інфекції до стадії розрешення.

Список літератури

1. Баймишев Х.Б. Анатомия органов внутренней секреции и гемоцитопоза / Х.Б. Баймишев, Б.П. Шевченко, М.С. Сеитов. - Самара: Книга. - 2009. – 144 с.
2. Бенсон П. Цирковірусна інфекція свиней – актуальна проблема свинарства / П. Бенсон // Ветеринарна практика, 2013. - № 5. – С. 35-37.
3. Вершигора А.Е. Общая иммунология: учебное пособие / А.Е. Вершигора. - К.: Вища школа. – 1990. – 726 с.
4. Воронин Е.С. Онтогенез иммунного ответа / Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых // Иммунология. – М.: Колос-Пресс. - 2002. – С. 332-338.
5. Гаврилін П.М. Особливості структурно-функціональної організації кровотворних компонентів скелета у поросят неонатального і молочного періодів / П.М. Гаврилін, О.О. Нікіфоренко // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів. - 2006. – т. 8 (24). - ч. 2. - С. 154-163.
6. Гавриліна О.Г. Методичні особливості застосування імуногістохімічної діагностики цирковірусної інфекції свиней / О.Г. Гавриліна, В.В. Еверт // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. - 2016. – Випуск 32, частина 2. – С. 294-301.
7. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т.Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2011. – 288 с.
8. Ревазов В.С. Актуальные проблемы лимфологии / В.С. Ревазов, В.Я. Бочаров // Морфологические ведомости, 2005. – № 1-2. - С. 123-125.
9. Сатина Т.А. Цирковірусні інфекції свиней: обзор литературы / Т.А. Сатина. - Владимир: Изд. ФГБУ "ВНИИЗЖ". - 2003. - 101 с.
10. Соколов В.И. Цитология, гистология, эмбриология / В.И. Соколов, Е.И. Чумасов. - М.: КолосС. - 2004. – 351 с.
11. Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2) / S. Krakowka, J.A. Ellis, F. McNeilly et al. // Veterinary Pathology, 2001. - № 38. - P. 31-42.
12. Cell tropism and entry of porcine circovirus 2 / H.J. Nauwynck, R. Sanchez, P. Meerts et al. // Virus Research, 2012. - № 164. – P. 43-45.
13. Dvorak C.M. Cellular pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection / C.M. Dvorak, S. Puvanendiran, M.P. Murtaugh // Virus Research, 2013. - № 174. – P. 60-68.
14. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) load in serum on average daily weight gain during the postweaning period / S. López-Soria, M. Sibila, M. Nofrarias et al. // Veterinary Microbiology, 2014. - № 174. - P. 296-301.
15. Finsterbusch T. Porcine circoviruses - small but powerful / T. Finsterbusch, A. Mankertz // Virus Research, 2009. - № 143. – P. 177-183.
16. Immunohistochemical characterisation of PCV2 associate lesions in lymphoid and non-lymphoid tissues of pigs 185 with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / F. Chianini, N. Majó, J. Segalés et al. // Veterinary Immunology and Immunopathology, 2003. - № 94. – P. 63-75.
17. Opriessnig T. Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies / T. Opriessnig, X.J. Meng, P.G. Halbur // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2007. – № 19 (6). – P. 591-615.
18. Porcine circovirus type 2 in muscle and bone marrow is infectious and transmissible to naïve pigs by oral consumption / T. Opriessnig, A.R. Patterson, X.J. Meng et al. // Veterinary Microbiology, 2009. - № 133. - P. 54-64.

19. Reduced antigen presentation capability and modified inflammatory immunosuppressive cytokine expression of induced monocyte-derived dendritic cells from peripheral blood of piglets infected with porcine circovirus type 2 / N. Yang, J. Li, Q. Yang et al. // Archives of Virology, 2018. - № 163. – P. 1231-1239.
20. Segales J. Porcine circovirus diseases / J. Segales, G.M. Allan, M. Domingo // Animal Health Research Reviews. - 2005. - Vol. 6. - P. 119-142.
21. Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis / J. Segales // Virus Research, 2012. - № 164. - P. 10-19.
22. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection / A.R. Patterson, S. Ramamoorthy, D.M. Madson et al. // Veterinary Microbiology, 2011. - № 149. - P. 91-98.
23. Yu S. Effect of porcine circovirus type 2 infection and replication on activated porcine peripheral blood mononuclear cells in vitro / S. Yu, P.G. Halbur, E. Thacker // Veterinary Immunology and Immunopathology, 2009. - № 127. – P. 350-356.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРОВЕТВОРНЫХ КОМПОНЕНТОВ СКЕЛЕТА СВИНЕЙ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ КЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННОЙ ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ II ТИПА. Эверт В.В.

Автором на основании патогистологического исследования определены морфологические изменения кроветворных компонентов скелета поросят на разных стадиях развития клинически выраженной PCV2-инфекции. Установлено, что патологические изменения клеточного состава костного мозга у поросят на разных стадиях развития PCV2-инфекции, имеют преимущественно компенсаторный и дегенеративный характер, без выраженных воспалительных изменений и проявляются постепенным истощением паренхимы с уменьшением количества всех без исключения кроветворных клеток на фоне патологической пролиферации клеток стромы с формированием кистообразных структур.

Ключевые слова: *стадии PCV2-инфекции, тканевые и клеточные кроветворные компоненты, костный мозг*

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE HEMOPOIETIC COMPONENTS OF THE SKELETON OF PIGS AT DIFFERENT STAGES OF THE DEVELOPMENT OF CLINICALLY EXPRESSED CIRCOVIRUS INFECTION TYPE II. Evert V.V.

The author, on the basis of pathohistological studies, determined the pathological changes in the hematopoietic components of the skeleton of piglets at different stages of the development of clinically expressed PCV2-infection. It was established that pathological changes in the cellular composition of the bone marrow in piglets at different stages of PCV2-infection development are mainly have a compensatory and degenerative in nature, without marked inflammatory changes and are manifested by the gradual depletion of the parenchyma with a decrease in the number of all hemopoietic cells against the background of pathological proliferation of stromal cells with the formation of cystic structures.

Key words: *PCV2 infection stages, tissue and cellular hematopoietic components, bone marrow*