

## Original researches

### Pathomorphological changes of the spleen of pigs at different stages of development of clinically expressed PCV2-infection

Received: 20 May 2019  
Revised: 28 May 2019  
Accepted: 10 June 2019

V. V. Evert  
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Dnipro State Agrarian and Economic University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro, 49600, Ukraine

Tel.: +38-099-856-51-80  
E-mail: EvertVV@i.ua

Cite this article: Evert, V. V. (2019). Pathomorphological changes of the spleen of pigs at different stages of development of clinically expressed PCV2-infection. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 7(2), 126–132. doi: 10.32819/2019.71022

**Abstract.** The spleen is an organ that controls the antigenic homeostasis of the blood and provides its filtration. With purpose of determination of pathomorphological changes in the spleen of pigs at different stages of the development of clinically expressed PCV2-infection the comprehensive research 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. On the ground of pathological and immunohistochemical studies, the pathomorphological changes of the spleen of pigs at different stages of the development of clinically expressed PCV2-infection have been determined. For pathomorphological studies, animals with clinical signs of active PCV2-infection (in 1 ml of whole blood contained more than  $10^7$  copies of the gene, equivalent to the PCV2-virus), as well as piglets with positive optical density of specific antibodies (Ig G and Ig M) in serum blood were selected. It was established, that in the case of clinically expressed PCV2-infection, the spleen had severe symptoms of the disease, the intensity of which depended on the stage of the disease. The stage of early active PCV2-infection is characterized by moderate increase in the macromorphometric parameters of the organ, significant increase in the relative area of the white pulp (at the expense of periarterial lymphoid sheaths and lymph nodules). At the stage of active chronic PCV2-infection, the sharp increase in organometric parameters of the spleen, decrease in the relative indices of white pulp on the background of increase in the area of connective tissue stroma and red pulp are observed. The stage of resolution of PCV2-infection is characterized by symptoms of sclerosis of lymphoid parenchyma of the organ. With that its macroscopic and morphometric parameters somewhat increase, but the morphometric indices of the white pulp are minimal, and the indices of the connective tissue stroma are maximal. The development of the infectious process for clinically expressed PCV2-infection is manifested by reactive and acute inflammatory processes in the parenchyma of the spleen. Due to the lymphotropic properties of the pathogen, its ability to be stored in macrophages, the acute inflammatory process is gradually transformed into chronic, and reactive inflammation – into a productive granulomatous type, which is related to immunopathological hypersensitivity reactions of the delayed type.

**Keywords:** PCV2-infection; spleen; lymph nodules; periarterial lymphoid sheaths; relative area; immunohistochemistry.

### Патоморфологічні зміни селезінки свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції

V. V. Evert  
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

**Анотація.** Селезінка є органом, що контролює антигенний гомеостаз крові та забезпечує її фільтрацію. З метою визначення патоморфологічних змін у селезінці свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції комплексні дослідження проводили на свинофермах України з інтенсивною технологією вирощування свиней, на кафедрі нормальної та патологічної анатомії сільськогосподарських тварин, у Науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. На підставі патогістологічних та імуногістохімічних досліджень визначено патоморфологічні зміни селезінки свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції. Для патоморфологічних досліджень відбирали тварин з клінічними ознаками активної PCV2-інфекції (у 1 см<sup>3</sup> цільної крові містилось більше  $10^7$  копій-гена, еквівалентного вірусу PCV2), а також поросят із позитивною оптичною щільністю специфічних антитіл (Ig G і Ig M) у сироватці крові. Встановлено, що в разі клінічно вираженої PCV2-інфекції селезінка мала виражені ознаки ураження, інтенсивність яких залежала від стадії захворювання. Стадія ранньої активної PCV2-інфекції характеризується помірним збільшенням макроморфометричних показників органу, значним зростанням відносної площі білої пульпи (за рахунок периартеріальних лімфатичних півів і лімфатичних вузликів). На стадії активної хронічної PCV2-інфекції виявляється різке збільшення органометричних параметрів селезінки, зниження відносних показників білої пульпи на тлі зростання площі сполучнотканинної строми та червоної пульпи. Стадія розрешення

PCV2-інфекції характеризується ознаками склерозування лімфоїдної паренхіми органу, при цьому її макроскопічні та морфометричні параметри дещо збільшуються, проте морфометричні показники білої пульпи є мінімальними, а показники сполучнотканинної строми – максимальними. Розвиток інфекційного процесу за клінічно вираженої PCV2-інфекції проявляється реактивними та гострими запальними процесами в паренхімі селезінки. Завдяки лімфотропним властивостям патогена, здатності його зберігатися в макрофагах, гострий запальний процес поступово трансформувався в хронічний, а реактивне запалення – в продуктивний гранулематозний тип, що відноситься до імунопатологічних реакцій гіперчутливості сповільненого типу.

**Ключові слова:** PCV2-інфекція; селезінка; лімфатичні вузлики; периартеріальні лімфатичні піхви; відносна площа; імуністохімія.

### Вступ

Важлива роль в інфекційній патології свиней належить PCV2 інфекції, через значний економічний вплив на галузь свинарства, мультифакторності умов виникнення та численних форм прояву. Патоморфологічні зміни в організмі хворих на PCV2 інфекцію свиней відбуваються помірно та стадійно внаслідок одночасного запуску комплексу механізмів протидії збуднику хвороби, наслідком чого є формування цілого спектра реактивних і патологічних процесів (Krakowka et al., 2001; Brunborg et al., 2004; Opriessnig et al., 2007; Alarcon et al., 2013).

Основною “мішенню” для PCV2 є імунна система, яка у свиней, як й інших видів ссавців знаходиться на досить високому рівні структурно-функціональної організації. Розмноження PCV2 у клітинах імунної системи приводить до їх гибелі та розвитку імунodefіцитного стану, що є загальновідомо, а питання патоморфологічних змін селезінки свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2 інфекції у наявній науковій літературі висвітлені недостатньо, потребують детального вивчення (Doster et al., 2010; Dvorak et al., 2013; Gavrilina & Evert, 2016).

Селезінка – важливий периферичний орган кровотворення та імунного захисту де під дією антигенів, наявних у крові, відбувається утворення клітин, які продукують антитіла, що беруть участь у реакціях клітинного імунітету. Орган є біологічним фільтром артеріальної крові, де відбувається елімінація та фагоцитоз старих, пошкоджених еритроцитів і тромбоцитів, що завершили свій життєвий цикл. Ріст і розвиток селезінки, як і лімфатичних вузлів, знаходиться в прямій взаємодії з функціонуванням кісткових органів і тимуса, що відображається в будові її паренхіматозних і стромальних структур (Chianini et al., 2003; Gavrilin & Evert, 2015; Evert et al., 2018; Gavrilin et al., 2018a; 2018b; Oliiar & Lieshchova, 2019).

Метою роботи було встановлення структурно-функціональних особливостей і патоморфологічних змін селезінки свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції.

### Матеріал і методи досліджень

Робота виконана в свиногосподарствах 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 патоморфологічних досліджень відбирали тварин з позитивними показниками оптичної щільності специфічних антитіл (Ig G і Ig M) до PCV2 в сироватці крові, а також поросят з клінічними ознаками активної PCV2 інфекції, у 1 мл цільної крові яких, містилося понад  $10^7$  копій гену еквівалентів PCV2 вірусу. Стадію розвитку PCV2-інфекції визначали порівнянням 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 2* (Ingenasa, Іспанія). За результатами ІФА-аналізу було виділено 3 групи тварин: I – рання активна (або підгостра) інфекція перші  $Ig M \geq Ig G$ ; II – активна (хронічна) інфекція  $Ig M < Ig G$ ; III – пізня інфекція (стадія розрешення) – відсутність Ig M на тлі високих показників Ig G. З кожної групи проводили забій 6 поросят методом гострого знекровлення. Шляхом анатомічного препарування відбирали селезінку, фіксували в 10 %-му розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін (гістопласт), зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, азур II еозином за загальноприйнятими методиками (Goralsky et al., 2011). У парафінових зрізах встановлювали наявність антигену PCV2 (імуністохімічне забарвлення).

На гістопрепаратах селезінки методом крапкового підрахунку визначали відносну площу сполучної та лімфоїдної тканин (окремо периартеріальних лімфоїдних; лімфоїдних вузликів). Проводили диференційований підрахунок крапок, які потрапили на відповідну складову гістопрепарату, не менше ніж на п'ять зрізах отриманих з кожного фрагменту, за формулою:

$$S \text{ відн} = P_t : P_z \times 100 \%,$$

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 гістопрепарату.

У лімфоїдній паренхімі селезінки визначали відсоткове співвідношення між окремими клітинами (великі, середні, малі лімфоцити; плазматичні клітини; ретикулярні клітини; макро-

**Таблиця 1.** Органометричні показники селезінки поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції, ( $M \pm m$ ;  $n = 6$ )

Морфометричні показники	Стадія розвитку інфекції		
	рання активна (підгостра)	активна (хронічна)	пізня (розрешення)
Абсолютна маса, г	42,17 ± 4,41	89,26 ± 5,41***	94,47 ± 6,81
Відносна маса, %	0,24 ± 0,02	0,51 ± 0,01***	0,54 ± 0,04
Довжина, мм	297,51 ± 15,34	620,93 ± 12,47***	647,62 ± 26,49
Ширина, мм	57,63 ± 4,13	121,06 ± 7,62***	132,19 ± 14,65
Товщина, мм	18,97 ± 1,45	40,34 ± 4,12***	46,70 ± 3,73

Примітка: \*\*\* –  $P < 0,001$ , порівняно з попередньою стадією PCV2-інфекції.

фаги; інші клітини. Підрахунок клітин паренхіми проводили на препаратах забарвлених азурII-еозинном при збільшенні  $10 \times 100$  під імерсією з розрахунку на кожні 100 клітин на десятих препаратах у 20 полях зору по кожній окремій групі тварин. На основі одержаних даних визначали середній відсотковий уміст кожного виду клітин.

Цифрові показники результатів досліджень обробляли методами варіаційної статистики з визначенням середнього значення (M) і його похибки (m). Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом *Olympus CX*, мікрофотографування – відеокамерою мікроскопа системи *Leica DM 1000*.

### Результати

Селезінка, як орган що контролює антигенний гомеостаз крові та забезпечує її фільтрацію при клінічно вираженій PCV2-інфекції поросят мала виражені ознаки ураження. Їх інтенсивність залежала від стадії розвитку захворювання, що проявлялося, перш за все, різким збільшенням усіх морфометричних показників органу (табл. 1).

Абсолютна маса селезінки поросят при ранній активній (підгострій) стадії складала  $42,17 \pm 4,41$  г, відносна –  $0,24 \pm 0,02$  %. При цьому ширина органу сягала  $297,51 \pm 15,34$  мм, довжина –  $57,63 \pm 4,13$  мм, товщина –  $18,97 \pm 1,45$  мм. Макроскопічно селезінка у більшості тварин була збільшена, з заокругленими краями, капсула гладенька, напружена, консистенція пружна. На поверхні та на розрізі орган був нерівномірно забарвлений, на синьо-червоному тлі виявляли темно-червоні припухлі ділянки. На розрізі пульпа дещо розм'якшена, темно-червона, на поверхні добре проглядаються множинні невеликі сіруваті осередки – збільшені лімфатичні вузлики, малюнок трабекулярного апарату виражений. У селезінці деяких тварин відмічали ознаки порушення кровообігу у вигляді венозної гіперемії, підкапсулярних крововиливів і геморагічних інфарктів.

Для активної (хронічної) стадії PCV2-інфекції характерно різке зростання морфометричних показників. Так абсолютна та відносна маса селезінки збільшилася майже у два рази та складала, відповідно  $89,26 \pm 5,41$  г і  $0,51 \pm 0,01$  %. Також суттєво зросли показники довжини (до  $620,93 \pm 12,47$  мм), ширини (до  $121,06 \pm 7,62$  мм) і товщини (до  $40,34 \pm 4,12$  мм) органу. Макроскопічно селезінка поросят за даної стадії розвитку

PCV2-інфекції була значно збільшена, із округлими краями, напруженою капсулою, яка часто рвалася. Паренхіма селезінки розм'якшена, вишнево-червона, із значним зіскрібом пульпи. Поверхня розрізу волога, лімфатичні вузлики та трабекули добре виявляються. Лімфатичні вузлики чітко виступали на поверхні, часто були гіпертрофовані. У більшості випадків в органі виявляли ознаки порушення кровообігу.

Селезінка поросят на пізній стадії розвитку PCV2-інфекції характеризувалася незначним збільшенням морфометричних показників, порівняно із попередньою стадією. Абсолютна маса органу збільшилася лише до  $94,47 \pm 6,81$  г, абсолютна – до  $0,54 \pm 0,04$  %. Довжина селезінки при цьому складала  $647,62 \pm 26,49$  мм, ширина –  $132,19 \pm 14,65$  мм, товщина –  $46,70 \pm 3,73$  мм. Орган при макроскопічному дослідженні змінювався незначно. Селезінка збільшена, капсула потовщена і напружена, краї заокруглені, консистенція дещо ущільнена, на розрізі трабекулярний малюнок добре виражений, поверхня розрізу червоно-коричнева, на її тлі виявлялися лімфатичні вузлики, проте їх межі стерті.

При гістологічному дослідженні селезінки поросят за клінічно вираженої PCV2-інфекції відмічали зміни характерні для дистрофічних, некробіотичних і запальних процесів, інтенсивність яких, також залежала від стадії розвитку захворювання. Динаміка відносної площі тканинних компонентів селезінки з розвитком PCV2-інфекції характеризувалася різким збільшенням площі сполучнотканинної стромі, зменшенням паренхіми, переважно за рахунок білої пульпи та тлі практично незмінної кількості червоної пульпи.

Так за ранньої активної стадії PCV2-інфекції у селезінці поросят відносна площа сполучнотканинної стромі складала  $18,72 \pm 1,07$  %, що на майже 2,5 % більше, порівняно із субклінічною формою захворювання (табл. 2).

Паренхіма органа сягала  $81,28 \pm 4,80$  %, з яких на червону пульпу припадало  $53,86 \pm 5,25$  %, а на білу пульпу –  $27,42 \pm 1,25$  %. Основні гістологічні зміни за цієї стадії відмічені у білій пульпі. Виявлена значна гіпертрофія білої пульпи, за рахунок гіперплазії лімфатичних вузликів і периартеріальних лімфатичних півів. Це проявлялося як у збільшенні їх загальної відносної площі, так і морфометричних показників білої пульпи селезінки.

Так відносна площа периартеріальних лімфатичних півів білої пульпи селезінки поросят за ранньої активної стадії

**Таблиця 2.** Співвідношення тканинних компонентів і морфометричні показники білої пульпи селезінки поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції, % (M  $\pm$  m; n = 6)

Показник	Стадія розвитку інфекції		
	рання активна (підгостра)	активна (хронічна)	пізня (розрішення)
Відносна площа тканинних компонентів			
Сполучнотканинна строма, %	$18,72 \pm 1,07$	$27,28 \pm 2,18^{**}$	$41,04 \pm 5,28^*$
Паренхіма, % всього:	$81,28 \pm 4,80$	$72,72 \pm 7,18$	$58,96 \pm 3,81$
червона пульпа	$53,86 \pm 5,25$	$64,09 \pm 4,27$	$55,77 \pm 6,58$
біла пульпа:	$27,42 \pm 1,25$	$8,63 \pm 0,94^{***}$	$3,19 \pm 0,47^{***}$
периартеріальна лімфатична півва	$21,16 \pm 1,83$	$6,52 \pm 0,14^{***}$	$2,27 \pm 0,34^{***}$
лімфатичний вузлик	$6,26 \pm 0,51$	$2,11 \pm 0,37^{***}$	$0,92 \pm 0,07^{**}$
Морфометричні показники білої пульпи			
Ширина периартеріальної лімфатичної півви, мкм	$417,63 \pm 14,23$	$128,10 \pm 8,64^{***}$	$47,17 \pm 3,49^{***}$
Діаметр лімфатичного вузлика, мкм	$841,12 \pm 18,72$	$206,19 \pm 11,32^{***}$	$66,93 \pm 4,35^{***}$
Діаметр світлого центру, мкм	$310,47 \pm 12,56$	$79,41 \pm 10,64^{***}$	$25,63 \pm 3,55^{***}$
Ширина мантийної зони, мкм	$126,18 \pm 7,65$	$29,67 \pm 2,41^{***}$	$10,48 \pm 1,45^{***}$

Примітка: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ , порівняно з попередньою стадією PCV2-інфекції.

PCV2-інфекції складала  $21,16 \pm 1,83\%$ , а їх ширина досягала максимальних значень за весь період досліджень  $417,63 \pm 14,23$  мкм (див. табл. 2).

Лімфатичні вузлики білої пульпи мали чіткі межі, були в стані гіпертрофії і клітинної проліферації. Їх загальна відносна площа складала  $6,26 \pm 0,51\%$ , а середній діаметр –  $841,12 \pm 18,72$  мкм. Лімфатичні вузлики мали чітко виражені світлі центри, їх діаметр складав  $310,47 \pm 12,56$  мкм. Мантійна зона білої пульпи і прилягаюча до неї зона червоної пульпи часто зливалися за рахунок значної інфільтрації клітинами макрофагального і лімфоцитарного ряду. Ширина мантійної зони сягала  $126,18 \pm 7,65$  мкм. Відзначали судинні розлади, розволокнення капсули та трабекул, розширення трабекулярних судин, оголення ретикулярної тканини внаслідок збіднення червоної пульпи клітинами. Червона пульпа була значно інфільтрована еритроцитами на різних стадіях свого розпаду, що і зумовило разом із гіперплазією білої пульпи збільшення органу в об'ємі. Крім того спостерігали скупчення серозного ексудата в червоній пульпі наприкінці цієї стадії. Слід зазначити, що усі морфометричні показники білої пульпи селезінки поросят були максимальні саме у ранню активну (підгостру) стадію PCV2-інфекції.

У селезінці поросят за активної (хронічної) стадії PCV2-ін-

фекції гістологічні зміни виявлялися у вигляді атрофічних і некротичних змін білої пульпи з одночасними ознаками порушень кровообігу в червоній пульпі органу. Збільшення розмірів селезінки було зумовлене повнокрів'ям червоної пульпи, просяканням трансудатом і розволокненням трабекул, мукоїдним набуханням стінок артеріол. Унаслідок цього, відносна площа паренхіми селезінки поросят за даної стадії PCV2-інфекції зменшилася до  $72,72 \pm 7,18\%$  за рахунок різкого зменшення об'єму білої пульпи.

Відносна площа червоної пульпи при цьому дещо збільшилася ( $64,09 \pm 4,27\%$ ) порівняно із поросятами попередньої групи. У сполучнотканинній стромі органу відзначали потовщення капсули та трабекул внаслідок набряку із зростанням їх відносної площі до  $27,28 \pm 2,18\%$ . Нерідко в трабекулах виявляли лімфоїдну інфільтрацію.

Основні гістологічні зміни селезінки поросят за активної (хронічної) стадії PCV2-інфекції були відмічені у білій пульпі та проявлялися різким зменшенням абсолютних і відносних показників її компонентів та нечіткістю і навіть стертістю меж між функціональними зонами. На тлі кровонаповнення, плазматичного просочування стінок судин виявляли інтенсивне зменшення кількості клітин білої пульпи, про що свідчило різке

**Таблиця 3.** Відносна кількість клітин білої пульпи селезінки поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2 інфекції, % ( $M \pm m$ ;  $n = 6$ )

Функціональна зона	Види клітин	Стадія розвитку клінічно вираженої PCV2 інфекції		
		Рання активна (підгостра)	Активна (хронічна)	Пізня (розрешення)
Периартеріальна піхва	Бласти і великі лімфоцити	$1,98 \pm 0,02$	–	–
	Середні лімфоцити	$20,63 \pm 3,36$	–	–
	Малі лімфоцити	$63,94 \pm 6,22$	–	–
	Плазматичні клітини <sup>1</sup>	$3,01 \pm 0,05$	–	–
	Ретикулярні клітини	$7,61 \pm 0,24$	–	–
	Макрофаги	$1,86 \pm 0,01$	–	–
	Інші клітини <sup>2</sup>	$0,97 \pm 0,01$	–	–
Мантійна зона лімфатичного вузлика	Бласти і великі лімфоцити	$2,01 \pm 0,02$	–	–
	Середні лімфоцити	$18,07 \pm 1,36$	–	–
	Малі лімфоцити	$67,40 \pm 4,27$	–	–
	Плазматичні клітини <sup>1</sup>	$2,61 \pm 0,02$	–	–
	Ретикулярні клітини	$6,32 \pm 0,84$	–	–
	Макрофаги	$1,68 \pm 0,02$	–	–
	Інші клітини <sup>2</sup>	$1,91 \pm 0,05$	–	–
Світлий центр лімфатичного вузлика	Бласти і великі лімфоцити	$3,18 \pm 0,15$	$0,17 \pm 0,02^{***}$	$0,11 \pm 0,07$
	Середні лімфоцити	$22,66 \pm 1,58$	$5,23 \pm 0,12^{***}$	$2,31 \pm 0,20^{***}$
	Малі лімфоцити	$47,62 \pm 4,44$	$10,56 \pm 1,02^{***}$	$4,82 \pm 0,53^{***}$
	Плазматичні клітини <sup>1</sup>	$2,37 \pm 0,16$	$0,15 \pm 0,05^{***}$	$0,10 \pm 0,04$
	Ретикулярні клітини	$20,19 \pm 3,24$	$23,14 \pm 1,17$	$28,19 \pm 2,48$
	Макрофаги	$3,81 \pm 0,05$	$11,13 \pm 0,23^{***}$	$12,56 \pm 1,27$
	Інші клітини <sup>2</sup>	$0,17 \pm 0,02$	$2,00 \pm 0,08^{***}$	$15,73 \pm 1,03^{***}$
	Епітеліоїдні клітини та полікаріоцити	+	$47,62 \pm 6,47$	$36,18 \pm 4,53$

Примітка: \*\*\* –  $P < 0,001$  порівняно з попередньою стадією PCV2-інфекції;

<sup>1</sup> – зрілі та не зрілі форми плазматичних клітин;

<sup>2</sup> – нейтрофільні, еозинофільні гранулоцити, еритроцити;

+ – поодинокі епітеліоїдні клітини та полікаріоцити в полі зору мікроскопу;

• – кількість клітин у білій пульпі в цілому внаслідок порушення її зональної структури під час розвитку проліферативного запалення селезінки.



зменшення самих лімфатичних вузликів. Так відносна площа білої пульпи за даної стадії PCV2 інфекції різко зменшилася до  $8,63 \pm 0,94$  %. Відмічали редукцію лімфатичних вузликів білої пульпи селезінки, їх загальна відносна площа зменшилася майже у 3 рази порівняно із поросятами за ранньої активної стадії PCV2-інфекції і не перевищувала  $2,11 \pm 0,37$  %. Їх абсолютні розміри зменшилися майже у 4 рази. Так діаметр лімфатичних вузликів зменшився до  $206,19 \pm 11,32$  мкм, розміри їх світлич центрів до  $79,41 \pm 10,64$  мкм. Мантийна зона лімфатичних вузликів білої пульпи селезінки мала нечіткі межі, була збіднена на клітинні елементи з одночасним оголенням ретикулярної стромы, її ширина не перевищувала  $29,67 \pm 2,41$  мкм.

Периартеріальна зона білої пульпи селезінки була різко зменшена і збіднена на клітинні компоненти, її відносна площа не перевищувала  $6,52 \pm 0,14$  %, а ширина –  $128,10 \pm 8,64$  мкм. У червоній пульпі відмічали набухання ретикулярних волокон, їх просякання слабо еозинофільним трансудатом, зменшення кількості мікро- та макрофагів. У клітинних тяжках червоної пульпи проходив інтенсивний розпад еритроцитів і як наслідок, нагромадження гемосидерину та ліпофусцину. Нерідко в паренхімі органу виявляли вогнища крововиливів із масивними відкладаннями гемосидерину. Стінки судин були переважно потовщені за рахунок проліферативних процесів в адвентиційній оболонці та інтимі. Часто судини були взагалі облітеровані. Відмічали значне розрихлення ретикулярної стромы як білої, так і червоної пульпи органу, із вираженим трабекулярним малюнком.

У селезінці поросят за пізньої стадії (розрешення) PCV2-інфекції на мікроскопічному рівні відзначали переважно дистрофічно-атрофічні та проліферативні процеси. Перші відмічали переважно в паренхімі органу, а другі локалізувалися у стромі органу. У результаті цих процесів відносна площа сполучнотканниної стромы органу різко збільшилася практично у два рази –  $41,04 \pm 5,28$  %, а паренхіми зменшилася до  $58,96 \pm 3,81$  %. При цьому зменшення відносної площі паренхіми в основному відбулося за рахунок білої пульпи і в меншій мірі за рахунок червоної пульпи. Відносна площа червоної пульпи селезінки поросят за пізньої стадії PCV2-інфекції склала  $55,77 \pm 6,58$  %, в той час як відносна площа білої пульпи не перевищувала  $3,19 \pm 0,47$  %.

Гістологічно відзначали процеси розростання сполучної тканини, що були в більшій мірі виражені в капсулі та трабекулах і у меншій мірі в паренхімі селезінки. Капсула органу була різко потовщена, нерідко в ній відмічали гіаліноз і жирову метаплазію. Трабекули різко потовщені, мали товсті колагенові волокна, на тлі витончених і погано розвинених гладких м'язових клітин. У стінках кровоносних судин практично усіх калібрів відмічали процеси продуктивного запалення, що проявлялися проліферацією та потовщенням їх стінок.

Переважає більшість площі білої пульпи припадала на периартеріальні лімфатичні піхви ( $2,27 \pm 0,34$  %), тоді як відносна площа лімфатичних вузликів не перевищувала 1 %. Таку саму тенденцію відмітили і з абсолютними показниками компонентів білої пульпи. Так ширина периартеріальної лімфатичної піхви складала лише  $47,17 \pm 3,49$  мкм. Дещо більшим був діаметр лімфатичних вузликів ( $66,93 \pm 4,35$  мкм), проте діаметр його світлого центру не перевищував  $25,63 \pm 3,55$  мкм, а ширина мантийної зони  $10,48 \pm 1,45$  мкм. Центральні артерії вузликів або зовсім не виявлялися або мали потовщену стінку внаслідок активних проліферативних процесів з боку ендотелію.

Слід зазначити, що як відносні, так і абсолютні показники білої пульпи селезінки мали мінімальні значення саме у поросят за пізньої (стадія розрешення) клінічно вираженої PCV2-інфекції. Також межі функціональних зон білої пульпи селезінки були майже стерті.

Архітекtonіка ретикулярного остову та клітинний склад паренхіми селезінки поросят за клінічно вираженої PCV2-ін-

фекції зберігається лише у ранню активну стадію. З розвитком захворювання і проявом процесів делімфотизації та продуктивним запаленням значних змін зазнає саме паренхіматозний компонент органу. Так ретикулярний остов периартеріальних лімфатичних піхв і лімфатичних вузликів був розріджений, проте специфічний малюнок сіток аргірофільних волокон зберігався. У центрах лімфатичних вузликів ретикулярні волокна руйнуються і зникають. Помірне розпушення ретикулярних волокон спостерігали в мантийних і периартеріальних зонах та селезінкових тяжках.

У пізню стадію PCV2-інфекції у більшості функціональних зон паренхіми архітекtonіка ретикулярного остову значно змінювалася. Більшість аргірофільних волокон розплавлювалася і зникала та заміщувалася колагеновими волокнами, що супроводжувалося втратою специфічного малюнку функціональних зон білої пульпи.

Клітинний склад білої пульпи селезінки поросят за ранньої активної (підгострої) PCV2-інфекції нами був визначений в усіх функціональних зонах. Незважаючи на чіткі ознаки гіпертрофії і проліферації лімфатичних вузликів, він незначно відрізнявся від цитоархітекtonіки відповідних зон білої пульпи селезінки поросят за субклінічної форми PCV2-інфекції і також представлений малими й середніми лімфоцитами та ретикулярними клітинами. У невеликій кількості присутні великі лімфоцити і їх баластні форми, плазматичні клітини, макрофаги та інші клітини, зокрема гранулоцити і еритроцити (табл. 4). Периартеріальні лімфатичні піхви були розширені, лімфоцити в ній розміщені щільно. Їх основною клітинною популяцією є клітини лімфоїдного ряду, їх загальна кількість становить майже 90 %. З них максимальна кількість малих ( $63,94 \pm 6,22$  %) та середніх ( $20,63 \pm 3,36$  %) лімфоцити. Відносна кількість ретикулярних клітин складає  $7,61 \pm 0,24$  %, плазматичних клітин –  $3,01 \pm 0,05$  %, бластів і великих лімфоцитів –  $1,98 \pm 0,02$  %, макрофагів –  $1,86 \pm 0,01$  %, інших клітин –  $0,97 \pm 0,01$  %.

Аналізуючи цитоархітекtonіку лімфатичних вузликів білої пульпи селезінки виявили, що переважаючим клітинними компонентами залишаються лімфоцити та ретикулярні клітини. Клітинний склад мантийної зони лімфатичних вузликів білої пульпи селезінки поросят був подібний периартеріальним лімфатичним піхвам. Основну кількість клітинних компонентів складала клітини лімфоїдного ряду, їх загальна відносна кількість теж становила 90 %, з них малі лімфоцити –  $67,40 \pm 4,27$  %, середні –  $18,07 \pm 1,36$  %, великі лімфоцити –  $2,01 \pm 0,02$  % і плазматичні клітини –  $2,61 \pm 0,02$  %. Відносна кількість ретикулярних клітин не перевищувала  $6,32 \pm 0,84$  %, макрофагів –  $1,68 \pm 0,02$  %, інших клітин –  $1,91 \pm 0,05$  %.

У світлич центрах лімфатичних вузликів білої пульпи селезінки відносна кількість малих лімфоцитів становить  $47,62 \pm 4,44$  %, середніх –  $22,66 \pm 1,58$  %, великих лімфоцитів і їх бластних форм –  $3,18 \pm 0,15$  %. Зазначимо, що в ядрах лімфоцитів часто зустрічались фігури мітозу. Кількість ретикулярних клітин сягала  $20,19 \pm 3,24$  %, плазматичних клітин –  $2,37 \pm 0,16$  %, гранулоцити і еритроцити не перевищували  $0,17 \pm 0,02$  %. В даній функціональній зоні лімфатичного вузлика відмічена значна кількість макрофагів ( $0,17 \pm 0,02$  %), що мають великі розміри, мутну цитоплазму та містять багато гранул у ній. Окрім цього в цю стадію PCV2-інфекції ми знаходили поодинокі епітеліоїдні клітини та полікаріоцити. Полікаріоцити клітини великого розміру ( $40$ – $50$  мкм) із великою кількістю ядер (до 10 в клітині), які зазвичай розміщувалися ексцентрично. Мантийна зона і червона пульпа погано відмежовані за рахунок значної інфільтрації клітинами макрофагально-лімфоцитарного ряду. Синуси червоної пульпи погано проглядаються, часто деформовані. В них відмічали клітини лімфоцитарно-макрофагального ряду. Ретикулярні тяжі в стані проліферації та інфільтровані клітинами лімфоцитарно-макрофагального ряду.

Для наступних стадій клінічно вираженої PCV2-інфекції

характерне різке зменшення кількості лімфоцитів та тлі зростання вмісту макрофагів, епітеліоїдних клітин, полікаріоцитів та інших клітин. У зв'язку з тим, що межі між функціональними зонами білої пульпи у даній стадії перебігу PCV2-інфекції стерті, нами був підрахований клітинний склад лише центральних частин лімфатичних вузликів. В усіх зонах білої пульпи щільність розміщення клітин низька, їх мітотична активність виражена слабше ніж у попередній стадії. Лімфоцити білої пульпи розміщувалися дифузно, більша їх частина з ядрами у стані пікнозу і рексису частіше це в світлих центрах і мантії-них зонах вузликів, рідше в червоній пульпі. У активній хронічній стадії PCV2-інфекції у лімфатичних вузликах білої пульпи селезінки загальна кількість клітин лімфоїдного ряду різко знизилася і не перевищувала 16,11 %, із них  $10,56 \pm 1,02$  % малих та  $5,23 \pm 0,12$  % середніх лімфоцитів,  $0,17 \pm 0,02$  % великих лімфоцитів і бластів та  $0,15 \pm 0,05$  % плазматичних клітин. Характерною особливістю клітинного складу білої пульпи селезінки в дану стадію є значна кількість епітеліоїдних клітин та полікаріоцитів, їх відносна кількість складала  $47,62 \pm 6,47$  %. Відносна кількість ретикулярних клітин складала  $23,14 \pm 1,17$  %, інші клітини не перевищували  $2,00 \pm 0,08$  %.

Макрофаги містили включення гемосидерину, що вказувало на початок гемосидерозу і підвищену гемолітичну активність, їх кількість становила  $11,13 \pm 0,23$  %. У червоній пульпі зміни проявлялися різким збільшенням щільності ретикулярних клітин, зниженням вмісту аморфної міжклітинної речовини, ретикулярна строма оголена. Периартеріальні піхви містили лімфоцити із ядрами у стані рексису, розміщені тонкою смужкою вздовж пульпарних артерій. Самі пульпарні судини (артерії і вени) характеризувалися ознаками застою крові, у венозних судинах нерідко виявляли тромби. У трабекулах інколи виявляли ознаки периваскулярної лейкоцитарної інфільтрації.

Клітинний склад функціональних зон білої пульпи селезінки поросят за пізньої стадії PCV2-інфекції в основному представлений епітеліоїдними клітинами та полікаріоцитами ( $36,18 \pm 4,53$  %), проте їх кількість дещо нижче ніж у селезінці поросят за активної хронічної стадії. Вони розміщувалися у всіх ділянках білої пульпи і зустрічалися навіть у червоній. Порівняно із попередньою стадією PCV2-інфекції у білій пульпі селезінки різко зросла кількість гранулоцитів і еритроцитів (до  $15,73 \pm 1,03$  %), помірно ретикулярних клітин (до  $28,19 \pm 2,48$  %) і макрофагів (до  $12,56 \pm 1,27$  %). Загальна кількість клітин лімфоїдного ряду навпаки знизилася і складала 7,34 %, більшість з них мала ознаки каріопікнозу і каріорексису. Відносна кількість малих лімфоцитів не перевищувала  $4,82 \pm 0,53$  %, середніх –  $2,31 \pm 0,20$  %, бластів і великих лімфоцитів –  $0,11 \pm 0,07$  % і плазматичних клітин –  $0,10 \pm 0,04$  %.

В селезінці поросят у стадії розрешення визначали вогнищеві кровонаповнення пульпи з ознаками лізису еритроцитів і крововиливи з випадінням гемосидерину. Відмічали потовщення стінок кровососних судин за рахунок активних проліферативних процесів з боку ендотелію і адвентичійної оболонки. Спостерігали процеси розростання сполучної тканини не лише у стромі органу а і в паренхімі. Зокрема практично усі лімфатичні вузлики підлягали редукції, а на їх місці розросталася пухка сполучна тканина.

За результатами імуногістохімічного забарвлення експресія антигенних маркерів збудника PCV2-інфекції була максимально виражена з рівнем III-IV бали в лімфоцитах білої пульпи на стадії ранньої активної PCV2-інфекції, та в макрофагах на стадії активної хронічної PCV2-інфекції.

При цьому даний показник у макрофагах на початок інфекційного процесу не перевищував II балів, так же як і лімфоцитів на стадії активної хронічної PCV2-інфекції. На стадії пізньої PCV2-інфекції рівень експресії відповідних маркерів різко знижується в популяціях обох видів клітин не перевищує I бала, або ці маркери взагалі не виявлялися.

## Обговорення

Морфологічно та патоморфологічні зміни в селезінці в свиней, хворих на цирковіроз характеризувались послідовним розвитком реактивних, запальних та імунопатологічних процесів (Opriessnig et al., 2007). На стадії ранньої активної PCV2-інфекції основні структурно-функціональні зміни в селезінці були обумовлені формуванням адаптивного специфічного імунітету та розвитком гострих запальних процесів (Dvorak et al., 2013).

Морфологічними ознаками розвитку адаптивного специфічного імунітету є помірне збільшення макроморфометричних показників органа, суттєве зростання відносної площі лімфоїдної тканини (білої пульпи та її мікроморфометричних параметрів) за рахунок обох спеціалізованих клітинних зон (periarteriальних лімфоїдних піхв і лімфатичних вузликів), а також деяке збільшення відносної кількості малих лімфоцитів і плазматичних клітин у білій пульпі органа (Doster et al., 2010). Ознаки гострого серозного запалення червоної пульпи виявляються у свиней в другу половину стадії ранньої активної PCV2-інфекції з відповідними змінами в судинній мікроциркуляторного русла та ретикулярній стромі органа.

На стадії активної хронічної PCV2-інфекції в селезінці вперше виявляються морфологічні ознаки розвитку незворотних дистрофічних запальних процесів із переходом в імунопатологічні реакції, що характеризується масовим некрозом лімфоцитів з лімфоїдним виснаженням білої пульпи, збільшенням кількості макрофагів (гістіоцитів), епітеліоїдних клітин, появою чисельних полікаріоцитів або клітин Пирогова-Ланганса та початком інтенсивної проліферації фібробластів. Макро-мікроскопічними морфометричними характеристиками вищезазначених патологічних змін є різке збільшення органометричних показників селезінки та, навпаки, зменшення відносної площі білої пульпи (як periarteriальних лімфатичних піхв, так і лімфатичних вузликів) та основних морфометричних параметрів її складових на тлі зростання відносної площі сполучнотканинної стромі та червоної пульпи (Chianini et al., 2003). Саме на цій стадії розвитку PCV2-інфекції втрачається зональна структура білої пульпи селезінки, в якій спостерігається значне зменшення відносної кількості усіх видів лімфоцитів і плазматичних клітин, а зростає відповідний показник ретикулярних клітин та, особливо, макрофагів (Krakowka et al., 2001).

На стадії пізньої PCV2-інфекції (стадія розрешення) в паренхімі селезінки виявляються ознаки склерозування лімфоїдної паренхіми внаслідок активного розмноження фібробластів і формування осередків волокнистої сполучної тканини. На тлі посилення в стромі органів склеротичних процесів макроскопічні та морфометричні параметри селезінки дещо збільшуються, насамперед лінійні характеристики (Gavrilin & Evert, 2015). Мікроскопічні морфометричні показники білої пульпи, при цьому, суттєво зменшуються, досягаючи мінімальних значень, а відповідний показник сполучнотканинної стромі має максимальне значення за весь період розвитку інфекційного процесу. На тлі склерозування паренхіми (білої пульпи) органа відносна кількість у ній лімфоїдних клітин стає мінімальною, а ретикулярних клітин і макрофагів, порівняно з попереднім періодом суттєво не змінюється.

## Висновки

Під час розвитку інфекційного процесу за клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу реактивні та гострі запальні процеси в паренхімі селезінки, внаслідок лімфотропних властивостей збудника та його здатності до персистенції в макрофагах, поступово трансформуються в хронічний запальний процес у вигляді продуктивного запалення гранулематозного типу, що в цілому, відноситься до імунопатологічної реакції

гіперчутливості сповільненого типу. Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення взаємозв'язків розвитку патоморфологічних змін в селезінці та інших периферичних лімфатичних органах та в центральних органах імунної системи у свиней хворих на клінічно виражену PCV2-інфекцію.

### References

- 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(2), 88–102.
- Brunborg, I. M., Moldal, T., & 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.
- Chianini, F., Majó, N., Segalés, J., Dominguez, J., & Domingo, M. (2003). Immunohistochemical characterisation of PCV2 associate lesions in lymphoid and non-lymphoid tissues of pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94(1-2), 63–75.
- Doster, A. R., Subramaniam, S., Yhee, J.-Y., Kwon, B.-J., Yu, C.-H., Kwon, S.-Y., Osorio, F. A., & Sur, J.-H. (2010). Distribution and characterization of IL-10-secreting cells in lymphoid tissues of PCV2-infected pigs. *Journal of Veterinary Science*, 11(3), 177.
- Dvorak, C. M. T., Puvanendiran, S., & Murtaugh, M. P. (2013). Cellular pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection. *Virus Research*, 174(1-2), 60–68.
- Evert, V., Gavrilin, P., & Lieshchova, M. (2018). Morphometric characterization of universal hematopoietic organs in piglets during postnatal adaptation. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 13-18.
- Gavrilin, P. N., & Evert, V. V. (2015). The concept of mechanisms of damage to organs of the immune system in pigs with circovirus infection (syndrome of multisystem exhaustion). *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of Agro-industrial Complex*, 3 (2), 12-20 (in Ukrainian).
- Gavrilin, P. N., Lieshchova, M. A., Gavrilina, O. G., & Boldyreva, T. F. (2018a). Prenatal morphogenesis of compartments of the parenchyma of the lymph nodes of domestic cattle (*Bos taurus*). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(1), 95–104.
- Gavrilina, O. G., & Evert, V. V. (2016). Methodical features of application of immunohistochemical diagnostics of circovirus infection of pigs. *Veterinary, Animal Husbandry and Nature Management Technologies*, 32(2), 294–301 (in Ukrainian).
- Gavrilin, P., Oliyar, A., & Evert, V. (2018b). Pollutionality of morphogenesis of cereals dusts in the early postnatal period of ontogenesis. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, (1), 112-116.
- Goralsky, L. P., Khomich, V. T., & Kononsky, O. I. (2011). Basis of histological technology and morphofunctional methods of dosage in normology with pathology. *Zhitomir, Polissya* (in Ukrainian).
- Krakowka, S., Ellis, J. A., McNeilly, F., Ringler, S., Rings, D. M., & 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(1), 31–42.
- Oliiar, A. V., & Lieshchova, M. A. (2019). Structural and functional organization of central organs of hematopoiesis and immune protection of piglets during the early postnatal period of ontogenesis. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 7(1), 8–13.
- 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.