

УДК 619:534.1:636.5

ВПЛИВ ВІРУСУ НИЗЬКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ КУРЧАТ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФІКУВАННЯ

Стегній Б.Т., Красніков Г.А., Шутченко П.О., Музика Д.В., Медвідь К.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua, morph42@mail.ru

У статті викладені результати патоморфологічних досліджень зразків внутрішніх органів курчат, що були експериментально інфіковані вірусом низькопатогенного грипу птиці. Встановлено суттєві гістоморфологічні зміни мають місце у трахеї та легенях інфікованих курчат. Значного супресивного впливу на загальний імунний стан птиці вірус не справляє, про що свідчать морфометричні показники в імунокомпетентних органах.

Ключові слова: імунітет, гістоморфологія органів імунного захисту, низькопатогенний грип птиці.

Нещодавнє поширення вірусу пташиного грипу у східній частині Азії вказало науковим установам на важливість покращення детекції, діагностики та необхідності більш глибокого розуміння імунобіології взаємовідносин «хазяїн-патоген», що стане підґрунтям розробки логічної стратегії контролю за грипом птиці [6, 7]. Проте, розробка лікувально-профілактичних заходів, що сприяють запобіганню виникнення мукозальних захворювань, ускладнюється відсутністю інформації щодо патоморфологічних змін, що супроводжують інфекції сільськогосподарської птиці, викликаних низькопатогенними штамми вірусу пташиного грипу [4, 5].

Метою роботи було дослідити вплив вірусу низькопатогенного грипу птиці на гістоморфологічний стан внутрішніх органів курчат після їх експериментального інфікування.

Матеріали та методи. З метою вивчення гістоморфологічного стану внутрішніх органів було сформовано 2 групи курчат. У кожній групі було по 35 голів курчат. Курчат інфікували низькопатогенним вірусом грипу птиці А/крижень/Україна/2007 H5N2 інтраназально в дозі 10^3 ЕІД₅₀. Друга група слугувала контролем.

Забій птиці проводили на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у, 21-у добу після інфікування з подальшим відбором зразків внутрішніх органів (трахея, селезінка, сліпа кишка, bursa Фабриціуса, легені).

Зафіксовані у 10 % розчині нейтрального формаліну зразки органів були залиті у парафін згідно із стандартною методикою [1]. У подальшому із органів було виготовлено гістологічні зрізи 3 мікрони завтовшки та пофарбовані гематоксиліном і еозином. Для гістоморфометричної оцінки виготовлених препаратів використовували методичні рекомендації щодо гістоморфологічної оцінки імунокомпетентних органів курчат у нормі та при імунодефіцитах [2].

Дослідження гістологічних препаратів здійснювали з використанням мікроскопу Axioskop 40/40FL (Carl Zeiss, Німеччина) з наступним відеомікроскопічним фотографуванням. Кількісну морфометричну оцінку здійснювали за допомогою програми ВідеоТесТ-Морфологія 5.1 (ВідеоТесТ, Росія) [3].

Результати досліджень. На 1-у добу у 1 групі курчат відзначали збільшену кількість лімфоїдних і ретикулярних клітин у легенях. Спостерігали підвищену секрецію епітеліальних клітин парабронхів. Парабронхи та дихальні трубочки були заповнені секретом.

У трахеї спостерігали велику кількість келихоподібних клітин заповнених секретом. Епітелій багаторядний циліндричний, чітко виражені війки клітин. Спостерігали одну невелику за розміром ділянку з дещо деструктивно зміненим епітеліальним шаром. В окремих ділянках судини були розширені, переповнені кров'ю, відзначали набряк.

На 3-ю добу досліджень у трахеї посилювалися ознаки деструктивних змін. Зустрічались ділянки десквамованого епітелію. У таких ділянках відзначали набряк підслизової основи. У власне слизовій спостерігали збільшену кількість імунокомпетентних клітин. Легені були надмірно кровонаповненні.

На 5-у добу у курчат 1-ї групи по відношенню до контрольної птиці відзначали скупчення лімфоїдних клітин у стінці парабронхів і внутрішньо легеневих бронхах. Також спостерігали лімфоїдні інфільтрати навколо судин, стінки окремих бронхів змінені, спостерігалися набряки та руйнування епітелію. У трахеї спостерігали великі ділянки із порушеним епітеліальним шаром. Кількість келихоподібних клітин була зменшена. У власне слизовій збільшувалась кількість лімфоїдних клітин.

На 7-у добу у трахеї інфікованих відзначали десквамацію епітелію на значних ділянках. Спостерігали фокуси катарального запалення, на що вказували набряки власне слизової, розширення та надмірне кровонаповнення судин, руйнування епітелію, ексудат у просвіті трахеї. У легенях відзначали набряки навколо судин, біля судин малого діаметру збільшена кількість лімфоїдних клітин.

На 10-у добу спостережень у курчат 1-ї групи стінки парабронхів і внутрішньолегеневих бронхів були інфільтровані лімфоїдними клітинами. Навколо судин мали місце набряки, крововиливи. Відзначали ураження парабронхів: ексудат у просвіті парабронхів, лімфоїдну інфільтрацію, розширення та кровонаповнення капілярів, крововиливи, набряки. У паренхімі відзначали розлад гемодинаміки, надмірне кровонаповнення та розширення капілярів, лімфоїдну інфільтрацію.

На 14-у добу спостережень у інфікованих курчат будова слизової оболонки трахеї відновлювалася. Лише на окремих ділянках спостерігали ураження епітеліального шару. Будова легень також відповідала нормі, лише спостерігали лімфоїдні інфільтрати у власне слизовій оболонці бронхів і навколо судин.

На 21-у добу у курчат 1-ї групи загалом слизова оболонка була із незначними ураженнями. Епітеліальні клітини не уражені, війки добре помітні. У власне слизовій оболонці спостерігали помірну кількість лімфоїдних дифузно розташованих клітин. Зустрічали одну ділянку із ураженим епітелієм і ексудатом на поверхні. У легенях зустрічали набряки навколо судин. Іноді у просвіті парабронхів мала місце надмірна секреція та ексудат. У тканині легень кількість ретикулярних клітин була збільшена. Загалом структурний стан тканини легень кращий, ніж у попередні доби спостережень.

При дослідженні селезінки у курчат, інфікованих вірусом низькопатогенного грипу птиці на 1-у добу експерименту спостерігали широкі та численні периартеріальні лімфоїдні муфти, щільно заповнені клітинами, частина периартеріальних лімфоїдних муфт особливо щільно заповнена клітинами та чітко оконтуровані. Ширина периартеріальних лімфоїдних муфт складала $50,49 \pm 5,42$ мкм проти $52,80 \pm 1,05$ мкм – у контролі (Рис. 1). Також спостерігали більшу кількість лімфатичних вузликів, були лімфатичні вузлики малого розміру та формування передвузликів. Периартеріальні лімфоїдні муфти та лімфатичні вузлики більш виражені у підкапсулярній зоні. Загалом біла пульпа добре виражена.

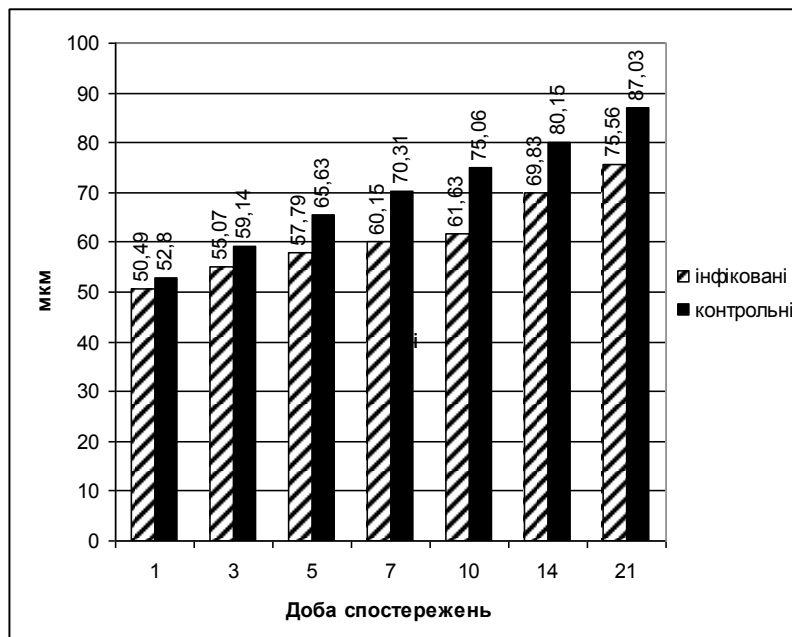


Рис. 1. Динаміка змін розміру периартеріальних лімфоїдних муфт у селезінці

На 3-ю добу після зараження у селезінці лімфатичні вузлики численні, вони були розташовані головним чином біля судин, їх розмір складав $55,07 \pm 7,65$ мкм при $59,14 \pm 1,11$ мкм – у контролі. Периартеріальні лімфоїдні муфти численні, заповнені клітинами досить щільно, ширина їх дещо менша. На 5-у добу у селезінці кількість лімфатичних вузликів значно збільшена, вони були щільно заповнені клітинами типу лімфобластів і плазмоцитів. Периартеріальні лімфоїдні муфти численні, щільно заповнені клітинами.

На 7-у добу досліджень відзначали деяке зменшення кількості лімфатичних вузликів, периартеріальні лімфоїдні муфти були дещо збільшені у розмірі у порівнянні з попередніми днями спостережень – $60,15 \pm 5,69$ мкм.

На 10-у добу морфофункціональний стан селезінки також дещо зростає, проте був все ж нижчим за контрольну групу ($61,63 \pm 5,68$ мкм при $75,06 \pm 1,00$ мкм – у контролі). Але була помітна активізація ретикулярних муфт. Вони збільшені у розмірі та кількості.

На 14-у добу периартеріальні лімфоїдні муфти не численні, заповнені клітинами не щільно, на 21-у добу спостережень кількість їх зменшувалася, заповнення клітинами не досить щільне.

При дослідженні сліпої кишки на 1-у добу спостережень епітеліальний шар був представлений багаторядним циліндричним епітелієм, секреція помірна. На 3-ю добу досліджень у площині поперечного зрізу сліпої кишки налічували $13,66 \pm 0,66$ лімфатичних вузликів при $14,33 \pm 0,66$ – у здорових курчат. Сліпокишковий мигдалик щільно заповнений клітинами. Лімфоїдні вузлики розташовувалися головним чином біля м'язового шару. При проведенні мікроскопічних досліджень виявляли крововиливи на верхівках складок. На 5-у добу стан мигдалика дещо підвищувався – $159,111 \pm 3,92$ мкм при $172,72 \pm 4,43$ мкм – у контролі.

На 7-у добу у зрізах сліпої кишки на верхівках кишечних складок спостерігали крововиливи та десквамацію ентероцитів. Лімфатичні вузлики заповнені клітинами не щільно. У площині поперечного

зрізу налічували $15,66 \pm 1,20$ при $16,33 \pm 0,88$ лімфатичних вузликів у інтактної птиці (Рис. 2). Крововиливів не спостерігали, капіляри розширені. На 14-у добу мали місце крововиливи, у таких ділянках епітелій був зруйнований.

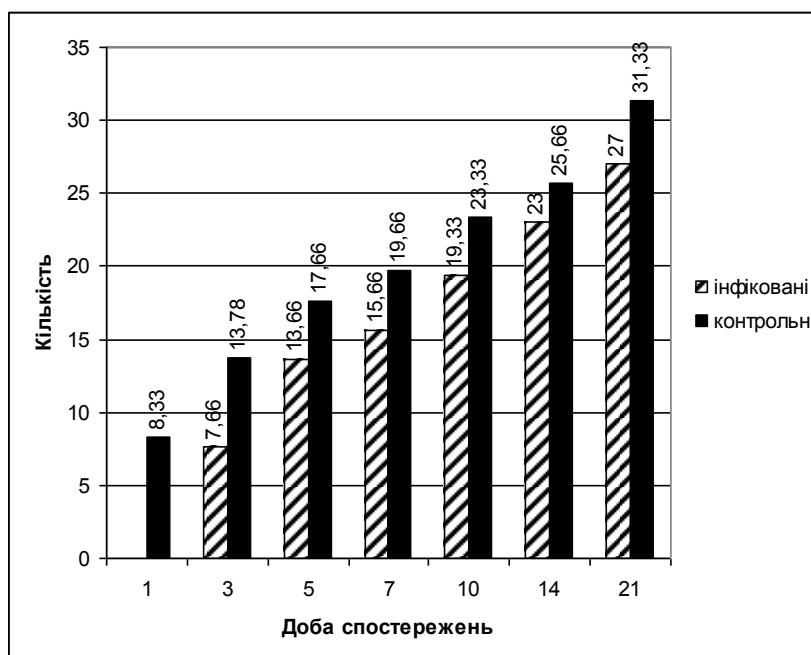


Рис. 2. Динаміка змін кількості лімфоїдних вузликів у сліпій кишці

Гістологічна будова бурси Фабриціуса курчат 1-ї групи протягом часу дослідження відповідала нормі. На 7-у – 14-у добу спостережень морфофункціональний стан органу у інфікованих курчат був більш активний, ніж на 1-у – 5-у добу після інфікування.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Вірус низькопатогенного грипу птиці не спричиняє значних гістоморфологічних змін у імункомпетентних органах (селезінка, bursa Фабриціуса) інфікованих курчат по відношенню до інтактного контролю. Таким чином, вірус не справляє значного супресивного впливу на імунний стан птиці.

2. Більш суттєві патоморфологічні зміни у внутрішніх органах курчат за низькопатогенного грипу птиці спостерігали у трахеї (ділянки катарального запалення, на що вказували набряки власне слизової, розширення та надмірне кровонаповнення судин, руйнування епітелію, ексудат у просвіті) і легенях (набряки навколо судин, біля судин малого діаметру збільшена кількість лімфоїдних клітин).

Список літератури

1. Горальский Л.П., Хомич В.Т. Основы гистологической техники і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології, 2005).
2. Красников, Г. А. Методические рекомендации по гистоморфологической оценке иммунокомпетентных органов цыплят в норме и при иммунодефицитах [Текст] / Г. А. Красников, Н. Г. Колоусова // УНИИЭВ. – Х., 1989. – 20 с.
3. Руководство пользователя программы ВидеоТест-Морфология 5.1 [Текст]. — СПб., 2009. — 336 с.
4. In vitro effects of methanol extracts of Korean medicinal fruits (persimmon, raspberry, tomato) on chicken lymphocytes, macrophages, and tumor cells [Text] / S. H. Lee [et al.] // J. Poultry Sci. — 2009. — Vol. 46. — P. 149–154.
5. Qureshi, M.A., 2003. Avian macrophage and immune response: an overview. Poultry Science 82, 691-698.
6. Sung-Hyen Lee, Hyun S. Lillehoj, Soo-Muk Cho, et al. Immunostimulatory effects of oriental plum (*Prunus salicina* Lindl.) // Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 32 (2009) 407–417.
7. Sung-Hyen Lee, Hyun S. Lillehoj, Robert A. Heckert, et al. // Immune enhancing properties of Safflower leaf (*Carthamus tonctorius*) on chicken lymphocytes and macrophages // J. Poult. Sci., 45: 147–151, 2008.

INFLUENCE OF LOW-PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA VIRUS ON HISTOMORPHOLOGICAL STATE OF CHICKEN INTERNAL ORGANS AT EXPERIMENTAL INFECTION

Stegniy B.T., Krasnikov G.A., Shutchenko P.O., Muzyka D.V., Medvid' K.O.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Relevant issue is studying the mechanisms of immunodeficiency states development while infecting of birds with mucosal disease pathogens.

Objective: to study the effect of low-pathogenic avian influenza virus on histomorphological state of chicken internal organs at experimental infection.

Materials and Methods. There were conducted histomorphological studies trachea, spleen, cecum, bursa of Fabricius, lung of chickens after infection with low-pathogenic avian influenza A/mallard/Ukraine/2007 H5N2.

Results. As a result of investigations there have established significant histomorphological changes that have taken place in the trachea and lungs of infected chickens. Thus, the wall of parabronchi and intrapulmonary bronchi were infiltrated by lymphoid cells. Around the vessels there were edema, hemorrhage. There were detected the defeat of parabronchi: exudate in the lumen parabronchi, lymphoid infiltration, expansion and capillary hyperemia, hemorrhage, edema. In the parenchyma we marked hemodynamic disorder, excessive dilation of the capillaries and blood circulation, lymphoid infiltration. Virus does not suppressive influence on common immune state of birds. Morphometrical parameters in immunocompetent organs testified of it.

Conclusions and further research perspective. 1. LPAI virus causes no histomorphological changes in immune organs (spleen, bursa of Fabricius) of infected chickens relative to intact control. So the virus had no significant suppressive effect on the immune status of the birds.

2. More significant pathological changes in internal organs of chickens at low pathogenic avian influenza occurred in the trachea (catarrh, as indicated by swelling of the mucosa, expansion and excessive blood vessels epitheliolysis, exudate in the lumen) and lungs (edema around the vessels, it was increased the number of lymphoid cells in small diameter vessels).

Keywords: immunity, histomorphology of immune system organs, low-pathogenic avian influenza.