

tion processes in red blood cells of mice]. Ukrainian Biochem. Journal.1992; 4:111-4.Ukrainian.

5. Brosnan J.T., Brosnan M.E. Glutamate: a truly functional amino acid. *Amino Acids*. 2013 Sep;45(3):413-8. doi: 10.1007/s00726-012-1280-4.

6. Drabkin D. The crystallographic and optical properties of the haemoglobin of man in the comparison with those of other species. *J. Biol. Chem.* 1946;164:703.

7. Habig W.H. Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974; 249:7130-39.

8. Hansen A.M., Caspi R.R. Glutamate joins the ranks of immunomodulators. *Nat. Med.* 2010;16(8): 856-8. doi: 10.1038/nm0810-856.

9. Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005; 45: 51-88. PubMed PMID: 15822171.

10. Jensen F.B. The role of nitrite in nitric oxide homeostasis: a comparative perspective. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009;1787( 7): 841-8. doi: 10.1016/j.bbabo.2009.02.010.

11. Lowry O.H., Rosebrough H. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951;193(1): 265-75. PubMed PMID:14907713.

12. Roth E. Non nutritive effects of glutamine. *J.Nutr.* 2008;138(10):2025S-2031S. PubMed PMID:18806119.

13. Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Adv.Nutr.* 2010;1(1):31-7. doi: 10.3945/an.110.1008.

14. Wu G., Bazer F.W., Dai Z., Li D., Wang J., Wu Z. Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. *Annu Rev Anim Biosci.* 2014;2:387-417. doi: 10.1146/annurev-animal-022513-114113.

Надійшла до редколегії 18.05.16

Н. Салыга, канд. биол. наук, Р.Искра, д-р биол. наук  
Институт биологии животных НААН, Львов, Украина

### ВЛИЯНИЕ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НИТРИТА НАТРИЯ

*Исследовано влияние разных доз L-глутаминовой кислоты на активность антиоксидантных ферментов и отдельных биохимических показателей крови крыс при действии нитрита натрия. Показано, что введение нитрита натрия приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов и содержания гемоглобина и глюкозы в крови животных. Установлено, что введение крысам L-глутаминовой кислоты приводит к менее выраженным изменениям исследуемых показателей по сравнению с контрольной группой животных.*

**Ключевые слова:** крысы, L-глутаминовая кислота, нитрит натрия, антиоксидантные ферменты, интоксикация.

N. Salyha, PhD, R.Iskra, DSc  
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

### EFFECT OF L-GLUTAMIC ACID ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD UNDER THE ACTION OF SODIUM NITRITE

*The effect of different doses of L-glutamic acid on activity of antioxidant enzymes and some blood biochemical parameters in rats under the influence of sodium nitrite was studied. It was shown that administration of sodium nitrite leads to decreased activity of antioxidant enzymes and hemoglobin and glucose content in the blood of animals. It was established, that changes of studied parameters were less expressed in rats administered of L-glutamic acid compared to the control group of animals.*

**Key words:** rats, L-glutamic acid, sodium nitrite, antioxidant enzymes, intoxication.

УДК 578.1

Л. Дудар, асп., В. Поліщук, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

### ГІСТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЦИРКОВІРУС-АСОЦІЙОВАНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ, УРАЖЕНИХ ЦИРКОВІРУСОМ 2-ГО ТИПУ

*Аналіз патоморфологічних змін органів свиней, уражених цирковірусом свиней 2 типу показав, що найбільше відхилень спостерігається в органах імунної системи, а саме лімфоеузлах та селезінці. Таким чином, для встановлення діагнозу як цирковірус-асоційованого синдрому є необхідним, крім підтвердження критеріїв специфічних клінічних ознак, проведення гістологічних досліджень мікроскопічних уражень, пов'язаних з ЦВС-2 (виснаження лімфоїдної тканини та/або заміна лімфоцитів сполучною тканиною).*

**Ключові слова:** цирковірус-асоційований синдром свиней, гістологічний аналіз, цирковірус свиней 2-го типу.

**Вступ.** Вперше захворювання, асоційоване з цирковірусом свиней 2 типу було описано у 1997 році і названо синдромом мультисистемного виснаження поросят (Porcine Multisystemic Wasting Syndrome, PMWS) [1, 2]. Однак, наявність збудника в матеріалі тварин не обов'язково свідчить про розвиток клінічних проявів [3]. Тому, для встановлення діагнозу як цирковірус-асоційованого синдрому необхідним є підтвердження таких критеріїв: наявності специфічних клінічних ознак (втрата ваги, виснаження, респіраторні проблеми), мікроскопічних уражень, пов'язаних з ЦВС-2 (виснаження лімфоїдної тканини, і/або заміна лімфоцитів сполучною тканиною) та антигену ЦВС-2 за імуногістохімічного дослідження або ДНК вірусу за молекулярно-генетичного дослідження [3]. Таким чином, визначення захворювання як цирковірус-асоційованого синдрому свиней може бути здійснене за субклінічного перебігу, коли в матеріалі виявлено збудника та характерні патологічні зміни або за клінічного перебігу при таких проявах як мультисистемне захворювання з втратою ваги, високий рівень смертності, респіраторні дисфункції,

дерматити, нефропатії, кишкові розлади та проблеми репродукції (абортів, муміфікація плодів, народження нежиттєздатного потомства) [3]. Наразі, синдроми, асоційовані з цирковірусом 2 типу, описано серед свиней усіх без виключення країн світу, де здійснюють промислове вирощування цих тварин. В той же час, найбільше вірус поширений в Німеччині, Пн. Ірландії, Данії, Швеції, Швейцарії, а також в США, Канаді, Китаї, Індії [4, 5, 6]. Причому не виявлено кореляції між розвитком тих чи інших клінічних синдромів та географічними особливостями поширення вказаного збудника.

**Мета.** Таким чином, метою дослідження був гістологічний аналіз зразків тканин та органів свиней з 109 господарств 22 областей України, уражених цирковірусом свиней 2 типу.

**Матеріали та методи.** Для виділення вірусу використовували матеріал тварин, віком від 35 до 120 днів, у яких було зареєстровано зовнішні ознаки цирковірус-асоційованих синдромів.

Приготування гістологічних зразків. Фіксування досліджуваних зразків тканин органів проводили занурен-

ням у 80 мл 10 % розчину формаліну та витриманням у мікрохвильовій печі впродовж 30 секунд за потужності 400 Вт з водним навантаженням 400 мл. Після фіксації проводили первинне зневоднення тканин шляхом занурення зразків у 80 мл 96 % етанолу та експозицією у мікрохвильовій печі протягом 10 хв за потужності 100 Вт. Після цього зразки тканин нарізали (ширина зрізу становила не більше 1,5 см) з урахуванням особливостей будови кожного органу та наявності видимих патологічних змін й поміщали у пластикові касети Turbo flowe.

Після фіксування проводили попередню обробку досліджуваних тканин із використанням автоматизованої станції Microm STP-120 (7). Після закінчення процесу попередньої обробки зразки переносили у металеві форми, заливали рідким парафіном і накривали пластиковою касетою з розрахунку 6 мл парафіну на одну касету. Металеві форми зі шматочками органів переносили на кріоконсоль на 30 хв. Для заливки та охолодження зразків використовували станцію для заливки "Microm EC 350".

Приготування тонких зрізів із патологічного матеріалу залитою у парафін здійснювали із використанням мікротому "Microm HM 340-E" та ножів для гістологічних досліджень "Sec-130". Прирізку виконували встановлюючи "крок" мікротому 50 мкм, а для виготовлення зразків тканин органів – 5 мкм. Зрізи тканин органів досліджуваних зразків переносили з водяної бані (температура води 39 °C) безпосередньо на скельця.

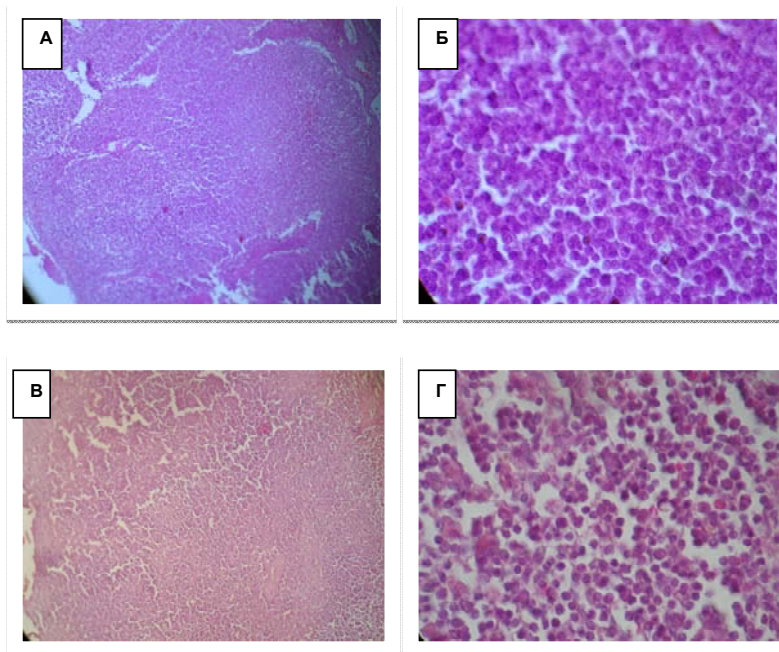
Виготовлені гістологічні зрізи витримували 1 – 2 години за температури + 37 °C для підсушування. Фарбування гістологічних зрізів здійснювали розчина миеози-

ну та гематоксиліну. Для цього попередньо зрізи послідовно занурювали на 5 хвилин у розчини ксилолу 99,85 %, етанолу 96 %, етанолу 70 % та дистильовану воду, а потім поміщали на 1 хв у розчин еозину. Після витримання у розчині еозину промивали протягом 3 хв у воді, після чого занурювали зріз у розчин гематоксиліну на 30 секунд та знову виконували відмивання зразків водою протягом 3 хв. По закінченню процесу фарбування зрізи витримували по 3 хв у етанолі різних концентрацій (70 % й 96 %) та у ксилолі 99,85 %.

Мікроскопіювання досліджуваних зразків проводили за збільшення у 100 разів із застосуванням об'єктиву Plan Neo fluar 10x, (CarlZeiss) та збільшення в 1000 разів із використанням імерсійного об'єктиву мікроскопу Axio skor 2 plus, CarlZeiss (збільшення окуляру 10X). Фотографування зразків для подальшого аналізу виконували за допомогою фотоапарату Canon Power Shot G5 за чотирьох кратного оптичного збільшення, що дозволяло отримувати мікрофотографії з результатом збільшення від 400 до 4000 разів. Отримані мікрофотографії маркували, зберігали в архіві та проводили аналіз і опис виявлених гістологічних змін.

**Результати та обговорення.** Гістологічний аналіз патолого-морфологічних змін проводили в тканинах органів, відібраних від 54 свиней, у зразках від яких було виявлено цирковірус свиней 2 типу методом ПЛР.

У результаті аналізу було встановлено, що у переважній більшості обстежених тварин (37 з 54) спостерігаються патологічні зміни у лімфатичних вузлах. Втім у 17 тварин структура зазначеного органу була збережена.



**Рис. 1.** Структура лімфатичного вузла свиней у нормі: А – збільшення в 400 разів, Б – збільшення в 4000 разів. В, Г: виснаження фолікулів лімфатичного вузла свиней на 70 %, обширні зони некрозу лімфоцитів: В – збільшення в 400 разів, Г – збільшення в 4000 разів.

Водночас, серед патологічних змін, що були відмічені в різних лімфатичних вузлах, у 2 випадках спостерігали часткове виснаження фолікулів, що становило близько 10 % від норми.

У 12 зразках пахових, перибронхіальних та мезентеріальних лімфатичних вузлів, виснаження фолікулів становило близько 20 %, а також було відмічено зони некрозу лімфоїдної тканини. Водночас, виснаження фолікулів лімфовузла на рівні 40% було виявлено у

10 досліджених випадках, а також встановлено наявність значних ділянок некрозу лімфоцитів та сполучнотканинного заміщення уражених зон.

Значно вищі рівні ураження тканини лімфатичного вузла було зареєстровано у 8 випадках і встановлено, що структура органу була зруйнованою, а рівень виснаження фолікулів сягав близько 70 %, крім того були наявні обширні зони некрозу тканини (рис. 1).

У 5 досліджених зразках пахових та мезентеріальних лімфатичних вузлів було встановлено 100 % виснаження фолікулів, некроз лімфоцитів та наявність повного заміщення структури органу сполучною тканиною.

Окрім зареєстрованих змін тканини лімфатичних вузлів, патолого-морфологічні ураження спостерігалися і у структурі іншого органу імунної системи свиней – селезінці. Так, виснаження білої пульпи селезінки на рівні 15 % зареєстрували у 22 зразках від тварин.

У 9 досліджених зразках виснаження білої пульпи селезінки сягало 70 %, також було відмічено наявність великих ділянок некрозу лімфоцитів та сполучнотканного заміщення структури даного органу. Крім того, у 7 зразках селезінки свиней було зареєстровано повне руйнування структури органу, 100 % виснаження білої пульпи з абсолютним некрозом лімфоцитів та сполучнотканним заміщенням.

Також патолого-морфологічні зміни було виявлено у легенях досліджених зразків від 26 з 54 свиней. А саме, було зареєстровано значне потовщення інтерстицій легень за рахунок лімфоцитарної інфільтрації та некротичні зміни паренхіми органу.

Крім того, спостерігали велику кількість крововиливів у легеневій тканині, а особливо у перибронхіальних ділянках, а також перибронхіальнофіброплазію та капілярний виразковий бронхіт.

При дослідженні структури кишечника у 13 з 54 досліджених зразків спостерігалися крововиливи у підслизовій оболонці органу, некротичні зміни епітелію слизової та підслизової оболонок і вкорочення ворсинок. Патолого-морфологічні зміни кишечника характеризувалися також наявністю лімфоцитарних інфільтрацій у підслизовій оболонці, що призводило до втрати структури органу. Втім у 41 з 54 досліджених зразків кишечника свиней значних морфолого-патологічних змін виявлено не було. У цих зразках реєстрували наявність лише незначних зон некрозу епітелію слизової оболонки.

Окрім порушень структури лімфатичних вузлів, селезінки, легень та кишечника в зразках тварин, патолого-морфологічні зміни спостерігалися і в структурі печінки у 4 з 54 обстежених свиней. Втім у 50 з 54 досліджених зразків жодних відхилень від норми виявлено не було. Слід зазначити, що не дивлячись на невелику кількість зразків з патолого-морфологічними змінами печінки, серед встановлених змін було виявлено значні зони некрозу гепатоцитів, потужні крововиливи та ознаки запального процесу в паренхімі органу.

**Висновки.** На підставі результатів аналізу патоморфологічних змін органів свиней, можна зробити висновки, що найбільше відхилень спостерігається в органах імунної системи, а саме лімфовузлах та селезінці, які, в свою чергу, характеризуються різним ступенем тяжкості (від незначних ділянок виснаження органів до повного

некрозу тканини з сполучнотканним заміщенням). Певні порушення було виявлено також і в структурі легень, кишечника та печінки тварин. Натомість специфічних змін тканин мозку, трахей, серця, нирок і шлунку виявлено не було. Отримані нами результати дозволяють зробити висновок про те, що для встановлення діагнозу як цирковірус-асоційованого синдрому є необхідним, крім підтвердження таких критеріїв як наявність специфічних клінічних ознак (втрата ваги, виснаження, респіраторні проблеми), проведення гістологічних досліджень мікроскопічних уражень, пов'язаних з ЦВС-2 (виснаження лімфоїдної тканини, та/або заміна лімфоцитів сполучною тканиною).

#### Список використаної літератури

1. Allan G. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe // Allan G., McNeilly F., Kennedy S. et al. // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 1998. – Vol. 10. – P. 3 – 10.
2. Harding J. Recognizing and diagnosing post weaning multi systemic wasting syndrome (PMWS) // Journal of Swine Health and Production / Harding J., Clark E. – 1997. – Vol. 5. – P. 201 – 203.
3. Sorden S. Update on porcine circovirus and post weaning multi systemic wasting syndrome (PMWS) // Journal of Swine Health and Production. – 2000. – Vol. 8. – P. 133 – 136.
4. Grierson S. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK // Archives of Virology / Grierson S., King D., Sandvik T. et al. – 2004. – Vol. 149. – P. 1171–1183.
5. Magar R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2 // Canadian Journal of Veterinary Research / Magar R., Muller P., Larochelle R. – 2000. – Vol. 64. – P. 184–186.
6. Rodriguez-Arriola G. Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain // Journal of Veterinary Medicine Series B / Rodriguez-Arriola G., Segale's J., Rosell C. et al. – 2003. – Vol. 50. – P. 99–101.
7. Thermo Scientific Spin Tissue Processor Microm STP 120. INSTRUCTION MANUAL. Version 2.30. Microm International GmbH, Walldorf, Germany – 2011, 42p.

#### References

1. Allan G., Mc Neilly F., Kennedy S. et al. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pig with a wasting disease in the USA and Europe // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 1998. – Vol. 10. – P. 3 – 10.
2. Harding J., Clark E. Recognizing and diagnosing post weaning multi systemic wasting syndrome (PMWS) // Journal of Swine Health and Production. – 1997. – Vol. 5. – P. 201 – 203.
3. Sorden S. Update on porcine circovirus and post weaning multi systemic wasting syndrome (PMWS) // Journal of Swine Health and Production. – 2000. – Vol. 8. – P. 133 – 136.
4. Grierson S., King D., Sandvik T. et al. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK // Archives of Virology. – 2004. – Vol. 149. – P. 1171–1183.
5. Magar R., Muller P., Larochelle R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2 // Canadian Journal of Veterinary Research. – 2000. – Vol. 64. – P. 184–186.
6. Rodriguez-Arriola G., Segale's J., Rosell C. et al. Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain // Journal of Veterinary Medicine Series B. – 2003. – Vol. 50. – P. 99–101.
7. Thermo Scientific Spin Tissue Processor Microm STP 120. INSTRUCTION MANUAL. Version 2.30. Microm International GmbH, Walldorf, Germany – 2011, 42p.

Надійшла до редколегії 15.06.16

Л. Дудар, асп., В. Полищук, д-р биол. наук  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЦИРКОВИРУС-АССОЦИИРОВАННОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ, ПОРАЖЕННЫХ ЦИРКОВИРУСОМ 2-ГО ТИПА

*Анализ патоморфологических изменений органов свиней, пораженных цирковиром свиней 2 типа показал, что больше всего отклонений наблюдается в органах иммунной системы, а именно лимфоузлах и селезенке. Таким образом, для установления диагноза как цирковир-ассоциированного синдрома необходимо, кроме подтверждения критериев специфических клинических признаков, проведения гистологических исследований микрокопических поражений, связанных с ЦВС-2 (истощение лимфоидной ткани и / или замена лимфоцитов соединительной тканью).*

*Ключевые слова:* цирковир-ассоциированный синдром свиней, гистологический анализ, цирковир свиней 2-го типа.

L. Dudar, PhD student., V Polischuk, Dr.Sci  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### HISTOLOGICAL ASPECTS OF CIRCOVIRUS-ASSOCIATED SYNDROME OF PIGS INFECTED WITH CIRCOVIRUS TYPE 2

*Analysis of pathological changes in organs of pigs infected with porcine circovirus type 2 showed that most of the variances were observed in immune system's organs, namely the lymph nodes and spleen. Thus, in addition to specific clinical symptoms' criteria confirmation, the histological examination of microscopic lesions associated with PCV2 (depletion of lymphoid tissue and / or connective tissue replacement lymphocytes) is necessary for concluding the diagnosis of circovirus-associated syndrome.*

*Keywords:* swine circovirus-associated syndrome, histological analysis, porcine circovirus type 2.