

of lipoproteins / P. M. Abuja, R. Albertini // *Clinica chimica acta.* – 2001. – Vol. 306. – № 1/2. – P. 1–17. 16. Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study / J. Wong-Ekkabut [et al.] // *Biophysical Journal.* – 2007. – Vol. 93, № 12. – P. 4225–4236. 17. Gaschler, M. M. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschler, B. R. Stockwell // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2017. – Vol. 482, № 3. – P. 419–425. 18. Membrane changes under oxidative stress: the impact of oxidized lipids / R. Itri [et al.] // *Biophysical reviews.* – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 47–61. 19. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems / K. A. Kelly [et al.] // *Environ Health Perspect.* – 1998. – Vol. 106, №7. – P. 375–384.

Статья передана в печать 17.02.2020 г.

УДК 599.365.2:611.4

## ДИНАМИКА ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В НАДПОЧЕЧНИКАХ БЕЛОГРУДОГО ЕЖА В ПЕРИОД ПРОБУЖДЕНИЯ ПОСЛЕ ГИБЕРНАЦИИ

Федотов Д.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Впервые проведено морфологическое исследование надпочечников восточноевропейского ежа в стрессовый период после гибернации (в условиях ареала Беларуси). Доказан профилактический эффект препарата «Кальцемагфосвит» против нарушения обмена веществ и стрессовых ситуаций у ежей. Профилактика стрессового воздействия (пробуждение после гибернации) является одним из главных путей укрепления здоровья ежа. **Ключевые слова:** еж, надпочечники, гибернация, стресс.*

## DYNAMICS OF CYTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES IN THE ADRENAL GLANDS OF A HEDGEHOG DURING AWAKENING AFTER HIBERNATION

Fiadotau D.N.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The article first studied the morphological study of the adrenal glands of an Eastern European hedgehog in the stressful period after hibernation (in the conditions of the Belarus range). The prophylactic effect of the «Calcemagphosvit» drug against metabolic disorders and stressful situations in hedgehogs is proved. Prevention of stressful effects (awakening after hibernation) is one of the main ways to improve the health of the hedgehog. **Keywords:** hedgehog, adrenal glands, hibernation, stress.*

**Введение.** Отсутствие или дефицит пищи в зимний период является главной угрозой для большинства видов млекопитающих северной зоны, однако многие из них имеют механизмы, повышающие выживание в холодном климате [1, 2, 3].

Гибернация является одним из наиболее ярких примеров фенотипической пластичности у млекопитающих, которая позволяет животным выживать в условиях низких температур, недостатка корма и воды. При оцепенении наблюдается снижение температуры тела и уровня метаболизма, что сопровождается замедлением дыхания, значительным уменьшением потребления кислорода, а также снижением мозгового кровообращения и частоты сердцебиения. Несмотря на ряд физиологических адаптаций к условиям гибернации, период пробуждения сопровождается окислительным стрессом, ассоциированным с колоссальным повышением потребления кислорода [1].

Вещества, входящие в новый отечественный препарат «Кальцемагфосвит» (бутафосфан, кальций, магний и др.), дают возможность разработки на их основе профилактических средств (в виде биологически активных веществ) для снятия нарушений метаболических реакций в организме при стрессе белогрудого ежа.

В настоящее время дикие млекопитающие все чаще сталкиваются с различного рода стрессовыми, субэкстремальными и экстремальными факторами. Механизмы и последствия их действия на организм изучены еще очень слабо [4]. Адаптации организма к экстремальным факторам, в частности период гибернации, являются одной из актуальнейших медико-биологических проблем.

Несмотря на то, что стресс является приспособительной реакцией организма в ответ на различные внешние и внутренние факторы воздействия, в постнатальном развитии белогрудого ежа достаточно часто внутренних сил и резервов организма не хватает для поддержания гомеостаза и противостояния стрессу. Поэтому возникает вопрос, как помочь организму и смягчить повреждающее действие стресса на организм, то есть осуществить регуляцию стрессового состояния. В связи с этим нами был создан новый отечественный ветеринарный препарат

«Кальцемагфосвит» (свидетельство на товарный знак № 228327, ТУ 9168-079-00480052- 07) и предлагается для апробирования на диких животных, в частности – белогрудом еже.

Спячка была зарегистрирована в восьми различных систематических группах млекопитающих: однопроходные, сумчатые, грызуны, летучие мыши, землеройки, насекомоядные, приматы (некоторые лемуры) и хищные (медведи) [6].

Зимоспящие млекопитающие являются природно-адаптированными к дефициту кислорода животными [1, 3, 6]. В настоящей научной статье внимание уделено именно периоду пробуждения после гибернации, так как данное явление менее изучено с точки зрения гистофизиологических механизмов, особенно со стороны эндокринной системы, так как гибернация является энергосберегающим состоянием, при котором происходит значительное снижение температуры тела (до -2 °С у белогрудых ежей), позволяющее млекопитающим выживать в неблагоприятных условиях среды.

Цель работы: изучение применения нового отечественного ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит» для профилактики нарушений метаболических реакций организма и структурно-функциональной перестройки надпочечников белогрудого ежа при стрессе – период пробуждения после гибернации.

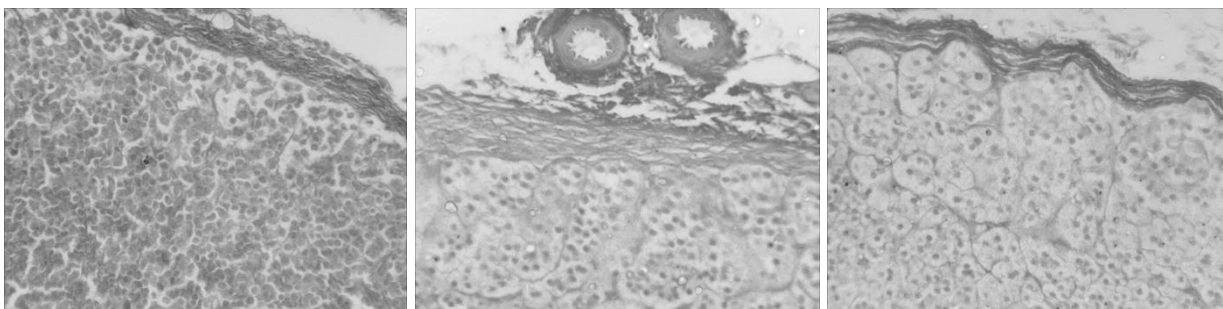
**Материалы и методы исследований.** Ежи отлавливались в дикой природе и были созданы условия для их гибернации (типичном ареале обитания). Эксперимент проводили на половозрелых самцах белогрудого ежа массой 1000-1200 г, содержащихся в условиях природы. Перед гибернацией у ежей двух групп был стандартный рацион. Препарат вводили в дозе 0,5 мл массы тела. Препарат вводили животным подкожно один раз в течение эксперимента. Животные были разделены на 3 группы: 1-я – контроль (интактные животные; n=3), 2-я – опытная группа (препарат вводили в период гибернации; n=5), 3-я – опытная группа (препарат вводили в первые сутки пробуждения после гибернации; n=5). Ежей выводили из эксперимента путем резекции яремной вены под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций «Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 г.), а также с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [5]. Разрешение на изъятие диких животных из среды их обитания №0000341 и журнал учета изъятых диких животных №0000660 от 25.11.2019 г. выданные Министерством природных ресурсов и охраной окружающей среды Республики Беларусь.

От ежей отбирали надпочечник для гистологического исследования. Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3–5 мкм на санном микротоме, которые были окрашены по двум методам – по Ван-Гизону и по Пирсу. Абсолютные измерения структурных компонентов железы осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели VX-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra<sub>20</sub>» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell-A» и проводили фотографирование цветных изображений (разрешением 1400 на 900 пикселей).

**Результаты исследований.** В результате проведенных исследований установлено, что общий план строения надпочечников белогрудых ежей в контрольной и двух опытных группах был сохранен. При гистохимическом исследовании надпочечников у ежей обнаружены участки утолщения соединительнотканной капсулы, при этом во 2-й опытной группе наблюдается высокое содержание коллагеновых волокон в ее составе. Для надпочечников контрольной группы иногда местами наблюдается разволокнение капсулы. Клетки соединительнотканной капсулы характеризовались вертикальным, разрозненным расположением. Сосуды капсулы надпочечника были умеренно полнокровны, в контрольной группе ежей стенки сосудов умеренно отечны (в некоторых полях зрения определялся отек), во 2-й и 3-й опытных группах сосуды капсулы расширены. Во всех исследуемых группах в сосудах капсулы надпочечников ежей эндотелиальные клетки в стенке располагались упорядоченно, местами были вытянуты.

Клубочковая зона коркового вещества надпочечника у ежей контрольной группы местами истончена, местами расширена, но малоклеточная, рыхлая (с пустотами). Клетки данной зоны имеют умеренные дистрофические изменения и не всегда вакуолизированную цитоплазму. Ядра клеток клубочковой зоны имеют сферическую форму. Выявлена часть клеток с пикнотическими ядрами. Клубочковая зона коркового вещества надпочечника у ежей 1-й опытной группы местами истончена, местами расширена, но компактная и не содержит пустот. Клетки данной зоны имеют вакуолизированную цитоплазму. Клубочковая зона коркового вещества надпочечника у ежей 2-й опытной группы местами расширена за счет активной пролиферации ее клеток, которые располагаются плотно, формируя типичные клубочки. Цитоплазма клеток хорошо вакуолизированная, местами имеет пенный вид. Строма этой зоны хорошо различима (по методу Ван-Гизон), представлена тяжами коллагеновых волокон, которые формируют соединитель-

нотканые ячейки, заключающие в себе группы кортикоцитов. Дистрофических изменений в клубочковой зоне надпочечника у белогрудых ежей опытных групп не выявлено.



**Рисунок 1 – Низкое количество коллагеновых волокон в капсуле и деструктивные изменения клубочковой зоны в надпочечнике у ежа контрольной группы (окраска по Ван-Гизону, × 100)**

**Рисунок 2 – Расширенные сосуды капсулы и пролиферация клеток клубочковой зоны в надпочечнике у ежа 1-й опытной группы (окраска по Ван-Гизону, × 100)**

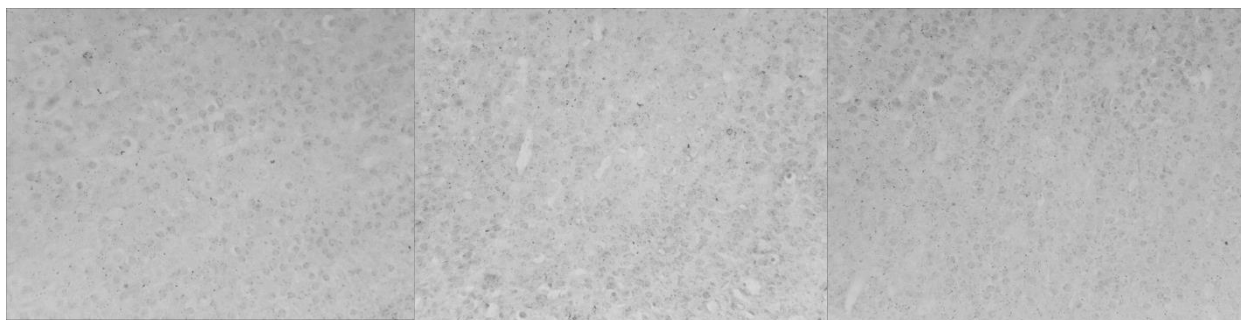
**Рисунок 3 – Высокое содержание коллагеновых волокон в капсуле и расширение клубочковой зоны за счет активной пролиферации клеток клубочковой зоны в надпочечнике у ежа 2-й опытной группы (окраска по Ван-Гизону, × 100)**

Пучковая зона коры надпочечника ежей трех групп построена из радиально направленных эпителиальных тяжей, между которыми залегают тонкие соединительнотканые прослойки, сопровождающие капилляры. Данная зона занимает большой объем в корковом веществе. В пучковой и сетчатой зоне надпочечника ежей контрольной группы часто преобладали явления нарушения кровообращения в виде полнокровия синусоидов, очаговых. Ядро клеточных элементов несколько просветлено, довольно крупное, сферической формы. Целостность клеток и их ядер в этой зоне была сохранена. Наиболее расширенные синусоиды пучковой зоны коры надпочечника ежей выявляются во 2-й опытной группе. Для стромы пучковой зоны (по методу Ван-Гизон) характерно наличие коллагеновых волокон, которые окружают в виде «корзиноподобной» сеточки каждый спонгиоцит.

Сетчатая зона представлена рядами клеток, расположенными беспорядочно. Контуры клеток различимы отчетливо, ядра округлой или овальной формы располагаются в центре, содержат крупные глыбки хроматина. Во 2-й опытной группе строма сетчатой зоны отчетливо представлена очень тонкой, волокнистой, рыхлой сеточкой, которая на отдельных участках уплотнена. После применения препарата между клетками сетчатой зоны выявляются многочисленные кровеносные капилляры синусоидного типа. Среди клеток сетчатой зоны могут встречаться хромафиноциты. Клетки сетчатой зоны коры надпочечника у ежа контрольной и 1-й опытной группы имели слабо вакуолизированную цитоплазму, редко - пенистую. Интенсивная вакуолизация цитоплазмы клеток сетчатой зоны в надпочечнике характерна для ежей 2-й опытной группы.

При окраске гистологических срезов надпочечника по методу Пирса наблюдается в виде темно-синих гранул концентрация магния. В коре надпочечника ежей гранулы магния локализуются непосредственно по всей цитоплазме адренкортикоцитов и в большом количестве в сетчатой зоне (местами во внутренней пучковой зоне). В контрольной группе после гибернации ежей в надпочечнике выявляется низкое содержание магния. В 1-й опытной группе содержание магния увеличивается в сетчатой зоне и равномерно распределяется в цитоплазме клеток. Во 2-й опытной группе у ежей в сетчатой зоне надпочечника наиболее высокое содержание магния. Следует отметить, что только во 2-й опытной группе гранулы магния обнаруживаются в мозговом веществе и только в Н-клетках.

Мозговое вещество имеет хороший соединительнотканый каркас, однако наибольшее количество коллагеновых волокон (окраска по Ван-Гизон) наблюдается во 2-й опытной группе. Клетки мозгового вещества надпочечника содержали умеренное количество базофильной цитоплазмы, в которой были расположены нормохромные, правильной округлой или овальной формы ядра. Однако в некоторых полях зрения в мозговом веществе в контрольной и 1-й опытных группах встречались группы секреторных клеток с пикнотичными ядрами и малым количеством вакуолизированной цитоплазмы.



**Рисунок 4 – Низкое содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа контрольной группы (окраска по методу Пирса,  $\times 100$ )**

**Рисунок 5 – Среднее содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 1-й опытной группы (окраска по методу Пирса,  $\times 100$ )**

**Рисунок 6 – Высокое содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 2-й опытной группы (окраска по методу Пирса,  $\times 100$ )**

**Таблица 2 – Морфометрические параметры надпочечника ежа**

Показатели	Группы		
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная
Толщина клубочковой зоны, мкм	74,95 $\pm$ 5,99	66,08 $\pm$ 7,06	57,63 $\pm$ 6,46*
Толщина пучковой зоны, мкм	99,76 $\pm$ 9,28	100,06 $\pm$ 8,11	98,52 $\pm$ 9,79
Толщина сетчатой зоны, мкм	70,08 $\pm$ 6,16	74,13 $\pm$ 4,64	80,15 $\pm$ 5,01*
Толщина коркового вещества, мкм	244,79 $\pm$ 14,02	240,27 $\pm$ 16,07	236,30 $\pm$ 15,05
Толщина мозгового вещества, мкм	104,44 $\pm$ 7,47	99,13 $\pm$ 7,98	92,45 $\pm$ 7,21

Примечания: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \* - по отношению к контрольной группе.

Во 2-й опытной группе толщина клубочковой зоны достоверно меньше на 23,11% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (74,95 $\pm$ 5,99 мкм) в результате плотного расположения клеток и отсутствия деструктивных изменений в клубочках. Толщина пучковой зоны достоверных изменений во всех исследуемых группах ежей не имеет, однако в 1-й опытной группе показатель максимальный и составляет 100,06 $\pm$ 8,11 мкм. Толщина сетчатой зоны во 2-й опытной группе достоверно больше на 12,56% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем и составляет 80,15 $\pm$ 5,01 мкм. С явлениями гипертрофии коркового вещества надпочечника, в контрольной группе наблюдается увеличение толщины мозгового вещества до 104,44 $\pm$ 7,47 мкм.

**Заключение.** Гибернация оказывает генерализованное действие на организм, вызывая общую адаптационную реакцию, которая проявляется в комплексе биохимических и морфофункциональных изменений. Организм белогрудого ежа во время пробуждения после зимней спячки (стресс-фактор) при применении препарата «Кальцемагфосвит» отвечает рядом сложных морфофизиологических реакций, направленных на поддержание адаптационных сил к внешним воздействиям, за счет активирования гистоструктур желез внутренней секреции, в числе которых важное место занимают надпочечники. Для паренхимы надпочечников белогрудого ежа свойственна динамика довольно высоких пластических процессов, которые отвечают на любое напряжение организма, в том числе и пробуждение после спячки, увеличением числа секреторных клеток, что и является следствием высокой функциональной активности органа. Компоненты, входящие в препарат «Кальцемагфосвит», способствуют снижению гормональной активности клеток в надпочечнике при гипертрофии коры в ответ на стресс-фактор.

Препарат «Кальцемагфосвит» может использоваться как препарат, обладающий стресс-протекторным действием. Профилактика стрессового воздействия (пробуждение после гибернации) является одним из главных путей укрепления здоровья белогрудого ежа, направленных на повышение биологического долголетия.

**Литература.** 1. Антонова, Е. П. Антиоксидантная защита у зимоспящих млекопитающих / Е. П. Антонова, В. А. Илюха, С. Н. Сергина // Принципы экологии. – 2015. – № 2. – С. 4–20. 2. Витер, В. И. Экспертная оценка изменений щитовидной железы при гипотермии / В. И. Витер, Ю. С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. – 2006. – Т. 16, № 1/2. – С. 28–29. 3. Содержание ретинола и  $\alpha$ -токоферола у летучих мышей в период гибернации / Т. Н. Ильина [и др.] // Труды Карельского научного

центра РАН. – 2017. – № 5. – С. 79–88. 4. Фармакологические способы профилактики стресс-индуцированных состояний в эксперименте / Т. И. Французова [и др.] // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 4 (16). – С. 26–35. 5. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации / под ред. Ю. Б. Белоусова. – Москва : Изд-во ОКИ, 2005. – 156 с. 6. Geiser, F. Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor / F. Geiser // Annu. Rev. Physiol. – 2004. – Vol. 66. – P. 239–274.

Статья передана в печать 20.01.2020 г.

УДК 628.349.094.3

## ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА МИКРОФЛОРУ СТОЧНЫХ ВОД СВИНОКОМПЛЕКСА

Чезлова О.Е., Волчек А.А.

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест, Республика Беларусь

Для изучения потенциальной эффективности дезинфекции озонированием осветленных сточных вод свиноводческого комплекса проведен эксперимент с использованием различных доз растворенного озона (10, 14, 18, 22, 26 мг/дм<sup>3</sup>). Бактерицидный эффект в группе общих колиформных бактерий составил до 0,24 лг, в группе термотолерантных колиформных бактерий – до 0,51 лг, энтерококков – до 0,60 лг, общего микробного числа – до 0,52 лг, для вегетативных форм сульфитредуцирующих клостридий – до 1,04 лг, для споровых форм – до 1,0 лг. Грамположительные бактерии сточных вод (сульфитредуцирующие клостридии, энтерококки) более чувствительны к озону, чем грамотрицательные (общие колиформные бактерии и термотолерантные колиформные бактерии). При озонировании в дозе 10 мг/дм<sup>3</sup> наблюдалась стимуляция роста на 50% для общих колиформных бактерий и термотолерантных колиформных бактерий. **Ключевые слова:** сточные воды, озонирование, дезинфекция, бактерии.

## INFLUENCE OF OZONE ON THE MICROFLORA OF WASTE WATER OF THE PIG COMPLEX

Chezlova O.E., Volchak A.A.

The Polesie Agrarian Ecological Institute of the NAS of Belarus, Brest, Republic of Belarus

To study the potential effectiveness of ozonation disinfection of clarified sewage from a pig breeding complex, an experiment was carried out using different doses of dissolved ozone (10, 14, 18, 22, 26 mg/dm<sup>3</sup>). The bactericidal effect in the group of common coliform bacteria amounted to 0,24 lg, in the group of thermo-tolerant coliform bacteria - up to 0,51 lg, enterococci - up to 0,60 lg, the total microbial number - up to 0,52 lg, for vegetative forms of sulfite-reducing clostridia - up to 1,04 lg, for spore forms - up to 1,0 lg, Gram-positive wastewater bacteria (sulfite-reducing clostridia, enterococci) are more sensitive to ozone than gram-negative (common coliform bacteria and thermotolerant coliform bacteria). With ozonation at a dose of 10 mg/dm<sup>3</sup>, growth stimulation of 50% was observed for common coliform bacteria and thermo-tolerant coliform bacteria. **Keywords:** sewage, ozonation, disinfection, bacteria.

**Введение.** При использовании любых методов утилизации навоза и навозосодержащих сточных вод (СВ) необходимо их гарантированное обеззараживание – уничтожение имеющихся в воде болезнетворных бактерий и устранение опасности заражения окружающей среды [1].

Существует значительное количество способов и методов обеззараживания СВ, включая химические, физические и биологические. Основными из них являются хлорирование, УФ-облучение, озонирование и др. Обеззараживание СВ озоном имеет ряд существенных преимуществ. При озонировании не образуются хлорорганических канцерогенных веществ, как при использовании хлора, при этом инактивация бактерий производится значительно быстрее. Облучение ультрафиолетовым светом имеет выраженный бактерицидный эффект, однако использование данного способа для дезинфекции осветленных стоков свинокомплексов не является экономически целесообразным из-за большого потребления энергии. Кроме того, озонирование, помимо бактерицидного эффекта, позволяет окислять органические вещества СВ, обуславливающие их токсичность, цветность и запах. Остаточный растворенный в воде озон полностью разлагается за 7–10 мин., а значит, в водоемприемник не поступает [2–4].

В настоящее время проведено много исследований эффективности инактивации микроорганизмов озоном. Указывается, что на нее оказывают влияние следующие факторы: pH, температура, наличие взвешенных и растворенных органических веществ, концентрация окислителя, концентрация микробных клеток и др. Устойчивый бактерицидный эффект наблюдается в широком интервале pH (от 5,6 до 9,8) и температуры (от 0 до 37°C) [5]. Так, по данным исследований в водном растворе озон приводит к гибели практически все виды грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов, грибов, простейших, а также споры микроорганизмов и цисты простейших. Озон в концентрации от 1 до 5 мг/дм<sup>3</sup> приводит к гибели 99,9% *Micobacte-*