

Физиология

doi.org/10.31043/2410-2733-2024-3-107-113
УДК 611. [36+41].018.1:599.323.45:636.087.72

О. А. Душенина¹, Л. Ю. Карпенко¹, И. О. Боголюбова^{2, 3}, Т. Н. Домнина¹

Морфологическое исследование печени крыс при применении минерально-кормовой добавки на основе хелатных соединений

Аннотация.

Цель: морфологическое исследование печени белых лабораторных крыс линии Wistar при применении минерально-кормовой добавки на основе хелатных соединений.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на самцах белых лабораторных крыс линии Wistar массой 200–250 грамм. В качестве минерально-кормовой добавки использовали «Хелавит С». По прошествии трех месяцев была проведена эвтаназия животных ингаляционными средствами в комбинации с инъекциями сверхдозы анестетика. Морфологический анализ проводили на макро- и микропрепаратах печени. Для общей оценки гистологической организации печени использовали окраску гематоксилин-эозином, для оценки накопления железа в печени применяли окраску препаратов берлинской лазурью по Перлсу.

Результаты. Различия клинико-морфологических показателей, оцениваемых на микропрепаратах печени животных из экспериментальной и контрольной групп, незначительные и находятся в пределах допустимой физико-анатомической нормы. Морфометрический анализ, проведенный на гистологических препаратах печени, не выявил различий между группами, показатели находятся в пределах допустимых нормативов. Содержание железа в печени животных экспериментальной и контрольной групп при оценке по методу Перлса соответствует нормальным значениям (от 1+ до 3+). Таким образом, кормовая добавка на основе хелатных соединений не вызывает развитие гемосидероза, который в дальнейшем может переходить в гемохроматоз.

Заключение. Минерально-кормовая добавка на основе хелатных соединений восполняет недополученные микроэлементы, не оказывая токсического влияния на печень крыс. Тем не менее, при введении данной добавки животным необходимо точно рассчитывать дозировку во избежание возможного токсического действия.

Ключевые слова: печень; гемосидерин; гемохроматоз; крыса; кормовая добавка; микроэлементы; железо.

Авторы:

Душенина О. А. — кандидат биологических наук; e-mail: olgranchenkova@yandex.ru;

Карпенко Л. Ю. — доктор биологических наук, профессор; e-mail: l.u.karpenko@mail.ru;

Боголюбова И. О. — доктор биологических наук; e-mail: ibogol@mail.ru;

Домнина Т. Н. — e-mail: dalida2008@mail.ru.

¹ Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины; 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5.

² Институт цитологии РАН; 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4.

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Введение. Соединения железа необходимы для эффективного эритропоэза, синтеза гемоглобина, для полноценного осуществления насыщения тканей кислородом, а, следовательно, исключения состояния гипоксии тканей организма, которая может стать причиной патологических изменений в тканях и клетках организма. Развиваются клеточные (зернистая, гидропическая,

гиалиново-капельная) и смешанные (нарушение обмена хромопротеидов, гемосидероз) дистрофии, которые при продолжении действия неблагоприятного фактора (гипоксия) переходят либо в некроз, либо в самостоятельное заболевание — гемохроматоз [1].

Чаще всего ионы железа депонируются в печени, так как через печень проходит вся кровь ор-

ганизма, а вместе с ней минеральные компоненты, транспортирующиеся к тканям и органам, которые при их переизбытке отправляются в депо [2].

Печень — это важный орган, участвующий в обмене железа. При избыточном поступлении железа в организм, оно депонируется в гепатоцитах [3]. Однако чрезмерное накопление железа в печени млекопитающих вызывает заболевание гемохроматоз. В гепатоцитах железо откладывается в форме гемосидерина, а в макрофагах печени в виде ферритина. Умеренное накопление железа в печени носит название гемосидероз, а чрезмерное гемохроматоз. Основным методом диагностики болезней накопления печени является биопсия либо аутопсия (для уточнения посмертного диагноза) [4].

Гемохроматоз — это заболевание, которое успешно поддается терапевтическому лечению, благодаря которому происходит восстановление структуры гепатоцитов, кровеносной и билиарной системы печени. Важно отметить, что лечение направлено на удаление железа методом кровопускания, плазмафереза, гемосорбции, цитафереза. Такое лечение можно успешно использовать на крупных животных, но, к сожалению, очень мелким экзотическим животным, таким как крыса, мышь, ящерица подобное лечение не подходит, а диетотерапии, которые являются единственным консервативным методом лечения, могут затянуться с учетом короткой продолжительности жизни мелких животных и завершиться летальным исходом [5].

В настоящее время компаньонами человека все чаще становятся мелкие экзотические животные, такие как крысы, которым в качестве кормовой минеральной добавки в ветеринарных клиниках нередко выписывают хелатные минеральные комплексы на основе железа [6]. Большинство этих препаратов вводятся перорально, соответственно, они поступают в желудочно-кишечный тракт и через кишечник всасываются в кровь, а затем поступают в печень через воротную вену печени и там депонируются [7, 8].

В организме млекопитающих для предотвращения чрезмерного поступления железа с кормом есть защитный механизм. В кишечнике животных находится пептидный гормон гепсидин, который строго контролирует количество железа, поступившего с пищей, а при его переизбытке, ингибирует всасывание железа в венозные кишечные протоки, впадающие в воротную вену печени, тем самым предотвращая повышение уровня железа. К сожалению, у млекопитающих вследствие действия неблагоприятных факторов окружающей среды происходят мутации в генах, ответственных за постоянную концентрацию геп-

сидина в органах желудочно-кишечного тракта, соответственно, происходит снижение его уровня в кишечнике и нарушение контроля уровня железа. В результате железо будет депонироваться в печени, вызывая сначала гемосидероз, а при избыточном его поступлении гемохроматоз, который лечить у мелких экзотов невозможно [9, 10].

В связи с этим особую значимость приобретает профилактика гемохроматоза у мелких домашних животных, в том числе оценка возможного влияния кормовых минеральных добавок на процессы депонирования железа в печени. При этом комплексных исследований печени в контексте данной проблемы не проводилось. В частности, практически отсутствует информация о морфологических изменениях печени на гистологическом уровне при воздействии железосодержащих минерально-кормовых добавок.

Целью нашей работы являлось морфологическое исследование макро- и микропрепаратов печени белых лабораторных крыс линии Wistar при применении минерально-кормовой добавки на основе хелатных соединений.

На основании поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Оценить на макропрепаратах структурные и морфологические изменения в тканях печени методами клинко-морфологического и макроскопического сопоставления экспериментальных и контрольных образцов.
2. Оценить и сопоставить на микропрепаратах морфометрические показатели печени экспериментальной и контрольной групп животных.
3. Определить накопление железа в печени методом окраски микропрепаратов по Перлсу (берлинская лазурь).

Материалы и методы. Исследование проводили на базе Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины на белых лабораторных крысах самцах линии Wistar возрастом 7 месяцев, весом 200 — 250 г.

Для исследования были сформированы две группы животных (экспериментальная и контрольная) по 4 особи в каждой группе. Животные на всем протяжении исследования находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Экспериментальная группа в течение трех месяцев перорально (по 0,02 мл) получала минерально-кормовую добавку на основе хелатных соединений «Хелавит С», а контрольная параллельно на протяжении такого же времени по 0,02 мл перорально воду.

Наблюдение за животными вели в течение трех месяцев. Животные обеих групп на протяжении эксперимента были клинически здоровые,

адекватно реагировали на внешние раздражители, рефлексы, зрение, слух, обоняние и вкус были сохранены. Движения животных были свободные и координированные. Тонус мускулатуры умеренный, кости конечностей не искривлены, суставы неувеличенные и подвижные. Постановка конечностей правильная. Положение губ, головы и шеи естественное. За весь период наблюдения гибели животных не произошло. Нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, мочевыделительной систем не было отмечено.

По прошествии трех месяцев была произведена эвтаназия животных ингаляционными средствами (изофлуран) в комбинации с инъекционным введением сверхдозы анестетика (новокаин). Посмертно был произведен забор биологического материала. Были изготовлены макро- и микропрепараты печени. На макропрепаратах оценивали структурные и морфологические изменения в тканях методом клинко-морфологического и макроскопического сопоставления опытных и контрольных образцов.

После оценки макропрепаратов фрагменты исследуемых органов были использованы для приготовления гистологических срезов. Образцы были разрезаны на кусочки толщиной 3–4 мм, длиной 10 мм, зафиксированы в 10%-ном забуференном формалине в течение 24 часов. После этого материал промывали, проводили обезживание в этиловом и изобутиловом спирте, выдерживали в промежуточной среде (хлороформ-парафин) и пропитывали парафином. После проводки материал был залит в парафиновые блоки. На роторном микротоме были сделаны срезы, изготовлены микропрепараты, окрашены гематоксилин-эозином и по методу Перлса.

Метод окраски микропрепарата по Перлсу (ГИСТОПОИНТ, 3х100 мл) позволяет выявлять депонированное трехвалентное железо в тканях. Окрашивание проводили согласно протоколу, находящемуся в паспорте изделия.

В соответствии с техникой Перлса на микропрепарат наносят активирующий кислотный буфер и раствор основного фуксина в равных пропорциях, выдерживают 30 минут, после чего промывают дистиллированной водой и затем наносят 2 % ферроцианид калия на 2 минуты. В результате взаимодействия трехвалентного железа с реактивом Перлса образуется нерастворимый пигмент синего цвета, который и говорит о наличии трехвалентного железа в тканях. Таким образом, по количеству синего пигмента можно судить о накоплении железа либо о недостатке его в тканях (рис. 1).

Оценку наличия депонированного трехвалент-

ного железа в тканях проводили минимум на 10 срезах, чтобы с достаточной степенью достоверности судить о наличии или отсутствии железа в печени. Полученные результаты оценивали в плюсах, начиная от 1+, обозначающего небольшие частицы железа, едва видимые в макрофагах при использовании иммерсионного объектива, до 6+, что свидетельствовало об очень больших скоплениях и наличии внеклеточного железа [11]. Запасы железа оценивали как нормальные, уменьшенные или повышенные, где показатели от 1+ до 3+ считали нормальными, от 4+ до 6+ — повышенными, а показатели от 0 до 1+ — пониженными. В качестве альтернативы запасы железа также могут быть оценены от 1 до +4 [11, 12]. Окрашенные препараты исследовали с помощью микроскопа Axiovert 200M (Zeiss) (при увеличении объектива x10 и x40; окуляра x10).

Морфометрический анализ микропрепаратов проводили с помощью программы ImageJ. Минимум на 10 срезах для каждой особи проводили измерение диаметра центральной печеночной вены, междольковой печеночной вены и междольковой печеночной артерии, междолькового желчного протока и синусоидных капилляров. Также оценивали площадь ядра и цитоплазмы гепатоцита и высчитывали ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯПВ).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли нахождением средних арифметических значений и их стандартных ошибок, используя пакет программ Microsoft Office Excel 2018. Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

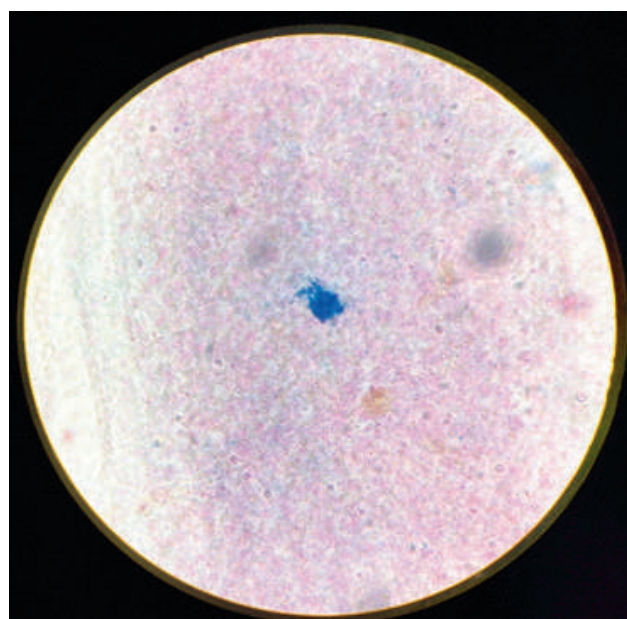


Рис. 1. Локализация трехвалентного железа в печени крысы. Окраска по методу Перлса (об. x40; ок. x10).

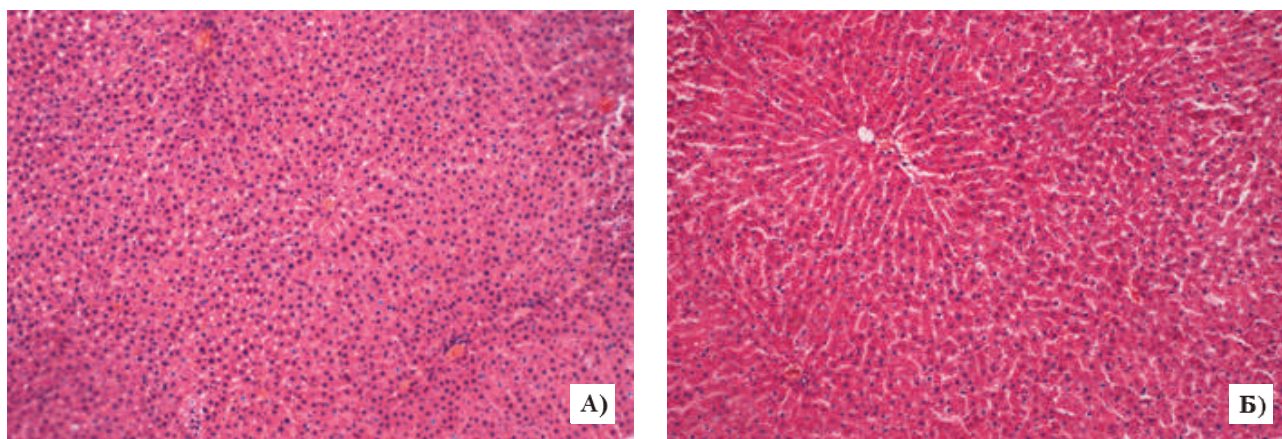


Рис. 2. Печень крыс из контрольной (А) и экспериментальной (Б) групп. Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 10$, ок. $\times 10$)

Результаты и обсуждение. На макроскопическом уровне печень животных экспериментальной и контрольной групп имеет гладкую капсулу, нормальный размер, плотную консистенцию. Края печени острые, дольчатость сохранена, паренхима светло-красного цвета.

На гистологическом уровне как у контрольных, так и у экспериментальных животных,

дольки печени разделены соединительнотканными прослойками (септами), которые слабо развиты у крысы, однако их расположение можно определить по положению центральной вены и триады, в состав которой входят междольковая артерия, междольковая вена и междольковый желчный проток (рис. 2). Синусоидные капилляры имеют правильное радиальное направление и сходятся к центральной вене (рис. 3).

Стенка центральной вены состоит из эндотелия и очень тонкого слоя соединительной ткани. За пределами дольки центральная вена переходит в поддольковую вену.

Гепатоциты образуют балки правильной радиально направленной формы, сходящиеся к центральной вене, границы клеток четкие. Гепатоциты крупного и среднего размеров, цитоплазма гомогенная, ядро расположено в центре, с двумя и более ядрышками, включениями в цитоплазме (рис. 4). Синусоидные капилляры заполняют пространство между балками.

Таким образом, микроскопическое строение печени крыс контрольной группы ничем не отличается от строения печени опытных животных.

В таблице 1 представлены морфометрические показатели структуры печени.

В соответствии с результатами морфометрического анализа печени животных контрольной и экспериментальной групп различий между изученными показателями практически нет. Наблюдается статистически достоверное увеличение диаметра междолькового желчного протока и увеличение диаметра синусоидных капилляров у животных экспериментальной группы по сравнению с контролем. Также прослеживается незначительная тенденция (статистически не достоверная) к увеличению площади ядер гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического соотношения (ЯПВ) у экспериментальной группы животных (табл. 1). Основываясь на получен-

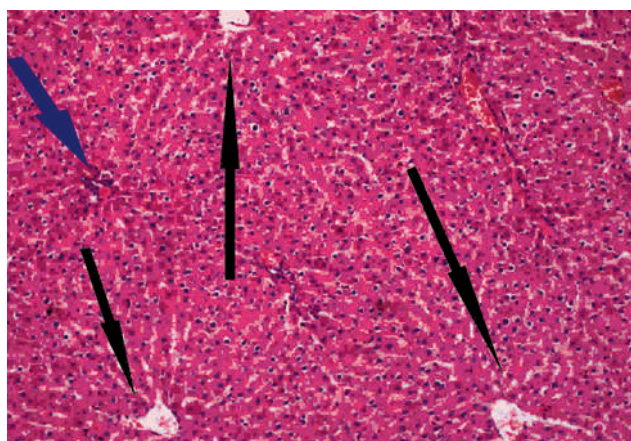


Рис. 3. Печеночные дольки с центральной веной и триадой экспериментальной группы крыс. Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 10$ ок. $\times 10$); черные стрелки - центральные печеночные вены, синяя стрелка - печеночная триада.

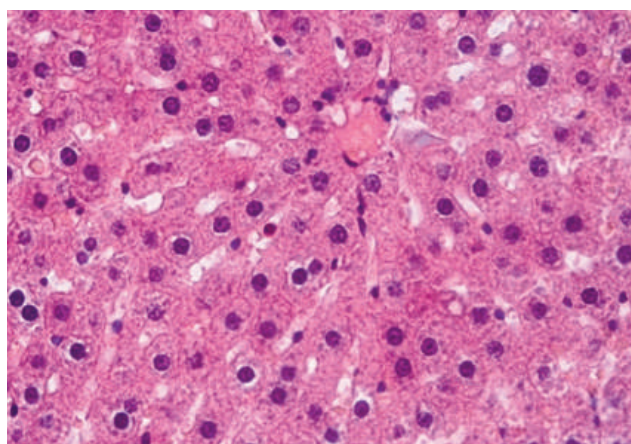


Рис. 4. Гепатоциты печени контрольной группы крыс. Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 40$, ок. $\times 10$)

Таблица 1. Морфометрические показатели печени животных из экспериментальной и контрольной групп

Показатели	Контроль (M±m)	Эксперимент (M±m)
Диаметр центральной печеночной вены, мкм	11,78±1,70	11,30± 1,03
Диаметр междольковой печеночной вены, мкм	5,67±0,78	5,66±0,36
Диаметр междольковой печеночной артерии, мкм	3,39±0,28	3,64±0,61
Диаметр междолькового желчного протока, мкм	0,94±0,09	1,50±0,21*
Диаметр синусоидных капилляров, мкм	0,64±0,07	0,87±0,06*
Площадь ядра гепатоцита, мкм ²	5,0±0,45	5,77±0,36
Площадь цитоплазмы гепатоцита, мкм ²	20,12±1,40	20,10±2,23
Ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯПВ)	0,25±0,03	0,29±0,03

Примечание: *различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы (p<0,05)

ных данных можно сделать вывод, что минерально-кормовая добавка «Хелавит С» с элементами железа не вызывает выраженных структурных изменений в печени животных.

Результаты проведенного исследования на наличие железа в печени методом окраски микропрепаратов по Перлсу (берлинская лазурь) представлены в таблице 2. Из данных таблицы 2 видно, что наличие железа в печени животных как в экспериментальной, так и в контрольной группе соответствует нормальным значениям (от 1+ до 3+). Из этого можно сделать вывод, что данная минерально-кормовая добавка на основе хелатных соединений не способствует развитию гемосидероза, который в дальнейшем может переходить в гемохроматоз.

Заключение. На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы.

1. Различия клинико-морфологических показателей макропрепаратов печени животных из экспериментальной и контрольной групп незначительные и находятся в пределах допустимой физико-анатомической нормы.

2. Морфометрический анализ, проведенный на гистологических препаратах печени, не выявил различий между группами, показатели находятся в пределах допустимых нормативов.

3. Содержание железа в печени эксперимен-

тальной и контрольной групп при оценке по методу Перлса соответствует нормальным значениям (от 1+ до 3+), таким образом, кормовая добавка «Хелавит С» не вызывает развитие гемосидероза, который в дальнейшем может переходить в гемохроматоз.

Исследуемая минерально-кормовая добавка на основе хелатных соединений восполняет недополученные микроэлементы, не оказывая токсического влияния на печень животных. Тем не менее, при введении данной добавки животным необходимо точно рассчитывать дозировку во избежание возможного токсического действия.

Таблица 2. Наличие трехвалентного железа в печени крыс экспериментальной (n=4) и контрольной групп (n=4)

Гистологическая оценка	Присутствие железа в печени	
	Контрольная группа	Экспериментальная группа
0		
+	1	2
++	3	1
+++		1
++++		
+++++		
++++++		

Авторы выражают благодарность д.б.н Боголюбову Дмитрию Сергеевичу за полезные советы и помощь в проведении данного исследования.

Литература

1. Цыркунов В. М. Клиническая морфология печени: редкие и комбинированные поражения / В. М. Цыркунов, Н. И. Прокопчик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2018. — Т. 16. — № 5. — С. 601–614. — DOI 10.25298/2221-8785-2018-16-5-601-614. — EDN YNVSXR.
2. Трошин А. Н. Железо-протеиновые комплексы как перспективное направление повышения эффективности и безопасности ферротерапии животных при железодефицитной анемии / А. Н. Трошин // Ветеринарная патология. — 2007. — № 3(22). — С. 246–250. — EDN OFNAIJ.

3. Травенко Е. Н. Оценка морфофункционального состояния печени морфометрическими методами исследования / Е. Н. Травенко, В. А. Породенко // Судебная медицина. — 2019. — Т. 5. — № 3. — С. 19–23. doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-3-19-23. — EDN YXOYWE.
4. Безбородкина Н. Н. Морфометрия митохондриального аппарата гепатоцитов нормальной и цирротически измененной печени крыс / Н. Н. Безбородкина, С. В. Оковитый, М. В. Кудрявцева [и др.] // Цитология. — 2008. — Т. 50. — № 3. — С. 228–237. — EDN ILNENH.
5. Азизова М. А. Изучение морфологии и некоторых морфометрических показателей печени у травоядных, плотоядных и всеядных лабораторных животных / М. А. Азизова // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. — 2015. — Т. 1. — № 4(11). — С. 3–9.
6. Косов Н. А. Применение хелатных соединений микроэлементов при откорме свиней / Н. А. Косов // Зоотехническая наука Беларуси. — 2020. — Т. 55. — № 1. — С. 368–373. — EDN LAJTHY.
7. Влияние минеральной добавки «Хелавит С» на гематологические показатели у белых лабораторных крыс / О. А. Душенина, Л. Ю. Карпенко, С. В. Васильева [и др.] // Генетика и разведение животных. — 2023. — № 2. — С. 78–84. doi: 10.31043/2410-2733-2023-2-78-84. — EDN UFPYWQ.
8. Карпенко Л. Ю. Применение микроэлементного препарата "Хелавит" для лечения и профилактики йодной недостаточности у собак / Л. Ю. Карпенко, Ю. М. Козлов, А. А. Рыжов // Ветеринарная патология. — 2006. — № 3(18). — С. 164–165. — EDN OEDQXJ.
9. Андреев В. П. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов / В. П. Андреев, В. М. Цыркунов, Р. И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. — 2020. — Т. 4. — № 2. — С. 126–142. doi: 10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142. — EDN PKEDZH.
10. Васендин Д. В. Влияние экспериментального алиментарного ожирения на структуру печени крыс линии Вистар / Д. В. Васендин, С. В. Мичурина, И. Ю. Ищенко // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). — 2014. — № 4(33). — С. 125–129. — EDN UCKVTR.
11. Barbara J. Bain, David M. Clark, Bridget S. Wilkins Bone Marrow Pathology, John Wiley & Sons Ltd, 2019.
12. Verma S. Adipocyte proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis / S. Verma, J. H. Rajaratnam et al. // J. Clin. Pathol. — 2002. — № 55. — P. 693–698.
13. Byers R. J., Denton J., Hoyland J. A. and Freemont A. J. (1997) Differential patterns of osteoblast dysfunction in trabecular bone in patients with established osteoporosis / R. J. Byers, J. Denton, J. A. Hoyland and A. J. Freemont // J. Clin. Pathol. — 1997. — № 50. — P. 760–764.

Dushenina O.¹, Karpenko L.¹, Bogolyubova I.^{2,3}, Domnina T.¹

Morphological study of the liver of rats after the use of the mineral feed additive based on chelate compounds

Abstract.

Purpose: a morphological study of the liver of white laboratory rats of the Wistar line supplemented with the mineral feed additive based on chelate compounds.

Materials and methods. The experiment was carried out on male white Wistar laboratory rats weighing 200–250 g. "Chelavit C" was used as a mineral feed additive. After three months, the animals were euthanized using inhaled drugs combined with an injection overdose of anesthetic. Morphological analysis was performed on macro- and micropreparations of the liver. For a general assessment of the histological organization of the liver, hematoxylin-eosin staining was used. Iron accumulation in the liver was assessed using Perls Prussian blue stain.

Results. The differences in some essential clinical and morphological parameters assessed on macroscopic specimens of the liver of animals from the experimental and control groups were insignificant, being within the acceptable physical and anatomical norm. Morphometric analysis performed on histological preparations of the liver did not reveal differences between the groups, and the parameters were within acceptable standards. The Perls Prussian blue stain showed that the iron content in the liver of animals in the experimental and

control groups corresponds to normal values (from 1+ to 3+); therefore, the feed additive based on chelate compounds does not cause hemosiderosis, which can later develop into hemochromatosis.

Conclusion. The mineral feed additive based on chelate compounds replenishes lost microelements without having a toxic effect on the liver of rats. However, when administering this additive to animals, it is necessary to accurately calculate the dosage to avoid possible toxic effects.

Key words: liver; hemosiderin; hemochromatosis; rat; feed additive; microelements; iron.

Authors:

Dushenina O. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: olgpanchenkova@yandex.ru;

Karpenko L. — Dr Habil. (Biol. Sci); Professor; e-mail: l.u.karpenko@mail.ru;

Bogolyubova I. — Dr Habil. (Biol. Sci); e-mail: ibogol@mail.ru;

Domnina T. — e-mail: dalida2008@mail.ru.

¹ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; 196084, St. Petersburg, st. Chernigovskaya, 5.

² Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences; 194064, St. Petersburg, Tikhoretsky ave., 4

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University; 194100, St. Petersburg, st. Litovskaya, 2

References

1. Tsyркunov V. M. Clinical morphology of the liver: rare and combined lesions / V. M. Tsyркunov, N. I. Prokopchik // Journal of the Grodno State Medical University. — 2018. — Vol. 16. — № 5. — P. 601–614. doi: 10.25298/2221-8785-2018-16-5-601-614. — EDN YNVSXR.
2. Troshin A. N. Iron-protein complexes as a promising direction for increasing the efficiency and safety of ferrotherapy in animals with iron deficiency anemia / A. N. Troshin // Veterinary pathology. — 2007. — № 3 (22). — P. 246–250. — EDN OFNAIJ.
3. Travenko E. N. Evaluation of the morphofunctional state of the liver by morphometric research methods / E. N. Travenko, V. A. Porodenko // Forensic Medicine. — 2019. — Vol. 5. — № 3. — P. 19–23.
4. Bezborodkina N. N. Morphometry of the mitochondrial apparatus of hepatocytes of normal and cirrhotic rat liver / N. N. Bezborodkina, S. V. Okovity, M. V. Kudryavtseva [et al.] // Tsitology. — 2008. — Vol. 50. — № 3. — P. 228–237. — EDN ILHEHH.
5. Azizova M. A. Study of morphology and some morphometric parameters of the liver in herbivorous, carnivorous and omnivorous laboratory animals / M. A. Azizova // Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region. — 2015. — Vol. 1. — № 4 (11). — P. 3–9.
6. Kosov N. A. Use of chelate compounds of microelements in fattening pigs / N. A. Kosov // Zootechnical Science of Belarus. — 2020. — Vol. 55. — № 1. — P. 368-373. — EDN LAJTHY.
7. Effect of the mineral supplement "Helavit S" on hematological parameters in white laboratory rats / O. A. Dushenina, L. Yu. Karpenko, S. V. Vasilyeva [et al.] // Genetics and animal breeding. — 2023. — № 2. — P. 78–84. doi: 10.31043/2410-2733-2023-2-78-84. — EDN UFPYWQ.
8. Karpenko L. Yu. Use of the microelement preparation "Helavit" for the treatment and prevention of iodine deficiency in dogs / L. Yu. Karpenko, Yu. M. Kozlov, A. A. Ryzhov // Veterinary pathology. — 2006. — № 3 (18). — P. 164–165. — EDN OEDQXJ.
9. Andreev V. P. Clinical morphology of the liver: the nuclear apparatus of hepatocytes / V. P. Andreev, V. M. Tsyркunov, R. I. Kravchuk // Hepatology and gastroenterology. — 2020. — Vol. 4. — № 2. — P. 126–142. doi: 10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142. — EDN PKEDZH.
10. Vasendin D. V. The effect of experimental alimentary obesity on the liver structure of Wistar rats / D. V. Vasendin, S. V. Michurina, I. Yu. Ishchenko // Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). — 2014. — № 4 (33). — P. 125–129. — EDN UCKVTR.
11. Barbara J. Bain, David M. Clark, Bridget S. Wilkins Bone Marrow Pathology, John Wiley & Sons Ltd, 2019.
12. Verma S. Adipocyte proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis / S. Verma, J. H. Rajaratnam et al. // J. Clin. Pathol. — 2002. — № 55. — P. 693–698.
13. Byers R. J., Denton J., Hoyland J. A. and Freemont A. J. (1997) Differential patterns of osteoblast dysfunction in trabecular bone in patients with established osteoporosis / R. J. Byers, J. Denton, J. A. Hoyland and A. J. Freemont // J. Clin. Pathol. — 1997. — № 50. — P. 760–764.