

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

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

Аннотация.

Цель: морфологическое исследование селезенки 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 селезенки. Для общей оценки гистологической организации селезенки использовали окраску гематоксилин-эозином, для оценки накопления железа в селезенке применяли окраску препаратов берлинской лазурью по Перлсу.

Результаты. Различия клинко-морфологических показателей, оцениваемых на макропрепаратах селезенки животных из экспериментальной и контрольной групп, незначительные и находятся в пределах допустимой физико-анатомической нормы. Морфометрический анализ, проведенный на гистологических препаратах селезенки, не выявил различий между группами, показатели находятся в пределах допустимых нормативов. Содержание железа в селезенке животных экспериментальной и контрольной групп при оценке по методу Перлса соответствует нормальным значениям. Таким образом, на основании проведенного эксперимента можно сделать вывод, что 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 влияние на селезенку крыс. Тем не менее, при введении данной добавки животным необходимо точно рассчитывать дозировку во избежание возможного токсического действия.

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

Авторы:

Душенина О. А. — кандидат биологических наук; e-mail: olgpanchenkova@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;

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. Железо — важный элемент, регулирующий многие физиологические функции. Ионы железа являются одним из основных компонентов гемоглобина, который переносит кислород в крови по всему организму. Данный микроэлемент участвует в процессе гемопоэза, поддерживает энергетический обмен и участвует в восстановлении ДНК. От содержания данного микроэлемента зависят такие механизмы как адаптация, биоритмы обменных процессов, а также состояние иммунной системы [1, 2].

Большая часть ионов железа в организме жи-

вотных и человека связана с гемоглобином в эритроцитах (70 %), либо хранится в виде ферритина в гепатоцитах и макрофагах печени и селезенки (25 %).

Селезенка — орган неоднородный и не изученный окончательно, так как в ней совмещена функция производства клеток белой и красной крови. При формировании плода селезенка выполняет кроветворную функцию и производит гемо- и лейкопоэтические клетки (эритроциты и лейкоциты). После рождения плода селезенка участвует в работе иммунной системы, обеспечи-

вая антигензависимую дифференцировку лимфоцитов, а также является местом депонирования крови и разрушения эритроцитов, что приводит к накоплению гемосидерина и ферритина.

При недостатке ионов железа трансферрин связывается с депонированным железом и транспортирует его в красный костный мозг, запуская эритропоэз. Таким образом, реализуется детоксикационная функция организма, защищающая сосуды, органы и ткани от переизбытка металлов. Трансферрин связывается с депонированным железом в селезенке только при его низком содержании в плазме крови [3].

Селезенка состоит из красной и белой пульпы. По селезеночной артерии кровь поступает в селезенку, проходит по трабекулярным и центральным артериям и через эллипсоидные капилляры может выходить в красную пульпу (открытая система кровообращения). Красная пульпа занимает 75 % органа и состоит из синусов, ретикулярной ткани в форме пульпарных тяжей и тяжей Бильрота. Синусы представлены системой кровеносных сосудов, а тяжи состоят из ретикулярной ткани, на которой располагаются форменные элементы крови и единичные лимфоциты. Последние могут формировать узелки белой пульпы, и, соответственно, соотношение белой и красной пульпы может меняться в зависимости от физиологического состояния организма, заболевания и стадии болезни [4].

В синусах красной пульпы происходит фильтрация компонентов крови. Здесь макрофаги «чищают» кровяные тельца от антител, антигенов, микробов, разрушают патологические формы эритроцитов, после деструкции которых остается железо, депонирующееся в форме ферритина, гемосидерина, трансферрина. После этого очищенные клетки крови собираются в синусы и попадают в селезеночную вену, последняя переходит в воротную вену печени.

Структурно-функциональное состояние красной пульпы напрямую связано с системным кровотоком, заболеваниями крови, избытком или недостатком каких-либо веществ. Таким образом, красная пульпа выполняет фильтрационную функцию крови, депонирования эритроцитов, железа, стимуляции эритропоэза [5].

Вторая составляющая селезенки — это белая пульпа, которая занимает 1/5 часть органа. Белая пульпа представлена лимфоидными образованиями, которые по строению схожи с лимфатическими узелками (В-зависимая зона) и периартериальными влажными (Т-зависимая зона). Белая пульпа состоит из фолликулов, герминативных центров, мантийной, маргинальной и перифолликулярной зон. Соответственно, функция белой

пульпы селезенки состоит в презентации антигенов и дифференцировке лимфоцитов [6].

Следует отметить, что макрофаги селезенки в красной пульпе регулируют хранение и переработку ферритина (железа), удаляя поврежденные или лизированные эритроциты. При увеличении красной пульпы более чем на 80 % можно говорить о возникновении такого опасного заболевания как гемосидероз. Аналогичное поведение демонстрируют макрофаги в других тканях при инсульте или травме, что приводит к острому или хроническому накоплению богатых ферритином (железом) тучных клеток в месте повреждения. Таким образом, пространственная локализация и количественное определение ферритина (железа) имеют большое практическое значение для диагностики многих болезней [7].

Дефицит железа у животных — актуальная проблема, которая получила широкое распространение в условиях промышленного животноводства и имеет высокую значимость вследствие полиорганной патологии, развивающейся на фоне железодефицитного состояния [8].

Серьезность последствий дефицита соединений железа требует проведения соответствующей терапии, в основе которой лежит применение препаратов железа [1, 9]. В настоящее время довольно часто в ветеринарных клиниках животным в качестве кормовой минеральной добавки врачи выписывают хелатные комплексы на основе железа и железосодержащие препараты.

Хелатные соединения занимают основной сегмент рынка органических микроэлементов. Они представляют собой одну или две молекулы органического вещества (лигандов аминокислот), соединенные атомом микроэлемента (Zn, Mn, Cu, Fe и др.) в единый комплекс. В хелатных соединениях микроэлемент становится прочно связанным с лигандом, как бы плотно зажатым в своеобразной «клешне». Хелатные соединения на основе аминокислот имеют сравнительно небольшой размер молекул, поэтому хорошо усваиваются энтероцитами кишечника. В итоге энергетические затраты организма сводятся к минимуму, что является их безусловным преимуществом [10, 11].

Однако применение их может сопровождаться развитием побочных реакций, возникновение которых зависит от самого препарата, от его дозы и состояния организма [2, 12].

Известно, что в организме существуют механизмы детоксикации в отношении тяжелых металлов. Чрезмерно длительное и интенсивное воздействие, возникающее вследствие увеличения количества тяжелых металлов, в т. ч. железа, в организме, часто является причиной развития патологии различных органов и систем [9, 13].

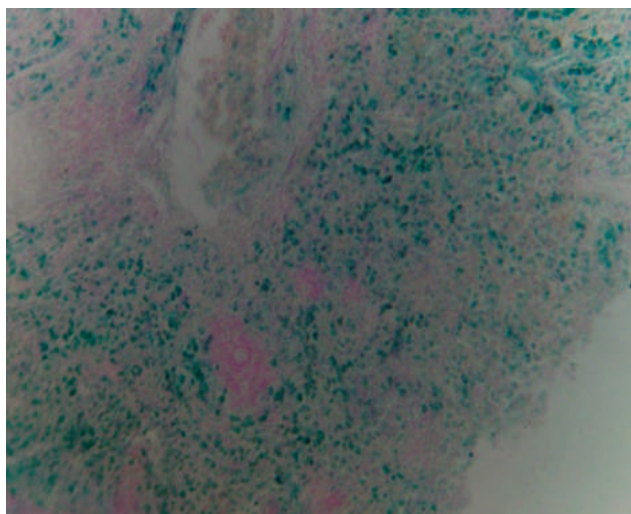


Рис. 1. Локализация трехвалентного железа в селезенке крысы. Окраска по методу Перлса (об. $\times 10$; ок. $\times 10$).

Вместе с тем в настоящее время отсутствуют сведения об изменениях периферических кровеносных органов в процессе развития данного рода интоксикации. Более того, информации по измерениям морфологических показателей и изменениям на микроуровне селезенки при воздействии железосодержащих препаратов практически нет. Учитывая протективную роль иммунной системы при различных патологических состояниях, в том числе при интоксикациях, исследование селезенки становится важной задачей.

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

На основании поставленной цели сформированы следующие задачи:

1. Оценить на макропрепаратах структурные и морфологические изменения в тканях селезенки методами клинко-морфологического и макроскопического сопоставления экспериментальных и контрольных образцов.
2. Оценить и сопоставить на микропрепаратах морфометрические показатели селезенки экспериментальной и контрольной групп животных.
3. Определить накопление железа в селезенке 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 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 не увеличенные 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 системы не было отмечено.

По прошествии трех месяцев произведена этаназия животных ингаляционными средствами (изофлуран) в комбинации с инъекционным введением сверхдозы анестетика (новокаин). После смерти произведен забор биологического материала. Изготовлены макро- и микропрепараты селезенки. 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 обезвоживание в этиловом и изобутиловом спирте, выдерживали в промежуточной среде (хлороформ-парафин) и пропитывали парафином. После проводки материал был залит в парафиновые блоки. На ротормном 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 на-

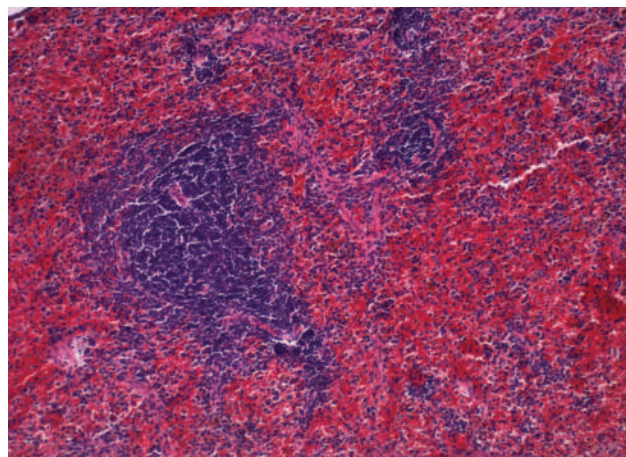
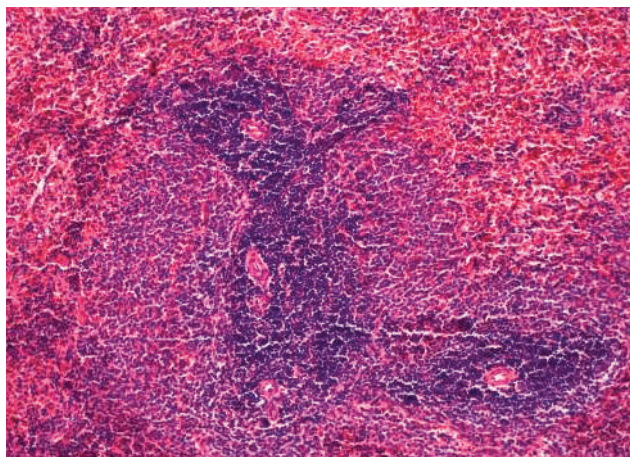


Рис. 2. Гистоархитектоника селезенки крыс из контрольной (А) и экспериментальной (Б) групп. Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 10$, ок. $\times 10$)

носят 2 % ферроцианид калия на 2 минуты. В результате взаимодействия трехвалентного железа с реактивом Перлса образуется нерастворимый пигмент синего цвета, который свидетельствует 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 трехвалентного железа в тканях проводили минимум в 10 полях зрения, чтобы с достаточной степенью достоверности судить о наличии или отсутствии отложений гемосидерина в селезенке. Полученные результаты оценивали двумя способами. Первый способ в баллах: 0 — единичные включения; 1 — редкие диффузные отложения; 2 — диффузное и очаговое распределение пигмента; 3 — многочисленные диффузные отложения и очаговые скопления пигмента. Окрашенные препараты исследовали с помощью микроскопа Axiovert 200M (Zeiss) (при увеличении объектива $\times 10$ и $\times 40$; окуляра $\times 10$). Второй способ с помощью программы ImageJ на срезах, окрашенных по Перлсу [3], подсчитывали объемную долю гемосидерина в красной и белой пульпе [14].

Морфометрический анализ микропрепаратов проводили также с помощью программы ImageJ. Минимум на 10 срезах для каждой особи проводили измерение диаметра герминативного центра, мантийной и маргинальной зон, периартериального лимфоидного влагища (ПАВЛ), а также измеряли процентное соотношение красной и белой пульпы.

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 $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При проведении патологоанатомического вскрытия селезенка была извлечена в первую очередь, так как после прекращения жизненных процессов в организме она практически сразу подвергается аутолизу.

На макроскопическом уровне селезенка животных экспериментальной и контрольной групп нормального размера, плоской лентовидной формы, поверхность разреза влажная, соскоб пульпы умеренный, по характеру — кашицеобразный, орган упругой консистенции, окраска темно-красного цвета, равномерная.

На гистологическом уровне как у контрольных, так и у экспериментальных животных, селезенка имеет правильное строение: строма плотная, паренхима представлена красной и белой пульпой, в соотношении 1/5. Фолликулы белой пульпы: мелкие и средние расположены по периферии, крупные — в центре органа (рис. 2).

Наблюдается также образование слившихся крупных и средних фолликулов, однако без изменения герминативных центров: они больше по площади мантийной зоны, есть граница между мантийной и маргинальной зоной (рис. 3).

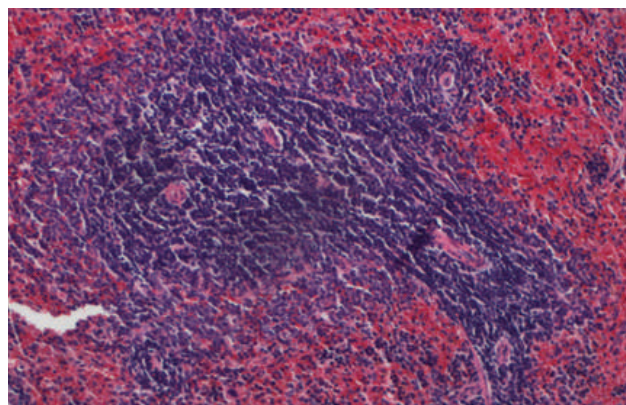


Рис. 3. Гистоархитектоника фолликулов селезенки животных контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 10$, ок. $\times 10$)

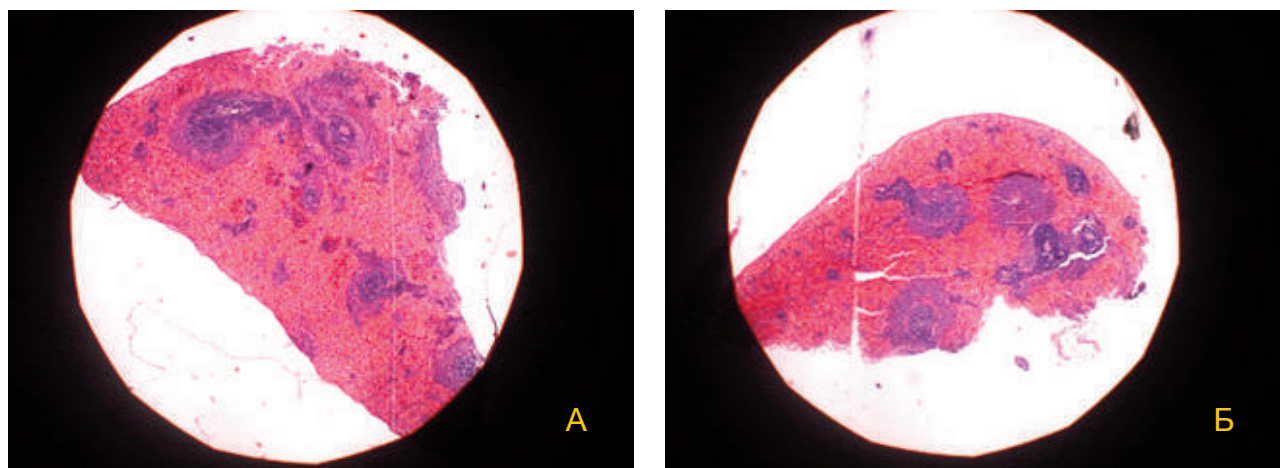


Рис. 4. Соотношение элементов белой и красной пульпы крыс контрольной группы(А) и экспериментальной групп (Б). Окраска гематоксилин-эозин (об. $\times 5$, ок. $\times 10$)

Основные элементы паренхимы: белая и красная пульпа хорошо различимы (рис. 4). Красная пульпа селезенки животных обеих групп занимает 80 % паренхимы. Патологических изменений в этой части органа не обнаружено. Таким образом, микроскопическое строение селезенки крыс контрольной группы ничем не отличается от строения селезенки экспериментальных животных.

Далее приведена таблица, содержащая морфометрические показатели паренхимы селезенки обеих групп животных (табл. 1). В соответствии с результатами морфометрического анализа селезенки обеих групп животных различий между изученными показателями практически нет (табл. 1). Наблюдается незначительное, статистически недостоверное увеличение маргинальной зоны белой пульпы у экспериментальной группы крыс по сравнению с контролем. Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод, что минерально-кормовая добавка с элементами железа не вызывает выраженных структурных изменений селезенки.

Результаты проведенного исследования на наличие железа в селезенке методом окраски микропрепаратов по Перлсу (берлинская лазурь)

представлены в таблице 1 и таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что наличие железа в селезенке животных как в экспериментальной, так и в контрольной группе, находилось в диапазоне от редких (1 балл) до умеренных значений (2 балла), с незначительным преобладанием количества гемосидерина в экспериментальной группе крыс. Из данных таблицы 1 можно увидеть незначительное статистически недостоверное увеличение количества гемосидерина в красной пульпе экспериментальной группы крыс ($6,66 \pm 0,12$) по сравнению с контролем. Следовательно, данная минерально-кормовая добавка на основе хелатных соединений не способствует развитию гемосидероза, который в дальнейшем может привести к такой серьезной патологии как гемохроматоз.

Выводы. На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы.

1. Различия клинко-морфологических показателей макропрепаратов селезенки животных из экспериментальной и контрольной групп незначительные и находятся в пределах допустимой физико-анатомической нормы.
2. Морфометрический анализ, проведенный

Таблица 1. Морфометрические показатели паренхимы селезенки экспериментальных и контрольных групп крыс

Зоны	Контроль	Эксперимент
Герминативный центр, мкм	$21,57 \pm 0,74$	$21,06 \pm 0,63$
Мантийная зона, мкм	$15,83 \pm 0,38$	$14,68 \pm 0,68$
Маргинальная зона, мкм	$11,85 \pm 0,68$	$12,22 \pm 1,51$
ПАВЛ (периартериальное лимфоидное влагалище), мкм	$1,77 \pm 1,00$	$1,06 \pm 0,42$
Красная пульпа, %	$89,43 \pm 2,46$	$89,01 \pm 3,22$
Белая пульпа, %	$10,57 \pm 2,46$	$10,99 \pm 3,22$
Гемосидерин в красной пульпе, %	$6,52 \pm 0,51$	$6,66 \pm 0,12$
Гемосидерин в белой пульпе, %	$2,57 \pm 0,47$	$2,49 \pm 0,16$

на гистологических препаратах селезенки, не выявил различий между группами, показатели находятся в пределах допустимых нормативов.

3. Содержание железа в селезенке экспериментальной и контрольной групп при оценке по методу Перлса находилось в диапазоне от редких (1 балл) до умеренных значений (2 балла). Объемная доля гемосидерина в красной и белой пульпе, определенная с помощью программы ImageJ, также не различалась у животных из контрольной и экспериментальной группы. Показатели на-

ходились в пределах референтных значений (по сравнению с интактными животными).

Соответственно, можно сделать вывод, что кормовая добавка «Хелавит С» не вызывает избыточного отложения гемосидерина в селезенке, который в дальнейшем может привести к ряду различных осложнений.

Заключение. Исследуемая минерально-кормовая добавка на основе хелатных соединений восполняет недополученные микроэлементы, не оказывая токсического влияния на селезенку крыс.

Таблица 2. Наличие гемосидерина в селезенке крыс экспериментальной (n=4) и контрольной групп (n=4)

Номер животного	Присутствие гемосидерина в селезенке, баллы	
	Контрольная группа	Экспериментальная группа
1	1	1
2	1	2
3	2	2
4	2	2
M±m	1,5±0,33	1,75±0,29

Примечание: 0 — единичные включения; 1 — редкие диффузные отложения; 2 — диффузное и очаговое распределение пигмента; 3 — многочисленные диффузные отложения и очаговые скопления пигмента. М — среднее; m — ошибка среднего арифметического.

Литература

1. Антипов А. А. Морфологические изменения органов крыс при изучении хронической токсичности железодекстрановых препаратов / А. А. Антипов, А. А. Дельцов // Ветеринарная медицина. — 2012. — № 3–4. — С. 12–14. — EDN UWVIAD.

2. Пригожая О. П. Влияние кормовой добавки “Хеламакс с” на клинические показатели крови крыс / О. П. Пригожая // Студенческая наука — взгляд в будущее: Материалы XIX Всероссийской студ. науч. конф-ции, Красноярск, 27–29 февраля 2024 года. — Красноярск: Красноярский гос. агр. университет, 2024. — С. 88-92. — EDN NJZGLT.

3. Антипов А. А. Влияние энтеральных лекарственных препаратов с различной химической природой соединений железа на морфологию селезенки крыс при изучении острой токсичности / А. А. Антипов, А. А. Дельцов, Д. Н. Уразаев // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2014. — № 1(21). — С. 47–52. — EDN RXBECN.

4. Онищенко М. И. Применение дисперсионного и апостериорного анализов для оценки некоторых показателей морфометрии селезенки белых крыс, подвергавшихся влиянию формальдегида / М. И. Онищенко // Актуальные вопросы эксп. и клин. медицины — 2022: Сборник тезисов LXXXIII науч.-практ. конф-ции с межд. участием, Санкт-Петербург, 01–28 апреля 2022 года. — Санкт-Петербург.

5. Donkol R. H. Tumorlike, iron-sparing foci of splenic hemosiderosis in a child with sickle cell anemia / R. H. Donkol, S. Monib // The Journal of Ultrasound MedEltounsi. — 2006. — № 25(12). — P. 1607–1609. DOI: 10.7863/jum.2006.25.12.1607. PMID: 17121959.

6. Овчаренко В. В. Трехмерная реконструкция селезенки по серийным гистологическим срезам / В. В. Овчаренко, В. С. Пикалюк, К. А. Плеханова [и др.] // Национальная Ассоциация Ученых. — 2015. — № 3–5(8). — С. 45–48. — EDN YHFFCL.

7. Richter G. W. A study of hemosiderosis with the aid of electron microscopy; with observations on the relationship between hemosiderin and ferritin / G. W. Richter // The Journal of experimental medicine. — 1965. — № 106(2). — P. 203–218. DOI: 10.1084/jem.106.2.203.

8. Richter G. W. The nature of storage iron in idiopathic hemochromatosis and in hemosiderosis. Electron optical, chemical, and serologic studies on isolated hemosiderin granules / G. W. Richter // The Journal of experimental medicine. — 1960. — № 112(4). — P. 551–570. DOI: 10.1084/jem.112.4.551.

9. Антипов А. А. Морфологические изменения печени, почек и селезенки крыс при коррекции острой постгеморрагической анемии железодекстрановым комплексом с селеном и йодом / А. А. Антипов, А. А. Дельцов, Н. А. Ефремова // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. — 2015. — № 5. — С. 31–35. — EDN ULGPPH.
10. Душенина О. А. 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.
11. 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.
12. Панова Н. А. Влияние хелатных соединений на показатели лейкограммы крови крыс / Н. А. Панова // Ветеринарная медицина и практика: сборник научных статей. — Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2024. — С. 48–53. — EDN NIXRRW.
13. Антипов В. А. Сравнительное распределение железа из протеиновых и минеральных комплексов при их внутреннем применении / В. А. Антипов, А. Н. Трошин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2015. — № 2. — С. 95–97. — EDN TWNGHR.
14. Колбасеева О. В. Периферический лимфопоз и структура селезенки при отравлении этиленгликолем и коррекции арабиногалактаном / О. В. Колбасеева, Л. С. Васильева // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2009. — Т. 88. — № 5. — С. 37–39. — EDN EVAARP.

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

Morphological study of rat spleen after application of mineral feed additive based on chelate compounds

Abstract.

Purpose: Morphological study of the spleen of white laboratory rats of the Wistar line when adding a mineral supplement based on chelate compounds to the feed.

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

Results. Differences in some of the main clinical and morphological parameters assessed on macroscopic specimens of the spleen of animals from the experimental and control groups were insignificant and were within the permissible physical and anatomical norm. Morphometric analysis of histological preparations of the spleen did not reveal differences between the groups; the indicators were within acceptable limits. Staining with Prussian blue according to Perls showed that the iron content in the spleen of animals in the experimental and control groups corresponds to normal values. Therefore, the used feed additive based on chelate compounds does not cause hemosiderosis, which can subsequently develop into hemochromatosis.

Conclusion. A mineral feed supplement based on chelated compounds replenishes the loss of microelements without having a toxic effect on the spleen of rats. However, when administering this additive to animals, it is necessary to accurately calculate the dosage to avoid possible toxic effects.

Key words: spleen; hemosiderin; hemochromatosis; rat; feed additive; trace elements; 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. Antipov A. A. Morphological changes in rat organs in the study of chronic toxicity of iron dextran preparations / A. A. Antipov, A. A. Deltsov // *Veterinary medicine*. — 2012. — No. 3–4. — P. 12–14.
2. Prigozhaya O. P. Effect of the feed additive "Helamax s" on clinical parameters of rat blood / O. P. Prigozhaya // *Student science — a look into the future: Proceedings of the XIX All-Russian student scientific conference, Krasnoyarsk, February 27–29, 2024*. — Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2024. — P. 88–92.
3. Antipov A. A. Effect of enteral drugs with different chemical nature of iron compounds on the morphology of the rat spleen in the study of acute toxicity / A. A. Antipov, A. A. Deltsov, D. N. Urazaev // *Actual issues of veterinary biology*. — 2014. — No. 1 (21). — P. 47–52.
4. Onishchenko M. I. Application of dispersion and a posteriori analysis to assess some morphometry indices of the spleen of white rats exposed to formaldehyde / M. I. Onishchenko // *Actual issues of experimental and clinical medicine - 2022: Collection of abstracts of the LXXXIII scientific and practical conference with international participation, St. Petersburg, April 01–28, 2022*. — St. Petersburg: First St. Petersburg State Medical University named after academician I. P. Pavlov, 2022. — P. 206–207.
5. Donkol R. H. Tumorlike, iron-sparing foci of splenic hemosiderosis in a child with sickle cell anemia / R. H. Donkol, S. Monib, I. // *The Journal of Ultrasound MedEltonsi*. — 2006. — № 25(12). — P. 1607–1609. DOI: 10.7863/jum.2006.25.12.1607. PMID: 17121959.
6. Ovcharenko V. V. Three-dimensional reconstruction of the spleen based on serial histological sections / V. V. Ovcharenko, V. S. Pikalyuk, K. A. Plekhanova [et al.] // *National Association of Scientists*. — 2015. — No. 3–5(8). — P. 45–48.
7. Richter G. W. A study of hemosiderosis with the aid of electron microscopy; with observations on the relationship between hemosiderin and ferritin / G. W. Richter // *The Journal of experimental medicine*. — 1965. — № 106(2). — P. 203–218. DOI: 10.1084/jem.106.2.203.
8. Richter G. W. The nature of storage iron in idiopathic hemochromatosis and in hemosiderosis. Electron optical, chemical, and serologic studies on isolated hemosiderin granules / G. W. Richter // *The Journal of experimental medicine*. — 1960. — № 112(4). — P. 551–570. DOI: 10.1084/jem.112.4.551.
9. Antipov A. A. Morphological changes in the liver, kidneys and spleen of rats during the correction of acute posthemorrhagic anemia with iron dextran complex with selenium and iodine / A. A. Antipov, A. A. Deltsov, N. A. Efremova // *Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals*. — 2015. — No. 5. — P. 31–35.
10. Dushenina O. A. 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. — No. 2. — P. 78–84. — DOI 10.31043/2410-2733-2023-2-78-84.
11. 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. — No. 3(18). — P. 164–165.
12. Panova N. A. Effect of chelate compounds on blood leukogram indices in rats / N. A. Panova // *Veterinary medicine and practice: collection of scientific articles*. — Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2024. — P. 48–53.
13. Antipov V. A. Comparative distribution of iron from protein and mineral complexes during their internal use / V. A. Antipov, A. N. Troshin // *Issues of legal regulation in veterinary medicine*. — 2015. — No. 2. — P. 95–97.
14. Kolbaseeva O. V. Peripheral lymphopoiesis and spleen structure in ethylene glycol poisoning and correction with arabinogalactan / O. V. Kolbaseeva, L. S. Vasilyeva // *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. — 2009. — Vol. 88. — No. 5. — P. 37–39.