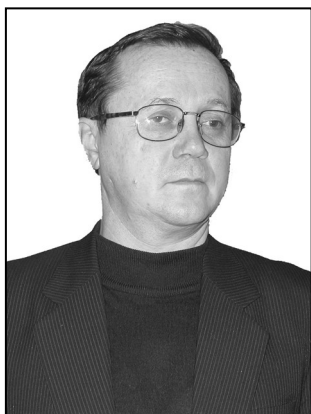


ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ КОСТНОГО МОЗГА У КРОЛИКОВ ПРИ АНЕМИИ

Ковалев С. П., д.в.н., профессор, заведующий кафедрой клинической диагностики; Овсянников А.Г., аспирант кафедры клинической диагностики; Киселенко П.С., к.в.н., доцент кафедры клинической диагностики, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кролики, анемия, костный мозг. **Key words:** rabbit, anemia, bone marrow.



РЕФЕРАТ

Наиболее часто встречающейся патологией у растущих кроликов является анемия. Данная патология у кроликов наблюдается в период их интенсивного роста (2-5 месяцев). Авторы изучали патологические изменения у кроликов в костном мозге, обусловленные анемией. Материалом исследований послужили цельных фрагментов мета-эпифизов бедренных костей 10 кроликов с клиническим проявлением анемии. Материал фиксировался в нейтральном забуференном 10% формалине, декальцинация осуществлялась с использованием насыщенного раствора ЭДТА (Трилон Б). Обезвоживание и пропитывание ткани парафином проводилось по общепринятой стандартной методике. Гистологическая проводка осуществлялась с помощью автоматического вакуумного процессора. Обезвоживание осуществлялось с помощью готового раствора Iso-

PREP (БиоВитрум, Россия). Для пропитывания обезвоженной ткани и приготовления блоков применяли среду HISTOMIX.

Изготовленные срезы толщиной не более 4 мкм, которые в дальнейшем депарафинировали, гидратировали, окрашивали гистологическими и гистохимическими методами по общепринятым стандартным методикам. Применялись окраски гематоксилин-эозин, азур-II-эозин, импрегнация серебром, по Массону.

При просмотре препаратов в костномозговых пространствах объем кровяной ткани не превышал 10-15%. Отмечалась практически полная редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, выявлялись хаотично располагающиеся без взаимосвязи с макрофагами эритроидные клетки. Кроме того, обнаруживались лакуны с уменьшенным количеством эритрокариоцитов и скопления экстрацеллюлярных эозинофильных масс, также отмечалось снижение количества синусоидальных сосудов костного мозга. У больных животных отчетливо вырисовывалась неоднородность рисунка коллагена костных балок подвздошной кости, свидетельствующая об изменении минерального матрикса трабекул. Также было выявлено снижение содержания коллагена I типа в костных трабекулах, включая зоны прилегания к эндостальным стромальным клеткам.

ВВЕДЕНИЕ

Подъем аграрной отрасли в России в начале нового века затронул и кролиководство. Появились заинтересованные фермеры, увеличилось поголовье живот-

ных в небольших частных хозяйствах. Увеличение продукции кролиководства, является также следствием постепенно увеличивающегося спроса на мясо кролика, оно является диетическим продуктом,

рекомендованным для питания детям, аллергикам и людям престарелого возраста. Мясо кролика выгодно отличается по своему химическому составу от говядины, свинины и баранины более высоким содержанием белка и меньшим жира (1).

Сдерживающим фактором в развитии столь перспективной отрасли являются разнообразные заболевания животных. К числу наиболее встречающихся заболеваний у кроликов многие исследователи относят патологии системы крови, в частности анемии. Данная патология встречается у кроликов в период их интенсивного роста (2-5 месяцев), из-за некачественного кормления животных и содержание в кормах токсичных веществ [1-10]. Целью данной работы являлось изучение патологических изменений у кроликов в костном мозге, обуславливают развитие анемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследований послужили цельных фрагментов метаэпифизов бедренных костей 10 кроликов с клиническим проявлением анемии. Материал фиксировался в нейтральном забуференном 10% формалине, декальцинация осуществлялась с использованием насыщенного раствора ЭДТА (Трилон Б) на протяжении 48-72 часов при температуре 37°. Обезвоживание и пропитывание ткани парафином проводилось по общепринятой стандартной методике. Гистологическая проводка осуществлялась с помощью автоматического вакуумного процессора Tissue-Tek Vip 5Jr (Sakura, Япония). Обезвоживание осуществлялось с помощью готового раствора IsoPREP (БиоВитрум, Россия) - абсолютизированный изопропанол 99,7%-ной концентрации с добавкой оксилфеноксиполитоксизтанола (Тритон X15) в соотношении 1:10000. Для пропитывания обезвоженной ткани и приготовления блоков применяли среду HISTOMIX.

Использовали следующий протокол гистологической проводки:
- 4 смены раствора IsoPREP, время экспозиции в каждой смене 1 час;

- 2 смены раствора IsoPREP, время экспозиции в каждой смене 1 час 30 мин;
- 4 смены HISTOMIX, время экспозиции в каждой смене 1 час.

С использованием ротационного микротомы Accu-cut SRM (Sakura, Япония) изготавливали срезы толщиной не более 4 мкм, которые в дальнейшем депарафинировали, гидратировали, окрашивали гистологическими и гистохимическими методами по общепринятым стандартным методикам. Применялись окраски гематоксилин-эозин, азури-эозин, импрегнация серебром, по Массону. Все полученные препараты оценивались визуально с помощью микроскопа Nikon Eclipse E200 со встроенной фотокамерой с окуляром x10, при объективах x20, x40. Анализ гистологических препаратов проводился в 20 полях зрения при увеличении 20x для каждого образца.

Контрольную группу составили 5 клинически здоровых кроликов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов материал был представлен кортикальной пластинкой и губчатой костной тканью. В костномозговых лакунах обнаруживались элементы трех ростков. Клетки гранулоцитарного ряда были представлены элементами на всех стадиях развития. Молодые предшественники в основном располагались эндостально, а также субэндостально в ассоциации с микрососудами и ретикулярными клетками. Зрелые гранулоциты были диффузно рассеяны среди адипозной ткани костномозговых лакун. Эритрокарициты образовывали островки вокруг макрофагов и вблизи ретикулярных клеток. Мегакариоцитарный росток был сохранен. Ретикулиновый каркас костного мозга при импрегнации препаратов серебром был представлен отдельными тонкими небольшими нитями ретикулиновых волокон, ориентированных в разных направлениях и не имевших пересечений.

В группе больных животных структура костного мозга отличалась от нормы. В костномозговых пространствах объем кроветворной ткани не превышал 10-15%

(рис.1). Отмечалась практически полная редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, выявлялись хаотично располагающиеся без взаимосвязи с макрофагами эритроидные клетки (рис.2).

Кроме того, обнаруживались лакуны с уменьшенным количеством эритрокариоцитов и скопления экстрацеллюлярных эозинофильных масс, также отмечалось снижение количества синусоидальных сосудов костного мозга.

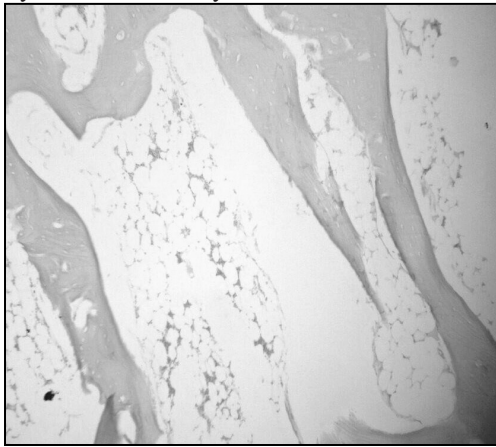


Рис.1. Костный мозг больных животных. Костные балки и гемопоэтическая ткань. Окраска гематоксилин-эозин, ув. 4х.

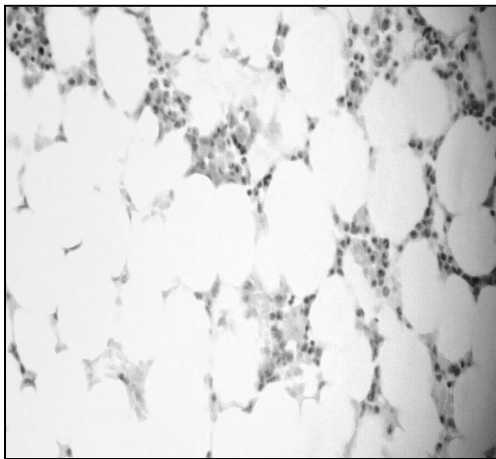


Рис.2. Костный мозг больных животных. Окраска гематоксилин-эозин, ув. 20х.

При изучении костных трабекул с использованием окраски по Массону оценивалось распределение коллагеновых волокон. Как известно белковый матрикс трабекул представлен коллагеном I типа (90%) и 10% неколлагеновыми протеинами. Соотношение белковых компонентов в норме сбалансировано и нарушение содержания одного из них неминуемо ведет к перестройке других. У больных животных отчетливо вырисовывалась неоднородность рисунка коллагена костных балок подвздошной кости, свидетельствующая об изменении минерального матрикса трабекул. Также было выявлено снижение содержания коллагена I типа в костных трабекулах, включая зоны прилегания к эндостальным стромальным клеткам. Это может быть связано с изменением функции эндостальных стромальных клеток, участвующих одновременно в остеогенезе и регуляции развития гемопоэтических предшественников.

В костной ткани также обращало на себя внимание увеличение количества остеоцитов на единицу длины костных трабекул, редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, нарушение соотношения жировая ткань-гемопоэз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные морфологические исследования кроветворной и стромальной ткани с использованием гистологических методов свидетельствуют о сложных патогенетических механизмах развития нарушений кроветворной функции костного мозга кроликов. Основной находкой при морфологическом исследовании гистологических препаратов костного мозга животных являлись признаки глубокой гипоплазии. При этом затрагивались все линии гемопоэтической дифференцировки – эритроидной, гранулоцитарной, мегакариоцитарной. Это обстоятельство свидетельствует о том, что патогенные факторы действуют на уровне клеток предшественников гемопоэза. Выявленные изменения взаимосвязи клеточных регуляторов эритропоэза с эритроидными клетками могут быть

одним из факторов развития гиперхромной анемии животных.

Changes in bone marrow histology in rabbits by anemia

S.Kovaljev, A.Ovsjannikov, P.Kiselenko
ABSTRACT

The most common pathology of the growing rabbit is anemia. This pathology in rabbits is observed during the period of their intensive growth (2-5 months). The authors studied the pathological changes in rabbits in the bone marrow due to the anemia. Material studies served as integral fragments of metaphyses of femurs of 10 rabbits with clinical manifestation of anemia. The material was fixed in neutral buffered 10% formalin, decalcification was carried out using a saturated solution of EDTA (Trilon B). Dehydration and impregnation of the tissue with paraffin was carried out according to conventional standard methods. Histological transaction was carried out by using an automatic vacuum processor. Dehydration was carried out using the prepared solution of IsoPREP (BioVitrum, Russia). For impregnation of the dehydrated tissue and cooking units used environment NTM.

Made the slices not thicker than 4 microns, which further has deparaffinized, hydrated, stained with histological and histochemical methods according to conventional standard methods. Used hematoxylin-eosin, with azure-II-eosin, silver impregnation, Masson.

When viewing the drugs into the marrow spaces of the volume of hematopoietic tissue did not exceed 10-15%. It was observed almost complete reduction of granulocytic and megakaryocyte sprouts, were detected randomly located no interaction with macrophages erythroid cells. In addition, gaps were found with a reduced number of erythrocytes and accumulation of extracellular eosinophilic masses, also noted the decline in the number of sinusoidal vessels in the bone marrow. Patients animals witnessed the heterogeneity of the pattern of bone collagen beams of the Ilium, showing the changes in the mineral matrix to form

trabeculae. It was also revealed the decrease in the content of type I collagen in bone trabecula, including the area of application to endothelium stromal cells.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев, Ю. Г. Ветеринарная клиническая гематология / Ю. Г. Васильев, Е. И. Трошин, А. И. Любимов. – Санкт-Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2015. - 656 с.
2. Грюн, П. Кролики / П. Грюн; пер. с нем. – Москва : Астрель : АСТ, 2003. – 128 с.
3. Ковалев, С. П. Нарушение ультраструктурной организации кровяного микроокружения костного мозга у больных анемией телят / С. П. Ковалев // Междунар. вестн. ветеринарии. - 2005. - № 2. - С.71-76.
4. Крячко, О. В. Влияние тимогена на эритропоэз при неспецифической бронхопневмонии поросят / О. В. Крячко, О. Д. Долгий // Ветеринария. – 1994. - № 12. - С.10-12.
5. Овсянников, А. Г. Этиология и клиническое проявление анемии у кроликов // Овсянников А. Г., Ковалев С. П. // Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2010. - № 4. - С. 93-95
6. Основные синдромы внутренних болезней животных / С. П. Ковалев [и др.]. - Санкт-Петербург, 2013. - 48 с.
7. Практикум по клинической диагностике с рентгенологией : учеб. пособие / Воронин Е. С. [др.]. – Москва : ИНФРА-М, 2014. - 336 с.
8. Симонян, Г. А. Ветеринарная гематология / Г. А. Симонян, Ф. Ф. Хисамутдинов. – Москва : Колос, 1995. - 256 с.
9. Хазимухаметова, И. Ф. Влияние гемобаланса на организм кроликов / И. Ф. Хазимухаметова, И. А. Васильева, Е. А. Шишкина // Животноводство и кормопроизводство. - 2013. - № 8. - С. 57-59.
10. Каюмова, А. F. Effect of dioxin derivatives on erythropoiesis in erythroblastic islands of bone marrow / А. F. Каюмова [et al.] // Organohalogen Compounds. – 1994. – Vol. 21. – P. 291-295.