

断奶仔猪铁过负荷的组织病理学观察

王天有, 钟华, 赵恒章, 王相如, 尚伟杰 (河南科技学院动物科学学院, 河南新乡 453003)

摘要 采用冰冻切片、组织化学染色技术, 对铁过负荷断奶仔猪的淋巴结、脾脏、肝脏等重要器官进行了组织学观察和研究。结果表明, 猪饲料中添加过量的补铁剂可造成猪的铁过负荷, 过剩的铁以铁血黄素的形式, 广泛沉积于单核吞噬细胞系统的细胞和肝窦及脾窦的内皮细胞, 从而使这些细胞呈现 Perl's 染色阳性。

关键词 断奶仔猪; 铁过负荷; 单核吞噬细胞系统; 含铁血黄素颗粒; 普鲁氏兰染色

中图分类号 S852.33 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)18-4620-02

Observation of Histological-Pathology in Weaned Pig with Iron Overload

WANG Tianyou et al (College of Animal Science, Henan Institute of Science & Technology, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract Iron is an important nutrient for human and animals, which deficiency or excessiveness in clinical may give rise to different diseases. Using frozen section and histological chemistry dyeing technique, the histological observation and research were carried out in lymph node, spleen, liver and other important organs of clinical weaned pig with iron overload. The result was discussed here. The surplus iron by the hemosiderin granules was widely deposited in mononuclear phagocyte system, endothelial cell of hepatic sinusoid and spleen sinusoid, causing these cells to present the Perl's dyeing nasculine gender. The result indicated that excessively supply of ferralia in pig's feed could be possible to make it iron overload. When it happened, the hemosiderin granules could be mainly deposited in mononuclear phagocyte system and capillary endothelial cell.

Key words Weaned pig; Iron overload; Mononuclear phagocyte system; Hemosiderin granules; Perl's Prussian blue dyeing

缺铁性贫血是新生仔猪的一种常见疾病。通常新生仔猪均需人工补铁, 这是因为新生仔猪体内的铁储量极少, 仅为 54 ng, 而母猪乳中含铁量约为 1.3 ng/L, 每天仅能为每头仔猪提供约 1 ng 铁。初生仔猪生长速度快, 对铁的需要量较大, 平均每日体内储备 6~8 ng 铁, 哺乳仔猪只有保证每日得到 7~16 ng 铁, 才能维持适宜水平的血红蛋白和铁储量^[1-2]。有研究表明, 初生仔猪生长发育迅速易引起缺铁性贫血^[3-5]。防止仔猪贫血的最有效办法是在仔猪出生后 2~3 d, 肌肉注射葡聚糖铁 150~200 ng, 能够维持 3 周内正常血红蛋白水平^[6]。缺铁可以造成人 T 淋巴细胞比率下降, 迟发性过敏反应下降, 细胞免疫缺损^[7]; 缺铁可致细胞(包括淋巴细胞)的能量代谢及核酸蛋白质合成障碍, 影响淋巴细胞的分裂增殖, 从而影响细胞免疫功能^[8]。

目前, 国内外有关微量元素铁的研究集中在铁对人和动物机体的营养和免疫机能方面, 而对铁过负荷(iron overload)对动物的毒副作用以及所引起的病理学变化, 研究很少。笔者在对送诊病仔猪进行组织病理学检查时发现, 一些病仔猪(40~80 日龄)除具有所患疫病特征性的病理学变化外, 它们的淋巴结、脾脏、肝脏等器官都呈现出深浅不一的棕红色。在组织切片中, 单核吞噬细胞系统的细胞内都出现有不同程度的铁沉积现象。为此, 笔者对断奶仔猪各重要器官进行组织病理学观察, 以期对猪铁过负荷的诊断提供依据。

1 材料与方 法

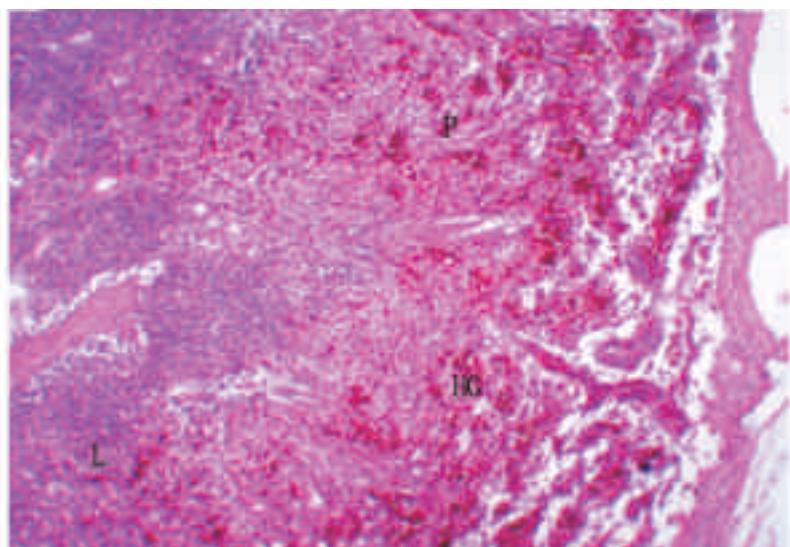
1.1 试验设备 Leica 冰冻切片机、PM10AD 显微镜及 HE 染色、普鲁氏兰染色法所需的器皿和药品。

1.2 组织材料 无菌采取病猪的淋巴结、脾脏、肝脏和脾脏, 生理盐水洗涤。

1.3 试验方法 将病猪的组织材料在冰冻切片机上切片, 切片厚 4 μm。每一种器官的切片均分为 A、B 两组, A 组以 HE 染色; B 组以普鲁氏兰染色。显微镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 淋巴结 由图 1 可看出, 在 HE 染色的标本中, 可见淋巴结的被膜、周围组织、小梁、弥散淋巴组织和淋巴窦内巨噬细胞明显增多, 尤其是周围组织内巨噬细胞一个接一个连成一片。所有巨噬细胞内都含有不同数量的含铁血黄素颗粒(hemosiderin granules, HG), 使其呈现出棕黄色。大多数巨噬细胞的胞核被 HG 所掩盖, 而难以识别。



注: P 为周围组织, L 为淋巴小结, HG 为含铁血黄素颗粒。

图 1 淋巴结冰冻切片 HE 染色(100 ×)

由图 2 可看出, 普鲁氏蓝染色的标本中, 淋巴结的被膜、输入淋巴管、周围组织、小梁、淋巴窦内都分布有内含 HG 的巨噬细胞, 它们的数量以周围组织内为最多。个体较小的 HG 呈蓝色; 个体较大的 HG 则呈深蓝色。含有大量 HG 的巨噬细胞聚集在一起连成一片, 使巨噬细胞失去清晰的轮廓, 无法识别; 而含 HG 较少的单个巨噬细胞, 则形态结构比较清晰, 易于识别。

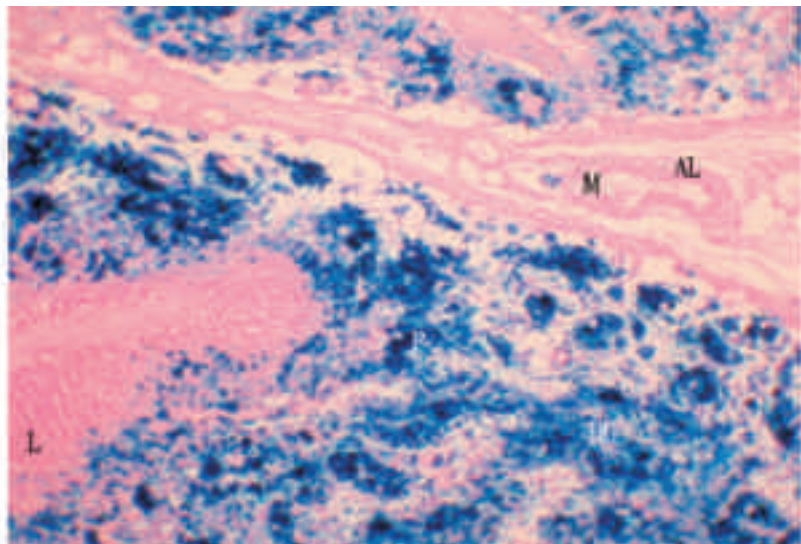
2.2 脾脏 在脾脏普鲁氏染色的标本中, 巨噬细胞的数量大幅度增加, 在胞浆中含有不同数量的棕黄色颗粒。含有 HG 的巨噬细胞主要分布于边缘区、脾索和脾窦内, 它们连成一片, 数不胜数; 而在动脉周围淋巴组织鞘内和脾小体内, 却少见有吞噬 HG 的巨噬细胞。

由图 4 可看出, 在普鲁氏蓝染色的标本中, 可看到脾窦内皮细胞也吞噬有 HG。同时在小梁静脉、脾静脉内的血液

作者简介 王天有(1946-), 男, 河南延津人, 副教授, 从事基础兽医学的教学和研究工作。

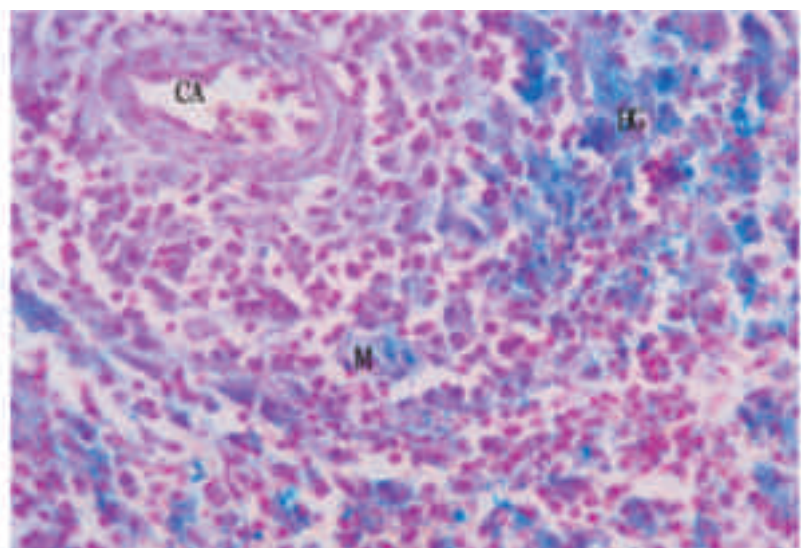
收稿日期 2006-07-01

中亦可看到大量的单核细胞含有HG。



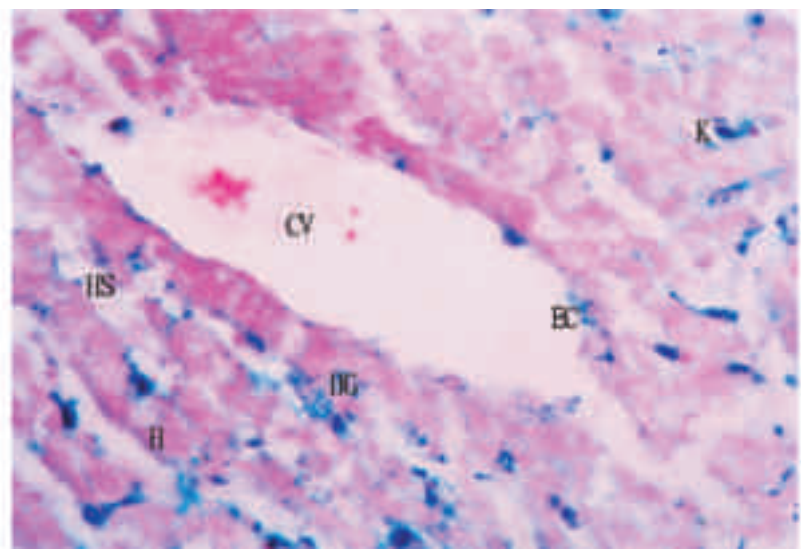
注:AL 为输入淋巴管,P 为周围组织,L 为淋巴小结,HG 为含铁血黄素颗粒,M 为巨噬细胞。

图2 淋巴结冰冻切片,普鲁氏蓝染色(100×)



注:CA 为中央动脉,M 为巨噬细胞,HG 为含铁血黄素颗粒。

图3 脾脏冰冻切片,普鲁氏蓝染色(400×)



注:H 为肝细胞索,K 为 Kupffer's cells, CV 为中央静脉,HS 为肝窦,EC 为内皮细胞, HG 为含铁血黄素颗粒。

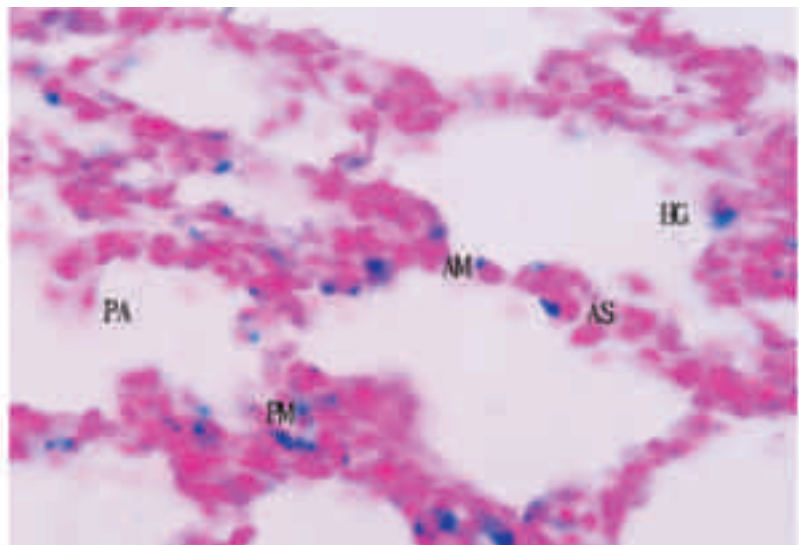
图4 肝脏冰冻切片,普鲁氏蓝染色(100×)

2.3 肝脏 在HE染色的标本中,仅可看到枯否氏细胞(Kupffer's cells)内含有棕黄色颗粒。而在普鲁氏蓝染色的标本中除观察到枯否氏细胞外,在肝窦和中央静脉的内皮细胞内亦发现少量的HG,但肝组织并无坏死和炎症(图4)。

2.4 肺脏 在HE染色的标本中,肺巨噬细胞和肺泡巨噬细胞的数量明显增加,在一些巨噬细胞内可见有棕黄色颗粒。在普鲁氏蓝染色的标本中,HG同时存在于2种巨噬细胞内,在一些肺泡毛细血管的内皮细胞内也可见HG(图5)。

3 讨论

3.1 断奶仔猪的铁过负荷 铁蛋白(ferritins,FR)是广泛存



注:PA 为肺泡,AS 为肺泡隔,PM 为肺巨噬细胞,AM 为肺泡巨噬细胞,HG 为含铁血黄素颗粒。

图5 肺脏冰冻切片,普鲁氏蓝染色(400×)

在于动植物界的贮铁蛋白。哺乳动物的肝、脾含铁蛋白最多,大部分存在胞浆中或在溶酶体及其他细胞器内。FR贮铁是受控的,当铁的摄入量超过需要量时,便刺激去铁蛋白的合成,然后捕获过多的铁形成FR^[9]。每个FR分子可以含大约4000个铁原子,这些富含铁的FR分子在胞浆中堆积起来,最终可聚集成簇,这些铁簇可被次级空泡吞噬、摄入溶酶体;在溶酶体中水解酶的作用下,蛋白质的外壳被降解,人们就把这些失去部分蛋白壳的完整铁核,称为含铁血黄素(hemosiderin, HS)。含铁血黄素可由显色剂着色,在显微镜下呈颗粒状^[8]。

观察发现,仔猪饲料中超剂量添加补铁剂,使仔猪铁的摄入量超过需要量,可导致仔猪铁过负荷。

3.2 铁过负荷时的组织病理学变化 当机体持续摄入过多的铁,超过了铁蛋白贮存量时,铁即以含铁血黄素的形式堆积于肝细胞中,造成肝细胞损伤^[10]。在铁过负荷时,脾脏的红髓及白髓巨噬细胞内可见大量含铁血黄素颗粒沉积^[11]。慢性铁中毒时肝脏组织病理学变化较典型,主要以轻度至中度的局灶性肝炎和伴有高度铁过载的铁沉着性肉芽肿为特征,几乎整个肝小叶均有铁质沉着及Perlps染色强阳性,单个细胞坏死,伴有明显的炎症病灶;铁质沉着体多而大,常聚积成团或连成片,主要集中在汇管区至中央静脉周围的肝细胞内^[12]。

试验表明,仔猪发生铁过负荷时含铁血黄素颗粒主要沉积于单核吞噬细胞系统,其次是肝脏、脾脏和肺脏毛细血管的内皮细胞。组织病理学变化表现为富含巨噬细胞的淋巴器官,淋巴细胞数量显著减少。血液中的单核细胞、肺脏的巨噬细胞、肝脏的枯否氏细胞的数量显著增多,因其沉积有大量HG,Perlps染色呈强阳性。肝窦、脾窦内皮细胞的胞质内也沉积有数量不等的HG,Perlps染色也呈阳性。笔者的研究结果与胡晓玲^[13]的研究结果很接近;与王宝琴等^[12]的研究结果一致,但不完全相同;这可能是动物铁中毒与铁过负荷的区别所在。

参考文献

- [1] 徐建雄,俞沛初,李家铨,等. 母猪饲料中添加蛋氨酸铁螯合物对预防仔猪贫血的影响[J]. 动物营养学报,1998,10(1):44-48.
- [2] 陈杖榴主编. 兽医药理学[M]. 北京:中国农业出版社,2005.
- [3] 曾丽莉,陈婉如,罗绪刚,等. 氨基酸铁络合物对新生和哺乳仔猪铁营养状况的影响[J]. 畜牧兽医学报,2003,34(1):1-8.

(上接第4621 页)

- [4] 李太平, 韩群英, 侯生珍, 等. 高浓度铁剂对哺乳仔猪生长发育的影响 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 1996, 26(5) :3 - 4.
- [5] 张乔, 苏晓鸥, 钱浩, 等. 饲料添加剂大全 M. 北京: 北京工业大学出版社, 1994.
- [6] 姜玉杰. 实用动物饲养学 M. 长春: 吉林科学技术出版社, 2002.
- [7] GOLDING S, YOUNG S P. Iron requirements of human lymphocytes :relative contributions of intra and extra cellular iron [J]. Scand. J. Immunol, 1995, 41 (3) :229 - 236.
- [8] 钱忠明. 铁代谢—基础与临床 M. 北京: 科学出版社, 2000.

- [9] KADR F H A, MOORE G R. Bacterial ferritin contains 24 heme groups [J]. F E B S Lett, 1990, 271:141 - 143.
- [10] 王学梅. 母猪饲料中添加氨基酸螯合铁预防仔猪贫血的研究 D. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002.
- [11] 路建平, 林肇辉. 大鼠铁过剩及铁缺乏对脾脏 ED₁、ED₂ 表达的调控 [J]. 中华病理学杂志, 1995, 24(1) :21 - 24.
- [12] 王宝琴, 魏战勇. 动物铁中毒 [J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(6) :25 - 28.
- [13] 胡晓玲, 王以薇, 施文艳. 高剂量铁中毒大鼠脏器铁蛋白和肌动蛋白的免疫组织化学观察 [J]. 微量元素与健康研究, 1999, 16(4) :6.