

*T. A. Вылегжанина, А. Ю. Зейналова, Н. А. Юзефович*

## ПРЕНАТАЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ СВИНЦА НА СТРУКТУРУ ПЕЧЕНИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

*В экспериментальном исследовании изучена структура печени потомства белых крыс в условиях действия во времени беременности самки низкой дозы ацетата свинца (1 мг/кг веса). Проведен гистологический, морфометрический и информационный анализ структур печени в контроле и эксперименте у новорождённых крысят.*

*Проведенные исследования показали, что пренатальное воздействие низких доз ацетата свинца не вызывает в структуре печени новорожденных значимых повреждений. Обнаружена лимфоцитарная инфильтрация в портальной области, полнокровие центральных вен, расширение гемокapилляров. Установлено статистически значимое увеличение в опыте по сравнению с контролем размеров ядер гепатоцитов, количества очагов кроветворения в паренхиме печени, расширение гемокapилляров.*

*Наблюдаемые изменения можно рассматривать как проявление адапционно-приспособительной реакции на действие антропогенных факторов при взаимоотношении плода и материнского организма.*

**Ключевые слова:** *ацетат свинца, структурная организация, печень, новорожденные белые крысы.*

*T. A. Vylegzhanina, A. Yu. Zejnalova, N. A. Yuzefovich*

## PRENATAL EFFECT OF LEAD ON THE LIVER STRUCTURAL ORGANIZATION OF NEWBORN RATS

*The liver structure of the offspring of white rats was studied under conditions of the action of a low dose lead acetate (1 mg/kg of body weight) female during pregnancy. Histological, morphometric and informational analysis of the liver structures in the control and experiment in newborn rat was carried out.*

*It has been shown that prenatal exposure to low doses of lead acetate does not cause significant damage to the liver structure of newborns. Lymphocytic infiltration in the portal area plethora of central vein, expansion of hemocapillaries were found. A statistically significant increase in the size of the nucleus of the hepatocytes, the number of foci of hematopoiesis in the parenchyma of liver, the expansion of hemocapillaries in the experiment compared with the control was established.*

*The observed changes can be considered as a magnification of an adaptive response to the action of anthropogenic factors in the relationship between the fetus and the maternal organism.*

**Key words:** *lead acetate, structural organization, liver, newborn white rats.*

Опасность воздействия низких концентраций свинца заключается в возможности поражения обширных групп населения вне производственной деятельности, в отсутствие, как правило, внешних видимых проявлений интоксикации и наличия скрытых изменений – функциональных, биохимических, иммунологических и др. До настоящего времени вопросы морфологии и патогенеза влияния низких концентраций свинца на развивающийся плод остаются недостаточно изученными. В процессе беременности женщины испытывают негативное влияние много-

численных неблагоприятных факторов внешней среды, в том числе и свинца. Даже не находясь во вредных условиях труда. Более того, в процессе беременности выделяется инкорпорированный свинец в костях матери, что создает условия для воздействия свинца еще во внутриутробный период развития [8].

Экспериментально показано, что соединения свинца могут проходить через гемато-плацентарный барьер вне зависимости от применяемой дозы, при этом наблюдается нарушение механизмов гемато-плацентарного барьера [7, 10, 11]. Следовательно, для изуче-

ния повреждающего влияния низких концентраций свинца на развивающийся организм естественной моделью может служить система мать-новорожденный.

**Цель исследования.** В экспериментальном исследовании установить влияние низких концентраций ацетата свинца через организм матери на структурную организацию печени потомства белых крыс.

**Задачи исследования.**

1. Изучить гистоархитектонику печени новорожденных крысят в норме и эксперименте.

2. Изучить морфометрические показатели структурных компонентов печени у новорожденных крысят в норме и эксперименте.

3. По данным морфометрических исследований выявить особенности развития печени потомства белых крыс при воздействии ацетата свинца на материнский организм.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на потомстве беспородных белых крыс. Контрольные и экспериментальные группы животных находились в обычных условиях вивария: естественное освещение, стандартный рацион и питьевой режим. Затравку ацетатом свинца в дозе 1 мг/на кг веса проводили с первого дня беременности самки и до рождения потомства. Согласно литературным данным эта доза относится к низким концентрациям свинца, не вызывает видимой патологии потомства, но вызывает морфофункциональные изменения в плаценте [4].

Материал брался после легкого эфирного наркоза и последующей декапитации с соблюдением всех правил работы с экспериментальными животными. Полученные образцы фиксировались в 10 % формалине и подвергались в дальнейшем процедурам, предусматривающим окраску гематоксилином – эозином.

**Гистологический метод исследования.** Каждый исследуемый случай подвергался обзорной микроскопии, при которой оценивался общий характер строения печени, особенности стромального и паренхиматозного компонентов, наличие или отсутствие очагов кровотока, наличие или отсутствие вторичных изменений (кровоизлияния, некроз, воспаление), состояние микроциркуляторного русла. Для оценки уровня морфофункциональной активности гепатоцитов на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, использовали морфометрические исследования и информационный анализ.

**Морфометрические методы** позволяют не только проводить количественную оценку, но и изучать качественные изменения, раскрывая сущность процессов [5]. Морфометрический анализ осуществляли с помощью программы ImageJ. Проводили кардиографию гепатоцитов, измеряли периметр, максимальный и минимальный диаметр ядер, вычисляли их площадь и ее логарифм, а также фактор формы и элонгацию.

Значения удельной площади синусоидных капилляров, цитоплазмы гепатоцитов, ядер гепатоцитов и очагов кровотока получали методом точечного счета с использованием автоматической системы анализа изображений. В каждом случае исследовали 30 полей зрения по 80 точек в каждом (всего по 2400 точек для каждого случая на общей площади 2 250 000 мкм<sup>2</sup>). Общее количество полей зрения и точек выбирали под контролем показателя коэффициента вариаций. Во всех исследуемых случаях коэффициент вариаций составил менее 2 %. В последствии вычислялось ядерно-цитоплазматическое отношение, которое рассчитывалось из соотношения удельной площади ядра к удельной площади цитоплазмы.

**Статистический анализ.** Учитывая, что распределение количественных параметров в большинстве выборок отличалось от нормального, для описательной статистики и выявления достоверности отличий использовались непараметрические методы статистической обработки данных [5]. Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни. Этот критерий используется для оценки различий между двумя малыми выборками по уровню количественно измеряемого признака. Для анализа гистограмм был использован одновыборочный критерий проверки нормальности Колмогорова-Смирнова, который основан на максимуме разности между кумулятивным распределением выборки и предполагаемым кумулятивным распределением. Различие считалось достоверным при  $p < 0,05$  [3]. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы Statistica (Version 10, Statsoft Inc.) для операционной среды Windows.

**Информационный анализ.** Основными параметрами информационного анализа являются два взаимосвязанных информационных критерия из теории информации – энтропия (H), относительная энтропия (h) и избыточность (R). Эти показатели являются интегральными критериями, с помощью которых можно характеризовать уровень дифференцировки клеточных, тканевых и органических структур в процессах онтогенеза и филогенеза [6].

### Результаты и обсуждение

Изучение гистоархитектоники печени плодов от самок, не получавших ацетат свинец, подтвердило общие закономерности органогенеза печени лабораторных животных и человека, описанные ранее другими исследователями [2].

При микроскопическом исследовании в контроле печень новорожденных крысят (1-ые сутки постнатальной жизни) не имеет четкого дольчатого строения, свойственного взрослым особям. Паренхима печени представлена в основном дифференцированными гепатоцитами с одним ядром. Клетки не образуют четких, радиально расположенных балок, чаще всего они формируют извитые ряды клеток без четкой ориентации.

Дифференцированные гепатоциты крупные полигональной формы клетки, цитоплазма оксифильна, иногда вакуолизирована. Ядро располагается в центре, округлое, хроматин чаще всего распределен диффузно, выявляются 2–3 ядрышка.

Соединительноткань прослойки практически не развиты. Портальные зоны в основном сформированы, отчетливо выявляются ветви портальной вены и желчный проток (рис. 1, А). Определяется будущая центральная вена (рис. 1, Б), в которой видны эритроциты. Синусоидные капилляры, как и гепатоциты не имеют четкой радиальной ориентации (рис. 1, А, Б). В паренхиме печени обнаружены очаги экстрава-

лярного кроветворения, располагающиеся между гепатоцитами (рис. 1, А, Б). В очагах кроветворения определяются лейкоциты, эритроциты, изредка встречаются клетки больших размеров – мегакарициты. По литературным данным у грызунов кроветворение в печени прекращается в первые 2–4 суток постнатального онтогенеза, а по некоторым данным к 2-недельному возрасту [1].

Строение печени экспериментальных новорожденных крысят. Структурная организация печени новорожденных крысят, родившихся от самок, которые получили свинец во время беременности, при визуальной оценке существенно не отличается от контрольных.

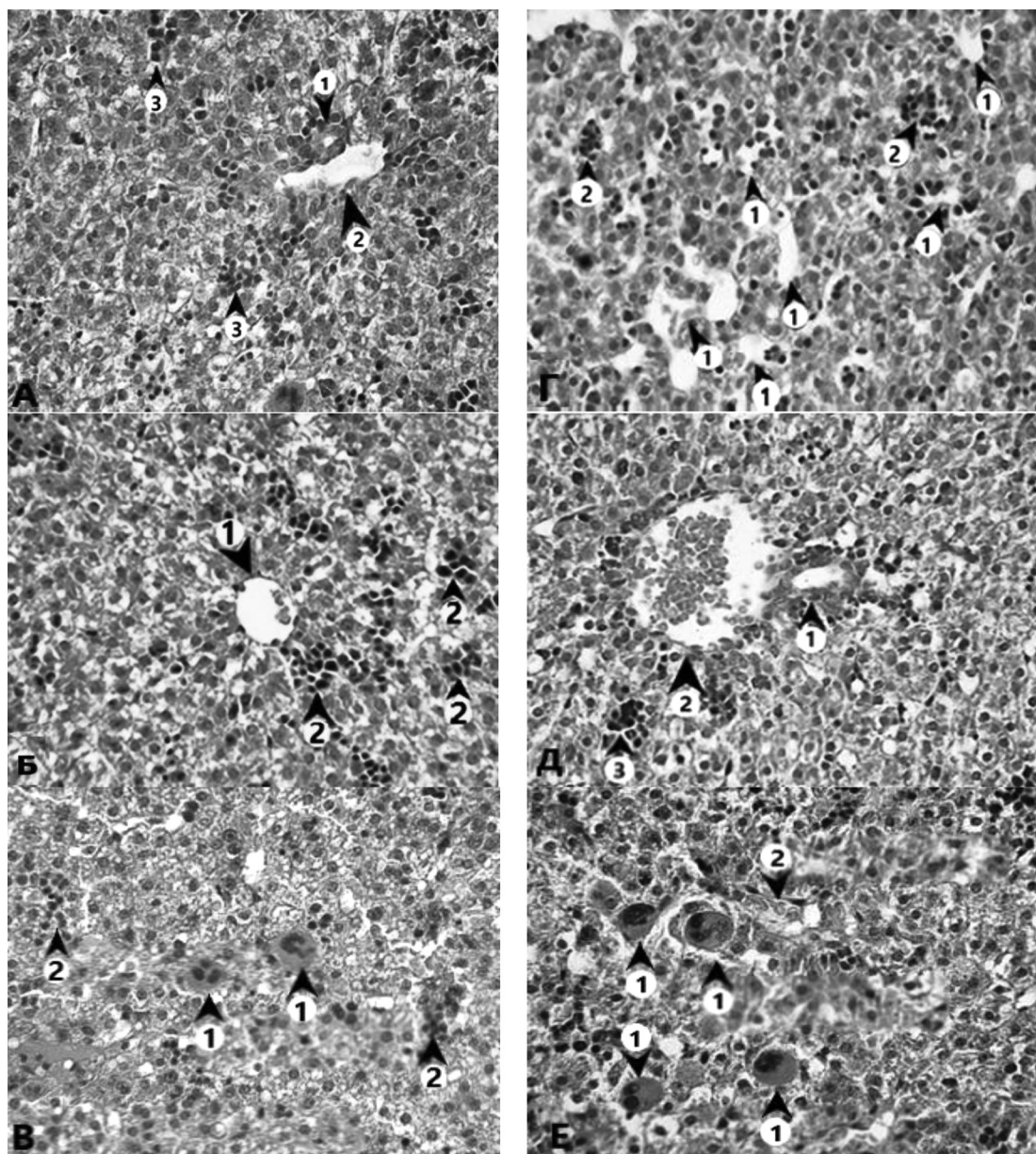


Рисунок 1. Печень новорожденных крысят в контроле (А, Б, В) и в опыте (Г, Д, Е). Окраска гематоксилин-эозин. ув. ×40

А: 1 – желчный проток; 2 – вена; 3 – очаги кроветворения. Б: 1 – центральная вена; 2 – очаги кроветворения.

В: 1 – мегакарицит; 2 – очаги кроветворения. Г: 1 – расширенные синусоидные капилляры; 2 – очаги кроветворения.

Д: 1 – образующийся желчный проток; 2 – вена; 3 – очаги кроветворения. Е: 1 – мегакарицит; 2 – расширенные синусоидные капилляры



Дольки не определяются, соединительнотканые прослойки не просматриваются, балки не сформированы, выявляются центральная вена и портальная область. Однако, сосуды микроциркуляторного русла расширены по сравнению с контрольными образцами, полнокровны (рис. 1, В, Г). В паренхиме органа встречаются формирующиеся портальные зоны, где хорошо видно вену и формирующийся желчный проток и протоковую пластинку (рис. 2, В). В паренхиме органа в большом количестве встречаются островки с гемопозитическими клетками, среди которых определяется значительное количество (по сравнению с контролем) больших многоядерных клеток – мегакариоцитов. Гепатоциты больших размеров с оксифильной цитоплазмой образуют скопления клеток, окруженные синусоидными капиллярами. Последние не имеют радиального расположения. Среди гепатоцитов встречаются клетки с митозом. Хроматин в ядрах гепатоцитов деспирализован, встречаются ядрышки.

Результаты морфометрического анализа печени контрольных и экспериментальных крысят представлены в таблице 1.

Выявлены достоверные отличия между контролем и опытом удельной площади цитоплазмы гепатоцитов и удельной площади очагов кроветворения. Это наглядно видно на диаграммах размаха рисунка 2.

Статистический анализ данных кариометрических показателей выявил статистически значимое

увеличение площади ядра гепатоцитов у опытных животных: в контроле медиана и интерквартильный размах площади ядра 22,920(20,330–25,260), в опыте 23,765(21,170–26,940) ( $P < 0,05$ ).

Анализ гистограмм распределения площади ядер гепатоцитов в контроле и опыте показал ее симметричность в контроле и незначительный сдвиг гистограммы в опыте вправо, за счет появления клеток с большим ядром, удельный вес которых в общем объеме невелик (рисунок 3).

Увеличение размеров ядер не сопровождается изменением ядерно-цитоплазматического отношения, поскольку результаты подсчета удельной площади цитоплазмы также показали статистически значимое увеличение этого показателя.

В проведенных исследованиях в норме у новорожденных крысят нами описаны в основном дифференцированные клетки. В то же время отсутствие четкого дольчатого строения, неупорядоченное распределение гепатоцитов и синусоидных капилляров, наличие протоковой пластинки, большого количества очагов кроветворения свидетельствует о том, что печень новорожденных крысят незрелая. Расчет информационных характеристик позволил выявить изменения в популяции гепатоцитов в опыте.

Показатель избыточности ( $R$ ) характеризует состояние системы. Биологическую систему с величиной избыточности, лежащей в пределах от 100 до 30 %

Таблица 1. Значения удельной площади показателей точечного счета в контроле и опыте

Показатель удельной площади	Группа		Уровень значимости (p)
	Контроль	Опыт	
	Me (25 %-75 %)	Me (25 %-75 %)	
Синусоидные капилляры	22,61 (21,65–23,00)	20,63 (20,39–21,83)	$P > 0,05$
Цитоплазма	48,15 (47,51–48,67)	42,82 (42,31–42,98)	$P = 0,01$
Ядра	18,59 (18,49–19,71)	17,13 (16,58–18,32)	$P > 0,05$
Очаги кроветворения	9,98 (9,53–10,57)	18,74 (18,02–19,27)	$P = 0,01$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,393 (0,389–0,409)	0,399 (0,360–0,433)	$P > 0,05$

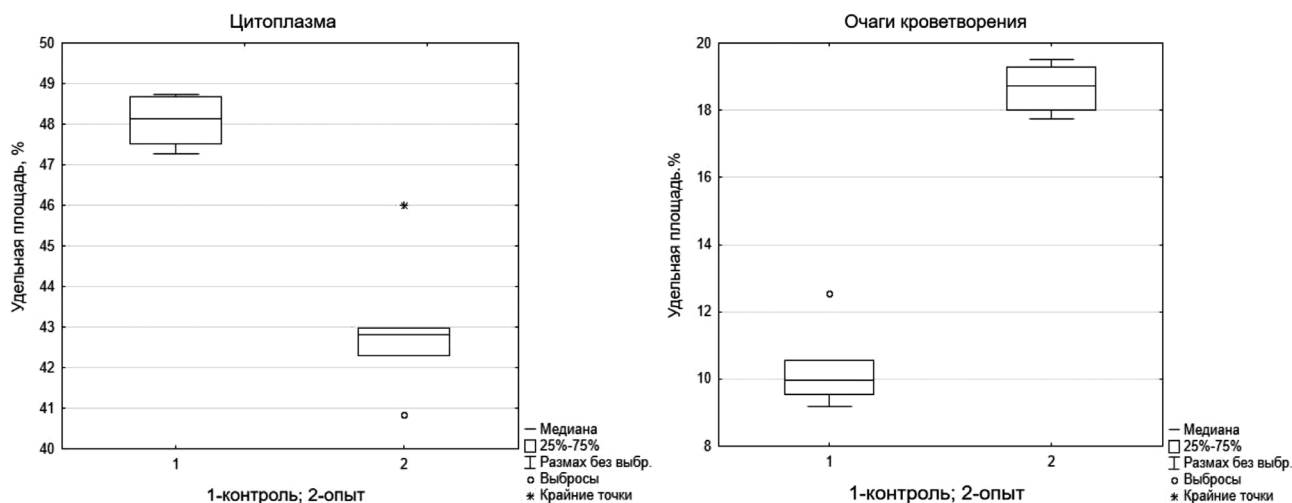


Рисунок 2. Диаграммы размаха удельной площади цитоплазмы, очагов кроветворения

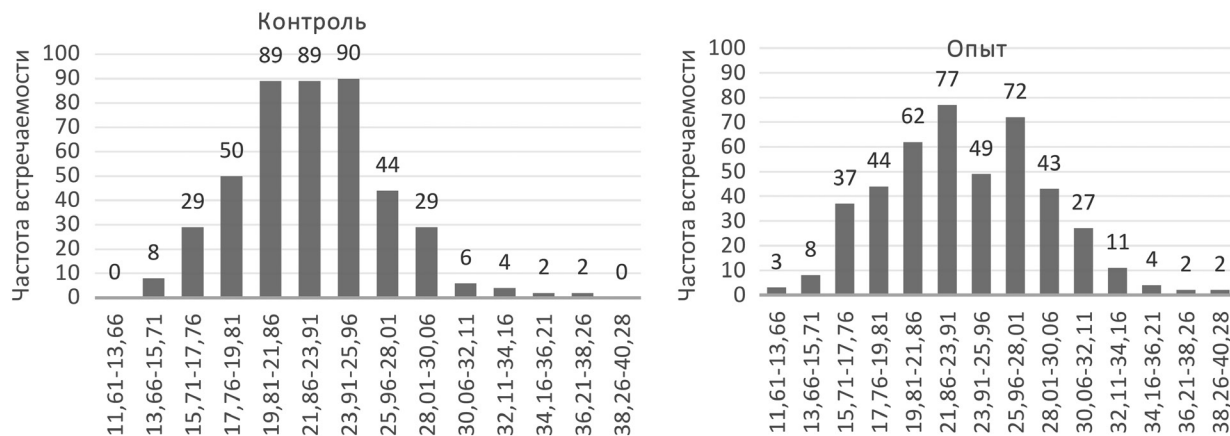


Рисунок 3. Гистограмма распределения площади ядер гепатоцитов новорожденных крысят в контроле и опыте. По оси абсцисс – площадь ядер, по оси ординат – частота встречаемости значений в этих интервалах

считают детерминированной. Если избыточность («организованность») биологической системы лежит в пределах 30–10 %, то такие системы обозначают как вероятностно-детерминированными. Вероятностные биологические системы характеризуются значениями избыточности, лежащими в пределах от 10 до 0 %. Информационная характеристика гепатоцитов в контроле свидетельствует о том, что печень новорожденных крысят как биологическая система является вероятностно-детерминированной [6].

Таблица 2. Информационные характеристики популяции гепатоцитов контрольных и опытных крысят

Группа	<i>h</i>	<i>R</i> , %
Логарифм площади		
Контроль	0,727	27,298
Опыт	0,648	35,132
Фактор формы		
Контроль	0,802	19,79
Опыт	0,739	25,98
Элонгация		
Контроль	0,75	24,87
Опыт	0,71	28,84

Снижение относительной энтропии (*h*) и повышение избыточности (*R*) в характеристике гепатоцитов печени новорожденных при внутриутробном воздействии свинца свидетельствует об изменении организованности их популяции по сравнению с контролем. Увеличение площади ядер в опыте, изменение информационных характеристик можно интерпретировать как активизацию процессов детерминации гепатоцитов. При этом в печени экспериментальных животных увеличивается количество очагов кроветворения на единицу площади. Считается, что морфология и фенотип гепатоцитов изменяется в процессе развития и эти процессы коррелируют с кроветворной активностью печени. Показано, что активные процессы гемопозеза могут подавлять некоторые функции печени, связанные с катаболическими процессами,

иммунной защитой, в то же время синтез углеводов, метаболизм ксенобиотиков усиливается [9].

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что пренатальное воздействие низких доз ацетата свинца не вызывает в структуре печени новорожденных значимых повреждений. Наблюдаемые изменения структурных, морфометрических характеристик свидетельствуют, скорее всего, об адаптационно-приспособительной реакции на действие антропогенных факторов при взаимоотношении плода и материнского организма.

### Литература

1. Верин, В. К. Дифференцировка гепатоцитов и холангиоцитов в эмбриональном и постнатальном периодах онтогенеза крыс / В. К. Верин // АГЭ. – 1982. – Т. 82, вып. 2. – С. 25–29.
2. Волкова, О. В., Пекарский М. И. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека. – М.: Медицина, 1976. – С. 412.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – С. 323–364.
4. Куликова, Г. В. Влияние низкой концентрации свинца на плаценту и плод: экспериментальное исследование: автореф. ... канд. биол. наук / Г. В. Куликова. – М., 2008.
5. Лакин, Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1990. – С. 352.
6. Леонтьук, А. С. Информационный анализ ядерно-цитоплазмических отношений // Актуальные проблемы теоретич. и клинич. медицины. – Минск: МГМИ, 1973. – С. 116–117.
7. Шубина, О. С. Влияние свицовой интоксикации на морфофункциональное состояние плацента-плод / О. С. Шубина, Ю. В. Киреева // Вестник ОГУ. – 2008. – № 6(88). – С. 118–121.
8. Bellinger, D. C. Teratogen update: lead and pregnancy / D. C. Bellinger // Birth Defects Res a Clin Mol Teratol. – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 409–420.
9. Guo, Y. Relationship between hematopoiesis and hepatogenesis in the midtrimester fetal liver characterized by dynamic transcriptomic and proteomic profiles / Y. Guo, J. Zhang // PloSone. – 2009. – Vol. 4, № 10. – P. 7641.
10. Han, S. Effects of lead exposure before pregnancy and dietary calcium during pregnancy on fetal development

and lead accumulation / S. Han, D. H. Pfizenmaier, E. Garcia, M. L. Eguez, M. Ling, F. W. Kemp // *Tnviron Yelth Perspect.* – 2000. – Vol. 108, № 6. – P. 527–531.

11. Li, P. J. Transfer of lead via placenta and breast milk in human / P. J. Li [et al.] // *Biomed environ Sci.* – 2000. – Vol. 13(2). – P. 85–89.

### References

1. Verin, V. K. Differencirovka gepatocitov i holangiocitov v embrional'nom i postnatal'nom periodah ontogeneza krysa / V. K. Verin // *AGE.* – 1982. – T. 82, vyp. 2. – S. 25–29.

2. Volkova, O. V., Pekarskij M. I. Embriogenez i vozrastnaya gistologiya vnutrennih organov cheloveka. – M.: Medicina, 1976. – S. 412.

3. Glanc, S. Mediko-biologicheskaya statistika: per. s angl. – M.: Praktika, 1998. – S. 323–364.

4. Kulikova, G. V. Vliyaniye nizkoj koncentracii svinca na placentu i plod: eksperimental'noe issledovanie: avtoref. ... kand. biol. nauk / G. V. Kulikova. – M., 2008.

5. Lakin, G. F. Biometriya: Ucheb. posobie dlya biol. spec. vuzov 4-e izd., pererab, i dop. – M.: Vysshaya shkola, 1990. – S. 352.

6. Leontyuk, A. S. Informacionnyj analiz yaderno-citoplazmennyh otnoshenij // *Aktual'nye problemy teoretich. i klinich. mediciny.* – Minsk: MGMI, 1973. – S. 116–117.

7. Shubina, O. S. Vliyaniye svicovoj intoksikacii na morfofunkcional'noe sostoyaniye placenta-ploda / O. S. Shubina, Yu. V. Kireeva // *Vestnik OGU.* – 2008. – № 6(88). – S. 118–121.

8. Bellinger, D. C. Teratogen update: lead and pregnancy / D. C. Bellinger // *Birth Defects Res a Clin Mol Teratol.* – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 409–420.

9. Guo, Y. Relationship between hematopoiesis and hepatogenesis in the midtrimester fetal liver characterized by dynamic transcriptomic and proteomic profiles / Y. Guo, J. Zhang // *PLoSone.* – 2009. – Vol. 4, № 10. – P. 7641.

10. Han, S. Effects of lead exposure before pregnancy and dietary calcium during pregnancy on fetal development and lead accumulation / S. Han, D. H. Pfizenmaier, E. Garcia, M. L. Eguez, M. Ling, F. W. Kemp // *Tnviron Yelth Perspect.* – 2000. – Vol. 108, № 6. – P. 527–531.

11. Li, P. J. Transfer of lead via placenta and breast milk in human / P. J. Li [and oth.] // *Biomed environ Sci.* – 2000. – Vol. 13(2). – P. 85–89.

Поступила 14.04.2021 г.