

# ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА НА СТРУКТУРУ КОРЫ КОНЕЧНОГО МОЗГА И КОНЦЕНТРАЦИЮ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ 20-ТИ ДНЕВНЫХ КРЫС-ПОТОМКОВ

THE EFFECT OF PRENATAL EXPOSURE TO LEAD ACETATE ON THE STRUCTURE OF THE CEREBRAL CORTEX AND THE CONCENTRATION OF MALONDIALDEHYDE IN THE PERIPHERAL BLOOD OF 20-DAY-OLD DESCENDANT RATS

*O. Komusova  
O. Kirdyashkina  
E. Gromova*

*Summary.* The aim of the work is a comparative study of the effect of prenatal exposure to lead acetate on the structure of the cerebral cortex and the concentration of MDA (malondialdehyde) in the peripheral blood of 20-day-old descendant rats. The study was conducted on 90 mongrel white rats — in the offspring of 20 females who received 45 mg/kg of lead acetate solution as a source of drinking throughout pregnancy. The cortex and peripheral blood were studied on day 20 using histological, biochemical, morphometric and statistical methods. Changes in the thickness of layers and sizes of neuronal bodies on day 20, a decrease in the number of normochromic neurons, the appearance of destructively altered neurons, shadow cells, a decrease in the total numerical density of neurons and an increase in MDA in blood serum were revealed.

*Keywords:* neurons, shadow cells, peripheral blood, lead intoxication, terminal brain, malondialdehyde.

Введение ацетата свинца во время беременности, приводит к ряду нарушений в организме плода на этапах гисто— и органогенеза. Изучение структурных основ деятельности головного мозга при действии различных токсических агентов является традиционным и важным направлением современной гистологии и нейроморфологии, так как именно он является особенно чувствительным.

При этом в сенсомоторной коре потомства наблюдаются признаки задержки развития и формирования нейронов, деструктивные и дистрофические изменения клеток («клетки-тени», кариоцитоллизис). Вместе с тем, динамика влияния интоксикации на различных этапах развития изучена недостаточно.

**Комусова Ольга Ивановна**

ФГБОУ ВО Мордовский государственный педагогический университет имени М.Е. Евсевьева, г. Саранск  
timoshkina03@mail.ru

**Кирдяшкина Ольга Викторовна**

ФГБОУ ВО Мордовский государственный педагогический университет имени М.Е. Евсевьева, г. Саранск  
sigma.ov@mail.ru

**Громова Елена Викторовна**

ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва, г. Саранск  
gromova-bx@yandex.ru

*Аннотация.* Целью работы является сравнительное изучение влияния пренатального воздействия ацетата свинца на структуру коры конечного мозга и концентрацию МДА (малоновый диальдегид) периферической крови 20-ти дневных крыс-потомков.

Исследование проведено на 90 беспородных белых крысах — в потомстве 20 самок, получавших 45 мг/кг массы экспериментального животного раствора ацетата свинца в качестве источника питья в течение всей беременности. Кору и периферическую кровь изучали на 20-е сутки с использованием гистологических, биохимических, морфометрических и статистических методов.

Выявлены изменения на 20 сутки толщины слоев и размеров тел нейронов, уменьшение количества нормохромных нейронов, появление деструктивно измененных нейронов, клеток-теней, снижение общей численной плотности нейронов и повышение МДА в сыворотке крови.

*Ключевые слова:* нейроны, клетки-тени, периферическая кровь, свинцовая интоксикация, конечный мозг, малоновый диальдегид.

Целью работы является сравнительное изучение влияния пренатального воздействия ацетата свинца на структуру коры конечного мозга и концентрацию МДА (малоновый диальдегид) периферической крови 20-ти дневных крыс-потомков.

## Материалы и методы исследования

Эксперимент выполнен на 20 самках беспородных белых крыс с массой  $230 \pm 20$  г (в потомстве 90 крысят) и проводился в помещении при температуре воздуха  $21 - 25$  °C и относительной влажности 65–70 %. Животные содержались в обычных условиях вивария, регламентируемых приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г.

Убой контрольной и опытной групп животных производили при помощи декапитации на 20 сутки, в утрен-

ние часы, под наркозом смеси эфира с хлороформом (1:1). Опыты проводили в соответствии с приказами МЗ СССР №755 от 12.08.77 и №701 от 27.07.78 об обеспечении принципов гуманного обращения с животными.

Крысы контрольной группы получали сбалансированный рацион питания и не имели изменений в водном режиме. Крысы подопытной группы на протяжении всей беременности получали раствор ацетата свинца дозой 45 мг/кг, в качестве единственного источника питья со дня обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках и до родов. В течение эксперимента производился контроль потребления беременными самками необходимого объема раствора ацетата свинца в соответствии с увеличивающейся массой тела самки.

На 20 день после рождения крысят взвешивали, декапитуировали, определяли массу тела и массу мозга. Головной мозг животных фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере (фирма «Биовитрум», Санкт—Петербург), заключали в парафин, готовили фронтальные серийные срезы толщиной 4–7 мкм (отступая кпереди -3,4 и -12,6 мм от брегмы), окрашивали гематоксилином-эозином, метиленовым синим по Нисслю [6].

Исследование гистологических препаратов проводилось с помощью цифрового микроскопа MT 4000 Series Biological Microscope с программным обеспечением для анализа изображений «Bio Vision Version 4.0», бинокулярного светового микроскопа (Axioscop «Carl Zeiss», Германия), цифровой системы видеодокументирования высокого разрешения Nikon DS-5Mc. Фотосъемку препаратов производили с помощью встроенной камеры, с последующей обработкой изображения в Adobe Photoshop Elements 11. Разрешение полученных изображений 1280×1024 пикселей.

Морфометрическое исследование проводилось на сериях срезов гистологических препаратов сенсорной коры и включало следующие показатели: толщину I–VI слоев коры головного мозга (при увеличении 4×10). В каждом случае измеряли 2–530 клеток в каждом слое сенсорной коры. На каждом срезе в 10 полях зрения с помощью микрометра подсчитывали общую численную плотность нейронов (объектив — x40, площадь поля зрения — 126850 мкм<sup>2</sup>), содержание нормохромных, гиперхромных несморщенных и гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней, определяли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) как частное от деления площади ядра и площади цитоплазмы [6].

Интенсивность процессов липопероксидации оценивалась по содержанию малонового диальдегида вторичного продукта перекисного окисления липидов. Содержа-

ние МДА определяли в сыворотке крови по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [7]. В основе метода лежит реакция между МДА и ТБК, которая при высокой температуре и кислом значении pH протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistika 8.0. Для проверки статистических гипотез использовали t-критерий Стьюдента для независимых и зависимых выборок. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение (s). Критический уровень значимости  $p \leq 0,01$ ,  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования

Значимых различий массы тела, массы мозга и соотношения массы мозга и массы тела у контрольных и опытных крысят не выявлено.

В исследованных слоях сенсорной коры головного мозга контрольных животных преобладали (>95 %) нормохромные нейроны, с четко выделяющимся при окраске по Нисслю цитоплазмой, ядром и ядрышком.

На препаратах сенсорной зоны коры молекулярный слой содержал редкие нейроны с овальной формой тела. Наружный зернистый слой образован мелкими и средними нейронами, имеющими чаще пирамидную или звездчатую форму. Наружный пирамидный слой представлен средними и крупными пирамидными нейронами, размер их перикариона возрастает в глубоких частях слоя. Нейроны содержат ядра, имеющие округлую форму. Внутренний зернистый слой представлен мелкими звездчатыми и пирамидными нейронами. Ядра нейронов имеют четко выраженную структуру. Внутренний пирамидный слой представлен пирамидными нейронами [2]. Полиморфный слой образован множеством нейронов различной величины и формы. Ядра небольшие с нормохромной структурой (табл. 1, 2, рис. 1).

При исследовании сыворотки крови содержание МДА составляло у контрольной группы животных  $1,74 \pm 0,01$  мкм/л. (табл. 4).

Общая численная плотность нейронов в опытной группе 1 во всех слоях снижалась, в большей степени в молекулярном, наружном пирамидном, внутреннем пирамидном и полиморфном слоях (табл. 2).

Воздействие ацетата свинца вызвало гистологические изменения в сенсорной коре во всех слоях в виде появления гиперхромных (рис. 1,2), гипохромных нейронов, клеток-теней, структурных изменений микрососудов (набухание, гиперхроматоз, пикноз ядер и десквамация эндотелиальных клеток).

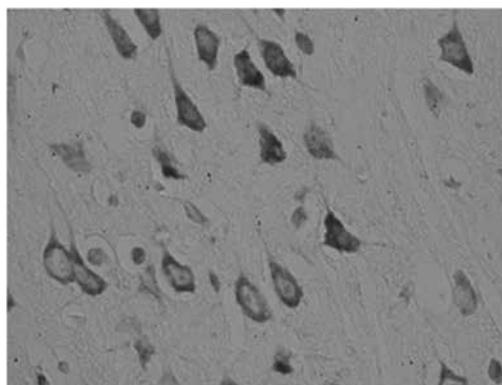


Рис. 1. Нейроны III слоя соматосенсорной коры (контроль). Окраска метиленовым синим по Нисслю. Об. 40х ок. 10

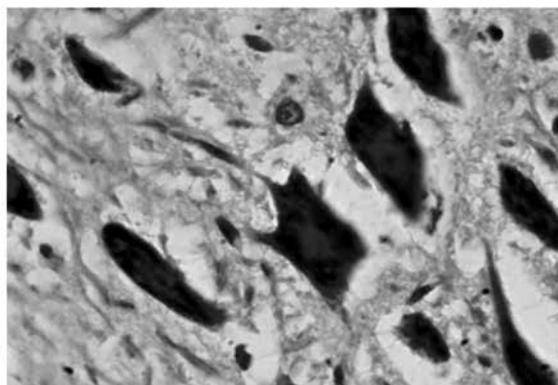


Рис. 2. Сморщенные гиперхромные нейроны в слое III соматосенсорной коры (опыт 1). Окраска метиленовым синим по Нисслю. Об. 100х ок. 10

Таблица 1. Морфометрические показатели толщины слоев коры головного мозга у крыс (M±s)

Слой неокортекса	Толщина слоя, мкм (M±s)	
	Контроль	Опыт 1
I	88,44±0,94	241,04±1,24*
II	162,81±0,46	157,82±0,71*
III	119,18±1,74	112,20±0,90*
IV	664,38±0,66	303,06±1,51*
V	285,61±0,99	260,94±1,44*
VI	580,63±1,66	555,50±2,22*

Примечание: \* — достоверно по отношению к контролю, P≤0,01.

Таблица 2. Общая численная плотность нейронов в соматосенсорной коре головного мозга у крыс (M±s)

Номер слоя	Численная плотность нейронов, в 1 мм <sup>3</sup>	
	Контроль	Опыт 1
I	20156±1007	11088±590*
II	31299±1050	20002±1000*
III	37205±1860	22079±1003*
IV	40335±2016	27455±1372*
V	43580±2845	30088±1255*
VI	42220±2406	30709±1805*

Примечание: \* — достоверно по отношению к контролю, P≤0,01.

При проведении сравнительного анализа результатов изучения цитоархитектоники соматосенсорной коры головного мозга крыс в контроле и у опытной группы отмечались статистически значимые изменения (табл. 3).

При сравнении содержания МДА в сыворотке периферической крови опытных групп с контрольной, обна-

Таблица 3. Результаты сравнительного изучения цитоархитектоники соматосенсорной коры головного мозга у крыс в контроле и при интоксикации ацетатом свинца (M±s)

Показатели	Содержание нейронов, в 1 мм <sup>3</sup>	
	Контроль	Опыт 1
Общая численная плотность нейронов коры	214795±10739	141421±7071*
Содержание нормохромных нейронов	203774,50±1088	87725±4386*
Содержание измененных нейронов	11020,50±110,20	53696±2684*
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,43±0,02	0,24±0,01*

Примечание: \* — достоверно по отношению к контролю; P≤0,01.

Таблица 4. Содержание МДА в сыворотке крови (M ± s)

Показатель	Контроль	Опыт 1
МДА, мкмоль/л	1,74±0,01	8,36±0,01*

Примечание: \* — достоверно по отношению к контролю; P≤0,01.

ружено статистически значимое увеличение в 7–10 раз (P≤0,01) (табл. 4), что связано с активацией перекисного окисления липидов, что является наиболее важным фактором повреждения мембран при острых экзогенных отравлениях. Являясь ионом с переменной валентностью, свинец способен инициировать процессы свободно-радикального окисления, приводя к усилению липопероксидации, что обусловлено снижением активности каталазы и супероксиддисмутазы [4, 5].

При проведении исследования на световом микроскопе микрососудов соматосенсорной коры головного мозга было установлено, что у животных перенесших

свинцовую интоксикацию наблюдались изменения микрососудов по типу отека-набухания [1].

Таким образом, полученные гистологические, морфометрические, биохимические данные свидетельствуют о развитии выраженных деструктивных изменений и гибели нейронов в сенсомоторной коре, вызванных воздействием токсиканта.

### Заключение и выводы

Выявленное уменьшение толщины коры мозга во II–VI слоях может быть связано с возникновением и активацией процессов апоптоза и некроза [1, 5, 6]. В свою очередь обнаружено увеличение толщины молекулярного слоя, что вероятно может быть связано с возникновением приваскулярного отека [1].

В исследуемой группе на 20-е сутки обнаружено уменьшение общей численной плотности нейронов, что

может быть связано с интенсивным ростом нейроглии по сравнению с телами нейронов. Соответственно дефицит нейронов сохранится у животных пожизненно.

Выявленные поврежденные и измененные нейроны, вероятно, связаны с нарушением водно-солевого обмена, а также окислительным стрессом, что подтверждено результатами МДА в нашем исследовании [7].

Выявленные структурные изменения могут лежать в основе неврологических и поведенческих нарушений у животных после интоксикации. Поведенческие нарушения включают когнитивные, сенсомоторные и эмоциональные расстройства [3]. К неврологическим дисфункциям, вызванным интоксикацией относится слуховая дисфункция, неспособность к обучению и обобщению, в частности нами было обнаружено, при проведении теста «открытое поле», ухудшение способности выработки пищевого рефлекса [3,6].

### ЛИТЕРАТУРА

1. Квитницкий-Рыжов, Ю.Н. Современное учение об отёке и набухании головного мозга / Ю.Н. Квитницкий-Рыжов. — Киев: Здоров'я, 1988. — 189 с.
2. Кузнецов, С.Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии: учеб. пособие для студ. вузов / С.Л. Кузнецов, Н.Н. Мушкамбаров, В.Л. Горячкина. — М.: Изд-во МИА, 2012. — 374 с.
3. Крушинский, Л.В. Формирование поведения животных в норме и патологии / Л.В. Крушинский. — М.: Изд-во МГУ. — 1960. — 263 с.
4. Павловская Н.А., Данилова Н.И. Клинико-лабораторные аспекты раннего выявления свинцовой интоксикации // Медицина труда и промышленная экология. — 2001. — №5. — С.18–22
5. Пьявченко, Г.А. Изменение количества нейронов в моторной коре крыс и их двигательная активность в возрастном аспекте / Г.А. Пьявченко // Морфология. — 2015. — Т. 147. — № 3. — С. 7–11.
6. Семченко, В.В. Постаноксическая энцефалопатия / В.В. Семченко, С.С. Степанов, Г.В. Алексеева // М-во здравоохранения Рос. Федерации, Рос. акад. мед. наук. Сиб. отд-ние, НИИ общ. реаниматологии и др. — Омск: Ом. гос. мед. акад., 1999. — 446 с.
7. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. — Москва: Наука, 1972. — 252 с.

© Комусова Ольга Ивановна (timoshkina03@mail.ru); Кирдяшкина Ольга Викторовна (sigma.ov@mail.ru);

Громова Елена Викторовна (gromova-bx@yandex.ru)

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»