

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-11-860-862>

УДК 636:615.9

© Коллектив авторов, 2020

Сахаутдинова Р.Р., Клинова С.В., Грибова Ю.В.

Цитоморфологические показатели мазков-отпечатков органов лабораторных животных как дополнительный метод оценки токсического влияния солей тяжелых металлов в эксперименте

ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора, ул. Попова, 30, Екатеринбург, Россия, 620014

Введение. Известно, что влияние свинца и кадмия является фактором риска для здоровья работающих в медеплавильном производстве. Выявлена связь между воздействием этих металлов и последующим развитием заболеваний органов мочевыделительной системы, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и нервной системы человека. Изучение воздействия свинца и кадмия в эксперименте на некоторые органы лабораторных животных с применением цитологического метода мазков — отпечатков с морфометрическим анализом в качестве экспресс-метода диагностики расширяет возможности изучения токсических эффектов солей тяжелых металлов в различных концентрациях.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на аутбредных крысах самцах (всего 24 особи) с начальным весом 220–225 гр., в возрасте 3,5 месяца. Исследованы 72 цитологических препарата мазков-отпечатков органов (печень, почки) и брыжеечных лимфатических узлов (БЛУ) крыс. Мазки окрашивались готовым раствором краски Лейшмана. Цитологические признаки изучены в световом бинокулярном микроскопе Carl Zeiss Primo Star с системой визуализации видеокамерой USCMOS при увеличении 100х и 1000х. При морфометрии печени и почек подсчет осуществлен на 200 клеток с каждого препарата, БЛУ на 100 клеток.

Результаты. Получены данные цитоморфологического исследования мазков-отпечатков печени, почек и БЛУ после воздействия солей кадмия и свинца в эксперименте. Описаны основные изменения клеточных соотношений в препаратах при субхронической внутрибрюшинной интоксикации.

Заключение. Применение метода мазков-отпечатков с цитоморфологической оценкой клеток при исследовании токсических эффектов солей тяжелых металлов позволяет получить дополнительные данные об активности патологического процесса и играет роль в понимании механизмов воздействия в эксперименте.

Ключевые слова: цитоморфология; крысы; печень; почки; лимфатический узел; свинец; кадмий

Для цитирования: Сахаутдинова Р.Р., Клинова С.В., Грибова Ю.В. Цитоморфологические показатели мазков-отпечатков органов лабораторных животных как дополнительный метод оценки токсического влияния солей тяжелых металлов в эксперименте. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60(11): 860–862. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-11-860-862>

Для корреспонденции: Грибова Юлия Витальевна, врач клинической лабораторной диагностики ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора. E-mail: gribova@umtmc.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 21.07.2020 / Дата принятия к печати: 19.10.2020 / Дата публикации: 03.12.2020

Renata R. Sakhautdinova, Svetlana V. Klinova, Yuliya V. Gribova

Cytomorphological indicators of smears-prints of organs of laboratory animals as an additional method for assessing the toxic effect of heavy metal salts in the experiment

Ekaterinburg Medical Centre of Science Preventive Maintenance and Health Protection of Workers of the Industrial Enterprises, 30, Popova str., Ekaterinburg, Russia, 620014

Introduction. It is known that the influence of lead and cadmium is a risk factor for the health of workers in the copper smelting industry. The relationship between exposure to these metals and the subsequent development of diseases of the urinary system, gastrointestinal tract, cardiovascular and nervous system of a person was revealed. The study of the effects of lead and cadmium in an experiment on some organs of laboratory animals using the cytological method of smears-prints with morphometric analysis as an Express diagnostic method expands the possibilities of studying the toxic effects of heavy metal salts in various concentrations.

Materials and methods. The experiment was conducted on outbred male rats (24 individuals in total) with an initial weight of 220–225 g, at the age of 3.5 months. 72 cytological preparations of smears-prints of organs (liver, kidneys) and mesenteric lymph nodes (MLN) of rats were studied. The smears were painted with a ready-made Leishman paint solution. Cytological features were studied in a Carl Zeiss Primo Star light binocular microscope with a USCMOS video camera imaging system at magnification of 100x and 1000x. In liver and kidney morphometry, the count was carried out for 200 cells from each drug, MLN for 100 cells.

The data of cytomorphological examination of smears-prints of the liver, kidneys and MLN after exposure to cadmium and lead salts in the experiment were obtained. The main changes in the cellular ratios in preparations with subchronic intraperitoneal intoxication are described.

Conclusions. The use of the smear-fingerprint method with cytomorphological assessment of cells in the study of the toxic effects of heavy metal salts allows us to obtain additional data on the activity of the pathological process and plays a role in understanding the mechanisms of exposure in the experiment.

Keywords: cytomorphology; rats; liver; kidneys; lymph node; lead; cadmium

For citation: Sakhautdinova R.R., Klinova S.V., Gribova Yu.V. Cytomorphological indicators of smears-prints of organs of laboratory animals as an additional method for assessing the toxic effect of heavy metal salts in the experiment. *Med. труда i prom. ekol.* 2020; 60(11): 860–862. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-11-860-862>

For correspondence: Yuliya V. Gribova, Doctor of Clinical Laboratory diagnostics, Ekaterinburg Medical Centre of Science

Preventive Maintenance and Health Protection of Workers of the Industrial Enterprises. E-mail: gribova@ymrc.ru

Information about authors: Sakhautdinova R.R. <https://orcid.org/0000-0002-2726-9259>

Klinova S.V. <https://orcid.org/0000-0002-0927-4062>

Gribova Yu.V. <https://orcid.org/0000-0003-1159-6527>

Funding. The study has no funding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 21.07.2020 / Accepted: 19.10.2020 / Published: 03.12.2020

Введение. Основным сырьем медеплавильных предприятий является медно-сульфидные руды и продукты их обогащения, в состав которых входит кадмий, свинец, мышьяк и другие металлы. По данным многочисленных исследований кадмий и свинец относятся к крайне токсичным элементам, оказывающим отрицательное влияние на работающих, проявляющихся в повышенных показателях общей и первичной заболеваемости. Необходимость решения вопросов, связанных с изучением влияния данных металлов как факторов медеплавильного производства на организм рабочих обуславливает актуальность поиска новых диагностических методов исследования, включая экспериментальные работы.

Техника мазков-отпечатков впервые была применена нашим коллективом в исследовании токсичности металлосодержащих наночастиц [1–3]. Интерес представляет изучение цитологических характеристик клеток в препаратах мазков-отпечатков некоторых органов, полученных в ходе

эксперимента на примере субхронической интоксикации солями кадмия, свинца и их комбинации [4].

Материалы и методы. В исследование брались органы и БЛУ аутбредных крыс самцов (24 особи), с начальным весом 220–225 гр., в возрасте 3,5 месяца после субхронической интоксикации, которая была вызвана повторными внутрибрюшинными инъекциями $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ в дозе 5,5 мг/кг и $CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$ в дозе 0,38 мг/кг и их комбинации 3 раза в неделю (всего 18 введений).

После декапитации у животных из каждой группы извлекали исследуемые органы и БЛУ. С печени, почек, БЛУ делали мазки-отпечатки, которые высушивали при комнатной температуре, окрашивали по Лейшману. Клеточный состав и цитологические признаки оценивали в световом бинокулярном микроскопе Carl Zeiss Primo Star с системой визуализации видеокамерой USCMOS при увеличении 100x и 1000x в соответствии с цитологическими критериями. При микроскопировании препаратов

Таблица 1 / Table 1

Цитологические характеристики тканевых отпечатков печени в % к общему числу подсчитанных клеток в препарате после субхронического воздействия раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации в процентах от общего количества клеток ($\bar{X} \pm S_x$).

Cytological characteristics of liver tissue prints in % of the total number of counted cells in the preparation after subchronic exposure to a solution of 2.5-water cadmium chloride, a solution of 3-water lead acetate and their combination as a percentage of the total number of cells ($\bar{X} \pm S_x$).

Показатели	Контроль	Раствор 2.5-водного хлорида кадмия	Раствор 3-водного ацетата свинца	Комбинация
Дегенеративно-измененные гепатоциты	5,83±0,60	18,00±2,08*	14,17±0,60*	18,17±1,14*
Дегенеративные клетки проксимальных канальцев, почки	7,00±0,73	12,83±0,60*	18,17±0,98*	17,33±1,02*
Дегенеративные клетки дистальных канальцев, почки	5,33±0,33	6,67±0,49*	8,83±0,79*	10,50±0,43*

Примечание: * статистически значимое различие с группой «контроль» (при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Note: * statistically significant difference with the "control" group (at $p < 0.05$ according to the Student's t-test).

Таблица 2 / Table 2

Показатели гиперергического воспаления в тканевых мазках-отпечатках после 18 введений внутрибрюшинных инъекций раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации, в процентах от общего количества клеток ($\bar{X} \pm S_x$).

Indicators of hyperergic inflammation in tissue smears-prints after 18 intraperitoneal injections of a solution of 2.5-water cadmium chloride, a solution of 3-water lead acetate and their combination, as a percentage of the total number of cells ($\bar{X} \pm S_x$).

Показатели	Раствор 2.5-водного хлорида кадмия			Раствор 3-водного ацетата свинца			Комбинация		
	печень	почки	БЛУ	печень	почки	БЛУ	печень	почки	БЛУ
Нейтрофилы	6,50±0,76*	8,83±0,79*	1,00±0,00	14,50±0,99*	7,50±0,34	1,50±0,22	13,17±1,19*	8,00±0,58	1,17±0,17
Эозинофилы	3,00±0,37	1,83±0,31	2,60±0,68	9,67±0,84*	1,67±0,21	3,17±0,30	10,00±1,06*	1,50±0,22	3,33±1,02
Контроль нейтрофилы	9,83±0,91	6,50±0,56	1,60±0,24	9,83±0,91	6,50±0,56	1,60±0,24	9,83±0,91	6,50±0,56	1,60±0,24
Контроль эозинофилы	3,50±0,43	2,00±0,26	3,20±0,49	3,50±0,43	2,00±0,26	3,20±0,49	3,50±0,43	2,00±0,26	3,20±0,49

Примечание: * статистически значимое различие с группой «контроль» (при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Note: * statistically significant difference with the "control" group (at $p < 0.05$ according to the Student's t-test).

печени и почек подсчитывали 200 клеток с каждого мазка. Цитограмму БЛУ считали на 100 клеток [5]. Количество исследований 72. Различия между среднегрупповыми количественными результатами обрабатывали с помощью критериев Стьюдента с использованием компьютерной программы *Excel*. Различия между средними величинами считалось статистически значимым, если вероятность возникновения случайного различия не превышала 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. Анализ цитограмм тканевых отпечатков позволил выделить основные типы клеточных изменений, которые развиваются в органах крыс при воздействии солей кадмия, свинца и их комбинации. Достоверные дегенеративно-дистрофические изменения были выявлены в мазках-отпечатках печени и почках разной степени выраженности во всех опытных группах (**табл. 1**). Особенно стоит отметить увеличение клеток с дистрофическими изменениями, как в препаратах почек, так и печени при воздействии комбинации солей, что сопоставимо с результатами гистологического исследования [4].

Второй тип клеточных изменений вызван развитием воспаления с преобладанием гиперергического ответа в печени и характеризуется достоверным повышением, при сравнении с контролем, эозинофилов и сегментоядерных нейтрофилов при воздействии свинца и комбинации со-

лей. Достоверное увеличение элементов воспаления наблюдалось в группах при воздействии кадмия и комбинации солей в препаратах почек и печени без статистически значимого изменения уровня эозинофилов (**табл. 2**).

Для оценки реакции иммунокомпетентных органов были подготовлены препараты БЛУ. При оценке препаратов обращает на себя внимание, что суммарная доля зрелых лимфоцитов и пролимфоцитов в группе с солями свинца значимо меньше ($82,67 \pm 1,54$), чем в группе контроля ($86,80 \pm 0,86$). Также отмечено достоверное снижение уровня макрофагов в группе воздействия солями кадмия ($1,60 \pm 0,24$) и эозинофилов ($2,60 \pm 0,68$) по сравнению с контрольной группой ($2,60 \pm 0,24$) и ($3,20 \pm 0,49$) соответственно.

Заключение. Таким образом, метод мазков отпечатков представляет информативным в изучении токсического действия солей тяжелых металлов в эксперименте. Выявлены дистрофических изменения эпителия в препаратах печени и почек при субхронической интоксикации во всех опытных группах разной степени выраженности. Наиболее показательными и статистически значимые цитоморфологические изменения были получены при анализе мазков отпечатков печени после воздействия раствора 3-водного уксуса свинца в оценке формирования воспалительной реакции гиперергического типа по полученным процентным сдвигам эозинофилов и сегментоядерных нейтрофилов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Минигалиева И.А., Клинова С.В., Панов В.Г., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Привалова Л.И., Валамина И.Е. Анализ комбинированной субхронической токсичности свинца и кадмия по их действию на сердечно-сосудистую систему. *Гигиена и санитария*. 2020; 99(1): 103–8.
2. Bibbo M., Wilbur D. *Comprehensive cytopathology*; 2008.
3. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Bushueva T.V., Sakhautdinova R.R., Klinova S.V., Solovyeva S.N., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Makeyev O.H., Meshtcheryakova E.Y., Panov V.G., Varaksin A.N. Combined subchronic toxicity of aluminum (III), titanium (IV) and silicon (IV) oxide nanoparticles and its alleviation with a complex of bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19 (3): 837.
4. Сахаутдинова Р.Р., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Бушueva Т.В. Применение цитологического метода исследования мазков у экспериментальных животных для оценки токсического действия металлодержащих наночастиц. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (1): 120–4.
5. Bazeluk L.T., Duzbaeva N.M., Khanturina G.R. Temirtau Dust Chronic Exposure on Experimental Animals. *European Researcher*. 2013; 6 (1): 1618–23.
1. Minigalieva I.A., Klinova S.V., Panov V.G., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Privalova L.I., Valamina I.E. Studying combined subchronic toxicity of lead and cadmium with a special focus in terms of their cardiovascular effects. *Gigiyena i san.* 2020; 99 (1): 103–8.
2. Bibbo M., Wilbur D. *Comprehensive cytopathology*; 2008.
3. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Bushueva T.V., Sakhautdinova R.R., Klinova S.V., Solovyeva S.N., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Makeyev O.H., Meshtcheryakova E.Y., Panov V.G., Varaksin A.N. Combined subchronic toxicity of aluminum (III), titanium (IV) and silicon (IV) oxide nanoparticles and its alleviation with a complex of bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19 (3): 837.
4. Sakhautdinova R.R., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Bushueva T.V. A cytological study of imprint smears (touch preparation cytology) to evaluate the toxicity of metal-containing nanoparticles in experimental animals. *Gigiyena i san.* 2020; 99 (1): 120–4.
5. Bazeluk L.T., Duzbaeva N.M., Khanturina G.R. Temirtau Dust Chronic Exposure on Experimental Animals. *European Researcher*. 2013; 6 (1): 1618–23.