

Тканевый и ультраструктурный анализ печени крыс препубертатного возраста при субтоксическом воздействии кадмия и свинца

П.А. Елясин, С.В. Залавина, А.Н. Машак, Ю.Р. Равилова, С.В. Машак, С.В. Айдагулова

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

С помощью световой и электронной микроскопии изучено влияние интоксикации сульфатом кадмия (Cd) и ацетатом свинца (Pb) в течение 3 нед на архитектуру паренхимы печени и ультраструктурные особенности гепатоцитов 40 крыс-самцов Вистар препубертатного возраста с учетом модели классической печеночной дольки. Животные были разделены на 4 группы: 1-я – контроль; 2-я – раствор сульфата кадмия в дозе 0.5 мг/кг; 3-я – раствор ацетата свинца 10 мг/кг; 4-я – сочетание указанных растворов. По данным стереологического анализа полутонких срезов статистически значимые показатели перипортальных зон отражают увеличение объема гепатоцитов при воздействии Cd (2-я и 4-я группы). Во всех группах, за исключением 3-й (Pb), выявлено увеличение паренхиматозного компартмента в порто-венулярном градиенте, свидетельствующее о формировании «баллонной» дистрофии. Во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной дольки характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности эндоплазматической сети; для центростремительной зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов. Формирование аутофагосом с признаками утилизации преимущественно митохондрий обращало на себя внимание в группах с воздействием Pb. Патологические изменения компенсированы усилением транссинусоидального обмена и наличием комплексов органелл биосинтеза.

Ключевые слова: печень, тяжелые металлы, крысы препубертатного возраста, тканевый анализ, ультраструктура, морфометрия.

Образец цитирования: Елясин П.А., Залавина С.В., Машак А.Н., Равилова Ю.Р., Машак С.В., Айдагулова С.В. Тканевый и ультраструктурный анализ печени крыс препубертатного возраста при субтоксическом воздействии кадмия и свинца // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):80–92. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-80-92

Tissue and ultrastructural analysis of the liver of prepubertal rats under subtoxic exposure to cadmium and lead

P.A. Elyasin, S.V. Zalavina, A.N. Mashak, Yu.R. Ravilova, S.V. Mashak, S.V. Aidagulova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Using light and electron microscopy, the effect of intoxication with cadmium sulfate (Cd) and lead acetate (Pb) for 3 weeks on the architectonics of the liver parenchyma and ultrastructural features of hepatocytes of 40 prepubertal male Wistar rats was studied, taking into account the model of the classical hepatic lobule. Animals were divided into 4 groups: 1st – control; 2nd – cadmium sulfate solution at a dose of 0.5 mg/kg; 3rd – lead acetate solution 10 mg/kg; 4th – a combination of these solutions. According to stereological analysis of semi-thin sections, statistically significant indicators of periportal zones

Поступила в редакцию 15.09.2021
Прошла рецензирование 21.09.2021
Принята к публикации 15.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Елясин Павел Александрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: elyasin@ngs.ru

Received 15.09.2021
Revised 21.09.2021
Accepted 15.10.2021

Corresponding author
Pavel A. Elyasin: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: elyasin@ngs.ru

reflect an increase in the volume of hepatocytes when exposed to Cd (2nd and 4th groups). In all groups, with the exception of the 3rd one (Pb), an increase in the parenchymal compartment in the porto-central gradient was revealed, indicating the formation of hepatocellular ballooning. In all experimental groups, for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a statistically significant decrease in the volumetric density of the endoplasmic reticulum; for the centrilobular zone – of mitochondria; for the perivenular zone – mitochondria and nuclei of hepatocytes. The formation of autophagosomes with signs of predominantly mitochondrial utilization attracted attention in groups exposed to Pb. Pathological changes are compensated by increased transsinusoidal metabolism and complexes of biosynthesis organelles.

Keywords: liver, heavy metals, prepubertal rats, tissue analysis, ultrastructure, morphometry.

Citation example: Elyasin P.A., Zalavina S.V., Mashak A.N., Ravilova Yu.R., Mashak S.V., Aidagulova S.V. Tissue and ultrastructural analysis of the liver of prepubertal rats under subtoxic exposure to cadmium and lead. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):80–92. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-80-92

ВВЕДЕНИЕ

В результате современной индустриализации металлы кадмий (Cd) и свинец (Pb), не участвующие в нормальном метаболизме человека, все шире распространяются в экосистемах, что приводит к их биоаккумуляции и возрастающему токсическому воздействию с формированием ряда патологий [1–3]. Содержание Cd в связи с промышленной и сельскохозяйственной деятельностью человека неуклонно повышается в воде и воздухе, а также в растениях и животных. Кроме того, Cd, имея очень низкий показатель полувыведения (25–30 лет), поступает в легкие человека при активном и пассивном курении, способствуя развитию многих заболеваний, в том числе опухолевых [4, 5]. Таким же опасным загрязнителем окружающей среды является Pb, попадающий в организм через дыхательную и пищеварительную системы, а также через кожу и оказывающий сильное токсическое воздействие на человека с развитием патологии нервной, респираторной и других систем [3]. Независимо от пути инкорпорации, оба токсиканта оказывают негативное воздействие на печень, которая играет ведущую роль в метаболизме ксенобиотиков [4].

Среди механизмов и структурных проявлений любого токсического воздействия на органы и ткани большую роль играет внутриклеточная аутофагия с помощью лизосом [6], являющаяся в норме высококонсервативным процессом утилизации митохондрий и последовательной деградации включений до аминокислот, глюкозы и свободных жирных кислот в качестве источников энергии и функций биосинтеза. В гепатоцитах аутофагия участвует в основных гомеостатических функциях (глюконеогенезе, гликогенолизе, окислении жирных кислот). Наряду с этим аутофагия связана с патогенезом ряда заболеваний: неалко-

INTRODUCTION

As a result of modern industrialization, cadmium (Cd) and lead (Pb) metals, which are not involved in normal human metabolism, are widely distributed in ecosystems, which leads to their bioaccumulation and increasing toxic effects with the formation of a number of pathologies [1–3]. The content of Cd in view of industrial and agricultural activities of man is steadily increasing in water and air, as well as in plants and animals. In addition, Cd having a very low half-life rates (25–30 years) enters the human lungs during active and passive smoking, contributing to the development of many diseases, including tumors [4, 5]. The same dangerous environmental pollutant is Pb, which enters the body through the respiratory and digestive systems, as well as through the skin and has a strong toxic effect on humans with the development of pathology of the nervous, respiratory and other systems [3]. Regardless of the route of incorporation, both toxicants have a negative effect on the liver, which plays a leading role in the metabolism of xenobiotics [4].

Among the mechanisms and structural manifestations of any toxic effect on organs and tissues, an important role is played by intracellular autophagy with the help of lysosomes [6], which is normally a highly conserved process of mitochondrial utilization and sequential degradation of inclusions to amino acids, glucose, and free fatty acids as energy sources and biosynthesis functions. In hepatocytes, autophagy is involved in major homeostatic functions (gluconeogenesis, glycogenolysis, fatty acid oxidation). Along with this, autophagy is associated with the pathogenesis of a number of diseases: non-alcoholic steatohepatitis, storage diseases, and toxic, including drug-induced, liver lesions, studied in the clinic and experiment, mainly in adults [7, 8]. The toxic

гольным стеатогепатитом, болезнями накопления и токсическими, в том числе лекарственными, поражениями печени, исследованными в клинике и эксперименте преимущественно у взрослых [7, 8]. Токсическое влияние тяжелых металлов на печень у детей требует более пристального внимания, поскольку имеет не только медицинское, но и социальное значение.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния хронической интоксикации сульфатом кадмия и ацетатом свинца на архитектонику паренхимы печени и ультраструктурные особенности гепатоцитов крыс препубертатного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Крысята-самцы Вистар препубертатного возраста (adolescents, 4 нед) массой тела 80–85 г были разделены на 4 группы по 10 животных в соответствии с дизайном эксперимента. Контрольная (1-я) группа имела доступ к корму и воде *ad libitum*; опытные группы в дополнение к этому *per os* в течение 21 сут получали либо раствор сульфата кадмия в дозе 0.5 мг/кг (2-я группа), либо ацетата свинца в дозе 10 мг/кг (3-я группа), либо сочетание указанных растворов (4-я группа). Животных в возрасте 7 нед выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Все животные находились в стандартных условиях вивария в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями (утверждены постановлением главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 51 от 29.08.2014). Уход и содержание, а также выведение животных из эксперимента осуществлялись согласно Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (ЕЭС, Страсбург, 1985); Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ЕЭС, Страсбург, 1986); Руководствам по проведению медико-биологических исследований и по содержанию и использованию лабораторных животных, в соответствии со стандартами, описанными в директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также правилами, утвержденными приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

effects of heavy metals on the liver in children require closer attention, since they have not only medical, but also social significance.

AIM OF THE RESEARCH

Studying of the effect of chronic intoxication with cadmium sulfate and lead acetate on the architectonics of the liver parenchyma and ultrastructural features of hepatocytes in prepubertal rats.

MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rat pups (4 weeks adolescents) weighing 80–85 g were divided into 4 groups of 10 animals in accordance with the design of the experiment. The control (1st) group had access to food and water *ad libitum*; experimental groups in addition to this for 21 days received *per os* either a solution of cadmium sulfate at a dose of 0.5 mg/kg (2nd group), or lead acetate at a dose of 10 mg/kg (3rd group), or a combination of these solutions (4th group). Animals at the age of 7 weeks were taken out of the experiment by decapitation under ether anesthesia. All animals were kept under standard vivarium conditions in accordance with the sanitary and epidemiological requirements (approved by the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation No. 51 dated August 29, 2014). The care and maintenance, as well as the withdrawal of animals from the experiment, were carried out in accordance with the International Guidelines for Biomedical Research Using Animals (EEC, Strasbourg, 1985); European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or other Scientific Purposes (EEC, Strasbourg, 1986); Guidelines for the conduct of biomedical research and for the care and use of laboratory animals, in accordance with the standards described in Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, and also the rules approved by the order of the Ministry of Health of Russia No. 199n of April 1, 2016 “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice.”

Samples of the right hepatic lobe were fixed for 24 h in a 4% paraformaldehyde solution cooled to 4°C, prepared in Millonig's phosphate buffer (pH 7.3). For electron microscopy, the tissue was additionally fixed in a 1% OsO₄ solution, dehydrated in increasing concentrations of alcohols and acetone, and poured into a mixture of epoxy resins; the blocks were polymerized in a thermostat at 60°C for 24 h. Semi-thin (1 µm) and ultrathin (30–50 nm) sections were obtained on an LKB III ultramicrotome. Semi-

Образцы большой доли печени фиксировали в течение суток в охлажденном до 4 °С 4% растворе параформальдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7.3). Для электронно-микроскопической проводки ткань дофиксировали в 1% растворе OsO_4 , обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в смесь эпоксидных смол; блоки полимеризовали в термостате при 60 °С в течение 24 ч. Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие (30–50 нм) срезы получали на ультрамикротоме LKB III. Полутонкие срезы монтировали на обезжиренные предметные стекла и окрашивали на гистологическом столике (37 °С) в капле 1% раствора толуидинового синего, изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (C. Zeiss) с учетом представления о классической дольке печени, выделяя перипортальную, центролобулярную и перивенулярную зоны. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия по Рейнольдсу и исследовали в электронных микроскопах JEM-100 S и JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 60 и 80 кВт соответственно.

Для стереологического изучения образцов печени использовали методы, основанные на подсчете числа точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры. Тканевый анализ с изучением структурной плотности гепатоцитов и синусоидов в порто-венулярном градиенте печеночной долики проводили на полутонких срезах, оценивая по 5–7 неперекрываемых полей зрения в каждом случае, по 50 на группу, при увеличении 630 с помощью тестовой системы коротких отрезков ($n = 36$, $P = 72$, $L = 190$ мкм). Ультраструктурный стереологический анализ (по 50 электронограмм перипортальных, центролобулярных и перивенулярных гепатоцитов соответственно на каждую группу, начальное увеличение от 4 до 8 тыс.) осуществляли при конечном увеличении в 22×10^3 раза с помощью программы Image J 1.7.

Статистический анализ полученных данных выполняли при помощи программных пакетов Excel MS Office-2016 и SPSS 22.0. Полученные выборки проверяли на нормальность распределения с помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения признака данные представлены как среднее (M) и среднеквадратическое отклонение (SD); сравнения производили с использованием *t*-критерия Стьюдента для непарных выборок. В случае ненормального распределения

thin sections were mounted on defatted glass slides and stained on a histological table (37°C) in a drop of 1% toluidine blue solution, studied using an Axio Scope.A1 microscope (C. Zeiss), taking into account the concept of a classical liver lobule, highlighting the periportal, centrilobular and the perivenular zone. Ultrathin sections were counterstained with a saturated alcohol solution of uranyl acetate and lead citrate in sodium alkali vapor according to Reynolds and examined under JEM-100 S and JEM-1400 electron microscopes (Japan) at an accelerating voltage of 60 and 80 kV respectively.

For the stereological study of liver samples, methods based on counting the number of points of the test system that hit the profile of the structure under study, were used. Tissue analysis with the study of the structural density of hepatocytes and sinusoids in the porto-central gradient of the hepatic lobule was performed on semi-thin sections, assessing 5–7 non-overlapping visual fields in each case, 50 per group, at a magnification of 630 using a test system of short segments ($n = 36$, $P = 72$, $L = 190 \mu\text{m}$). Ultrastructural stereological analysis (50 electron diffraction patterns of periportal, centrilobular, and perivenular hepatocytes respectively for each group, initial magnification from 4000 to 8000) was performed at a final magnification of 22×10^3 using Image J 1.7 software.

Statistical analysis of the obtained data was performed using the Excel MS Office-2016 and SPSS 22.0 software packages. The resulting samples were tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests. In the case of a normal distribution of the trait, the data are presented as the mean (M) and standard deviation (SD); comparisons were made using Student's *t*-test for unpaired samples. In the case of an abnormal sample distribution, the Mann-Whitney *U*-test with the Bonferroni correction was used. Descriptive data for quantitative traits are presented as a median (Me), interquartile interval (Q1; Q3 – 25th, 75th percentile), minimum (Min) and maximum (Max) indicators in the sample. The critical significance level of differences was 0.05 [9, 10].

RESULTS AND DISCUSSION

In the light microscopy of semi-thin sections of the liver of experimental animals, in the experimental groups, compared with the control group, changes in the tinctorial properties of hepatocytes and minor hemodynamic disturbances were revealed. In the control group, hepatocytes are moderately polymorphic, represented by “dark” and “light” cells, while “light” cells predominated perivenularly. Under

выборки использовали *U*-критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Описательные данные для количественных признаков представлены в виде медианы (Me), межквартильного интервала (Q1; Q3 – 25-й; 75-й перцентили), минимального (Min) и максимального (Max) показателей в выборке. Критический уровень значимости различий составил 0.05 [9, 10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При светооптическом исследовании полутонких срезов печени экспериментальных животных в опытных группах, по сравнению с контрольной, выявлены изменения тинкториальных свойств гепатоцитов и незначительные нарушения гемодинамики. В контрольной группе гепатоциты умеренно полиморфны, представлены «темными» и «светлыми» клетками, при этом перивенулярно преобладали «светлые» клетки. При моновоздействии Cd (2-я группа) обращали на себя внимание перипортальная клеточная инфильтрация, полнокровие и стаз эритроцитов в артериях портальных трактов и центральных венах; при моновоздействии Pb (3-я группа) перипортальные и центролобулярные гепатоциты инфильтрированы мелкими плотными липидными включениями; в 4-й группе (сочетанное токсическое воздействие) сравнительно менее выраженная липидная дистрофия гепатоцитов сопровождалась атрофией паренхиматозных клеток печени и усилением клеточной инфильтрации (рис. 1).

По данным стереологического исследования печени с учетом представления о классической печеночной дольке (табл. 1) воздействие Cd привело к статистически значимому увеличению объемной плотности гепатоцитов всех зон: перипортальной ($p = 0.001$), центролобулярной ($p = 0.001$) и с наибольшими показателями – перивенулярной ($p = 0.002$) зоны. Это сопровождалось неравномерным расширением просветов синусоидных капилляров в перипортальной ($p = 0.0001$) и перивенулярной ($p = 0.0001$) зонах.

При хроническом моновоздействии Pb статистически значимо возросла объемная плотность гепатоцитов только центролобулярной зоны ($p = 0.001$), но изменения параметров микрососудистого русла долек были аналогичны изменениям 2-й группы – показатели возросли в перипортальной ($p = 0.002$) и перивенулярной ($p = 0.0001$) зонах.

При сочетанном воздействии (4-я группа) статистически значимо увеличена объемная плотность гепатоцитов перипортальной ($p = 0.003$) и

exposure to Cd alone (2nd group), attention was drawn to periportal cellular infiltration, plethora and stasis of erythrocytes in the arteries of the portal tracts and central veins; under exposure to Pb alone (3rd group), periportal and centrilobular hepatocytes were infiltrated with small dense lipid inclusions; in the 4th group (combined toxic effects), a relatively less pronounced lipid degeneration of hepatocytes was accompanied by atrophy of parenchymal liver cells and increased cell infiltration (Fig. 1).

According to the stereological study of the liver, taking into account the concept of a classical hepatic lobule (Table 1), exposure to Cd led to a statistically significant increase in the volumetric density of hepatocytes in all zones: periportal ($p = 0.001$), centrilobular ($p = 0.001$), and, with the highest indicators, perivenular ($p = 0.002$) zones. This was accompanied by uneven expansion of the lumen of the sinusoidal capillaries in the periportal ($p = 0.0001$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones.

In chronic exposure to Pb alone, the volumetric density of hepatocytes only in the centrilobular zone increased statistically significantly ($p = 0.001$), but the changes in the parameters of the microvascular bed of the lobules were similar to those in the 2nd group: the indicators increased in the periportal ($p = 0.002$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones.

In combined exposure (4th group), the volumetric density of hepatocytes in the periportal ($p = 0.003$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones of the hepatic lobule is significantly increased, but the index of centrilobular hepatocytes decreased ($p = 0.045$). Luminal narrowing of the sinusoidal capillaries in the periportal zone ($p = 0.0001$) and ectasia in the centrilobular zone ($p = 0.021$) were noted.

In general, the volumetric density of sinusoids in the control and experimental groups increased in the porto-central gradient of the hepatic lobule, the only exception was the 4th group with combined toxic effects. Statistically significant indicators of the parenchymal compartment of the periportal zones of the hepatic lobules reflect an increase in the volume of hepatocytes in Cd exposure both in the 2nd and 4th groups. When comparing groups, no clear dynamics was noted for the centrilobular and perivenular zones. At the same time, in all groups, with the exception of the 3rd one, the indices of hepatocytes in the centrilobular zone exceeded those in the periportal zone; and in the perivenular zone – the indices of each of the previously mentioned zones, which may indicate increasing intracellular edema.

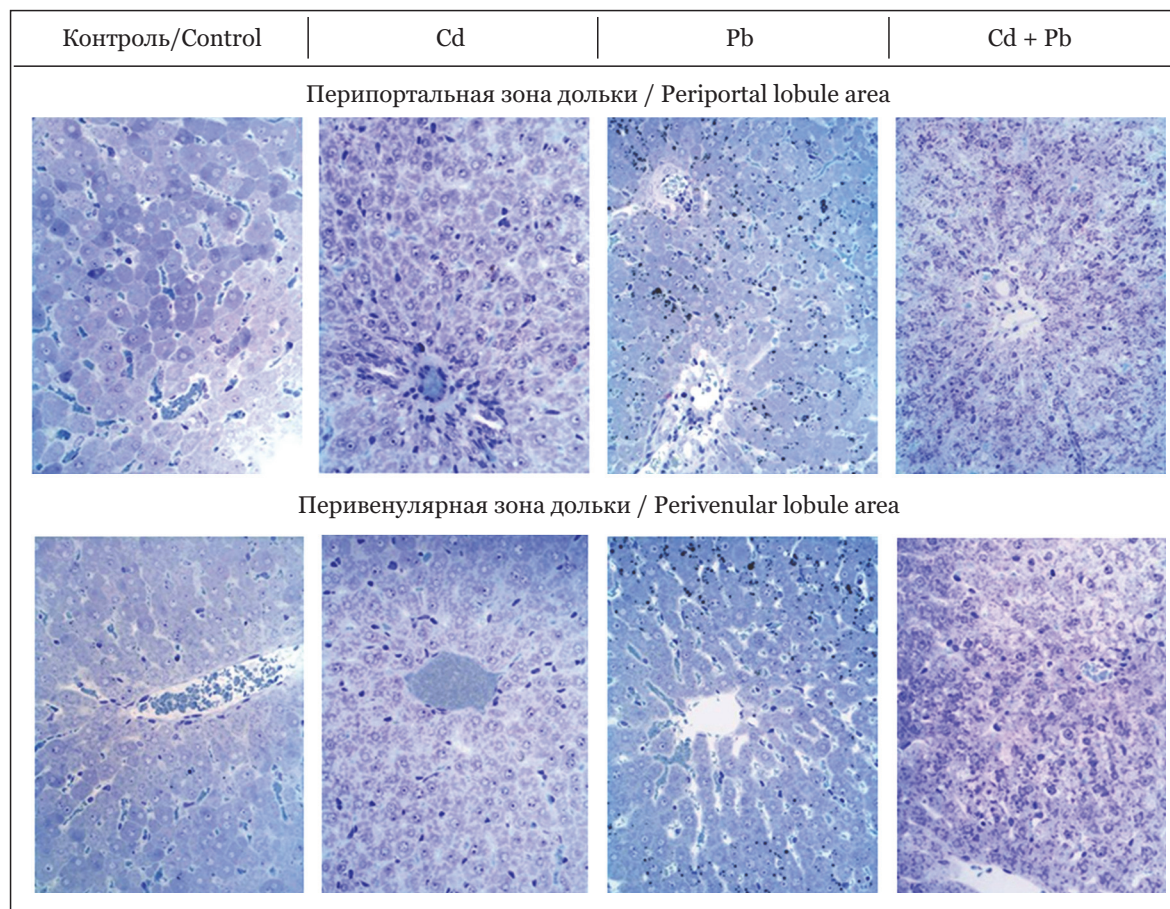


Рис. 1. Светооптическое исследование печени крысят-самцов Вистар после хронического моно- или сочетанного воздействия субтоксических доз Cd и Pb. Полутонкие срезы, окраска толуидиновым синим. Увеличение (ув.) $\times 630$
Fig. 1. Light microscopy of the liver of male Wistar rat adolescents after chronic single or combined exposure to subtoxic doses of Cd and Pb. Semi-thin sections, stained with toluidine blue. Magnification (magn.) $\times 630$

перивенулярной ($p = 0.0001$) зон печеночной дольки, однако показатель центрлобулярных гепатоцитов уменьшился ($p = 0.045$). Отмечены сужение просветов синусоидных капилляров перипортальной зоны ($p = 0.0001$) и расширение – центрлобулярной ($p = 0.021$).

В целом объемная плотность синусоидов в контрольной и опытных группах нарастала в порто-центральной градиенте печеночной дольки, исключение составила лишь 4-я группа с сочетанным токсическим воздействием. Статистически значимые показатели паренхиматозного компартмента перипортальных зон печеночных долек отражают увеличение объема гепатоцитов при воздействии Cd – как во 2-й, так и в 4-й группах. Для центрлобулярной и перивенулярной зон при сравнении групп четкой динамики не отмечено. При этом во всех группах, за исключением 3-й группы, показатели гепатоцитов центрлобулярной зоны превышали показатели перипортальной зоны, а перивенулярной –

After that a stereological analysis of the ultrastructural organization of hepatocytes was carried out, which, under conditions of chronic toxic exposure, demonstrated pronounced changes to varying degrees (Fig. 2, Table 2). In the 2nd group, hepatocytes of the periportal zone showed a statistically significant increase in the volumetric density of nuclei ($p = 0.004$), which was due to more numerous binuclear cells; in addition, the index of endoplasmic reticulum (ER) profiles was reduced ($p = 0.0001$). The volumetric density of the cytoplasm of hepatocytes in the centrilobular zone was statistically significantly increased ($p = 0.001$) compared to the control group, while the volumetric density of mitochondria decreased ($p = 0.0001$). In the perivenular zone, the volumetric density of the cytoplasm of hepatocytes increased ($p = 0.002$), while all other studied parameters (the volumetric density of nuclei ($p = 0.001$), mitochondria ($p = 0.0001$), and the ER ($p = 0.002$)) decreased.

Таблица 1. Тканевый стереологический анализ печени крысят Вистар (Vv , мм³/см³) при воздействии тяжелых металлов с учетом модели классической печеночной дольки**Table 1.** Tissue stereological analysis of the liver of Wistar rat adolescents (Vv , мм³/см³) under the exposure of heavy metals, taking into account the model of a classical hepatic lobule

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max	P	Me (Q1; Q3) min; max	P	Me (Q1; Q3) min; max	P
	Перипортальная зона Periportal zone		Центролобуляр- ная зона Centrilobular zone		Перивенулярная зона Perivenular zone	
Объемная плотность гепатоцитов / Volumetric density of hepatocytes						
Контроль (1-я) Control (1st group)	685.5 (674.575; 696) 667; 703	–	701.5 (696; 703.825) 680; 715	–	730 (720.5; 738) 713; 738	–
Cd (2-я) (2nd group)	706.5 (704.25; 707.75) 697; 715	p = 0.001	722 (710.3; 725.75) 703; 733	p = 0.001 p ₃ = 0.008	751 (742.75; 752.75) 733; 771	p = 0.002 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.0001
Pb (3-я) (3rd group)	681 (668.75; 689.25) 664; 689	p = 0.496 p ₁ = 0.005	715 (699; 720.25) 697; 725	p = 0.082 p ₁ = 0.059 p ₃ = 0.002	737 (727.5; 745) 720; 756	p = 0.199 p ₁ = 0.026 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.001
Cd + Pb (4-я) (4th group)	712 (699.5; 716.425) 687; 723	p = 0.003 p ₁ = 0.427 p ₂ = 0.007	684 (680; 699.25) 670; 710	p = 0.045 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.003 p ₃ = 0.007	803.5 (794.5; 809.75) 784; 821	p = 0.0001 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.0001 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.0001
Объемная плотность синусоидов / Volumetric density of sinusoids						
Контроль (1-я) Control (1st group)	103.5 (99.75; 105) 92.1; 107	–	117.5 (115.5; 123.5) 103; 131	–	123 (113; 128.75) 109; 133	–
Cd (2-я) (2nd group)	118.9 (117; 123) 115; 127	p = 0.0001	125 (119.25; 130.225) 111; 140	p = 0.096 p ₃ = 0.089	146.5 (139.5; 147.75) 136; 168	p = 0.0001 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.001
Pb (3-я) (3rd group)	111 (107.5; 112.75) 99; 123	p = 0.002 p ₁ = 0.002	120 (114.25; 122) 106; 122	p = 0.705 p ₁ = 0.226 p ₃ = 0.019	141.5 (134.5; 146) 131; 163	p = 0.0001 p ₁ = 0.199 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.001
Cd + Pb (4-я) (4th group)	88.5 (85.5; 90.55) 79; 99	p = 0.0001 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.0001	129 (123.25; 134) 115; 144	p = 0.021 p ₁ = 0.364 p ₂ = 0.023 p ₃ = 0.0001	129.5 (118.25; 134.5) 114; 138	p = 0.112 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.005 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.678

Примечание. p – отличие от контрольной группы; p_1 – отличие от 2-й группы; p_2 – отличие от 3-й группы; p_3 – сравнение с аналогичными показателями перипортальной зоны; p_4 – сравнение с аналогичными показателями центролобулярной зоны.
 Notes. p – difference from the control group; p_1 – difference from the 2nd group; p_2 – difference from the 3rd group; p_3 – comparison with similar indicators of the periportal zone; p_4 – comparison with similar indicators of the centrilobular zone.

показатели каждой из предыдущих зон, что может свидетельствовать о нарастающем внутриклеточном отеке.

Далее был проведен стереологический анализ ультраструктурной организации гепатоцитов, которые в условиях хронического токсического воздействия демонстрировали в различной степени выраженные изменения (рис. 2, табл. 2). Во 2-й группе в гепатоцитах перипортальной зоны выявлено статистически значимое увеличение

In the 3rd group (exposure to Pb alone), ultrastructural changes in hepatocytes of the periportal zone were represented by a decrease in the volumetric density of ER profiles ($p = 0.001$). The central zone of the lobules was characterized by a decrease in the volumetric density of mitochondria ($p = 0.0001$). In the perivenular zone, similarly to the previous group, the volumetric density of hepatocyte nuclei ($p = 0.003$), mitochondria ($p = 0.005$), and the ER ($p = 0.005$) was statistically significantly reduced.

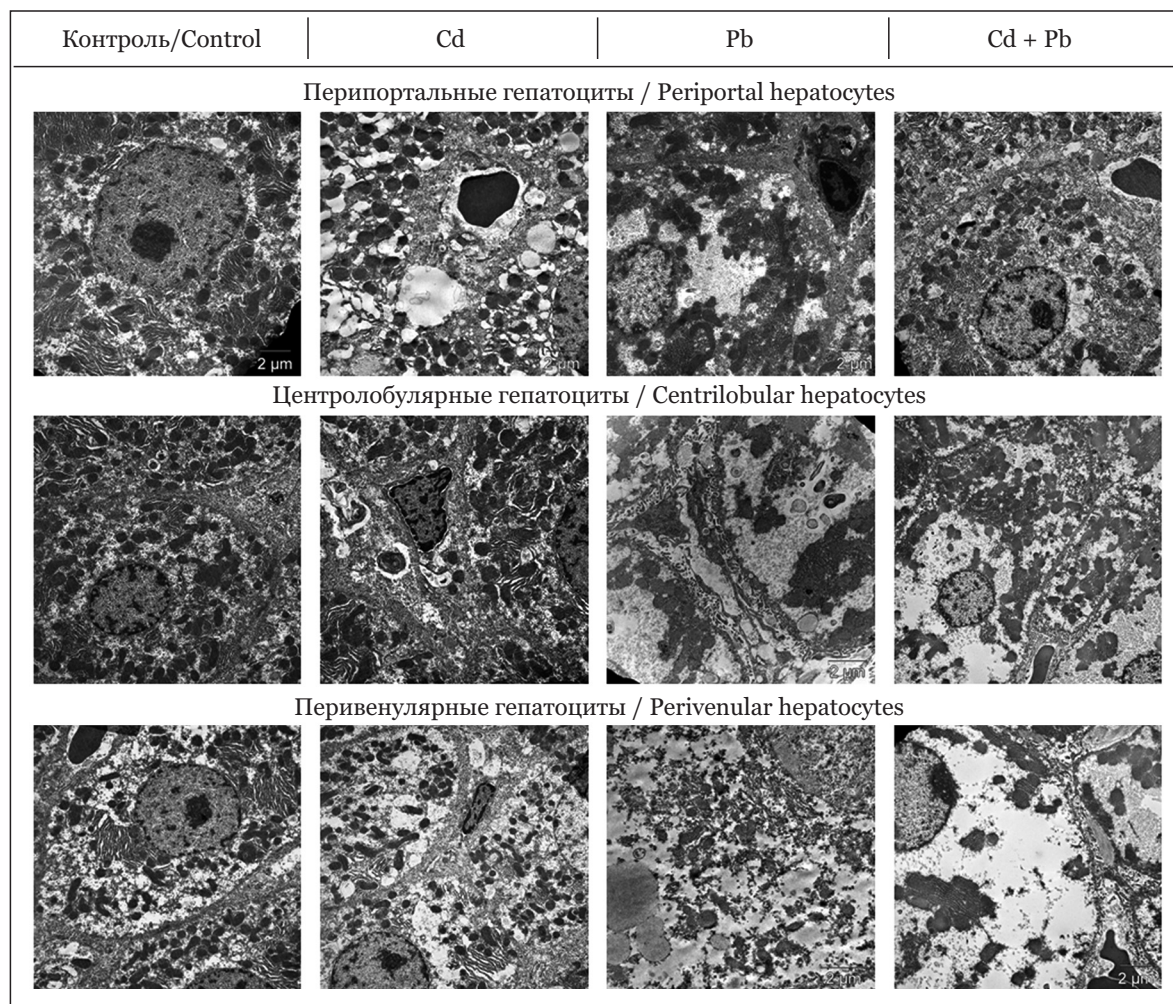


Рис. 2. Электронно-микроскопическое исследование печени крысят-самцов Вистар после хронического моно- или сочетанного воздействия субтоксических доз Cd и Pb с учетом локализации в классической дольке. Электронограммы. Ув. $\times 4000$

Fig. 2. Electron microscopy of the liver of male Wistar rat adolescents after chronic single or combined exposure to subtoxic doses of Cd and Pb, taking into account localization in the classical lobule. Electronograms. Magn. $\times 4000$

объемной плотности ядер ($p = 0.004$), что обусловлено более многочисленными двудерными клетками; кроме того, был снижен показатель профилей эндоплазматической сети (ЭПС) ($p = 0.0001$). Объемная плотность цитоплазмы гепатоцитов центрлобулярной зоны статистически значимо увеличена ($p = 0.001$) по сравнению с показателями контрольной группы, при этом снизилась объемная плотность митохондрий ($p = 0.0001$). В перивенулярной зоне увеличилась объемная плотность цитоплазмы гепатоцитов ($p = 0.002$), тогда как все остальные изучаемые показатели – объемная плотность ядер ($p = 0.001$), митохондрий ($p = 0.0001$) и ЭПС ($p = 0.002$) – снизились.

В 3-й группе (моновоздействие Pb) ультраструктурные изменения гепатоцитов перипор-

In the 4th group with prolonged combined exposure to toxins, a statistically significant decrease in the volumetric density of mitochondria ($p = 0.001$) and the ER ($p = 0.005$) of periportal hepatocytes, as well as nuclei ($p = 0.011$), mitochondria ($p = 0.0001$) and the ER ($p = 0.016$) of hepatocytes of the centrilobular zone. In the perivenular zone, the volumetric densities of nuclei ($p = 0.0001$) and mitochondria ($p = 0.049$) decreased, while the parameters of the ER ($p = 0.004$) and cytoplasm ($p = 0.002$) increased, which may be associated with the induction of xenobiotic metabolism on smooth ER membranes in presence of intracellular edema and a decrease in protein synthesis.

In general, in all experimental groups for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a sta-

Таблица 2. Ультраструктурное стереологическое исследование гепатоцитов крысят Вистар (V_v , $\text{мм}^3/\text{см}^3$)

при токсическом воздействии в зависимости от локализации в классической печеночной дольке

Table 2. Ultrastructural stereological study of hepatocytes of Wistar rat adolescents (V_v , mm^3/cm^3) in toxic effects depending on localization in the classical hepatic lobule

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max	p	Me (Q1; Q3) min; max	p	Me (Q1; Q3) min; max	p
	Перипортальная зона Periportal zone		Центролобуляр- ная зона Centrilobular zone		Перивенулярная зона Perivenular zone	
Объемная плотность ядер / Volumetric density of nuclei						
Контроль (1-я) Control (1st group)	52.55 (51.25; 53) 48; 56	—	52.5 (49.8; 56.5) 45; 59	—	52.2 (48.75; 54.75) 45; 56	—
Cd (2-я) (2nd group)	57 (55; 59.25) 49; 63	p = 0.004	48 (46.25; 53.75) 43; 58	p = 0.151 p ₃ = 0.008	43.5 (39.75; 45.75) 37; 47	p = 0.001 p ₃ = 0.001 p ₄ = 0.001
Pb (3-я) (3rd group)	55 (53; 55) 51; 58	p = 0.059 p ₁ = 0.121	51.5 (46.5; 55.75) 45; 59	p = 0.545 p ₁ = 0.45 p ₃ = 0.151	43.5 (38.75; 47.75) 34; 51	p = 0.003 p ₁ = 0.678 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.008
Cd + Pb (4-я) (4th group)	54.5 (53; 55) 49; 59	p = 0.096 p ₁ = 0.054 p ₂ = 0.705	47 (45.25; 49.5) 44; 52	p = 0.011 p ₁ = 0.406 p ₂ = 0.064 p ₃ = 0.001	40 (38.25; 44) 37; 46	p = 0.0001 p ₁ = 0.326 p ₂ = 0.345 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.002
Объемная плотность цитоплазмы / Volumetric density of the cytoplasm						
Контроль (1-я) Control (1st group)	102.5 (99; 109.25) 89; 114	—	134.5 (130; 136.75) 124; 147	—	133 (127.8; 136.5) 124; 141	—
Cd (2-я) (2nd group)	106 (101.25; 112.55) 97; 116	p = 0.364	152.7 (146; 156.75) 138; 160	p = 0.001 p ₃ = 0.632	144 (140.75; 147.75) 131; 152	p = 0.002 p ₃ = 0.632 p ₄ = 0.001
Pb (3-я) (3rd group)	107.5 (99; 120.5) 95; 125	p = 0.385 p ₁ = 0.821	141.5 (136.5; 149.5) 127; 159	p = 0.082 p ₁ = 0.041 p ₃ = 0.0001	139.5 (136.5; 144.75) 117; 161	p = 0.089 p ₁ = 0.199 p ₃ = 0.001 p ₄ = 0.597
Cd + Pb (4-я) (4th group)	107.5 (101.25; 120.25) 99; 126	p = 0.241 p ₁ = 0.545 p ₂ = 0.705	132 (124.75; 133.75) 109; 139	p = 0.162 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.006 p ₃ = 0.004	146 (138.25; 152) 135; 162	p = 0.002 p ₁ = 0.597 p ₂ = 0.174 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.001
Объемная плотность ЭПС / Volumetric density of the ER						
Контроль (1-я) Control (1st group)	35.5 (34; 37.275) 29; 40	—	33 (29.25; 36.525) 24; 38	—	23.5 (20.35; 27) 18; 32	—
Cd (2-я) (2nd group)	25 (23.775; 28) 19; 30	p = 0.0001	28.65 (26.7; 32.25) 25; 37	p = 0.14 p ₃ = 0.001	18.5 (16.25; 19) 12; 21	p = 0.002 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.0001
Pb (3-я) (3rd group)	20 (25.25; 30.75) 20; 33	p = 0.001 p ₁ = 0.257	31.5 (27.25; 33) 24; 37	p = 0.345 p ₁ = 0.623 p ₃ = 0.121	18.1 (17.25; 19.75) 16; 22	p = 0.005 p ₁ = 0.571 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.0001
Cd + Pb (4-я) (4th group)	27 (25.25; 31) 22; 41	p = 0.005 p ₁ = 0.326 p ₂ = 0.91	26.5 (25.05; 29.25) 23; 32	p = 0.016 p ₁ = 0.151 p ₂ = 0.07 p ₃ = 0.705	31 (28.25; 35.75) 27; 39	p = 0.004 p ₁ = 0.0001 p ₂ = 0.0001 p ₃ = 0.064 p ₄ = 0.01

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max	P	Me (Q1; Q3) min; max	P	Me (Q1; Q3) min; max	P
	Перипортальная зона Periportal zone		Центролобуляр- ная зона Centrilobular zone		Перивенулярная зона Perivenular zone	
Объемная плотность митохондрий / Volumetric density of mitochondria						
Контроль (1-я) Control (1st group)	162.2 (157.5; 164.75) 151; 174	—	157.5 (153.925; 160.5) 142; 167	—	135 (125.25; 138.975) 111; 147	—
Cd (2-я) (2nd group)	164 (160.5; 170.5) 154; 181	p = 0.385	128 (122.5; 133.65) 119; 136	p = 0.0001 p ₃ = 0.0001	100.7 (95.75; 106.25) 87; 123	p = 0.0001 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.0001
Pb (3-я) (3rd group)	158.5 (152.5; 163.5) 147; 174	p = 0.385 p ₁ = 0.096	128.5 (127; 135.25) 121; 145	p = 0.0001 p ₁ = 0.473 p ₃ = 0.0001	109.5 (99.75; 111.5) 89; 145	p = 0.005 p ₁ = 0.174 p ₃ = 0.0001 p ₄ = 0.005
Cd + Pb (4-я) (4th group)	140.5 (137; 144) 132; 164	p = 0.001 p ₁ = 0.001 p ₂ = 0.002	125.5 (123.25; 129.18) 117; 131	p = 0.0001 p ₁ = 0.473 p ₂ = 0.199 p ₃ = 0.0001	109.5 (99.5; 130.25) 98; 146	p = 0.049 p ₁ = 0.082 p ₂ = 0.521 p ₃ = 0.009 p ₄ = 0.241

Примечание. p – отличие от контрольной группы; p_1 – отличие от 2-й группы; p_2 – отличие от 3-й группы; p_3 – сравнение с аналогичными показателями перипортальной зоны; p_4 – сравнение с аналогичными показателями центролобулярной зоны; ЭПС – эндоплазматическая сеть.

Notes. p – difference from the control group; p_1 – difference from the 2nd group; p_2 – difference from the 3rd group; p_3 – comparison with similar indicators of the periportal zone; p_4 – comparison with similar indicators of the centrilobular zone; ER – the endoplasmic reticulum.

тальной зоны представлены снижением объемной плотности профилей ЭПС ($p = 0.001$). Центролобулярная зона долек характеризовалась снижением объемной плотности митохондрий ($p = 0.0001$). В перивенулярной зоне, аналогично предыдущей группе, статистически значимо уменьшена объемная плотность ядер гепатоцитов ($p = 0.003$), митохондрий ($p = 0.005$) и ЭПС ($p = 0.005$).

В 4-й группе с длительным сочетанным воздействием токсинов выявлено статистически значимое снижение объемной плотности митохондрий ($p = 0.001$) и ЭПС ($p = 0.005$) перипортальных гепатоцитов, а также ядер ($p = 0.011$), митохондрий ($p = 0.0001$) и ЭПС ($p = 0.016$) гепатоцитов центролобулярной зоны. В перивенулярной зоне уменьшились объемные плотности ядер ($p = 0.0001$) и митохондрий ($p = 0.049$), при этом увеличились показатели ЭПС ($p = 0.004$) и цитоплазмы ($p = 0.002$), что может быть связано с индукцией метаболизма ксенобиотиков на мембранах гладкой ЭПС на фоне внутриклеточного отека и снижения синтеза белков.

В целом во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной дольки характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности ЭПС; для центролобулярной

tistically significant decrease in the volumetric density of the ER; for the centrilobular zone – mitochondria; for the perivenular zone – mitochondria and nuclei of hepatocytes, which indicates the dystrophic nature of the response of parenchymal liver cells of prepubertal rats to chronic exposure to toxic metals with a decrease in the functions of protein and ATP biosynthesis.

Lipid infiltration of the cytoplasm of hepatocytes was noted in the 3rd group and to a greater extent it is characteristic of the periportal and centrilobular zones. The formation of autophagosomes attracted attention in the 3rd and 4th groups (with exposure to Pb), with signs of predominantly mitochondrial utilization, as well as vacuolated ER profiles. In all experimental groups, the stereological parameters of the organelles free cytoplasm increased statistically significantly, reflecting cytoskeleton disorders, collapse of intracellular membrane structures, and matrix edema, which underlies hepatocellular ballooning.

It should be noted that in animals of the experimental groups, in addition to changes in the coat, no other visual differences from the rat pups of the control group were found; in addition, animals of groups 2–4 gained body weight, which indicates the presence of compensatory mechanisms. Electron microscopy of liver samples revealed the expansion of

зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов, что свидетельствует о дистрофическом характере реагирования паренхиматозных клеток печени крыс препубертатного возраста на хроническое воздействие токсичных металлов со снижением функций биосинтеза белка и АТФ.

Липидная инфильтрация цитоплазмы гепатоцитов отмечена в 3-й группе, причем в большей мере она характерна для перипортальных и центрлобулярных зон. Формирование аутофагосом обращало на себя внимание в 3-й и 4-й группах (с воздействием Pb), с признаками утилизации преимущественно митохондрий, а также вакуолизированных профилей ЭПС. Во всех опытных группах статистически значимо возросли стереологические показатели свободной от органелл цитоплазмы, отражая нарушения цитоскелета, коллапс внутриклеточных мембранных структур и отек матрикса, лежащий в основе «баллонной» дистрофии.

Следует отметить, что у животных опытных групп, помимо изменения шерстного покрова, других визуальных отличий от крысят контрольной группы не выявлено; кроме того, животные 2–4-й групп увеличивали массу тела, что свидетельствует о наличии компенсаторных механизмов. При электронно-микроскопическом исследовании образцов печени обращали на себя внимание расширение пространств Диссе и гиперплазия микроворсинок васкулярного полюса гепатоцитов, отражающие усиление обменных процессов. Митохондрии были преимущественно мелкие, с плотным матриксом и приурочены к плазмолеммам васкулярного полюса, а также формировали перинуклеарные комплексы вместе с короткими параллельными цистернами гранулярной ЭПС – так называемые фокусы внутриклеточной регенерации. Кроме того, почти во всех ядрах опытных групп имелись ядрышки. Перечисленные ультраструктурные особенности гепатоцитов можно рассматривать как стереотипные компенсаторные реакции, описанные, например, при вирусных гепатитах [11].

Как известно, токсичность Cd и Pb обусловлена их способностью заменять в ионных каналах мембран жизненно необходимые поливалентные катионы Ca, Zn и др. [12]. Кроме того, Cd и Pb негативно влияют на систему антиоксидантной защиты, нарушая молекулярную структуру и функции супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы, способствуя развитию хронического окислительного стресса и поражению

Disse's spaces and hyperplasia of the microvilli of the vascular pole of hepatocytes, reflecting an increase in metabolic processes. Mitochondria were predominantly small, with a dense matrix and confined to the cell membranes of the vascular pole, and also formed perinuclear complexes together with short parallel cisterns of the granular ER – the so-called foci of intracellular regeneration. In addition, almost all the nuclei of the experimental groups had nucleoli. The listed ultrastructural features of hepatocytes can be considered as stereotypical compensatory reactions, described, for example, in viral hepatitis [11].

As is known, the toxicity of Cd and Pb is due to their ability to replace vital polyvalent cations Ca, Zn, etc. in the ion channels of membranes [12]. In addition, Cd and Pb negatively affect the antioxidant defense system, disturbing the molecular structure and functions of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase, contributing to the development of chronic oxidative stress and damage to mitochondria [13]. Apparently, the effects of both toxicants are dose-dependent and are also determined by the duration of exposure.

CONCLUSION

Intoxication for 3 weeks with cadmium sulfate (Cd) and lead acetate (Pb) in prepubertal male Wistar rats (4 weeks adolescents) led to changes in the ultrastructural organization of hepatocytes. Taking into account the model of classical hepatic lobule, tissue stereological analysis revealed a statistically significant increase in the volume of hepatocytes in the periportal zones when exposed to Cd (groups 2 and 4). In all groups, with the exception of the 3rd (Pb), an increase in the parenchymal compartment in the porto-central gradient was revealed, reflecting the formation of hepatocellular ballooning. In all experimental groups for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a statistically significant decrease in the volumetric density of the ER; for the centrilobular zone – of mitochondria; for the perivenular zone – mitochondria and nuclei of hepatocytes. The formation of autophagosomes with signs of predominantly mitochondrial utilization attracted attention in groups exposed to Pb. Pathological changes are compensated by increased transsinusoidal metabolism and complexes of biosynthesis organelles.

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

митохондрий [13]. По-видимому, эффекты обоих токсикантов дозозависимы и определяются также длительностью воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интоксикация в течение 3 нед сульфатом кадмия (Cd) и ацетатом свинца (Pb) крысят-самцов Вистар препубертатного возраста (4 нед) привела к изменениям ультраструктурной организации гепатоцитов. С учетом модели классической печеночной доли, тканевый стереологический анализ обнаружил статистически значимое увеличение объема гепатоцитов перипортальных зон при воздействии Cd (2-я и 4-я группы). Во всех группах, за исключением 3-й (Pb), выявлено увеличение паренхиматозного компартмента в порто-венулярном градиенте, отражающее фор-

мирование «баллонной» дистрофии. Во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной доли характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности ЭПС; для централобулярной зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов. Формирование аутофагосом с признаками утилизации преимущественно митохондрий обращало на себя внимание в группах с воздействием Pb. Патологические изменения компенсированы усилением транссинусоидального обмена и наличием комплексов оргanelл биосинтеза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sherma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2017;54(7–8):506–528. doi: 10.1080/10408363.2017.1408562.
2. Obeng-Gyasi E. Sources of lead exposure in various countries // *Rev. Environ. Health.* 2019;26(34):25–34. doi: 10.1515/reveh-2018-0037.
3. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M.R., Sadeghi M. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic // *Front. Pharmacol.* 2021; 12:643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972.
4. Pi H., Xu S., Reiter R.J. et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin // *Autophagy.* 2015;11(7):1037–1051. doi: 10.1080/15548627.2015.1052208.
5. Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. The effects of cadmium toxicity // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782.
6. Ивашкин В.Т., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В. и др. Лекарственно-индуцированное поражение печени: Универсальные структурные маркеры // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2009;19(2):20–29.
7. Ueno T., Komatsu M. Autophagy in the liver: Functions in health and disease // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017;14(3):170–184. doi: 10.1038/nrgastro.2016.185.
8. Weiskirchen R., Tacke F. Relevance of autophagy in parenchymal and non-parenchymal liver cells for health and disease // *Cells.* 2019;8(1):16. doi: 10.3390/cells8010016.
9. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Гржибовский А.М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения // *Экология человека* 2020;10:55–64. doi: 10.33396/1728-08-69-2020-10-55-64.
10. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 216 с.

REFERENCES

1. Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sherma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2017;54(7–8):506–528. doi: 10.1080/10408363.2017.1408562.
2. Obeng-Gyasi E. Sources of lead exposure in various countries. *Rev. Environ. Health.* 2019;26(34):25–34. doi: 10.1515/reveh-2018-0037.
3. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M.R., Sadeghi M. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Front. Pharmacol.* 2021;12:643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972.
4. Pi H., Xu S., Reiter R.J. et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin. *Autophagy.* 2015;11(7):1037–1051. doi: 10.1080/15548627.2015.1052208.
5. Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. The effects of cadmium toxicity. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782.
6. Ivashkin V.T., Nepomnyashchykh G.I., Aydagulova S.V. et al. Drug-induced lesion of the liver: general-purpose morphological markers. *Russ. J. of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2009;19(2):20–29. (In Russ.)
7. Ueno T., Komatsu M. Autophagy in the liver: Functions in health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017;14(3):170–184. doi: 10.1038/nrgastro.2016.185.
8. Weiskirchen R., Tacke F. Relevance of autophagy in parenchymal and non-parenchymal liver cells for health and disease. *Cells.* 2019;8(1):16. doi: 10.3390/cells8010016.
9. Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Grjibovskiy A.M. Multiple comparisons in biomedical research: the problem and solutions. *Human Ecology.* 2020;10:55–64. doi: 10.33396/1728-08-69-2020-10-55-64. (In Russ.)
10. Petrie A., Sabin K. (2019). *Medical Statistics at a Glance* (V.P. Leonov, Trans. from Engl.). Moscow: GEOTAR-Media. 216 p.

11. Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В., Постникова О.А. и др. Морфогенез хронического гепатита С и инфекционно-вирусного цирроза печени // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2012;2:13–21.
12. Xiao C., Liu Y., Xie C. et al. Cadmium induces histone H3 lysine methylation by inhibiting histone demethylase activity // Toxicol. Sci. 2015;145(1):80–89. doi: 10.1093/toxsci/kfv019.
13. Liu Z., Cai L., Liu Y., Chen W., Wang Q. Association between prenatal cadmium exposure and cognitive development of offspring: A systematic review // Environ. Pollut. 2019;254(PtB):113081. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113081.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Елясин Павел Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека им. акад. Ю.И. Бородина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Залавина Светлана Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Машак Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека им. акад. Ю.И. Бородина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Равилова Юлия Равильевна – канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Машак Светлана Владимировна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Айдагулова Светлана Владимировна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

11. Nepomnyashchikh G.I., Aidagulova S.V., Postnikova O.A. et al. Morphogenesis of chronic hepatitis C and infectious-viral liver cirrhosis. *Clinical Perspectives of Gastroenterology, Hepatology*. 2012;2:13–21. (In Russ.)
12. Xiao C., Liu Y., Xie C. et al. Cadmium induces histone H3 lysine methylation by inhibiting histone demethylase activity. *Toxicol. Sci.* 2015;145(1):80–89. doi: 10.1093/toxsci/kfv019.
13. Liu Z., Cai L., Liu Y., Chen W., Wang Q. Association between prenatal cadmium exposure and cognitive development of offspring: A systematic review. *Environ. Pollut.* 2019;254(PtB):113081. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113081.

ABOUT THE AUTHORS

Pavel A. Elyasin – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Yu.I. Borodin Department of Human Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Zalavina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, M.Ya. Subbotin Department of Histology, Embryology and Cytology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Aleksandr N. Mashak – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Yu.I. Borodin Department of Human Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Yulia R. Ravilova – Cand. Sci. (Med.), Senior Lecturer, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Mashak – Dr. Sci. (Med.), Professor, M.Ya. Subbotin Department of Histology, Embryology and Cytology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Aidagulova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of Cell Biology and Fundamentals of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.