

УДК 611.341-018:549.2-092.9

DOI 10.34014/2227-1848-2025-2-121-132

СТЕРЕОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК ПАРЕНХИМЫ И СТРОМЫ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

П.А. Елясин, С.В. Залавина, И.М. Саматова, Е.В. Овсянко,
И.П. Жураковский, С.В. Айдагулова

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск, Россия

Эпителиоциты тонкой кишки мелких грызунов могут служить удобной моделью для изучения хронического токсического воздействия. Особенно актуальными являются исследования на животных, не достигших полового созревания, поскольку они могут помочь в оценке техногенной экологической нагрузки на детей подросткового возраста.

Цель – стереологический анализ клеток паренхимы и стромы тонкой кишки крыс препубертатного возраста при хроническом воздействии тяжелых металлов в субтоксичных дозах.

Материалы и методы. Крысята-самцы линии «Вистар» в возрасте 4 нед. в течение 21 сут получали per os субтоксичные дозы солей Cd (2-я группа), Pb (3-я группа) либо их сочетание (4-я группа). Парафиновые и ультратонкие срезы слизистой оболочки тонкой кишки исследовали с помощью стереологического метода и программы Image J 1.7. При статистической обработке результатов использовали U-критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Для проверки равенства медиан трех и более независимых выборок рассчитывали критерий Краскела – Уоллиса.

Результаты и обсуждение. Стереологическое исследование клеток паренхимы и стромы слизистой оболочки тонкой кишки при хроническом субтоксическом воздействии солей Cd и Pb продемонстрировало разнонаправленный характер изменений объемной плотности светлых и темных каемчатых энтероцитов, визуально заметное увеличение межклеточных пространств, а также рост объемной плотности бокаловидных клеток при сочетанном воздействии. Биосинтетический компартмент энтероцитов (ядрышки, ЭПС и митохондрии) в опытных группах крысят был статистически значимо редуцирован по сравнению с контрольной.

Выводы. Выявлена реактивность клеток иммунной системы с увеличением объемной плотности лимфоцитов, и ее снижением у плазмочитов в 3-й и 4-й опытных группах (при воздействии Pb), а также выраженный тренд на увеличение данного показателя у матрикс-продуцирующих клеток.

Ключевые слова: кадмий, свинец, слизистая оболочка тонкой кишки, энтероциты, электронная микроскопия, препубертатный возраст.

Введение. В крупных городах и промышленных зонах большинства стран остро стоит проблема загрязнения среды обитания вредными для здоровья человека соединениями, в т.ч. токсичными металлами – кадмием (Cd) и свинцом (Pb) [1–3].

Различные органы могут по-разному реагировать на один и тот же токсин, а также на одну и ту же концентрацию и одно и тоже время воздействия. Различные механизмы на ультраструктурном уровне активируют различные типы повреждения клеток с различной динамикой [4].

Для многих ксенобиотиков входными воротами служит слизистая оболочка кишечника, выстланная однослойным однорядным каемчатым эпителием энтодермального происхождения, который специализирован на мембранном пищеварении и всасывании [5]. Тонкая кишка хорошо исследована в норме и патологии [6]; среди энтероцитов ворсин выделено 4 типа клеток, в т.ч. светлые и темные каемчатые эпителиоциты, бокаловидные клетки и дендритные [7], являющиеся представителями моноцитарно-макрофагальной системы костномозгового происхождения.

В связи с высокой скоростью клеточной регенерации эпителиоциты тонкой кишки мелких грызунов могут служить удобной моделью для изучения хронического токсического воздействия. Особенно актуальными являются исследования на животных, не достигших полового созревания, поскольку они могут помочь в оценке техногенной экологической нагрузки на детей подросткового возраста.

Цель исследования. Стереологический анализ клеток паренхимы и стромы тонкой кишки крыс препубертатного возраста при хроническом воздействии тяжелых металлов в субтоксичных дозах.

Материалы и методы. Крысята-самцы линии «Вистар» препубертатного возраста (4 нед.) в стандартных условиях вивария в течение 21 сут *per os* получали: 2-я группа ($n=10$) – $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ из расчета 0,5 мг/кг, 3-я группа ($n=10$) – $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ из расчета 10 мг/кг, 4-я группа ($n=10$) – сочетание указанных растворов. Первая группа (контрольная, $n=10$) получала аналогичный корм и воду *ad libitum* [8].

Содержание животных, а также выведение их из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом осуществляли согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ЕЭС, Страсбург, 1986); руководствам по проведению медико-биологических исследований, 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». Исследование одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 135 от 20.05.2021).

Образцы тонкой кишки (резецированные в 2 см от места перехода желудка в кишечник) фиксировали в течение суток в охлажденном

до 4 °С 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,3). После гистологической проводки изготавливали парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Для электронно-микроскопической проводки другую часть каждого образца 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. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия и исследовали с помощью электронного микроскопа JEM-1400 (Япония) при увеличении от 3 до 20 тыс. (оборудование предоставлено Центром коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН). Для стереологического изучения слизистой оболочки тонкой кишки учитывали рекомендации [9] и использовали методы, основанные на подсчете числа точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры. Ультраструктурный стереологический анализ (по 50 электронограмм на каждую группу, начальное увеличение от 4 до 8 тыс.) осуществляли при конечном увеличении в 2250 раз с помощью программы Image J 1.7.

Статистический анализ выполняли при помощи программных пакетов Excel MS Office 2016 и SPSS 22.0. Полученные выборки проверяли на нормальность распределения с применением критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова [10]. В случае нормального (гауссовского) распределения признака данные представлены как среднее (M) и среднеквадратическое отклонение (SD); сравнения производили с использованием t -критерия Стьюдента для непарных выборок. В случае негауссового распределения параметров использовали U -критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Описательные данные для количественных признаков представлены в виде медианы (Me), межквартильного интервала ($Q1$; $Q3$), минимального (Min) и максимального (Max) показателей в выборке. Для проверки равенства медиан трех и более

независимых выборок рассчитывали критерий Краскела – Уоллиса. Критический уровень значимости различий составил 0,05.

Результаты и обсуждение. В ходе эксперимента крысы не погибали и при визуальном осмотре не имели признаков патологических изменений, за исключением комковатости и незначительной влажности шерстного покрова. По окончании эксперимента (через 4 нед.) крысы опытных групп по массе тела не отличались от своих сверстников контрольной группы.

При гистологическом исследовании парафиновых срезов тонкой кишки после хронического субтоксичного воздействия Cd и Pb обнаружено, что структура всех оболочек была сохранена и каких-либо патологических изменений отмечено не было, однако обращала на себя внимание гиперплазия иммунных клеток в 3-й и 4-й группах:

многочисленные мононуклеарные клетки инфильтрировали собственную пластинку слизистой оболочки и иногда формировали крупные лимфоидные узелки без герминативных центров непосредственно в подслизистой оболочке.

Электронно-микроскопическое исследование образцов контрольной группы продемонстрировало, что эпителий слизистой оболочки основания ворсинок кишки был представлен преимущественно каемчатыми энтероцитами с цитоплазматическим матриксом слабой и умеренной электронной плотности, расцениваемыми как светлые (рис. 1), с объемной плотностью 71 (66,0; 74,73) $\text{мм}^3/\text{см}^3$, которая, несмотря на очень большой разброс значений, практически не отличалась от показателей 4-й группы (Cd+Pb) и была статистически значимо меньше по сравнению с другими группами (рис. 2а).

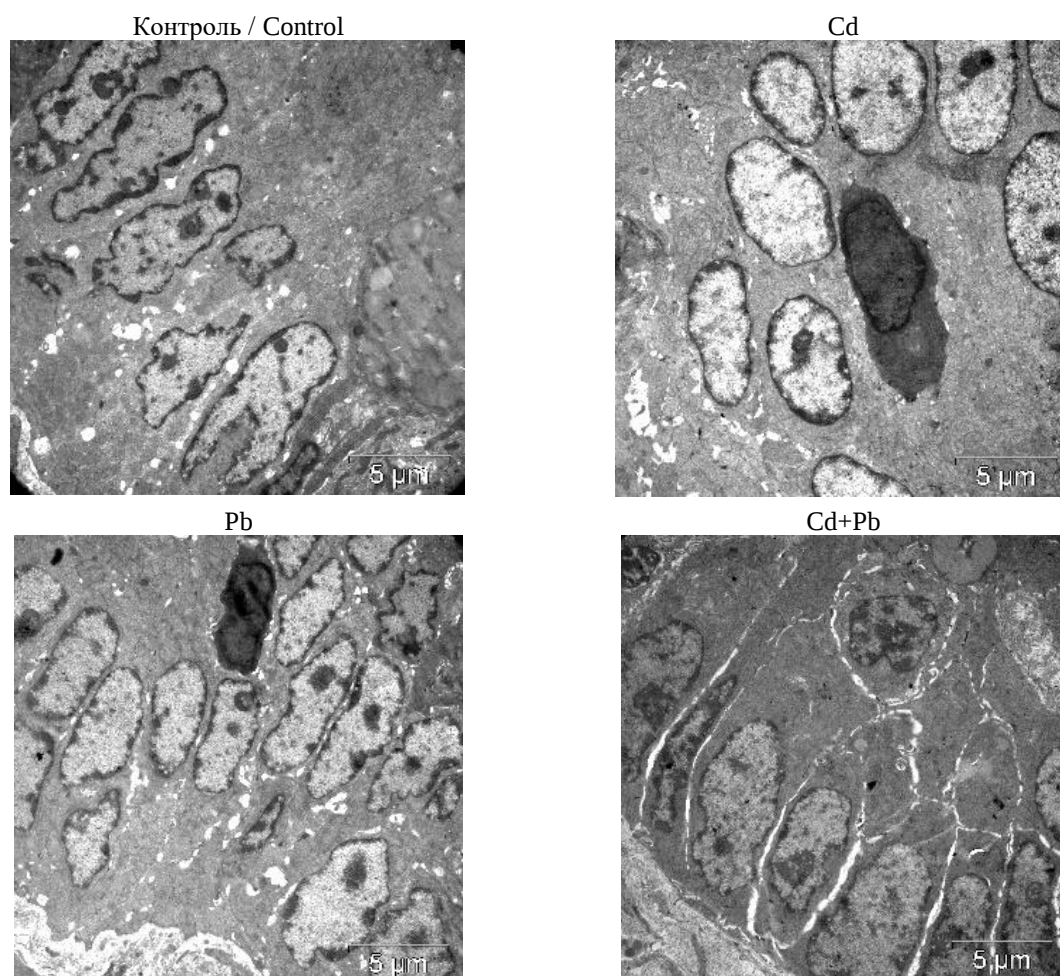


Рис. 1. Эпителий слизистой оболочки тонкой кишки крысят в контроле и после хронического воздействия субтоксичных доз Cd и Pb. Электронограммы, $\times 4000$

Fig. 1. Epithelium of the small intestinal mucosa of rats in the control and after chronic exposure to Cd and Pb subtoxic doses. Electron diffraction patterns. Magnification $\times 4000$

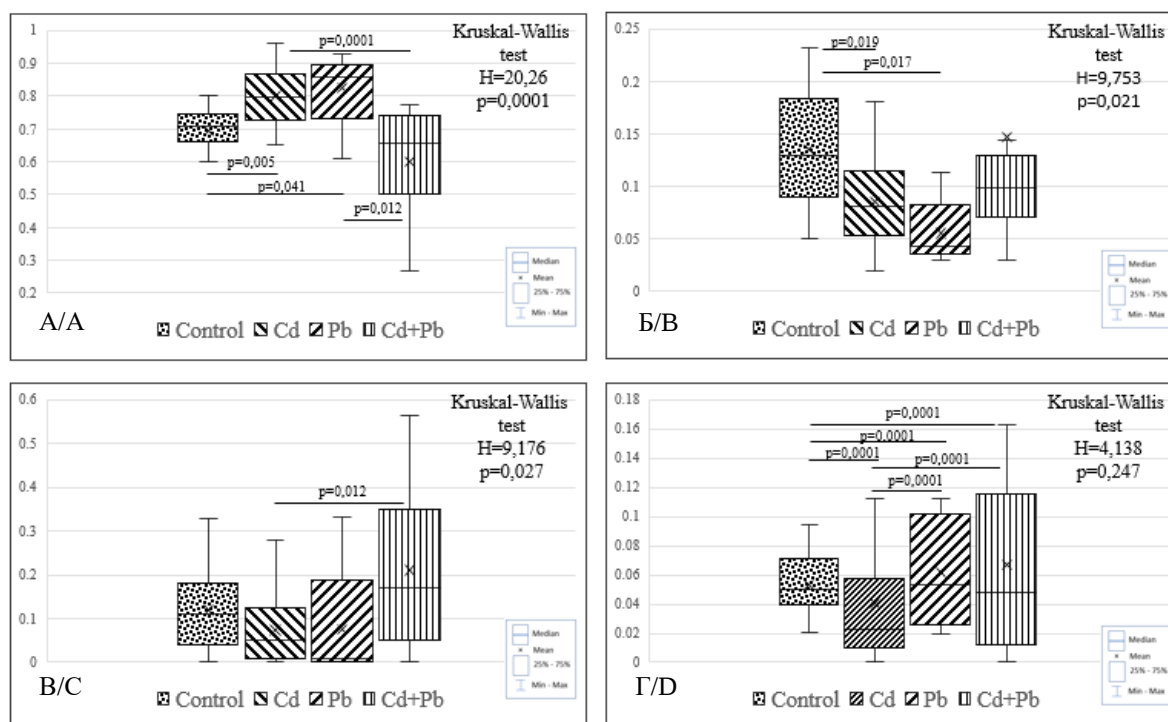


Рис. 2. Объемная плотность структур эпителиального пласта тонкой кишки крысят ($\text{мм}^3/\text{см}^3$) в контроле и при воздействии тяжелых металлов: а) светлые энтероциты; б) темные энтероциты; в) бокаловидные клетки; г) межклеточные пространства

Fig. 2. Volume density of the epithelial layer structures of the small intestine of rats (mm^3/cm^3) in the control and under heavy metal exposure: a) Light enterocytes; b) Dark enterocytes; c) Goblet cells; d) Intercellular spaces

Как и следовало ожидать, объемная плотность клеток с цитоплазматическим матриксом повышенной осмиофильности (т.е. темных каемчатых энтероцитов) характеризовалась противоположными изменениями (рис. 2б). Колебания осмиофильности цитоплазмы каемчатых энтероцитов объясняются как их структурно-функциональной гетерогенностью, свойственной и другим видам животных [11], так и развитием дегенеративных нарушений в связи с влиянием тяжелых металлов на белковые молекулы [2].

Объемная плотность бокаловидных клеток, оцениваемая по электронограммам (рис. 2в), имела не столь заметные колебания, однако оказалась статистически значимо повышенной в 4-й группе по сравнению со 2-й (Cd). Ранее было показано, что при моновоздействии Cd в эпителиальной выстилке изменяется соотношение популяций бокаловидных клеток и каемчатых энтероцитов [12].

В комплексном исследовании [13] были установлены статистически значимые изменения доли бокаловидных клеток в составе эпителия в зависимости от отдела кишки, нозологии (болезнь Крона, синдром раздраженного кишечника и язвенный колит) и фазы течения болезни. Так, при болезни Крона в стадии обострения в подвздошной кишке бокаловидных клеток было на 25 % больше по сравнению с ремиссией; в поверхностном эпителии восходящей ободочной кишки их было больше на 43 % по сравнению с синдромом раздраженного кишечника; в сигмовидной кишке бокаловидных клеток крипт было на 23 % больше по сравнению с язвенным колитом в стадии обострения, что свидетельствует о нарушениях дифференцировки кишечного эпителия и защитной роли муцинпродуцирующих клеток.

Привлекали внимание расширения межклеточных пространств в эпителиальном слое,

наиболее заметные при смешанном токсическом воздействии (рис. 1), однако они не влияли на стереологические показатели (рис. 2г). Аналогичные изменения в поверхностном эпителии слизистой оболочки желудка и кишечника продемонстрированы ранее в биоптатах при болезни Крона на полутонких срезах [14]: расширение межклеточных пространств и разрушение плотных контактов сочетались с инфильтрацией лимфоцитами. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки способствует развитию воспалительных заболеваний кишечника [15].

После тканевого стереологического анализа проведено исследование ведущих ультраструктурных компонентов каемчатых эпителиоцитов. Объемная плотность их цитоплазмы характеризовалась почти неуклонным снижением от контрольной группы к четвертой, однако ожидаемого увеличения объемной плотности ядер не выявлено, т.е. корреляция отсутствовала, но обращала на себя внимание наименьшая медиана для цитоплазмы в четвертой группе, а для ядер – в третьей. Обе подвергались воздействию свинца (рис. 3а, б).

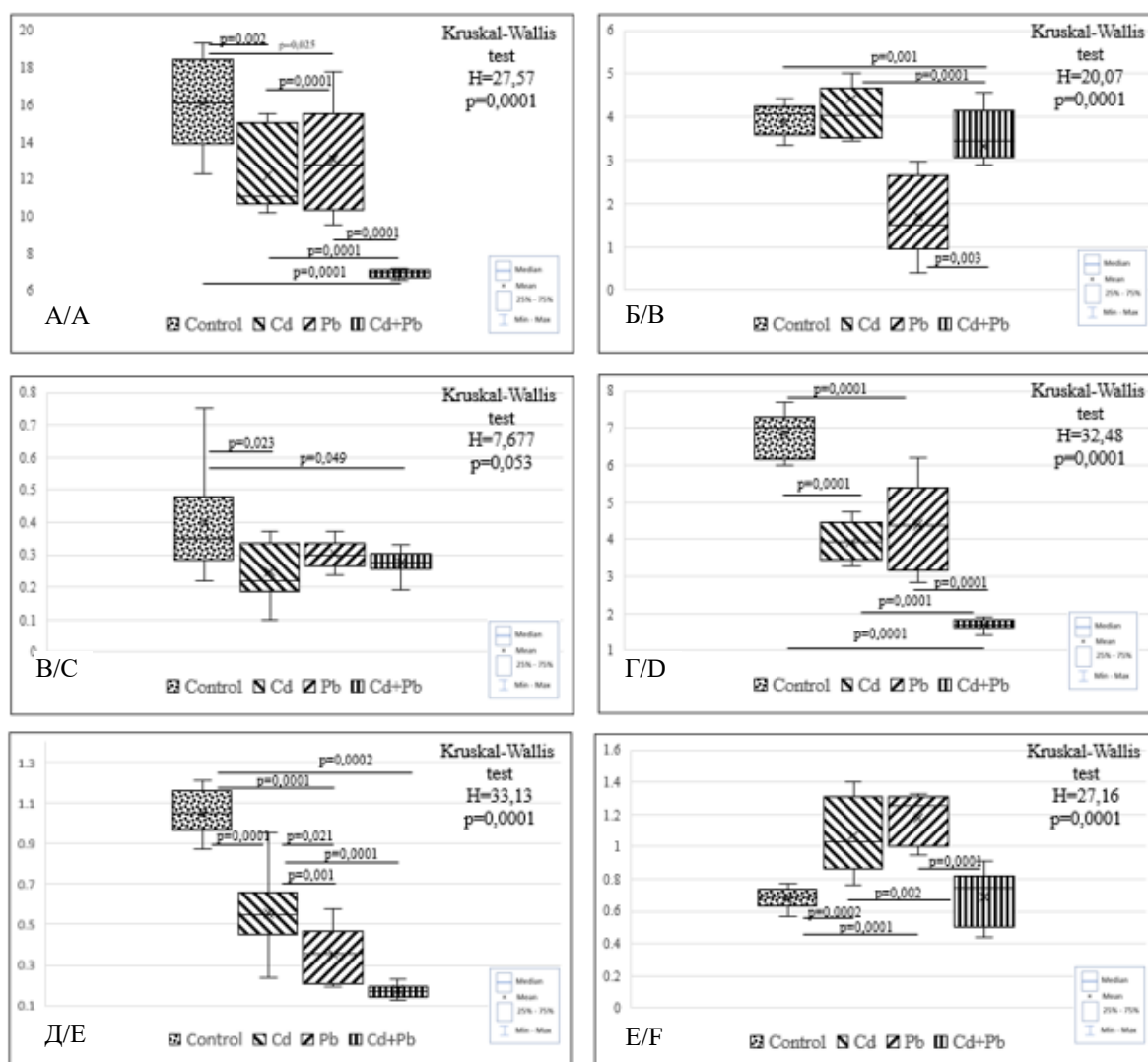


Рис. 3. Объемная плотность клеточных компонентов энтероцитов тонкой кишки крысят ($\text{мм}^3/\text{см}^3$) в контроле и при воздействии тяжелых металлов: а) цитоплазма; б) ядро; в) ядрышки; г) митохондрии; д) ЭПС; е) вакуоли

Fig. 3. Volume density of enterocyte cellular components of the small intestine of rats (mm^3/cm^3) in the control and under heavy metal exposure: а) Cytoplasm; б) Nucleus; в) Nucleoli; д) Mitochondria; е) Endoplasmic reticulum; ф) Macules

Значения показателей ультраструктур, имеющих отношение к биосинтезу в каемчатых энтероцитах, в опытных группах уменьшались по сравнению с контрольной; при этом колебания объемной плотности ядрышек в ядрах клеток были редуцированы (рис. 3в). Наиболее значительно были снижены показатели митохондрий и профилей цитоплазматической сети (ЭПС) (рис. 3г, д); при этом формирование вакуолей в цитоплазме было статистически значимо повышенным при токсических моновоздействиях во 2-й и 3-й группах (рис. 3е), что отражает функциональную пластичность плазмолемм энтероцитов [16]. Биосинтетические органеллы чувствительны ко всем токсическим воздействиям. Так, Cd вызывает стресс цитоплазматической сети [17]. Даже изменение диеты оказывает влияние на метаболизм митохондрий в различных клет-

ках млекопитающих, что приводит к изменениям в регуляции биогенеза, митофагии, а также усиленному слиянию или делению этих органелл [18]. Наиболее выраженная реактивность митохондрий характеризует сочетанные патологические процессы, например, при воздействии опиатов и вирусов гепатита [19].

Исследование с помощью электронограмм объемной плотности резидентных стромальных клеток (фиibroбластов) и иммунцитов инфильтрата (макрофагов, лимфоцитов и плазмоцитов), а также эозинофилов в подэпителиальном компартменте собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки показало разнонаправленный характер изменений, но показатели всех клеток рыхлой волокнистой соединительной ткани реагировали на субтоксические хронические воздействия тяжелых металлов (рис. 4).

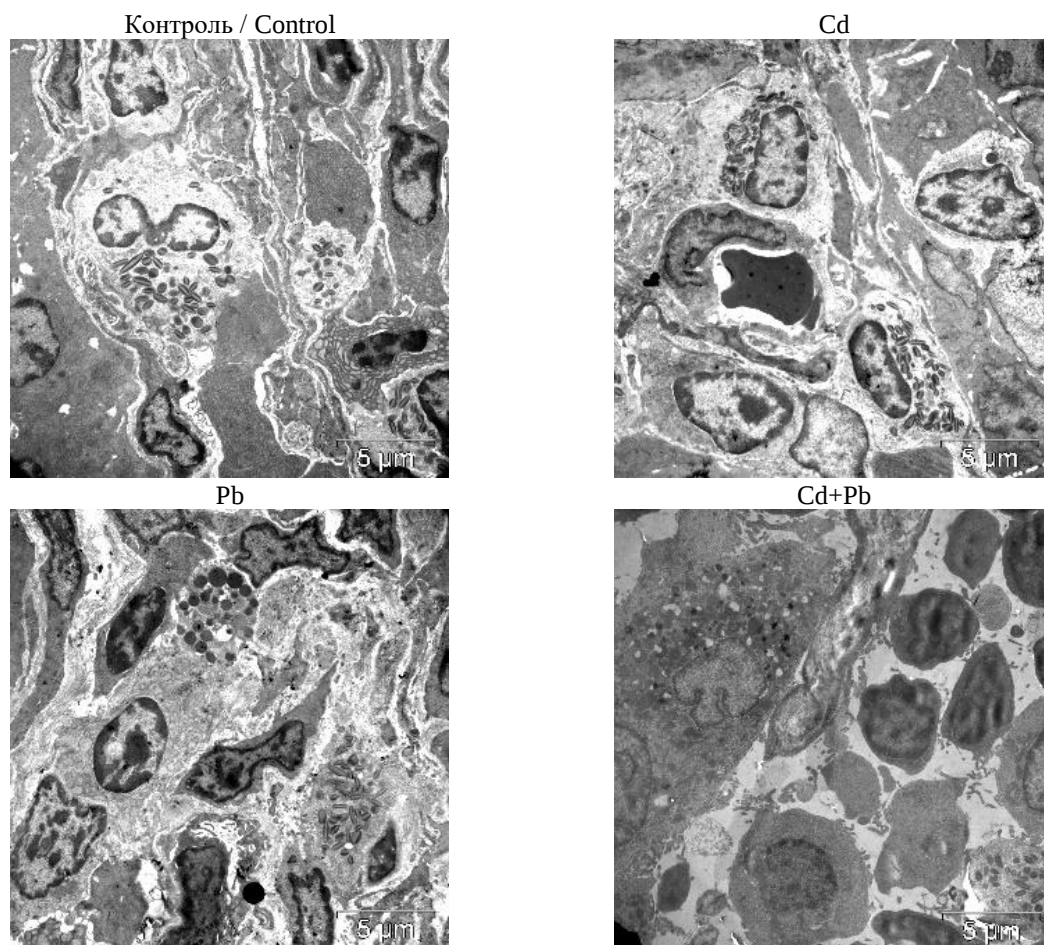


Рис. 4. Клеточный инфильтрат в подэпителиальной строме тонкой кишки крысят в контроле и после хронического воздействия субтоксичных доз тяжелых металлов. Электронограммы, $\times 4000$

Fig. 4. Cellular infiltrate in the subepithelial stroma of the small intestine of rats in the control and after chronic exposure to subtoxic doses of heavy metals. Electron diffraction patterns. Magnification $\times 4000$

Объемная плотность фибробластов в опытных группах статистически значимо нарастала относительно контрольной (рис. 5а), отражая профибротический характер реагирования на тяжелые металлы, что было продемонстрировано при исследовании почек у де-

тей [20]. Макрофаги (рис. 5б) на электронограммах то реже встречались – во второй и третьей группах, то с большими колебаниями показателей почти возвращались к свойственному контрольной группе уровню – в четвертой группе.

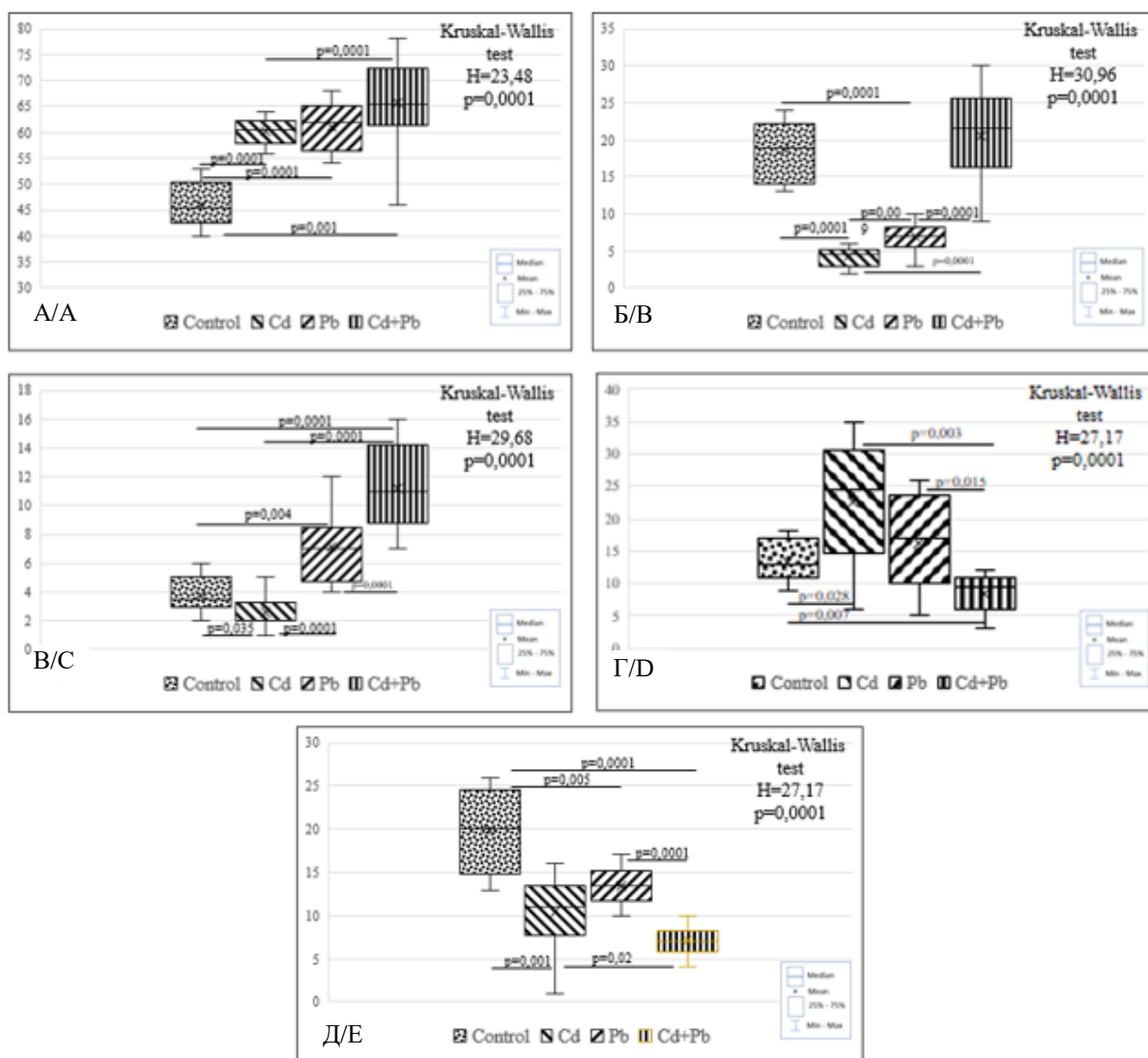


Рис. 5. Объемная плотность клеток стромы тонкой кишки крысят ($\text{мм}^3/\text{см}^3$) при воздействии тяжелых металлов: а) фибробласты, б) макрофаги, в) лимфоциты, г) плазмocyты, д) эозинофилы

Fig. 5. Volume density of small intestinal stromal cells in rats (mm^3/cm^3) under heavy metal exposure: а) Fibroblasts, б) Macrophages, в) Lymphocytes, г) Plasmacytes, д) Eosinophils

Изменения объемной плотности лимфоцитов (рис. 5в) и плазмocyтов (рис. 5г) имели совершенно противоположную направленность, отражая преобладание клеточного иммунитета над гуморальным, что характерно для воспалительных заболеваний кишечника [21]. Объемная

плотность эозинофилов, достаточно многочисленных в строме крысят, в опытных группах, по сравнению контрольной, была снижена (рис. 5д).

Заключение. Стереологическое исследование клеток паренхимы и стромы слизистой оболочки тонкой кишки крыс линии «Вистар»

препубертатного возраста при хроническом субтоксическом воздействии солей Cd и Pb продемонстрировало разнонаправленный характер изменений объемной плотности светлых и темных каемчатых энтероцитов, визуально заметное увеличение межклеточных пространств, а также рост объемной плотности бокаловидных клеток при сочетанном воздействии. Биосинтетический компартмент энтеро-

цитов (ядрышки, ЭПС и митохондрии) был статистически значимо редуцирован в опытных группах по сравнению с контрольной. Выявлены реактивность клеток иммунной системы с увеличением объемной плотности лимфоцитов и снижением ее у плазмочитов в 3-й и 4-й опытных группах, а также выраженный тренд на увеличение данного показателя у матрикс-продуцирующих клеток.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Залавина С.В., Айдагулова С.В.

Литературный поиск, участие в исследовании, обработка материала: Елясин П.А.,

Саматова И.М., Овсянко Е.В., Жураковский И.П.

Статистическая обработка данных: Елясин П.А.

Анализ и интерпретация данных: Елясин П.А., Айдагулова С.В.

Написание и редактирование текста: Елясин П.А., Залавина С.В., Айдагулова С.В.

Литература

1. Fujiwara Y., Lee J.Y., Banno H., Imai S., Tokumoto M., Hasegawa T. Cadmium induces iron deficiency anemia through the suppression of iron transport in the duodenum. *Toxicol Lett.* 2020; 332: 130–139. DOI: 10.1016/j.toxlet.2020.07.005.
2. 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.
3. Liu W., Feng H., Zheng S., Xu S., Massey I.Y., Zhang C., Wang X., Yang F. Pb toxicity on gut physiology and microbiota. *Front Physiol.* 2021; 12: 574913. DOI: 10.3389/fphys.2021.574913.
4. Rost-Roszkowska M., Poprawa I., Chajec L., Chachulska-Żymelka A., Leśniewska M., Student S. Effects of short- and long-term exposure to cadmium on salivary glands and fat body of soil centipede *Lithobius forficatus* (Myriapoda, Chilopoda): Histology and ultrastructure. *Micron.* 2020; 137 (10): 102915. DOI: 10.1016/j.micron.2020.102915.
5. Volk N., Lacy B. Anatomy and physiology of the small bowel. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 2017; 27 (1): 1–13. DOI: 10.1016/j.giec.2016.08.001.
6. Zhang R., Perekatt A., Chen L. Metabolic regulation of intestinal homeostasis: Molecular and cellular mechanisms and diseases. *MedComm.* 2024; 5 (11): e776. DOI: 10.1002/mco2.776.
7. Sesorova I.S., Dimov I.D., Kashin A.D., Sesorov V.V., Karelina N.R., Zdorikova M.A., Beznoussenko G.V., Mironov A.A. Cellular and sub-cellular mechanisms of lipid transport from gut to lymph. *Tissue Cell.* 2021; 72: 101529. DOI: 10.1016/j.tice.2021.101529.
8. Елясин П.А., Залавина С.В., Машак А.Н., Овсянко Е.В., Айдагулова С.В. Иммуногистохимическое исследование эффектов тяжелых металлов на слизистую оболочку тонкой кишки крыс препубертатного возраста. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2021; 10 (4): 45–52. DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.45-52.
9. Миронов А.А., Безнуссенко Г.В., Сесорова И.С., Банин В.В. Как измерять структуры или новая стереология: III. Электронно-микроскопическая стереология. *Морфология.* 2006; 129 (3): 72–75. DOI: 10.17816/morph.399006.
10. 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: 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64.
11. Anwar S.M., Abd-Elhafeez H.H., Abdel-Maksoud F.M., Abdalla K.E.H. Morph-anatomic and histochemical study of ileum of goose (*Alopochen aegyptiaca*) with special references to immune cells, mucous and

- serous goblet cells, telocytes, and dark and light smooth muscle fibers. *Microsc Res Tech.* 2021; 84 (6): 1328–1347. DOI: 10.1002/jemt.23692.
12. Елясин П.А., Залавина С.В., Машак А.Н., Надеев А.П., Айдагулова С.В. Морфология тонкой кишки крыс-adolescents при хронической интоксикации сульфатом кадмия. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2018; 3: 160–165. DOI: 10.23648/UMBJ.2018.31.17226.
13. Бернарделли Л.И., Индейкин Ф.А., Матюшева Л.Г., Емелин А.М., Скалинская М.И., Некрасова А.С., Деев Р.В. Клеточно-дифференный состав эпителия в различные фазы течения воспалительных заболеваний кишечника. *Морфология.* 2024; 162 (2): 127–139. DOI: 10.17816/morph.633461.
14. Непомнящих Д.Л., Бурковская В.А., Айдагулова С.В., Бакарев М.А., Постникова О.А., Канустина В.И., Нохрина Ж.В., Виноградова Е.В. Структурные модификации эпителия гастроэнтеральной системы при иммунозависимом гранулематозе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010; 150 (10): 467–471. DOI: 10.1007/s10517-011-1176-4.
15. Okumura R., Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm. Regen.* 2018; 38: 5. DOI: 10.1186/s41232-018-0063-z. eCollection 2018.
16. Nikonova M.A., Sesorova I.S., Dimov I.D., Karelina N.R., Mironov A.A. Effect of the first feeding on enterocytes of newborn rats. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (22): 14179. DOI: 10.3390/ijms232214179.
17. 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.
18. Kyriazis I.D., Vassi E., Alvanou M., Angelakis C., Skaperda Z., Tekos F., Garikipati V.N.S., Spandidos D.A., Kouretas D. The impact of diet upon mitochondrial physiology (Review). *Int J Mol Med.* 2022; 50 (5): 135. DOI: 10.3892/ijmm.2022.5191.
19. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Сахарова Е.Г., Айдагулова С.В., Мезенцева Г.А., Непомнящих Л.М. Гистопатология и ультраструктура печени при действии наркотических веществ в сочетании с вирусами гепатита С и В. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1999; 128 (9): 351–355.
20. Weidemann D.K., Weaver V.M., Fadrowski J.J. Toxic environmental exposures and kidney health in children. *Pediatr Nephrol.* 2016; 31 (11): 2043–2054. DOI: 10.1007/s00467-015-3222-3.
21. Kwon S.J., Khan M.S., Kim S.G. Intestinal inflammation and regeneration-interdigitating processes controlled by dietary lipids in inflammatory bowel disease. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (2): 1311. DOI: 10.3390/ijms25021311.

Поступила в редакцию 25.04.2025; принята 12.05.2025.

Авторский коллектив

Елясин Павел Александрович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой анатомии человека имени академика Ю.И. Бородина, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: elyasinp@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2570-367X>.

Залавина Светлана Васильевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии имени профессора М.Я. Субботина, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: zalavinasv@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3405-5993>.

Саматова Инна Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии имени профессора М.Я. Субботина, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: inna.samatova.66@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0009-0008-1010-8775>.

Овсянко Елена Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека имени академика Ю.И. Бородина, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: elenaovsyanko70@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9282-7616>.

Жураковский Игорь Павлович – доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: m-rash2003@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0496-9401>.

Айдагулова Светлана Владимировна – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет». 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; e-mail: s.aydagulova@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7124-1969>.

Образец цитирования

Елясин П.А., Залавина С.В., Саматова И.М., Овсянко Е.В., Жураковский И.П., Айдагулова С.В. Стереологическое исследование клеток паренхимы и стромы тонкой кишки крыс препубертатного возраста при воздействии тяжелых металлов. Ульяновский медико-биологический журнал. 2025; 2: 121–132. DOI: 10.34014/2227-1848-2025-2-121-132.

STEREOLOGICAL STUDY OF PARENCHYMA AND STROMA CELLS OF THE SMALL INTESTINE OF PREPUBERTAL RATS UNDER HEAVY METAL EXPOSURE

P.A. Elyasin, S.V. Zalavina, I.M. Samatova, E.V. Ovsyanko,
I.P. Zhurakovskiy, S.V. Aydagulova

Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,
Novosibirsk, Russia

Small intestinal epithelial cells of small rodents can be a good model for studying chronic toxic effects. Studies on prepubertal animals are particularly relevant, as they can help in assessing the technogenic environmental impact on adolescents.

The aim of the study is to conduct a stereological analysis of parenchyma and stroma cells of the small intestine of prepubertal rats under chronic heavy metal exposure in subtoxic doses.

Materials and Methods. For 21 days 4-week-old male Wistar rats were given subtoxic doses of Cd (Group 2), Pb (Group 3), or their combination (Group 4) per os. Paraffin and ultrathin sections of the small intestinal mucosa were examined using the stereological method and Image J 1.7 software. The Mann-Whitney U test with Bonferroni correction was used for statistical processing of the results. The Kruskal-Wallis test was used to test the median equality of three or more independent samples.

Results and Discussion. Stereological study of parenchyma and stroma cells of the small intestinal mucosa under chronic subtoxic influence of Cd and Pb salts demonstrated multidirectional changes in the volume density of light and dark enterocytes, visually noticeable increase in intercellular space, and the increase in volume density of goblet cells under combined influence. Biosynthetic compartment of enterocytes (nucleoli, endoplasmic reticulum and mitochondria) in experimental groups of rats was statistically significantly reduced compared to the control.

Conclusion. The study revealed the reactivity of immune system cells with an increase in the volume density of lymphocytes and its decrease in plasma cells in experimental groups 3 and 4 (under Pb exposure), and a pronounced trend towards the parameter increment in matrix-producing cells.

Key words: cadmium, lead, small intestinal mucosa, enterocytes, electron microscopy, prepubertal age.

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

Author contributions

Research concept and design: Zalavina S.V., Aydagulova S.V.

Literature search, participation in the study, data processing: Elyasin P.A.,

Samatova I.M., Ovsyanko E.V., Zhurakovskiy I.P.

Statistical data processing: Elyasin P.A.

Data analysis and interpretation: Elyasin P.A., Aydagulova S.V.

Text writing and editing: Elyasin P.A., Zalavina S.V., Aydagulova S.V.

References

1. Fujiwara Y., Lee J.Y., Banno H., Imai S., Tokumoto M., Hasegawa T. Cadmium induces iron deficiency anemia through the suppression of iron transport in the duodenum. *Toxicol Lett.* 2020; 332: 130–139. DOI: 10.1016/j.toxlet.2020.07.005.
2. 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.
3. Liu W., Feng H., Zheng S., Xu S., Massey I.Y., Zhang C., Wang X., Yang F. Pb toxicity on gut physiology and microbiota. *Front Physiol.* 2021; 12: 574913. DOI: 10.3389/fphys.2021.574913.
4. Rost-Roszkowska M., Poprawa I., Chajec Ł., Chachulska-Żymełka A., Leśniewska M., Student S. Effects of short- and long-term exposure to cadmium on salivary glands and fat body of soil centipede *Lithobius forficatus* (Myriapoda, Chilopoda): Histology and ultrastructure. *Micron.* 2020; 137 (10): 102915. DOI: 10.1016/j.micron.2020.102915.
5. Volk N., Lacy B. Anatomy and physiology of the small bowel. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 2017; 27 (1): 1–13. DOI: 10.1016/j.giec.2016.08.001.
6. Zhang R., Perekatt A., Chen L. Metabolic regulation of intestinal homeostasis: Molecular and cellular mechanisms and diseases. *MedComm.* 2024; 5 (11): e776. DOI: 10.1002/mco2.776.
7. Sesorova I.S., Dimov I.D., Kashin A.D., Sesorov V.V., Karelina N.R., Zdorikova M.A., Beznoussenko G.V., Mironov A.A. Cellular and sub-cellular mechanisms of lipid transport from gut to lymph. *Tissue Cell.* 2021; 72: 101529. DOI: 10.1016/j.tice.2021.101529.
8. Elyasin P.A., Zalavina S.V., Mashak A.N., Ovsyanko E.V., Aydagulova S.V. Immunogistokhimicheskoe issledovanie effektivov tyazhelykh metallov na slizistuyu obolochku tonkoy kishki krys prepubatnogo vozrasta [Immunohistochemical study of the effects of heavy metals on the intestinal mucosa in prepubertal rats]. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2021; 10 (4): 45–52. DOI: 10.31088/SEM2021.10.4.45-52 (in Russian).
9. Mironov A.A., Beznoussenko G.V., Sesorova I.S., Banin V.V. Kak izmeryat' struktury ili novaya stereologiya: III. Elektronno-mikroskopicheskaya stereologiya [How to measure structures or new stereology: III. Stereology in electron microscopy]. *Morfologiya.* 2006; 129 (3): 72–75. DOI: 10.17816/morph.399006 (in Russian).
10. Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Grzhibovskiy A.M. Mnozhestvennye sravneniya v biomeditsinskikh issledovaniyakh: problema i sposoby resheniya [Multiple comparisons in biomedical research: The problem and its solutions]. *Ekologiya cheloveka.* 2020; 10: 55–64. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64 (in Russian).
11. Anwar S.M., Abd-Elhafeez H.H., Abdel-Maksoud F.M., Abdalla K.E.H. Morph-anatomic and histochemical study of ileum of goose (*Alopochen aegyptiaca*) with special references to immune cells, mucous and serous goblet cells, telocytes, and dark and light smooth muscle fibers. *Microsc Res Tech.* 2021; 84 (6): 1328–1347. DOI: 10.1002/jemt.23692.
12. Elyasin P.A., Zalavina S.V., Mashak A.N., Nadeev A.P., Aydagulova S.V. Morfologiya tonkoy kishki krys-adolescents pri khronicheskoy intoksikatsii sul'fatom kadmiya [Small intestine morphology of rats-adolescents with chronic cadmium sulfate intoxication]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal.* 2018; 3: 160–165. DOI: 10.23648/UMBJ.2018.31.17226 (in Russian).
13. Bernardelli L.I., Indeykin F.A., Matyusheva L.G., Emelin A.M., Skalinskaya M.I., Nekrasova A.S., Deev R.V. Kletочно-differentsialnyy sostav epiteliya v razlichnyye fazy techeniya vospalitel'nykh zabolevaniy kishechnika [The cellular-differential composition of the intestinal epithelium in various phases of inflammatory bowel diseases]. *Morfologiya.* 2024; 162 (2): 127–139. DOI: 10.17816/morph.633461 (in Russian).
14. Nepomnyashchikh D.L., Burkovskaya V.A., Aydagulova S.V., Bakarev M.A., Postnikova O.A., Kapustina V.I., Nokhrina Zh.V., Vinogradova E.V. Strukturnye modifikatsii epiteliya gastroenteral'noy sistemy pri immuno-zavisimom granulmatoze [Structural modification of the gastrointestinal epithelium during immune-dependent granulomatosis]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2010; 150 (10): 467–471. DOI: 10.1007/s10517-011-1176-4 (in Russian).

15. Okumura R., Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm. Regen.* 2018; 38: 5. DOI: 10.1186/s41232-018-0063-z. eCollection 2018.
16. Nikonova M.A., Sesorova I.S., Dimov I.D., Karelina N.R., Mironov A.A. Effect of the first feeding on enterocytes of newborn rats. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (22): 14179. DOI: 10.3390/ijms232214179.
17. 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.
18. Kyriazis I.D., Vassi E., Alvanou M., Angelakis C., Skaperda Z., Tekos F., Garikipati V.N.S., Spandidos D.A., Kouretas D. The impact of diet upon mitochondrial physiology (Review). *Int J Mol Med.* 2022; 50 (5): 135. DOI: 10.3892/ijmm.2022.5191.
19. Nepomnyashchikh G.I., Tolokonskaya N.P., Sakharova E.G., Aydagulova S.V., Mezentseva G.A., Nepomnyashchikh L.M. Gistopatologiya i ul'trastruktura pecheni pri deystvii narkoticheskikh veshchestv v sochetanii s virusami gepatita C i B [Liver histopathology and ultrastructure under drug in combination with hepatitis C and B]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 1999; 128 (9): 351–355 (in Russian).
20. Weidemann D.K., Weaver V.M., Fadrowski J.J. Toxic environmental exposures and kidney health in children. *Pediatr Nephrol.* 2016; 31 (11): 2043–2054. DOI: 10.1007/s00467-015-3222-3
21. Kwon S.J., Khan M.S., Kim S.G. Intestinal inflammation and regeneration-interdigitating processes controlled by dietary lipids in inflammatory bowel disease. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (2): 1311. DOI: 10.3390/ijms25021311.

Received April 25, 2025; accepted May 12, 2025.

Information about the authors

Elyasin Pavel Aleksandrovich, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Chair of Human Anatomy named after Academician Yu. I. Borodin, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: elyasinpa@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2570-367X>.

Zalavina Svetlana Vasil'evna, Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Chair of Histology, Embryology and Cytology named after Professor M. Ya. Subbotin, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: zalavinasv@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3405-5993>.

Samatova Inna Mikhaylovna, Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Histology, Embryology and Cytology named after Professor M. Ya. Subbotin, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: inna.samatova.66@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0009-0008-1010-8775>.

Ovsyanko Elena Vladimirovna, Doctor Sciences (Medicine), Professor, Chair of Human Anatomy named after Academician Yu. I. Borodin, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: elenaovsyanko70@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9282-7616>.

Zhurakovskiy Igor' Pavlovich, Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Pathological Physiology and Clinical Pathophysiology, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: murash2003@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0496-9401>.

Aydagulova Svetlana Vladimirovna, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Cell Biology and Fundamentals of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University. 630091, Russia, Novosibirsk, Krasnyy Ave, 52; e-mail: s.aydagulova@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7124-1969>.

For citation

Elyasin P.A., Zalavina S.V., Samatova I.M., Ovsyanko E.V., Zhurakovskiy I.P., Aydagulova S.V. Stereologicheskoe issledovanie kletok parenkhimy i stromy tonkoy kishki krys prepubertatnogo vozrasta pri vozdeystvii tyazhelykh metallov [Stereological study of parenchyma and stroma cells of the small intestine of prepubertal rats under heavy metal exposure]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal.* 2025; 2: 121–132. DOI: 10.34014/2227-1848-2025-2-121-132 (in Russian).