

УДК 599.325.1-143.6.068.1.044:546.26
ББК Е623.362.422*734.26-641.9:Г124.2

Е.А. ГРИГОРЬЕВА, В.С. ДЕДИКИНА, Р.Д. МИХЕЙКИН, С.А. МИХАЙЛОВ,
А.Р. ГЕРДАЕВА, В.С. ГОРДОВА, В.Е. СЕРГЕЕВА, Н.В. СМИРНОВА

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВОДОРАСТВОРИМОГО КРЕМНИЯ В ТЕЧЕНИЕ ТРЕХ МЕСЯЦЕВ

Ключевые слова: кремний, аморфный диоксид кремния, силикаты, печень, фиброз, гистамин, биогенные амины.

В статье приведены результаты, полученные в ходе изучения печени кроликов, находившихся в эксперименте с поступлением кремния с питьевой водой в концентрации 20 мг/л в пересчете на кремний.

Целью исследования явилась комплексная оценка изменений печени лабораторных кроликов в условиях проводимого эксперимента с поступлением водорастворимого кремния в течение трех месяцев.

Материал и методы. Кролики содержались в виварии на стандартном рационе со свободным доступом к питьевой воде в течение трех месяцев. Животные контрольной группы ($n = 3$) получали питьевую бутилированную воду, кролики опытной группы ($n = 3$) – ту же самую воду, но с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 20 мг/л в пересчете на кремний. После выведения животных из эксперимента извлекали печень. Часть печени отправляли на заморозку в криостат с дальнейшим приготовлением свежих срезов толщиной 10 мкм и постановкой реакции Кросса, Эвана, Роста для обнаружения гистамин люминесцирующих структур, другая часть помещалась в 10%-ный раствор формалина для последующей заливки в парафин. Изготавливались парафиновые блоки, срезы толщиной 5 мкм после депарафинизации окрашивались гематоксилином и эозином, метиловым зеленым-пиронином по методу Браше, а также по методу Ван-Гизона для выявления соединительной ткани. Результаты замеров считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При окраске гематоксилином и эозином в препаратах печени кроликов опытной группы, получавших с питьевой водой кремний в концентрации 20 мг/л *ad libitum* в течение трех месяцев, в сравнении с препаратами в контрольной группе выявляли статистически значимые увеличения средней площади гепатоцитов, средней площади ядер гепатоцитов, среднего диаметра синусоидных капилляров. Отмечали увеличение площади центральных вен, однако эти изменения не носили статистически значимого характера. Наблюдалось изменение формы ядер гепатоцитов, которое проявлялось снижением коэффициента формы ядра и эксцентриситета и возрастанием индекса контура ядра, а также лейкоцитарную инфильтрацию области портальных трактов, появление участков фокальных некрозов гепатоцитов, разрастание соединительной ткани с образованием портального фиброза и портально-портальных септ. У кроликов опытной группы в гистопрепаратах печени, окрашенных методом Браше, в ядрах гепатоцитов определяли понижение оптической плотности ДНК. Мы обнаружили увеличение интенсивности люминесценции гистамина в содержащих его люминесцирующих гранулярных клетках печени кроликов.

Выводы. Поступление кремния в концентрации 20 мг/л в течение трех месяцев приводит к выраженным морфологическим изменениям в печени кроликов.

Введение. Кремний широко встречается в природе. Чаще его можно обнаружить в виде кремнезема. Он занимает второе место по распространенности среди микроэлементов после кислорода. Суточная потребность человека в этом микроэлементе составляет от 10 до 25 мг. Усредненно в организм человека с пищей и питьевой водой, по данным разных авторов, поступает 20–50 мг кремния в течение одного дня [6]. Однако всасывания его в желудочно-кишечном тракте происходит не полностью. Данный процесс зависит от формы соединения кремния. Так, наиболее биодоступной является ортокремниевая кислота, которая

образуется за счет гидролиза диоксида кремния. В конечном итоге из всего поступившего за сутки кремния усваивается примерно лишь половина [10].

До недавнего времени предельно допустимая концентрация для кремния в питьевой воде находилась в пределах 10 мг/л, согласно СанПиН 2.1.4.1116-02. Однако 28 января 2021 г. вступил в силу новый СанПиН 1.2.3685-21, согласно которому, предельно допустимая концентрация кремния была увеличена вдвое и зависела от жесткости воды [15]. Ранее нами было исследовано влияние водорастворимого кремния, поступающего с питьевой водой, ежедневно в концентрации 10 мг/л *ad libitum* на внутренние органы лабораторных крыс и мышей, в том числе и на печень [4, 13, 14]. Однако нередко возникал вопрос о возможности воспроизведения результатов прошлых исследований на животных другого вида. В связи с тем нами было принято решение провести серию экспериментов на лабораторных хомяках [7] и кроликах. В данной работе представлены результаты, полученные на лабораторных кроликах, которые находились в эксперименте в течение трех месяцев и получали девятиводный метасиликат натрия в концентрации 20 мг/л в пересчете на финальное содержание кремния в питьевой воде. Выбор кроликов в качестве объекта исследования обусловлен широким их использованием в экспериментах, связанных с изучением различного рода влияния на организм [19, 20], а также в связи со схожестью анатомического и гистологического строения их печени с печенью человека [17].

Цель исследования – провести комплексную оценку изменений печени кроликов при поступлении кремния с питьевой водой в концентрации 20 мг/л в пересчете на кремний в течение трех месяцев.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на двух группах лабораторных кроликов: контрольной ($n = 3$) и опытной ($n = 3$). Поение животных в течение трех месяцев осуществлялось в режиме свободного доступа к поилке. Контрольная группа животных получала питьевую бутилированную воду, соответствующую стандартам «Сестрица Природная». Животным опытной группы в питьевую бутилированную воду того же производителя добавляли девятиводный метасиликат натрия из расчета финального содержания кремния 20 мг/л. Животные были выведены из эксперимента путем декапитации. Часть извлеченной печени отправляли на заморозку в криостат с дальнейшим приготовлением свежих замороженных срезов толщиной 10 мкм и постановкой реакции Кросса, Эвана, Роста для обнаружения гистаминсодержащих структур [5, 18], другую часть помещали в 10%-ный раствор формалина для последующей заливки в парафин. Срезы толщиной 5 мкм после депарафинизации окрашивали гематоксилином и эозином, метиловым зеленым-пиронином по методу Браше для выявления нуклеиновых кислот в ядрах гепатоцитов, а также по методу Ван-Гизона для выявления соединительной ткани [11].

Интенсивность люминесценции гистамина определяли в гепатоцитах, стенках центральных вен и люминесцирующих гранулярных клетках (ЛГК) печени лабораторных кроликов. Для этого использовали люминесцентный микроскоп ЛЮМАМ-4 при длине его возбуждающего света 360 нм (светофильтр № 7) и насадку ФМЭЛ-1А с выходным напряжением 900 В. Показания снимались с ЖК-дисплея мультиметра (модель DT-830В) при постоянном напряжении 200 В в условиях единичной флуоресценции (у.е.) [7].

Морфометрию структур печени, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону, проводили по микрофотографиям, полученным с помощью тринокулярного микроскопа МИКМЕД-6 и цифровой камеры AmScore (MU1000) при увеличении объектива 4, 40 и 100.

Для определения оптической плотности ДНК и РНК в ядрах гепатоцитов печени, окрашенных метиловым зелёным-пиронином по методу Браше, срезы фотометрировали при увеличении $\times 900$, используя микроскоп МИКМЕД-5 и фотометрическую насадку ФМЭЛ-1А на красном (650 нм) и зеленом (500 нм) монохроматических светофильтрах. Регистрацию условных единиц оптической плотности осуществляли при помощи мультиметра (модель DT-830В). Количество ДНК и РНК высчитывалось в условных единицах оптической плотности по апробированной методике [8].

Полученные в ходе измерения выборки проверяли на нормальность распределения с использованием критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные представляли как среднюю арифметическую со стандартной ошибкой среднего значения в виде $M \pm m$. Статистическую значимость отличий определяли с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок. В случае ненормального распределения определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (L25; U75). А статистическую значимость оценивали с использованием U -критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В гистологических препаратах печени, окрашенных гематоксилином и эозином, при визуальном просмотре препаратов под микроскопом были отмечены некоторые отличительные от морфологического строения печени крыс признаки: широкие просветы сосудов печени (центральных вен, междольковых вен и артерий триады печени), а также междолькового желчного протока. Данные литературы подтвердили, что эти признаки являются отличительными для печени кроликов [1, 2]. Также обратило на себя внимание то, что в печени кроликов опытной группы более четко контурированы печеночные дольки, которые к тому же имеют отличную от правильного шестиугольника форму. Кроме того, отмечались: стаз крови в сосудах печеночной дольки, лейкоцитарная инфильтрация портальных трактов, появление фокальных внутридольковых некрозов гепатоцитов, включения липофусцина в гепатоцитах печени (рис. 1).

Морфометрия срезов печени кроликов обеих экспериментальных групп при увеличении объектива $\times 40$ выявила отсутствие разницы между показателями средних арифметических площадей поперечного сечения сосудов: центральной вены; междольковых артерии и вены; междолькового желчного протока.

Результаты морфометрии гистологических препаратов печени, окрашенных гематоксилином и эозином, при увеличении объектива $\times 100$ приведены в табл. 1. Анализ данных табл. 1 показал, что у кроликов, получавших с питьевой водой кремний, имелась слабая тенденция к уменьшению количества одно- и двуйдерных гепатоцитов на микрофотографию и увеличению площади ядра. Статистически значимо возрастали: средняя площадь гепатоцитов, средняя площадь цитоплазмы, средний диаметр синусоидных капилляров. Возрастал коэффициент формы ядра и снижался индекс контура ядра ($p < 0,05$).

Площади гепатоцитов и ядер гепатоцитов печени кроликов контрольной и опытной групп были распределены по методу сигмальных отклонений (табл. 2).

Показатели табл. 2 позволяют сделать вывод, что изменения средней площади гепатоцитов в печени кроликов опытной группы происходят за счет уменьшения доли гепатоцитов малой площади и увеличения доли гепатоцитов очень большой площади. Такие же изменения происходят и со средней площадью ядер гепатоцитов.

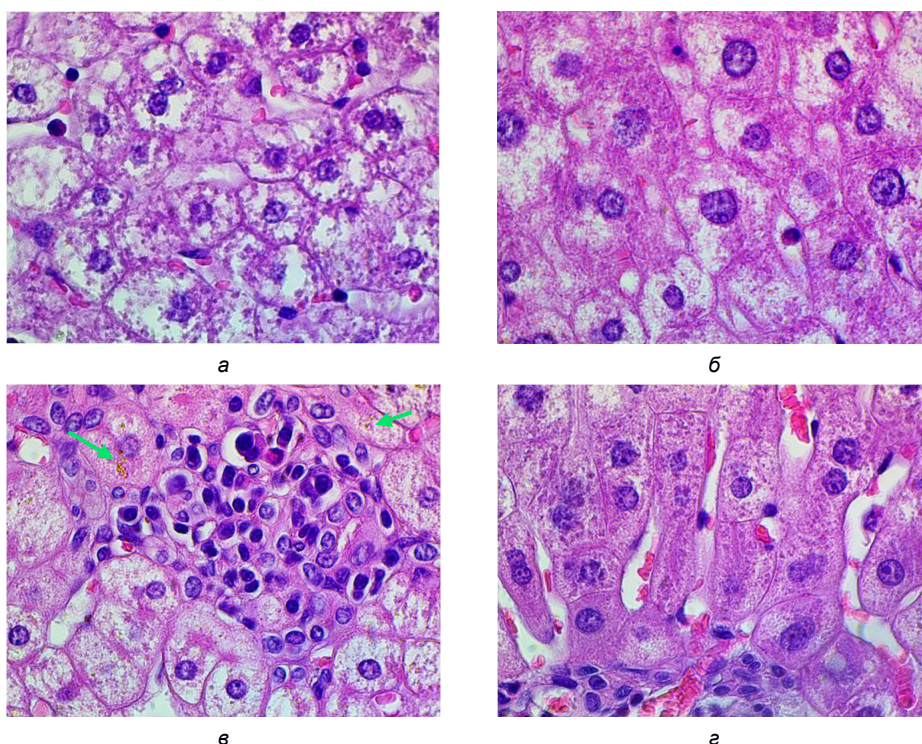


Рис. 1. Печень лабораторных кроликов (три месяца эксперимента).

Окраска гематоксилин-эозином. Микроскоп МИКМЕД-6. Об. 100.

Цифровая камера AmScope (MU1000):

а – печень кроликов контрольной группы;

б, в, з – печень кроликов опытной группы, получавших водорастворимый кремний в концентрации 20 мг/л;

в – включения липофусцина (зеленые стрелки), фокальный внутريدольковый некроз гепатоцитов;

з – матово-стекловидные гепатоциты

Таблица 1

Сравнение данных морфометрии печени лабораторных кроликов при увеличении объектива $\times 100$ (3 месяца)

Параметры	Экспериментальная группа	
	контроль	опыт
Количество гепатоцитов в поле зрения, шт.	24,60 \pm 0,48	25,74 \pm 0,65
Количество ядер гепатоцитов в поле зрения, шт.	17,20 \pm 0,69	13,00 \pm 0,68
Количество двуядерных гепатоцитов, шт.	1,5 \pm 0,27	1,34 \pm 0,29
Площадь гепатоцитов, мкм ²	461,39 \pm 14,71	535,97 \pm 20,16*
Площадь цитоплазмы, мкм ²	82,09 \pm 1,24	89,50 \pm 1,66*
Площадь ядер, мкм ²	45,92 \pm 1,12	49,93 \pm 1,91
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,11	0,10
Эксцентриситет	0,48	0,43
Коэффициент формы ядра	3,49	3,47*
Индекс контура ядра	1,03	1,05*
Диаметр синусоидных капилляров, мкм	7,19 \pm 0,26	7,79 \pm 0,14*

Примечание. * – статистически значимые различия средних величин $p < 0,05$.

Таблица 2

Распределение площадей гепатоцитов и ядер гепатоцитов
(по методу сигмальных отклонений), %

Размеры	Площадь гепатоцитов, мкм ²	Доля гепатоцитов, %		Площадь ядер гепатоцитов, мкм ²	Доля ядер гепатоцитов, %	
		контроль	опыт		контроль	опыт
Малая площадь (<M-σ)	< 329,04	16	6*	<35,26	16	10
Средняя площадь (M±σ)	329,04–593,74	60	59	35,26–56,57	69	66
Большая площадь (>M+σ; M+2σ)	593,74–726,10	21	24	56,57–67,22	12	8
Очень большая площадь (>M+2σ)	>726,10	3	11*	>67,22	3	16*

Примечание. * – статистически значимые различия средних величин $p < 0,05$.

Окраска препаратов печени по методу Ван-Гизону позволила получить более ясное представление о микроморфологии печени (рис. 2).

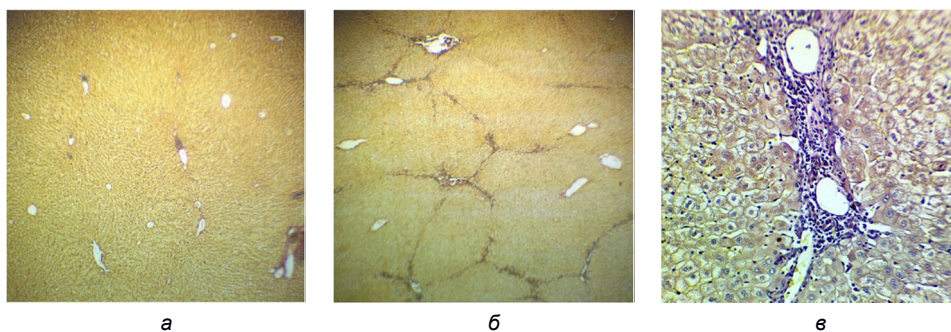


Рис. 2. Печень лабораторных кроликов (три месяца эксперимента).
Окраска по Ван-Гизону. Об. 4 (а, б). Об. 40 (в). Микроскоп МИКМЕД-6.
Цифровая камера AmScope (MU1000):

а – печень кроликов контрольной группы; б, в – печень кроликов опытной группы

В печени кроликов обеих групп соединительная ткань окрашивалась в красный цвет на фоне желтых гепатоцитов и определялась преимущественно в стенке центральных вен и в области портальных трактов. В печени кроликов опытной группы, получавшей кремний с питьевой водой в концентрации 20 мг/л, отмечались лейкоцитарная инфильтрация области портальных трактов, разрастание соединительной ткани с образованием портального фиброза и соединительнотканых (порто-портальных) септ.

В препаратах печени, окрашенных метиловым зеленым по методу Браше, определяли оптическую плотность ДНК и РНК в ядрах гепатоцитов. В печени кроликов опытной группы хроматин в ядрах гепатоцитов располагался преимущественно примембранно. Измерение выявило, что в ядрах гепатоцитов печени кроликов контрольной группы медиана оптической плотности ДНК составила 0,119 (0,096; 0,143) у.е., а в группе животных, получавших кремний с питьевой водой, – 0,096 (0,081; 0,130) у.е., что в 0,81 раза меньше в сравнении с таковой в контрольной группе ($p < 0,05$). Медиана оптической плотности РНК ядер гепатоцитов оказалась сопоставимой для кроликов обеих групп.

В свежемороженых срезах, обработанных люминесцентно-гистохимическим методом Кросса, Эвана, Роста, определялись следующие гистаминсодержающие структуры печени: гепатоциты, люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК), центральные вены (рис. 3).

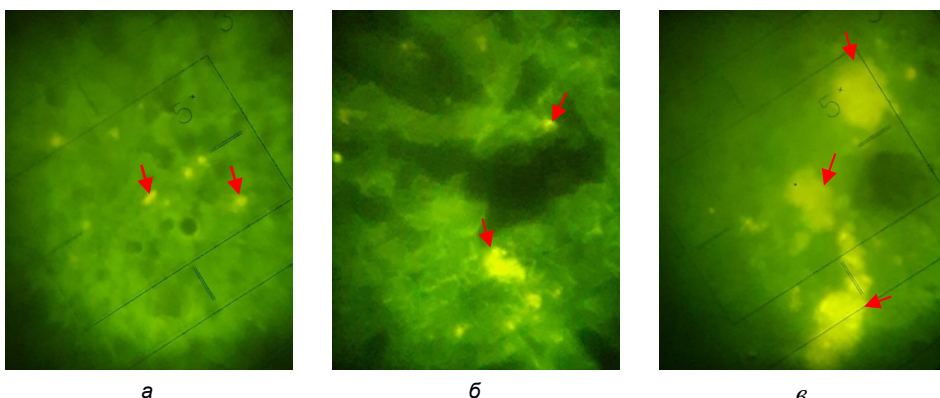


Рис. 3. Люминесцентная морфология печени кроликов (три месяца эксперимента).

Ок. 10. Об. 40. Метод Cross–Ewen–Rost. Микроскоп ЛЮМАМ-4:

а – печень кроликов контрольной группы;

б, в – печень кроликов, получавшего в течение трех месяцев кремний с питьевой водой в концентрации 20 мг/л.

Красными стрелками на фотографиях указаны люминесцирующие гранулярные клетки

При цитоспектрофлуориметрии печени кроликов опытной группы наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции гистамина в стенке центральных вен и микроокружении ЛГК в 0,66 раза, в гепатоцитах – в 0,47 раза, а в ЛГК отмечалось увеличение этого показателя в 1,5 раза ($p < 0,05$). ЛГК в печени кроликов опытной группы проявляли склонность к образованию скоплений.

Обобщая данные, полученные при комплексном исследовании печени кроликов, можно утверждать, что в опытной группе на фоне поступающего с питьевой водой кремния развивается воспалительный процесс с исходом в фиброз [16]. Это подтверждается появлением гепатоцитов в состоянии апоптоза и некроза, а также изменением показателей коэффициента формы и индекса контура ядра (кариопикноз, кариорексис, кариолизис), свидетельствующих о деформации ядра [9].

Наблюдаемое нами уменьшение числа двуядерных гепатоцитов на микрофотографии нередко проявляется при истощении клеточной формы регенерации гепатоцитов [12]. Увеличение площади гепатоцитов сопровождается увеличением площади ядер гепатоцитов, которое чаще всего возрастает при удвоении содержащегося в нем ДНК [3]. Однако в нашем случае обнаруживалось уменьшение медианы оптической плотности ДНК, что, возможно, связано с перераспределением хроматина в ядре, а именно с преимущественным его примембранным расположением.

Ранее Zhou K. et al. (2016) выявили, что уровень гистамина был значительно повышен в печени у детей с атрезией желчевыводящих путей и положительно коррелировал с тяжестью фиброза печени [21]. Мы наблюдали увеличение количества ЛГК и возрастание интенсивности люминесценции гистамина в них. Исходя из этого, мы можем предположить, что данные клетки непосредственно участвуют в развитии фиброза в изучаемом нами органе.

Выводы. Поступление кремния в течение трех месяцев с питьевой водой в концентрации 20 мг/л приводит к выраженным изменениям в печени кроликов. Наблюдаются увеличение средней площади гепатоцитов и их ядер, среднего диаметра синусоидных капилляров; уменьшение количества двуядерных

гепатоцитов; изменение формы ядер гепатоцитов (снижение коэффициента формы ядра и эксцентриситета, возрастание индекса контура ядра); понижение оптической плотности ДНК в ядрах гепатоцитов; увеличение интенсивности гистамина в ЛГК; лейкоцитарная инфильтрация области портальных трактов; появление участков фокальных некрозов гепатоцитов; разрастание соединительной ткани с образованием портального фиброза и соединительнотканых (порто-портальных) септ.

Литература

1. Азизова М.А. Изучение морфологии и некоторых морфометрических показателей печени у травоядных, плотоядных и всеядных лабораторных животных // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. 2015. Т. 1, № 4(11). С. 3–9.
2. Азизова М.А. Морфология и некоторые морфометрические параметры печени лабораторных животных с различным характером питания // Наука молодых – Eruditio Juvenium. 2016. № 2. С. 6–13.
3. Андреев В.П., Цыркунов В.М., Кравчук Р.И. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. Т. 4, № 2. С. 126–142.
4. Григорьева Е.А. Морфологические особенности печени при воздействии водорастворимого соединения кремния // Медицинский академический журнал. 2016. Т. 16, № 4. С. 71–72.
5. Гистаминсодержащие клетки лимфоидных органов лабораторных грызунов в эксперименте / В.С. Гордова, В.Е. Сергеева, А.И. Коршунова, Е.А. Григорьева и др. // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, № 3. С. 107–115.
6. Григорьева Е.А., Гордова В.С., Сергеева В.Е. Влияние наночастиц кремния и водорастворимых силикатов на печень (сравнение результатов собственных исследований с литературными данными) // Acta medica Eurasica. 2022. № 4. С. 108–120. DOI: 10.47026/2413-4864-2022-4-108-120.
7. Изменение гистаминового статуса внутренних органов лабораторных животных в зависимости от концентрации кремния в питьевой воде / В.С. Гордова, Е.А. Григорьева, В.Е. Сергеева и др. // Acta medica Eurasica. 2023. № 1. С. 83–92. DOI: 10.47026/2413-4864-2023-1-83-92.
8. Ильина Л.Ю., Козлов В.А., Сапожников С.П. Мегакариоциты селезёнки при экспериментальном амилоидозе и воздействии красного вина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021. Т. 172, № 11. С. 639–642.
9. Клиническая морфология печени: некрозы / В.М. Цыркунов, Н.И. Прокопчик, В.П. Андреев и др. // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2017. № 5. С. 557–568.
10. Кремний, его биологическое действие при энтеральном поступлении в организм и гигиеническое нормирование в питьевой воде. Обзор литературы / Ю.А. Рахманин, Н.А. Егорова, Г.Н. Красовский [и др.] // Гигиена и санитария. 2017. Т. 96, № 5. С. 492–498. DOI: 10.18821/0016-9900-2017-96-5-492-498.
11. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. 5-е изд., испр. и доп. Ленинград: Медицина. Ленингр. отд-ние, 1969. 423 с.
12. Морфологическая характеристика печени при действии циклофосамида / Е.Л. Лушников, О.П. Молодых, В.И. Капустина и др. // Фундаментальные исследования. 2015. № 2(23). С. 5124–5128.
13. Реакция CD68-позитивных клеток печени и селезенки крыс на поступление кремния с питьевой водой / Е.А. Григорьева, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева и др. // Acta Medica Eurasica. 2021. № 2. С. 34–43. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-34-43.
14. Резник Э.Я., Гафаров Р.Р., Пижевская А.В. Размерные характеристики ядер гепатоцитов мышей при поступлении кремния с питьевой водой в течение трех месяцев // Актуальные проблемы биомедицины – 2022. Материалы XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. СПб.: Первый С.-Петербург. гос. мед. ун-т им. академика И.П. Павлова, 2022. С. 303–305.
15. О гигиеническом нормировании соединений кремния в питьевой воде (обзор литературы) / Ю.А. Рахманин, Н.А. Егорова, Р.И. Михайлова и др. // Гигиена и санитария. 2021. Т. 100, № 10. С. 1077–1083.
16. Современные возможности оценки выраженности фиброза печени / В.Н. Диомидова, Л.В. Тарасова, О.В. Петрова и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018. № 2(150). С. 24–30.
17. Сравнительная морфология печени и желчного пузыря человека и лабораторных животных / А.А. Мужикян, К.О. Заикин, Я.А. Гушин и др. // Международный вестник ветеринарии. 2017. № 4. С. 117–129.
18. Cross S.A., Even S.W., Rost F.W. A study of methods available for cyto-chemical localization of histamine by fluorescence induced with opthaldehyde or acetaldehyde. *Histochem. J.* 1971, vol. 3(6). pp. 471–476.

19. Khan M.S., Buzdar S.A., Hussain R., Afzal G. et al. Hematobiochemical, Oxidative Stress, and Histopathological Mediated Toxicity Induced by Nickel Ferrite (NiFe₂O₄) Nanoparticles in Rabbits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, vol. 2022. p. 5066167. DOI: 10.1155/2022/5066167.

20. Fakhardo A., Anastasova E., Makarov V., Ikonnikova E. et al. Heparin-coated iron oxide nanoparticles: application as a liver contrast agent, toxicity and pharmacokinetics. *Journal of materials chemistry B*, 2022, vol. 10(38), pp. 7797–7807. DOI: 10.1039/d2tb00759b.

21. Zhou K., Xie G., Wen J., Wang J. et al. Histamine is correlated with liver fibrosis in biliary atresia. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 2016, vol. 48(8), pp. 921–926. DOI: 10.1016/j.dld.2016.05.001.

ГРИГОРЬЕВА ЕВГЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА – аспирантка кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (shgrev@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3626-2750>).

ДЕДИКИНА ВАЛЕРИЯ СЕРГЕЕВНА – студентка V курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (valary0d@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5045-4291>).

МИХЕЙКИН РОМАН ДЕНИСОВИЧ – студент III курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (mikheykin2002@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6731-7224>).

МИХАЙЛОВ СЕМЕН АЛЕКСЕЕВИЧ – студент III курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (semenm369@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0440-1979>).

ГЕРДАЕВА АСИЯТ РАМИЗОВНА – студентка III курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (gerdaeva19@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-1052-7882>).

ГОРДОВА ВАЛЕНТИНА СЕРГЕЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины медицинского института, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Россия, Калининград (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

СЕРГЕЕВА ВАЛЕНТИНА ЕФРЕМОВНА – доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (kafedra-biology@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5226>).

СМИРНОВА НАДЕЖДА ВЛАДИМИРОВНА – кандидат биологических наук, заведующая кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (nadyas05@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7346-6301>).

Evgeniia A. GRIGOREVA, Valeriia S. DEDIKINA, Roman D. MIKHEIKIN, Semyon A. MIKHAILOV, Asiiat R. GERDAEVA, Valentina S. GORDOVA, Valentina E. SERGEEVA, Nadezhda V. SMIRNOVA

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE LIVER OF RABBITS EXPOSED TO WATER-SOLUBLE SILICON FOR THREE MONTHS

Key words: silicon, amorphous silicon dioxide, silicates, liver, fibrosis, histamine, biogenic amines.

The article presents the results obtained when studying the liver of rabbits who were in an experiment with the intake of silicon with drinking water at a concentration of 20 mg / l expressed in terms of silicon.

The aim of the study was a comprehensive assessment of liver changes in laboratory rabbits under the conditions of the experiment with the intake of water-soluble silicon for three months.

Material and methods. Rabbits were kept in a vivarium on a standard diet with free access to drinking water for three months. Animals of the control group (n = 3) received bottled drinking water, rabbits of the experimental group (n = 3) received the same water, but with the addition of sodium metasilicate enneahydrate at a concentration of 20 mg / l expressed in terms of silicon. After the animals were removed from the experiment, the liver was extracted. A part of the liver was sent to a cryostat for freezing with further preparation of fresh slices with a thickness of 10

microns and producing a Cross, Evan and Rost reaction to detect histamine luminescent structures, the other part was placed in a 10% formalin solution for subsequent paraffin embedding. Paraffin blocks were made; sections of 5 microns thick after deparaffination were stained with hematoxylin and eosin, methyl green-pyronine by Brachet method, as well as by Van Gieson method to identify connective tissue. The measurement results were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results and their discussion. When stained with hematoxylin and eosin in the liver preparations of rabbits of the experimental group who received silicon with drinking water at a concentration of 20 mg/l ad libitum for three months, statistically significant increases in the average area of hepatocytes, the average area of hepatocyte nuclei, and the average diameter of sinusoidal capillaries were revealed in comparison with the preparations in the control group. An increase in the area of central veins was noted, but these changes were not statistically significant. A change in the shape of hepatocytes' nuclei was observed, which was manifested by a decrease in the shape factor of the nucleus and eccentricity and an increase in the index of the nucleus contour, as well as leukocytic infiltration of the portal tract area, formation of areas of hepatocytes' focal necrosis, proliferation of connective tissue with the formation of portal fibrosis and portoportal septa. In rabbits of the experimental group, a decrease in the DNA optical density was determined in liver histopreparations stained by Brush method in hepatocyte nuclei. We found an increase in the intensity of histamine luminescence in the luminescent granular liver cells of rabbits containing it.

Conclusions. The intake of silicon at a concentration of 20 mg/l for three months results in pronounced morphological changes in the liver of rabbits.

References

1. Azizova M.A. *Izuchenie morfologii i nekotorykh morfometricheskikh pokazatelei pecheni u travoyadnykh, plotoyadnykh i vseядnykh laboratornykh zhivotnykh* [Study of the morphology and some morphometric parameters of the liver in herbivorous, carnivorous and omnivorous laboratory animals]. *Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti*, 2015, vol. 1, no. 4(11), pp. 3–9.
2. Azizova M.A. *Morfologiya i nekotorye morfometricheskie parametry pecheni laboratornykh zhivotnykh s razlichnym kharakterom pitaniya* [Morphology and some morphometric parameters of the liver of laboratory animals with different nutrition patterns]. *Nauka molodykh – Eruditio Juvenium*, 2016, vol. 2, pp. 6–13.
3. Andreev V.P., Tsyrukunov V.M., Kravchuk R.I. *Klinicheskaya morfologiya pecheni: yadernyi apparat gepatotsitov* [Clinical liver morphology: The nuclear apparatus of hepatocytes]. *Gepatologiya i gastroenterologiya*, 2020, vol. 4, no. 2, pp. 126–142.
4. Grigor'eva E.A. *Morfologicheskie osobennosti pecheni pri vozdeistvii vodorastvorimogo soedineniya kremniya* [Morphological features of the liver when exposed to a water-soluble silicon compound]. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 71–72.
5. Gordova V.S., Sergeeva V.E., Korshunova A.I., Grigor'eva E.A. et al. *Gistaminsoderzhashchie kletki limfoidnykh organov laboratornykh gryzunov v eksperimente* [Histamine containing cells of lymphoid organs of laboratory rodents in experiment]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*, 2018, vol. 25, no. 3, pp. 107–115.
6. Grigor'eva E.A., Gordova V.S., Sergeeva V.E. *Vliyaniye nanochastits kremniya i vodorastvorimykh silikatov na pechen' (sравnenie rezul'tatov sobstvennykh issledovaniy s literaturnym dannymi)* [The effect of silicon nanoparticles and water-soluble silicates on the liver (comparison of our own research results with the literature data)]. *Acta medica Eurasica*, 2022, vol. 4, pp. 108–120. DOI: 10.47026/2413-4864-2022-4-108-120.
7. Gordova V.S., Grigor'eva E.A., Sergeeva V.E., Smirnova N.V., Karyshev P.B. *Izmeneniye gistaminovogo statusa vnutrennykh organov laboratornykh zhivotnykh v zavisimosti ot kontsentratsii kremniya v pit'evoi vode* [Changes in the histamine status of the internal organs of laboratory animals depending on the silicon concentration in drinking water]. *Acta medica Eurasica*, 2023, vol. 1, pp. 83–92. DOI: 10.47026/2413-4864-2023-1-83-92.
8. Il'ina L.Yu., Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P. *Megakariotsity selezenki pri eksperimental'nom amiloidoze i vozdeistvii krasnogo vina* [Spleen megakaryocytes in experimental amyloidosis and exposure to red wine]. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2021, vol. 172, no. 11, pp. 639–642.
9. Tsyrukunov V.M., Prokopchik N.I., Andreev V.P., Kravchuk R.I. *Klinicheskaya morfologiya pecheni: nekrozy* [Clinical morphology of the liver: necroses]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2017, vol. 5, pp. 557–568.
10. Rakhmanin Yu. A., Egorova N. A., Krasovskii G. N., Mikhailova R.I., Alekseeva A.V. *Kremnii, ego biologicheskoe deystvie pri enteral'nom postuplenii v organizm i gigienicheskoe normirovaniye v pit'evoi vode. Obzor literatury* [Silicon: its biological impact under dietary intake and hygienic standartization of its content in drinking water. A review]. *Gigiya i sanitariya* [Hygiene & Sanitation (Russian Journal)]. 2017. T. 96, № 5. S. 492–498. DOI 10.18821/0016-9900-2017-96-5-492-498.
11. Merkulov G.A. *Kurs patologogistologicheskoi tekhniki. 5-e izd., ispr. i dop.* [Pathology and histology course. 5th ed.]. Leningrad, Meditsina Publ., 1969, 423 p.

12. Lushnikova E.L., Molodykh O.P., Kapustina V.I., Nepomnyashchikh L.M. *Morfologicheskaya kharakteristika pecheni pri deistvii tsiklofosfamida* [Morphological characteristics of the liver under the action of cyclophosphamide]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2015, vol. 2(23), pp. 5124–5128.
13. Grigor'eva E.A., Gordova V.S., Sergeeva V.E., Smorodchenko A.T. *Reaktsiya CD68-pozitivnykh kletok pecheni i slezhenki krysa na postuplenie kremniya s pit'evoi vodoi* [Reaction of CD68-positive rat liver and spleen cells on silicon intake with drinking water]. *Acta Medica Eurasica*, 2021, vol. 2, pp. 34–43. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-34-43.
14. Reznik E.Ya., Gafarov R.R., Pizhevskaya A.V. *Razmernye kharakteristiki yader gepatotsitov myshei pri postuplenii kremniya s pit'evoi vodoi v techenie trekh mesyatsev* [Dimensional characteristics of mice hepatocyte nuclei when silicon was supplied with drinking water for three months]. In: *Aktual'nye problemy biomeditsiny – 2022. Materialy XXVIII Materialy XXVIII Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchennykh s mezhdunarodnym uchastiem* [Proc. of the 28th Russ. Conf. «Actual problems of biomedicine – 2022»]. St. Petersburg, 2022, p. 303–305.
15. Rahmanin Yu.A., Egorova N.A., Mihajlova R.I., Ryzhova I.N., Kochetkova M.G. *O gigienicheskom normirovanii soedinenii kremniya v pit'evoi vode (obzor literatury)* [On the hygienic rating of silicon compounds in drinking water (literature review)]. *Gigiena i sanitariya*, 2021, vol. 100, no. 10, pp. 1077–1083.
16. Diomidova V.N., Tarasova L.V., Petrova O.V., Busalaeva E.I., Stepashina T.E. *Sovremennye vozmozhnosti otsenki vyrazhennosti fibroza pecheni* [Modern possibilities of the severity of liver fibrosis]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*, 2018, vol. 2(150), pp. 24–30.
17. Muzhikyan A.A., Zaikin K.O., Gushchin Ya.A., Makarova M.N., Makarov V.G. *Sravnitel'naya morfologiya pecheni i zhelchnogo puzyrya cheloveka i laboratornykh zhivotnykh* [Comparative morphology of the liver and gallbladder of humans and laboratory animals]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*, 2017, vol. 4, pp. 117–129.
18. Cross S.A., Even S.W., Rost F.W. A study of methods available for cyto-chemical localization of histamine by fluorescence induced with ophtaldehyde or acetaldehyde. *Histochem. J.* 1971, vol. 3(6). pp. 471–476.
19. Khan M.S., Buzdar S.A., Hussain R., Afzal G. et al. Hematobiochemical, Oxidative Stress, and Histopathological Mediated Toxicity Induced by Nickel Ferrite (NiFe₂O₄) Nanoparticles in Rabbits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, vol. 2022, p. 5066167. DOI: 10.1155/2022/5066167.
20. Fakhardo A., Anastasova E., Makarov V., Ikonnikova E. et al. Heparin-coated iron oxide nanoparticles: application as a liver contrast agent, toxicity and pharmacokinetics. *Journal of materials chemistry B*. 2022, vol. 10(38), pp. 7797–7807. DOI: 10.1039/d2tb00759b.
21. Zhou K., Xie G., Wen J., Wang J. et al. Histamine is correlated with liver fibrosis in biliary atresia. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 2016, vol. 48(8), pp. 921–926. DOI: 10.1016/j.dld.2016.05.001.

EVGENIIA A. GRIGOREVA – Post-Graduate Student, Department of Medical Biology with a course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (shgrev@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3626-2750>).

VALERIIA S. DEDIKINA – 5th year Student, Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (valary0d@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5045-4291>).

ROMAN D. MIKHEIKIN – 3rd year Student, Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (mikheykin2002@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6731-7224>).

SEMYON A. MIKHAILOV – 3rd year Student, Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (semenm369@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0440-1979>).

ASIIAT R. GERDAEVA – 3rd year Student, Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (gerdaeva19@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-1052-7882>).

VALENTINA S. GORDOVA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Fundamental Medicine of the Medical Institute, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia, Kaliningrad (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

VALENTINA E. SERGEEVA – Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Medical Biology with a course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (kafedra-biology@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5226>).

NADEZHDA V. SMIRNOVA – Candidate of Biological Sciences, Head of Department of Medical Biology with course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (nadyas05@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7346-6301>).

Формат цитирования: Григорьева Е.А., Дедикина В.С., Михейкин Р.Д., Михайлов С.А., Гердаева А.Р., Гордова В.С., Сергеева В.Е., Смирнова Н.В. Комплексная оценка морфологических изменений в печени кроликов при воздействии водорастворимого кремния в течение трех месяцев [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. – 2023. – № 3. – С. 84–93. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2023/3/9>. DOI: 10.47026/2413-4864-2023-3-84-93.