

## Изменения формирования селезенки в раннем постнатальном периоде у крыс, развивавшихся при низкодозовом воздействии эндокринного дисраптора ДДТ

*Б.Б. Гагулаева, Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, Е.П. Тимохина, В.В. Яглов*

Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* Воздействие эндокринных дисрапторов на развивающийся организм рассматривается как объективный фактор риска нарушения функционирования органов. К наиболее распространенным дисрапторам относится дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ). Он начинает свое воздействие еще во внутриутробном периоде, поскольку легко проникает через фетоплацентарный барьер. Последствия воздействия низких доз ДДТ на развитие и функционирование органов иммунной защиты неизвестны. Цель исследования – изучить формирование селезенки в раннем постнатальном периоде у крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ.

*Материалы и методы.* Исследование выполнено на 30 самцах крыс Вистар в возрасте 7 суток, разделенных на две группы. Опытную группу (n=14) составило потомство самок, потреблявших вместо воды раствор *o,p*-ДДТ (20 мкг/л) в течение беременности и молочного вскармливания. Определяли анатомические и гистоморфометрические параметры развития селезенки. Оценивали содержание Т- и В-лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии.

*Результаты.* У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, масса селезенки не отличалась от контрольных значений. Белая пульпа была представлена формирующимися периартериальными лимфоидными муфтами, которые имели большие размеры, но менее плотное расположение клеток. Маргинальная зона обнаруживалась у большего числа лимфоидных муфт по сравнению с контролем. Ее размеры превышали контрольные значения, но количество клеток в 1 мм<sup>2</sup> площади было меньше, а гранулоциты не выявлялись. Количество клеток в 1 мм<sup>2</sup> красной пульпы, включая мегакариоциты, не отличалось от значений контрольной группы, но содержание гранулоцитов было большим. Численность дифференцированных В- и Т-клеток в селезенке была пониженной. *Заключение.* Селезенка крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, характеризовалась более быстрыми темпами формирования белой пульпы и в то же время замедлением терминальной дифференцировки лимфоцитов и темпов миграции нейтрофилов в селезенку.

**Ключевые слова:** селезенка, гистогенез, эндокринный дисраптор, ДДТ, лимфоциты

**Для корреспонденции:** Наталья Валентиновна Яглова. E-mail: yaglova@mail.ru

**Для цитирования:** Гагулаева Б.Б., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Яглов В.В. Изменения формирования селезенки в раннем постнатальном периоде у крыс, развивавшихся при низкодозовом воздействии эндокринного дисраптора ДДТ. Клин. эксп. морфология. 2023;12(4):71–79. DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.71-79.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-25-00012.

Статья поступила 26.04.2023. Получена после рецензирования 12.05.2023. Принята в печать 20.06.2023.

## Effects of low doses of endocrine disruptor DDT on early postnatal spleen development in rats

*B.B. Gagulaeva, N.V. Yaglova, S.S. Obernikhin, E.P. Timokhina, V.V. Yaglov*

Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrowsky National Research Center of Surgery", Moscow, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Exposure of a developing body to endocrine disrupting chemicals is considered to be a risk factor for organ disorders. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) is known as one of the most wide-spread endocrine disruptors, the exposure to which begins in the prenatal period because of its ability to penetrate the placental barrier. The effects of low-dose DDT exposure on the immune system development are poorly studied, so we aimed to evaluate spleen development in the early postnatal period in rats exposed to DDT.

*Materials and methods.* The study was performed on 2 groups of rats. The control one included 16 7-day-old male Wistar rats, whereas the experimental group consisted of 14 offspring of females that consumed a solution of *o,p*-DDT (20 µg/l) during pregnancy and lactation. We evaluated anatomical and histomorphometric parameters of spleen development and counted B- and T-lymphocytes with flow cytometry.

*Results.* The DDT exposure did not influence the weight of the spleen. The white pulp had periarterial lymphoid sheaths, which were larger in size and had a less dense arrangement of cells. The marginal zone was found in a larger number of lymphoid sheaths and was of a greater area. However, the number of cells in 1 mm<sup>2</sup> was lower and we detected no granulocytes. In the red pulp, the number of cells in 1 mm<sup>2</sup> (including megakaryocytes) did not differ from the values of the control group, but the content of granulocytes was higher. We observed a reduced number of differentiated B- and T-cells.

*Conclusion.* The spleens of the experimental rats were characterized by a faster formation of the white pulp and slower rates of terminal lymphocyte differentiation and neutrophil migration into the spleen.

**Keywords:** spleen, histogenesis, endocrine disruptor, DDT, lymphocytes

**Corresponding author:** Natalya V. Yaglova. E-mail: yaglova@mail.ru

**For citation:** Gagulaeva B.B., Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Timokhina E.P., Yaglov V.V. Effects of low doses of endocrine disruptor DDT on early postnatal spleen development in rats. *Clin. exp. morphology.* 2023;12(4):71–79 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.71-79.

**Funding.** The study was supported by the Russian Scientific Foundation, grant No. 23-25-00012.

**Received** 26.04.2023. **Received in revised form** 12.05.2023. **Accepted** 20.06.2023.

## Введение

В настоящее время воздействие фоновых доз эндокринных дисрапторов на развивающийся организм рассматривается как объективный фактор риска нарушения функционирования органов, реализации защитных реакций и развития патологических процессов [1–3]. Эндокринные дисрапторы начинают воздействовать еще во внутриутробном периоде, поскольку в большинстве своем обладают малой молекулярной массой и высокой липофильностью, что позволяет им легко проникать через фетоплацентарный барьер, а также экскретироваться с молоком [4–6]. Пренатальное воздействие, нарушающее синтез и сигналинг гормонов и негеномное наследование, может не только оказывать влияние на развитие органов плода, но и вызывать скрытые изменения, которые будут проявляться в разные периоды постнатального развития, в том числе манифестировать и у взрослых [7]. Эти изменения могут быть как функционального, так и морфологического характера. На сегодняшний день концепция DONAD (Developmental origins of health and disease), утверждающая, что и здоровье, и болезни взрослого организма являются следствием событий, происходящих во внутриутробном периоде, получила широкое признание [8, 9]. Благодаря ей удалось вскрыть причины ряда патологий, ранее относившихся к болезням с наследственной предрасположенностью или действию стрессорных факторов, зачастую являющихся триггерами, а не причиной развития патологических процессов. Эндокринные дисрапторы занимают одно из первых мест среди неблагоприятных факторов, действующих на развивающийся организм [10–12]. Воздействие многих из них носит облигатный характер и, как правило, не связано с профессиональными вредностями. К наиболее распространенным в природе персистирующим загрязнителям относится дихлордифенилтри-

хлорэтан (ДДТ) [13]. Он характеризуется длительным периодом распада и способностью к депонированию в организме [14]. ДДТ – известный эндокринный дисраптор с антиандрогенными и анти тиреоидными свойствами [15–18]. Также он способен нарушать развитие и функционирование надпочечных желез [19, 20]. Скрининговые исследования показывают, что пренатальное воздействие ДДТ приводит к эндокринным и метаболическим нарушениям, ожирению и, как следствие, потенцированию эндокринной и иммунной дисфункции, обуславливающей повышенный риск развития гормонозависимых опухолей [12, 21]. Последствия воздействия ДДТ на развитие и функционирование органов иммунной защиты были изучены в меньшей степени. Имеются сведения, что пренатальное и постнатальное воздействие низких доз ДДТ способно изменять морфогенетические процессы в центральном органе лимфоидной системы – тимусе [22]. Следовательно, это может порождать изменения и в развитии вторичных лимфоидных образований как напрямую, вследствие действия самого эндокринного дисраптора, так и косвенно через изменения в центральных органах иммунной защиты.

Селезенка является крупнейшим лимфоидным образованием в организме млекопитающих и человека, ее роль в реализации иммунных функций значительна. По имеющимся сведениям, развитие и функционирование селезенки не только зависят от внешних факторов, но и определяются состоянием иммунной и эндокринной систем материнского организма [23, 24]. У грызунов формирование лимфоидных образований в селезенке в отличие от человека происходит не во внутриутробном, а в раннем постнатальном развитии, что делает эти два периода очень важными при оценке последствий воздействия эндокринных дисрапторов.

В связи со всем сказанным целью настоящего исследования было изучение формирования селезенки в раннем постнатальном периоде у крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ.

### Материалы и методы

Исследование выполнено на самцах крыс Вистар в возрасте 7 суток ( $n=30$ ). Опытную группу ( $n=14$ ) составило потомство самок, потреблявших вместо питьевой воды раствор *o,p*-ДДТ с концентрацией действующего вещества 20 мкг/л в течение всей беременности и периода молочного вскармливания потомства. Потребление ДДТ самками в течение беременности составило  $2,72 \pm 0,18$  мкг/кг, что соответствует уровню потребления данного вещества населением с продуктами питания с учетом различий в метаболизме ДДТ человека и крысы [10, 11]. Отсутствие в корме и воде ДДТ и его метаболитов было подтверждено методом газожидкостной хроматографии. Контрольную группу ( $n=16$ ) составило потомство интактных самок соответствующего возраста. Животных контрольной и экспериментальной групп выводили из эксперимента передозировкой хлороформного наркоза. Определяли массу тела и массу селезенки с помощью аналитических весов («Сартогосм», Россия), а также рассчитывали относительную массу органа. Селезенку фиксировали в жидкости Буэна и после стандартной проводки изготавливали срезы, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. Для компьютерной морфометрии использовали программу ImageScope (Leica Microsystems, Германия). Наряду с этим получали первичную культуру спленоцитов. Спленоциты выделяли путем гомогенизации селезенки в среде RPMI 1640 («ПанЭко», Россия) с продавливанием через сетки с отверстиями 40 мкм для отделения от стромы. Клеточную взвесь дважды центрифугировали и отмывали в той же среде в течение 5 минут при 1000 об/мин. Доводили до концентрации 10 млн клеток в 1 мл. Проводили цитофлуориметри-

ческое исследование спленоцитов с использованием антител к CD3, CD45R, конъюгированных с флуорохромами (eBioscience, США), для определения содержания Т- и В-лимфоцитов, соответственно. Процедуру пробоподготовки осуществляли по стандартным протоколам. Для исследования использовали проточный цитометр FC500 (Beckman Coulter, США).

Эксперимент проведен в соответствии с нормами и правилами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследование одобрено локальной этической комиссией НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына (протокол № 28(4) от 27.10.2021).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft, США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих приблизительно нормальное распределение, описывали средним значением и стандартной ошибкой среднего значения ( $M \pm m$ ). Сравнение независимых групп проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий и  $\chi^2$ . Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,01$ .

### Результаты

У крыс контрольной группы в возрасте 7 суток селезенка представляла собой орган продольной формы темно-красного цвета, покрытый соединительнотканной капсулой, от которой внутрь отходили тонкие соединительнотканные трабекулы. Ее абсолютная и относительная масса была невелика (табл.).

Доля белой пульпы на 7-е сутки постнатального развития была небольшой и в среднем не превышала 6% общей площади среза органа (табл.). Белая пульпа состояла из периартериальных лимфоидных муфт (ПАЛМ) с формирующейся маргинальной зоной (табл.). Лимфоидные муфты представляли собой плот-

Таблица | Table

**Морфологические характеристики селезенки 7-дневных крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ, и контрольной группы ( $M \pm m$ ) | Morphological parameters of 7-day-old rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disruptor DDT and the control rats ( $M \pm m$ )**

Параметр   Parameter	Группа   Group	
	контроль   control	ДДТ   DDT
Абсолютная масса органа, г   Absolute organ weight, g	0,063±0,002	0,070±0,002
Относительная масса органа, %   Relative organ weight, %	0,499±0,02	0,508±0,02
Доля белой пульпы, %   White pulp portion, %	5,98±0,52	8,11±0,58*
Доля ПАЛМ, %   PALS portion, %	4,76±0,27	6,31±0,30*
Доля маргинальной зоны, %   Marginal zone portion, %	1,22±0,12	1,80±0,14*

\* – статистически значимые отличия от контрольной группы ( $p < 0,01$ )

\* – statistically significant differences from the control group ( $p < 0.01$ )

но лежащие скопления лимфоцитов вокруг артериол (рис. 1 А). Приблизительно у четверти лимфоидных муфт выявлялась маргинальная зона (рис. 1 С). Маргинальная зона была представлена в основном мононуклеарными клетками и небольшим количеством гранулоцитов (рис. 2).

Красная пульпа состояла из ретикулярной ткани с расположенными в ней многочисленными гемопоэтическими клетками (рис. 3 А, С). Среди клеток красной пульпы встречались единичные, в основном сегментоядерные, гранулоциты (рис. 3 D) и мегакарициты (рис. 3 E).

У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, селезенка имела строение, аналогичное строению органа потомства контрольной

группы. Относительная и абсолютная масса селезенки не отличалась от контрольных значений (табл.).

Белая пульпа была представлена формирующимися ПАЛМ, но площадь, занимаемая ими, оказалась значимо больше, чем у животных контрольной группы (табл.). Лимфоидные муфты вокруг артериол отличались менее плотным расположением клеток (рис. 1 В, D). Они имели бóльшие размеры, при этом маргинальная зона обнаруживалась более чем у половины лимфоидных муфт (рис. 1 С). Ее размеры также превышали значения контрольной группы (табл.). Маргинальная зона представляла собой скопление мононуклеарных клеток, но их количество в единице площади было на 20% меньше, чем в контрольной группе, а гранулоциты не выявлялись (рис. 2).

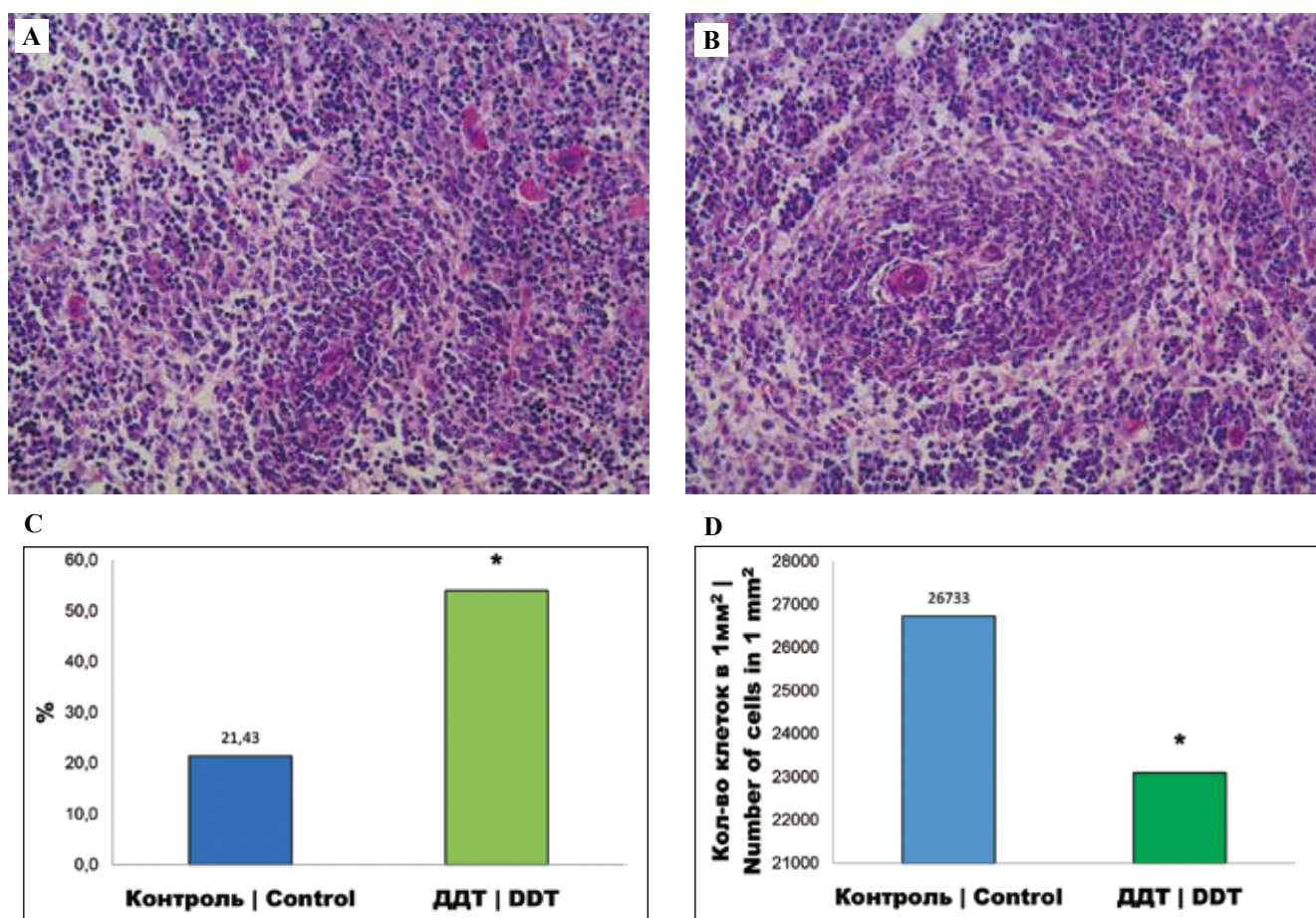


Рис. 1. Структурные особенности ПАЛМ селезенки у 7-дневных крыс контрольной группы и подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ.

Гистологическое строение ПАЛМ селезенки у 7-дневных крыс контрольной группы (А) и подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ (В). Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ . С – процент лимфоидных муфт с маргинальной зоной ( $M \pm m$ ). D – плотность расположения лимфоцитов в ПАЛМ ( $M \pm m$ )

\* – статистически значимые отличия от контрольной группы ( $p < 0,01$ )

Fig. 1. Differences in structure of splenic PALS in the 7-day-old control rats and the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT.

Histological structure of splenic PALS in the 7-day-old control rats (A) and the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT (B). H&E staining.  $\times 200$ . C – percentage of lymphoid sheaths with marginal zone ( $M \pm m$ ). D – lymphocyte density in PALS ( $M \pm m$ )

\* – statistically significant differences from the control group ( $p < 0.01$ )



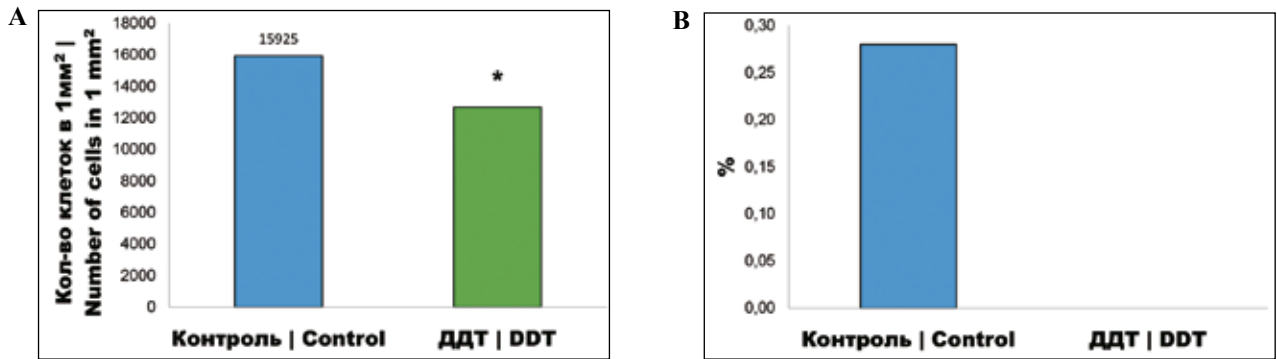


Рис. 2. Клеточный состав маргинальной зоны селезенки у 7-дневных крыс контрольной группы и подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ.

А – общее количество клеток в 1 мм<sup>2</sup> площади маргинальной зоны, В – доля гранулоцитов в клеточном составе (M±m)  
\* – статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,01)

Fig. 2. Cell content of marginal zone in the 7-day-old control rats and the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT.

А – total number of cells in 1 mm<sup>2</sup> of marginal zone area, В – percentage of granulocytes in cell content (M±m)

\* – statistically significant differences from the control group (p<0.01)

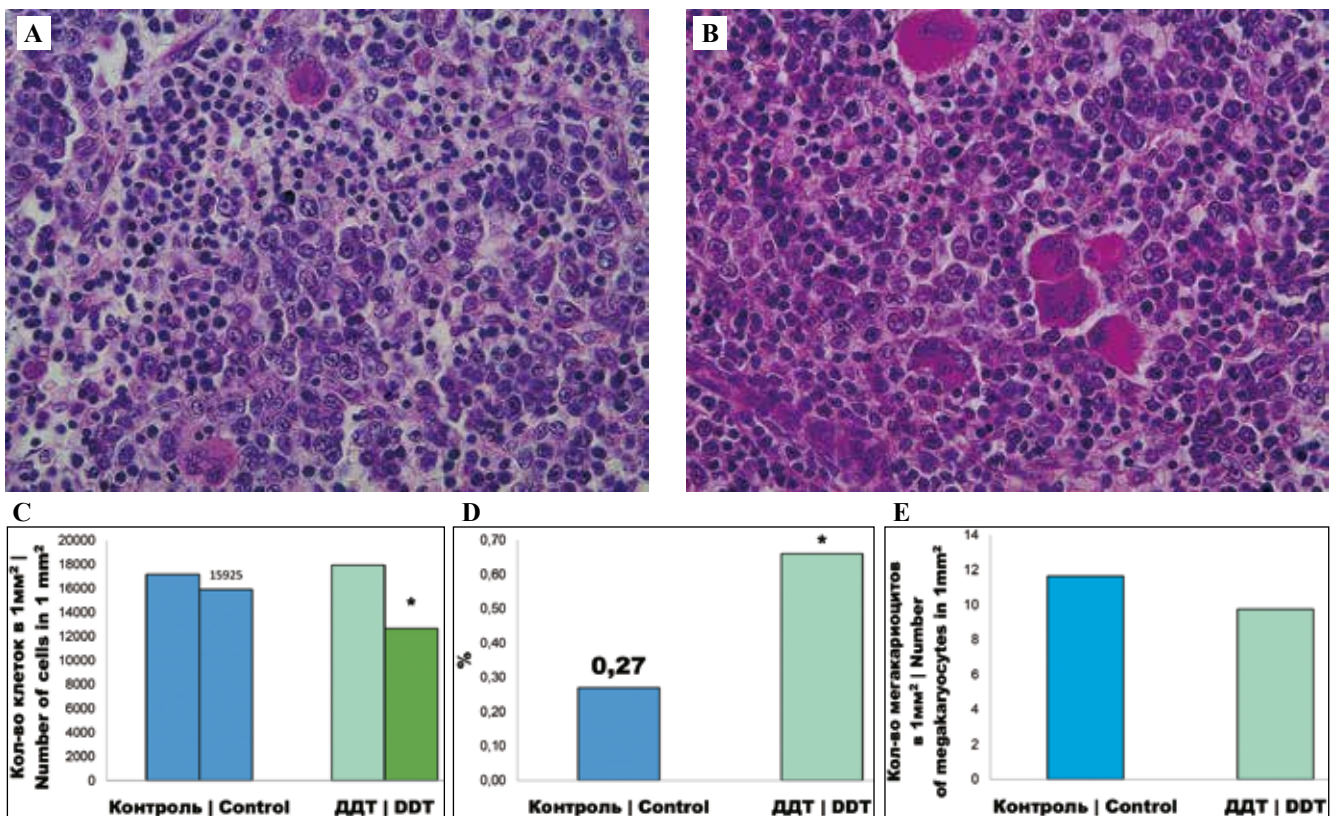


Рис. 3. Морфологические характеристики красной пульпы селезенки у 7-дневных крыс контрольной группы и подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ.

А – красная пульпа селезенки крыс контрольной группы, В – красная пульпа селезенки крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ. Окраска гематоксилином и эозином, ×400. С – общее количество клеток в 1 мм<sup>2</sup> площади красной пульпы. D – доля гранулоцитов в клеточном составе.

Е – количество мегакариоцитов в 1 мм<sup>2</sup> площади красной пульпы (M±m)

\* – статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,01)

Fig. 3. Morphological parameters of splenic red pulp in the 7-day-old control rats and the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT.

А – splenic red pulp of the control rats, В – splenic red pulp of the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT. H&E staining. ×400. С – total number of cells in 1 mm<sup>2</sup> of the red pulp area. D – percentage of granulocytes in cell content. E – number of megakaryocytes in 1 mm<sup>2</sup> of the red pulp area (M±m)

\* – statistically significant differences from the control group (p<0.01)

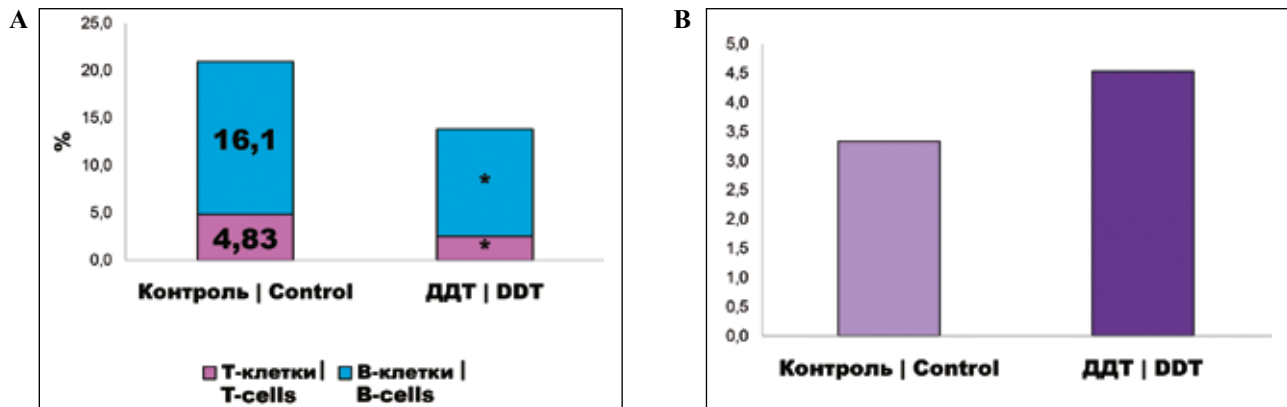


Рис. 4. Доля дифференцированных Т- и В-клеток (А) и соотношение В- и Т-клеток (В) ( $M \pm m$ ) в селезенке у 7-дневных крыс контрольной группы и подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ  
\* – статистически значимые отличия от контрольной группы ( $p < 0,01$ )

Fig. 4. Percentage of differentiated T- and B-cells (A) and B/T cell ratio (B) ( $M \pm m$ ) in the spleen of the 7-day-old control rats and the rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disrupter DDT  
\* – statistically significant differences from the control group ( $p < 0.01$ )

Красная пульпа содержала большое количество гемопоэтических клеток (рис. 3 В). Количество клеток в единице площади красной пульпы по сравнению со значениями контрольной группы не отличалось (рис. 3 С), но содержание гранулоцитов у крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, было большим (рис. 3 D). Количество мегакариоцитов в красной пульпе практически не отличалось от показателей контрольной группы (рис. 3 Е).

Цитофлуориметрическое исследование показало, что селезенка крыс в возрасте 7 суток представляла собой скопление большого числа низкодифференцированных гемопоэтических клеток. Содержание дифференцированных лимфоцитов было невелико, в среднем составляло 20% у крыс контрольной группы (рис. 4 А). Количество В-клеток явно превалировало над Т-клетками и составляло приблизительно три четверти дифференцированных лимфоцитов селезенки (рис. 4 В).

У крыс, развивавшихся при воздействии низких доз ДДТ, содержание дифференцированных лимфоцитов оказалась на треть меньшим (рис. 4 А). При этом численность и В-, и Т-клеток была пониженной. Среди дифференцированных лимфоцитов также преобладали В-клетки (рис. 4 В).

## Обсуждение

Селезенка крыс в раннем постнатальном периоде представляет собой формирующийся орган иммунной защиты и активно функционирующий участок экстрамедуллярного гемопоэза [25, 26]. У крыс контрольной группы оба эти компонента были хорошо выражены. Наблюдалось формирование белой пульпы, представленной примитивными ПАЛМ, вокруг которых начинала формироваться маргинальная зона. У грызунов формирование маргинальной зоны происходит с 5-х по 10-е сутки постнатального развития [27, 28]. У крыс,

развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, формирование белой пульпы происходило более активно, о чем свидетельствуют и большие размеры ПАЛМ, и больший процент лимфоидных муфт, вокруг которых формировалась маргинальная зона. Маргинальная зона является первой линией контакта иммунокомпетентных клеток с антигеном, способной производить большое количество нейтрализующих антител в течение короткого периода для предотвращения бактериемии [29]. Она представляет собой систему мгновенного реагирования на переносимые кровью антигены и обладает широкой специфичностью. В маргинальной зоне содержатся макрофаги, маргинальные металлофильные макрофаги и В-клетки маргинальной зоны. Кроме того, в ней находится множество транзитных клеток крови, включая лимфоциты и гранулоциты. Появление нейтрофилов в селезенке начинается в пренатальном периоде и продолжается после рождения, что связано с колонизацией кишечника микрофлорой и поступлением липополисахаридов в системный кровоток [30]. Нейтрофилы играют важную роль в стимуляции синтеза иммуноглобулинов в маргинальной зоне [30]. У крыс контрольной группы помимо мононуклеарных клеток в маргинальной зоне присутствовали и гранулоциты, а именно нейтрофилы, так как другие виды гранулоцитов у крыс встречаются в крайне небольших количествах. Появление в еще несформированной маргинальной зоне нейтрофилов свидетельствует о начале развития иммунного процесса, связанного с поступлением бактериальных антигенов собственной микрофлоры в кровоток. У крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора в пренатальном и постнатальном развитии, меньшая плотность клеток в селезенке могла быть связана с ее большей площадью, но отсутствие в ней нейтрофилов свидетельствует о замедлении формирования реакции иммунокомпетентных органов на антигены. Также при-

чиной может быть снижение гранулоцитопоза в селезенке. Гемопоэтические процессы были хорошо выражены в красной пульпе у крыс обеих групп. Ни общая численность гемопоэтических клеток, ни количество мегакариоцитов в единице площади не имели отличий, но содержание гранулоцитов в красной пульпе у крыс, развивавшихся при воздействии ДДТ, втрое превышало значения контрольной группы, что не позволяет считать интенсивность гранулоцитопоза пониженной. Возможно, что отсутствие нейтрофилов в маргинальной зоне связано с незрелостью клеток, в первую очередь лимфоцитов. Цитофлуориметрическое исследование выявило явное отставание в дифференцировке В-лимфоцитов в селезенке, что может быть причиной нарушения формирования кооперации клеток в маргинальной зоне. Известно, что Т-клетки селезенки имеют тимическое происхождение, а В-клетки образуются непосредственно в селезенке. Меньшее содержание Т-клеток свидетельствует об изменении процессов их созревания в тимусе и миграции в периферические лимфоидные образования. Эти данные вызывают закономерный вопрос о механизмах более выраженного формирования белой пульпы в органе. Цитофлуориметрический анализ в сочетании с морфометрическим исследованием гистологических препаратов показывает, что большая площадь ПАЛМ, вероятно, была обусловлена меньшей плотностью расположения лимфоидных клеток в муфтах. Но в то же время объективно темпы формирования ПАЛМ и их маргинальных зон выше, чем у интактных животных. Одинаковая численность гемопоэтических клеток в красной пульпе доказывает, что интенсивность гемопоэза в селезенке у крыс, развивавшихся при воздействии низких доз эндокринного дисрапатора ДДТ, не отличалась, но меньший процент В-клеток указывает на замедление дифференцировки лимфоцитов.

## Заключение

Селезенка крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисрапатора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, характеризовалась более быстрыми темпами формирования белой пульпы и в то же время замедлением терминальной дифференцировки лимфоцитов и темпов миграции нейтрофилов в селезенку.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.В. Яглова, В.В. Яглов.  
Сбор и обработка материала – Б.Б. Гагулаева, С.С. Обернихин, Е.П. Тимохина, Н.В. Яглова.  
Написание текста – Б.Б. Гагулаева.  
Редактирование – В.В. Яглов.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.V. Yaglova, V.V. Yaglov.  
Collected the data and performed the analysis – B.B. Gagulaeva, S.S. Obernikhin, E.P. Timokhina, N.V. Yaglova.  
Wrote the paper – B.B. Gagulaeva.  
Edited the manuscript – V.V. Yaglov.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## Литература/References

1. Kassotis CD, Vandenberg LN, Demeneix BA, Porta M, Slama R, Trasande L. Endocrine-disrupting chemicals: economic, regulatory, and policy implications. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(8):719–30. DOI: 10.1016/S2213-8587(20)30128-5.
2. Ruiz D, Becerra M, Jagai JS, Ard K, Sargis RM. Disparities in environmental exposures to endocrine-disrupting chemicals and diabetes risk in vulnerable populations. *Diabetes Care.* 2018;41(1):193–205. DOI: 10.2337/dc16-2765.
3. Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(3–5):204–15. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2011.08.007.
4. Kahn LG, Philippat C, Nakayama SF, Slama R, Trasande L. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(8):703–18. DOI: 10.1016/S2213-8587(20)30129-7.
5. Kuang L, Hou Y, Huang F, Hong H, Sun H, Deng W et al. Pesticide residues in breast milk and the associated risk assessment: a review focused on China. *Sci Total Environ.* 2020;727:138412. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138412.
6. Rodprasert W, Toppari J, Virtanen HE. Endocrine disrupting chemicals and reproductive health in boys and men. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:706532. DOI: 10.3389/fendo.2021.706532.
7. Montjean D, Neyroud AS, Yefimova MG, Benkhalifa M, Cabry R, Ravel C. Impact of endocrine disruptors upon non-genetic inheritance. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6):3350. DOI: 10.3390/ijms23063350.
8. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261(5):412–7. DOI:10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x.
9. Fukuoka H. DOHaD (developmental origins of health and disease) and birth cohort research. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2015;61Suppl:S2–4. DOI: 10.3177/jnsv.61.S2.
10. Malits J, Naidu M, Trasande L. Exposure to endocrine disrupting chemicals in Canada: population-based estimates of disease burden and economic costs. *Toxics.* 2022;10(3):146. DOI: 10.3390/toxics10030146.
11. Attina TM, Hauser R, Sathyanarayana S, Hunt PA, Bourguignon JP, Myers JP et al. Exposure to endocrine-disrupting chemicals in the USA: a population-based disease burden and cost analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(12):996–1003. DOI: 10.1016/S2213-8587(16)30275-3.
12. Valvi D, Mendez MA, Martinez D, Grimalt JO, Torrent M, Sunyer J et al. Prenatal concentrations of polychlorinated biphenyls, DDE, and DDT and overweight in children: a prospective birth cohort study. *Environ Health Perspect.* 2012;120(3):451–7. DOI: 10.1289/ehp.1103862.
13. Qi SY, Xu XL, Ma WZ, Deng SL, Lian ZX, Yu K. Effects of organochlorine pesticide residues in maternal body on infants. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:890307. DOI: 10.3389/fendo.2022.890307.
14. Jayaraj R, Megha P, Sreedev P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip Toxicol.* 2016;9(3–4):90–100. DOI: 10.1515/intox-2016-0012.

15. Aneck-Hahn NH, Schulenburg GW, Bornman MS, Farias P, de Jager C. Impaired semen quality associated with environmental ddt exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo province, South Africa. *J Androl.* 2007;28(3):423–34. DOI: 10.2164/jandrol.106.001701.
16. Bornman M, Delpont R, Farias P, Aneck-Hahn N, Patrick S, Millar RP et al. Alterations in male reproductive hormones in relation to environmental DDT exposure. *Environ Int.* 2018;113:281–9. DOI: 10.1016/j.envint.2017.12.039.
17. Cook MB, Trabert B, Mcglynn KA. Organochlorine compounds and testicular dysgenesis syndrome: human data. *Int J Androl.* 2011;34(4 Pt 2):e68–85. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01171.x.
18. Yaglova NV, Yaglov VV. Cytophysiological changes in the follicular epithelium of the thyroid gland after long-term exposure to low doses of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Bull Exp Biol Med.* 2017;162(5):699–702. DOI: 10.1007/s10517-017-3691-4.
19. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Яглов В.В., Обернихин С.С., Назимова С.В. Изменения секреторной деятельности адреноцитов крыс, развивавшихся в условиях воздействия низких доз дихлордифенилтрихлорэтана. Клиническая и экспериментальная морфология. 2018;3(27):30–34. DOI: 10.31088/2226-5988-2018-27-3-30-34. Yaglova NV, Tsomartova DA, Yaglov VV, Obernikhin SS, Nazimova SV. Altered secretion of adrenomedullary A-cells in rats after developmental exposure to low-dose dichlorodiphenyltrichloroethane. *Clinical and experimental morphology.* 2018;3(27):30–34 (In Russ.). DOI: 10.31088/2226-5988-2018-27-3-30-34.
20. Kyi-Tha-Thu C, Fujitani Y, Hirano S, Win-Shwe TT. Early-life exposure to traffic-related air pollutants induced anxiety-like behaviors in rats via neurotransmitters and neurotrophic factors. *Int J Mol Sci.* 2023;24(1):586. DOI: 10.3390/ijms24010586.
21. Cohn BA, Cirillo PM, Terry MB. DDT and breast cancer: prospective study of induction time and susceptibility windows. *J Natl Cancer Inst.* 2019;111(8):803–10. DOI:10.1093/jnci/djy198.
22. Yaglova NV, Tsomartova ES, Nazimova SV, Obernikhin SS, Mukhamedova SG, Pashina NR et al. Morphological changes in the thymus of newborn rats exposed to endocrine disruptor dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) during the prenatal period. *Bull Exp Biol Med.* 2019;167(2):297–9. DOI: 10.1007/s10517-019-04513-0.
23. Арлашкина О.М., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Михайлова М.Н. Изменения белой пульпы селезенки у потомства спленэктомированных крыс различных возрастных периодов после введения 1,2-диметилгидразина. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019;8(4):49–58. DOI: 10.31088/CEM2019.8.4.49-58. Arlashkina OM, Struchko GYu, Merkulova LM, Mikhailova MN. Changes in the spleen white pulp in the offspring of splenectomized rats of various ages exposed to 1,2-dimethylhydrazine. *Clinical and experimental morphology.* 2019;8(4):49–58 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2019.8.4.49-58.
24. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Регуляторная роль тучных клеток в морфогенетических процессах органов иммунной системы потомства мышей, перенесших активацию иммунной системы в ранние сроки беременности. Клиническая и экспериментальная морфология. 2013;2(6):62–68. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=rcmjft> (получено 17.04.2023). Yaglova NV, Obernikhin SS. Role of mast cells in development of immune system in offspring of exposed to activation of immunity in early pregnancy and intact murine dams. *Clinical and experimental morphology.* 2013;2(6):62–68 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=rcmjft> (accessed 17.04.2023).
25. Losco P. Normal development, growth, and aging of the spleen. In: U Mohr, DL Dungworth, CC Capen (eds.). *Pathobiology of the Aging Rat.* V. 1. Washington: ILSI Press, 1992. P. 75–94.
26. Massberg S, Schaerli P, Knezevic-Maramica I, Köllnberger M, Tubo N, Moseman EA et al. Immunosurveillance by hematopoietic progenitor cells trafficking through blood, lymph, and peripheral tissues. *Cell.* 2007;131(5):994–1008. DOI: 10.1016/j.cell.2007.09.047.
27. Kraal G, Mebius R. New insights into the cell biology of the marginal zone of the spleen. *Int Rev Cytol.* 2006;250:175–215. DOI: 10.1016/S0074-7696(06)50005-1.
28. Takeya M, Takahashi K. Ontogenic development of macrophage subpopulations and Ia-positive dendritic cells in fetal and neonatal rat spleen. *J Leukoc Biol.* 1992;52(5):516–23. DOI: 10.1002/jlb.52.5.516.
29. Haley PJ. The lymphoid system: a review of species differences. *J Toxicol Pathol.* 2017;30(2):111–23. DOI: 10.1293/tox.2016-0075.
30. Puga I, Cols M, Barra CM, He B, Cassis L, Gentile M et al. B cell-helper neutrophils stimulate the diversification and production of immunoglobulin in the marginal zone of the spleen. *Nat Immunol.* 2011;13(2):170–80. DOI: 10.1038/ni.2194.

### Информация об авторах

Белла Борисовна Гагулаева – аспирантка НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Наталья Валентиновна Яглова – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией развития эндокринной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Сергей Станиславович Обернихин – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Екатерина Петровна Тимохина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Валентин Васильевич Яглов – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.



**Author information**

Bella B. Gagulaeva – Postgraduate Student, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-1415-3070>

Natalya V. Yaglova – Dr. Sci. (Med.), Head of Laboratory of Endocrine System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-8239-5039>

Sergey S. Obernikhin – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Endocrine System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-0997-6766>

Ekaterina P. Timokhina – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Endocrine System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-0504-1488>

Valentin V. Yaglov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Endocrine System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-4357-0639>