

А. Чорноморець, студ.,
І. Ступак, фахівець І категорії,
І. Лагойда, провідний фахівець,
Є. Торгалло, канд. біол. наук,
Л. Гарманчук, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

МОРФОМЕТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИН ЛІНІЇ НерG2 ЗА ДІЇ СУЛЬФАТУ ПЛЮМБУМУ

Свинець – типовий розсіяний елемент, що міститься у всіх компонентах оточуючого середовища: гірських породах, ґрунтах, природних водах, атмосфері, живих організмах. Усі сполуки свинцю діють майже однаково, різниця в токсичності пояснюється різною розчинністю їх у рідинах організму. Зокрема, найбільш згубний вплив сульфат плюмбуму здійснює на клітини печінки. У більшості досліджень із використанням ліній клітин гепатоцитарного походження, включно з лінією клітин НерG2, вивчають метаболічні показники. Також у дослідженні впливу токсиканту не менш важливим є вивчення морфології гепатоцитів (морфометричних показників). Отже, метою нашого дослідження був аналіз морфофункціональних властивостей культивованих гепатоцитів за дії сульфату свинцю. Було виміряно й визначено основні морфометричні параметри (ядерно-цитоплазматичне співвідношення, площа клітин, площа ядра) і загальний адгезивний потенціал у контролі та при додаванні сульфату плюмбуму в концентрації ІК50/10 (0,004 мМ). Підрахунок клітин здійснювали з використанням програм Axiovision та ImageJ. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення розраховували за формулою $ЯЦС = Sя/Sц$, де $Sя$ – площа ядра, $Sц$ – площа цитоплазми. Адгезивний потенціал визначали за здатністю клітин під дією сульфату плюмбуму прикріплюватись до поверхні пластику.

За підрахунком співвідношення живих і мертвих клітин після профарбовування трипановим синім зафіксовано цитотоксичний ефект сульфату плюмбуму, який полягав у загибелі клітин у діапазоні токсиканта 0,016 – 1 мМ (30–80 % від контролю) з показником інгібуючої концентрації (ІК50), що дорівнював 0,04 мМ. З використанням колориметричного методу дослідження показано, що сумарний адгезивний показник клітин, які інкубували із сульфатом плюмбуму, знижувався в 1,5–3 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Вміст клітин із показником ЯЦС 0,4–0,5 під впливом сульфату плюмбуму збільшувався вдвічі порівняно з контролем, також фіксувались клітини з дефектними відростками й полігональною формою, що відрізняє їх від контролю.

Ключові слова: сульфат плюмбуму, ядерно-цитоплазматичне співвідношення, клітини НерG2.

Вступ. Експозиція живих організмів до важких металів зростає за рахунок техногенного навантаження, катастроф, аварій, військових дій. Одними з найнебезпечніших забруднювачів для біоти є важкі метали, особливо плюмбум і кадмій, які чинять багатосторонній вплив. Відомо, що коли плюмбум потрапляє в організм, він викликає молекулярні зміни в енергетичних і біосинтетичних метаболічних процесах. Результатом стають переважно блокування, порушення і дисрегуляція морфологічних і функціональних систем, що спричиняють токсичні синдроми (абдомінальний, гематологічний, гепато- нефро- і нейротоксичний тощо) або складні багатоступеневі зміни, наприклад адаптаційно-компенсаторні, а також мобілізацію резервних можливостей біологічних систем. Приблизно 95 % плюмбуму і кадмію, що потрапляють в організм, зв'язуються з еритроцитами, клітинами нирок, печінки та інших внутрішніх органів, а решта – з органічними переносниками (альбуміном, білковими катаболітами і хелаторами глутатіону). Також у виявленні токсичних ефектів важливі клітинні мішені їхньої дії, особливо клітини, у яких відбувається інтоксикація, зокрема гепатоцити. Зміна морфометричних показників гепатоцитів може служити показником токсичного ефекту, викликаного іонами плюмбуму. Виходячи із цього, мета нашого дослідження полягала у визначенні морфофункціональних властивостей культивованих гепатоцитів за дії сульфату плюмбуму.

Мета роботи – проаналізувати морфологічні та функціональні властивості гепатоцитів, культивованих під впливом сульфату плюмбуму.

Завдання:

- визначити цитотоксичну / цитостатичну дію сульфату плюмбуму за співвідношенням живих / мертвих клітин на культивованих гепатоцитах;
- визначити загальну адгезивну здатність клітин НерG2 під впливом сульфату плюмбуму;

- оцінити морфологічні та функціональні властивості клітин НерG2 при додаванні сульфату плюмбуму в концентраціях, що в 10 разів перевищують інгібуючу концентрацію (ІК50).

Методи дослідження

Підрахунок клітин у камері Горяєва

Перед використанням предметні й накривні скельця ретельно промивали водопровідною водою, споліскували дистильованою водою і витирали насухо. Потім покривні скельця розтирали над камерою до утворення райдужного кільця Ньютона.

Клітини збирали в 50 мкл фізіологічного розчину і додавали 50 мкл 0,4 %-го розчину барвника трипанового синього (кінцевий вміст барвника становив 0,2 %). Після фарбування протягом 5 хв клітини ретельно перемішували й переносили автоматизованою піпеткою в камеру Горяєва, накриту покривним склом. Надлишок розчину видаляли фільтрувальним папером.

Клітини підраховували за допомогою об'єктива $\times 10$ у п'яти наборах по 16 маленьких квадратиків (кожен кут центральної заштрихованої ділянки). Кількість клітин ділили на 5, щоб отримати їхню середню кількість на мм^2 . Потім підраховували кількість клітин в 1 мл фізіологічного розчину.

Загальна формула для підрахунку клітин у камері Горяєва така:

$$X = (a \times 4000 \times v) / b,$$

де X – кількість клітин в 1 мл; a – сума клітин, порахованих у певному об'ємі камери; b – кількість порахованих малих квадратів; v – розведення клітинної суспензії.

Фарбування клітин за методикою Май-Грюнвальда для морфометричного аналізу

Для підрахунку площі ядер, клітин і ядерно-цитоплазматичного співвідношення використовували візуальне забарвлення за Май-Грюнвальдом (азур-еозином) і гематоксиліном Бемера, який дає яскравий контраст і

чітко розділяє цитоплазму та ядра. Фіксовані й висушені клітини фарбували гематоксиліном Бемера протягом 5–10 хв, поміщали у проточну воду на 10–15 хв, замочували в розчині Май-Грюнвальда на 10 хв і ретельно промивали у проточній воді. Морфологічний аналіз проводили за допомогою програм ImageJ та Axiovision на цифрових мікрофотографіях, отриманих за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40 і камери Canon.

Визначення ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ЯЦС)

Підготовка: помістили чашку Петрі із клітинами під мікроскоп; вибрали оптимальні умови збільшення; запустили програмне забезпечення AxioVision; зробили кілька зображень різних частин препарат.

Для визначення розміру клітин/ядер використали інструмент обведення, щоб якомога точніше виміряти клітини / ядра вздовж контурів. Записали отримані розміри клітин / ядер (рис. 1). Повторили кроки 1–2 для необхідної кількості клітин (щонайменше 25 клітин).

Обчислили результати в MS Excel. Створили таблицю "Розмір клітини", "Розмір ядра", "Розмір цитоплазми" та "НСК". Отримані дані внесли у перші два стовпчики. Розраховували ЯЦС за формулою:

$$\text{ЯЦС} = \text{розмір ядра} / \text{розмір цитоплазми}.$$



Рис. 1. Визначення ЯЦС за допомогою інструменту "Outline"

Визначення адгезії культивованих клітин за допомогою забарвлення кристалічним фіолетовим

Пухлинні клітини, що прилипли до планшета, забарвлювали кристалічним фіолетовим. Адгезію клітин до субстрату після модифікації досліджуваною речовиною оцінювали у високоадгезивних 96-лункових планшетах (Falcon, США). Для цього клітини вносили в лунки через рівні проміжки часу і після фарбування (1 %-й розчин кристалічного фіолетового, 5 хв за кімнатної температури) реєстрували концентрацію клітин при 570 нм за допомогою спектрофотометричного багатолункового сканера (Lab systems Multiscan MS).

Вимірювання повторювали 2–3 рази, результати усереднювали й інтерпретували як криву росту, що відображає початкову концентрацію висіяних клітин, або як залежність оптичного поглинання клітин від концентрації клітин у лунці при колориметричному кількісному визначенні через певні часові інтервали.

Статистичний аналіз даних

Результати експериментів обробляли за допомогою загальноприйнятих статистичних методів. Середнє арифметичне значення (M) і похибку середнього значення (m) розраховували при обсязі вибірки n. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми розраховували t-критерій Стюдента. Усі математичні розрахунки проводили за допомогою стандартних пакетів комп'ютерних програм; для обчислення і побудови графіків отриманих результатів використовували Microsoft Excel та Statistica 7.0.

Результати дослідження. При визначенні показника, який указує на концентрацію сульфату плумбуму, що призводить до 50 % загибелі клітин HepG2, було виявлено, що він становить $0,04 \pm 0,0035$ мМ у середовищі інкубації клітин.

При дослідженні впливу іонів свинцю за даними підрахунку із трипановим синім було визначено діапазон концентрацій останнього із цитотоксичною дією (табл. 1).

Таблиця 1. Показники цитотоксичного впливу сульфату свинцю на HepG2 клітини за підрахунком співвідношення живих і мертвих клітин після забарвлення трипановим синім

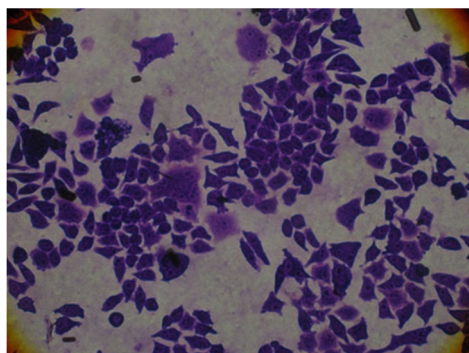
Тест-агент	Концентрація сульфату плумбуму (мМ) у середовищі інкубації						
	0	0,001	0,004	0,016	0,064	0,256	1,0
Концентрація живих клітин у лунці (тис)	$92 \pm 0,5$	$79,8 \pm 1,5^*$	$84,66 \pm 2,3$	$59,1 \pm 2,6^*$	$42,6 \pm 2,6^*$	$60,6 \pm 1,2^*$	$19,2 \pm 1,3^*$
% мертвих клітин	$7,3 \pm 2,5$	$27,5 \pm 8,5^*$	$22,5 \pm 10,5$	$33,0 \pm 8,5^*$	$51,0 \pm 6,0^*$	$82,0 \pm 7,0^*$	$88 \pm 2,4^*$

* $p < 0,05$ проти контролю.

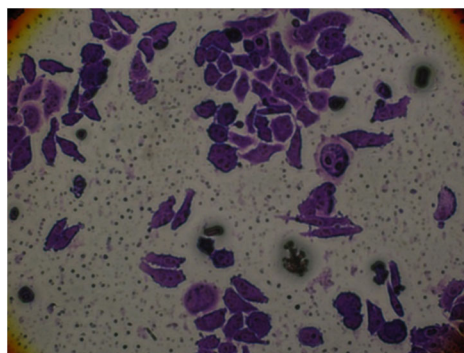
Як видно з наведених даних (табл. 1), діапазон цитотоксичної дії плумбуму становив 0,001–1 мМ, який полягав як у зниженні виживаності клітин, так і їхньої концентрації в лунці. Так, згідно з даними підрахунку співвідношення живих і мертвих клітин було показано, що відсоток мертвих клітин за інкубації із сульфатом плумбуму в різних концентраціях становить від 30 до майже 90 % (табл. 1). Підраховано показник IK_{50} , який дорівнював $0,04 \pm 0,0035$ мМ.

Саме тому ефект сумарної адгезії, який порушується при дії сульфату свинцю, є ознакою його токсикологічного впливу.

При оцінюванні сумарного адгезивного показника, який визначали за кількістю прикріплених до субстрату клітин після впливу іонів свинцю, було показано, що їхня кількість суттєво зменшується (рис. 2, табл. 2).



А



Б

Рис. 2. Вплив іонів плумбуму на кількість прикріплених клітин HepG2 після профарбовування фіолетовим кристалічним у контролі (А) і за концентрації сульфату плумбуму в середовищі інкубації 0,004 мМ (Б)

При визначенні сумарного адгезивного потенціалу колориметричним методом за довжини хвилі 540 нм за інтенсивністю забарвлення після розчинення барвника в диметилсульфоксиді було зафіксовано зменшення кількості прикріплених клітин, що вказує на порушення у клітинах білків цитоплазматичного матриксу (табл. 2), оскільки клітини гепатоцитарного походження, у яких збереглися

функціональні й морфологічні властивості тканини печінки, потребують закріплення і розпластування на субстраті. Саме тому ефект сумарної адгезії, який порушується при дії сульфату свинцю, є ознакою його токсикологічного впливу. Більше того, свинець накопичується у клітинному матриксі й органелах, що призводить до порушення функцій гепатоцитів.

Таблиця 2. Показник інтенсивності забарвлення за довжини хвилі 570 нм, визначений колориметричним методом після забарвлення клітин фіолетовим кристалічним

Тест-агент	Концентрація сульфату плумбуму (мМ) у середовищі інкубації					
	0,001	0,004	0,016	0,064	0,256	контроль
ОП 540	0,576±0,042*	0,763±0,043*	0,344±0,07*	0,258±0,025*	0,243±0,003*	0,987±0,09

* $p < 0,05$ відносно відповідного контролю.

Як свідчать наведені дані, найвищий пригнічувальний ефект адгезії клітин до субстрату зафіксовано за концентрації сульфату свинцю 0,256 мМ. Отже, порівняно з контролем цей показник знижувався у 4 рази ($p < 0,05$).

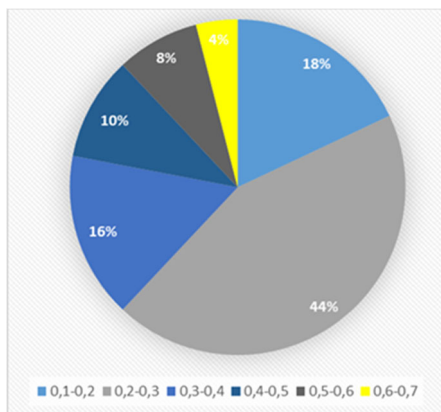
Під час дослідження вимірювали основні морфометричні параметри (співвідношення ядра до цитоплазми, площу клітини та площу ядра), які визначали за стандартних умов культивування з додаванням сульфату плумбуму в концентрації $1 \text{K}50/10$ (0,004 мМ). Клітини підраховували за допомогою програмного забезпечення Axiovision та ImageJ, у кожній групі обробляли по 50 клітин.

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення $\text{ЯЦС} = \text{S}_\text{я}/\text{S}_\text{ц}$, де $\text{S}_\text{я}$ – площа ядра, $\text{S}_\text{ц}$ – площа цитоплазми. За допомогою ЯЦС ми визначили, на яких стадіях клітинного циклу перебуває популяція, оскільки маса ДНК у ядрі

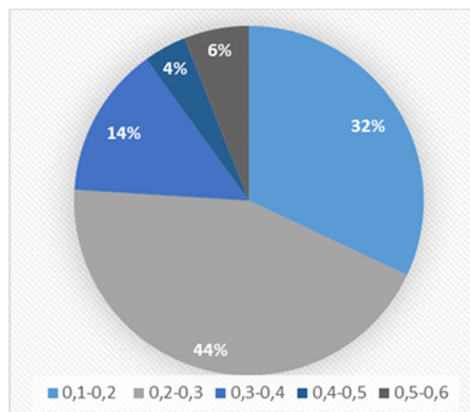
корелює зі стадіями: $\text{G}1 - 2\text{с}$, $\text{S} - 2\text{с} - 4\text{с}$, $\text{G}2 - 4\text{с}$. Тому, беручи до уваги зміни ЯЦС, можна зробити висновки про рівень цитотоксичної / цитостатичної дії популяції клітин. Ранжування даних указувало на відмінності у розмірах клітин, середнє значення ЯЦС може нівелювати крайні показники ЯЦС – 0,05 ($\text{G}0$ стадія) і 0,7 (мітоз).

При визначенні ЯЦС можна спостерігати збільшення клітин із показником 0,4-0,5, тоді як ЯЦС із діапазоном 0,2-0,3 не відрізнявся від контрольних значень і становив в обох випадках 44 % від усіх досліджуваних клітин (рис. 3).

Отже, сульфат плумбуму виявляє цитотоксичну дію на культивовані клітини лінії HepG2 та впливає на кількість прикріплених до субстрату клітин і зрушує у 32 % клітин показник ЯЦС у бік збільшення порівняно із 18 % у контролі (рис. 3).



А



Б

Рис. 3. Морфометричні показники (ядерно-цитоплазматичне співвідношення) у культурі клітин HepG2 в контролі (А) і при дії сульфату плумбуму (Б)

Під впливом сульфату плумбуму спостерігається зсув у бік збільшення розмірів клітин порівняно з контролем (рис. 4). Ознаки некрозу спостерігалися у клітинах, які

сплюснулися під впливом плумбуму. Клітини мали відмінну від контролю форму з довгими відростками (рис. 5).

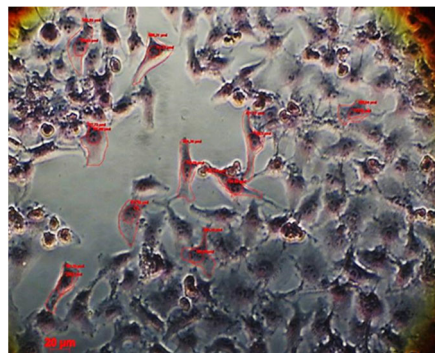
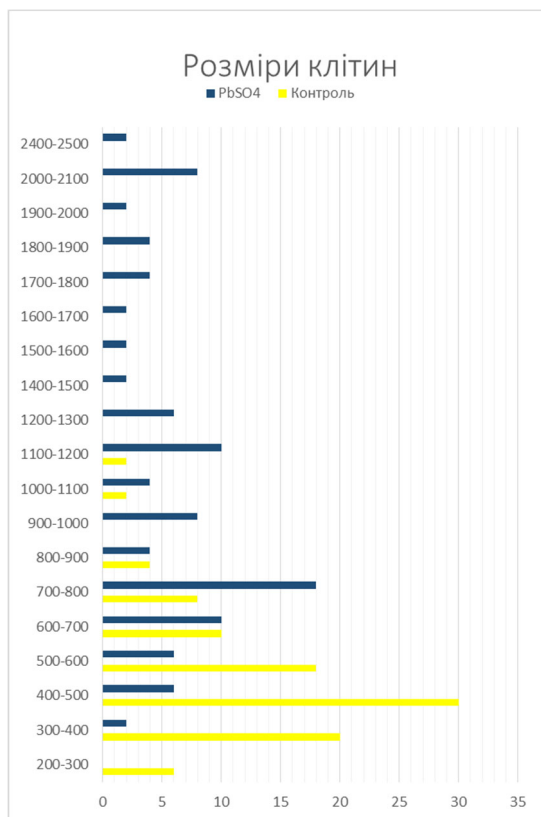


Рис. 4. Морфометричні показники (розміри клітин) у культурі клітин НерG2 в контролі та при дії сульфату плумбуму, $p \leq 0,05$ мкм

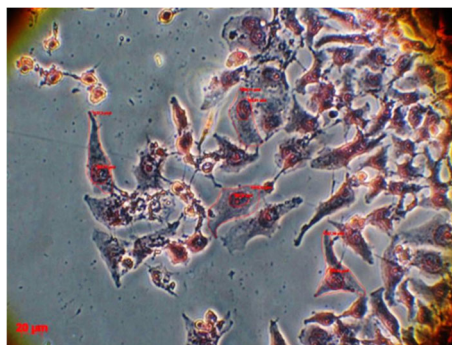


Рис. 5. Типові фото клітин після забарвлення Май-Грюнвальдом у контролі й за впливу сульфату плумбуму

Висновки. У проведеному дослідженні впливу сульфату плумбуму на культивовані гепатоцити лінії НерG2 зафіксовано його цитотоксичний ефект, який полягав у загибелі клітин у діапазоні токсиканта 0,016-1 мМ (30–80 % від контролю) з показником інгібуючої концентрації (ІК50), що дорівнював 0,04 мМ. З використанням колориметричного методу дослідження показано, що сумарний адгезивний показник клітин, які інкубувались із сульфатом плумбуму, знижувався в 1,5–3 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Морфометричний аналіз клітин НерG2, проведений за допомогою програми AxioVision на інвертованому мікроскопі Axio Vert-40 (CarlZeis), виявив зміни в розмірі як клітин, так і ядра та цитоплазми під впливом сульфату плумбуму, що зафіксовано у зміні ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ЯЦС).

Список використаних джерел

1. Milosevic N. Lead stimulates inter cellular signalling between hepatocytes and Kupffer cells / N Milosevic, P. Maier // Eur J Pharmacol. 2000 Aug 11;401(3):317-28. DOI: 10.1016/s0014-2999(00)00473-8.
2. Bashir M. Jarrara Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity / Bashir M. Jarrara, Noory T. Tai // Saudi J Biol Sci. 2012 Apr; 19(2): 203–210 DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.12.005
3. Bukola R. Omotoso Lead-Induced Damage on Hepatocytes and Hepatic Reticular Fibres in Rats; Protective Role of Aqueous Extract of Moringaoleifera Leaves (Lam) / Bukola R. Omotoso, Adeleke A. Abiodun, Omamuyovwi M. Ijomone, Stephen O. Adewole // Journal of Biosciences and Medicines Vol.03 No.05(2015), Article ID:56349,8 pages
4. María Teresa Donato Culture and Functional Characterization of Human Hepatoma HepG2 Cells / María Teresa Donato, Laia Tolosa, María José Gómez-Lechón // 2015;1250:77-93. DOI:10.1007/978-1-4939-2074-7_5.
5. Нариси з токсикології важких металів [Текст] : [у 5 вип.] / за заг. ред. акад. НАМН України І. М. Трахтенберга. – Київ : Авіцена, 2016.
6. Дмитруха Наталія Миколаївна. Імунотоксична дія свинцю і кадмію як гігієнічна проблема (до патогенезу, діагностики та профілактики інтоксикацій важкими металами) / Дмитруха Наталія Миколаївна // 2010. – 32 с.

7. Трахтенберг І. М. Свинцев – небезпечний політанти. Проблема стара і нова / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський, І. С. Чекман, В. О. Купрій, А. М. Дорошенко // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2015. – № 3. – С. 14-24. – Режим доступу : http://nbuv.gov.ua/UJRN/spt_2015_3_4

8. Ткачишин В. С. Інтоксикації свинцем і його неорганічними сполуками / В. С. Ткачишин // Медицина невідклад. станів. – 2021. – № 4. – С. 6-12.

9. Островська С. С. Вплив свинцю на репродуктивне здоров'я чоловіків / Шаторна В. Слесаренко О. Г., Герасимчук П. Г., Топка Е. Г., Алексєєнко З. К., Люлько І. В., Коссе В. А. // Український журнал медицини, біології та спорту – 2021 – Том 6, № 4 (32) DOI: 10.26693/jmbs06.04.193

10. Silvia Miret Comparison of In Vitro Assays of Cellular Toxicity in the Human Hepatic Cell Line HepG2 / Silvia Miret, Els M. De Groene, Werner Klaffke // Volume 11, Issue 2, March 2006, Pages 184-193

11. О. Бельська Морфологія печінки під впливом ацетату свинцю за умови корекції//Здобутки клінічної і експериментальної медицини 26(2) 2016. DOI:10.11603/1811-2471.2016.v26.i2.6234

References

1. Milosevic N. Lead stimulates inter cellular signalling between hepatocytes and Kupffer cells / N. Milosevic, P. Maier // Eur J Pharmacol. 2000 Aug 11;401(3):317-28. DOI: 10.1016/S0014-2999(00)00473-8.

2. Bashir M. Jarrara Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity / Bashir M. Jarrara, Noory T. Tai // Saudi J Biol Sci. 2012 Apr; 19(2): 203–210 DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.12.005

3. Bukola R. Omotoso Lead-Induced Damage on Hepatocytes and Hepatic Reticular Fibres in Rats; Protective Role of Aqueous Extract of Moringaoleifera Leaves (Lam) / Bukola R. Omotoso, Adeleke A. Abiodun, Omamuyowvi M. Ijomone, Stephen O. Adewole // Journal of Biosciences and Medicines Vol.03 No.05(2015), Article ID:56349,8 pages

4. Maria Teresa Donato Culture and Functional Characterization of Human Hepatoma HepG2 Cells / Maria Teresa Donato, LaiaTolosa, Maria José Gómez-Lechón // 2015;1250:77-93. DOI:10.1007/978-1-4939-2074-7_5.

5. Narysy z toksykologii vazhkykh metaliv [Tekst] : [u 5 vyp.] / za zah. red. akad. NAMN Ukrainy I. M. Trakhtenberha. – Kyiv : Avitsena, 2016.

6. Dmytrukha Nataliia Mykolaivna Imunotoksychna diia svyntsiu i kadmiiu yak hihienichna problema (do patohenezu, diahnostyky ta profilaktyky intoksykatsii vazhkymy metalamy) / Dmytrukha Nataliia Mykolaivna // 2010. – 32 s.

7. Trakhtenberh I. M. Svynets – небезпечний політанти. Проблема стара і нова / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський, І. С. Чекман, В. О. Купрій, А. М. Дорошенко // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2015. – № 3. – С. 14-24. – Режим доступу : http://nbuv.gov.ua/UJRN/spt_2015_3_4

8. Tkachyshyn V. S. Intoksykatsii svyntsem i yoho neorhanichnymy spolukamy / V. S. Tkachyshyn // Medytsyna nevidklad. staniv. – 2021. – № 4. – С. 6-12

9. Ostrovska S. S. Vplyv svyntsiu na reprodutyvne zdorovia cholovikiv / Shatorna V., Slesarenko O. H., Herasymchuk P. H., Topka E. H., Aleksieienko Z. K., Liulko I. V., Kosse V. A. // Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu – 2021 – Том 6, № 4 (32) DOI: 10.26693/jmbs06.04.193

10. Silvia Miret Comparison of In Vitro Assays of Cellular Toxicity in the Human Hepatic Cell Line HepG2 / Silvia Miret, Els M. De Groene, Werner Klaffke // Volume 11, Issue 2, March 2006, P.184-193

11. О. Бельська Морфологія печінки під впливом ацетату свинцю за умови корекції//Здобутки клінічної і експериментальної медицини 26(2) 2016. DOI:10.11603/1811-2471.2016.v26.i2.6234

Стаття надійшла / Submitted: 28.04.23

Статтю надіслано на рецензування / Reviewed: 28.04.23

Статтю прийнято / Accepted: 31.05.23

A. Chornomorets, Student,
I. Stupak, Specialist of the 1-st category,
I. Lahoida, Leading Specialist,
E. Torgalo, PhD (Biol.),
L. Garmanchuk DSc (Biol.)

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

MORPHOMETRIC PROPERTIES OF CELLS OF THE LINE HEPG2 UNDER THE ACTION OF PLUMBUM SULFATE

Lead is a typical diffuse element contained in all components of the environment: in rocks, soils, natural waters, atmosphere, and living organisms. All lead compounds act practically the same, the difference in toxicity is explained by their different solubility in body fluids. In particular, lead sulfate has the most harmful effect on liver cells. In most studies using cell lines of hepatocyte origin, including the HepG2 cell line, metabolic parameters are investigated. Also, the study of the morphology of hepatocytes (morphometric indicators) is no less important in the study of the action of the toxicant. Therefore, the purpose of the study was to analyze the morphofunctional properties of cultured hepatocytes under the action of lead sulfate. In the course of this work, the main morphometric parameters (nuclear-cytoplasmic ratio, cell area, nuclear area) and the total adhesive potential were measured and determined in the control and with the addition of lead sulfate at a concentration of 1C50/10 (0.004 mM). Cell counting was performed using Axiovision and ImageJ programs. The nuclear-cytoplasmic ratio is calculated – NC ratio = N/C, where N is the area of the nucleus, C – the area of the cytoplasm. The adhesive potential was determined by the ability of cells to attach to the plastic surface under the action of lead sulfate. By calculating the ratio of live and dead cells after staining with trypan blue, the cytotoxic effect of lead sulfate was recorded, which consisted in the death of cells in the toxicant range of 0.016-1 mM (30-80 % of the control) with an inhibitory concentration indicator (IC50) equal to 0.04 mM. Using a colorimetric research method, it was shown that the total adhesive index of cells incubated with lead sulfate decreased by 1.5-3 times (p<0.05) compared to the control. The content of cells with an NC ratio of 0.4-0.5 under the influence of lead sulfate doubled compared to the control; cells with defective appendages and a polygonal cell shape, which distinguishes them from the control, were also recorded.

Keywords: plumbum sulfate, nuclear-cytoplasmic ratio, HepG2 cells.