

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-057: 612.017

Казицкая А.С.¹, Ядыкина Т.К.¹, Бугаева М.С.^{1,3}, Жукова А.Г.^{1,2}, Михайлова Н.Н.^{1,2}, Горохова Л.Г.^{1,2}

Патофизиологические механизмы иммунной реактивности печени в условиях длительного экспериментального воздействия на организм фторида натрия

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», 654041, г. Новокузнецк, Россия, ул. Кутузова, д. 23;

²Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 654041, г. Новокузнецк, Россия, ул. Циолковского, д. 23;

³НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 654005, г. Новокузнецк, Россия, пр. Строителей, д. 5

В условиях непрерывного воздействия неблагоприятных факторов окружающей и производственной среды на человека особую актуальность приобретает изучение механизмов, поддерживающих гомеостаз организма. Длительное поступление фторидов в организм приводит к формированию хронической фтористой интоксикации, патогенез которой вызывает многочисленные споры и дискуссии. До сих пор недостаточно внимания уделяется изучению висцеральной патологии, обусловленной нарушениями иммунного статуса в условиях воздействия на организм соединений фтора. Практически отсутствуют исследования по изучению иммунной реактивности, определяющей морфофункциональный характер ответной реакции печени на ранних стадиях развития фтористой интоксикации. **Цель работы** – изучение действий патофизиологических механизмов иммунной реактивности печени при субхроническом действии на организм соединений фтора. **Методика.** Опыты проведены на 210 лабораторных крысах-самцах массой 180-220 г, разделенных на 2 группы: контрольную ($n=80$) и группу животных с субхроническим действием фторида натрия ($n=130$). Экспериментальные животные в течение 12 нед имели свободный доступ к водному раствору фторида натрия (концентрация 10 мг/л, что составляет суточную дозу фтора 1,2 мг/кг массы тела). Для изучения иммунологических и биохимических показателей забирали кровь из хвостовой вены через 1, 3, 6, 9, 12 нед от начала эксперимента. Для оценки состояния гуморального звена иммунитета определяли уровень сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) иммуноферментным анализом с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Уровень сывороточных цитокинов: TNF- α , IL-1 β , 2, 4, 6, 10 определяли на анализаторе Multiskan EX методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Вектор Бест» (Новосибирск). Подсчет общего количества лейкоцитов произведен классическим способом в камере Горяева, анализ лейкоцитарной формулы – в окрашенных мазках периферической крови. Метаболические изменения оценивали по активности ферментов в ткани печени: щелочной фосфатазы (ЩФ), аланин- и аспартатаминотрансфераз (АЛТ, АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаммаглутамилтранспептидазы (γ -ГТ). Активность ферментов определяли унифицированными методами с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на фотометре РМ-750 (Германия). Гистологические исследования печени осуществляли после декапитации крыс, проводимой под эфирным наркозом. **Результаты.** Показано, что субхроническое воздействие фторида натрия сопровождается формированием внутриклеточных и внутрисосудистых повреждений печени. Активация медиаторов воспаления и развитие иммунологических нарушений в динамике эксперимента способствуют формированию системной воспалительной реакции, которая приводит к появлению стойких морфологических нарушений в печени и изменению активности ферментов основных метаболических путей. **Заключение.** Полученные результаты могут быть использованы при разработке и проведении профилактических мероприятий в условиях воздействия на организм высоких концентраций фтора с последовательным применением детоксикационной, иммуномодуляторной и органопротекторной коррекции.

Ключевые слова: фтористая интоксикация; иммунный ответ; метаболизм; ферментативная активность; морфологические изменения; печень; крысы.

Для цитирования: Казицкая А.С., Ядыкина Т.К., Бугаева М.С., Жукова А.Г., Михайлова Н.Н., Горохова Л.Г.

Патофизиологические механизмы иммунной реактивности печени в условиях длительного экспериментального воздействия на организм фторида натрия. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 64-72

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.64-72

Для корреспонденции: Казицкая Анастасия Сергеевна, канд. биол. наук., ст. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, e-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.08.2018

Kazitskaya A.S.¹, Yadykina T.K.¹, Bugaeva M.S.^{1,3}, Zhukova A.G.^{1,2}, Mikhailova N.N.^{1,2}, Gorokhova L.G.^{1,2}

Pathophysiological mechanisms of hepatic immune reactivity in prolonged experimental exposure of the body to sodium fluoride

¹ Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Kutuzov Str. 23, Novokuznetsk 654041;

²Novokuznetsk Institute (Branch) of the Kemerovo State University, Tsiolkovsky Str. 23 Novokuznetsk 654041;

³Novokuznetsk State Institute for Physicians' Continuous Education, Branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Prospekt Stroiteley 5, Novokuznetsk 654005

Studying mechanisms, which maintain the body homeostasis, is particularly important in the conditions of continuous impact of adverse environmental and manufacturing factors. Long-term exposure to fluorides leads to chronic fluorine intoxication, the pathogenesis of which is a subject of multiple controversy and discussions. Not enough attention is still paid to elucidating the visceral pathology associated with fluorine-induced immune disorders. There are virtually no studies of immune reactions that define the morphofunctional nature of the liver response to early stages of fluorine intoxication. **Aim.** To study pathophysiological mechanisms of hepatic immune reactivity in subchronic exposure of the body to fluorine compounds. **Methods.** Experiments were performed on 210 male rats weighing 180-220 g. The animals were divided into two groups: 1) control (n=80) and 2) subchronic exposure to sodium fluoride (n=130). The rats had free access to a 10 mg/l aqueous solution of sodium fluoride (daily dose, 1.2 mg/kg body weight) for 12 weeks. Blood was withdrawn from the caudal vein at 1, 3, 6, 9, and 12 weeks of the experiment for immunological and biochemical tests. Histological study of the liver was performed after decapitation of rats under ether anesthesia. **Results.** The subchronic exposure to sodium fluoride was associated with intracellular and intravascular damage of the liver. Activation of inflammatory mediators and development of immunological disorders during the experiment contributed to a systemic inflammatory reaction, which resulted in persistent morphological injuries of the liver and changes in enzyme activities in major metabolic pathways. **Conclusion.** The study results can be used for development and implementation of preventive measures against the effects of high fluorine concentrations, which would include a successive use of detoxification, immunomodulation and organ protection.

Keywords: fluoride intoxication; immune response; metabolism; enzymatic activity; morphological changes; liver; rats.

For citation: Kazitskaya A.S., Yadykina T.K., Bugaeva M.S., Zhukova A.G., Mikhailova N.N., Gorokhova L.G. Pathophysiological mechanisms of immune reactivity of the liver under the conditions of prolonged experimental exposure of sodium fluoride on the body to sodium fluoride. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 64-72. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03. 64-72

For correspondence: Anastasiya S. Kazitskaya, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the laboratory of molecular-genetic and experimental researches, Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases», e-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Kazitskaya A.S., <http://orcid.org/0000-0001-8292-4810>

Yadykina T.K., <https://orcid.org/0000-0001-7008-1035>

Bugaeva M.S., <https://orcid.org/0000-0003-3692-2616>

Zhukova A.G., <http://orcid.org/0000-0002-4797-7842>

Mikhailova N.N., <https://orcid.org/0000-0002-1127-6980>

Gorokhova L.G., <http://orcid.org/0000-0002-0545-631X>

Received 13.08.2018

Введение

В условиях непрерывного воздействия на человека неблагоприятных факторов окружающей и производственной среды особую актуальность приобретает изучение механизмов, поддерживающих гомеостаз организма. Печень играет ведущую роль в установлении гомеостатического равновесия, являясь полифункциональным органом, участвующим в метаболизме белков и липидов, рециркуляции желчных кислот, формировании иммунного ответа и детоксикации токсичных веществ экзогенного и эндогенного происхождения [1–3].

Длительное поступление фторидов в организм приводит к формированию хронической фтористой интоксикации (ХФИ), патогенез которой вызывает многочисленные споры и дискуссии [4–7]. Понимание патогенеза ХФИ актуально для прогнозирования рисков здоровью людей, проживающих в регионах с высоким содержанием фторидов или имеющих профессиональный контакт с данными соединениями. До сих пор недостаточно внимания уделяется изучению висцеральной патологии, обусловленной нарушениями

иммунного статуса в условиях воздействия на организм соединений фтора [8, 9]. Практически отсутствуют исследования по изучению иммунной реактивности, определяющей морфофункциональный характер ответной реакции печени на ранних стадиях развития фтористой интоксикации [10, 11].

Цель исследования – изучение патофизиологических механизмов иммунной реактивности печени в ответ на хроническое поступление в организм соединений фтора.

Методика

Исследование проводили в соответствии с международными правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Страсбург, 1986), «Правилами лабораторной практики в РФ (GLP)» (утверждены приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003, № 267). Для проведения исследований было получено разрешение биоэтического комитета НИИ КППЗ (протокол № 3 от 26 ноября 2015 г.). В эксперименте использовано 210 лабораторных крыс-самцов 180-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на полноценном сбалансированном рационе.

Животные разделены на 2 группы: 1-я – контроль ($n=80$) и 2-я – опыт ($n=130$). Интоксикацию фтором моделировали свободным доступом крыс к водному раствору фторида натрия (NaF, 10 мг/л), что соответствует суточной дозе 1,2 мг/кг. Для изучения иммунологических и биохимических показателей забирали кровь из хвостовой вены через 1, 3, 6, 9, 12 нед от начала эксперимента. Для оценки состояния гуморального звена иммунитета определяли уровень сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) иммуноферментным анализом с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Уровень сывороточных цитокинов: TNF- α , IL-1 β , 2, 4, 6, 10 определяли на анализаторе Multiskan EX методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Вектор Бест» (Новосибирск). Подсчет общего количества лейкоцитов произведен классическим способом в камере Горяева, анализ лейкоцитарной формулы – в окрашенных мазках периферической крови. Метаболические изменения оценивали по активности ферментов в ткани печени: щелочной фосфатазы (ЩФ), аланин- и аспаратаминотрансфераз (АЛТ, АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаммаглутамилтранспептидазы (γ -ГТ). Активность определяли унифицированными методами с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на фотометре РМ-750 (Германия).

В отдельной серии после декапитации крыс, проводимой под эфирным наркозом, забирали образцы печени для гистологического исследования. Кусочки ткани фиксировали в 12% нейтральном формалине, далее материал подвергали общепринятым в гистологии процедурам. Парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методу Ван Гизона. Анализ и микрофото съемку гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Olympus CX31 RBSF (Германия) – 10 крат, поле зрения – 20 мм и объектива 20, 40 и 100 с водной и масляной иммерсией с использованием цифровой камеры Levenhuk C800.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения IBM SPSS Statistics 22 (Лицензионный договор № 20160413-1 от 22.04.2016). Для определения соответствия данных нормальному распределению использовали эксцесс и асимметрию. Представление количественных переменных проводили с помощью средних значений и стандартной ошибки среднего. При нормальном распределении для сравнения 2 независимых выборок использовали параметрический t -критерий Стьюдента, при отклонении распределения от нормального использовали непараметрический U -критерий Манна-Уитни с представлением данных в виде медианы. Уровень значимости для отклонения нулевой гипотезы $p<0,05$. Для определения связи количественных признаков применяли корреляционный анализ Пирсона.

Результаты и обсуждение

Ведущая роль в формировании ответной реакции организма на воздействие повреждающих факторов принадлежит крови, как одной из наиболее реактивных систем. Начальная иммунная реакция на поступление фтора характеризовалась активацией клеточного звена иммунитета, в качестве основополагающего защитного механизма. На протяжении 6 нед эксперимента наблюдалось статистически значимое повышение общего количества лейкоцитов до $11,0 \pm 1,2$ (в контроле $6,9 \pm 0,9 \cdot 10^9$ /л, $p<0,01$), обусловленное увеличением на 1-й нед относительного числа моноцитов до $4,0 \pm 0,7$ (в контроле $2,8 \pm 0,3 \cdot 10^9$ /л, $p<0,05$), участвующих в формировании и регуляции первичного иммунного ответа. К 3-й нед воздействия фторидов на организм животных отмечалось снижение уровня моноцитов. Кратковременная циркуляция их в крови с последующей миграцией в ткани для дифференцировки в органо- и тканеспецифичные макрофаги позволяет иммунной системе активно участвовать в процессе фагоцитоза [12].

Активация клеточного иммунитета на ранних сроках воздействия фторида натрия сопровождалась относительно стабильными показателями гуморального звена (табл. 1). На 9–12-й нед число лейкоцитов статистически значимо снижалось (в 1,3 раза) по сравнению с фоновыми показателями.

Регуляция иммунного ответа осуществляется специфическими молекулами межклеточного взаимодействия – цитокинами. Ключевой медиатор иммунного ответа – TNF- α играет важную роль в развитии ранних стадий воспаления. Повышение уровня TNF- α обнаруживало на 1-й нед статистически значимую умеренную обратную связь с снижением уровня противовоспалительного цитокина IL-10 ($r = -0,385$; $p < 0,05$).

Индукция раннего синтеза TNF- α приводила к статистически значимому повышению концентрации острофазового белка – Ср (табл. 2), что свидетельствовало о разворачивании воспалительного процесса [13].

Не исключено, что провоспалительные цитокины являются инициаторами воспалительного процесса в печени за счет активации резидентных печеночных макрофагов – клеток Купфера [14, 15], пролиферация которых наблюдалась с 1-й нед эксперимента (рис. а).

Являясь начальным звеном иммунного ответа, макрофаги играют особую связующую роль между местными и системными реакциями. Пролиферация органоспецифических макрофагов – клеток Купфера, участвующих в очищении крови от токсинов, антигенов и коагулянтов, свидетельствовала об их активном участии в организации воспалительного процесса.

Трехнедельное поступление фтора в организм животных приводило к подавлению синтеза IL-1 β на фоне повышения концентрации мощного его ингибитора – противовоспалительного IL-10. Морфологическая картина печени на этом сроке характеризовалась

Таблица 1

Влияние NaF на динамику уровня цитокинов в плазме крови, (M \pm m)

Показатели	Группа животных	1 нед	3 нед	6 нед
TNF- α , пг/мл	опыт	4,9 \pm 0,93*	4,0 \pm 0,45	6,6 \pm 1,10*
	контроль	2,9 \pm 0,44	3,2 \pm 0,18	3,2 \pm 0,18
IL-1 β , пг/мл	опыт	5,8 \pm 0,69	2,7 \pm 0,75**	3,4 \pm 0,75**
	контроль	6,1 \pm 1,45	7,0 \pm 0,92	7,0 \pm 0,92
IL-4, пг/мл	опыт	2,0 \pm 0,15	1,0 \pm 0,20**	1,4 \pm 0,37*
	контроль	2,2 \pm 0,42	2,8 \pm 0,24	2,8 \pm 0,24
IL-6, пг/мл	опыт	6,1 \pm 1,16	5,5 \pm 1,18	7,6 \pm 0,71*
	контроль	5,6 \pm 0,75	5,2 \pm 0,23	5,2 \pm 0,23
IL-10, пг/мл	опыт	1,6 \pm 0,07**	3,6 \pm 0,40*	3,8 \pm 0,62*
	контроль	2,6 \pm 0,47	2,2 \pm 0,42	2,2 \pm 0,42

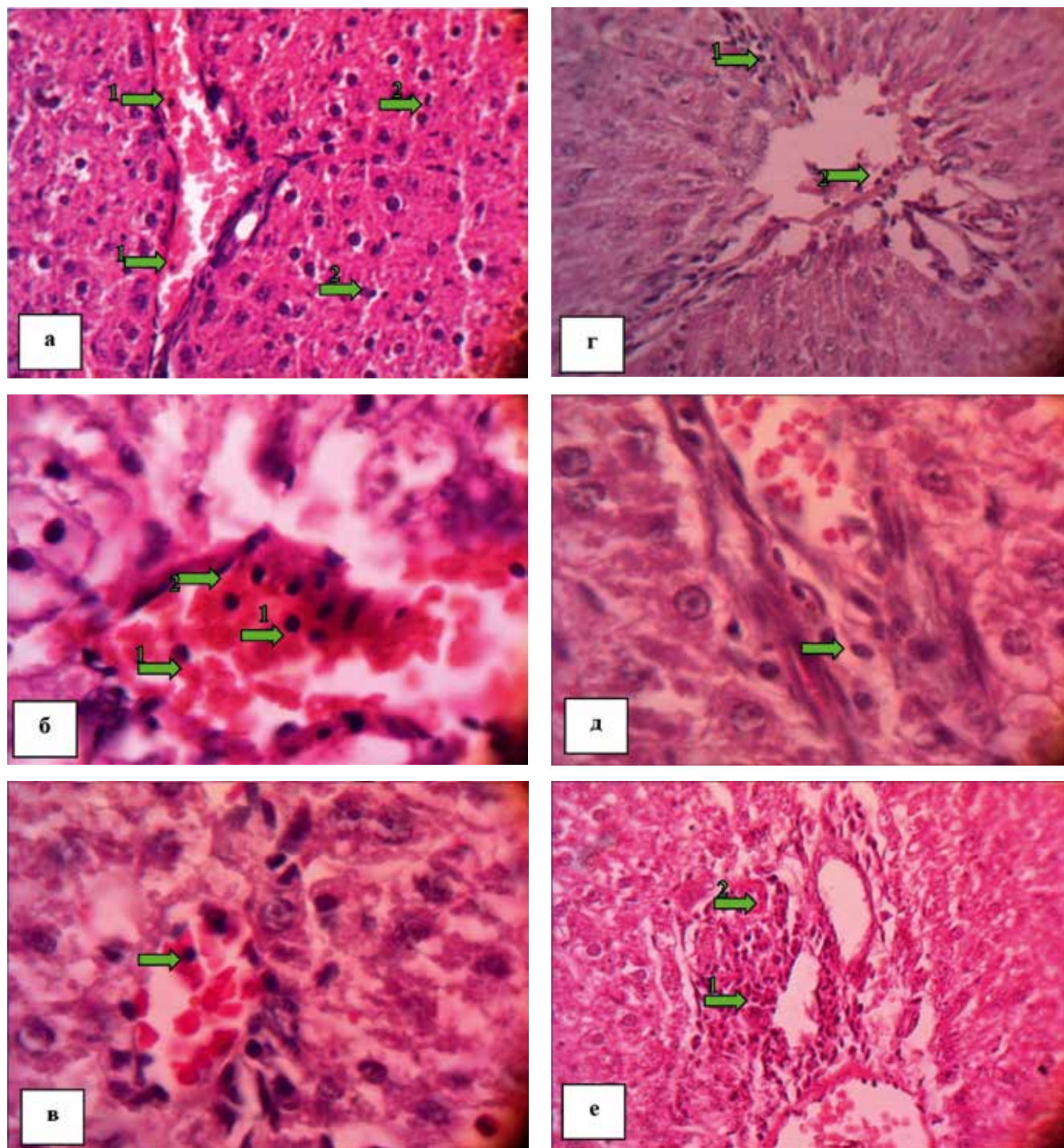
Примечание. * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$ – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Изменение иммунологических показателей в динамике воздействия NaF, (M \pm m)

Показатель	Группа крыс	Срок воздействия				
		1 нед	3 нед	6 нед	9 нед	12 нед
IgA, г/л	опыт	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01
	контроль	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01
IgM, г/л	опыт	0,54 \pm 0,03	0,43 \pm 0,02	0,49 \pm 0,05	0,48 \pm 0,01*	0,46 \pm 0,03
	контроль	0,51 \pm 0,06	0,43 \pm 0,04	0,53 \pm 0,04	0,59 \pm 0,01	0,49 \pm 0,03
IgG, г/л	опыт	3,6 \pm 0,36	3,5 \pm 0,11	3,4 \pm 0,13	3,1 \pm 0,23*	3,1 \pm 0,18*
	контроль	3,8 \pm 0,14	3,9 \pm 0,17	3,7 \pm 0,27	3,7 \pm 0,17	3,7 \pm 0,09
Ср, мг/дл	опыт	20,3 \pm 1,5*	18,5 \pm 1,91	14,3 \pm 0,5**	15,8 \pm 0,2*	14,3 \pm 0,8**
	контроль	16,9 \pm 0,7	6,7 \pm 0,4	16,7 \pm 0,3	16,7 \pm 0,3	16,6 \pm 0,3
Нр, мг/дл	опыт	35,2 \pm 2,4	28,2 \pm 3,23	28,2 \pm 3,1	43,0 \pm 6,4**	42,2 \pm 4,0**
	контроль	32,9 \pm 3,5	34,2 \pm 1,5	34,2 \pm 1,5	27,6 \pm 1,1	25,5 \pm 2,3

Примечание. * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$ – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой.



Морфологические изменения в печени крыс в динамике развития фтористой интоксикации; окраска гематоксилин-эозином.

усилением пролиферации фагоцитирующих клеток, слабо выраженной лимфоплазматической инфильтрацией в портальных трактах, а также стагнированием кле-

ток иммунной системы в сосудах венозного типа (рис. б). Увеличение числа двуядерных гепатоцитов на фоне дистрофического повреждения клеток указыва-

ло на усиление регенеративно-восстановительных процессов в печени [16, 17].

Ферментативная активность в печени на ранних сроках (3-и сут) воздействия фтора характеризовалась разнонаправленными изменениями. На фоне статистически значимого снижения активности АСТ, ЩФ и ЛДГ в гепатоцитах наблюдалась активация АЛТ – фермента, обеспечивающего работу глюкозо-аланинового шунта (табл. 3).

Полуторакратное снижение активности фермента АСТ на фоне активации АЛТ свидетельствовало о торможении цикла Кребса в печени и преобладании анаболических процессов. Некоторые исследователи связывают повышение активности АЛТ с развитием иммунных повреждений гепатоцитов [18].

К 3-й нед эксперимента наблюдалось восстановление физиологической активности ферментов АСТ и ЛДГ; статистически значимое повышение активности ЩФ и подавление АЛТ, что свидетельствовало об активации основных метаболических путей: гликолиза, цикла Кребса, липидного и углеводного обменов.

Таким образом, ранняя ответная реакция организма (1-я-3-я нед) на поступление фтора характеризовалась активацией клеточного звена иммунитета с последующим синтезом регуляторных пептидов, реализацией компенсаторно-приспособительных механизмов в печени на фоне начальных изменений её морфоструктуры.

В динамике эксперимента наблюдалось формирование иммунных нарушений, усугубляющих сдвиг морфофункционального гомеостаза печени. Аккумуляция фтора в организме животных способствовала постепенной трансформации адаптивного ответа организма в ответ патологический. Этот период (с 6-й до 9-й нед) характеризовался высокими показателями в кро-

ви TNF- α , который индуцировал синтез провоспалительного цитокина IL-6, являющегося одним из ведущих регуляторов метаболических сдвигов, характерных для системного воспаления. Подтверждением активного воспалительного процесса являлось сохранение высокой концентрации острофазного белка Нр и статистически значимое повышение уровня нейтрофилов (с $57,5 \pm 3,2 \cdot 10^9$ /л в контроле до $65,1 \pm 1,6 \cdot 10^9$ /л в опыте, $p < 0,05$).

Переходный период (6-я нед) сопровождался изменением интенсивности функционирования ферментов основных метаболических путей. На фоне статистически значимого снижения активности АЛТ и ЛДГ наблюдалось двукратное повышение активности АСТ, которое свидетельствовало об активации цикла трикарбоновых кислот, обеспечивающего энергетические потребности организма (табл. 3).

Морфологическая картина в печени на 6-й нед эксперимента характеризовалась доминированием признаков воспаления (рис. в, г). Воздействие фторидом натрия в течение 6 нед приводило к развитию в печени выраженной пролиферации и гиперплазии клеток Купфера, усилению лимфоплазмочитарной инфильтрации портальных трактов, стазированию крови в сосудах. Известно, что длительный стаз охватывает соседние капилляры, в результате чего нарушается доставка кислорода и питательных веществ в ткани, а также удаление из них продуктов обмена, что может играть немаловажную роль в развитии некробиотических изменений в печени на 6-й нед эксперимента [19].

К 9-й нед нарушения морфоструктуры печени усугублялись и сопровождались скоплением лейкоцитов в синусоидах. Архитектоника печени характеризовалась мультифокальной пролиферацией клеток Купфера, выявлялись очаги некроза гепатоцитов, что видимо, обу-

Таблица 3

Изменение активности ферментов основных метаболических путей в печени крыс в динамике воздействия NaF

Сроки воздействия	АСТ, (ЕА/гр. тк.)		АЛТ, (ЕА/гр. тк.)		ЩФ, (ЕА/гр. тк.)		ЛДГ, (ЕА/гр. тк.)	
	К	Опыт	К	Опыт	К	Опыт	К	Опыт
3-и сут	52,4	33,9*	76,8	100,5*	750,7	497,6*	702,5	647,4
6-е сут	51,3	42,8	70,3	50,1	781,1	772,8	677,6	394,2*
3 нед	52,9	52,6	80,4	61,3*	703,5	1204,4*	690,6	653,1
6 нед	55,7	102,9*	82,2	47,8*	804,8	779,5	688,6	421,6*
9 нед	51,7	49	80,3	91,5	786,4	735,3	706,5	471,5
12 нед	52,2	11,6*	77,9	68,2	790,2	1045,2*	693,4	1440,0*

Примечание. * – $p < 0,05$ – статистически значимые отличия от показателей контроля (Mann-Whitney U test; данные представлены в виде медианы).

словлено активацией свободнорадикальных процессов [19]. Отмечались существенные деструктивные изменения со стороны микрососудистого русла (гипертрофия эндотелиоцитов, полнокровие со стазом эритроцитов), приводящие к нарушению межтканевого обмена в печени (рис. д).

Увеличение сроков интоксикации до 12 нед изменило метаболическую картину, и она приобрела устойчивый патологический характер. Статистически значимое снижение концентрации IgM и IgG на фоне высокого содержания лимфоцитов указывало на формирование нарушений в процессе созревания В-лимфоцитов и невозможности их дальнейшей дифференцировки в клетки плазматического ряда. Сохранение высокой концентрации острофазового белка Нр на поздних сроках свидетельствовало о переходе воспаления в хроническую форму.

Недостаточность защитных систем организма приводила к значительным изменениям активности ферментов основных метаболических циклов в печени. К 12-й нед эксперимента на фоне двукратного повышения активности ЛДГ и ЩФ наблюдалось подавление активности АСТ в 4,5 раза по сравнению с показателями контроля. Известно, что уровень ЛДГ может быть увеличен при клеточном некрозе или неопластической пролиферации клеток [2]. Полученные результаты свидетельствовали о невозможности достижения метаболического баланса и усилении патологических изменений в ткани печени в виде выраженной дистрофии гепатоцитов, увеличения количества очагов некроза, фибропластических изменений в портальных трактах, выраженной лимфоплазматической инфильтрации и эндотелиоза сосудов (рис. е). По мнению некоторых ученых на процесс фиброобразования печени прямое воздействие оказывают клетки Купфера, стимулирующие фиброгенез [20]. При этом одни специалисты отмечают уменьшение количества резидентных макрофагов при усилении фиброза [21], в то время как другие указывают на возрастание их числа [22].

Таким образом, вызывая раннюю экспрессию провоспалительных цитокинов и отсроченный противовоспалительный иммунный ответ, фториды запускают системную воспалительную реакцию, приводящую к формированию повреждений печени с последующим нарушением ферментативных процессов. Поступление фтора в организм животных на ранних сроках (1-3 нед) сопровождалось активацией клеточного иммунитета, экспрессией провоспалительных цитокинов, пролиферацией в печени органоспецифических макрофагов — клеток Купфера. 6-я нед эксперимента характеризовалась стабильными показателями гуморального звена иммунной системы на фоне сохранившейся высокой активности клеточного пула, разнонаправленными из-

менениями концентрации острофазовых белков (\downarrow Ср и \uparrow Нр), морфологическими проявлениями воспалительных реакций в виде выраженной пролиферации и гиперплазии клеток Купфера, усиления лимфоплазматической инфильтрации, стагирования сосудов клетками иммунной системы.

На стадии истощения иммунной системы (с 9-й нед) наблюдалось подавление синтеза сывороточных иммуноглобулинов, увеличение концентрации Нр, повышение относительного числа моноцитов и лимфоцитов на фоне снижения абсолютного количества лейкоцитов, что свидетельствовало о переходе воспаления в хроническую форму. Морфологическими проявлениями иммунных расстройств на поздних сроках явились развитие выраженной лимфоплазматической инфильтрации портальных трактов и прогрессирование эндотелиоза.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке и проведении профилактических мероприятий в условиях воздействия на организм повышенного содержания соединений фтора, с применением ранней детоксикационной терапии, и поэтапным подключением иммуномодуляторной и органопротекторной коррекции.

Литература

1. Гарбузенко Д.В. Механизмы компенсации структуры и функции печени при её повреждении и их практическое значение. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2008; 18(6): 14-21.
2. Arika W.M., Nyamai D.W., Osano K.O., Ngugi M.P., Njagi E.N.M. Biochemical Markers of In Vivo Hepatotoxicity. *Journal of Clinical Toxicology*. 2016; 6(2): 297. Doi:10.4172/2161-0495.1000297.
3. Seki E., Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol*. 2012; 590(3): 447-58.
4. Михайлова Н.Н., Анохина А.С., Уланова Е.В., Фоменко Д.В., Кизиченко Н.В. Экспериментальные исследования патогенеза хронической фтористой интоксикации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2006; (3): 19-21.
5. Шалина Т.И., Васильева Л.С. Общие вопросы токсического действия фтора. *Сибирский медицинский журнал*. 2009; (5): 5-9.
6. Агалакова Н.И., Гусев Г.П. Влияние неорганического фтора на живые организмы различного филогенетического уровня. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2011; 47(5): 337-47.
7. Жукова А.Г., Уланова Е.В., Щербакова Д.В., Ядыкина Т.К. Динамика компенсаторных механизмов на ранних стадиях интоксикации фтором. *Технологии живых систем*. 2011; 8(1): 10-7.
8. Коротенко О.Ю., Панев Н.И., Захаренков В.В., Филимонов С.Н., Семенова Е.А., Панев Р.Н. Хроническая фтористая интоксикация как фактор риска развития атеросклероза. *Гигиена и санитария*. 2015; 94(5): 91-4.
9. Ядыкина Т.К., Михайлова Н.Н., Жукова А.Г., Горохова Л.Г., Бугаева М.С. Гепатоспецифические защитные механизмы от фтористой интоксикации организма (экспериментальное исследование). *Медицинский академический журнал*. 2016; 16(4): 41-2.

10. Михайлова Н.Н., Казицкая А.С., Горохова Л.Г., Жукова А.Г. Экспериментальный поиск иммунологических критериев определения стадий развития хронической фтористой интоксикации. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; (11): 32-6.
11. Ядыкина Т.К., Михайлова Н.Н., Уланова Е.В., Алёхина Д.А., Жукова А.Г. Экспериментальные исследования механизмов иммунной защиты в динамике фтористой интоксикации. *Медицинская иммунология*. 2015; 17(5): 81.
12. Пинегин Б.В., Карсонова М.И. Макрофаги: свойства и функции. *Иммунология*. 2009; 30(4): 241-9.
13. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека. *Медицинский академический журнал*. 2013; 13(3): 18-41.
14. Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович И.Л. *Патологическая биохимия*. М.; БИНОМ; 2013.
15. Diehl A.M. Cytokine regulation of liver injury and repair. *Immunol. Rev.* 2000; 174: 60-71.
16. Непомнящих Г.И., Дюбанова Г.А., Непомнящих Д.Л., Айдагулова С.В., Домникова Н.П., Мигуськина Е.И. Универсальные структурные маркеры гепатотоксического воздействия лекарственных препаратов. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 28(6): 86-92.
17. Fausto N., Campbell J.S., Riehle K.J. Liver regeneration. *Hepatology*. 2006; 43(1): 45-53.
18. Соловьева Н.В., Давидович Н.В., Бажукова Т.А., Агафонов В.М. Роль нарушений микрофлоры толстой кишки в механизмах повреждения печени при хронических гепатитах В и С. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(1): 92-8.
19. Жукова А.Г., Михайлова Н.Н., Ядыкина Т.К., Алехина Д.А., Горохова Л.Г., Романенко Д.В., Бугаева М.С. Экспериментальные исследования внутриклеточных защитных механизмов печени в развитии хронической фтористой интоксикации. *Медицина труда и промышленная экология*. 2016; (5): 21-4.
20. Isobe K., Nakayama H., Uetsuka K. Relation between lipogranuloma formation and fibrosis, and the origin of brown pigments in lipogranuloma of the canine liver. *Comp Hepatol*. 2008; (7): 5.
21. Lapis K., Zalatnai A., Timár F., Thorgerisson U.P. Quantitative evaluation of lysozyme- and CD68-positive Kupffer cells in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinomas in monkeys. *Carcinogenesis*. 1995; 16(12): 3083-5.
22. Chedid A., Arain S., Snyder A., Mathurin P., Capron F., Naveau S. The immunology of fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2004; 128(11): 1230-8.
5. Shalina T.I., Vasil'yeva L.S. General problems of toxic effect of fluorine. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; (5): 5-9. (in Russian)
6. Agalakova N.I., Gusev G.P. Effect of inorganic fluorine on living organisms of different phylogenetic level. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2011; 47(5): 337-47. (in Russian)
7. Zhukova A.G., Ulanova Ye.V., Shcherbakova D.V., Yadykina T.K. Dynamics of compensatory mechanisms at early stages of fluorine intoxications. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2011; 8(1): 10-7. (in Russian)
8. Korotenko O.Yu., Panev N.I., Zakharenkov V.V., Filimonov S.N., Semenova E.A., Panev R.N. Chronic fluoride intoxication as a risk factor for the development of atherosclerosis. *Gigiena i Sanitariya*. 2015; 94(5): 91-4. (in Russian)
9. Yadykina T.K., Mikhaylova N.N., Zhukova A.G., Gorokhova L.G., Bugayeva M.S. The hepatospecific protective mechanisms from fluoride intoxication of the body (experimental study). *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2016; 16(4): 41-2. (in Russian)
10. Mikhaylova N.N., Kazitskaya A.S., Gorokhova L.G., Zhukova A.G. The experimental search of immunological criteria for identifying stages of development of chronic fluoride intoxication. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; (11): 32-6. (in Russian)
11. Yadykina T.K., Mikhaylova N.N., Ulanova Ye.V., Alokhhina D.A., Zhukova A.G. The experimental search of the mechanisms of immune defense in the dynamics of fluoride intoxication. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015; 17(5): 81. (in Russian)
12. Pinegin B.V., Karsonova M.I. Macrophages: Properties and Functions. *Immunologiya*. 2009; 30(4): 241-9. (in Russian)
13. Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of human infectious and non-infectious diseases. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2013; 13(3): 18-41. (in Russian)
14. Taganovich A.D., Oletskiy E.I., Kotovich I.L. *Pathological biochemistry. [Patologicheskaya biokhimiya]*. Moscow; BINOM; 2013. (in Russian)
15. Diehl A.M. Cytokine regulation of liver injury and repair. *Immunol. Rev.* 2000; 174: 160-71.
16. Nepomnyashchikh G.I., Dyubanova G.A., Nepomnyashchikh D.L., Aydagulova S.V., Domnikova N.P., Migus'kina Ye.I. Universal structural markers of hepatotoxic effect of medicinal preparations. *Byulleten' SO RAMN*. 2008; 28(6): 86-92. (in Russian)
17. Fausto N., Campbell J.S., Riehle K.J. Liver regeneration. *Hepatology*. 2006; 43(1): 45-53.
18. Solov'yeva N.V., Davidovich N.V., Bazhukova T.A., Agafonov V.M. The role of gut microflora in the mechanisms of liver damage in chronic hepatitis B and C. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(1): 92-8. (in Russian)
19. Zhukova A.G., Mikhaylova N.N., Yadykina T.K., Alekhina D.A., Gorokhova L.G., Romanenko D.V., Bugayeva M.S. Experimental studies of intracellular liver defense mechanisms in the development of chronic fluoride intoxication. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2016; (5): 21-24. (in Russian)
20. Isobe K., Nakayama H., Uetsuka K. Relation between lipogranuloma formation and fibrosis, and the origin of brown pigments in lipogranuloma of the canine liver. *Comp Hepatol*. 2008; 7: 5.
21. Lapis K., Zalatnai A., Timár F., Thorgerisson U.P. Quantitative evaluation of lysozyme- and CD68-positive Kupffer cells in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinomas in monkeys. *Carcinogenesis*. 1995; 16(12): 3083-5.
22. Chedid A., Arain S., Snyder A., Mathurin P., Capron F., Naveau S. The immunology of fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2004; 128(11): 1230-8.

References

1. Garbuzenko D.V. Mechanisms of compensation of structure and function of the liver at its damage and their practical significance. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii*. 2008; 18(6): 14-21. (in Russian)
2. Arika W.M., Nyamai D.W., Osano K.O., Ngugi M.P., Njagi E.N.M. Biochemical Markers of In Vivo Hepatotoxicity. *Journal of Clinical Toxicology*. 2016; 6(2): 297. DOI:10.4172/2161-0495.1000297.
3. Seki E., Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol*. 2012; 590(3): 447-58.
4. Mikhaylova N.N., Anokhina A.S., Ulanova Ye.V., Fomenko D.V., Kizichenko N.V. Experimental studies of pathogenesis of chronic fluoride intoxication. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2006; (3): 19-21. (in Russian)
5. Shalina T.I., Vasil'yeva L.S. General problems of toxic effect of fluorine. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; (5): 5-9. (in Russian)
6. Agalakova N.I., Gusev G.P. Effect of inorganic fluorine on living organisms of different phylogenetic level. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2011; 47(5): 337-47. (in Russian)
7. Zhukova A.G., Ulanova Ye.V., Shcherbakova D.V., Yadykina T.K. Dynamics of compensatory mechanisms at early stages of fluorine intoxications. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2011; 8(1): 10-7. (in Russian)
8. Korotenko O.Yu., Panev N.I., Zakharenkov V.V., Filimonov S.N., Semenova E.A., Panev R.N. Chronic fluoride intoxication as a risk factor for the development of atherosclerosis. *Gigiena i Sanitariya*. 2015; 94(5): 91-4. (in Russian)
9. Yadykina T.K., Mikhaylova N.N., Zhukova A.G., Gorokhova L.G., Bugayeva M.S. The hepatospecific protective mechanisms from fluoride intoxication of the body (experimental study). *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2016; 16(4): 41-2. (in Russian)
10. Mikhaylova N.N., Kazitskaya A.S., Gorokhova L.G., Zhukova A.G. The experimental search of immunological criteria for identifying stages of development of chronic fluoride intoxication. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; (11): 32-6. (in Russian)
11. Yadykina T.K., Mikhaylova N.N., Ulanova Ye.V., Alokhhina D.A., Zhukova A.G. The experimental search of the mechanisms of immune defense in the dynamics of fluoride intoxication. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015; 17(5): 81. (in Russian)
12. Pinegin B.V., Karsonova M.I. Macrophages: Properties and Functions. *Immunologiya*. 2009; 30(4): 241-9. (in Russian)
13. Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of human infectious and non-infectious diseases. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2013; 13(3): 18-41. (in Russian)
14. Taganovich A.D., Oletskiy E.I., Kotovich I.L. *Pathological biochemistry. [Patologicheskaya biokhimiya]*. Moscow; BINOM; 2013. (in Russian)
15. Diehl A.M. Cytokine regulation of liver injury and repair. *Immunol. Rev.* 2000; 174: 160-71.
16. Nepomnyashchikh G.I., Dyubanova G.A., Nepomnyashchikh D.L., Aydagulova S.V., Domnikova N.P., Migus'kina Ye.I. Universal structural markers of hepatotoxic effect of medicinal preparations. *Byulleten' SO RAMN*. 2008; 28(6): 86-92. (in Russian)
17. Fausto N., Campbell J.S., Riehle K.J. Liver regeneration. *Hepatology*. 2006; 43(1): 45-53.
18. Solov'yeva N.V., Davidovich N.V., Bazhukova T.A., Agafonov V.M. The role of gut microflora in the mechanisms of liver damage in chronic hepatitis B and C. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(1): 92-8. (in Russian)
19. Zhukova A.G., Mikhaylova N.N., Yadykina T.K., Alekhina D.A., Gorokhova L.G., Romanenko D.V., Bugayeva M.S. Experimental studies of intracellular liver defense mechanisms in the development of chronic fluoride intoxication. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2016; (5): 21-24. (in Russian)
20. Isobe K., Nakayama H., Uetsuka K. Relation between lipogranuloma formation and fibrosis, and the origin of brown pigments in lipogranuloma of the canine liver. *Comp Hepatol*. 2008; 7: 5.
21. Lapis K., Zalatnai A., Timár F., Thorgerisson U.P. Quantitative evaluation of lysozyme- and CD68-positive Kupffer cells in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinomas in monkeys. *Carcinogenesis*. 1995; 16(12): 3083-5.
22. Chedid A., Arain S., Snyder A., Mathurin P., Capron F., Naveau S. The immunology of fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2004; 128(11): 1230-8.

Сведения об авторах:

Казицкая Анастасия Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ;

Ядыкина Татьяна Константиновна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ;

Бугаева Мария Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ; ст. науч. сотр. лаб. патанатомии НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России;

Жукова Анна Геннадьевна, доктор биол. наук, зав. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ; проф. каф. естеств.-научных дисциплин НФИ КемГУ;

Михайлова Надежда Николаевна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ; зав. каф. естеств.-научных дисциплин НФИ КемГУ;

Горохова Лариса Геннадьевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований НИИ КПППЗ, доцент каф. естеств.-научных дисциплин НФИ КемГУ.