

Статья поступила в редакцию 5.09.2017 г.

Жукова А.Г., Семенова Е.А., Ядыкина Т.К., Горохова Л.Г., Бугаева М.С.
 Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний,
 Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»,
 Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей –
 филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,
 г. Новокузнецк, Россия

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ФТОРИДА НАТРИЯ НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Цель исследования. Клинико-экспериментальное изучение влияния длительного действия фторида натрия на молекулярно-генетические механизмы ремоделирования костной ткани.

Материалы и методы. Выполнено исследование минеральной плотности костной ткани, определен полиморфизм генов IL1B (интерлейкин-1B) (rs1143634), IL6 (интерлейкин-6) (rs1800795) и CYP1A2 (rs762551) у работников Новокузнецкого алюминиевого завода. В эксперименте изучено изменение уровня маркеров ремоделирования костной ткани в динамике фтористого воздействия – остеокальцина, кальцитонина, паратиреоидного гормона (ПТГ), С-терминального телопептида (β -Cross Laps), щелочной и кислой фосфатазы.

Результаты. Исходя из значений χ^2 , а также значений OR и P, развитие остеосклероза у работников алюминиевого производства статистически достоверно связано с генотипами TT ($\chi^2 = 4,11$; OR = 2,60; $P \leq 0,05$) для гена IL1B и имеет положительную ассоциативную связь с генотипом GC ($\chi^2 = 4,31$; OR = 1,91; $P \leq 0,05$) для гена IL6. В группе больных остеопорозом статистически достоверная связь с болезнью выявлена для генотипа CC гена, отвечающего за синтез фермента первой фазы биотрансформации ксенобиотиков – CYP1A2. В эксперименте в динамике фтористого воздействия выявлена патологическая потеря костной ткани и увеличение уровня маркеров её резорбции: β -Cross-Laps – в 2,6 раза, на 22 % – ПТГ и активности кислой фосфатазы тартратстабильной (КФ_{тс}) в сыворотке крови.

Заключение. Показано, что длительное действие фторидов вызывает изменение уровня маркеров ремоделирования костной ткани. В динамике действия фторида натрия происходит патологическая потеря костной ткани за счёт чрезмерной активации остеокластов.

Ключевые слова: фторид натрия; маркеры ремоделирования костной ткани; полиморфизм генов.

Zhukova A.G., Semenova E.A., Yadykina T.K., Gorokhova L.G., Bugaeva M.S.

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases,
 Novokuznetsk Institute (Branch) of the Kemerovo State University,
 Novokuznetsk State Institute of Advanced Doctor Training –
 a branch of the «Russian Medical Academy of Continuing Vocational Education», Novokuznetsk, Russia

CLINICAL AND EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECTS OF THE LONG-TERM ACTION OF SODIUM FLUORIDE ON THE MOLECULAR-GENETIC MECHANISMS OF BONE TISSUE REMODELING

Objective. Clinical and experimental study of the effects of the long-term action of sodium fluoride on the molecular-genetic mechanisms of bone tissue remodeling.

Materials and methods. The mineral density of bone tissue has been studied, polymorphism of IL1B (rs1143634), IL6 (rs1800795) and CYP1A2 (rs762551) genes was determined in the workers of Novokuznetsk aluminum smelter. In the experiment, the change in the level of markers of bone tissue remodeling in the dynamics of fluoride exposure (osteocalcin, calcitonin, parathyroid hormone (PTH), C-terminal telopeptide (β -Cross Laps), alkaline and acid phosphatases) was studied.

Results. Based on χ^2 values, as well as the values of OR and P, the development of osteosclerosis in aluminum workers is statistically-valid associated with TT genotypes ($\chi^2 = 4.11$; OR = 2.60; $P \leq 0.05$) for IL1B gene and has a positive associative relation with the genotype of GC ($\chi^2 = 4.31$; OR = 1.91; $P \leq 0.05$) for IL6 gene. In the group of the patients with osteoporosis, statistically-valid association with the disease was detected for the genotype of CC gene responsible for the synthesis of the enzyme of the first phase of biotransformation of xenobiotics – CYP1A2. In an experiment, in the dynamics of fluoride exposure pathological bone tissue loss and the increase in the level of markers of its resorption were revealed: β -Cross-Laps – in 2.6 times, by 22 % – PTH and acid tartrate-stable acid phosphatase (APh_{тс}) activity in blood serum.

Conclusions. It is shown that prolonged action of fluorides causes a change in the marker level of bone tissue remodeling. In the dynamics of sodium fluoride action, a pathological loss of bone tissue occurs due to excessive activation of osteoclasts.

Key words: sodium fluoride; markers of bone tissue remodeling; gene polymorphism.

Изучение молекулярных механизмов влияния вредных производственных факторов на организм является одной из важных медико-биологических проблем. Одним из таких факторов являются соединения фтора, при длительном действии которых у работников алюминиевого производства развивается профессиональная патология – флю-

ороз [1, 2]. Кроме того, актуальность данного исследования также связана с необходимостью обоснованного прогноза рисков для здоровья людей, проживающих в регионах с высоким содержанием фторидов в питьевой воде.

Многочисленными исследованиями показано, что фтор в физиологических концентрациях необходим

для нормального роста и развития организма, где он выполняет свою специфическую метаболическую функцию в различных тканях, в том числе костной [3, 4]. В костной ткани постоянно происходят два сбалансированных процесса, объединённых в цикл ремоделирования — активация остеокластов, участвующих в резорбции этой ткани, и остеобластов, формирующих новую минерализованную кость [5]. Показано, что в микромолярных концентрациях фтор модулирует дифференцировку остеобластов, индуцирует остеогенез, синтез костного матрикса и минерализацию кости [6]. Высокие концентрации фторидов обладают токсическим действием на костную ткань [2], молекулярно-генетические механизмы которого мало изучены.

Регуляция ремоделирования костной ткани — это сложный процесс, в котором принимают участие как системные (ПТГ, кальцитонин и др.), так и местные факторы (цитокины, остеокальцин, ионы Ca^{2+} , фосфора и Mg^{2+}). Кроме того, выявлены транскрипционные факторы, вовлечённые в метаболизм костной ткани, в частности NF- κ B (ядерный фактор каппа-B), RANKL (рецептор-активатор NF- κ B) и HIF (Hypoxia Inducible Factor) [5, 7, 8]. Важно, что эти факторы транскрипции регулируют ещё и провоспалительный ответ. Данных об изменении уровня факторов, участвующих в ремоделировании костной ткани в динамике фтористого воздействия, мало или получены только на стадии уже развёрнутого профессионального заболевания — флюороза.

Поэтому, целью исследования явилось клинико-экспериментальное изучение влияния длительного действия фторида натрия на молекулярно-генетические механизмы ремоделирования костной ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 130 работников разных специальностей (электрослесари, анодники) Новокузнецкого алюминиевого завода, в возрасте 40-59 лет и средним стажем работы 21,6 года. У всех работников Новокузнецкого алюминиевого завода, работающих в условиях воздействия повышенных доз фторидов, изучили минеральную плотность костной ткани (МПКТ) методом фотонной денситометрии.

Для оценки влияния различных молекулярно-генетических полиморфизмов на механизмы ремоделирования костной ткани при длительном фтористом воздействии были исследованы полиморфные варианты генов IL1B (rs1143634), IL6 (rs1800795) и CYP1A2 (rs762551). Тест-системы для молекулярно-генетического анализа полиморфизма этих генов были разработаны в Институте химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской

академии наук и синтезированы ООО «СибДНК». Материалом для исследования служили образцы венозной крови работающих на Новокузнецком алюминиевом заводе. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью метода фенол-хлороформной экстракции [9], образцы ДНК растворяли в 100 мкл дистиллированной H_2O и хранили до исследования при температуре -20°C . Генотипирование для генов IL1B, IL6 и CYP1A2 осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции (Real Time) на приборе ДТпрайм 4 ООО «НПО ДНК-Технология». Достоверность различий в распределении полиморфных вариантов между больными лицами и контролем оценивали по критерию χ^2 [10]. Об ассоциации разных генотипов с заболеванием судили по величине OR [11] при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Всеми участниками было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

Эксперименты проведены на 69 белых крысах-самцах линии Вистар массой 200-250 г, выращенных в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде, а также естественном чередовании суточной освещённости. Рандомизацию животных осуществляли методом случайных чисел. Крысы были разделены на 2 группы: контрольную и группу животных с длительным действием фторида натрия (NaF) (до 12 недель). Ежедневно крысы получали в свободном доступе раствор NaF в концентрации 10 мг/л, что соответствует суточной дозе 1,2 мг/кг массы тела. Выбранная экспериментальная модель адекватна некоторым звеньям патогенеза производственного флюороза, ключевым критерием которого являлось клиническое состояние экспериментальных животных — утрата блеска шерсти, отставание в весе и «тигроидность» окраски зубной эмали.

Для определения влияния длительного действия NaF на механизмы ремоделирования костной ткани забирали кровь после декапитации под эфирным наркозом через 1, 3, 6, 9 и 12 недель эксперимента. В эти же сроки забирали образцы костной ткани для гистологического исследования.

Иммуноферментным методом определяли уровень маркеров ремоделирования костной ткани в плазме крови — паратиреоидного гормона (ПТГ), кальцитонина, остеокальцина и C-терминального телопептида (β -Cross Laps) с помощью диагностических наборов Diagnostic System Laboratories и Nordicbioscience на мультискане EX Labsystems (Финляндия). Активность ферментов щелочной фосфатазы (ЩФ) и кислотной фосфатазы тартратстабильной ($\text{KФ}_{\text{тс}}$) определяли унифицированными методами с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на фотометре PM-750 (Robert Riele, Германия).

Костную ткань фиксировали 12-процентным нейтральным формалином и подвергали парафиновой проводке через спирты возрастающей концентрации — 70° , 80° , 96° , абсолютный. Перед проводкой костную ткань подвергали декальцинации. Далее материал пропитывали в смеси спирта и ксилола в равных соотношениях, ксилоле, смеси ксилола и парафина при температуре 77°C и 58°C . Готовили срезы толщиной

Корреспонденцию адресовать:

ЖУКОВА Анна Геннадьевна,
654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, д. 23,
ФГБНУ «НИИ КПППЗ».
Тел.: +7-983-212-81-81.
E-mail: nyura_g@mail.ru

5-7 микрометров. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином по методу Ван-Гизона. Микроскопирование гистологических препаратов проводилось на «Nicon Eclipse E 200» с передачей цифрового изображения на монитор и обработкой в программе «Bio Vision 4.0».

Содержание животных и проведение экспериментов проводилось в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Страсбург, 1986), «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ № 755 от 12.08.1977; приказ № 1179 от 10.10.83). На проведение исследования было получено разрешение биоэтического комитета ФГБНУ «НИИ КППЗ» (протокол № 3 от 26 ноября 2015 г.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA 13.2. Количественные показатели описывались с помощью выборочного среднего значения (M) и выборочного стандартного отклонения (STD). Для сравнения независимых выборок использовали непараметрический Mann-Whitney U Test.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным минеральной плотности костной ткани (МПКТ), среди работников алюминиевого производства можно выделить 3 группы: 1) группа здоровых лиц с нормальной плотностью костной ткани (58 человек); 2) больные остеосклерозом — выявлялся в 50 (69,4 %) случаях и 3) больные остеопорозом — выявлялся в 22 (30,6 %) случаях. При этом у больных остеопорозом в 22 % случаев выявлены динамически нарастающая убыль костной ткани (на 27 % от возрастной нормы) и присоединение функциональных изменений в тазобедренных, коленных и локтевых суставах. Выявленные изменения обусловлены дегенеративными поражениями суставов и околоуставных тканей. Уменьшение костной плотности можно связать с фактором работы в условиях повышенного воздействия фторидов, что является проявлением хронической фтористой интоксикации — костного профессионального флюороза [2]. Остеосклероз сочетался с увеличением МПКТ в среднем на 23 % от возрастной нормы.

Таким образом, у работников алюминиевого производства длительное воздействие фторидов вызывает ремоделирование костной ткани, которое проявля-

ется как уменьшением её плотности, так и гиперпластическими изменениями.

Поиск и изучение ассоциаций различных генетических маркеров с заболеваниями является перспективным, поскольку позволяет судить об участии наследственных факторов в развитии того или иного заболевания [12]. Поэтому в работе оценили роль молекулярно-генетических полиморфизмов генов IL1B, IL6 и CYP1A2 в ремоделировании костной ткани у работников алюминиевого производства с остеопорозом и остеосклерозом (табл. 1). Выбор этих генов обусловлен данными об участии провоспалительных цитокинов IL1b и IL6 в регуляции метаболизма, образования и резорбции костной ткани. Из таблицы 1 видно, что в группе больных остеосклерозом преобладают генотип TT для гена IL1B и генотип GC для гена IL6. Исходя из значений χ^2 , а также значений OR и P, возможно, что развитие остеосклероза у работников алюминиевого производства статистически достоверно связано с генотипами TT ($\chi^2 = 4,11$; OR = 2,60; P ≤ 0,05) для гена IL1B и имеет положительную ассоциативную связь с генотипом GC ($\chi^2 = 4,31$; OR = 1,91; P ≤ 0,05) для гена IL6. Преобладание генотипов TT и GC связано с высокими концентрациями цитокинов IL1b и IL6 в крови соответственно. Показано, что IL1b и IL6 участвуют в регуляции резорбции костной ткани через стимуляцию чрезмерной активности остеокластов и являются одним из факторов патогенеза остеосклероза и остеопороза [13].

В группе больных остеопорозом статистически достоверная связь с болезнью выявлена для генотипа CC гена, отвечающего за синтез фермента первой фазы биотрансформации ксенобиотиков — CYP1A2 (табл. 1). Преобладание генотипа CC гена CYP1A2 приводит к снижению ферментативной активности цитохрома P-450, в результате чего может происходить неполное окисление ксенобиотиков и накопление токсичных промежуточных метаболитов, активирующих свободнорадикальные процессы.

Экспериментальные модели необходимы для изучения изменений в организме в динамике действия повреждающих факторов и, в частности, фторида натрия (NaF). При этом экстраполяция возраста крыс на возраст человека позволила приблизительно соотнести длительность экспериментальной интоксикации фтором со стажем работы во вредных условиях [14]. Так, действие фторида натрия в течение 1-3 недель соответствует примерно 1-5-летнему стажу работы, 4-6 недель — 6-10-летнему, 7-12 недель и более —

Сведения об авторах:

ЖУКОВА Анна Геннадьевна, доктор биол. наук, зав. лабораторией популяционной генетики, ФГБНУ «НИИ КППЗ»; профессор кафедры естественных дисциплин и методики преподавания, Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО «КГУ», г. Новокузнецк, Россия. E-mail: nyura_g@mail.ru

СЕМЕНОВА Елена Александровна, зав. профпатологическим отделением № 1 клиники, ФГБНУ «НИИ КППЗ», г. Новокузнецк, Россия. ЯДЫКИНА Татьяна Константиновна, канд. биол. наук, ведущий науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, ФГБНУ «НИИ КППЗ», г. Новокузнецк, Россия.

ГОРОХОВА Лариса Геннадьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальных гигиенических исследований, ФГБНУ «НИИ КППЗ», г. Новокузнецк, Россия. E-mail: ponomarikova@mail.ru

БУГАЕВА Мария Сергеевна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория патологической анатомии, НГИУВ — филиал ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия.

Таблица 1
Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов генов IL1B (rs1143634), IL6 (rs1800795) и CYP1A2 у больных остеопорозом, остеосклерозом и в контроле
Table 1

The frequencies of genotypes and alleles of polymorphisms of IL1B (rs1143634), IL6 (rs1800795) and CYP1A2 genes in the patients with osteoporosis, osteosclerosis and in the control

Группа	IL1B (rs1143634)		
	Генотип		
	CC	CT	TT
Остеопороз	12 (0,57)	9 (0,43)	0
Остеосклероз	26 (0,53)	17 (0,35)	6 (0,12)
			$\chi^2 = 4,11$; OR = 2,60; P ≤ 0,05
Контроль	250 (0,58)	160 (0,37)	22 (0,05)
Группа	IL6 (rs1800795)		
	Генотип		
	CC	GG	GC
Остеопороз	8 (0,38)	6 (0,29)	7 (0,33)
Остеосклероз	8 (0,16)	9 (0,18)	32 (0,65)
			$\chi^2 = 4,31$; OR = 1,91; P ≤ 0,05
Контроль	105 (0,24)	111 (0,26)	213 (0,5)
Группа	CYP1A2 (rs762551)		
	Генотип		
	CC	AA	CA
Остеопороз	5 (0,28)	7 (0,39)	6 (0,33)
Остеосклероз	$\chi^2 = 4,41$; OR = 4,08; P ≤ 0,05	18 (0,47)	17 (0,45)
	3 (0,08)		
Контроль	5 (0,09)	29 (0,47)	24 (0,45)

Примечания: в скобках указана доля генотипов от общего числа обследованных в данной группе; χ^2 - оценка достоверности различий распределений генотипов между больными лицами и контролем; P - уровень значимости этих различий; OR - отношение шансов.

Notes: the proportion of genotypes from the total number of the subjects surveyed in this group is in parentheses; χ^2 - assessment of the reliability of differences in the distributions of genotypes between the patients and the control; P - level of significance of these differences; OR - odds ratio.

свыше 10 лет. Поэтому на следующем этапе работы в эксперименте оценили изменение уровня маркеров ремоделирования костной ткани в динамике длительного действия фторида натрия (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что до 12-й недели фтористого воздействия уровень маркеров костеобразования в сыворотке крови (остеокальцина и кальцитонина) сохраняется на контрольном уровне. Остеокальцин является неколлагеновым белком, экспрессируется в зрелых остеобластах, регулирует формирование кости за счёт увеличения появления активных остеобластов в костной ткани [6], в то время как пептидный гормон кальцитонин участвует в торможении резорбции костной ткани за счёт первичного угнетения остеокластов и уменьшения их количества. О торможении костной резорбции свидетельствует низкий уровень гормона ПТГ на ранних сроках фтористого воздействия (1-3 недели).

К 12-й неделе действия NaF повышается активность костного изофермента ЩФ на 27 % по сравнению с контрольным значением. Вероятно, это связано с усилением синтетической функции остеобластов в ответ на резорбцию. Действительно, из таблицы 2 видно, что в динамике фтористого воздействия увеличивается уровень маркеров резорбции костной ткани: 1) на 1-й неделе – в 2,6 раза β -Cross-Laps; 2) на 6-й неделе – на 22 % ПТГ; 3) на 3-й и 6-й неделях повышена активность КФ_{тс} на 25 % и 79 % соответственно.

Результаты гистологических исследований костной ткани, подтверждают данные, полученные на молекулярном уровне. Так, на **3-й неделе** действия NaF обнаружено пери- и эндостальное разрастание кости, сужение костномозговой полости, утолщение кортикального слоя кости; границы между ним и губчатой вещью стерты. В компактной костной ткани отмечается неравномерное расположение остеонов, которые плохо дифференцируются, Гаверсовы каналы либо сужены, либо расширены. В губчатой костной ткани костные балки несколько утолщены, содержат большое количество остеоцитов, в краевых зонах встречаются единичные остеобласты. Появляется большое количество остеоцитов в состоянии повышенной функциональной активности, а также немногочисленные остеокласты, наблюдается лакунарная резорбция костной ткани. К **9-й неделе** в компактной костной ткани наблюдаются расширенные Гаверсовы

Information about authors:

ZHUKOVA Anna Gennadyevna, doctor of biology, head of the laboratory of population genetics, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases; professor of the chair for natural science disciplines and teaching methods, Novokuznetsk Institute (Branch) of the Kemerovo State University, Novokuznetsk, Russia. E-mail: nyura_g@mail.ru

SEMENOVA Elena Aleksandrovna, head of occupational pathology department N 1 of clinics, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia.

YADYKINA Tatyana Konstantinovna, candidate of medical sciences, leading research associate, the laboratory of population genetics, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: yadykina.tanya@yandex.ru

GOROKHOVA Larisa Gennadyevna, candidate of biological sciences, senior research associate, the laboratory for experimental hygienic researches, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: ponomarikova@mail.ru

BUGAEVA Mariya Sergeevna, candidate of biological sciences, research associate, the research laboratory for pathological anatomy, Novokuznetsk State Institute of Advanced Doctor Training – a branch of the Russian Medical Academy of Continuing Vocational Education, Novokuznetsk, Russia. E-mail: bugms14@mail.ru

Таблица 2
Влияние фторида натрия на уровень маркеров ремоделирования костной ткани в эксперименте
Table 2
Influence of sodium fluoride on the level of markers of bone tissue remodeling in the experiment

Серия	Маркер костеобразования			Маркер резорбции костной ткани		
	Остеокальцин, нг/мл	Кальцитонин, пг/мл	ЩФ, Е/л	ПТГ, пг/мл	β-Cross-Laps, нг/мл	КФ _{ТС} , Е/л
Контроль (n = 15)	4,3 ± 2,2	5,2 ± 2,2	460,3 ± 67,6	5,3 ± 1,5	74,7 ± 24,8	32,1 ± 11,8
1 неделя (n = 7)	5,3 ± 2,5	4,9 ± 1,0	461,5 ± 29,6	4,2 ± 0,4* P = 0,035	195,4 ± 103,7*** P = 0,0007	29,3 ± 9,1
3 недели (n = 10)	4,6 ± 2,3	4,4 ± 0,7	532,9 ± 101,8	4,7 ± 0,5	126,6 ± 91,2	40,0 ± 7,3* P = 0,033
6 недель (n = 10)	4,4 ± 2,3	4,7 ± 1,3	503,2 ± 158,9	6,5 ± 1,4** P = 0,006	68,2 ± 47,3	57,6 ± 5,7*** P = 0,0001
Контроль (n = 10)	4,5 ± 2,1	5,1 ± 2,7	459,8 ± 56,7	4,4 ± 0,6	71,1 ± 15,5	44,2 ± 9,4
9 недель (n = 10)	3,4 ± 1,7	4,3 ± 0,6	499,2 ± 16,8	4,4 ± 0,5	108,0 ± 78,4	33,7 ± 4,8 *P = 0,027
12 недель (n = 7)	2,7 ± 0,7	4,7 ± 0,9	585,9 ± 58,4* P = 0,038	5,2 ± 0,9	33,3 ± 19,3** P = 0,015	44,3 ± 6,5

Примечание: *, **, *** - достоверность отличий по сравнению с контролем (Mann-Whitney U test);

n - число крыс в каждой экспериментальной группе.

Note: *, **, *** - the reliability of differences compared to the control (Mann-Whitney U test); n - the number of rats in each experimental group.

каналы. Костные балки резко истончены, мелкие, между ними располагаются участки миелоидной ткани с резко выраженным полнокровием последней. Отмечается увеличение количества остеоцитов с признаками повышенной функциональной активности, увеличением ядерно-цитоплазматического индекса и просветлением цитоплазмы. Сохраняются признаки резорбции костной ткани. На **12-й неделе** выявлено значительное истончение костных балок и усиление выраженности сформировавшихся ранее морфологических изменений.

Таким образом, длительное действие NaF чрезмерно активирует ремоделирование костной ткани за счёт остеокластной резорбции.

В настоящее время показано, что важную роль в чрезмерной активации остеокластов играют транскрипционные факторы, регулирующие провоспалительный ответ – NF-κB, HIF-α (Hypoxia Inducible Factor) и другие [5, 7, 8]. Ранее нашими исследованиями было показано увеличение уровня фактора транскрипции HIF-α в динамике фтористого воздей-

ствия в сердце, печени и лёгких [4, 14]. Увеличение уровня этого фактора транскрипции было связано с гипоксическим действием NaF на организм. Можно предположить, что HIF-α при гипоксии индуцировал резорбцию костной ткани через активацию остеокластов [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном клинико-экспериментальном исследовании показано, что длительное действие NaF оказывает токсическое действие на костную ткань. Основными маркерами ремоделирования костной ткани при фтористом воздействии могут быть: 1) молекулярно-генетические полиморфизмы генов IL1B (преобладание генотипа TT), IL6 (преобладание генотипа GC) и CYP1A2 (преобладание генотипа CC); 2) увеличение в сыворотке крови уровня показателей резорбции костной ткани – β-Cross-Laps, ПТГ и КФ_{ТС}; 3) патологическая потеря костной ткани за счёт чрезмерной активации остеокластов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Izmerov NF, Bukhtiyarov IV, Prokopenko LV, Kuzmina LP, Sorkina NS, Burmistrova TB et al. Contemporary aspects of maintenance and promotion of health of the workers employed at the aluminum production enterprises. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2012; (11): 1-7. Russian (Измеров Н.Ф., Бухтияров И.В., Прокопенко Л.В., Кузьмина Л.П., Соркина Н.С., Бурмистрова Т.Б. и др. Современные аспекты сохранения и укрепления здоровья работников, занятых на предприятиях по производству алюминия // Медицина труда и промышленная экология. 2012. № 11. С. 1-7.)
- Maklakova TP, Razumov VV, Tolgayeva ZhA, Akhmetzianov RG, Kotchkina VL. Osteoporosis and osteosclerosis as parity components of occupational fluorosis. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2011; (12): 39-43. Russian (Маклакова Т.П., Разумов В.В., Толкаева Ж.А., Ахметзянов Р.А., Кочкина В.Л. Остеопороз и остеосклероз как паритетные составляющие профессионального флюороза // Медицина труда и промышленная экология. 2011. № 12. С. 39-43.)
- Agalakova NI, Gusev GP. Effect of inorganic fluorine on living organisms of different phylogenetic level. *Journal of evolutionary biochemistry and physiology*. 2011; 47(5): 337-347. Russian (Агалакова Н.И., Гусев Г.П. Влияние неорганических соединений фтора на живые организмы различного филогенетического уровня // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2011. Т. 47, № 5. С. 337-347.)

4. Alekhina DA, Zhukova AG, Sazontova TG. Low dose of fluorine influences to free radical oxidation and intracellular protective systems in heart, lung and liver. *Technologies of living systems*. 2016; 13(6): 49-56. Russian (Алехина Д.А., Жукова А.Г., Сазонтова Т.Г. Влияние малых доз неорганических соединений фтора на уровень свободнорадикального окисления и внутриклеточных защитных систем в сердце, лёгких и печени //Технологии живых систем. 2016. Т. 13, № 6. С. 49-56.)
5. Hulley PA, Bishop T, Vernet A, Schneider JE, Edwards JR, Athanasouet NA et al. Hypoxia-inducible factor 1-alpha does not regulate osteoclastogenesis but enhances bone resorption activity via prolyl-4-hydroxylase 2. *J Pathol*. 2017; (242): 322-333.
6. Lee M, Arikawa K, Nagahama F. Micromolar levels of sodium fluoride promote osteoblast differentiation through Runx2 signaling. *Biol Trace Elem Res*. DOI 10.1007/s12011-017-0930-5
7. Knowles HJ. Hypoxia-induced fibroblast growth factor 11 stimulates osteoclast-mediated resorption of bone. *Calcif Tissue Int*. 2017; (100): 382-391.
8. Wysokinski D., Pawlowska E., Blasiak J. RUNX2: A master bone growth regulator that may be involved in the DNA damage response. *DNA Cell Biol*. 2015; 34 (5): 305-315.
9. Molecular clinical diagnostics. Methods: translation from the English. Herrington S, Makgi J, editors. М.: Mir, 1999. 558 p. Russian (Молекулярная клиническая диагностика. Методы: пер. с англ. /под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. М.: Мир, 1999. 558 с.)
10. Veyr B. Analysis of genetic data. М.: Mir, 1995. 400 p. Russian (Вейр Б. Анализ генетических данных. М.: Мир, 1995. 400 с.)
11. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? *J Epidemiol*. 1993; 26 (6): 1189-1192.
12. Gafarov NI. Distribution of genetic markers at workers of aluminum industry with professional fluorosis: serum proteins and erythrocyte isoenzymes. *ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA*. 2013; (3-2): 48-52. Russian (Гафаров Н.И. Распределение генетических маркёров у работников цветной металлургии, больных профессиональным флюорозом: сывороточные белки и эритроцитарные изоферменты //АКТА BIOMEDICA SCIENTIFICA. 2013. № 3-2. С. 48-52.)
13. Khosla S, Westendorf JJ, Modder UI. Concise Review: insights from normal bone remodeling and stem cell based therapies for bone repair. *Stem Cells*. 2010; (28): 2124-2128.
14. Mikhailova NN, Kazitskaya AS, Gorokhova LG, Zhukova AG. The experimental search of immunological criteria for identifying stages of development of chronic fluoride intoxication. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2012; (11): 32-7. Russian (Михайлова Н.Н., Казичкая 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. С. 32-37.)

