

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»

В.С. Гордова
В.Е. Сергеева
С.П. Сапожников

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ
К ПОСТУПЛЕНИЮ В ОРГАНИЗМ
ВОДОРАСТВОРИМОГО СОЕДИНЕНИЯ КРЕМНИЯ

Чебоксары
2021

УДК 612.014.464:[611.4+611.06]:[628.1.033:546.284]:616 092.4
ББК Е60*743.11*725.29

Г 67

Рецензенты:

Г.Ф. Шаймарданова – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории молекулярных основ патогенеза
Казанского института биохимии и биофизики
(КИББ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН);
Л.М. Карзакова – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой
внутренних болезней с курсом клинической иммунологии
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»

Научный редактор:

В.Н. Диомидова – д-р мед. наук, профессор

Печатается по решению Ученого совета

Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова

Гордова В.С.

Г67 Морфологическая адаптация внутренних органов к
поступлению в организм водорастворимого соединения
кремния / В.С. Гордова, В.Е. Сергеева, С.П. Сапожников. –
Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2021. – 208 с.

ISBN 978-5-7677-3306-4

Приведены результаты исследования и сравнения морфологических характеристик лабораторных животных при поступлении в организм водорастворимого соединения кремния на разных сроках, а также в зависимости от жёсткости воды. Изучены морфологические адаптационные реакции лимфоидных органов (тимус, селезёнка, подслизистые агрегированные узелки тонкой кишки) и органов эндокринной системы (щитовидная железа, надпочечники, поджелудочная железа).

Для морфологов, иммунологов, специалистов в области гигиены, санитарии и тех, кто интересуется вопросами влияния кремния на организм.

*В монографии представлены микрофотографии
гистологических препаратов из научных архивов В.С. Гордовой, В.Е. Сергеевой*

ISBN 978-5-7677-3306-4

УДК 612.014.464:[611.4+611.06]:
[628.1.033:546.284]:616 092.4
ББК Е60*743.11*725.29

© Издательство Чувашского
университета, 2021

© Гордова В.С., Сергеева В.Е.,
Сапожников С.П., 2021

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БПВ – бутилированная питьевая вода

ВВ – водопроводная вода

ВСК – водорастворимое соединение кремния

ДВ – дистиллированная вода

КХ – кальция хлорид

ЛГК – люминесцирующие гранулосодержащие клетки

МКО – микроокружение

СЗР – статистическая значимость различий

М-П – связь между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и площадью клетки

Ц-М – связь между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и интенсивностью светопропускания цитоплазмы

Ц-П – связь между интенсивностью светопропускания цитоплазмы и площадью клетки

Г-Мр – связь между площадью герминативного центра и площадью маргинальной зоны в лимфоидном узелке селезёнки

Г-Мт – связь между площадью герминативного центра и площадью мантийной зоны в лимфоидном узелке селезёнки

Г-У – связь между площадью герминативного центра и площадью лимфоидного узелка селезёнки

Жизнь на Земле подчиняется Всеобщим Вселенским Законам, направляющим всю жизнь во всей Вселенной, в том числе и в земной биосфере, по пути эволюции к Красоте и Совершенству, а энергия этих законов проводится в физическую биосферу Земли посредством пьезоэлемента кремния.

В.И. Вернадский

ПРЕДИСЛОВИЕ

В восьмом классе все школьники нашей страны узнают о том, что земная кора более чем наполовину образована соединениями кремния, которые в свою очередь придают прочность стеблям растений, содержатся в наружных покровах животных, образуют раковины и скелеты некоторых обитателей водной среды, а у человека кремний присутствует в волосах и ногтях. Студент нехимических специальностей высших учебных заведений узнает, что в природе кремний встречается только в соединениях в виде диоксида кремния (кремнезём) и солей кремниевых кислот (силикатов), среди которых наиболее распространенными являются алюмосиликаты. Кремний – главный элемент в царстве минералов и горных пород. В большинстве организмов содержание кремния очень невелико¹. Эти знания формируют абсолютно инертное отношение к элементу, который не только окружает нас с наивысшей плотностью, уступая только кислороду, но и выполняет очень важные функции в живых системах.

Роль кремния и его соединений в организме человека и животных в последнее время вызывает неподдельный интерес учёных, врачей, производителей кремнийсодержащих соединений, а также потребителей соответствующей продукции (лекарственные препараты, биологически активные добавки, косметические средства, продукты питания, силиконовые имплантаты и про-

¹ Глинка Н. Л. Общая химия: учебное пособие для вузов / под ред. А. И. Ермакова. Изд. 28-е, перераб. и доп. М.: Интеграл-Пресс, 2000. 728 с.

чее). Количество научных статей, расширяющих представление в данной области знаний, с трудом поддаётся даже простому подсчёту, не говоря уже о возможности непосредственного знакомства с оригинальными полнотекстовыми источниками.

Базовым материалом данной работы явилась защищённая в 2014 г. диссертационная работа Гордовой Валентины Сергеевны «Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой», наметившая ряд вопросов, которые можно было решить только после проведения повторных экспериментов на крысах и других лабораторных животных. Что и было сделано.

Представленные в данной работе результаты исследований и их интерпретация не претендуют на статус единственно верных и непоколебимых, но мы подчеркиваем, что обнаруженные нами макро- и микроморфологические изменения являются следствием поступления в организм лабораторных животных именно соединения кремния с питьевой водой. Объективность выводов обосновывается незыблемым правилом экспериментатора, а именно повторяемостью результатов в одинаково моделируемых условиях эксперимента, что свидетельствует о том, что обнаруженные нами морфологические реакции со стороны лимфоидных органов на поступление в организм с питьевой водой кремния являются специфичными.

В нашей работе мы попытались продолжить исследования, поднимающие вопросы о видовой специфичности реакции со стороны органов и систем на поступление кремния, поскольку необходимо понимать, насколько те или иные данные, полученные в экспериментах на лабораторных животных, могут быть экстраполированы на человека.

Надеемся, что нам удалось создать печатный труд, который будет преумножать научные знания и позволит читателю переосмыслить уже имеющиеся у него представления о действии на организм химических соединений. Мы хотим дать возможность погрузиться в тему морфологической адаптации внутренних органов тем читателям, у которых появится в этом потребность.

Данная монография будет интересна тому небольшому числу российских исследователей, изучающих роль различных со-

единений кремния и нанокремния, и исследователям разных направлений, которые выберут темой своего научного интереса биологическую роль кремния в иммунологических, морфологических и патофизиологических реакциях. Работа в определённой степени может заинтересовать студентов, аспирантов, преподавателей, научных сотрудников и врачей, которым интересна гистология и смежные с ней дисциплины.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы считают своим долгом выразить благодарность:

- Дине Семёновне Гордон, доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту РАЕН, – за всестороннюю поддержку, неизменное участие во всех начинаниях, привитую любовь к гистологии и люминесцентной гистохимии биогенных аминов;

- Алине Тихоновне Смородченко, доктору медицинских наук, приват-доценту Шарите-клиники университета Гумбольдта в Берлине, – за консультации по иммуногистохимическим методам исследования и помощь при получении иллюстративного материала;

- Андрею Николаевичу Мардарьеву, доктору медицинских наук, сотруднику лаборатории Брэдфорда, – за консультации в области люминесцентной иммуногистохимии и помощь при получении иллюстративного материала;

- Павлу Борисовичу Карышеву, патоморфологу, лаборанту морфологической лаборатории кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии Чувашского государственного университета, – за помощь в приготовлении гистологических препаратов;

- Владимиру Александровичу Изранову, доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой фундаментальной медицины Балтийского федерального университета, – за идеологическую поддержку, внимание и понимание;

- Елене Павловне Кольцовой – за создание благоприятной атмосферы во время работы над монографией;

- ушедшим учителям, которые оказали влияние на мировоззрение и становление В.С. Гордовой: доктору медицинских наук, профессору Викентию Леонидовичу Сусликову; члену Союза журналистов Российской Федерации, заслуженному работнику культуры Чувашской Республики Павлу Владимировичу Галочкину; кандидату медицинских наук, доценту Анне Николаевне Бриллиантовой;

- кружковцам кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии Чувашского государственного университета: Дарье Андреевне Шумалкиной, Наталье Андреевне Андреевой, Андрею Сергеевичу Субботкину, Наталье Оле-

говне Субботкиной, АLINE Николаевне Семёновой, Елене Владимировне Гавриловой, Ирине Владимировне Андреевой, ЛАде Алексеевне Басовой, Валерии Андреевне Голенковой, Светлане Сергеевне Смирновой, Антону Николаевичу Тинюкову, Дмитрию Сергеевичу Тихонову, Алёне Эдуардовне Калановой, Александре Игоревне Коршуновой, Виктории Андреевне Ефимовой, Евгении Александровне Григорьевой;

- студентам-кружковцам кафедры фундаментальной медицины Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта: Анне Александровне Хлупиной, Марине Арменовне Марянян, ЭLINE Яновне Резник, без которых научная работа, которая легла в основу данной монографии, не была бы проведена в том объеме, в котором она существует на сегодняшний день.

Глава 1

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ КРЕМНИЯ

В силу объективных причин на страницах данной монографии мы позволим себе лишь наметить направления, в которых развивается научно-исследовательская деятельность, касающаяся биологической роли кремния в мире.

Кремний, выделенный в качестве отдельного элемента Берцелиусом в 1823 г., является вторым после кислорода по распространенности в земной коре, его соединения содержатся во всех тканях человека, животных и растений, а количество богатых им минералов превышает восемьсот [16].

По этой причине соединения кремния, которого не существует в природе в элементном состоянии, обнаруживаются во всех породах, почвах и водах, откуда они попадают в живые организмы [1; 2].

В свою очередь, из законов биологии следует, что все живые организмы по своему химическому составу в определённой степени являются отражением химического состава почвы региона их обитания (произрастания), и степень этого отражения прямо пропорциональна числу звеньев в цепи трофических связей. Обнаружение статистической взаимосвязи между повышенным содержанием кремния в водно-пищевых рационах постоянных жителей различных биогеохимических провинций и определёнными заболеваниями неинфекционной патологии вряд ли можно назвать случайным [44].

Интересно, что в отличие от множества неорганических кремнийсодержащих соединений, в живой природе не найдено кремнийсодержащих четко идентифицированных биоорганических веществ [92].

В 2013 г. нами был составлен литературный обзор, посвящённый биосилификации – процессу биологического формирования аморфного кремнезёма (гидрата двуокиси кремния ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), в котором кремний представлен в четырёхвалентном состоянии [36]. Биосилификация – это «движение ортокремниевой кислоты из окружающей среды, где ее концентрация меньше порога растворимости ($< 2 \text{ mM}$), во внутриклеточ-

ное или организменное пространство, где происходит её аккумуляция с последующим осаждением в виде кремнезёма» [36], именно такой «органический», или как его ещё называют, биофильный, кремний, связанный с компонентами ткани растений, и является в последующем одним из ресурсов поступления кремния в организм человека [24; 25; 86; 91; 95; 99]. Литература из этого обзора, дополненная новыми источниками, частично приведена в табл. 1.

Основным путем поступления кремния в организм человека и животных считается желудочно-кишечный тракт (не исключается воздушно-пылевой как конкурентный. – *Прим. авт.*), через который кремний поступает с растительной, животной пищей и водой [72; 74; 86; 131], а его всасывание и выделение зависят от концентрации в организме других микроэлементов [75; 104; 132; 133]. В организме взрослого человека содержится от 2 до 7 граммов кремния [18].

Растворимые соли кремниевых кислот являются источниками ортокремниевой кислоты (H_4SiO_4) – для животных и человека это основная форма биодоступного кремния. Силикаты природных вод, например метасиликат натрия, в кислой среде желудка трансформируются в биодоступную ортокремниевую кислоту [67]. Механизм всасывания кремния ещё недостаточно изучен, хотя его концентрация в плазме крови и моче прямо пропорциональна таковой в пище и питьевой воде, которая представляет собой самый доступный источник кремния, так как мономерные силикаты (соли ортокремниевой кислоты) способны к свободно-му проникновению через слизистую оболочку тонкой кишки, главным образом в тощей кишке [104; 86; 142].

В Российской Федерации содержание силикатов в питьевой воде регламентировано и составляет 10 мг/л в пересчете на кремний [7; 8; 12; 39]. Установлено, что из всех силикатов, поступающих в организм человека за день, на пищевые продукты приходится 14%, а на зубную пасту и лекарственные средства втрое больше – 42 и 44% соответственно [110].

Считалось, что кремний, входящий в состав лекарственных препаратов в качестве наполнителя, почти не всасывается в кишечнике, но взаимодействие диоксида кремния с водой приводит к образованию некоторого количества биодоступной орто-

кремниевой кислоты, то же касается и высокодисперсного аморфного кремнезёма [33; 67].

Поверхность кремнезёма гидратирована, то есть обладает способностью к специфическим электростатическим взаимодействиям, которые ориентированы в пространстве за счет образования водородных связей. Кварцевая пыль, адсорбируя молекулы воды, образует гидроксилированную поверхность, покрытую силанольными группами (Si–OH), благодаря которым возникают химическая инертность и устойчивость кремнезёма в обычных условиях земной атмосферы, при этом у кремнезёма появляется высокая фиброгенность и невысокая канцерогенность [16].

Аморфный диоксид кремния, разрыхлитель E551, считался пищевой добавкой, которая безвредна для человека, и потому применялся повсеместно, включая пищевую промышленность, но в настоящее время этот вопрос постепенно теряет статус спорного и переходит в раздел вопросов, имеющих однозначный ответ [14; 62; 138]. Так, считать наночастицы диоксида кремния безопасными могут только авторы обзоров, подготовка которых профинансирована Ассоциацией производителей аморфного кремнезёма [78].

Микро-, нано- и мезопористые частицы кремния рассматриваются как потенциальные системы доставки лекарственных препаратов внутрь клеток, при этом утверждать, что все они являются биосовместимыми, нельзя [16]. Данные, полученные за последующие 10 лет, полностью подтвердили это предположение. В табл. 1 представлен раздел, посвященный наночастицам кремния, их применению и безопасности.

Ещё один обзор литературы «Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов» был опубликован нами в 2013 г. в профильном издании, журнале «Микроэлементы в медицине» [45]. В табл. 1 приведена литература из этого обзора, дополненная новыми источниками.

Как бы то ни было, человек контактирует с соединениями кремния и их производными ежедневно, и поэтому они в той или иной степени воздействуют на организм в течение каждых суток. Заведомо избыточное поступление соединений кремния отражается на всех системах и органах, и это воздействие в итоге не является благоприятным. Биологическая активность крем-

нийсодержащих соединений приводит к тому, что рано или поздно вне зависимости от путей поступления, но в зависимости от биоусвояемости, воздействие проявится сначала на функциональном, а потом на морфологическом уровне. Принято считать, что имеется определённый ответ организма на соединения кремния, который включает в себя активацию макрофагального звена, при этом выделяемые макрофагами вследствие незавершённого фагоцитоза цитокины активируют неспецифический и специфический иммунный ответ с вовлечением фибробластов, которые, в свою очередь, синтезируя избыточное количество коллагена, создают предпосылки к образованию фиброза. Таким образом, кремний может быть рассмотрен в качестве модифицирующего причинного фактора хронического воспаления и старения. Рассматриваются варианты и возможного участия кремния в амилоидогенезе как процессе снижения функциональности органов и систем [51].

Мы оставляем заинтересованному читателю право самостоятельно расставить смысловые акценты после знакомства с приведенными нами в табл. 1 литературными источниками.

Таблица 1

Некоторые литературные источники
к вопросу о биологической роли кремния

Вопрос	Литературный источник
Кремний в биосфере	1; 2; 11; 21; 26; 17; 151; 92
Процессы биосилификации с участием губок, простейших, водорослей и микроорганизмов	1; 2; 3; 4; 15; 26; 35; 47; 49; 57; 58; 76; 91; 92; 97; 109; 120; 125; 129; 130; 140; 146; 155
Процессы биосилификации с участием растений	25; 29; 22; 38; 77; 72; 64; 80; 91; 95; 99; 100; 111
Синтез биологически активных соединений кремния и их применение в различных отраслях	10; 13; 19; 23; 27; 30; 34; 41; 46; 48; 50; 55; 56; 114
Кремний в питьевой воде	20; 28; 42; 43; 59; 67; 74; 86; 104; 131; 135
Кремний в организме человека и млекопитающих	18; 31; 37; 55; 61; 68; 72; 84; 86; 102; 103; 116; 117; 118; 132; 133; 134

Окончание табл. 1

Вопрос	Литературный источник
Кремний, макрофаги, фиброз и силикоз	31; 60; 69; 71; 81; 93; 94; 96; 98; 106; 108; 119; 131; 136; 144; 148; 154
Кремний и аутоиммунные заболевания	32; 64; 87; 88; 101; 107; 108; 121; 126; 139; 144
Кремний как причина заболеваний человека и животных	21; 52; 73; 75; 89; 90; 96; 115; 123; 124; 127; 128; 137; 147
Наночастицы кремния, их применение и безопасность	5; 6; 9; 14; 33; 40; 53; 54; 62; 63; 65; 66; 71; 79; 83; 85; 105; 82; 102; 112; 122; 133; 138; 141; 143; 145; 149; 150; 152; 153

Вопросы, связанные с биологической ролью кремния, не теряют своей актуальности на протяжении многих лет. Проблема влияния поступающих в организм соединений кремния усугубляется с каждым годом, потому что аморфный кремнезём применяется повсеместно.

В связи с этим на сегодняшний день является актуальным установление так называемого NOAEL (no-observed-adverse-effect level) для каждого из поступающих в организм водорастворимых и (или) биодоступных соединений кремния. В переводе это уровень не наблюдаемого неблагоприятного воздействия, то есть тот уровень, при котором не обнаруживаются клинических проявлений, но могут быть найдены статистически незначимые изменения на уровне физиологической адаптации.

Руководство FDA (Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, одно из агентств Министерства здравоохранения и социальных служб Соединенных Штатов Америки) считает, что NOAEL как показатель самой высокой дозы, которая не вызывает значительного увеличения токсичности для животных, наряду с «запасом безопасности» (показатель, который прогнозирует, может ли данная форма токсичности для животных представлять риск для соответствующего неблагоприятного уровня воздействия у пациентов) можно использовать для оценки токсичности тех или иных веществ для людей. Более того,

FDA выступает за то, что данные о токсичности для животных могут служить для предупреждений об уровне неблагоприятного воздействия на этикетках упаковок пищевых продуктов [61].

В этом аспекте Winkler H.C. и соавт. (2016), основываясь на весе тела и печени лабораторных крыс в исследовании кормления аморфным кремнезёмом (103 недели эксперимента), считают, что следует принимать пероральный NOAEL 500 мг/кг. Применяя коэффициент неопределённости по умолчанию равным 100 (для поправки на межвидовые и межиндивидуальные вариации чувствительности), авторы полагают, что этот NOAEL даст безопасный верхний уровень для пожизненного потребления частиц синтетического аморфного кремнезёма 5 мг/кг массы тела в день. Предполагаемое потребление европейской популяцией кремнезёма в количестве 9,4 мг/кг массы тела в день подразумевает, что содержание частиц в пище должно быть уменьшено, чтобы даже в худшем случае развитие сценария воздействия уровень оставался ниже этого нового предложенного порога безопасности в 5 мг/кг в день [152].

Необходимость проведения комплексных исследований для изучения воздействия на разных уровнях (клеточный, тканевой, органный) биологически активных соединений кремния для более глубокого понимания того, как поступающий с пищей и водой кремний может влиять на равновесие между нейроиммунной и эндокринной системами, – это та данность, к которой за десятилетия работы по решению вопросов о биологической роли кремния пришли отечественные и зарубежные исследователи.

Мы, в свою очередь, хотим поделиться полученными в результате собственной работы научными данными, которые могут внести свой вклад в объективное представление об экстраполяции системного действия кремния, поступающего в организм лабораторных животных с питьевой водой, на человека.

Литература к главе 1

1. Айлер Р. А. Химия кремнезема. Ч. 1. М. : Мир, 1982. 416 с.
2. Айлер Р. А. Химия кремнезема. Ч. 2. М. : Мир, 1982. 712 с.
3. Безруков Ю. Ф. Океанология. Ч. I. Физические явления и процессы в океане. Симферополь : Таврич. нац. ун-т им. В. И. Вернадского, 2006. 159 с.

4. Биоминерализация кремния цианобактериями из термальных источников / Е. Г. Сороковикова [и др.] // Происхождение и эволюция биосферы : тез. докл. Междунар. рабочего совещ. Новосибирск, 2005. С. 175–176.

5. Величковский Б. Т. Об экспресс-методе прогнозирования возможного патологического влияния наночастиц на организм // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2009. № 4 (68). С. 72–76.

6. Влияние наночастиц диоксида кремния на морфологию внутренних органов у крыс при пероральном введении / Н. В. Зайцева [и др.] // Анализ риска здоровью. 2016. № 4. С. 80–93.

7. Вода питьевая, расфасованная в емкости. Общие технические условия : ГОСТ Р 52109-2003. Введ. 2003-07-03. М. : Госстандарт России : Изд-во стандартов, 2003. 16 с.

8. Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества : ГОСТ Р 51232-98. Введ. 1999-07-01. М. : Госстандарт России : Изд-во стандартов, 1999. 18 с.

9. Воздействие наноразмерного диоксида кремния аморфного на усвояемость витаминов В₁, В₂ и В₆ у крыс / И. В. Гмошинский [и др.] // Вопросы питания. 2016. Т. 85, № 6. С. 72–79.

10. Воронков М. Г., Барышок В. П. Силатраны в медицине и сельском хозяйстве. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2005. 258 с.

11. Воронков М. Г., Кузнецов И. Г. Кремний в живой природе. Новосибирск : Наука, 1984. 157 с.

12. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов : СанПиН 2.3.2.1078-01 : утв. Гл. гос. санит. врачом Рос. Федерации 06.11.2001. Введ. в действие с 01.09.2002 // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти. 2002. № 22; № 23.

13. Глазко В. И. Нанотехнологии в сельском хозяйстве // Информационный бюллетень Министерства сельского хозяйства Российской Федерации. 2007. № 11–12. С. 77–80.

14. Гмошинский И. В., Шипелин В. А., Хотимченко С. А. Наноматериалы в пищевой продукции и ее упаковке: сравнительный анализ рисков и преимуществ // Анализ риска здоровью. 2018. № 4. С. 134–142.

15. Голохваст К. С., Памирский И. Э. Молекулярные основы биоминерализации // Успехи наук о жизни. 2011. № 3. С. 78–93.

16. Гордова В. С. Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой : дис. ... канд. мед. наук : 03.03.04. Чебоксары, 2014. 164 с.

17. Ермаков В. В., Тютиков С. Ф., Сафонов В. А. Биогеохимическая индикация микроэлементов. М. : Рос. акад. наук, 2018. 386 с.

18. Зеленков В. Н., Потапов В. В. Биологическая активность соединений кремния. Ч. 1. Природные и синтетические кремнийсодержащие соединения. Медико-биологические аспекты : (обзор литературы) // Вестник Российской академии естественных наук. 2016. Т. 16, № 2. С. 3–12.

19. Исследование фазового и элементного состава покрытий на основе кремнийсодержащего гидроксиапатита для медицинских имплантатов, полученных методом ВЧ-магнетронного распыления / М. А. Сурменева [и др.] // Физика и химия обработки материалов. 2012. № 3. С. 51–60.

20. Камбалина М. Г., Пикула Н. П. Атомно-абсорбционное определение содержания кремния в природных водах // Известия Томского политехнического университета. 2012. Т. 320, № 3. С. 120–124.

21. Ковальский В. В., Сусликов В. Л. Кремниевые субрегионы биосферы СССР // Труды биогеохимической лаборатории / Рос. акад. наук. Ин-т геохимии и аналит. химии им. В.И. Вернадского. М., 1980. Т. 18. С. 3–58.

22. Козлов А. В., Куликова А. Х., Яшин Е. А. Роль и значение кремния и кремнийсодержащих веществ в агроэкосистемах // Вестник Мининского университета. 2015. № 2 (10). С. 23.

23. Козлов Ю. В. Эффективность соединений кремния при возделывании зерновых культур в условиях Смоленской области : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.01.04. М., 2010. 18 с.

24. Колесников М. П. Формы кремния в растениях // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 301–332.

25. Колесников М. П., Гинс В. К. Формы кремния в лекарственных растениях // Прикладная биохимия и микробиология. 2001. Т. 37, № 5. С. 616–620.

26. Корсунов В. М., Красеха Е. Н. Педосфера Земли // Улан-Удэ : БНЦ СО РАН, 2010. 472 с.

27. Кудрин А. В., Скальный А. В. Микроэлементы в онкологии. Ч. 2. Микроэлементы и противоопухолевый иммунитет // Микроэлементы в медицине. 2001. № 2 (2). С. 31–39.

28. Мазаев В. Т., Шлепнина Т. Г. Оценка степени санитарной опасности соединений кремния в природной и питьевой воде // Водоснабжение и санитарная техника. 2011. № 7. С. 13–20.

29. Матыченков В. В. Роль подвижных соединений кремния в растениях и системе почва-растение : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.12, 03.00.27. Пушкино, 2008. 34 с.

30. Медведева И. Н., Черномордик А. О. Эффективная защита семенного картофеля в период вегетации с использованием регуляторов роста растений от основных инфекционных болезней в Предуралье // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4 (83). С. 67–68.

31. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органо-патология / А. П. Авцын [и др.]. М. : Медицина, 1991. 496 с.

32. Морфофункциональная адаптация структур тимуса крыс на поступление кремния с питьевой водой / В. С. Гордова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 158, № 12. С. 786–790.

33. Николаев В. Г., Михаловский С. В., Гурина Н. М. Современные энтеросорбенты и механизмы их действия : (обзор) // Эфферентная терапия. 2005. Т. 11, № 4. С. 3–17.

34. Овчаренко Ю. С. Болезни волос : клинические аспекты // Международный медицинский журнал. 2009. № 3. С. 111–115.

35. Овчинникова С. И., Широкая Т. А., Пашкина О. И. Основные тенденции изменения гидрохимических показателей водной экосистемы Кольского залива (2000–2011 годы) // Вестник МГТУ. 2012. Т. 15, № 3. Естественно-технические и философские науки. С. 544–550.

36. Основы биосилификации : (обзор литературы) / В. С. Гордова [и др.] // Вестник Чувашиского университета. Естественные и технические науки. 2013. №3. С. 401–409.

37. Паймерова И. С. Применение комплекса биоэлементов в микцеллярной форме отдельно и в сочетании с биокремнийорганической кормовой добавкой при выращивании поросят : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04. Дубровицы, 2011. 17 с.

38. Пашкевич Е. Б., Кирюшин Е. П. Роль кремния в питании растений и в борьбе с болезнями сельскохозяйственных культур // Проблемы агрохимии и экологии. 2008. № 2. С. 52–57.

39. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества : СанПиН 2.1.4.1116-02 : утв. Гл. гос. санит. врачом Рос. Федерации Г. Г. Онищенко 15.03.2002. Введ. в действие с 01.07.2002 // Экологический вестник России. 2003. № 3. С. 53–60.

40. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине / О. И. Ксенофонтова [и др.] // Журнал технической физики. 2014. Т. 84, вып. 1. С. 67–78.

41. Приходько Е. В. Рост и мясные качества свиней при скормли-
вании им препарата «Мивал-зоо» в период откорма : автореф. дис. ...
канд. сельскохозяйств. наук : 06.02.10. Курск, 2012. 17 с.

42. Сапожников С. П. Влияние эколого-биохимических факторов среды обитания на функциональное состояние и здоровье населения Чувашии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 03.00.13, 14.00.07. М., 2001. 32 с.

43. Сапожников С. П. Эколого-биогеохимические факторы среды обитания и здоровья. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2001. 96 с.

44. Сапожников С. П., Голенков А. В. Роль биогеохимических факторов в развитии краевой патологии // Микроэлементы в медицине. 2001. № 2 (3). С. 70–72.

45. Сапожников С. П., Гордова В. С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. № 3. С. 3–13.

46. Силатраны как стимуляторы развития грануляционной ткани / Л. А. Мансурова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1983. Т. 96, № 9. С. 97–99.

47. Силикатеины пресноводных губок: сравнение последовательностей и экзон-интронных структур генов / О. В. Калюжная [и др.] // Молекулярная биология. 2011. Т. 45, № 4. С. 617–626.

48. Скрининг иммуноактивных свойств комплексов триэтаноламина с солями биомикроэлементов / О. П. Колесникова [и др.] // Бюллетень Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. 2009. № 6 (140). С. 73–79.

49. Соколова М. Г., Акимова Г. П. Адаптогенное влияние препаратов, содержащих ризосферные бактерии, на рост проростков гороха в условиях гипотермии // Вестник Харьковского национального аграрного университета. 2009. Вып. 3 (18). С. 55–63.

50. Солдатенко А. С. Синтез новых внутри- и межмолекулярных комплексных соединений гипервалентного кремния : автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.08. Иркутск, 2011. 17 с.

51. Сравнительный анализ различных моделей амилоидоза / В. А. Козлов [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. № 1. С. 5–11.

52. Сусликов В. Л., Толмачева Н. В., Ефейкина Н. Б. Особенности колонизационной резистентности микрофлоры кишечника в различных эколого-биогеохимических условиях постоянного проживания на территории Чувашской республики // Медицинский альманах. 2009. № 2 (7). С. 127–131.

53. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. II. Энзимологические, биохимические показатели, состояние системы антиоксидантной защиты / А. А. Шумакова [и др.] // Вопросы питания. 2014. Т. 83, № 4. С. 58–66.

54. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. III. Микроэкологические, гематологические показатели, состояние системы иммунитета / А. А. Шумакова [и др.] // Вопросы питания. 2015. Т. 84, № 4. С. 55–65.

55. Физиологическая роль кремния / Л. А. Мансурова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. 2009. № 7. С. 16–18.

56. Хонина Т. Г. Фармакологически активные полиолаты кремния и титана и гидрогели на их основе: синтез, свойства, применение : автореф. дис. ... д-ра хим. наук : 14.14.02. Казань, 2012. 48 с.

57. Хоружий Д. С., Коновалов С. К. Кремний в водах Севастопольской бухты весной 2008 года // Морской гидрофизический журнал. 2010. № 3. С. 40–51.

58. A Cover of Glass: First Report of Biomineralized Silicon in a Ciliate, *Maryna umbrellata* (Ciliophora: Colpodea) / W. Foissner [et al.] // The Journal of Eukaryotic Microbiology. 2009. Vol. 56, № 6. PP. 519–530.

59. Absorption of silicon from artesian aquifer water and its impact on bone health in postmenopausal women: a 12 week pilot study / Z. Li [et al.] // Nutrition Journal. 2010. Vol. 9, № 1. P. 44.

60. Allison A. C., Hart P. D. Potentiation by silica of the growth of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophage cultures // British Journal of Experimental Pathology. 1968. Vol. 49. PP. 465–476.

61. Animal Studies // FDA's Drug Review Process and the Package Label : Strategies for Writing Successful FDA Submissions / T. Brody. [S. I.], 2018. PP. 187–254.

62. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector / Q. Chaudhry [et al.] // Food Additives & Contaminants. Part A. Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment. 2008. Vol. 25, № 3. PP. 241–258.

63. Association of inorganics accumulation with the activation of NF- κ B signaling pathway and the iNOS expression of lung tissue in Xuanwei lung cancer patients / J. Yang [et al.] // Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2016. Vol. 19, № 1. PP. 30–37.

64. Beaulieu A. D., McColl S. R. Differential expression of two major cytokines produced by neutrophils, interleukin-8 and the interleukin-1 receptor antagonist, in neutrophils isolated from the synovial fluid and peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis // Arthritis and Rheumatism. 1994. Vol. 37, № 6. PP. 855–859.

65. Bifunctional succinylated ϵ -polylysine-coated mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive and Intracellular drug delivery targeting the colon / C. T. Nguyen [et al.] // ACS Applied Materials and Interfaces. 2017. Vol. 9, № 11. PP. 9470–9483.

66. Bioactive silica nanoparticles reverse age-associated bone loss in mice / M. N. Weitzmann [et al.] // *Nanomedicine*. 2015. Vol. 11, № 4. PP. 959–967.

67. Biological and therapeutic effects of ortho-silicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: new perspectives for therapy / L. M. Jurkić [et al.] // *Nutrition & Metabolism*. 2013. Vol. 10, № 1. P. 2.

68. Boguszewska-Czubara A. Silicon in medicine and therapy // *Journal of Elementology*. 2011. Vol. 16, № 3. PP. 489–497.

69. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells depletion may attenuate the development of silica-induced lung fibrosis in mice / F. Liu [et al.] // *PLoS ONE*. 2010. Vol. 5, № 11. P. 1504.

70. Cesar A. S.-H., Gladis M.-O. G. Silicon, a possible link between environmental exposure and autoimmune diseases: the case of rheumatoid arthritis // *Arthritis*. 2012. Vol. 18. P. 2012.

71. Comparative analysis of redox and inflammatory properties of pristine nanomaterials and commonly used semiconductor manufacturing nano-abrasives / N. L. Flaherty [et al.] // *Toxicology Letters*. 2015. № 239, № 3. PP. 205–215.

72. Currie H. A., Perry C. C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies // *Annals of Botany*. 2007. Vol. 100, № 7. PP. 1383–1389.

73. Dagenais M., Skeldon A., Saleh M. The inflammasome: in memory of Dr. Jurg Tschopp // *Cell Death and Differentiation*. 2012. Vol. 19, № 1. PP. 5–12.

74. Dietary silicon intake and absorption / R. Jugdaohsingh [et al.] // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2002. Vol. 75. № 5. PP. 887–893.

75. Dobbie J. W., Smith M. J. B. Urinary and serum silicon in normal and uraemic individuals // *Silicon Biochemistry : Ciba Foundation Symposium* / editors D. Evered, M. O'Connor. Chichester, 1986. Vol. 121. PP. 194–208.

76. Encapsulated in silica: genome, proteome and physiology of the thermophilic bacterium *Anoxybacillus flavithermus* WK1 / J. N. Saw [et al.] // *Genome Biology*. 2008. Vol. 9, № 11. P. 161.

77. Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994. Vol. 91, № 1. PP. 11–17.

78. Fruijtier-Pölloth C. The safety of nanostructured synthetic amorphous silica (SAS) as a food additive (E 551) // *Archives of Toxicology*. 2016. Vol. 90, № 12. PP. 2885–2916.

79. Functional characterization of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (hGM-CSF) immobilized onto silica nanoparticles / S. Vanitha [et al.] // *Biotechnology Letters*. 2016. Vol. 38, № 2. PP. 243–249.

80. Genotypic difference in silicon uptake and expression of silicon transporter genes in rice / J. F. Ma [et al.] // *Plant Physiology*. 2007. Vol. 145. PP. 919–924.

81. Granuloma formation induced by low-dose chronic silica inhalation is associated with an antiapoptotic response in Lewis rats / R. J. Langley [et al.] // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2010. Vol. 73, № 10. PP. 669–683.

82. Hashimoto M., Imazato S. Cytotoxic and genotoxic characterization of aluminum and silicon oxide nano-particles in macrophages // *Dental Materials*. 2015. Vol. 31, № 5. PP. 556–564.

83. Impact of silica nanoparticle surface chemistry on protein corona formation and consequential interactions with biological cells / A. Kurtz-Chalot [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. 2017. Vol. 75. PP. 16–24.

84. Increased longitudinal growth in rats on a silicon-depleted diet / R. Jugdaohsingh [et al.] // *Bone*. 2008. Vol. 43, № 3. PP. 596–606.

85. Inhaled fine particles induce alveolar macrophage death and interleukin-1 α release to promote inducible bronchus associated lymphoid tissue formation / E. Kuroda [et al.] // *Immunity*. 2016. Vol. 45, № 6. PP. 1299–1310.

86. Jugdaohsingh R. Silicon and bone health // *The Journal of Nutrition, Health & Aging*. 2007. Vol. 11, № 2. PP. 99–110.

87. Junnila S. K. Nanocolloidal amorphous silica in drinking water as an autoimmunity trigger in Finland // *Medical Hypotheses*. 2011. Vol. 77, № 5. PP. 815–817.

88. Junnila S. K. Type 1 diabetes epidemic in Finland is triggered by zinc-containing amorphous silica nanoparticles // *Medical Hypotheses*. 2015. Vol. 84, № 4. PP. 336–340.

89. Keeler R. F. Silicon metabolism and silicon-protein matrix interrelationship in bovine urolithiasis // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1963. Vol. 104. PP. 592–611.

90. Kumar R. K. Quantitative immunohistologic assessment of lymphocyte populations in the pulmonary inflammatory response to intratracheal silica // *American Journal of Pathology*. 1989. Vol. 135, № 4. PP. 605–614.

91. Law C., Exley C. New insight into silica deposition in horsetail (*Equisetum arvense*) // *BMC Plant Biology*. 2011. Vol. 11. PP. 112–116.

92. Lechner C. C., Becker C. F. W. Silaffins in Silica Biomineralization and Biomimetic Silica Precipitation // *Marine Drugs*. 2015. Vol. 13. PP. 5279–5333.

93. Lee K. W., Balish E. Systemic candidosis in silicatreated athymic and euthymic mice // *Infection and Immunity*. 1983. Vol. 41, № 3. PP. 902–907.

94. Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease / J. F. Subra [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. 2001. Vol. 126. PP. 540–544.
95. Ma J. F., Yamaji N., Mitani-Ueno N. Transport of silicon from roots to panicles in plants // *Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Sciences*. 2011. Vol. 87. PP. 377–385.
96. Macrophages mice: potential role of repopulating susceptibility to mycobacterial infection in airway delivery of silica / R. Pasula [et al.] // *Journal of Immunology*. 2009. Vol. 182. PP. 7102–7109.
97. Mera M. U., Beveridge T. J. Mechanism of silicate binding to the bacterial cell wall in *Bacillus subtilis* // *Journal of Bacteriology*. 1993. Vol. 175, № 7. PP. 1936–1945.
98. Migliaccio C. T., Hamilton R. F. (Jr.), Holian A. Increase in a distinct pulmonary macrophage subset possessing an antigen-presenting cell phenotype and in vitro APC activity following silica exposure // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2005. Vol. 205, № 2. PP. 168–176.
99. Mitani-Ueno N., Yamaji N., Ma J. F. Silicon efflux transporters isolated from two pumpkin cultivars contrasting in Si uptake // *Plant Signaling & Behavior*. 2011. Vol. 6, № 7. PP. 991–994.
100. Mizuta H., Yasui H. Protective function of silicon deposition in *Saccharina japonica* sporophytes (Phaeophyceae) // *Journal Applied Pharmacology*. 2012. V. 24, № 5. PP. 1177–1182.
101. Mulloy K. B. Silica exposure and systemic vasculitis // *Environmental Health Perspectives*. 2003. Vol. 111, № 16. PP. 1933–1938.
102. Nanotherapeutics of PTEN Inhibitor with mesoporous silica nanocarrier effective for axonal outgrowth of adult neurons / M. S. Kim [et al.] // *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2016. Vol. 8, № 29. PP. 18741–18753.
103. Nielsen F. H. A novel silicon complex is as effective as sodium metasilicate in enhancing the collagen-induced inflammatory response of silicon-deprived rats // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2008. Vol. 22, № 1. PP. 39–49.
104. Oligomeric but not monomeric silica prevents aluminum absorption in humans / R. Jugdaohsingh [et al.] // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000. Vol. 71, № 4. PP. 944–949.
105. Organosilane and polyethylene glycol functionalized magnetic mesoporous silica nanoparticles as carriers for CpG immunotherapy in vitro and in vivo / H. Zheng [et al.] // *Public Library of Science One*. 2015. Vol. 10, № 10. P. e0140265.
106. Oxidant-mediated increases in redox factor-1 nuclear protein and activator protein-1 DNA binding in asbestos-treated macrophages / D. M. Flaherty [et al.] // *Journal of Immunology*. 2002. Vol. 168, № 11. PP. 5675–5681.

107. Parks C. G., Conrad K., Cooper G. S. Occupational exposure to crystalline silica and autoimmune disease // *Environmental Health Perspectives*. 1999. Vol. 107, № 5. PP. 793–802.
108. Pathophysiological development and immunotoxicology: what we have found from research related to silica and silicate such as asbestos / T. Otsuki [et al.] // *Environmental Health and Preventive Medicine*. 2007. Vol. 12, № 4. PP. 153–160.
109. Poulsen N., Sumper M., Kröger N. Biosilica formation in diatoms: characterization of native silaffin-2 and its role in silica morphogenesis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003. Vol. 100, № 21. PP. 12075–12080.
110. Powell J. J., Thoree V., Pele L. C. Dietary microparticles and their impact on tolerance and immune responsiveness of the gastrointestinal tract // *British Journal of Nutrition*. 2007. Vol. 98, № 1. PP. 59–63
111. Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance / K. Cai [et al.] // *Plant Signaling & Behavior*. 2009. Vol. 4, № 1. PP. 1–3.
112. Proinflammatory effects of pyrogenic and precipitated amorphous silica nanoparticles in innate immunity cells / L. Di Cristo [et al.] // *Toxicological Sciences*. 2016. Vol. 150, № 1. PP. 40–53.
113. Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and crystalline silica / C. J. Johnston [et al.] // *Toxicological Sciences*. 2000. Vol. 56, № 2. PP. 405–413.
114. Puri J. K., Singh R., Chahal V. K. Silatranes: a review on their synthesis, structure, reactivity and applications // *Chemical Society Reviews*. 2011. Vol. 40, № 3. PP. 1791–1840.
115. Renal silica calculi in an infant / T. Nishizono [et al.] // *International Journal Urology*. 2004. Vol. 11, № 2. PP. 119–121.
116. Schwarz K. Silicon, fibre, and atherosclerosis // *The Lancet*. 1977. № 2. PP. 454–457.
117. Seaborn C. D., Nielsen F. H. Dietary silicon and arginine affect mineral element composition of rat femur and vertebra // *Biological Trace Element Research*. 2002. Vol. 89, № 3. PP. 239–250.
118. Seaborn C. D., Nielsen F. H. Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver // *Biological Trace Element Research*. 2002. Vol. 89, № 3. PP. 251–261.
119. Serum levels of soluble Fas ligand in patients with silicosis / A. Tomokuni [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. 1999. Vol. 118. PP. 441–444.
120. Silacidins: Highly acidic phosphopeptides from diatom shells assist in silica precipitation in vitro. / S. Wenzl [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. 2008. Vol. 47. PP. 1729–1732.

121. Silica exposure and rheumatoid arthritis: a follow up study of granite workers 1940-81 / M. Klockars [et al.] // *British Medical Journal*. 1987. Vol. 294, № 6578. PP. 997–1000.
122. Silica promotes the transdifferentiation of rat circulating fibrocytes in vitro / W. Yao [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. 2015. Vol. 12, № 4. PP. 5828–5836.
123. Silica stone-development due to long time oral trisilicate intake / M. N. Lee [et al.] // *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 1993. Vol. 27, № 2. PP. 267–269.
124. Silica urolithiasis: report of a new case / N. A. Cruz Guerra [et al.] // *Actas Urologicas Espanolas*. 2000. Vol. 24, № 2. PP. 202–204.
125. Silicase, an enzyme which degrades biogenous amorphous silica: contribution to the metabolism of silica deposition in the demosponge *Suberites domuncula* / H. C. Schroeder [et al.] // *Progress in Molecular and Subcellular Biology*. 2003. Vol. 33. PP. 249–268.
126. Silicate antibodies in women with silicone breast implants: development of an assay for detection of humoral immunity / G. Q. Shen [et al.] // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1996. Vol. 3, № 2. PP. 162–166.
127. Silicate calculi: report of four cases / M. Inahara [et al.] // *Hinyokika Kyo*. 2002. Vol. 48, № 6. PP. 359–362.
128. Silicate nephrolithiasis after ingestion of supplements containing silica dioxide / J. E. Flythe [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases*. 2009. Vol. 54, № 1. PP. 127–130.
129. Silicatein filaments and subunits from a marine sponge direct the polymerization of silica and silicones in vitro / J. N. Cha [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999. Vol. 96, № 2. PP. 361–365.
130. Silicateins, the major biosilica forming enzymes present in demosponges: Protein analysis and phylogenetic relationship / W. E. G. Mueller [et al.] // *Gene*. 2007. Vol. 395. PP. 62–71.
131. Silicic acid: its gastrointestinal uptake and urinary excretion in man and effects on aluminium excretion / D. M. Reffitt [et al.] // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1999. Vol. 76. PP. 141–147.
132. Silicon metabolism I: some aspects of renal silicon handling in normal man / G. M. Berlyne [et al.] // *Nephron*. 1986. Vol. 43. PP. 5–9.
133. Silicon metabolism: the basic facts in renal failure / G. Berlyne [et al.] // *Kidney International*. 1985. Vol. 28. PP. 175–177.
134. Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium-deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption / M. H. Kim [et al.] // *Biological Trace Element Research*. 2009. Vol. 128, № 3. PP. 239–247.

135. Sivasankaran M. A., Sivamurthy R. S., Ramesh R. Nutrient concentration in groundwater of Pondicherry region // *Journal of Environmental Science and Engineering*. 2004. Vol. 46, № 3. PP. 210–216.

136. Smalley D. L., Shanklin D. R., Hall M. F. Monocyte dependent stimulation of human T cells by silicon dioxide // *Pathobiology*. 1998. Vol. 66, № 6. PP. 302–305.

137. Smith G. S., Nelson Ar. B. Digestion, with interactions of glucose, urea and minerals effects of sodium silicate added to rumen cultures on forage // *Journal of Animal Science*. 1975. Vol. 41. PP. 891–899.

138. Subchronic toxicity study in rats orally exposed to nanostructured silica / M. Van der Zande [et al.] // *Particle and Fibre Toxicology*. 2014. Vol. 11. PP. 8–10.

139. Teuber S. S., Yoshida S. H., Gershwin M. E. Immunopathologic effects of silicone breast implants // *Western Journal of Medicine*. 1995. Vol. 162. PP. 418–425.

140. Thamatrakoln K., Hildebrand M. Silicon uptake in diatoms revisited: a model for saturable and nonsaturable uptake kinetics and the role of silicon transporters // *Plant Physiology*. 2008. Vol. 146. PP. 1397–1407.

141. The biocompatibility of mesoporous silicates / S. P. Hudson [et al.] // *Biomaterials*. 2008. Vol. 29, № 30. PP. 4045–4055.

142. The comparative absorption of silicon from different foods and food supplements / S. Sripanyakorn [et al.] // *British Journal of Nutrition*. 2009. Vol. 102, № 6. PP. 825–834.

143. The in vitro respiratory toxicity of cristobalite-bearing volcanic ash / D. E. Damby [et al.] // *Environmental Research*. 2016. Vol. 145. PP. 74–84.

144. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis / S. L. Cassel [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008. Vol. 105, № 26. PP. 9035–9040.

145. The nanosilica hazard: another variable entity / D. Napierska [et al.] // *Particle and Fibre Toxicology*. 2010. Vol. 7, № 1. P. 39.

146. The silicon layer supports acid resistance of bacillus cereus spores / R. Hirota [et al.] // *Journal of Bacteriology*. 2010. Vol. 192, № 1. PP. 111–116.

147. The translocation of inhaled silicon dioxide: an empirically derived compartmental model / R. M. Vacek [et al.] // *Fundamental and Applied Toxicology*. 1991. Vol. 17, № 3. PP. 614–626.

148. Tregs promote the differentiation of Th17 cells in silica-induced lung fibrosis in mice / L. Song [et al.] // *Public Library of Science One*. 2012. Vol. 7, № 5. PP. 372–386.

149. Tsugita M., Morimoto N., Nakayama M. SiO₂ and TiO₂ nanoparticles synergistically trigger macrophage inflammatory responses // *Particle and Fibre Toxicology*. 2017. Vol. 14, № 1. PP. 11–15.

150. Vivero-Escoto J. L., Huang Y.-T. Inorganic-organic hybrid nanomaterials for therapeutic and diagnostic imaging applications // *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. Vol. 12. PP. 3888–3927.

151. Wedepohl K. H. The composition of the continental crust // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1995. Vol. 59. PP. 1217–1232.

152. Winkler H. C., Suter M., Naegeli H. Critical review of the safety assessment of nano-structured silica additives in food // *Journal of Nanobiotechnology*. 2016. Vol. 14, № 1. P. 44.

153. Yazdimamaghani M., Moos P. J., Ghandehari H. Global gene expression analysis of macrophage response induced by nonporous and porous silica nanoparticles // *Nanomedicine*. 2018. Vol. 14, № 2. PP. 533–545.

154. Zimmermani B. T., Canono B. P., Campbell P. A. Silica decreases phagocytosis and bactericidal activity of both macrophages and neutrophils in vitro // *Immunology*. 1986. Vol. 59. PP. 521–525.

155. Zurzolo C., Bowler C. Exploring bioinorganic pattern formation in diatoms. A Story of Polarized Trafficking // *Plant Physiology*. 2001. Vol. 127. PP. 1339–1345.

Глава 2

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методология исследования

Экспериментальные модели, используемые нами, были созданы для изучения влияния собственно кремния, поступающего с питьевой водой с концентрацией, не превышающей предельно допустимую концентрацию по ГОСТ (за исключением экспериментов, приближенных к естественным условиям) [3; 4]. Вся экспериментальная работа проводилась на протяжении более 30 лет.

Были проанализированы свыше 1000 литературных источников (отечественные и зарубежные) за последние 50 лет по данной и смежным проблемам, досконально изучен методологический подход к решению разного рода задач двух научных школ Чувашского государственного университета: школы профессора Гордон Дины Семёновны, специализирующейся на нейромедиаторных биогенных аминах в органах и тканях [8; 21; 22], и школы профессора Сусликова Викентия Леонидовича, решающей проблемы первичной профилактики геохимической экологии неинфекционных заболеваний [12; 20]. Таким образом, нами осуществлен комплексный подход к постановке проблемы и методам ее решения и выбраны только те методы, которые в полной мере соответствуют поставленным задачам.

В настоящую монографию включены результаты исследований Сапожникова С.П., которые не были представлены в полном объеме в научных изданиях, но имеют определённый научный интерес в контексте данной работы. Помимо сказанного, они содержат методологическое и временное значение в аспекте развития и взаимодействия научных школ. Эксперименты были проведены на белых нелинейных лабораторных крысах, сериями с 1991 по 2000 г.

В серии опытов «А» в течение месяца крысам первой опытной группы ($n = 6$) перорально через зонд вводили метасиликат натрия из расчета по кремнию 0,7 мг/кг в виде раствора, в котором рН доводили до нейтральных значений 20% серной кисло-

той. Крысы второй опытной группы ($n = 6$) также через зонд получали 3,5 мг/кг кремния. Крысам контрольной группы ($n = 6$) тем же путем вводилась водопроводная вода в количестве 3,0 мл. Доза 0,7 мг/кг была подобрана из расчета, что средний вес крыс данного эксперимента составлял 0,3 кг, а с учетом среднего объема выпиваемой ими воды (16–20 мл) данная концентрация являлась эквивалентной концентрации кремния, получаемого с питьевой водой жителями зоны риска (20–30 мг/сутки). Доза 3,5 мг/кг была предназначена для выявления дозозависимого эффекта, свойственного биологически активным веществам. Кормление и снабжение животных водой в ходе эксперимента было одинаковым и соответствовало требованиям, предъявляемым к количеству и набору кормовых продуктов [13].

В серии опытов «Б» (длительность составила полтора месяца) была использована поликомпонентная искусственная вода, которую приготавливали путем добавления различных водорастворимых солей в дистиллированную воду. Химический состав этой питьевой воды представлен в прил. 1.

В питьевой воде, приготовленной для экспериментальных групп крыс, содержание кремния, кальция и магния находилось в пределах установленных норм (СанПиН), при этом соотношения концентраций этих элементов являлись предельными, предположительно создающими напряжение адаптационных процессов в организме. Так, вода, приготовленная для первой группы ($n = 6$), содержала только соединение кремния, для второй ($n = 6$) – соединения кремния и кальция, для третьей ($n = 6$) – соединения кремния и магния, для четвертой ($n = 6$) – соединения кремния, кальция и магния. Группа сравнения ($n = 6$) получала водопроводную воду.

В серии опытов «В» было исследовано воздействие природной воды в хроническом эксперименте, длившемся семь месяцев. Вода привозилась из местных источников, её выбор был основан на различии по концентрации кремния. Вода контрольной группы содержала 3,65 мг/л кремния. В воду из этого же источника добавляли метасиликан натрия в количествах, повышающих концентрацию кремния до 15,0–16,0 мг/л. Группа животных, получавших эту воду, была названа первой опытной. Вода для второй опытной группы животных содержала 16,0 мг/л

природного кремния и отличалась концентрацией солей кальция, магния (общей жёсткостью), марганца, хлоридов. Химический состав воды представлен в прил. 2.

Исследования были продолжены, к люминесцентно-гистохимическим были добавлены иммуно-гистохимические методы. Данные, полученные в результате этих экспериментов, частично отражены в нашей монографии «Некоторые адаптационные реакции тимуса на поступление кальция и кремния с питьевой водой» (2014), а также в кандидатской диссертации Гордовой Валентины Сергеевны «Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении соединения кремния с питьевой водой», защищенной в том же году под руководством профессора Сергеевой Валентины Ефремовны и при непосредственных консультациях профессора Дины Семёновны Гордон и Сергея Павловича Сапожникова.

Эти эксперименты подтвердили обоснованность выбора водорастворимого соединения кремния (ВСК) – девятиводного метасиликата натрия в качестве источника биоусвояемого кремния, поскольку через два месяца после воздействия в тимусе крыс, получавших *ad libitum* питьевую бутилированную воду с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний, в лимфоидных органах были обнаружены морфологические, иммуногистохимические изменения, сопровождающиеся реакцией со стороны нейромедиаторных биогенных аминов (катехоловых аминов, серотонина, гистамина) и тучных клеток [5].

Исследовательская работа Гордовой Валентины Сергеевны проводилась в период с 2010 по 2021 г. в научных лабораториях кафедр медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии; общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» согласно государственному плану по теме «Гистохимия биогенных аминов в морфо-функциональном состоянии органов и тканей в норме и эксперименте» (№ государственной регистрации 0120.0851887 от 10 сентября 2008 г.) и «Нейроиммуногистохимия органов и тканей в норме и эксперименте» (№ государственной регистрации 115041410191 от

14.04.2015). Проведение исследования было рассмотрено в ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» локальным этическим комитетом медицинского факультета и одобрено 26 октября 2012 г. Она включала разработку концепции исследования, собственно эксперименты с использованием лабораторных животных (мыши, крысы, кролики), выведение животных из эксперимента, приготовление криостатных срезов, люминесцентно-гистохимические исследования, изучение гистологических препаратов, приготовленных из органов, предварительно заключенных в парафин, спектрофлуориметрию, морфометрию, а также статистическую обработку и анализ полученного обширного цифрового массива и написание части данной монографии.

С осени 2017 г. изучение гистологических препаратов, анализ полученной информации, статистическая обработка данных и оформление результатов в текстовый формат проводились на кафедре фундаментальной медицины ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта».

В качестве подопытных животных были взяты белые нелинейные крысы, мыши, а также кролики породы шиншилла, содержащиеся в виварии Чувашского государственного университета. Они находились на сбалансированном рационе питания со свободным доступом к воде и корму, при условиях естественного освещения.

Исследования касались изменения концентрации кремния путем добавления водорастворимого соединения кремния (ВСК) – девятиводного метасиликата натрия в водопроводную (ВВ) или дистиллированную (ДВ) воду, а также добавления к бутилированной питьевой воде (БПВ) кальция хлорида (КХ) в концентрации 235 мг/л в пересчете на кальций.

Нормативные документы, отражающие состав бутилированной воды, приведены в прил. 3–5. При ежедневном употреблении питьевой воды с ВСК животные в среднем получали от 0,4 до 0,6 мг/кг кремния. В каждой серии экспериментов в контрольной и подопытной группах было по пять однопометных животных (крысы и мыши), в эксперименте с кроликами в каждой группе было по два (все четыре – однопомётные) кролика.

Мы полностью повторили часть экспериментов, чтобы быть уверенными в том, что действие кремния на организм является системным, первичной «мишенью» действия кремния являются макрофаги, морфологические изменения внутренних органов сопровождаются реакцией со стороны клеток, содержащих нейромедиаторные биогенные амины, их микроокружения [5], а также кишечной микрофлоры (табл. 2).

Таблица 2

Хронология проведения экспериментов на животных

Серия, год	Контроль	Опыт	Животные, срок эксперимента
Серия 1 2010–2011	ВВ	ВВ+ВСК	крысы, 9 месяцев
	ДВ	ДВ+ВСК	крысы, 9 месяцев
Серия 2 2012	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 2 месяца
	БПВ	БПВ+КХ	крысы, 2 месяца
	БПВ	БПВ+КХ+ВСК	крысы, 2 месяца
Серия 3 2013	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 2 месяца
Серия 4 2014	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 2 месяца
Серия 5 2014	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 9 месяцев
Серия 6 2016	БПВ	БПВ+ВСК	мыши, 3 месяца
Серия 7 2016–2017	БПВ	БПВ+ВСК	мыши, 9 месяцев
Серия 8 2017	БПВ	БПВ+ВСК	кролики, 3 месяца
Серия 9 2018	БПВ	БПВ+ВСК	мыши, 3 месяца
Серия 10 2018	БПВ	БПВ+ВСК	мыши, 6 месяцев
Серия 11 2019	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 2 месяца
Серия 12 2019–2020	БПВ	БПВ+ВСК	крысы, 9 месяцев

Уход за ними осуществляли согласно действующему законодательству. Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, осуществлялись согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 МЗ СССР) [9] и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.13.1986.

Заметим, что, несмотря на большой объем проведенных исследований, по техническим причинам в данную монографию вошли не все полученные результаты, и основное повествование ведется о воздействии на лабораторных крыс соли кремния, поступающей с бутилированной водой в течение двух месяцев.

В связи с тем, что у лабораторных животных существуют некоторые сезонные и суточные колебания биогенных аминов [23], экспериментальный материал забирали с 16 до 18 часов. Для нивелирования сезонных колебаний старались закладывать эксперименты в один и тот же месяц весеннего сезона.

Животных из эксперимента выводили путем декапитации [13]. Извлекали тимус, селезёнку, подслизистые агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки [25]. Часть каждого органа замораживали для люминесцентно-гистохимического исследования нейромедиаторных биогенных аминов, часть фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин для последующего окрашивания гематоксилином и эозином и постановки иммуно-гистохимических реакций [5].

2.2. Методы исследования

1. Окраска гематоксилином и эозином, а также гематоксилином, эозином и альциановым синим применялась для общегистологической характеристики структур лимфоидных органов и проведения морфометрического анализа [18].

2. Окраска полихромным толуидиновым синим по методу Унна [2; 7] применялась для контроля состояния тканевых мукополисахаридов и гепарина в тучных клетках лимфоидных органов [5]. При оценке тучноклеточной популяции использовалось также рационализаторское предложение, принятое Чуваш-

ским государственным университетом имени И.Н. Ульянова № 1171 «Способ описания морфологического и функционального состояния тучноклеточной популяции в гистологических препаратах», выданное 9 сентября 2013 года Гордовой В.С., Сергеевой В.Е., Сапожникову С.П. Суть этого способа в том, что характеристика каждой тучной клетки, рассмотренной под увеличением с использованием иммерсионного масла, дается по совокупности признаков, которые предварительно шифруются для заполнения матрицы. Матрица – это статистическая таблица, составленная таким образом, что тучная клетка выполняет роль подлежащего, а ее признаки – сказуемого. В пределах каждого признака может быть от двух (есть признак или нет) до нескольких (градации или степени выраженности признака) вариантов. Число строк в таблице – это общее количество изученных тучных клеток, число столбцов варьируется в зависимости от поставленных исследователями задач. Обработка данных в итоге сводится к работе с полученной таблицей, что позволяет оценивать взаимосвязи между разными характеристиками тучных клеток (размеры, степень метахромазии, визуализация ядра и т.д.), проводить как корреляционный, так и многофакторный анализ между любыми характеристиками тучных клеток [6; 16].

3. Люминесцентно-гистохимический метод с применением берберин-сульфата [29] использовали для выявления в форменных элементах и плазме крови гепарина после фиксации мазков крови в этанол-уксусной кислоте, которая взаимодействовала с сульфатными группами в составе гепарина. Люминесцирующие производные гепарина исследовали под люминесцентным микроскопом ЛЮОММ-1 (СССР) при длине возбуждающего света 360 нм. Для определения гепарина использовали светофильтр № 10 с длиной волны эмиссионного свечения 540 нм.

4. Люминесцентно-гистохимический метод Фалька – Хилларпа [30] в модификации Крохиной [8] применялся для выявления в криостатных срезах катехоловых аминов и серотонина в структурах лимфоидных органов. Срезы помещали в термостатную камеру (80 °С), где в течение часа они находились в парах формальдегида, с которым реагируют моноамины. Люминесцирующие производные катехоловых аминов и серотонина исследовали под люминесцентным микроскопом ЛЮОММ-1 (СССР)

при длине возбуждающего света 360 нм. Для определения катехоловых аминов использовался светофильтр № 6 с длиной волны эмиссионного свечения 480 нм, для определения серотонина – светофильтр № 8 с длиной волны эмиссионного свечения 525 нм [5].

5. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста [28] применялся для выявления в криостатных срезах лимфоидных органов гистаминсодержащих структур. Срезы помещали в предварительно разогретую термостатную камеру (100 °С), где в течение 10 секунд они находились в парах ортофталевого альдегида, с которым реагирует гистамин. Затем срезы помещали в другую камеру (100 °С, 2 минуты), содержащую пары воды, после высушивали в термостате (70 °С, 5 минут). Люминесцирующие производные катехоловых аминов и серотонина исследовали под люминесцентным микроскопом ЛЮАМ-1 (СССР) при длине возбуждающего света 360 нм (светофильтр № 7 с длиной волны эмиссионного свечения 515 нм).

6. Метод цитоспектрофлуориметрии применяли для идентификации и количественного выражения уровня нейромедиаторных биогенных аминов и гепарина в органах и тканях [10]. Насадку ФМЭЛ-1А (выходное напряжение 900 В) устанавливали на люминесцентный микроскоп ЛЮАМ-1. Номера светофильтров и длины волн эмиссионного свечения были приведены выше. Показания снимались с табло усилителя У-5 в милливольтах – условных единицах флуоресценции (у. е.).

7. Иммуногистохимический метод непрямого иммуноферментного анализа с использованием антител к кальцийсвязывающим адапторным молекулам (Iba-1) был использован для выявления клеток, имеющих моноцитарно-макрофагальное происхождение [15; 26]. Срезы обрабатывались по стандартному протоколу: эндогенная пероксидазная активность подавлялась путем инкубации срезов в 3% растворе H_2O_2 в течение 30 минут с последующей трехкратной промывкой 0,1М фосфатным буфером; блок неспецифического связывания проводился при инкубировании срезов в течение 1 часа при комнатной температуре в 10% козьей сыворотке. В качестве первичных антител для выявления кальцийсвязывающих адапторных

молекул (Iba-1) были применены антитела против белка Iba-1 (1:500; Rabbit, Wako, Japan). Инкубация с первичными антителами проводилась в течение 18 часов при температуре 4 °С. В качестве вторичных антител использовались биотилинированные антитела (1:250; goat anti-rat IgG; Vector Laboratories). Для выявления биотиновой метки срезы обрабатывались авидин-пероксидазным комплексом (ABC, Vector Laboratories). Инкубация с 3,3-диаминобензидин тетрахлоридом (Sigma-Aldrich) придавала специфическое коричневое окрашивание структурам, содержащим белок Iba-1 [5].

8. Иммуногистохимический метод непрямого иммуноферментного анализа с использованием антител к белкам главного комплекса гистосовместимости второго класса (МНС-II) применялся для выявления антигенпредставляющих клеток лимфоидных органов. Срезы обрабатывались по стандартному протоколу: эндогенная пероксидазная активность подавлялась путем инкубации срезов в 3% растворе H_2O_2 в течение 30 минут с последующей трехкратной промывкой 0,1М фосфатным буфером; блок неспецифического связывания проводился при инкубировании срезов в течение 1 часа при комнатной температуре в 10% козьей сыворотке. В качестве первичных антител для выявления главного комплекса гистосовместимости второго класса (МНС-II) были применены антитела против белков МНС-II класса (1:4; rat anti-rat RT1Bu, Class II polymorphic; Serotec, Germany). В качестве вторичных антител использовались биотилинированные антитела (1:250; goat anti-rat IgG; Vector Laboratories). Для выявления биотиновой метки срезы обрабатывались авидин-пероксидазным комплексом (ABC, Vector Laboratories). Инкубация с 3,3-диаминобензидин тетрахлоридом (Sigma-Aldrich) придавала специфическое коричневое окрашивание структурам, содержащим белки МНС-II [5].

9. Для выявления CD68 позитивных структур был применен иммуногистохимический метод с использованием специфических антител. Активность эндогенной пероксидазы нейтрализовали путем инкубации депарафинированных срезов в 3% растворе пероксидазы (H_2O_2) в течение 30 минут, после промывки 0.1М раствором фосфатного буфера блокировали неспецифическое связывание 10% козьей сывороткой в течение 1 часа при

комнатной температуре. Потом срезы обрабатывали первичными антителами к белкам CD68 (мышинные антитела против CD68, mouse anti-CD68, clone ED1, Abcam, Cambridge, UK) в течение 18 часов при +4 °C, после очередной промывки 0.1M раствором фосфатного буфера были добавлены вторичные козы антитела, меченные биотилином (goat anti-mouse IgG (H+L), Vector Laboratories, USA). Для визуализации позитивного окрашивания срезы инкубировались с авидин-биотиновым комплексом (Vector Laboratories, USA) и 3,3-диаминобензидин тетрахлоридом (Sigma, Germany), последний придавал коричневую окраску структурам, экспрессирующим на своей поверхности CD68.

10. Люминесцентно-иммуногистохимический метод прямого ИФА с использованием антител к белку PCNA применялся для идентификации в лимфоидных узелках клеток, содержащих белок циклин А (кофактор ДНК-полимеразы, функционирует в S-фазе клеточного цикла). Проводили депарафинирование срезов, потом их промывали при комнатной температуре в течение 5 минут в трис-буферном растворе (pH = 7,4) по 3 раза, затем, чтобы блокировать участки неспецифического связывания, инкубировали их с 10% раствором нормальной козьей сыворотки при комнатной температуре в течение 15 минут. Избыток сыворотки удаляли без промывания срезов. Первичные моноклональные антитела к белку PCNA (PCNA (PC10) Mouse mAb (Cell Signaling Technology, Inc., США) в разведении 1:100 наносили на срезы, инкубировали при температуре +4 °C в течение 12–16 часов, затем стекла три раза промывали трис-буферным раствором (pH = 7,4) в течение 5 минут. Вторичные антитела были конъюгированы с флюоресцирующей меткой (Cy3® goat anti-mouse IgG (Life Technologie, США), их наносили на срезы при температуре +37 °C в разведении 1:200 с последующей инкубацией в течение 45 минут. Потом срезы промывали трис-буферным раствором (pH = 7,4), заключали в глицерольную среду VECTASHIELD with DAPI (Vector Laboratories, Inc, США). Клетки, в которых находился белок PCNA, люминесцировали (при длине волны 553–565 нм) синим и красным. Клетки, в которых этого белка не было, давали только синее свечение (Nikon Eclipse 50I, USA) [5].

При анализе экспрессии маркера пролиферации подсчетом не менее чем в 10 полях зрения при иммерсионном ($\times 900$) увеличении, определяли индекс пролиферативной активности клеток для каждого маркера по формуле: $I = N / N1 \times 100\%$, где N – количество позитивных ядер в поле зрения, N1 – общее количество ядер в поле зрения [11]. Положительным контролем специфичности иммуногистохимических реакций на маркеры пролиферации служили ткани, рекомендованные производителями антител, отрицательным контролем являлись неиммунизированные срезы. Часть исследования, включающая иммуногистохимические методы непрямого иммуноферментного анализа, была проведена в лаборатории на базе патологоанатомического отделения ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан» [5].

11. Для получения данных о структуре микрофлоры муцина нелинейных белых лабораторных крыс биоптаты слизистой оболочки забирали из полностью свободных от химуса участков желудочно-кишечного тракта, затем биоптаты были взвешены в стерильных условиях. Их помещали в стерильный изотонический раствор хлорида натрия в соотношении 1 мг ткани к 100 мкл раствора, для разжижения муцина биоптаты выдерживали в растворе до двух часов, затем пробирку встряхивали в течение 30 секунд до получения однородной микробной взвеси. Микробиологический анализ полученной суспензии производился в соответствии с Приказом Минздрава Российской Федерации от 9 июня 2003 г. № 231 «Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».

12. Изучение выживаемости кишечной палочки в растворах с различной концентрацией метасиликата натрия проводилось с использованием штамма кишечной палочки из препарата «Коллибактерин» производства ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова. Были приготовлены растворы химически чистого девятиводного метасиликата натрия (0,01%, 0,05; 0,1; 0,3; 0,5%) в дистиллированной воде с последующим автоклавированием.

Полученные стерильные растворы метасиликата натрия были использованы для приготовления суспензии кишечной палочки в концентрациях 10^6 и 10^4 КОЕ/мл. В качестве контроля использовалась суспензия кишечной палочки в дистилли-

рованной воде в концентрациях 10^6 и 10^4 КОЕ/мл. Из приготовленных суспензий через определённое количество времени (2 часа, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов) методом газона производились посевы на среду Эндо [19]. Чашки Петри инкубировали в термостате при 37 °С в течение 48 часов, после этого в них подсчитывали количество выросших колоний кишечной палочки.

13. С целью подтверждения возможных взаимосвязей между структурой микрофлоры кишечника и постоянным местом жительства пациента проводилось ретроспективное эпидемиологическое исследование – анализ медицинских карт стационарных пациентов (форма 003/у) гастроэнтерологического отделения ГУЗ «Бюджетное учреждение Чувашской Республики "Республиканская клиническая больница" Министерства здравоохранения Чувашской Республики», проходивших лечение в 2009 г. Всего 637 карт, из которых 146 содержали развернутый микробиологический анализ испражнений на дисбиоз.

14. Морфометрическому анализу подвергали корковое и мозговое вещество долек тимуса, лимфоидные узелки селезёнки (герминативный центр, маргинальная и мантийная зона), подслизистые агрегированные узелки тонкой кишки (герминативный центр, мантийная зона). Измерение проводили при помощи демоверсии программы Sigma Scan Pro 5.0 и программы Amscore после получения фотографических изображений препаратов при помощи камеры Amscore, установленной на световой микроскоп МИКМЕД-5. Количество тучных клеток в препаратах подсчитывали при иммерсионном увеличении на поле зрения (30–50 полей), при иммуногистохимических способах исследования препаратов позитивные клетки, окрашенные в коричневые тона, подсчитывали также по фотографиям. Размеры клеток определяли по фотографиям или непосредственно во время микроскопирования (при увеличении объектива 40 или 90 и при увеличении окуляра 10) при помощи светового микроскопа МИКМЕД-5. Морфометрические измерения (линейные измерения, измерения площадей клеток, морфо-функциональных зон, измерение интенсивности светопропускания (ИСП) мембраны и цитоплазмы, свидетельствующей об интенсивности иммуногистохимических реакций на мембране клеток и в их

цитоплазме, проводились при помощи демоверсии программы «Sigma Scan Pro 5.0» [5].

15. После проведения морфометрии клетки, согласно их размерам, распределяли на группы методом сигмальных отклонений, при этом средние клетки имели размеры $M \pm \sigma$, большие имели размеры больше, чем $M + \sigma$, малые – меньше, чем $M - \sigma$ [17]. Репрезентативность обеспечивалась за счет того, что выборки были произведены случайным отбором. Выборка в 400 клеток проводилась для определения размеров клеток, количество исследуемых клеток находили, используя дисперсионный анализ [5]. В ранних исследованиях ширину зон коры надпочечника, размеры клеток и ядер в них измеряли при помощи окуляр-микрометра, площади различных структур – с применением морфометрических сеток [1].

16. Для статистического анализа обширных цифровых массивов использовали программы Microsoft Office Excel и Statistica 6.0. Как для каждого среза исследуемого органа отдельного животного, так и для каждой экспериментальной группы животных определяли среднее арифметическое значение для таких показателей, как площадь структурно-функциональных зон лимфоидных узелков и долек тимуса, количество макрофагов и тучных клеток на единицу площади, количество и площадь клеток, позитивных при проведении иммуногистохимических реакций на белки Iba-1, МНС-II, CD68.

17. Среднее арифметическое значение определяли и для интенсивности люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов (катехоловых аминов, гистамина, серотонина) в содержащих их клетках лимфоидных органов. В каждой изучаемой морфо-функциональной зоне (корковое и мозговое вещество долек тимуса, лимфоидные узелки селезёнки и тонкой кишки) измеряли интенсивность люминесценции биогенных аминов в 20 клетках из этой зоны в пяти случайных полях зрения сначала для каждого животного, затем для каждой группы [5]. Для рассчитанных средних величин вычисляли стандартную ошибку среднего значения (m), с которой представлены в тексте и таблицах все рассчитанные средние величины.

Корреляционный анализ проводился для установления корреляционных взаимосвязей между показателями интенсивности

светопропускания цитоплазматической мембраны, цитоплазмы и площадью клеток в Iba-1-позитивных и МНС-II-позитивных структурах изучаемых органов. Оценка силы связи между переменными проводилась с учётом следующих критериев: коэффициент корреляции меньше 0,3 – связь слабая или отсутствует; в интервале 0,3–0,7 – связь средняя; в интервале 0,7–1,0 – связь сильная или полная [24]. Положительный коэффициент корреляции означает одновременное возрастание средних значений в исследуемой паре, отрицательный – снижение средних значений в одном члене пары при возрастании в другом [5].

Применяя элементарные методы статистического анализа, мы получили результаты, которые доказывают статистическую значимость различий (СЗР) средних величин исследуемых показателей и позволяют говорить о том, что нулевые гипотезы, касающиеся статистической значимости проведенных исследований, не могут быть отвергнуты [14].

Литература к главе 2

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М. : Медицина, 1990. 384 с.
2. Артишевский А. А., Леонтьук А. С., Слука Б. А. Гистология с техникой гистологических исследований. Минск : Вышэйш. шк., 1999. 236 с.
3. Вода питьевая, расфасованная в емкости. Общие технические условия : ГОСТ Р 52109-2003. Введ. 2003-07-03. М. : Госстандарт России : Изд-во стандартов, 2003. 16 с.
4. Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества : ГОСТ Р 51232-98. Введ. 1999-07-01. М. : Госстандарт России : Изд-во стандартов, 1999. 18 с.
5. Гордова В. С. Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой : дис. ... канд. мед. наук. Чебоксары, 2014. 164 с.
6. Гордова В. С., Иванова Е. П., Сергеева В. Е. Тучные клетки при окраске толудиновым синим в эксперименте // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные и медицинские науки. 2018. № 2. С. 97–104.
7. Гордон Д. С. Тинкториальные параллели тучных клеток // Макро-микроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте. Чебоксары, 1981. С. 97–101.

8. Гордон Д. С., Сергеева В. Е., Зеленова И. Г. Нейромедиаторы лимфоидных органов : моногр. Л. : Наука, 1982. 128 с.
9. Каркищенко Н. Н. Основы биомоделирования. М. : Изд-во ВПК, 2004. 608 с.
10. Карнаухов В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. М. : Наука, 1978. 208 с.
11. Клинико-морфологическое исследование хронического дуоденита у детей / Д. В. Тищенко [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т. 8, № 3. С. 799–803.
12. Ковальский В. В., Сусликов В. Л. Кремниевые субрегионы биосферы СССР // Труды биогеохимической лаборатории. М., 1980. Т. 18. С. 3–58.
13. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И. П. [и др.]. Киев : Вища шк., 1983. 383 с.
14. Медик В. А., Токмачёв М. С., Фишман Б. Б. Статистика в медицине и биологии. Т. 1. Теоретическая статистика. М. : Медицина, 2000. 412 с.
15. Морфофункциональная адаптация структур тимуса крыс на поступление кремния с питьевой водой / В. С. Гордова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 158, № 12. С. 786–790.
16. Нейроиммунотенезирующие свойства хорионического гонадотропина : учеб. пособие / Л. Р. Ялалетдинова [и др.]. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2016. 148 с.
17. Некоторые адаптационные реакции тимуса на поступление кальция и кремния с питьевой водой / И. М. Дьячкова [и др.]. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2014. 140 с.
18. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М. : Изд-во иностр. лит., 1962. 962 с.
19. Руководство по медицинской микробиологии: учеб. пособие. Кн. 1: Общая и санитарная микробиология / под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Волиной. М. : Бином, 2008. 1080 с.
20. Сапожников С. П. Эколого-биогеохимические факторы среды обитания и здоровья. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2001. 96 с.
21. Сергеева В. Е., Гордова В. С. Генезис морфологической школы профессора Дины Семеновны Гордон (научно-исторический обзор) // Acta Medica Eurasica. 2018. № 3. С. 50–57.
22. Сергеева В. Е., Гордова В. С., Гордон Д. С. Люминесцентная гистохимия биогенных аминов в морфофункциональном состоянии органов и тканей в эксперименте (научно-исторический обзор) // Acta Medica Eurasica. 2017. № 3. С. 39–49.

23. Сергеева В. Е., Гордон Д. С. Люминесцентно-гистохимическая характеристика ранней реакции моноаминсодержащих структур тимуса на антигенные воздействия. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 1992. 352 с.

24. Славин М. Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях. М. : Медицина, 1989. 304 с.

25. Яковлева Л. М., Карышев П. Б., Сапожников С. П. Морфо-функциональные изменения слизистой оболочки тонкого кишечника у экспериментальных животных при хронической алкогольной интоксикации // Здоровоохранение Чувашии. 2009. № 3. С. 52–55.

26. Actin-binding proteins coronin-1a and IBA-1 are effective microglial markers for immunohistochemistry / Z. Ahmed [et al.] // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2007. Vol. 55, № 7. PP. 687–700.

27. Comparison of the value of PCNA and Ki-67 as markers of cell proliferation in ameloblastic tumors / R. Bologna-Molina [et al.] // Medicina Oral Patologia Oral Cirurgia Bucal. 2013. Vol. 18, № 2. PP. 174–179.

28. Cross S. A., Even S. W., Rost F. W. A study of methods available for cyto-chemical localization of histamine by fluorescence induced with opthaldehyde or acetaldehyde // Histochemical Journal. 1971. Vol. 3, № 6. PP. 471–476.

29. Enerback L., Gustafson B., Mellblom L. Cytofluorimetric quantization of 5-hydroxytryptamine in mast cells: an improved technique for the formaldehyde condensation reaction // Journal of Hystochemistry and Cytochemistry. 1977. Vol. 25. PP. 32–41.

30. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde / B. Falck [et al.] // Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 1965. Vol. 10, № 3. PP. 348–354.

31. Rehg J. E., Bush, D., Ward J. M. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats // Toxicologic Pathology. 2012. Vol.40, № 2. PP. 345–374.

Глава 3

ОРГАНЫ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Одним из вопросов, ответ на который пыталась в свое время получить научная школа профессора Викентия Леонидовича Сусликова, был вопрос причинно-следственной взаимосвязи содержания в водно-пищевых рационах жителей районов Чувашской Республики некоторых микроэлементов с развитием неинфекционных заболеваний.

Большое внимание было уделено эндокринной системе, в частности надпочечникам, щитовидной и поджелудочной железам, и акцент смещался в сторону оценки функции того или иного органа в реакциях адаптации организма к предложенным условиям.

В одном из экспериментов, длившихся месяц (серия «А»), рассматривался принципиальный вопрос: реакции островкового аппарата поджелудочной железы и процессы перекисного окисления липидов на пероральное поступление кремния (табл. 3).

Таблица 3

Содержание малонового диальдегида
в сыворотке крови и доля эндокринных клеток
поджелудочной железы ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт 1 (0,7 мг/кг Si)	Опыт 2 (3,5 мг/кг Si)
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	$4,08 \pm 0,53$	$5,64 \pm 0,28^*$	$5,22 \pm 0,70$
Доля эндокринных клеток, %	$1,40 \pm 0,12$	$2,10 \pm 0,17^*$	$1,01 \pm 0,08^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Данные табл. 3 показывают, что содержание малонового диальдегида в сыворотке крови крыс, получавших кремний, значительно увеличилось, однако статистически значимое различие средних величин обнаружено по сравнению с контролем лишь у крыс первой опытной группы. Доля эндокринных кле-

ток в поджелудочной железе у крыс первой опытной группы по сравнению с контролем возросла почти в 2 раза, в то время как у крыс второй опытной группы обнаружена тенденция к снижению доли эндокринных клеток поджелудочной железы; у них же отмечался некроз островков с макрофагальной инфильтрацией.

Результаты исследования уровней содержания глюкозы и иммунореактивного инсулина в крови на фоне нагрузки глюкозой (400 мг/100 г) представлены в табл. 4.

Таблица 4

Уровни содержания глюкозы и иммунореактивного инсулина в крови крыс натошак и на фоне нагрузки глюкозой ($M \pm m$)

Время проведения измерений	Контроль	Опыт 1 (6)	Опыт 2 (6)
	Уровень глюкозы, ммоль/л		
Натошак	$5,00 \pm 0,49$	$5,56 \pm 0,48$	$5,70 \pm 0,68$
1 час после нагрузки	$5,56 \pm 0,43$	$5,61 \pm 0,21$	$7,14 \pm 2,03$
2 часа после нагрузки	$5,41 \pm 0,36$	$5,77 \pm 0,46$	$7,65 \pm 1,22$
	Иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл		
Натошак	$51,30 \pm 5,70$	$36,40 \pm 8,60$	$38,20 \pm 10,10$
1 час после нагрузки	$60,00 \pm 8,60$	$69,00 \pm 7,10$	$50,30 \pm 11,80$

Из табл. 4 видно, что содержание глюкозы в крови крыс статистически значимо не отличается. Индивидуальная оценка теста толерантности к глюкозе [20] обнаружила в первой опытной группе один случай нарушения толерантности к глюкозе по диабетическому типу, а во второй опытной группе – три.

Также у одного животного в контрольной и одной крысы из первой опытной групп, а также у трех животных из второй опытной группы после нагрузки глюкозой не было зафиксировано подъема уровня глюкозы в крови. Профиль теста толерантности к глюкозе у них был «плоским». Рисунок нагрузочной кривой у животных первой группы согласуется с высоким уровнем иммунореактивного инсулина через 60 минут после нагрузки глюкозой.

Влияние введения кремния в организм крыс в течение месяца на содержание в крови холестерина, активность в ней фагоцитов, а также на каталазную активность сыворотки крови отражено в табл. 5.

Таблица 5

Содержание холестерина, активность каталазы и показатели НСТ-теста у экспериментальных животных ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт 1 (6)	Опыт 2 (6)
Холестерин, ммоль/л	$1,16 \pm 0,06$	$0,95 \pm 0,15$	$0,88 \pm 0,03^*$
Каталаза в усл. ед.	$0,18 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,09$	$0,17 \pm 0,15$
НСТ-тест, %	$15,20 \pm 1,11$	$21,20 \pm 0,31^*$	$32,74 \pm 1,07^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Результаты проведенного НСТ-теста свидетельствуют о том, что поступающий в организм кремний статистически значительно увеличивает фагоцитарную активность лейкоцитов крови, и этот факт, вероятно, может служить объяснением, почему у крыс, получавших кремний, в сыворотке крови наблюдается повышение концентрации конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида.

При этом каталазная активность сыворотки крови несколько снижается, как снижается и уровень в крови холестерина. НСТ-тест отражает функциональную перестройку клеток, одним из проявлений которой служит усиление кислородзависимого механизма фагоцитоза в нейтрофильных гранулоцитах [10], так как при активации последних инициируются перекисные процессы. Кроме того, активированные нейтрофильные гранулоциты окисляют адреналин, переводя его в адренохром, который рассматривается как вероятный эффектор повреждения кардиомиоцитов [10].

Интересны данные, полученные с применением люминесцентно-гистохимических методов по выявлению гистамина и гепарина в плазме и форменных элементах крови (табл. 6).

Таблица 6

Содержание гистамина и гепарина в плазме
и форменных элементах крови ($M \pm m$, усл. ед.)

Показатель	Группа		
	Контроль	Опыт 1 (6)	Опыт 2 (6)
	в форменных элементах крови		
Гистамин, усл. ед.	$7,45 \pm 0,16$	$8,40 \pm 0,23^*$	$7,94 \pm 0,36$
Гепарин, усл. ед.	$5,46 \pm 0,17$	$5,82 \pm 0,19$	$6,54 \pm 0,53$
	в плазме крови		
Гистамин, усл. ед.	$6,68 \pm 0,17$	$7,04 \pm 0,03$	$7,05 \pm 0,22$
Гепарин, усл. ед.	$4,89 \pm 0,10$	$5,20 \pm 0,13$	$4,95 \pm 0,27$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Из табл. 6 видно, что имеет место тенденция к увеличению содержания в сыворотке и лейкоцитах как гистамина, так и гепарина. Произошедшие изменения согласуются с ранее проведенными экспериментами, в которых отмечалось, что силикагель увеличивает распад тучных клеток в сальнике с увеличением гепаринового числа в крови с 10-го дня эксперимента, которое снижается к 60-му дню [6; 7]. Тенденция к повышению содержания гистамина в форменных элементах и в плазме объясняется гипотезой, согласно которой либерация гистамина может быть связана со свободными радикалами, образующимися в ходе перекисного окисления липидов или при метаболической активации фагоцитов [22].

Некоторые исследователи также отмечали влияние кремния на обмен холестерина. Одни регистрировали снижение в сыворотке общего холестерина с одновременным увеличением легкоизвлекаемого холестерина [15], другие отмечали снижение уровня холестерина в сыворотке крови экспериментальных животных с повышением его концентрации в разные сроки эксперимента [5; 11].

Можно предположить, что одним из механизмов, приводящих к изменениям концентраций глюкозы и инсулина в сыворотке крови является воздействие гепарина на углеводный об-

мен [19] или процесс усиления активности макрофагов, сопровождающийся как повышением процессов перекисного окисления липидов, так и изменением содержания в сыворотке гистамина, о чём упоминалось ранее. Но в то же время нельзя исключать и тот момент, что, помимо доказанных эффектов, происходящих под влиянием кремния, он оказывает прямое действие на инсулярный аппарат. Полученные результаты свидетельствуют об усилении коллагенообразовательной функции организма, которая очень часто приводит к склерозу, как одной из надежных, но и абсолютно бесполезных форм стабилизации гомеостаза [10]. Об усилении коллагенообразовательной функции говорит стимуляция макрофагов [23] и повышение концентрации инсулина [10].

Таким образом, результаты этой серии опытов убедительно доказывают заметное влияние различных концентраций кремния, поступающего в организм, на функциональную активность поджелудочной железы.

В другом эксперименте, длившемся полтора месяца, было пять групп белых лабораторных нелинейных крыс (серия «Б»). Контрольная группа получала *ad libitum* водопроводную воду, опытные группы получали дистиллированную воду, в которую были добавлены соли кальция, магния и метасиликат натрия.

Изучение гистологических препаратов поджелудочной железы выявило некоторые микроморфологические особенности. Так, у двух животных из первой опытной группы наблюдалась инфильтрация островков лимфоцитами. У четырёх животных из четвёртой опытной группы визуально большинство островков были малого размера, а у двух – очень большие с явлениями «отшнуровки» и признаками гиперплазии эндокриноцитов. Данные морфометрических исследований поджелудочной железы подтвердили эти наблюдения (табл. 7).

Из таблицы видно, что у животных первой опытной группы минимальная доля эндокринных клеток наблюдалась наряду с минимальным средним диаметром ядер, причем различия были статистически значимыми по сравнению с контрольной группой.

Таблица 7

Морфометрические показатели
поджелудочной железы ($M \pm m$)

Группа	Доля эндокринных клеток, %	Диаметр ядер β -клеток
Контроль	$0,83 \pm 0,03$	$4,72 \pm 0,05$
Опыт 1	$0,74 \pm 0,01^*$	$4,42 \pm 0,08^*$
Опыт 2	$1,00 \pm 0,09$	$4,52 \pm 0,06^*$
Опыт 3	$0,91 \pm 0,09$	$4,82 \pm 0,10$
Опыт 4	$1,05 \pm 0,13$	$4,62 \pm 0,05$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Поступление в организм кремния в сочетании с кальцием (опыт 2) или с магнием (опыт 3) привело к недостоверному увеличению доли эндокринных клеток. Во второй группе зафиксировано снижение диаметра ядер β -клеток. Наибольшая доля эндокринных клеток отмечалась у животных четвёртой опытной группы, получавшей с искусственной водой и кремний, и кальций, и магний.

В структурах тонкой кишки исследовали нейромедиаторные биогенные амины: катехоламины, серотонин и гистамин (табл. 8).

Как видно из данной таблицы, интенсивность люминесценции катехоламинов и серотонина в эпителии, мышечной оболочке тонкой кишки крыс контрольной группы ниже ($p < 0,05$), чем в исследуемом органе животных, получавших искусственную воду. Причем, самые высокие значения зарегистрированы у животных третьей группы. Интенсивность люминесценции гистамина в эпителии тонкой кишки также была выше у крыс опытных групп, нежели в контрольной, в то время как данные, полученные для мышечной оболочки тонкой кишки, являются противоположными: самые большие значения выявлялись у животных контрольной группы, они статистически значимо отличались от результатов, полученных для первой, второй и четвёртой групп.

Таблица 8

Интенсивность люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в структурах тонкой кишки ($M \pm m$)

Группа (по 6)	Нейромедиаторные биогенные амины, усл. ед.		
	Катехоламины	Серотонин	Гистамин
	Столбчатый эпителий тонкой кишки		
Контроль	$9,18 \pm 0,72$	$4,15 \pm 0,56$	$12,42 \pm 0,98$
Опыт 1	$12,65 \pm 1,00^*$	$6,85 \pm 0,70^*$	$22,60 \pm 1,70^*$
Опыт 2	$13,02 \pm 0,89^*$	$7,13 \pm 0,68^*$	$30,62 \pm 5,81^*$
Опыт 3	$23,77 \pm 2,56^*$	$13,87 \pm 1,33^*$	$46,15 \pm 3,27^*$
Опыт 4	$16,30 \pm 0,89^*$	$7,98 \pm 0,46^*$	$17,80 \pm 0,34^*$
	Мышечная оболочка тонкой кишки		
Контроль	$17,35 \pm 0,28$	$8,62 \pm 0,19$	$31,12 \pm 2,56$
Опыт 1	$30,40 \pm 1,12^*$	$15,58 \pm 0,99^*$	$23,18 \pm 0,99^*$
Опыт 2	$22,28 \pm 1,28^*$	$12,42 \pm 0,90^*$	$16,78 \pm 3,58^*$
Опыт 3	$44,02 \pm 6,01^*$	$26,28 \pm 3,67^*$	$20,98 \pm 4,75$
Опыт 4	$24,18 \pm 1,15^*$	$12,07 \pm 0,56^*$	$23,90 \pm 1,46^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Среди физиологических систем, участвующих в организации приспособительных реакций, важная роль принадлежит биогенным аминам. Большое значение имеет то обстоятельство, что определение биогенных аминов в содержащих их тканях и различного рода секретах позволяет, во-первых, определить их роль в обеспечении постоянства внутренней среды и, во-вторых, выявить их способность к модуляции этого постоянства при изменении внешних условий.

Доказано, что определяющее значение в процессах адаптации организма имеет не столько абсолютное содержание в его тканях какого-либо биологически активного вещества, сколько их соотношение [10].

Определённый интерес представляют данные по микроморфологии щитовидной железы. Так, было отмечено, что в щитовидной железе у животных второй группы фолликулярные клет-

ки в подавляющем большинстве были кубические, гомогенные. Встречались небольшие участки с высокими фолликулярными клетками, в которых цитоплазма была мелковакуолизированной. Просветы фолликулов при этом были большие. У животных третьей группы наблюдалась следующая картина: по сравнению с остальными группами фолликулы казались мелкими, коллоид в них был пенистый. Визуальная картина была дополнена морфометрическими данными (табл. 9, 10).

Таблица 9

Морфометрические показатели щитовидной железы ($M \pm m$)

Группа (по 6)	Диаметр фолликула, мкм	Высота фоллику- лярных клеток, мкм	Диаметр ядра, мкм
Контроль	$44,90 \pm 0,94$	$12,10 \pm 0,06$	$5,88 \pm 0,05$
Опыт 1	$53,70 \pm 1,46^*$	$12,38 \pm 0,48$	$5,72 \pm 0,03^*$
Опыт 2	$54,60 \pm 0,62^*$	$11,80 \pm 0,19$	$5,38 \pm 0,06^*$
Опыт 3	$46,18 \pm 0,96$	$15,18 \pm 0,20^*$	$5,92 \pm 0,08$
Опыт 4	$49,72 \pm 0,22^*$	$13,00 \pm 0,07^*$	$5,98 \pm 0,06$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

По данным таблицы был рассчитан фолликуло-эпителиальный индекс, который составил для контрольной группы 3,71, а для первой, второй, третьей и четвёртой опытных групп 4,34; 4,63; 3,04 и 3,82 соответственно.

Из табл. 9 и 10, составленных по результатам морфометрии, видно, что под воздействием различного химического состава питьевой воды изменяются критерии, свидетельствующие о повышении функциональной активности щитовидной железы.

Так, у животных, употреблявших воду с кремнием и с кремнием в сочетании с кальцием, произошло увеличение среднего диаметра фолликуллов, при этом уменьшился диаметр ядер фолликулярных клеток, но высота фолликулярных клеток была сопоставима с контролем. Сдвиги в площади, занимаемой той или иной структурой, произошли у животных второй группы. Это проявилось увеличением доли содержания в щитовидной

железе коллоида и снижением доли площади пространства между фолликулами.

Таблица 10

Относительные морфометрические показатели
щитовидной железы ($M \pm m$)

Группа	Структурно-функциональные зоны щитовидной железы		
	Коллоид, %	Фолликулярные клетки, %	Пространство между фолликулами, %
Контроль	$29,68 \pm 0,35$	$32,28 \pm 0,27$	$38,07 \pm 0,51$
Опыт 1	$28,48 \pm 0,91$	$33,52 \pm 0,45^*$	$38,00 \pm 1,39$
Опыт 2	$34,48 \pm 0,51^*$	$31,68 \pm 0,12$	$33,83 \pm 0,50^*$
Опыт 3	$26,08 \pm 0,67^*$	$35,52 \pm 0,08^*$	$38,23 \pm 0,54$
Опыт 4	$33,72 \pm 0,15^*$	$30,68 \pm 0,50^*$	$35,40 \pm 0,53^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Иначе отреагировала щитовидная железа крыс третьей группы: статистически значимо увеличилась высота эпителия и уменьшилась доля площади, занимаемой коллоидом. В реакции щитовидной железы крыс из четвертой группы присутствуют сдвиги, характерные для изменений во второй и третьей группах, а именно на фоне увеличения диаметра фолликула увеличена высота эпителия с увеличением доли площади коллоида и снижением доли площади эпителия.

Следовательно, с учетом критериев активации щитовидной железы, а именно: увеличением высоты эпителия, увеличением диаметра ядер и снижением относительной площади коллоида можно констатировать, что щитовидная железа животных второй группы функционально подавлена, а третьей – функционально напряжена. Об изменении активности щитовидной железы наглядно свидетельствуют и значения фолликулоэпителиального индекса. У животных второй группы он был равен 4,63, а у животных третьей – 3,04. Имеется исследование по изучению влияния растворенного в воде девятиводного метасиликата натрия на уровень в сыворотке крови тиреотропного гормона, а также трийодтиронина и тетрайодтиронина [32].

Авторы наблюдали повышение уровня тиреотропного гормона у животных, получавших метасиликат натрия, в то время как уровни трийодтиронина и тетраiodтиронина не обнаруживали статистически значимых различий в концентрациях между опытной и контрольной группами животных. Эти результаты, свидетельствующие о влиянии кремния на эндокринный баланс, могут служить доказательством того, что указанный химический элемент способен изменять скорость синтеза некоторых гормонов.

Морфометрические данные были дополнены люминесцентно-гистохимическим исследованием биогенных аминов: катехоламинов, серотонина и гистамина (табл. 11).

В тироцитах щитовидной железы самые низкие значения интенсивности люминесценции катехоламинов и серотонина были отмечены у животных четвёртой группы, со статистической значимостью отличий. В остальных группах значения интенсивности люминесценции данных биогенных аминов имели тенденцию к незначительному повышению, которая в наибольшей степени проявилась у животных третьей группы. Различия в средней интенсивности люминесценции гистамина не являлись статистически значимыми ни для одной из групп.

Таблица 11

Интенсивность люминесценции катехоламинов,
серотонина и гистамина в фолликулярных клетках
щитовидной железы ($M \pm m$)

Группа животных (по 6)	Нейромедиаторные биогенные амины		
	Катехоламины	Серотонин	Гистамин
Контроль	$8,58 \pm 0,13$	$3,45 \pm 0,04$	$7,88 \pm 0,95$
Опыт 1	$8,65 \pm 0,32$	$4,90 \pm 0,04^*$	$6,47 \pm 0,07$
Опыт 2	$9,15 \pm 0,26$	$4,38 \pm 0,38^*$	$8,32 \pm 0,61$
Опыт 3	$11,08 \pm 2,31$	$5,22 \pm 1,17^*$	$7,98 \pm 0,12$
Опыт 4	$6,63 \pm 0,45^*$	$2,52 \pm 0,10^*$	$6,62 \pm 1,04$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Сопоставляя данные морфометрии с результатами люминесцентно-гистохимического исследования можно отметить, что морфометрические признаки активации секреции тиреоидных гормонов животных третьей группы сопровождаются повышением интенсивности люминесценции катехоламинов и серотонина в фолликулярных клетках щитовидной железы. Это согласуется с данными, свидетельствующими о том, что серотонин оказывает прямое влияние на щитовидную железу, влияет на фолликулярные клетки, сосуды железы через α -адренорецепторы, секрецию тиреотропного гормона гипофизом [26]. Учитывая тот факт, что серотонин обладает прямым действием на щитовидную железу [13], повышая ее активность, можно предположить, что щитовидная железа животных третьей опытной и первой опытной групп находятся в разных стадиях морфологической адаптации, причем статистически значимое увеличение интенсивности люминесценции серотонина у животных третьей группы сопровождается морфометрическими показателями активности щитовидной железы (высота эпителия – 15,18, фолликуло-эпителиальный индекс – 3,04 против контроля 12,10 и 3,71 соответственно), в то время как у животных первой группы серотонин не проявляет своего эффекта, снижая активность железы, что доказывается высоким фолликуло-эпителиальным индексом (4,34 против 3,71 в контроле).

Принимая во внимание роль катехоламинов и серотонина в деятельности щитовидной железы, необходимо рассмотреть роль факторов, приводящих к изменению уровней биогенных аминов в ней, а именно кремния, магния и кальция. Сведений о роли кремния в регуляции деятельности щитовидной железы нами не было найдено не только в отечественной, но и в зарубежной литературе.

Установлено, что между магнием, кальцием и биогенными аминами имеется тесная связь, которая проявляется в процессах депонирования, синтеза и высвобождения катехоламинов. Магний участвует в фиксировании комплекса агонист-рецептор и незаменим при стимуляции аденилатциклазы катехоламинами [18]. Предполагают, что при дефиците магния в рационе снижается способность тучных клеток накапливать и секретировать гистамин [27]. Некоторые авторы считают, что избыток

кальция и дефицит магния вызывают недостаток синтеза тетраодтиронина и паратгормона. Другие предполагают, что избыток кальция оказывает прямое стимулирующее действие на парафолликулярные клетки через биогенные амины [26].

Микроскопия гистологических препаратов надпочечников показала, что у животных контрольной группы ядра клеток клубочковой зоны светлые, гомогенно окрашены, ядра клеток пучковой зоны с незначительным глыбчатым распределением хроматина. У животных, употреблявших дистиллированную воду с добавлением кремния, ядра клеток клубочковой зоны окрашены гомогенно, пучковой – с незначительным глыбчатым распределением хроматина.

Сочетание в воде солей кремния и кальция изменило гистологическую картину. Ядра клеток клубочковой и пучковой зон надпочечника животных этой группы имели яркое, гомогенное окрашивание. Употребление воды с кремнием и магнием привело к глыбчатому распределению хроматина в ядрах клеток клубочковой зоны. В надпочечниках животных четвёртой опытной группы, получавших воду с кремнием, магнием и кальцием, в ядрах клеток клубочковой зоны отмечалось равномерное распределение хроматина, в пучковой зоне ядра клеток были бледные, с равномерным окрашиванием.

Различия наблюдались и в морфометрических показателях надпочечника, которые представлены в табл. 12.

Таблица 12

Относительные морфометрические показатели
надпочечника ($M \pm m$)

Группа	Клубочковая зона, %	Пучковая зона, %	Клубочковая/пучковая
Контроль	$9,88 \pm 0,46$	$67,88 \pm 0,40$	$0,14 \pm 0,01$
Опыт 1	$10,98 \pm 1,34$	$65,05 \pm 0,54^*$	$0,17 \pm 0,02$
Опыт 2	$10,12 \pm 0,29$	$67,12 \pm 0,31$	$0,15 \pm 0,01$
Опыт 3	$11,60 \pm 0,31^*$	$70,20 \pm 1,00$	$0,16 \pm 0,01^*$
Опыт 4	$10,82 \pm 0,22$	$62,30 \pm 1,18^*$	$0,18 \pm 0,01^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Из данных табл. 12 видно, что структурно-функциональные зоны надпочечника отреагировали на различный химический состав питьевой воды. Во всех опытных группах произошло увеличение доли клубочковой зоны коры надпочечника, хотя статистическая значимость различий с контролем была отмечена только у животных третьей группы.

Отличия в ширине этих зон наглядно демонстрирует соотношение соответствующих показателей. Соотношение между шириной клубочковой и пучковой зон максимально в первой и четвёртой опытных группах.

Данные об интенсивности люминесценции биогенных аминов в структурах надпочечника представлены в табл. 13.

Таблица 13

Интенсивность люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в морфо-функциональных зонах надпочечника ($M \pm m$)

Группа (по 6)	Нейромедиаторные биогенные амины, усл. ед.		
	Катехоламины	Серотонин	Гистамин
	Клубочковая зона надпочечника		
Контроль	$70,22 \pm 1,84$	$34,55 \pm 1,02$	$46,92 \pm 11,95$
Опыт 1	$49,30 \pm 8,08^*$	$26,53 \pm 4,38$	$47,00 \pm 8,04$
Опыт 2	$34,82 \pm 5,86^*$	$17,45 \pm 3,16^*$	$47,88 \pm 1,95$
Опыт 3	$73,12 \pm 6,98$	$40,12 \pm 3,42$	$59,10 \pm 3,70$
Опыт 4	$42,27 \pm 1,78^*$	$23,40 \pm 1,03^*$	$35,02 \pm 5,45$
	Пучковая зона надпочечника		
Контроль	$26,05 \pm 1,18$	$12,67 \pm 0,43$	$22,92 \pm 5,57$
Опыт 1	$41,45 \pm 5,86^*$	$20,60 \pm 3,29^*$	$19,72 \pm 1,27$
Опыт 2	$16,75 \pm 1,54^*$	$8,23 \pm 0,84^*$	$27,30 \pm 0,63$
Опыт 3	$33,97 \pm 2,52^*$	$19,00 \pm 1,24^*$	$27,22 \pm 0,75$
Опыт 4	$17,03 \pm 0,27^*$	$9,20 \pm 0,31^*$	$16,27 \pm 0,23$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Как видно из табл. 13, в распределении между морфо-функциональными зонами надпочечника биогенных аминов

произошли существенные сдвиги. Наличие в питьевой воде кремния и кальция (вторая опытная группа) статистически значительно ослабило медиацию пучковой и клубочковой зон катехоламинами и серотонином.

Такая же направленность изменений, но менее выраженная, наблюдается в клубочковой зоне надпочечника животных первой опытной и четвёртой опытной групп. Сочетанное действие кремния и магния (третья опытная группа) не изменяет интенсивности люминесценции катехоламинов и серотонина в клубочковой зоне. Интенсивность люминесценции гистамина во всех опытных группах не имела статистически значимых отличий с контрольной группой.

Изменения в пучковой зоне были диаметрально противоположны. Значения интенсивности люминесценции катехоламинов и серотонина, зарегистрированные для первой и третьей опытных групп, были статистически значительно выше контрольных уровней, в то время как интенсивность люминесценции этих биогенных аминов у животных второй и четвёртой опытных групп по сравнению с контрольной группой была статистически значительно снижена. По интенсивности люминесценции гистамина самые низкие показатели были обнаружены у животных четвёртой группы.

Следовательно, употребление искусственной воды с кремнием и калием в сочетании с магнием приводит к усилению медиации катехоламинами и серотонином пучковой зоны, в то время как вода, содержащая кремний в сочетании с кальцием и калием в сочетании с кальцием и магнием, не обладает такими свойствами. Следует отметить, что и другими исследователями наблюдались сдвиги в содержании катехоламинов в надпочечниках и гистамина, серотонина в крови, лёгких и печени после заправки кремнийсодержащей пылью [4].

Кроме того, есть публикация о реакции нейроэндокринной системы на агрессивный медленно прогрессирующий силикоз с участием глюкокортикостероидных гормонов коры надпочечников [29]. Из-за функционального или органического повреждения нейроэндокринной системы, из-за немедленного токсического действия диоксида кремния или монокремниевой кислоты, а также из-за эффекта вторичной гипоксии при лёгочном

силикозе развивается недостаточность стимуляции и выведения определённых гормонов, которая обнаруживается в гипоталамо-гипофизарных центрах, и последствия распространяются на все эндокринные железы, которые зависят от системы гипоталамус – гипофиз. Этот механизм отвечает также за возникновение гипогонадизма при гипогонадотропной недостаточности при лёгочном силикозе, и тому имеются клинически и экспериментально подтвержденные случаи.

Симпатоадреналовая система играет весьма важную роль в обеспечении экстренной адаптации к действию неблагоприятных факторов [17]. В связи с этим следует упомянуть концепцию о существовании двух различных адаптационных стратегий: резистентной (стрессорной) и толерантной [9]. Биохимической основой резистентной стратегии является активация катаболических процессов и значительное увеличение потребления кислорода, а основными медиаторами данной стратегии являются глюкокортикоиды и катехоламины. Для толерантной стратегии характерно снижение потребления кислорода, энергозатрат и катаболизма эндогенных полимеров. Формирование толерантного гипобиоза осуществляется организмом посредством аденозина, серотонина, опиоидных пептидов, активации α -2 адренорецепторов и т.д.

Данная концепция адаптации согласуется с эрготропными и трофотропными функциями вегетативной нервной системы, которые регулируются преимущественно соотношением в организме биологически активных веществ, потому что увеличение концентрации одного биологически активного вещества неизбежно ведёт к увеличению концентрации биологически активного вещества-антагониста [2]. Возвращаясь к полученным данным, можно отметить, что в клубочковой и пучковой зонах надпочечника животных второй группы наблюдается максимальное снижение интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина при неизменном содержании гистамина, а у животных первой группы в пучковой зоне существенно возрастает интенсивность люминесценции и катехоламинов, и серотонина.

Итак, вода с различным составом оказывает существенное влияние на исследованные эндокринные органы. Так, употреб-

ление дистиллированной воды с кремнием привело к статистически значимому снижению диаметра ядер β -клеток и доли эндокринных клеток поджелудочной железы. Кроме того, у животных данной группы в пучковой зоне надпочечников преобладают эрготропные функции, отмечается понижение активности щитовидной железы.

Дистиллированная вода с добавлением кремния и магния приводит к активации щитовидной железы. Изменение ее активности протекает по толерантной адаптационной стратегии.

У животных второй группы, которые пили воду с кремнием и кальцием, наблюдается понижение активности щитовидной железы и протекание резистентной стратегии адаптации в пучковом и корковом слоях надпочечников. У животных четвертой группы (получали воду с кремнием, кальцием и магнием) увеличивалась доля эндокринных клеток поджелудочной железы и наблюдалось превалирование клубочковой зоны над пучковой в корковом веществе надпочечников.

Полученные результаты, возможно, объясняются адаптационной доминантой. Такая ситуация выражается доминированием одной системы адаптации над другими, что имеет высокую «структурную цену» и включает в себе две потенциальные опасности. Во-первых, возможность функционального истощения системы, доминирующей в адаптационной реакции, и, во-вторых, вероятность снижения структурного и, соответственно, функционального резерва других систем, которые непосредственно не участвуют в адаптационной реакции и оказываются детренированными [20]. Бесспорно, детренированные системы и органы становятся более чувствительными к воздействию факторов внешней среды, которые являются специфичными для них.

Обобщая полученные данные, можно отметить, что употребление крысами питьевой воды с различным химическим составом приводит к метаболическим и функциональным перестройкам в эндокринных органах и эпителии тонкой кишки. Эксперимент с искусственно приготовленной водой наглядно показывает, что на функциональную активность эндокринных органов влияет не только концентрация химических элементов в питьевой воде, но и их соотношение.

Воздействие природной воды с повышенным содержанием кремния и природной воды с добавлением соли кремния на экспериментальных животных в хроническом эксперименте изучалось в течение семи месяцев.

В ходе эксперимента регулярно проводилось взвешивание животных и контролировалось количество выпитой воды. Расчет средней прибавки массы за семь месяцев эксперимента показал, что животные контрольной группы прибавили на $98,92 \pm 4,46$ г, первой опытной – на $77,83 \pm 2,57$ г, второй опытной – на $64,30 \pm 2,78$ г, при этом химический состав не влиял на количество выпиваемой крысами воды. Во всех группах потребление воды одной крысой колебалось от 15,2 до 20,6 мл в зависимости от сезона года.

Была прослежена динамика относительной массы эпидидимального жира, которая отражала общее содержание внутреннего жира в организме. В конце эксперимента у крыс из обеих опытных групп, получавших питьевую воду с кремнием, его относительное содержание было значительно ниже, чем у крыс контрольной группы ($p < 0,05$), в то время как относительная средняя масса селезенки ($0,31 \pm 0,02$ мг/100 г) превышала такую у крыс контрольной и второй опытной групп.

Наибольшие изменения на седьмом месяце эксперимента, которые имели статистическую значимость различий по группам животных, обнаружены по массе левого надпочечника, поджелудочной железы, тимуса, селезенки и эпидидимального жира между опытными группами животных по сравнению с контрольной группой. Следует заметить, что динамика изменений массы исследованных органов носит ярко выраженный адаптивный, приспособительный характер.

Изучение гистологических препаратов поджелудочной железы визуально выявило некоторые микроморфологические особенности, которые подтвердились с помощью морфометрии (табл. 14).

У крыс первой опытной группы, получавших питьевую воду с добавлением кремния, через один месяц от начала эксперимента было обнаружено увеличение удельного веса эндокринных клеток, диаметра ядер β -клеток, также были найдены признаки некроза эндокринных клеток, который касался не отдель-

ных клеток, а их групп. При этом наблюдалась выраженная инфльтрация островков лимфоцитами.

Таблица 14
Морфометрические показатели поджелудочной железы ($M \pm m$)

Показатель	Группа		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
	Один месяц		
Диаметр ядер β -клеток, мкм	$4,76 \pm 0,01$	$5,40 \pm 0,01^*$	$5,14 \pm 0,02^*$
Доля эндокринных клеток, %	$0,92 \pm 0,02$	$1,55 \pm 0,09^*$	$1,04 \pm 0,01^*$
Соотношение α/β клеток	$0,17 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,02$
	Пять месяцев		
Диаметр ядер β -клеток, мкм	$5,18 \pm 0,02$	$4,75 \pm 0,11^*$	$4,76 \pm 0,11^*$
Доля эндокринных клеток, %	$1,12 \pm 0,01$	$2,11 \pm 0,10^*$	$2,16 \pm 0,39^*$
Соотношение α/β клеток	$0,19 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,05$
	Семь месяцев		
Диаметр ядер β -клеток, мкм	$4,80 \pm 0,13$	$4,76 \pm 0,11$	$4,76 \pm 0,08$
Доля эндокринных клеток, %	$1,28 \pm 0,07$	$1,92 \pm 0,30^*$	$1,53 \pm 0,23$
Соотношение α/β клеток	$0,18 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,05^*$	$0,25 \pm 0,03^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Доля эндокринных клеток была выше возрастной нормы [20] за счёт гиперплазии. Всё это свидетельствует о чрезвычайном функциональном перенапряжении. Через пять месяцев морфологическая картина сохранилась, но средний диаметр ядер эндокринных клеток уменьшился, и хотя доля эндокринных клеток увеличилась, относительное количество β -клеток снизилось. Спустя семь месяцев с начала эксперимента доля эндокринных клеток составляла 1,92%, что также выше возрастной нормы [20]. Диаметр ядер при этом статистически значимо не отличался от значений, полученных для контрольной группы. Вместе с тем островки поджелудочной железы крыс, которые пили воду с добавлением метасиликата натрия, имели фестончатую форму и были разделены на дольки грубоволокнистой со-

единительной тканью, при этом наблюдалась лимфоцитарная инфильтрация, что свидетельствует о предшествующем воспалительном процессе с исходом в склероз. Таким образом, адаптация у крыс опытной группы происходила с ущербом для эндокринных клеток поджелудочной железы, о чём свидетельствует развитие склеротических изменений.

При исследовании поджелудочной железы крыс второй опытной группы, получавших воду с высоким природным содержанием кремния, через месяц с начала эксперимента выявлено преобладание островков мелких размеров, состоящих из 10–20 эндокриноцитов, относительный объём их равен 1,04%.

У животных этой группы отмечены признаки функционального напряжения в виде увеличения диаметра ядер в сравнении с контрольной группой, а при окраске альдегид-фуксином по Gabe выявлено значительное изменение морфологии β -клеток вплоть до полного исчезновения альдегид-фуксинофильных гранул с явлениями некробиоза. В отдельных островках поджелудочной железы у крыс этой группы обнаружена картина инфильтрации островков Лангерганса лимфоцитами в виде полнокровия сосудов, а также макрофагальной инфильтрации вокруг некротизированных β -клеток. Очевидно, это обусловлено функциональным перенапряжением инсулярного аппарата поджелудочной железы [20].

Через пять месяцев с начала эксперимента происходит увеличение доли эндокринных клеток на фоне снижения диаметра ядер и количества β -клеток. Спустя семь месяцев с начала эксперимента доля эндокринных клеток снизилась до 1,53%. Крупные островки включали 100 и более клеток; признаки функционального перенапряжения (уменьшение количества гранул в клетках, некробиоз β -клеток и инфильтрация островков лимфоцитами) отсутствовали. Растет соотношение α/β клеток за счет относительного увеличения размеров α -клеток. Так, у крыс второй опытной группы в течение эксперимента произошла адаптация к новым условиям на более высоком уровне функциональной активности инсулярного аппарата. Следует отметить, что у трех крыс данной группы имел место слабо выраженный склероз островков. Следовательно, процесс адаптации у них протекал с повреждением инсулоцитов.

Сравнение первой и второй опытных групп позволяет утверждать, что адаптация у крыс первой опытной группы происходила в менее щадящем режиме с ущербом для эндокринных клеток поджелудочной железы, который проявился развитием склеротических изменений.

Приведенные выше данные показывают, что питьевой режим с повышенным содержанием кремния оказывает повреждающее действие на инсулярный аппарат крыс, в то время как у крыс второй опытной группы процесс адаптации протекал с признаками слабо выраженного структурного повреждения с явлениями дегрануляции, некробиоза, некроза и инсулита. В первой опытной группе степень перенапряжения β -клеток на начальной стадии эксперимента была выражена наиболее сильно вплоть до некроза целых групп инсулоцитов, развитием реактивного воспаления. Процесс регенерации эндокринных клеток поджелудочной железы протекал в последующем с развитием склероза и изменением структуры островков.

Было обнаружено, что активированные перитонеальные макрофаги *in vitro* лизируют сингенные эндокринные клетки поджелудочной железы, при этом сингенные тиреоциты и гепатоциты устойчивы к цитолитическому действию активированных макрофагов. То есть, макрофаги могут функционировать в качестве эффекторных клеток при разрушении островков [31]. Макрофаги вносят основной вклад в создание иммунной среды для развития и активации цитотоксических Т-лимфоцитов, которые разрушают β -клетки поджелудочной железы, что приводит к развитию аутоиммунного диабета у мышей с генетической обусловленностью к спонтанному развитию аутоиммунного инсулинозависимого сахарного диабета [33].

Литературные данные последних лет, которые касаются макрофагов и повреждения поджелудочной железы, также заслуживают внимания.

Физиологическая роль островковых макрофагов заключается в поддержании гомеостаза эндокринных островков поджелудочной железы, β -клетки и макрофаги влияют друг на друга так, что их взаимосвязь рассматривают как симбиотическую. Характер экспрессии генов островковых макрофагов, в отличие от резидентных макрофагов из других тканей, у мышей совместим с

активированными «M1-подобными» макрофагами, то есть у них наблюдается высокая экспрессия IL-1 и МНС-II [34].

Существует обзор на 198 источников, посвященный роли макрофагов в поджелудочной железе [28]. Он знакомит читателя с новыми концепциями биологии островковых макрофагов, которые могут поставить под сомнение представление о том, что накопление макрофагов в островках является просто патологической особенностью диабета второго типа, отличительной чертой которого является хроническое системное воспаление. По мнению автора обзора, макрофаги в островке следует рассматривать в качестве одного из ключевых факторов равновесия между воспалительной активацией и процессами восстановления тканей.

Роль кремния, поступающего с питьевой водой, в эпидемиологии аутоиммунного сахарного диабета в Финляндии была вынесена в качестве одной из определяющих [24; 25]. Заболеваемость сахарным диабетом первого типа в Финляндии самая высокая в мире, поэтому в качестве пускового причинного фактора автор искал фактор окружающей среды, который был бы типичен для этой страны и мог бы быть связан с аспектами эпидемиологии и биологии этого заболевания. Значительная часть Финляндии располагается там, где раньше было древнее море, поэтому в природных водах наблюдается сезонная высокая концентрация коллоидного аморфного кремнезёма, который сам по себе не является достаточным пусковым причинным фактором для развития аутоиммунного сахарного диабета. Однако этим фактором с большой степенью вероятности является частица коллоидного аморфного кремнезёма, на поверхности которой адсорбируется тетраэдрически координированный цинк. Он выступает в качестве адресной метки, проводящей частицу к β -клетам, содержание цинка в которых является самым высоким в организме, что обусловлено высоким содержанием цинка в инсулине – продукте синтеза β -клеток. Частица коллоидного аморфного кремнезёма прилипает к мембранным белкам, искажая их третичную структуру, тем самым формируя новые эпитопы. Если во время внутриутробного развития плод не получил информацию об этих эпитопах вовремя, то дифференцировка лимфоцитов в тимусе, костном мозге и печени плода не будет соответствовать реально существующим собственным антигенам. Когда в организм ребенка в более позднем

постнатальном периоде жизни поступают частицы коллоидного аморфного кремнезёма, связанные с цинком, то иммунная система реагирует на них как на чужеродные белки. Вследствие этого разрушаются β -клетки, продуцирующие инсулин [25].

Результаты морфометрии надпочечников приведены в табл. 15. Можно отметить, что у животных контрольной группы размеры клубочковой и пучковой зон коркового вещества надпочечников плавно увеличиваются в размерах в зависимости от возраста. Диаметр ядер клеток соразмерен с зонами, и только на седьмом месяце эксперимента произошло уменьшение диаметра ядер клеток клубочковой зоны надпочечников.

Таблица 15

Морфометрические показатели надпочечников ($M \pm m$)

Зона, мкм	Группа		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
	Один месяц		
Клубочковая	$103,10 \pm 5,35$	$111,50 \pm 3,24^*$	$105,40 \pm 2,54$
Пучковая	$487,80 \pm 2,43$	$660,90 \pm 79,75^*$	$590,40 \pm 37,12^*$
	Пять месяцев		
Клубочковая	$106,20 \pm 1,14$	$97,31 \pm 4,76$	$91,88 \pm 6,05^*$
Пучковая	$616,80 \pm 3,12$	$581,30 \pm 14,02^*$	$632,80 \pm 38,42$
	Семь месяцев		
Клубочковая	$107,50 \pm 0,54$	$105,10 \pm 2,63$	$101,50 \pm 3,79$
Пучковая	$662,60 \pm 14,80$	$645,10 \pm 19,20$	$592,70 \pm 22,50^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

У животных первой опытной группы через один месяц эксперимента ширина пучковой зоны и диаметры ядер клубочковой зоны коркового вещества надпочечников статистически значимо выше по сравнению с контролем. Через пять месяцев произошло уменьшение ширины пучковой и клубочковой зон коркового вещества надпочечников, а через семь месяцев – увеличение.

Соотношение клубочковой и пучковой зон коркового вещества надпочечников через месяц для контрольной, первой опытной и второй опытной групп составило 0,21; 0,17 и 0,18 соответ-

ственно, через пять месяцев – 0,17; 0,17 и 0,15, через семь месяцев – 0,16; 0,16; 0,17 соответственно.

У животных второй опытной группы произошло резкое увеличение ширины пучковой зоны коркового вещества надпочечников на фоне снижения ширины клубочковой зоны через пять месяцев в сравнении с результатами, полученными через один месяц с начала эксперимента. В конце эксперимента морфометрические показатели надпочечников животных второй опытной группы приблизились к таковым в начале исследования.

Определённый интерес представляют данные по содержанию аскорбиновой кислоты в пучковой и клубочковой зонах коркового вещества надпочечников экспериментальных животных (табл. 16). Из таблицы видно, что содержание аскорбиновой кислоты в клетках зон надпочечников животных контрольной группы не имеет различий по срокам исследования, в то время как у животных первой и второй опытной групп наблюдалось накопление аскорбиновой кислоты через один месяц эксперимента и значительное снижение в другие сроки, особенно в клубочковой зоне коркового вещества надпочечников, что говорит о повышенной синтетической функции.

Таблица 16

Содержание аскорбиновой кислоты
в морфо-функциональных зонах коркового вещества
надпочечников экспериментальных животных ($M \pm m$, усл. ед.)

Зона, мкм	Группа		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
	Один месяц		
Клубочковая	45,67 $\pm$ 4,63	50,86 $\pm$ 2,63	88,63 $\pm$ 12,50*
Пучковая	74,67 $\pm$ 6,49	86,14 $\pm$ 7,31	135,88 $\pm$ 27,20
	Пять месяцев		
Клубочковая	60,23 $\pm$ 1,33	44,14 $\pm$ 5,19*	44,02 $\pm$ 2,31*
Пучковая	86,54 $\pm$ 3,52	62,20 $\pm$ 2,33	86,50 $\pm$ 3,51
	Семь месяцев		
Клубочковая	60,03 $\pm$ 1,15	49,21 $\pm$ 4,02*	42,31 $\pm$ 2,29*
Пучковая	71,25 $\pm$ 0,33	86,42 $\pm$ 2,73*	70,33 $\pm$ 4,09

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Поступление с питьевой водой кремния в концентрации 15–16 мг/л в течение семи месяцев существенно изменяет морфологию эндокринных островков поджелудочной железы и надпочечников, что, естественно, затрагивает их функцию.

Достаточно интересные результаты были получены при оценке иммунных органов экспериментальных животных после одного месяца эксперимента. Изменения в лимфоидных органах крыс первой опытной группы характеризовались статистически значимым увеличением площади герминативных центров лимфоидных узелков селезёнки в 1,4 раза, увеличением активности гидролитических ферментов, статистически значимым повышением содержания липофусцина в макрофагах красной пульпы селезёнки ($2,07 \pm 0,02$ усл. ед. и $1,48 \pm 0,01$ усл. ед. для первой опытной и контрольной групп соответственно). В красной пульпе селезёнки крыс, получавших кремний с питьевой водой, отмечалось также большое количество мегакариоцитов на разных стадиях развития. Вопрос о природе мегакариоцитов селезёнки, в том числе и белых лабораторных крыс [8], неоднократно обсуждался в литературе, но, к сожалению, однозначного ответа никто так и не дал. Одной из причин появления клеток такой морфологии является эмбриоплез – необычный биологический процесс, при котором клетка проникает в другую живую клетку и, в отличие от фагоцитоза, когда поглощенная клетка погибает от лизосомальных ферментов макрофагов, сохраняет свою жизнеспособность внутри другой, может выйти в любое время без каких-либо структурных или функциональных отклонений ни для одной из них [21]. Мегакариоциты и макрофаги (гистиоциты) в норме участвуют в эмбриоплезе, но этот процесс редко встречается, и о нем мало говорится в литературе. Отличить мегакариоциты красного костного мозга и сходные с ними по размерам и внешнему виду клетки Пирогова – Ларгханса можно на молекулярном уровне с использованием методов иммуногистохимии [21], и, безусловно, необходимы дальнейшие исследования для интерпретации появления мегакариоцитов в селезёнке крыс, получавших с питьевой водой кремний.

В тимусе этих же крыс наблюдалось выраженное увеличение количества макрофагов в корковом и мозговом веществе долек тимуса, доли телец Гассалья, количества тучных клеток в междольковых перегородках тимуса, вокруг сосудов под капсулой, а также размеров тучных клеток. Морфологические изменения, активность гидролитических ферментов и количество липофусцинов в селезёнке крыс второй опытной группы были однотипны с животными первой опытной группы, но у животных первой опытной группы активность щелочной фосфатазы статистически значимо уменьшалась в мозговом веществе долек тимуса и увеличивалась в корковом веществе долек тимуса по сравнению с контрольной группой [16; 30]. Можно полагать, что вода, содержащая кремний, вызывает стимуляцию макрофагов и лимфоидных структур иммунных органов [3] с истощением антиоксидантной активности макрофагов, о чем свидетельствует статистически значимое увеличение в них содержания липофусцина [1].

Полученные нами данные достаточно убедительно свидетельствуют о том, что кремний, регулярно поступающий с питьевой водой в различных концентрациях, не может не оказывать влияния на эндокринную систему и, соответственно, на минеральный, жировой, липоперекисный и углеводный обмены. Динамика изменения показателей, характеризующих данные обмены, а также результаты морфометрических исследований свидетельствуют, что животные, получавшие воду с кремнием, находятся в условиях длительного пролонгированного стресса. Через инсулин в организме реализуются многочисленные контрэффекты по отношению к регуляторному влиянию катехоламинов и глюкокортикоидов [14]. В то же время у животных, получавших с питьевой водой кремний, отмечалась максимальная активность перекисного окисления липидов, которая рассматривается как следствие стресса [12].

Результаты, полученные в ходе этих многолетних экспериментов, явились предпосылкой к тому, что в дальнейших исследованиях пристальное внимание стало уделяться лимфоидным органам и макрофагам в них.

Литература к главе 3

1. Абрамова Ж. И., Оксенгендлер Г. И. Человек и антиокислительные вещества. Л. : Наука, 1985. 230 с.
2. Вайсфельд И. Л., Кассиль Г. Н. Гистамин в биохимии и физиологии. М. : Наука, 1981. 277 с.
3. Васильев Н. В. Очерки о роли кроветворной ткани в антителообразовании. Томск : Изд-во Том. ун-та, 1975. С. 23–50.
4. Влияние гипербарической оксигенации на обмен биогенных аминов при экспериментальном антракосиликозе / Ю. Н. Талакин [и др.] // Гигиена труда и профессиональные заболевания. 1988. № 12. С. 57–58.
5. Галениеце А. П., Заке И. Ф. Влияние силикогеля на морфологические и биохимические показатели крови в клинике и эксперименте // Ревматизм: (клетки и коллоиды, корреляции и закономерности) : [сб. ст.]. Рига, 1966. С. 157–161.
6. Заке И. Ф. Сдвиги липидного обмена под действием перорального введения силикогеля и последующего введения яичного желтка // Ревматизм: (клетки и коллоиды, корреляции и закономерности) : [сб. ст.]. Рига, 1966. С. 115–118.
7. Заке И. Ф., Галениеце А. П. Влияние силикогеля на гепариновое число крови и гепариноциты // Материалы Конференции по физиологии, биохимии, фармакологии и клиническому применению гепарина. М., 1965. С. 34–35.
8. Идентичны ли мегакариоциты селезёнки белых лабораторных крыс мегакариоцитам костного мозга? / Е. В. Любаева [и др.] // Морфологические ведомости. 2017. Т. 25, № 3. С. 69–73.
9. Кулинский В. И., Ольховский И. А. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов // Успехи современной биологии. 1992. № 5–6. С. 697–714.
10. Маянский А. Н., Пикуза О. И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань : Магариф, 1993. 192 с.
11. Медне И. Ф., Галениеце А. П. Функциональная связь кремния и гепариноцитарной системы // Тучные клетки соединительной ткани : материалы симп. Новосибирск : Наука, 1968. С. 73–77.
12. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. М. : Наука, 1981. 278 с.
13. Науменко Е. В., Попова Н. К. Серотонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы. Новосибирск : Наука, 1975. 218 с.

14. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск : Наука, 1983. 233 с.

15. Разумовская Н. А. Влияние соединений кремния на состояние холестерин-белковых комплексов в организме животных // Сборник работ по силикозу. Свердловск, 1960. Вып. 2. С. 203–212.

16. Сапожников С. П., Карышев П. Б., Милованов В. Г. Морфофункциональные изменения лимфоидной ткани крыс при поступлении кремния с питьевой водой // Тезисы докладов всесоюзной школы-семинара молодых ученых, изучающих морфологию иммунных органов. Запорожье, 1990. С. 13.

17. Селье Г. Концепция стресса как мы ее представляем в 1976 году // Новое о гормонах и механизме их действия : сб. ст. Киев : Наукова думка, 1977. С. 27–51.

18. Ткачук В. В. Регуляция кальцием аденилатциклазной системы сердца // Кальций – регулятор метаболизма : сб. науч. тр. Томск, 1987. С. 25–37.

19. Эйдеман Г. Ф. О влиянии гепарина на уровень сахара в крови // Материалы Конференции по физиологии, биохимии, фармакологии и клиническому применению гепарина. М., 1965. С. 34–35, 121–122.

20. Экспериментальный сахарный диабет : роль в клинич. диабетологии / В. Г. Баранов [и др.]. Л. : Наука, 1983. 240 с.

21. Emperipolosis – a review [Электронный ресурс] / V. Rastogi [et al.] // Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014. Vol. 8, № 12. PP. ZM01–ZM2. URL: https://www.jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2014&volume=8&issue=12&page=ZM01&issn=0973-709x&id=5299 (дата обращения: 12.04.20).

22. Free radicals as endogenous histamine releasers / P. Mannaloni [et al.] // Agents and actions. 1988. Vol. 23. PP. 129–142.

23. Human alveolar macrophage growth factor for fibroblasts; regulation and partial characterization / P. Bitlerman [et al.] // The Journal of Clinical Investigation. 1982. Vol. 70. PP. 806–822.

24. Junnila S. K. Nanocolloidal amorphous silica in drinking water as an autoimmunity trigger in Finland // Medical Hypotheses. 2011. Vol. 77, № 5. PP. 815–817.

25. Junnila S. K. Type 1 diabetes epidemic in Finland is triggered by zinc-containing amorphous silica nanoparticles // Medical Hypotheses. 2015. Vol. 84, № 4. PP. 336–340.

26. Kalisnik M., Kham-Lindtner T., Zorc-Pleskovic R. The efferent blood calcium levels on the follicular and parafollicular cell in the rat thyroid glands // General and Comparative Endocrinology. 1987. Vol. 66, № 1. P. 42.

27. Kraeuter S. L., Schwertz K. Blood and niast cell histamine levels in magnesium – dificient mats // The Journal of Nutrition. 1980. Vol. 10, № 5. PP. 852–858.

28. Morris D. L. Minireview: Emerging Concepts in Islet Macrophage Biology in Type 2 Diabetes // Journal of Molecular Endocrinology. 2015. Vol. 29, № 7. PP. 946–962.

29. Participation of Gonads in Pulmonary Silicosis / M. Ruse [et al.] // Zeitschrift fur die Gesamte Innere Medizin und Ihre Grenzgebiete. 1976. Vol. 31 (9). PP. 281–284.

30. Sapozhnikov S. P., Karischef P. B. The question of the role silicon of drinkingwater in the development of same patomorphological and wio-chemical displasmentol tentative animals // Trace Elements in Man and Animals 7 : Abstracts of the Seventh International Symposium on Trace Elements in Man and Animals (Yugoslavia, Dubrovnik, May 20–25. 1990). [S. I.], 1991. P. 129.

31. Spontaneous cytotoxicity of macrophages against pancreatic islet cells / B. Appels [et al.] // The Journal of Immunology. 1989. Vol. 142, № 11. PP. 3803–3808.

32. The influence of inorganic silicon (Si) on pituitary-thyroid axis / J. Najda [et al.] // Biological Trace Element Research. 1993. Vol. 37, № 2–3. PP. 101–106.

33. The role of Macrophages in T Cell-mediated Autoimmune Diabetes in Nonobese Diabetic Mice [Электронный ресурс] / H. S. Jun [et al.] // The Journal of Experimental Medicine. 1999. Vol. 189, № 2. PP. 347–358. URL: <https://rupress.org/jem/article/189/2/347/7840/The-Role-of-Macrophages-in-T-Cell-mediated> (дата обращения: 20.05.20)

34. Unanue E. R. Macrophages in Endocrine Glands, with Emphasis on Pancreatic Islets // Microbiology Spectrum. 2016. Vol. 4, № 6. PP. 1–7.

Глава 4

ТИМУС

4.1. Общеморфологическая характеристика тимуса

Окраска срезов тимуса гематоксилином и эозином позволила при световой микроскопии увидеть, что в разделенных междольковыми корковыми перегородками дольках тимуса крыс обеих групп хорошо различаются корковое (более темное) и мозговое (светлое) вещество, но форма и расположение в дольке мозгового вещества неодинаковы у крыс опытной и контрольной групп [4].

У животных контрольной группы мозговое вещество долек, как правило, одно на дольку, округло-полигональное, занимает преимущественно центр дольки (52,2% всех долек), в то время как в дольках тимуса крыс из опытной группы мозговое вещество расположено фрагментарно (70,3% всех долек), при этом в центре дольки находится более крупная структура, несколько малых фрагментов округлой формы расположены по периферии дольки. Кроме того, часто дольки сливаются в более крупные структуры, и тогда в дольке наблюдается одно отросчатое, вытянутой формы мозговое вещество [4].

При проведении морфометрического исследования обнаружено, что у животных контрольной группы площадь мозгового и коркового вещества долек тимуса составила $0,50 \text{ мм}^2 \pm 0,05 \text{ мм}^2$ и $1,68 \text{ мм}^2 \pm 0,11 \text{ мм}^2$ соответственно при общей площади дольки $2,18 \text{ мм}^2 \pm 0,15 \text{ мм}^2$, а у животных опытной группы данные показатели составили $0,57 \text{ мм}^2 \pm 0,05 \text{ мм}^2$ и $2,04 \text{ мм}^2 \pm 0,13 \text{ мм}^2$ при общей площади дольки $2,61 \text{ мм}^2 \pm 0,15 \text{ мм}^2$ [4]. Происходит незначительное увеличение общей площади долек тимуса за счет увеличения площади коркового вещества ($p < 0,05$). У животных опытной группы соотношение площади коркового к площади мозгового вещества в дольках тимуса в 1,28 раза превышает таковое в контрольной группе (5,93 и 4,64 соответственно) [4].

Таким образом, в тимусе белых лабораторных крыс при поступлении соединения кремния с питьевой водой наблюдается изменение морфологии тимусных долек [4].

Сходная морфологическая картина наблюдалась и в тимусе других животных – лабораторных мышей и кроликов (серия 6, серия 8, серия 9 экспериментов).

Наши данные согласуются с результатами, полученными ранее [15] при сходных условиях постановки эксперимента. Следовательно, конкретные морфологические изменения, происходящие в тимусе, являются результатом длительного поступления водорастворимого соединения кремния с питьевой водой *ad libitum* [4].

После двух месяцев поступления с питьевой водой кремния в некоторых долях тимуса крыс наблюдалось тотальное обеднение их лимфоцитами. Морфометрически площади долек тимуса, которые были полностью лишены лимфоцитов коркового и мозгового вещества, были сравнимы в обеих группах и находились в пределах 15–20% общей площади тимических долек. В таких долях средняя площадь ядер клеток была равна $10,26 \text{ мкм}^2 \pm 0,24 \text{ мкм}^2$, средняя площадь жировых клеток – $95,80 \text{ мкм}^2 \pm 7,91 \text{ мкм}^2$ в группе, получавшей кремний, в то время как соответствующие значения в контрольной группе составляли $11,19 \text{ мкм}^2 \pm 0,23$ и $73,95 \text{ мкм}^2 \pm 6,25 \text{ мкм}^2$. У крыс опытной группы среднее количество жировых клеток на единицу площади коркового вещества долек тимуса ($0,04 \text{ мм}^2$) было значительно ($p < 0,05$) выше, чем в контрольной группе ($88,03 \pm 10,33$ и $47,16 \pm 4,27$ клеток соответственно), и среднее количество ядер клеток на единицу площади ($0,04 \text{ мм}^2$) было определённо ($p < 0,05$) ниже, чем в контрольной группе ($100,71 \pm 4,32$ и $118,64 \pm 4,09$ ядер соответственно). Отличительная черта тимического циторетикулама у крыс, подвергавшихся воздействию кремния, связана с количеством и размером жировых клеток, что свидетельствует о том, что кремний способен ускорять процессы физиологической инволюции в тимусе.

Через девять месяцев эксперимента тимус лабораторных крыс, получавших кремний с питьевой водой, претерпевает макроморфологические изменения. Так, его абсолютный и относительный вес составляет в среднем $0,31 \text{ г}$ ($0,01\%$), в то время как в контрольной группе – $0,76 \text{ г}$ ($0,16\%$). Уменьшение относительного веса тимуса косвенно подтверждает его жировое перерождение, которое заключается в том, что почти все долики тимуса представлены эпителиальной сетью, обеднённой лимфоцитами. В тех долях, что сохранили свою структуру, междольковые корковые перегородки значительно расширены, заполнены жировой тканью, в корковом веществе наблюдаются конгломераты из не-

скольких жировых клеток. Наблюдается разобщение коркового и мозгового вещества долек тимуса, что характерно для возрастной инволюции тимуса, в том числе и у человека [11]. Кроме того, дольки с выраженными морфо-функциональными зонами трансформируются в гомогенные островки лимфоидной ткани. Видимо, процесс «ухода лимфоцитов» начинается с периферии долек (рис. 1). Кроме того, отличительной особенностью тимуса крыс подопытной группы является появление в корковом веществе долек органа единичных лимфоидных узелков.

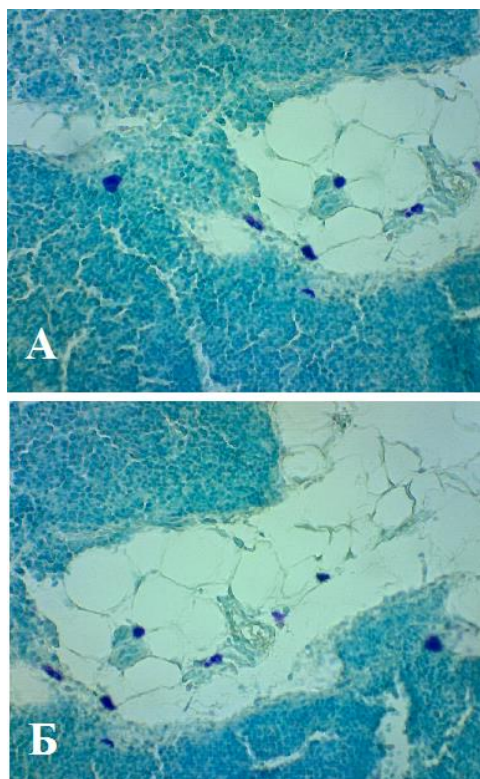


Рис. 1. Тимус крысы, получавшей питьевую воду с соединением кремния в течение девяти месяцев. Окраска по методу Гимза. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 40. Ок. 10:

А – в корковом веществе дольки тимуса видно скопление жировых клеток. Б – обеднение лимфоцитами коркового вещества дольки тимуса, расширение междольковой корковой перегородки

Выраженные множественные лимфоидные узелки через два месяца от начала эксперимента (рис. 2) были обнаружены в тимусе и при проведении других экспериментальных исследований: серия 4, серия 10, серия 11. Аналогичные структуры у животных из контрольных групп за все годы проведения экспериментов на обоих сроках были выявлены лишь у одного животного.

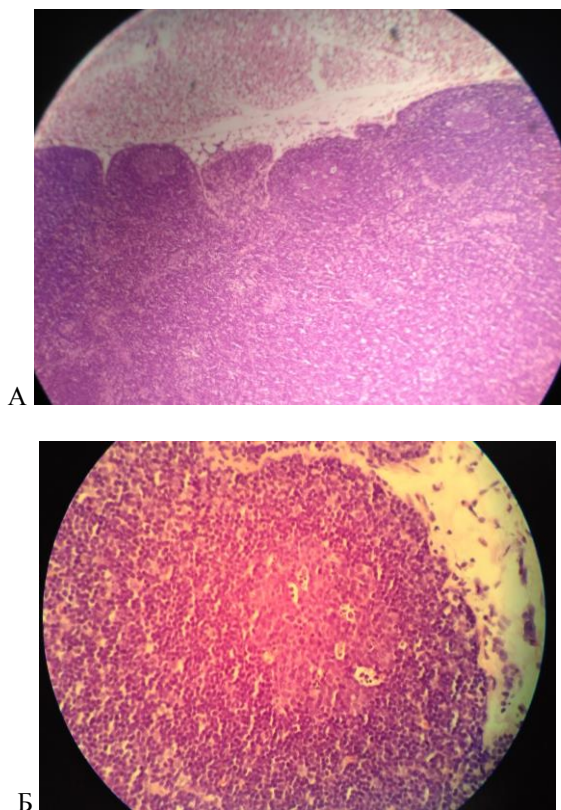


Рис. 2. Лимфоидные узелки в тимусе крысы, получавшей питьевую воду с соединением кремния в течение девяти месяцев. Окраска гематоксилином и эозином. Микроскоп МИКМЕД-5:
 А – в корковом веществе дольки тимуса видны лимфоидные узелки ($\times 100$). В прилежащей дольке наблюдается обеднение коркового циторетикулула лимфоцитами. Б – в герминативном центре лимфоидного узелка видны макрофаги с апоптотическими тельцами ($\times 400$)

Диоксид кремния стимулирует образование Th1-субпопуляции Т-хелперов [25; 30; 35]. У человека Th1-субпопуляция продуцирует IFN γ , который в свою очередь активирует макрофаги через индукцию рецепторов IL-2 [37], усиление на их поверхности экспрессии антигенов МНС-II класса супрессирует пролиферацию Т- и В-лимфоцитов [33].

Цитокинами хелперов Th1 также являются TNF- β и IL-2, который, в свою очередь, запускает синтез и секрецию некоторых лимфокинов: IFN γ , IL-4, IL-6, активирует цитотоксические эффекты Т-лимфоцитов [4].

Можно сделать заключение, что длительное (два месяца) жизни крысы соответствует 8,67 годам жизни человека [3] употребление кремния с питьевой водой в максимально допустимой ГОСТом концентрации приводит к морфологическому переждению тимуса, ускоряя его старение.

4.2. Тучные клетки тимуса

При окраске срезов тимуса по методу Унна и по методу Гимза в капсуле и корковых перегородках тимуса хорошо определяются тучные клетки (рис. 3). Соединительная ткань корковых перегородок практически не окрашивалась. Лимфоциты имели голубой цвет, тучные клетки окрашивались в различные оттенки сине-фиолетового цвета. Визуально морфологическая картина тучных клеток в тимусе крыс, получавших и не получавших соединение кремния в течение двух месяцев, не имеет резких отличий [4].

Количество тучных клеток, окрашенных полихромным толуидиновым синим, в междольковых корковых перегородках на поле зрения (при увеличении $\times 900$) в контроле составило в среднем $2,32 \pm 0,19$ клетки на поле зрения, в опыте – $2,19 \pm 0,21$ клетки [4].

Средняя площадь тучных клеток тимуса крыс из контрольной группы составила $72,83 \text{ мкм}^2 \pm 1,63 \text{ мкм}^2$, из опытной – $67,86 \text{ мкм}^2 \pm 2,05 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$). Распределение тучных клеток по их размерам представлено в табл. 17. У крыс, получавших с питьевой водой кремний, в тимусе увеличивается доля малых клеток при снижении количества клеток среднего размера ($p < 0,05$).

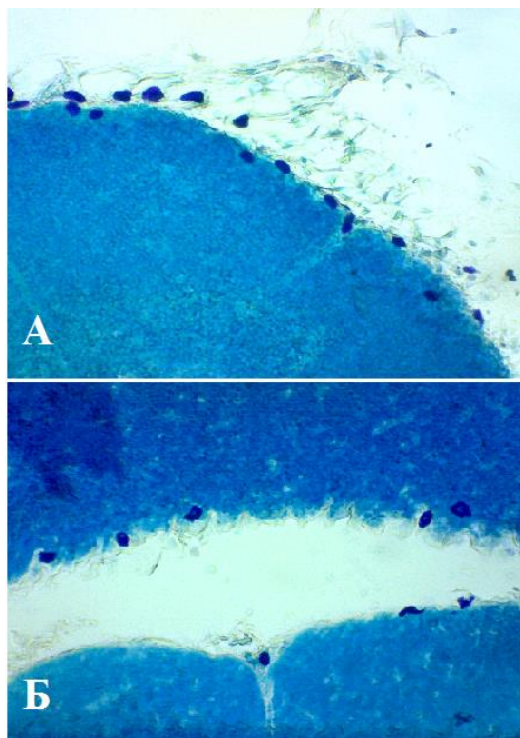


Рис. 3. Тучные клетки в тимусе лабораторных крыс после девяти месяцев эксперимента. Окраска по методу Гимза. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 40. Ок. 10:

А – тимус животного контрольной группы. Б – тимус животного, получавшего кремний с питьевой водой

Таблица 17
Распределение тучных клеток по размеру

Размер тучных клеток	Доля тучных клеток, %	
	Контроль	Опыт
Малые (менее 41,39 мкм ²)	13,78	25,78*
Средние (41,40–104,26 мкм ²)	72,98	59,86
Большие (104,27–135,56 мкм ²)	9,46	10,88
Очень большие (более 135,57 мкм ²)	3,78	3,74

* СЗР с контрольной группой, $p < 0,05$.

Тинкториальные характеристики тучных клеток тимуса крыс опытной и контрольной групп заметно отличались. Для животных контрольной и опытной групп доля тучных клеток с ортохромной окраской составила 14,6 и 13,7%, с метахромазией β -1 – 25,92 и 10,8% ($p < 0,001$), β -2 – 36,2 и 31,6%, β -3 – 23,3 и 43,9% соответственно ($p < 0,001$) [4].

Сравниваемые группы отличались и по количеству клеток с разной визуализацией гранул. Так, доля тучных клеток, в которых гранулы не визуализировались, составила для контрольной и опытной групп 40,3 и 6,3% ($p < 0,001$) соответственно; доля тучных клеток с плотным их расположением – 30,9 и 24,7%, а с рыхлым – 19,3 и 47,5% соответственно ($p < 0,001$) [4].

В клетках с рыхлым расположением гранул очень часто можно было увидеть ядро, которое в клетках с плотным расположением гранул визуализировалось не всегда. Доля тотально дегранулировавших тучных клеток у животных контрольной группы составила 9,4%, у крыс, получавших кремний, – 21,0% ($p < 0,05$) [4].

Размеры тучных клеток, а также их тинкториальные свойства [19, 40] свидетельствуют об их функциональной активности [4] (табл. 18).

Таблица 18

Зависимость размеров тучных клеток
от их тинкториальных свойств

Группа крыс	Средние размеры тучных клеток, мкм^2			
	ортохромные	β_1	β_2	β_3
Контроль	$68,17 \pm 4,45$	$73,67 \pm 2,67$	$76,47 \pm 2,54$	$69,18 \pm 4,11$
Опыт	$53,83 \pm 4,39^*$	$81,22 \pm 6,20$	$74,50 \pm 3,45$	$64,11 \pm 5,64$

* СЗР с контрольной группой, $p < 0,05$.

Ортохромные тучные клетки тимуса крыс, получавших с питьевой водой кремний, меньше по размеру, чем ортохромные тучные клетки в тимусе крыс контрольной группы. Замечено, что увеличение степени метахромазии несколько меняет среднюю площадь тучных клеток в сторону увеличения, одна-

ко с переходом с β_2 - на β_3 -метахромазию площадь тучных клеток уменьшается [4].

Данные, отраженные в табл. 19, показывают, что тучные клетки, в которых ядро не визуализируется, имеют меньшие размеры, и это не зависит от воздействия кремния. Обращает на себя внимание и тот факт, что тучные клетки тимуса крыс, получавших с питьевой водой кремний, имеют меньшие размеры по сравнению с тучными клетками тимуса крыс контрольной группы [4; 5].

Таблица 19

Средние размеры тучных клеток в зависимости
от расположения гранул и визуализации ядра

Признак тучных клеток		Размер тучных клеток, $\mu\text{км}^2$	
		Контроль	Опыт
Гранулы	Плотно расположены	$71,13 \pm 1,83$	$66,16 \pm 2,58^*$
	Рыхло расположены	$76,57 \pm 3,31$	$73,03 \pm 2,91$
Ядро	Визуализируется	$79,50 \pm 2,13^{**}$	$75,19 \pm 2,52^{**}$
	Не визуализируется	$63,17 \pm 2,35$	$52,74 \pm 3,02$

* СЗР с контрольной группой, $p < 0,05$.

** СЗР с контрольной группой, $p < 0,001$.

Так, при неизменном количестве тучных клеток в корковых перегородках тимуса крыс, подвергшихся воздействию соединения кремния, поступающего в организм животных с питьевой водой, происходит уменьшение их размеров, внутри клетки изменяется расположение гранул (становится более рыхлым), возрастает доля ортохромных и β_3 -метахроматичных клеток.

Данные по тучным клеткам, представленные выше, в основном подтверждают таковые, полученные в эксперименте несколькими годами ранее [5]. Сходство заключается в отсутствии различий по количеству тучных клеток в поле зрения у животных, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, а также в уменьшении средних размеров обнаруженных тучных клеток в тимусе в 1,1 раза ($p < 0,05$) [5].

Зарубежные морфологи часто используют для обнаружения тучных клеток метод Гимза, при котором тучные клетки также

метахроматичны, но метахромазию и степень дегрануляции тучных клеток по результатам этих двух методов сравнивать нельзя, поскольку они разнятся в силу гистохимических особенностей используемых в них красителей [7; 9], и поэтому количество дегранулирующих тучных клеток, выявленных методом Гимза, меньше, чем количество дегранулирующих тучных клеток, выявленных по методу Унна. Данная особенность отмечалась и другими авторами [1]. Полученные нами данные хорошо согласуются и с результатами изучения действия диоксида кремния на тучные клетки *in vitro* [16; 39].

При повторном эксперименте (серия 4, серия 5) мы уделили внимание тучным клеткам тимуса, окрашенным по методу Гимза. Обнаружено, что через два месяца (серия 4) воздействия количество (316 клеток крыс опытной группы и 213 – контрольной) и размеры тучных клеток в тимусе животных сравниваемых групп сопоставимы. Распределение размеров тучных клеток по методу сигмальных отклонений также не выявило статистически значимых различий: доля малых клеток составила 15 и 15%, средних – 70 и 73%, больших – 15 и 12% соответственно.

Через девять месяцев (серия 5) употребления питьевой воды с кремнием в тимусе крыс, получавших с питьевой водой кремний, количество тучных клеток на поле зрения ($\times 900$) составило $3,00 \pm 0,16$ штук, в тимусе крыс контрольной группы – $2,70 \pm 0,13$ штук, средняя площадь тучных клеток крыс контрольной группы оказалась в 1,2 раза меньше. Кроме того, у крыс, получавших с питьевой водой кремний, увеличивается доля больших и очень больших клеток (в 1,2 и 3,7 раза соответственно).

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что у животных, получавших с питьевой водой соединение кремния, наблюдается временная реакция, проявляющаяся в уменьшении размеров тучных клеток, на фоне увеличения количества дегранулирующих тучных клеток через два месяца воздействия [4; 5] и увеличение количества тучных клеток, а также их размеров через девять месяцев.

Таким образом, тучные клетки тимуса экспериментальных животных статистически значимо реагируют на поступ-

ление водного кремния в течение двух и девяти месяцев количеством, изменением внутреннего расположения гранул, степенью созревания кислых гликозаминогликанов в них и степенью дегрануляции.

4.3. Макрофаги тимуса

Макрофаги (Iba-1-позитивные клетки) обнаруживаются в каждой из морфо-функциональных зон тимуса. Мозговое вещество долек тимуса выглядит несколько темнее коркового, в котором хорошо различимы отдельные клетки с большим количеством белка Iba-1. Максимальная концентрация Iba-1-позитивных клеток наблюдается на кортико-медуллярной границе долек тимуса, которая выглядит более тёмной. В корковом веществе долек тимуса, прилежащем к соединительнотканной корковой перегородке, также располагаются Iba-1-позитивные клетки.

В толще коркового вещества долек тимуса контрольной и опытной групп Iba-1-позитивные клетки разнообразны по размеру и форме, большинство из них с неровными краями и ярко выраженными отростками. Цитоплазматическая мембрана при этом окрашивается более интенсивно, чем цитоплазма. Визуально у крыс контрольной группы кортико-медуллярная граница долек тимуса представлена четким «ободком» вокруг мозгового вещества, а у крыс, получавших питьевую воду с кремнием, она достаточно «размыта» [4].

Морфометрия Iba-1-позитивных клеток показала следующее. В корковом веществе долек тимуса средние площади Iba-1-позитивных клеток для контрольной и опытной групп крыс сопоставимы ($77,31 \text{ мкм}^2 \pm 7,46 \text{ мкм}^2$ и $76,03 \text{ мкм}^2 \pm 4,40 \text{ мкм}^2$ соответственно) и в то время как на кортико-медуллярной границе долек тимуса они претерпевают существенные изменения. У крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев, статистически значимо увеличивается средняя площадь макрофагов тимуса ($123,79 \text{ мкм}^2 \pm 8,48 \text{ мкм}^2$ и $88,37 \text{ мкм}^2 \pm 4,37 \text{ мкм}^2$ соответственно, $p < 0,001$). Это может свидетельствовать о повышении их метаболической активности [20].

Денситометрические результаты оценки Iba-1-позитивных клеток тимуса представлены в таблице (табл. 20).

Таблица 20

Сравнительная характеристика интенсивности светопропускания Iba-1-позитивных клеток тимуса ($M \pm m$, усл. ед.)

Локализация белка	Контроль	Опыт
Корковое вещество долек тимуса		
Мембрана	$105,50 \pm 1,29$	$90,58 \pm 1,14$
Цитоплазма	$113,74 \pm 1,89^*$	$114,91 \pm 1,37^{**}$
Граница между корковым и мозговым веществом долек		
Мембрана	$94,23 \pm 0,68$	$90,56 \pm 1,12$
Цитоплазма	$124,64 \pm 0,99$	$125,21 \pm 1,53$

* СЗР ИСП мембраны и цитоплазмы Iba-1-позитивных клеток коркового вещества долек тимуса для контрольной группы, $p < 0,001$.

** СЗР ИСП мембраны и цитоплазмы Iba-1-позитивных клеток коркового вещества долек тимуса для опытной группы, $p < 0,001$.

Из табл. 20 видно, что интенсивность светопропускания цитоплазмы Iba-1-позитивных клеток является сопоставимой для крыс, получавших кремний с питьевой водой, и крыс из контрольной группы вне зависимости от локализации их в различных морфо-функциональных зонах тимуса [4].

В Iba-1-позитивных клетках тимуса крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, снижается интенсивность светопропускания мембраны и в корковом веществе, и на границе между корковым и мозговым веществом долек тимуса [4]. Для крыс контрольной группы интенсивность светопропускания мембраны макрофагов в корковом веществе долек тимуса составляет $105,50$ усл. ед. $\pm 1,29$ усл. ед., на кортико-медуллярной границе долек тимуса – $94,23$ усл. ед. $\pm 0,68$ усл. ед., для макрофагов крыс, получавших с питьевой водой кремний, она составляет $90,58$ усл. ед. $\pm 1,14$ усл. ед. и $90,56$ усл. ед. $\pm 1,12$ усл. ед. соответственно ($p < 0,001$).

Мы проследили, как изменяются коэффициенты корреляции между интенсивностью светопропускания и площадями клеток,

а именно: связь между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и площадью клетки (М-П), связь между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и интенсивностью светопропускания цитоплазмы (Ц-М), связь между интенсивностью светопропускания цитоплазмы и площадью клетки (Ц-П) [4].

Между денситометрическими характеристиками и размерами Iba-1-позитивных клеток фиксируются определённые коэффициенты взаимозависимости. Так, в корковом веществе долек тимуса показатели парной корреляционной связи М-П, Ц-М и Ц-П для контрольной группы равны 0,41, 0,65 и 0,41, а для опытной – 0,04, 0,22 и 0,24 соответственно [4].

На границе между корковым и мозговым веществом долек тимуса показатели М-П, Ц-М и Ц-П для контрольной группы равны 0,07, 0,41 и 0,03, а для опытной – 0,10, 0,04 и 0,28 соответственно, то есть поступление с питьевой водой кремния ведет к исчезновению положительно направленной связи слабой силы между интенсивностью светопропускания в мембране и в цитоплазме Iba-1-позитивных клеток [4].

От белка Iba-1 непосредственно зависит иммунореактивность макрофагов. Распределенный в цитоплазме, при активации макрофагов он перемещается в образующиеся мембранные складки, принимая участие в реорганизации актинового цитоскелета, особенно при индуцированном фагоцитозе [6].

Таким образом, поступление соединения кремния с питьевой водой в течение двух месяцев отражается на площади, интенсивности светопропускания мембраны и цитоплазмы Iba-1-позитивных клеток, локализующихся на кортико-медуллярной границе долек тимуса.

Через девять месяцев эксперимента (серия 5) в тимусе для идентификации макрофагов нами был применен непрямой иммуногистохимический метод, выявляющий молекулы CD68. Количество CD68-позитивных клеток в корковом веществе долек тимуса на поле зрения (при увеличении $\times 400$) составило для контрольной группы $34,00 \pm 3,99$, для опытной – $40,50 \pm 4,65$ штук. Кроме того, среднее расстояние между макрофагами на кортико-медуллярной границе долек тимуса у крыс контрольной группы составляет $3,54 \text{ мкм} \pm 0,36 \text{ мкм}$, в то время как у крыс, получав-

ших с питьевой водой кремний, $- 2,24 \text{ мкм} \pm 0,20 \text{ мкм}$. Увеличение количества макрофагов в корковом веществе тимуса может свидетельствовать о более выраженных процессах атрофии органа [18].

Для крыс, не получавших и получавших с питьевой водой кремний, средняя площадь макрофагов в корковом веществе долек тимуса составила $81,51 \text{ мкм}^2 \pm 2,53 \text{ мкм}^2$ и $87,17 \text{ мкм}^2 \pm 2,87 \text{ мкм}^2$, на кортикомедуллярной границе $80,47 \text{ мкм}^2 \pm 5,56 \text{ мкм}^2$ и $88,12 \text{ мкм}^2 \pm 9,38 \text{ мкм}^2$ соответственно, в мозговом веществе долек тимуса $- 68,18 \text{ мкм}^2 \pm 4,2 \text{ мкм}^2$ и $74,88 \text{ мкм}^2 \pm 5,25 \text{ мкм}^2$ соответственно. Заметно, что средняя площадь макрофагов тимуса крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, несколько больше, чем у крыс контрольной группы.

Таким образом, реакция макрофагов тимуса прямо пропорциональна сроку воздействия кремния на организм и хорошо согласуется с общеморфологическими изменениями тимуса, обнаруженными нами при окраске срезов органа гематоксилином и эозином [4].

4.4. Антигенпрезентирующие клетки тимуса

При проведении морфологических параллелей между гистологическими препаратами, полученными при постановке не прямой иммуногистохимической реакции с использованием антител к молекулам Iba-1 и МНС-II видно, что в обоих случаях позитивные клетки максимально сконцентрированы на кортикомедуллярной границе долек тимуса.

На кортико-медуллярной границе долек тимуса крыс обеих групп локализуются МНС-II позитивные макрофаги, их цитоплазматическая мембрана интенсивно окрашена в темно-коричневый цвет, цитоплазма светлая, слабо окрашена. Такие клетки единичны, в то время как подавляющее большинство Iba-1-позитивных клеток МНС-II-негативны.

Антигенпрезентирующие клетки на кортико-медуллярной границе долек тимуса крыс контрольной группы овально-округлой формы, с равномерно окрашенной коричневой цитоплазмой, образуют ровный ряд, располагаясь на некотором рас-

стоянии друг от друга. Цитоплазматическая мембрана этих клеток имеет более темный оттенок.

У крыс, получавших с питьевой водой кремний, антигенпрезентирующие клетки на границе коркового и мозгового вещества образуют не один, а два-три ряда. Есть некоторые участки, на которых ряды клеток прерываются, образуя зазоры. По сравнению с антигенпрезентирующими клетками тимуса крыс контрольной группы виден контраст между окраской цитоплазмы (светло-коричневая) и цитоплазматической мембраной, которая интенсивно окрашена в коричневый цвет [4].

Результаты проведенного подсчета количества антигенпрезентирующих клеток на 100 мкм границы между корковым и мозговым веществом долек тимуса и последующей морфометрии полностью подтвердили визуальную морфологическую картину [4].

Так, на 100 мкм границы между корковым и мозговым веществом долек тимуса у крыс контрольной группы в среднем приходится $1,29 \pm 0,10$ клетки, их средняя площадь равна $30,23 \text{ мкм}^2 \pm 2,13 \text{ мкм}^2$, в то время как у крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, на ту же единицу длины приходится $1,62 \pm 0,05$ клетки ($p < 0,05$) со средней площадью $35,58 \text{ мкм}^2 \pm 1,94 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$) [4].

Интенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны и цитоплазмы антигенпрезентирующих клеток крыс контрольной группы равна $94,03 \pm 1,18$ усл. ед. и $96,52 \pm 1,8$ усл. ед. соответственно, для крыс, получавших с питьевой водой кремний, – $98,99 \pm 9,01$ усл. ед. и $102,26 \pm 1,35$ усл. ед. ($p < 0,05$) соответственно [4].

Корреляционный анализ показал, что между характеристиками антигенпрезентирующих клеток на кортико-медуллярной границе долек тимуса наличествуют следующие связи: М-П, Ц-М и Ц-П для контрольной группы равны 0,05; 0,64; -0,15 соответственно, а для опытной – 0,25; 0,67; 0,16 соответственно [4].

Дендритные клетки, находящиеся на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса, а также в мозговом веществе, имеют на своей поверхности антигены МНС-II, что делает возможным их участие в процессах отрицательной селекции

Т-лимфоцитов с последующим апоптозом лимфоцитов [4]. Увеличение количества антигенпрезентирующих на кортико-медуллярной границе долек тимуса у животных, получавших с питьевой водой кремний, свидетельствует об усилении отрицательной селекции в тимусе, которая, возможно, отражается и на изменении функциональной активности макрофагов на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса [4]. Согласно литературным данным, наночастицы как диоксида кремния, так и кристаллического кремния оказывают сильное влияние на статус активации дендритных клеток кишечника мышей – в них увеличивается экспрессия МНС-II, CD80, CD86 [4].

Дьячковой И.М. и Смородченко А.Т. (2012) в тимусе были исследованы каспаз-9-позитивные клетки, количество которых находится в обратной зависимости от выраженности апоптотических процессов [4]. Интересно отметить, что после употребления животными питьевой воды с метасиликатом натрия у них наблюдается тенденция к уменьшению количества этих клеток на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса. Количество каспаз-9- и МНС-II-позитивных клеток с разных сторон характеризует одни и те же процессы, что делает весомым предположение об усилении апоптотических процессов, протекающих на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса [4].

Таким образом, употребление с питьевой водой кремния приводит к увеличению количества и размеров МНС-II-позитивных клеток на границе между корковым и мозговым веществом долек тимуса лабораторных крыс [4].

4.5. Биоаминсодержащие структуры тимуса

Для выявления нейромедиаторных биогенных аминов в структурах тимуса были применены два метода: метод Фалька для выявления серотонина и катехоловых аминов и метод Кросса для выявления гистамина. Люминесцентная морфология долек тимуса в целом сходна для обоих методов [4].

В дольках тимуса можно различить корковое и мозговое вещество, которое отграничено от коркового вещества долек

рядом люминесцирующих гранулосодержащих клеток. Биоминсодержащие клетки можно найти также и в других структурно-функциональных компартментах тимуса. В мозговом веществе они определяются в единичном количестве, в подкапсульной зоне и глубоких слоях коркового вещества их довольно много. Некоторое количество гранулосодержащих клеток можно найти в междольковых корковых перегородках [4].

Через два месяца эксперимента при изучении срезов тимуса крыс контрольной группы, обработанных по методу Кросса, мозговое вещество в дольках тимуса крыс контрольной группы преимущественно округло-полигональное (рис. 4А). Оно светится слабо и находится, как правило, в центре дольки, ограничено рядом ярко-жёлтых, с лимонным оттенком, люминесцирующих гранулосодержащих клеток, в которых можно различить отдельные гранулы [4].

В корковом веществе долек, прилежащем к корковым перегородкам, параллельно перегородкам выявляются цепочки чуть менее ярких охристо-жёлтых гранулосодержащих клеток. В корковом веществе при этом выявляются хаотично расположенные охристо-жёлтые люминесцирующие клетки, яркость свечения которых визуальнo сопоставима с таковой клеток, прилежащих к корковым перегородкам.

В дольках тимуса крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, форма мозгового вещества неправильная, иногда края мозгового вещества располагаются вплотную к корковым перегородкам. Односложному описанию такая форма не поддается, потому что на периферии дольки могут вплотную располагаться до четырёх-пяти округлых фрагментов, они словно перетекают из одного в другой, из-за чего создается картина, очень напоминающая «олимпийские кольца» [4]. Острова окружены лимонного цвета ярко-жёлтыми люминесцирующими гранулосодержащими клетками, в которых иногда возможно различить отдельные гранулы (рис. 4Б). В корковом веществе долек, прилежащем к корковым перегородкам, выявляются чуть менее яркие охристо-жёлтые гранулосодержащие клетки, составляющие непрерывистую цепь. В корковом веществе долек тимуса в хаотичном порядке располагаются люминесцирующие охристо-жёлтые клетки [4].

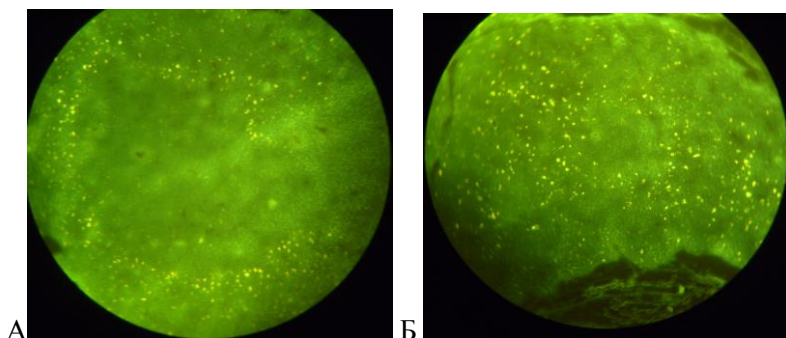


Рис. 4. Люминесцентная морфология тимуса. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮАММ-1. Об. 4. Ок. 10:

А – тимус лабораторной крысы контрольной группы после двух месяцев эксперимента. Мозговое вещество дольки тимуса полигонально-округлой формы. Б – тимус лабораторной крысы, получавшей кремний с питьевой водой в течение двух месяцев эксперимента. Фрагменты мозгового вещества образуют структуру, напоминающую «олимпийские кольца»

Интенсивность люминесценции гистамина в содержащих его клетках и их микроокружении через два месяца после начала эксперимента приведена в табл. 21.

Таблица 21

Интенсивность люминесценции гистамина в структурах долек тимуса лабораторных крыс ($M \pm m$, усл. ед.)

Название люминесцирующих структур долек тимуса	Контроль	Опыт
ЛГК кортико-медуллярной границы	$20,88 \pm 0,82$	$21,75 \pm 0,78$
МКО ЛГК кортико-медуллярной границы	$5,90 \pm 0,88$	$7,79 \pm 0,77$
ЛГК коркового вещества	$13,02 \pm 1,17$	$14,67 \pm 1,16$
МКО ЛГК коркового вещества	$4,11 \pm 0,99$	$6,45 \pm 0,84$
ЛГК подкапсульной зоны	$13,34 \pm 1,61$	$13,34 \pm 0,89$
МКО ЛГК подкапсульной зоны	$4,29 \pm 0,94$	$5,87 \pm 0,68$
Мозговое вещество	$5,77 \pm 1,02$	$7,48 \pm 0,75$

По данным табл. 21, интенсивность люминесценции в гранулосодержащих клетках гистамина для крыс обеих групп сопоставима практически по всем структурно-функциональным компартментам тимуса.

Поскольку гистаминсодержащие клетки тимуса могут быть аминокпоглощающими или аминокпродуцирующими [14], имеют значение и абсолютные показатели интенсивности люминесценции гистамина, и относительные.

Чтобы получить представление об относительной люминесценции гистамина, мы соотнесли интенсивность его люминесценции между микроокружением содержащих этот биоамин клеток и интенсивностью люминесценции гистамина в самих этих клетках для обеих групп лабораторных крыс.

Это соотношение составило для кортико-медуллярной зоны $29,54 \pm 3,60\%$ и $37,64 \pm 3,15\%$, для коркового вещества – $31,08 \pm 6,18\%$ и $43,23 \pm 2,52\%$, для подкапсульной зоны – $31,61 \pm 4,69\%$ и $43,64 \pm 2,77\%$ для контрольной и опытной групп крыс соответственно, что можно расценивать как тенденцию к повышению относительной интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении всех содержащих его клеток тимуса у крыс, получавших в течение двух месяцев соединение кремния с питьевой водой.

Имеют место данные, что в люминесцирующих гранулосодержащих клетках и их микроокружении как в корковом веществе долек тимуса, так и на кортико-медуллярной границе долек тимуса обнаружена тенденция к снижению интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина [10]. То есть между гистамином с одной стороны и катехоловыми аминами и серотонином с другой стороны в микроокружении люминесцирующих гранулосодержащих клеток при адаптации к поступлению кремния на данном сроке воздействия намечаются реципрокные взаимоотношения.

На сроке девять месяцев, независимо от примененного метода люминесцентной гистохимии, у крыс из группы, получавшей кремний, можно заметить прилегание к тимусным долькам «оголенной» эпителиальной стромы, имеющей сетчатую структуру. Сохраняется обнаруженная ранее особенность люминесцентной морфологии тимусной дольки с участием гистаминсодержащих клеток – «олимпийские кольца» (рис. 5).

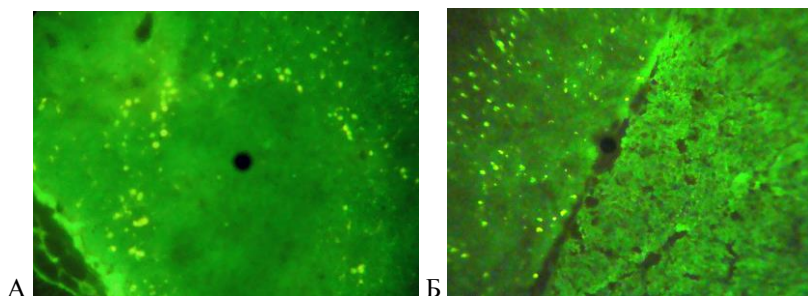


Рис. 5. Люминесцентная морфология тимуса. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮМАМ-1. Об. 4. Ок. 10:

А – тимус лабораторной крысы контрольной группы после девяти месяцев эксперимента. Мозговое вещество дольки тимуса округлой формы. Долька, лишенная люминесцирующих гранулярных клеток. Б – тимус лабораторной крысы, получавшей кремний с питьевой водой в течение девяти месяцев. Долька с фрагментами мозгового вещества, образующими «олимпийские кольца»

При обработке срезов тимуса по методу Фалька – Хилларпа отличие состояло лишь в визуальном изменении яркости свечения гранулосодержащих клеток и их микроокружения, а также в изменении глубины оттенка жёлтого на более насыщенный. Интенсивность люминесценции катехоловых аминов, серотонина и гистамина в структурно-функциональных компартментах тимуса и в их микроокружении через девять месяцев поступления в организм водорастворимого соединения кремния приведена в табл. 22–24.

Таблица 22

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурно-функциональных компартментах тимуса
($M \pm SD$, усл. ед.)

ИЛ катехоламинов, усл. ед.	Контроль	Опыт	Опыт/ контроль
Корковое вещество долек тимуса			
ЛГК	$3,05 \pm 1,89$	$2,65 \pm 0,89$	0,87
МКО ЛГК	$1,08 \pm 0,85$	$1,63 \pm 0,81^*$	1,51*
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,41 \pm 0,23$	$0,63 \pm 0,28^{**}$	1,54**

Окончание табл. 22

ИЛ катехоламинов, усл. ед.	Контроль	Опыт	Опыт/ контроль
Кортико-медуллярная граница долек тимуса			
ЛГК	$4,17 \pm 2,61$	$5,54 \pm 2,02^*$	1,33*
МКО ЛГК	$0,87 \pm 0,66$	$1,53 \pm 0,80^{**}$	1,73**
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,28 \pm 0,19$	$0,33 \pm 0,22$	1,18
Мозговое вещество долек тимуса			
Лимфоциты	$0,84 \pm 0,67$	$1,28 \pm 1,02^*$	1,52*

*СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Таблица 23

Интенсивность люминесценции серотонина
в структурно-функциональных компартментах тимуса
(M ± SD, усл. ед.)

ИЛ серотонина, усл. ед.	Контроль	Опыт	Опыт/ контроль
Корковое вещество долек тимуса			
ЛГК	12,85 ± 4,80	11,46 ± 5,19**	0,89
МКО ЛГК	4,74 ± 1,37	5,86 ± 2,46*	1,24*
МКО ЛГК/ЛГК, %	0,40 ± 0,15	0,55 ± 0,20	1,36
Кортико-медуллярная граница долек тимуса			
ЛГК	23,37 ± 9,80	34,42 ± 15,19	1,47
МКО ЛГК	6,53 ± 4,18	8,25 ± 2,07	1,26
МКО ЛГК/ЛГК, %	0,27 ± 0,12	0,28 ± 0,11	1,01
Мозговое вещество долек тимуса			
Лимфоциты	3,96 ± 1,41	6,25 ± 1,44**	1,58**

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Таблица 24

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурно-функциональных компартментах тимуса
($M \pm SD$, усл. ед.)

ИЛ гистамина, усл. ед.	Контроль	Опыт	Опыт/контроль
Корковое вещество долек тимуса			
ЛГК	$3,92 \pm 0,91$	$1,93 \pm 0,72^*$	0,49*
МКО ЛГК	$3,20 \pm 0,85$	$1,50 \pm 0,57^*$	0,47*
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,82 \pm 0,09$	$0,78 \pm 0,11$	0,95
Кортико-медуллярная граница долек тимуса			
ЛГК	$3,29 \pm 0,99$	$2,56 \pm 0,85^*$	0,78*
МКО ЛГК	$1,70 \pm 0,43$	$1,66 \pm 0,51$	0,97
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,55 \pm 0,12$	$0,67 \pm 0,15^*$	1,22*
Мозговое вещество долек тимуса			
Лимфоциты	$1,65 \pm 0,50$	$1,60 \pm 0,39$	0,97

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Анализ этих таблиц позволяет судить о сопряженных процессах, происходящих со структурами, содержащими серотонин и катехоловые амины. Происходит абсолютное и относительное увеличение интенсивности люминесценции катехоловых аминов в микроокружении гранулосодержащих клеток в корковом веществе долек тимуса, при этом содержание данных биогенных аминов в самих гранулосодержащих клетках является сопоставимым.

На кортико-медуллярной границе долек тимуса наблюдается абсолютное увеличение интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина в гранулосодержащих клетках и их микроокружении, при этом относительное содержание катехоловых аминов и серотонина в микроокружении гранулосодержащих клеток является сопоставимым. Интенсивность люминесценции катехоловых аминов в мозговом веществе долек тимуса возрастает в 1,54 раза ($p < 0,001$), а серотонина – в 1,58 раза ($p < 0,001$).

Что касается гистамина, то статистически значимо отличается только относительное содержание данного диамина в микроокружении содержащих его клеток на кортико-медуллярной границе долек тимуса.

Заметим, что изменение интенсивности люминесценции гистамина в гранулосодержащих клетках и в их микроокружении в корковом веществе долек тимуса прямо противоположно таковому для серотонина и катехоловых аминов. Наметившаяся было после двух месяцев поступления реципрокность между гистамином с одной стороны и катехоловыми аминами и серотонином с другой стороны значительно возрастает с увеличением длительности воздействия кремния, поступающего в организм с питьевой водой [4].

Таким образом, через девять месяцев после поступления с питьевой водой кремния в значительной степени изменяется состояние микроокружения содержащих биоамины клеток коркового и мозгового вещества долек тимуса по интенсивности люминесценции катехоловых аминов.

Полученные нами данные, касающиеся существенных изменений в люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в тимусе [4], заслуживают пристального внимания.

Гистаминсодержащие люминесцирующие гранулосодержащие клетки коркового вещества долек тимуса, судя по характеру их распределения, имеют моноцитарно-макрофагальное происхождение [4]. В 2001 г. гистаминсодержащие люминесцирующие гранулосодержащие клетки на кортико-медуллярной границе долек тимуса были идентифицированы как дендритные макрофаги [12]. Можно утверждать, что МНС-II-позитивные клетки на кортико-медуллярной границе долек тимуса относятся к лимфоидному ряду, а не к миелоидному, поскольку не наблюдается морфологической идентичности Iba-1- и МНС-II-позитивных клеток. Лимфоидные дендритные клетки и принимают участие в отрицательной селекции в тимусе [4].

Гистаминовая реакция тимуса на В-зависимый антиген является механизмом формирования супрессии Т-иммунитета в ответ на стимуляцию В-зависимого иммунитета и заключается в том, что гистамин при участии дендритных клеток переключает Т-хелперы с Th1 на Th2 путь [4], и наоборот, когда гиста-

мина нет, то дендритными клетками вырабатываются цитокины Th1 профиля [31]. Под влиянием гистамина, действующего на H₁- и H₂-рецепторы, прямо пропорционально количеству этого диамина увеличивается экспрессия CD86 незрелыми дендритными клетками [4]. Кроме того, на дендритных клетках, как на моноцитах и натуральных киллерах, имеются рецепторы H₄, гистамин также индуцирует в незрелых дендритных клетках повышение экспрессии МНС-II и продукцию IL-6, IL-8 [4].

Еще в 1961 г. были получены данные о том, что гистамин в дозе 50 пикограмм на мл способен усиливать фагоцитоз макрофагов [36], однако оказалось, что на клетках иммунной системы присутствует большое количество гистаминовых рецепторов и влияние гистамина зависит от вовлеченных рецепторов. Так, *in vitro* обработка макрофагов гистамином в различных концентрациях показала, что гистамин может ингибировать хемотаксис, фагоцитоз, продукцию супероксид-анионов и продукцию TNF- α и IL-12 макрофагами через рецепторы H₂-гистамина [29].

Одним из значительных депо гистамина являются тучные клетки, обнаруженные в соединительной ткани практически всех органов. Тучные клетки, секретируя гистамин, оказывают большое влияние на проницаемость сосудов, принимают участие в поддержании биоаминного гомеостаза при катаболизме, участвуют в процессах, связанных с опухолевым ростом, а также с развитием ряда воспалительных и аутоиммунных заболеваний [4]. Плейотропное действие гистамина объясняется тем, что на различных клетках, в том числе и на клетках иммунной системы, присутствуют четыре типа рецепторов к гистамину [23].

Считают, что метакромезия (степень связывания красителя с кислыми радикалами гликозаминогликана (-COO или -SO₃H группами), тесно связана с количеством свободных кислых радикалов, количеством сульфатных групп, силой связи комплекса мукополисахарид – белок (в нашем случае – гепарин – белок) [4].

Предполагают, что при любой этиологии патологического процесса нормальная популяция тучных клеток может быть за-

мещена незрелыми тучными клетками, которые обладают иными цитофизиологическими характеристиками [4]. Вероятно, уменьшение размеров тучных клеток, обнаруженное нами при выявляющей кислые мукополисахариды окраске полихромным толуидиновым синим по методу Унна, при поступлении с питьевой водой кремния может быть косвенным свидетельством появления новой популяции [4].

Повышение интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении содержащих его клеток в структурно-функциональных компартментах долек тимуса при поступлении с питьевой водой кремния в течение двух месяцев можно связать с тем, что он высвобождается из тучных клеток. Это подтверждает большая, чем в контроле, степень метакромазии тучных клеток, которая является показателем нахождения в них высокосульфатированных гликозаминогликанов, в том числе и гепарина [6]. Содержание гепарина в тучных клетках прямо пропорционально содержанию в них гистамина, который способен выделяться из тучных клеток без их классической дегрануляции [4]. Однако не исключено, что высокая степень метакромазии обусловлена тем, что кремний способен ускорять синтез гликозаминогликанов, в том числе и гепарина [4].

Обнаруженные нами через два месяца воздействия водорастворимого соединения кремния изменения, а именно увеличение интенсивности люминесценции гистамина в клетках на кортикомедуллярной границе долек тимуса и в их микроокружении, позволяют предположить, что поступление с питьевой водой кремния приводит к активации антигенпрезентирующих клеток, в данном случае дендритных клеток лимфоидного ряда посредством гистамина, который выделяется из тучных клеток. Это приводит к изменению свойств макрофагов, располагающихся на кортико-медуллярной границе долек тимуса. Через девять месяцев интенсивность люминесценции гистамина падает в содержащих его клетках коркового вещества и в их микроокружении. Это позволяет предположить, что такое снижение обусловлено тем, что организм пытается снизить ингибирующее влияние гистамина на продукцию супероксид-анионов макрофагами, а она значительно угнетается при воздействии кремния, для которого макрофаги являются «мишенью».

Имеют место данные, что параллельно с инволюцией тимуса, прямо пропорционально возрасту крыс, в тимусе увеличивается плотность нервных волокон. При этом количественное определение моноаминов выявило стабильное содержание в норме норадреналина и серотонина в возрасте от 8 до 27 месяцев. Эти данные свидетельствуют о том, что тимус способен поддерживать норадренергическую иннервацию при инволюции и что эти волокна обеспечивают обогащенную катехоламиновыми аминами микросреду для взаимодействия биоаминов с адренергическими рецепторами тимоцитов [21]. Для созревания лимфоцитов в тимусе необходимо присутствие норадреналина в микроокружении [32].

По нашим данным, концентрация катехоламиновых аминов и серотонина в микроокружении клеток на границе коркового и мозгового вещества, как раз в той самой микросреде, которая создается посредством открытого синапса в лимфоидных органах [2], у крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение девяти месяцев, оказалась в полтора раза выше, чем у крыс контрольной группы. Это может быть расценено как свидетельство того, что длительное употребление с питьевой водой соединения кремния увеличивает физиологический возраст тимуса и, возможно, всей нейроиммуноэндокринной системы.

При воздействии пропранолола (блокатора адренорецепторов) на культуру клеток, выделенную из тимуса взрослой крысы, увеличился апоптоз зрелых тимоцитов с высокой экспрессией CD3. В пользу такого специфического действия тимоцитов пропранолола свидетельствуют данные, полученные в результате анализа апоптоза тимоцитов в срезах тимуса крыс после химической симпатэктомии [26].

Наши исследования, касающиеся процессов апоптоза в корковом веществе долек тимуса под влиянием хорионического гонадотропина, показали, что количество клеток, экспрессирующих маркеры апоптоза, напрямую связано со снижением люминесценции катехоламиновых аминов в соответствующих структурно-функциональных компартментах тимуса [13]. Вероятно, повышение уровня катехоламиновых аминов в микроокружении лимфоцитов является не причиной физиологического старения органа, а его следствием.

В пользу того, что данное изменение интенсивности люминесценции катехоловых аминов в содежащих их клетках и их микроокружении касается не только тимуса, может свидетельствовать тот факт, что выделенные из организма хромаффинные клетки надпочечника быка при воздействии хризоитила ($3\text{MgO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) в течение нескольких минут продуцировали пяти-восьмикратное количество катехоловых аминов, их жизне-способность при этом не изменялась [34]. При добавлении к хризоитиловым волокнам хелатов, связывающих кальций и магний, их действие по увеличению секреции катехоловых аминов не изменилось. Авторы считают, что такое селективное действие хризоитила на клетки надпочечника может задействовать внутриклеточный кальций, и ставят вопрос о том, что в патогенезе асбестозов имеет значение катехоламиновый статус организма. Системное действие кремния на организм в целом не зависит от того, в каком виде (твердые частицы или водорастворимые соединения) он попадает в организм [17].

Перитонеальные макрофаги лабораторных крыс были предварительно обработаны адреналином (10 нг/мл), что значительно стимулировало иммунные ответы от LPS-стимулированных макрофагов, включая скорость фагоцитоза, фагоцитарный индекс, секрецию интерлейкинов $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-10 и экспрессию CD14 ($p < 0,05$). Авторы полагают, что механизм активации может быть связан с активацией CD14 на поверхности макрофагов [28].

Найдены доказательства синтеза и высвобождения катехоламинов в клеточной линии макрофагов RAW264.7, при этом уровень катехоламинов был низким в нестимулированных макрофагах, активация их липополисахаридом вызывала повышение синтеза мРНК для тирозин-гидроксилазы и увеличение внеклеточного норадреналина и внутриклеточного дофамина в течение 48 часов. Высокие концентрации дофамина или норадреналина снижали пролиферацию и увеличивали апоптоз макрофагов [24]. На макрофагах этой же линии была изучена антиоксидантная роль серотонина [41].

Если кремний активирует макрофаги, то можно было бы ожидать увеличения в них (люминесцирующих клетках коркового вещества долек тимуса) и в их микроокружении интенсив-

ности люминесценции катехоловых аминов, но в самих клетках интенсивность люминесценции катехоловых аминов снижена по сравнению с контролем, а в микроокружении — увеличена. Можно попытаться объяснить это тем, что внутри макрофагов существует система, которая предохраняет макрофаги от пагубного действия высоких концентраций катехоловых аминов, в то время как в микроокружении этих клеток могут находиться катехоловые амины нейтрального происхождения.

Наметившаяся было реципрокность в интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина с одной стороны и гистамина с другой стороны в структурно-функциональных компартментах долек тимуса после двух месяцев воздействия водорастворимого кремния через девять месяцев воздействия сменяется на прямо противоположную картину, которая к тому же становится ярко выраженной. Понятно, что роль каждого биогенного амина в данном случае, который представляет собой адаптацию тимуса к поступлению кремния с питьевой водой не может быть четко определена, потому что на иммунных клетках (лимфоцитах, тучных клетках, дендритных клетках и макрофагах) есть по нескольку типов рецепторов к каждому из перечисленных нейромедиаторных биогенных аминов [22; 23; 27; 38].

На данном этапе исследований мы не можем с уверенностью рассуждать о конкретном происхождении нейромедиаторных биогенных аминов в микроокружении (катехоламинсодержащие клетки, нервные волокна, тучные клетки, мозговое вещество надпочечников) содержащих их клеток, а также в мозговом веществе долек тимуса, как и вычленить отдельные компоненты в составе гетерогенного нейромедиаторного комплекса катехоловых аминов (адреналин, норадреналин, дофамин). Серотонин мог попасть в микроокружение содержащих его клеток как из нервных волокон, так и с кровью (из энтерохромаффинных клеток кишечника), а также из тучных клеток или из самих гранулодержащих клеток [22; 38]. Что касается происхождения гистамина, то, скорее всего, он высвобождается из тучных клеток [23].

Жаль, что глубокое понимание роли нейромедиаторных биогенных аминов в тимусе при адаптации его к поступлению водорастворимых соединений кремния находится вне компе-

тенции морфологов, но есть надежда, что полученные нами данные заинтересуют специалистов в области иммунофизиологии и смежных с ней дисциплин [8].

Результаты комплексного исследования по изучению адаптации тимуса к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев позволяет утверждать, что микроморфологическая реакция тимуса пропорциональна сроку воздействия микроэлемента. Изменения, затрагивающие количественные и качественные характеристики макрофагов и тучных клеток при участии нейромедиаторных биогенных аминов (катехоловых аминов, серотонина, гистамина), можно расценивать как ускорение физиологической инволюции органа.

Литература к главе 4

1. Атякшин Д. А., Бурцева А. С., Соколов Д. А. Оценка эффективности выявления тучных клеток в тощей кишке монгольских песчанок с помощью гистохимических методик // Журнал анатомии и гистопатологии. 2016. Т. 5, № 4. С. 85–89.
2. Взаимодействие нервной и иммунной систем. Молекулярно-клеточные аспекты / Е. А. Корнева [и др.]. СПб. : Наука, 2012. 173 с.
3. Гелашвили О. А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы // Саратовский научно-медицинский журнал. 2008. Т. 4, № 4. С. 125–126.
4. Гордова В. С. Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой : дис. ... канд. мед. наук. Чебоксары, 2014. 164 с.
5. Гордова В. С., Иванова Е. П., Сергеева В. Е. Тучные клетки при окраске толудиновым синим в эксперименте // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. 2018. № 2. С. 97–104.
6. Гордон Б. М. Цитобιοаминная система тимуса и адаптация. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2000. 241 с.
7. Гордон Д. С. Тинкториальные параллели тучных клеток // Макро-микроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 1981. С. 97–101.

8. Гордон Д. С., Сергеева В. Е., Зеленова И. Г. Нейромедиаторы лимфоидных органов (функциональная морфология). Л. : Наука, 1982. – 129 с.

9. Дьячкова И. М., Сергеева В. Е., Сапожников С. П. Исследование популяции тучных клеток тимуса при длительном воздействии соединений кремния и кальция // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И. Я. Яковлева. 2010. № 4. С. 50–55.

10. Дьячкова И. М., Сергеева В. Е., Сапожников С. П. Структурно-функциональное состояние тимуса лабораторных крыс, употреблявших питьевую воду с добавлением соединений кальция и кремния // Здравоохранение Чувашии. 2011. № 3. С. 48–52.

11. Ерофеева Л. М. Возрастные особенности тканевой структуры и клеточного состава тимуса человека // Морфологические ведомости. 2017. Т. 25, № 2. С. 21–26.

12. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами / Д. С. Гордон [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. Т. 132, № 7. С. 118–120.

13. Исследование катехоламинсодержащих структур тимуса мышей при введении хорионического гонадотропина / В. С. Гордова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 4. С. 85.

14. Любовцева Л. А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминсодержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 1993. 99 с.

15. Некоторые адаптационные реакции тимуса на поступление кальция и кремния с питьевой водой / И. М. Дьячкова [и др.]. Чебоксары : Изд-во Чуваш. ун-та, 2014. 140 с.

16. Роль активных форм кислорода в дегрануляции тучных клеток (обзор) / М. А. Челомбитко [и др.] // Биохимия. 2017. Т. 82, № 1. С. 19–34.

17. Сапожников С. П., Гордова В. С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. № 3. С. 3–13.

18. Старская И. С., Полевщиков А. В. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе // Иммунология. 2013. Т. 34, № 5. С. 271–277.

19. Тучные клетки тимуса как посредники в системе нейроиммунных взаимодействий / В. В. Гусельникова [и др.] // Медицинский академический журнал. 2013. Т. 13, № 3. С. 53–63.

20. Федорова Н. П. Морфологические основы защитно-приспособительных реакций соединительной ткани кожи и тимуса при повреждающих и корригирующих воздействиях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 25 с.

21. Bellinger D., Felten S. Y., Felten D. L. Maintenance of noradrenergic sympathetic innervation in the involuted thymus of the aged Fischer 344 rat // *Brain, Behavior and Immunity*. 1988. Vol. 2, № 2. PP. 133–150.

22. Beyond a neurotransmitter: The role of serotonin in inflammation and immunity / H. Wu [et al.] // *Pharmacological Research*. 2019. Vol. 140. PP. 100–114.

23. Borriello F., Iannone R., Marone G. Histamine Release from Mast Cells and Basophils // *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2017. Vol. 241. PP. 121–139.

24. Catecholamines in a macrophage cell line / S.W. Brown [et al.] // *Journal of Neuroimmunology*. 2003. Vol. 135, № 1–2. PP. 47–55.

25. Diesel exhaust, carbon black, and silica particles display distinct Th1/Th2 modulating activity / M. Van Ziverden [et al.] // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2000. Vol. 168, № 2. PP. 131–139.

26. Effects of catecholamines on thymocyte apoptosis and proliferation depend on thymocyte microenvironment / K. Radojević [et al.] // *Journal of Neuroimmunology*. 2014. Vol. 272, № 1–2. PP. 16–28.

27. Elenkov I. J. Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being // *Neurochemistry International*. 2008. Vol. 52, № 1–2. PP. 40–51.

28. Epinephrine Enhances the Response of Macrophages under LPS Stimulation / J. Zhou [et al.] // *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014. PP. 1–8.

29. Histamine inhibits chemotaxis, phagocytosis, superoxide anion production, and the production of TNF α and IL-12 by macrophages via H2-receptors / Y. Azuma [et al.] // *International Immunopharmacology*. 2001. Vol. 1, № 9–10. PP. 1867–1875.

30. IgG subclass responses in experimental silicosis / D. N. Weissman [et al.] // *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*. 2001. Vol. 20. Suppl. 1. PP. 67–74.

31. Increased antigen presentation and Th1 polarization in genetically histamine-free mice / I. Jelinek [et al.] // *International Immunology*. 2006. Vol. 19, № 1. PP. 51–58.

32. Kin N. W., Sanders V. M. It takes nerve to tell T and B cells what to do // *Journal of Leukocyte Biology*. 2006. Vol. 79. PP. 1093–1104.

33. Kirchner H. Interferons, a group of multiple lymphokines // *Springer Seminars Immunopathology*. 1984. Vol. 7, № 4. PP. 347–373.

34. Lemaire S., Lemaire I. Asbestos-elicited catecholamine secretion from isolated bovine adrenal chromaffin cells // *Life Sciences*. 1981. Vol. 29, № 11. PP. 1117–1124.
35. Lymphocytes, lymphokines, and silicosis / G. S. Davis [et al.] // *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*. 2001. Vol. 20. Suppl. 1. PP. 53–65.
36. Northover B. J. The effect of histamine and 5-hydroxytryptamine on phagocytosis of staphylococci in vitro by polymorphs and macrophages // *The Journal of Pathology and Bacteriology*. 1961. Vol. 82, № 2. PP. 355–361.
37. Recombinant interferon- γ induces interleukin 2 receptors in human peripheral blood monocytes / W. Holter [et al.] // *The Journal Immunology*. 1986. Vol. 136, № 6. PP. 2171–2175.
38. Serotonin: A Potent Immune Cell Modulator in Autoimmune Diseases [Электронный ресурс] / M. Wan [et al.] // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 186. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00186/full> (дата обращения: 23.05.20).
39. Silica-directed mast cell activation is enhanced by scavenger receptors / J. M. Brown [et al.] // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2007. Vol. 36. PP. 43–52.
40. The SNARE machinery in mast cell secretion [Электронный ресурс] / A. Lorentz [et al.] // *Frontiers in Immunology*. 2012. Vol. 3. P. 143. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00143/full> (дата обращения: 12.06.20).
41. Vašíček O., Lojek A., Číž M. Serotonin and its metabolites reduce oxidative stress in murine RAW264.7 macrophages and prevent inflammation // *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2020. Vol. 76, № 1. PP. 49–60.

Глава 5

СЕЛЕЗЁНКА

5.1. Общеморфологическая характеристика селезёнки

Просмотр препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, позволяет визуализировать в селезёнке лабораторных крыс капсулу, при этом хорошо различимы отходящие от капсулы трабекулы. Белая пульпа представлена лимфоидными узелками, находящимися на разных стадиях своего развития (первичные, вторичные, с разной степенью выраженности маргинальной зоны), периартериоларными лимфоидными муфтами, а также небольшими разрозненными скоплениями лимфоидной ткани в красной пульпе. Центральная артериола окружена периартериоларной лимфоцитарной муфтой. Во вторичных лимфоидных узелках видна темная мантийная зона, окружающая светлый герминативный центр. От красной пульпы мантийную зону, окруженную синусом, отделяет маргинальная зона.

Если сравнивать общую микроморфологическую картину селезёнки экспериментальных животных, то визуально в препаратах селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, заметно преобладание вторичных лимфоидных узелков с ярко выраженными герминативными центрами (рис. 6).

Действительно, доля вторичных узелков в селезёнке этих крыс составляет $80,1\% \pm 4,42\%$, а у крыс из контрольной группы данный показатель равен $62,65\% \pm 8,95\%$ ($p < 0,05$). Визуально вторичные лимфоидные узелки отличаются у крыс, получавших кремний с питьевой водой, герминативные центры кажутся больше, а мантийная зона – уже. Проведенная морфометрия подтвердила наблюдаемое явление (табл. 25).

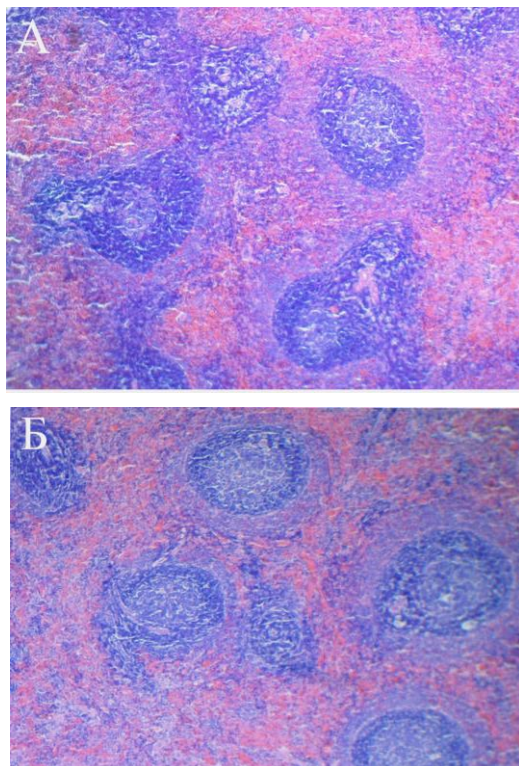


Рис. 6. Селезёнка белых нелинейных лабораторных крыс после двух месяцев эксперимента. Окраска: гематоксилин-эозин и альциановый синий. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 10. Ок. 10:
А – крыса из контрольной группы. Б – крыса, получавшая с питьевой водой кремний

Таблица 25

Морфометрические показатели вторичных лимфоидных узелков селезёнки лабораторных крыс ($M \pm m$)

Площадь морфо-функциональных зон	Группа	
	Контрольная	Опытная
Герминативная зона, мкм^2	$23407,2 \pm 1672,5$	$28011,2 \pm 1926,0$
Мантийная зона, мкм^2	$74711,9 \pm 4926,8$	$67141,6 \pm 3446,9$
Маргинальная зона, мм^2	$0,14 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$
Общая площадь узелка, мм^2	$0,24 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,01$

Данные таблицы свидетельствуют о том, что средняя общая площадь лимфоидных узелков и средняя площадь маргинальной зоны у крыс обеих групп одинаковы. Просматривается тенденция к увеличению абсолютных показателей средней площади герминативного центра и некоторому снижению средней площади мантийной зоны. Распределение морфофункциональных зон в узелках при этом не имеет статистически значимых отличий. Так, в среднем герминативный центр, мантийная и маргинальная зона занимают в лимфоидном узелке селезёнки крыс контрольной группы $10,58 \pm 0,82\%$, $32,07 \pm 0,85\%$, $57,35 \pm 1,06\%$, в то время как в лимфоидном узелке селезёнки крыс, получавших кремний, – $12,41 \pm 0,65\%$, $30,16 \pm 1,07\%$, $57,43 \pm 1,28\%$ соответственно.

Однако среднее соотношение в лимфоидных узелках селезёнки крыс площадей мантийной и герминативной зоны составляет для контрольной группы 3,56, а для опытной – 2,71 ($p < 0,05$).

При этом интересно обратить внимание на то, как изменяются корреляционные связи между площадями морфофункциональных зон: площадью герминативного центра и площадью мантийной зоны (Г-Мт), связь между площадью герминативного центра и площадью маргинальной зоны (Г-Мр), связь между площадью герминативного центра и общей площадью лимфоидного узелка (Г-У).

В лимфоидных узелках селезёнки показатели Г-Мт, Г-Мр и Г-У для крыс контрольной группы равны 0,17; 0,21 и 0,46, опытной – 0,51; 0,53 и 0,78. Другими словами, у крыс, получавших с питьевой водой кремний, наблюдается увеличение силы корреляционных связей, если речь идет о герминативной зоне. Усиливаются связи Г-Мт и Г-Мр, а также связь Г-У. Возможно, герминативные центры появляются в узелках с меньшим, чем в контрольной группе, размером. В то же время ослабевает сила связи Мт-Мр, которая в контроле равна 0,88, а в опыте – 0,69.

Повторный эксперимент (серия 4), проведенный через два года, позволил частично подтвердить представленные результаты. Было установлено, что средние размеры вторичных лимфоидных узелков селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, в 1,15 раза меньше, чем у крыс контрольной группы.

При этом распределение морфо-функциональных зон таково, что при отсутствии статистической значимости отличий средних площадей в абсолютных значениях в среднем герминативный центр, мантийная и маргинальная зона занимают в лимфоидном узелке селезёнки крыс контрольной группы $19,80 \pm 0,69\%$, $39,64 \pm 0,82\%$, $40,54 \pm 0,99\%$ соответственно, а в лимфоидном узелке селезёнки крыс, получавших кремний, – $18,57 \pm 0,85\%$, $37,14 \pm 1,11\%$, $44,22 \pm 1,15\%$ соответственно, причем разница показателей для маргинальной зоны является статистически значимой ($p < 0,05$).

Коэффициенты корреляции между площадями морфо-функциональных зон в узелках имеют аналогичную предыдущему эксперименту тенденцию. Так, в лимфоидных узелках селезёнки показатели Г-Мт, Г-Мр и Г-У для крыс контрольной группы равны 0,18, 0,31 и 0,18, а для опытной – 0,42, 0,46 и 0,66 соответственно [2]. Это значит, что у крыс, получавших с питьевой водой кремний, возрастает сила корреляционных связей, которые имеют отношение к герминативной зоне. Слабые связи положительной направленности, Г-Мт и Г-У, меняются на связи средней силы, а связь Г-Мр незначительно усиливается. Но, в отличие от предыдущего эксперимента, сила связи Мт-Мр в опытной группе возрастает (контроль – 0,31, опыт – 0,59).

По результатам двух экспериментов можно отметить, что кремний индуцирует появление герминативных центров в узелках с меньшей площадью, чем в контрольной группе.

Через девять месяцев эксперимента (серия 5) относительный средний вес селезёнки крыс подопытной и контрольной групп составил 0,31 и 0,21% соответственно. При оценке гистологических препаратов в группе с кремнием наблюдается «стирание границы» между красной и белой пульпой: увеличивается количество лимфоидных узелков на ранних сроках развития, при этом значительно уменьшается количество лимфоидных узелков, в которых четко просматриваются все морфо-функциональные зоны. Эти изменения, согласно литературе, отражают возрастные изменения в селезёнке крыс [5; 19; 48].

Кроме того, у крыс, получавших с питьевой водой кремний, белая пульпа может содержать конгломераты из двух-четырёх

лимфоидных узелков, связанных общей маргинальной зоной. Узелки при этом с неровными краями, деформированные. Проведенные морфометрические исследования показали, что имеется тенденция к некоторому уменьшению размеров вторичных лимфоидных узелков селезёнки. В лимфоидном узелке селезёнки крыс контрольной группы герминативный центр, мантийная и маргинальная зона занимают $7,61 \pm 1,38\%$, $43,50 \pm 2,28\%$, $48,88 \pm 1,85\%$ соответственно, а в лимфоидном узелке селезёнки крыс, получавших кремний, – $9,47 \pm 0,82\%$, $44,89 \pm 0,97\%$, $45,62 \pm 0,97\%$ соответственно.

Коэффициенты корреляции между площадями морфофункциональных зон в узелках при этом существенно меняются. Так, в лимфоидных узелках селезёнки показатели Г-Мт, Г-Мр и Г-У для крыс контрольной группы равны 0,47; 0,64 и 0,64, а для опытной – -0,01; -0,05 и 0,07 соответственно. То есть у крыс, получавших с питьевой водой кремний, наблюдается ослабление всех связей, что может являться показателем того, что у животных данной группы происходит нарушение формирования морфо-функциональных зон в узелках селезёнки. Сила связи Мт-Мр в контроле равна 0,73, в опыте – 0,58.

Вероятно, поступление с питьевой водой кремния сначала упорядочивает какие-то процессы, связанные с образованием герминативных центров в лимфоидных узелках, а затем происходит разобщение этих процессов. У крыс контрольных групп, наоборот, с возрастом усиливаются положительно направленные связи, которые отражают процессы, имеющие отношение к герминативным центрам лимфоидных узелков.

В самой первой серии экспериментов (серия 1), где крысы получали кремний с водопроводной и дистиллированной водой и задача проведения морфометрии не стояла, под световым микроскопом при окраске гематоксилином и эозином мы тоже наблюдали «рассыпание» морфологической структуры белой пульпы у лабораторных крыс всех групп, при этом визуально нарушение микроморфологии селезёнки было более выраженным для крыс, получавших с питьевой водой кремний, независимо от жёсткости воды, с которой он поступал в организм. Этот факт может выступать в пользу того, что

кремний в организме способствует ускорению возрастной инволюции селезёнки [5].

Имеет место исследование, посвященное изучению взаимосвязи между возрастом организма и чувствительностью его к поступлению наночастиц кремния [16]. Молодые, взрослые и старые крысы физиологически вдыхали воздух, который содержал наночастицы диоксида кремния в концентрации $24,1 \text{ мг/м}^3$, ежедневно в течение 40 минут на протяжении четырёх недель. Риск возникновения повреждения лёгких был следующим: молодые крысы более чувствительны к поступлению диоксида кремния, чем взрослые, но менее чувствительны, чем старые. Риск возникновения расстройств сердечно-сосудистой системы наблюдался только для группы старых крыс [16]. Авторы считают, что для разных возрастов могут потребоваться разные биомаркеры токсичности при вдыхании наночастиц кремния [16], и, возможно, это справедливо и для поступления кремния с питьевой водой.

Таким образом, поступление с питьевой водой кремния, безусловно, затрагивает процессы, связанные с формированием герминативных центров в лимфоидных узелках селезёнки, и, кроме того, способствует ускорению возрастной инволюции селезёнки.

5.2. Тучные клетки селезёнки

Гистологическая окраска депарафинированных срезов селезёнки крыс, получавших кремний с питьевой водой в течение двух месяцев, толуидиновым синим по методу Унна выявила в ней ортохромные (окрашенные в голубой цвет) участки белой пульпы – периартериоларные муфты, чуть светлее окрашиваются мантийные зоны лимфоидных узелков. Единичные тучные клетки располагаются под соединительнотканной капсулой, а также в красной пульпе [1]. У крыс из контрольной группы обнаруживаются в среднем одна-две клетки во всех срезах селезёнки (40–50 полей зрения при увеличении $\times 400$), у крыс, получавших с питьевой водой кремний, – одна клетка на 10 полей зрения (при увеличении $\times 400$). Иммерсионное увеличение

($\times 900$) показало, что тучные клетки селезёнки крыс обеих групп метакрохроматичны, со степенью β_2 - и β_3 -метакромазии.

Тучные клетки в селезёнке крыс после девяти месяцев поступления с питьевой водой кремния при окрашивании срезов по методу Гимза также обнаруживаются преимущественно в соединительнотканной капсуле, окружающей селезёнку, единичные тучные клетки видны в красной пульпе селезёнки. Количество тучных клеток в селезёнке для обеих групп сопоставимо и составляет в среднем 1 клетку на 10 полей зрения (при увеличении $\times 400$). Тотальная дегрануляция наблюдалась для одной седьмой части популяции тучных клеток контрольной группы и отсутствовала у животных, получавших с питьевой водой кремний. Для крыс контрольной и опытной групп доля азурофильных тучных клеток с плотным расположением гранул составила 57,1 и 33,3%, с рыхлым расположением гранул – 14,3 и 22,2% соответственно, клетки, в которых гранулы не визуализировались – 28,6 и 44,5% соответственно.

Таким образом, обнаруженное нами уменьшение доли дегранулирующих тучных клеток селезёнки, выявленных в окраске по Гимза, вполне согласуется с данными, полученными *in vitro* при воздействии на популяцию тучных клеток диоксидом кремния [42].

5.3. Макрофаги селезёнки

Макрофаги (Iba-1-позитивные клетки) идентифицируются во всех морфо-функциональных зонах селезёнки крыс (рис. 7, 8, 9). В светло-коричневой, насыщенной макрофагами красной пульпе хорошо визуализируются светлые лимфоидные узелки и светлые диффузные скопления лимфоидной ткани [1]. При микроскопировании ($\times 400$) обнаруживается, что красная пульпа совсем не однородна: макрофаги располагаются в ней неравномерно, хаотичными скоплениями, больше выраженными в местах образования новых лимфоидных узелков. Цитоплазматическая мембрана Iba-1-позитивных клеток окрашена в темный оттенок коричневого, цитоплазма – в самый светлый его оттенок или вообще не окрашивается.

В некоторых узелках Iba-1-позитивные клетки равномерно, в один ряд, заполняют собой маргинальный синус. Также визуализируются периартериальные макрофагальные муфты – макрофаги, окружающие артерии красной пульпы [1].

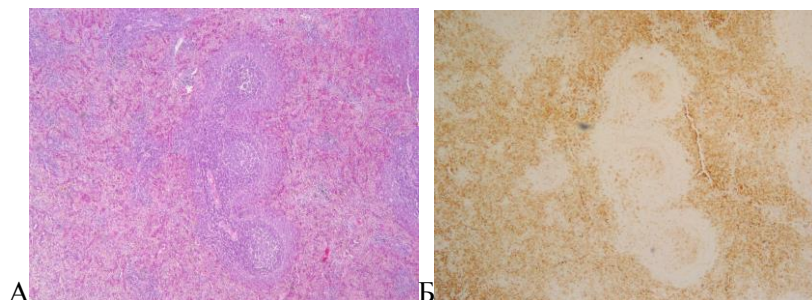


Рис. 7. Морфологическая параллель. Селезёнка крысы, получавшей кремний с питьевой водой в течение девяти месяцев. Микроскоп Leica DM2000. Об. 10. Ок. 10:

А – окраска гематоксилином и эозином. Б – иммуногистохимический метод, выявляющий Iba-1-позитивные клетки

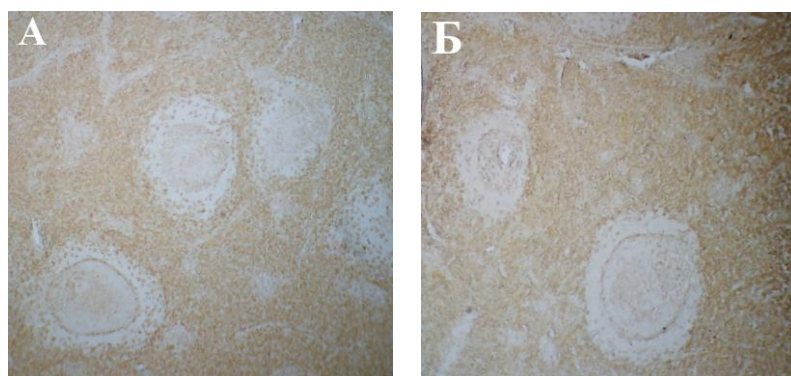


Рис. 8. Iba-1-позитивные клетки селезёнки экспериментальных животных. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 10. Ок. 10:

А – животного контрольной группы. Б – животного из группы, получавшей питьевую воду с кремнием. 1 – красная пульпа; 2 – маргинальная зона лимфоидных узелков

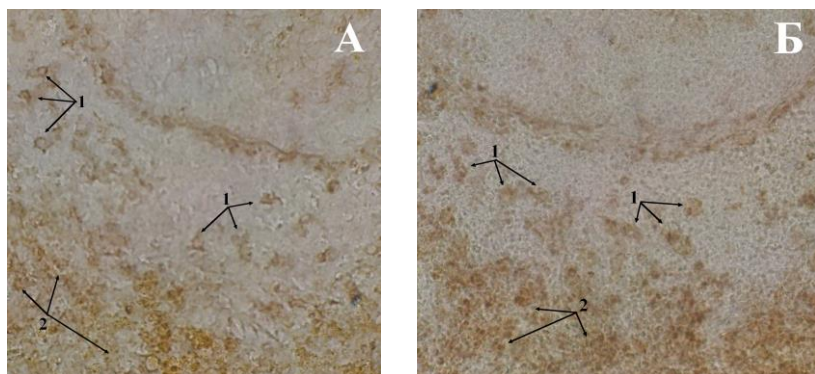


Рис. 9. Iba-1-позитивные клетки селезёнки экспериментальных животных. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 40. Ок. 10:
А – животного контрольной группы. Б – животного из группы, получавшей питьевую воду с кремнием. 1 – Iba-1-позитивные клетки маргинальной зоны белой пульпы; 2 – Iba-1-позитивные клетки красной пульпы

Макрофаги видны в маргинальной зоне, где концентрируются преимущественно по наружному ее краю. Эти клетки разнообразны по размеру и форме, большинство из них с неровными краями и ярко выраженными отростками, экспрессия в них белка Iba-1 неравномерная. Коричневого цвета цитоплазматическая мембрана окрашена более интенсивно, чем цитоплазма, которая не окрашивается вовсе или имеет светлый оттенок коричневого цвета. Маргинальные зоны лимфоидных узелков селезёнки животных контрольной и опытной групп не имеют визуальных отличий [1]. Можно обнаружить Iba-1-позитивные клетки и в герминативных центрах лимфоидных узелков.

Морфометрия Iba-1-позитивных клеток селезёнки крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, показала некоторые отличия. В селезёнке крыс обеих экспериментальных групп Iba-1-позитивные клетки красной пульпы, по сравнению с клетками маргинальной зоны, больше по размерам [2]. У крыс контрольной группы размер макрофагов маргинальной зоны составляет $73,45 \text{ мкм}^2 \pm 2,38 \text{ мкм}^2$, а макрофагов красной пульпы – $83,86 \text{ мкм}^2 \pm 2,45 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$). У крыс, получавших с питьевой водой кремний, размер макрофагов маргинальной зо-

ны составляет $62,01 \text{ мкм}^2 \pm 1,80 \text{ мкм}^2$, а макрофагов красной пульпы – $74,74 \text{ мкм}^2 \pm 2,64 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$) [1]. Макрофаги маргинальной зоны селезёнки крыс опытной группы в 1,17 раза ($p < 0,001$) меньше таковых у крыс контрольной группы, а средняя площадь Iba-1-позитивных клеток красной пульпы в 1,12 раза ($p < 0,05$) меньше, чем у крыс контрольной группы.

Денситометрические результаты оценки Iba-1-позитивных клеток селезёнки представлены в табл. 26. Независимо от поступления с питьевой водой кремния интенсивность светопропускания цитоплазмы Iba-1-позитивных клеток в красной пульпе больше, а цитоплазматической мембраны – меньше [1].

Таблица 26

Сравнительная характеристика интенсивности светопропускания Iba-1-позитивных клеток селезёнки ($M \pm m$, усл. ед.)

Локализация белка	Контроль	Опыт
Маргинальная зона		
Мембрана клеток	$102,81 \pm 0,79^*$	$102,29 \pm 0,99^*$
Цитоплазма	$124,00 \pm 0,92^{**}$	$121,99 \pm 1,02^*$
Красная пульпа		
Мембрана клеток	$95,37 \pm 0,73$	$93,02 \pm 0,85^{***}$
Цитоплазма	$130,43 \pm 0,07$	$126,36 \pm 1,22^{***}$

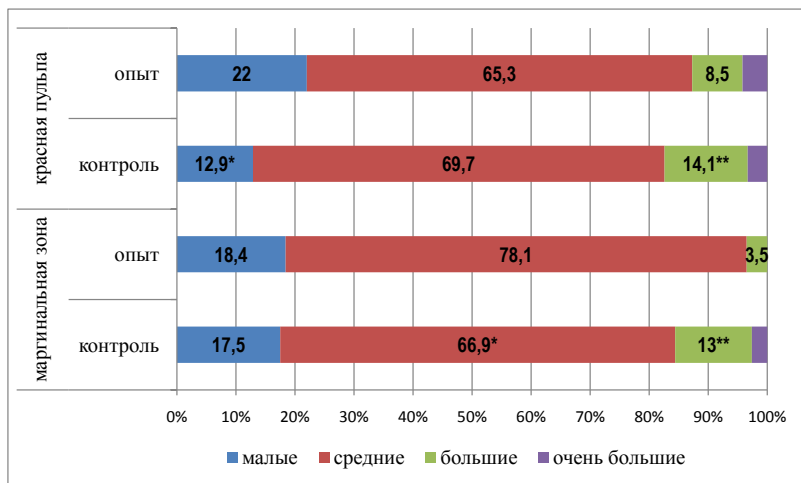
* СЗР показателей клеток данной группы с клетками красной пульпы статистически значимы, $p < 0,001$.

** СЗР показателей клеток данной группы с клетками красной пульпы статистически значимы, $p < 0,05$.

*** СЗР показателей между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Согласно литературным данным [22], макрофаги красной пульпы и макрофаги маргинальной зоны белой пульпы являются представителями разных субпопуляций.

В маргинальной зоне селезёнки количество макрофагов на единицу площади (10000 мкм^2) у крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев, несколько увеличивается ($8,91 \pm 0,46$ клеток против $7,94 \pm 0,38$ клеток). Кроме уменьшения абсолютных значений средних размеров Iba-1-позитивных клеток маргинальной зоны селезёнки и в красной пульпе наблюдается перераспределение макрофагов по размерам [1] (рис. 10).



* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Рис. 10. Распределение по размерам Iba-1-позитивных клеток в функциональных зонах селезенки

Распределение макрофагов в селезенке крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев, отличается как в маргинальной зоне белой пульпы селезенки (возрастает доля макрофагов среднего размера), так и в красной пульпе (возрастает доля макрофагов малого размера). Доля больших макрофагов статистически значимо снижается как в маргинальной зоне белой пульпы, так и в красной пульпе [1].

Интересны некоторые изменения, касающиеся корреляционных связей между характеристиками макрофагов. В маргинальной зоне белой пульпы селезенки крыс контрольной группы показатели корреляционных связей М-П, Ц-М и Ц-П составляют 0,31; 0,36 и 0,01 соответственно, в маргинальной зоне белой пульпы селезенки крыс, получавших с питьевой водой кремний, они составляют 0,01; 0,42 и -0,04 соответственно. Слабая связь положительной направленности ($r = 0,31$) между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны макрофагов и их размерами, наблюдаемая для контрольной группы, перестает проявляться ($r = 0,01$) после воздействия кремния [1].

В красной пульпе селезёнки крыс контрольной группы показатели корреляционной связи М-П, Ц-М и Ц-П составляют 0,11; 0,47 и 0,17 соответственно, в красной пульпе селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, -0,15; 0,68 и 0,20 соответственно [1]. Слабая связь положительной направленности ($r = 0,47$) между интенсивностью светопропускания цитоплазмы и интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны макрофагов, наблюдаемая для контрольной группы, после воздействия кремния меняется на связь средней силы ($r = 0,68$) [1].

Таким образом, поступление кремния в течение двух месяцев с питьевой водой приводит к уменьшению средних размеров макрофагов в красной пульпе селезёнки и в маргинальной зоне белой пульпы, а также к уменьшению интенсивности светопропускания в цитоплазме и цитоплазматической мембраны макрофагов красной пульпы. В красной пульпе и в маргинальной зоне белой пульпы также наблюдается значительное уменьшение доли Iba-1-позитивных клеток большого размера [1].

Кремнезём уменьшает способность макрофагов и нейтрофилов мышей к завершённому фагоцитозу, снижает их жизнеспособность [1]. Следовательно, уменьшение площади макрофагов селезёнки и их перераспределение по размерам в морфофункциональных зонах может отражать снижение функциональных возможностей этих клеток [9] и, в частности, снижение их способности к завершённому фагоцитозу.

У иммунизированных крыс клетки маргинальной зоны селезёнки, по сравнению со слабым окрашиванием в контрольной группе животных, окрашиваются ярче, что предполагает увеличение Iba-1 в макрофагах маргинальной зоны во время иммунного ответа [1]. Мы наблюдали статистически значимое уменьшение интенсивности светопропускания цитоплазмы и цитоплазматической мембраны Iba-1-позитивных клеток красной пульпы, что косвенным образом может свидетельствовать об увеличении в них белка Iba-1 [1].

Если при поступлении с питьевой водой кремния уменьшение площади макрофагов маргинальной зоны белой пульпы селезёнки связано с уменьшением их функциональной активности, то, возможно, не исключается роль этих макрофагов, занимаю-

щих центральное место в очищении организма от апоптотических клеток для минимизации иммунной реакции на аутоантигены [33], в формировании аутоиммунных заболеваний у людей из «кремниевых» биогеохимических провинций [1].

В повторном эксперименте, продолженном до девяти месяцев (серия 5), мы изучили макрофаги, выявленные с помощью маркера CD68, в красной пульпе селезёнки. Поскольку визуализация макрофагов проводилась с использованием диаминобензидина, то клетки, экспрессирующие на своей поверхности CD68, окрашивались в разные оттенки коричневого. Морфологически это крупные клетки, имеющие хорошо различимые отростки. Визуально CD68⁺ макрофаги красной пульпы селезёнки крыс контрольной группы выглядят крупнее и имеют большее количество отростков по сравнению с макрофагами красной пульпы селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение девяти месяцев.

На поле зрения ($\times 400$) в красной пульпе селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, количество CD68⁺ макрофагов составило в среднем $91,6 \pm 5,0$ штук, в то время как в красной пульпе селезёнки крыс из контрольной группы их количество составило $73,7 \pm 2,3$ штуки ($p < 0,05$).

С увеличением количества CD68⁺ макрофагов красной пульпы селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, по сравнению с крысами, получавшими питьевую воду без кремния ($103,44 \text{ мкм}^2 \pm 2,8 \text{ мкм}^2$ и $136,02 \text{ мкм}^2 \pm 3,93 \text{ мкм}^2$ соответственно), происходит уменьшение их средней площади. Для крыс, не получавших и получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев, интенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны CD68⁺ макрофагов можно считать сопоставимой, она составляет $146,64 \pm 1,52$ усл. ед. и $143,75 \pm 1,17$ усл. ед. соответственно, а интенсивность светопропускания цитоплазмы составляет $105,72 \pm 1,36$ усл. ед. и $111,36 \pm 1,05$ усл. ед. соответственно, что ставит вопрос о возможном снижении экспрессии CD68 в цитоплазме под воздействием кремния.

Увеличение количества CD68⁺ макрофагов в красной пульпе селезёнки, вероятно, является компенсаторной реакцией на снижение их фагоцитарной активности (уменьшение средней

площади), которая происходит при длительном поступлении с питьевой водой соединения кремния.

Таким образом, поступление с питьевой водой кремния в течение девяти месяцев также приводит к уменьшению средней площади макрофагов селезёнки.

5.4. Антигенпрезентирующие клетки селезёнки

В красной пульпе селезёнки лабораторных крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, МНС-II-позитивные клетки располагаются вокруг или вдоль сосудов (в зависимости от плоскости проходящего среза), а также скоплениями в местах образования новых лимфоидных узелков [1]. Эти клетки овально-округлые, окрашены в коричневые тона, при этом цитоплазматическая мембрана, равномерно окрашенная в коричневый цвет, выглядит темнее цитоплазмы, также имеющей однородную, несколько более светлого оттенка коричневую окраску. В красной пульпе селезёнки животных обеих групп видны единичные МНС-II-позитивные макрофаги, подавляющее большинство Iba-1-позитивных макрофагов МНС-II-негативны. Видимых отличий МНС-II-позитивных клеток красной пульпы селезёнки в опыте и в контроле (при увеличении $\times 400$) нами не было обнаружено [1].

Антигенпрезентирующие клетки лимфоидных узелков также имеют овально-округлую форму, однако у них наличествуют некоторые небольшие выросты, окраска цитоплазмы и цитоплазматической мембраны равномерно коричневая, однотонная, при этом цитоплазматическая мембрана выглядит темнее цитоплазмы. Визуально количество антигенпрезентирующих клеток в лимфоидных узелках селезёнки крыс опытной группы больше, чем у крыс контрольной группы, видимых отличий по другим признакам МНС-II-позитивных клеток селезёнки крыс обеих групп нами не было обнаружено.

Подсчет антигенпрезентирующих клеток в лимфоидных узелках показал, что у крыс контрольной группы обнаруживается в среднем $51,08 \pm 4,80$ клеток на один узелок, у крыс, получавших с питьевой водой кремний, оно составляет $95,53 \pm 8,09$ клеток на один узелок ($p < 0,001$).

Проведенная морфометрия МНС-II-позитивных клеток красной и белой пульпы селезёнки показала, что в лимфоидных узелках средняя площадь МНС-II-позитивных клеток для крыс контрольной и опытной групп составила $23,04 \text{ мкм}^2 \pm 0,85 \text{ мкм}^2$ и $22,40 \text{ мкм}^2 \pm 0,86 \text{ мкм}^2$ соответственно, в красной пульпе – $20,86 \text{ мкм}^2 \pm 0,54 \text{ мкм}^2$ и $21,44 \text{ мкм}^2 \pm 0,52 \text{ мкм}^2$ соответственно, то есть МНС-II-позитивные клетки в лимфоидных узелках и в красной пульпе селезёнки крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, не отличаются по размеру [1].

Кремний, поступающий с питьевой водой, изменяет количество белка МНС-II в антигенпрезентирующих клетках (табл. 27). В лимфоидных узелках селезёнки крыс контрольной группы МНС-II-позитивные клетки, при неизменной интенсивности светопропускания в мембране и цитоплазме, имеют большую площадь по сравнению с таковыми красной пульпы [1].

Таблица 27

Сравнительная характеристика интенсивности светопропускания МНС-II-позитивных клеток селезёнки ($M \pm m$, усл. ед.)

Локализация белка	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки		
Мембрана клеток	$88,70 \pm 1,16$	$86,78 \pm 0,92^{**}$
Цитоплазма	$115,07 \pm 2,63$	$96,82 \pm 1,63^{*}***$
Красная пульпа		
Мембрана клеток	$90,25 \pm 0,85$	$90,12 \pm 0,65$
Цитоплазма	$110,02 \pm 1,41$	$101,47 \pm 1,02^{***}$

* СЗР показателей клеток данной группы с клетками красной пульпы статистически значимы, $p < 0,001$.

** СЗР показателей клеток данной группы с клетками красной пульпы статистически значимы, $p < 0,05$.

*** СЗР показателей между опытом и контролем, $p < 0,001$.

В морфо-функциональных компартментах селезёнки под воздействием водорастворимого соединения кремния снижается интенсивность светопропускания цитоплазмы МНС-II-позитивных клеток ($p < 0,001$), статистически значимо отличается ин-

тенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны и цитоплазмы МНС-II-позитивных клеток в лимфоидных узелках селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, по сравнению с таковыми МНС-II-позитивных клеток красной пульпы, для которых эти показатели выше [1].

Поскольку связь между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и экспрессией на ней исследуемого белка обратно пропорциональна, то получается, что в лимфоидных узелках селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний на мембране антигенпрезентирующих клеток больше белка МНС-II, чем у крыс контрольной группы [1]. Полученные нами результаты хорошо согласуются с литературными данными, согласно которым наночастицы как диоксида кремния, так и кристаллического кремния оказывают сильное влияние на статус активации дендритных клеток кишечника мышей, увеличивая в них экспрессию МНС-II, CD80, CD86 [1].

Обращает на себя внимание изменение корреляционных связей между площадями МНС-II-позитивных клеток и интенсивностью светопропускания цитоплазмы и цитоплазматической мембраны в них в лимфоидных узелках и в красной пульпе селезёнки [1]. В лимфоидных узелках селезёнки крыс контрольной группы показатели корреляционной связи М-II, Ц-М и Ц-II составляют 0,08; 0,24 и 0,18, в то время как в лимфоидных узелках селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, они составляют -0,05; 0,63 и 0,12 соответственно. Для МНС-II-позитивных клеток лимфоидных узелков появляется положительная связь средней силы ($r = 0,63$) между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и цитоплазмы [1].

В красной пульпе селезёнки крыс контрольной группы показатели корреляционной связи М-II, Ц-М и Ц-II составляют -0,21; 0,24 и 0,16, в то время как в красной пульпе селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, они составляют 0,11; 0,62 и 0,21 соответственно. Для МНС-II-позитивных клеток красной пульпы селезёнки, как и в лимфоидных узелках, появляется положительная связь средней силы ($r = 0,62$) между интенсивностью светопропускания цитоплазматической мембраны и цитоплазмы [1].

Таким образом, поступление с питьевой водой кремния приводит к увеличению в 1,87 раза количества МНС-II-позитивных клеток в лимфоидных узелках (при одинаковой их средней площади) и усилению корреляционной связи между плотностью белков МНС-II класса на мембране и цитоплазме как в лимфоидном узелке, так и в красной пульпе [1], что может свидетельствовать о синхронизации процессов процессинга антигена и его презентации.

5.5. Проплиферативные процессы в герминативных центрах лимфоидных узелков селезёнки

В препаратах селезёнки крыс (серия экспериментов 2), полученных при использовании маркера (ядерного антигена) клеточной пролиферации PCNA, в лимфоидных узелках выявляются клетки, содержащие циклин А. Этот белок функционирует в S-фазе клеточного цикла в качестве кофактора ДНК-полимеразы, связанный с синтезом и репарацией ДНК. Клетки, содержащие данный белок, имеют синее и красное свечение, не содержащие его – только синее. Герминативные центры лимфоидных узелков представлены преимущественно PCNA-позитивными клетками (рис. 11, 12), в маргинальной зоне белой пульпы и в красной пульпе селезёнки они содержатся в меньших количествах [1].

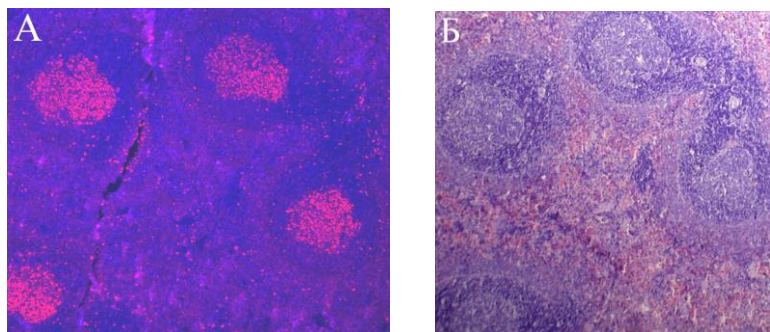


Рис. 11. Морфологическая параллель. Селезёнка крысы, получавшей кремний с питьевой водой в течение двух месяцев:

А – двойной иммунофлуоресцентный метод, выявляющий белок PCNA. Микроскоп Nikon Eclipse 501 . Об. 10. Ок. 10. Б – окраска гематоксилином и эозином. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 10. Ок. 10

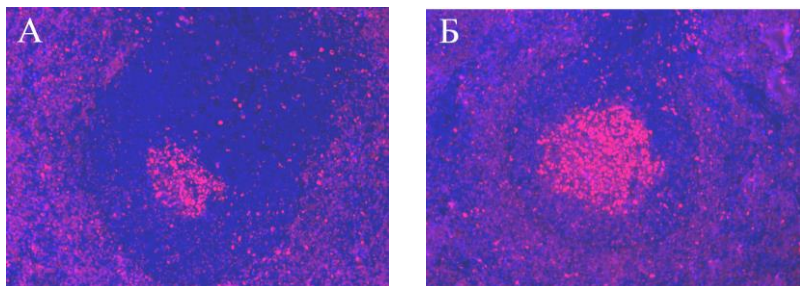


Рис. 12. Лимфоидный узелок селезёнки. Иммунофлюоресцирующий метод для выявления PCNA. Микроскоп Nikon Eclipse 50I. Об. 10 Ок. 20: А – крыса контрольной группы. Б – крыса из группы, получавшей питьевую воду с кремнием

Пролиферативные процессы, которые выявляются при помощи маркера PCNA, занимают в лимфоидных узелках всю площадь герминативных центров, хорошо различаемых при окраске срезов гематоксилином и эозином. Индекс пролиферации в герминативных центрах лимфоидных узелков селезёнки составил для крыс контрольной группы $78,54\% \pm 2,22\%$, для крыс, получавших с питьевой водой кремний, – $74,13\% \pm 1,68\%$, то есть является вполне сопоставимым [1].

Можно заключить, что поступление с питьевой водой кремния в организм лабораторных крыс в течение двух месяцев приводит к увеличению общей площади герминативных центров в лимфоидных узелках селезёнки, без изменения интенсивности пролиферативных процессов в них. Полученные результаты могут быть объяснены тем, что в лимфоидных узелках селезёнки под влиянием поступающего с питьевой водой кремния почти вдвое увеличивается количество антигенпрезентирующих (МНС-II-позитивных) клеток и на их мембране возрастает концентрация белка МНС-II, при непосредственном участии которого в лимфоидных узелках селезёнки начинаются пролиферативные процессы [1].

5.6. Биоаминсодержащие структуры селезёнки

Люминесцентная морфология селезёнки в целом сходна для метода Фалька, выявляющего серотонин и катехоловые амины, и метода Кросса, выявляющего гистамин (рис. 13, 14).

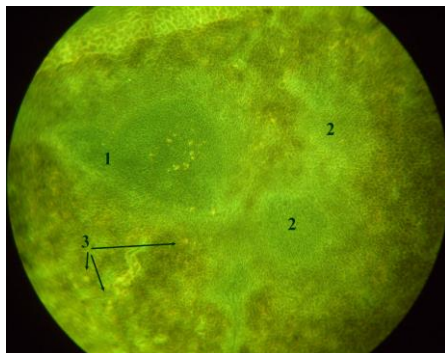


Рис. 13. Селезёнка крысы, получавшей в течение двух месяцев кремний с питьевой водой. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮАМ-1. Об. 4. Ок. 10:

1 – лимфоидный узелок с люминесцирующими клетками. 2 – лимфоидный узелок без люминесцирующих клеток. 3 – люминесцирующие клетки красной пульпы

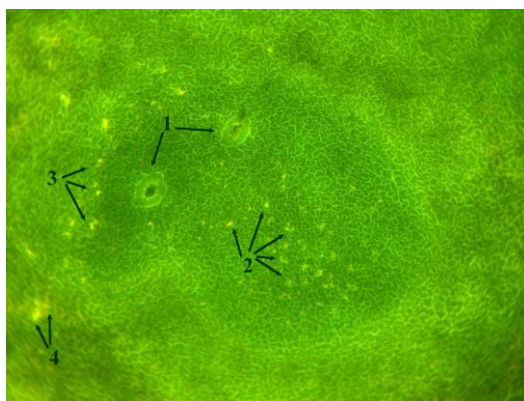


Рис. 14. Лимфоидный узелок селезёнки крысы из контрольной группы. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮАМ-1. Об. 20. Ок. 10:

1 – центральная артериола, 2 – люминесцирующие клетки лимфоидного узелка, 3 – люминесцирующие клетки маргинального синуса, 4 – люминесцирующие клетки красной пульпы

Лимфоидные узелки в препаратах селезёнки, обработанных по методу Кросса, на фоне неравномерного зелёно-жёлто-оранжевого свечения красной пульпы отличаются зелёно-

изумрудным приглушённым свечением [1]. Маргинальные синусы визуализируются в виде слабо люминесцирующих ободков. В лимфоидных узелках можно различить желтовато-зелёную эксцентрично расположенную узелковую артериолу.

Люминесцирующие клетки, содержащие гистамин, располагаются внутри лимфоидных узелков, в маргинальных синусах, в красной пульпе (рис. 15). Внутри лимфоидных узелков сосредоточены люминесцирующие гранулосодержащие клетки, в которых хорошо различимы отдельные яркие светлые гранулы (их цвет может варьировать от беловато-жёлтого до яркого лимонно-жёлтого). Эти клетки могут быть округлыми, вытянутыми, иметь неправильную форму. Встречаются и лимфоидные узелки, которые не содержат люминесцирующих гранулосодержащих клеток.

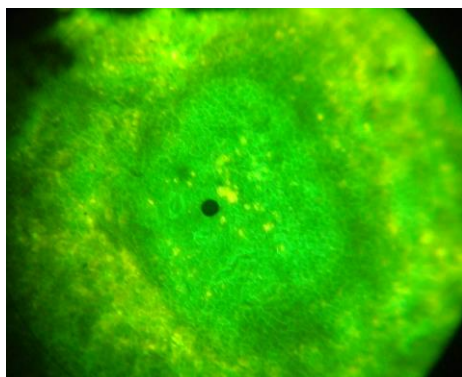


Рис. 15. Селезёнка крысы, получавшей в течение двух месяцев кремний с питьевой водой. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮАМ-1. Об. 20. Ок. 10. На фоне жёлто-оранжевой красной пульпы различим лимфоидный узелок, окруженный маргинальным синусом. Около зонда (0,5) видны жёлтые гранулосодержащие клетки

Люминесцирующие гранулосодержащие клетки маргинальных синусов, окружающих лимфоидные узелки, занимают строго определённое положение вокруг узелков, образуя выраженные «цепочки». Эти померанцевого оттенка клетки вытянуто-овальной формы, тусклые, светятся равномерно [1]. В красной пульпе люминесцирующие гранулосодержащие клетки большо-

го размера, неправильной, «лапчатой» формы со множественными отростками. Они светятся не так ярко, как люминесцирующие клетки лимфоидных узелков, цвет гранул в них жёлто-оранжевый, наличествует выраженный померанцево-кирпичный оттенок [1]. По морфологическим характеристикам и данным литературы [8] мы относили их к макрофагам.

При обработке срезов селезёнки по методу Фалька – Хилларпа отличие люминесцентной морфологии селезёнки состояло, во-первых, в визуальном изменении яркости свечения гранулосодержащих клеток и их микроокружения, оттенок жёлтого также изменяется на более насыщенный. Во-вторых, вокруг узелковых артериол, которые светятся серо-зелёным, хорошо видны «ниточки» изумрудного цвета, – окружающие сосуды адренергические нервы, в которых различимы варикозные расширения (рис. 16).

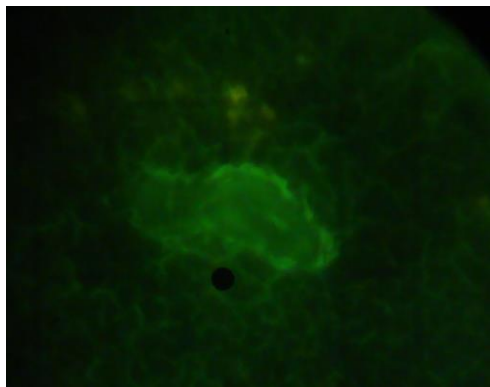


Рис. 16. Узелковая артериола в лимфоидном узелке селезёнки. Метод Фалька – Хилларпа. Микроскоп ЛЮАМ-1. Об. 20. Ок. 10. Над зондом (0,5) визуализируется серо-зелёная узелковая артериола, окруженная изумрудным адренергическим нервным волокном, в котором различимы варикозные расширения

Интенсивность люминесценции гистамина после двух месяцев поступления в организм кремния в содержащих его структурах селезёнки крыс приведена в табл. 28.

Таблица 28

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурах селезёнки лабораторных крыс ($M \pm m$, усл. ед.)

Гистаминсодержащая структура селезёнки	Группа крыс	
	Контроль	Опыт
ЛГК лимфоидных узелков	$20,96 \pm 3,05$	$22,57 \pm 1,75$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$7,08 \pm 1,60$	$10,07 \pm 0,98$
ЛГК маргинальных синусов	$14,54 \pm 1,95$	$18,22 \pm 0,95$
МКО ЛГК маргинальных синусов	$7,94 \pm 1,63$	$11,07 \pm 0,96$
Пульпарные ЛГК	$23,74 \pm 2,97$	$21,68 \pm 1,31$
МКО пульпарных ЛГК	$10,98 \pm 1,93$	$12,38 \pm 0,94$
Периартериоллярная зона	$7,59 \pm 1,84$	$9,65 \pm 0,87$

Наибольшая интенсивность люминесценции гистамина в люминесцирующих клетках внутри лимфоидных узелков и в люминесцирующих клетках красной пульпы сопоставима [1]. Есть некоторая тенденция к увеличению интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении содержащих данный биоамин клеток для крыс, получавших с питьевой водой кремний. Поскольку гистаминсодержащие клетки селезёнки могут быть аминокпоглощающими или аминокподуцирующими [2], имеют значение и абсолютные показатели интенсивности люминесценции гистамина, и относительные.

Соотношение интенсивности люминесценции гистамина между микроокружением гистаминсодержащих клеток и самими клетками в селезёнке крыс, не получавших и получавших кремний с питьевой водой, выраженное в процентах, составило в лимфоидном узелке $34,40 \pm 3,12\%$ и $46,29 \pm 2,49\%$ соответственно ($p < 0,05$), в красной пульпе – $46,94 \pm 2,93\%$ и $58,65 \pm 2,11\%$ соответственно ($p < 0,001$) [2]. Относительная интенсивность люминесценции гистамина в микроокружении люминесцирующих клеток в данных морфо-функциональных зонах увеличивается. В маргинальных синусах селезёнки крыс, не получавших и получавших кремний с питьевой водой, эти показатели сопоставимы и составляют $53,21 \pm 4,42\%$ и $61,76 \pm 3,18\%$ соответственно [1].

Гистамин индуцирует превращение незрелых дендритных клеток в эффекторные, которые посредством рецепторов H_1 и H_2 стимулируют созревание Т-хелперов Th2 типа [28]. Вероятно, некоторое увеличение интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении всех содержащих его клеток в селезёнке связано не с тучными клетками, обнаруженными нами в малых количествах, но с макрофагами селезёнки [25; 27; 29]. В данном случае увеличение общей площади герминативных центров в лимфоидных узелках селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний, из-за увеличения количества антиген-презентирующих клеток в герминативных центрах и экспрессии МНС-II на их поверхности под влиянием гистамина вполне имеет место быть, поскольку соединения кремния при поступлении в организм способны повышать уровень гистамина в клетках и тканях [36]. Кроме того, согласно литературным данным, митотическая активность лимфоцитов напрямую зависит от содержания в микроокружении гистамина [30]. Кажется бы, полученные нами результаты вступают в некоторое противоречие с известными фактами, между тем имеются работы, обращающие внимание на плеiotропный эффект гистамина в реализации иммунного ответа [37].

Мы сочли нужным внести информацию о реакции структур селезёнки, содержащих серотонин и катехоловые амины, на поступление кремния в воде различной жесткости. В приведённых ниже таблицах приведены две дополнительные колонки с указанием на третью и четвёртую группы животных. Эти группы также входили в наш комплексный эксперимент (серия 2), в котором, напомним, первая группа получала воду без каких-либо добавок, вторая – с добавлением метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний, третья – с добавлением хлорида кальция в концентрации 235 мг/л в пересчете на кальций, четвёртая – с добавлением метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний и хлорида кальция в концентрации 235 мг/л в пересчете на кальций [7].

Интенсивность люминесценции серотонина в структурах селезёнки крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, представлена в табл. 29.

Таблица 29

Интенсивность люминесценции серотонина
в структурах селезёнки ($M \pm m$, усл. ед.)

Серотонинсодержащая структура селезёнки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвёртая
ЛГК лимфоидных узелков	$26,92 \pm 1,26$	$27,22 \pm 1,19$	$28,85 \pm 1,50$	$28,32 \pm 1,11$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$9,36 \pm 0,50$	$10,23 \pm 0,76$	$11,38 \pm 0,94^*$	$9,90 \pm 0,72$
ЛГК маргинальных синусов	$13,56 \pm 0,60$	$16,78 \pm 0,96$	$13,44 \pm 0,84$	$18,10 \pm 0,93^*$
МКО ЛГК маргинальных синусов	$8,70 \pm 0,38$	$8,90 \pm 0,28$	$7,52 \pm 0,37$	$7,03 \pm 0,21$
Пульпарные ЛГК	$28,62 \pm 1,58$	$26,78 \pm 1,62$	$19,13 \pm 1,45^*$	$26,82 \pm 1,82$
МКО пульпарных ЛГК	$12,90 \pm 0,82$	$13,00 \pm 0,44$	$9,85 \pm 0,61^*$	$8,92 \pm 0,42^*$
Периартериальная зона	$11,16 \pm 0,45$	$10,05 \pm 0,51$	$12,37 \pm 0,83$	$8,36 \pm 0,28^*$

* СЗР с первой группой, $p < 0,05$.

Для животных всех групп наибольшая интенсивность люминесценции серотонина наблюдается в люминесцирующих гранулосодержащих клетках красной пульпы и лимфоидных узелков, что хорошо объясняется тем, что моноциты, макрофаги и дендритные клетки экспрессируют транспортный белок для серотонина, который способствует его перемещению из межклеточного пространства внутрь клетки [7].

Есть некоторые особенности реакции серотонинсодержащих клеток селезёнки на поступление кремния с питьевой водой, которые зависят от изолированного или сочетанного его поступления с солью кальция. Так, несколько увеличивается интенсивность люминесценции серотонина в микроокружении люминесцирующих гранулосодержащих клетках лимфоидных

узелков селезёнки под влиянием кальция. Люминесцирующие гранулосодержащие клетки маргинальных синусов реагируют на кремний увеличением интенсивности люминесценции серотонина, независимо от кальция, в то время как сам по себе кальций не изменяет интенсивность люминесценции серотонина в этих клетках.

Поступление с питьевой водой кальция, независимо от присутствия кремния, обнаруживает некоторую тенденцию к снижению интенсивности люминесценции серотонина в микроокружении гранулосодержащих клеток в маргинальных синусах селезёнки, а также в микроокружении люминесцирующих гранулосодержащих клеток красной пульпы. Интенсивность люминесценции серотонина резко снижается в красной пульпе селезёнки крыс, получавших питьевую воду с добавлением кальция [7].

Некоторые авторы утверждают, что на альвеолярных макрофагах есть 5-НТ₂С, который ответственен за возрастание уровня внутриклеточного кальция, причём степень экспрессии этого рецептора меняется в зависимости от функции клетки [40]. Серотонин непосредственно влияет на поступление кальция в клетки нервной системы мышей, уменьшая поступление кальция в клетку, при этом снижается и поступление калия, которое является кальцийзависимым [13].

Относительная интенсивность люминесценции серотонина в селезёнке представлена в табл. 30.

Таблица 30

Соотношение интенсивности люминесценции серотонина
в микроокружении к интенсивности люминесценции
его в серотонинсодержащих клетках ($M \pm m$)

Группа крыс	Локализация серотонинсодержащих клеток		
	Лимфоидные узелки	Маргинальные синусы	Красная пульпа
Первая	0,39 ± 0,02	0,65 ± 0,01	0,47 ± 0,02
Вторая	0,40 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,52 ± 0,01
Третья	0,42 ± 0,03	0,61 ± 0,03	0,56 ± 0,02 *
Четвёртая	0,36 ± 0,02	0,43 ± 0,02*	0,37 ± 0,02*

* СЗР с первой группой, $p < 0,05$.

По данным табл. 30, повышение концентрации в питьевой воде и кремния, и кальция снижает показатель соотношения интенсивности люминесценции серотонина между микроокружением серотонинсодержащих клеток и содержащими его клетками маргинальных синусов и в красной пульпе.

Таким образом, поступление с питьевой водой кремния в течение двух месяцев оказывает более выраженное влияние на серотонинсодержащие клетки красной пульпы и маргинальных синусов селезёнки лабораторных крыс в дополнительном присутствии в питьевой воде солей кальция [8].

Усиление воздействия водорастворимого кремния в зависимости от повышения содержания в воде кальция по отношению к серотонинсодержащим клеткам наблюдалось нами в клубочковой и пучковой зонах коры надпочечников и в эпителии щитовидной железы лабораторных крыс, где интенсивность люминесценции серотонина в клетках при поступлении с водой кремния в концентрации 10 мг/л уменьшается обратно пропорционально показателям жесткости воды [8].

При поступлении в организм различных соединений кремния, в том числе и водорастворимых, в первое время происходят активация макрофагов и усиление их фагоцитарной активности, которое впоследствии сменяется недостаточностью этой функции. Серотонин играет большую роль в организации функций макрофагов, это обусловлено его способностью ингибировать внутриклеточные процессы свободно-радикального окисления [8].

Макрофаги экспрессируют различные серотониновые рецепторы, и это зависит от их функциональной активности. Так, M2 поляризованные макрофаги, которые синтезируют противовоспалительные цитокины, в отличие от M1-макрофагов (это активированные макрофаги, которые синтезируют провоспалительные цитокины), экспрессируют преимущественно HTR2B и HTR7 [41]. Имеют место сведения, что под действием серотонина M1-макрофаги трансформируются в M2-макрофаги [6]. Также было показано, что серотонин обнаруживает сходные эффекты по отношению к макрофагам человека и лабораторных животных – он подавляет их способность к фагоцитозу. Немало-

важно, что серотонин способен угнетать способность макрофагов и к эффероцитозу – фагоцитозу апоптозных клеток [35].

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов в структурах селезёнки крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, представлена в табл. 31.

Таблица 31

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурах селезёнки ($M \pm m$, усл. ед.)

Катехоламин- содержащие структуры селезёнки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвёртая
ЛГК лимфо- идных узелков	$31,54 \pm 1,84$	$43,45 \pm 3,28$	$37,12 \pm 2,06$	$34,32 \pm 1,77$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$11,22 \pm 0,19$	$16,36 \pm 0,99$	$19,28 \pm 1,94$	$13,22 \pm 1,15$
ЛГК марги- нальных синусов	$15,08 \pm 0,32$	$16,78 \pm 0,96$	$17,94 \pm 1,46^*$	$20,73 \pm 0,97^*$
МКО ЛГК маргинальных синусов	$11,84 \pm 0,22$	$8,90 \pm 0,27$	$9,28 \pm 0,58$	$9,05 \pm 0,21$
Пульпарные ЛГК	$31,68 \pm 1,34$	$28,91 \pm 1,64$	$25,03 \pm 2,57$	$26,82 \pm 1,82$
МКО пуль- парных ЛГК	$15,3 \pm 0,83$	$17,91 \pm 0,61$	$14,23 \pm 1,09$	$10,42 \pm 0,38^*$
Периартерио- лярная зона	$17,22 \pm 0,88$	$15,77 \pm 0,95$	$17,08 \pm 0,98$	$11,56 \pm 0,17^*$

* СЗР с первой группой, $p < 0,05$.

Для крыс всех четырёх групп наибольшая интенсивность люминесценции катехоловых аминов наблюдается в люминесцирующих гранулосодержащих клетках лимфоидных узелков, несколько меньше содержание биоамина в макрофагах красной пульпы.

Есть некоторые особенности реакции клеток селезёнки, содержащих катехоловые амины, на поступление кальция с питьевой водой, которые зависят от изолированного или совместного его поступления с солью кремния. Люминесцирующие грануло-содержащие клетки маргинальных синусов реагируют на кальций увеличением интенсивности люминесценции катехоловых аминов, независимо от кремния, в то время как сам по себе кремний не изменяет интенсивность люминесценции серотонина в этих клетках.

Поступление с питьевой водой кальция и кремния статистически значимо снижает интенсивность люминесценции катехоловых аминов в микроокружении люминесцирующих грануло-содержащих клеток красной пульпы. Интенсивность люминесценции катехоловых аминов в периартериоллярной зоне при этом резко снижается.

Относительная интенсивность люминесценции катехоловых аминов приведена в табл. 32.

Таблица 32

Соотношение интенсивности люминесценции катехоловых аминов в микроокружении к интенсивности люминесценции его в катехоламинсодержащих клетках ($M \pm m$)

Группа крыс	Локализация катехоламинсодержащих клеток		
	Лимфоидные узелки	Маргинальные синусы	Красная пульпа
Первая	$0,41 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,01$	$0,49 \pm 0,02$
Вторая	$0,46 \pm 0,04$	$0,72 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,03^*$
Третья	$0,51 \pm 0,03^*$	$0,58 \pm 0,02^*$	$0,65 \pm 0,04^*$
Четвёртая	$0,41 \pm 0,03$	$0,47 \pm 0,02$	$0,44 \pm 0,02$

* СЗР с первой группой, $p < 0,05$.

По данным табл. 32, повышение концентрации в питьевой воде только кремния увеличивает показатель соотношения интенсивности люминесценции катехоловых аминов между микроокружением катехоламинсодержащих клеток и интенсивностью его люминесценции в самих клетках изолированно в

красной пульпе, в то время как повышение концентрации в питьевой воде только кальция увеличивает этот показатель во всех морфо-функциональных зонах: в лимфоидных узелках, маргинальных синусах и красной пульпе.

Интересно отметить, что особенности изменения содержания катехоловых аминов и серотонина в клетках селезёнки, а также в микроокружении этих клеток в зависимости от морфо-функциональных зон при поступлении кремния в воде различной жесткости в некоторой степени сходны. Норадреналин и адреналин ингибируют секрецию TNF [26], способствуют усилению продукции интерлейкина IL-6 [19], который, в свою очередь, предотвращает функциональное «перегревание» макрофагов [10], на поверхности которых имеются α_2 -адренорецепторы [47].

Вероятно, адаптация селезёнки к поступлению соединений кремния включает в себя и изменение содержания в клетках и их микроокружении катехоловых аминов, но два месяца воздействия – недостаточный срок, чтобы рассуждать о выраженных изменениях катехоламинового статуса органа.

Поскольку наиболее существенные изменения в содержании катехоловых аминов наблюдаются при поступлении кальция, можно предположить, что изменяется пролиферативная активность лимфоцитов. Показано, что катехоловые амины стимулируют способность лимфоцитов к пролиферации [45]. Кальций также необходим для пролиферации лимфоцитов [31], и, скорее всего, катехоловые амины в данном случае выполняют роль модуляторов пролиферативной активности лимфоцитов, тем более что увеличение содержания катехоловых аминов наблюдается в макрофагах маргинального синуса, которые ответственны за формирование специфического иммунного ответа.

На данном этапе мы не располагаем возможностями однозначно интерпретировать полученные нами данные, поскольку биогенные амины обладают плейотропным действием вследствие того, что разные клетки могут экспрессировать несколько подтипов рецепторов к этим биогенным аминам. При этом за вопросы, касающиеся роли серотонина и катехоловых аминов в адаптации организма к поступлению водорастворимых

соединений кремния и кальция, лишь заостряются. В связи с изложенным нуждается в понимании механизм сочетанного действия кальция и кремния (действие какого элемента является первичным).

В сходных моделируемых условиях эксперимента мы изучили реакцию на поступление с питьевой водой кремния в течение трёх месяцев биоаминсодержащих клеток селезёнки белых лабораторных нелинейных мышей (серия 6). После декапитации мышей селезёнка извлекалась и замораживалась, криостатные срезы обрабатывались по методу Фалька для выявления катехоловых аминов и серотонина, а также по методу Кросса для выявления гистамина. Для идентификации и количественного выражения содержания биогенных аминов в клетках использовалась цитоспектрофлуориметрия.

Визуальных отличий в люминесцентной морфологии селезёнки для групп мышей, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, нами не обнаружено. Данные по интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина в структурно-функциональных компартментах селезёнки приведены в табл. 33, 34.

Таблица 33

Интенсивность люминесценции серотонина
в структурно-функциональных компартментах
селезёнки мышей ($M \pm m$, усл. ед.)

ИЛ серотонина, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$41,27 \pm 3,86$	$51,24 \pm 2,59^*$
МКО ЛГК	$32,97 \pm 2,86$	$38,27 \pm 2,02$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$81,03 \pm 2,37$	$78,34 \pm 2,05$
Красная пульпа		
ЛГК	$61,03 \pm 3,68$	$51,24 \pm 2,69^*$
МКО ЛГК	$42,08 \pm 2,16$	$40,94 \pm 2,53$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$70,13 \pm 2,31$	$79,11 \pm 1,53^*$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Таблица 34

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурно-функциональных компартментах
селезёнки мышей ($M \pm m$, усл. ед.)

ИЛ катехоламинов, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$60,31 \pm 5,57$	$73,83 \pm 5,12$
МКО ЛГК	$49,19 \pm 3,51$	$62,31 \pm 3,86^*$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$84,10 \pm 2,43$	$86,68 \pm 2,10$
Красная пульпа		
ЛГК	$64,94 \pm 3,98$	$59,40 \pm 3,49$
МКО ЛГК	$49,60 \pm 3,45$	$51,68 \pm 3,60$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$76,71 \pm 2,35$	$85,55 \pm 1,65^*$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

По данным этих таблиц у мышей, получавших с питьевой водой кремний в течение трех месяцев, наблюдается сходная реакция со стороны содержания катехоловых аминов и серотонина в структурно-функциональных компартментах селезёнки.

Нами замечено увеличение абсолютных значений интенсивности люминесценции этих биогенных аминов в содержащих их клетках лимфоидных узелков и в их микроокружении, в то время как относительная интенсивность люминесценции в структурах белой пульпы является сопоставимой.

В красной пульпе наблюдается статистически значимое увеличение относительного их содержания, в то время как абсолютные значения интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина уменьшаются.

Если сравнивать результаты по интенсивности люминесценции в селезёнке катехоловых аминов и серотонина у мышей с этими же показателями, полученными для крыс, можно заметить, что для красной пульпы наблюдаются сходные изменения, которые заключаются в статистически значимом увеличении относительной интенсивности люминесценции катехоловых аминов у грызунов, получавших с питьевой водой кремний.

Данные по интенсивности люминесценции гистамина в структурно-функциональных компартментах селезёнки разительно отличаются от таковых, полученных для серотонина и катехоловых аминов (табл. 35).

Таблица 35

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурно-функциональных компартментах
селезёнки мышей ($M \pm m$, усл. ед.)

ИЛ гистамина, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$110,51 \pm 8,50$	$84,81 \pm 9,82$
МКО ЛГК	$75,89 \pm 4,23$	$69,29 \pm 6,68$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$70,98 \pm 2,47$	$81,90 \pm 1,57^*$
Красная пульпа		
ЛГК	$118,12 \pm 11,44$	$87,39 \pm 3,72$
МКО ЛГК	$86,30 \pm 9,64$	$69,07 \pm 1,62$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$73,20 \pm 3,4764$	$78,88 \pm 2,95$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Из таблицы видно, что у мышей, получавших с питьевой водой кремний, увеличивается относительная люминесценция гистамина как в лимфоидных узелках, так и в красной пульпе, при этом наблюдается тенденция к снижению абсолютных показателей. Если сравнивать данные по интенсивности люминесценции в селезёнке гистамина у мышей с этими же показателями, полученными для крыс, можно заметить, что наблюдаемые изменения в некоторой степени сходны.

Заслуживают внимания также результаты исследования люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в селезёнке крыс после девяти месяцев поступления кремния в организм с бутилированной водой (серия 5).

Независимо от примененного метода люминесцентной гистохимии, у крыс из группы, получавшей кремний, визуально можно заметить уменьшение количества лимфоидных узелков

селезёнки. Кроме того, не визуализируются биоаминсодержащие клетки в маргинальных синусах у крыс обеих групп.

Данные по интенсивности люминесценции гистамина приведены в табл. 36.

Таблица 36

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурно-функциональных компартментах селезёнки крыс
через девять месяцев эксперимента ($M \pm SD$, усл. ед.)

ИЛ гистамина, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$3,4 \pm 1,43$	$4,91 \pm 0,89^*$
МКО ЛГК	$2,36 \pm 0,79$	$3,97 \pm 0,63^*$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,73 \pm 0,12$	$0,82 \pm 0,10^*$
Периартериолярная зона	$2,72 \pm 0,72$	$2,86 \pm 0,57$
Красная пульпа		
ЛГК	$3,08 \pm 0,68$	$4,38 \pm 1,24^*$
МКО ЛГК	$2,23 \pm 0,54$	$3,36 \pm 0,73^*$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,73 \pm 0,12$	$0,78 \pm 0,10$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Из табл. 36 видно, что интенсивность люминесценции гистамина в абсолютных единицах измерения возрастает и в клетках красной и белой пульпы, и в их микроокружении почти в полтора раза. В периартериолярной зоне интенсивность люминесценции гистамина при этом сопоставима. Относительное содержание гистамина увеличивается в большей степени в белой пульпе.

Роль гистамина в воспалительных процессах, в том числе хронических и иммунных, доступно изложена В.И. Кулинским в обзоре литературы [3].

Гистамин обладает потенциалом стимулировать миграцию фибробластов в культурах клеток лёгких, причём эффект гистамина увеличивается со временем и опосредован рецептором H_4 [1]. Гистамин способствует миграции фибробластов из культур,

полученных из носовых раковин, посредством рецепторов H_1 и H_4 , при этом гистамин сохраняет свое стимулирующее влияние на миграцию фибробластов в присутствии митомицина C, который блокирует пролиферацию клеток [43].

Была исследована потенциальная терапевтическая эффективность рупатадина, двойного антагониста фактора активации гистамина и фактора активации тромбоцитов при фиброзе лёгких грызунов, вызванном диоксидом кремния. Выяснилось, что препарат способствовал разрешению лёгочного воспаления и фиброза дозозависимым образом и его применение не только ослабляло силикоз, индуцированный кремнием, но и показывало более высокую терапевтическую эффективность по сравнению с пирфенидоном, антагонистом гистамина H_1 , и лоратадином [39]. Кроме того, антагонисты рецептора H_4 , которые в последнее время рассматривают как новую мишень для лечения воспалительных и иммунных заболеваний, показали хороший результат при лечении фиброза лёгких у мышей [24].

Совместное культивирование макрофагов или фибробластов с компонентами силиконовых имплантатов молочной железы показало, что макрофаги реагируют на эти материалы, продуцируя провоспалительные цитокины, и этот процесс был купирован добавлением роксатидина (антагонист рецептора H_2), к культуральной среде. Хотя фибробласты не реагировали на материалы поверхности имплантата так же, как макрофаги, активированные кремнием макрофаги вызвали пролиферацию фибробластов. Введение роксатидина ингибировало активацию передачи сигналов NF- κ B и p38/митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) в макрофагах. Кроме того, лечение роксатидином у мышей с вшитыми силиконовыми имплантатами снижало обилие фибробластов вокруг имплантата. Авторами был сделан вывод о том, что роксатидин играет важную роль в предотвращении фиброза путем ингибирования активации передачи сигналов NF- κ B и p38/МАРК в макрофагах [38].

Можно предположить, что источником гистамина в селезёнке крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение девяти месяцев, скорее всего, являются её резидентные макрофаги [25; 27; 29]. Оценка гистаминового статуса селезёнки показывает, что срок воздействия кремния, поступающего с питьевой водой, усиливает в данном органе воспалительные процессы.

Данные по интенсивности люминесценции серотонина и катехоловых аминов в структурно-функциональных компартментах селезёнки приведены в табл. 37, 38.

Таблица 37

Интенсивность люминесценции серотонина
в структурно-функциональных компартментах селезёнки крыс
через девять месяцев эксперимента ($M \pm m$, усл. ед.)

ИЛ серотонина, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$47,78 \pm 2,62$	$38,37 \pm 4,45$
МКО ЛГК	$23,66 \pm 0,46$	$11,60 \pm 0,84$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,37 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,03$
Периартериолярная зона	$14,07 \pm 0,86$	$10,12 \pm 0,85$
Красная пульпа		
ЛГК	$56,01 \pm 2,49$	$24,61 \pm 2,31$
МКО ЛГК	$27,03 \pm 1,19$	$11,96 \pm 0,86$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,36 \pm 0,02$	$0,56 \pm 0,03^*$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Таблица 38

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурно-функциональных компартментах селезёнки крыс
через девять месяцев эксперимента ($M \pm m$, усл. ед.)

ИЛ катехоламинов, усл. ед.	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки селезёнки		
ЛГК	$6,99 \pm 0,41$	$5,32 \pm 0,61$
МКО ЛГК	$3,89 \pm 0,12$	$1,32 \pm 0,12$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,36 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,04$
Периартериолярная зона	$3,20 \pm 0,11$	$1,46 \pm 0,35$
Красная пульпа		
ЛГК	$7,55 \pm 0,36$	$3,18 \pm 0,39$
МКО ЛГК	$3,89 \pm 0,15$	$1,20 \pm 0,12$
МКО ЛГК/ЛГК, %	$0,34 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,04^*$

* СЗР ИЛ между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Анализ таблиц, касающихся интенсивности люминесценции в селезёнке катехоловых аминов и серотонина, дает возможность судить о том, что абсолютные значения интенсивности данных биогенных аминов снижаются в белой пульпе селезёнки крыс, получавших с питьевой водой кремний.

Серотонин модулирует состояние селезёнки грызунов в зависимости от возраста и пола [23]. Исследование, посвященное этому вопросу, с использованием ингибитора обратного захвата серотонина д-фенфлурамина показало, что ежедневное его поступление в организм перорально в течение нескольких месяцев в дозе 0,6 мг/кг в день «омолаживает» селезёнку.

Когда 15-месячным самцам крыс давали этот препарат в течение восьми месяцев, то на момент окончания эксперимента активность Т-лимфоцитов и натуральных киллеров в их селезёнке не отличалась от таковой у молодых (7 месяцев) контрольных животных. Важно, что ни у старых крыс, получавших препарат, ни у молодых контрольных животных не было выявлено селезёночной или печеночной гипертрофии и поражений, в то время как у старых контрольных животных была повышена активность натуральных киллеров (250%) и уменьшен митогенез Т-лимфоцитов (300%), что коррелировало с высокой частотой патологии селезёнки. Авторы считают, что длительное воздействие ингибитора обратного захвата серотонина, то есть длительный повышенный уровень серотонина, поддерживает активность натуральных киллеров и Т-лимфоцитов «на молодом уровне» и профилактически снижает патологию селезёнки, связанную с возрастом [23].

Следовательно, серотониновый статус селезёнки крыс, получавших с питьевой водой соединения кремния в течение девяти месяцев, свидетельствует о том, что данный микроэлемент не только не способствует «омоложению» селезёнки, а наоборот, вероятно, приводит к увеличению биологического возраста данного органа.

Возможно, снижение содержания катехоловых аминов в макрофагах и их микроокружении является следствием того, что выделение провоспалительных цитокинов, которые провоцирует кремний [4], снижает выделение катехоловых аминов из адренергических нервов, которыми богата селезёнка [47].

Если в тимусе крыс, самцов и самок плотность адренергических нервных волокон увеличивается с возрастом, то в селезёнке при этом она снижается. Эти различия могут быть связаны с относительным уровнем антигенной стимуляции в тимусе (низкий) по сравнению с селезёнкой (высокий), а также с особенностями цитокиновой регуляции высвобождения норадреналина [12; 14; 44; 45]. Уменьшение симпатической иннервации в селезёнке сопровождается значительным сокращением активности натуральных киллеров, снижением продукции IL-2 и IFN- γ и пролиферации Т- и В-лимфоцитов у старых самок крыс [15].

Имеют место сведения об эндогенном продуцировании катехоламинов в селезёнке Т- и В-лимфоцитами, которые содержат ферменты тирозингидроксилазу и фенилэтаноламин-N-метилтрансферазу, необходимые для синтеза катехоламинов, причем повышение уровня этих ферментов сопровождается ослаблением экспрессии в лимфоцитах γ -интерферона. Кроме того, повышение уровня данных ферментов индуцирует апоптоз лимфоцитов, что приводит к дискоординации взаимодействия Т- и В-лимфоцитов в иммунном ответе [20].

Нервная система играет важную регулирующую роль в поддержании соответствующего иммунного ответа путем передачи сигналов иммунным клеткам. Эти иммунные клетки, включая В- и Т-лимфоциты, могут дополнительно выступать в качестве посредников, с подмножествами В- и Т-лимфоцитов, экспрессирующих холин-ацетилтрансферазу – фермент, необходимый для синтеза ацетилхолина. Предполагается, что синтез ацетилхолина Т-лимфоцитами происходит после высвобождения норадреналина из симпатических нервных окончаний в селезёнке. Клетки, экспрессирующие ацетилхолинэстеразу, расположены близко к адренергическим нервным волокнам, так как на них есть белок CXCR5, который является рецептором хемокина CXCL13 (хемоаттрактант В-лимфоцитов). Последний продуцируется стромальными клетками селезёнки, на которых есть β_2 -адренорецептор. Другими словами, симпатическая иннервация способствует организации лимфоцитов в белой пульпе селезёнки путем регуляции синтеза CXCL13 стромальными клетками [34]. Возможно, возрастные изменения селезёнки крыс, которые связаны с дезорганизацией белой пульпы, связаны с уменьшением плотности адренергических нервных волокон.

Катехоламины могут продуцироваться многими стволовыми гемопоэтическими клетками и, соответственно, их потомками [32]. В селезёнке мышей с диабетом самыми распространенными продуцентами являются В-лимфоциты и макрофаги, а при диабете возрастает экспрессия тирозингидроксилазы в Т-лимфоцитах, макрофагах и нейтрофилах [46].

Имеется исследование, которое доказывает синтез и высвобождение катехоламинов в клеточной макрофагальной линии RAW264.7. Хотя уровень катехоламинов был низким в нестимулированных клетках, активация их липополисахаридом индуцировала образование мРНК тирозингидроксилазы и увеличивала концентрацию внеклеточного норадреналина и внутриклеточного дофамина в течение 48 часов. Высокие концентрации дофамина или норадреналина снижали пролиферацию и увеличивали апоптоз макрофагов [21]. Не исключено, что снижение интенсивности люминесценции катехоловых аминов в макрофагах после девяти месяцев поступления с питьевой водой кремния связано с тем, что, с одной стороны, организм щадит «хлебнувшие лиха» макрофаги от апоптоза, а с другой – препятствует размножению клеток, выделяющих при взаимодействии с кремнием провоспалительные цитокины [4; 11].

Селезёнка, благодаря большому количеству в ней макрофагов и нейтрофилов, является основным источником провоспалительных цитокинов для организма, которые, по мнению авторов, поддерживают хронические системные воспалительные заболевания, включая аутоиммунные [18].

Роль селезёнки в хронических иммуноопосредованных воспалительных заболеваниях представляется этим авторам следующей: высокая активность симпатической нервной системы в селезёнке может ослабить системное воспаление путём стимуляции адренергических рецепторов клеток, которая приводит к увеличению секреции интерлейкина-10 (IL-10) и ингибированию продукции фактора некроза опухоли (TNF- α) иммунными клетками селезёнки в системный кровоток [18]. Это оказывает противовоспалительное действие в тканях и органах-мишенях при таких воспалительных заболеваниях, как колит, диабет 2-го типа, цирроз печени, хроническая болезнь почек, артериит, атеросклероз, хроническая сердечная недостаточность, ишемическая

болезнь сердца, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь лёгких и ревматоидный артрит [18].

Адаптационная реакция, обнаруженная нами в селезёнке, а именно снижение интенсивности люминесценции катехоловых аминов в продуцирующих аминах клетках и их микроокружении, представляется прямо противоположной и, наоборот, может быть расценена нами как отсутствие инициации противовоспалительного процесса. В связи с этим возникает вопрос: пытался ли организм активизировать адренергическую иннервацию селезёнки в процессе адаптации к поступлению с питьевой водой кремния или этот путь подходит только для воспалительных процессов, не связанных с микроэлементами.

Наблюдается ярко выраженная реципрокность в интенсивности люминесценции катехоловых аминов и серотонина с одной стороны и гистамина с другой стороны в структурно-функциональных компартментах селезёнки через девять месяцев воздействия поступающего с питьевой водой кремния. Такое изменение нейроаминного статуса органа свидетельствует об усилении воспалительных и инволюционных процессов.

Обобщение результатов комплексного исследования по изучению адаптации селезёнки лабораторных грызунов к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев позволяет утверждать, что микроморфологическая реакция селезёнки пропорциональна сроку воздействия. Изменения, затрагивающие архитектуру белой пульпы, а также количественные и качественные характеристики макрофагов при участии нейромедиаторных биогенных аминов (катехоловых аминов, серотонина, гистамина), можно расценивать как ускорение физиологической инволюции органа.

Литература к главе 5

1. Гордова В. С. Структурно-функциональное состояние лимфатических органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой»: дис. ... канд. мед. наук. Чебоксары, 2014. 164 с.
2. Гурьянова Е. А. Морфофункциональные аспекты влияния акупунктуры на взаимодействие нейромедиаторов в структурах органов иммуногенеза и кожи: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Саранск. 2011. 41 с.

3. Кулинский В. И. Биохимические аспекты воспаления : (обзор) // Биохимия. 2007. Т. 72, № 6. С. 733–746.
4. Сапожников С. П., Гордова В. С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. № 3. С. 3–13.
5. Селезенка: онтогенез и старение : [Электронный ресурс] / Е. П. Кузнецова [и др.] // Геронтология. 2015. № 1. URL: gerontology.esrae.ru/ru/9-103 (дата обращения: 03.05.2020).
6. Серотонин: биологические свойства и перспективы клинического применения / В. Ю. Шур [и др.] // Фундаментальные исследования. 2014. № 7. С. 621–629.
7. Серотониновый статус структур селезенки крыс при изолированном и сочетанном поступлении водорастворимых соединений кремния и кальция / В. С. Гордова [и др.] // Материалы Десятой международной научной школы «Наука и инновации – 2015». Йошкар-Ола, 2015. С. 190–194.
8. Сысоева Л. А. Люминесцентно-гистохимическая характеристика ранней реакции моноаминсодержащих структур селезенки на антигенное воздействие: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1986. 20 с.
9. Федорова Н. П. Морфологические основы защитно-приспособительных реакций соединительной ткани кожи и тимуса при повреждающих и корригирующих воздействиях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 25 с.
10. Черешнев В. А., Гусев Е. Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Медицинская иммунология. 2001. Т. 3, № 3. С. 361–368.
11. Шубенков А. Н. Эффекты модифицированных наночастиц кремния на культивируемые иммунокомпетентные и мезенхимальные стромальные клетки человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2015. 26 с.
12. A longitudinal study of age-related loss of noradrenergic nerves and lymphoid cells in the rat spleen / D. L. Bellinger [et al.] // Experimental Neurology. 1992. Vol. 116, № 3. PP. 295–311.
13. Abbinanti M. D., Harris-Warrick R. M. Serotonin modulates multiple calcium current subtypes in commissural interneurons of the neonatal mouse // Journal of Neurophysiol. 2012. Vol. 107. PP. 2212–2219.
14. Age-associated alterations in sympathetic neural interactions with the immune system [Электронный ресурс] / K. S. Madden // Developmental & Comparative Immunology. 1997. Vol. 21, № 6. PP. 479–486. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0145305X97000281> (дата обращения: 03.05.2020).

15. Age-associated alterations in sympathetic noradrenergic innervation of primary and secondary lymphoid organs in female Fischer 344 rats [Электронный ресурс] / S. ThyagaRajan [et al.] // Journal of Neuroimmunology. 2011. Vol. 233, № 1–2. PP. 54–64. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165572810005230?via%3Dihub> (дата обращения: 01.06.2020).

16. Age-related differences in pulmonary and cardiovascular responses to SiO₂ nanoparticle inhalation: nanotoxicity has susceptible population / Z. Chen [et al.] // Environmental Science & Technology. 2008. Vol. 42, № 23. PP. 8985–8992.

17. Aging-associated immunosenescence via alterations in splenic immune cell populations in rat [Электронный ресурс] / N. I. El-naseery [et al.] // Life Sciences. 2019. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320519310963?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

18. Bellinger D. L., Lorton D. Sympathetic Nerve Hyperactivity in the Spleen: Causal for Nonpathogenic-Driven Chronic Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMiDs)? // International Journal of Molecular Sciences. 2018, № 19. PP. 1188.

19. Black P. H. Stress and inflammatory response: a review of neurogenic inflammation // Brain, Behavior and Immunity. 2002. № 16. PP. 622–653.

20. Catecholamine production is differently regulated in splenic T- and B-cells following stress exposure [Электронный ресурс] / M. Laukova [et al.] // Immunobiology. 2013. Vol. 218, № 5. PP. 780–789. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171298512004950?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

21. Catecholamines in a macrophage cell line [Электронный ресурс] / S. W. Brown [et al.] // Journal of Neuroimmunology. 2003. Vol. 135, № 1–2. PP. 47–55. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165572802004356?via%3Dihub> (дата обращения: 13.05.2020).

22. Cesta M. F. Normal structure, function, and histology of the spleen // Toxicol Pathol. 2006. Vol. 34. PP. 455–465.

23. Clancy J., Lorens, S. Jr. Subchronic and chronic exposure to d-fenfluramine dose-dependently enhances splenic immune functions in young and old male Fischer-344 rats [Электронный ресурс] // Behavioural brain research. 1996. Vol. 73, № 1–2. PP. 355–358. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432896001143?via%3Dihub> (дата обращения: 15.05.2020).

24. Effects of PARP-1 Deficiency and Histamine H₄ Receptor Inhibition in an Inflammatory Model of Lung Fibrosis in Mice [Электронный ресурс] / M. Durante [et al.] // Frontiers in Pharmacology. 2019. № 10. P. 525. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6535496/> (дата обращения: 03.05.2020).

25. Endo Y., Suzuki R., Kumagai K. Macrophages can produce factors capable of inducing histidine decarboxylase, a histamine-forming enzyme, in vivo in the liver, spleen, and lung of mice [Электронный ресурс] // Cellular Immunology. 1986. Vol. 97, № 1. PP. 13–22. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0008874986903709> (дата обращения: 03.05.2020).
26. Feldman A. M., Combes A., Wagner D. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure // Journal of the American College of Cardiology. 2000. № 35. PP. 537–544.
27. Hirasawa N., Ohuchi K. Regulation of histamine production in macrophages [Электронный ресурс] // Folia Pharmacologica Japonica. 2001. Vol. 118, № 1. PP. 23–28. URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/118/1/118_1_23/_article/-char/ja/ (дата обращения: 03.06.2020).
28. Histamine Induces CD86 Expression and Chemokine Production by Human Immature Dendritic Cells / G. Caron [et al.] // Journal of Immunology. 2001. Vol. 166, № 10. PP. 6000–6006.
29. Histamine production via mast cell-independent induction of histidine decarboxylase in response to lipopolysaccharide and interleukin-1 [Электронный ресурс] / X. Wu [et al.] // International Immunopharmacology. 2004. Vol. 4, № 4. PP. 513–520. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S156757690300256X?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).
30. Histamine: its novel role as an endogenous regulator of Con A-dependent T cell proliferation [Электронный ресурс] / H. Nakane [et al.] // Inflammation Research. 2004. Vol. 53. PP. 324–328. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00011-004-1264-2> (дата обращения: 01.06.2020).
31. Lichtman A. H., Segel G. B., Lichtman M. A. The Role of Calcium in Lymphocyte Proliferation (an Interpretive Review) // Blood. 1983. Vol. 61, № 3. PP. 413–422.
32. Maestroni G. J. M. Adrenergic Modulation of Hematopoiesis // Journal of Neuroimmune Pharmacology : the Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology. 2020. Vol. 15, № 1. PP. 82–92.
33. Marginal zone macrophages suppress innate and adaptive immunity to apoptotic cells in the spleen / T. L. McGaha [et al.] // Blood. 2011. Vol. 117, № 20. PP. 5403–5412.
34. Neuroanatomy of the spleen: Mapping the relationship between sympathetic neurons and lymphocytes [Электронный ресурс] / K. Murray [et al.] // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 7. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0182416> (дата обращения: 03.06.2020).

35. Neuroendocrine Signaling Via the Serotonin Transporter Regulates Clearance of Apoptotic Cells / T. Tanaka [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. 2014. Vol. 289, № 15. PP. 10466–10475.
36. Religa Z., Malinski C. I. Histamine metabolism in experimental silicosis. Experiments on the isolated rat lung and on guinea pig lung homogenates and sections // *Life Sciences*. 1970. Vol. 9. PP. 689–700.
37. Role of Histamine in Modulating the Immune Response and Inflammation [Электронный ресурс] / A. C. Castelo Branco [et al.] // *Mediators of Inflammation*. 2018. Special Issue. URL: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2018/9524075/> (дата обращения: 03.05.2020).
38. Roxatidine inhibits fibrosis by inhibiting NF- κ B and MAPK signaling in macrophages sensing breast implant surface materials [Электронный ресурс] / L. Ji [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. 2020. Vol. 21, № 1. PP. 161–172. URL: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2019.10815> (дата обращения: 15.05.2020).
39. Rupatadine protects against pulmonary fibrosis by attenuating PAF-mediated senescence in rodents [Электронный ресурс] / X. X. Lv [et al.] // *PloS One*. 2013. Vol. 8, № 7. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0068631> (дата обращения: 03.06.2020).
40. Serotonin activates murine alveolar macrophages through 5-HT_{2C} receptors / Z. Mikulski [et al.] // *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2010. Vol. 299. PP. L272–L280.
41. Serotonin Skews Human Macrophage Polarization through HTR_{2B} and HTR₇ / M. Casas-Engel [et al.] // *Journal of Immunology*. 2013. Vol. 190. PP. 2301–2310.
42. Silica-directed mast cell activation is enhanced by scavenger receptors / J. M. Brown [et al.] // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2007. Vol. 36. PP. 43–52.
43. Stimulatory effects of histamine on migration of nasal fibroblasts [Электронный ресурс] / S. M. Hong [et al.] // *International forum of allergy & rhinology*. 2015. Vol. 5, № 10. PP. 923–928. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/alr.21555> (дата обращения: 03.06.2020).
44. Sympathetic innervation of the spleen in male Brown Norway rats: a longitudinal aging study [Электронный ресурс] / S. D. Perez [et al.] // *Brain Research*. 2009. Vol. 1302. PP. 106–117. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899309018861?via%3Dihub> (дата обращения: 01.06.2020).

45. Sympathetic Nervous System and Lymphocyte Proliferation in the Fischer 344 Rat Spleen: A Longitudinal Study / D. L. Bellinger [et al.] // *Neuroimmunomodulation*. 2008. Vol. 15, № 4–6. PP. 260–271.

46. Sympathetic Neuronal Activation Triggers Myeloid Progenitor Proliferation and Differentiation [Электронный ресурс] / S. B. Vasamsetti [et al.] // *Immunity*. 2018. Vol. 49, № 1. PP. 93–106.e7. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761318302401?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

47. The sympathetic nerve an integrative interface between two super-systems: the brain and the immune system / I. J. Elenkov [et al.] // *Pharmacological Reviews*. 2000. Vol. 52, № 4. PP. 595–638.

48. Turner V. M., Mabbott N. A. Influence of ageing on the microarchitecture of the spleen and lymph nodes [Электронный ресурс] // *Biogerontology*. 2017 Vol. 18. PP. 723–738. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10522-017-9707-7> (дата обращения: 03.05.2020).

Глава 6

ПОДСЛИЗИСТЫЕ АГРЕГИРОВАННЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ УЗЕЛКИ ТОНКОЙ КИШКИ

6.1. Общеморфологическая характеристика подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки

Макропрепараты подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки (пейеровых бляшек) крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев (серия 2), имеют отличия. У крыс, подвергавшихся воздействию водорастворимой соли кремния, они увеличены в размерах, более выпуклые, похожи на тутовые ягоды, в них хорошо различимы отдельные лимфоидные узелки (рис. 17). Окраска гематоксилином и эозином выявляет в лимфоидных узелках герминативные центры, которые выглядят крупнее у крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния (рис. 18).

Визуальные изменения подтверждаются результатами морфометрии (табл. 39). Соотношение площади герминативного центра в лимфоидном узелке к общей площади узелка при этом составляет для животных контрольной и опытной группы $0,35 \pm 0,01\%$ и $0,38 \pm 0,01\%$ соответственно ($p < 0,001$).

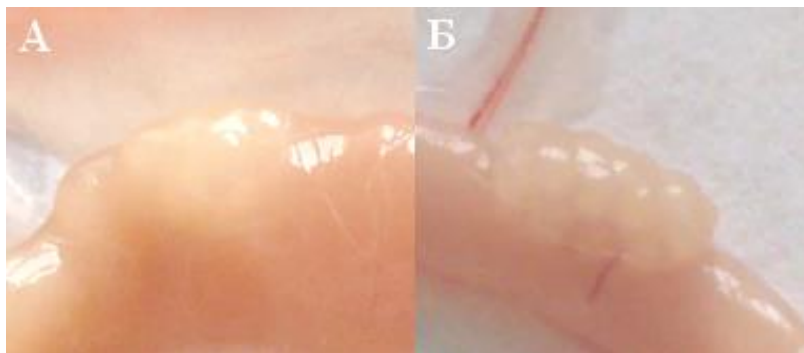


Рис. 17. Подслизистые агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки лабораторных крыс. Макропрепараты:
А – пейерова бляшка крысы контрольной группы. Б – пейерова бляшка крысы, получавшей с питьевой водой кремний

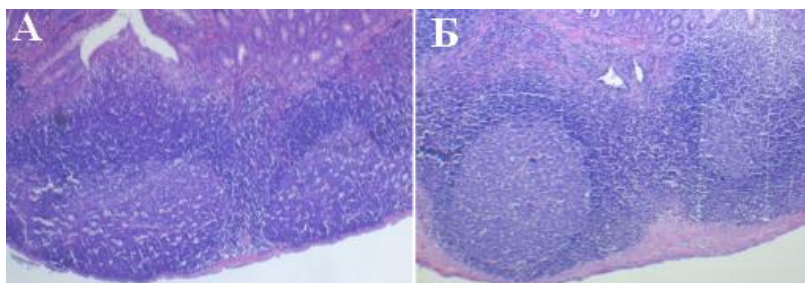


Рис. 18. Подслизистые агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки лабораторных крыс. Окр. Гематоксилин-эозин и альциановый синий. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 4. Ок. 10:

А – крыса из контрольной группы. Б – крыса из опытной группы

Таблица 39

Морфометрические показатели подслизистых агрегированных лимфоидных узелков подвздошной кишки крыс ($M \pm m$)

Морфометрический показатель	Группа крыс	
	Контроль	Опыт
Средняя высота, мкм	$598,26 \pm 13,02$	$738,06 \pm 26,38^*$
Средняя длина, мкм	$814,93 \pm 15,85$	$932,46 \pm 27,05^*$
Площадь герминативного центра, $\times 10^4$ мкм ²	$13,39 \pm 0,52$	$20,68 \pm 1,19^*$
Общая площадь узелка	$38,16 \pm 11,68$	$54,49 \pm 2,68^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Поступление с питьевой водой кремния приводит к увеличению общей площади лимфоидных узелков, а также к увеличению абсолютных и относительных площадей герминативных центров в лимфоидных узелках.

В подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкой кишки поступление с питьевой водой кремния в течение девяти месяцев обнаруживает статистически значимое уменьшение относительной площади герминативных центров по сравнению с контрольной группой – в среднем 27 и 35% соответственно, в то время как различия абсолютных значений площадей лимфоидных узелков не являются статистически значи-

мыми. Кроме того, в герминативных центрах лимфоидных узлов крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния в течение девяти месяцев, наблюдается хорошо заметная инфильтрация лимфоцитами: появление ярко выраженных «синих узоров на светлом фоне».

6.2. Тучные клетки тонкой кишки

При исследовании гистологических препаратов подслизистых агрегированных лимфоидных узлов тонкой кишки, окрашенных толуидиновым синим по методу Унна, нами не было обнаружено тучных клеток ни у одной крысы. Те же результаты мы получили и при окраске по Гимза.

Некоторое количество тучных клеток удалось найти в подслизистой оболочке тонкой кишки крыс при использовании авидина с флуоресцирующей меткой «Avidin-Alexa Fluor® 488», выявляющего гепарин в гранулах тучных клеток. Тучные клетки при этом наблюдались овально-округлые, гранулы в них одинакового размера, имеют однородное зелёное свечение, располагаются как внутри клеток, так и вне их, однако, по техническим причинам, не представилось возможным сравнить тучные клетки подслизистой тонкой кишки крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний.

Эта особенность наличия тучных клеток в кишечнике объясняется следующим образом. Во-первых, эпителиально-иммунный гомеостаз на поверхностях слизистой оболочки тонкой кишки в основном модулируется не тучными клетками, а внутренними стромально-мезенхимальными клетками. Для органогенеза лимфоидных узлов требуется пространственно-временное динамическое взаимодействие между лимфоидными клетками и стромальными клетками, которые обеспечивают опосредованную дифференцировку клеток врожденного иммунного ответа, к которым относятся и тучные клетки. Наряду со стромальными клетками в процессах регуляции гомеостаза принимают участие стволовые клетки, эпителиоциты, бокаловидные клетки, клетки Панета, М-клетки, а также Т-хелперы первого типа и В-лимфоциты [14]. Тучные клетки кишечника, трипта-зопозитивные, имеют два типа рецепторов к кортикотропин-

рилизинг фактору, и активно включаются в схему организации местного эпителиально-иммунного гомеостаза при стресс-индуцированных процессах [30], к которым не относится поступление с питьевой водой кремния.

6.3. Макрофаги подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки

По литературным данным, в герминативных центрах лимфоидных узелков пейеровых бляшек находится только один подтип макрофагов [29]. Мы сосредоточили внимание именно на этой морфо-функциональной зоне.

Герминативные центры подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки крыс контрольной группы содержат главным образом фагоцитирующие макрофаги с апоптотическими тельцами. Цитоплазматическая мембрана этих макрофагов коричневая, цитоплазма не окрашена [1].

У крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния в течение двух месяцев, Iba-1-позитивные клетки в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки визуальнее меньше по размеру, представлены как фагоцитирующими макрофагами с апоптотическими тельцами внутри, так и большими клетками неправильной формы. Цитоплазматическая мембрана этих клеток коричневая, их цитоплазма либо не окрашена, либо окрашена в светло-коричневый цвет [1].

Визуальная картина подтверждается статистической значимостью различий в средних размерах Iba-1-позитивных клеток в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки [1]. Так, для крыс контрольной группы этот показатель составил $222,80 \text{ мкм}^2 \pm 16,87 \text{ мкм}^2$, а для крыс, получавших с питьевой водой кремний, – $173,27 \text{ мкм}^2 \pm 16,57 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$). Интенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны макрофагов герминативных центров подслизистых агрегированных лимфоидных узелков крыс контрольной и опытной групп является сопоставимой ($109,25 \pm 1,3$ усл. ед. и $108,91 \pm 1,6$ усл. ед. соответственно), при этом наблюдается

некоторое уменьшение интенсивности светопропускания цитоплазмы ($143,06 \pm 1,89$ усл. ед. и $137,90 \pm 1,59$ усл. ед. соответственно, $p < 0,05$) [1].

Различия в количестве Iba-1-позитивных клеток герминативных центров подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки на поле зрения ($\times 400$) статистически значимы. Для крыс контрольной группы количество составило $17,71 \pm 0,32$ штук, для получавших с питьевой водой кремний – $24,17 \pm 0,03$ штук ($p < 0,001$).

Обращает на себя внимание то, что корреляционные связи между площадями Iba-1-позитивных клеток герминативных центров подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки и интенсивностями светопропускания цитоплазмы и цитоплазматической мембраны в них претерпевают определённые изменения [1].

Так, показатели М-П, Ц-М и Ц-П для контрольной группы равны 0,23; 0,48 и 0,15, а для опытной – 0,37; 0,52 и 0,62 соответственно. У лабораторных крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, наблюдается появление связи средней силы положительной направленности между интенсивностью светопропускания цитоплазмы и площадью клетки [1].

Таким образом, при воздействии соединения кремния, поступающего с питьевой водой в течение двух месяцев, в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки лабораторных крыс параллельно с увеличением количества Iba-1-позитивных клеток происходит уменьшение их средней площади с изменением интенсивности светопропускания в их цитоплазме [1].

6.4. Антигенпрезентирующие клетки подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки

Антигенпрезентирующие (МНС-II-позитивные) клетки наблюдаются в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки, в межузловых зонах, а также по краю лимфоидных узелков, прилежащих к соединительнотканной оболочке подвздошной кишки [1].

Морфометрия не выявила различий в средних размерах, интенсивности светопропускания цитоплазмы и цитоплазматической мембраны этих клеток для крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний (табл. 40, 41).

Таблица 40

Характеристика антигенпрезентирующих клеток
агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки
лабораторных крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт
Герминативный центр лимфоидного узелка		
Площадь клеток, мкм^2	$19,11 \pm 0,70$	$19,96 \pm 0,87$
Количество клеток на поле зрения ($\times 400$), шт.	$2,43 \pm 0,16$	$12,87 \pm 0,60^{**}$
Из них клеток с апоптотическими тельцами, %	$11,9 \pm 0,02$	$35,04 \pm 0,03^*$
Межузелковая зона		
Площадь клеток, мкм^2	$17,98 \pm 0,99$	$25,69 \pm 0,98^{**}$
Количество клеток на поле зрения ($\times 400$), шт.	$25,00 \pm 1,24$	$38,6 \pm 3,33^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Таблица 41

Сравнительная характеристика интенсивности светопропускания
МНС-II-позитивных клеток ($M \pm m$, усл. ед.)

Локализация белка	Контроль	Опыт
Герминативный центр лимфоидного узелка		
Мембрана	$99,36 \pm 2,01$	$95,93 \pm 0,98$
Цитоплазма	$96,29 \pm 3,11$	$95,66 \pm 2,82$
Межузелковая зона		
Мембрана	$96,87 \pm 1,13$	$97,81 \pm 0,98$
Цитоплазма	$97,20 \pm 1,70$	$101,81 \pm 1,75$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Поступление с питьевой водой кремния в течение двух месяцев приводит к увеличению средних размеров антигенпрезентирующих клеток межузелковых зон в 1,3 раза ($p < 0,05$). Интенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны антигенпрезентирующих клеток не отличается для контрольной и опытной групп крыс, плотность светопропускания цитоплазмы также можно считать сопоставимой [1].

Количество антигенпрезентирующих клеток в межузелковых зонах на поле зрения при увеличении $\times 400$ у крыс, получавших с питьевой водой кремний, увеличивается в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Обращает на себя внимание, что корреляционные связи между площадями антигенпрезентирующих клеток и интенсивностями светопропускания цитоплазмы и цитоплазматической мембраны в них для разных зон подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки претерпевают определённые изменения. Так, для герминативных центров лимфоидных узелков показатели М-П, Ц-М и Ц-П для контрольной группы составляют 0,21; 0,78 и 0,49 соответственно, а для опытной – -0,02; 0,50 и 0,30 соответственно [1].

В межузелковых зонах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки показатели М-П, и Ц-М и Ц-П для контрольной группы равны: -0,12; 0,53 и -0,04 соответственно, а для опытной – -0,23; 0,61 и -0,04 соответственно.

Таким образом, при поступлении с питьевой водой кремния в течение двух месяцев в подслизистые агрегированные лимфоидные узелки тонкой кишки лабораторных крыс происходит увеличение количества антигенпрезентирующих клеток в герминативных центрах лимфоидных узелков и межузелковых зонах, а также увеличение их размеров в межузелковых зонах. Изменение количества антигенпрезентирующих клеток в лимфоидных узелках тонкой кишки носит такой же характер, как и в селезёнке, что может свидетельствовать о системном действии на организм кремния [1].

6.5. Проллиферативные процессы в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки

С помощью маркера клеточной пролиферации PCNA в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкой кишки выявляются клетки, содержащие циклин А – белок, функционирующий в S-фазе клеточного цикла как кофактор ДНК-полимеразы. Он связан с синтезом и репарацией ДНК. Клетки, которые не содержат этого белка, флуоресцируют только синим цветом, в то время как клетки, которые содержат этот белок, светятся и синим, и красным. Максимальная концентрация PCNA-позитивных клеток наблюдается в герминативных центрах, единичные PCNA-позитивные клетки располагаются в межузелковой зоне (рис. 19) .

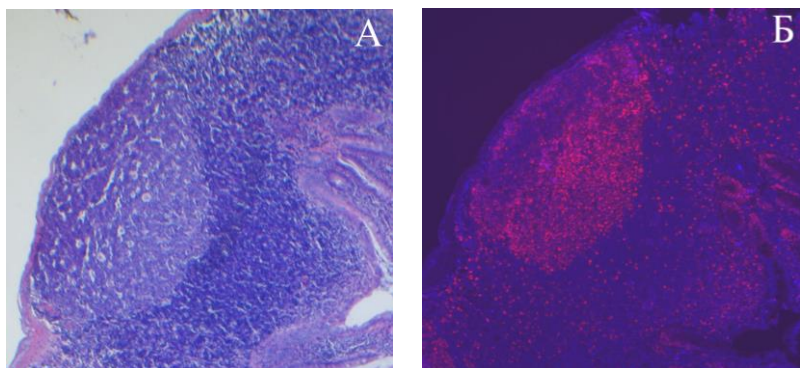


Рис. 19. Морфологическая параллель. Лимфоидный узелок подслизистой тонкой кишки животного контрольной группы:

А – окраска: гематоксилин-эозин и альциановый синий. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 10. Ок. 10. Б – двойной иммунофлуоресцентный метод PCNA. Микроскоп Nikon Eclipse 50I. Об. 10. Ок. 10

Индекс пролиферации для метода, выявляющего маркер PCNA, составил для контрольной группы крыс – $81,56 \pm 2,09\%$, для опытной – $88,29 \pm 0,08\%$ ($p < 0,05$), то есть поступление с питьевой водой кремния в организм лабораторных крыс в течение двух месяцев приводит к увеличению общей площади

герминативных центров в лимфоидных узелках тонкой кишки, без изменения интенсивности пролиферативных процессов в них [1].

Результаты исследования могут быть объяснены тем, что в лимфоидных узелках тонкой кишки под влиянием поступающего с питьевой водой кремния почти в пять раз увеличивается количество антигенпрезентирующих (МНС-II-позитивных) клеток, при непосредственном участии которых в лимфоидных узелках тонкой кишки начинаются пролиферативные процессы [25].

6.6. Биоаминсодержащие структуры подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки и прилежащих к ним кишечных ворсинок

Люминесцентная морфология подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки в целом сходна для метода Фалька, выявляющего катехоловые амины, и для метода Кросса, выявляющего гистамин (рис. 20, 21).

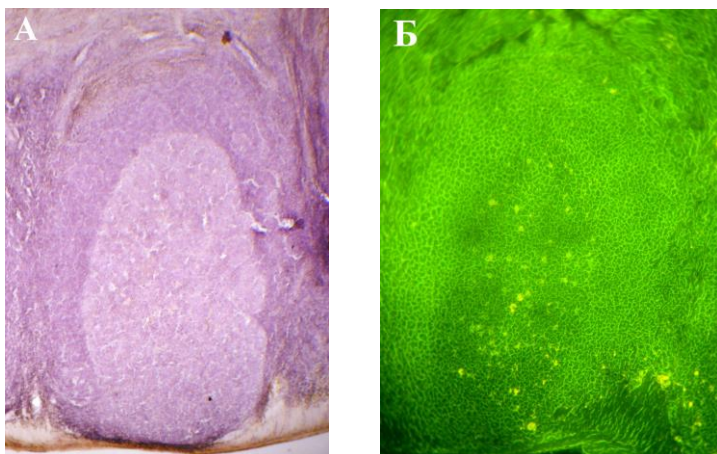


Рис. 20. Морфологическая параллель. Лимфоидный узелок подвздошной кишки животного опытной группы:

А – окраска гематоксилином и эозином. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 4. Ок. 10. Б – метод Кросса. Микроскоп ЛЮМАМ-1. Об. 4. Ок. 10

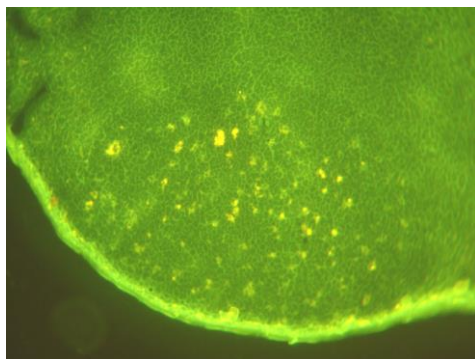


Рис. 21. Лимфоидный узелок подвздошной кишки крысы, получавшей с питьевой водой кремний. Метод Кросса. Микроскоп ЛЮОММ-1. Об. 10. Ок. 10

При обработке криостатных срезов по методу Кросса в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкой кишки лабораторных крыс контрольной группы определяются округлые, обладающие слабым свечением лимфоидные узелки, в которых четко различимы герминативные зоны – они имеют приглушенное свечение [1]. Люминесцирующие гранулосодержащие клетки при этом находятся в герминативных центрах лимфоидных узелков, по краю лимфоидных узелков, в межузелковой зоне.

В менее яркой герминативной зоне в лимфоидном узелке, чаще имеющей округлые очертания, расположены ярко люминесцирующие клетки лимонно-жёлтого цвета, которые могут располагаться группами по несколько клеток. Внутри них четко определимы светящиеся жёлто-беловатые гранулы [1].

В межузелковой зоне визуализируются мелкие люминесцирующие клетки, которые светятся менее ярко. Клетки по периферии узлов разнообразной формы, в них нет скоплений ярких гранул, свечение их приглушенное и имеет жёлто-оранжевый оттенок [1].

Подслизистые агрегированные лимфоидные узелки тонкой кишки лабораторных крыс, получавших питьевую воду с добавлением соединения кремния, визуалью мало отличаются от узелков тонкой кишки крыс контрольной группы. Герминативная зона в них имеет вытянутую либо шаровидную форму.

В герминативной зоне также видны люминесцирующие клетки лимонно-жёлтого цвета, которые могут располагаться

группами по несколько клеток. Внутри них определимы светящиеся жёлто-беловатые гранулы, цвет свечения которых колеблется от беловато-лимонного до ярко-жёлтого. Вокруг самых ярких клеток с неразличимыми гранулами виден светло-жёлтый ободок диффузного свечения [1].

Что касается прилежащих к лимфоидным узелкам кишечных ворсинок, то в собственной пластинке слизистой практически каждой кишечной ворсинки хорошо видны макрофаги собственной пластинки слизистой тонкой кишки – это люминесцирующие клетки, которые располагаются в центре ворсинки в один ряд и содержат хорошо различимые ярко-жёлтые субтильные гранулы.

Бокаловидные клетки при этом не люминесцируют и визуализируются в виде темных овальных множественных углублений на всем протяжении поверхности кишечной ворсинки.

Дополнительно поставленные нами иммуногистохимические реакции с антителами к белковым адапторным молекулам Iba-1, а также к маркеру CD68 в серийных срезах кишечника подтвердили макрофагальную природу клеток собственной пластинки ворсинок тонкой кишки, содержащих нейромедиаторные биогенные амины.

Сравнительные показатели интенсивности люминесценции гистамина в содержащих его клетках лимфоидных узелков и их микроокружении представлены в табл. 42.

Таблица 42

Интенсивность люминесценции гистамина в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкой кишки через два месяца эксперимента ($M \pm m$, усл. ед.)

Гистаминсодержащая структура лимфоидных узелков кишечника	Контроль	Опыт
ЛГК лимфоидных узелков	$21,21 \pm 1,90$	$25,9 \pm 1,44$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$6,93 \pm 0,87$	$8,48 \pm 1,02$
ЛГК, окружающие узелки	$19,25 \pm 1,14$	$22,06 \pm 2,69$
МКО ЛГК, окружающих узелки	$7,26 \pm 0,78$	$10,09 \pm 1,41$
Клетки межузелковой зоны	$10,37 \pm 0,58$	$16,02 \pm 1,82^*$
МКО клеток межузелковой зоны	$4,94 \pm 0,21$	$8,22 \pm 0,52^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Интенсивность люминесценции гистамина возрастает в клетках межузелковых зон (в 1,5 раза, $p < 0,05$) и в микроокружении этих клеток (в 1,6 раза, $p < 0,05$) для крыс опытной группы [1].

Отношение интенсивности люминесценции гистамина между микроокружением гистаминсодержащих клеток и гистаминсодержащими клетками подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки, выраженное в процентах, у крыс контрольной группы составляет $0,34 \pm 0,03\%$ для клеток герминативных центров, $0,44 \pm 0,03\%$ для клеток лимфатических синусов и $0,46 \pm 0,03\%$ для клеток межузелковой зоны [1].

У крыс, получавших с питьевой водой кремний, эти значения равны $0,36 \pm 0,05\%$, $0,48 \pm 0,02\%$ и $0,52 \pm 0,02\%$ соответственно, причем различия с контрольной группой для межузелковых клеток являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

Сравнение интенсивности люминесценции гистамина в структурах кишечных ворсинок лабораторных крыс через два месяца эксперимента приведено в табл. 43.

Таблица 43

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурах кишечных ворсинок лабораторных крыс
через два месяца ($M \pm m$, усл. ед.)

Гистаминсодержащая структура кишечных ворсинок	Группа крыс	
	Контроль	Опыт
ЛГК кишечных ворсинок	$14,63 \pm 2,28$	$16,34 \pm 1,22$
МКО ЛГК кишечных ворсинок	$6,37 \pm 0,79$	$7,67 \pm 0,52$
Эпителиальные клетки	$7,82 \pm 0,59$	$8,03 \pm 0,84$

Из табл. 43 видно, что поступление с питьевой водой кремния в течение двух месяцев не изменяет интенсивность люминесценции гистамина в структурах кишечных ворсинок [1].

Отношение интенсивности люминесценции гистамина между микроокружением гистаминсодержащих клеток и гистаминсодержащими клетками собственной пластинки слизистой кишечных ворсинок, выраженное в процентах также является сопоставимым: у крыс контрольной и опытной групп оно составляет $53,90 \pm 4,06\%$ и $58,44 \pm 4,42\%$ соответственно.

Мы приводим в данной работе информацию о серотониновом и катехоламиновом статусе подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки и прилежащих к ним ворсинок на поступление кремния в течение двух месяцев в воде различной жесткости. Отличием люминесцентной морфологии подслизистых агрегированных лимфоидных узелков и прилежащих к ним ворсинок тонкой кишки, обработанных по методу Фалька – Хилларпа, является изменение глубины оттенка жёлтого в более насыщенную сторону, при этом оттенок становится более теплым. Бокаловидные клетки при этом не люминесцируют и визуализируются в виде темных овальных множественных углублений на всем протяжении поверхности кишечной ворсинки.

В таблицах ниже появляются две дополнительные колонки с указанием третьей и четвертой групп животных. Эти группы также входили в наш комплексный эксперимент, в котором, напомним, первая группа получала воду без каких-либо добавок, вторая – с добавлением метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний, третья – хлорида кальция в концентрации 200 мг/л в пересчете на кальций, четвертая – метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний и хлорида кальция в концентрации 200 мг/л в пересчете на кальций [3].

В табл. 44 и 45 представлены данные об интенсивности люминесценции серотонина в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкой кишки при поступлении в организм с питьевой водой солей кремния, кальция, а также их сочетания.

Таблица 44

Интенсивность люминесценции серотонина в структурах агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки через два месяца эксперимента ($M \pm m$, усл. ед.)

Структура лимфоидных узелков тонкой кишки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвертая
ЛГК лимфоидных узелков	41,30 $\pm$ 2,43	41,23 $\pm$ 2,28	19,80 $\pm$ 1,01**	43,02 $\pm$ 2,83

Окончание табл. 44

Структура лимфоидных узелков тонкой кишки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвёртая
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$8,90 \pm 0,36$	$7,63 \pm 0,23^*$	$6,53 \pm 0,29^{**}$	$10,35 \pm 0,67$
ЛГК, окружающие узелки	$19,10 \pm 0,25$	$17,30 \pm 0,73^*$	$22,47 \pm 1,07^*$	$26,67 \pm 2,26$
МКО ЛГК, окружающих узелки	$8,53 \pm 0,46$	$7,30 \pm 0,09^*$	$6,97 \pm 0,38^*$	$14,34 \pm 0,76^*$
Клетки межузелковой зоны	$11,33 \pm 0,26$	$12,40 \pm 0,69$	$7,96 \pm 0,23^{**}$	$15,10 \pm 1,09^*$
МКО клеток межузелковой зоны	$7,40 \pm 0,20$	$7,03 \pm 0,26$	$4,93 \pm 0,16^{**}$	$8,51 \pm 0,47$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Таблица 45

Соотношение интенсивности люминесценции серотонина в микроокружении к интенсивности люминесценции его в серотонинсодержащих клетках ($M \pm m$, усл. ед.)

Группа крыс	Локализация клеток, содержащих серотонин		
	Лимфоидные узелки	Периферия узелков	Межузелковая зона
Первая	$0,24 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,03$	$0,66 \pm 0,02$
Вторая	$0,21 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,02^*$
Третья	$0,35 \pm 0,02^{**}$	$0,33 \pm 0,02^{**}$	$0,63 \pm 0,02$
Четвёртая	$0,24 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,03$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Анализ приведенных выше таблиц показывает, что поступление в течение двух месяцев с питьевой водой соли кремния приводит к некоторым изменениям серотонинового статуса подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки крыс, в то время как поступление кальция меняет интенсивность люминесценции серотонина в каждом из морфо-функциональных компартментов. Серотонинсодержащие клетки в составе одной морфо-функциональной единицы по-разному реагируют на сочетание солей кремния и кальция.

В табл. 46 и 47 представлены данные об интенсивности люминесценции катехоловых аминов при поступлении в организм с питьевой водой солей кремния, кальция, а также их сочетания.

Таблица 46

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурах агрегированных лимфоидных узелков
тонкой кишки через два месяца эксперимента ($M \pm m$, усл. ед.)

Структура лимфоидных узелков тонкой кишки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвёртая
ЛГК лимфоидных узелков	38,33 $\pm$ 3,45	39,40 $\pm$ 2,16	19,8 $\pm$ 0,65**	48,28 $\pm$ 3,28*
МКО ЛГК лимфоидных узелков	11,33 $\pm$ 0,49	10,10 $\pm$ 0,40	8,83 $\pm$ 0,39**	17,56 $\pm$ 1,29**
ЛГК, окружающие узелки	21,73 $\pm$ 0,50	22,37 $\pm$ 0,99	23,87 $\pm$ 1,95	42,61 $\pm$ 3,20**
МКО ЛГК, окружающих узелки	10,80 $\pm$ 0,57	9,67 $\pm$ 0,14	9,60 $\pm$ 0,65	26,27 $\pm$ 2,12**
Клетки межузелковой зоны	17,13 $\pm$ 0,72	15,46 $\pm$ 1,02	10,23 $\pm$ 0,18**	18,93 $\pm$ 1,31
МКО клеток межузелковой зоны	9,93 $\pm$ 0,31	10,4 $\pm$ 0,73	6,60 $\pm$ 0,32**	14,17 $\pm$ 1,03*

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Выраженная реакция в изменении интенсивности люминесценции данных биогенных аминов наблюдается в тех группах,

которые, независимо от поступления кремния, получали с питьевой водой кальций.

Таблица 47

Соотношение интенсивности люминесценции
катехоловых аминов в микроокружении
к интенсивности люминесценции его
в серотонинсодержащих клетках ($M \pm m$, усл. ед.)

Группа крыс	Локализация клеток, содержащих катехоловые амины		
	Лимфоидные узелки	Периферия узелков	Межузелковая зона
Первая	$0,36 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,04$
Вторая	$0,29 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,02$	$0,67 \pm 0,01$
Третья	$0,45 \pm 0,01^*$	$0,48 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,04$
Четвёртая	$0,36 \pm 0,02$	$0,62 \pm 0,02^{**}$	$0,70 \pm 0,02$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Из этих таблиц видно, что употребление с питьевой водой соли кремния не отражается на катехоламиновом статусе лимфоидных узелков тонкой кишки: абсолютные и относительные показатели интенсивности люминесценции сопоставимы для контрольной и опытной групп крыс.

Однако лимфоидные узелки оказались куда более чувствительны к поступлению кальция как в сочетании с кремнием, так и без него. Отметим, что реакция лимфоидных узелков тонкой кишки на поступление кальция неравнозначна для итоговой люминесценции серотонина и катехоловых аминов в содержащих их клетках.

В табл. 48 и 49 представлены данные об интенсивности люминесценции серотонина и катехоловых аминов в структурах ворсинок, прилежащих к подслизистым агрегированным лимфоидным узелкам тонкой кишки.

Таблица 48

Интенсивность люминесценции биоаминов
в ворсинках тонкой кишки

Биоаминсодержащая структура ворсинок тонкой кишки	Группа крыс			
	Первая	Вторая	Третья	Четвёртая
	катехоловые амины			
ЛГК кишечных ворсинок	23,17 ± ± 1,58	23,33 ± ± 1,73	19,80 ± ± 1,19	26,43 ± ± 2,21
МКО ЛГК кишечных ворсинок	11,93 ± ± 0,64	12,37 ± ± 0,64	11,90 ± ± 0,34	14,93 ± ± 0,58**
Эпителиальные клетки	16,20 ± ± 1,15	18,17 ± ± 1,16	17,70 ± ± 0,73	16,38 ± ± 1,75
	серотонин			
ЛГК кишечных ворсинок	17,27 ± ± 1,14	14,93 ± ± 0,97	14,27 ± ± 0,85*	18,53 ± ± 1,03
МКО ЛГК кишечных ворсинок	9,73 ± ± 0,53	9,73 ± ± 0,64	8,70 ± ± 0,35	11,03 ± ± 0,45
Эпителиальные клетки	10,37 ± ± 0,63	11,6 ± ± 0,76	9,97 ± ± 0,39	10,80 ± ± 1,13

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Из табл. 48 видно, что интенсивность люминесценции серотонина в гранулосодержащих клетках собственной пластинки слизистой оболочки кишечных ворсинок статистически значимо снижается у крыс, получавших с питьевой водой кальций. Сходная реакция наблюдается для этой группы и со стороны пульпарных макрофагов селезёнки.

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов в микроокружении гранулосодержащих клеток собственной пластинки слизистой оболочки кишечных ворсинок статистически значимо увеличивается у крыс, получавших с питьевой водой одновременно и кальций, и кремний.

Параллельные реакции макрофагов кишечника и селезёнки на одни и те же воздействия неоднократно были отмечены разными исследователями. При оценке эффекта перорального вве-

дения клеточных стенок пробиотических бактерий здоровым мышам линии BALB/c было обнаружено, что это стимулирует не только эпителиальные клетки кишечника, но и активирует перитонеальные макрофаги и макрофаги селезёнки, что позволяет авторам рассматривать эти соединения в качестве орального адьюванта [24].

В исследовании, посвященном изучению прионных белков, мышам, нокаутированным по прионному белку (PrP), перорально вводили прионные белки PrPs, которые в течение часа транскитозом достигали собственной оболочки слизистой кишечных ворсинок. Через несколько часов происходило накопление PrP-позитивных клеток не только в лимфоидных узелках тонкой кишки, но и в селезёнке, причем эти клетки являлись CD11b-позитивными и CD14-позитивными макрофагами. То есть макрофаги переносят прионные белки из пейеровых бляшек в другие лимфоидные органы [20]. Кроме того, тканевые макрофаги имеют множество общих рецепторов вследствие того, что они, как правило, происходят из моноцитов.

Что касается относительной люминесценции биоаминов в прилежащих к агрегированным лимфоидным узелкам ворсинках, то она статистически значимо увеличивается у крыс, получавших с питьевой водой кальций (табл. 49).

Таблица 49

Соотношение интенсивности люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в микроокружении к интенсивности люминесценции их в биоаминсодержащих клетках ($M \pm m$, %)

Группа крыс	Биогенные амины	
	Катехоламин	Серотонин
Первая	$0,55 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,03$
Вторая	$0,55 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,01$
Третья	$0,65 \pm 0,04^*$	$0,63 \pm 0,02$
Четвёртая	$0,64 \pm 0,04^*$	$0,63 \pm 0,04$

* СЗР с контрольной группой статистически значимы, $p < 0,05$.

Заслуживают внимания результаты исследования люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках кишечника крыс после девяти месяцев поступления кремния в организм с бутилированной водой (серия 5). У крыс из группы, получавшей кремний, визуальной отличительной особенностью лимфоидных узелков тонкой кишки, независимо от примененного метода люминесцентной гистохимии, является более сильное свечение люминесцирующих гранулосодержащих клеток внутри узелка. При обработке срезов по методу Кросса для выявления гистамина дополнительно наблюдается усиленное свечение ярко-оранжевых, «сочных» вытянутых люминесцирующих гранулосодержащих клеток по периферии узелков.

Что касается ворсинок, прилежащих к лимфоидным узелкам, то при обоих примененных методах люминесцентной гистохимии макрофаги собственной пластинки слизистой тонкой кишки крыс из контрольной группы визуально не отличались от макрофагов крыс, получавших с питьевой водой кремний. Обобщенные результаты измерений интенсивности биогенных аминов приведены ниже (табл. 50–54).

Таблица 50

Интенсивность люминесценции серотонина
в структурах лимфоидных узелков тонкой кишки
($M \pm m$, усл. ед.)

Серотонинсодержащая структура лимфоидных узелков тонкой кишки	Контроль	Опыт
ЛГК лимфоидных узелков	$18,87 \pm 1,34$	$25,31 \pm 1,70^*$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$5,68 \pm 0,41$	$11,30 \pm 0,77^*$
ЛГК, окружающие узелки	$46,36 \pm 3,75$	$46,78 \pm 2,75$
МКО ЛГК, окружающих узелки	$16,43 \pm 1,09$	$12,90 \pm 1,35^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Таблица 51

Интенсивность люминесценции катехоловых аминов
в структурах лимфоидных узелков тонкой кишки
($M \pm m$, усл. ед.)

Катехоламинсодержащая структура лимфоидных узелков	Контроль	Опыт
ЛГК лимфоидных узелков	$2,60 \pm 0,19$	$4,68 \pm 0,26^*$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$0,47 \pm 0,03$	$1,89 \pm 0,11^*$
ЛГК, окружающие узелки	$7,09 \pm 0,70$	$7,37 \pm 0,46$
МКО ЛГК, окружающих узелки	$1,75 \pm 0,18$	$1,99 \pm 0,19$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Таблица 52

Интенсивность люминесценции гистамина
в структурах агрегированных лимфоидных узелков
тонкой кишки ($M \pm m$, усл. ед.)

Гистаминсодержащая структура лимфоидных узелков	Контроль	Опыт
ЛГК лимфоидных узелков	$1,71 \pm 0,17$	$3,32 \pm 0,38^*$
МКО ЛГК лимфоидных узелков	$1,29 \pm 0,11$	$2,00 \pm 0,20^*$
ЛГК, окружающие узелки	$3,28 \pm 0,31$	$8,38 \pm 0,56^*$
МКО ЛГК, окружающих узелки	$2,25 \pm 0,08$	$4,45 \pm 0,38^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

По сравнению с контрольной группой изменения обнаружены для всех видов нейромедиаторных биогенных аминов (гистамин, серотонин, катехоловые амины), и они заключаются в увеличении интенсивности люминесценции этих аминов в содержащих их клетках узелков и их микроокружении, а интенсивность люминесценции гистамина возрастает и для клеток, окружающих узелки.

Относительные величины интенсивности люминесценции биогенных аминов представлены в табл. 53.

По сравнению с контрольной группой в лимфоидных узелках наблюдается увеличение относительной интенсивности лю-

минесценции катехоловых аминов и серотонина, в то время как относительная интенсивность люминесценции гистамина снижается. В окружении узелков интенсивность люминесценции катехоловых аминов и серотонина не изменяется, а гистамина – существенно снижается.

Таблица 53

Соотношение интенсивности люминесценции
биогенных аминов в микроокружении
к интенсивности люминесценции его
в биоаминсодержащих клетках ($M \pm m$, %)

Биогенные амины	Контроль	Опыт
Лимфоидные узелки		
Серотонин	$0,31 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,02^{**}$
Катехоламины	$0,19 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,04^{**}$
Гистамин	$0,78 \pm 0,04$	$0,64 \pm 0,06^*$
Окружение узелков		
Серотонин	$0,37 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,03$
Катехоламины	$0,27 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,03$
Гистамин	$0,72 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,03^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

** СЗР между опытом и контролем, $p < 0,001$.

Интенсивность люминесценции гистамина в макрофагах собственной пластинки тонкой кишки и в их микроокружении для крыс контрольной и опытной групп не обнаруживает различий на сроке девять месяцев эксперимента, так же, как и на сроке два месяца. Интенсивность люминесценции серотонина и катехоламинов, которая была сопоставима для крыс обеих групп через два месяца эксперимента, через девять месяцев статистически значимо увеличивается для обоих аминов в макрофагах собственной пластинки тонкой кишки и в их микроокружении у крыс, получавших с питьевой водой кремний (табл. 54, 55).

Таблица 54

Интенсивность люминесценции биоаминов
в кишечных ворсинках тонкой кишки
лабораторных крыс через девять месяцев ($M \pm m$, усл. ед.)

Нейроаминсодержащая структура кишечных ворсинок	Группа крыс	
	контроль	опыт
	Серотонин	
ЛГК кишечных ворсинок	$24,13 \pm 1,78$	$27,27 \pm 2,47^*$
МКО ЛГК кишечных ворсинок	$11,09 \pm 1,05$	$15,17 \pm 0,64^*$
Эпителиальные клетки	$11,24 \pm 1,28$	$12,11 \pm 0,91$
	Катехоловые амины	
ЛГК кишечных ворсинок	$3,65 \pm 0,25$	$4,86 \pm 0,34^*$
МКО ЛГК кишечных ворсинок	$1,62 \pm 0,19$	$2,58 \pm 0,18^*$
Эпителиальные клетки	$2,06 \pm 0,19$	$2,69 \pm 0,15^*$
	Гистамин	
ЛГК кишечных ворсинок	$2,40 \pm 0,31$	$2,35 \pm 0,13$
МКО ЛГК кишечных ворсинок	$1,49 \pm 0,16$	$1,81 \pm 0,09$
Эпителиальные клетки	$1,36 \pm 0,22$	$1,63 \pm 0,13$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Данные об относительной люминесценции катехоловых аминов, серотонина и гистамина приведены в табл. 55.

Таблица 55

Соотношение интенсивности люминесценции биогенных аминов
в микроокружении к интенсивности люминесценции
их в макрофагах собственной пластинки слизистой
кишечных ворсинок через девять месяцев ($M \pm m$)

Биогенные амины	Группа крыс	
	Контроль	Опыт
Катехоловые амины	$0,43 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,02^*$
Серотонин	$0,47 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,02^*$
Гистамин	$0,66 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,02^*$

* СЗР между опытом и контролем, $p < 0,05$.

Из табл. 55 видно, что относительная интенсивность изучаемых нейромедиаторных биогенных аминов у крыс, получавших с питьевой водой кремний, статистически значимо возрастает ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Проведенное исследование позволяет заключить, что в адаптационной реакции макрофагов собственной пластинки кишечных ворсинок к поступлению водорастворимых соединений кремния катехоловые амины и серотонин играют большую роль, чем гистамин. Несмотря на то, что на эпителиальных клетках есть рецепторы к гистамину [12], вероятно, они не способны его синтезировать, поэтому интенсивность люминесценции гистамина в них не меняется ни после двух, ни после девяти месяцев воздействия. В лимфоидных узелках интенсивность люминесценции гистамина существенно возрастает и сходна с таковой в лимфоидных узелках селезёнки на тех же сроках воздействия. Поэтому все наши рассуждения, касающиеся гистамина и селезёнки, могут быть справедливы и в данном случае.

Роль серотонина в кишечнике человека и животных сводится к работе автономной серотонинэргической системы, включающей нейроны подслизистого и межмышечного сплетения [10]. Агонист серотонинового рецептора 5-НТ₄ пруклоприд, воздействуя на никотиновые рецепторы, снижает активацию макрофагов и подавляет воспаление кишечника, вызванное хирургическим вмешательством у мышей и пациентов [22]. Было обнаружено, что уровень серотонина в слизистой оболочке подвздошной и толстой кишки у старых (22–24 месяца) мышей был выше, чем таковой у молодых (2–5 месяцев) [28].

В другом исследовании у мышей в возрасте от 3 до 18 месяцев в тонкой кишке наблюдали увеличение содержания серотонина в клетках прямо пропорционально возрасту грызунов, при этом также значительно возрастало содержание внеклеточного серотонина с возрастом, что авторы расценили как увеличение его высвобождения из клеток [6]. Другими словами, найденное нами увеличение интенсивности люминесценции серотонина в содержащих его клетках и микроокружении у крыс, получавших в течение длительного времени кремний с питьевой водой, может являться доказательством того, что кремний, поступление

которого в организм оказывает системное действие, ускоряет процессы старения не только тимуса и селезёнки, но и кишечника.

То, что в макрофагах собственной пластинки слизистой кишечных ворсинок интенсивность люминесценции нейромедиаторных биогенных аминов не изменяется после двух месяцев поступления кремния в отличие от макрофагов селезёнки, может быть объяснено тем, что макрофаги кишечника в меньшей степени экспрессируют на своей поверхности триггерный рецептор (TREM-1).

Триггерный рецептор миелоидных клеток – это молекула на поверхности мембраны нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, участвующих в усилении воспалительных реакций за счет усиления секреции провоспалительных медиаторов [16]. Несмотря на присутствие огромного количества бактерий на поверхности эпителия кишечника, слизистая оболочка кишечника обычно проявляет минимальные признаки воспаления. Было показано, что резидентная популяция макрофагов в тонкой и толстой кишке человека содержит менее 10% TREM-1-экспрессирующих макрофагов, в то время как более 90% моноцитов и более 80% макрофагов из лимфатических узлов или миндалин экспрессируют TREM-1 на своей поверхности, что сильно отражается на функциональных возможностях клеток. Моноциты, макрофаги селезёнки, лимфатических узлов или миндалин существенно увеличивают продукцию активных форм кислорода в ответ на активацию рецептора TREM-1, в кишечных макрофагах такого эффекта не наблюдается. Интересно, что, в отличие от моноцитов, макрофаги собственной пластинки кишечных ворсинок не способны активировать TREM-1 в ответ на действие TNF. Такое рефрактерное состояние может вызываться в кишечных макрофагах локальным присутствием IL-10 и TGF- β , потому что эти два иммунорегуляторных цитокина синергически подавляют экспрессию TREM-1 на моноцитах *in vitro*. Отсутствие экспрессии TREM-1 на макрофагах собственной пластинки, вероятно, предотвращает чрезмерные воспалительные реакции и, следовательно, чрезмерное повреждение тканей кишечника [16].

Макрофаги кишечника тесно связаны с автономной нервной системой. И при нарушении самоподдерживающейся популяции возможна дегенерация нервных волокон [26], которые необходимы для передачи сенсорных сигналов через интернейроны к моторным и секреторным нейронам, устанавливающим скоординированный ответ для эффективной модуляции моторики и секреции [11]. Поэтому нейродегенеративные изменения в кишечнике, наблюдаемые у пациентов с запорами, болезнью Паркинсона, сахарным диабетом и хронической кишечной псевдообструкцией, часто влияют на регуляцию секреции ионов и кишечную моторику, в итоге приводя к расширению кишечника [23; 27]. В контексте старения макрофаги могут быть важными участниками процесса нейродегенерации в кишечнике [4]. Влияние изменений в желудочно-кишечном тракте, в том числе изменений в микробиоте и рационе питания, на фенотип и функцию макрофагов требует дополнительного изучения. Учитывая новые доказательства того, что микробиота может вызывать фенотипические и функциональные изменения в различных тканевых макрофагах, включая макрофаги кишечника [7], макрофаги жировой ткани [18] и микроглию [13; 17], представляется вероятным, что это также может быть справедливо для всей моноцитарно-макрофагальной системы.

Есть мнение, что изменение баланса, вызванное медленным физиологическим увеличением концентрации норадреналина в плазме в течение жизни, является причиной старения [8]. Считается, что катехоламины оказывают негативное влияние на выработку провоспалительных цитокинов во время воспалительного ответа. Старение приводит к общему снижению реакции на внешние воздействия, включая острые воспалительные процессы. У молодых животных воспалительный ответ требует активации симпатической системы, которая заключается в усиленном синтезе нейротрансмиттеров, таких как адреналин и норадреналин [32]. Чтобы проверить, влияет ли старение на эти процессы и меняется ли при этом высвобождение цитокинов, крысам Fisher 344 разного возраста (6, 15, и 23 месяца) вводили липополисахарид и оценивали ранние (0–12 ч) сывороточные уровни нейропептида-Y (NP-Y), АТФ и ванилилминдальной кислоты (конечный продукт метаболизма таких катехоловых

аминов, как адреналин и норадреналин). Была также оценена связь между этими факторами и сывороточными уровнями фактора некроза опухоли (TNF- α) и интерлейкина-10 (IL-10). Уровни как АТФ, так и NP-Y были заметно снижены в сыворотке старых животных по сравнению с молодыми, в то время как на индукцию ванилилминдальной кислоты возраст не влиял. Несмотря на эти изменения, уровни TNF- α и IL-10 в сыворотке были сильно гипериндуцированы у старых крыс. Кроме того, была обнаружена сильная отрицательная связь между содержанием в сыворотке ванилилминдальной кислоты и TNF α . Результаты показывают, что во время старения наблюдается нарушение регуляции регуляторных механизмов симпатических нейротрансмиттеров и это может играть роль в ослаблении воспалительного ответа. Сложность представленных результатов затрудняет заключение возрастных эффектов в регуляторных механизмах продукции цитокинов. Эти изменения могут быть связаны либо с уровнями провоспалительных цитокинов, либо с нейрогуморальными механизмами [32].

Сходные результаты были получены и в экспериментах на мышцах: у старых мышей норадреналин снижал уровень провоспалительного цитокина TNF- α , уровень которого увеличивался с возрастом [19].

Имеются данные о возрастных изменениях различных функций неспецифического иммунного ответа перитонеальных макрофагов (адгезия, хемотаксис, фагоцитоз чужеродных агентов и разрушение этих агентов путем образования супероксидного аниона) и в лимфоцитах (адгезия и хемотаксис) из брюшины, подмышечных лимфатических узлов, селезёнки и тимуса самок мышей BALB/c [21]. Использовали молодых (12 недель), взрослых (22 недели), зрелых (48 недель) и старых (72 недели) мышей. Способность макрофагов и лимфоцитов к адгезии была выше у взрослых и старых мышей, чем у молодых. Хемотаксис макрофагов показал более высокие значения у молодых мышей по сравнению со взрослыми, снова увеличиваясь у зрелых и старых животных. Самые высокие значения фагоцитоза были зарегистрированы у старых животных. Продукция супероксид-аниона увеличивается с возрастом, и самые высокие значения наблюдаются у старых мышей. Наоборот, хемотаксис лимфоци-

тов был выше у взрослых и зрелых животных, чем у молодых и старых. Авторы пришли к выводу, что, хотя наблюдается снижение хемотаксиса лимфоцитов у старых животных, неспецифический иммунный ответ макрофагов вместо снижения может возрастать у старых мышей по сравнению со значениями, наблюдаемыми у взрослых мышей [21]. Те же авторы обнаружили, что у старых мышей наблюдается более низкая способность ответа на норадреналин макрофагами [21]. Обработка адреналином (10 нг/мл) перитонеальных макрофагов лабораторных крыс значительно усиливает иммунный ответ LPS-стимулированных макрофагов, который включает скорость фагоцитоза, фагоцитарный индекс, секрецию интерлейкинов $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-10$ [9].

В свою очередь, при стимуляции клеточной культуры макрофагов липополисахаридом в них повышался синтез мРНК для тирозин-гидроксилаз и увеличивался уровень внеклеточного норадреналина и внутриклеточного дофамина в течение 48 часов [5]. Катехоламиновый статус организма, по мнению некоторых авторов, имеет значение при развитии асбестоза, потому что воздействие кремнийсодержащего хризоитила ($3MgO \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$) на хромаффинные клетки надпочечника быка увеличивало продукцию ими катехоловых аминов [15].

Имеет место обширный обзор, включающий 410 литературных источников, в котором подробно разбирается взаимосвязь наличия в организме хронического воспаления и процессов старения [31], связанных с определёнными цитокинами, в числе которых и те, что выделяются макрофагами при поступлении в организм соединений кремния [2].

Обобщение результатов исследования по изучению адаптации подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки лабораторных крыс к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев позволяет утверждать, что биоаминный статус данных структур пропорционален сроку воздействия, как и биоаминный статус прилежащих к ним ворсин. Микроморфологические изменения в лимфоидных узелках в некоторой степени сходны с таковыми в селезёнке и также затрагивают макрофаги и антигенпрезентирующие клетки. Что касается ворсин, приле-

жащих к лимфоидным узелкам, то нами продолжается работа по сравнительному морфометрическому анализу эпителиальных, бокаловидных клеток, макрофагов, внутриэпителиальных лимфоцитов тонкой кишки лабораторных грызунов на разных сроках поступления в организм водорастворимого соединения кремния.

Литература к главе 6

1. Гордова, В. С. Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой : дис. ... канд. мед. наук. Чебоксары, 2014. 164 с.
2. Сапожников С. П., Гордова В. С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. № 3. С. 3–13.
3. Серотониновый статус структур селезенки крыс при изолированном и сочетании поступлении водорастворимых соединений кремния и кальция / В. С. Гордова [и др.] // Материалы Десятой международной научной школы «Наука и инновации – 2015». Йошкар-Ола, 2015. С. 190–194.
4. Age-dependent shift in macrophage polarisation causes inflammation-mediated degeneration of enteric nervous system / L. Becker [et al.] // Gut. 2018. Vol. 67. PP. 827–836.
5. Catecholamines in a macrophage cell line [Электронный ресурс] / S. W. Brown [et al.] // Journal of Neuroimmunology. 2003. Vol. 135, № 1–2. PP. 47–55. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165572802004356?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).
6. Chromatographic analysis of age-related changes in mucosal serotonin transmission in the murine distal ileum [Электронный ресурс] / L. Parmar [et al.] // Chemistry Central Journal. 2012. Vol. 6, URL: <https://bmcchem.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-153X-6-31> (дата обращения: 03.05.2020).
7. Crosstalk between muscularis macrophages and enteric neurons regulates gastrointestinal motility / P. A. Muller [et al.] // Cell. 2014. Vol. 158. PP. 300–313.
8. Crotty T. P. The balance between the pro-inflammatory effect of plasma noradrenaline and the anti-inflammatory effect of neuronal noradrenaline determines the peripheral effects of noradrenaline [Электронный ресурс] // Medical Hypotheses. 2015. Vol. 85, № 5. PP. 517–529. URL:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987714003107?via%3DiHub> (дата обращения: 03.05.2020).

9. Epinephrine Enhances the Response of Macrophages under LPS Stimulation [Электронный ресурс] / J. Zhou [et al.] // *BioMed Research International*. 2014. PP. 1–8. URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/254686/> (дата обращения: 03.05.2020).

10. Fidalgo S., Ivanov D. K., Wood S. H. Serotonin: from top to bottom [Электронный ресурс] // *Biogerontology*. 2013. Vol. 14, № 1. PP. 21–45. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10522-012-9406-3> (дата обращения: 03.06.2020).

11. Furness J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2012. Vol. 9. PP. 286–294.

12. Histamine and gut mucosal immune regulation [Электронный ресурс] / S. Smolinska [et al.] // *Allergy*. 2014. Vol. 69, № 3. PP. 273–281. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/all.12330> (дата обращения: 03.05.2020).

13. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS [Электронный ресурс] / D. Erny [et al.] // *Nature Neuroscience*. 2015. Vol. 18. PP. 965–977. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5528863/> (дата обращения: 03.06.2020).

14. Intrinsic control of surface immune and epithelial homeostasis by tissue-resident gut stromal cells [Электронный ресурс] / Y. Kurashima [et al.] // *Frontiers Immunology*. 2019. Vol. 10. PP. 1281. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.01281/full> (дата обращения: 03.06.2020).

15. Lemaire S., Lemaire I. Asbestos-elicited catecholamine secretion from isolated bovine adrenal chromaffin cells [Электронный ресурс] // *Life Sciences*. 1981. Vol. 29, № 11. PP. 1117–1124. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0024320581901995> (дата обращения: 03.06.2020).

16. Macrophages expressing triggering receptor expressed on myeloid cells-1 are underrepresented in the human intestine [Электронный ресурс] / M. Schenk [et al.] // *Journal of Immunology*. 2005. Vol. 174, № 1. PP. 517–524. URL: <https://www.jimmunol.org/content/174/1/517> (дата обращения: 03.05.2020).

17. Microbiome influences prenatal and adult microglia in a sex-specific manner / M. S. Thion [et al.] // *Cell*. 2018. Vol. 172. PP. 500–516.

18. Microbiota depletion promotes browning of white adipose tissue and reduces obesity / N. Suárez-Zamorano [et al.] // *Natur Medicine*. 2015. Vol. 21. PP. 1497–1501.

19. Modulation of neuropeptide Y and norepinephrine on several leucocyte functions in adult, old and very old mice [Электронный ресурс] / M. Puerto [et al.] // *Journal of Neuroimmunology*. 2005. Vol. 165, № 1–2. PP. 33–40. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165572805001943?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

20. Orally administered prion protein is incorporated by M cells and spreads into lymphoid tissues with macrophages in prion protein knockout mice [Электронный ресурс] / I. Takakura [et al.] // *The American Journal of Pathology*. 2011. Vol. 179, № 3. PP. 1301–1309. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000294401100558X> (дата обращения: 03.05.2020).

21. Ortega E., García J. J., De la Fuente M. Modulation of adherence and chemotaxis of macrophages by norepinephrine. Influence of ageing [Электронный ресурс] // *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2000. Vol. 203, № 1–2. PP. 113–117. URL: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1007094614047> (дата обращения: 03.06.2020).

22. Preoperative administration of the 5-HT4 receptor agonist prucalopride reduces intestinal inflammation and shortens postoperative ileus via cholinergic enteric neurons [Электронный ресурс] / N. Stakenborg [et al.] // *Gut*. 2019. Vol. 68, № 8. PP. 1406–1416. URL: <https://gut.bmj.com/content/gutjnl/early/2018/11/23/gutjnl-2018-317263.full.pdf> (дата обращения: 03.05.2020).

23. Preziosi G., Emmanuel A. Neurogenic bowel dysfunction: pathophysiology, clinical manifestations and treatment // *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2009. Vol. 3. PP. 417–423.

24. Probiotic bacteria cell walls stimulate the activity of the intestinal epithelial cells and macrophage functionality [Электронный ресурс] / J. M. Lemme-Dumit [et al.] // *Benef Microbes*. 2018. Vol. 9, № 1. PP. 153–164. URL: <https://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/BM2016.0220> (дата обращения: 03.06.2020).

25. Sato A., Iwasaki A. Peyer's patch dendritic cells as regulators of mucosal adaptive immunity [Электронный ресурс] // *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2005. Vol. 62, № 12. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-005-5037-z> (дата обращения: 03.05.2020).

26. Self-Maintaining Gut Macrophages Are Essential for Intestinal Homeostasis [Электронный ресурс] / S. De Schepper [et al.] // *Cell*. 2018. Vol. 175, № 2. PP. 400–415.e13. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867418309760?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

27. Sellin J. H., Chang E. B. Therapy insight: gastrointestinal complications of diabetes-pathophysiology and management // *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*. 2008. Vol. 5. PP. 162–171.

28. Simultaneous measurement of serotonin and melatonin from the intestine of old mice: the effects of daily melatonin supplementation [Электронный ресурс] / P. P. Bertrand [et al.] // *Journal of Pineal Research*. 2010. Vol. 49, № 1. PP. 23–34. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1600-079X.2010.00760.x> (дата обращения: 03.05.2020).

29. Some news from the unknown soldier, the Peyer's patch macrophage [Электронный ресурс] / C. Wagner [et al.] // *Cellular Immunology*. 2018. Vol. 330. PP. 159–167. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874918300121?via%3Dihub> (дата обращения: 03.05.2020).

30. Stress induces more serious barrier dysfunction in follicle-associated epithelium than villus epithelium involving mast cells and protease-activated receptor-2 [Электронный ресурс] / L. Zhang [et al.] // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, № 1. PP. 4950. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-05064-y> (дата обращения: 03.05.2020).

31. The integration of inflammaging in age-related diseases [Электронный ресурс] / T. Fulop [et al.] // *Seminars in Immunology*. 2018. Vol. 40. PP. 17–35. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044532318300228?via%3Dihub> (дата обращения: 03.06.2020).

32. The release of sympathetic neurotransmitters is impaired in aged rats after an inflammatory stimulus: a possible link between cytokine production and sympathetic transmission [Электронный ресурс] / V. Donoso [et al.] // *Mechanisms of Ageing and Development*. 2008. Vol. 129, № 12. PP. 728–734. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004763740800184X?via%3Dihub> (дата обращения: 03.06.2020).

Глава 7

АДАПТАЦИЯ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА

7.1. Микрофлора пристеночного муцина лабораторных крыс

Изучение микрофлоры пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта лабораторных крыс при длительном поступлении в организм соединения кремния с питьевой водой проводилось в эксперименте серии 1 (поступление с водопроводной и дистиллированной водой), который длился девять месяцев.

В табл. 56 представлены результаты анализа роста бактерий на среде Блаурокка для крыс из разных групп.

Таблица 56

Содержание бифидобактерий в пристеночном муцине желудочно-кишечного тракта лабораторных крыс (lg КОЕ/г)

Отдел кишечника	Водопроводная вода		Дистиллированная вода	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Тошная	10,3	12,0	11,2	10,0
Подвздошная	10,7	10,7	11,1	10,0
Слепая	11,2	10,9	11,8	10,0
Аппендикс	10,9	11,2	11,7	10,8
Восходящая ободочная	10,8	12,0	9,9	8,3
Поперечная ободочная	10,7	12,0	11,3	10,0

Из табл. 56 видно, что длительное употребление лабораторными животными водопроводной и дистиллированной воды с добавлением соединения кремния не оказывает значительного влияния на содержание бифидобактерий в пристеночном муцине различных отделов желудочно-кишечного тракта.

Полученные нами результаты анализа роста лактобактерий, а также микроорганизмов, растущих на элективной среде Сабу-ро, из пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта

крыс, получавших и не получавших с питьевой водой кремний, не дали нам четкого представления о причинно-следственных взаимосвязях, поэтому для нас вопрос о влиянии кремния в питьевой воде на содержание лактобактерий и грибов в кишечнике крыс остается открытым. Возможно, это отдельное направление исследований, на которое наши компетенции не распространяются.

Литературные данные о влиянии соединений кремния в кишечнике достаточно противоречивы. Употребление мышами слабощелочной минеральной воды (pH 8,3) с высоким содержанием натрия, калия, гидрокарбонатов и кремниевой кислоты в высокой концентрации за шесть месяцев увеличивает количество бактерий семейства *Lactobacillaceae* и уменьшает количество бактерий семейства *Clostridiaceae* в кишечнике [9]. При этом при сопоставимом объеме жидкости, выпиваемой мышами за шесть месяцев, у грызунов, получавших минеральную воду, были статистически значимо снижены коэффициенты прироста веса и накопления висцерального жира, что полностью подтверждает результаты наших собственных наблюдений в длительных экспериментах на мышах (серия 7) и крысах (серия 1, серия 5). Так, за полгода прирост средней массы мышей ($n = 5$), получавших бутилированную питьевую воду, составил 7,2%, прирост средней массы мышей ($n = 5$), получавших питьевую воду с кремнием, – 3,7%. Интересно, что прирост средней массы мышей ($n = 3$), которые первые три месяца получали питьевую воду с кремнием, а потом на три месяца были пересажены к контрольной группе, составил 6,0%, что, возможно, требует продолжения экспериментов для выяснения «точки невозврата», то есть момента адаптационного срыва.

Сходные с полученными японскими коллегами данные были также опубликованы нами ранее (по результатам серий 1 и 5), когда мы отмечали практически полное отсутствие висцерального жира и значительное снижение массы у крыс, которые в течение девяти месяцев эксперимента получали с питьевой водой кремний [1]. Заметим, что липолитический эффект соединения кремния наблюдается независимо от химического состава воды, с которой он поступает (водопроводная, дистиллированная, бутилированная).

Есть сведения о том, что введенная в амниотическую полость зародышей цыплят суспензия наночастиц кремния способна оказывать влияние на функционирование кишечника цыплят-бройлеров, в том числе на экспрессию генов провоспалительных цитокинов и содержание бактерий (лактобактерий, кишечной палочки, бифидобактерий и клостридий) в слепой кишке. При этом в зависимости от наличия ионов цинка или железа, а также концентрации наночастиц кремния, наблюдаются противоположные результаты [8], но в целом авторы отмечают негативное влияние наночастиц кремния.

Поиски наличия кишечной палочки с гемолитическими свойствами проводились путем пересева выделенных штаммов кишечной палочки на кровяной агар. Нам удалось найти кишечную палочку с гемолитическими свойствами в подвздошной кишке некоторых крыс, получавших водопроводную воду с соединением кремния. Концентрация микроорганизма составила 0,33 lgKOE/г, а у крыс, получавших дистиллированную воду с кремнием, – 1,0 lgKOE/г.

Кроме того, в группах крыс, получавших с питьевой водой кремний, был найден еще один патогенный микроорганизм – золотистый стафилококк, идентифицированный по биохимическим признакам из выделенной чистой культуры. У некоторых крыс, получавших водопроводную воду с кремнием, он был обнаружен либо в поперечной ободочной кишке (1,10 lgKOE/г), либо в нисходящей ободочной кишке (0,33 lgKOE/г). У крыс, получавших соединение кремния с дистиллированной водой, золотистый стафилококк обнаруживался либо в тощей кишке (0,33 lgKOE/г), либо в нисходящей ободочной кишке (0,25 lgKOE/г). Следовательно, длительное употребление с питьевой водой соединения кремния приводит к изменению микрофлоры пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта лабораторных крыс за счет появления в биоценозе золотистого стафилококка и кишечной палочки с гемолитическими свойствами.

Очевидна взаимосвязь гистамина, лимфоидных органов и кишечной палочки с гемолитическими свойствами, поскольку эксперименты на крысах показали, что у крыс, получавших с питьевой водой соединение кремния, было отмечено увеличение

интенсивности люминесценции гистамина в лимфоидных органах. Многие резидентные штаммы бактерий в кишечнике способны вырабатывать гистамин. В последнее время рассматривают возможность внедрения в практическую медицину терапевтических средств, непосредственно нацеленных на микробиомную активность, в том числе регуляторов синтеза микробиотой гистамина, которые могут дополнить существующий арсенал лекарственных средств [7].

Была изучена взаимосвязь гемолизинов кишечной палочки с высвобождением гистамина из тучных клеток крысы. Оказалось, что увеличение активности гемолизина приводит к усилению высвобождения гистамина [10]. Кроме того, имеет место исследование, в котором показано, что штаммы кишечной палочки, продуцирующие альфа-гемолизин, индуцируют высвобождение гистамина, лейкотриенов и провоспалительных цитокинов в тучных клетках кишечника человека [11].

Комменсальные и патогенные бактерии могут изменять активность дендритных клеток в присутствии наночастиц кремния. Дендритные клетки, выделенные из предшественников, моноцитов крови человека, инкубировали с внеклеточными средами, полученными из культур комменсальных (*Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*) или патогенных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) в присутствии наночастиц аморфного диоксида кремния. Оказалось, что реакция дендритных клеток на наночастицы зависит от видовой принадлежности микроорганизма. Среда, полученная от *E. coli*, *S. epidermidis*) с наночастицами в нетоксичных дозах стимулировали секрецию интерлейкинов IL-1 β , IL-12, IL-10 и IL-6, в то время как они же в присутствии наночастиц в токсических дозах стимулировали секрецию IFN- γ , TNF- α , IL-4 и IL-5. Напротив, среда, полученная от *S. aureus* и *P. aeruginosa*, индуцировали продукцию цитокинов только тогда, когда они комбинировались с наночастицами в токсических концентрациях [6]. Это исследование в очередной раз доказывает, что модуляция активности дендритных клеток в кишечнике поступающими соединениями кремния зависит от наличия определённых микроорганизмов.

Изменение в составе кишечной микрофлоры может быть связано с тем, что под влиянием наночастиц кремния на эпителиоцитах *in vitro* уменьшается площадь кишечных микроворсинок, что уменьшает площадь поверхности, доступной для поглощения питательных веществ [12]. Площадь микроворсинок напрямую связана с объемом пристеночного муцина, в котором находятся микроорганизмы, и, вероятно, кремний, поступающий с питьевой водой, изменяет биотические взаимоотношения между микроорганизмами, усиливая конкуренцию за сокращающееся пространство.

Кишечная палочка с гемолитическими свойствами и золотистый стафилококк были в свое время обнаружены группой исследователей в желудочно-кишечном тракте крыс, которые длительное время получали питьевую воду, привезенную из района Чувашской Республики, неблагополучного по соотношению в питьевой воде микроэлементов. Кроме того, концентрация кремния превышала в этой воде показатель 10 мг/л [4].

7.2. Выживаемость кишечной палочки в растворах метасиликата натрия

Полученные нами результаты с обнаружением в микрофлоре кишечника лабораторных животных кишечной палочки с гемолитическими свойствами побудили нас провести изучение выживаемости кишечной палочки (штамм из препарата «Колибактерин» производства ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова) в растворах метасиликата натрия в дистиллированной воде в различных концентрациях (0,01%, 0,05; 0,1; 0,3; 0,5%).

В стерильных растворах девятиводного метасиликата натрия были приготовлены суспензии кишечной палочки в концентрациях 10^6 и 10^4 КОЕ/мл, в качестве контроля использовалась суспензия кишечной палочки в дистиллированной воде в концентрациях 10^6 и 10^4 КОЕ/мл. Через определённое количество времени из суспензий методом газона производились посе-вы на среду Эндо с последующим инкубированием в термостате при 37 °С, в течение 48 часов и подсчитывалось количество колоний, выросших на чашках (табл. 57).

Таблица 57

Количество колоний кишечной палочки на среде Эндо
в зависимости от времени воздействия растворов
метасиликата натрия различной концентрации

Время воздействия	Концентрация метасиликата натрия, %					Контроль
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
	Концентрация штамма 10 ⁶ КОЕ/мл					
2 часа	СР	СР	СР	740	НР	СР
24 часа	СР	СР	СР	6	НР	СР
48 часов	СР	СР	СР	НР	НР	СР
72 часа						
96 часов						
	Концентрация штамма 10 ⁴ КОЕ/мл					
2 часа	СР	СР	СР	НР	НР	СР
24 часа	СР	СР	СР	НР	НР	СР
48 часов	СР	СР	СР	НР	НР	СР
72 часа	СР	62	6	НР	НР	СР
96 часов	СР	9	НР	НР	НР	СР

Примечание. СП – сплошной рост, НР – нет роста.

Из табл. 57 видно, что при исходном содержании кишечной палочки 10^6 КОЕ/мл 0,5% раствор метасиликата натрия полностью подавляет жизнеспособность кишечной палочки; для концентрации раствора 0,3% жизнеспособность кишечной палочки полностью исчезла после двух суток воздействия. При исходном содержании кишечной палочки 10^4 КОЕ/мл через 96 часов выживаемость кишечной палочки сохранилась только для 0,01% раствора метасиликата натрия. При концентрации 0,05% замедление размножения наблюдается на 3-и сутки, а при концентрации 0,1% рост отсутствует на 4-е сутки.

Таким образом, оптимальной концентрацией кремния, в которой кишечная палочка сохраняет максимальную жизнеспособность, является 0,01% раствор метасиликата натрия, что в пересчете на кремний составляет 9,59 мг/л.

Полученные результаты подчеркивают необходимость дальнейшего изучения влияния соединений кремния *in vivo* и *in vitro* на микрофлору желудочно-кишечного тракта.

7.3. Адаптация микрофлоры кишечника человека по данным ретроспективного эпидемиологического анализа

Данные, полученные нами в условиях эксперимента на лабораторных крысах, в той или иной степени совпадают с результатами проведенного нами ретроспективного анализа карт стационарных больных у лиц с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, постоянно проживающих в различных субрегионах Чувашской Республики.

Было изучено 647 медицинских карт жителей Чувашской Республики с различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении в 2009 г. Тщательному анализу подверглись 146 карт, содержащих результаты развернутого бактериологического исследования содержимого кишечника (46 мужчин и 100 женщин).

Глубокие дисбиотические нарушения регистрировались у 98 человек (64% обследуемых), причем частота этих нарушений изменялась в зависимости от нозологических единиц. Дисбиоз второй и третьей степени обнаружен при хроническом панкреатите у 26 человек из 36 (72,2%), при язвенном колите – у 17 человек из 29 (58,6%), при гастроэзофагеальном рефлюксе с эзофагитом – у 13 человек из 19. При хроническом панкреатите наиболее выражен вклад представителей родов *Clostridium* (42,3%) и *Citrobacter* (38,5%), при язвенном колите – родов *Citrobacter* (41,2%) и *Enterobacter* (35,3%), при рефлюкс-эзофагите частота встречаемости представителей родов *Clostridium*, *Citrobacter* и *Enterobacter* распределена одинаково. В 25% всех случаев дисбиозов наблюдается либо изменение количества (снижение) кишечных палочек, либо появление лактозонегативных и гемолитических форм, при этом в большинстве случаев (более 50%) кишечная палочка формирует сочетанный дисбиоз. При снижении количества кишечной палочки возможно формирование качественных дисбиозов, в том числе за счет

появления золотистого стафилококка или гемолитической кишечной палочки.

Далее мы сгруппировали карты стационарных больных по региону постоянного проживания, и оказалось, что 48 человек проживали в Прикубнино-Цивильском субрегионе, 18 – в Присурском субрегионе, 80 – в Приволжском субрегионе. Биогеохимическое районирование территории Чувашии было проведено ранее [3]. Присурский субрегион характеризовался природным избытком кремния, фтора, кальция в биогеохимической пищевой цепи, в Прикубнино-Цивильском регионе наблюдался умеренный природный недостаток йода, кобальта, цинка, кремния, фтора, кальция, магния, калия и железа, а в Приволжском субрегионе установлен выраженный недостаток железа, кальция, магния и цинка.

Для обследуемых из Прикубнино-Цивильского субрегиона дисбиозы второй и третьей степени выявлены у 26 человек из 48 (61,9%), из Приволжского – у 54 человек из 80 (67,5%), из Присурского – у 14 человек из 18 (77,8%). Это распределение соотносится с проведенным ранее исследованием, в котором установлена большая частота дисбиотических нарушений у жителей Присурского субрегиона при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки по сравнению с жителями Приволжского субрегиона [2].

С помощью критерия хи-квадрат Пирсона для оценки значимости различий исходов (наличие дисбиозов второй и третьей степени) в зависимости от воздействия фактора риска (проживание в определенном регионе) была проверена и подтверждена нулевая гипотеза о том, что регион проживания не влияет на частоту обнаружения глубоких дисбиотических нарушений у пациентов гастроэнтерологического отделения.

Формирование глубоких дисбиотических нарушений у жителей Прикубнино-Цивильского региона происходит главным образом с участием представителей рода *Citrobacter* (38,5%), у жителей Приволжского региона – *Citrobacter* (31,5%) и *Clostridium* (29,6%), для жителей Присурского региона не отмечается преобладания какого-либо отдельного рода микроорганизмов.

Частота обнаружения кишечной палочки с гемолитическими свойствами неодинакова для жителей Прикубнино-

Цивильского, Приволжского и Присурского регионов и составляет 14,5; 12,5 и 35,7% соответственно.

Проверка нулевой гипотезы о не влиянии региона проживания на частоту обнаружения кишечной палочки с гемолитическими свойствами у пациентов гастроэнтерологического отделения с помощью критерия хи-квадрат Пирсона показала статистически значимые различия между частотой обнаружения кишечной палочки с гемолитическими свойствами у жителей Присурского и Прикубнино-Цивильского регионов ($p = 0,0043$), Присурского и Приволжского регионов ($p = 0,0026$). Другими словами, проживание на территории с повышенным содержанием в водно-пищевом рационе соединений кремния оказывает влияние на появление в микрофлоре желудочно-кишечного тракта кишечной палочки с гемолитическими свойствами. Полученные результаты частично подтверждаются исследованием по выживаемости разных штаммов кишечной палочки *Escherichia coli* O157:H7 при воздействии метасиликата натрия в концентрациях 0,1–1,0%. Было установлено, что 20-минутное воздействие 0,25% метасиликата натрия на любой штамм *Escherichia coli* (7 log КОЕ/мл) приводит к полному их ингибированию без последующего восстановления жизнеспособности [13].

Были изучены композиционные и функциональные характеристики микрофлоры кишечника (десять семейств микроорганизмов) при ранних стадиях силикоза [5]. По сравнению со здоровыми людьми у больных силикозом и прогрессирующим легочным фиброзом было отмечено снижение количества бактерий, относящихся к типам Firmicutes и Actinobacteria. Несмотря на то, что авторы нашли изменения в составе микрофлоры, они не стали брать на себя ответственность и заявлять о причинно-следственных связях между составом микрофлоры и наличием силикотических изменений в лёгких.

Обобщение результатов по изучению адаптации микрофлоры кишечника к длительному поступлению соединения кремния с питьевой водой даёт основание утверждать, что исходом его влияния на микрофлору является появление в ней кишечной палочки с гемолитическими свойствами, причём это утверждение может быть с большой степенью вероятности экстраполировано и на человека.

При этом вопрос «Связаны ли морфологические изменения в лимфоидных органах и формирование дисбиоза кишечника причинно-следственной связью или эти изменения происходят в организме независимо друг от друга?» остается открытым.

Литература к главе 7

1. К вопросу о действии водорастворимого соединения кремния, длительно поступающего в организм с питьевой водой, на лимфоидные органы / В. С. Гордова [и др.] // VIII-ая Российская научно-практическая конференция с международным участием «Здоровье человека в XXI веке» : сб. науч. ст. Казань, 2016. С. 617–620.

2. Леженина С. В. Эпидемиология язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки на территории Чувашской Республики // Микроэлементы в медицине. 2001. Т. 2, вып 3. С. 66–69.

3. Сусликов В. Л., Семенов В. Д. Биогеохимическое районирование Чувашской АССР // Труды Биогеохимической лаборатории Института геохимии и аналитической химии РАН. 1981. Т. 19. С. 65–85.

4. Сусликов В. Л., Толмачева Н. В., Ефейкина Н. Б. Особенности колонизационной резистентности микрофлоры кишечника в различных эколого-биогеохимических условиях постоянного проживания на территории Чувашской Республики // Медицинский альманах. 2009. № 2 (7). С. 127–131.

5. Alterations in the gut microbiota of patients with silica-induced pulmonary fibrosis [Электронный ресурс] / Y. Zhou [et al.] // Journal of occupational medicine and toxicology. 2019. Vol. 14. URL: <https://occup-med.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12995-019-0225-1> (дата обращения: 03.06.2020).

6. Combined Action of Human Commensal Bacteria and Amorphous Silica Nanoparticles on the Viability and Immune Responses of Dendritic Cells [Электронный ресурс] / G. Malachin [et al.] // Clinical Vaccine Immunology. 2017. Vol. 24, № 10. URL: <https://cvi.asm.org/content/early/2017/08/17/CVI.00178-17/article-info?versioned=true> (дата обращения: 03.06.2020).

7. Immune regulation by histamine and histamine-secreting bacteria [Электронный ресурс] / W. Barcik [et al.] // Current Opinion in Immunology. 2017. Vol. 48. PP. 108–113. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952791517300535?via%3Dihub> (дата обращения: 03.06.2020).

8. Intra-amniotic administration (Gallus gallus) of TiO₂, SiO₂, and ZnO nanoparticles affect brush border membrane functionality and alters

gut microflora populations [Электронный ресурс] / N. Kolba [et al.] // Food and Chemical Toxicology. 2020. Vol. 135. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691519306866?via%3Dihub> (дата обращения: 03.06.2020).

9. Long-Term Potable Effects of Alkalescent Mineral Water on Intestinal Microbiota Shift and Physical Conditioning [Электронный ресурс] / T. Yahiro [et al.] // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2019. URL: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/2710587/> (дата обращения: 03.06.2020).

10. Scheffer J., Vosbeck K., König W. Induction of inflammatory mediators from human polymorphonuclear granulocytes and rat mast cells by haemolysin-positive and -negative *E. coli* strains with different adhesins // Immunology. 1986. Vol. 59, № 4. PP. 541–548.

11. Selective Activation of Human Intestinal Mast Cells by *Escherichia coli* Hemolysin / S. Krämer [et al.] // Journal of Immunology. 2008. Vol. 181. PP. 1438–1445.

12. Silicon dioxide nanoparticle exposure affects small intestine function in an in vitro model / G. Zhongyuan [et al.] // Nanotoxicology. 2018. Vol. 12, № 5. PP. 485–508.

13. Weber G. H., O'Brien J. K., Bender F. G. Control of *Escherichia coli* O157:H7 with sodium metasilicate [Электронный ресурс] // Journal of food protection. 2004. Vol. 67, № 7. PP. 1501–1506. URL: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/67/7/1501/171179/Control-of-Escherichia-coli-O157-H7-with-Sodium> (дата обращения: 03.06.2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Написание данной монографии, как нам казалось, явится обобщением многолетнего научно-исследовательского труда трех поколений двух научных школ: профессора Гордон Дины Семёновны и профессора Сусликова Викентия Леонидовича. Мы полагали, что методологически и методически выверенные научные подходы помогут нам прояснить, как именно кремний, ежедневно поступающий с питьевой водой в течение длительного времени, задействует в адаптационных реакциях организма нервную, иммунную и эндокринную системы.

Однако по мере написания этой книги пришлось столкнуться с рядом вопросов, которые возникли в ходе осмысления накопленного фактического материала.

При сведении в одну главу литературных источников, посвященных изучению роли кремния в живых организмах, мы сознательно использовали табличную форму подачи информации, поскольку научные направления, по которым ведется исследование кремния и его соединений, выходят за пределы не только морфологии и физиологии, но и медицинских и биологических специальностей в целом. При этом проблема влияния соединений кремния на организм усугубляется с каждым годом, потому что аморфный кремнезём находит всё более широкое применение и едва ли остались области народного хозяйства, в которых он не задействован. Мы обнаружили существенное противоречие. С одной стороны, биодоступные (водорастворимые) соединения кремния позиционируются как биологически безопасные для организма, и поэтому могут применяться в качестве биологически активных добавок для человека, подкормок в сельском хозяйстве, и т.д. С другой стороны, в достаточном количестве имеют место исследования, которые на молекулярном и клеточном уровнях (активация генов, продукция цитокинов и регуляторных белков) эту безопасность опровергают. До сих пор ни для одного из поступающих в организм водорастворимых и (или) биодоступных соединений кремния не установлен NOAEL (no-observed-adverse-effect level – уровень не наблюдаемого неблагоприятного воздействия), то есть тот уровень, при котором не обнаруживаются клинических проявлений, но могут

быть найдены статистически незначимые изменения на уровне физиологической адаптации.

Напомним, что в подавляющем большинстве экспериментов животные находились в свободном доступе к бутилированной питьевой воде, в которую был добавлен девятиводный метасиликат натрия в концентрации 10 мг/л в пересчёте на кремний. Выяснилось, что в экспериментах на крысах, длившихся девять месяцев, состав исходной воды (бутилированная, водопроводная, дистиллированная) не оказывает существенного влияния на специфичность действия соединения кремния: морфологические изменения внутренних органов крыс, получавших с питьевой водой кремний, были однотипными.

Результаты опытов по изучению влияния водорастворимого соединения кремния на поджелудочную железу показали, что в ней, в зависимости от продолжительности воздействия (один, пять, семь месяцев) и концентрации в питьевой воде кремния (3,65; 10; 16 мг/л), изменяется морфология эндокринных островков, количество β -клеток и ядерно-цитоплазматическое соотношение в них. Параллельно с этим изменяются морфометрические показатели надпочечников и щитовидной железы, а также интенсивность люминесценции в их структурах гистамина, серотонина и катехоловых аминов. Морфологические изменения эндокринных органов отражаются на функциональной активности, что подтвердилось соответствующими исследованиями биохимических показателей сыворотки крови.

Комплексное исследование по изучению морфологической адаптации тимуса к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев позволяет утверждать, что наблюдаемые изменения пропорциональны сроку воздействия и затрагивают макрофаги и тучные клетки (меняются их количественные и качественные характеристики), при участии которых наблюдается ускорение физиологической инволюции тимуса. Кроме того, изменение микроморфологии тимуса отражается на нейромедиаторном статусе биоаминсодержащих структур органа.

Микроморфологическая адаптация селезёнки на поступление в организм водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев также пропорцио-

нальна сроку воздействия. Через два месяца эксперимента у крыс, получавших с питьевой водой кремний, герминативные центры появляются в лимфоидных узелках с меньшей площадью, чем у крыс, получавших бутилированную воду. Изменения, затрагивающие архитектуру белой пульпы селезёнки крыс через девять месяцев воздействия, а также количественные и качественные характеристики макрофагов при участии нейромедиаторных биогенных аминов (катехоловых аминов, серотонина, гистамина), можно расценивать как ускорение физиологической инволюции органа. Сравнение биоаминного статуса селезёнки крыс и мышей показало, что имеют место видовые отличия, при этом соли кальция существенно модулируют биоаминный статус селезёнки крыс независимо от наличия в воде кремния.

Биоаминный статус подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки лабораторных крыс на разных сроках воздействия напоминает таковой, наблюдаемый в селезёнке, и так же пропорционален сроку воздействия, как и биоаминный статус прилежащих к ним ворсинок. Микроморфологические изменения в лимфоидных узелках в некоторой степени сходны с таковыми в селезёнке и также затрагивают макрофаги и антигенпрезентирующие клетки, что ясно свидетельствует о системном действии на организм кремния, поступающего с питьевой водой. Мы собрали достаточное количество материала, чтобы сделать заключение о реакции на данное воздействие кишечных ворсинок, и в скором времени сможем поделиться полученными выводами.

Изучение адаптации микрофлоры пристеночного муцина кишечника крыс к поступлению соединения кремния в течение девяти месяцев с питьевой водой даёт основание утверждать, что исходом данного воздействия является появление в ней кишечной палочки с гемолитическими свойствами. Результат может быть с большой степенью вероятности экстраполирован и на человека, что подтверждают данные нашего ретроспективного эпидемиологического исследования. Необходимо вести работу в направлении изучения реакции на поступление кремния не

только организма млекопитающих, но и их микробиоты, однако это область компетенции учёных других специальностей.

Наша монография лишь заострила вопрос «Связаны ли морфологические изменения в лимфоидных органах и в составе микробиоты кишечника причинно-следственной связью или эти изменения происходят в организме независимо друг от друга?».

Отрадно, что проведенные нами исследования по изучению влияния кремния на организм не противоречат литературным данным по результатам современных исследований.

В монографию не вошли данные о состоянии печени, лёгких и почек лабораторных крыс и мышей, однако имеющиеся в нашем распоряжении гистологические препараты позволяют с уверенностью утверждать, что изменения данных органов при длительном эксперименте являются патоморфологическими.

Настоящая работа является, по сути, векторной, то есть задающей направление комплексным исследованиям для изучения воздействия биологически активных соединений кремния на разных уровнях организации живых систем (молекулярный, клеточный, тканевой, органнй, организменный, популяционно-видовой).

Обращаем внимание читателя на то, что каждый из представленных выше уровней так или иначе затронут в данной книге. Например, воздействие на молекулярном уровне проявляется изменением степени экспрессии на поверхности клеток белков (Iba-1, CD-68, МНС-II и т.д.) и содержанием в крови глюкозы и её метаболитов, на клеточном – изменением количества и размеров макрофагов и тучных клеток в исследуемых органах, на тканевом – содержанием нейромедиаторных биогенных аминов (тканевых нейротрансмиттеров) в клетках и их микроокружении; на органном – изменением морфологии различных органов (щитовидная железа, надпочечники, поджелудочная железа, тимус, селезёнка), на организменном – параллельными морфологическими реакциями нескольких органов и микрофлоры желудочно-кишечного тракта; на популяционно-видовом – видовыми особенностями реакций со стороны лимфоидных органов лабораторных животных в одинаковых моделируемых условиях эксперимента.

Наш труд не исчерпывает раскрытия всех основ биологических механизмов для полного понимания взаимосвязи между поступлением в организм соединений кремния с питьевой водой и морфологической адаптацией внутренних органов, но он даёт определённое представление о параллельных преобразованиях как в лимфоидной, так и в эндокринной системе, то есть о системном действии кремния, проявляющемся на клеточном и органном уровнях.

Авторы будут рады отзывам, дополнениям, рекомендациям и вопросам, которые можно отправить на электронный адрес crataegi@rambler.ru.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Химический состав питьевой воды, приготовленной
для экспериментальных и контрольной групп
в серии экспериментов «Б» из дистиллированной воды
и солей химических элементов

Ингредиент	Группа животных				
	I	II	III	IV	Контроль
Si, мг/л	10	10	10	10	2,30
Na, мг/л	18	18	18	18	–
Ca, мг/л	–	140	–	140	53,02
Cl, мг/л	–	248	–	248	18,10
Mg, мг/л	–	–	30	30	15,20
SO ₄ , мг/л	–	–	114,5	114,5	47,50
Сухой остаток, мг/л	28	416	172,5	560,5	275,80
Общая жёсткость, мг.экв/л	–	7,00	2,50	9,50	3,50
Si/Ca	–	0,07	–	0,07	0,04
Si/Mg	–	–	0,33	0,33	0,23
Ca/Mg	–	–	–	4,67	3,53
Si/Cl	–	0,04	–	0,07	0,13
Si/SO ₄	–	–	0,09	0,09	0,05

Химический состав воды для серии опытов «В»

Ингредиент	Группа		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Хлориды, мг/л	36,70	36,70	88,00
Сульфаты, мг/л	16,90	16,90	18,50
Общая жест. мг-экв/л	13,80	13,80	8,00
Ca, мг/л	262,00	262,00	180,00
Mg, мг/л	39,60	39,60	18,20
Si, мг/л	3,65	16,00	15,70
F, мг/л	0,26	0,26	0,64
Zn, мкг/л	116,00	116,00	150,00
Fe, мкг/л	50,00	50,00	45,00
Mn, мкг/л	–	–	168,00
Si/Ca	0,01	0,06	0,09
Si/Mg	0,09	0,40	0,86
Si/F	14,00	61,50	24,50
Si/хлориды	0,10	0,44	0,18
Si/сульфаты	0,21	0,95	0,85
Ca/Mg	6,62	6,62	9,89

Сведения (из Реестра свидетельств о государственной регистрации (единая форма Таможенного союза, российская часть) об использованной в исследованиях воде питьевой «Сестрица-природная», расфасованной в емкости (ТУ 0131-003-48303000-2004)

Номер свидетельства: 12.РЦ.04.013.У.000002.07.08.

Дата: 01.07.2008.

Кем выдано: Управление по Республике Марий Эл.

Типографский номер бланка: 11674.

Продукция и фирма-изготовитель: Вода питьевая «Сестрица-природная», расфасованная в емкости (ТУ 0131-003-48303000-2004), продукция изготовлена ООО «Компания «Здоровая жизнь», ИНН 1215064486, 424000, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Машиностроителей, 8 г; адрес производства: Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (*Российская Федерация*).

Область применения: для питьевых целей и реализации населению.

Свидетельство выдано на основании экспертного заключения на продукцию, подлежащую государственной регистрации Управления Роспотребнадзора по Республике Марий Эл от 23.06.2008 г., протокола лабораторных исследований питьевой воды от 26.05.2008 № 578. АИЛЦ (ИЛ) ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл» (Аттестат «Системы» № ГСЭН.RU.ЦОА.030 от 09.02.2006 зарегистрирован в Госреестре № РОСС RU.0001.510111 от 09.02.2006)

Фирма-получатель: продукция изготовлена ООО «Компания «Здоровая жизнь», ИНН 1215064486, 424000, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Машиностроителей, 8 г; адрес производства: Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (*Российская Федерация*).

Нормативная документация ТУ 0131-003-48303000-04 «Вода питьевая «Сестрица», расфасованная в емкости».

Гигиеническая характеристика

рН	6,5–8,5 ед.
Хлориды	150 г/л
Сульфаты	150 г/л
Фосфаты	3,5 г/л
Нитраты	5,0 мг/л
Железо	0,3 мг/л
Кадмий	0,001 мг/л
Натрий + Калий	200 мг/л
Серебро	0,025 мг/л
Свинец	0,005 мг/л
Хром	0,03 мг/л
Окисляемость	2 мг O ₂ /л
Аммиак	0,05 мг/л
Нитриты	0,005 мг/л
АПАВ	0,05 мг/л
Нефтепродукты	0,01 мг/л
Суммарная альфа-радиоактивность	0,1 Бк/л
Суммарная бета-радиоактивность	1,0 Бк/л
Общее микробное число (ОМЧ) при температуре 37 °С	не более 20 КОЕ/мл
Общее микробное число (ОМЧ) при температуре 22 °С	не более 100 КОЕ/мл
ОКБ, ТКБ, ГКБ в 100 мл	отсутствие в 300 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	отсутствие в 20 мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	отсутствие в 1000 мл
Коли-фаги	отсутствие в 1000 мл

Сведения (из Реестра свидетельств о государственной регистрации (единая форма Таможенного союза, российская часть) об использованной в исследованиях воде питьевой артезианской «Сестрица-природная» высшей категории негазированной расфасованной в емкости (ТУ 0131-003-48303000-11)

Номер свидетельства: RU.12.ПЦ.04.006.Е.000066.12.11.

Дата: 23.12.2011.

Кем выдано: Управление по Республике Марий Эл.

Типографский номер бланка: 22196.

Продукция: Вода питьевая артезианская «Сестрица-природная» высшей категории негазированная расфасованная в емкости; вода питьевая артезианская «Сестрица-мягкая» первой категории негазированная расфасованная в емкости.

Изготовлена в соответствии с документами: ТУ 0131-003-48303000-11 «Вода питьевая «Сестрица». Технические условия.

Изготовитель (производитель) Общество с ограниченной ответственностью «Компания «Здоровая жизнь», 424039, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (*Российская Федерация*).

Получатель: Общество с ограниченной ответственностью «Компания «Здоровая жизнь», 424039, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (*Российская Федерация*)

Продукция соответствует Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (Глава II. Раздел 9. Требования к питьевой воде, расфасованной в емкости).

Область применения: для питьевых целей и приготовления продуктов питания

Протоколы исследований выдано взамен свидетельств о государственной регистрации Управления Роспотребнадзора по Республике Марий Эл № 12.ПЦ.04.013.У.000001.07.08 от 01.07.2008; № 12.ПЦ.04.013.У.000002.07.08 от 01.07.2008 ; протокол лабораторных исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл» № 2060 от 14.12.2011,

протокол лабораторных испытаний ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» № 41087-41088 от 02.12.2011.

Этикетка в соответствии требованиями ГОСТ 51074-2003 «Продукты пищевые. Информация для потребителя. Общие требования».

Гигиеническая характеристика

I. Критерии эстетических свойств:	
Ia. Органолептические показатели:	
Запах при 20 °С	0 баллов
При нагревании до 60 °С	0 баллов
Привкус	0 баллов
Цветность	не более 5 градусов
Мутность	не более 0,5 ЕМФ
Водородный показатель (рН) в пределах	6,5–8,5 единиц
Iб. Показатели солевого состава:	
Хлориды	не более 150 мг/л
Сульфаты	не более 150 мг/л
Фосфаты	не более 3,5 мг/л
II. Критерии безвредности химического состава	
IIa. Показатели солевого и газового состава:	
Силикаты (по Si)	не более 10 мг/л
Нитраты (по NO ³⁻)	не более 5 мг/л
Цианиды (по CN ⁻)	не более 0,035 мг/л
Сероводород (H ₂ S)	не более 0,003 мг/л
IIб. Токсичные металлы:	
Алюминий (Al)	не более 0,1 мг/л
Барий (Ba)	не более 0,1 мг/л
Бериллий (Be)	не более 0,0002 мг/л
Железо (Fe, суммарно)	не более 0,3 мг/л

Кадмий (Cd, суммарно)	не более 0,001 мг/л
Кобальт (Co)	не более 0,1 мг/л
Литий (Li)	не более 0,03 мг/л
Марганец (Mn)	не более 0,05 мг/л
Медь (Cu, суммарно)	не более 1 мг/л
Молибден (Mo, суммарно)	не более 0,07 мг/л
Натрий (Na, суммарно)	не более 20 мг/л
Никель (Ni, суммарно)	не более 0,02 мг/л
Ртуть (Hg, суммарно)	не более 0,0002 мг/л
Селен (Se)	не более 0,01мг/л
Серебро (Ag)	не более 0,0025 мг/л
Свинец (Pb, суммарно)	не более 0,005 мг/л
Стронций (Sr ²⁺)	не более 7 мг/л
Сурьма (Sb)	не более 0,005 мг/л
Хром (Cr ⁶⁺)	не более 0,03 мг/л
Цинк (Zn ²⁺)	не более 3 мг/л
Пв. Токсичные неметаллические элементы:	
Бор (B)	не более 0,3 мг/л
Мышьяк (As)	не более 0,006 мг/л
Пд. Показатели органического загрязнения:	
Окисляемость перманганатная	2 мг/О ² /л
Аммиак и аммоний ион	не более 0,05 мг/л
Нитриты (по NO ₂ -)	не более 0,005 мг/л
Органический углерод	5 мг/л
Поверхностноактивные вещества (ПАВ), анионоактивные	не более 0,05 мг/л
Нефтепродукты	не более 0,01 мг/л
Фенолы летучие (суммарно)	не более 0,5 мкг/л
Хлороформ	не более 1 мкг/л
Бромоформ	не более 1 мкг/л
Дибромхлорметан	не более 1 мкг/л

Бромдихлорметан	не более 1 мкг/л
Четырёххлористый углерод	не более 1 мкг/л
Формальдегид	не более 25 мкг/л
Бенз(а)пирен	не более 0,001 мкг/л
ДИ (2-этилгексил)фталат	не более 0,1 мкг/л
Гексахлорбензол	не более 0,2 мкг/л
Линдан (гамма-изомер ГХЦГ)	не более 0,2 мкг/л
2,4 Д	не более 1,0 мкг/л
Гептахлор	не более 0,05 мкг/л
ДДТ (сумма изомеров)	не более 0,5 мкг/л
Атразин	не более 0,2 мкг/л
Симазин	не более 0,2 мкг/л
Пе. Комплексные показатели токсичности	
По сумме NO ₂ и NO ₃	< 1 единицы
По сумме тригалометанов	< 1 единицы
III. Показатели радиационной безопасности:	
Удельная суммарная альфа-радиоактивность	не более 0,2 Бк/л
Удельная суммарная бета-радиоактивность	не боле 1,0 Бк/л
IIIа. Бактериологические показатели:	
Общее микробное число при 37 °С	не более 20 КОЕ в 1мл
Общее микробное число при 22 °С	не более 100 КОЕ в 1 мл
Общие колиформные бактерии, термотолерантные колиформные бактерии, глюкозоположительные колиформные бактерии	отсутствие КОЕ в 300 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	отсутствие КОЕ в 20 мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	отсутствие в 1000 мл
IIIб. Вирусологические показатели:	
Колифаги	отсутствие БОЕ в 1000 мл
IIIв. Паразитарные показатели:	

Ооцисты криптоспоридий	отсутствие в 50 л
Цисты лямблий	отсутствие в 50 л
Яйца гельминтов	отсутствие в 50 л
IV. Физиологическая полноценность макро- и микроэлементного состава:	
Общая минерализация (сухой остаток), в пределах	200–1000 мг/л
Жёсткость	1,5–7 мг-экв/л
Щелочность	0,5–6,5 мг-экв/л
Кальций (Ca)	25–80 мг/л
Магний (Mg)	5–50 мг/л
Калий (K)	2–20 мг/л
Бикарбонаты (HCO ₃ ⁻)	30–400 мг/л
Фторид ион (F)	0,6–1,2 мг/л
V. Консерванты:	
Серебро	0,0025 мг/л
Диоксид углерода (CO ₂)	не более 0,2 %

Сведения (из Реестра свидетельств о государственной регистрации (единая форма Таможенного союза, российская часть) об использованной в исследованиях воде «Сестрица-природная» высшей категории качества для питьевых целей и приготовления пищи для детей дошкольного возраста с 3-х лет, школьного возраста и старше, расфасованной в емкости (ТУ 10.86.10.005-48303000-2018)

Номер свидетельства: RU.12.ПЦ.04.006.E.000001.08.18.

Дата: 08.08.2018.

Кем выдано: Управление по Республике Марий Эл.

Типографский номер бланка: 160907.

Продукция: Вода «Сестрица-природная» высшей категории качества для питьевых целей и приготовления пищи для детей дошкольного возраста с 3-х лет, школьного возраста и старше, расфасованная в емкости.

Изготовлена в соответствии с документами: ТУ 10.86.10.005-48303000-2018 «Вода «Сестрица-природная» высшей категории качества для питьевых целей и приготовления пищи для детей дошкольного возраста с 3-х лет, школьного возраста и старше».

Изготовитель (производитель): Общество с ограниченной ответственностью «Компания «Здоровая жизнь», 424039, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (Российская Федерация).

Получатель: Общество с ограниченной ответственностью «Компания «Здоровая жизнь», 424039, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, ул. Школьная, д. 19 (Российская Федерация).

Продукция соответствует Техническим регламентам Таможенного союза ТР ТС 021/2011, ТР ТС 022/2011

Область применения: Для питьевых целей и приготовления пищи для детей дошкольного возраста с 3-х лет, школьного возраста и старше.

Протоколы исследований Экспертное заключение ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл» № 1 от 25.07.2018 г.; протокол лабораторных исследований ФБУЗ

«Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл» № 5534 от 17.04.2018; протокол лабораторных исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» № 30468 от 17.05.2018.

Этикетка в соответствии с Техническим регламентом Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки».

Гигиеническая характеристика

I. Критерии эстетических свойств:	
Ia. Органолептические показатели:	
Запах при 20 °С	0 баллов
При нагревании до 60 °С	0 баллов
Привкус	0 баллов
Цветность	не более 5 градусов
Мутность	не более 0,5 ЕМФ
Водородный показатель (рН)	6,5–8,5 единиц рН
Iб. Показатели солевого состава:	
Хлориды	не более 150 мг/л
Хлориды	не более 150 мг/л
Фосфаты	не более 3,5 мг/л
II. Критерии безвредности химического состава	
IIa. Показатели солевого и газового состава:	
Силикаты (по Si)	не более 10 мг/л
Нитраты (по NO ₃ -)	не более 5 мг/л
Цианиды (по CN-)	не более 0,035 мг/л
Сероводород (H ₂ S)	не более 0,003 мг/л
IIб. Токсичные металлы:	
Алюминий (Al)	не более 0,1 мг/л
Барий (Ba)	не более 0,1 мг/л
Бериллий (Be)	не более 0,0002 мг/л

Железо (Fe, суммарно)	не более 0,3 мг/л
Кадмий (Cd, суммарно)	не более 0,001 мг/л
Кобальт (Co)	не более 0,1 мг/л
Литий (Li)	не более 0,03 мг/л
Марганец (Mn)	не более 0,05 мг/л
Медь (Cu, суммарно)	не более 1 мг/л
Молибден (Mo, суммарно)	не более 0,07 мг/л
Натрий (Na)	не более 20 мг/л
Никель (Ni, суммарно)	не более 0,02 мг/л
Ртуть (Hg, суммарно)	не более 0,0002 мг/л
Селен (Se)	не более 0,01 мг/л
Серебро (Ag)	не более 0,0025 мг/л
Свинец (Pb, суммарно)	не более 0,005 мг/л
Стронций (Sr ²⁺)	не более 7 мг/л
Сурьма (Sb)	не более 0,005 мг/л
Хром (Cr ⁶⁺)	не более 0,05 мг/л
Цинк (Zn ²⁺)	не более 5 мг/л
Пв. Токсичные неметаллические элементы:	
Бор (B)	не более 0,3 мг/л
Мышьяк (As)	не более 0,006 мг/л
Пг. Галогены:	
Бромид-ион	не более 0,1 мг/л
Хлор остаточный связанный	не более 0,1 мг/л
Хлор остаточный свободный	не более 0,05 мг/л
Пд. Показатели органического загрязнения:	
Окисляемость перманганатная	не более 2 мг/О ² /л
Аммиак и аммоний-ион	не более 0,05 мг/л
Нитриты (по NO ²⁻)	не более 0,005 мг/л
Поверхностно-активные вещества (ПАВ), анионоактивные	не более 0,05 мг/л
Нефтепродукты	не более 0,01 мг/л

Фенолы летучие (суммарно)	не более 0,5 мкг/л
Формальдегид	не более 25 мкг/л
Бенз(а)пирен	не более 0,001 мкг/л
Гексахлорбензол	не более 0,2 мкг/л
Линдан (гамма-изомер ГХЦГ)	не более 0,2 мкг/л
2,4 Д	не более 1 мкг/л
Гептахлор	не более 0,05 мкг/л
ДДТ (сумма изомеров)	не более 0,5 мкг/л
Атразин	не более 0,2 мкг/л
Симазин	не более 0,2 мкг/л
Пе. Комплексные показатели токсичности:	
По сумме NO ₂ и NO ₃	<=1 единицы
По сумме мтригаллометанов	<=1 единицы
III. Показатели радиационной безопасности:	
Удельная суммарная альфа-радиоактивность	не более 0,2 Бк/л
Удельная суммарная бета-радиоактивность	не более 1 Бк/л
IIIa. Бактериологические показатели:	
Общее микробное число при температуре 37 °С	не более 20 КОЕ в 1 мл
Общее микробное число при температуре 22 °С	не более 100 КОЕ в 1 мл
Общие колиформные бактерии	отсутствие КОЕ в 300 мл
Термотолерантные колиформные бактерии	отсутствие КОЕ в 300 мл
Глюкозоположительные колиформные бактерии	отсутствие КОЕ в 300 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	отсутствие КОЕ в 20 мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	отсутствие в 1000 мл

IIIб. Вирусологические показатели:	
Колифаги	отсутствие БОЕ в 1000 мл
IIIв. Паразитарные показатели:	
Ооцисты криптоспоридий	отсутствие в 50 мл
Цисты лямблий	отсутствие в 50 мл
Яйца гельминтов	отсутствие в 50 мл
IV. Физиологическая полноценность макро- и микроэлементного состава:	
Общая минерализация (сухой остаток), в пределах	200–500 мг/л
Жёсткость	1,5–7 мг-экв/л
Щелочность	0,5–6,5 мг-экв/л
Кальций (Ca)	26–80 мг/л
Магний (Mg)	5–50 мг/л
Калий (K)	2–20 мг/л
Бикарбонаты (HCO ₃ ⁻)	30–400 мг/л
Фторид-ион (F)	не более 1,0 мг/л
Йодит-ион	не более 0,06 мг/л

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ПРЕДИСЛОВИЕ	4
БЛАГОДАРНОСТИ.....	7
Глава 1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ КРЕМНИЯ	9
Литература к главе 1	14
Глава 2. МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1. Методология исследования	27
2.2. Методы исследования.....	32
Литература к главе 2	40
Глава 3. ОРГАНЫ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ	43
Литература к главе 3	68
Глава 4. ТИМУС.....	71
4.1. Общеморфологическая характеристика тимуса	71
4.2. Тучные клетки тимуса	75
4.3. Макрофаги тимуса.....	80
4.4. Антигенпрезентирующие клетки тимуса	83
4.5. Биоаминсодержащие структуры тимуса.....	85
Литература к главе 4.....	98
Глава 5. СЕЛЕЗЁНКА	102
5.1. Общеморфологическая характеристика селезёнки	102
5.2. Тучные клетки селезёнки.....	107
5.3. Макрофаги селезёнки	108
5.4. Антигенпрезентирующие клетки селезёнки	115
5.5. Пролиферативные процессы в герминативных центрах лимфоидных узелков селезёнки	118
5.6. Биоаминсодержащие структуры селезёнки	119
Литература к главе 5	140
Глава 6. ПОДСЛИЗИСТЫЕ АГРЕГИРОВАННЫЕ ЛИМФОИД- ННЫЕ УЗЕЛКИ ТОНКОЙ КИШКИ	146
6.1. Общеморфологическая характеристика подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки	146
6.2. Тучные клетки тонкой кишки.....	148
6.3. Макрофаги подслизистых агрегированных лимфоид- ных узелков тонкой кишки	149
6.4. Антигенпрезентирующие клетки подслизистых агре- гированных лимфоидных узелков тонкой кишки	150
6.5. Пролиферативные процессы в герминативных центрах подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тон- кой кишки	153

6.6. Биоаминсодержащие структуры подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки и прилежащих к ним кишечных ворсинок	154
Литература к главе 6	173
Глава 7. АДАПТАЦИЯ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА	177
7.1. Микрофлора пристеночного муцина лабораторных крыс	177
7.2. Выживаемость кишечной палочки в растворах метасиликата натрия	181
7.3. Адаптация микрофлоры кишечника человека по данным ретроспективного эпидемиологического анализа	183
Литература к главе 7	186
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	188
ПРИЛОЖЕНИЯ	193

Научное издание

ГОРДОВА Валентина Сергеевна
СЕРГЕЕВА Валентина Ефремовна
САПОЖНИКОВ Сергей Павлович

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ К ПОСТУПЛЕНИЮ В ОРГАНИЗМ ВОДОРАСТВОРИМОГО СОЕДИНЕНИЯ КРЕМНИЯ

Монография

Редактор *Г.В. Плотникова*
Компьютерная верстка и правка *Е.В. Ивановой*

Согласно Закону № 436-ФЗ от 29 декабря 2010 года
данная продукция не подлежит маркировке

Подписано в печать 09.07.2021. Формат 60×84/16.
Бумага газетная. Печать офсетная. Гарнитура Times.
Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 11,96. Тираж 500 экз. Заказ № 768.

Издательство Чувашского университета
Типография университета
428015 Чебоксары, Московский просп., 15