

DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-53-60



УДК 574.24

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

14.03.02 – патологическая анатомия

© Коллектив авторов, 2020

Морфологические изменения нейронов гиппокампа крыс как результат избыточного потребления фтора

О. В. Надей, Т. И. Иванова, Д. А. Суфиева, Н. И. Агалакова*

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Цель работы – выявить морфологические изменения нейронов гиппокампа крыс после длительного (12-месячного) потребления избыточных доз фтора в ионном виде (F^-).

Материал и методы. Самцы крыс линии Вистар были разделены на 4 группы. Животные из контрольной группы получали питьевую воду с фоновым содержанием F^- 0.4 мг/л, крысам из других групп давали ту же воду с 5, 20 и 50 мг/л F^- (в виде NaF). Морфологическое состояние нейронов зон CA₃ и CA₁ гиппокампа оценивали после окраски срезов мозга толуидиновым синим по методу Ниссля.

Результаты. Длительная интоксикация крыс F^- привела к дезорганизации клеточного слоя и снижению численной плотности пирамидных нейронов в полях CA₃ и CA₁ гиппокампа, что, вероятнее всего, свидетельствует о гибели части клеток. В нейронах обеих зон гиппокампа визуализировались такие патологические изменения, как неравномерное распределение вещества Ниссля, смещение ядер к периферии, вакуолизация цитоплазмы. Некоторые нейроны набухали, другие, наоборот, сморщивались, выявлялись клетки веретенообразной формы и нейроны с винтообразными отростками. В гиппокампе крыс, получавших F^- , снижалось число нормохромных, но увеличивалось количество гиперхромных и гипохромных нейронов.

Заключение. Установлено, что длительное потребление крысами F^- в избыточных дозах индуцирует дистрофические и некробиотические изменения пирамидных нейронов в зонах CA₃ и CA₁ гиппокампа. Обнаруженные патологические изменения могут быть причиной нарушения межнейронных связей в гиппокампе и приводить к развитию различных неврологических и когнитивных расстройств.

Ключевые слова: ионы фтора, крыса, нейроны гиппокампа, патологические изменения, вещество Ниссля.

Morphological Changes of the Rat Hippocampal Neurons Following Excessive Fluoride Consumption

© O. V. Nadei, T. I. Ivanova, D. A. Sufieva, N. I. Agalakova*, 2020

Sechenov Institute of Evolutionary physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

The purpose of present work was to characterize morphological alterations of rat hippocampal neurons after long-term (12-months) consumption of excessive doses of ionic fluoride (F^-).

Material and methods. Male Wistar rats were assigned to four groups. Animals from control group were given drinking water with background F^- content of 0.4 mg/L, rats from other groups received the same water with 5, 20 and 50 mg/L (as NaF). The morphology of neurons in CA₃ and CA₁ hippocampal areas was evaluated after staining of brain slices with toluidine blue according to Nissl's method.

Results. Long-term intoxication of rats with F^- resulted in disorganization of cellular layer and decline in numerical density of pyramidal neurons in CA₃ and CA₁ hippocampal areas, which most probably indicates the death of a part of the cells. The neurons of both hippocampus zones exhibited such pathological changes as unequal distribution of Nissl substance, shifting of nuclei to periphery, cytoplasm vacuolization. Some neurons underwent swelling, other, in contrast, shrunk, spindle neurons or cells with spiral-like outgrowths were also visualized. In hippocampus of F^- -exposed rats, the number of normochromic neurons decreased, but amount of hyperchromic and hypochromic cells increased.

Conclusion. Long-term intake of excessive F^- doses by the rats was established to induce dystrophic and necrobiotic changes of pyramidal neurons in CA₃ and CA₁ hippocampal zones. The revealed pathological processes can be a cause of disturbances in inter-neuronal communications in the hippocampus and lead to development of various neurological and cognitive disorders.

Key words: fluoride ions, rat, hippocampus, neurons, pathological changes, Nissl substance.

***Автор для переписки:**

Агалакова Наталья Ивановна
Институт эволюционной физиологии и биохимии им.
И.М. Сеченова РАН, пр-т. Тореца, 44, Санкт-Петербург,
194223, Российская Федерация

***Corresponding author:**

Natal'ya Agalakova
Sechenov Institute of Evolutionary physiology and
Biochemistry RAS, pr-t. Toreza, 44, St. Petersburg, 194223,
Russian Federation

E-mail: nagalak@mail.ru

Введение

Несмотря на то, что токсичность фтора (F⁻) для живых организмов известна уже более столетия, он до сих пор считается микроэлементом, в определенных дозах необходимым для нормального развития человека. Соединения F⁻ широко используются для профилактики заболеваний зубов и лечения остеопороза, во многих странах их добавляют в питьевую воду, молоко, соль и пищевые добавки, в результате чего потребление F⁻ становится неконтролируемым и часто превышает терапевтический уровень [19]. В последние десятилетия дискуссия о токсичности F⁻ приобрела особую остроту в связи с тем, что клинические обследования людей, проживающих в регионах эндемического флюороза или контактирующих с соединениями F⁻ на производствах (алюминия, удобрений, топлива), выявили у них широкий спектр неврологических и когнитивных расстройств [23, 27]. Фтор в ионной форме относительно свободно пересекает гематоэнцефалический барьер и оказывает многочисленные токсические эффекты, в том числе связанные с развитием и функционированием нейрональных клеток [3, 7]. Особую озабоченность вызывает увеличение числа работ, сообщающих о негативном влиянии F⁻ на психомоторное и интеллектуальное развитие детей. Мета-анализ литературных данных показал, что в регионах эндемического флюороза число детей с высоким уровнем интеллекта ниже, чем в районах с нормальным содержанием F⁻ в окружающей среде, а общий уровень когнитивных расстройств выше [9, 12].

В предыдущей работе [17] нами было показано, что длительная (12-месяцев) интоксикация крыс линии Wistar избыточными дозами F⁻ приводит к нарушению пространственного обучения и формирования долговременной памяти. Одной из возможных причин этого могли стать патоморфологические изменения и гибель нейронов гиппокампа, что привело к дисфункции его нейронных сетей. Целью представленной работы было изучить морфологическое состояние нейронов полей CA₁ и CA₃ гиппокампа крыс после длительного потребления избыточных доз фтора. Патологические изменения в тканях мозга лабораторных животных вследствие интоксикации F⁻ уже были показаны ранее [3], однако в

большинстве этих исследований применяли такие количества F⁻ (до 600 мг/л), которые никогда не встречаются в природе даже в регионах эндемического флюороза. В нашей работе были использованы дозы F⁻, которые, учитывая его более высокую скорость выведения у крыс, сопоставимы с уровнями ежедневного потребления людьми в регионах эндемического флюороза или вследствие приема в терапевтических целях.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на самцах крыс линии Wistar, выращенных в виварии ИЭФБ РАН. Животные получали пищу и воду *ad libitum*. Все эксперименты проведены в соответствии с требованиями Этической комиссии института по обращению с лабораторными животными и Animal Welfare act (2006).

В возрасте 6 нед крысы случайным образом были разделены на 4 группы по 5 особей в каждой. Контрольная группа получала обычную питьевую воду с фоновым содержанием F⁻ 0.4 мг/л, животным из других групп давали ту же воду с 5, 20 и 50 мг/л F⁻ (в виде NaF) в течение 12 мес. Для анестезии животным внутривенно вводили золетил (Zoletil 100) в дозировке 80–100 мг/кг веса животного. Головной мозг фиксировали раствором, содержащим 1 г хлорида цинка, 90 мл 96% этанола и 10 мл концентрированного раствора формальдегида [1]. Для предотвращения механических повреждений тканей мозга проводили его предварительную внутрикраниальную фиксацию. После этого мозг извлекали из полости черепа и помещали в фиксатор на 24 ч. Фиксированный материал обезвоживали в спирте и заливали в парафин. Сагиттальные срезы толщиной 7 мкм депарафинировали и окрашивали толлуидиновым синим по методу Ниссля. Раствор красителя готовили согласно инструкции производителя (BioVitrum, Россия). Срезы анализировали с помощью микроскопа MF10-LED (Micro-shot Technology, China), оснащенного цифровой камерой MD50 и программой Mshot Microscope Imaging System.

Для обзорной качественной оценки нейронов полей CA₃ и CA₁ гиппокампа в случайно взятых полях зрения изучали расположение и ориентацию пирамидных нейронов, распределение в них субстанции Ниссля, локализацию ядра, количество ядрышек, состояние отростков. Для количественного анализа определяли общую численную плотность популяции пирамидных нейронов и разделяли клетки с разной степенью хромофилии: 1) нормохромные (умеренно окрашенные), 2) гипохромные (слабо окрашенные) и 3) гиперхромные (интенсивно окрашенные). В каждой группе животных фотографировали по 15 полей зрения слоя пирамидных нейронов

полей CA₁ и CA₃ гиппокампа и оценивали не менее 750–1000 клеток, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа.

Статистический анализ количественных показателей проводили в программе SigmaPlot software package version 11.0 (Jandel Scientific). Статистическую значимость различий между содержанием нейронов в группах рассчитывали с помощью дисперсионного анализа ANOVA. Данные представлены как средние и стандартные ошибки средних (M \pm SE). Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Анализ срезов мозга при увеличении $\times 40$ показал, что расположение пирамидных нейронов в области CA₃ гиппокампа контрольных крыс упорядоченное, с четко выраженной ориентацией (рис. 1). Распределение субстанции Ниссля в этих нейронах равномерное, ядра отчетливо дифференцируются, встречаются клетки с двумя ядрышками (рис. 1, $\times 100$). Длительная интоксикация крыс фторидом привела к дезорганизации слоя нейронов в поле CA₃, причем наиболее значительные изменения наблюдались у животных из группы 50F (рис. 1, $\times 40$). В пирамидных нейронах крыс, получавших избыток F⁻, выявлялись такие патологические изменения, как неравномерное распределение вещества Ниссля или его отсутствие в околядерной зоне, смещение ядер к периферии, повреждение ядерных и плазматических мембран, вакуолизация цитоплазмы (рис. 1, $\times 100$). Часть нейронов приобретала веретенообразную форму, некоторые клетки набухали, другие, наоборот, сморщивались, что свидетельствовало о начальных этапах их необратимого повреждения. У некоторых клеток отмечались извитые, винтообразные отростки. Между гибнущими нейронами обнаруживались пространства, образовавшиеся на месте погибших клеток.

Такие дистрофические или некробиотические изменения пирамидных нейронов в поле CA₃ гиппокампа сопровождалось значительным снижением численной плотности их популяции (рис. 2А). Кроме того, анализ клеток по степени хроматофильности цитоплазмы показал статистически значимое уменьшение содержания нормохромных, но увеличение числа гиперхромных и гипохромных нейронов у крыс, подвергшихся интоксикации F⁻ (рис. 2Б).

Картина морфологического состояния нейронов зоны CA₁ гиппокампа крыс в целом подобна таковой в зоне CA₃. В то время как у животных, получавших обычную воду, пирамидные нейроны в этой области были расположены упорядоченно, потребление фторида

привело к дезорганизации их клеточного слоя (рис. 3, $\times 40$). У контрольных крыс практически все нейроны зоны CA₁ имели нормальную морфологию, часто встречались клетки с двумя ядрышками (рис. 3, $\times 100$). В гиппокампе животных из группы 5F также значительная часть нейронов сохраняла нормальную морфологию и даже 2 ядрышка, хотя в некоторых клетках отмечались дезорганизация вещества Ниссля и отсутствие четких границ ядра. После воздействия F⁻ в дозах 20 и 50 мг/л визуализировались набухшие или сморщенные клетки, а также веретенообразные нейроны и извитые отростки. При этом наблюдалось дозо-зависимое снижение числа нейронов, имеющих нормальную морфологию, а клетки с двумя ядрышками отсутствовали. Наибольшее число нейронов с патоморфологическими изменениями наблюдалось у крыс из группы 50F.

Как и в зоне CA₃, в поле CA₁ гиппокампа снижалась численная плотность популяции пирамидных нейронов (рис. 4А). Изменения хроматофилии цитоплазмы нейронов после интоксикации фторидом, наблюдаемые в зоне CA₁ гиппокампа, также аналогичны тем, которые наблюдались в зоне CA₃, т.е. на фоне снижения количества нормохромных клеток увеличивалось число гипо- и гиперхромных нейронов (рис. 4Б).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное потребление крысами избыточных доз F⁻ приводит к разрежению слоя нейронов как в поле CA₃, так и в зоне CA₁ гиппокампа, вероятнее всего, вследствие гибели части клеток (рис. 1, 3). Подобное снижение плотности слоя нейронов в тканях мозга вследствие интоксикации F⁻ было описано ранее. Так, стереологическое исследование мозга 5–8-месячных плодов человека из регионов эндемического флюороза выявило увеличение числа недифференцированных нейробластов на фоне снижения среднего количества нейронов по сравнению с плодами из регионов с низким содержанием F⁻ в окружающей среде, а также дезорганизацию слоя клеток Пуркинью в мозжечке [8]. У потомства крыс и мышей, подвергавшихся пренатальному и постнатальному действию F⁻, были отмечены уменьшение толщины коры головного мозга, меньшее количество пирамидальных клеток, уменьшение размера и количества нейронов во всех областях мозга, фрагментация глиальных клеток, патологии клеток Пуркинью в мозжечке [5, 26, 30]. У взрослых грызунов с экспериментально индуцированным флюорозом также наблюдались различные патологические изменения во всех областях мозга – сморщивание нейронов, потеря молекулярного и глиальных слоев, лизис глиальных клеток, хроматолиз и набухание клеток Пуркинью, появление клеток-«теней», увеличение пространства между нейронами

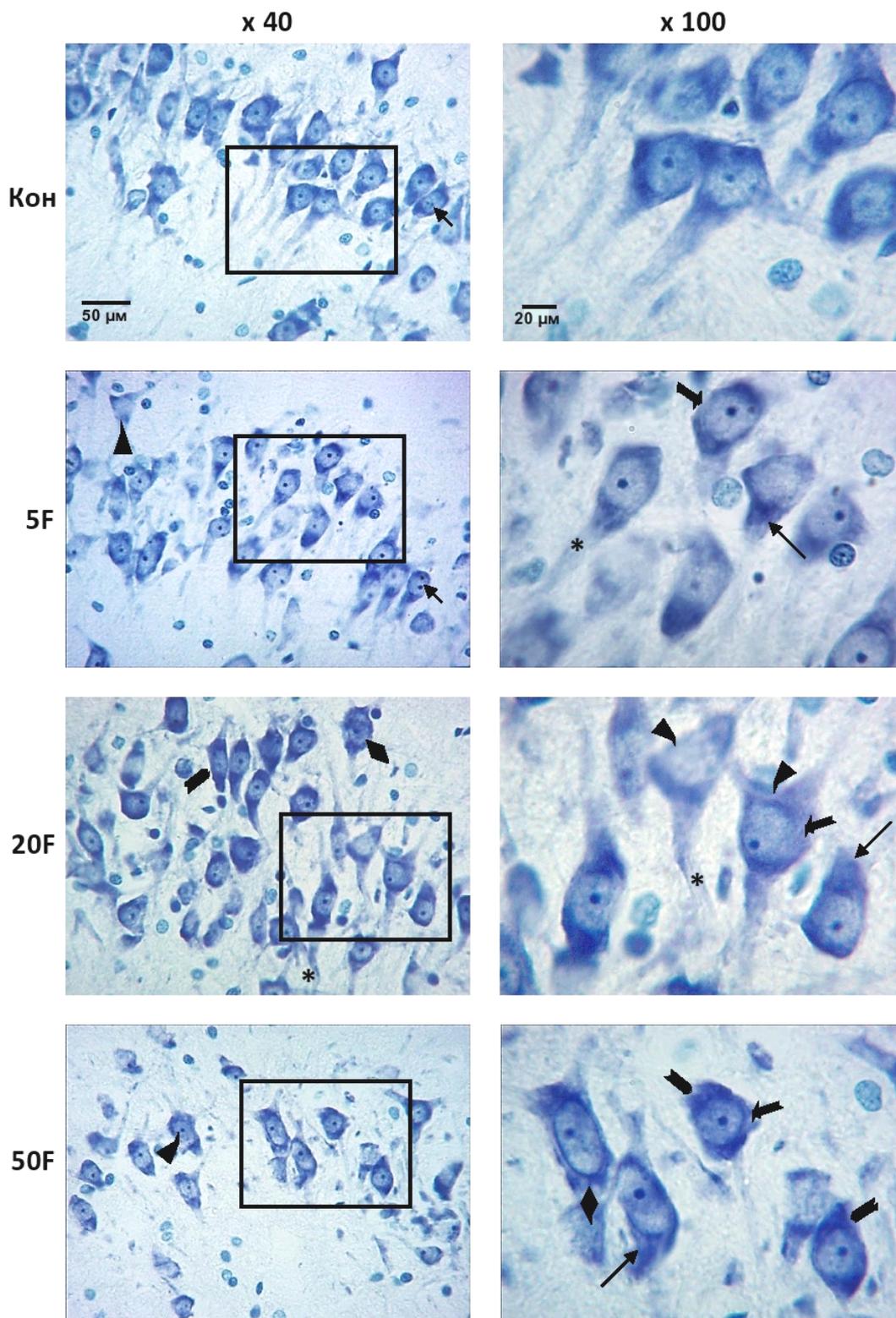


Рис. 1. Морфологические изменения нейронов зоны CA₃ гиппокампа как результат длительной интоксикации F⁻. Обозначения: короткая стрелка – нейрон с двумя ядрышками; длинная стрелка – дезагрегация вещества Ниссля; фигурная стрелка – нарушение границ ядра; звездочка – винтообразный отросток; треугольник – набухание клетки; указатель – сморщивание клетки; ромб – вакуолизация цитоплазмы.

[4, 25, 29]. Однако следует отметить, что в большинстве цитируемых работ применяли очень высокие дозы фторида (до 600 мг/л). Хотя скорость выведения F⁻ из организма грызунов значительно выше, чем у человека, такие количества не сопоставимы с уровнем

потребления F⁻ людьми даже в регионах эндемического флюороза. Данные нашей работы подтверждают, что длительная интоксикация F⁻ в относительно небольших дозах также способна индуцировать патологические процессы в нейронах гиппокампа. Подтвержде-

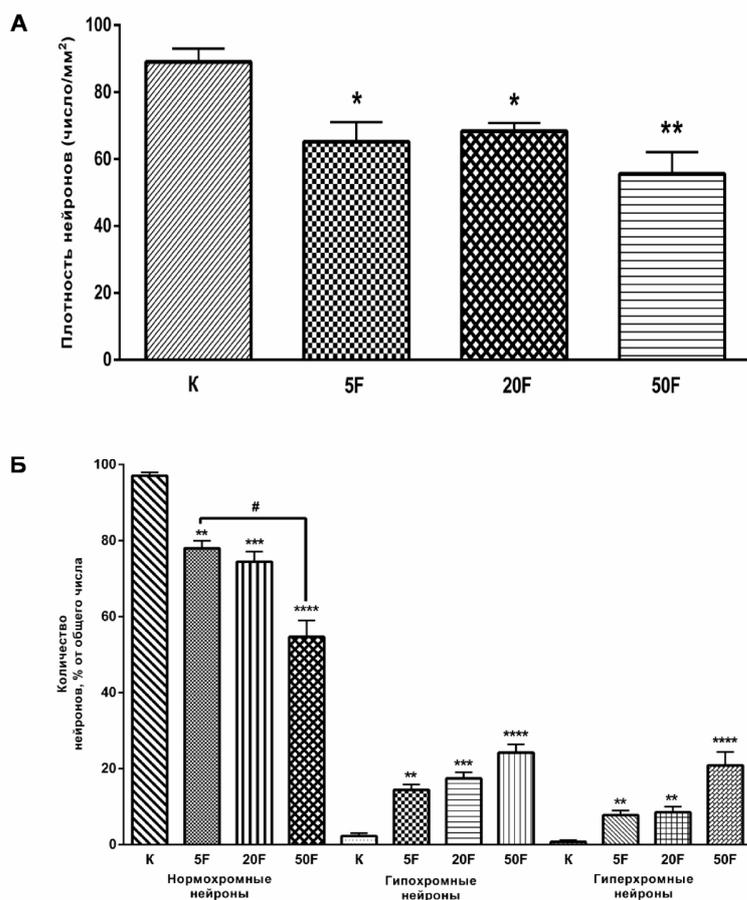


Рис. 2. Сравнительный анализ содержания нейронов в поле CA₃ гиппокампа крыс контрольной группы и получавших избыточные дозы F⁻ при увеличении ×40. А – изменение общей плотности популяции пирамидных нейронов. Б – соотношение числа нейронов с различной степенью хроматофилии перикариона. Различия статистически значимы: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$ по сравнению с контролем; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$ между указанными группами (однофакторный ANOVA). Данные представлены как $M \pm SE$ ($n=5$).

нием этому могут служить и результаты работы [28], в которой появление клеток-«теней» и снижение численной плотности нейронов в областях CA₁ и CA₄ гиппокампа крыс были обнаружены после 52-недельной интоксикации 1 мг/л F⁻.

Причиной истощения нейронального слоя зон CA₃ и CA₁ гиппокампа у крыс, получавших избыток F⁻, вероятно, являются многочисленные патоморфологические изменения нейронов, типичные для гибнущих клеток – нарушение ядерной и плазматической мембран, различная степень патологии вещества Ниссля, набухание или сморщивание клеток, появление нейронов с винтообразными отростками (рис. 1, 3). Литературные данные [4, 5, 11, 13, 14, 16, 18, 21, 25, 26, 28–30] также показали, что потребление животными избыточных доз F⁻ приводило к сморщиванию, атрофии, хроматолизу, глиозу, некрозу или нейрофагии нейрональных клеток, пикнозу и смещению ядер к периферии, исчезновению дендритов, частичной демиелинизации. Ультраструктурные патологии включали появление сферических телец в нейроплазме, заполнение перикариона вакуолями и фрагментами органелл, инвагинацию нейрональной и ядерной мембран, набухание эндоплазматического ретикула, кон-

денсацию ДНК, хроматолиз и пикноз ядерного материала, формирование аутофагосом, фрагментацию и вакуолизацию митохондрий, уменьшение их диаметра, набухание и исчезновение крист, исчезновение синапсов, уменьшение активной синаптической зоны, увеличение синаптической щели, появление везикул в пресинаптической мембране. Ряд ультраструктурных изменений, таких как набухание митохондрий, снижение их числа, увеличение содержания гетерохроматина, снижение числа синапсов, микротрубочек и везикул в синапсах, повреждения ядерной и синаптической мембран, был описан и в тканях мозга плодов человека из регионов эндемического флюороза [8, 13].

Анализ нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы показал, что в гиппокампе крыс всех трех групп, получавших избыточные дозы F⁻, достоверно снижалось число нормохромных, но увеличивалось количество гипохромных и гиперхромных клеток (рис. 2Б, 4Б), что может служить косвенным подтверждением как обратимых, так и необратимых повреждений. Д.Э. Коржевский и др. [2] полагают, что окраска толуидиновым синим телец Ниссля, которые представляют собой главным образом шероховатый эндоплазматический ретикулум, может использоваться

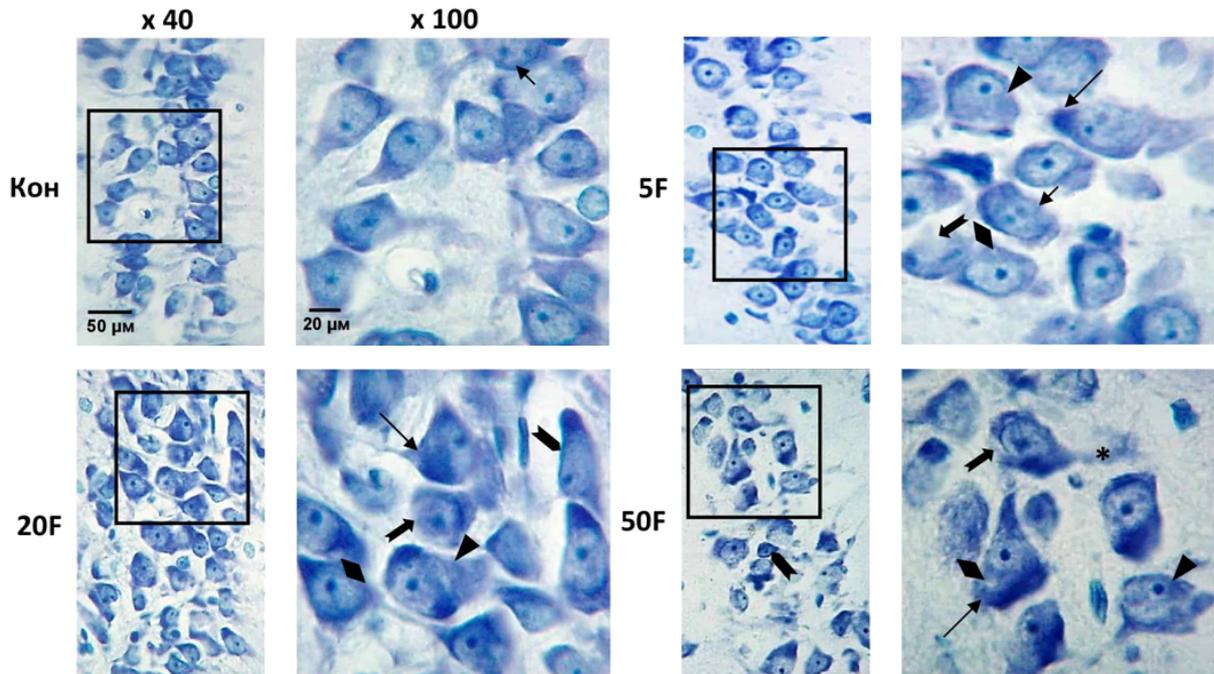


Рис. 3. Патоморфологические изменения, характерные для нейронов зоны CA₁ гиппокампа крыс после избыточного потребления фторида. Обозначения: короткая стрелка – нейрон с двумя ядрышками; длинная стрелка – дезагрегация вещества Ниссля; фигурная стрелка – нарушение границ ядра; звездочка – винтообразный отросток; треугольник – набухание клетки; указатель – сморщивание клетки; ромб – вакуолизация цитоплазмы.

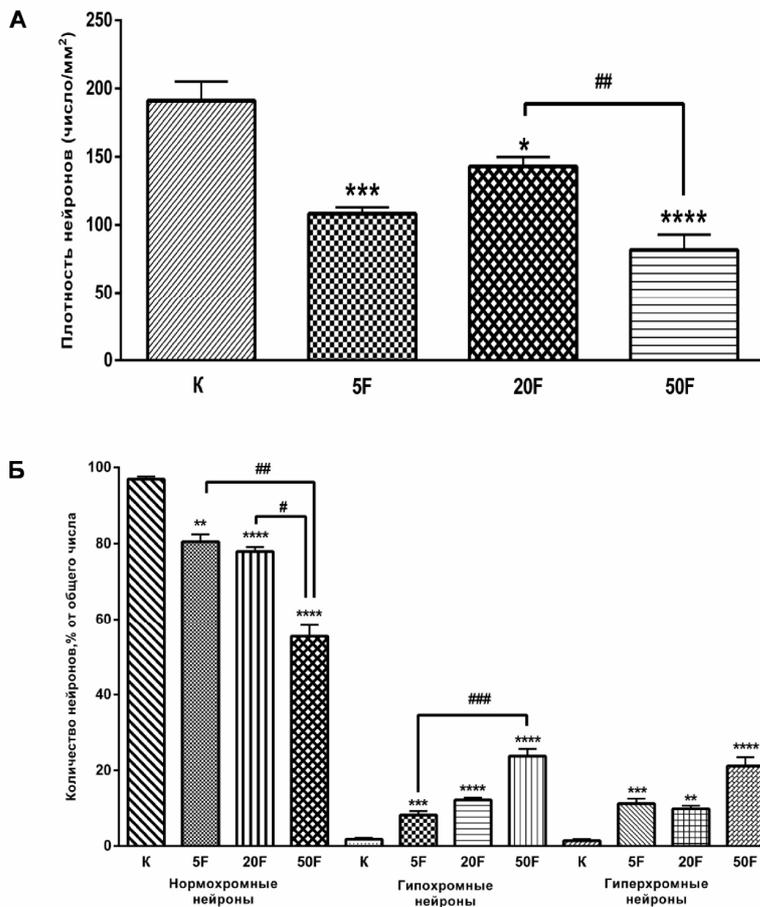


Рис. 4. Сравнительный анализ содержания нейронов в поле CA₁ гиппокампа крыс после длительной интоксикации F⁻ (увеличение $\times 40$). А – изменение численной плотности нейронов. Б – соотношение числа пирамидных нейронов с различной степенью хроматофилии перикариона. Различия статистически значимы: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$ по сравнению с контролем; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$ между указанными группами (одnofакторный ANOVA). Данные представлены как $M \pm SE$ для каждой группы животных ($n=5$).

как маркер для оценки состояния нейронов в разных физиологических условиях, в том числе при патологиях. Согласно этим авторам, все изменения субстанции Ниссля можно разделить на такие типы, как хроматолиз, характеризующийся неравномерным распределением, диссоциацией или исчезновением хроматофильной субстанции, и гиперхроматоз – усиление интенсивности окраски цитоплазмы нейрона. Гиперхроматоз цитоплазмы часто сопровождается уменьшением ее объема и является общепризнанным патологическим процессом, предшествующим гибели клетки, в то время как хроматолиз наблюдается обычно при обратимых повреждениях нейронов.

Патоморфологические изменения нейронов и снижение плотности их слоя неизбежно приводят к нарушению синаптической передачи. Предполагается, что нейроны области CA₃ участвуют в процессах формирования пространственной и контекстуальной памяти, в то время как нейроны CA₁ необходимы для процессов консолидации памяти и синаптической пластичности [22, 10]. Повреждение нейронов гиппокампа приводит к когнитивным нарушениям и развитию неврологических расстройств, а также снижает способность к обучению и формированию памяти. Интрагиппокампальная обработка информации CA₃ также важна для формирования моделей поведения на основе имеющегося опыта и может модулировать активность зоны CA₁ [20]. Кроме того, нарушение связи между зонами (даже без повреждений нейронов) негативно влияет на способность формирования долговременной памяти [6].

Действительно, в работе [15] было показано, что избыточное потребление F⁻ с водой беременными женщинами в Китае приводило к нарушениям нейробиологического развития новорожденных – снижению агонистического напряжения мышц, зрительной и слуховой ориентации. У детей из районов эндемического флюороза в Индии были описаны такие неврологические расстройства, как общее недомогание и слабость, нарушения локомоторной активности, головные боли, летаргические состояния, бессонница и вялость [24]. Тестирование детей из регионов эндемического флюороза в Китае, Индии, Иране и Мексике показало, что воздействие F⁻ приводит к снижению уровня интеллекта и когнитивным расстройствам, которые проявляются в затруднении концентрации внимания, нарушении формирования кратковременной и долговременной памяти, снижении вербальных способностей и абстрактного мышления [3, 9, 12]. Средний IQ детей в возрасте 6–14 лет из регионов эндемического флюороза значительно ниже (~62–100 в зависимости от возраста ребенка), чем таковой (~86–110) у детей, живущих в районах с низким содержанием F⁻

в окружающей среде, в некоторых исследованиях была выявлена связь между высоким содержанием F⁻ в воде и более частыми случаями у детей умственной отсталости (IQ < 70) и пограничного интеллекта (IQ 70–79).

Заключение

Результаты представленной работы свидетельствуют о том, что одной из причин нарушения когнитивных способностей белых крыс, наблюдавшегося после длительной интоксикации F⁻ в нашей предыдущей работе [17], могут быть патоморфологические изменения и гибель нейронов гиппокампа, что приводит к снижению плотности нейронального слоя и может быть причиной нарушения синаптической трансмиссии.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012290371-3).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Коржевский Д.Э., Сухорукова Е.Г., Гилерович Е.Г., Петрова Е.С., Кирик О.В., Григорьев И.П. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии. Морфология. 2013;143(2):81–5 [Korzhevsky DA, Sukhorukova EG, Gilerovich EG, Petrova ES, Kirik OV, Grigorev IP. Advantages and disadvantages of zinc-ethanol-formaldehyde as a fixative for immunocytochemical studies and confocal laser microscopy. Morfologiya. 2013;143(2):81–5] (in Russian).
2. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Колос Е.А., Сухорукова Е.Г., Кирик О.В., Алексеева О.С., Гусельникова В.В. Молекулярная нейроморфология. Нейродегенерация и оценка реакции нервных клеток на повреждение. СПб.: СпецЛит; 2015 [Korzhevskii D.E., Grigor'ev I.P., Kolos E.A., Sukhorukova E.G., Kirik O.V., Alekseeva O.S., Gusel'nikova V.V. Molekulyarnaya neimorfologiya. Neurodegeneratsiya i otsenka reaktsii nervnykh kletok na povrezhdenie. Saint-Petersburg: SpetsLit; 2015] (in Russian).
3. Agalakova NI, Nadei OV. Inorganic fluoride and functions of brain. Critical Reviews in Toxicology. 2020 Jan 2;50(1):28–46. doi: 10.1080/10408444.2020.1722061
4. Akinrinade ID, Memudu AE, Ogundele OM. Fluoride and aluminium disturb neuronal morphology, transport functions, cholinesterase, lysosomal and cell cycle activities. Pathophysiology. 2015 Jun;22(2):105–15. doi: 10.1016/j.pathophys.2015.03.001
5. Basha PM, Rai P, Begum S. Fluoride Toxicity and Status of Serum Thyroid Hormones, Brain Histopathology, and Learning Memory in Rats: A Multigenerational Assessment. Biological Trace

- Element Research. 2011 Jul 14;144(1-3):1083-94. doi: 10.1007/s12011-011-9137-3
6. Buchtová H, Fajnerová I, Stuchlík A, Kubík Š. Acute systemic MK-801 induced functional uncoupling between hippocampal areas CA3 and CA1 with distant effect in the retrosplenial cortex. *Hippocampus*. 2016 Nov 17;27(2):134-44. doi: 10.1002/hipo.22678
 7. Dec K, Łukomska A, Maciejewska D, Jakubczyk K, Baranowska-Bosiacka I, Chlubek D, et al. The Influence of Fluorine on the Disturbances of Homeostasis in the Central Nervous System. *Biological Trace Element Research*. 2016 Oct 27;177(2):224-34. doi: 10.1007/s12011-016-0871-4
 8. Du L, Wan CW, Cao X, Liu J. The effect of fluorine on the developing human brain. *Fluoride*. 2008;41:327-30.
 9. Duan Q, Jiao J, Chen X, Wang X. Association between water fluoride and the level of children's intelligence: a dose-response meta-analysis. *Public Health*. 2018 Jan;154:87-97. doi: 10.1016/j.puhe.2017.08.013
 10. Eichenbaum H. On the Integration of Space, Time, and Memory. *Neuron*. 2017 Aug;95(5):1007-18. doi: 10.1016/j.neuron.2017.06.036
 11. El-Lethey HS, Kamel MM, Shaheed IB. Neurobehavioral toxicity produced by sodium fluoride in drinking water of laboratory rats. *Journal of American Science*. 2010;6:54-63.
 12. Grandjean P. Developmental fluoride neurotoxicity: an updated review. *Environmental Health*. 2019 Dec;18(1):110. doi: 10.1186/s12940-019-0551-x.
 13. He H, Cheng Z, Liu WQ. Effects of fluorine on the human fetus. *Fluoride*. 2008;41:321-26.
 14. Jiang C, Zhang S, Liu H, Guan Z, Zeng Q, Zhang C, et al. Low Glucose Utilization and Neurodegenerative Changes Caused by Sodium Fluoride Exposure in Rat's Developmental Brain. *NeuroMolecular Medicine*. 2013 Aug 28;16(1):94-105. doi: 10.1007/s12017-013-8260-z
 15. Li J, Yao L, Shao QL, Wu CY. Effects of high fluoride level on neonatal neurobehavioral development. *Fluoride*. 2008;41:165-70.
 16. Lou D-D, Guan Z-Z, Liu Y-J, Liu Y-F, Zhang K-L, Pan J-G, et al. The influence of chronic fluorosis on mitochondrial dynamics morphology and distribution in cortical neurons of the rat brain. *Archives of Toxicology*. 2012 Sep 25;87(3):449-57. doi: 10.1007/s00204-012-0942-z
 17. Nadei OV, Khvorova IA, Agalakova NI. Cognitive Decline of Rats with Chronic Fluorosis Is Associated with Alterations in Hippocampal Calpain Signaling. *Biological Trace Element Research*. 2019 Dec 3. doi: 10.1007/s12011-019-01993-z
 18. Niu R, Chen H, Manthari RK, Sun Z, Wang J, Zhang J, et al. Effects of fluoride on synapse morphology and myelin damage in mouse hippocampus. *Chemosphere*. 2018 Mar;194:628-33. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.027
 19. O'Mullane DM, Baez RJ, Jones S, Lennon MA, Petersen PE, Rugg-Gunn AJ, Whelton H, Whitford GM. Fluoride and Oral Health. *Community Dent. Health*. 2016; 33(2): 69-99.
 20. O'Reilly KC, Alarcon JM, Ferbinteanu J. Relative contributions of CA3 and medial entorhinal cortex to memory in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014 Aug 28;8:292. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00292
 21. Qian W, Miao K, Li T, Zhang Z. Effect of Selenium on Fluoride-Induced Changes in Synaptic Plasticity in Rat Hippocampus. *Biological Trace Element Research*. 2013 Aug 21;155(2):253-60. doi: 10.1007/s12011-013-9773-x
 22. Rebola N, Carta M, Mulle C. Operation and plasticity of hippocampal CA3 circuits: implications for memory encoding. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017 Mar 2;18(4):208-20. doi: 10.1038/nrn.2017.10
 23. Reddy DR. Neurology of endemic skeletal fluorosis. *Neurology India*. 2009;57(1):7-12. doi: 10.4103/0028-3886.48793
 24. Sharma JD, Sohu D, Jain P. Prevalence of neurological manifestations in a human population exposed to fluoride in drinking water. *Fluoride*. 2009;42:127-32.
 25. Shashi A. Histopathological investigation of fluoride-induced neurotoxicity in rabbits. *Fluoride*. 2003;36(95):95-105.
 26. Shivrajashankara YM, Shivashankara AR, Gopalakrishna BP, Muddanna RS, Hanumanth RS. Histological changes in the brain of young fluoride-intoxicated rats. *Fluoride*. 2002;35(1):12-21.
 27. Spittle B. Neurotoxic effects of fluoride. *Fluoride*. 2011;44:117-24.
 28. Varner JA, Jensen KF, Horvath W, Isaacson RL. Chronic administration of aluminum-fluoride or sodium-fluoride to rats in drinking water: alterations in neuronal and cerebrovascular integrity. *Brain Research*. 1998 Feb;784(1-2):284-98. doi: 10.1016/S0006-8993(97)01336-x
 29. Wang C, Liang C, Ma J, Manthari RK, Niu R, Wang J, et al. Co-exposure to fluoride and sulfur dioxide on histological alteration and DNA damage in rat brain. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2017 Dec 26;32(2):e22023. doi: 10.1002/jbt.22023.
 30. Wu N, Zhao Z, Gao W, Li X. Behavioral teratology in rats exposed to fluoride. *Fluoride*. 2008 Nov;41:129-33.

Поступила в редакцию 19.04.2020
Принята в печать 11.06.2020

Received 19.04.2020
Accepted 11.06.2020

Для цитирования: Надей О.В., Иванова Т.И., Суфиева Д.А., Агалакова Н.И. Морфологические изменения нейронов гиппокампа крыс как результат избыточного потребления фтора. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2020; 9(2): 53-60. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-53-60

For citation: Nadei O.V., Ivanova T.I., Sufieva D.A., Agalakova N.I. Morphological changes of the rat hippocampal neurons following excessive fluoride consumption. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2020; 9(2): 53-60. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-53-60