

*На правах рукописи*

**Ядыкина Татьяна Константиновна**

**ГЕПАТОРЕНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ  
ПОДДЕРЖАНИЯ ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ  
ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ  
ФТОРИДА НАТРИЯ  
(экспериментальные исследования)**

**03.03.01 – физиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Томск – 2013**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (г. Новокузнецк)

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Михайлова Надежда Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Суханова Галина Алексеевна** – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Вымятнина Зоя Кузьминична** – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры физиологии человека и животных Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

**Ведущая организация:** Факультет фундаментальной медицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г. \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



И.В. Петрова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Нормальное функционирование организма возможно при условии поддержания относительного постоянства параметров его внутренней среды. Понятие «гомеостаз» отражает состояние, характеризующееся постоянством биохимических и физиологических констант, а также механизмов, обеспечивающих единство организма как в нормальных, так и в необычных для него условиях существования. Понимание механизмов сохранения гомеостаза является особенно актуальным в условиях негативного воздействия на организм человека антропогенных факторов [Баевский Р.М., 1979; Горизонтов П.Д., 1981; Новицкий В.В., 2004; Архипенко Ю.В. с соавт., 2005; Агаджанян Н.А., 2006; Захаренков В.В. с соавт., 2012]. При этом компенсаторно-приспособительные реакции, обеспечивающие гомеостаз, представляют собой разнообразные комбинации функций организма, развертывающиеся на той же, что и в норме, материальной основе, но протекающие с большей интенсивностью и сопровождающиеся своеобразными тканевыми изменениями [Струков А.И. с соавт., 1990].

Выяснение закономерностей структурной организации и регуляции систем жизнеобеспечения в условиях сдвига гомеостатических характеристик имеет ключевое значение. Совокупность физиологических явлений, возникающих в организме в ответ на действие возмущающего фактора, включает адаптационные защитные механизмы, которые развиваются волнообразно, через переходный период до момента срыва компенсаторно-приспособительных реакций [Панин Л.Е., 1975; 1980; Селятицкая В.Г., 2001; Хананашвили М.М., 2012].

Выявить механизмы поддержания гомеостаза в условиях трансформации физиологического ответа организма позволяют экспериментальные модели, например такие, как длительное воздействие на организм соединений фтора, своеобразным отличительным признаком которого является совокупность нарушений гомеостатических параметров, не встречающихся в виде подобного симптомокомплекса при воздействии какими-либо другими веществами [Котов Ю.И., 1991; Николаева Л.А., 2010]. С молекулярной точки зрения, фторид натрия полиэффектен и его накопление в организме приводит к постепенным сдвигам параметров гомеостаза на системном уровне [Зислин Д.М., Гирская Е.Я., 1971; Авцын А.П. с соавт., 1991; Агалакова Н.И., Гусев Г.П., 2011; Shi X. et al., 2009; Barbier O. et al., 2010; Rupal A Vasant., 2011].

Поддержание относительного постоянства внутренней среды организма обеспечивается функциональной согласованностью всех органов и систем, ведущими из которых являются – печень, как центральный орган химического гомеостаза, и почки, как основной эффекторный орган водно-солевого баланса [Блюгер А.Ф., 1988; Иванова Л.Н., 1996; Баева И.И., Толстая Л.А., 2008; Наточин Ю.В., 1982; 2010]. Физиология этих органов достаточно полно изучена, тем не менее, многие вопросы гепаторенальных механизмов обеспечения гомеостаза в условиях постепенного сдвига его параметров, обусловленного воздействием фтора, остаются открытыми, либо спорными, что определило цель настоящей работы.

**Цель исследования:** в эксперименте изучить гепаторенальные механизмы поддержания гомеостаза в условиях постепенного сдвига его параметров воздействием на организм фторида натрия.

**Задачи:**

1. В эксперименте определить роль печени в поддержании гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия на основе анализа биохимических параметров крови, ферментативной активности, баланса про- и антиоксидантных процессов, морфологических изменений.
2. Определить клеточные гепатоспецифические механизмы, обеспечивающие поддержание гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия.
3. Выявить морфофункциональные изменения почек, направленные на обеспечение гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия.

**Научная новизна.** На экспериментальной модели определены гепаторенальные механизмы поддержания гомеостаза организма в условиях постепенного сдвига его параметров фторидом натрия. Впервые показано, что ответная реакция на постепенную аккумуляцию фтора развивается от физиологической до патологической, между которыми существует переходный период. Запускает механизмы поддержания гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия активация внутриклеточных систем – NIF-1 $\alpha$ , белка теплового шока – HSP73, HOx-2, антиоксидантной системы.

*Стадия физиологического ответа (с 1-й до 6-й недели)* характеризуется константностью показателей белкового и углеводного обменов, обеспечивается усилением обменных процессов; высокой ферментативной активностью печени; сохранением водно-солевого баланса за счёт полиурической реакции почек. В основе поддержания гомеостаза лежит сохранность морфологической структуры печени и почек. *Переходный период (с 6-й до 9-й недели)* характеризуется сохранением физиологического уровня общего белка на фоне гипоальбуминемии, усилением липолиза, снижением ферментативной активности печени и начальными изменениями её морфоструктуры. Относительное постоянство ионного равновесия в этот период обеспечивается усилением полиурии и компенсаторными взаимоотношениями фтора и кальция в организме.

**Теоретическая и практическая значимость.** Результаты проведенных экспериментальных исследований расширяют и углубляют фундаментальные представления о механизмах гепаторенальной системы в поддержании гомеостаза в условиях постепенного сдвига его параметров, позволяют определить периоды трансформации физиологического ответа, что имеет не только теоретическое, но и практическое значение для разработки рекомендаций по своевременному проведению профилактики и коррекции гомеостатических нарушений, вызванных длительным воздействием фтора на организм.

Работа выполнена по плану Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук в рамках темы НИР № 049 «Изучение закономерностей и механизмов влияния факторов производственной среды и трудового процесса на здоровье работников алюминиевой промышленности» (номер государственной регистрации 0120.0 810694).

Материалы диссертационной работы используются в научно-исследовательской и клинической практике Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей МЗ РФ; в ФГБУ «Научно-исследовательский ин-

ститут комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» СО РАМН; в образовательном процессе ФГБОУ ВПО «Кузбасская государственная педагогическая академия».

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Сдвиг гомеостатических параметров воздействием фторида натрия на организм вызывает стадийную ответную реакцию. Стадия физиологического ответа (с 1-й до 6-й недели) характеризуется сохранением гомеостаза организма, обеспеченного активацией системы энергообеспечения и обменных процессов; перестройкой липидного профиля; повышением ферментативной активности гепатоцитов и диуретической функции почек; сохранением тканевой морфоструктуры органов.

2. Переходный период (с 6-й до 9-й недели) характеризуется относительным сохранением основных гомеостатических показателей за счёт включения различных вариантов энергосинтеза; поступательного развития полиурии, компенсаторных фтор-кальциевых взаимоотношений на фоне снижения ферментативной активности гепатоцитов, дислипидемии и начальных морфологических изменений в печени и почках.

3. Гепатоспецифические механизмы поддержания гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия запускаются активацией синтеза компонентов редокс-сигнальной системы – NIF-1 $\alpha$ , гем-оксигеназы-2 и белка теплового шока – HSP73.

**Апробация работы.** Материалы диссертации представлены на научно-практических конференциях с международным участием: «Гигиена, организация здравоохранения и профпатология» (Новокузнецк, 2009-2012); III Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье» (Москва, 2009); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Профессиональные интоксикации: гигиенические, клинические и экспериментальные исследования» (Ангарск, 2009; 2010); VIII Всероссийском конгрессе «Профессия и здоровье» (Москва, 2009); 13-й межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины» (Абакан, 2010); Всероссийской научно-практической конференции «Производственно-обусловленные нарушения здоровья работников в современных условиях» (Шахты, 2010); Всероссийских научных конференциях молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 2010; 2012); V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2011).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 6 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации основных научных результатов диссертации.

**Личный вклад автора** заключается в разработке идеи, постановке, обосновании цели и задач исследования, выборе методов, планировании и непосредственном проведении экспериментов на животных по изучению гепаторенальных механизмов поддержания гомеостаза организма, обработке биологического материала, систематизации и интерпретации результатов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 170 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания объекта и методов исследования, глав «Результаты исследований и их обсуждение», заключения, выводов и списка литературы, содержащего 384 отечественных и 152 иностранных источников. Иллюстративный материал представлен в 8 таблицах и на 31 рисунке.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач было проведено 7 серий экспериментов на белых нелинейных крысах-самцах массой 200-250 г. Общее количество животных составило 630 крыс, из которых 220 – контрольные и 410 – опытные. Поступательный сдвиг гомеостатических параметров вызывали в опытной группе животных свободным доступом к раствору фторида натрия в концентрации 10 мг/л, что составляет суточную дозу 1,2 мг/кг массы тела, соответствующей ПДК по ГОСТу 2784-54. Суточное поступление такого количества фторида натрия не является токсичным, однако в связи со способностью фтора накапливаться в организме, при длительном его поступлении (продолжительность эксперимента составила 12 недель), происходит постепенный сдвиг параметров гомеостаза.

Животные содержались в стандартных условиях вивария. Эксперименты проводили в соответствии с международными правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей «Guide for the Care and Use animals» (Страсбург, 1986), «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ № 755 от 12.08.1977; приказ № 1179 от 10.10.83).

Для изучения метаболических изменений исследовали биохимические показатели крови, забор которой осуществляли из хвостовой вены на вторые и четвертые сутки, а затем через 1, 3, 6, 9, 12 недель эксперимента. В эти же сроки собирали суточную пробу мочи в обменных клетках. В отдельной серии экспериментов после декапитации крыс, которая проводилась под эфирным наркозом, забирали образцы печени и почек для гистологического исследования.

Для характеристики основных метаболических изменений в плазме крови и моче стандартными методами с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) определяли: *ионограмму* ( $Na^+$ ,  $K^+$ , ммоль/л) ионоселективным методом на иономере ЭЦ-59 (Россия), *концентрацию*  $Ca^{2+}$ , *Рнеорг.*, *мочевины* (ммоль/л) – колориметрическим методом, *креатинина* (ммоль/л) – кинетическим методом по цветной реакции Яффе на анализаторе КФК-2МП; в плазме крови определяли содержание: *общего белка и альбумина* (г/л), *билирубина* *общего и прямого* (мкмоль/л) – колориметрическим методом на КФК-2МП, *глюкозы* (ммоль/л) – глюкооксидазным методом, *ХС*, *ХСЛпвп*, *ТГ*, *ФЛ* (ммоль/л) – спектрофотометрическим методом на фотометре РМ-5010 (Германия). Уровень *ХСЛппп*, *ХСЛпппн* рассчитывали по Friedwald W.T. (1972).

Продукты *перекисного окисления липидов (ПОЛ)* в гептанизопропанольных экстрактах крови определяли методом прямого спектрофотометрирования на СФ-26 (Россия). Уровень *паратиреоидного гормона (ПТГ)* и *кальцитонина* (пг/мл) – иммуноферментным тестом (наборы Diagnostic System Laboratories и Nordicbioscience) на мультискане EX Labsystems (Финляндия).

Ферментный статус лейкоцитов (*ед. активности*) периферической крови: щелочная и кислая фосфатазы (**ЩФ**, **КФ**), **сукцинатдегидрогеназы (СДГ)**,  **$\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназ митохондриальной и цитоплазматической ( $\alpha$ -ГФДГмит.,  $\alpha$ -ГФДГцит.)** в лимфоцитах определяли стандартным цитохимическим методом окрашивания и последующим микроскопическим описанием мазков крови на микроскопе MS-50 (Австрия). Активность основных метаболических ферментов в сыворотке крови (*Е/л*): **аланинаминотрансферазы (АЛТ)**, **аспартатаминотрансферазы (АСТ)**, **гидроксибутиратдегидрогеназы (ГБДГ)**, **ЩФ**, **лактатдегидрогеназы (ЛДГ)**, **гаммаглутамилтранспептидазы ( $\gamma$ -ГТ)**, **холинэстеразы (ХЭ)** определяли унифицированными методами с помощью реактивов ЗАО «Вектор-Бест». Подготовку ткани печени для оценки активности ферментов и процессов свободнорадикального окисления (СРО) осуществляли с использованием стандартной среды для гомогенизирования в соотношении ткань:среда, равном 1:12, с помощью гомогенизатора тефлон:стекло. Активность **АЛТ**, **АСТ**,  **$\gamma$ -ГТ**, **ЩФ**, **ЛДГ (ЕА/гр.сыр.тк.)** в гомогенате печени определяли стандартными методами. Активность **каталазы (мкМН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/г белка)** определяли методом Luck H. по потреблению Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>, регистрируемому при 240 нм на фотометре РМ-10 (Германия). Уровень фактора транскрипции, индуцируемого гипоксией – **HIF-1 $\alpha$** , защитных белков **HSP73** и **HOx-1,2 (ODE)** в печени оценивали методом Western-блот анализа, применяя 8-10% полиакриламидный гель и перенос на PVDF мембрану с использованием первых моноклональных антител к этим белкам (Stressgen, Канада) и вторых антител с пероксидазной меткой (Jackson Immuno Research). Детекцию проводили по хемиллюминесценции с использованием реактивов ECL (Amersham) на рентгенографическую пленку (Kodak). Изменение печени оценивали по уровню продуктов СРО, индуцированного *in vitro* (система, содержащая аскорбат 0,2 мМ при концентрации белка не выше 2,5 мг/мл). Концентрацию свободнорадикальных (СР) продуктов оценивали по реакции с 2-тиобарбитуратовой кислотой по классическому методу Ohkawa H. et al. (1979) в модификации Kikugawa K. et al. (1992).

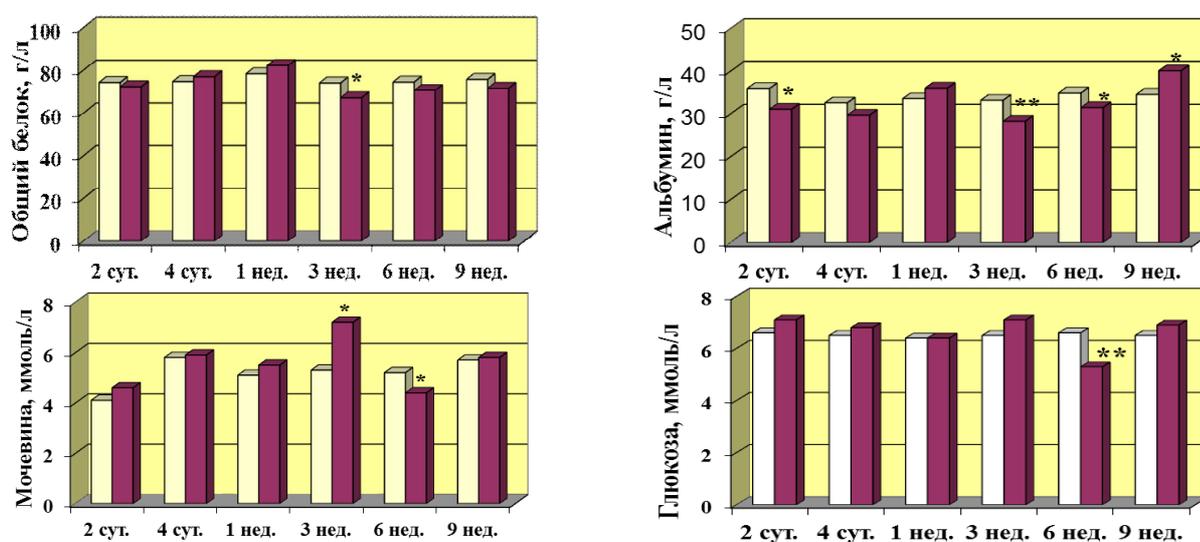
Суточный **диурез** определяли метрическим способом в обменных клетках для крыс. Концентрацию **фтора** в моче (*ммоль/л*) определяли ионоселективным методом [Голованова Л.А., 1977] на иономере «Анион-4100» (Россия) с использованием фтор-селективного электрода. Парциальные функции почек рассчитывали по общепринятым формулам [Наточин Ю.В., 1974; Орехов К.В. с соавт., 1983].

Гистологические исследования печени и почек проводили на срезах толщиной 5-7 мкм, которые готовили на ротационном микротоме МЗП-01 (Россия). Для фиксации тканей применяли нейтральный 10% формалин, проводку осуществляли в аппарате «Автогистолог АТ-4-М». Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином по Ван Гизону. Микроскопирование препаратов проводили на «Nicon Eclipse E 200», с передачей цифрового изображения на монитор и обработкой в программе «Bio Vision 4.0». Статистический анализ полученных результатов проводили на основе вычисления средних значений показателей (M) и их ошибок ( $\pm m$ ) [Лакин Г.Ф., 1990]. Различия показателей оценивали по t-критерию Стьюдента и считали достоверными при  $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,001$ . Сравнение групп данных проводили на основе линейного корреляционного анализа с использованием коэффициента корреляции ( $r$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Роль печени в поддержании гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия

Ответная реакция организма на воздействие фтора сопровождается включением адаптивных механизмов, обеспечивающих поддержание уровня общего белка и глюкозы в плазме крови на физиологическом уровне, в значительной степени за счёт участия печени в белковом и углеводном метаболизме. Начальный период (1 неделя) характеризовался сохранением уровня общего белка и альбумина в сыворотке крови крыс (рис. 1).



**Рис. 1.** Показатели белкового и углеводного обменов в сыворотке крови крыс. Обозначения: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$  – достоверные различия данных по сравнению с контрольной группой животных. □ – контроль ( $n = 20$ ); ■ – опыт ( $n = 40$ ).

К 3-й неделе снижение этих показателей было обусловлено усилением глюкозо-аланинового шунта, а также использованием альбуминов в детоксикационной цепи, обеспечивающей транспорт ксенобиотика, что согласуется с данными ряда авторов. Н.А. Богданов, Е.В. Гембицкий (1975), Ю.И. Котов (1991) связывают снижение уровня альбуминов в сыворотке крови с его использованием в транспортных и энергетических целях. Понижение уровня белков коррелировало с полторакратным повышением содержания мочевины – важнейшего продукта белкового распада ( $r=0,6^*$ ;  $p=0,04$ ). Шестая неделя сопровождалась снижением содержания мочевины в плазме крови крыс опытной группы на фоне гипоальбуминемии. К 9-й неделе, на фоне сохранения физиологического уровня общего белка, содержание альбуминов в сыворотке крови в 1,5 раза превысило контрольные значения, что, возможно, связано с усилением его синтеза в связи с возросшими потребностями организма в транспортных белках (рис. 1).

Содержание глюкозы в плазме крови крыс опытной группы сохранялось на физиологическом уровне до шестой недели. Затем, на стадии крайней напряженности синтетических процессов, её содержание достоверно снизилось, что согласуется с литературными данными о развитии гипогликемии в условиях длительного накопления фтора в организме [Мусийчук Ю.И. с соавт., 2012]. Печень выполняет роль адаптивного органа, стабилизируя уровень глюкозы в крови [Базе-

люк Л.Т., Мухаметжанова Р.А., 2003], и с 9-й недели эксперимента содержание глюкозы в плазме крови приблизилось к физиологическому (рис. 1). Поскольку отмечена корреляционная связь между уровнем глюкозы и содержанием общего белка ( $r=0,7^*$ ;  $p=0,03$ ), можно предположить использование белковых молекул в качестве энергоресурсов, что обеспечивало гомеостаз углеводов.

Печень является центральным органом в метаболизме липидов. Ранние сроки эксперимента сопровождались усилением липолитической активности. На 1-й неделе в сыворотке крови крыс наблюдалось достоверное повышение уровня ХСЛПНП до  $1,03 \pm 0,16^*$  ммоль/л и, как следствие, общего ХС, уровень которого составил  $1,69 \pm 0,09^*$  ммоль/л, поскольку известно, что около 70% его находится в составе ЛПНП. Установлено, что в начале фтористого воздействия в крови отмечается двукратное увеличение концентрации ХС и ТГ [Окунев В.Н. с соавт., 1987; Лукьянова М.В., 2002]. В наших экспериментах гиперхолестеринемия отмечалась к концу 1-й недели, свидетельствуя о стрессорном влиянии фтора в начальный период. Содержание ТГ ( $0,67 \pm 0,05$  ммоль/л) и ФЛ ( $1,85 \pm 0,35$  ммоль/л) находилось на физиологическом уровне.

На 3-й неделе отмечалось достоверное полуторакратное снижение концентрации ТГ до  $0,44 \pm 0,03^{**}$  ммоль/л и ХСЛПОНП до  $0,19 \pm 0,01^{***}$  ммоль/л на фоне двукратного повышения уровня ХСЛПНП. Понижение уровня ХСЛПОНП может быть связано с временной активацией их потребления тканями и возможным возрастанием активности липолитических ферментов в печени, как проявление защитной реакции организма для поддержания энергетического гомеостаза [Гулый М.Ф., 1961]. При этом в 1,5 раза повысился уровень ФЛ, составив  $3,36 \pm 0,47^*$  ммоль/л, по всей вероятности, связанный с компенсаторным усилением синтеза для восстановления клеточных мембран. Развивающаяся гиперлипидемия может быть отнесена к разряду транспортных форм и связана с усилением липолиза в жировой ткани, что согласуется с литературными данными [Филимонов С.Н., 2007; Скрипченко А.Е. с соавт., 2011]. Изменение уровня липидов находится в тесной корреляционной связи с продолжительностью воздействия фтора на организм. К 6-й неделе отмечается снижение компенсаторных возможностей организма. Отчётливо проявилась ДЛП: достоверное снижение ХСЛПВП до  $0,44 \pm 0,02^{***}$  ммоль/л и ФЛ до  $1,41 \pm 0,37^*$  ммоль/л на фоне высокого уровня ХСЛПНП, сохранившаяся до конца эксперимента и являющаяся инициальным фактором трансформации стадии физиологического ответа в переходную. С 9-й недели отмечен сдвиг в липопротеидном профиле, проявляющийся достоверным снижением уровня ХСЛПВП в 1,7 раза и ФЛ в 2 раза, на фоне увеличения содержания ХСЛПНП.

Сдвиг гомеостатических показателей тонко адаптирует организм к изменяющимся условиям среды, понижая или усиливая метаболические процессы [Рослый И.М. с соавт., 2002]. Определение активности ферментов в сыворотке и тканях имеет чрезвычайно важное физиологическое значение, позволяет судить о степени адаптивных возможностей органа и организма в целом. Первая неделя эксперимента характеризовалась физиологическим уровнем активности ферментов в сыворотке крови: АСТ, ЩФ, ГБДГ на фоне повышенной активности ЛДГ, свидетельствуя о достаточности основных метаболических путей.

Компенсаторно-приспособительные реакции обеспечиваются устойчивостью системы энергообеспечения. Полученные в эксперименте данные о достоверном повышении цитохимической активности ферментов (СДГ и  $\alpha$ -ГФДГ цит. – на

15 %,  $\alpha$ -ГФДГ мит. и КФ – на 10 %) свидетельствуют о высоком энергетическом потенциале цикла Кребса и функциональной мобилизации защитных клеточных систем, определяющих степень резистентности организма.

Активность ферментов отражает динамику изменения функционального гомеостаза [Долгушин М.В. с соавт., 2005; Михайлова Н.Н. с соавт., 2010]. Снижение активности  $\gamma$ -ГТ и ЩФ в гомогенате печени на фоне относительно стабильного уровня АЛТ, может свидетельствовать об «энергетическом покое» в печени [Корчак В.И., 1985; Рослый И.М., Абрамов С.В., 2003].

Усиление активности АЛТ в гепатоцитах на ранних сроках (4-е сутки) обеспечивает работу глюкозо-аланинового шунта и является срочной адаптивной реакцией на стресс (табл. 1). Рассогласованность между активностью аминотрансфераз в печени на ранней стадии, проявляющаяся в высокой активности АЛТ на фоне снижения в 1,5 раза каталитической активности АСТ, в большей степени отражает активацию анаболических процессов.

К 3-й неделе активность АСТ, ЩФ в сыворотке крови сохранялась на фоне адаптивного повышения активности АЛТ, свидетельствуя об усилении роли белкового обмена в метаболизме и активации глюкозо-аланинового шунта как механизма поддержания гомеостатического уровня глюкозы в организме. Возросла активность ЛДГ, связанная с усилением гликолитических процессов на фоне сниженной активности  $\gamma$ -ГТ, ГБДГ, что согласуется с литературными данными [П. Хочачка, Дж. Сомеро, 1988; Агалакова Н.И., Гусев Г.П., 2011].

Повышение активности АЛТ в печени на ранних сроках, с последующим поддержанием физиологической активности фермента до 6-й недели, обеспечивает работу глюкозо-аланинового шунта и, наряду с физиологическим уровнем АСТ и достоверным повышением активности ЩФ в печени (3 недели), является адаптивным механизмом на воздействие фторида натрия. Активность ЛДГ в печени находилась на физиологическом уровне до 6-й недели (табл. 1).

Поддержание гомеостаза на 6-й неделе эксперимента осуществлялось за счет напряженности гликолиза и вовлечения фосфатов в биоэнергетические процессы, достаточности системы трансмембранного переноса аминокислот из тканей и сопровождалось поддержанием физиологического уровня активности ферментов (ЩФ,  $\gamma$ -ГТ, ЛДГ, КФ), обеспечивая энергетические потребности организма на фоне ингибирования активности АЛТ, АСТсыв. и ГБДГ (табл. 1). Значительное увеличение активности  $\gamma$ -ГТ в сыворотке крови на фоне достоверного снижения уровня мочевины является своеобразным адаптивным механизмом, указывая на интенсификацию поступления аминокислот через мембрану в условиях дефицита белка [Кузьмина Л.П., Тарасова Л.А., 2000].

С 9-й недели поддержание гомеостаза осуществлялось за счет повышения механизма мембранного транспорта аминокислот при доминантном участии  $\gamma$ -ГТ (двукратное повышение), достоверного повышения активности АСТ и увеличения активности АЛТ и ЩФ в 1,5 раза; нарастающего усиления роли липидного обмена в метаболизме на фоне снижения активности ЛДГ как маркера напряженности терминального этапа гликолиза (табл. 1). Данный факт согласуется с литературными данными [Голиков С.Н. с соавт., 1980; 1986; Мамырбаев А.А., 2002; Шалина Т.И., Васильева Л.С., 2009].

Ферментативный профиль сыворотки крови и печени крыс в условиях воздействия на организм фторида натрия ( $M \pm m$ )

Показатель	Группа животных	Срок воздействия					
		2 суток	4 суток	1 неделя	3 недели	6 недель	9 недель
АСТсыв., Е/л	опыт(n=40)	172,5±9,7	161,7±5,6	156,3±7,9	156,4±3,4	139,6±5,3**	195,4±14,1*
	контроль(n=20)	169,6±5,1	168,8±10,1	166,9±8,4	166,9±5,1	167,5±8,5	162,7±4,1
АСТпеч., ЕА/гр.сыр.тк.	опыт(n=40)	21,1±5,7**	30,7±5,3*	45,8±10,1	53,6±1,4	98,9±12,2*	49,3±0,6`
	контроль(n=20)	53,8±3,1	53,8±3,1	50,9±6,2	53,1±0,4	53,1±6,3	51,3±1,4
АЛТсыв., Е/л	опыт(n=40)	41,2±2,0	51,6±4,7	39,2±1,6*	55,1±2,6*	36,3±2,5**	72,1±6,1**###
	контроль(n=20)	44,4±3,5	45,5±5,0	47,2±2,5	46,0±2,8	47,2±2,7	49,2±3,9
АЛТпеч., ЕА/гр.сыр.тк.	опыт(n=40)	116,2±3,5*	101,1±6,3	65,7±10,2	72,2±21,9	49,0±7,9*	94,7±3,4*
	контроль(n=20)	86,1±10,1	86,1±10,1	70,3±13,0	84,9±9,7	85,0±10,1	82,3±2,9
ЩФсыв., Е/л	опыт(n=40)	470,6±25,6	522,1±44,4	416,8±46,9	538,3±35,4	503,2±52,9	605,6±60,5*
	контроль(n=20)	471,1±44,8	471,1±34,6	476,3±27,7	476,9±16,6	460,0±31,5	453,2±25,8
ЩФпеч., ЕА/гр.сыр.тк.	опыт(n=40)	437,7±37,1**	506,0±38,4**	755,0±67,5	1343,0±147,5*^^	853,7±60,6	876,2±152,2
	контроль(n=20)	782,9±35,7	782,9±35,7	781,0±77,2	805,2±124,2	804,8±49,8	808,2±64,8
γ-ГТсыв., Е/л	опыт(n=40)	8,3±0,6	10,2±0,9	6,7±0,5*	6,4±0,6*	11,9±0,8^	12,6±0,7**#
	контроль(n=20)	9,5±0,34	9,5±0,8	9,5±0,9	9,3±0,6	9,9±0,9	9,2±0,6
γ-ГТпеч., ЕА/гр.сыр.тк.	опыт(n=40)	12,0±0,3**	12,9±0,2***	13,0±0,3**	14,3±1,5	13,3±1,8	28,5±3,5*###
	контроль(n=20)	14,8±0,3	14,8±0,3	15,3±0,7	15,7±1,8	14,6±2,0	14,3±1,8
ЛДГсыв., Е/л	опыт(n=40)	676,6±71,9	513,1±46,3**	904,8±57,4*	876,8±58,5*	677,8±48,4	434,2±72,2*
	контроль(n=20)	720,9±79,0	729,3±50,1	720,6±45,7	709,9±40,3	713,2±28,7	721,4±35,9
ЛДГпеч., ЕА/гр.сыр.тк.	опыт(n=40)	676,0±226,3	823,8±221,8	465,8±80,4	664,4±104,8	401,1±25,6*	467,5±54,3*
	контроль(n=20)	707,5±85,5	707,5±85,5	677,6±99,9	690,6±144,5	701,6±162,1	706,5±29,6
ГБДГсыв., Е/л	опыт(n=40)	332,6±69,9	477,3±91,0	329,9±63,5	164,4±19,9***	265,9±23,2**	334,4±30,4
	контроль(n=20)	352,4±52,9	331,1±85,5	319,0±41,2	358,5±34,7	348,4±17,1	349,4±46,0
ХЭсыв., Е/л	опыт(n=40)	425,9±64,4	448,9±54,9	417,9±101,6	202,1±34,3	170,8±64,5	185,3±48,1
	контроль(n=20)	422,2±70,2	418,1±48,2	418,8±29,9	431,4±47,7	420,1±72,7	429,0±71,0

Обозначения: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ ; \*\*\* – при  $p < 0,001$  – достоверные различия данных по сравнению с контрольной группой животных; # – при  $p < 0,05$ ; ##, ^^ – при  $p < 0,01$  – достоверные различия данных по сравнению с 1-й неделей; ^ – при  $p < 0,05$  – достоверные различия данных по сравнению с 3-й неделей; ### – при  $p < 0,001$  – достоверные различия данных по сравнению с 1-й неделей; `` – при  $p < 0,01$  – достоверные различия данных по сравнению с 6-й неделей.

Сывороточная ХЭ синтезируется в печени, регулирует содержание холина в плазме крови и его метаболизм. В организме выполняет защитные функции, являясь детоксикантом, и служит показателем функционального состояния гепатоцитов [Старостина В.К., Дегтева С.А., 2010]. В наших экспериментах активность ХЭ на ранних сроках поддерживалась на физиологическом уровне. Снижение активности ХЭ в 2 раза с 3-й недели и до конца эксперимента четко отражает картину ингибирования фторид-ионами активности фермента, но не доминирующее снижение синтетической активности печени (табл. 1).

### **Показатели состояния про- и антиоксидантной системы в условиях воздействия на организм фторида натрия**

Установлено, что мишенью первичного воздействия негативных факторов являются мембраны, представляющие собой эффекторные звенья вегетативного гомеостаза [Баевский Р.М., 1987; Геннис Р., 1997; Буеверов А.О., 2002]. Реакции СРО направлены на выработку оптимальной стратегии живой системы, обеспечивающей гомеостаз [Архипенко Ю.В. с соавт., 2005; Жукова А.Г., 2005; Shanthakumari D. et al., 2004]. Поддержание метаболических показателей на физиологическом уровне контролируется изменениями внутриклеточного окислительно-восстановительного состояния. Универсальными индукторами изменения редокс-баланса в ответ на воздействие факторов среды выступают активные формы кислорода (АФК) и свободнорадикальные (СР) продукты.

Среди наиболее значимых механизмов действия фтора на клетку выделяют изменение путей внутриклеточной сигнализации и ингибирующее влияние на процессы транскрипции и трансляции. Недавними исследованиями показана активация трансляции в различных тканях на начальных этапах действия высоких концентраций фтора [Жукова А.Г. с соавт., 2011; Xu H. et al., 2008; Lu J. et al., 2009]. Изменение уровня редокс-регулируемых факторов транскрипции (NIF-1 и NIF-зависимых белков) в динамике воздействия фторида натрия на организм практически не изучено. В связи с этим, в наших экспериментах мы исследовали динамику и взаимосвязь изменения уровня СРО и активности защитных систем – фактора транскрипции NIF-1 $\alpha$ , белков с защитной функцией HSP73, HOx-1,2 и антиоксидантного фермента – каталазы в условиях воздействия на организм фторида натрия.

Анализ экспериментальных данных показал, что на ранних сроках (3 недели) в ответ на действие фтора развивается кратковременная активация СРО, которая сопровождается сдвигом про- и антиоксидантного равновесия в сторону антиоксидантных (АО) реакций, обеспечивающих устойчивость мембранных структур гепатоцитов к индукции СР процессов. На 4-е сутки произошло двукратное увеличение начального уровня СР продуктов, однако резистентность мембранных структур гепатоцитов не отличалась от контроля (рис. 2).

Пусковым механизмом, инициирующим формирование процессов клеточной адаптации и поддержания физиологического гомеостаза организма в условиях воздействия фторида натрия, является активация компонентов редокс-сигнальной системы и усиление синтеза защитных белков в печени. Так, уже на 4-е сутки повышение уровня NIF-1 $\alpha$  (в 2 раза) в печени крыс опытной группы, сопровождалось активацией синтеза белка с защитной функцией HSP73 (в 2 раза) и HOx-1,2 (в 1,5 раза).

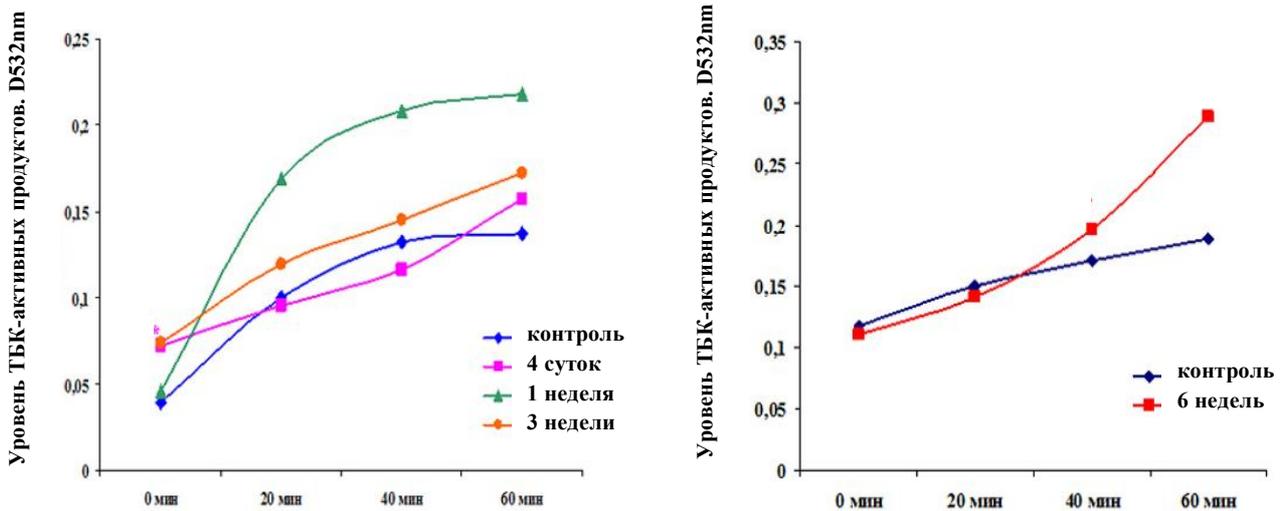


Рис. 2. Влияние фторида натрия (1-3; 6 недель) на уровень свободнорадикальных продуктов в печени крыс.

Усиление синтеза защитных белков в гепатоцитах является компенсаторным и имеет триггерное влияние на АО ферменты в клетке. Повышение уровня HSP73 и HOx-2 в печени коррелировало с повышением активности каталазы и обеспечивало резистентность мембранных структур печени к индукции СРО (рис. 3). Высокий уровень защитных белков сохранялся в течение 3-х недель эксперимента, запуская ведущие компенсаторные механизмы, обеспечивая устойчивость мембранных структур печени к индукции СРО на ранних сроках.

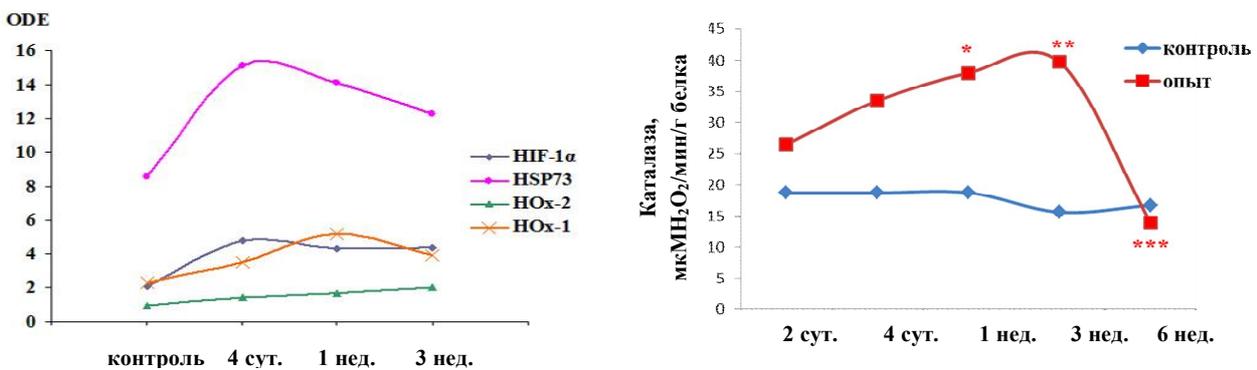
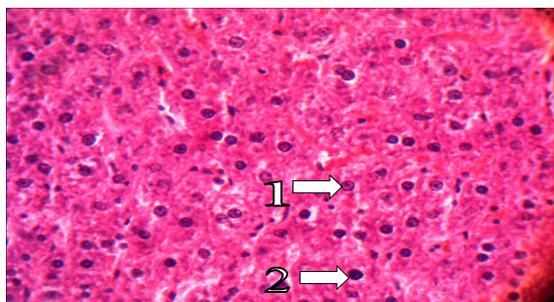


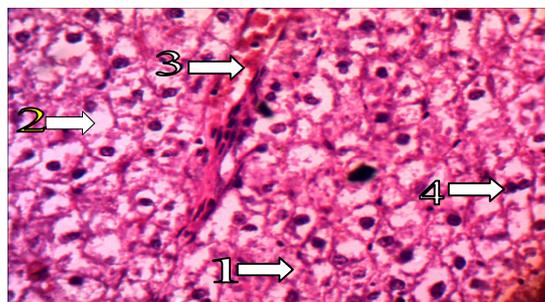
Рис. 3. Влияние фторида натрия на уровень HIF-1α, HSP73, HOx-1,2 и активность каталазы в печени крыс: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ ; \*\*\* – при  $p < 0,001$  – достоверные различия данных по сравнению с контрольной группой животных. ODE – относительные денситометрические единицы.

Активация СР процессов в организме может выполнять регулируемую роль в развитии компенсаторных механизмов. При этом происходит изменение метаболических показателей в крови и тканях. Изменение активности ферментов отражает соотношение адаптационных механизмов, а сами ферменты обеспечивают реакции, за счёт которых поддерживаются гомеостатические показатели на относительно стабильном уровне, особенно в условиях чрезвычайной напряженности синтетических процессов, обусловленных длительным воздействием фтора на организм. С 6-й недели и до конца эксперимента отмечалось смещение про- и антиоксидантного равновесия в направлении активации СРО (рис. 2). Начальный уровень СР продуктов не был увеличен, повысилась чувствительность мембранных структур печени к индукции СРО *in vitro* почти в 2 раза на фоне

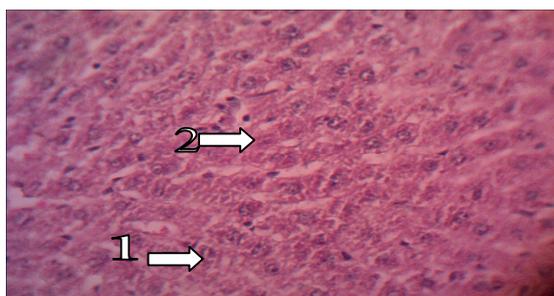
снижения активности каталазы. Это обусловлено тем, что активации синтеза защитных белков и ферментов АО защиты в этот период не происходит в ответ на усиление СРО, что согласуется с литературными данными об ингибирующем влиянии на процессы транскрипции и трансляции длительного воздействия фтора [Rzenski R., 1998; Otsuki S. et al., 2005]. Снижение уровня защитных систем приводило к изменению мембранных структур гепатоцитов, которое наблюдалось при гистологическом исследовании (рис. 4).



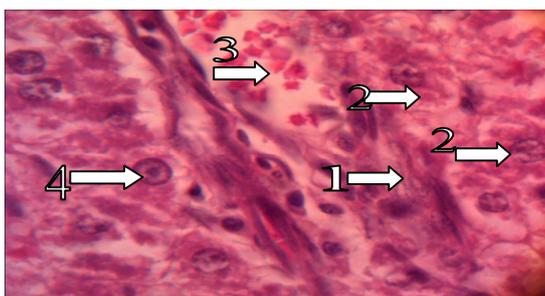
**1 неделя:** 1 - ядра с конденсированным хроматином и просматривающимися ядрышками; 2 - увеличение ядра



**3 недели:** 1 - зернистая и 2 - баллонная дистрофии гепатоцитов; 3 - полнокровие портального тракта; 4 - двуядерные гепатоциты



**6 недель:** 1 - крупные просветленные ядра; 2 - зернистая дистрофия гепатоцитов



**9 недель:** 1- фибропластические изменения, лимфоплазмочитарная инфильтрация портальных трактов; 2 - зернистая дистрофия гепатоцитов; 3 - полнокровие вен портального тракта; 4 - крупные ядра, просматривающиеся ядрышки

**Рис. 4.** Влияние фторида натрия на морфологические изменения ткани печени крыс. Окраска гематоксилин-эозином; увеличение  $\times 40, \times 100$ .

Наряду с этим, морфологические изменения печени выявили сохранность и высокую степень синтетической и репаративной активности до 6-й недели эксперимента, о чем свидетельствовали, в частности, вакуолизация и увеличение ядер гепатоцитов, ядерный дуализм (рис. 4), связанные с приспособлением клеточных структур к напряженности обменных процессов. Ядерный дуализм обеспечивает высокую лабильность метаболизма, обусловленную увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения [Авцын А.П., Жаворонков А.А., 1981].

### **Роль почек в поддержании гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия**

Для выяснения роли почек в поддержании гомеостаза организма в условиях поступления фторида натрия были проанализированы основные парциальные функции: средний диурез, фильтрационно-реабсорбционные процессы, ионурез. Полиурия поступательно нарастала с начала эксперимента и достигла максимума к 9-й неделе. Анализ фильтрационно-реабсорбционных процессов пока-

зал, что полиурическая реакция развивалась на фоне поступательного снижения СКФ. Получена отрицательная корреляционная связь между уровнем среднего диуреза и СКФ ( $r=-0,7$ ;  $p=0,04^*$ ). Уменьшение СКФ, вероятно, возникает, вследствие отмеченного рядом авторов утолщения базальной мембраны клубочков [Колмогорцева В.М., 1981], наличия гипертрофированных клубочков, гиперемии гломерул нефрона [Габович Р.Д., Овруцкий Г.Д., 1969; Shashi A. et al., 2002]. На протяжении 9 недель на фоне сниженной фильтрационной загрузки нефрона отмечалось достоверное снижение уровня канальцевой реабсорбции, что выражалось поступательным повышением процента экскретируемой фракции жидкости ( $EF_{H_2O}\%$ ) в 2 раза (табл. 2). Известно, что реабсорбция в почечной медулле обеспечивается анаэробным метаболизмом, который, вероятно, тормозится фтором.

Полиурическая реакция способствовала выведению фтора из организма экспериментальных крыс. К 1-й неделе уровень фтора в моче составил  $4,85 \pm 0,2$  ммоль/л, к 3-й неделе, экскреция фтора увеличилась в 2 раза (рис. 5). Начиная с 6-й недели, количество фтора в моче резко повысилось до  $14,7 \pm 0,1$  ммоль/л, а к 9-й, поступательно увеличиваясь, уровень его достиг  $17,5 \pm 1,4$  ммоль/л, почти в 20 раз превысив соответствующий показатель в контрольной группе животных.

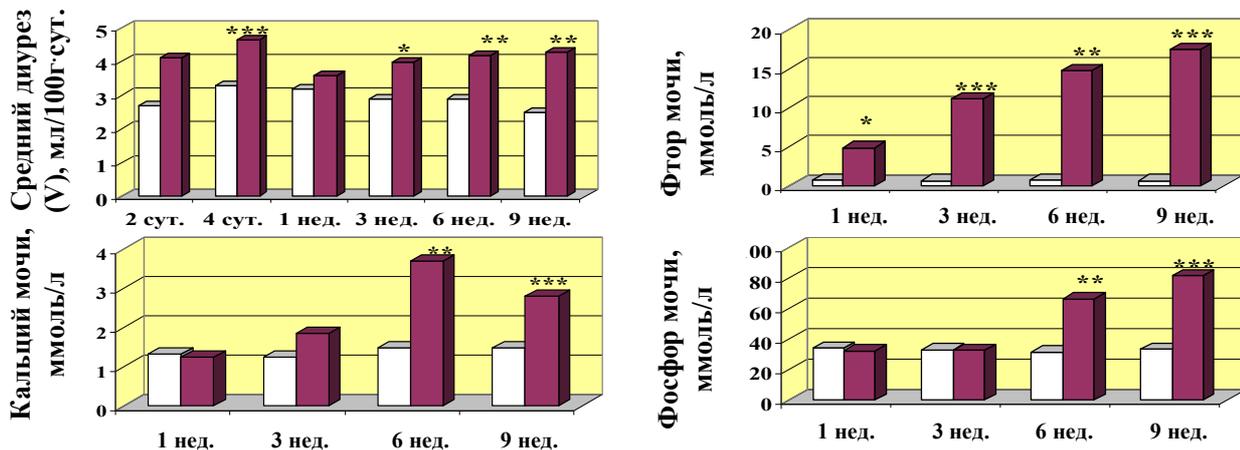


Рис. 5. Влияние фторида натрия на V, содержание фтора, кальция и фосфора в моче крыс. Обозначения: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ ; \*\*\* – при  $p < 0,001$  – достоверные различия данных по сравнению с контрольной группой животных. □ – контроль ( $n = 20$ ); ■ – опыт ( $n = 40$ ).

Элиминация абсорбированного фтора происходит практически исключительно через почки, поскольку 60-90% фторидов экскретируется с мочой путем клубочковой фильтрации [Цытович А.Л., Саломатин В.В., 2001]. Через неделю на фоне повышенного содержания фтора концентрация  $P_{неорг.}$  в моче крыс сохранялась на уровне контрольных и составила  $32,4 \pm 1,8$  ммоль/л, а уровень  $Ca^{2+}$  составил  $1,23 \pm 0,1$  ммоль/л. На 3-й неделе уровень  $Ca^{2+}$  в моче в 1,5 раза превысил контрольные значения, а к 6-й – в 2,5 раза. Содержание  $P_{неорг.}$  в моче к 3-й неделе составило  $31,3 \pm 1,6$  ммоль/л и сохранялось таковым до 6-й недели. На 6-й неделе содержание его в моче резко возросло. К 9-й неделе наблюдался пик уровня  $P_{неорг.}$  в моче ( $81,5 \pm 3,4$  ммоль/л). С 9-й недели фосфорно-кальциевые компенсаторные взаимоотношения нарушаются, о чем свидетельствует достоверный выброс обоих элементов с мочой (рис. 5). Обнаружена положительная корреляционная связь между средним диурезом, содержанием  $Ca^{2+}$  ( $r=0,6^*$ ;  $p=0,04$ ) и фтора ( $r=0,9^{**}$ ;  $p=0,007$ ) в моче крыс. Содержание  $Ca^{2+}$ ,  $P_{неорг.}$  в плазме крови крыс на 1-й неделе поддерживалось в физиологических пределах и составило для  $Ca^{2+}$  –

2,2±0,14 ммоль/л; для  $P_{\text{неорг.}}$  – 2,2±0,08 ммоль/л. Изменение гомеостатической функции почек сопровождалось увеличением содержания  $P_{\text{неорг.}}$  в плазме крови крыс до 2,4±0,09\*ммоль/л к концу 3-й недели. С 9-й недели уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в плазме достоверно возрос и составил 2,6±0,12\*ммоль/л на фоне сохранения  $P_{\text{неорг.}}$  Компенсаторные взаимоотношения фтора и  $\text{Ca}^{2+}$  в организме, очевидные на ранних сроках, нарушаются с 9-й недели. Центральная роль в поддержании гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$  в организме принадлежит ПТГ и кальцитонину [Мецлер Т., 1980; Анохина А.С., 2007; Милованова Л.Ю. с соавт., 2011]. Поскольку ПТГ оказывает фосфатурическое действие, избыток фосфатов экскретируется с мочой, но реабсорбция  $\text{Ca}^{2+}$  в почечных канальцах повышается: часть мобилизованного  $\text{Ca}^{2+}$  задерживается, и уровень его в плазме сохраняется на физиологическом уровне с последующим достоверным повышением к 9-й неделе. На этом фоне отмечалась тенденция к снижению содержания кальцитонина, обладающего гипокальциемическим и гипофосфатемическим действием.

Высокий уровень мочевины в крови, при относительно стабильной экскреции с мочой до 6-й недели, является интегрирующим адаптивным механизмом между функциональной активностью печени и почек на стадии крайней напряженности физиологических процессов и доказательством усиления белкового метаболизма. Экскреция креатинина до 6-й недели находилась в пределах физиологической нормы с последующим повышением. Уровень креатинина в плазме крови сохранялся в пределах контроля до 6-й недели эксперимента и составил 0,071±0,006 ммоль/л, несмотря на низкую СКФ, что является адаптивной реакцией почек, поддерживающей уровень азотистых шлаков в крови на физиологическом уровне. К 9-й неделе экскреция креатинина увеличилась в 3 раза и составила 0,082±0,004\*ммоль/л. Найдена корреляция между снижением СКФ и увеличением экскреции креатинина ( $r=-0,8^{**}$ ;  $p=0,01$ ) и белка ( $r=-0,9^{***}$ ;  $p=0,0002$ ), что обусловлено нарушением гломерулярного аппарата нефрона. Изменение ионоуретической функции сопровождалось поддержанием уровня  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  в плазме крови до 6-й недели в пределах контрольных значений (табл. 2). На фоне полиурии отмечался калийурез к концу эксперимента и достоверный натрийурез за счет увеличения экскретируемой фракции  $\text{Na}^+$  ( $\text{EF}_{\text{Na}}$ ), т.е. снижения его канальцевой реабсорбции на протяжении всего срока, что приводит к выбросу его с мочой.

В организме развиваются компенсаторные реакции, направленные на предотвращение потери натрия: усиливается образование в ЮГА ренина, возникает сужение приводящей артериолы клубочка, снижается гломерулярная фильтрация [Наточин Ю.В., 2012]. Гомеостаз обеспечивался напряженностью фильтрационно-реабсорбционных процессов, компенсаторными фосфор-фтор-кальциевыми взаимоотношениями и поддержанием гидро-ионного баланса на относительно стабильном уровне.

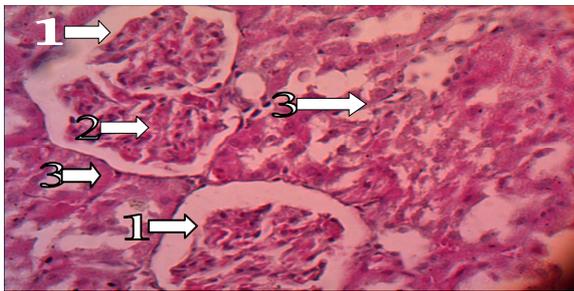
Морфологические исследования почек крыс показали изменения их морфологического состояния различной степени выраженности (рис. 6). Морфоструктура почек до 3-й недели характеризовалась адаптивными признаками в виде полнокровия и утолщения стенок сосудов, расширения просвета капсулы Шумлянско-Боумана. Выявлена пролиферация мезангиальных клеток, диффузная лимфоцитарная инфильтрация, ядерный дуализм, зернистая дистрофия (рис. 6). Морфологическая картина зернистой дистрофии может отражать степень синтетической активности и внутриклеточной регенерации [Авцын А.П., Жаворонков А.А., 1981].

Показатели парциальных функций почек и водно-солевого обмена у крыс в динамике воздействия фторида натрия на организм ( $M \pm m$ )

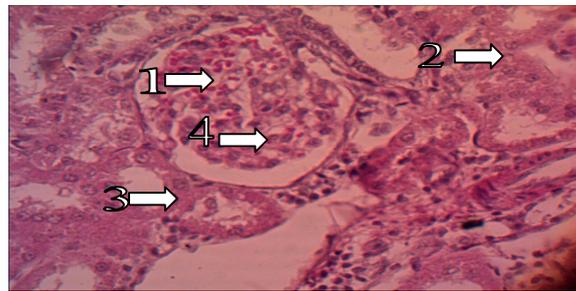
Показатель	Группа животных	Срок воздействия					
		2 суток	4 суток	1 неделя	3 недели	6 недель	9 недель
Средний диурез (V), мл/100г·сут.	опыт(n=40)	4,1±0,32	4,6±0,86***	3,6±0,23	4,0±0,12*	4,2±0,29*	4,3±0,26**
	контроль(n=20)	2,7±0,44	3,3±0,01	3,2±0,32	2,9±0,31	2,9±0,42	2,5±0,22
СКФ (F), мл/100 г·сут.	опыт(n=40)	541,4±29,17	439,6±37,54*	394,5±17,04*	391,3±46,60	349,6±10,05*	312,1±37,0*
	контроль(n=20)	642,4±55,77	589,6±43,40	459,9±26,90	495,2±42,67	472,0±50,05	442,4±30,8
Экскретируемая фракция жидкости (EF <sub>H2O</sub> ), %	опыт(n=40)	0,73±0,06	1,10±0,11*	0,91±0,07	1,02±0,09*	0,93±0,08*	0,85±0,08*
	контроль(n=20)	0,60±0,08	0,69±0,08	0,69±0,08	0,59±0,08	0,62±0,04	0,57±0,05
Экскреция натрия (U <sub>Na</sub> ·V), ммоль/100 г·сут.	опыт(n=40)	410,3±15,2	492,1±25,8***	365,2±10,2***	417,3±25,8***	702,7±22,8***	801,8±29,4***
	контроль(n=20)	375,5±16,4	309,6±15,8	253,9±12,8	231,1±21,4	264,9±18,5	243,0±15,7
Экскреция калия (U <sub>K</sub> ·V), ммоль/100 г·сут.	опыт(n=40)	79,2±1,8	69,8±6,7	73,7±19,5	90,0±26,6	83,0 ±7,7	180,2±40,6**
	контроль(n=20)	80,2±1,7	95,2±16,9	90,3±5,7	93,4±11,6	94,0±15,9	91,8±8,8
Экскретируемая фракция натрия (EF <sub>Na</sub> ), %	опыт(n=40)	0,55±0,02	0,78±0,12**	0,43±0,07	0,45±0,12*	1,21±0,11***	1,19±0,09***
	контроль(n=20)	0,42±0,08	0,37±0,07	0,35±0,09	0,29±0,08	0,32±0,07	0,32±0,06
Экскретируемая фракция калия (EF <sub>K</sub> ), %	опыт(n=40)	2,85±0,80	2,35±1,99	2,49±1,10	2,58±0,34	3,26±0,66	3,16±0,82
	контроль(n=20)	2,19±0,52	2,75±4,45	2,29±0,53	3,12±0,38	3,12±0,65	3,42±0,50
P <sub>Na</sub> <sup>+</sup> , ммоль/л	опыт(n=40)	138,2±2,87	144,2±1,56	147,5±2,90*	164,2±7,36	177,0±6,04*	215,8±7,17**
	контроль(n=20)	138,4±2,11	143,3±1,03	159,0±2,55	161,5±13,99	165,4±9,53	172,0±6,38
P <sub>K</sub> <sup>+</sup> , ммоль/л	опыт(n=40)	5,5±0,21	6,6±0,24	7,9±0,29*	6,5±0,23	6,6±0,39	8,4±0,50**
	контроль(n=20)	5,4±0,16	6,9±0,20	6,9±0,21	7,0±0,49	7,0±0,26	6,1±0,25

Обозначения: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ ; \*\*\* – при  $p < 0,001$  – достоверные различия данных по сравнению с контрольной группой животных.

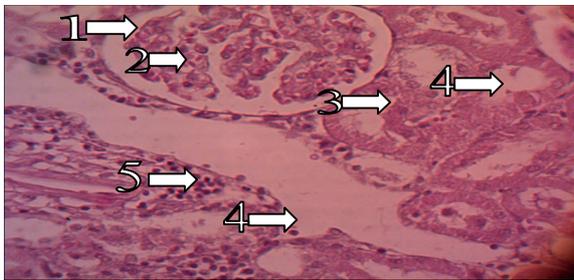
Зерна белка появляются в клетках при усилении функции органа, являясь морфологическим выражением гиперфункции и отражая адаптацию канальцевого аппарата. Уплотнение нефроэпителия, единичное увеличение числа низких кубических клеток свидетельствовали об активной регенерации.



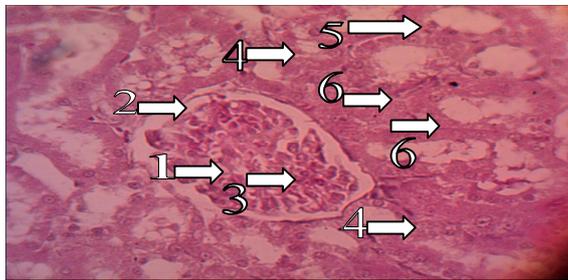
**1 неделя:** 1 - просветы капсул расширены; 2 - минимальная пролиферация клеток мезангия; 3 - зернистая дистрофия эпителия канальцев



**3 недели:** 1 - капиллярные петли расширены, полнокровны; 2 - просветленные ядра; 3 - зернистая дистрофия эпителия канальцев; 4 - пролиферация клеток мезангия



**6 недель:** 1 - просвет капсул уменьшен; 2 - пролиферация клеток мезангия; 3 - зернистая дистрофия эпителия канальцев; 4 - клетки канальцевого эпителия, лишённые ядер; 5 - диффузная лимфоцитарная инфильтрация



**9 недель:** 1 - утолщение стенок капилляров клубочка; 2 - просвет капсулы резко сужен; 3 - количество клеток мезангия увеличено; 4 - зернистая дистрофия канальцев; 5 - эпителий низкого кубического типа; 6 - некроз канальцевого эпителия

**Рис. 6.** Влияние фторида натрия на морфологические изменения ткани почек крыс. Окраска гематоксилин-эозином; увеличение  $\times 40, \times 100$ .

## Заключение

Понятие «гомеостаз» отражает не только состояние организма, характеризующееся относительным постоянством физиологических параметров, но и те процессы координации физиологических механизмов, обеспечивающих единство организма как в нормальных, так и в необычных для него условиях существования. В основе адаптации к действию негативных факторов лежит способность организма к активации защитных систем. В зависимости от степени гомеостатического сдвига и исходного состояния организма, возможно либо формирование долговременной адаптации, либо развитие патологических процессов и их хронизация [Айдаралиев А.А. с соавт., 1988; Сазонтова Т.Г., 1998; Селятицкая В.Г., Обухова Л.А., 2001; Архипенко Ю.В., 2005; Михайлова Н.Н. с соавт., 2010; 2012; Жукова А.Г. с соавт., 2011; Кацнельсон Б.А. с соавт., 2012].

В наших экспериментах установлены механизмы, обеспечивающие поддержание гомеостаза в условиях постепенного сдвига его параметров поступлением фторида натрия. Экспериментальная модель позволила реализовать поставленную цель и выявить ключевые гепаторенальные механизмы, обеспечи-

вающие до определенного периода сохранность основных гомеостатических параметров.

Поступательная кумуляция фтора в организме сопровождается волнообразным характером ответа и имеет стадийный характер. *Физиологический ответ* характеризуется разнонаправленной сменой метаболических реакций, обеспечивающих совершенное приспособление к кратковременному действию фтора, которое вначале является стрессорным фактором воздействия. Возникающее при этом периодическое смещение метаболического равновесия индуцирует многокомпонентный ответ, направленный на преодоление возникающего дисбаланса.

*Переходный период* характеризуется метаболической нестабильностью, включающей долговременные механизмы адаптации, обеспечивающие определённое время устойчивости организма в условиях напряженности синтетических процессов. Накопление фтора в организме в результате его длительного поступления приводит к истощению компенсаторных механизмов, нарушению метаболического баланса, невозможности поддержания параметров гомеостаза на физиологическом уровне.

Полученные в работе результаты о стадийной ответной реакции организма, определяемой уровнем гомеостатического сдвига, и достоверный характер выявленных при этом изменений биохимических показателей позволяют разрабатывать рекомендации по коррекции гомеостатических нарушений, вызванных длительным воздействием фтора на организм, с учётом эндогенных защитных гепаторенальных возможностей организма.

## **ВЫВОДЫ:**

1. Сохранение гомеостаза в условиях воздействия на организм фторида натрия до шестой недели обеспечивается усилением синтетических и регенеративных процессов в печени, характеризующихся активностью основных ферментов (АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ), свидетельствуя о достаточности метаболических путей, направленных на поддержание гомеостаза. Компенсаторно-приспособительные реакции определяются устойчивостью системы энергообеспечения, которая обеспечивается повышением цитохимической активности дыхательных ферментов (СДГ и  $\alpha$ -ГФДГ цит.,  $\alpha$ -ГФДГ мит., КФ). На гистологическом уровне выявлено сохранение тканевой морфоструктуры, компенсаторные проявления: зернистая дистрофия, увеличение числа двуядерных гепатоцитов.

2. Гепатоспецифические механизмы поддержания гомеостаза в условиях сдвига его параметров воздействием фтора на организм запускаются усилением синтеза компонентов редокс-сигнальной системы – NIF-1 $\alpha$ , NOx-2 и белка теплового шока – HSP73.

3. Физиологический ответ организма в условиях сдвига гомеостаза фторидом натрия обеспечивается полиурической реакцией почек, относительным постоянством гидро-ионного равновесия, компенсаторными фтор-кальциевыми взаимоотношениями, сохранением морфоструктуры почек.

4. Переходный период (с 6-й до 9-й недели) трансформирует стадию физиологического ответа и характеризуется относительным сохранением основных параметров гомеостаза посредством усиления белкового метаболизма и мембранного транспорта аминокислот из тканей при доминирующем участии фермента  $\gamma$ -ГТ на фоне снижения каталитической активности ферментов (АЛТ, АСТ, ГБДГ, ЛДГ, ХЭ), гипогликемии и дислипидемии. Морфологическим выражением гиперфункции в печени и почках является зернистость цитоплазмы, полиморфизм ядер на фоне начальных изменений морфоструктуры.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Михайлова Н.Н. Влияние хронической фтористой интоксикации на парциальные функции почек и водно-солевой обмен / Н.Н. Михайлова, **Т.К. Ядыкина**, А.С. Казицкая, Е.Н. Масленникова // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Профессиональные интоксикации: гигиенические, клинические и экспериментальные исследования».** – Иркутск, 2009. – № 1 (65). – С. 252-255.

2. Уланова Е.В. Токсическое действие фторида натрия при экспериментальном флюорозе / Е.В. Уланова, Д.В. Фоменко, Н.В. Кизиченко, **Т.К. Ядыкина**, Е.Н. Масленникова // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Профессиональные интоксикации: гигиенические, клинические и экспериментальные исследования».** – Иркутск, 2009. – № 1 (65). – С. 275-278.

3. **Ядыкина Т.К.** Функционально-метаболический ответ гепатобилиарной системы на фтористую интоксикацию (экспериментальные исследования) / **Т.К. Ядыкина**, А.Г. Жукова, Е.В. Уланова, Н.В. Кизиченко, Д.А. Щербакова, М.С. Бугаева// **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.**– Иркутск, 2010.– № 4 (74).– С. 64-68.

4. Захаренков В.В. Специфичность иммунного ответа на действие различных производственных факторов / В.В. Захаренков, А.С. Казицкая, **Т.К. Ядыкина**, Д.В. Фоменко, Е.Н. Масленникова // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.** – Иркутск, 2010. – № 4 (74). – С. 24-27.

5. Жукова А.Г. Динамика компенсаторных механизмов на ранних стадиях интоксикации фтором / А.Г. Жукова, Е.В. Уланова, Д.А. Щербакова, **Т.К. Ядыкина** // **Технологии живых систем.** – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 10-17.

6. Жукова А.Г. Специфичность клеточного ответа на действие различных производственных токсикантов/А.Г. Жукова, Е.В. Уланова, Д.В. Фоменко, А.С. Казицкая, **Т.К. Ядыкина** // **Медицина труда и промышленная экология.** – Москва, 2011. – № 7. – С. 23-26.

7. **Ядыкина Т.К.** Динамика изменения парциальных функций почек и водно-солевого обмена в условиях хронической фтористой интоксикации / **Т.К. Ядыкина**, А.С. Казицкая, Е.Н. Масленникова, Д.В. Фоменко // **Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье»: Электронный сборник.** Номер в списке 83. – Москва, 2009.

8. Масленникова Е.Н. Влияние избытка фтора на белковый обмен организма (экспериментальные исследования) / Е.Н. Масленникова, **Т.К. Ядыкина**, А.С. Казицкая, М.С. Бугаева // Актуальные вопросы профпатологии, гигиены и экологии человека: Материалы XLV научно-практической конференции с международным участием «Гигиена, организация здравоохранения и профпатология» и семинара «Актуальные вопросы современной профпатологии». – Новокузнецк, 2010. – С. 135-137.

9. Уланова Е.В. Диагностическое значение изменения ферментативной активности печени на ранних стадиях развития флюороза / Е.В. Уланова, Л.Г. Горохова, А.С. Казицкая, **Т.К. Ядыкина**, Д.А. Щербакова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Производственно обусловленные нарушения здоровья работников в современных условиях». – Шахты, 2010. – С. 330-332.

10. **Ядыкина Т.К.** Экспериментальные исследования морфофункциональных изменений гепаторенальной системы в динамике фтористой интоксикации / **Т.К. Ядыкина** // **Медицинский академический журнал**. – СПб., 2010. – Т. 10, № 5. – С. 42.

11. **Ядыкина Т.К.** Компенсаторно-приспособительные реакции печени на хроническую фтористую интоксикацию / **Т.К. Ядыкина**, А.С. Казицкая, Н.В. Кизиченко, Е.Н. Масленникова // Материалы V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов». – Новосибирск, 2011. – С. 261-262.

12. **Ядыкина Т.К.** Динамика изменения уровня альфа-1-антитрипсина и белков острой фазы и компенсаторно-приспособительный ответ печени на фтористую интоксикацию у крыс / **Т.К. Ядыкина**, Е.В. Уланова, Л.Г. Горохова, А.С. Казицкая / Вестник Кузбасского научного центра. – Вып. № 15 «Достижения медицинской науки Кузбасса практическому здравоохранению». – Кемерово, 2012. – С. 172-174.

13. Алехина Д.А. Соотношение про- и антиоксидантных систем в ткани печени в динамике фтористой интоксикации / Д.А. Алехина, **Т.К. Ядыкина**, М.В. Зубкова, Н.Н. Михайлова, А.Г. Жукова // **Медицинский академический журнал**. – СПб., 2012. – С. 14-17.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АОС	– антиоксидантная система
АО реакции, ферменты	– антиоксидантные реакции, ферменты
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АФК	– активные формы кислорода
$\alpha$ -ГФДГ мит.	– $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназа митохондриальная
$\alpha$ -ГФДГ цит.	– $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназа цитоплазматическая
ГБДГ	– гидроксibuтиратдегидрогеназа
ДЛП	– дислипидемия
$\gamma$ -ГТ	– гаммаглутамилтранспептидаза
КФ	– кислая фосфатаза
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ПДК	– предельно допустимая концентрация
ПТГ	– паратиреоидный гормон
СДГ	– сукцинатдегидрогеназа
СКФ	– скорость клубочковой фильтрации
СРО	– свободнорадикальное окисление
СР продукты	– свободнорадикальные продукты
СР процессы	– свободнорадикальные процессы
ТГ	– триглицериды
ФЛ	– фосфолипиды
ХС	– холестерин
ХС ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ХС ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ХС ЛПОНП	– липопротеины очень низкой плотности
ХЭ	– холинэстераза
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЮГА	– юкстагломерулярный аппарат
HSP	– (Heat Shock Proteins) – белки теплового шока
НОх-1,2	– (Hemoxygenasa) - гем-оксигеназа
HIF-1 $\alpha$	– (Hypoxia Inducible Factor) - гипоксией индуцируемый фактор