УДК 616-092.9:612.466

ИОНОВЫДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПОЧЕК КРЫС, ИНТОКСИЦИРОВАННЫХ ФТОРИДОМ НАТРИЯ

Джиоев И.Г., Бибаева Л.В., Еналдиева Д.А., Лолаева А.Т., Магаев А.А.
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ, e-mail: inal44@mail.ru

Цель работы – изучение ионовывделительной функции почек крыс, интоксцированных фторидом натрия. Исследования проводили на 40 крысах линии Вистар, получавших ежедневно в течение одного месяца перорально фторид натрия в дозе 1,25 мг/кг (в расчете на чистый фтор), что составляет $1/10$ часть полулетальной дозы. Через одну, две недели и в конце месяца ставили опыты в условиях спонтанного и водного диуреза, создаваемого введением водопроводной воды в объеме 5,0% веса крыс. Контрольным животным вводили раствор с 0,9 мг/кг NaCl (столько приходится на натрий в NaF). Недельная интоксикация как в условиях водного, так и спонтанного диуреза вызвала повышение экскреции натрия в результате увеличения его фильтрационного заряда. Двухнедельное введение фторида натрия не сопровождалось какими-либо изменениями показателей его обработки в почках, в то время как месячное вызвало снижение экскреции натрия вследствие уменьшения его фильтрационного заряда из-за ослабления скорости клубочковой фильтрации. Содержание натрия в плазме крови не менялось. Интоксикация крыс фторидом натрия через одну неделю вызвала повышение экскреции калия в результате повышения его фильтрационного заряда, который через одну неделю снизился до нормы, но при этом калийурез усилился, и к концу месяца почти двукратно превышал контроль, несмотря на снижение фильтрационной загрузки иона. Очевидно, что усиление экскреции калия связано с повышением его секреции в канальцах почек. Одновременно в плазме крови снижалось содержание калия.

Ключевые слова: фторид натрия, экскреция натрия, экскреция калия, фильтрационные заряды

THE ION-EXCRETORY FUNCTION OF KIDNEYS IN RATS INJECTED WITH SODIUM FLUORIDE

Dzhioev I.G., Bibaeva L.V., Enaldieva D.A., Lolaeva A.T., Magaev A.A.
North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, e-mail: inal44@mail.ru

The aim of the study was to study the ion-excretory function of kidneys in rats injected with sodium fluoride. The studies were carried out on 40 Wistar rats that received oral sodium fluoride daily at a dose of 1.25 mg/kg (based on pure fluoride) per month, which is $1/10$ of the half-lethal dose. After one, two weeks and at the end of the month, experiments were performed in conditions of spontaneous and aqueous diuresis, created by the introduction of tap water in a volume of 5.0% of the weight of the rats. Control animals were injected with a solution of 0.9 mg / kg NaCl (as much as sodium in NaF). Weekly intoxication in both water and spontaneous diuresis caused an increase in sodium excretion as a result of an increase in its filtration charge. The two-week administration of sodium fluoride was not accompanied by any changes in the indices of its treatment in the kidneys, while the monthly caused a decrease in sodium excretion due to a decrease in its filtration charge due to a weakening of the glomerular filtration rate. The sodium content in the blood plasma did not change. The intoxication of rats with sodium fluoride after one week caused an increase in potassium excretion as a result of an increase in its filtration charge, which after one week decreased to normal, but potassium uricase increased, and by the end of the month almost twice the control, despite the reduction in ion loading. Obviously, increased excretion of potassium is associated with an increase in its secretion in the tubules of the kidneys. The content of potassium decreased in blood plasma.

Keywords: sodium fluoride, sodium excretion, potassium excretion, filtration charges

С развитием промышленности происходит постоянное загрязнение окружающей среды различными химическими веществами, что, оказывая негативное действие на экологию, пагубно отражается и на здоровье человека. И даже химические вещества, необходимые для нормальной жизнедеятельности человека, при попадании в организм в количествах, превышающих норму, могут вызывать различные нарушения, приводящие к заболеваниям. Одним из таких веществ является фтор и его соединения, суточное поступление которого в организм взрослого человека не должно превышать 4 мг, причем большая часть, в виде растворимых фторидов, поступает с питьевой во-

дой [1, 2], то есть фтор относится к микроэлементам. Основной его биологической ролью является участие в костеобразовании, особенно в формировании дентина и зубной эмали, а также в предупреждении развития старческого остеопороза [3–6]. Фтор участвует во многих биохимических реакциях в качестве как активатора, так и ингибитора ферментов, в том числе и метаболизме тиреоидных гормонов [7, 8].

Избыточное поступление фтора в организм человека приводит к флюорозу с угнетением иммунной системы, поражением печени, почек, центральной нервной системы и скелета [9, 10]. А так как большая часть фтора выделяется почками, то интерес к их

функциональному и морфологическому состоянию при интоксикации фтором закономерен и актуален, особенно в связи со скудностью научных литературных данных по этому вопросу.

Целью работы было экспериментальное изучение влияния фторида натрия, вводимого крысам в течение одного месяца, на ионовывделительную функцию почек, в частности на обмен натрия и калия.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач на 40 половозрелых крысах (средний вес $182,4 \pm 20,6$ г) линии Вистар была создана экспериментальная модель хронической фторидной интоксикации пероральным (через зонд в желудок) введением фторида натрия в дозе 1,25 мг/кг веса (в расчете на чистый фтор). Эта доза составляет $\frac{1}{10}$ часть полуживотной дозы, то есть не является высокотоксичной, к тому же обмен веществ у крыс повышен и у них в значительной степени развита устойчивость к различным патологическим факторам.

В качестве контроля были взяты 20 крыс, которым во вводимом объеме водопроводной воды (эквивалентном опытным крысам) добавляли NaCl из расчета 0,9 мг/кг веса крыс. Такая доза натрия соответствует его содержанию во вводимом фториде натрия.

Через одну и две недели, а также один месяц интоксикации экспериментальных крыс делили на две группы, вводя одной водопроводную воду в объеме 5,0% их веса и на три часа помещали в специальные клетки-воронки, собирая выделившуюся мочу отдельно за каждый час (водный диурез), а крыс второй группы помещали на шесть часов, но без нагрузки (спонтанный диурез) и собирали мочу. В аналогичных условиях находились и контрольные крысы, которых не делили на две группы, а просто в один день собирали мочу после нагрузки, а через день – в условиях спонтанного диуреза.

По количеству собранной мочи, как в условиях водной нагрузки, так и спонтанного состояния, рассчитывали диурез (мл/час/100 г). Далее в моче и плазме крови (плазму получали из крови, взятой из сердца крыс в состоянии обезболивания и сна после внутрибрюшинного введения им анестетика общего действия «Золетил» в дозе 0,1–0,15 мл/100 г) спектрофотометрически определяли содержание эндогенного креатинина методом Поппера (Arel, Япония) для последующего расчета скорости клубочковой фильтрации (мл/час/100 г) – показателя, необходимого и для расчета фильтрационных зарядов натрия и калия (мкмоль/час/100 г) объема канальцевой реабсорбции воды (%). Об обмене натрия и калия в почках судили также по их экскреции (мкмоль/час/100 г), а для натрия еще и канальцевой реабсорбции и экскретируемой фракции (%). Содержание натрия в исследуемых образцах мочи и плазмы крови определяли методом пламенной фотометрии (ПАЖ-3, Россия).

Полученные результаты статистически обрабатывались с помощью компьютерной программы «GraphPad Prism 6.01», степень достоверности оценивалась по t-критерию Стьюдента (параметрический метод сравнения средних величин).

Все исследования проводили в соответствии с приказом Минздрава России № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики».

Результаты исследования и их обсуждение

Недельное введение крысам фторида натрия в дозе 1,25 мг/кг в условиях водного диуреза вызвало достоверное ($p < 0,002$) повышение экскреции натрия за первые два часа на 49,2% и 59,2% соответственно, а за третий час – только на 16,6%, но суммарно за три часа водного диуреза выделение натрия с мочой увеличилось с $20,75 \pm 1,41$ мкмоль/3 часа/100 г до $29,62 \pm 2,25$ мкмоль/3 часа/100 г ($p < 0,01$), то есть на 42,7%. Это повышение было обусловлено достоверным увеличением фильтрационного заряда иона (табл. 1), так как канальцевая реабсорбция и экскретируемая фракция не менялись (табл. 1).

Двухнедельная интоксикация крыс не сопровождалась какими-либо достоверными изменениями обработки натрия на уровне почек, кроме тенденции к повышению экскреции и фильтрационного заряда, а обратное всасывание натрия и экскретируемая фракция не отличались от контроля (табл. 1).

Спустя две недели, в течение которых крысам продолжали вводить фторид натрия, произошло статистически значимое снижение выделения натрия с мочой, причем за все три часа сбора мочи (табл. 1) и в среднем за три часа уменьшение натрийуреза с контрольной величины в $20,75 \pm 1,41$ мкмоль/час/100 г стало на 28,8% меньше ($p < 0,002$). Такое изменение экскреции натрия было вызвано снижением его фильтрационного заряда, хотя в отличие от предыдущих опытов, когда канальцевая реабсорбция практически не менялась, в данном случае она незначительно усилилась, а экскретируемая фракция натрия соответственно снизилась, что должно было способствовать уменьшению выделения натрия с мочой (табл. 1).

Что могло быть причиной снижения фильтрационного заряда натрия? Это либо уменьшение его содержания в плазме крови, либо снижение скорости клубочковой фильтрации. Определение содержания натрия в плазме крови показало, что оно не менялось: контроль – $130,46 \pm 3,56$ ммоль/л, через одну и две недели – $130,15 \pm 2,85$ и $131,50 \pm 3,77$ ммоль/л соответственно и $133,23 \pm 3,72$ ммоль/л после месячной интоксикации. Следовательно, причиной изменения фильтрационной загрузки натрия в клубочках нефронов могло быть измене-

ние скорости фильтрации, так как расчет фильтрационного заряда иона зависит от его содержания в плазме крови, скорости клубочковой фильтрации и постоянной величины коэффициента Доннана, не способной повлиять на исследуемый показатель (коэффициент мембранного равновесия Доннана для натрия и калия равен 0,95).

Действительно, как ранее нами было показано, интоксикация крыс фторидом натрия вызывает через одну неделю повышение диуреза за счет усиления клубочковой фильтрации, обусловленного ускорением объёмного почечного кровотока, а в конце месяца происходит снижение этих показателей [11, 12]. Следовательно, отмеченное уменьшение фильтрационного заряда натрия вызвано ослаблением скорости фильтрации жидкости в клубочках нефронов.

В условиях спонтанного шестичасового диуреза введение фторида натрия на обмен

натрия оказало влияние, сходное с тем, что было при водном диурезе, только не столь выраженное. Так, после недельной интоксикации экскреция натрия с $10,75 \pm 0,94$ мкмоль/час/100г повысилась на 34,6% ($p < 0,02$), и причиной этого было увеличение фильтрационного заряда иона ($p < 0,01$). Через две недели показатели практически не отличались от контроля, а в конце месяца экскреция натрия снизилась на 22,1% ($p < 0,001$) в результате соразмерного (на 22,5%) уменьшения фильтрационного заряда (табл. 1).

При снижении выделения натрия с мочой должно увеличиться его содержание в крови, однако этого не наблюдалось. Очевидно, причина в том, что фтор и его соединения нарушают процесс всасывания из желудочно-кишечного тракта, поэтому, несмотря на снижение экскреции натрия, его содержание в крови не повышается.

Таблица 1

Показатели обработки натрия в почках в условиях водного и спонтанного диурезов при интоксикации фторидом натрия ($M \pm m$)

час	Экскреция	Фильтрационный заряд	Относительная реабсорбция	Экскретируемая фракция
	мкмоль/час/100 г		%	
при водном диурезе				
Контроль				
1 час	7,64 ± 0,48	2176 ± 188	99,66 ± 0,05	0,34 ± 0,05
2 час	6,87 ± 0,52	2075 ± 168	99,67 ± 0,05	0,33 ± 0,05
3 час	6,24 ± 0,41	1707 ± 142	99,68 ± 0,07	0,32 ± 0,07
за 3 часа	20,75 ± 1,41	5960 ± 498	99,67 ± 0,06	0,33 ± 0,06
Недельное введение фторида натрия				
1 час	11,4 ± 0,94 // < 0,002	2856 ± 215 // < 0,001	99,6 ± 0,09	0,4 ± 0,09
2 час	10,94 ± 0,72 // < 0,002	2839 ± 191 // < 0,002	99,6 ± 0,08	0,4 ± 0,08
3 час	7,28 ± 0,59	1963 ± 175	99,63 ± 0,06	0,37 ± 0,06
за 3 часа	29,62 ± 2,25 / < 0,01	7658 ± 581 // < 0,05	99,61 ± 0,08	0,39 ± 0,08
Двухнедельное введение фторида натрия				
1 час	8,39 ± 0,65	2371 ± 213	99,64 ± 0,08	0,36 ± 0,08
2 час	8,22 ± 0,74	2213 ± 189	99,65 ± 0,08	0,35 ± 0,08
3 час	7,17 ± 0,66	1692 ± 147	99,57 ± 0,08	0,43 ± 0,08
за 3 часа	23,78 ± 2,05	6276 ± 549	99,62 ± 0,08	0,38 ± 0,08
Введение фторида натрия в течение одного месяца				
1 час	5,18 ± 0,38 // < 0,001	1588 ± 142 // < 0,01	99,67 ± 0,07	0,33 ± 0,07
2 час	4,88 ± 0,41 // < 0,001	1660 ± 128 // < 0,01	99,74 ± 0,08	0,26 ± 0,08
3 час	4,72 ± 0,39 // < 0,02	1616 ± 148	99,72 ± 0,09	0,28 ± 0,09
за 3 часа	14,78 ± 1,18 // < 0,002	4864 ± 418 // < 0,05	99,71 ± 0,08	0,29 ± 0,08
при спонтанном диурезе				
Контроль	10,75 ± 0,94	1938 ± 134	99,43 ± 0,04	0,57 ± 0,04
Введение фторида натрия				
1 неделя	14,48 ± 1,09 // < 0,02	2606 ± 198 // < 0,01	99,45 ± 0,05	0,55 ± 0,05
2 недели	10,94 ± 0,85	2055 ± 215	99,46 ± 0,07	0,54 ± 0,07
1 месяц	8,38 ± 0,57 // < 0,01	1502 ± 95,2 // < 0,02	99,47 ± 0,06	0,53 ± 0,06

В отношении обработки калия в почках и его содержания в крови при ежедневной интоксикации крыс фторидом натрия в течение одного месяца отмечалось следующее. Недельная интоксикация особо не отразилась на содержании калия в плазме крови ($4,64 \pm 0,32$ ммоль/л – контроль, $4,42 \pm 0,29$ ммоль/л – опыт), но при этом наблюдалось изменение обработки его в почках. Так, за первый час трехчасового водного диуреза экскреция калия с контрольного уровня в $5,42 \pm 0,38$ мкмоль/час/100 г повысилась до $7,14 \pm 0,52$ мкмоль/час/100 г ($p < 0,01$), а за второй и третий часы – на 30,5% ($p < 0,05$) и 20,5% соответственно, и суммарный трехчасовой калийурез статистически значимо ($p < 0,05$) превосходил контроль. Это повышение выделения калия с мочой было обусловлено повышением фильтрационного заряда иона, особенно за первый ($p < 0,02$) и второй ($p < 0,002$) часы (табл. 2), и количество калия, профильтровавшегося через почечные фильтры за три часа у контрольных крыс, было $207,69 \pm 14,74$ мкмоль/3 часа/100 г, а у экспериментальных – $260,14 \pm 17,59$ мкмоль/3 часа/100 г ($p < 0,05$).

Двухнедельное введение крысам фторида натрия хоть и снизило содержание калия в крови до $4,02 \pm 0,36$ ммоль/л, но без достоверного отличия, но при этом его экскреция за все часы сбора мочи статистически значимо повысилась. Так, первый и второй часы увеличение было одинаково на 57,2% и 57,3%, а за третий час – на 40,0%. В результате чего выделение калия за три часа стало $21,98 \pm 1,56$ мкмоль/3 часа/100 г, превосходя контроль на 50,1% ($p < 0,01$). Очевидно, что причиной такого значительного калийуреза было изменение его канальцевой секреции, так как фильтрационный заряд калия не менялся (табл. 2).

Месячное введение фторида натрия привело к снижению содержания калия в плазме крови до достоверной ($p < 0,05$) величины, ставшего $3,86 \pm 0,25$ ммоль/л. Одновременно отмечалась усиление экскреции иона почти в два раза по сравнению с контролем за первые два часа, так же как и за третий час (табл. 2), но в меньшей степени (в 1,59 раза). И суммарное трехчасовое выведение калия с мочой у экспериментальных крыс превосходило результат контроля в 1,72 раза.

Таблица 2

Экскреция и фильтрационный заряд калия в условиях водного и спонтанного диурезов при интоксикации фторидом натрия ($M \pm m$)

Показатели	1 час	2 час	3 час	за 3 часа
в условиях водного диуреза				
Контроль				
Экскреция	$5,42 \pm 0,38$	$4,74 \pm 0,35$	$4,28 \pm 0,35$	$14,64 \pm 1,08$
Фильтрационный заряд	$77,26 \pm 5,26$	$70,35 \pm 4,66$	$60,08 \pm 4,82$	$207,69 \pm 14,74$
При недельном введении фторида натрия				
Экскреция	$7,14 \pm 0,52$ < 0,05	$6,19 \pm 0,43$	$5,16 \pm 0,47$	$18,44 \pm 1,42 < 0,05$
Фильтрационный заряд	$97,02 \pm 6,25$ < 0,02	$96,43 \pm 6,08$ < 0,002	$66,69 \pm 5,26$	$260,14 \pm 17,59 < 0,05$
При двухнедельном введении фторида натрия				
Экскреция	$8,52 \pm 0,53$ < 0,001	$7,46 \pm 0,54$ < 0,01	$6,0 \pm 0,48$	$21,98 \pm 1,56 < 0,01$
Фильтрационный заряд	$72,5 \pm 4,25$	$67,69 \pm 5,48$	$51,76 \pm 3,96$	$191,95 \pm 13,69$
При месячном введении фторида натрия				
Экскреция	$10,15 \pm 0,96$ < 0,001	$8,25 \pm 0,66 < 0,001$	$6,82 \pm 0,54$ < 0,001	$25,22 \pm 2,16 < 0,001$
Фильтрационный заряд	$43,42 \pm 3,64$ < 0,001	$49,33 \pm 3,48$ < 0,001	$48,0 \pm 4,26$ < 0,002	$140,75 \pm 11,38 < 0,001$
В условиях спонтанного диуреза				
	Контроль	1 неделя	2 недели	1 месяц
Экскреция	$6,44 \pm 0,32$	$8,25 \pm 0,69$ < 0,05	$9,39 \pm 0,73$ < 0,01	$10,45 \pm 0,75$ < 0,001
Фильтрационный заряд	$67,22 \pm 4,63$	$88,52 \pm 4,47$ < 0,01	$62,82 \pm 3,54$	$46,72 \pm 3,25$ < 0,001

Исследование обмена калия в условиях спонтанного диуреза выявило изменения, аналогичные тем, которые наблюдались при водном диурезе, то есть нарастающее повышение экскреции: на 28,1% ($p < 0,05$) через одну неделю интоксикации, на 45,8% ($p < 0,05$) – через две недели и на 62,2% ($p < 0,001$) – в конце месяца. При этом фильтрационный заряд калия менялся соизмерно колебаниям скорости клубочковой фильтрации – повышение после первой недели интоксикации и снижение в конце месяца (табл. 2). Очевидно, что, несмотря на отмеченные морфологические изменения почек [13], у канальцевого аппарата сохраняется чувствительность к действию альдостерона, поэтому наблюдается снижение выделения натрия с мочой и повышение калия, а то, что уровень натрия в крови не повышался, скорее всего, обусловлено торможением его фильтрационного заряда и способностью фтора тормозить всасывание натрия из кишечника.

Таким образом, введение крысам линии Вистар фторида натрия в дозе 1,25 мг/кг в течение одного месяца снижает экскрецию натрия с мочой в результате уменьшения его фильтрационного заряда как в условиях водного, так и спонтанного диуреза, что обусловлено ослаблением почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации. Содержание натрия в крови при этом не меняется. В отношении обмена калия в почках также отмечается снижение фильтрационного заряда, но при этом его выделение с мочой повышается, что, очевидно, связано с усилением секреции иона в канальцах почек, но усиление калийуреза способствует развитию гипокалиемии.

Список литературы

1. Абдурахманов Г.М. Экологические особенности содержания микроэлементов в организме животных и человека / Г.М. Абдурахманов, И.В. Зайцев. – М.: Наука, 2004. – 280 с.
2. Pizzo G., Piscopo M.R., Pizzo I., Giuliana G. Community water fluoridation and caries prevention: a critical review // *Clin Oral Investig.* – 2007. – Vol. 11. № 3. – P. 189–193. DOI: 10.1007/s00784-007-0111-6.
3. Разумов В.В. Фтористая остеопатия как рекапитуляция ранних этапов филогенетического развития костной ткани / В.В. Разумов // *Фундаментальные исследования.* – 2008. – № 8 – С. 123–126.
4. Таболина Е.С. Оценка эффективности использования зубных паст, содержащих фтор и ферменты, для профилактики кариеса и гингивита у подростков: автореф. дис. канд. мед. наук. – Нижний Новгород, 2012. – 24 с.
5. Mousny M., Omelon S., Wise L., Everett E.T., Dumitriu M., Holmyard D.P., Banse X., Devogelaer J.P., Grynpas M.D. Fluoride effects on bone formation and mineralization are influenced by genetics // *Bone.* – 2008. – Vol. 43. № 6. – P. 1067–1074. DOI: 10.1016/j.bone.2008.07.248.
6. Selwitz R.H., Ismail A.I., Pitts N.B. Dental caries // *Lancet.* – 2007. – Vol. 369. – P. 51–59. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60031-2.
7. Basha P.M., Rai P., Begum S. Fluoride toxicity and status of serum thyroid hormones, brain histopathology, and learning memory in rats: a multigenerational assessment // *Biol Trace Elem Res.* – 2011. – Vol. 144. № 1–3. – P. 1083–1094. DOI: 10.1007/s12011-011-9137-3.
8. Sarkar C., Pal S. Ameliorative effect of resveratrol against fluoride-induced alteration of thyroid function in male wistar rats // *Biol Trace Elem Res.* – 2014. – Vol. 162. № 1–3. – P. 278–287. DOI: 10.1007/s12011-014-0108-3.
9. Янин Е.П. Биогеохимическая роль и эколого-гигиеническое значение фтора / Е.П. Янин // *Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. Обз. инф./ ВИНТИ РАН.* – 2009. – № 4. – С. 20–108.
10. Mansour H.H., Tawfik S.S. Efficacy of lycopene against fluoride toxicity in rats // *Pharm Biol.* – 2012. – Vol. 50. № 6. – P. 707–711. DOI: 10.3109/13880209.2011.618994.
11. Влияние хронической фторидной интоксикации на чувствительность почек к антидиуретическому гормону у крыс / И.Г. Джигоев [и др.] // *Физиология и патология почек и водно-солевого обмена: материалы междунар. науч. конф. (Владикавказ, 19–20 декабря 2012 г.).* – Владикавказ, 2012. – 227 с.
12. Еналдиева Д.А. Функции почек в условиях острой экспериментальной интоксикации фторидом натрия / Д.А. Еналдиева, И.Г. Джигоев, Л.В. Бибаева // *Владикавказский медико-биологический вестник.* – 2011. – Т. XIII, вып. 20. – С. 54–57.
13. Экспериментальное изучение влияния фтора на водовыделительную функцию почек и почечный кровоток / Д.А. Еналдиева [и др.] // *Вестник Международной академии экологии и безопасности жизнедеятельности.* – 2010. – Т. 15, № 4. – С. 112–113.