

Статья поступила в редакцию 7.02.2018 г.

Ядыкина Т.К., Михайлова Н.Н., Бугаева М.С., Горохова Л.Г., Король Л.Н.
*Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний,
 Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей,
 Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет,
 г. Новокузнецк, Россия*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ И МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ МИНЕРАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ТОКСИЧЕСКОЙ ФТОРИСТОЙ ОСТЕОПАТИИ

Цель исследования. Экспериментальное исследование метаболизма костной ткани и механизмов регуляции минерального гомеостаза в динамике развития токсической фтористой остеопатии.

Материалы и методы. Исследование проведено на белых лабораторных крысах-самцах. Анализ биохимических показателей плазмы крови и мочи осуществляли на 2-е, 4-е сутки и 1-й, 3-й, 6-й, 9-й, 12-й неделях хронического воздействия на организм фторида натрия. Изучено изменение уровня фтора, фосфора неорганического, магния, кальция, паратиреоидного гормона, кальцитонина, остеокальцина, в-Cross Laps. Осуществлен гистологический скрининг костной ткани экспериментальных животных.

Результаты. В динамике экспериментального воздействия на организм фторида натрия проведен детальный анализ изменений параметров минерального обмена. Показано, что механизмы, оказывающие регулирующее влияние на процессы ремодуляции, нарушались с 6-й недели эксперимента и сопровождалась гиперкальциемией плазмы крови на фоне прогрессирующих патологических изменений метаболизма органической фазы костной ткани, обусловленных тропностью фтора к ее компонентам. Выявлено истончение костных балок с неравномерным распределением остеонов и признаками эндостального разрастания.

Заключение. В эксперименте показано, что длительное воздействие фторида натрия на организм сопровождается развитием хронической фтористой остеопатии на фоне поступательного нарушения минерального гомеостаза и необратимых изменений архитектоники костной ткани.

Ключевые слова: хроническая фтористая остеопатия; гомеостаз; костная ткань; минеральный обмен.

Yadykina T.K., Mikhailova N.N., Bugaeva M.S., Gorokhova L.G., Korol L.N.
*Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases,
 Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians,
 Novokuznetsk Institute (Branch) of the Kemerovo State University, Novokuznetsk, Russia*

EXPERIMENTAL STUDY OF BONE TISSUE METABOLISM AND THE MECHANISMS OF MINERAL HOMEOSTASIS REGULATION IN THE DYNAMICS OF TOXIC FLUORIDE OSTEOPATHY

Objective. Experimental study of bone tissue metabolism and mechanisms of mineral homeostasis regulation in the dynamics of toxic fluoride osteopathy.

Materials and methods. The study was conducted on white laboratory male rats. The analysis of biochemical parameters of blood plasma and urine was carried out on the 2nd, 4th days and 1, 3, 6, 9, 12 weeks of chronic exposure to sodium fluoride on the body. The change in the level of fluoride, inorganic phosphorus, magnesium, calcium, parathyroid hormone, calcitonin, osteocalcin, в-Cross Laps was studied. Histological screening of bone tissue of experimental animals was carried out.

Results. In the dynamics of experimental effects of sodium fluoride on the body detailed analysis of the changes of the parameters of mineral metabolism was conducted. It was shown that the mechanisms regulating the influence on the processes of remodulation violated from the 6th week of the experiment and was accompanied by hypercalcemia of blood plasma aga-

inst the background of progressive pathological changes of the organic phase metabolism of bone tissue due to the affinity of fluoride to its components. Thinning of trabecula of bone with non-uniform distribution of osteons and the signs of intraosseous enlargement was revealed.

Conclusions. The experiment showed that prolonged exposure to sodium fluoride on the body is accompanied by the development of chronic fluoride osteopathy due to progressive disorders of mineral homeostasis and irreversible changes in the architectonics of bone tissue.

Key words: chronic fluoride osteopathy; homeostasis; bone tissue; mineral metabolism.

Токсические остеопатии, производственного генеза развиваются при длительном воздействии на организм химических веществ, способных накапливаться в костной ткани и нарушать ее метаболизм [1-3]. В настоящее время к профессиональным остеопатиям токсической этиологии относят промышленный флюороз (флюороз скелета, криолитовая болезнь), болезнь итай-итай (воздействие кадмия), остеопатии при воздействии фосфора, стронция, свинца, висмута и других соединений.

Фтористая остеопатия, фактором развития которой является длительное воздействие на организм соединений фтора в условиях хронической фтористой интоксикации (ХФИ), является основным профессиональным заболеванием работников алюминиевой промышленности [4, 5]. При этом доминирующая роль в патогенезе ХФИ принадлежит нарушению опорно-двигательного аппарата с различными сочетаниями поражений отдельных участков костного матрикса, сопровождающихся монотонным, прогрессирующим течением [6, 7].

Костная ткань активно реагирует на воздействие фторидов, оказывающих токсическое действие на процессы её морфогенеза [8-10]. В основе поступательного нарушения минерального гомеостаза, даже при незначительном стаже работы в условиях повышенной фтористой нагрузки, лежит инкорпорация фтора в поверхностные кристаллы костного апатита, где он изоморфно замещает в них гидроксид-ионы. Развивающаяся в таком случае рекристаллизация детерминирует нарастание химической стабильности кости, обуславливая увеличение плотности остеоидного матрикса, инициируя дефекты минерализации на фоне уменьшения массы костной ткани с присоединением полиартралгического синдрома вследствие дегенеративных поражений суставов [11, 12].

С целью оптимизации профилактики, ранней диагностики фтористой остеопатии профессионального генеза и для решения экспертных вопросов в прогнозировании течения болезни, актуальной является комплексная оценка механизмов поддержания минерального баланса и репаративной регенерации костной ткани в условиях ХФИ [11].

Экспериментальные модели позволяют проследить динамику развития патологии, обосновать этапы ранней коррекции и лечения [3, 13, 14]. В этой связи

целью явилось экспериментальное исследование метаболизма костной ткани и механизмов регуляции минерального гомеостаза в динамике развития токсической фтористой остеопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 110 белых нелинейных крысах-самцах массой 180-220 г, разделенных на интактную и группу с хронической 12-недельной фтористой нагрузкой в виде водного раствора фторида натрия (NaF) в свободном питьевом режиме в концентрации 10 мг/л (суточная доза 1,2 мг/кг массы тела, соответствующая ПДК (ГОСТ 2784-54)). Крыс содержали в стандартных условиях вивария на полноценной, сбалансированной по содержанию питательных веществ, диете для лабораторных животных (ГОСТ Р50258-92). Исследования осуществляли в соответствии с международными правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», «Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правилами содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (ГОСТ 33216-2014) (от 07. 01. 2016).

Забор биологического материала для изучения метаболических изменений происходил на вторые, четвертые сутки и через 1, 3, 6, 9, 12 недель эксперимента. Кровь забирали из хвостовой вены. Суточную пробу мочи собирали в обменных клетках.

Ионоселективным методом на иономере «Анион-4100» с использованием фтор-селективного электрода определяли уровень фтора (F, ммоль/л) в моче. Фотоколориметрическим методом на анализаторе КФК-2МП измеряли концентрацию кальция, фосфора неорганического, магния (Ca^{2+} , Pn., Mg^{2+} , ммоль/л) в моче и плазме. Уровень паратиреоидного гормона (ПТГ, пг/мл) и кальцитонина (КТ, пг/мл) — иммуноферментным тестом наборами Diagnostic System Laboratories и Nordicbioscience на мультискане EX LabSystems; маркеры костной деструкции (С-терминальный телопептид — продукт деградации коллагена типа I (β -Cross Laps)) и костеобразования — остеокальцин (нг/мл) — основной неколлагеновый белок костной ткани) — определяли в сыворотке крови стандартными методами.

В отдельной серии экспериментов проводили забор костной ткани для гистологического анализа. Группы были сопоставимы. Костную ткань фиксировали нейтральным формалином (12 %), подвергали парафиновой проводке через спирты возрастающей концентрации 70°, 80°, 96°С и абсолютный этиловый.

Корреспонденцию адресовать:

ЯДЫКИНА Татьяна Константиновна,
654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, д. 23,
ФГБНУ НИИ КППЗ.
Тел.: 8 (3843) 79-66-05; +7-906-932-98-99.
E-mail: yadykina.tanya@yandex.ru

Перед проводкой костную ткань декальцинировали. Далее материал пропитывали в смеси спирта и ксилола в равных соотношениях, ксилоле, смеси ксилола и парафина при температуре 77° и 58°С. Готовили срезы толщиной 5-7 мкм. Депарафинированные образцы окрашивали по методу Ван Гизона. Микроскопирование препаратов проводили на приборе «Nicon Eclipse E 200» с передачей цифрового изображения на монитор и обработкой в программе «Bio Vision 4.0».

Статистический анализ полученных результатов проводили в программе STATISTICA 6.0 на основе вычисления средних значений показателей (M) и их ошибок ($\pm m$). Различия показателей оценивали по t-критерию Стьюдента, считали достоверными при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поступление NaF в организм экспериментальных животных на ранних сроках характеризовалось сох-

ранением физиологических значений Pn. и Ca^{2+} в плазме крови и моче (табл. 1). Статистически значимое повышение уровня Mg^{2+} в моче (2-е сутки) на фоне нормального содержания его в плазме крови коррелировало с высокой экскрецией фтора, уровень которого в моче крыс поступательно нарастал с первого дня эксперимента. Через неделю фтористая экспозиция индуцировала развитие гиперфосфатемии плазмы крови на фоне сохранения содержания Mg^{2+} и Ca^{2+} в плазме крови и моче на уровне контроля. Концентрация в моче Pn. находилась в физиологических пределах.

Постоянство параметров внутренней среды определяется регуляторно-метаболическим статусом организма. Центральная роль в поддержании гомеостаза Ca^{2+} , Pn. и Mg^{2+} – важнейших структурных элементов – принадлежит ПТГ и КТ [2, 15, 16]. При этом фазовые изменения в содержании этих гормонов отражают компенсаторную реакцию организма на ответ на фтористое воздействие.

В начальный период (2-е, 4-е сутки) уровни ПТГ и КТ находились в пределах фоновых значений, обес-

Таблица 1
Влияние хронической фтористой интоксикации на содержание кальция, фосфора и магния в плазме крови и моче крыс (M \pm m)

Table 1
Influence of chronic fluoride intoxication on the content of calcium, phosphorus and magnesium in blood plasma and rat urine (M \pm m)

Показатель	Срок эксперимента						
	2-е сутки	4-е сутки	1 неделя	3 недели	6 недель	9 недель	12 недель
Исследование крови							
Ca^{2+} (ммоль/л)	2,23 \pm 0,09 2,35 \pm 0,04	2,15 \pm 0,22 2,35 \pm 0,04	2,41 \pm 0,10 2,41 \pm 0,13	2,53 \pm 0,07 2,41 \pm 0,11	2,19 \pm 0,03* 2,41 \pm 0,20	2,89 \pm 0,07** 2,33 \pm 0,09	3,05 \pm 0,02* 2,35 \pm 0,17
Pn. (ммоль/л)	2,16 \pm 0,07 2,13 \pm 0,07	2,31 \pm 0,07 2,13 \pm 0,07	2,62 \pm 0,18* 2,12 \pm 0,06	2,57 \pm 0,06** 2,14 \pm 0,12	2,56 \pm 0,06*** 2,16 \pm 0,06	2,12 \pm 0,07 2,17 \pm 0,09	2,13 \pm 0,05 2,12 \pm 0,06
Mg^{2+} (ммоль/л)	1,13 \pm 0,06 1,06 \pm 0,05	0,92 \pm 0,07 0,94 \pm 0,06	1,07 \pm 0,08 0,92 \pm 0,02	0,98 \pm 0,03 0,96 \pm 0,02	0,98 \pm 0,03 0,97 \pm 0,02	0,96 \pm 0,02* 1,03 \pm 0,02	0,86 \pm 0,04** 1,05 \pm 0,02
Исследование мочи							
Ca^{2+} (ммоль/л)	1,67 \pm 0,54 1,16 \pm 0,40	2,11 \pm 0,83 2,32 \pm 0,6	1,23 \pm 0,44 1,32 \pm 0,34	1,98 \pm 0,24 1,23 \pm 0,11	3,68 \pm 0,21*** 1,47 \pm 0,09	2,51 \pm 0,19** 1,48 \pm 0,10	2,22 \pm 0,15** 1,46 \pm 0,09
Pn. (ммоль/л)	23,9 \pm 1,44 28,5 \pm 1,89	35,1 \pm 4,33 32,8 \pm 2,72	44,6 \pm 4,57 33,9 \pm 3,47	32,7 \pm 3,61 33,1 \pm 4,19	29,7 \pm 3,49 31,6 \pm 1,92	44,6 \pm 2,55* 33,3 \pm 3,26	42,0 \pm 5,25* 27,0 \pm 0,89
Mg^{2+} (ммоль/л)	6,71 \pm 0,57* 4,81 \pm 0,53	4,31 \pm 0,21 4,58 \pm 0,53	5,44 \pm 0,49 5,19 \pm 0,66	6,44 \pm 0,70 4,48 \pm 0,35	5,75 \pm 0,35* 4,84 \pm 0,20	11,53 \pm 0,51*** 4,66 \pm 0,11	8,21 \pm 0,46*** 4,68 \pm 0,14

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

Notes: * - for $p < 0.05$; ** - for $p < 0.01$; *** - for $p < 0.001$ - reliable data differences compared with the control animal group.

Сведения об авторах:

ЯДЫКИНА Татьяна Константиновна, канд. биол. наук, ведущий науч. сотрудник, лаборатория медико-генетических исследований, ФГБНУ НИИ КПГПЗ, г. Новокузнецк, Россия. E-mail: yadykina.tanya@yandex.ru

МИХАЙЛОВА Надежда Николаевна, доктор биол. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией экспериментальных гигиенических исследований, ФГБНУ НИИ КПГПЗ, г. Новокузнецк, Россия. E-mail: narmih@mail.ru

БУГАЕВА Мария Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальных гигиенических исследований, ФГБНУ НИИ КПГПЗ, г. Новокузнецк, Россия; науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория патологической анатомии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ВПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия. E-mail: bugms14@mail.ru

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

КОРОЛЬ Леонид Николаевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра экологии и техносферной безопасности, Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО КГУ, г. Новокузнецк, Россия.

печивающих гомеостаз Ca^{2+} , Pn , Mg^{2+} в плазме крови (табл. 2). Снижение уровня ПТГ ($p = 0,001^{***}$), отмеченное в конце 1-й недели эксперимента, является срочной реакцией на полуторакратное повышение содержания Pn в плазме крови на фоне нормального уровня КТ, обладающего гипофосфатемическим действием, представляя собой ведущий компенсаторный механизм, не имеющий связи с развитием первичного гипопаратиреоза. Морфологическая структура костной ткани не нарушалась.

Костная ткань является сконцентрированной массой соединительной ткани. Коллаген I типа составляет почти 90 % органического матрикса кости. Костная ткань постоянно ремодулируется на основе двух разнонаправленных метаболических процессов: остеосинтеза — образования новой костной ткани остеобластами и разрушения (резорбцией) остеокластами. Соотношение этих процессов может оцениваться с помощью биохимических индикаторов костеобразования: остеокальцина и печеночного, костного изоферментов щелочной фосфатазы. Информативными маркерами резорбции выступают: оксипролин в моче, соотношенный с экскрецией креатинина, пиридинолина, диоксипиридинолина; уровень Ca^{2+} , Pn в моче, плазме и другие [12, 17]. Наиболее показательным в клинике и эксперименте является определение в сыворотке крови уровня остеокальцина — специфичес-

кого маркера остеосинтеза и β -Cross Laps — индикатора костной деструкции.

Основной функцией остеокальцина как стимулятора минерализации костной ткани и маркера костеобразования является остеогенная регуляция обмена веществ, в том числе обеспечение гомеостаза ионов Ca^{2+} , 99 % которого сосредоточено в костной ткани. На ранних сроках поступления NaF в организм содержание сывороточного остеокальцина — основного неколлагенового белка костной ткани, синтезируемого остеобластами, — поддерживалось в физиологических пределах с тенденцией к повышению, отражая достаточную резервную возможность остеогенного аппарата и доминирования процессов остеосинтеза.

Уровень β -Cross Laps — маркера интенсивности течения резорбтивных процессов и костной деструкции — на 1-й неделе статистически значимо возрос ($p = 0,03$). Истончение трабекул, отмеченное в этот период (1 неделя), является адаптационным изменением, направленным на сохранение оптимальной для остецитов величины деформации. В результате снижения скорости заполнения лакун резорбции уменьшается толщина стенок остеонов, увеличивается диаметр их центральных каналов и количество костных единиц ремоделирования, тем самым снижается жёсткость кости и сохраняется её эластичность.

Таблица 2
Биохимические показатели сыворотки крови крыс в динамике фтористой интоксикации ($M \pm m$)

Biochemical parameters of blood serum of rats in the dynamics of fluoride intoxication ($M \pm m$)

Показатель	Срок эксперимента						
	2-е сутки	4-е сутки	1 неделя	3 недели	6 недель	9 недель	12 недель
ПТГ сыворотки (пг/мл)	5,26 ± 0,66 5,49 ± 0,25	5,47 ± 0,65 5,49 ± 0,25	4,12 ± 0,18*** 5,49 ± 0,23	4,71 ± 0,18*** 5,41 ± 0,28	7,10 ± 0,74* 5,31 ± 0,26	4,51 ± 0,19* 5,41 ± 0,32	6,20 ± 0,12** 5,30 ± 0,31
Кальцитонин сыворотки (пг/мл)	5,21 ± 0,63 5,44 ± 0,23	4,80 ± 0,30 5,44 ± 0,23	4,90 ± 0,44 5,44 ± 0,23	4,40 ± 0,25* 5,51 ± 0,35	4,51 ± 0,41 5,61 ± 0,80	4,21 ± 0,23* 5,31 ± 0,61	4,21 ± 0,26* 5,41 ± 0,38
Остеокальцин сыворотки (нг/мл)	6,71 ± 0,80 5,36 ± 0,73	6,52 ± 0,17 5,36 ± 0,73	6,25 ± 0,80 5,36 ± 0,73	5,17 ± 0,81 4,65 ± 0,31	4,44 ± 0,75 4,72 ± 0,54	3,66 ± 0,60* 5,61 ± 0,46	3,21 ± 0,57** 5,61 ± 0,46
β -Cross Laps (нг/мл)	111,2 ± 29,12 74,8 ± 6,71	94,8 ± 37,17 74,8 ± 6,71	209,2 ± 57,13* 74,8 ± 6,72	165,4 ± 75,37 4,17 ± 20,23	43,6 ± 9,66* 76,1 ± 12,6	105,4 ± 28,54 81,2 ± 12,14	30,14 ± 7,38** 81,2 ± 12,14

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

Notes: * - for $p < 0.05$; ** - for $p < 0.01$; *** - for $p < 0.001$ - reliable data differences compared with the control animal group.

Information about authors:

YADYKINA Tatyana Konstantinovna, candidate of biological sciences, leading research associate, the laboratory for medical and genetic researches, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: yadykina.tanya@yandex.ru
 MIKHAILOVA Nadezhda Nikolaevna, doctor of biology, professor, deputy director on scientific work, head of the laboratory for experimental hygienic researches, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: napmih@mail.ru
 BUGAEVA Maria Sergeevna, candidate of biological sciences, senior research associate, the laboratory for experimental hygienic researches, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia; research associate, the research laboratory for pathological anatomy, Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians, Novokuznetsk, Russia. E-mail: bugms14@mail.ru
 GOROKHOVA Larisa Gennadyevna, candidate of biological sciences, senior research associate, the laboratory for experimental hygienic researches, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: ponomarikova@mail.ru
 KOROL Leonid Nikolaevich, candidate of medical sciences, assistant professor, the chair for ecology and technosphere safety, Novokuznetsk Institute (Branch) of the Kemerovo State University, Novokuznetsk, Russia.

Уровень Рн. в плазме крови на 3-й неделе эксперимента достоверно возрос, почти в 1,5 раза превышая соответствующий показатель в контрольной группе, при сохранении Mg^{2+} в физиологических пределах. Содержание Ca^{2+} , Рн. и Mg^{2+} в моче на 3-й неделе также поддерживалось на уровне контрольных значений. К 3-й неделе уровень β -Cross Laps приблизился к значениям в контроле на фоне тенденции к снижению содержания остеокальцина в сыворотке крови крыс с ХФИ.

С 3-й недели отмечалось рассогласование адаптивных механизмов, сопровождающееся достоверным снижением уровня КТ и ПТГ, нарушающим баланс макроэлементов в организме. Гипопродукция ПТГ на фоне сниженной концентрации КТ приводит к нарушению обмена Ca^{2+} и Рн. в организме. Недостаток ПТГ индуцирует повышение концентрации фосфатов в крови (за счёт снижения почечного эффекта ПТГ).

Важно отметить, что в условиях гиперфосфатемии, даже кратковременной, функция скелета как резервуара Рн. блокируется. При этом потребность костной ткани в фосфатах, напротив, увеличивается, что стимулирует его дальнейшее повышение в плазме крови, а новым, временным местом его депонирования становятся мягкие ткани и сосуды. Депозиты Рн., обнаруживаемые в артериях, приводят к повышению жесткости (ригидности) сосудистой стенки [15].

К 6-й неделе гиперфосфатемия плазмы крови нарастала, а содержание в моче Ca^{2+} и Mg^{2+} на фоне развивающейся гипокальциемии плазмы крови увеличилось в 2,5 раза. Уровень Рн. в моче сохранялся в физиологических пределах. Достоверно высокий уровень ПТГ на 6-й неделе оказывал фосфатурическое действие, избыток фосфатов экскретировался с мочой, но находился на уровне контрольных значений. Ca^{2+} — самый важный регулятор секреции ПТГ, а соединения фтора, обладающие высокой реакционной способностью и повышенным сродством к Ca^{2+} , индуцируют гипокальциемию, являющуюся пусковым механизмом гиперактивности паращитовидных желёз.

Гиперфосфатемия и гипокальциемия непосредственно стимулируют синтез ПТГ. Даже кратковременная гипокальциемия вызывает усиление секреции ПТГ за счёт активации Ca^{2+} -рецепторов, расположенных на паращитовидных железах [3, 15]. Изменяется и функциональная активность почек — важнейших регуляторов фосфорно-кальциевого обмена [16]. Одновременно со снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) происходит ретенция фосфора, что вызывает снижение в сыворотке ионизированного Ca^{2+} и дополнительно усиливает продукцию ПТГ. В результате потери фильтрационного заряда фосфора возникает гиперфосфатемия, сопровождающаяся реципрокным снижением ионизированного Ca^{2+} в плазме крови [15].

Общеизвестно, что уже небольшое, физиологическое повышение уровня ПТГ в сыворотке крови приводит к активации зрелых остеоцитов и резорбции костной ткани [13, 17]. Одновременно с резорбцией происходят процессы новообразования кости, причём новообразованная костная ткань богаче клеточными элементами и менее организована, чем нормальная (woven bone). В результате сбалансированного хода этих двух процессов метаболизм костной ткани при гиперсекреции ПТГ, отмеченной на 6-й неделе эксперимента, усиливается. Параллельно нарастают явления остеоцитного остеолита — основного проявления патогенного воздействия ПТГ на скелет, усиливающего дегенерацию костной ткани, но обеспечивающего баланс Ca^{2+} и Рн. в организме.

На этом фоне к 6-й неделе отмечалось поддержание на уровне контрольных значений КТ, содержание которого в плазме крови имело тенденцию к повышению по сравнению с соответствующим показателем 3-й недели, свидетельствуя о достаточности остеобластической активности. Так, ингибируя активность остеокластов, нормализация КТ предохраняет кость от избыточной резорбции. Это свидетельствует о тесном взаимодействии факторов, регулирующих транспорт Ca^{2+} и Рн. в организме, усиливающих реабсорбцию их в почках и, тем самым, стабилизируя уровень Рн. в плазме крови.

К 6-й неделе уровень β -Cross Laps достоверно снизился на фоне тенденции к снижению содержания остеокальцина, обусловленному ингибированием его синтеза высоким уровнем ПТГ.

Таким образом, увеличение концентрации ПТГ на 6-й неделе индуцирует фосфатурию и возвращает уровень Рн. в плазме крови к норме на 9-й неделе, что сопровождается достоверным повышением сывороточного Ca^{2+} на фоне нарастающей гипомагниемии и почти трёхкратного превышения уровня Ca^{2+} , Mg^{2+} и Рн. в моче крыс с ХФИ.

Одной из ведущих причин гомеостатического сдвига Ca^{2+} , Рн. и Mg^{2+} в условиях ХФИ является постуральное, обусловленное тропностью F к Ca^{2+} , нарушение костной ткани. Развивающаяся в условиях накопления фтора в организме токсическая фтористая остеопатия по своим структурным изменениям близка к несовершенному остеогенезу [10]. В морфологической структуре кости с 6-й недели отмечалось утолщение костных балок и появление узких остеонов; обнаруживалось сужение костномозговой полости, утолщение кортикального слоя со стёртыми границами между ним и губчатым веществом.

Достоверно низкий уровень ПТГ, обусловленный увеличением реабсорбции Ca^{2+} и Рн. на 9-й неделе, выступает ключевым маркёром патологического процесса деструкции костной ткани — остеолита, подтверждением которого являлось достоверное снижение уровня КТ на фоне ингибирования синтеза остеокальцина и полуторакратного повышения содержания β -

Информация о финансировании и конфликте интересов:

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Cross Laps (табл. 2), что согласуется с некоторыми клиническими данными. Так, в работе Е.П. Жовтяк с соавт. [12] показано угнетение анаболического и катаболического звеньев костного метаболизма, проявляющееся достоверно низкими значениями С-терминального пропептида общего проколлагена I типа и β -Cross Laps у рабочих с установленным профессиональным флюорозом по сравнению с менее стажированными без соответствующего диагноза.

Аккумуляция фтора в организме сопровождалась стойкими, необратимыми нарушениями гомеостаза макроэлементов к 12-й неделе эксперимента, о чем свидетельствовал четырехкратный выброс Mg^{2+} , Ca^{2+} и Рн. с мочой на фоне гиперкальциемии и гипомagneмии плазмы крови в сочетании с нарушением гормональных механизмов, регулирующих минеральный обмен. Уровень ПТГ статистически значимо возрос на фоне полторакратного снижения содержания КТ.

Таким образом, в условиях хронического фтористого воздействия, ценой гиперсекреции ПТГ, устанавливается новое состояние фосфорного дисбаланса, характеризующееся резким нарушением фосфорно-кальциевого гомеостаза.

В основе биологического действия иона F лежит его способность замещать ион гидроксидов не только в апатите костной ткани, но и в неминерализованных тканях, что позволяет трактовать ХФИ как системное заболевание [1, 3, 4]. Фтористая остеопатия зачастую сочетается с почечной несостоятельностью — нефропатией, в генезе которой ключевую роль играет развитие гломеруло-тубулярной дисфункции на фоне нарушения обмена электролитов и дизурических расстройств.

Избыток F нарушает структуру, метаболизм и проницаемость клеточных мембран. Механизм повреждения базальных мембран дискусионен. Он может быть обусловлен циркуляцией в организме активного фтора в виде гидратных комплексов фтористого водорода с гидроксильными группами мембранного коллагена и разрушением молекулярных связей в первичной структуре коллагенового белка. В связи с максимальной концентрацией фтора в ренальных сосудах, нежели в других тканях организма, происходит повреждение капилляров и базальных мембран клубочковых петель. В свою очередь, противоточный механизм способствует концентрации токсичного фтора в интерстиции мозгового слоя почек. Изменение почечных функций проявляется нарушением фильтрационно-реабсорбционных процессов в сочетании с нефронекрозом канальцев нефрона и приводит к развитию так называемой ренальной остеодистрофии, усиливающей дисбаланс минерального гомеостаза костной ткани [16].

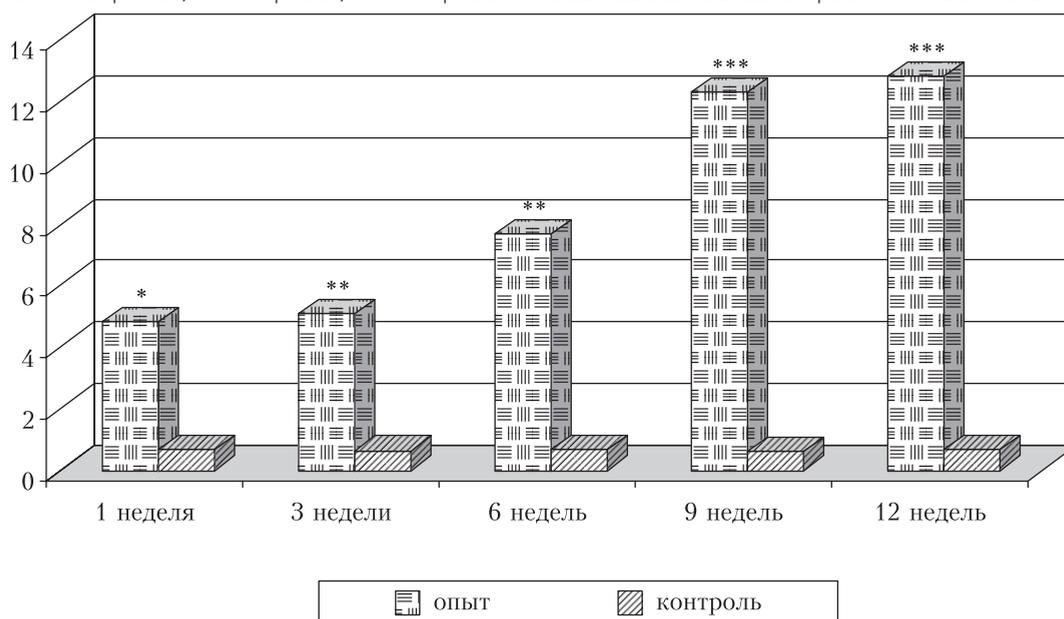
Таким образом, уровень F в организме регулируется в основном выделительной и костной системами. Реабсорбция F в почечных канальцах ограничена, и он быстро выделяется с мочой, однако основным механизмом удаления фтора из кровотока является фиксация скелетом. Экскреция фтора к 12-й неделе увеличилась, почти в 20 раз превышая соответствующий показатель в контрольной группе (рис.). Это связано с тем, что отрицательно заряженный ион F атакует положительные ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} , образуя с ними комплексные соединения, которые выводятся из организма почками. Уровень Ca^{2+} в моче и плаз-

Рисунок
Влияние хронической фтористой интоксикации на содержание фтора в моче крыс
Figure

Effect of chronic fluoride intoxication on the fluoride content in rat urine

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

Notes: * – for $p < 0.05$; ** – for $p < 0.01$; *** – for $p < 0.001$ – reliable data differences compared with the control animal group.



ме на 12-й неделе нарастал, в 2,5 раза превышая соответствующий показатель в контроле.

На фоне развивающейся хронической почечной недостаточности отмечено двукратное повышение уровня ПТГ в крови, гиперсекреция которого обусловлена, помимо патологически высокой резорбции, выраженным снижением внутриклеточного содержания Mg^{2+} в сыворотке крови крыс с ХФИ.

Такая нарастающая гиперпродукция ПТГ на фоне выраженной гиперкальциемии плазмы крови и мочи (12 недель ХФИ) опосредованно изменяет процессы ремоделирования, нарушает остеогенез и приводит к увеличению числа активно функционирующих клеток костной ткани — остеокластов, что повышает интенсификацию процессов резорбции кости. Избыток в крови активного ПТГ в условиях ХФИ способствует замедлению формирования новых костных клеток на фоне рассасывания старых костных балок. Данный дисбаланс в костях приводит к остеопорозу — патологическому размягчению костной ткани, сопровождающемуся обширной остеокластической резорбцией. Однако у остеокластов нет рецепторов для ПТГ, поэтому стимуляция их осуществляется опосредованно, в том числе и через высвобождение остеобластами цитокинов, ведущую роль среди которых отводят ИЛ-6, уровень которого у крыс с ХФИ поступательно нарастал [17].

Нарушения костной ткани инициируют физиологическую несостоятельность гормональной регуляции минерального обмена, что усугубляет патологический процесс. Так, достоверно низкий уровень КТ на 12-й неделе не обеспечивает нормальный уровень Ca^{2+} в плазме крови, количество активных остеокластов не уменьшается, ингибирование остеолита не происходит, а процессы деградации костной ткани усугубляются.

Таким образом, экспериментальные исследования показывают, что хроническая фтористая остеопатия развивается на фоне стойких патологических изменений минерального гомеостаза и характеризуется необратимыми нарушениями архитектоники костной ткани. С 6-й недели определено резкое уменьшение массы костной ткани: истончение костных балок, неравномерное распределение остеонов на фоне стаза гаверсовых каналов с отдельными участками ло-

кального расширения, признаки периостального разрастания кости в виде наслоений, волнистости. Эндостальная реакция сопровождается сужением костномозговых каналов. Гистологическое исследование костных балок выявило их неравномерную толщину с промежутками миелоидной ткани в просвете. Костные балки в ряде случаев сильно утолщены и искривлены, межбалочные ячейки резко сужены. Признаком нарастающей остеопении выступает устойчивое уменьшение ширины костных трабекул. В надкостнице четко прослежены лимфо- и лейкоцитарные инфильтраты.

К 12-й неделе отмечено резкое нарушение метаболизма костной ткани. Морфологические изменения сопровождаются нарушением баланса процессов остеосинтеза и остеорезорбции. Пусковым механизмом описанных нарушений являлся сдвиг фосфорно-кальциевого баланса в виде достоверной гиперкальциемии плазмы крови и усиленного синтеза ПТГ, что согласуется с клиническими данными. Так, при продолжительной работе в электролизных цехах алюминиевого завода (свыше 15 лет) и у менее стажированных рабочих, но с выраженной стадией флюороза, повышенные концентрации ПТГ в крови имели место у каждого второго больного [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что гомеостаз Mg^{2+} , Ca^{2+} и Pn., очевидный на ранних стадиях, а также активность механизмов регуляции минерального обмена нарушаются с 6-й недели поступления NaF в организм и не имеют связи с развитием вторичного гиперпаратиреоза. Длительная фтористая экспозиция (12 недель) оказывает патогенетическое действие на процессы морфогенеза костей и сопровождается ингибированием остеосинтеза.

Экспериментальные исследования убедительно показывают, что аккумуляция F проявляется дезорганизацией механизмов регуляции минерального обмена, доминированием процессов резорбции костной ткани и выраженными процессами деградации соединительной ткани, приводя к развитию хронической формы фтористой остеопатии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Zakharenkov VV, Oleshchenko AM, Surzhikov DV, Danilov IP, Kislytsyna VV, Korsakova TG. Determination of the probability of the damage to the health of workers in aluminium production due to the exposure to toxic substances. *Acta Biomedica Scientifica*. 2013; (3-2): 75-78. Russian (Захаренков В.В., Олещенко А.М., Суржииков Д.В., Данилов И.П., Кислицына В.В., Корсакова Т.Г. Определение вероятности нанесения ущерба здоровью работников алюминиевой промышленности в результате воздействия токсичных веществ // *Acta Biomedica Scientifica*. 2013. № 3-2. С. 75-78.)
2. Razumov VV. Lost osteoporosis – is it a fortuity? Novokuznetsk: Poligrafist Publ., 2017. 180 p. Russian (Разумов В.В. Затерянный остеопороз – случайность ли? Новокузнецк: Полиграфист, 2017. 180 с.)
3. Ulanova EV, Fomenko DV, Kizichenko NV, Yadykina TK, Maslennikova EN. Toxic action of sodium fluoride in experimental fluorosis. *Acta Biomedica Scientifica*. 2009; (1): 275-277. Russian (Уланова Е.В., Фоменко Д.В., Кизиченко Н.В., Ядыкина Т.К., Масленикова Е.Н. Токсическое действие фторида натрия при экспериментальном флюорозе // *Acta Biomedica Scientifica*. 2009. № 1. С. 275-277.)
4. Roslaya NA, Likhachyova EI, Oransky IE, Odnokaya VA, Plotko EG, Zhovtyak EP et al. Clinical and pathogenetic aspects of the chronic occupational intoxication with fluorine compounds in modern reality. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2012; (11): 17-22. Russian (Рослая Н.А., Лихачева Е.И., Оранский И.Е., Одинокая В.А., Плотко Э.Г., Жовтяк Е.П. и др. Клинико-патогенетические особенности хронической профессиональной интоксикации соединениями фтора в современных условиях // *Медицина труда и промышленная экология*. 2012. № 11. С. 17-22.)

5. Tchebotaryov AG, Prokhorov VA. Work conditions and occupational morbidity in workers of aluminium production enterprises. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2009; (2): 5-9. Russian (Чеботарёв А.Г., Прохоров В.А. Условия труда и профессиональная заболеваемость рабочих по производству алюминия // Медицина труда и промышленная экология. 2009. № 2. С. 5-9.)
6. Abramats EA. Clinical cases of occupational chronic intoxication with fluorine compounds. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; (4): 73-76. Russian (Абраматец Е.А. Клинические случаи профессиональной хронической интоксикации соединениями фтора // Acta Biomedica Scientifica. 2010. № 4. С. 73-76.)
7. Kalinina OL, Bakhtina AM, Kasyanovskaya VP. To the question about bone fluorosis in workers occupied in process of electrolysis of aluminium under modern conditions of production. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; (4): 98-101. Russian (Калинина О.Л., Бахтина А.М., Касьяновская В.П. К вопросу о костном флюорозе у рабочих, занятых электролизным получением алюминия в современных условиях производства // Acta Biomedica Scientifica. 2010. № 4. С. 98-101.)
8. Lakhman OL, Kalinina OL, Zobnin YuV, Sedov SK. The problems in diagnostics of the initial form of the professional fluorosis in the workers of modern aluminium production. *Siberian medical journal (Irkutsk)*. 2013; 121(6): 137-140. Russian (Ляхман О.Л., Калинина О.Л., Зобнин Ю.В., Седов С.К. Проблемы диагностики начальной формы профессионального флюороза у работников современного производства алюминия // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013. Т. 121, № 6. С. 137-140.)
9. Shalina TI, Vasilieva LS. Fluorine compounds influence on bone morphogenesis in white rat progeny. *Clinical and experimental studies*. 2009; (2): 96-99. Russian (Шалина Т.И., Васильева Л.С. Влияние соединений фтора на морфогенез костей потомства белых крыс // Клинические и экспериментальные исследования. 2009. № 2. С. 96-99.)
10. Shirokov VA, Makar TV, Potaturko AV. Prevalence and estimation of the occupational risk of the musculoskeletal disorders in workers of aluminum potrooms. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2012; (11): 22-25. Russian (Широков В.А., Макарь Т.В., Потатурко А.В. Распространенность и оценка профессионального риска развития патологии скелетно-мышечной системы у рабочих основных профессий электролизных цехов в производстве алюминия // Медицина труда и промышленная экология. 2012. № 11. С. 22-25.)
11. Druzhinin VN, Cherny AN. X-ray comparametry of bone trabecules in diagnosis of structure changes in bones of workers exposed to fluorine and vibration at work. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2017; (12): 43-45. Russian (Дружинин В.Н., Черный А.Н. Рентгенокомпараметрия костных трабекул в диагностике структурных изменений костей у работающих в условиях воздействия фтора и производственной вибрации // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 12. С. 43-45.)
12. Zhovtyak EP, Fyodorov AA, Likhatchyova EI, Ryabko EV, Gromov AS. Biologic markers of exposure to and effects of fluorine compounds in workers engaged into aluminium industry. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2010; (2): 20-23. Russian (Жовтяк Е.П., Федоров А.А., Лихачева Е.И., Рябко Е.В., Громов А.С. Биомаркеры экспозиции и эффекта действия фтористых соединений у рабочих алюминиевой промышленности // Медицина труда и промышленная экология. 2010. № 2. С. 20-23.)
13. Barabash YuA, Barabash AA, Karmazov VN. Structural features of rabbit shin-bone after fluorosis experimental model creation. *Saratov scientific and medical research journal*. 2009; 5(1): 17-20. Russian (Барабаш Ю.А., Барабаш А.А., Кармазов В.Н. Особенности строения большеберцовой кости кролика после создания экспериментальной модели флюороза // Саратовский научно-медицинский журнал. 2009. Т. 5, № 1. С. 17-20.)
14. Yadykina TK, Mikhailova NN, Semenova EA. Clinical and experimental studies of bone tissue remodeling during fluorosis development. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2017; (9): 227. Russian (Ядыкина Т.К., Михайлова Н.Н., Семенова Е.А. Клинико-экспериментальные исследования ремодуляции костной ткани в динамике флюороза // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 9. С. 227.)
15. Kudaeva IV, Masnavieva LB. Calcium homeostasis system state in persons exposed by mercury. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; (4): 110-114. Russian (Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б. Состояние системы кальциевого гомеостаза у лиц, экспонированных ртутью // Acta Biomedica Scientifica. 2010. № 4. С. 110-114.)
16. Yadykina TK, Gorokhova LG, Korsakova TG. Partial renal functions and fluid-and-electrolyte balance in experimental fluorosis. *Medicine in Kuzbass*. 2017; (3): 57-63. Russian (Ядыкина Т.К., Горохова Л.Г., Корсакова Т.Г. Парциальные функции почек и водно-солевой баланс в условиях экспериментального флюороза // Медицина в Кузбассе. 2017. № 3. С. 57-63.)
17. Mikhailova NN, Kazitskaya AS, Gorokhova LG, Zhukova AG. The experimental search of immunological criteria for identifying stages of development of chronic fluoride intoxication. *Occupational medicine and industrial ecology*. 2012; (11): 32-37. Russian (Михайлова Н.Н., Казицкая А.С., Горохова Л.Г., Жукова А.Г. Экспериментальный поиск иммунологических критериев определения стадий развития хронической фтористой интоксикации // Медицина труда и промышленная экология. 2012. № 11. С. 32-37.)

