

УДК: 616 - 099: 547. 56 - 036.112 - 092. 9: 612. 015. 31: 546.32/.33

## **Динамика содержания ионов натрия и калия в крови и органах животных в условиях стрессорного воздействия ксенобиотиков**

**В.А.Бондаренко<sup>1</sup>, В.Н.Зовский<sup>2</sup>, С.А.Наконечная<sup>2</sup>, И.Ю.Багмут<sup>2</sup>, Л.В.Коба<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет (Харьков, Украина)

В работе исследовано содержание макроэлементов натрия и калия в сердце, печени, почках, надпочечниках, селезенке, сыворотке крови половозрелых крыс (самцов) линии WAG, подвергавшихся пероральному воздействию новых групп ксенобиотиков – неололов марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ в подостром токсикологическом опыте в течение 45 суток. Выявлено, что под действием оксиэтилированных производных фенолов в дозах 1/10 и 1/100 DL<sub>50</sub> содержание макроэлементов натрия и калия снижается в органах животных и повышается в плазме крови. Это свидетельствует о нарушении адаптации организма к вредному воздействию токсических веществ. Доза 1/1000 DL<sub>50</sub> не действующая.

**Ключевые слова:** макроэлементы, биологические мембраны, защитные механизмы, ксенобиотики, крысы линии WAG.

## **Динаміка вмісту іонів натрію та калію в крові та органах тварин в умовах стресорного впливу ксенобіотиків**

**В.А.Бондаренко, В.М.Зовський, С.А.Наконечна, І.Ю.Багмут, Л.В.Коба**

В роботі досліджений вміст макроелементів натрію та калію в серці, печінці, нирках, наднирниках, селезінці, сироватці крові статевозрілих щурів (самців) лінії WAG, які підлягали пероральній дії нових груп ксенобіотиків – неололів марок АФ 9-12 й АФС 9-6 КМ в підгострому токсикологічному досліді протягом 45 діб. Визначено, що під впливом оксиетильованих похідних фенолів при дозуванні 1/10 й 1/100 DL<sub>50</sub> вміст макроелементів натрію та калію знижується в органах тварин і збільшується в плазмі крові. Цей висновок говорить про порушення адаптації організму до шкідливого впливу токсичних речовин. Доза 1/1000 DL<sub>50</sub> виявилася недіючою.

**Ключові слова:** макроелементи, біологічні мембрани, захисні механізми, ксенобіотики, щури лінії WAG.

## **Dynamics of sodium and potassium cations content in blood and organs of animals in stressful conditions of xenobiotics**

**V.A.Bondarenko, V.N.Zovskiy, S.A.Nakonechnaya, I.Yu.Bagmut, L.V.Coba**

There was investigated the content of sodium and potassium in the heart, liver, kidneys, adrenal glands, spleen, blood serum of pubertal rats (male) of WAG line which have been exposed to peroral impact of new groups of xenobiotics – neonols AF 9-12 and AFS 9-6 KM in subacute toxicological experiment during 45 days. There was revealed that under the action of oxyethylized derivatives of phenols in doses 1/10 and 1/100 DL<sub>50</sub> the content of sodium and potassium in animal organs decreased and in blood plasma increased. This indicates disturbance of organism adaptation to injurious impact of toxic substances. The dose 1/1000 DL<sub>50</sub> is not active.

**Key words:** macroelements, biological membranes, defense mechanisms, xenobiotics, rats of WAG population.

### **Введение**

В формировании нарушений функционирования ведущих функциональных систем организма особое место отводится макроэлементам, которые обеспечивают каталитическую активность многих ферментов. Макроэлементы – это минералы, присутствующие в человеческом организме в количестве от 25 г до 1 кг (Шмидт, Тевс, 1996). К их числу относятся натрий и калий. Немалую роль играют эти ионы в живых организмах. В теле человека натрий содержится в плазме крови, лимфе, пищеварительных соках. Кости являются основным его депо (Березов, Коровкин, 1998). Внутриклеточное содержание натрия в несколько раз меньше содержания калия, в крови соотношение обратное. Натрий – основной катион внеклеточной жидкости, он поддерживает осмотическое давление, определяет движение воды, участвует в регуляции кислотно-основного состояния, нервно-мышечной возбудимости и передаче возбуждения по нервно-мышечным волокнам. Натрий сохраняет и поддерживает постоянство биоэлектрического потенциала мембран клеток, потенцирует действие адреналина, влияет на величину сосудистого тонуса (Ганонг, 2002).

Калий – основной внутриклеточный ион. В клетках его в 40 раз больше, чем в межклеточном пространстве. В процессе функционирования клеток избыточный калий покидает цитоплазму, поэтому для сохранения концентрации он должен нагнетаться обратно при помощи натрий-калиевого насоса. Клетки активно накапливают калий и выбрасывают в межклеточную среду натрий. Так создается разность концентраций одновалентных катионов на клеточной мембране (Смирнов, 2002). Ионная асимметрия используется для генерации возбуждения в нервных и мышечных клетках. Активный транспорт ионов против их концентрационного градиента зависит от наличия в клетке АТФ. В нейронах мозга, например, на его осуществление затрачивается до 30% всего фонда аденозинтрифосфата. Использует эту энергию для реализации активного транспорта одновалентных ионов через клеточную мембрану специальный фермент –  $(\text{Na}^+/\text{K}^+)$ -активируемая аденозинтрифосфатаза, или  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза. Она представляет собой сложный белок, встроенный в наружную мембрану клетки и имеющий центры связывания для ионов натрия и калия, а также активный центр, где осуществляются связывание и гидролиз АТФ. Активный центр фермента обращен в цитоплазму и доступен для цитоплазматического АТФ (Шмидт, Тевс, 1996).

Одно из неотъемлемых свойств живой клетки – это способность реагировать на повреждение. Ионная асимметрия является условием этой реакции, и, вероятно, калий и натрий выбраны живыми системами как своеобразные индикаторы повреждения мембраны из-за их повсеместного распространения. Кроме того, натрий и калий в ионизированном состоянии не отличаются друг от друга по заряду и числу создаваемых ими координационных связей, но существенно отличаются по величине предельной температуры гидратации. Для натрия она составляет  $+20^\circ\text{C}$ , а для калия  $+70^\circ\text{C}$ . Таким образом, в диапазоне температур, в котором функционирует большинство живых организмов, натрий легко взаимодействует с молекулами воды, образуя гидратную оболочку, а калий отталкивает воду и потому лишен гидратной оболочки. Липиды хорошо различают натрий и калий именно благодаря различиям в их гидрофобности. Нуклеиновые кислоты, несущие информацию о синтезе белков и этим определяющие белковое «лицо» клетки, тоже реагируют на изменение ионного состава среды, в которой они функционируют. Так, ионы натрия влияют на упаковку и взаимодействие нуклеотидов двойной спирали, а ионы калия регулируют прочность контактов между рибосомами и РНК, с участием которых происходит синтез полипептидной цепи. Белковые молекулы также способны различать натрий и калий в водных растворах. Интенсивность многих ферментативных процессов в клетке зависит от ионов натрия и калия: в большинстве случаев ион калия является активатором, а ион натрия – ингибитором клеточных реакций (Кравцов, Алексеенко, 1990).

Гидролиз АТФ, чтобы обеспечить энергией активный транспорт ионов,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза осуществляет сложную многостадийную реакцию, в которой участвуют ионы натрия, калия и магния, а также АТФ. Фермент имеет лабильную структуру. Он легко изменяет свою конформацию в зависимости от того, какой ион к нему присоединяется. При гидролизе АТФ действительно наблюдается образование фосфорилированного интермедиата, а энергия АТФ тратится на оплату перехода фермента из одной конформации в другую. Таким образом, в ходе ферментативного процесса перенос ионов натрия и калия осуществляется одним и тем же ионным центром фермента, последовательно изменяющим свое сродство к переносимым ионам при изменении конформации  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы (Веклич та ін., 2007). Поэтому в нашей работе динамика изменений этих двух ионов в организме рассматривается совместно.

Физиологическую роль калиевых каналов и последствия нарушений их функционирования изучали многие исследователи (Бондаренко, Сагач, 2006). И.С.Чекман и соавторы установили чувствительность этих каналов к изменениям метаболизма и рассматривали их как потенциальных претендентов на роль стресслимитирующих систем (Чекман та ін., 2008). А.А.Капля и соавторы выявили снижение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазной активности при колоректальном раке (Капля и др., 2007). О.И.Бондаренко и В.Ф.Сагач изучали роль  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в электрогенезе эндотелиальных клеток аорты и установили, что физиологическая роль этого фермента может охватывать не только поддержание мембранного потенциала покоя, но и модуляцию стимулированного прохождения  $\text{Ca}^{2+}$  в эндотелий (Бондаренко, Сагач, 2006). О.М.Рожманова и соавторы изучали влияние адениловых нуклеотидов на транспорт ионов через плазматическую мембрану под влиянием различных агентов (Рожманова и др., 2008). Таким образом, внимание ученых не перестает занимать фермент  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза, который необходим для поддержания внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , необходимых для метаболических процессов (Веснина, Кайдашев, 2004; Аккуратов и др., 2008; Пивовар та ін., 2006). Учитывая, что изменение метаболизма лежит в основе нарушения основных функций и систем, стоит остановиться на раскрытии механизма биологического действия детергентов, которые являются факторами, влияющими на структурно-функциональные изменения в биологических мембранах.

В литературе имеются данные о биологической активности ПАВ при длительном введении в

организм теплокровных животных. Т.Т.Березов и Б.Ф.Коровкин отмечают, что независимо от вида воздействия ПАВ известны общие свойства их влияния на отдельные процессы обмена веществ (Березов, Коровкин, 1998). В.И.Жуков и соавторы, изучая влияние неионогенных ПАВ на фонд макро- и микроэлементов, установили нарушение их динамики в органах и тканях (Жуков и др., 2000). Предположение о мембраноповреждающем действии ксенобиотиков, которые способствуют выходу микро- и макроэлементов в межклеточную жидкость, явилось предметом настоящего исследования. В качестве объекта исследования выбраны ксенобиотики нового поколения – оксиэтилированные производные фенолов, которые используются в различных отраслях народного хозяйства и со сточными водами могут попадать в водоемы, и таким образом влиять на условия водопользования и здоровье человека (Цыганенко и др., 2001).

### Материал и методы

В работе изучали содержание макроэлементов натрия и калия в сердце, печени, почках, надпочечниках, селезенке, сыворотке крови половозрелых крыс (самцов) линии WAG, подвергавшихся воздействию новых групп ксенобиотиков в подостром токсикологическом опыте. Вещества на основе оксиэтилированных алкил- и изононилфенолов марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ вводили ежедневно утром натощак с помощью металлического зонда перорально в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000  $DL_{50}$  в течение 45 суток. Содержание ионов металлов определяли атомно-абсорбционным методом (Брицке, 1982). Для проведения анализа биоэлементов органы и ткани подвергали предварительному озолению и экстрагированию по Е.А.Лойко и Г.О.Бабенко (Лойко, 1967; Бабенко, 1968). Полученный экстракт подавали в спектрофотометр и определяли содержание макроэлементов. Полученные результаты сравнивали с результатами эталонного образца. Достоверность результатов оценивали с помощью компьютерной программы «BIOM 9 group» (Гланц, 1999).

### Результаты и обсуждение

Результаты опытов показали, что неонолы групп АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ, действуя на организм, приводят, в основном, к перераспределению биоэлементов натрия и калия в органах и тканях экспериментальных животных.

Более значимые изменения динамики макроэлементов обнаружены под влиянием АФС 9-6 КМ, который повышал в сыворотке крови содержание  $Na^+$  в дозе 1/10  $DL_{50}$  и 1/100  $DL_{50}$ . Доза 1/1000 была не действующая (табл. 1, 2). Изменения концентрации ионов натрия и калия во внеклеточной жидкости влияют на мембранный потенциал мышечных волокон, поскольку электрическая активность сердца зависит от распределения этих ионов относительно мембран. Клинически снижение уровня натрия в плазме может обуславливать низкий вольтаж электрокардиографических комплексов. Однако изменения концентрации калия в плазме могут повлечь тяжелые изменения сердечной деятельности. Увеличение концентрации калия в плазме свидетельствует о нарушении реполяризации мембраны, с увеличением внеклеточной концентрации калия снижается мембранный потенциал покоя мышечных волокон, гипокалиемию стоит расценивать как опасное состояние для сердечной мышцы (Ганонг, 2002).

Таблица 1.

Динамика содержания калия в организме белых крыс под влиянием неонолов АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ (мг/100 г ткани)

Вещ-во	Доза $DL_{50}$	Органы ( $M \pm m$ )					
		Сыворотка крови	Печень	Надпочечники	Почки	Сердце	Селезенка
АФ 9-12	1/10	9,46±0,20*	6,23±0,25*	2,53±0,06*	2,41±0,05*	3,41±0,27*	2,13±0,18
	1/100	8,32±0,56*	6,95±0,23*	2,42±0,35	2,54±0,05	4,24±0,24	2,14±0,22
	1/1000	7,17±0,23	7,20±0,28*	2,40±0,12	2,59±0,11	4,26±0,32	2,15±0,13
К-ль	Вода	6,82±0,25	8,21±0,25	2,35±0,06	2,62±0,06	4,40±0,49	2,28±0,16
АФС 9-6 КМ	1/10	9,58±0,17*	6,04±0,21*	2,55±0,20	2,38±0,04*	3,33±0,26*	2,17±0,10
	1/100	8,28±0,43*	6,40±0,22*	2,46±0,28	2,47±0,06*	4,23±0,28	2,19±0,07
	1/1000	7,29±0,26	7,22±0,26*	2,37±0,14	2,64±0,09	4,35±0,35	2,20±0,11
К-ль	Вода	6,77±0,25	8,31±0,28	2,32±0,21	2,76±0,07	4,63±0,47	2,25±0,08

Примечание: \* – отличие от контроля достоверно ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2.

Динаміка содержания натрия в организме белых крыс под влиянием неололов АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ (мг/100 г ткани)

Вещ-во	Доза DL <sub>50</sub>	Органы (M±m)					
		Сыворотка крови	Печень	Надпочечники	Почки	Сердце	Селезенка
АФ 9-12	1/10	154,82±6,86*	8,25±0,27	253,36±7,97	194,27±4,92*	3,41±0,27	0,75±0,04
	1/100	145,08±8,37*	8,73±0,35	267,54±7,85	213,69±8,69*	3,65±0,26	0,83±0,07
	1/1000	126,47±4,65*	8,64±0,23	267,00±4,50	233,53±5,22*	3,67±0,22	0,78±0,03
К-ль	Вода	100,40±2,60	8,77±0,47	271,07±7,73	255,00±4,61	3,83±0,19	0,82±0,04
АФС 9-6 КМ	1/10	155,00±5,34*	7,88±0,32	250,00±6,04	189,50±5,47*	3,25±0,24	0,75±0,03
	1/100	146,27±5,73*	8,28±0,40	259,80±6,20	206,00±5,96*	3,35±0,20	0,77±0,05
	1/1000	122,47±3,98*	8,23±0,36	265,73±6,26	227,60±5,02*	3,62±0,24	0,79±0,03
К-ль	Вода	99,07±2,11	8,60±0,40	268,40±7,51	259,53±4,11	3,70±0,20	0,82±0,03

Примечание: \* – отличие от контроля достоверно ( $p < 0,05$ ).

Повышение натрия в крови стимулирует регуляторную натрийуретическую систему. Основная роль в сохранении баланса натрия принадлежит альдостерону, ренин-ангиотензиновой системе. Регуляторами метаболической активности натрия являются гормоны коры надпочечников. Афферентным звеном натрийуретической системы являются почки. Они увеличивают экскрецию натрия, а избышек натрийуретических пептидов ингибирует энзим  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазу (Ганонг, 2002). Поскольку натрий является распространенным катионом внеклеточной жидкости и соли натрия составляют 90% от осмотической активности соединений плазмы крови и межклеточной жидкости, то количество натрия в организме является основным фактором, который определяет объем межклеточной жидкости. При значительных потерях натрия почки задерживают этот ион, при избытке – выводят. Процесс контролируется альдостероном: он повышает реабсорбцию  $\text{Na}^+$  в дистальных извитых канальцах и собирательных трубочках нефрона, задерживает его в организме и одновременно усиливает потерю калия с мочой.

При действии испытуемых неололов наблюдалось достоверное понижение содержания  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  в почках. Механизм секреции калия имеет свойство адаптироваться, об этом говорит и тот факт, что в случае длительного введения больших доз солей калия экскреция  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  постепенно увеличивается. В результате увеличения экскреции натрия угнетается реабсорбция и  $\text{HCO}_3^-$  ионов в почках, что может привести к сдвигу кислотно-щелочного баланса организма.

### Выводы

Неололы марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ в подостром эксперименте под воздействием 1/10 и 1/100 DL<sub>50</sub> приводят к снижению содержания ионов металлов в печени, сердце, почках и повышению их содержания в сыворотке крови. Недействующей дозой являлась 1/1000 DL<sub>50</sub>. Детергенты в исследуемых дозах в комплексе приводили к структурно-метаболической дезорганизации клеточных мембран.

### Список литературы

- Аккуратов Е.Е., Карпова Л.В., Болдырев А.А. Значение конформационного состояния  $\text{Na}/\text{K}$ -АТФазы для ее устойчивости к окислению // Нейрохимия. – 2008. – Т.25, №1–2. – С. 146–149.
- Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. – К.: Здоров'я, 1968. – 136с.
- Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – 704с.
- Бондаренко О.І., Сагач В.Ф. Роль  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в електрогенезі ендотеліальних клітин аорти // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №3. – С. 34–41.
- Брицке М.Е. Атомно-абсорбционный спектрохимический анализ. – М.: Химия, 1982. – 280с.
- Веклич Т.О., Кочешкова Н.С., Родік Р.В. та ін. Порівняльне дослідження впливу каліксаренів на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазну активність у плазматичній мембрані скоротливих та рухливих клітин // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т.79, №3. – С. 19–27.
- Веснина Л.Е., Кайдашев І.П. Вплив пептидного препарату з нирок на рівень експресії поверхневих рецепторів лімфоцитів за умов пригнічення активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы // Фізіол. журн. – 2004. – Т.50, №6. – С. 76–82.
- Ганонг В.Ф. Фізіологія людини. – Львів: БаК, 2002. – 784с.

- Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459с.
- Жуков В.И., Мясоедов В.В., Козин Ю.И. и др. Детергенты – модуляторы радиомиметических эффектов. – Белгород: Дизайн-центр И.К.С., 2000. – 374с.
- Капля А.А., Кудрявцева А.Г., Хижняк С.В. и др. Особенности  $Na^+,K^+$ -АТФазной активности в аденокарциноме толстой кишки человека // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т.79, №4. – С. 90–95.
- Кравцов А.В., Алексеенко И.Р. Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран. – Киев: Наукова думка, 1990. – 160с.
- Лойко Е.А. Спектрохимическое определение микроэлементов в сыворотке и моче // Лаб. дело. – 1967. – №7. – С. 403–406.
- Пивовар С.М., Коржов В.І., Струтинський Р.Б. та ін. Вплив фторвмісних активаторів мітохондріальних аденозитрифосфатчувливих калієвих каналів на окисне фосфорилування // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №3. – С. 25–33.
- Рожманова О.М., Долгая Е.В., Погорелая Н.Х. и др. Влияние дефосфорилированного 2',5'-триолигоаденилата на вход ионов натрия в клетки нейробластомы человека // Нейрофизиология. – 2008. – Т.40, №1. – С. 3–8.
- Смирнов В.М. Физиология человека. – М.: Медицина, 2002. – 608с.
- Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань Н.Г. и др. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоемов. – Белгород: ОАО «Белвитамины», 2001. – 442с.
- Чекман І.С., Тарасова К.В., Шевчук В.Г. Фізіологічні властивості та перспективи корекції функції аденозитрифосфатчувливих калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2008. – Т.54, №1. – С. 94–106.
- Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека. – М.: Мир, 1996. – Т.1. – 323с., Т.2. – 313с., Т.3. – 198с.

**Представлено: А.М.Компанієць / Presented by: A.M.Kompaniets**

**Рекомендовано до друку: Н.О.Бабенко / Recommended for publishing by: N.A.Babenko**

*Подано до редакції / Received: 6.10.2009.*

© В.А.Бондаренко, В.М.Зовський, С.А.Наконечна, І.Ю.Багмут, Л.В.Коба, 2009  
© V.A.Bondarenko, V.N.Zovskiy, S.A.Nakonechnaya, I.Yu.Bagmut, L.V.Coba, 2009