

УДК 612.821.6:612.17+577.15

Т. В. Горбач, канд. біол. наук, ст. наук. співр. ЦНДЛ
Харківський державний медичний університет, ЦНДЛ,
пр. Леніна, 4, 61024, м. Харків, Україна; e-mail: v-gorbatch@yandex.ru

ДИНАМІКА КОНЦЕНТРАЦІЇ ДЕЯКИХ ГОРМОНІВ І ПОКАЗНИКІВ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТІ

Вивчені динаміка концентрації гормонів у сироватці крові та рівень деяких показників метаболізму білків у тканинах щурів — самців популяції Вістар при експериментальному гломерулонефриті. Доведено, що в розпалі захворювання знижується співвідношення соматотропний гормон / кортикостерон, збільшується рівень тиреоїдних гормонів, активується катаболізм білків у тканинах. У період ремісії збільшується концентрація соматотропного гормону, знижується рівень тироксину, у нирках показники обміну білків знижені. Зроблено висновок про зв'язок метаболічних порушень з гормональним статусом тварин.

Ключові слова: гормони, обмін білків, експериментальний гломерулонефрит

Вивчення імунних і неімунних факторів розвитку і прогресування гломерулонефриту залишається ключовою проблемою нефрології [1]. Встановлено, що серед неімунних факторів особливе місце займають дисметаболичні порушення [2], що можуть бути пов'язані з порушенням гормонального статусу. Важливою стороною функції нирок є їх участь у гомеостазі білків. Фільтруюча мембрана нефрону практично непроникна для альбумінів і глобулінів, але через неї вільно фільтруються низькомолекулярні пептиди [3]. Таким чином, у каналці постійно надходять гормони — інсулін, вазопресин, АКТГ, гастрин, паратгормон, ангіотензин та ін. Розщеплення цих фізіологічно активних пептидів до амінокислот має двоєке функціональне значення — у кров надходять амінокислоти, необхідні для синтетичних процесів у різних органах і тканинах, а організм звільняється від біологічно активних сполук, що поліпшує точність регуляторних впливів. Зниження функціональних можливостей нирок щодо елімінації цих речовин призводить до різних метаболічних порушень [4]. Однак, особливості динаміки складу гормонів при експериментальному гломерулонефриті залишаються не з'ясованими.

Метою цієї роботи було вивчення показників білкового обміну і динаміки складу гормонів, що впливають на обмін білків, при експериментальному гломерулонефриті.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти проведено на щурах-самцях популяції Вістар масою 150–180 г, що утримувалися в стандартних умовах віварію. Моделювання експериментального гломерулонофриту проводилося шляхом одноразового введення нефротоксичної сироватки в дозі 1,5 мл / 100 г маси тварини. Титр антиниркових антитіл сироватки в реакції пасивної гемаглютинації становив 1: 2560, у реакції зв'язування комплекменту 1: 1280. На 8-у, 12-у, 20-у добу після введення сироватки щурі виводилися з експерименту шляхом декапітації. У сироватці крові визначали вміст соматотропного гормону (СТГ), трийодтироніну (Т₃), тироксину (Т₄), кортикостерону, естрадіолу, тестостерону імуноферментними методами. Концентрація СТГ визначалася за допомогою наборів реактивів для ензимзв'язаного імуноферментного аналізу ELISA, Calbiotech INC (CB I), ELISA KIT. Рівень естрадіолу визначався за допомогою наборів реактивів ESTRADIOL (E2) ENZYME IMMUNOASSAY TEST KIT (ELISA, США). Концентрації інших гормонів визначали за допомогою наборів реактивів ЗАТ "Алкор Био" (Санкт-Петербург). У гомогенатах тканин нирок, серця, печінки, головного мозку визначали активність γ -глутамілтрансферази (γ -ГТТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ) спектрофотометричними методами за допомогою наборів реактивів фірми LaChema (Чехія), а також активність катепсину D [5]. Активність катепсину D визначали спектрофотометричним методом у надосадовій рідині й осаді, отриманих після центрифугування гомогенатів тканин при 10000 г протягом 15 хвилин. У якості субстрату був обраний гемоглобін.

Результати дослідження

Як видно з таблиці 1, на 8-у добу після введення нефротоксичної сироватки (розпал захворювання) у сироватці крові знижується рівень СТГ, збільшуються концентрації Т₃, Т₄, тестостерону, кортикостерону. Виявлені нами зміни у складі і співвідношенні гормонів можна розглядати як розвиток стрес-реакції. Ріст концентрації гормонів щитовидної залози, кортикостерону і зниження рівня СТГ повинні супроводжуватися активацією катаболізму білків. Однак, тестостерон активує синтез білків у всіх тканинах, у печінці аналогічну дію виявляє і кортикостерон. Різноспрямована дія гормонів, можливо, обмежує стрес-реакцію, сприяє розвитку адаптивних змін. У тканинах нирок, серця, головного мозку в цей період вірогідно зменшується активність γ -ГТТ (табл. 2), що свідчить про зниження транспорту амінокислот у клітини. У печінці активність γ -ГТТ вірогідно збільшується. Активність амінотрансфераз (АсАТ і АлАТ) у цей період у всіх досліджуваних тканинах підвищується (табл. 3), що свідчить про активацію катаболізму амінокислот. Загальна активність катепсину D вірогідно збільшується у всіх досліджуваних тканинах, а неседиментована активність — тільки в нирках. Збільшення неседиментованої актив-

ності катепсину D свідчить про підвищення лабілізації лізосом і, отже, про активацію апоптозу у нирках. Отже, у розпал захворювання в тканинах серця, головного мозку, нирок відбувається активація катаболізму білків, особливо в нирках. У печінці активується як синтез, так і розпад білків, однак, процеси синтезу — у більшій мірі.

Таблиця 1

Вміст гормонів у сироватці щурів при експериментальному гломерулонефриті ($M \pm m$; $n = 30$)

Показник	Контроль	8-а доба, нефрит	12-доба, нефрит	20-доба, нефрит
СТГ, мкг/л	5,12 ± 0,32	3,14 ± 0,17*	4,89 ± 0,44	6,74 ± 0,35*
Кортикостерон, нмоль / л	4,52 ± 0,12	6,89 ± 0,34*	5,68 ± 0,17*	4,08 ± 0,19
T ₃ , нмоль / л	1,98 ± 0,11	3,45 ± 0,21*	2,04 ± 0,11	2,17 ± 0,09
T ₄ , нмоль / л	99,39 ± 5,12	148,51 ± 10,02*	105,32 ± 9,17	84,42 ± 2,21*
Естрадіол, нмоль / л	0,17 ± 0,04	0,15 ± 0,03	0,19 ± 0,04	0,08 ± 0,01*
Тестостерон, нмоль / л	6,33 ± 0,54	7,41 ± 0,258*	5,85 ± 0,37	6,11 ± 0,42

Примітка: * — тут і далі достовірні відміни показника від контрольної групи тварин, $p < 0,05$.

Таблиця 2

Активність γ -ГТТ у тканинах щурів при експериментальному гломерулонефриті ($M \pm m$; $n=30$; мккатал/ г білка)

Тканини	Контроль	Нефрит, 8 доба	Нефрит, 12 доба	Нефрит, 20 доба
Нирки	1,34 ± 0,11	0,54 ± 0,01*	0,49 ± 0,01*	0,67 ± 0,03*
Серце	0,85 ± 0,06	0,48 ± 0,02*	0,54 ± 0,01*	0,88 ± 0,03
Печінка	3,27 ± 0,15	4,64 ± 0,12*	2,88 ± 0,11	3,41 ± 0,22
Головний мозок	2,02 ± 0,12	0,87 ± 0,02*	0,93 ± 0,03*	1,38 ± 0,11*

Таблиця 3

Активність амінотрансфераз у тканинах щурів при експериментальному гломерулонефриті ($M \pm m$; $n=30$; мккатал / г білка)

Тканини	АлАТ			АсАТ		
	контроль	Нефрит, 8 доба	Нефрит, 20 доба	контроль	Нефрит, 8 доба	Нефрит, 20 доба
Печінка	9,83 ± 0,35	12,65 ± 1,00*	9,01 ± 0,72	8,68 ± 0,33	11,55 ± 1,12*	7,42 ± 1,00
Нирки	3,42 ± 0,21	6,78 ± 0,42*	2,37 ± 0,28*	4,35 ± 0,22	7,55 ± 0,34*	3,42 ± 0,27*
Головний мозок	1,38 ± 0,12	2,45 ± 0,13*	1,89 ± 0,18	11,51 ± 1,00	31,23 ± 1,15*	12,41 ± 1,11
Серце	0,85 ± 0,02	1,34 ± 0,09*	0,90 ± 0,03	0,77 ± 0,02	1,05 ± 0,01*	0,81 ± 0,04

На 12-у добу експерименту концентрація всіх досліджуваних гормонів у сироватці крові нормалізується. Залишається підвищеним тільки рівень кортикостерону. Кортикостерон має протизапальну, антиалергійну і антиімунну активність. Тому підвищену його концентрацію в підгострому періоді захворювання можна розглядати як сприятливу прогностичну ознаку. Як і всі глюкокортикоїди, кортикостерон у більшості тканин справляє катаболічний ефект, у той же час у печінці він діє протилежно — активує синтез білків. Водночас велике значення для регуляції білкового обміну має співвідношення в крові СТГ і кортикостерону, що регулюють концентрацію соматомедину, активуючого білковий синтез. Співвідношення СТГ/кортикостерон на 12-у добу є нижчим, ніж у інтактних тварин, але вищим, ніж на 8-у добу експерименту, отже синтез білків має бути більш ефективним, ніж у розпал захворювання. Однак, активність γ -ГТТ у нирках і головному мозку така ж, як і на 8-у добу (табл. 3). У серці активність γ -ГТТ дещо більша, ніж на 8-у добу, а в печінці — така ж, як у інтактних тварин. Активності АсАт і АлАт на 12-у добу в міокарді та головному мозку більш значні, ніж у інтактних тварин, але не такі високі, як на 8-у добу. У печінці та нирках активності АсАт і АлАт нижчі, ніж у тварин контрольної групи. Як видно з таблиці 4, у всіх досліджуваних тканинах (крім нирок) збільшена загальна активність катепсину D, причому в печінці — в найменшому ступені. У нирках вірогідно збільшена неседиментована активність катепсину, однак вона нижча, ніж на 8-у добу, а загальна активність катепсину в цьому органі знижена. Отже, у підгострому періоді захворювання, незважаючи на активацію синтезу білків, у тканинах головного мозку, печінки і серця переважними залишаються процеси катаболізму. У нирках зменшується активність процесів катаболізму білків, що може привести до порушення елімінації гормонів із крові. Підвищена активність амінотрансфераз у нирках у цей період, можливо, пов'язана з активацією синтезу замісних амінокислот або з підвищенням глюконеогенезу (під впливом кортикостерону).

Таблиця 4

Загальна та неседиментована активність катепсину D у тканинах щурів при експериментальному гломерулонефриті ($M \pm m$; $n = 30$; мкмоль тирозину / мг білка, година)

Тканини	Контроль	Нефрит, 8 доба	Нефрит, 12 доба	Нефрит, 20 доба
Печінка				
Загальна акт.	0,085± 0,003	0,124 ± 0,006 *	0,097 ± 0,002	0,082 ± 0,004
Неседим. акт.	0,032± 0,001	0,027± 0,002	0,035± 0,001	0,029± 0,002
Серце				
Загальна акт.	0,105 ± 0,011	0,137± 0,018*	0,125 ± 0,008*	0,102± 0,012
Неседим. акт.	0,011 ± 0,001	0,015 ± 0,001	0,019 ± 0,002*	0,08 ± 0,003

Закінчення таблиці 4

Тканини	Контроль	Нефрит, 8 доба	Нефрит, 12 доба	Нефрит, 20 доба
Нирки				
Загальна акт.	0,125 ± 0,012	0,148 ± 0,009*	0,100 ± 0,007*	0,098 ± 0,004*
Неседим. акт.	0,048 ± 0,002	0,096 ± 0,005*	0,075 ± 0,003*	0,039 ± 0,002*
Головний мозок				
Загальна актив.	0,027 ± 0,001	0,038 ± 0,002*	0,042 ± 0,003*	0,022 ± 0,003
Неседим. акт.	0,012 ± 0,001	0,011 ± 0,002	0,012 ± 0,002	0,014 ± 0,001

На 20-у добу експерименту в сироватці крові тварин відзначається підвищення концентрації СТГ, знижується рівень T_4 і естрадіолу. Коефіцієнт СТГ/ кортикостерон стає вищим, ніж у інтактних тварин, тобто можна припустити, що значно активується синтез білків у тканинах. Однак, активність γ -ГТТ нормалізується тільки в печінці і серці, а в головному мозку і нирках залишається зниженою. У нирках також залишаються зниженими активності АсАт і АлАТ та катепсину D. На нашу думку, обмін білків нормалізується тільки в тканинах печінки і серця. Імовірно, порушення обміну білків у нирках у цей період пов'язане із зменшенням кількості нефронів у цей період захворювання [6].

Обговорення результатів

Як відомо, при гломерулонефриті спостерігається розвиток нефротичного синдрому: протеїнурія, гіпоальбумінемія, гіпопротеїнемія [7]. Раніше в наших роботах показано, що гіпопротеїнемія має місце вже в розпал захворювання (8-а доба) і зберігається в підгострому періоді захворювання [8]. Диспротеїнемія виражається не тільки в різкому зменшенні концентрації альбуміну в сироватці крові, але й у підвищенні α_2 — (від 12 до 74%) і глобулінових фракцій. У α_2 — глобуліновій фракції збільшено вміст гаптоглобінів і α_2 -макроглобуліну [9]. Це обумовлено їхньою вибірковою затримкою у крові в зв'язку з великою молекулярною масою, зниженням катаболізму і, можливо, підвищеним синтезом. З огляду на властивості α_2 -макроглобуліну як полівалентного інгібітора протеаз крові (плазміну, тромбіну, калікреїну), його спроможність зв'язувати деякі гормони (інсулін, гормон росту й ін.), можна вважати, що підвищення концентрації α_2 -макроглобуліну може сприяти різним порушенням гуморального гомеостазу. Крім того, зміні гуморального гомеостазу сприяє зниження активності протеолітичних ферментів нирок, що здійснюють розщеплення гормонів. Напевне, відзначені нами порушення гуморального гомеостазу при розвитку експериментального гломерулонефриту пов'язані саме з цими процесами. Встановлено, що максимальні зміни в концентрації гормонів відбуваються в розпал захворювання, коли відзначаються і максимальні зміни протеїнограми. У підгострому періоді за-

хворювання збільшена тільки концентрація кортикостерону, що можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямовану на усунення запального процесу. Однак, на 20-у добу концентрація СТГ у сироватці крові підвищується, а T_3 і T_4 — знижується. Можливо, підвищення рівня СТГ — компенсаторна реакція, спрямована на підвищення синтезу білків, мобілізацію енергетичних ресурсів (активацію ліполізу і підвищення концентрації вільних жирних кислот у сироватці крові). Зниження концентрації гормонів щитовидної залози може бути пов'язане з дефіцитом тирозину [8].

Виявлені нами особливості складу гормонів у динаміці експериментального гломерулонефриту приводять до змін метаболізму білків у тканинах. Відомо, що біологічна дія гормонів щитовидної залози поширюється на велику кількість фізіологічних функцій організму. Зокрема, вони регулюють швидкість основного обміну, ріст і диференціювання тканин, обмін білків. Тиреоїдні гормони (поряд з іншими чинниками) змінюють склад жирних кислот ліпідів мембран, що приводить до збільшення їхньої проникності. Глюкокортикоїди різнобічно впливають на обмін речовин у різних тканинах. Зокрема, у м'язовій, лімфатичній і інших тканинах вони виявляють катаболічний ефект, викликають зниження проникності клітинних мембран і, відповідно, гальмування поглинання глюкози й амінокислот, у той же час у печінці вони справляють протилежний ефект. Статеві гормони мають виражений анаболічний ефект. СТГ впливає на метаболічні процеси у всіх клітинах організму, підсилює синтез білків, ДНК, РНК, глікогену. Метаболізм білків у тканинах визначається співвідношенням концентрації усіх вище перерахованих гормонів у сироватці крові.

Дані проведеного нами експерименту показують, що в розпал захворювання збільшення концентрації тиреоїдних гормонів при низькому коефіцієнті СТГ/ кортикостерон сприяє активації катаболізму білків у тканинах нирок, серця, головного мозку й активації метаболізму білків у печінці. Ремісія захворювання супроводжується збільшенням коефіцієнту СТГ/кортикостерон і зниженням концентрації тиреоїдних гормонів. Такі зміни гормонального статусу сприяють зниженню загальної активності катепсину D, активації процесу синтезу білків у тканинах. До 20 дня захворювання нормалізація обміну білків спостерігається тільки в печінці і серці, у нирках у цей період досліджувані показники обміну білка відрізняються від їхнього рівня в контрольних тварин. Можливо, виявлені нами особливості обміну білків і гормонального статусу мають відношення до механізмів прогресування гломерулонефриту.

Нами вивчено тільки окремі показники метаболізму білків; на нашу думку, більш глибоке вивчення особливостей процесу дозволило б уточнити механізм порушення транспорту речовин, секреції і реабсорбції у нирках при гломерулонефриті. В даний час велика увага приділяється особливостям ліпідного обміну при гломерулонефриті, встановлено зв'язок гіперліпідемії з прогресуванням захворювання [10], але механізми порушення ліпідного обміну не з'ясовано. На наш

погляд, особливості обміну білків, вуглеводів і ліпідів при гломеруло-нефриті пов'язані зі зміною гормонального статусу. Тому перспективним є подальше вивчення динаміки складу гормонів і їх співвідношення при експериментальному гломерулонефриті. Такі дослідження допоможуть пояснити різноманітні порушення процесів обміну, що відзначаються багатьма дослідниками, а також розробити перспективні напрями терапії і профілактики гломерулонефриту.

Висновки

1. Розвиток гломерулонефриту (розпал захворювання) супроводжується зниженням коефіцієнту соматотропний гормон / кортикостерон /, підвищенням концентрації T_3 , T_4 , активацією катаболізму білків у тканинах печінки, нирок, серця, головного мозку.
2. У підгострій стадії й у період ремісії захворювання підвищується коефіцієнт СТГ / кортикостерон, знижується концентрація T_4 , естрадіолу, нормалізується обмін білків у печінці і міокарді; у нирках переважають процеси катаболізму білків.
3. Характер змін загальної і неседиментованої активності катепсину D свідчить про активацію апоптозу в тканині нирок у гострій стадії захворювання і зниження протеолітичної активності в підгострій стадії.

Література

1. Джузеппе Ремуэзи, Туллио Бертани. Патофизиология прогрессирующих нефропатий. // Международный Медицинский журнал. — 1999. — № 1–2. — С. 78–84.
2. Пиріг Л. А., Дудар І. А. Дисліпідемія при гломерулонефриті (нефротичному синдромі) та її значення для прогресування захворювань нирок // Врачебная практика. — 2000. — № 2. — С. 13–21.
3. Нефрология / Под ред. Тареевой И. Е. — М.: Медицина, 2000. — С. 40–46.
4. Нефрология /Под ред. Тареевой И. Е. — М. Медицина, 2000. — С. 145–150.
5. Anson M. A micromethod for the cathepsin D determination // Jour. Gen. Physiol. — 1939. — № 1. — P. 22–28.
6. Тареева И. Е. Механизмы прогрессирования гломерулонефрита. // Терапевтический архив. — 1996. — № 6. — С. 5–10.
7. Марков Х. М. Патофизиологические механизмы развития гломерулонефрита у детей. // Педиатрия. — 1996. — № 2. — С. 46–59.
8. Горбач Т. В., Жуков В. И., Козин Ю. И. Структурно-метаболические механизмы формирования гломерулонефритов. — Белгород: ООО "Полисинтез", 2003. — 160 с.
9. Гломерулонефрит /Под ред. Дядык А. М. — Киев: Здоров'я. — 1991. — 215 с.
10. Сигитова О. Н., Маскудова А. Н., Мясоутова Л. И. Тесты дестабилизации клеточных мембран в оценке активности прогрессирования хронического гломерулонефрита. // Терапевтический архив. — 2000. — № 6. — С. 26–30.

Т. В. Горбач

Харьковский государственный медицинский университет, ЦНИЛ,
пр. Ленина, 4, г. Харьков, 61024, Украина; e-mail: v-gorbach@yandex.ru

**ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ
И ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ**

Резюме

Изучены динамика концентрации гормонов в сыворотке крови и уровня некоторых показателей метаболизма белка в тканях крыс-самцов популяции Вистар при экспериментальном гломерулонефрите. Показано, что в разгар заболевания снижается соотношение соматотропный гормон / кортикостерон, увеличивается концентрация тиреоидных гормонов, активизируется катаболизм белков в тканях. В период ремиссии увеличивается концентрация соматотропного гормона, снижается уровень тироксина, в почках показатели обмена белка снижены. Делается вывод о связи метаболических нарушений с гормональным статусом экспериментальных крыс.

Ключевые слова: гормоны, обмен белков, экспериментальный гломерулонефрит.

T. V. Gorbach

Kharkov state medical university, CSRL,
Lenin Ave., 4, Kharkov, 61024, Ukraine; e-mail: v-gorbach@yandex.ru

**THE DYNAMICS OF SOME HORMONE'S CONCENTRATION AND
SOME PROTEIN'S METABOLISM INDEXES IN THE RAT'S TISSUES
DURING EXPERIMENTAL GLOMERULONEPHRITIS**

Summary

The dynamics of some hormone's concentration in the serum and some protein's metabolism indexes in the rat's (males) tissues during experimental glomerulonephritis was studied. It was shown that at the acute stage of disease the correlation somatotropin / corticosteron is decreased, and the tyreoid's hormones concentration is increased. Simultaneously the protein's catabolism in rat's tissues is shown to be activated. At the subacute stage of disease the concentration of the somatotropin is increased and the tyroxine level is decreased. At this stage the indexes of protein's metabolism are lowered. The conclusion about a certain connection between metabolism infringements and hormone status of experimental rats is made.

Keywords: hormones, protein's metabolism, experimental glomerulonephritis.