



УДК 616.61-099:546.56:546.73:577.175.4/5:612.017.11-092.9

## СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ПРИ НЕФРОПАТИЯХ, ВЫЗВАННЫХ ГИПЕРМИКРОЭЛЕМЕНТОЗАМИ МЕДИ И КОБАЛЬТА

**С.Н. МАРТЫНОВА**  
**В.И. ЖУКОВ**  
**В.Г. ГОПКАЛОВ**

*Харьковский национальный  
медицинский университет*

*e-mail: smart5@ukr.net*

Изучено содержание некоторых гормонов и провоспалительных интерлейкинов в сыворотке крови крыс при нефропатиях, вызванных гипермикроэлементозами меди и кобальта. Установлено, что в сыворотке крови крыс при гипермикроэлементозе меди достоверно снижается содержание инсулина,  $T_3$  и  $T_4$  при выраженном повышении ТТГ, увеличивается концентрация ФНО- $\alpha$  и кортикостерона. При гипермикроэлементозе кобальта отмечается увеличение содержания инсулина, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ ,  $T_3$  и  $T_4$  в сыворотке крови при небольшом снижении концентрации ТТГ. Выявленные эндокринные особенности лежат в основе метаболических нарушений, способствующих прогрессированию нефропатий, вызванных накоплением металлов в интерстиции почек.

Ключевые слова: крысы, кобальт, медь, почки, нефропатии, интерлейкины, цитокины, тироксин, трийодтиронин, кортикостерон.

Согласно данным мировой литературы, наблюдается значительный рост числа больных с заболеваниями почек и хронической почечной недостаточностью [4, 7]. В Харькове и области на диспансерном учете находится 1800 больных с заболеваниями почек, ежегодно их число увеличивается в среднем на 140 человек [4]. В ряде работ последних лет подчеркивается связь патологии почек, особенно у детей, с загрязненностью воздуха, продуктов питания, воды тяжелыми металлами [5, 9]. Имеются данные о том, что патология почек, и в первую очередь мочевыводящей системы, может служить «индикатором» вредных воздействий аномальных концентраций тяжелых металлов на организм [1, 2]. Очевидной становится необходимость изучения сущности механизмов поражения почек под влиянием факторов внешней среды, которое позволит повысить эффективность ранней диагностики, профилактики, а также разработать индивидуальные способы коррекции поражения почек. Установлено, что медь и кобальт обладают нефротоксичностью. Однако, механизмы развития нефропатий под влиянием гиперэлементозов тяжелых металлов (меди, кобальта) не изучены. Нами установлено, что ежедневное внутрижелудочное введение через зонд крысам 1 мл раствора  $CoCl_2$  (с содержанием кобальта 0,24 мг/л расчета 1 мл на 100 г веса животного) приводит к развитию гломерулонефрита, а введение раствора  $CuCl_2$  (с содержанием меди 1,75 мг/л из расчета 1 мл на 100 г веса животного) – к развитию дисметаболической нефропатии [6]. Механизмы развития этих нефропатий в настоящее время изучаются. Для понимания механизмов развития нефропатий при гипермикроэлементозах меди и кобальта необходимо изучить особенности секреции гормонов, играющих ключевую роль в формировании направленности метаболических процессов при наличии иммунно-воспалительных процессов, и концентрации провоспалительных интерлейкинов в сыворотке крови в условиях экспериментальной модели.

**Целью** нашего исследования явилось изучение содержания инсулина, кортикостерона, тиреоидных гормонов, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  при нефропатиях, вызванных гипермикроэлементозами меди и кобальта.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар возрастом 1 месяц, массой 80–90 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Крысы были разделены на 2 группы:

- 1) интактные животные, которым ежедневно в течение 1 месяца внутрижелудочно через зонд вводили 1 мл питьевой воды (контрольная группа).
- 2) животные, которым ежедневно внутрижелудочно через зонд вводили раствор хлорида меди в питьевой воде (с содержанием меди 1,75 мг/л из расчета 1 мл на 100 г массы животного).
- 3) животные, которым ежедневно внутрижелудочно через зонд вводили раствор хлорида кобальта в питьевой воде (с содержанием кобальта 0,24 мг/л из расчета 1 мл на 100 г массы животного).

Через 1 месяц животные были выведены из эксперимента путем декапитации под тиопенталовым наркозом.



Содержание ТТГ,  $T_3$ ,  $T_4$ , кортикостерона в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов ELISA KIT фирмы DRG (Germany).

Содержание ФНО- $\alpha$  и интерлейкина- $1\beta$  в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы «ВЕКТОР-БЕСТ», Россия, Новосибирск. Инсулин в сыворотке крови определяли по наборам INSULIN ELISA KIT фирмы DRG (Germany). Количество ингибитора активатора плазминогена PAI-I определяли иммуноферментным методом PAI-1 Antigen ELISA Kit фирмы DRG (Germany).

Статистическую обработку данных проводили с использованием параметрического критерия Стьюдента-Фишера.

**Результаты и их обсуждение.** Как показано в наших исследованиях, введение меди в повышенной концентрации приводит к развитию нефропатии у животных [6]. Известно, что важной стороной функции почек является их участие в метаболизме гормонов. Фильтрующая мембрана нефрона практически непроницаема для альбуминов и глобулинов, однако через нее свободно фильтруются низкомолекулярные пептиды, в том числе и некоторые гормоны [10]. В канальцы постоянно поступают такие гормоны, как инсулин, вазопрессин, АКТГ, гастрин, паратгормон и другие. Расщепление этих физиологически активных веществ, имеющее важное значение – освобождение от биологически активных веществ, осуществляется в почках. Снижение функциональных возможностей почек по элиминации гормонов из кровотока приводит к различным метаболическим нарушениям [14]. Тиреоидные гормоны оказывают существенное влияние на метаболизм и функцию почек. Известно, например, что гипертиреоз сопровождается повышенным, а гипотиреоз – пониженным потреблением кислорода в области проксимального сегмента нефрона [15]. Процесс почечной конверсии  $T_4$  в  $T_3$  связан с важными механизмами мочеобразования [3]. Йодированные продукты катаболизма йодтиронинов конъюгируются в печени с глюкуроновой или серной кислотами, секретируются с желчью, в кишечнике вновь всасываются, дейодируются в почках и выделяются с мочой. Особенности содержания тиреоидных гормонов, инсулина, кортикостерона при нефропатии, вызванной гипермикрэлементозом меди, не изучены. В то же время анализ гормонального статуса животных может быть важным для объяснения механизмов развития и прогрессирования заболевания почек.

Как свидетельствуют полученные нами данные (табл. 1), в сыворотке крови крыс при гипермикрэлементозе меди достоверно понижается содержание  $T_3$  и  $T_4$  при выраженном повышении ТТГ, т.е. у животных имеет место гипотиреоз.

Таблица 1

### Содержание гормонов в сыворотке крови крыс при введении повышенных концентраций меди

Гормоны	Крысы	
	Контроль n=20	Опыт n=20
$T_3$	1,85±0,12	1,09±0,03 p<0,05
$T_4$	57,82±1,08	48,35±3,02 p<0,01
ТТГ	2,11±0,17	3,25±0,27 p<0,01
инсулин	0,63±0,04	0,58±0,05 p<0,02
кортикостерон	14,52±1,28	20,11±1,63 p<0,01

p – достоверность отличий по сравнению с контрольной группой.

Вероятно, причиной снижения синтеза тиреоидных гормонов является установленное нами снижение содержания кобальта в крови и тканях животных при гипермикрэлементозе меди [6]. Из литературных данных известно, что кобальт необходим для синтеза тиреоидных гормонов, при гипозэлементозе кобальта отмечается гипотиреоз [13]. Другой возможной причиной снижения секреции  $T_3$  и  $T_4$  может быть выявленное нами увеличение содержания в сыворотке крови ФНО- $\alpha$  (табл. 1, 2). Из литературных данных известно, что имеется прямой дозозависимый ингибиторный эффект ФНО- $\alpha$  на продукцию тиреоидных гормонов в щитовидной железе, проявляющийся в уменьшении захвата радиоактивного иода и  $H^3$  – тимидина тиреоцитами, дефицитом сывороточных  $T_3$  и  $T_4$  и пониженной реакцией щитовидной железы на введение ТТГ [11]. Еще одной возможной причиной является дефицит сывороточного белка (свободные  $T_3$  и  $T_4$  фильтруются в почках) [12].

Следует отметить, что у больных с нефротическим синдромом, у которых скорость клубочковой фильтрации сохранена в достаточной степени, обнаруживаются признаки гипотиреоза [8]. Отмечается, что изменение продукции тиреоидных гормонов может оказать существенное влияние на структуру и функцию почек (16). При сдвигах секреции тиреоидных гормонов в



той или иной степени страдают почечная гемодинамика, специфические процессы транспорта в почечных канальцах и почечный метаболизм соли и воды [3].

Таблица 2

**Содержание интерлейкинов в сыворотке крови крыс при введении повышенных концентраций меди**

Интерлейкины	Крысы	
	Контроль n=20	Опыт n=20
ФНО-α	1,33±0,12	4,25±0,08 p<0,001
ИЛ-1β	11,02±1,0	10,45±0,92 p>0,05
РАI-1	2,13±0,12	1,89±0,17 p>0,05

p – достоверность отличий по сравнению с контрольной группой.

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, в сыворотке крови достоверно увеличено содержание ФНО-α, концентрация же ИЛ-1β практически не отличается от уровня у контрольных животных. По-видимому, повышение концентрации меди в почках, выявленные в наших исследованиях [6], приводит к активации лейкоцитов и, в большей степени, мезангиальных клеток клубочков и увеличению, в связи с этим, продукции провоспалительного цитокина. Установлено, что ИЛ-1β, ИЛ-1α и ФНО-α стимулируют пролиферацию мезангиальных клеток и связанное с ней накопление внеклеточного матрикса [11]. Поэтому, выявленное нами повышение уровня ФНО-α может иметь прямое отношение к развитию патологии почек.

Полученные нами данные свидетельствуют о повышении концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс при гипермикроэлементозе меди. По-видимому, повышение уровня гормона связано с наличием воспалительного процесса в почках и повышением продукции ФНО-α.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что при гипермикроэлементозе меди имеют место нарушения в секреции тиреоидных гормонов и кортикостерона, которые определяют особенности метаболизма в печени и почках крыс: кортикостерон повышает липогенез в почках, снижение тиреоидных гормонов способствует задержке воды, нарушению катаболизма липидов.

Проведенные нами эксперименты показали, что употребление животными кобальта в повышенной концентрации приводит к его накоплению в тканях и увеличению содержания в сыворотке крови [6]. Установлено, что избыточное поступление кобальта приводит к развитию дисбаланса в содержании других биогенных элементов [6]. В частности, нами выявлено снижение содержания цинка. Как известно, цинк необходим для стабилизации молекулы инсулина. Кроме того, биохимическими и морфологическими методами выявлено наличие гломерулонефрита у животных при гипермикроэлементозе кобальта. Из литературных данных известно, что катаболизм инсулина осуществляется в почках и может нарушаться при их патологии [8]. Проведенные нами исследования выявили достоверное увеличение содержания инсулина в сыворотке крови крыс при гиперэлементозе кобальта (таблица 3). Возможными причинами увеличения содержания инсулина являются нарушения его катаболизма в почках (и в результате – пролонгированием периода его жизни) и выявленное нами достоверное повышение концентрации ИЛ-1β, который способствует усилению экскреции инсулина. Анализ содержания глюкозы натощак выявил, что у крыс с экспериментальным гипермикроэлементозом концентрация глюкозы в сыворотке крови достоверно выше, чем у животных контрольной группы (контроль 5,68 ± 0,24 мМ/л; опыт 6,75 ± 0,42 мМ/л).

Таблица 3

**Содержание гормонов и интерлейкинов в сыворотке крови крыс при введении повышенных концентраций кобальта**

Концентрация гормонов	Крысы	
	Контроль n=20	Введение кобальта n=20
T <sub>3</sub>	1,85±0,12	3,00±0,22 p<0,02
T <sub>4</sub>	57,82±1,08	63,12±3,55 p<0,02
ГПГ	2,11±0,17	1,65±0,12 p<0,03
Инсулин	0,63±0,04	0,78±0,05 p<0,05
Кортикостерон	14,52±1,28	10,00±0,94 p<0,02

p – достоверность отличия по сравнению с контрольной группой.



Следовательно, имеет место развитие инсулинорезистентности, которое может быть вызвано установленной нами значительно повышенной секрецией ФНО- $\alpha$ . Из литературных данных известно, что ФНО- $\alpha$  способствует развитию инсулинорезистентности [11].

Как видно из приведенных в таблице 3 данных, при гипермикрэлементозе кобальта отмечается увеличение содержания  $T_3$  и  $T_4$  в сыворотке крови при небольшом снижении концентрации ТТГ, что может свидетельствовать о наличии гипертиреоза. Однако, выявленные нами изменения могут быть связаны с уменьшением конверсии  $T_4$  и  $T_3$  в гепатоцитах и почках при патологии почек. Увеличенное содержание  $T_3$  в этом случае связано с повышенным содержанием обратного  $T_3$  (т.е. неактивной формы) [13]. Выявленные нами особенности эндокринного статуса животных существенным образом влияют на направленность обмена липидов и углеводов. Известно, что при гипертиреозе усиливается в печени синтез холестерина, триглицеридов, жирных кислот и образование ЛПНП, модифицируется липидный состав клеточных и субклеточных мембран [1]. Инсулин активирует липогенез, снижает липолиз. Метаболические нарушения такой направленности способствуют развитию и прогрессированию нефропатий.

Таблица 4

#### Содержание интерлейкинов в сыворотке крови крыс при введении повышенных концентраций кобальта

Концентрация гормонов	Крысы	
	Контроль n=20	Введение кобальта n=20
ФНО - $\alpha$	1,33 $\pm$ 0,12	3,95 $\pm$ 0,27 p<0,001
ИЛ -1 $\beta$	11,02 $\pm$ 1,00	24,12 $\pm$ 1,37 p<0,001
РАI -1	2,13 $\pm$ 0,12	4,45 $\pm$ 0,32 p<0,001

p – достоверность отличия по сравнению с контрольной группой.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при гипермикрэлементозе кобальта достоверно снижается содержание кортикостерона в сыворотке крови крыс. В литературе имеются сведения о том, что увеличение ИЛ-1 $\beta$  (выявленное нами у крыс при гиперэлементозе кобальта, табл. 4) приводит к повышению синтеза кортикостатина и, вследствие этого, к снижению синтеза кортикостероидов. По-видимому, это и является причиной выявленной нами особенности в содержании кортикостерона. Известно, что ИЛ-1 $\beta$  способен непосредственно воздействовать на ЦНС, стимулируя гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему и синтез многих гормонов [14], в том числе тиреоидных и инсулина. Кроме того, ИЛ-1 $\beta$  увеличивает синтез колагеназы, эластазы, активатора плазминогена. В то же время ФНО- $\alpha$  активирует высвобождение РАI – I – ингибитора активатора плазминогена 1, подавляющего фибринолиз. Проведенные нами исследования выявили увеличение содержания РАI – I в сыворотке крови животных (табл.4) при экспериментальном гипермикрэлементозе кобальта (по-видимому, под влиянием значительного увеличения концентрации ФНО- $\alpha$ ), что свидетельствует о снижении у них фибринолиза и отложении фибрина, способствующем прогрессированию патологии почек.

**Выводы.** При нефропатии, вызванной гипермикрэлементозом меди, у крыс снижается концентрация  $T_3$ ,  $T_4$ , инсулина и повышается – кортикостерона. При нефропатии, вызванной гипермикрэлементозом кобальта, у крыс развивается инсулинорезистентность, снижается секреция кортикостерона и провоспалительных интерлейкинов. Обнаруженные нами изменения в содержании гормонов и провоспалительных интерлейкинов в условиях двух моделей нефропатий, вызванных гиперэлементозами обуславливают появление метаболических нарушений, способствующих развитию и прогрессированию нефропатий.

#### Литература

1. Бабенко, Г.А. О влиянии микроэлементов на обмен веществ и реактивность организма / Г.А. Бабенко // Биологическая роль микроэлементов и их применение в сельском хозяйстве и медицине. – М.: Наука, 1974. – С. 61–76.
2. Бабенко, Г.А. Некоторые итоги и актуальные вопросы проблемы микроэлементов, металлоферментов а клинической медицине / Г.А. Бабенко // Ферменты, металлы и металлоферменты в диагностике и лечении. – Матер. респ. конф. 19 – 21 октября 1982 г. – Ивано-Франковск, 1982. – С. 3–6.
3. Белецкая, О.М. Патогенез и перспективы лечения синдрома низкого трийодтиронина при тиреоидных заболеваниях / О.М. Белецкая. – Харьков, ХНУВ. – 1992. – С. 84.
4. Головачева, В.А. Экзогенные факторы развития нефропатий у детей / В.А. Головачева, Ю.В. Одинец // Одесский медицинский журнал. – 2009. – № 4 (114). – С. 29 – 33.



5. Игнатова, М.С. Терапевтические подходы к экотоксикологии у детей / С.И. Игнатова, М.С. Игнатова // Лечение соматических заболеваний у детей. – М.: Стар Ко, 1996. – С. 38-44.
6. , С.Н. Модель экотерминированной нефропатии / С.Н. , Е..Э. Перекий // „Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія”. – Харків. – 2010. – Вип. 11 (№ 905). – С. 20-31.
7. Скальный, А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение): Практическое руководство для врачей и студентов медицинских вузов / А.В. Скальный. – М., 1997. – С. 8-38.
8. Тареева, Н.Е. Нефрология / под ред. Тареевой Н.Е. – М.: Медицина. – 2000. – 688 с.
9. Abu- Zinadah, O.A. / The potential of stem cells to correct the lost tissue mass in liver and kidney of rat after copper toxicity // Insight Stem Cell Research. – 2011. – № 1. – P. 1-5.
10. Copra, I.J. Pathways of metabolism of thyroid hormones / I.J. Copra, D.N. Solomon, U. Chopra // Rev. Prog. Horm. Res. – 1998. – V. 34. – P. 521-567.
11. Cytokines and growth factors in renal disease / L.I. Noronka., Z. Niemir, N Steih [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 1995. – № 10. – P. 775-788.
12. Jha, V. Community-acquired acute kidney injury in Asia / V. Jha, K. S. Chugh // Semin. Nephrol. – 2008, Jul. – № 28(4). – P. 330-347.
13. Modsen, M. The low T<sub>3</sub> state: an experimental study: Diss. Linkoping Univ. – Linkoping. – 1986. – № 7. – P. 43-54.
14. Sato, K. Inhibition of <sup>125</sup>I organification and thyroid hormone release by tumor necrosis factor alpha and interferon-γ in human thyrocytes in suspension culture / K Sato., D. Han, M. Orawa // Proceeding of the International Endocrine Society. – Kyoto, Japan. – 1988. – P. – 154-156.
15. Weisse, M. Effects of T<sub>3</sub>-administration in patients with renal or maintenance hemodialysis / In Hesch R.D. (ed) // The „Low T<sub>3</sub>- syndrome”. Sero Symposia. – London. 1981. – V. 40. – P. 167-169.

## **THE CONTENT OF SEVERAL HORMONES AND INTERLEUKINS IN NEPHROPATHY CAUSED BY COPPER AND COBALT HYPERMICROELEMENTOSES**

**S.N. MARTYNOVA**  
**V.I. ZHUKOV**  
**V.G. GOPKALOV**

*Kharkov State Medical University*

*e-mail: smart5@ukr.net*

The content of several hormones and proinflammatory interleukins was studied in serum of rats with nephropathies, caused by copper and cobalt hypermicroelementoses. The noticeably decreased levels of insulin, thyroxine, triiodothyronine, increased level of TSH, elevated concentration of TNF-α and corticosterone were observed in serum of rats with copper hypermicroelementosis. Elevation of insulin, IL-1β, TNF-α, thyroxine, triiodothyronine, and insignificant decrease of TSH were seen in serum of rats with cobalt hypermicroelementosis. Observed endocrine disorders underlie metabolic changes that accompany the progress of the nephropathy, caused by accumulation of metals in renal interstitium.

Keywords: rats, cobalt, copper, kidneys, nephropathies, interleukins, cytokines, thyroxine, triiodothyronine, corticosterone.