© В.В.Барабанова, О.Н.Береснева, 1998
УДК 612.444.067:611.149.062:616.61-008.64-036.12:599.323.4

В.В. Барабанова, О.Н. Береснева

ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ ПАРАТИРЕОИДНЫЙ ГОРМОН ОСНОВНЫМ ПОВРЕЖДАЮЩИМ ФАКТОРОМ СОСУДОВ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ?

V.V. Barabanova, O.N. Beresneva

IS THE PARATHYROID HORMONE THE MAIN TOXIC FACTOR FOR LIVER VESSELS IN EXPERIMENTAL CHRONIC RENAL FAILURE?

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Исследовали влияние паратиреоидного гормона (ПТГ) и нефрэктомии на морфофункциональное состояние сосудистого русла печени, активность щелочной фосфатазы в эндотелии микрососудов печени и авторитмическую сократительную активность воротной вены крыс. Установлено, что нефрэктомия (1 мес) и введение ПТГ (7 дней) повышали активность щелочной фосфатазы микрососудов печени и сократительную активность воротной вены. Длительное применение ПТГ (14 дней) и нефрэктомия (2 мес) вызывали подавление функциональной активности гладкомышечных клеток воротной вены. Отмечается, что морфофункциональные изменения в печени носят однонаправленный характер у крыс, получавших инъекции ПТГ и крыс, подвергнутых нефрэктомии.

Ключевые слова: печень, нефрэктомия, паратиреоидный гормон, воротная вена.

ABSTRACT

Under investigation was the effect of the parathyroid hormone and nephrectomy on the morpho-functional state of the liver vessels, activity of alkaline phosphatase in the liver microvessel epithelium and activity of spontaneous phasic contractions of the portal vein in rats. It has been shown that nephrectomy (during 1 month) and PTH (during 7 days) significantly increase activity of alkaline phosphatase of the liver microvessels and of spontaneous contractions of the portal vein. Long-term treatment (during 14 days) with PTH and nephrectomy (during 2 months) were shown to decrease contractile activity of the vascular smooth muscle cells of the portal vein. The morpho-functional alterations were found to have similar character both in rats subjected to renal mass ablation and in those given PTH.

Key words: liver, nephrectomy, parathyroid hormone, portal vein.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время возрос интерес к исследованию механизмов токсического действия паратиреоидного гормона (ПТГ) на клетки органов и тканей, которые не являются классическими органами-мишенями для гормона. Это — клетки миокарда [2, 13], висцеральных и сосудистых гладких мышц [15], поджелудочной и вилочковой желез [9], нейронов головного мозга [6]. В некоторых из названных тканей установлено наличие рецепторов к гормону, в частности, в кардиомиоцитах [12]. Результаты ряда исследований показали, что в большей степени повреждающее действие гормона проявляется в тканях, которые до сих пор в общепринятом понимании не являются мишенями для ПТГ. Интерес к токсическому действию ПТГ вызван фактом развития вторичного гиперпаратиреоза при ряде состояний, в частности при хронической почечной недостаточности (ХПН).

Учитывая, что именно печени принадлежит ключевая роль в расщеплении интактного ПТГ как в норме, так и при патологии [8], определенный интерес представляет исследование действия гормона на гепатоциты, микрососуды печени и воротную вену. В доступной литературе имеются лишь единичные работы, в которых исследовано влияние ПТГ на гепатоциты [10]. Влияние ПТГ на сосуды печени практически не исследовано.

Цель настоящей работы — сравнительный анализ морфофункциональных изменений мик-

рососудов печени и воротной вены (ВВ) у крыс с ХПН, которая сопровождается развитием вторичного гиперпаратиреоза, и у животных с первичным экспериментальным гиперпаратиреозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 65 самцов крыс линии Wistar. Исследование выполнено на препаратах ткани печени и воротной вены. Использованы следующие группы животных: 1) интактные крысы; 2) крысы, получавшие ежедневно внутрибрюшинные инъекции паратиреоидного гормона (10 ЕД на 100 г массы тела) в течение 7 и 14 дней; 3) крысы, которым в два этапа (с интервалом в 1 нед) была выполнена билатеральная резекция $^5/_6$ массы почки. Животных забивали на 14-, 30-е и 60-е сутки после нефрэктомии (НЭ).

Извлеченные при забое кусочки печени помещали в раствор 10% нейтрального формалина, заливали в парафин и изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, реактивом Шиффа.

Параллельно блоки ткани печени замораживали в жидком азоте. Из замороженных кусочков в микротоме-криостате изготавливали срезы, на которых выявляли щелочную фосфатазу (ЩФ) методом азосочетания. Активность ферментов оценивалась количественно прямым фотоэлектрическим способом на цитоспектрофотометре (МЦФ-У2) в эндотелии микрососудов печени.

Статистическая обработка осуществлялась на IBM PCAT по программе «САНТАД» для математической обработки гистоэнзимологических данных [5].

После забоя у крыс также выделяли фрагменты воротной вены, которые использовали для исследования авторитмической сократительной активности в изометрическом режиме. Одновременно с записью на диаграмной ленте самописца Н-327-1 осуществлялась регистрация и последующая обработка сократительной активности воротной вены на ЭВМ «Правец-8».

В полученных при забое образцах крови определяли содержание мочевины, радиоиммунологическим методом — уровень ПТГ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При радиоиммунологическом исследовании выявили увеличение уровня ПТГ как в крови животных, подвергнутых НЭ, так и у крыс, получавших внутрибрюшинно инъекции гормона. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Уровень паратиреоидного гормона крови экспериментальных животных ($\bar{X}$±m)

Группа животных	Содержание ПТГ, пг/мл
Контроль (n=15)	60,0±12,3
Нефрэктомия:	
14 дней (n=7)	107,7±9,7*
30 дней (n=13)	104,2±8,4*
60 дней (n=10)	168,7±12,5*
Введение ПТГ (n=12)	122,7±15,3*

* Различия статистически достоверны по сравнению с контрольной группой (p< 0,01).

Светооптическое исследование препаратов ткани печени крыс, подвергнутых нефрэктомии, показало, что уже на 14-е сутки наблюдается расширение синусоидов (в 20% случаев), регистрируется венозное полнокровие сосудов (в 10% случаев), обнаруживается активация клеток Купфера, увеличивается количество двуядерных гепатоцитов. На 30—60-е сутки после НЭ (уровень мочевины крови: 16,0±4,2 и 16,7±2,2 ммоль/л, соответственно) в печени всех животных (n=20) регистрируется венозное полнокровие и расширение синусоидов, которые в наибольшей степени выражены на 60-е сутки. Отмечается наличие микротромбов в венозной системе. К данным изменениям (на 60-е сутки эксперимента) присоединяюся некрозы гепатоцитов, как моноцеллюлярные, так и мелкоочаговые, а местами — сливающиеся.

В печени крыс, получавших инъекции ПТГ (содержание мочевины крови: 7,55±0,25 ммоль/л), наблюдались аналогичные изменения гемодинамики, выражающиеся в расширении синусоидов, венозном полнокровии, утолщении стенок венозных сосудов и наличия в них микротромбов. Микротромбы обнаруживались не только в системе портальной, но и в печеночной вене.

При количественном гистоэнзимологическом анализе выявили изменение активности щелочной фосфатазы в эндотелии микрососудов печени крыс, подвергнутых НЭ, и крыс, получавших инъекции ПТГ. Так, у животных, подвергнутых НЭ, активность ЩФ достоверно повышается на 14-е и 30-е сутки (на 31,8% и 18,8%, соответственно) и снижается на 60-е сутки (в среднем, на 33,4%) по сравнению с контролем. У крыс, получавших инъекции ПТГ, отмечается повышение активности ЩФ в эндотелии микрососудов печени, в среднем, на 45%.

Исследование функциональной активности ВВ крыс, подвергнутых НЭ, показало, что через 14 дней после уменьшения массы функционирующих нефронов авторитмическая сократительная активность ВВ изменяется незначительно. Достоверно увеличивается лишь частота спонтанных сокращений.

Через 1 мес после НЭ у животных наблюдается резкое повышение функциональной активности ВВ, выражающееся в увеличении частоты сокращений и выполняемой веной работы (характеризуется показателем — площадь под кривой сокращений за 1 мин).

Через 2 мес после НЭ наблюдается выраженное снижение сократительной активности ВВ, проявляющееся в снижении общей амплитуды фазно-тонических сокращений и выполняемой веной работы (табл. 2).

На рис. 1 представлена запись миограмм, характерных для сократительной активности ВВ контроль-

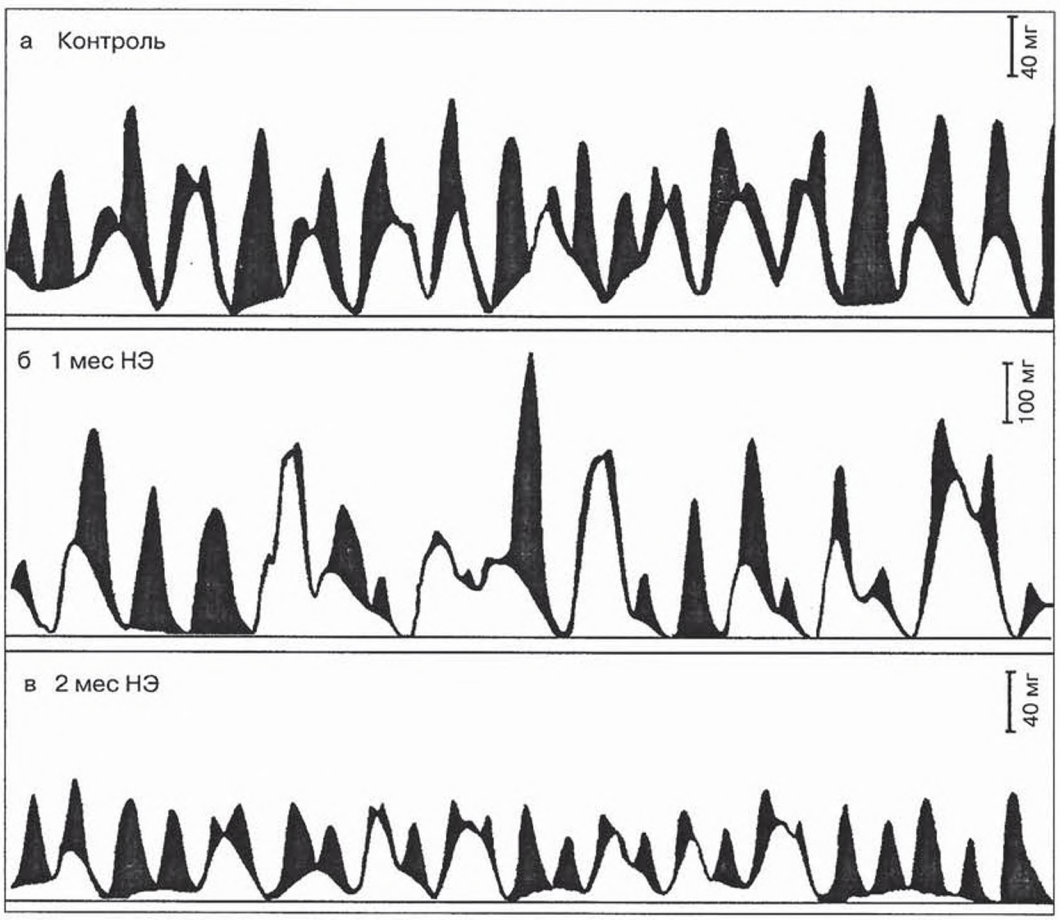
Таблица 2

Функциональная активность воротной вены крыс, подвергнутых нефрэктомии, и крыс, получавших инъекции паратиреоидного гормона ($\bar{X}\pm m$)

Группа животных	Частота сокращений в 1 мин	Общая амплитуда фазно-тонических сокращений, мН	Площадь под кривой сокращений за 1 мин, усл. ед.
Контроль (n=20)	18,2±2,2	1,19±0,11	3769,0±221,4
Нефрэктомия:			
14 дней (n=8)	27,0±2,7*	1,09±0,12	3567,2±219,5
30 дней (n=12)	23,0±2,5	1,96±0,11*	6843,0±209,3*
60 дней (n=9)	28,7±3,0*	0,63±0,10*	2343,3±115,1*
ПТГ:			
7 дней (n=12)	17,4±1,5	2,10±0,12*	5867,3±130,2*
21 день (n=14)	20,6±1,9	0,84±0,09*	2466,4±115,4*

* Различия достоверны в сравнении с контролем, p<0,01.

I



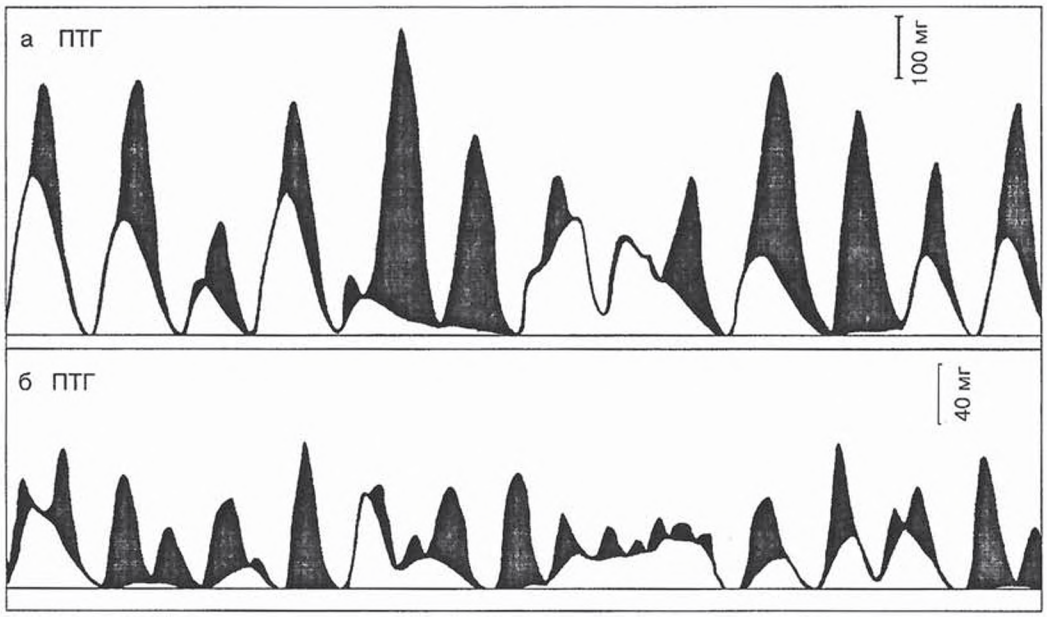
II

Name	f	A (F)	A (T)	S (F)	F/F+T	V+	V–	S (Fs)	S (Ts)	S (F+T)	A (F+T)
а	26	77,56	35,63	75,76	47,95	6,49	6,23	1969,69	2137,75	4107,44	109,73
б	23	145,35	64,10	124,07	41,51	11,20	10,04	2729,44	3845,90	6575,34	185,85
в	27	50,54	13,23	39,41	56,34	4,66	3,80	1024,71	794,06	1818,77	62,66

Рис. 1. Функциональная активность гладкомышечных клеток воротной вены крыс.

I — оригинальная миограмма (машинная графика; время записи — 1 мин); II — абсолютные значения (средние величины за 1 мин) регистрируемых параметров фазно-тонических сокращений. Объяснения в тексте.

I



II

Name	f	A (F)	A (T)	S (F)	F/F+T	V+	V–	S (Fs)	S (Ts)	S (F+T)	A (F+T)
а	16	226,04	63,79	256,64	51,76	10,12	10,51	4106,30	3827,44	7933,74	258,70
б	24	50,62	16,76	50,50	53,60	3,82	3,03	1161,52	1005,47	2166,99	65,76

Рис. 2. Функциональная активность воротной вены крыс, получавших инъекции паратиреоидного гормона (10 ЕД на 100 г массы тела в день).
I — оригинальная миограмма (машинная графика, время записи — 1 мин); II — абсолютные значения (средние величины за 1 мин) регистрируемых параметров фазно-тонических сокращений. Объяснения в тексте.

ной крысы и животных, подвергнутых НЭ (машинная графика, первичная обработка).

Исследование сократительной активности ВВ крыс, получавших инъекции ПТГ, позволило выявить два направления изменений, аналогичных отмеченным у животных, подвергнутых НЭ (табл. 2). Через 7 дней после начала введения ПТГ у крыс наблюдалось увеличение функциональной активности ВВ, которое проявлялось в повышении общей амплитуды фазно-тонических сокращений (в среднем, на 74,5%), выполняемой веной работы (в среднем, на 50,2%). Через 14 дней наблюдалось подавление сократительной активности ВВ, выражающееся в снижении общей амплитуды фазно-тонических сокращений (на 30,7%) и выполняемой веной работы (на 57,0%) по сравнению с контролем.

На рис. 2 представлена запись миограмм, характерных для сократительной активности ВВ крыс, получавших инъекции ПТГ в течение 7 дней (а) и 14 дней (б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что под влиянием чрезмерных и длительных стрессорных воздействий вместо мобилизации крови из портального русла и функции кровообращения в целом имеет место уменьшение массы циркулирующей крови. В патогенезе подобных состояний важную роль играет нарушение сократительной активности и адренореактивности емкостных сосудов — вен, в которых депонируется избыточное количество крови [4]. Поскольку одним из главных резервуаров крови в организме служит портальное русло, постольку эти нарушения наиболее выражены в воротной вене, ритмичные сокращения которой играют важную роль в своевременном возврате крови из портального русла в большой круг кровообращения.

Результаты проведенных нами исследований показывают, что удаление $^{5}/_{6}$ массы почек вызывает реакцию сосудистой системы печени, подобную той, которая имеет место при сильнейшем болевом стрессе [4]. То же можно сказать и о экспериментальном гиперпаратиреозе. И в том, и в другом случае наблюдается резкое снижение активности ГМК ВВ, расширение синусоидов печени, венозное полнокровие, свидетельствующее о росте объема депонированной в печеночном бассейне крови.

Развитие описанных выше изменений в микрососудах печени и портальной вене проходило через отчетливо выраженную фазу активации ГМК, которая имеет место в период адаптивной гипертрофии ВВ и период гиперфильтрации, отмеченной при развитии ХПН. Известно, что гипертрофия является универсальной

адаптивной реакцией на многочисленные достаточно длительные воздействия. Она возникает в ответ на перегрузку давлением, объемом, при гипоксии, действии ряда физиологически активных веществ, прежде всего гормонов [3]. Именно в период увеличения массы печени проявляется усиление сократительной активности ГМК ВВ, отмеченное нами как при экспериментальной ХПН, так и при развитии первичного гиперпаратиреоза. И в том, и в другом случае гипертрофия может быть обусловлена, наряду с перечисленными выше факторами, прямым стимулирующим влиянием ПТГ на фибробласты [13].

Кроме перераспределения объема циркулирующей крови в микрососудах венозной системы обнаружено наличие микротромбов как в период активации ЩФ в эндотелии этих микрососудов, так и в период снижения ее активности на 60-е сутки после нефрэктомии.

Повышение активности ЩФ в микрососудах печени, отмеченное в период гиперактивности ГМК ВВ у крыс исследованных групп, свидетельствует об активации трансэндотелиального транспорта в микрососудах. Возможно, в этот период повышается проницаемость сосудистой стенки и для воды, что приводит к развитию стаза и сладжа с последующим появлением микротромбов [7].

Однонаправленность изменений в микрососудах исследуемых экспериментальных групп животных позволяет предположить определяющую роль ПТГ в формировании этих изменений.

Так как микротромбы обнаружены не только в системе портальной вены, но и печеночной, можно полагать, что при повышении уровня ПТГ в крови, в печени крыс развиваются генерализованные нарушения гемодинамики. Такое предположение правомерно еще и потому, что в специальной серии исследований, выполненной на микрососудах брыжейки интактных крыс, мы обнаружили, что аппликация ПТГ вызывает быстрое повышение проницаемости сосудистой стенки для воды, сладж и стаз (неопубликованные данные). Не исключено, что, наряду с этим, развитие микротромбов обусловлено прямым стимулирующим влиянием ПТГ на фиброз [13]. В период снижения трансэндотелиального транспорта наблюдается уменьшение активности ЩФ и авторитмической сократительной активности, когда формируется ХПН II степени, возрастает число микротромбов в сосудистом русле печени. Период низкой функциональной активности ВВ как при ХПН II степени, так и при действии высоких доз ПТГ, характеризуется ростом венозного полнокровия, еще большим расширением синусоидов, снижением объема циркулирующей крови. Каков механизм достижения контрактильного резерва ГМК ВВ — максимальный рост авторитмической сократительной активности у крыс исследованных групп с последующим его падением? Рост амплитуды фазно-тонических сокращений и при развитии ХПН, и при формировании первичного гиперпаратиреоза обусловлен стимуляцией обмена кальция в ГМК сосудов [1]. Падение сократимости ГМК может быть следствием, прежде всего, нарушения энергетической функции, утилизации энергии. Очевидно, что причиной этих нарушений являются процессы, происходящие в митохондриях вследствие перегрузки последних ионами кальция, приводящей к нарушению энергетической продукции [11]. Именно избыток ионов кальция в митохондриях лежит в основе токсического действия ПТГ [10, 14] на клетки различных тканей.

Однонаправленность гемодинамических и ферментативных нарушений, происходящих в сосудистом русле печени и функциональной активности ГМК ВВ у животных с первичным экспериментальным гиперпаратиреозом и вторичным — при экспериментальной ХПН — дает основания полагать определяющую патогенетическую роль ПТГ и в том, и в другом случае. Подтверждением вышесказанного положения служат результаты опытов (in vitro).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволяют провести анализ роли ПТГ в формировании патогенетических изменений в сосудах печени крыс после экспериментального уменьшения массы функционирующих нефронов. Учитывая однонаправленность ферментативных и гемодинамических нарушений в сосудистом русле печени и изменений авторитмической сократительной активности ВВ у животных, получавших инъекции гормона, и животных, подвергнутых нефрэктомии, а также факт увеличения концентрации ПТГ в крови крыс после нефрэктомии, можно полагать, что паратиреоидному гормону принадлежит существенная роль в формировании изменений в печени при экспериментальном уменьшении массы функционирующих нефронов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабанова В.В., Савина Е.Е., Шаляпина В.Г. Изменения сократительной активности воротной вены под влиянием паратиреоидного гормона // Физиол. журн. СССР.— 1987.—Т. 73, № 8.—С. 1116—1117.

2. Барабанова Т.А. Влияние паратиреоидного гормона на механическую активность миокарда. // Автореф.... дис. канд.— СПб., 1996.

3. Мархасин В.С., Изаков В.Я., Шумаков В.И. Физиологические основы нарушения сократительной функции миокарда. — СПб.: Наука, 1994.— 246 с.

4. Меерсон Ф.З. Развитие некоторых идей В.В.Парина в физиологии и патофизиологии кровообращения // Успехи физиол. наук.— 1983.— Т. 14, № 2.— С. 7—27.

5. Равкин И.А. Некоторые методы математической обработки гистоэнзимологических данных // Введение в количественную гистохимию ферментов / Ред. Т.Б.Журавлева, Р.А.Прочуханов.—М.: Медицина, 1978.—С. 184-196.

6. Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян А.С. Нервная клетка — мишень для действия паратиреоидного гормона // Успехи физиол. наук. — 1992.—Т. 23, № 1.— С. 92—102.

7. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция.— М.: Медицина, 1984.— 428 с.

8. Daugaard H. Metabolism of N-terminal and C-terminal parathyroid hormone fragments by isolated perfused rat kidney and liver // Endocrinology.— 1994.— Vol. 134, № 3.— P. 1373—1381.

9. Fadda G.T., Thanakitcharu P., Smogorzewski M., Massry S.G. Parathyroid hormone raises cytosolic calcium in pancreatic islets: study on mechanisms // Kidney Int.—1993.— Vol. 43 — P. 554—560.

10.Klin M. Mechanisms of PTH-induced rise in cytosolic calcium in adult rat hepatocytes // Amer. J. Physiol.—1994.— Vol. 267, № 5.—P. 754 — 763.

11. McCormack J., Halestrap A., Denton R. Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism // Physiol. Rev.— 1990.— Vol. 70, № 2.—P. 391—425.

12. McCuaig K.A. Parathyroid hormone/ parathyroid hormone related peptide receptor gene transcripts are expressed from tissue-specific and ubiqitous promoters // Nucleic. Acids. Res.— 1995.— Vol. 23, № 11.—P. 1948—1955.

13. Smogorzewski M. PTH, chronical renal failure and myocardium. // Mineral. Electrolyte Metab.—1995.—Vol. 21, № 1—3.—P. 55—62.

14. Smogorzewski M., Zayed M., Zhang J. et al. Parathyroid hormone increased cytosolic calcium concentration in adult rat cardiac myocytes // Amer. J. Physiol.— 1993. — Vol. 264, № 6.—P. 1998—2006.

15. Wang R., Karpinski E., Pang P. Parathyroid hormone selectively inhibits L-type calciume channels in single vascular smooth muscle cells of the rat // Porit. J. Physiol.—1991.— Vol. 441.—P. 325—346.

Вышло в свет практическое пособие
А.Г. Кучера, И.Г. Каюкова, А.М. Есаяна, Ю.А. Ермакова
«Лечебное питание при хронической почечной недостаточности».—
СПб.: Эскулап, 1997.—120 с.

В книге рассмотрены пути развития хронической почечной недостаточности (ХПН), правила диетической терапии больных с ХПН как в додиализном периоде, так и при лечении поддерживающим гемодиализом. Даны подробные меню раскладки диет, применяемых в комплексном лечении пациентов с ХПН.

Книга предназначена для больных с различными стадиями хронической почечной недостаточности, может быть полезной для врачей-нефрологов и диетологов, среднего медицинского персонала нефрологических и диализных отделений.

По вопросам приобретения обращаться к А.Г. Кучеру по адресу:
197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17,
тел. (812) 234-19-06.