

Особливості структури хроноритмів іонорегулювальної функції нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози

С.Б. Семененко, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук, С.Ю. Каратєєва, В.В. Анцупова

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці; e-mail: semenenko.svitlana@bsmu.edu.ua

У роботі досліджено особливості хроноритмічних перебудов іонорегулювальної функції нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Для вивчення гіпофункції епіфіза тварин утримували в умовах постійної світлової стимуляції впродовж 7 діб. Встановлено, що гіпофункція шишкоподібної залози спричиняє порушення циркадіанної організації іонорегулювальної функції нирок порівняно з контрольною групою тварин. За умов фізіологічної пінеалектомії спостерігали підвищення екскреції іонів натрію ($6,11 \pm 0,81$ ммоль/год), а його концентрація в плазмі крові залишалася підвищеною цілодобово. Отримані результати вказують на істотні зміни інтегральних характеристик ритмів показників електролітного обміну та вагому роль шишкоподібної залози у забезпеченні фізіологічного гомеостазу.

Ключові слова: циркадіанний ритм; нирки; шишкоподібна залоза.

ВСТУП

Нині у сучасній фізіології з'ясування хроноритмічних аспектів нейрогуморальних та внутрішньоклітинних механізмів регуляції гомеостазу залишається одним з найбільш актуальних питань [1]. Ритмічність розглядається як обов'язкова властивість живої матерії на всіх рівнях організації [2], а вивчення ритмів функціонування різних систем організму, чинників, що впливають на їх формування, представляє безпосередній інтерес для сучасної біології і медицини [3]. Біологічні ритми – періодично повторювані зміни характеру й інтенсивності фізіологічних процесів і явищ, котрі властиві біосистемам на всіх рівнях організації [4]. Прийнято концепцію про циркадіанну систему організму, функціональними ланками якої є шишкоподібна залоза, що відіграє важливу роль у процесах адаптації до дії різних чинників довкілля та супрахіазматичні ядра гіпоталамуса, які розглядаються як основний генератор біорит-

мів більшості функцій організму [5]. Нирки також характеризуються чіткою часовою збалансованістю функцій [6], однак, особливості циркадіанної організації та механізми біоритмічної регуляції ниркових функцій залишаються недостатньо вивченими [7].

Світлові подразники як екзогенні фактори у формуванні добового ритму діяльності нирок опосередковуються і через шишкоподібну залозу [8]. Після пінеалектомії розвивається десинхроноз діуретичної реакції й іонорегулювальної функції нирок, що проявляється зменшенням амплітуди коливань, зміщенням ритму сечовиділення і калійурезу з нічного на денний період, а також компенсованим ацидозом, котрий супроводжується зменшенням виведення вільних іонів водню та амонію [9].

Мета нашої роботи – вивчити особливості структури хроноритмів іонорегулювальної функції нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

© С.Б.Семененко, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук, С.Ю. Каратєєва, В.В. Анцупова

МЕТОДИКА

Досліди провели на 72 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів масою 0,15-0,18 кг, тварин утримували в умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря на стандартному харчовому раціоні. До контрольної і дослідної груп ввійшло по 36 тварин, які впродовж 7 діб перебували за умов звичайного світлового режиму (12 год світло і 12 год темрява) і фізіологічної пінеалектомії (24 год освітлення) відповідно [10]. На 8-му добу тваринам проводили навантаження підігрітою до кімнатної температури водопровідною водою (5% від маси тіла) і досліджували показники іонорегулювальної функції нирок за умов форсованого діурезу [10]. Вивчали концентрацію, екскрецію, абсолютну та відносну реабсорбцію, проксимальний та дистальний транспорт іонів натрію, концентраційний індекс, натрій/калієвий коефіцієнт та кліренс іонів натрію [11].

Експерименти проводили з 4-годинним інтервалом упродовж доби. Дослідження в контрольних та дослідних тварин у нічний період доби проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, яке практично не впливає на біосинтез мелатоніну шишкоподібною залозою. Всі етапи експерименту здійснено з дотриманням основних вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до тварин.

Результати обробляли статистично методом “Косинор-аналізу”, а також параметричними методами варіаційної статистики. Діагностика функціональних особливостей ґрунтувалася на основі аналізу змін характеристик мезору, амплітуди, акрофази та форми кривої циркадіанного ритму. Отримані індивідуальні хронограми для кожної тварини групували за принципом ідентичності максимальної акрофази і фазову структуру (за інтервалом часу між акро- та батифазою).

Отримані експериментальні результати обробляли на персональних комп’ютерах пакетом програм EXCEL-2003 “Microsoft Corp.,

США”. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (\bar{x}), її дисперсії і похибки середньої (Sx). Для виявлення вірогідності відмінностей результатів у тварин використовували критерій t Стьюдента, після чого визначали вірогідність відмінності вибірок (P) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Стьюдента. Вірогідними вважали значення, для яких $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин, які перебували в умовах фізіологічної функції шишкоподібною залозою, динаміка екскреції іонів натрію впродовж доби була двофазною. Найвищу екскрецію спостерігали о 4.00, високі її рівні зберігалися до 8-ї години, а батифаза припадала на 24.00. Тенденцію до підвищення екскреції іона виявляли в ранковий та денний періоди доби з новим піком о 4.00 і поступовим спадом (рис. 1). Мезор ритму становив $6,11 \pm 0,81$ ммоль/год, амплітуда коливань не перевищувала 33 %. У перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату рівень екскреції іонів натрію впродовж доби становив $2,24 \pm 0,14$ ммоль/мкл з амплітудою 27 %. Хроноритм концентрації іонів натрію в сечі мав однофазний характер з акрофазою о 4.00 та батифазою о 20.00 (рис. 2) і мезором $3,91 \pm 0,19$ ммоль/л. Амплітуда ритму не перевищувала 29 % від

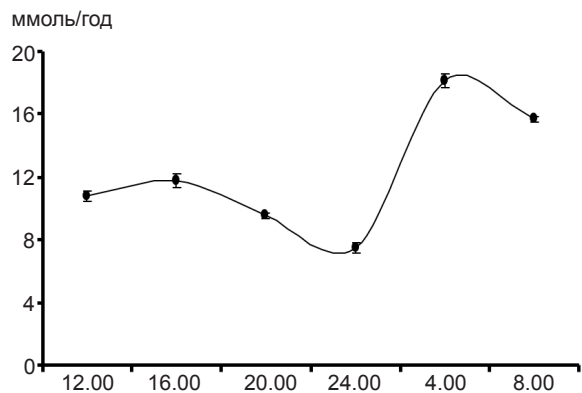


Рис. 1. Хроноритми екскреції іонів натрію (ммоль/год) у контрольних щурів

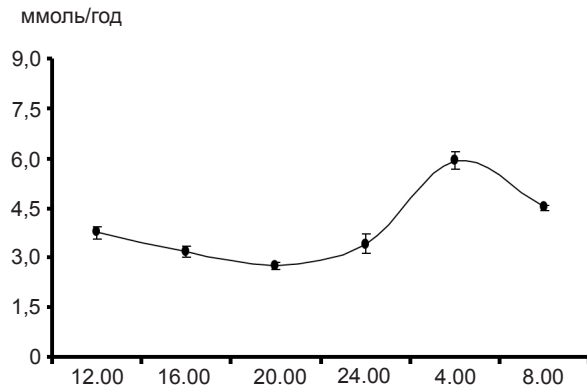


Рис. 2. Хроноритми концентрації іонів натрію в сечі (ммоль/л) у контрольних щурів

мезору. Фільтраційна фракція іонів натрію також змінювалась упродовж доби. Батифазу цього показника виявляли о 12.00, акрофазу — о 4.00. Мезор становив $77,11 \pm 3,18$ ммоль/хв з амплітудою 19 %. Аналогічно змінювалися показники абсолютної реабсорбції вказаного іона (таблиця). Середньодобовий рівень відносної реабсорбції іонів натрію сягав $99,92 \pm 0,02$ % з акрофазою о 24.00, що відповідало батифазі екскреції іонів натрію. Подібною архітектонікою відзначався ритм проксимального транспорту іонів натрію, тоді як у дистальному сегменті нефрона

Вплив гіпофункції шишкоподібної залози на мезор і амплітуду ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів ($\bar{x} \pm S$; n=36)

Показники	Контроль		Гіпофункція шишкоподібної залози	
	Мезор	Амплітуда, %	Мезор	Амплітуда, %
Концентрація іонів натрію у сечі, ммоль/л	$3,91 \pm 0,19$	$29,22 \pm 1,61$	$6,71 \pm 0,65^{**}$	$20,71 \pm 1,34^{**}$
Екскреція іонів натрію, ммоль/год	$6,11 \pm 0,81$	$16,27 \pm 1,31$	$8,11 \pm 0,56$	$11,92 \pm 0,82^*$
Екскреція іонів натрію, ммоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$2,24 \pm 0,14$	$26,91 \pm 1,91$	$6,62 \pm 0,32^{**}$	$28,82 \pm 1,89$
Концентрація іонів натрію у плазмі, ммоль/л	$123,73 \pm 3,82$	$5,03 \pm 1,21$	$138,91 \pm 2,82^{**}$	$3,12 \pm 0,69$
Натрій/калієвий коефіцієнт, ум. од.	$0,32 \pm 0,05$	$41,72 \pm 1,51$	$0,93 \pm 0,19^{**}$	$31,11 \pm 1,95^{**}$
Фільтраційна фракція іонів натрію, ммоль/хв	$77,11 \pm 3,18$	$19,11 \pm 1,02$	$37,53 \pm 2,33^{**}$	$28,12 \pm 1,57^{**}$
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/хв	$76,91 \pm 2,35$	$9,02 \pm 0,82$	$37,43 \pm 1,41^{**}$	$28,11 \pm 0,81^{**}$
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	$99,92 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,01$	$99,62 \pm 0,07^{**}$	$0,14 \pm 0,91$
Кліренс іонів натрію, мл/год	$0,07 \pm 0,01$	$14,16 \pm 1,21$	$0,06 \pm 0,01$	$11,72 \pm 0,19$
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	$1,56 \pm 0,05$	$9,43 \pm 0,21$	$1,16 \pm 0,01$	$5,76 \pm 0,31^{**}$
Проксимальний транспорт іонів натрію, ммоль/год	$4,47 \pm 0,09$	$10,11 \pm 0,21$	$2,11 \pm 0,15^{**}$	$14,81 \pm 0,31^{**}$
Дистальний транспорт іонів натрію, ммоль/год	$192,72 \pm 6,73$	$10,56 \pm 0,21$	$162,36 \pm 6,62^{**}$	$5,56 \pm 0,07^{**}$
Проксимальний транспорт іонів натрію, ммоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$11,82 \pm 0,29$	$4,22 \pm 0,41$	$12,81 \pm 0,26$	$4,13 \pm 0,93$
Дистальний транспорт іонів натрію, ммоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$0,61 \pm 0,07$	$32,43 \pm 0,41$	$1,11 \pm 0,08^{**}$	$20,64 \pm 0,19^{**p}$
Концентраційний індекс іонів натрію, ум. од.	$0,14 \pm 0,01$	$34,44 \pm 0,41$	$0,11 \pm 0,05$	$21,62 \pm 0,99^{**}$

* P<0,01, ** P<0,001 порівняно з контролем

акрофазу іона спостерігали о 8.00, батифазу - о 24.00.

Таке циркадіанне співвідношення між процесами проксимального і дистального транспорту, а також те, що середньодобовий рівень проксимальної реабсорбції в перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату істотно перевищував мезор дистального транспорту іонів натрію є свідченням фізіологічної узгодженості між облігатною та факультативною реабсорбцією іонів натрію.

Узагальнюючи результати проведеної серії досліджень слід відмітити, що функції нирок у контрольних тварин підпорядковані чіткій циркадіанній організації. Добові ритми показників функцій нирок відображають аналогічні зміни ренальних процесів.

Порівняно з контрольною групою тварин за умов гіпофункції шишкоподібної залози спостерігали підвищення екскреції іонів натрію (див. таблицю), а його концентрація в плазмі крові залишалася підвищеною цілодобово (рис. 3). Висока концентрація іонів натрію в плазмі крові при гіпофункції шишкоподібної залози зберігалася, хоча знижувалися базисні рівні ритмів абсолютної та відносної реабсорбції цього іона (див. таблицю), а архітекtonіки ритмів вказаних показників незначно відрізнялися від хронограм контрольних щурів. Підвищена концентрація іонів натрію в плазмі крові щурів призводила до компенсаторної акти-

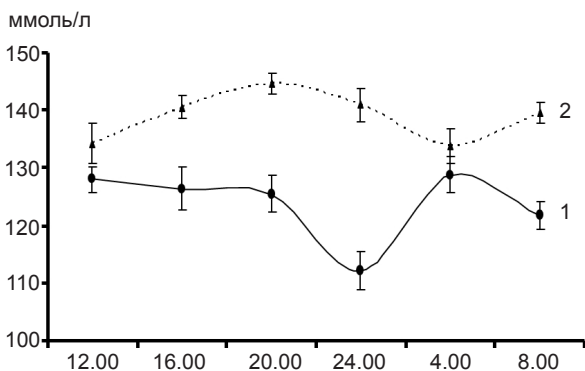


Рис. 3. Хроноритми концентрації іонів натрію (ммоль/л) у плазмі крові щурів з гіпофункцією шишкоподібної залози: 1 – контроль, 2 – гіпофункція шишкоподібної залози

вації їх виділення, включаючи всі можливі механізми. Це підтверджувалося високим кліренсом іонів натрію о 12.00, 24.00 та 4.00 і зниженням кліренсу безнатрієвої води в усі досліджувані проміжки доби порівняно з контролем (див. таблицю). Вірогідно знижена фільтраційна фракція іонів натрію в щурів із гіпофункцією шишкоподібної залози призводила до активації проксимального транспорту іона в перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату упродовж доби, за винятком 4.00, відносно відповідних показників у контрольних тварин. Незважаючи на високу концентрацію іонів натрію в плазмі крові виявлено також вірогідне зростання (на 83 %) мезору дистального їх транспорту порівняно з контролем (див. таблицю). Амплітуда вірогідно знижувалася на 21 %, архітекtonіка ритму була подібною до хронограм у контрольних тварин. Відмічено вірогідне підвищення базисного рівня та амплітуди ритму на 28 % амонійного коефіцієнта (див. таблицю), зміщення фазової структури ритму відносно значень тварин контрольної групи.

Отримані результати свідчать про вагомую роль епіфіза мозку у забезпеченні фізіологічного гомеостазу і повинні братися до уваги при діагностиці та прогнозуванні порушень функції нирок у клінічній та експериментальній практиці з урахуванням циркадіанних біоритмів.

ВИСНОВКИ

1. Гіпофункція шишкоподібної залози призвела до незначного зниження реабсорбції іонів натрію впродовж періоду спостережень порівняно з контрольними тваринами.

2. За умов гіпофункції шишкоподібної залози відмічено порушення обміну іонів натрію з вираженим натрійурезом, який був істотно більшим, ніж у контрольних тварин; спостерігалася також активація проксимального транспорту іонів натрію у перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату протягом доби за умов зміненої фазової структури ритму відносно контролю.

3. Фізіологічна пінеалектомія призвела до зниження базисного рівня ритму дистального транспорту іонів натрію порівняно з контролем.

С.Б. Семененко, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук, С.Ю. Каратеева, В.В. Анцупова

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ХРОНОРИТМОВ ИОНОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ГИПОФУНКЦИИ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В работе рассмотрены особенности хроноритмических перестроек ионорегулирующей функции почек в условиях гипofункции шишковидной железы. Для изучения гипofункции эпифиза животных содержали в условиях постоянной световой стимуляции на протяжении 7 сут. Установлено, что гипofункция эпифиза мозга привела к нарушениям циркадианной организации ионорегулирующей функции почек в сравнении с контрольной группой животных. В условиях физиологической пинеалэктомии наблюдали повышение экскреции ионов натрия ($6,11 \pm 0,81$ ммоль/ч), а его концентрация в плазме крови оставалась повышенной круглосуточно. Полученные результаты свидетельствуют об существенных изменениях интегральных характеристик ритмов показателей электролитного обмена, что подтверждает важную роль шишковидной железы в обеспечении физиологического гомеостаза.

Ключевые слова: циркадианный ритм; почки; шишковидная железа.

S.B. Semenenko, S.S. Tkachuk, O.V. Tkachuk, S.Y. Karateeva, V.V. Antsupova

SPECIFIC FEATURES OF CHRONORHYTHMOLOGIC CHANGES OF THE ION-REGULATING FUNCTION OF THE KIDNEYS UNDER THE HYPOFUNCTION OF THE PINEAL GLAND

The paper investigates the specific features of chronorhythmologic changes of the ion-regulating function of the kidneys under the hypofunction of the pineal gland. For the study of hypofunction of the pineal gland, animals were maintained under constant light stimulation during 7 days. It has been established that the hypofunction epiphysis point out disturbances of the phasic structure of the ion-regulating function in relation to chronograms of the intact group of

rats. In terms of physiological pinealectomy observed increase in the excretion of sodium ions ($6,11 \pm 0,81$ mmol/h) and the concentration of this cation in the blood plasma remained elevated around the clock. The obtained results indicate significant changes of integral characteristics of the rhythms of electrolyte metabolism and the important role of the pineal gland in ensuring physiological homeostasis. Key words: circadian rhythm; kidneys; pineal gland.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi.

REFERENCES

1. Agadzhanian NA, Brunin DV, Radysh IV, Ermakova NV. Chronophysiological features of Central hemodynamic in women of reproductive age. *Technol Liv Sys.* 2014; 11(1): 3-6 [Russian].
2. Dzherieva IS, Volkova NI, Rappaport SI. Melatonin as a regulator of metabolism. *Klin med.* 2012; 90(10): 27-30 [Russian].
3. Dallmann R, Viola AU, Tnokh L, Cajochen C, Bromm SA. The human circadian metabolom. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2012; 109(7): 26-9.
4. Orlova NI, Pronina TS. Circadian rhythms in puberty facts and approaches. *Institut vozrastnoy fiziologii.* RAN Almanach J New Res. 2014; 1: 40-7 [Russian].
5. Jom LO, Jonsson A. Hour does light affect melatonin. *Med Hypot.* 2008; 71(3): 458.
6. Bryukhanov VM, Zvereva AJ. The kidney role in regulation of circade rithms of the organizm. *Nephrol.* 2010; 14(3): 17-31 [Russian].
7. Ilyaskin AV, Baturina GS, Katkova LE, Solenov EI, Ivanova LN. Effect of hypoosmotic shock on the volume of renal collecting duct epithelial cells of brattleboro rats with hereditarily defective vasopressin synthesis. *Doklady RAN.* 2013; 453(1): 102-5 [Russian].
8. Krestinina OV, Odinkova SV, Baburina YI, Azarashvili TS. Age-related effect of melatonin on permeability transition pore opening in rat brain. *Biochem Sup Ser Memb Cell Biol.* 2013; 3a (4): 286-293 [Russian].
9. Natchin Y.V. Fluid and electrolyte homeostasis - role of reflexes, hormones, incretins and autacoids is characterized. *Fiziol Zh.* 2011; 57(5): 13-5 [Ukrainian].
10. Pishak VP, Bulyk RYe. Mechanism of pineal participation in the provision of circadian rhythmicity of physiological functions. *Buk Med Herald.* 2006; 10 (4): 4-7 [Ukrainian].
11. Zamorskii II, Sopova IY, Khavinson VK. Effects of melatonin and epithalamin on the content of protein and lipid peroxidation products in rat cortex and hippocampus under conditions of acute hypoxia. *Bull Exper Biol Med.* 2003; 154 (1): 51-3 [Ukrainian].

Матеріал надійшов до редакції 25.05.2016

Flavonoid quercetin reduces gliosis after repetitive mild traumatic brain injury in mice

Y.Y. Zabenko, T.A. Pivneva

*Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: pta@biph.kiev.ua*

The effect of water-soluble form of quercetin on the structural changes of glial cells in hippocampus was investigated in mice after repetitive mild traumatic brain injury. Reactive astro- and microgliosis in hippocampus were observed after brain injury. Iba-1 and GFAP immunohistochemistry was used to visualize astrocytes and microglia cells. Immunopositive cells were counted in hippocampal CA1-area at 5th, 10th and 30th days since the first injury and at 5th, 10th and 30th days since the first quercetin injection. Administration of quercetin led to the decrease in number of activated glial cells. Thus, our study demonstrates the following: repetitive mild traumatic brain injury in mice is associated with reactive gliosis; quercetin showed neuroprotective effects by reducing this gliosis. In view of the described, use of quercetin is appropriate for pharmacological correction of cerebrovascular disorders after traumatic brain injury. Key words: repetitive mild traumatic brain injury; hippocampus; microgliosis; astrogliosis; quercetin.

INTRODUCTION

According to Centers for Disease Control and Prevention [1], traumatic brain injury (TBI) is caused by a bump, blow, or jolt to the head or a penetrating head injury that disrupts the normal function of the brain. The severity of a brain trauma is defined depending on the following characteristics [2, 3]: 1) whether or not a person had a loss of consciousness; 2) how long the loss of consciousness was; 3) the length of amnesia; 4) the resulting cognitive, behavioral and physical problems; 5) the recovery.

TBI is considered to be mild, if the loss of consciousness lasted 0-30 minutes and the length of amnesia wasn't longer than 24 hours [4]. Among other common symptoms of concussion, there are dizziness, nausea, reduced attention and concentration, memory problems and headache [5]. However, the signs of initial mild trauma are not always obvious [6], while the recurrence of a brain injury may call more dramatic consequences.

The main activities associated with an increased risk of repeated mild trauma are

contact sports (boxing, American football, ice hockey, soccer, rugby, etc) and participation in military events [7]. Specifically, the evidence of long-term effects of repetitive mild traumatic brain injury (rmTBI) was found in the autopsied brains of retired NFL players which contained accumulations of abnormal tau protein [8]. Unfortunately, standard diagnostic methods (MRI, CT, EEG) [9] still lack sensitivity for immediate tissue changes in mild TBI, while the postmortem data on late neurodegenerative disorders (chronic traumatic encephalopathy, Alzheimer's disease, Parkinson's disease) due to repeated trauma is growing [10]. Respectively, animal models are still necessary for studying pathophysiology of rmTBI.

Each case of TBI is not a single event, but a whole cascade, starting from an immediate mechanical injury (primary injury) and continuing with metabolic, cellular and molecular events (secondary injury) that may evolve from minutes to months [11, 12]. Mild TBI, being a closed head trauma, is defined by the secondary processes which nevertheless