

**В.П. Пішак,
Н.М. Шумко**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИРКАДІАННИХ
ПЕРЕБУДОВ ФУНКЦІЙ НИРОК ЗА УМОВ
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

*Буковинська державна медична академія
кафедра медичної біології, генетики та гістології
(зав. – д.мед.н., проф. В.П. Пішак)
м. Чернівці*

Ключові слова: *імобілізаційний стрес, хроноритм, мелатонін, нирки*

Key words: *immobilization stress, chronorhythm, melatonin, kidneys*

Резюме. *В работе изучены циркадианные ритмы функций почек у крыс в условиях 60-минутного иммобилизационного стресса. Установлено, что иммобилизационный стресс приводит к десинхронозу, изменяет фазовую структуру и амплитуду ритмов в большом количестве показателей экскреторной, ионовывделительной и кислотовывделительной функций почек.*

Summary. *In the work the circadian rhythms of the kidneys functions in the rats under conditions of 60 – minute immobilization stress (IS) have been studied. It has been established that IS leads to desynchronization, changes phase structure and amplitude of the rhythms in a great number of findings of excretory, ion-releasing and oxygen-excretory functions of the kidneys.*

Згідно з сучасними даними літератури та численними працями Г.Сельє, показано, що основна роль стресу полягає в посиленні адаптивних можливостей організму, що сприяє збереженню його здоров'я [1,5]. Але якщо несприятливий чинник діє надмірно та тривало, то реакція набуває патогенного характеру [1,2,5]. Проблема стресу, адаптації і функціональних порушень увійшла до числа актуальних проблем сучасної біології й медицини [4,8,15]. В останні роки зріс інтерес до хронобіологічної організації різних функцій, зокрема, нирок, зумовлений актуальністю вивчення координованих взаємовідносин між екстра- та інтраренальними чинниками, що забезпечуються складними механізмами контролю нейрогуморальної системи [7,4,14]. Однак закономірності хроноритмічної організації функцій нирок за умов стресу залишаються недостатньо вивченими. Циркадіанні ритми є основними детермінантами фізіологічної, психічної, інтелектуальної поведінки [10,11]. Діючим агентом, який впливає на синхронізацію біологічних ритмів, є гормон шишкоподібного тіла – мелатонін [5,6,12]. Мелатонін здійснює антистресову дію, синхронізацію коливальних процесів в організмі, впливає на імунні реакції, перекисне окиснення ліпідів, має антиоксидантну та противірусну дію [1,5].

Тому метою нашого дослідження є вивчити особливості хроноритмологічних перебудов екскреторної, іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок у тварин за умов імобілізаційного стресу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментальні дослідження проведено на 36 статевозрілих білих щурах-самцях масою до 200 г. Тварин утримували в умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. Тварини були розподілені на дві групи: контрольна (n=18) та дослідна (n=18), які утримували за умов звичайного світлового режиму (12.00С:12.00Т) протягом 7 діб. Ефекти стресу на добові ритми ниркового транспорту іонів натрію у дослідних тварин вивчали шляхом застосування стандартної тест-процедури 60-хвилинного імобілізаційного стресу. Сечу збирали протягом 8-ої доби експерименту. По закінченні цього етапу досліджувані щури здійснювали декапітацію під легкою ефірною анестезією. У момент декапітації тварин у гепаринизовані пробірки забирали кров, яку центрифугували протягом 20 хв. Після цього відбирали плазму для дослідження. Результати обробляли статистично методом "Косинор-аналізу", а також параметричними методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Екскреторна функція нирок змінювалась (табл. 1) у щурів за умов імобілізаційного стресу: о 20.00 год. рівень сечовиділення був на 50 % нижчим відносно інтактних тварин. Акрофаза припадала на 8.00 год. Мезор діурезу знижувався на 32%, а амплітуда збільшувалася на 64%. Знижувалася концентрація креатиніну в плазмі крові. Акрофаза припадала на 20.00 год., а батифаза на 14.00 год. Амплітуда ритму істотно

підвищувалась. У стресованих тварин відхилення діурезу були зумовлені порушенням фільтраційної функції нирок. О 8.00 год. швидкість клубочкової фільтрації знижувалася на 58%, однак середньодобовий рівень ритму вірогідно не змінювався. Рівень відносної реабсорбції води також зазнавав змін. О 20.00 год. показник дещо підвищувався, а о 14.00 год., навпаки, вірогідно знижувався. Вірогідних змін мезору та амплітуди ритму не спостерігали. Максимальні значення екскреції іонів калію реєстрували о 8.00 год., мі-

німальні о 14.00 год. Нами відмічено зміщення батифази ритму з 14.00 год. на 20.00 год. Важливим показником функції клубочків нирок є екскреція білка. Стрес викликав суттєве зростання мезору екскреції білка у порівнянні з контролем. Акрофазу реєстрували о 8.00 год., батифазу о 20.00 год. У перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату середньодобовий рівень становив $0,31 \pm 0,030$ мг/100мкл КФ, втричі перевищуючи відповідні значення контрольної групи тварин. Амплітуда суттєво пригнічувалась.

Таблиця 1

Хроноритми екскреторної функції нирок у тварин за умов іммобілізаційного стресу ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники	Інтактні (n=18)		Іммобілізаційний стрес (n=18)	
	мезор	амплітуда (%)	мезор	амплітуда (%)
Діурез, мл/хв	$0,99 \pm 0,065$	$18,9 \pm 4,49$	$0,68 \pm 0,085$ p<0,05	$30,9 \pm 7,84$
Концентрація іонів калію у плазмі крові, ммоль/л	$5,19 \pm 0,237$	$11,7 \pm 2,98$	$4,95 \pm 0,250$	$13,0 \pm 3,31$
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	$17,47 \pm 3,180$	$47,2 \pm 10,78$	$20,53 \pm 2,700$	$34,6 \pm 8,78$
Екскреція іонів калію, ммоль/хв	$1,79 \pm 0,450$	$65,3 \pm 9,24$	$1,33 \pm 0,190$	$38,5 \pm 9,69$ p<0,05
Концентрація креатиніну у плазмі, ммоль/л	$54,17 \pm 1,830$	$8,8 \pm 2,25$	$53,33 \pm 4,000$	$21,5 \pm 5,00$ p<0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	$119,40 \pm 8,470$	$18,4 \pm 4,73$	$63,29 \pm 4,530$ p<0,001	$19,7 \pm 4,77$
Відносна реабсорбція води, %	$99,42 \pm 0,030$	$0,1 \pm 0,02$	$99,21 \pm 0,070$ p<0,05	$0,21 \pm 0,04$ p<0,05
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну, од	$0,02 \pm 0,001$	$12,6 \pm 3,42$	$0,01 \pm 0,002$ p<0,01	$30,0 \pm 4,76$ p<0,05
Концентрація білка в сечі, г/л	$0,07 \pm 0,001$	$0,8 \pm 0,07$	$0,28 \pm 0,019$ p<0,001	$12,1 \pm 3,04$ p<0,01
Екскреція білка, мг/хв	$0,07 \pm 0,005$	$21,8 \pm 5,05$	$0,18 \pm 0,018$ p<0,001	$22,5 \pm 5,25$
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	$0,06 \pm 0,007$	$19,2 \pm 1,15$	$0,31 \pm 0,010$ p<0,001	$12,9 \pm 2,87$ p<0,05

Примітки: I – інтактні тварини; II – тварини, які зазнали іммобілізаційного стресу; p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин; n – кількість тварин.

Іонорегулювальна функція нирок також зазнавала значних змін (табл. 2). У щурів за умов іммобілізаційного стресу підвищувався середньодобовий рівень концентрації іонів натрію в сечі. Високий натрійурез реєстрували у всіх досліджуваних проміжки доби. Максимальний рівень концентрації катіона в сечі спостерігали о 20.00 год., що співпадало з контролем. При цьо-

му батифаза зміщувалася з 14.00 год. на 08.00 год., амплітуда ритму вірогідно знижувалася. Архітектоніка ритму була подібною до контрольних хронограм, окрім 14.00 год. Ритм набував інверсного характеру щодо контрольних хронограм зі зниженням амплітуди на 63% порівняно з величинами інтактних щурів. Підвищення натрійурезу за умов іммобілізаційного

стресу призводило до порушення натрій/калієвого коефіцієнта. Середньодобовий рівень показника вдвічі перевищував такий в інтактних щурів, проте амплітуда його ритму не зрушувалася. Зміни з боку іонорегулювальної функції нирок характеризувалися також високим кліренсом іонів натрію протягом всього періоду спостереження. Мезор перевищував на 50% показники інтактних тварин. Середньодобовий рівень ритму проксимального транспорту іонів натрію у всі досліджувані проміжки доби був вірогідно нижчим, ніж у контрольній групі тварин, що, ймо-

вірно, призводило до елімінації надлишку даного катіона з плазми крові. Архітектоніка ритму набувала протифазного характеру щодо хронограм інтактних щурів. Амплітуда в 2,5 раза перевищувала відповідний показник контрольних тварин. Акрофаза ритму зміщувалася з 14.00 на 08.00 год., а батифаза – з 20.00 на 14.00 год. Дистальний транспорт при цьому зазнавав компенсаторної активації. Його мезор був на 28% вищим, ніж у контролі. Амплітуди ритму транспорту іонів натрію вірогідно збільшувалися. При цьому порушувалася фазова структура ритму.

Таблиця 2

Хроноритми ниркового транспорту іонів натрію у тварин за умов іммобілізаційного стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники	Інтактні (n=18)		Іммобілізаційний стрес (n=18)	
	мезор	амплітуда (%)	мезор	амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	0,85 ± 0,110	33,6 ± 8,51	1,88 ± 0,12 p<0,001	16,8 ± 4,3
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв	0,08 ± 0,01	21,7 ± 5,56	0,11 ± 0,018	18,9 ± 4,58
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	130,56 ± 0,65	1,14 ± 0,33	128,89 ± 2,45	5,0 ± 1,27 p<0,05
Фільтраційна фракція іонів натрію, мкмоль/хв	15,60 ± 1,160	19,4 ± 4,98	8,22 ± 0,76 p<0,001	24,5 ± 6,16
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв	15,05 ± 1,19	20,6 ± 5,29	7,39 ± 0,72 p<0,001	25,8 ± 6,53
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	96,09 ± 0,5	1,5 ± 0,35	89,08 ± 0,63 p<0,001	2,00 ± 0,47
Концентраційний індекс іонів натрію, од	0,007 ± 0,001	20,8 ± 7,78	0,02 ± 0,002 p<0,001	30,6 ± 5,05
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	0,06 ± 0,013	60,1 ± 9,88	0,11 ± 0,013 p<0,05	26,2 ± 6,94 p<0,05
Кліренс іонів натрію, мл/хв	0,001 ± 0,0002	0,0 ± 0,0	0,001 ± 0,0004	0,0 ± 0,0
Кліренс безнатрієвої води, мл/хв	0,99 ± 0,065	18,9 ± 4,49	0,68 ± 0,085 p<0,001	30,9 ± 7,84
Проксимальний транспорт іонів натрію, ммоль/хв	1,70 ± 0,142	20,9 ± 5,36	0,81 ± 0,08 p<0,001	26,5 ± 6,74
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/хв	129,30 ± 9,28	20,2 ± 4,79	87,54 ± 10,45 p<0,05	32,6 ± 7,96

Примітки: І – інтактні тварини; П – тварини, які зазнали іммобілізаційного стресу; p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин; n – кількість тварин.

Кислотовидільна функція нирок змінювалась таким чином (табл. 3), що у щурів за умов іммобілізаційного стресу рН сечі вірогідно не відрізнявся від контрольної групи тварин. Акрофаза припадала на 8.00 год., а батифаза на 20.00 год.

Амплітуда збільшувалася на 53%. Екскреція іонів водню вірогідно знижувалася. Акрофаза припадала на 8.00 год., що співпадало з контролем, а батифаза на 20.00 год. Мезор знижувався на 31% щодо контрольних величин. Амплітуда

ритму підвищувалася на 95%. У перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату середньодобовий рівень екскреції іонів водню становив $0,89 \pm 0,080$ мг/100мкл клубочкового фільтрату, перевищуючи відповідні значення контрольної групи тварин на 28%. Амплітуда не зазнавала вірогідних змін. Важливим показником кислото-видільної функції нирок є екскреція титрованих кислот. Стрес викликав суттєве підвищення мезору екскреції титрованих кислот у порівнянні з контролем. Акрофазу реєстрували о 8.00 год., батифазу о 20.00 год. Середньодобовий рівень титрованих кислот становив $0,11 \pm 0,010$ мг/100мкл клубочкового фільтрату, що в десять разів пере-

вищувало відповідні значення контрольної групи тварин. Амплітуда вірогідно не відрізнялася від контролю. Екскреція аміаку в перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату різко зростала до $0,15 \pm 0,010$ мг/100мкл клубочкового фільтрату, що майже в три рази перевищувало відповідні значення контрольної групи тварин. Акрофазу реєстрували о 20.00 год., а батифазу о 14.00 год. Амплітуда знизилася на 75% відповідно до інтактних тварин. Амонієвий коефіцієнт вірогідно знижувався. Акрофаза припадала на 14.00 год., а батифаза на 8.00 год. Мезор пригнічувався на 85%. Амплітуда суттєво збільшувала свої значення.

Таблиця 3

Хроноритми кислото-видільної функції нирок у тварин за умов іммобілізаційного стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники	Інтактні (n=18)		Іммобілізаційний стрес (n=18)	
	мезор	амплітуда (%)	мезор	амплітуда (%)
pH сечі	$6,23 \pm 0,071$	$2,8 \pm 0,72$	$6,17 \pm 0,095$	$3,9 \pm 0,98$
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	$0,78 \pm 0,052$	$16,7 \pm 3,88$	$0,54 \pm 0,071$	$32,6 \pm 8,23$
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$0,69 \pm 0,041$	$14,1 \pm 3,45$	$0,89 \pm 0,083$ p<0,05	$24,3 \pm 5,99$
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	$0,01 \pm 0,004$	$23,1 \pm 9,36$	$0,07 \pm 0,016$ p<0,001	$31,5 \pm 7,44$
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$0,01 \pm 0,052$	$20,0 \pm 7,41$	$0,11 \pm 0,012$ p<0,001	$29,9 \pm 7,7$
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	$0,07 \pm 0,010$	$24,7 \pm 6,35$	$0,09 \pm 0,011$	$17,0 \pm 3,97$
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$0,06 \pm 0,012$	$25,5 \pm 5,85$	$0,15 \pm 0,070$	$6,7 \pm 1,48$ p<0,05
Амонійний коефіцієнт, од.	$11,06 \pm 0,183$	$4,4 \pm 1,11$	$1,69 \pm 0,310$ p<0,001	$47,0 \pm 10,8$ p<0,01

П р и м і т к и : I – інтактні тварини; II – тварини, які зазнали іммобілізаційного стресу; p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин; n – кількість тварин.

ПІДСУМОК

Іммобілізаційний стрес порушує хроноритмічну організацію, змінює фазову структуру та амплітуду ритмів більшості показників екскреторної, іонорегулювальної та кислото-видільної

функції нирок, змінює фазову структуру та амплітуду ритмів більшості показників ниркових функцій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Арушанян Э.Б., Арушанян Л.Г. Эпифизарный мелатонин как антистрессорный агент // Эксперим. и клинич. фармакология– 1997.– Т.60, №6.– С. 71-77.
2. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Место гиппокампа в биоритмологической организации поведения // Успехи физиол. наук.–2001. - Т.32, № 1. - С.79-95.

3. Бейер Э.В., Эльбекьян К.С., Арушанян Э.Б. Сдвиги в содержании мелатонина плазмы и изменения циркадианной локомоции при разрушении дорзального гиппокампа у интактных и стрессированных крыс // Журн. высш. нерв. деятельности им. Павлова. - 2001.- Т. 51, вып. 5.- С.631-635.

4. Вплив ЛЯМП на морфофункціональний стан нирок залежно від біологічних ритмів / Пішак В.П., Дьякова Т.Є., Волошенюк М.І. та ін. // Фізіол. журн.- 1998.- Т. 44, №3. - С. 52.
5. Галичій В.А. Субциркадианне ритмы как инструмент оценки и прогнозирования состояния организма // Авиакосм. и экол. медицина. - 2000.-Т. 34, №6. - С.3-12.
6. Гоженко А.І. Функціональний стан нирок при хронічній блокаді синтезу оксиду азоту в щурів // Мед. хімія.-2002.-Т.4, №4. - С.65-68.
7. Заморский И.И., Пишак В.П., Ходоровский Г.И. Влияние мелатонина на уровень кортикостерона и пролактина в плазме крови крыс при разной длине фотопериода и острой гипоксии // Эндокринология.-2000.- Т. 5, №1. - С.22-28.
8. Максимович А.А. Структура и функции пинеальной железы позвоночных // Журн. эволюц. биохимии и физиологии.-2002. - Т. 38, №1. - С.3-13.
9. Пишак В.П. Клиническая анатомия шишковидного тела (эпифиза). – Чернівці: 1992.– 103 с.
10. Пішак В.П., Бойчук Т.М., Тимочко К.Б. Кібернетичне моделювання хроноритмів // Буковин. мед. вісн.-2000.-Т.4, №4.- С.3-9.
11. Пішак В.П., Кокощук Г.І. Ренальні ефекти мелатоніну в інтактних і епіфізектомованих щурів // Фізіол. журн.- 1995.– Т.41, №5-6. - С. 23-25.
12. Халатурник М.В., Роговий Ю.Є. Біохімічні основи ниркового канальцево-інтерстиційного балансу // Буковин. мед. вісн.-2001.-Т.5, №2. - С.197-199.
13. Arendt J. Биологические ритмы. Наука хронобиология // J. Roy. Coll. Physicans London.-1998. – Vol. 32, №1. - С.27-35.
14. Kalrsfeld A. Ученый спор, касающийся биологических часов // Recherche.-2002. – Vol. 351. - С.44-47.
15. Мелатонины: профилактика старения или только лечение бессонницы? / Lepineux D., Lahlou A., Tissandier O., Piette F. // Rev.geriatr.- 2001. – Vol. 26, №1. -С. 41- 46.