

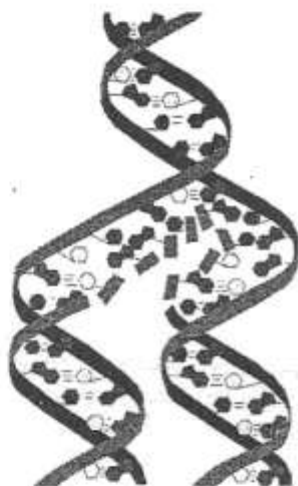
Академія медичних наук України

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

# МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



12.11.09  
НАЦІОНАЛЬНА  
НАУКОВА МЕДИЧНА  
БІБЛІОТЕКА УКРАЇНИ 3  
01033, м.Київ, вул.Л.Толстого, 7

Academy of Medical Sciences of Ukraine  
Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky  
National Medical University by O.O. Bogomolets

# MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

**3** TOM 11  
2009

АКТ 25 / 20 09 / 1 прим.

## УЧАСТЬ АРГІНІН-ВАЗОПРЕСИНУ В МЕХАНІЗМАХ РЕГУЛЯЦІЇ ЦИРКАДІАННОГО РИТМУ ЕКСКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК

І.Г. Кушнір<sup>2</sup>, Т.М. Бойчук<sup>1</sup>, Г.І. Кокощук<sup>2</sup>, О.В. Кокощук<sup>2</sup>, Л.Г. Доцюк<sup>2</sup>

КИЇВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УАНМ<sup>1</sup>,  
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА<sup>2</sup>

*В експериментах на щурах показано, що аргінін-вазопресин у світлову фазу добового ритму різко посилює антидіуретичну реакцію нирок на фоні зменшення швидкості клубочкової фільтрації та ацидогенезу в нефроні. Сумісне введення мелатоніну та аргінін-вазопресину в денні години не попереджувало нефротропної дії аргінін-вазопресину. Мелатонін у темнову фазу добового ритму нейтралізував, хоча і слабо, антидіуретичний ефект аргінін-вазопресину.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: циркадіанний ритм, аргінін-вазопресин, мелатонін.

**ВСТУП.** В останні 10-15 років однозначно встановлено, що центральним пейсмейкером циркадіанного ритму є супрахіазматичне ядро (СХЯ) гіпоталамуса, нейрони якого містять широкий спектр нейротрансмітерів (вазоінтестинальний пептид, серотонін, норадреналін, дофамін, глутамат, гамма-аміномасляну кислоту, аргінін-вазопресин та ін.) [10, 14]. Пошкодження нейронів СХЯ призводить до втрати, а трансплантація СХЯ відновлює ритмічну інтеграцію в гіпоталамусі [11]. Важливим фактором, що відновлює біологічний ритм, є аргінін-вазопресин, дія якого випереджує терміни відновлення анатомічної цілісності втрачених синаптичних структур. В експериментах Yuko Watanabe та ін. (2002) показано, що синтез аргінін-вазопресину нейронами СХЯ має циркадіанний характер з піком активності мРНК синтезу аргінін-вазопресину в світлову фазу добового циклу. Цікаво, що синтез аргінін-вазопресину в супраоптичному і паравентрикулярному ядрах не мав циркадіанного ритму, а його секреція залежала від осмотичного тиску крові [9]. Денний ритм секреції аргінін-вазопресину корелював із тривалістю світлової фази добового циклу [8], зберігався в культурі клітин СХЯ *in vitro* з піком у середині "суб'єктивного" дня [13].

Денна і нічна секреція аргінін-вазопресину та вазоінтестинального пептиду мала дискордантний характер [5], а їх синтез – незалежний один від одного характер [6]. Зважаючи на численні дані літератури про

роль мелатоніну в регуляції циркадіанного ритму [12], було проведено дослідження впливу мелатоніну на секрецію аргінін-вазопресину. Показано, що мелатонін пригнічував синтез аргінін-вазопресину нейронами СХЯ *in vitro* переважно в середині "суб'єктивного" дня, а блокада  $MT_2$ -рецепторів мелатоніну лузіндолом нейтралізувала цей ефект [7]. Таким чином, аналіз літератури свідчить про циркадіанний ритм секреції аргінін-вазопресину і мелатоніну, але дані про те, якою мірою добові коливання рівня цих нейротрансмітерів призводять до зміни характеру добового ритму функціонального стану нирок за умов експерименту *in vivo*, відсутні. Метою проведеної роботи було вивчити вплив аргінін-вазопресину та мелатоніну на добовий біоритм екскреторної функції нирок за умов, максимально наближених до природних [3].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди було проведено на 24 білих щурах лінії Вістар масою 120-150 г, яких утримували в спеціальних обмінних клітках у режимі з вільним доступом до їжі (зерно пшениці) та пиття (1 % розчин натрію хлориду на водопровідній воді для компенсації низьконатрієвого раціону). Перед початком експерименту тварин адаптовували до даних умов існування впродовж 10 днів.

У день експерименту в щурів збирали спонтанний діурез протягом 3 год в середині дня (з 11<sup>00</sup> до 14<sup>00</sup>) і в середині ночі (з 23<sup>00</sup> до 2<sup>00</sup>). У сечі піддослідних тварин визначали концентрацію ендogenous креатиніну як міру гломерулярної фільтрації колометрично з пікриновою кислотою за Фолінім у модифікації З. Віктора [1].

© І.Г. Кушнір, Т.М. Бойчук, Г.І. Кокощук, О.В. Кокощук, Л.Г. Доцюк, 2009.

Екскрецію титрованих кислот і амонію визначали за методикою С.І. Рябова та співавт. (1979) [4]. Мелатонін (фірма ЗАТ, Київський вітамінний завод) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1,5 мг/кг, синтетичний аналог аргінін-вазопресину десмопресин (фірма ВАТ "Фармак", Київ,

Україна) – внутрішньоочеревинно в дозі 1,25 мкг/кг. Мелатонін та десмопресин окремо та сумісно вводили о 9<sup>00</sup> та 21<sup>00</sup>.

Усіх піддослідних тварин було поділено на 6 груп згідно з характером проведеного дослідження, що наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Вплив аргінін-вазопресину та мелатоніну на показники екскреторної функції нирок білих щурів у середині світлової (11<sup>00</sup>-14<sup>00</sup>) та темної (23<sup>00</sup>-2<sup>00</sup>) фаз добового циклу (M±m)

Досліджувані показники	Характер експерименту						
	Години досліду 11 <sup>00</sup> -14 <sup>00</sup>			Години досліду 23 <sup>00</sup> -2 <sup>00</sup>			
	Інтактні тварини I група (n=12)	Введення десмопресину II група (n=12)	Введення десмопресину і мелатоніну III група (n=12)	Інтактні тварини IV група (n=12)	Введення десмопресину V група (n=12)	Введення десмопресину і мелатоніну VI група (n=12)	
Діурез, мл/год	0,28±0,03	0,06±0,006 p <sub>2</sub> <0,01	0,05±0,005 p <sub>3</sub> >0,05	0,35±0,03 p <sub>1</sub> <0,05	0,28±0,03 p <sub>4</sub> =0,05 p <sub>6</sub> <0,01	0,10±0,009 p <sub>5</sub> <0,05 p <sub>7</sub> <0,05	
Екскреція	Креатиніну, мкмоль/год	1,44±0,15	0,71±0,08 p <sub>2</sub> <0,01	0,79±0,06 p <sub>3</sub> >0,05	1,17±0,09 p <sub>1</sub> >0,05	1,27±0,06 p <sub>4</sub> >0,05 p <sub>6</sub> <0,05	0,87±0,11 p <sub>5</sub> <0,05 p <sub>7</sub> >0,05
	Титруємих кислот, мкмоль/год	19,5±2,68	15,5±1,84 p <sub>2</sub> >0,05	16,8±0,98 p <sub>3</sub> >0,05	29,1±0,88 p <sub>1</sub> <0,05	23,7±0,31 p <sub>4</sub> <0,05 p <sub>6</sub> <0,01	19,9±1,80 p <sub>5</sub> <0,05 p <sub>7</sub> >0,05
	Амонію, мкмоль/год	24,8±2,15	8,6±1,26 p <sub>2</sub> <0,01	8,3±0,35 p <sub>3</sub> >0,05	25,8±1,81 p <sub>1</sub> >0,05	30,0±1,91 p <sub>4</sub> >0,05 p <sub>6</sub> <0,01	14,0±1,01 p <sub>5</sub> <0,01 p <sub>7</sub> <0,05

Примітка. p<sub>1</sub> – порівняння показників у I і IV групах; p<sub>2</sub> – порівняння показників у I і II групах; p<sub>3</sub> – порівняння показників у II і III групах; p<sub>4</sub> – порівняння показників у IV і V групах; p<sub>5</sub> – порівняння показників у V і VI групах; p<sub>6</sub> – порівняння показників у II і V групах; p<sub>7</sub> – порівняння показників у III і V групах.

Цифровий матеріал проаналізовано за допомогою комп'ютерної програми "Statistica for Windows", "Version-5.0" з визначенням критерію Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При дослідженні параметрів циркадіанного ритму екскреторної функції нирок, як і в наших попередніх дослідженнях [2], констатовано значну активацію функціонального стану нефрона в темну фазу добового циклу і статистично достовірне зниження діурезу й екскреції кислот фосфатів у денні години (I і II групи порівняння). Введення десмопресину (аргінін-вазопресину) в денні години різко знижувало показники діурезу, екскреції ендogenous креатиніну як міри клубочкової фільтрації на фоні пригнічення процесів ацидогенезу в нефроні, про що свідчили величини виділення солей амонію та кислот фосфатів (I і II групи порівняння). Беручи до уваги дані літератури про зниження секреції мелатоніну в світлову фазу добового циклу [12] та антагоністичні впливи аргінін-вазопресину і мелатоніну на

біоелектричну активність нейронів СХЯ [7], проведено дослідження сумісного впливу аргінін-вазопресину і мелатоніну в світлову фазу добового циклу. Констатовано, що в денні години мелатонін не запобігав ефекту аргінін-вазопресину щодо зниження показників екскреторної функції нирок в цей період (II і III групи порівняння). При введенні десмопресину в темнову фазу добового циклу, коли має місце ендogenous підвищення рівня мелатоніну в крові, аргінін-вазопресин не проявляв чіткої пригнічувальної дії на показники екскреторної функції нирок (IV і V групи порівняння). Цікаво, що мелатонін при сумісному введенні з десмопресином в нічні години нейтралізував, хоча і слабо, нефротропну дію аргінін-вазопресину при зіставленні їх ефекту в денні години (III і VI групи порівняння).

Таким чином, проведено дослідження вказує на важливу роль аргінін-вазопресину і мелатоніну як гуморальної ланки регуляції циркадіанного ритму екскреторної функції нирок. Неоднозначні ефекти аргінін-вазопресину і мелатоніну на функціональний стан нирок при

їх сумісному введенні в темнову і світлову фази добового циклу дозволяють зробити висновок про наявність додаткових нейрогуморальних факторів у регуляції циркадіанного ритму функції нирок.

**ВИСНОВКИ.** 1. В інтактних тварин констатовано чіткий циркадіанний ритм екскреторної функції нирок з розвитком батіфази в середині світлової фази й акрофази в середині темної фази добового циклу.

2. Десмопресин (аргінін-вазопресин) в денні години різко знижував діурез, екскрецію ендogenous креатиніну та кислих валентностей, засвідчуючи його важливу роль в розвитку батіфази функціонального стану нефрона.

3. Екзогенний мелатонін у світлову фазу добового циклу не запобігав депресії показників екскреторної функції нирок у відповідь на введення десмопресину.

4. Десмопресин у темнову фазу добового циклу не запобігав розвитку акрофази екскреторної функції нирок.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Виктор З. Клиническая нефрология. – Варшава: ПГМИ, 1968. – 344 с.

2. Кокощук Г.І., Кушнір І.Г. Вплив постійної температури на показники циркадіанного ритму екскреторної функції нирок білих щурів // Фізіол. журн. НАУН. – 2005. – 51, № 1. – С. 84-87.

3. Кокощук Г.І., Кушнір І.Г. Спосіб діагностики біологічних ритмів функціональної діяльності нирки в експерименті // Деклараційний патент на винахід. – Бюл. № 6. – 15.06.2004. 67071А. Україна.

4. Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. Диагностика болезней почек. – Л.: Медицина, 1979. – 255 с.

5. Cayetanot F., Bentivoglio M., Aujard F. Arginine-vasopressin and vasointestinal polypeptide rhythms in the suprachiasmatic nucleus of the mouse lemur reveal aging-related alterations of circadian pacemaker neurons in a non-human primate // Eur. J. Neurosci. – 2005. – 22 (4). – P. 902-910.

6. Gerkema M.P., Shinohara K., Kimura F. Lack of circadian patterns in vasoactive intestinal polypeptide release and variability in vasopressin release in vole suprachiasmatic nuclei in vitro // Neuroscience Letters. – 1999. – 259. – Issue 2. – P. 107-110.

7. Isobe Y., Torii T., Nishino H. Melatonin inhibits Arg-vasopressin release via MT<sub>2</sub> receptor in the suprachiasmatic nucleus-slice culture of rats // Brain. Res. – 2001. – 889. – P. 214-219.

8. Jac M., Kiss A., Sumova A. et al. Daily profiles of arginine vasopressin mRNA in the suprachiasmatic,

supraoptic and paraventricular nuclei of the rat hypothalamus under various photoperiods // Brain Res. – 2000. – 887. – P. 472-476.

9. Kalsbeek A., Buijs R.M., Engelmann M. et al. In vivo measurement of a diurnal variation in vasopressin release in the rat suprachiasmatic nucleus // Brain Res. – 1995. – 682. – P. 75-82.

10. Moore R.Y., Speh J.C., Leak R.K. Suprachiasmatic nucleus organization // Cell Tissue Res. – 2002. – 309. – P. 89-98.

11. Tousson E., Meissl H. Suprachiasmatic Nuclei Grafts Restore the Circadian Rhythm in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus // Neurosci. – 2004. – 24 (12). – P. 2988.

12. Vanecek J. Melatonin binding sites // J. Neurochem. – 1998. – 51. – P. 1436-1440.

13. Watanabe K., Koibuchi N., Ohtake H., Yamaoka S. Circadian rhythms of vasopressin release in primary cultures of rat suprachiasmatic nucleus // Brain Research. – 1993. – 624. – Issues 1-2. – P. 115-120.

14. Watanabe K., Vanecek J., Yamaoka S. In vitro entrainment of the circadian rhythm of vasopressin-releasing cells in suprachiasmatic nucleus by vasoactive intestinal polypeptide // Brain Res. – 2000. – 877. – P. 361-366.

15. Yambe Y., Arima H., Kakiya S. et al. Diurnal changes in arginine vasopressin gene transcription in the rat suprachiasmatic nucleus // Molecular Brain Research. – 2002. – 104. – Issue 2. – P. 132-136.