

УДК 612.017,1: 616.61-092

Л. Г. Доцюк¹
Г. І. Косошук¹
Т. М. Бойчук²
І. Г. Кушнір¹

РОЛЬ ДОФАМІНУ В РЕГУЛЯЦІЇ ЦИРКАДІАННОГО РИТМУ ГЛОМЕРУЛО- ТУБУЛЯРНОГО БАЛАНСУ В НЕФРОНІ

Чернівецький національний
університет імені Юрія Федьковича¹
Буковинський державний медичний
університет²

Ключові слова: циркадіанний ритм
гломеруло-тубулярного і тубуло-
тубулярного балансу, дофамін.

Резюме. В експериментах на щурах показано, що блокада центрального пейсмейкера (СХЯ) тривалим постійним освітленням супроводжується депресією показників екскреторної функції нирок, хоча гломеруло-тубулярний баланс і тубуло-гломерулярний зворотній зв'язок зберігаються. Підвищення рівня дофаміну під впливом селегіліну, селективного інгібітора моноаміноксидази-В, знижує чутливість рецепторів тасула денса до концентрації іонів натрію і зменшує ефект тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку.

Вступ

Водно-сольовий гомеостаз виступає центральною ланкою в забезпеченні функціонального стану всіх органів і систем. Нирка контролює і підтримує основні параметри внутрішнього середовища завдяки особливостям її структурно-функціональної організації, зокрема функціонуванню нефронів з їх гломеруло-тубулярним балансом і тубуло-гломерулярним зворотнім зв'язком (tubuloglomerular feedback (TGF)). Спряженість функції клубочкового і каналцевого апарату нефрону і оцінка її ефективності представляють собою «динамічну, незбагнену, математично аналізуючу систему, де окремі дані про цю взаємодію фрагментарні і непереконливі» [19]. Ключовою інтраренальною структурою, що визначає ефективність роботи нефрону є епітелій щільної плями (macula densa (MD)) в дистальному звивистому каналці. Величина фільтраційного завантаження проксимального каналця впливає на проксимальний транспорт іонів натрію, що визначає кількість іонів даного електроліту, які поступають у широку частину петлі Генле і дистальний каналець. Ефективність реабсорбції іонів натрію в дистальному відділі нефрону «оцінюється» епітелієм MD, який запускає механізми TGF, що впливає на тонус а. afferens і секрецію реніну клітинами юкстагломерулярного апарату (ЮГА). Встановлено, що при підвищенні концентрації іонів натрію в області MD пригнічується TGF, активуються А-аденозинові рецептори, розширюється а. afferens, підвищується проксимальний (TrNa⁺) і знижується дистальний (TdNa⁺) транспорт іонів натрію [8, 20, 22]. В останні роки констатовано, що в нирці експресуються як мінімум

A₁ і A₂-аденозинові рецептори, причому активація A₁-рецепторів призводить до зниження реактивності TGF, а стимуляція A₂-рецепторів супроводжується активацією TGF, розширенню v. afferens і збільшенню величини фільтраційного завантаження нефрону [8]. У пошуках додаткових механізмів регуляції TGF ми звернули увагу на можливу роль дофаміну, який розглядається як «інтраренальний ключ в інтерактивній регуляції натрієвого метаболізму» [7]. Дофамін активно синтезується нирковою паренхімою [14], стимулює натріурез, блокуючи Na⁺/K⁺АТФазу. Важливо зазначити, що в останні 10 років у літературі дискутується питання про наявність у кожному органі своїх локальних пейсмейкерних систем, які реагують на біохімічне мікрооточення, маючи свій циркадіанний ритм активності генетичного апарату Per-1, Per-2, Cry-1, Cry-2, Bmal-1 [5, 18]. Констатовано, що дофамін може впливати на активність Per-2 через активацію D₁ і D₂-рецепторів [11]. Між активністю генів Per-1 і Per-2 та добовим ритмом секреції дофіну виявлені реципрокні взаємини [6]. Раніше нами показано, що в нирці зберігається гломеруло-тубулярний баланс і при блокаді центрального пейсмейкера [3], хоча роль біологічних амінів: дофаміну і серотоніну в даній роботі не вивчалась.

Мета дослідження

Вияснити пейсмейкерну роль дофаміну в регуляції циркадіанного ритму функціонального стану гломеруло-тубулярного балансу.

Матеріал і методи

Досліди проведені на 24 щурах-самцях лінії Вістар, масою 150-180 г, яких утримували на по-

стійному харчовому режимі (зерно) при вільному доступі до 1% розчину натрію хлориду на водопровідній воді, що нівелювало низько натрієвий раціон. Тварин адаптували 10 діб до умов експерименту, після чого в спеціальних обмінних клітках збирали діурез за дві години в середині дня (11⁰⁰ до 13⁰⁰) і в середині ночі (23⁰⁰ до 1⁰⁰), після використання 5% водно-етанолового внутрішньошлункового навантаження. Блокаду циркадіанного ритму СХЯ здійснювали шляхом утримування тварин за умов 10 денного постійного освітлення (500 люкс) [4].

З метою підвищення рівня дофаміну в нирках і крові використали селегілін – селективний інгібітор моноаміноксидази-В [9, 12, 15]. Препарат вводили в дозі 2,5 мг/кг внутрішньочеревно о 9⁰⁰ та 21⁰⁰.

У плазмі крові і сечі тварин досліджували концентрацію ендogenous креатиніну колориметрично з пікриновою кислотою та іонів натрію і калію методом полум'яної фотометрії. Титровані кислоти і солі амонію в сечі визначали за методикою С.І. Рябова та співавт. (1979) [2]. Стан гломе-

руло-тубулярного і тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку оцінювали за розрахованими параметрами: фільтраційного заряду натрію (FNa⁺), проксимального транспорту (TpNa⁺) і проксимальної реабсорбції натрію (RpNa⁺), завантаженню дистального каналця іонами натрію (LDNa⁺), дистальним транспортом (TdNa⁺) і реабсорбцією натрію (RdNa⁺), концентрацією іонів натрію в області macula densa (CMDNa⁺).

Цифровий матеріал проаналізовано з використанням комп'ютерної програми "Statistica for Windows", "Version 5" з визначенням t критерію Стьюдента.

Обговорення результатів дослідження

У результаті проведених експериментальних досліджень констатовано, що після блокади біоритмічної активності СХЯ під впливом тривалого постійного освітлення основні параметри циркадіанного ритму гломеруло-тубулярного балансу зберігаються: в «суб'єктивну» темнову фазу добового циклу має місце підвищення швидкості гло-

Таблиця

Швидкість клубочкової фільтрації і каналцевої реабсорбції іонів натрію і води під впливом селегіліну на тлі постійного освітлення (M±m)

Характер експерименту	Години дослідження 11 ⁰⁰ -13 ⁰⁰		Години дослідження 23 ⁰⁰ -1 ⁰⁰	
	До введення селегіліну	Після введення селегіліну	До введення селегіліну	Після введення селегіліну
	I група n = 12	II група n = 12	III група n = 12	IV група n = 12
Досліджувані показники				
GH ₂ O (мкл/хв)	533,9±24,8	491,1±38,8	616,7±24,8 p ₁ <0,05	451,1±9,30 p ₄ <0,05
FNa ⁺ (мкекв/хв)	72,1±3,35	66,3±5,25	83,2±3,35 p ₁ <0,05	60,9±1,24 p ₄ <0,05
TpNa ⁺ (мкекв/хв)	67,8±3,17	62,2±4,48	78,5±3,23 p ₁ <0,05	57,6±0,97 p ₄ <0,05
RpNa ⁺ %	94,03±0,14	94,85±0,92	94,29±0,23	94,72±0,51 p ₄ >0,05
LdNa ⁺ (мкекв/хв)	4,5±0,20	4,13±0,55	4,7±0,24	3,25±0,35 p ₄ <0,05
TdNa ⁺ (мкекв/хв)	2,01±0,21	3,25±0,43 p ₃ <0,05	3,50±0,29 p ₁ <0,05	2,75±0,36
RdNa ⁺ (%)	45,16±5,38	78,15±8,73 p ₃ <0,05	72,51±3,23 p ₁ <0,05	82,31±3,42 p ₄ <0,05
CMDNa ⁺ (мкекв/мкл)	0,113±0,016	0,028±0,009 p ₃ <0,05	0,036±0,003 p ₁ <0,05	0,021±0,002 p ₄ <0,05
RNa ⁺ (%)	94,77±0,84	98,60±0,50 p ₃ <0,05	98,39±0,19 p ₁ <0,01	99,17±0,09 p ₄ <0,05
RH ₂ O (%)	94,03±0,14	93,78±0,77	94,27±0,23	94,71±0,51
D (мкл/хв)	31,74±1,50	30,50±3,98	35,15±1,77	24,1±2,62 p ₄ <0,05
ENa ⁺ (мкекв/хв)	3,59±0,50	0,87±0,29 p ₃ <0,01	1,27±0,10 p ₁ <0,05	0,51±0,06 p ₄ <0,01

Примітка. Статистичні пари порівняння: p₁ (I-III), p₂ (II-IV), p₃ (I-II), p₄ (III-IV)

мерулярної фільтрації і фільтраційного заряду натрію на тлі активації TrNa^+ , що не призводило до зміни показника LDNa^+ . Реабсорбція іонів натрію в дистальному каналці RdNa^+ різко зростала паралельно із збільшенням абсолютних величин його транспорту (TdNa^+), що призводило до суттєвого зниження концентрації іонів натрію в області *macula densa* з $0,113 \pm 0,016$ до $0,036 \pm 0,003$ мкекв/мкл. Такі зміни функціонального стану гломеруло-тубулярного балансу на тлі блокади центрального пейсмекара призводили до десинхронізації екскреторної функції нирок, зокрема втрати акрофази показників діурезу і екскреції іонів натрію в «суб'єктивну» темнову фазу добового циклу. Раніше нами показано, що депресія параметрів екскреторної функції нирок під дією тривалого постійного освітлення може бути зумовлена ефектами серотоніну та дофаміну [1]. Після введення тваринам селегіліну, який селективно блокуючи моноаміноксидазу-В, підвищує рівень у крові і тканинах дофаміну, констатовано, що в «суб'єктивну» темнову фазу добового циклу швидкість клубочкової фільтрації і фільтраційного заряду натрію знижується, падає показник TrNa^+ , який при збереженні інтенсивності реабсорбції натрію в проксимальному сегменті нефрону приводив до зменшення показника навантаження дистального каналця LDNa^+ іонами натрію. У результаті інтенсифікації іонів натрію в дистальному каналці концентрація даного електроліту в області *macula densa* знижувалась (табл.).

Відомо, що підвищення рівня дофаміну в нирковій паренхімі призводить до зниження чутливості епітелію *macula densa* і пригніченню ефектів TGF [13, 14, 17]. У результаті зниження чутливості епітелію *macula densa* і зменшення ефектів TGF на клітини ЮГА втрачається реакція *v. afferens* на зменшення CDMNa^+ , не збільшується швидкість гломерулярної фільтрації і фільтраційного заряду натрію. Стимуляція D_1 -рецепторів дофаміном призводить до збільшення синтезу реніну, що може призвести до активації ренін-ангіотензин-альдостеронового механізму стимуляції реабсорбції іонів натрію в дистальному каналці і зниженні його екскреції із сечею як в «суб'єктивну» світлову, так і в «суб'єктивну» темнову фази добового циклу.

Висновки

1. Гломеруло-тубулярний, тубуло-тубулярний баланс і тубуло-гломерулярний зв'язок в нефроні зберігаються і на тлі блокади біоритмічної активності центрального пейсмекара.

2. Дофамін виступає важливим регулятором чутливості рецепторів епітелію *macula densa* до

концентрації іонів натрію, зумовлюючи зниження чутливості TGF.

Перспективи подальших досліджень

Зважаючи на високу нефротропну активність серотоніну, наявність реципрокних взаємин серотоніну і дофаміну в регуляції реабсорбції іонів натрію в нефроні, перспективним є подальше вивчення ролі серотоніну і дофаміну в регуляції гломеруло-тубулярного балансу і TGF.

Література. 1. Кушнір І.Г. Нейротрансмітерні механізми циркадіанного ритму / І.Г. Кушнір // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2010. – Т.6 - № 1. – С. 32-37. 2. Рябов С.И. Функциональная нефрология / С.И. Рябов, Ю.В. Наточин – СПб.: «Лань». – 1997. – 300 с. 3. Циркадіанний ритм гломеруло-тубулярного балансу в нефроні на тлі блокади центрального пейсмекара тривалим постійним освітленням / Л.Г. Доцюк, Т.М. Бойчук, І.Г. Кушнір, Г.І. Кожух // Клініч. та експер. патологія. – 2011. – Т. X. – С. 32-35. 4. Acute light exposure suppresses circadian rhythms in clock gene expression / B.P. Grone, P. Borgin, V. Cao, R.D. Fernald, H.C. Heller, N.F. Ruby et al. // J. Biol. rhythms. – 2011. – Vol. 26. – N 1. – P. 78-81. 5. Adrenal peripheral clock controls the autonomous circadian rhythm of glucocorticoid by causing rhythmic steroid production / G. H. Son, S. Chung, H. K. Choe // PNAS. – 2008. – Vol. 105. – N 52. – P. 20970-20975. 6. Anatomical and functional characterization of clock gene expression in neuroendocrine dopaminergic neurons / M.T. Selix, M. Egli, M. O. Poletini, [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – Vol. 290. – P. R1309-R1323. 7. Aperia A.C. Intrarenal dopamine: a key signal in the interactive regulation of sodium metabolism / A.C. Aperia // Annual review of Physiology. – 2000. – Vol. 62. – N 1. – P. 621-647. 8. Carlström M. Adenosine A_2 receptors modulate tubuloglomerular feedback / M. Carlström, C.S. Wilcox, W.J. Welch // Am. American Physiol. Renal Physiol. – 2010. – Vol. 299. – N 2. – P. 412-417. 9. Deleu D. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs used in the treatment of Parkinson disease / D. Deleu, M.G. Northway, Y. Hanssens // Clin Pharmacokinet. – 2002. – V. 41. – N 4. – P. 261-309. 10. Dopamine receptor-mediated regulation of neuronal “clock” gene expression / M. Imbesi, S. Yildiz, A. Dirim Arslan et al. // Neuroscience. – 2009. – Vol. 158. – N 2. – P. 537-544. 11. Endogenous Dopamine Regulates the Rhythm of Expression of the Clock Protein PER2 in the Rat Dorsal Striatum via Daily Activation of D2 Dopamine Receptors / S. Hood, P. Cassidy, M.-P. Cossette et al. // The Journal of Neuroscience. – 2010. – 30(42). – P. 14046-14058. 12. Fernandez H.H. Monoamine oxidase-B inhibition in treatment of Parkinson's disease / H.H. Fernandez, J.J. Chen // Pharmacotherapy. – 2007. – V. 27. – N 12 Pt 2. – P. 174S-185S. 13. Hildebrand D.A. Inhibition of tubuloglomerular feedback by the D₁ agonist fenoldopam in chronically salt-loaded rats / D.A. Hildebrand, B. Künigbauer // J. Physiol. – 1991. – V. 441. – P. 23-24. 14. Intrarenal Dopaminergic System Regulates Renin Expression / M.-Z. Zhang, B. Yao, X. Fang et al. // Hypertension. – 2009. – V. 53. – P. 564-570. 15. Mahmood I. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of selegiline. An update / I. Mahmood // Clin. Pharmacokinet. – 1997. – Vol. 33. – N 3. – P. 91-102. 16. Regulation of BMAL1 protein stability and circadian function by GSK3beta-mediated phosphorylation / S. Sahar et al. // PLoS One. – 2010. – Vol. 1. – N 5(1). – P. 8561. 17. Renal blood flow control by tubuloglomerular feedback (TGF) in normal and spontaneously hypertensive rats – role for dopamine and adenosine / D.A. Hildebrand, B. Künigbauer, M. Kawabata, Y. Ushioji // Journal of Molecular Medicine. – 1991. – V. 69. – N 13. – P. 587-596. 18. Stow L.R. The circadian clock in the kidney / L.R. Stow, M.L. Gumz // JASN. – 2011. – V. 22. – N 4. – P. 598-604. 19. Thomson S.C. Glomerulo-tubular balance, Tubulo-glomerular Feedback, and Salt homeostasis / S.C. Thomson, R.C. Blantz // JASN. – 2008. – Issue 19. – H. 2272-2275. 20. Valon V. Adenosine and kidney function / V. Valon, B. Muhlbaier, H. Osswald // Physiol. Rev. – 2006. – Vol. 86. – N 3. – P. 901-940. 21. Vasoconstrictor and vasodilator effects of adenosine in the mouse kidney due to

preferential activation of A₁ or A₂ adenosine receptors / P.B. Hansen, S. Hashimoto, M. Oppermann et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2005. – Vol. 315. – N 3. – P. 1150-1157. 22. Welch W.J. Roles of NO and oxygen radicals in tubuloglomerular feedback in SHR / W.J. Welch, A. Tojo, C.S. Wilcox // Am. J. Physiol Renal. Physiol. – 2000. – Vol 278. – N 5. – P. 769-776.

РОЛЬ ДОФАМИНА В РЕГУЛЯЦИИ ЦИРКАДИАЛЬНОГО РИТМА ГЛОМЕРУЛО- ТУБУЛЯРНОГО БАЛАНСА В НЕФРОНЕ

Л.Г. Доцюк¹, Г.И. Косошчук¹, Т.М. Бойчук², И.Г. Кушнір¹

Резюме. В экспериментах на крысах показано, что блокада центрального пейсмекера (СХЯ) длительным постоянным освещением сопровождается депрессией показателей экскреторной функции почек, хотя гломеруло-тубулярный баланс и тубуло-гломерулярная обратная связь сохраняется. Повышение уровня дофамина под влиянием селегилина, селективного ингибитора моноаминоксидазы-В снижает чувствительность рецепторов macula densa к концентрации ионов натрия и уменьшает эффект тубуло-гломерулярной обратной связи.

Ключевые слова: циркадианный ритм гломеруло-тубулярного и тубуло-тубулярного баланса, дофамин.

UDC 612.017,1: 616.61-092

ROLE OF DOPAMINE IN REGULATION OF CIRCADIAN RHYTHM OF GLOMERULOTUBULAR BALANCE IN THE NEPHRON

L. G. Dotsiuk, G. I. Kokoshchuk, .M. Boichuk, I. G. Kushnir

Purpose. Glomerulotubular balance (GTB) and tubulo-glomerular feedback (TGF) are the basic regulation mechanisms

of kidney function (Thomson S. et al., 2007). A key structure that physiologically supports the justified balances between glomerular filtration rate and tubular reabsorption is the receptors of epithelium macula densa, which determine the TGF. Research of the circadian rhythm under the influence of dopamine in the literature is not investigated.

Methods. In experiments on rats we investigated the influence of dopamine on TGB and TGF in intact animals and those with blocked by central pacemaker means of steady-state lighting the suprachiasmatic nucleus (SCN). Selegilin was injected intraperitoneally at 9 a.m. and 21 p.m. Forced diuresis after 5% hydroethanol loading was collected for 2 hours (11 a.m.-13 p.m. and 23 p.m.-1 p.m.). GTB and TGF were determined according to the parameters: FNa⁺, TpNa⁺, RpNa⁺, LDNa⁺, TdNa⁺, RdNa⁺ and CMDNa⁺. Such material was analyzed mathematically.

Results. GTB and TGF both in intact and blocked SCN remained. Selegilin reduced FNa⁺, TpNa⁺ and LDNa⁺. RdNa⁺ increased that led to a decrease of CMDNa⁺. Decrease of sodium concentration in the region of macula densa did not lead to activation of TGF and increasing FNa⁺.

Conclusion. GTB and TGF are important factors in regulating the function of the nephron both in intact and blocked central pacemaker. Dopamine decreases sensitivity of macula densa and thus affects circadian rhythm of GTF.

Key words: circadian rhythm of glomerulotubular and tubulotubular balance, dopamine.

Yu. Fedkovich National University (Chernivtsi)

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol. 11, №2(40). - P.41-44.

Надійшла до редакції 06.03.2012

Рецензент – проф. Ю. С. Розовий

© Л. Г. Доцюк, Г. І. Косошчук, Т. М. Бойчук, І. Г. Кушнір, 2012