

Г.І. Кокошук, І.Г. Кушнір

## Вплив постійної темряви на показники циркадіанного ритму екскреторної функції нирок білих щурів

*В експериментах на белых крысах изучен циркадианный ритм экскреторной функции почек. Постоянная, на протяжении 8 сут, темнота приводит к десинхронизации экскреторной функции почек со смещением акрофазы натрийуреза и ацидогенеза в нефроне с 23.00–2.00 на вторую половину ночи и первую половину дня (2.00–14.00).*

### ВСТУП

Ритмічні коливання частоти та інтенсивності фізіологічних процесів на субклітинному, клітинному, органному та системному рівнях відомі давно [2, 4, 6]. Водночас механізми, що включають і контролюють ритмічні зміни біологічних процесів вивчені недостатньо [5, 7]. Дискусійним залишається питання про вплив зовнішніх і внутрішніх ритмозадавачів, що в біоритмології аналізується як проблема “зовнішнього” та “внутрішнього” годинника [3]. Отримані експериментальні дані нерідко оцінюються полярно: від стану “біологічного хаосу” до чіткої організації [9, 10, 14]. Встановлено, що у птахів первинним внутрішнім ритмозадавачем є епіфіз, а у ссавців – супрахіазматичні ядра гіпоталамуса [2, 11, 12, 15]. Головними активаторами періодичності циркадіанних ритмів діяльності шишкоподібної залози та супрахіазматичних ядер є добові зміни дня і ночі [13], хоча не виключаються й інші водії ритму. Постійне, впродовж 8 діб, освітлення викликає пригнічення секреції мелатоніну – одного з гормонів епіфіза та пов’язане з цим зменшення швидкості гломерулярної фільтрації, посилення натрійурезу,

екскреції титрованих кислот та амонію з сечею [4]. Структура добового ритму екскреторної діяльності нирок як до, так і після пригнічення секреції мелатоніну носила явно неузгоджений характер, що може вказувати на недоліки в постановці біологічного експерименту: тваринам перед кожним двогодинним дослідженням вводили зондом у шлунок водопровідну воду з розрахунку 5 мл/100 г, що є і не фізіологічним, і стресогенним. Тварин утримували на низьконатрієвому раціоні, в результаті чого реабсорбція іонів натрію в канальцях сягала  $99,96\% \pm 0,01\%$ , що саме по собі не могло не вплинути на кислотовидільні процеси ще до початку дослідження.

Мета нашої роботи – дослідження циркадіанного ритму функціональної активності нирки за умов спонтанного діурезу, вільного доступу до води та їжі, практично при відсутності стресорних впливів на дослідних тварин впродовж експерименту з використанням вдосконаленої методики (патент № 67071 від 15.06.2004 р.).

### МЕТОДИКА

Досліди проведено на 20 білих щурах лінії Вістар масою 120–150 г, яких утримували

на постійному харчовому режимі (зерно) при вільному доступі до 1%-го розчину натрію хлориду, який розчиняли у водопровідній воді, що нівелювало раціон з низьким вмістом  $\text{Na}^+$ . Тварин таким чином адаптували впродовж 10 діб перед дослідом, після чого протягом 24 год з інтервалом у 3 год збирали сечу в спеціальних обмінних клітках.

У сечі визначали концентрацію ендogenous креатиніну колориметричним методом з пікриновою кислотою за Фоліним [1], вміст іонів натрію та калію досліджували методом полум'яної фотометрії, вміст титрованих кислот і амонію – титрометрично за методом Рябова та співавт. [8]. Ці виміри були контрольними. Після цього тварин утримували за умов постійної темряви впродовж 8 діб, а на 9-ту добу при дотриманні вказаних умов у тварин збирали сечу кожні 3 год і визначали показники екскреторної діяльності нирки.

Цифровий матеріал проаналізовано з використанням комп'ютерної програми Statistica для Windows, Version 5.0 з визначенням критерію t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У інтактних тварин, яких утримували за умов природного освітлення (16 год – світло, 8 год – темрява) констатовано чіткий циркадіанний ритм екскреторної функції нирок: діурез, екскреція іонів натрію і калію, ендogenous креатиніну (табл. 1), титрованих кислот і амонію (табл. 2) були статистично значно вищими в нічні години порівняно з показниками, вимірними вдень.

Утримання тварин упродовж 8 діб за умов постійної темряви практично не порушувало традиційного ритму діурезу. Екскреція іонів натрію як в досліді, так і в контролі в нічні години була статистично істотно вищою, але в контролі макси-

**Таблиця 1. Циркадіанний ритм екскреторної функції нирок у щурів за умов постійної, впродовж 8 діб, темряви ( $M \pm m$ )**

Година дослідження	I – нормальне освітлення (контроль) II – постійна темрява	Діурез, мл	Екскреція з сечею		
			іонів натрію, мкмоль	іонів калію, мкмоль	ендogenous креатиніну, мкмоль
8.00–11.00 (n = 9)	I	0,96 ± 0,05	182,6 ± 12,23	311,8 ± 19,55	7,73 ± 0,20
	II	0,88 ± 0,07	382,1 ± 28,41 *	422,3 ± 28,40*	8,82 ± 0,07*
11.00–14.00 (n = 10)	I	0,68 ± 0,04	114,5 ± 9,74	232,6 ± 20,69	6,03 ± 0,20
	II	0,76 ± 0,06	329,6 ± 26,55*	376,3 ± 28,19	8,22 ± 0,48*
14.00–17.00 (n = 10)	I	0,45 ± 0,05	80,97 ± 6,69	221,5 ± 20,46	6,49 ± 0,21
	II	0,32 ± 0,07	84,07 ± 18,79	153,7 ± 31,35*	3,86 ± 0,52*
17.00–20.00 (n = 8)	I	0,39 ± 0,02	116,9 ± 9,45	188,3 ± 14,36	5,87 ± 0,33
	II	0,47 ± 0,03*	156,0 ± 14,96*	235,0 ± 19,76	9,56 ± 0,92*
20.00–23.00 (n = 10)	I	0,79 ± 0,09	306,7 ± 26,28	350,5 ± 31,75	8,52 ± 0,49
	II	0,37 ± 0,02*	117,5 ± 12,14*	181,9 ± 16,33*	6,19 ± 0,34*
23.00–2.00 (n = 9)	I	1,12 ± 0,08	391,8 ± 28,72	419,0 ± 31,80	8,73 ± 0,69
	II	0,82 ± 0,07*	325,0 ± 18,71	403,6 ± 33,71	8,93 ± 0,69
2.00–5.00 (n = 8)	I	0,93 ± 0,05	297,0 ± 20,03	386,9 ± 30,41	7,79 ± 0,54
	II	1,22 ± 0,10*	555,1 ± 53,64*	600,9 ± 47,78*	11,66 ± 0,96*
5.00–8.00 (n = 10)	I	0,40 ± 0,06	141,1 ± 26,46	187,6 ± 28,37	3,75 ± 0,57
	II	0,65 ± 0,10*	298,3 ± 43,26*	318,3 ± 47,58*	6,32 ± 0,84*

Тут і в табл. 2 \*  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

**Таблиця 2. Циркадіанний ритм кислотовидільної функції нирок за умов постійної, впродовж 8 діб, темряви (M ± m)**

Година дослідження	I – нормальне освітлення (контроль) II – постійна темрява	Екскреція з сечею			
		титрованих кислот, мкмоль	амонію, мкмоль	титрованих кислот, мкмоль/100 мкл клубочкової фільтрації	амонію, мкмоль/100 мкл клубочкової фільтрації
8.00–11.00 (n=9)	I	57,99 ± 4,77	62,87 ± 5,86	5,52 ± 0,19	5,98 ± 0,36
	II	80,71 ± 6,21*	93,09 ± 6,97*	6,78 ± 0,45*	7,83 ± 0,34*
11.00–14.00 (n=10)	I	45,16 ± 3,63	62,01 ± 4,19	5,54 ± 0,31	7,61 ± 0,47
	II	74,59 ± 5,86*	75,87 ± 5,81*	6,84 ± 0,55*	6,96 ± 0,41
14.00–17.00 (n=10)	I	50,20 ± 3,21	57,89 ± 5,55	5,74 ± 0,36	6,61 ± 0,45
	II	21,41 ± 3,49*	25,36 ± 3,19*	3,94 ± 0,24*	4,93 ± 0,27*
17.00–20.00 (n=8)	I	42,62 ± 3,35	44,78 ± 3,92	5,41 ± 0,29	5,59 ± 0,37
	II	54,17 ± 7,52	52,38 ± 8,79	4,06 ± 0,21*	3,82 ± 0,33*
20.00–23.00 (n=10)	I	53,25 ± 3,78	86,32 ± 11,34	4,68 ± 0,32	7,21 ± 0,59
	II	42,43 ± 4,80*	42,60 ± 4,52*	5,23 ± 0,69	5,24 ± 0,66*
23.00–2.00 (n=9)	I	68,29 ± 5,75	108,5 ± 8,66	5,84 ± 0,39	9,11 ± 0,81
	II	71,01 ± 6,48	79,49 ± 10,04*	5,80 ± 0,33	6,38 ± 0,49*
2.00–5.00 (n=8)	I	63,24 ± 4,00	112,6 ± 8,28	6,01 ± 0,51	10,58 ± 0,69
	II	110,0 ± 8,19*	113,0 ± 8,84	6,98 ± 0,47	7,22 ± 0,40*
5.00–8.00 (n=10)	I	30,15 ± 5,42	52,19 ± 8,40	5,65 ± 0,42	10,12 ± 0,91
	II	61,61 ± 4,55*	66,87 ± 4,74	7,83 ± 0,51*	8,54 ± 0,58

мальний натрійурез констатовано з 20.00 до 5.00, а при постійній темряві хвиля натрійурезу розпочиналась о 23.00 і завершувалась о 14.00. Екскреція іонів калію теж мала характерний добовий ритм як при звичайному освітленні, так і за умов постійної темряви, хоча і не таку чітку вираженість (див. табл. 1).

При дослідженні кислотовидільної функції нирок за умов постійної темряви (див. табл. 2) встановлено, що активація ендокринної функції епіфіза не супроводжується суттєвими відмінностями екскреції кислот фосфатів і амонію порівняно з контролем. Водночас і в даному дослідженні констатовано зміщення підвищеного ацидогенезу за рахунок солей амонію на другу половину ночі і першу половину дня.

Таким чином, при постійній, впродовж 8 діб, темряві спостерігається порушення циркадіанного ритму екскреторної функції

нирок зі зміщенням акрофази натрійурезу та ацидогенезу в нефроні з 23.00–2.00 на другу половину ночі і першу половину дня (2.00–14.00).

**G.I. Kokoshchuk, I.G. Kushnir**

#### **INFLUENCE OF STEADY-STATE DARKNESS ON CIRCADIAN RHYTHM EXCRETORY ACTIVITY OF THE KIDNEY**

In experiments on White rats was established, that the steady-state darkness during 8 days results in desynchronizes of the circadian rhythms of sodium ions, titrate acids and ammonium excretion with moving from 23.00 – 2.00 hours to 2.00 – 14.00 hours.

*Chernivtsi National University named after Yu. Fedcovyeh  
Bucovinian Medical Academy, Chernivtsi*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. – Барнаул, 1972. – 199 с.

2. Менакер М., Бинкли С. Нервный и эндокринный контроль циркадианных ритмов у позвоночных. – В кн.: Биологические ритмы / Под ред. Ашоффа Ю.– М.: Мир, 1984. – Т. 1 – С. 275–291.
3. Питтендрай К. Циркадианные ритмы и циркадианная организация живых систем. – В кн.: Биологические часы. – М.: Мир, 1964. – С. 263–306.
4. Пішак В.П., Терлецька О.Г., Бойчук Т.М. Порухнення хроноритмів екскреторної, іоно-регулюючої та кислотовидільної функцій нирок за умов гіпофункції шишкоподібного тіла // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2003. – № 3. – С. 30–35.
5. Романов Ю.А. Временная организация биологических систем. – В кн.: Биологические ритмы. – М.: Мир, 1980. – С. 10–56.
6. Романов Ю.А. От хронобиологии к хронотопобиологии // Вестн. РАМН – 2000. – № 8. – С. 8–11.
7. Романов Ю.А. Теория биологических систем и проблема их временной организации // Проблемы хронобиологии. – 1990. – 1, № 3-4. – С. 105–122.
8. Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. Диагностика болезней почек. – Л.: Медицина, 1979. – 255 с.
9. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Фундаментальные основы биологических ритмов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 8. – С. 4–7.
10. Ebert T., Ray W., Kovalik Z. et al. Chaos and physiology: deterministic chaos in excitable cell assemblies // Physiol. Rev. – 1993. – 74, № 1. – P. 1–47.
11. Hofman M.A. The human circadian clock and aging // Chronobiol. Int. – 2000. – 17, № 3. – P. 245–259.
12. Ishida Y., Yokoyama C., Inatomi T. et al. Circadian rhythm of aromatic L-amino acid decarboxylase in the rat suprachiasmatic nucleus: gene expression and decarboxylating activity in clock oscillating cells // Genes. Cells. – 2002. – № 7 (5). – P. 447–459.
13. Kenneway D.J., Wright H. Melatonin and circadian rhythms // Curr. Top Med. Chem. – 2002. – № 2 (2). – P. 199–209.
14. Lloyd A.L., Lloyd D. Chaos: its significance and detection in biology // Biol. Rhythm Res. – 1995. – 26, № 2. – P. 233–252.
15. Moore R.J., Danchenko R.L. Paraventricular – subparaventricular hypothalamic lesions selectively affect circadian function // Chronobiol. Int. – 2002. – 19, № 2. – P. 345–360.

*Чернів. нац. ун-т ім. Ю. Федьковича;  
Буковин. мед. академія, Чернівці*

*Матеріал надійшов до  
редакції 01.04.2004*