

## Влияние блокады оксида азота на экскреторную функцию почек в условиях гипофункции эпифиза

С.Б. Семененко, И.Р. Тимофийчук\*, Т.П. Савчук, К.В. Слободян, А.В. Марущак, Н.Я. Васкул, Л.Р. Рудницкая

Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина

\*Corresponding author. E-mail: inga.timofiychuk@mail.ru

Paper received 22.11.15; Accepted for publication 02.12.15.

**Аннотация.** В работе рассмотрено влияние блокады оксида азота (NO) на экскреторную функцию почек на фоне гипофункции эпифиза. Для исследования роли NO в экскреторной регуляции функции почек подопытным животным, которые находились в условиях гипофункции эпифиза, блокировали его синтез путем внутривенного введения N $\omega$ -нитро-L-аргинина (L-NNA) на протяжении 7 суток.

По результатам хронологических экспериментов установлено, что экскреторная функция почек подчинена четкой циркадианной организации.

Показано, что угнетение функции эпифиза приводит к более выраженным хроноритмическим перестройкам исследуемой почечной функции в сравнении со стимуляцией эпифиза. Введение L-NNA в условиях гипофункции эпифиза приводит к более выраженным нарушениям интегральных характеристик экскреторной функции почек в сравнении с блокадой синтеза NO на фоне гиперфункции органа. Установленные общие закономерности околосуточных перестроек исследуемой ренальной функции при блокаде синтеза NO на фоне гипофункции эпифиза с использованием хроноритмических наблюдений позволяют оптимизировать методы диагностики и профилактики почечных заболеваний.

**Ключевые слова:** хроноритмы, почки, монооксид азота, N $\omega$ -нитро-L-аргинин, эпифиз

**Введение.** Биологические ритмы – периодически повторяемые изменения характера и интенсивности физиологических процессов и явлений, которые присущи биосистемам на всех уровнях организации [1]. Принята концепция о циркадианной системе организма, функциональными звеньями которой есть эпифиз и супрахиазматические ядра гипоталамуса, которые рассматриваются как основной генератор биоритмов большинства функций организма [4,6]. Почки, также, характеризуются четкой часовой организацией функций [2,3], однако, особенности циркадианной организации и механизмы участия внутриклеточных мессенджеров, в частности, оксида азота (NO) у биоритмической регуляции почечных функций остаются недостаточно изученными [5,7].

**Цель работы.** Изучить влияние оксида азота на экскреторную функцию почек в условиях гипофункции эпифиза.

**Материалы и методы.** Испытания провели на 72 половозрелых нелинейных самцах белых крыс весом 0,15-0,18 кг. Животных содержали в условиях вивария при постоянной температуре и влажности воздуха на стандартном харчевом рационе. Контрольную группу составили животные (n=36), которые находились в условиях обычного светового режима (12.00С:12.00Т) на протяжении 7-ми суток. Экспериментальную группу составили животные (n=36), которым вводили N $\omega$ -нитро-L-аргинин (L-NNA) в дозе 20 мг/кг на протяжении 7-ми дней при условии постоянного освещения (12.00С : 12.00С). На 8-е сутки животным делали 5% водную нагрузку подогретой до комнатной температуры водосточной водой и изучали параметры экскреторной функции почек в условиях форсированного диуреза.

Эксперименты проводили с 4-часовым интервалом на протяжении суток. Изучали концентрацию и экскрецию ионов калия, креатинина, белка, скорость клубочковой фильтрации, относительную реабсорбцию

воды. Результаты обрабатывали статистически методом “Косинор-анализа”, а также параметрическими методами вариационной статистики. Диагностика функциональных особенностей базировалась на основании анализа изменений характеристик мезора (среднесуточного уровня), амплитуды, акрофазы и формы кривой циркадианного ритма. Полученные индивидуальные хронограммы для каждого животного группировали по принципу идентичности максимальной акрофазы и рассчитывали методом “Косинор-анализа” пересекаемые для каждой группы хронограммы мезора, амплитуду и фазовую структуру (по интервалу времени между акро- и батифазой).

Эксперименты в контрольных и экспериментальных животных в ночное время суток проводили при слабом (2 лк) красном освещении, которое практически не влияет на биосинтез мелатонина эпифизом. Все этапы эксперимента проведены с соблюдением основных требований Европейской конвенции по гуманному отношению к животным.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали на персональных компьютерах пакетом программ EXCE-2003 (Microsoft Corp., США). Для всех показателей рассчитывали значение средней арифметической избирательности ( $\bar{x}$ ), ее дисперсии и погрешности средней ( $S_x$ ). Для выявления вероятности отличия результатов у экспериментальных и контрольных групп животных определяли коэффициент Стьюдента (t), после чего определяли вероятность отличий выборки (p) и доверительный интервал средней по таблицам распределения Стьюдента. Вероятными считали значения, для которых  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Функции почек у контрольных животных подчинены четкой циркадианной организации. Суточные ритмы показателей экскреторной функции почек отображают аналогичные изменения ренальных процессов.

Суточный ритм диуреза у животных, которым блокировали синтез NO в условиях постоянного освещения, разрешает допустить, что блокада синтеза NO изменяет фазовую структуру ритма и вызывает снижение среднесуточного уровня диуреза в сравнении с контрольной группой (табл. 1).

Основой выявленных изменений хроноритмов диуреза было снижение скорости клубочковой фильтрации, что сопровождалось повышением уровня относительной реабсорбции воды и уравновешивало гломеруло-тубулярные процессы (табл. 1).

Несмотря на снижение скорости ультрафильтрации, произошло снижение уровня концентрации креатинина в плазме крови. Среднесуточный уровень был ниже по сравнению с контрольным показателем на 37% (табл.).

Соединительное действие торможения синтеза NO и гипофункции эпифиза привело к повышению уровня концентрационного индекса эндогенного креатинина (табл. 1).

Так как наблюдалось снижение среднесуточного уровня экскреции ионов калия и концентрации его в моче, по сравнению с животными, которые находились в условиях физиологической функции эпифиза (табл.), можно допустить, что именно угнетение синтеза мелатонина есть одной из причин, что приводит к нарушениям механизмов калиевого гомеостаза.

Хроноритмические перестройки экскреторной функции почек не сопровождалось изменением концентрации и экскреции белка в моче на протяжении суток (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние блокады синтеза NO в условиях гипофункции эпифиза на мезор и амплитуду ритмов показателей экскреторной функции почек у белых крыс ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показатели	Контрольные животные (n=36)		Блокада синтеза NO при условии гипофункции эпифиза (n=36)	
	Мезор	Амплитуда (%)	Мезор	Амплитуда (%)
Диурез, мл/2 ч	3,2±0,28	18,7±1,55	1,8±0,25; p<0,001	24,5±1,01; p<0,001
Концентрация ионов калия в плазме крови, ммоль/л	5,1±0,29	24,8±1,41	5,1±0,15	6,5±0,81; p<0,001
Концентрация ионов калия в моче, ммоль/л	15,9±0,62	35,4±1,31	9,1±0,81; p<0,001	21,3±1,01; p<0,001
Экскреция ионов калия, мкмоль/ 2 ч	201,2±2,72	49,9±2,35	151,1±2,52; p<0,001	57,3±1,51; p<0,01
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	49,8±1,38	19,9±2,11	36,8±2,21; p<0,001	19,7±1,12
Экскреция креатинина, мкмоль/2 ч	3,5±0,44	16,9±1,91	1,8±0,21; p<0,01	29,1±1,02; p<0,001
Скорость клубочковой фильтрации, мкл/мин	623,5±14,91	22,0±1,52	443,9±13,21; p<0,001	42,1±1,61; p<0,001
Относительная реабсорбция воды, %	95,1±0,56	1,6±0,41	96,2±0,59; p<0,001	0,8±0,05
Концентрационный индекс эндогенного креатинина, ед	24,6±1,81	40,7±1,01	29,6±1,12; p<0,05	20,5±1,12; p<0,001
Концентрация белка в моче, г/л	0,1±0,01	30,1±1,91	0,1±0,01	20,1±0,72
Экскреция белка, мг/2 час	0,2±0,03	27,8±1,22	0,2±0,03	33,6±1,32; p<0,01
Экскреция белка, мг/100 мкл КФ	0,1±0,01	32,8±1,62	0,1±0,01	30,1±1,42

**Примечание:** p – вероятность различия между показателями опытных и контрольных животных; n – количество животных.

**Выводы.** Таким образом, при условии L-NNA блокады синтеза NO на фоне гипофункции эпифиза наблюдали хроноритмические перестройки архитектоники и фазовой структуры ритмов большинства показателей экскреторной функции почек: снижение среднесуточного уровня ритма мочеотделения при антифазной структуре, относительно других групп наблюдения, существенное снижение концентрации ионов калия в моче и их экскреции во все периоды, с преобладанием в ночные промежутки суток, относительно контрольных животных и животных, которым вводили NO на фоне гиперфункции эпифиза, чего не наблюдалось у крыс, которым проводили блокаду синтеза NO в условиях физиологической функции эпифиза, а существенное угнетение скорости клубочковой фильтрации есть по-

следствием соединенного действия блокады синтеза NO и гипофункции эпифиза мозга, относительно других групп сравнения. Выявленное снижение амплитуд хроноритмов, по нашему мнению, есть важным диагностическим показателем адаптивных возможностей на границе перехода адаптации в дезадаптацию.

**Перспективы дальнейших исследований.** Выяснение особенностей хроноритмических перестроек экскреторной функции почек при условии блокады синтеза NO на фоне угнетения активности эпифиза есть важным для познания механизмов возникновения и развития патологических состояний, что даст возможность улучшить раннюю диагностику, усовершенствовать лечение почечной патологии и своевременно проводить профилактические меры.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В.Н. Анисимов // Успехи физиол. наук. – 2008. – Т. 39, № 4. – С. 40-65.
2. Брюханов В.М. Роль почки в регуляции суточных ритмов организации // В.М. Брюханов, А.О. Зверев // Нефрология. – 2010. – Т. 14, № 3. – С. 17-31.
3. Наточин Ю.В. Водно-солевой гомеостаз – роль рефлексов, гормонов, инкретинов, аутокоидов / Ю.В. Наточин // Физиол. ж. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 13-15.
4. Губина-Вакулик Г.И. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения пинеальной железы / Губина-Вакулик Г.И., Бондаренко Л.А., Сотник Н.Н. // Успехи геронтол. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 92-95.
5. Activation of NO donors in mitochondria: peroxidase metabolism OF (2-hydroxyamino-vinyl)-triphenyl-phosphonium by cytochrome c releases NO and protects cells against apoptosis / D.A. Stoyanovsky, I.I. Vlasova, N.A. Belikova [et al.] // FEBS Lett. – 2008. – Vol. 582, № 5. – P. 725-728.
6. Jom, Lars Olof. Hour does light affect melatonin / Jom Lars Olof., Jonsson Anders // Med. Hypotheses. – 2008. – Vol. 71, № 3. – P. 458.
7. “Nitrosative stress in plants”. Nitric Oxide Reacts with Methoxide / D.R. Frank, K. Larry, Keer [et al.] // Chem. – 2008. – Vol. 73. – P. 1139-1142.

#### REFERENCES

1. Anisimov, V.N. epiphysis, biorhythms and aging / V.N. Anisimov // Advances of Physiological Sciences. – 2008. – Vol. 39, № 4. – P. 40-65.
2. Bryuhanov, V.M. The role of the kidney in the regulation of circadian rhythms organization // V.M. Bryuhanov, A.O. Zverev // Nephrology. – 2010. – Vol. 14, № 3. – P. 17-31.
3. Natochin, V. Water-salt homeostasis – the role of reflexes, hormones, incretins, autakoidov / Yu. Natochin // Physiological journal. – 2011. – Vol. 57, № 5. – P. 13-15.
4. Gubin-Vakulik, G.I. long room lighting as a factor of accelerated aging pineal gland / G.I. Gubin-Vakulik, L.A. Bondarenko, N.N. Sotnik // Advances in Gerontology. – 2007. – Vol. 20, № 1. – P. 92-95.
5. Activation of NO donors in mitochondria: peroxidase metabolism OF (2-hydroxyamino-vinyl)-triphenyl-phosphonium by cytochrome c releases NO and protects cells against apoptosis / D.A. Stoyanovsky, I.I. Vlasova, N.A. Belikova [et al.] // FEBS Lett. – 2008. – Vol. 582, № 5. – P. 725-728.
6. Jom, Lars Olof. Hour does light affect melatonin / Jom Lars Olof., Jonsson Anders // Med. Hypotheses. – 2008. – Vol. 71, № 3. – P. 458.
7. “Nitrosative stress in plants”. Nitric Oxide Reacts with Methoxide / D.R. Frank, K. Larry, Keer [et al.] // Chem. – 2008. – Vol. 73. – P. 1139-1142.

#### **The conditions of monooxide nitrogen blocking on the excretory function of the kidneys a background of pineal hypofunction S.B. Semenenko, I.R. Timofiychuk, T.P. Savchuk, K.V. Slobodian, A.V. Maruschak, N.Y. Vascul, L.R. Rudnitskaya**

**Abstract.** The paper represents the chronorhythmologic structure of the excretory function of the kidneys under the influence of monooxide nitrogen (NO) block a background of pineal hypofunction (PG). The object of the research was establishing an inter relationship between the functional condition of the PG and the synthesis of NO, us well as ascertaining the pathophysiological mechanisms of disturbances of the chronorhythmic organization of the excretory function of the kidneys. It has been established for the first time that NO is an important intracellular messenger of regulating chronorhythms of the excretory function of the kidneys. It has been demonstrated that the effects of N $\omega$ -nitro-L-arginine blocking (L-NNA) of NO synthesis depend on the functional activity of the PG. L-NNA blocking of NO synthesis under the conditions PG hypofunction results in more marked changes of the integral characteristics of chronorhythms of the principal parameters in the functional condition of the kidneys as compared with blocking NO synthesis with underlying PG hyperfunction.

The changes of quantitative parameters of the chronorhythms of the excretory function of the kidneys determine the expediency of updating the methods of early diagnostics and preventing renal diseases.

**Keywords:** *chronorhythms, kidneys, nitrogen monooxide, N $\omega$ -nitro-L-arginine, pineal gland*