



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founder:

- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

O. Gutnik, O. Silkova, D. Khmil, V. Kostenko

doi: 10.31450/ukrjnd.2(82).2024.08

Effects of circadian rhythm modulators on excretory and sodium-regulating functions of kidneys in rats during acute desynchronization and lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response

Poltava State Medical University, Poltava, Ukraine

Citation:

Gutnik O, Silkova O, Khmil D, Kostenko V. Effects of circadian rhythm modulators on excretory and sodium-regulating functions of kidneys in rats during acute desynchronization and lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. Ukr J Nephrol Dial. 2024;2(82):52-61. doi: 10.31450/ukrjnd.2(82).2024.08.

Abstract. *The present study aims to investigate the effect of circadian rhythm modulators (sodium glutamate, melatonin, and quercetin) on the excretory and sodium-regulating function of the kidneys in rats during acute desynchronization (AD) and lipopolysaccharide (LPS)-induced systemic inflammatory response (SIR).*

Methods. *Forty-nine white male Wistar rats were randomly divided into seven groups, each consisting of seven animals: Group 1 served as the control; Group 2 comprised animals exposed to LPS-induced SIR; Group 3 involved rats exposed to AD; Group 4 included animals exposed to AD under LPS-induced SIR. The rats in Groups 5, 6, and 7 over the period of exposure to modeled AD during LPS-induced SVD received intragastrically (via a gavage tube) the following compounds daily before morning feeding: sodium glutamate in a dose of 20 mg/kg, melatonin in a dose of 5 mg/kg, and quercetin in a dose of 200 mg/kg, respectively. Serum concentrations of cortisol and the acute phase inflammatory protein ceruloplasmin were measured. Kidney functions were studied under conditions of induced diuresis.*

Results. *AD modeling during LPS-induced SIR increased the content of serum cortisol by 18.3% ($P < 0.001$) compared with the results of group 3, elevated the concentration of ceruloplasmin by 12, 2% ($P < 0.001$) relative to the value of group 2, lessened glomerular filtration rate (GFR) by 20.9% ($P < 0.01$) and 17.1% ($P < 0.001$), as well as decreased absolute sodium ion reabsorption by 24.2% and 23.4% ($P < 0.001$) relative to the results of groups 2 and 3, respectively. The administration of sodium glutamate under the experimental conditions significantly worsened the changes in markers of acute stress and acute-phase response and resulted in the GFR intensification by 17.6% ($P < 0.01$), and the reduction of absolute reabsorption of this ion by 19.7% ($P < 0.001$) compared with the values of group 4. Melatonin and quercetin, on the contrary, reduced serum cortisol and ceruloplasmin concentrations, normalized induced diuresis and GFR, and increased absolute sodium reabsorption by 35.9 and 45.0% ($P < 0.001$), respectively, compared with the findings of group 4.*

Conclusions. *Under experimental conditions, the administration of sodium glutamate significantly worsens the markers of acute stress and acute-phase response, GFR, and sodium reabsorption. Conversely, the use of exogenous melatonin and quercetin ameliorates the above-mentioned markers compared to the values following the AD modeling during LPS-induced SIR.*

Key words: *kidney function, acute desynchronization, lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response, sodium glutamate, melatonin, quercetin.*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

© O. Gutnik, O. Silkova, D. Khmil, V. Kostenko, 2024

Correspondence should be addressed to Vitalii Kostenko: v.kostenko@pdmu.edu.ua

Article history:

Received February 22, 2024

Received in revised form
March 06, 2024

Accepted March 06, 2024



© Гутнік О. М., Сілкова О. В., Хміль Д. О., Костенко В. О., 2024

УДК: 616.61:616.9:612.08:599.323.4:615.21

О.М. Гутнік, О.В. Сілкова, Д.О. Хміль, В.О. Костенко

Вплив модуляторів циркадіанного ритму на екскреторну та натрійрегулювальну функцію нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Полтавський державний медичний університет, м.Полтава, Україна

Резюме. Метою цього дослідження було вивчення впливу модуляторів циркадіанного ритму (глутамату натрію, мелатоніну та кверцетину) на екскреторну та натрійрегулювальну функцію нирок щурів за умов гострого десинхронозу (ГД) та ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої системної запальної відповіді (СЗВ).

Методи. Щурів лінії Вістар ($n = 49$) рандомно розподіляли на 7 груп по 7 тварин: 1-ша – контроль; 2-га – моделювання ЛПС-індукованої СЗВ; 3-тя – відтворення ГД; 4-та – моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. Щурам 5-ї, 6-ї та 7-ї груп протягом часу відтворення моделі ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, внутрішньошлунково (через зонд) щоденно перед ранковим годуванням вводили такі сполуки: глутамат натрію у дозі 20 мг/кг, мелатонін у дозі 5 мг/кг і кверцетин у дозі 200 мг/кг відповідно. В сироватці крові досліджували концентрацію мелатоніну, кортизолу та білка гострої фази запалення церулоплазміну. Функції нирок досліджували за умов індукованого діурезу.

Результати. Відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ збільшувало у сироватці крові вміст кортизолу на 18,3% ($P < 0,001$) щодо результатів 3-ї групи, підвищувало концентрацію церулоплазміну на 12,2% ($P < 0,001$) щодо значення 2-ї групи, зменшувало швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) на 20,9% ($P < 0,01$) та 17,1% ($P < 0,001$), а абсолютну реабсорбцію іонів натрію на 24,2 і 23,4% ($P < 0,001$) щодо результатів 2-ї та 3-ї груп відповідно. Введення глутамату натрію за умов експерименту значно погіршувало маркери гострого стресу та гострофазової реакції, збільшувало ШКФ на 17,6% ($P < 0,01$) та знижувало абсолютну реабсорбції цього іону на 19,7% ($P < 0,001$) порівняно зі значеннями 4-ї групи. Мелатонін і кверцетин, навпаки, зменшували в сироватці крові концентрацію кортизолу та церулоплазміну, нормалізували індукований діурез і ШКФ, підвищували абсолютну реабсорбцію натрію на 35,9 і 45,0% ($P < 0,001$) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Висновки. Введення глутамату натрію за умов експерименту значно погіршує, а застосування екзогенного мелатоніну та кверцетину покращує маркери гострого стресу та гострофазової реакції, показники ШКФ та реабсорбції порівняно з відтворенням ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ.

Ключові слова: функції нирок, гострий десинхроноз, ліпополісахарид-індукована системна запальна відповідь, глутамат натрію, мелатонін, кверцетин.

Вступ. Персистуюче низькоінтенсивне запалення, що супроводжується системною запальною відповіддю (СЗВ), є важливим чинником патогенезу хронічної хвороби нирок (ХХН) [1]. Окрім того, СЗВ сприяє розвитку метаболічного синдрому, неалкогольного стеатогепатиту, серцево-судинних захворювань, цукрового діабету 2-го типу та корелює з підвищеною смертністю [2]. Для СЗВ характерне порушення балансу між про- та протизапальними маркерами та розвиток оксидативно-нітрозативного стресу, що пов'язується з надмірною активацією вродженого імунітету, виробленням активних форм кисню та нітрогену, дисрегуля-

цією запального процесу та дисбіозом кишечника. Тривала СЗВ викликає артеріальну гіпертензію, фіброз нирок та зниження їхніх функцій [1,3]. Лікування методом гемодіалізу через прогресування ХХН, згідно з сучасними дослідженнями, має негативний двонаправлений зв'язок з ознаками системного запалення [1,4].

Функції нирок, як і інших внутрішніх органів, виявляють добову ритмічність, що регулюється циркадіанними осциляторами – структурно-функціональними утвореннями, що безпосередньо реалізують ендogenousний коливальний процес, такими як центральний біологічний годинник, локалізований у супрахіазматичному ядрі гіпоталамуса, та периферичні осцилятори [5,6]. У нирках годинниковий механізм регулює метаболізм ксенобіотиків і різні гени транспорту натрію, наприклад, Na^+ - Cl^- -котранспортер [7].

Порушення координації біологічних ритмів організму (зміна тривалості їх періоду, частоти та амплітуди, десинхронізація внутрішньо- або міжсистемних ритмів), що супроводжується роз-

Віталій Костенко

v.kostenko@pdmu.edu.ua

витком патології, розглядається як десинхроноз [8,9]. Гострий десинхроноз (ГД) триває в середньому 10-15 днів [9]. Прикладом такого стану може бути неузгодженість між ендogenousними циркадіанними ритмами внутрішніх годинників і зовнішнім середовищем, що призводить до порушень функціонального стану нирок [10] та може сприяти розвитку ХХН [11].

На функціонування циркадіанних осциляторів, за даними дослідників, істотно впливає світловий режим і характер харчування та пов'язана з ними пінеальна продукція мелатоніну [12,13], а також вживання певних харчових продуктів (глутамату, кофеїну, алкоголю та ін.) [14,15]. Нині відомо про здатність біофлавоноїду кверцетину збільшувати експресію генів, що контролюються годинником (Sirt1 і NR1D1), у молодих клітинах фібробластів [16], впливати на гени осцилятора (Bmal1, Clock і Cry1) та обмежувати циркадіанну десинхронізацію у печінці мишей [17].

Проте до цього часу залишається недостатньо з'ясованим вплив цих сполук на функції нирок, пов'язані з сечоутворенням, за умов ГД та СЗВ.

Мета роботи – дослідити вплив модуляторів циркадіанного ритму (мелатоніну, глутамату натрію та кверцетину) на екскреторну та натрійрегуляторну функцію нирок щурів за умов ГД та ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої СЗВ.

Матеріали та методи. Дослідження було проведено на 49 білих самцях щурів лінії Вістар масою 210–230 г, яких утримували за стандартних умов віварію (температура +22±2°C, вологість повітря 30–60%) з вільним доступом до води та їжі. Дослідження проводилося згідно з вимогами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Щурів рандомно розподіляли на 7 груп по 7 тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл експериментальних тварин

№ групи дослідів	Умови дослідів (модель)	Режим освітлення	Введення модуляторів циркадіанного ритму або «плацебо»
1-ша	Контроль	12/12-годинний цикл «світло-темрява»	
2-та	Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	12/12-годинний цикл «світло-темрява» (впродовж 8-ми тижнів)	Дистильована вода, 1мл
3-га	Відтворення ГД	Зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше (протягом 7-ми діб)	Дистильована вода, 1мл
4-тя	Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	12/12-годинний цикл «світло-темрява» (впродовж 7-ми тижнів) зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше (протягом останнього тижня експерименту)	Дистильована вода, 1мл
5-та	Введення глутамату натрію протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	12/12-годинний цикл «світло-темрява» (впродовж 7-ми тижнів) зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше (протягом останнього тижня експерименту)	Глутамат натрію (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 20 мг/кг [18]
6-та	Введення мелатоніну протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	12/12-годинний цикл «світло-темрява» (впродовж 7-ми тижнів) зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше (протягом останнього тижня експерименту)	Мелатонін (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 5 мг/кг [19]
7-ма	Введення кверцетину протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	12/12-годинний цикл «світло-темрява» (впродовж 7-ми тижнів) зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше (протягом останнього тижня експерименту)	Кверцетин (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 200 мг/кг [20]

Примітка: модулятори циркадіанного ритму або «плацебо» (дистильовану воду) вводили внутрішньошлунково (через зонд) щоденно перед ранковим годуванням протягом останнього тижня експерименту.
Скорочення: ГД – гострий десинхроноз, ЛПС – ліпополісахарид, СЗВ – системна запальна відповідь,

Для відтворення СЗВ використовували ЛПС *Salmonella typhi* ("Sigma-Aldrich, Inc.", США), який вводили по 0,4 мкг/кг маси тіла тричі протягом 1-го тижня та одноразово щотижнево впродовж наступних 7-ми тижнів [21]. Протягом часу моделювання СЗВ тварин, як і контрольних, утримували на 12/12-годинному циклі «світло-темрява», використовуючи для стандартизації світлової фази світлодіодні лампи, що забезпечують загальний світловий потік 820 лм та освітленість 205 лк

Перед відтворенням ГД щурів протягом 3-х тижнів адаптували до нормального циклу «світло-темрява» (12 годин світло, 12 годин темрява). Потім протягом 7-ми днів моделювали зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше. При відтворенні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ зсув циклу «світло-темрява» виконували впродовж останнього тижня моделювання СЗВ.

Функції нирок досліджували після відтворення моделі ЛПС-індукованої СЗВ та/або ГД за умов індукованого діурезу, який моделювали введенням у шлунок через відповідний зонд підігрітої до температури 37 °С водопровідної води в кількості 5% маси тіла. Для цього щурів поміщали на 2 год у металеві клітки з піддоном для збору сечі.

Після одержання сечі щурів декапітували під тіопенталовим наркозом вранці (9:00-11:00), що дає змогу мінімізувати вплив циркадіанних коливань досліджуваних показників. Тіопентал натрію (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна) вводили внутрішньоочеревинно у дозі 50 мг/кг маси тварини. Після цього щурів розтинали, отриману пункцією серця кров поміщали у флакони, що містили літій-гепарин (30 МО на 1 мл крові, «Скай Медика», Україна). Далі гепаринізовану кров центрифугували при кімнатній температурі (3000 г, 15 хв). Для подальшого аналізу використовували верхній шар сироватки.

Як маркер гострої відповіді на стрес оцінювали концентрацію в сироватці крові кортизолу, яку вимірювали за утворенням у реакції з нітросинім тетразолієм у метанолі в присутності тетраметилгідроксидпентагідрату аммонію хромогену червоно-

помаранчевого кольору з максимальним світлопоглинанням на довжині хвилі 510 нм [22]. Як маркер СЗВ досліджували вміст у сироватці крові білка гострої фази запалення церулоплазміну за методом, що базується на окисненні *p*-фенілендіаміну [23].

Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі визначали за методом Поппера, а вміст натрію – колориметричним методом з використанням фосфо-назо III із застосуванням набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). На основі отриманих даних розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом ендogenous креатиніну, екскрецію натрію, абсолютну реабсорбцію натрію, його реабсорбцію проксимальними та дистальними каналцями.

Отримані результати було оброблено статистично за допомогою пакету програм Microsoft Office Excel із використанням додатку Real Statistics 2019. Для перевірки нормальності розподілу використовувався тест Шапіро-Вілка. Розраховували середнє арифметичне значення (*M*) та його стандартну похибку (*SEM*). Результати представлені у вигляді $M \pm SEM$. Оскільки віріаційні ряди мали нормальний розподіл, застосовували параметричний метод дисперсійного аналізу ANOVA, а також проводили попарний порівняльний аналіз груп за допомогою *t*-критерію Стюдента для незалежних вибірок та *post-hoc* аналіз за методом Тьюкі (Tukey's Honestly Significant Difference). Для уникнення помилки множинних порівнянь застосовувалась поправка Данна-Шідака. Різниця вважалась статистично значущою при значенні $p < 0,05$.

Результати. Під час відтворення ГД на тлі СЗВ, спричиненої ЛПС, у сироватці крові спостерігалось зростання концентрації кортизолу та гострофазового білка церулоплазміну (табл. 2). Це відрізняє цю комбіновану патологію від наслідків окремого впливу десинхронізації циркадіанних ритмів та СЗВ. Зокрема, вміст у сироватці крові кортизолу був підвищений на 18,3% ($P < 0,001$) порівняно з результатами 3-ї групи. Водночас концентрація церулоплазміну перевищувала значення 2-ї групи на 12,2% ($P < 0,001$).

Таблиця 2

Вплив біологічно активних сполук на маркери гострого стресу та реакції гострої фази в сироватці крові щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Умови досліджу	Концентрація кортизолу в сироватці крові, нмоль/л	Концентрація церулоплазміну в сироватці крові, мг/л
Контроль	19,21±1,51	274,8±13,7
Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	22,12±2,1	361,9±5,1 *
Відтворення ГД	26,11±0,51 *	328,0±20,8
Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	30,89±0,86 *, **, ***	405,9±5,7 *, **, ***

<i>Продовження таблиці 2</i>		
Умови досліджу	Концентрація кортизолу в сироватці крові, нмоль/л	Концентрація церулоплазміну в сироватці крові, мг/л
Введення глутамату натрію протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	33,74±0,43 *, **, ***, ****	429,0 ±3,3 *, **, ***, ****
Введення мелатоніну протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	23,94±1,10 *, ****	244,8±18,2 **, ***, ****
Введення кверцетину протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	24,22±0,83 *, ****	261,4±29,7 **, ****

Примітка: (тут і в табл. 3-4): * P<0,05 порівняно зі значеннями контролю; ** P<0,05 порівняно зі значеннями 2-ї групи; *** P<0,05 порівняно зі значеннями 3-ї групи; **** P<0,05 порівняно зі значеннями 4-ї групи.
Скорочення: ГД – гострий десинхроноз, ЛПС – ліпополісахарид, СЗВ – системна запальна відповідь,

Введення глутамату натрію після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ ще більше погіршувало маркери гострого стресу та системного запалення. Вміст у сироватці крові кортизолу збільшувався на 9,2% (P<0,02) порівняно з результатами 4-ї групи. Тим часом, концентрація церулоплазміну перевищувала значення 4-ї групи на 5,7% (P<0,01).

При застосування екзогенного мелатоніну за умов експерименту концентрація кортизолу та церулоплазміну знижувався на 22,5% та 39,7% відповідно, що є вірогідно меншим за результати 4-ї групи. При введенні кверцетину вміст кортизолу та церулоплазміну також вірогідно зменшувався – на 21,6% та 35,6% відповідно щодо результатів 4-ї групи.

Величина індукованого діурезу (рис. 1) у контрольних тварин становила 2,9±0,1 мл/2 год x 100 г, при відтворенні ГД – 3,1±0,1 мл/2 год x 100 г. За умов ЛПС-індукованої СЗВ та моделювання на її тлі ГД індукований діурез збільшувався до 3,3±0,1 та 3,6±0,1 мл/2 год x 100 г відповідно. При введенні глутамату натрію за умов експерименту значення цього показника (3,4±0,1 мл/2 год x 100 г) вірогідно не відрізнялося від результату 4-ї групи, а при застосуванні мелатоніну (2,8±0,1 мл/2 год x 100 г) та кверцетину (2,9±0,1 мл/2 год x 100 г) було меншим на 22,2% та 19,4% відповідно (P<0,001) за значення 4-ї групи.

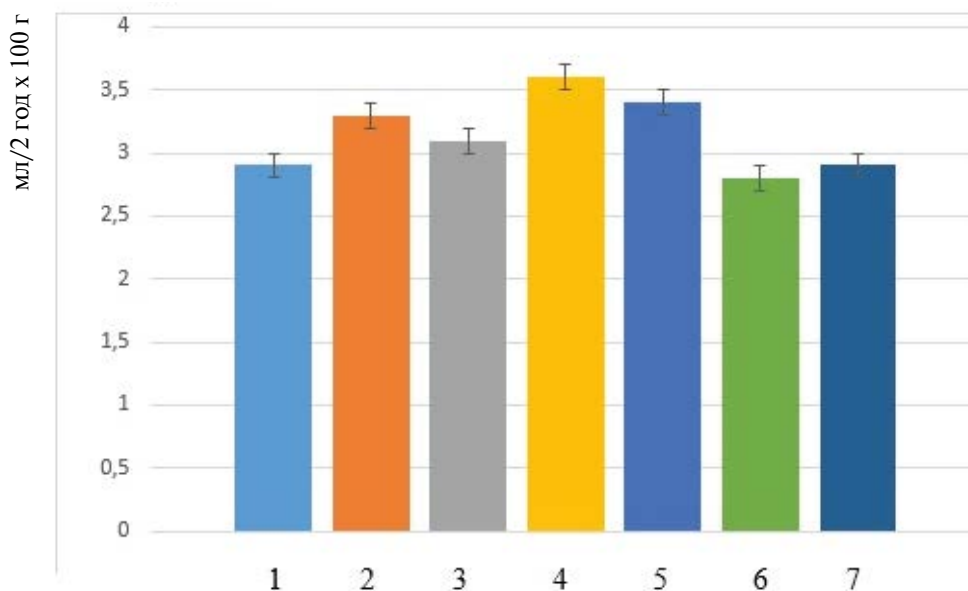


Рис. 1. Значення індукованого діурезу у контрольних тварин (1); після відтворення ЛПС-індукована СЗВ (2); ГД (3); ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ (4); введення після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ глутамату натрію (5); мелатоніну (6) та кверцетину (7).

Для дослідження азотовидільної функції нирок вимірювали концентрацію креатиніну в сироватці крові та сечі, розраховували кліренс ендогенного креатиніну (табл. 3).

ватці крові та сечі, розраховували кліренс ендогенного креатиніну (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив модуляторів циркадіанного ритму на показники азотовидільної функції нирок щурів за умов гострого десинхронізу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Умови досліджу	Концентрація креатиніну в сироватці крові, мкмоль/л	Кліренс ендogenous креатиніну, мл/хв/100 г
Контроль	36,3±0,6	0,48±0,05
Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	40,3±1,4 *	0,43±0,02
Відтворення ГД	39,2±0,5 *	0,41±0,01
Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	39,6±0,4 *	0,34±0,01 *, **, ***
Введення глутамату натрію протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	43,0±0,5 *, ****	0,28±0,01 *, **, ***, ****
Введення мелатоніну протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	34,9±1,4 **, ***, ****	0,44±0,03 ****
Введення кверцетину протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	34,5±1,3 **, ***, ****	0,47±0,02 ****

Відтворення ЛПС-індукованої СЗВ та ГД, хоча і супроводжувалося зростанням концентрації креатиніну в сироватці крові, проте суттєво не впливало на значення ШКФ, розраховане за кліренсом ендogenous креатиніну. Водночас при моделюванні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ ШКФ знижувалася на 29,2% (P<0,02) порівняно з контролем та була меншою на 20,9% (P<0,01) та 17,1% (P<0,001) за результати 2-ї та 3-ї групи.

При введенні глутамату натрію за умов експерименту концентрація креатиніну в сироватці

крові на 8,6% (P<0,001) перевищувала, а ШКФ на 17,6% (P<0,01) була меншою за значення 4-ї групи. Мелатонін і кверцетин, навпаки, знижували вміст креатиніну в сироватці крові на 11,9% і 12,9% (P<0,01) та збільшували ШКФ на 29,4% (P<0,01) і 38,2% (P<0,001) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Розвиток ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувався зростанням екскреції натрію на 63,6% (P<0,01) порівняно з контролем, що на 52,5% (P<0,02) перевищувало значення 3-ї групи (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив модуляторів циркадіанного ритму на показники натрійрегуляторної функції нирок щурів за умов гострого десинхронізу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Умови досліджу	Екскреція натрію, мкмоль/хв/100 г	Реабсорбція натрію, мкмоль/хв/100 г		
		Абсолютна	Проксимальна	Дистальна
Контроль	0,55±0,08	74,8±7,8	71,2±7,7	3,7±0,1
Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	0,72±0,07	67,7±2,6	63,3±2,5	4,3±0,2 *
Відтворення ГД	0,59±0,09	67,0±2,7	62,8±2,5	4,2±0,2 *
Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	0,90±0,06 *, ***, ****	51,3±1,7 *, ***, ****	46,8±1,7 *, ***, ****	4,5±0,1 *
Введення глутамату натрію протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	1,10±0,06 *, **, ***, ****	41,2±1,5 *, **, ***, ****	37,0±1,5 *, **, ***, ****	4,2±0,1 *
Введення мелатоніну протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	0,65±0,08 ****	69,7±3,8 ****	66,0±3,8 ****	3,8±0,1 **, ***, ****
Введення кверцетину протягом часу моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	0,48±0,06 ****	74,4±4,2 ****	70,6±4,1 ****	3,8±0,1 **, ***, ****

Абсолютна реабсорбція іонів натрію за таких обставин зменшувалася на 31,4% ($P < 0,02$) щодо контролю, вочевидь, за рахунок проксимальної реабсорбції, яка зменшувалася на 34,3% ($P < 0,01$). При цьому абсолютна реабсорбція іонів натрію на 24,2 і 23,4% була нижчою ($P < 0,001$) порівняно з результатами 2-ї та 3-ї груп відповідно.

Введення глутамату натрію за умов експерименту суттєво погіршувало натрій-регулювальну функцію нирок. Це проявлялося у збільшенні екскреції натрію на 22,2% ($P < 0,05$), зниженні абсолютної реабсорбції цього іону на 19,7% ($P < 0,001$), а також у зменшенні його реабсорбції проксимальними каналцями на 20,9% ($P < 0,001$) порівняно зі значеннями 4-ї групи. Водночас компенсаторно дещо зростала дистальна реабсорбція натрію. Мелатонін і кверцетин істотно зменшували екскрецію цього катіону на 27,8% ($P < 0,05$) і 46,7% ($P < 0,001$), підвищували його абсолютну реабсорбцію на 35,9 і 45,0% ($P < 0,001$) та реабсорбцію проксимальними каналцями на 41,0 і 50,9% ($P < 0,001$) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Обговорення. Наше дослідження показало, що відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно збільшує у сироватці крові вміст кортизолу та церулоплазміну. Кортизол вважається ключовим гравцем циркадіанної системи, який впливає майже на всі тканини та органи організму [24] та контролює фізіологічні циклічні процеси, включаючи функції нирок [25]. За умов дії світлового подразника його концентрація зворотно корелює з вмістом мелатоніну [26]. Кортизоловий статус вважається об'єктивним біологічним маркером стресової реакції [27], тоді як зростання концентрації церулоплазміну розглядається як чутливий тест на розвиток СЗВ [2].

В останні роки показано, що розлади, асоційовані зі стресом (зокрема, посттравматичний стресовий розлад), збільшують ризик гострого пошкодження нирок та ХХН, що обґрунтовує доцільність одночасного моніторингу маркерів як стресу (концентрації кортизолу), так і функції нирок [27]. Дослідження церулоплазміну в сироватці крові хворих на цукровий діабет 1-го та 2-го типів розглядається як повноцінний маркер хронічного низькоступеневого запалення та активації вродженого імунітету [28].

Наше дослідження показало, що введення глутамату натрію після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно погіршує маркери гострого стресу та СЗВ: збільшує у сироватці крові вміст кортизолу та церулоплазміну. Ці зміни узгоджуються з даними літератури щодо здатності глутамату індукувати експресію генів циркадіанного осцилятора *Per1* та *Per2* [29], які впливають на імунну систему та розвиток СЗВ [30]. Примітно, що дія глутамату на циркадіанні ритми електричної активності нейронів супрахізматичних ядер гіпота-

ламусу імітує їх фазовий зсув, характерний для дії світлового чинника [31].

Відновлення концентрації мелатоніну, за нашими даними, позитивно впливає на вміст кортизолу та церулоплазміну за умов експерименту, що підтверджує функціональний зв'язок між епіфізом і наднирковими залозами [26] та оборотний характер осі «імунна система – епіфіз» [32].

Раніше повідомлялося, що поліфеноли здатні підвищувати концентрацію мелатоніну за умов цілодобового освітлення шурів і призначення їм висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти, що супроводжується розвитком СЗВ [12]. Таку дію поліфенолів пов'язують з їх здатністю пригнічувати активацію NF-κB та обмежувати його негативний вплив на біосинтез мелатоніну. Важливо зауважити, що кверцетин стимулює експресію генів *SIRT1* та *NR1D1*, які є регуляторами центрального годинника [16]. Підвищення експресії гена *SIRT1* зменшує активність низки прозапальних та прооксидантних факторів транскрипції, таких як NF-κB, FOXO, STAT3 і p53, тим самим стримуючи розвиток СЗВ [33].

Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ на відміну від окремої дії цих чинників істотно зменшувало ШКФ та реабсорбцію натрію, головним чином, за рахунок його проксимальної реабсорбції.

Багато фізіологічних функцій нирок, включаючи нирковий кровотік, ШКФ, нирковий кортико-медулярний осмотичний градієнт, каналцевий транспорт води та електролітів, демонструють циркадіанні ритми і, на думку дослідників, керуються, принаймні частково, внутрішнім нирковим годинником [6]. Десинхронізація у роботі центрального та периферичного осциляторів, зокрема, через порушення секреції мелатоніну, закономірно викликає дисфункцію нирок. Цьому також сприяє пошкодження клітин активними формами кисню та нітрогену, вироблення яких значно зростає за умов СЗВ [34], пошкодження цими агентами аквапоринів та механізмів іонного транспорту в канальцях нефрону [35, 36].

Введення шурам глутамату натрію, який змінює експресію генів центрального осцилятора та активує прозапальні фактори транскрипції, наприклад, NF-κB [31,37], відповідно до наших даних, призводило до значно більшого зниження ШКФ та реабсорбції натрію, ніж це спостерігалось після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. За даними інших дослідників, за умов природного освітлення шурів лише довготривале споживання глутамату натрію у значно вищій дозі (320 мг/кг маси тіла) виявляє суттєве порушення екскреторної функції нирок, що автори пов'язують з розвитком оксидативного стресу [38].

Мелатонін і кверцетин, навпаки, є ефективними засобами корекції порушень функціонального стану нирок, що вочевидь пов'язано як з їх

зданістю впливати на гени центрального та периферичного годинника [5,16], пригнічувати прозапальні та прооксидантні транскрипційні фактори [2,32], так і безпосередньо усувати наслідки оксидативно-нітрозативного стресу в біологічних системах [39,40].

Раніше було показано, що введення мелатоніну в дозі 10 мг/кг маси тіла протягом 7 діб після відтворення щуром цукрового діабету 2-го типу нормалізує екскреторну функцію нирок, запобігає хронічному розвитку в них оксидативного стресу [41]. Застосування кверцетину у дозі 100 мг/кг значно покращує маркери ренальної функції та обмежує пошкодження нирок, спричинене диклофенаком, що дослідники також пов'язують з модуляцією оксидативного стресу та зменшенням запальної реакції [42]. Отримані в цьому дослідженні результати узгоджуються також з даними інших науковців, які обґрунтовують нефропротективну дію мелатоніну [43] та кверцетину [44].

Ми усвідомлюємо певні обмеження цього дослідження. Експериментальні моделі, що використовувалися у дослідженні, не можна вважати повноцінним відтворенням патологічних процесів у пацієнтів з ознаками системного запалення та світлозалежними порушеннями біологічного годинника. Тому для підтвердження отриманих результатів потрібні додаткові клінічні дані. Оскільки в цьому дослідженні вивчалися ефекти модуляторів циркадіанного ритму при комбінованій дії ГД та ЛПС-індукованої СЗВ, оцінка ефектів мелатоніну, глутамату натрію та кверцетину при окремому впливі цих факторів вимагає спеціального експериментального дизайну, що включає додаткові контрольні групи.

Висновки:

Відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ істотно збільшує вміст кортизолу та церулоплазміну більшою мірою, ніж це відбувається при окре-

мій дії патогенних чинників. Ці зміни супроводжуються суттєвим зростанням індукованого діурезу, зменшенням ШКФ та реабсорбції натрію (за рахунок дисфункції проксимальних каналців).

Введення глутамату натрію за умов експерименту значно погіршує показники гострого стресу та гострофазової реакції при одночасному більш значному зниженні ШКФ та реабсорбції натрію порівняно з відтворенням ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ.

Застосування екзогенного мелатоніну та кверцетину за умов експерименту суттєво зменшує в сироватці крові концентрацію кортизолу та церулоплазміну, нормалізує індукований діурез і ШКФ, знижує екскрецію натрію, збільшує його реабсорбцію за рахунок функції проксимальних каналців.

Декларація етики. Протокол дослідження був розглянутий та затверджений комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету (протокол №199 від 25 листопада 2021 р.).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Дослідження є фрагментом НДР кафедри патофізіології ПДМУ «Високо- та низько інтенсивні фенотипи системної запальної відповіді: молекулярні механізми та нові медичні технології їх профілактики та корекції» (державний реєстраційний номер: 0124U000092).

Інформація про внесок кожного учасника.

О.М. Гутнік: проведення експерименту, лабораторні дослідження, аналіз літературних джерел, аналіз результатів, написання статті;

О.В. Сілкова: статистичний аналіз отриманих даних;

Д.О. Хміль: проведення експерименту, лабораторні дослідження;

В.О. Костенко: концепція та дизайн дослідження, керівництво роботою.

Література (References):

1. *Kadatane SP, Satariano M, Massey M, Mongan K, Raina R.* The Role of Inflammation in CKD. *Cells.* 2023; 12(12):1581. doi:10.3390/cells12121581.
2. *Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, et al.* Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023 Apr 16;9(5):e15551. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15551.
3. *Tinti F, Lai S, Noce A, Rotondi S, Marrone G, Mazzaferro S, et al.* Chronic Kidney Disease as a Systemic Inflammatory Syndrome: Update on Mechanisms Involved and Potential Treatment. *Life (Basel).* 2021 May 5;11(5):419. doi: 10.3390/life11050419.
4. *Stenvinkel P, Chertow GM, Devarajan P, Levin A, Andreoli SP, Bangalore S, et al.* Chronic Inflammation in Chronic Kidney Disease Progression: Role of Nrf2. *Kidney Int Rep.* 2021 May 4;6(7):1775-1787. doi: 10.1016/j.ekir.2021.04.023.
5. *Mohandas R, Douma LG, Scindia Y, Gumz ML.* Circadian rhythms and renal pathophysiology. *J Clin Invest.* 2022 Feb 1;132(3):e148277. doi: 10.1172/JCI148277.
6. *Costello HM, Johnston JG, Juffre A, Crislip GR, Gumz ML.* Circadian clocks of the kidney: function, mechanism, and regulation. *Physiol Rev.* 2022 Oct 1;102(4):1669-1701. doi: 10.1152/physrev.00045.2021.
7. *Castagna A, Pizzolo F, Chiecchi L, Morandini F, Channavajhala SK, Guarini P, et al.* Olivieri O.

- Circadian exosomal expression of renal thiazide-sensitive NaCl cotransporter (NCC) and prostasin in healthy individuals. *Proteomics Clin Appl.* 2015 Jun;9(5-6):623-629. doi: 10.1002/prca.201400198.
8. *Bazhanova ED.* Desynchronosis: Types, Main Mechanisms, Role in the Pathogenesis of Epilepsy and Other Diseases. *Life (Basel).* 2022; 12(8):1218. doi: 10.3390/life12081218.
 9. *Dzerzhynsky ME, Vareniuk IM, Demianchuk NV.* Chronobiology and Chronomedicine: A textbook. Kyiv; 2023. 353 p. [In Ukrainian].
 10. *Izmailova O, Kabaliev A, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I.* PPAR γ agonist pioglitazone influences diurnal kidney medulla mRNA expression of core clock, inflammation-, and metabolism-related genes disrupted by reverse feeding in mice. *Physiol Rep.* 2022 Dec;10(23):e15535. doi: 10.14814/phy2.15535.
 11. *Ran J, Tao C, Zhang S, Chen Q, Yang P, Hu Y, et al.* Circadian syndrome is associated with the development of chronic kidney disease and rapid decline in kidney function in middle-aged and elder adults: a China nationwide cohort study. *J Nutr Health Aging.* 2024;28(1):100011. doi: 10.1016/j.jnha.2023.100011.
 12. *Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Chopra H, Gautam RK, Kostenko V.* Dietary Supplementation with Resveratrol Attenuates Serum Melatonin Level, Pro-Inflammatory Response and Metabolic Disorder in Rats Fed High-Fructose High-Lipid Diet under Round-the-Clock Lighting. *Pathophysiology.* 2023 Feb; 30(1):37-47. doi: 10.3390/pathophysiology30010005.
 13. *Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Kostenko V.* Resveratrol attenuates the development of nitro-oxidative stress in the liver of rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases.* 2023;30(1):48-54. doi: 10.46389/rjd-2023-1217.
 14. *He S, Zhang X, Qu S.* Glutamate Transporters, and Circadian Rhythm Sleep Disorders in Neurodegenerative Diseases. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10(1):175-181. doi: 10.1021/acchemneuro.8b00419.
 15. *Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R.* Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res.* 2012;56. doi: 10.3402/fnr.v56i0.17252.
 16. *Okada Y, Okada M.* Quercetin, caffeic acid and resveratrol regulate circadian clock genes and aging-related genes in young and old human lung fibroblast cells. *Mol Biol Rep.* 2020 Feb;47(2):1021-1032. doi: 10.1007/s11033-019-05194-8.
 17. *Li R, Wang G, Liu R, Luo L, Zhang Y, Wan Z.* Quercetin improved hepatic circadian rhythm dysfunction in middle-aged mice fed with vitamin D-deficient diet. *J Physiol Biochem.* 2024 Feb;80(1):137-147. doi: 10.1007/s13105-023-00990-0.
 18. *Yeroshenko GA, Grygorenko AS, Shevchenko KV, Lysachenko OD, Maksymenko NT, Vatsenko AV, et al.* The features of the normal ultrastructure of the rat duodenum and under the combined effect of the food additives complex. *Wiad Lek.* 2022;75(6):1466-1470. doi: 10.36740/WLek202206107.
 19. *Favero G, Trapletti V, Bonomini F, Stacchiotti A, Lavazza A, Rodella LF, et al.* Oral Supplementation of Melatonin Protects against Fibromyalgia-Related Skeletal Muscle Alterations in Reserpine-Induced Myalgia Rats. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 29;18(7):1389. doi: 10.3390/ijms18071389.
 20. *Kozaeva R, Klymenko MO, Katrushov OV, Kostenko VO.* Bioflavonoids as agents for correcting nitro-oxidative stress and salivary gland functions in rats exposed to alcohol during modeled lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *Wiad Lek.* 2022;75(3):685-690. doi: 10.36740/WLek202203121.
 21. *Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO.* Epigallocatechin-3-gallate prevents disruption of connective tissue in periodontium and salivary glands of rats during systemic inflammation. *Wiad Lek.* 2018;71(4):869-873.
 22. *Tu E, Pearlmutter P, Tiangco M, Derosé G, Begdache L, Koh A.* Comparison of Colorimetric Analyses to Determine Cortisol in Human Sweat. *ACS Omega.* 2020 Mar 31;5(14):8211-8218. doi: 10.1021/acsomega.0c00498.
 23. *Kaidashev IP,* editor. *Methods of clinical and experimental research in medicine.* Poltava; 2003. 320 p. [In Ukrainian].
 24. *Mohd Azmi NAS, Juliana N, Azmani S, Mohd Effendy N, Abu IF, Mohd Fahmi Teng NI, et al.* Cortisol on Circadian Rhythm and Its Effect on Cardiovascular System. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Jan 14;18(2):676. doi: 10.3390/ijerph18020676.
 25. *Sagmeister MS, Harper L, Hardy RS.* Cortisol excess in chronic kidney disease - A review of changes and impact on mortality. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Jan 17;13:1075809. doi: 10.3389/fendo.2022.1075809.
 26. *Rahman SA, Wright KP Jr, Lockley SW, Czeisler CA, Gronfier C.* Characterizing the temporal dynamics of melatonin and cortisol changes in response to nocturnal light exposure. *Sci Rep.* 2019;9:19720. doi: 10.1038/s41598-019-54806-7.
 27. *Su G, Song H, Lanka V, Liu X, Fang F, Valdimarsdóttir UA, Carrero JJ.* Stress Related Disorders and the Risk of Kidney Disease. *Kidney Int Rep.* 2021 Jan 13;6(3):706-715. doi: 10.1016/j.ekir.2020.12.032.
 28. *Mohiuddin SS, Manjrekar P.* Role of ceruloplasmin as a low grade chronic inflammatory marker and activated innate immune system in pathogenesis of diabetes mellitus. *J Diabetes Metab Disord*

- Control. 2018;5(4):148-153. doi: 10.15406/jdm-dc.2018.05.00155.
29. Sanggaard KM, Hannibal J, Fahrenkrug J. Serotonin inhibits glutamate- but not PACAP-induced per gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus at night. *Eur J Neurosci.* 2003 Mar;17(6):1245-1252. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02562.x.
30. Hergenhan S, Holtkamp S, Scheiermann C. Molecular Interactions Between Components of the Circadian Clock and the Immune System. *J Mol Biol.* 2020 May 29;432(12):3700-3713. doi: 10.1016/j.jmb.2019.12.044.
31. Spurny-Dworak B, Reed MB, Handschuh P, Vanicek T, Spies M, Bogner W, et al. The influence of season on glutamate and GABA levels in the healthy human brain investigated by magnetic resonance spectroscopy imaging. *Hum Brain Mapp.* 2023 Apr 15;44(6):2654-2663. doi: 10.1002/hbm.26236.
32. Markus RP, Cecon E, Pires-Lapa MA. Immune-pineal axis: nuclear factor κ B (NF- κ B) mediates the shift in the melatonin source from pinealocytes to immune competent cells. *Int J Mol Sci.* 2013 May 24;14(6):10979-10997. doi: 10.3390/ijms140610979.
33. Poulouse N, Raju R. Sirtuin regulation in aging and injury. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Nov;1852(11):2442-2455. doi: 10.1016/j.bbadis.2015.08.017.
34. Frenkel' YD, Zyuzin VO, Chernov VS, Kostenko VO. Effect of epigallocatechin-3-gallate and quercetin on the production of reactive oxygen and nitrogen species in liver of rats exposed to round-the-clock light and kept on carbohydrate-lipid diet. *Fiziol Zh.* 2022;68(1):20-27. doi: 10.15407/fz68.01.020. [In Ukrainian].
35. Tamma G, Valenti G, Grossini E, Donnini S, Marino A, Marinelli RA, et al. Aquaporin Membrane Channels in Oxidative Stress, Cell Signaling, and Aging: Recent Advances and Research Trends. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Mar 27;2018:1501847. doi: 10.1155/2018/1501847.
36. Gonzalez-Vicente A, Hong N, Garvin JL. Effects of reactive oxygen species on renal tubular transport. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2019 Aug 1;317(2):F444-F455. doi: 10.1152/ajprenal.00604.2018.
37. Al-Husseini AMH, Al-Waely LAM, Kazem AAA, Mashkooor NR. Environmental effects of monosodium glutamate on (NF- B) levels in the male reproductive system of rats. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2022;1029:012024. doi: 10.1088/1755-1315/1029/1/012024.
38. Thongsepee N, Martviset P, Chantree P, Sornchuer P, Sangpairroj K, Prathaphan P, et al. Daily consumption of monosodium glutamate pronounced hypertension and altered renal excretory function in normotensive and hypertensive rats. *Heliyon.* 2022 Oct 5;8(10):e10972. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10972.
39. Kuznetsova TY, Solovyova NV, Solovyov VV, Kostenko VO. Antioxidant activity of melatonin and glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr Biochem J.* 2017 Nov-Dec;89(6):22-30. doi: 10.15407/ubj89.06.022.
40. Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules.* 2022 Oct 3;27(19):6545. doi: 10.3390/molecules27196545.
41. Semenko AV, Murdasov YV, Kirichenko SV, Zhyliuk VI, Ushakova GA. Influence of melatonin on the kidneys of rats with experimental diabetes mellitus type 2. *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* 2020;11(3):384-391. doi: 10.15421/022059.
42. Izak-Shirian F, Najafi-Asl M, Azami B, Heidarian E, Najafi M, Khaledi M, et al. Quercetin exerts an ameliorative effect in the rat model of diclofenac-induced renal injury through mitigation of inflammatory response and modulation of oxidative stress. *Europ J Inflamm.* 2022;20:1-10. doi: 10.1177/1721727X221086530.
43. Markowska M, Niemczyk S, Romejko K. Melatonin Treatment in Kidney Diseases. *Cells.* 2023 Mar 8;12(6):838. doi: 10.3390/cells12060838.
44. Chen YQ, Chen HY, Tang QQ, Li YF, Liu XS, Lu FH, et al. Protective effect of quercetin on kidney diseases: From chemistry to herbal medicines. *Front Pharmacol.* 2022 Sep 2;13:968226. doi: 10.3389/fphar.2022.968226.