

На правах рукописи

ЗЕМЛЯНОЙ
Владлен Михайлович

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АЛКОГОЛЬ-ИНДУЦИРОВАННЫЕ
НЕФРОПАТИЯ И КАРДИОПАТИЯ
(МОДЕЛИРОВАНИЕ, ПАТОГЕНЕЗ, ПРОФИЛАКТИКА)**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Владикавказ – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России).

Научный руководитель: Брин Вадим Борисович, заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Власов Тимур Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, заведующий кафедрой;

Айзман Роман Иделевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, Научно-исследовательский институт здоровья и безопасности Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный педагогический университет», директор, профессор кафедры анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Защита состоится «___» _____ 2025 г. в _____ ч. на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского по адресу: 295051 г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» и на сайте <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 20____ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.2.318.01
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

Наблюдается увеличение частоты хронических поражений, вызываемых длительным употреблением этанола, что связано с социально-экономическими факторами. Систематическое употребление алкоголя приводит к развитию хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), что вызывает нарушение обменных процессов и развитие ряда заболеваний (P. Lentini, L. Zanolì, 2017).

Тяжелые условия труда и жизни, проблемы со здоровьем часто являются триггером злоупотребления спиртными напитками. В России при поступлении в стационары медицинских учреждений каждый третий мужчина в дополнение к основному недугу страдает от ХАИ. Этаноловая зависимость остается одной из острых медико-социальных проблем во всем мире.

Каждый год от алкоголя умирает около трех миллионов людей, что составляет больше 5% смертности на планете, но данная статистика отражает только случаи, где установлено, что этанол явился причиной летального исхода, а не болезни, вызываемой им (A. Halvani, 2013; A. Heinz, 2019). Основным заболеванием может быть почечная патология, которая занимает 12-е место среди причин летальных исходов, при этом исследованию нефропатий посвящено небольшое количество публикаций (M. El-Mas, 2019; V. N. Perfilova, 2021).

Наряду с этим в условиях сильного загрязнения свинцом - более 10 разрешенных концентраций в регионах с активным производством, требуется изучения патофизиологических механизмов его действия на фоне сопутствующих заболеваний (С.О. Абдуллаева, 2018).

Патогенетический механизм действия алкоголя на организм многообразен и до конца не изучен. Основными органами-мишенями этанола являются сердце и сосуды, почки и печень. Окисление и детоксикация большей части этанола происходит в печени, а почки наряду с другими органами участвуют в обезвреживании остальных 10%.

Способам профилактики и лечения полиорганных поражений, вызванных этанолом, в современных экспериментальных исследованиях уделено мало внимания. Между тем, разработка новых способов воссоздания модели ХАИ позволяет детальнее изучить патогенез и разработать пути лечения. В последние годы развивается направление использования синтетических аналогов биологических веществ для устранения их недостатка в организме и терапевтического использования.

Мелатонин - препарат, искусственный аналог эндогенного мелатонина, использован нами в эксперименте при ХАИ. Он обладает адаптогенным, иммуномодулирующим, антиоксидантным действием, показал эффективность в исследованиях по коррекции негативного влияния тяжелых металлов (В.Б. Брин, Э.М. Гаглоева, 2013).

Цель исследования. Установить отдельные механизмы формирования нефро- и кардиотоксических эффектов ХАИ и экспериментально обосновать эффективность использования мелатонина для профилактики возникших нарушений.

Задачи исследования:

1. Разработать модель ХАИ.
2. Изучить основные процессы мочеобразования и состояние водно-электролитного баланса у крыс в условиях спонтанного и водного диуреза при ХАИ и на фоне применения мелатонина.
3. Изучить основные процессы мочеобразования и состояние водно-электролитного баланса у крыс в условиях спонтанного и водного диуреза при ХАИ в сочетании с патологией почек, свинцовой интоксикацией и на фоне применения мелатонина.
4. Изучить изменения параметров системной гемодинамики крыс на фоне ХАИ и при применении мелатонина.
5. Изучить изменения параметров системной гемодинамики крыс на фоне ХАИ в сочетании с экспериментальной патологией почек, свинцовой интоксикацией и на фоне применения мелатонина.
6. Исследовать процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты у крыс на фоне ХАИ, при ее сочетании с экспериментальной патологией почек, свинцовой интоксикацией и на фоне профилактического применения мелатонина.

Научная новизна исследования. Разработаны и запатентованы способы моделирования ХАИ, алкоголь-индуцированной нефропатии на фоне аутоиммунного нефрита и свинцовой интоксикации у крыс. Изучено токсическое влияние ХАИ и ее сочетания с аутоиммунным нефритом и свинцовой интоксикацией на структуру и функцию почек и сердечно-сосудистой системы. Выявлено, что нефротоксическое влияние ХАИ вызывает увеличение спонтанного диуреза за счет снижения канальцевой реабсорбции воды, увеличение экскреции натрия и калия за счет снижения канальцевой реабсорбции катионов, а также протеинурию. ХАИ усиливает проявления нефрита и свинцовой интоксикации.

Применение мелатонина при указанных патологических процессах выявило отчетливое протекторное влияние при нарушениях электролитовыводительной функции почек при спонтанном диурезе и водной 5%-й нагрузке. Применение антиоксиданта оказывает профилактирующий гемодинамические нарушения эффект в изученных моделях.

Доказана цитопротекторная активность мелатонина при ХАИ и ее сочетании с аутоиммунным нефритом или свинцовой интоксикацией, что подтверждено морфологическими исследованиями тканей почек, сердца и печени.

Новизна работы подтверждена 3 патентами на изобретение:

1. Способ моделирования хронической алкогольной интоксикации у крыс в эксперименте. № 2740569 от 15.01.2021 г.
2. Способ моделирования алкоголь-индуцированной нефропатии на фоне аутоиммунного нефрита у крыс в эксперименте. № 2771258 от 29.04.2022 г.
3. Способ профилактики алкоголь-индуцированной нефропатии на фоне свинцовой интоксикации у крыс в эксперименте. № 2786469 от 21.12.2022 г.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Данная работа демонстрирует, что при воздействии этанола на организм в сочетании с фоновым течением аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации формируются стойкие патологические структурно-функциональные изменения почек и сердечно-

сосудистой системы, страдает система антиоксидантной защиты. Полученные результаты относятся к разделу фундаментальной медицины и показывают патогенетические механизмы эффектов этанола в усугублении проявлений аутоиммунного нефрита и свинцовой интоксикации.

Результаты могут быть использованы в исследованиях механизмов развития алкоголизма и его роли в потенцировании сопутствующих патологических процессов, а также при поиске способов лечения и профилактики. Результаты диссертации приняты к использованию в учебном процессе на кафедрах нормальной физиологии и патологической физиологии, а также в научных исследованиях кафедр внутренних болезней ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава РФ (г. Владикавказ) и ИБМИ Владикавказского научного центра РАН.

Методология и методы исследования. Работа выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины с использованием современных методов исследования и обработки данных. Предметом исследования являются ключевые параметры электролитно-водоудельительной функции почек, системной гемодинамики, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Выполнен эксперимент на белых крысах, использованы физиологические, биохимические, гистологические и статистические методы. Работа одобрена этическим комитетом ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава Российской Федерации (протокол №10.4 от 26.11.2020 г.).

Положения, выносимые на защиту:

1. При созданной экспериментальной модели ХАИ происходят патологические изменения функции почек и системной гемодинамики.

2. ХАИ как изолированная патология, так и на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации оказывает активирующий эффект на перекисное окисление липидов.

3. Использование мелатонина для профилактики ХАИ и данной патологии на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации вызывает снижение выраженности патологических эффектов на функциональное и морфологическое состояние почек путем изменения активности процессов перекисного окисления липидов.

4. Применение мелатонина для профилактики ХАИ и данной патологии на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации снижает кардиотоксические эффекты алкоголизации.

Степень достоверности и апробация результатов работы. О достоверности полученных данных свидетельствует большой объем исследований; формирование необходимых групп сравнения; использование комплекса методик; всестороннее сравнение количественных показателей исследуемых параметров между группами и адекватный математический анализ.

Результаты представлены на VII научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии в рекреации здоровья населения» (Владикавказ, 2021); XX научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием «Молодые ученые – медицине» (Владикавказ, 2021); Региональной конференции медицинских вузов СКФО «Актуальные вопросы проектной деятельности в сфере медицинской науки и образования» (Махачкала, 2022).

Личный вклад автора. Диссертантом создана модель алкогольной нефропатии, самостоятельно воспроизведены модели аутоиммунной и свинцовой нефропатии. Обработка результатов, аналитическая и статистическая оценка проведены лично автором. Научные публикации и документы для регистрации прав на интеллектуальную собственность подготовлены лично и в соавторстве. Результаты работы удостоены премии Главы Республики Северная Осетия-Алания в области науки и техники для молодых ученых и специалистов (г. Владикавказ, 2021 г.).

Публикация. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, отражающих результаты, научные положения и выводы. Из них: 1 статья в журнале, индексируемом в международной наукометрической базе Scopus; 3 статьи в специализированных рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Российской Федерации, 1 статья в международном издании, 2 публикации в сборниках тематических научных конференций, 3 патента на изобретение РФ.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 173 страницах, включает введение, главы обзора литературы, материалов и методов исследования, 3 главы изложения собственных результатов исследования, заключение и обсуждение результатов, выводы, перечень сокращений. Библиографический указатель включает 163 работы. Текст диссертации включает 53 рисунка, 18 цифровых таблиц (вынесены в приложение).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Работа проведена на 384 крысах-самцах линии Wistar массой 200-300 граммов. Исследования выполняли в соответствии с 11-й статьёй Хельсинской декларации «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и правилами лабораторной практики в России (приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199).

Крысы находились на стандартном пищевом рационе в условиях свободного доступа к воде и пище. Световой режим - естественный.

Животные рандомно поделены на группы: интактные (N=12), введение мелатонина в дозе 10 мг/кг (N=12), введение 40%-го этанола в дозе 3,0 г/кг в течение месяца (N=12), введение 40%-го этанола в дозе 3,0 г/кг в течение месяца и мелатонина (N=12), введение раствора амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг в течение месяца (N=12), введение раствора амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг в течение месяца и мелатонина (N=12), моделирование ХАИ (N=12), моделирование ХАИ и введение мелатонина (N=12), моделирование аутоиммунного нефрита (N=12), моделирование аутоиммунного нефрита и введение мелатонина (N=12), моделирование свинцовой интоксикации (N=12), моделирование свинцовой интоксикации и профилактика мелатонином (N=12), моделирование ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита (N=12), моделирование ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита и введение мелатонина (N=12), моделирование ХАИ на фоне свинцовой интоксикации (N=12), моделирование ХАИ на фоне свинцовой интоксикации и введение мелатонина (N=12).

Для модели ХАИ растворяли ингибитор алкогольдегидрогеназы амид изовалериановой кислоты в очищенной воде (на 1 ед. раствора, равную 0,9 мл,

приходилось 50 мг амида изовалериановой кислоты) и вводили полученный раствор крысам через зонд в желудок в объеме 0,9 мл на 100 г веса каждый день в течение 30 дней одновременно вместе с 40% раствором этанола в дозе 3,0 г/кг веса, что не является чрезмерной водной нагрузкой на организм животного.

Для модели свинцовой интоксикации растворяли в дистиллированной воде ацетат свинца (на 0,2 мл раствора 5 мг свинца в пересчете на металл), вводили 0,1 мл полученного раствора на каждые 100 г веса крысы.

Аутоиммунный нефрит моделировали однократным введением в 5 мест (подкожно в подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно) по 0,2 мл равнодолевой смеси гомогената коркового вещества почки (на 100,0 мг ткани 1,0 мл физраствора) с полным адьювантом Фрейнда.

Показатели спонтанного диуреза изучали, разместив животных в специальных обменных клетках, где в течение 6 часов происходил сбор мочи. В полученном биоматериале исследовали концентрацию натрия, калия, креатинина и общего белка. Для проведения эксперимента в условиях водной нагрузки животным в полость желудка через зонд вводили воду (5% массы животного), после чего крыс закрывали в обменные клетки на 3 часа, где через каждый час собирали мочу. В моче изучали содержание натрия, калия и креатинина. Скорость клубочковой фильтрации определяли по клиренсу эндогенного креатинина (мл/ч/100 г массы тела животного). Концентрацию креатинина и общего белка в моче и плазме крови определяли на спектрофотометре «PV1251A», Solar (Беларусь) с помощью наборов «Креатинин» и «Белок» от производителя «Агат-Мед» (Москва, Россия). С помощью анализатора АЭК-01, Квирти-Мед (Россия) в плазме крови определяли концентрацию натрия и калия.

Для оценки процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли концентрацию в крови гидроперекисей (ГП) по методу В.Б. Гаврилова и малонового диальдегида (МДА) по методу, основанному на его взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой. Для оценки антиоксидантной системы (АОС), определяли активность каталазы по E. Beutler и супероксиддисмутазы (СОД).

Показатели гемодинамики изучали в остром эксперименте под золетилловым наркозом (внутримышечно в дозе 0,2 мл на 100 грамм веса). АД определяли прямым способом путём введения катетера (заполненного 10 % раствором гепарина («Гемапаксан» Италия), в бедренную артерию при помощи электроманометра «ДДА». Для измерения минутного объёма крови через левую общую сонную артерию в дугу аорты вводили термистор МТ-54М. Физиологический раствор фиксируемой температуры объёмом 0,2 мл вводили в правое предсердие через катетер по правой яремной вене. Запись кривой терморазведения производили на самописце ЭПП-5 (Россия). Показания АД фиксировали с помощью монитора МХ-04 (Россия). Рассчитывали среднее артериальное давление (САД) по формуле $САД = ДД + 1/3 ПД$, где ДД – диастолическое давление, ПД – пульсовое давление. Частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли с помощью монитора МХ-04; по формулам рассчитывали сердечный индекс (СИ), ударный индекс (УИ) и удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС).

Животных выводили из эксперимента под золетилловым наркозом для исследования плазмы и тканей. Для гистологических исследований образцы ткней фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин для

приготовлением срезов 4-5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и изучали в проходящем свете (микроскоп Zeiss Primo Star, увеличение 40×100×600). Количественные данные обрабатывали с помощью пакета программ Microsoft Excel 2019 и Statistica 10.0. Исходя из количества выборок и нормального распределения рядов сравнения, установленного по критерию Шапиро-Уилка ($W_f \gg W_m$), применяли t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для количественной оценки данных рассчитывали описательные статистические показатели: среднюю арифметическую и ошибку средней ($M \pm m$). О наличии значимых различий и факторных влияний судили при уровне достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. *Моделирование ХАИ с профилактическим применением мелатонина.* Исследования функции почек у животных с ХАИ показали достоверное снижение 6-ти часового спонтанного диуреза, что коррелирует с показателями снижения скорости клубочковой фильтрации (табл. 1). Характерно увеличение экскреции натрия и калия относительно исходных значений. Концентрация натрия в крови снижается, а концентрация калия растет. Повышенное выведение электролитов с мочой в условиях введения этанола связано со способностью его метаболитов блокировать работу ферментных транспортных систем в дистальных канальцах нефрона (Цейликман В.Э., 2022).

Таблица 1. Показатели водовыделительной функции почек у крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации

Условия опыта	Диурез, (мл/час/100г)	Клубочковая фильтрация, (мл/час/100 г)	Относительная канальцевая реабсорбция воды (%)	Содержание белка в моче (мг/мл)
1. Интактные животные	0,092±0,004	19,8±1,41	99,53±0,012	0,137±0,012
2. Мелатонин	0,098±0,0031	20,3±1,122	99,54±0,014	0,098±0,004
	-	-	-	-
3. 40% этанол	0,087±0,007	17,9±1,5	99,51±0,010	0,156±0,007
	-	-	-	-
4. 40% этанол и мелатонин	0,090±0,0034	18,42±1,212	99,523±0,012	0,155±0,0086
	-	-	-	-
5. Амид изовалериановой кислоты	0,085±0,008	18,6±1,65	99,54±0,011	0,156±0,013
	-	-	-	-
6. Амид изовалериановой кислоты и мелатонин	0,081±0,0052	18,43±1,322	99,548±0,014	0,114±0,0102
	-	-	-	-
7. Моделирование хронической алкогольной интоксикации	0,073±0,005	14,3±0,9	99,49±0,009	0,401±0,023
	**	**	**	***
8. Моделирование хронической алкогольной интоксикации и мелатонин	0,087±0,0021	16,84±0,873	99,517±0,011	0,221±0,0145
	#	-	#	*** ###

Примечание:

* $-p \leq 0,05$; ** $-p \leq 0,01$; *** $-p \leq 0,001$ по сравнению с контролем

$-p \leq 0,05$; ## $-p \leq 0,01$; ### $-p \leq 0,001$ – с группой №7.

Применение мелатонина на фоне ХАИ (относительно группы без мелатонина) привело к увеличению спонтанного диуреза и канальцевой реабсорбции воды, снижению протеинурии, увеличению экскреции натрия и калия, увеличению

канальцевой реабсорбции натрия, росту его концентрации в плазме крови при снижении концентрации калия. Это свидетельствует о выраженном профилактическом эффекте мелатонина при ХАИ.

У крыс с изолированным введением 40% этанола или раствора амида изовалериановой кислоты, не выявлено достоверных изменений параметров гемодинамики от контрольных значений. В группе с совместным применением алкоголя и амида изовалериановой кислоты наблюдали по сравнению с интактной группой достоверное повышение САД и УПСС, снижение СИ и УИ, как следствие структурно-функциональных изменений миокарда и рефлекторной регуляции. Использование нами ингибитора алкогольдегидрогеназы способствовало сохранению высокой концентрации этанола и ацетальдегида, индуцирующих гипертрофию миокарда, кардиосклероз и сердечную аритмию (П.П. Огурцов, 2009).

На фоне ХАИ возникает окислительный стресс, что проявляется повышением уровня малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутазы, снижением каталазы относительно контроля. Введение антиоксиданта мелатонина увеличивает показатели активности каталазы и супероксиддисмутазы.

Изменения функций почек при ХАИ сопровождаются морфологическими изменениями: гистологически выявлен мезангиопролиферативный гломерулонефрит, характерный для алкогольной нефропатии.

Проявления ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита с профилактическим применением мелатонина. Моделирование ХАИ и аутоиммунного нефрита приводит к развитию нефропатии с более выраженными изменениями (рис.1).

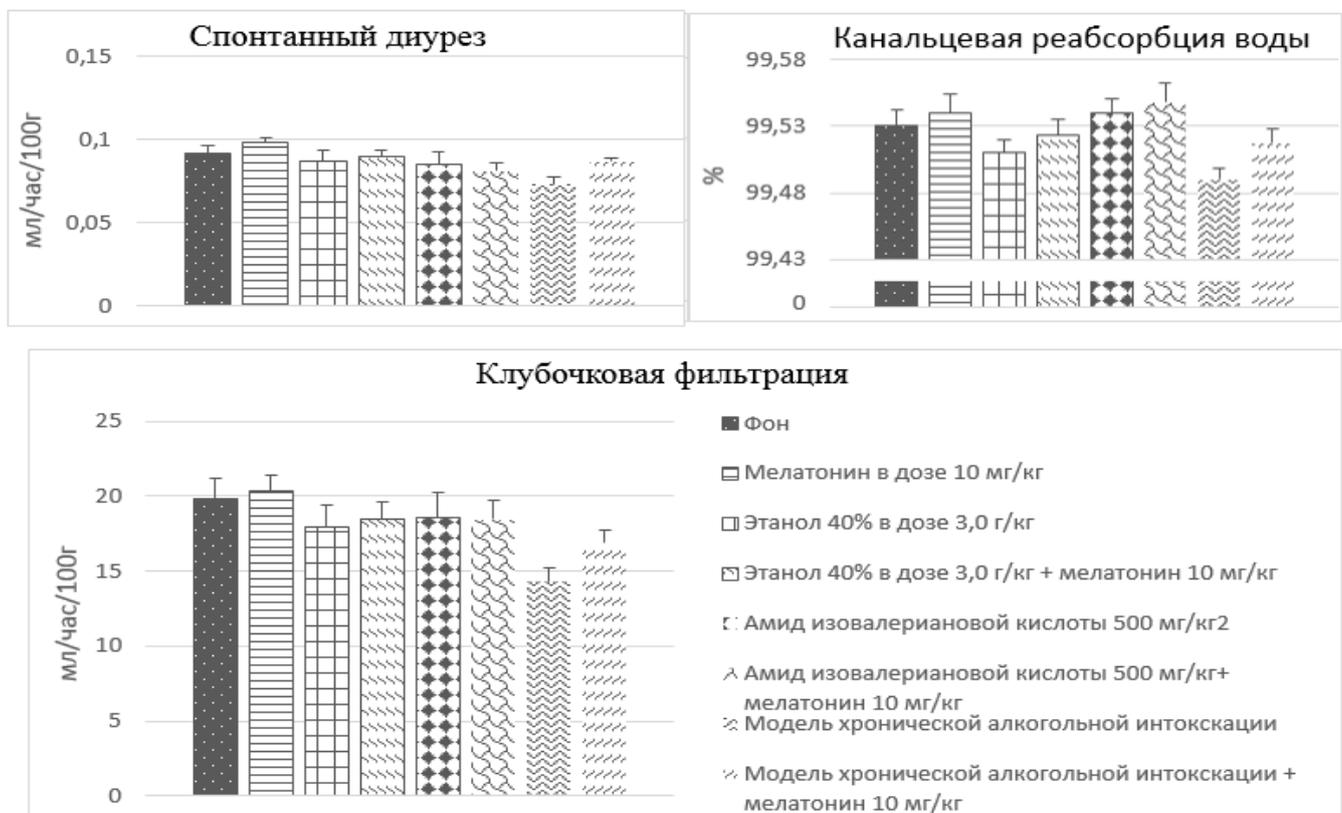


Рисунок 1. Показатели водовыделительной функции почек у крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации на фоне применения мелатонина.

Установлено уменьшение объема 6-часового спонтанного диуреза, связанное со снижением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на уменьшение канальцевой реабсорбции воды. Увеличение концентрации белка в моче также более выражено.

Профилактическое применение мелатонина при ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита показало увеличение спонтанного диуреза и скорости клубочковой фильтрации, увеличение канальцевой реабсорбции относительно группы без мелатонина.

Изучение показателей гемодинамики выявило более выраженное увеличение САД, чем при аутоиммунном нефрите, достоверное снижение СИ и УИ, увеличение УПСС относительно контроля (табл. 2). Выявлено менее выраженное снижение СИ и УИ, а также снижение УПСС относительно группы без введения мелатонина.

Таблица 2. Показатели системной гемодинамики у крыс с моделью хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита и внутрижелудочным введением мелатонина

Условия опыта	САД	ЧСС	Сердечный индекс (мл/100г)	Ударный индекс (мл/100г.)	УПСС усл., ед.
1. Интактные животные	100±2	386±5	52,84±1,02	0,137±0,003	1,53±0,02
2. Мелатонин	99±1	377,0±4	53,11±0,87	0,140±0,003	1,50±0,01
	–	–	–	–	–
3. 40% этанол	103±2	397±6	51,42±0,75	0,138±0,002	1,49±0,02
	–	–	–	–	–
4. 40% этанол и мелатонин	104±2	379±5	52,77±0,93	0,144±0,005	1,48±0,03
	–	–	–	–	–
5. Амид изовалериановой кислоты	99±1	374±4	52,27±0,64	0,143±0,003	1,45±0,02
	–	–	–	–	–
6. Амид изовалериановой кислоты и мелатонин	104±3	392±8	50,24±0,89	0,141±0,005	1,52±0,03
	–	–	–	–	–
7. Моделирование хронической алкогольной интоксикации	105±3	398±5	51,00±0,52	0,131±0,002	1,61±0,03
	–	–	–	–	*
8. Моделирование хронической алкогольной интоксикации и мелатонин	99±4	381±11	52,21±0,77	0,136±0,008	1,56±0,05
	–	–	–	–	–
9. Моделирование аутоиммунного нефрита	105±2	381±4	53,29±0,53	0,140±0,003	1,55±0,03
	*	–	–	–	–
10. Моделированием аутоиммунного нефрита и мелатонин	98±5	386±14	52,48±0,81	0,144±0,007	1,46±0,08
	–	–	–	–	–
11. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита	109±2	375±6	48,80±0,620	0,125±0,002	1,77±0,04
	**	–	** !!!	** !!!	*** !!!
12. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита и мелатонин (10 мг/кг)	105±4	374±12	50,12±0,75	0,131±0,003	1,61±0,06
	-	-	*	*	#

Примечание:

*– $p \leq 0,05$; **– $p \leq 0,01$; ***– $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем,

!!!– $p \leq 0,001$ – с группой №5.

Показатели САД на фоне нефрита выше. Основным фактором, ведущим к увеличению артериального давления при интоксикации этанолом, является повышение УПСС. Снижение СИ и УИ происходит из-за повреждения миокарда.

При ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита растут показатели малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутазы при снижении показателей каталазы относительно контроля.

При введении мелатонина у животных с ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита выявлено существенное ослабление процессов липопероксидации (снижение уровня малонового диальдегида, гидроперекисей, снижение уровня супероксиддисмутазы и увеличение каталазы).

При ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита в почках наблюдали гистологические изменения, свойственные для мембранопролиферативного гломерулонефрита: утолщение базальной мембраны клубочков, пролиферацию мезангия, расширение мочевых пространств и воспалительную инфильтрацию. Из-за пролиферации клеток часть клубочков имеет псевдодольчатую структуру, в капиллярах явления сладжа. В канальцах отмечена гиалиново-капельная дистрофия эпителия с частичным некрозом, в просветах – гиалиновые цилиндры.

В сердце отложение жировой клетчатки под эпикардом, дилатация правых отделов, особенно предсердия, исчезновение поперечной исчерченности и фрагментация кардиомиоцитов, очаговая и диффузная жировая инфильтрация и липофусциноз. Выявлены множественные периваскулярные очаги фиброза, венозного полнокровия.

При сравнении ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита с моделью аутоиммунного нефрита по показателям электролитно-водовыделительной функции, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, системной гемодинамики и морфологическим изменениям установлено, что ХАИ значительно усугубляет течение нефрита.

Проявления ХАИ на фоне свинцовой интоксикации с профилактическим применением мелатонина. Моделирование ХАИ на фоне свинцовой интоксикации вызывает уменьшение объема 6-часового спонтанного диуреза, снижение канальцевой реабсорбции воды, скорости клубочковой фильтрации (рис. 2).

Имеют место более выраженные патологические изменения по сравнению с группами с изолированной свинцовой интоксикацией или ХАИ. Наблюдается увеличение экскреции натрия и калия относительно контрольных значений. Концентрация натрия в крови снижается, а концентрация калия в крови растет.

В группе с моделированием ХАИ на фоне свинцовой интоксикации и введения мелатонина установлено увеличение объема 6-часового спонтанного диуреза, канальцевой реабсорбции воды, скорости клубочковой фильтрации и снижение содержания белка в моче относительно группы без мелатонина. Его положительное влияние при токсических нефропатиях отмечено и другими авторами, он снижает выраженность процессов ПОЛ в клетках почек, оказывает иммуномодулирующее действие (М. И. Кривчанская и соавт. 2016).

При моделировании ХАИ на фоне свинцовой интоксикации и введении мелатонина наблюдается снижение экскреции натрия и калия, снижение содержания калия в плазме крови относительно групп, где мелатонин не применялся. Будучи мощным антиоксидантом, мелатонин предотвращает развитие повреждений клеток

в условиях окислительного стресса, чем обусловлен наш выбор данного антиоксиданта. Мелатонин при повышенном содержании свинца в организме способствует восстановлению канальцевого аппарата почек, что влияет на процессы канальцевой реабсорбции воды.

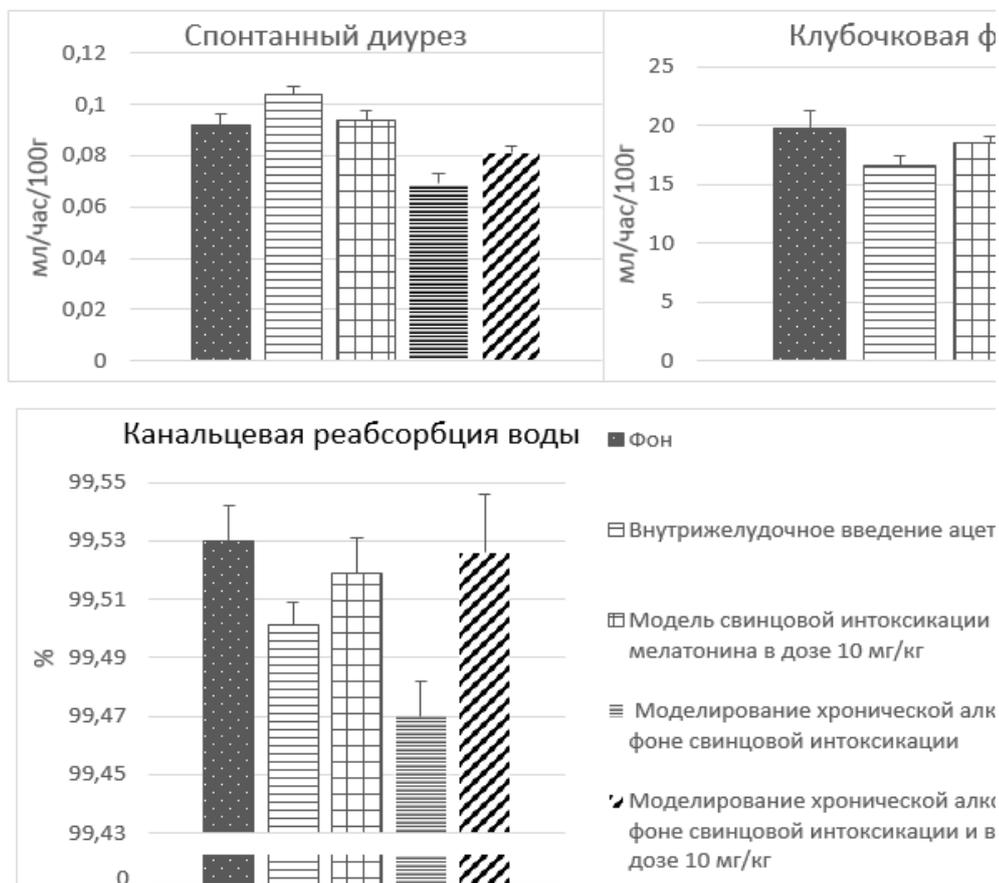


Рисунок 2. Показатели водовыделительной функции почек у крыс в условиях свинцовой интоксикации на фоне хронической алкогольной интоксикации с профилактическим применением мелатонина.

ХАИ на фоне свинцовой интоксикации вызывает увеличение САД, ЧСС, снижение СИ и УИ, увеличение УПСС по сравнению с исходными значениями. После применения мелатонина выявлено менее выраженное увеличение САД и ЧСС по сравнению с исходными значениями и восстановление ЧСС и СИ (табл. 3).

При совместной модели ХАИ и свинцовой интоксикации выявлен рост показателей малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутаза при снижении показателей активности каталазы. Мелатонин снижает процессы ПОЛ относительно группы без использования мелатонина (табл. 4).

Морфологически в почках выявлена дилатация интрагломерулярных мочевых пространств с фокусами накопления эозинофильных белковых масс, сморщивание капилляров клубочка, признаки гидропической дистрофии эндотелиоцитов в них.

В сердце на фоне свинцовой интоксикации выявлены гипертрофия и частичное исчезновение поперечной исчерченности кардиомиоцитов и застойное полнокровие микрососудистого русла.

Таблица 3. Гемодинамические показатели крыс в условиях хронической интоксикации этанолом при свинцовой интоксикации с профилактическим применением мелатонина

Условия опыта	САД	ЧСС	Сердечный индекс (мл/100г)	Ударный индекс (мл/100г.)	УПСС усл., ед.
1. Интактные животные	100±2	386±5	52,84±1,02	0,137±0,003	1,53±0,02
2. Мелатонин	99±1	377,0±4	53,11±0,87	0,140±0,003	1,50±0,01
	–	–	–	–	–
3. 40% этанол	103±2	397±6	51,42±0,75	0,138±0,002	1,49±0,02
	–	–	–	–	–
4. 40% этанол и мелатонин	104±2	379±5	52,77±0,93	0,144±0,005	1,48±0,03
	–	–	–	–	–
5. Амид изовалериановой кислоты	99±1	374±4	52,27±0,64	0,143±0,003	1,45±0,02
	–	–	–	–	–
6. Амид изовалериановой кислоты и мелатонин	104±3	392±8	50,24±0,89	0,141±0,005	1,52±0,03
	–	–	–	–	–
7. Моделирование хронической алкогольной интоксикации	105±3	398±5	51,00±0,52	0,131±0,002	1,61±0,03
	–	–	–	–	*
8. Моделирование хронической алкогольной интоксикации и мелатонин	99±4	381±11	52,21±0,77	0,136±0,008	1,56±0,05
	–	–	–	–	–
9. Ацетат свинца	114±4	404±6	49,96±0,94	0,124±0,003	1,69±0,05
	**	*	-	**	**
10. Ацетат свинца и мелатонин	112±5	381±8	50,21±0,79	0,129±0,005	1,58±0,11
	*	!	-	-	-
11. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне введения ацетата свинца	119±4	414±8	49,54±0,57	0,122±0,004	1,72±0,03
	***	**	*	**	***
12. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне введения ацетата свинца и мелатонина	115±6	399±3	50,56±0,49	0,128±0,006	1,61±0,07
	*	* ♣♣♣	♣♣♣	-	-

Примечание:
 * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем;
 ! – $p \leq 0,05$ – с группой №9;
 ♣♣♣ – $p \leq 0,001$ – с группой №11.

Морфологические изменения в сердце при ХАИ на фоне свинцовой интоксикации также выражены, характерно отложение жировой клетчатки под эпикардом, исчезновение поперечной исчерченности кардиомиоцитов, очаговая и диффузная жировая инфильтрация, очаговая лимфоцитарная инфильтрация.

Исследования ткани почек при ХАИ на фоне свинцовой интоксикации выявили картину мембранопролиферативного гломерулонефрита, выраженность изменений относительно группы животных с ХАИ без введения ацетата свинца была более значима.

Таблица 4. Показатели функционального состояния процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты клеток у крыс при хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации с внутрижелудочным введением мелатонина

Условия опыта	МДА (мкмоль/л)	ГП (мкмоль/л)	Каталаза (МЕ/гHb)	СОД (усл.ед %)
1. Интактные животные	57,86±1,76	3,25±0,15	449,31±16,74	62,67±2,75
2. Мелатонин	63,25±2,36	3,74±0,19	498,20±11,024	74,72±1,86
	-	-	*	**
3. 40% этанол	61,25±1,15	3,65±0,18	424,50±14,72	68,81±2,66
	-	-	-	-
4. 40% этанол и мелатонин	64,14±2,28	3,42±0,25	473,21±21,46	69,88±1,41
	*	-	-	*
5. Амид изовалериановой кислоты	54,24±1,54	3,11±0,14	467,80±19,72	59,75±1,34
	-	-	-	-
6. Амид изовалериановой кислоты и мелатонин	59,28±2,42	3,28±0,27	496,56±26,164	71,24±1,65
	-	-	-	*
7. Моделирование хронической алкогольной интоксикации	86,64±2,20	6,25±0,28	368,87±16,98	83,24±2,51
	***	***	**	***
8. Моделирование хронической алкогольной интоксикации и мелатонин	77,26±1,37	4,25±0,31	411,42±24,78	86,56±1,37
	*** ##	* ###	-	###
9. Моделирование аутоиммунного нефрита	78,56±1,65	5,74±0,14	357,77±14,67	79,62±2,65
	***	***	***	***
10. Моделирование аутоиммунного нефрита и мелатонин	74,73±0,96	3,99±0,23	385,57±11,86	84,32±3,54
	***	** !!!	**	***
11. Ацетат свинца	79,65±1,33	5,35±0,19	385,54±13,74	75,26±2,14
	***	***	**	**
12. Ацетат свинца и мелатонин	71,21±1,98	3,89±0,29	432,17±15,51	88,66±3,24
	*** ⚓	⚓	⚓	*** ⚓
13. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита	94,53±1,58	6,32±0,31	308,82±16,57	89,56±3,44
	***	***	***	***
14. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита и мелатонин	81,52±0,91	4,67±0,17	390,86±11,25	80,14±2,24
	*** ♣♣♣ ▲	*** ♣♣♣	** ♣♣♣	*** ♣ ▲
15. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации	98,46±0,77	6,98±0,34	321,67±0,012	87,14±2,65
	*** ⚓	*** ⚓	*** ⚓	*** ⚓
16. Моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации и мелатонин	77,66±2,32	4,55±0,17	418,55±23,71	78,33±3,22
	*** ■■■	*** ■■■	■■■	** ■▲

Примечание:

* –p≤0,05; ** –p≤0,01; *** –p≤0,001 по сравнению с контролем;

–p≤0,05; ## –p≤0,01; ### – p≤0,001 – с группой №7;

! –p≤0,05; !! –p≤0,01; !!! – p≤0,001 – с группой №9;

⚓ –p≤0,05; ⚓⚓ –p≤0,01; ⚓⚓⚓ – p≤0,001 – с группой №11;

♣ –p≤0,05; ♣♣ –p≤0,01; ♣♣♣ – p≤0,001 – с группой №13;

■ –p≤0,05; ■■ –p≤0,01; ■■■ – p≤0,001 – с группой №15;

▲ –p≤0,05; ▲▲ –p≤0,01; ▲▲▲ – p≤0,001 – с группой №8.

Проведя анализ изменений электролитно-водовыделительной функции почек и их морфологии, ПОЛ и антиоксидантной защиты, можно сделать вывод, что ХАИ осложняет течение свинцовой интоксикации, как отдельной патологии (рис. 3). Аналогичные результаты были получены в опытах с водной нагрузкой.

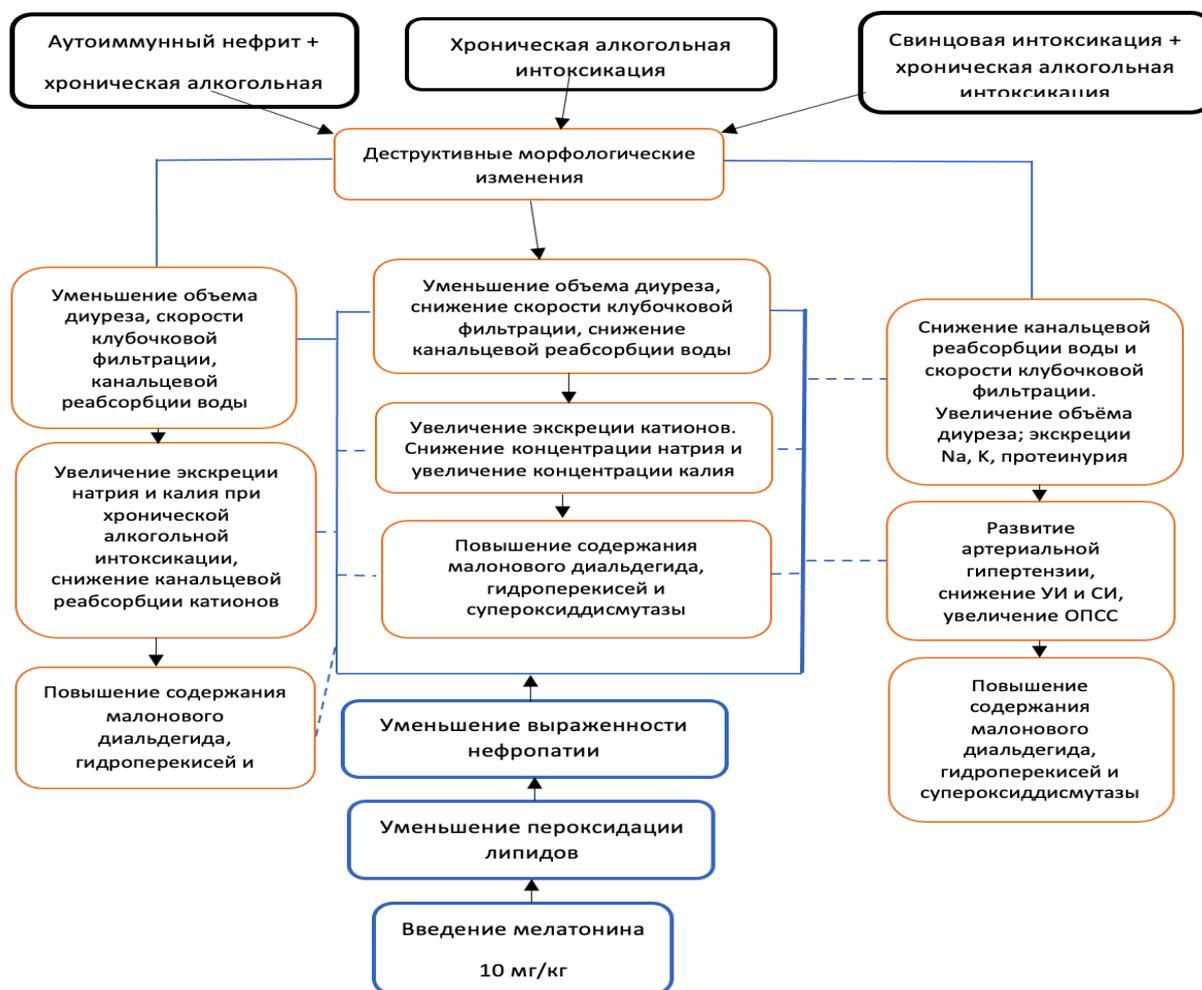


Рисунок 3. Патогенетическая схема развития изменений в почках при введении мелатонина на фоне хронической алкогольной интоксикации с аутоиммунным нефритом и свинцовой интоксикацией (————— повышение показателей, - - - - - подавление патологических изменений).

Использование экзогенного мелатонина может найти применение в клинике в качестве универсального средства профилактики развития токсических эффектов ХАИ, в том числе и на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации

Заключение. В результате исследования создана и запатентована экспериментальная модель хронической алкогольной нефропатии и кардиопатии, а также отработаны модели свинцовой интоксикации и аутоиммунного нефрита. В данных экспериментах исследованы функции почек, гемодинамика, окислительные и антиоксидантные процессы, изучены кровь и ткани исследуемых органов. На модели продемонстрированы эффекты и сформулированы фундаментальные патогенетические обоснования применения мелатонина для коррекции указанных состояний. Полученные результаты легли в основу выводов.

ВЫВОДЫ

1. Введение 40%-го раствора этанола в дозе 3,0 г/кг через зонд в желудок каждый день в течение 30 дней одновременно с раствором амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг веса животного приводит к развитию ХАИ, проявляющейся нефропатией и кардиопатией.

2. Токсическая нефропатия, развивающаяся в условиях ХАИ, проявляется протеинурией, снижением шестичасового спонтанного диуреза, при прямой корреляции с уменьшением скорости клубочковой фильтрации увеличением экскреции натрия и калия. Применение мелатонина в ежедневной дозе 10 мг/кг при создании модели ХАИ вызывает увеличение спонтанного диуреза и канальцевой реабсорбции воды относительно группы без применения мелатонина, снижает величину протеинурии.

3. ХАИ на фоне аутоиммунного нефрита и свинцовой интоксикации в дозе 25 мг/кг, повышает выраженность нефропатии, уменьшая объем диуреза, скорость клубочковой фильтрации, величину канальцевой реабсорбции воды. Параллельно происходит увеличение экскреции натрия, калия с мочой, что является следствием развития выраженных морфофункциональных изменений канальцевого аппарата почек. Применение мелатонина в ежедневной дозе 10 мг/кг в условиях хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита или свинцовой интоксикации в дозе 25 мг/кг способствует профилактике основных функциональных изменений ренальной системы, что характеризуется увеличением объема диуреза, скорости клубочковой фильтрации, канальцевой реабсорбции воды и одновременным снижением экскреции натрия, калия с мочой.

4. Модель ХАИ проявляется повышением среднего артериального давления, за счет увеличения удельного периферического сосудистого сопротивления. Снижение сердечного и ударного индексов, наряду с гистологическими нарушениями миокарда, документируют развитие кардиопатии. Применение мелатонина в ежедневной дозе 10 мг/кг способствует снижению выраженности патологических эффектов этанола и восстановлению функциональных и морфологических изменений со стороны сердечно-сосудистой системы.

5. Алкогольная интоксикация усугубляет проявления кардиопатии, вызванные аутоиммунным нефритом или свинцовой интоксикацией. Увеличение выраженности кардиопатии у экспериментальных животных подтверждается наличием совокупности морфологических изменений микропрепаратов миокарда, а также снижением ударного и сердечного индексов на фоне возникающей артериальной гипертензии. Применение мелатонина в ежедневной дозе 10 мг/кг способствует снижению выраженности патологических эффектов этанола и восстановлению функциональных и морфологических изменений со стороны сердечно-сосудистой системы.

6. При ХАИ и особенно на фоне аутоиммунного нефрита и свинцовой интоксикации в дозе 25 мг/кг, наблюдался выраженный оксидативный стресс, сопровождающийся снижением активности системы антиоксидантной защиты организма. Применение мелатонина уменьшало выраженность перекисидации липидов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Экспериментальная модель алкогольной нефропатии у крыс / В. М. Земляной, В. Б. Брин, Э. М. Гаглоева, Н. В. Соколовский // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – Т. 27. – № 4. – С. 79-81. – DOI 10.24411/1609-2163-2020-16742
2. Земляной, В. М. Особенности изменения мочеобразовательной функции почек при хронической алкогольной интоксикации в условиях водной нагрузки у крыс в эксперименте / В. М. Земляной, Н. В. Соколовский, Д. А. Четоева // Молодые ученые - медицине : Материалы XX научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием, Владикавказ, 21 мая 2021 года. – Владикавказ: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Северо-Осетинская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2021. – С. 43-47.
3. Сравнительный анализ моделей хронической алкогольной интоксикации / В. М. Земляной, О. Т. Кабисов, В. Б. Брин [и др.] // Новые технологии в рекреации здоровья населения: Материалы VII научно-практической конференции, Владикавказ, 07–08 октября 2021 года. – Владикавказ: Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра Российской академии наук, 2021. – С. 235-241.
4. Патент № 2740569 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. Способ моделирования хронической алкогольной интоксикации у крыс в эксперименте: № 2020124493: заявл. 14.07.2020: опубл. 15.01.2021 / В. Б. Брин, В. М. Земляной, Н. В. Соколовский, Э. М. Гаглоева.
5. *Земляной, В. М. Влияние мелатонина на изменения водовыделительной функции почек при хроническом алкогольном воздействии на фоне свинцовой интоксикации в условиях водной нагрузки в эксперименте у крыс / В. М. Земляной, В. Б. Брин // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2022. – Т. 16. – № 4. – С. 83-88. – DOI 10.24412/2075-4094-2022-4-3-1.
6. **Влияние экспериментальной хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита на сердечно-сосудистые проявления у крыс / В. М. Земляной, В. Б. Брин, О. Т. Кабисов [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. – Т. 17. – № 1. – С. 68-70. – DOI 10.14300/mnnc.2022.17018.
7. Эффекты мелатонина на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему при хроническом алкогольном воздействии на фоне свинцовой интоксикации и аутоиммунного нефрита в эксперименте у крыс / В. М. Земляной, В. Б. Брин // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 5. – С. 41-50. – DOI 10.17513/spno.32064.
8. Патент № 2771258 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28, А61D 7/00. Способ моделирования алкоголь-индуцированной нефропатии на фоне аутоиммунного нефрита у крыс в эксперименте: № 2021122625: заявл. 28.07.2021: опубл. 29.04.2022 / В. М. Земляной, В. Б. Брин, Н. В. Соколовский, Э. М. Гаглоева.

9. Патент № 2786469 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. Способ профилактики алкоголь-индуцированной нефропатии на фоне свинцовой интоксикации у крыс в эксперименте. № 2022111130: заявл. 22.04.2022: опубл. 21.12.2022 / В. Б. Брин, В. М. Земляной.

10. **The effect of melatonin on electrolyte and water-retention renal dysfunction in chronic alcohol intoxication associated with autoimmune nephritis: an experimental rat model/ Vadim Brin, Vladlen Zemlianoy// Archiv Euromedica – 2022. Vol.12, Num.2, P.29-34.

Примечания

*обозначены статьи, индексируемые в журналах списка ВАК

** обозначены статьи, которые опубликованы в журналах, индексируемых в наукометрических базах Scopus и WoS

Список сокращений и условных обозначений:

МДА– малоновый диальдегид;

САД – среднее артериальное давление;

СИ – сердечный индекс;

УИ – ударный индекс;

УПСС – удельное периферическое сосудистое сопротивление;

ХАИ – хроническая алкогольная интоксикация

ЧСС – частота сердечных сокращений