

ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АЛКОГОЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ФОНЕ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И АУТОИММУННОГО НЕФРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

Земляной В.М.¹, Брин В. Б.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава РФ, Владикавказ, e-mail: zemlyanoy.vlad@bk.ru;

²Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН, Владикавказ

Исследованы показатели процессов перекисного окисления липидов и изменения активности антиоксидантной защиты организма при хроническом алкогольном воздействии на фоне свинцовой интоксикации и аутоиммунного нефрита у 160 крыс линии Вистар. Установлено, что при введении в качестве профилактики мелатонина в дозе 10 мг/кг массы экспериментального животного с хронической алкогольной интоксикацией выявлялось существенное ослабление повышенных процессов липопероксидации, что подтверждается снижением уровней малонового диальдегида (32%) и гидроперекисей (11%), а со стороны антиоксидантной защиты отмечаются: снижение уровня супероксиддисмутазы (4%) и увеличение каталазы (11%) относительно значений группы крыс, не получавших мелатонин. При хронической алкогольной и свинцовой интоксикации у экспериментальных животных обнаруживалось снижение уровня малонового диальдегида (35%), гидроперекисей (21%) наблюдались увеличение уровня супероксиддисмутазы (10%) и повышение каталазы (27%) относительно значений группы крыс без мелатонина. При хронической алкогольной интоксикации и аутоиммунном нефрите у экспериментальных животных обнаруживались снижение уровня малонового диальдегида (26%), гидроперекисей (14%), увеличение уровня супероксиддисмутазы (11%) и повышение каталазы (30%) относительно значений группы крыс, не получавших мелатонин. Проведенные исследования позволяют заключить, что введение мелатонина в данных условиях способствует восстановлению активности каталазы и уменьшению показателей ПОЛ, благодаря чему реализуется профилактический эффект.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, хроническая алкогольная интоксикация, свинцовая интоксикация, мелатонин, аутоиммунный нефрит.

EFFECTS OF MELATONIN ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM UNDER CHRONIC ALCOHOL EXPOSURE ON THE BACKGROUND OF LEAD INTOXICATION AND AUTOIMMUNE NEPHRITIS IN EXPERIMENT IN RATS

Zemlyanoy V.M.¹, Brin V.B.^{1,2}

¹FGBOU VO SOGMA of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladikavkaz, e-mail: zemlyanoy.vlad@bk.ru;

²Institute for Biomedical Research, Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Vladikavkaz

The indicators of lipid peroxidation processes and changes in the activity of the antioxidant defense of the body under chronic alcohol exposure against the background of lead intoxication and autoimmune nephritis were studied in 160 Wistar rats. It was found that the administration of melatonin at a dose of 10 mg/kg as a prophylaxis in animals with chronic alcohol intoxication revealed a significant weakening of the increased processes of lipid peroxidation, which was characterized by a decrease in the level of malondialdehyde (32%), hydroperoxides (11%), and on the part of antioxidant protection there was a decrease in the level of superoxide dismutase (4%) and an increase in catalase (11%) relative to the values of the group of rats that did not receive melatonin. In chronic alcohol and lead intoxication, experimental animals showed a decrease in the level of malondialdehyde (35%), hydroperoxides (21%), an increase in the level of superoxide dismutase (10%) and an increase in catalase (27%) relative to the values of the group of rats without melatonin. In chronic alcohol intoxication and autoimmune nephritis, experimental animals showed a decrease in the level of malondialdehyde (26%), hydroperoxides (14%), an increase in the level of superoxide dismutase (11%) and an increase in catalase (30%) relative to the values of the group of rats that did not receive melatonin. The conducted studies allow us to conclude that the introduction of melatonin under these conditions contributes to the restoration of catalase activity and a decrease in lipid peroxidation, due to which a preventive effect is realized.

Keywords: lipid peroxidation, antioxidant protection, chronic alcohol intoxication, lead intoxication, melatonin, autoimmune

nephritis.

Алкоголизм является крайне актуальной проблемой в России. В 2017 г. количество людей с данной патологией составило 1 304,6 тыс. человек [1]. У пациентов с этой патологией происходят усиление процессов перекисного окисления липидов, угнетение антиоксидантной защиты, а также имеются выраженные признаки цитолиза, холестаза и нарушений липидного обмена [2].

В условиях сильного загрязнения свинцом (свыше 10 допустимых концентраций) в России проживает более 256 тыс. человек [3]. Свинец негативно влияет на окислительные процессы в организме, что приводит к повреждению клеточного аппарата. Известно, что тяжелые металлы имеют высокую окислительно-восстановительную активность, что способствует активному образованию гидроксильных и супероксид радикалов [4].

Летальность от заболеваний почек занимает 12-е место среди всех причин летальных исходов [5]. Перекисное окисление липидов в физиологическом диапазоне колебаний является нормальным метаболическим процессом, широко представленным во всех органах и тканях человека [6].

Цель исследования: изучить возможность профилактики мелатонином изменений процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантной защиты организма при хроническом алкогольном воздействии на фоне свинцовой интоксикации и аутоиммунного нефрита.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на белых крысах самцах линии Вистар массой 200–300 г, разделенных на 16 групп ($n=160$): 1) интактные животные; 2) группа с внутрижелудочным введением мелатонина в дозе 10 мг/кг; 3) группа с интрагастральным введением 40%-ного этанола в дозе 3,0 г/кг в течение месяца; 4) группа с интрагастральным введением 40%-ного этанола в дозе 3,0 г/кг и мелатонина в дозе 10 мг/кг (профилактика мелатонином) в течение месяца; 5) группа с внутрижелудочным введением раствора амида изовалериановой кислоты (ингибитор алкогольдегидрогеназы) в дозе 500 мг/кг в течение месяца; 6) группа с интрагастральным введением в дозировке 500 мг/кг раствора амида изовалериановой кислоты и профилактикой мелатонином в течение месяца; 7) группа с интрагастральным введением раствора амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг и 40%-ным этанолом в дозе 3,0 г/кг каждый день в течение 30 дней (модель хронической алкогольной интоксикации) [7]; 8) группа с реализацией модели хронической алкогольной интоксикации и введением мелатонина в дозе 10 мг/кг каждый день в течение 30 дней интрагастрально; 9) крысы с подкожным

введением эмульсии полного адьюванта Фрейнда с таким же количеством гомогената коркового вещества почки, разведенного физраствором, из расчета на 100,0 мг ткани – 1,0 мл физраствора, который введен подкожно в пять мест по 0,1 мл действующей смеси на 100 г веса животного (модель аутоиммунного нефрита) [8]; 10) модель аутоиммунного нефрита с профилактикой мелатонином в течение месяца; 11) группа с интрагастральным введением ацетата свинца в дозе 25 мг/кг в течение 30 дней (свинцовая интоксикация); 12) группа с моделированием свинцовой интоксикации и профилактикой мелатонином в течение месяца; 13) моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита в течение 30 дней; 14) моделирование хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита с профилактикой мелатонином в течение месяца; 15) группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации и введением ацетата свинца в дозе 25 мг/кг; 16) группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации и профилактикой мелатонином в течение 30 дней.

Все животные имели свободный доступ к воде и еде с соблюдением физиологических потребностей крыс, также поддерживался естественный световой режим. Об активности процессов ПОЛ судили по концентрации малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах, активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в эритроцитах, также и гидроперекисей (ГП) в плазме крови. Работа с исследуемыми животными реализовывалась в соответствии с 11-й статьей Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199).

Обработка полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения: Microsoft Excel 2018 и Statistica 10.0. Установив количество выборок и нормальное распределение рядов по критерию Шапиро–Уилка ($W_f \gg W_m$), мы применяли t-критерий Стьюдента для дальнейшей статистической обработки. Различия считали значимыми при критическом уровне достоверности (p) меньше 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение. В группах № 3 и № 5 относительно значений интактной группы интенсивность процессов ПОЛ и изменения значимых показателей антиоксидантной защиты организма показали отсутствие статистически достоверных изменений.

В группе с введением антиоксиданта мелатонина в дозе 10 мг/кг установлено увеличение показателей активности каталазы и супероксиддисмутазы на 11% и 19% соответственно.

В ходе проведения исследований установлено, что на фоне хронической алкогольной

интоксикации формируется выраженный окислительный стресс, что проявляется в виде повышения содержания малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутазы соответственно на 50%, 92%, 33%, а каталаза демонстрировала снижение на 17% относительно фоновых значений. Этанол оказывает мультифакторное влияние на организм, что в основном проявляется цепочкой патологических изменений, связанных со свободнорадикальным окислением липидов клеточных мембран. На данный момент уже точно установлено, что этанол ускоряет процессы ПОЛ в организме и при хроническом течении процессов истощает антиоксидантные ресурсы [9, 10]. При сочетанном моделировании хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации выявлялось увеличение показателей малонового диальдегида (70%), гидроперекисей (115%) и супероксиддисмутазы (33%) при снижении показателей активности каталазы (27%). Хроническая алкогольная интоксикация на фоне аутоиммунного нефрита также демонстрировала увеличение показателей малонового диальдегида (63%), гидроперекисей (95%) и супероксиддисмутазы (42%) при снижении показателей каталазы (31%) относительно контрольных значений.

При введении в качестве профилактики мелатонина у животных с хронической алкогольной интоксикацией выявлялось существенное ослабление процессов липопероксидации, что характеризовалось снижением уровня малонового диальдегида (32%), гидроперекисей (11%), а со стороны антиоксидантной защиты наблюдались снижение уровня супероксиддисмутазы (4%) и увеличение каталазы (11%) относительно значений группы № 7. Это объясняется присущим мелатонину выраженным мембранопротекторным свойством за счет антиоксидантного действия [11]. При хронической алкогольной и свинцовой интоксикации у экспериментальных животных под влиянием мелатонина обнаруживалось снижение уровня малонового диальдегида (35%), гидроперекисей (21%), а со стороны антиоксидантной защиты наблюдались увеличение уровня супероксиддисмутазы (10%) и повышение каталазы (27%) относительно значений группы № 15. При хронической алкогольной интоксикации и аутоиммунном нефрите у экспериментальных животных при действии мелатонина обнаруживалось снижение уровня малонового диальдегида (26%), гидроперекисей (14%), а со стороны антиоксидантной защиты наблюдались увеличение активности супероксиддисмутазы (11%) и повышение активности каталазы (30%) относительно значений группы № 13.

При свинцовой интоксикации у экспериментальных животных выявлялось повышение малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутазы соответственно на 38%, 65% и 20%, а каталаза демонстрировала снижение на 14% относительно значений контроля.

Практические исследования показывают, что тяжелые металлы, в том числе и ацетат

свинца, за счет прооксидантного действия реализуют активацию процессов ПОЛ [12]. У животных со свинцовой интоксикацией, получавших в качестве профилактики мелатонин, было выявлено снижение уровня малонового диальдегида (32%), гидроперекисей (11%), а со стороны антиоксидантной защиты наблюдались увеличение активности супероксиддисмутазы (18%) и повышение каталазы (8%) относительно значений группы № 11.

У крыс с моделированием аутоиммунного нефрита было выявлено повышение малонового диальдегида, гидроперекисей и супероксиддисмутазы соответственно на 36%, 77% и 27%, а каталаза демонстрировала снижение на 20% относительно контрольных значений (таблица). Данные эффекты связаны с нарушением структурно-функциональной организации клеточных структур почки при нефритах разной этиологии, вплоть до полной деструкции и активации перекисного окисления липидов как мембранодестабилизирующего процесса. У животных с моделированием аутоиммунного нефрита, получавших в качестве профилактики мелатонин, было выявлено снижение уровня малонового диальдегида (31%), гидроперекисей (5%), а со стороны антиоксидантной защиты наблюдались увеличение активности супероксиддисмутазы (6%) и повышение активности каталазы (8%) относительно значений группы № 9.

Влияние мелатонина на активность каталазы и СОД, концентрацию МДА и ГП у экспериментальных животных при хроническом алкогольном воздействии на фоне свинцовой интоксикации и аутоиммунного нефрита

Условия опыта	МДА (мкмоль/л)	ГП (мкмоль/л)	Каталаза (МЕ/гНв)	СОД (%)
Интактные животные	57,86±1,76	3,25±0,15	449,31±16,74	62,67±2,75
2-я группа с введением мелатонина в дозе 10 мг/кг	63,25±2,36	3,74±0,19	498,20±11,024	74,72±1,86
	–	–	*)	**)
3-я группа с введением 40%-ного этанола в дозе 3,0 г/кг в течение месяца	61,25±1,15	3,65±0,18	424,50±14,72	68,81±2,66
	–	–	–	–
4-я группа с введением 40%-ного этанола в дозе 3,0 г/кг в течение месяца и профилактикой мелатонином	64,14±2,28	3,42±0,25	473,21±21,46	69,88±1,41
	*)	–	–	*)
	54,24±1,54	3,11±0,14	467,80±19,72	59,75±1,34

5-я группа с введением раствора амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг в течение месяца	—	—	—	—
6-я группа с введением раствора амида изовалериановой кислоты в дозе 500 мг/кг в течение месяца и профилактикой мелатонином	59,28±2,42	3,28±0,27	496,56±26,164	71,24±1,65
	—	—	—	*)
7-я группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации	86,64±2,20	6,25±0,28	368,87±16,98	83,24±2,51
	***)	***)	**)	***)
8-я группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации и профилактикой мелатонином	77,26±1,37	4,25±0,31	411,42±24,78	86,56±1,37
	***)##)	*)###)	-	###)
9-я группа с моделированием аутоиммунного нефрита	78,56±1,65	5,74±0,14	357,77±14,67	79,62±2,65
	***)	***)	***)	***)
10-я группа с моделированием аутоиммунного нефрита и введением мелатонина	74,73±0,96	3,99±0,23	385,57±11,86	84,32±3,54
	***)	**)!!!)	**)	***)
11-я группа с моделированием свинцовой интоксикации	79,65±1,33	5,35±0,19	385,54±13,74	75,26±2,14
	***)	***)	**)	**)
12-я группа с моделированием свинцовой интоксикации и профилактикой мелатонином	71,21±1,98	3,89±0,29	432,17±15,51	88,66±3,24
	***)⚓)	⚓⚓)	⚓)	***)⚓)
13-я группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита	94,53±1,58	6,32±0,31	308,82±16,57	89,56±3,44
	***)	***)	***)	***)
14-я группа с моделированием хронической алкогольной	81,52±0,91	4,67±0,17	390,86±11,25	80,14±2,24
	***)♣♣♣)▲	***)♣♣♣)	**)♣♣♣)	***)♣)▲)

интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита и профилактикой мелатонином)			
15-я группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации	98,46±0,77 ***)	6,98±0,34 ***)	321,67±0,012 ***)	87,14±2,65 ***)
16-я группа с моделированием хронической алкогольной интоксикации на фоне свинцовой интоксикации и профилактикой мелатонином	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 фоном (#) –p≤0,05; (##) –p≤0,01; (###) – p≤0,001 по сравнению с группой № 7 (!) –p≤0,05; (!!) –p≤0,01; (!!!) – p≤0,001 по сравнению с группой № 9 (♣) –p≤0,05; (♣♣) –p≤0,01; (♣♣♣) – p≤0,001 по сравнению с группой № 13 (■) –p≤0,05; (■■) –p≤0,01; (■■■■) – p≤0,001 по сравнению с группой № 15 (▲) –p≤0,05; (▲▲) –p≤0,01; (▲▲▲) – p≤0,001 по сравнению с группой № 8				

Заключение

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что свинцовая интоксикация и аутоиммунный нефрит на фоне хронической алкогольной интоксикации снижают активность системы антиоксидантной защиты, в результате чего происходит активация процессов липопероксидации, что подтверждается увеличением продуктов ПОЛ в организме опытных животных.

Использование антиоксиданта мелатонина при данных условиях оказывает профилактическое влияние на организм при помощи восстановления функциональной активности каталазы и положительной динамики МДА и ГП, что свидетельствует о снижении выраженности процессов ПОЛ.

Список литературы

1. Вангородская С.А. Российская модель потребления алкоголя: особенности и влияние на смертность населения // *НОМОТНЕТІКА: Философия. Социология. Право*. 2018. № 1. С. 28-36.
2. Мязин Р.Г., Емельянов Д.Н. Алкогольная болезнь печени: современный взгляд на диагностику и лечение // *МС*. 2019. № 14. С. 64-71.
3. Стародумов В.Л., Калинина Н.Г., Горбунов В.А. Состояние мембран эритроцитов как индикатор воздействия свинца окружающей среды // *Вестник ИвГМА*. 2018. № 4. С. 16-19.
4. Юркова А.А. Химическое загрязнение окружающей среды // *Colloquium-journal*. 2021. № 18 (105). С. 9-12.
5. Земляной В.М., Брин В.Б., Кабисов О.Т., Соколовский Н.В., Четоева Д.А. Влияние экспериментальной хронической алкогольной интоксикации на фоне аутоиммунного нефрита на сердечно-сосудистые проявления у крыс // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022. № 1. С. 68-71.
6. Ахмедова М.М., Шарипов Р.Х., Расулова Н.А. Дизметаболическая нефропатия. М.: Учебно-методическая рекомендация, 2015. С. 26-27.
7. Брин В.Б., Земляной В.М., Соколовский Н.В., Гаглоева Э.М. Способ моделирования хронической алкогольной интоксикации у крыс в эксперименте // Патент РФ № 2740569, Патентообладатель: ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ. 2021. Бюл. № 2.
8. Pusey C.D., Holland M.J., Cashman S.J., Sinico R.A., Lloveras J.J., Evans D.J., Lockwood C.M. Experimental autoimmune glomerulonephritis induced by homologous and isologous glomerular basement membrane in Brown-Norway rats. *Nephrol Dial Transplant*. 1991. vol 6. no 7. P. 57–65.
9. Хазанов А.И. Важная проблема современности – алкогольная болезнь печени // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002. № 2. С.13-20.
10. Цейслер Ю.В., Нурищенко Н.Е., Мартынюк В.С., Подпалова О.Н., Шелюк О.В. Показатели липидного обмена крыс в условиях хронической пролонгированной алкоголизации // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2014. № 3 (66). С. 169-177.
11. Митциев А.К., Брин В.Б., Митциев К.Г. Профилактическое влияние мелаксена на изменения электролитовыделительной функции почек крыс в условиях экспериментальной кобальтовой интоксикации // *Владикавказский медико-биологический вестник*. 2010. № 17. С. 94-98.

12. Брин В.Б., Митциев А.К., Митциев К.Г. Влияние препарата «Мелаксен» на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему при отравлении ртутью и кадмием // Кубанский научный медицинский вестник. 2014. № 4. С. 30-33.