 © Авторы статьи / Authors of the article

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ/PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.88 EDN: QJNZYV

ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК

Научная статья

Ивашин А.А.[1], Коробков Д.М.[2,] *, Ваганова М.А.[3], Первойкина И.С.[4], Кузнецова М.Ю.[5], Клочкова А.А.[6], Сачкова А.С.[7], Катайкина К.О.[8], Слугина А.М.[9], Полуэктов В.А.[10], Мандров Д.А.[11], Архипкина М.Ю.[12], Еналиева Л.Р.[13], Медведев Е.В.[14], Кавторева А.Е.[15], Кузин Д.И.[16], Балашов М.О.[17], Хлопенкова О.В.[18]

[1] ORCID : 0000-0001-7842-1954;

[2] ORCID : 0000-0001-8948-0052;

[1] Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

[2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18] Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (doctordmk[at]mail.ru)

Предложена: 25.02.2024; Принята: 15.03.2024; Опубликована: 18.03.2024

Аннотация

В данном исследовании изучено влияние экзогенного мелатонина на функциональные и гистопатологические изменения при ишемически-реперфузионном повреждении почек. Креатинин у животных в группе 3 был статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 (контроль 1) на 8,92%, p<0,05. Гистопатологические изменения в группе 2 подтвердили нарушение функции почек в результате формирования канальцевого некроза. В группе 3 некроз тубулярных клеток и образование цилиндров статистически значимо были менее выражены в сравнении с группой 2, предварительные результаты исследования свидетельствуют о том, что введение мелатонина приводит к уменьшению почечного повреждения вследствие ишемически-реперфузионного повреждения почек.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, острое почечное повреждение.

AN EVALUATION OF EXOGENOUS MELATONIN APPLICATION ON FUNCTIONAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN ISCHAEMIA REPERFUSION INJURY OF KIDNEYS

Research article

Ivashin A.A.[1], Korobkov D.M.[2,] *, Vaganova M.A.[3], Pervoikina I.S.[4], Kuznetsova M.Y.[5], Klochkova A.A.[6], Sachkova A.S.[7], Kataikina K.O.[8], Slugina A.M.[9], Poluektov V.A.[10], Mandrov D.A.[11], Arkhipkina M.Y.[12], Yenalieva L.R.[13], Medvedev Y.V.[14], Kavtoreva A.Y.[15], Kuzin D.I.[16], Balashov M.O.[17], Khlopenkova O.V.[18]

[1] ORCID : 0000-0001-7842-1954;

[2] ORCID : 0000-0001-8948-0052;

[1] National Research Mordovia State University named after N. P. Ogarev, Saransk, Russian Federation

[2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18] National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (doctordmk[at]mail.ru)

Suggested: 25.02.2024; Accepted: 15.03.2024; Published: 18.03.2024

Abstract

In this study, the effect of exogenous melatonin on functional and histopathological changes in ischaemia reperfusion injury of kidneys was studied. Creatinine in animals in group 3 was statistically significantly lower compared to group 2 (control 1) by 8.92%, p<0.05. Histopathological changes in group 2 confirmed impaired renal function as a result of tubular necrosis formation. In group 3, tubular cell necrosis and cylinder formation were statistically significantly less significant compared to group 2. Preliminary results of the study suggest that melatonin administration leads to a reduction in renal damage due to ischaemia reperfusion injury of the kidneys.

Keywords: ischaemia, reperfusion, acute kidney injury.

Введение

Достоверно известно, что атомарные формы кислорода (АФК) способствуют повреждению клеток, вызванному ишемией-реперфузией. Ишемия органа приводит к различной степени разрушения тканей, в зависимости от продолжительности и степени окклюзии артериального кровотока. Клинические и экспериментальные исследования доказали, что ишемически-реперфузионные повреждения инициируют АФК [1], [2]. Клеточная защита от повреждения свободными радикалами обеспечивается ферментативными и неферментативными каскадами улавливания оксидантов, присутствующих в клетке [4], [5], [7]. Известно, что мелатонин является эффективным поглотителем свободных радикалов и антиоксидантом.

Цель данной работы – изучить влияние экзогенного мелатонина на функциональные и гистопатологические изменения при ишемически-реперфузионном (И/Р) повреждении почек.

 © Авторы статьи / Authors of the article

Методы и принципы исследования

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [3]. Эксперимент проводился на 30 животных (нелинейные белые крысы обоего пола массой 220-335 г.). Группа 1. Контроль – ложнооперированные животные (n = 10): крысам, предварительно введено 0,9% раствор NaCl, 1 мл/кг, интраперитонеально (и/п) за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до операции. Группа 2. Контроль 1 (n = 10): крысам предварительно введен 0,9% раствор NaCl, 1 мл/кг, за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до ишемии в течение 60 минут (наложения лигатуры на сосудистый пучок (артерия, вена)), с последующей реперфузией в течение 60 минут, по методике в модификации Надольника Л. И. [6], животным выполнялась под наркозом срединная лапаротомия, вскрывалась брюшная полость, выполнялась ревизия левого бокового фланка и выведение почки и сосудистого пучка наружу, после чего на сосуды накладывалась лигатура, реперфузия выполнялась путем снятия лигатуры. Группа 3. Операция+мелатонин (n = 10): крысам, предварительно вводился мелатонин и\п в дозе 10 мг/кг, за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до ишемии [6], в течение 60 минут с последующей реперфузией в течение 60 минут. Образцы крови были взяты из хвостовой вены по стандартной методике. Уровни мочевины и креатинина в плазме измеряли с использованием стандартных диагностических наборов (анализатор BS-240). Животным выполнен (наркоз), включающее интраперитонеальное введение (и/п) препаратов: «Ксилазин» (0,5 мл/кг массы тела) и «Золетил 100» (8мг/кг массы тела), выполнена левосторонняя нефрэктомия [6]. Левую почку разрезали продольно и фиксировали в 10% растворе формалина. Ткани заливали в парафин, делали срезы, окрашивали гематоксилином и эозином, делали микрофотографии, отцифровывали их и оценивали изменения. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом, M ± m (M – среднее, m – ошибка среднего). Данные принимались за статистически значимые при $p<0,05$.

Основные результаты и их обсуждение

Концентрации мочевины в плазме были статистически значимо увеличены в группах 2-3, в сравнении с группой ложнооперированных животных (таб 1.).

Таблица 1 - Показатели мочевины и креатинина в исследуемых группах (M±m)

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.88.1

Показатель плазмы крови	Группа 1. Контроль - ложнооперированные животные (n = 10).	Группа 2. Контроль 1 (n = 10). Ишемиия-реперфузия (наложения лигатуры на сосудистый пучок (артерия, вена)), с последующей реперфузией в течение 60 минут.	Группа 3. Ишемия - реперфузия+мелатонин (n = 10).
Мочевина, (ммоль/л)	1,534±0,178	3,933± 0,228*	3,993± 0,662
Креатинин, (мкмоль/л)	39,78 ± 7,34	49,5 ± 4,51*	45,08 ± 2,33*#

*Примечание: * - статистическая значимость отличия по отношению к группе 1, p<0,05*

 # - статистическая значимость отличия по отношению к группе 2, p<0,05

Показатель мочевина у животных в группе 2 был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля в 1,58 раза, $p<0,05$. Статистически значимых различий по данному показателю в группе 3 не было установлено, вероятно, следует увеличить выборку животных.

Креатинин у животных в группе 2 был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля на 25,64%, $p<0,05$. Креатинин у животных в группе 3 был статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 (контроль 1) на 8,92%, $p<0,05$.

Оценка гистопатологических изменений выявила следующее: в группе 2, у животных происходили изменения канальцев по типу острого канальциевого некроза в более чем 14,45 ± 4,34% от общей площади почки, тотальный некроз канальцев с преобладанием сглаживания эпителия канальцев, тубулярной дилатацией и образованием цилиндров (Рис. 1.). В группе 3, некроз тубулярных клеток, статически значимо был менее выражен и составил 4,52 ± 1,6%, $p<0,05$, от общей площади ишемизированной почки, в группе 3 у животных наряду с дегенеративными изменениями (острый канальциевый некроз также присутствовал, но был менее выражен в % соотношении), в базальной мембране клубочков, отмечены инфильтративные изменения, они были мелкоочаговыми, наблюдались только в корковом веществе почки.

 © Авторы статьи / Authors of the article

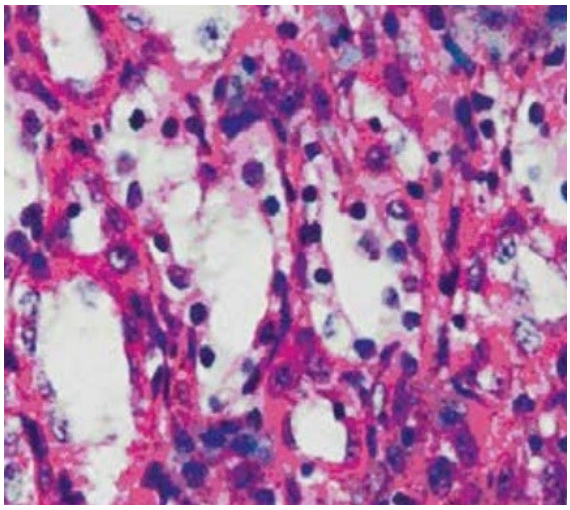

Рисунок 1 - Пример гистологических изменения почечной ткани после 60-минутной ишемии и 60-минутной реперфузии, у животных в группе 2 (набухание эпителиальных клеток разрушение щеточной каемки с конденсацией ядер тубулярного эпителия)

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.88.2

Примечание: метод окраски препарата – гематоксилин-эозин (ув.×200)

Ишемия-реперфузия почек является важной проблемой, особенно при трансплантации почки, частичных нефрэктомиях, хирургической реваскуляризации почечных артерий. В нашем исследовании у животных в группе 2 была значимо снижена функцию почек, о чем свидетельствует увеличение уровня креатинина в сыворотке по сравнению с контрольной группой. Гистопатологические изменения в группе 2 подтвердили нарушение функции почек в результате формирования канальциевого некроза в эпителии. В группе 3 некроз тубулярных клеток и образование цилиндров статистически значимо были менее выражены в сравнении с группой 2.

Заключение

В данном исследовании мы воспроизводили ишемически-реперфузионную модель острого почечного повреждения, и изучали влияние экзогенного мелатонина на функциональные и гистопатологические изменения при И/Р повреждении почек. Нами установлено, что показатель мочевина у животных в группе 2 был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля в 1,58 раза, $p<0,05$. Креатинин у животных в группе 2 был статистически значимо выше в сравнении с группой контроля на 25,64%, $p<0,05$. Креатинин у животных в группе 3 был статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 (контроль 1) на 8,92%, $p<0,05$. Гистопатологические изменения в группе 2 подтвердили нарушение функции почек в результате формирования канальцевого некроза. В группе 3 некроз тубулярных клеток и образование цилиндров статистически значимо были менее выражены в сравнении с группой 2, предварительные результаты исследования свидетельствуют о том, что введение экзогенного мелатонина и/п в дозе 10 мг/кг приводит к уменьшению почечного повреждения в следствии И/Р влияний. Вполне вероятно, что дисбаланс между выработкой АФК и антиоксидантной активностью может привести к повреждению почек во время реперфузии [8], [9], [10]. Можно предположить, что перекисное окисление липидов, как система, генерирующая свободные радикалы, тесно связано с И/Р- индуцированным повреждением тканей, и вполне целесообразным является изучение влияния экзогенного мелатонина на титры малонового диальдегида, супероксиддисмутазы, каталаза и пероксидазы, а также способен ли мелатонин уменьшать острое почечное повреждение во время ишемии-реперфузии посредством его влияния на окислительный ответ при ранней и поздней реперфузии, надеемся, что в следующих исследованиях мы сможем дать ответ на эти вопросы.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Uwai Y. Effect of Renal Ischemia on Urinary Excretion of Lithium in Rats / Y.Uwai, T.Suzuki, R. Kondo [et al.] // Biopharm Drug Dispos. — 2018. — 39(9). — P. 448-451.

2. Quadri S. Prorenin Receptor Mediates Inflammation in Renal Ischemia / S.Quadri, S.Culver, H.M. Siragy // Clin Exp Pharmacol Physiol. — 2018. — 45(2). — p. 133-139.

 © Авторы статьи / Authors of the article

3. Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123): Guidelines for accomodation and care of animals (Article 5 of the Convention) // Council of Europe. — 2006. — URL: https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treatynum=123 (accessed: 27.01.24)

4. Sehirli A.O. Role of Melatonin in Angiotensin and Aging / A.O. Sehirli, S.Sayıner, U. Chukwunyere [et al.] // Molecules. — 2021. — 26(15). — p. 4666.

5. Pinto A.R. Analyses of Melatonin, Cytokines, and Sleep in Chronic Renal Failure / A.R. Pinto, N.C. da Silva, L. Pinato // Sleep Breath. — 2016. — 20(1). — p. 339-344.

6. Nadolnik L.I. Indicators of the Antioxidant System and Lipid Peroxidation in the Kidneys of Rats When Modeling Ischemia and Ischemia/Reperfusion / L.I. Nadolnik, I.N. Katkovskaya, O.V. Titko [et al.] // Oxygen and Free Radicals: Collection materials of the Scientific and Practical Conference with international participation. Grodno. May 26–27, 2022 // Edited by V.V. Zinchuk. — Grodno: Grodno State Medical University. — 2022. — P. 121-124.

7. Alfke K. Renal Ischemia / K. Alfke, O. Jansen // Radiologe. — 2014. — 18. — p. 100-121.

8. Agaty M. El. Pathophysiological and Immunohistochemical Analysis of Pancreas after Renal Ischemia/Reperfusion Injury: Protective Role of Melatonin / M. El. Agaty, S. Ibrahim, A. Ahmed // Arch Physiol Biochem. — 2020. — 126(3). — p. 264-275.

9. Promsan S. The Roles of Melatonin on Kidney Injury in Obese and Diabetic Conditions / S. Promsan, A. Lungkaphin // Biofactors. — 2020. — 46(4). — p. 531-549.

10. Luo N. Melatonin Alleviates Renal Injury in Diabetic Rats by Regulating Autophagy / N. Luo, Y. Wang, Y. Ma [et al.] // Mol Med Rep. — 2023. — 28(5). — p. 214.