

DOI: 10.28996/2618-9801-2021-2-203-212

# Сравнительная оценка эффективности антиокислительного и нефропротекторного действия мелатонина и метилэтилпиридинола гидрохлорида при диабетической нефропатии

С.С. Попов<sup>1</sup>, Е.И. Ануфриева<sup>2</sup>, Е.Д. Крыльский<sup>3</sup>, К.К. Шульгин<sup>3</sup>, А.Н. Веревкин<sup>3</sup>,  
А.Н. Пашков<sup>4</sup>, А.П. Волынкина<sup>5</sup>, Т.Н. Попова<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Кафедра Организации фармацевтического дела, клинической фармации и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10, Российская Федерация
- <sup>2</sup> Кафедра Организации сестринского дела ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10, Российская Федерация
- <sup>3</sup> Кафедра Медицинской биохимии и микробиологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394018, Воронеж, Университетская пл., 1, Российская Федерация
- <sup>4</sup> Кафедра Биологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10, Российская Федерация
- <sup>5</sup> Кафедра Госпитальной терапии и эндокринологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10, Российская Федерация

## Comparative assessment of the antioxidant and nephroprotective effects of melatonin and methylethylpyridinol hydrochloride in diabetic nephropathy

S.S. Popov<sup>1</sup>, E.I. Anufrieva<sup>2</sup>, E.D. Kryl'sky<sup>3</sup>, K.K. Shulgin<sup>3</sup>, A.N. Verevkin<sup>3</sup>, A.N. Pashkov<sup>4</sup>,  
A.P. Volynkina<sup>5</sup>, T.N. Popova<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Department of the Organization of Pharmaceutical Business, Clinical Pharmacy and Pharmacognosy, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, 10 Studecheskaya st., Voronezh, 394036, Russian Federation
- <sup>2</sup> Department of Nursing Organization, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 10 Studecheskaya st., Voronezh, 394036, Russian Federation
- <sup>3</sup> Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Voronezh State University, 1 Universitetskaya sq., Voronezh, 394018, Russian Federation
- <sup>4</sup> Department of Biology, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 10 Studecheskaya st., Voronezh, 394036, Russian Federation
- <sup>5</sup> Department of Hospital Therapy and Endocrinology, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 10 Studecheskaya st., Voronezh, 394036, Russian Federation

**Ключевые слова:** диабетическая нефропатия, мелатонин, метилэтилпиридинол, окислительный стресс, супероксиддисмутаза, каталаза

Адрес для переписки: Евгений Дмитриевич Крыльский  
e-mail: evgenij.krylsky@yandex.ru

Corresponding author: Dr. Evgenii Dm. Kryl'sky  
e-mail: evgenij.krylsky@yandex.ru

### *Резюме*

**Цель:** одним из наиболее часто встречаемых осложнений сахарного диабета является диабетическая нефропатия (ДН), центральное место в патогенезе которой занимает окислительный стресс, опосредованный хронической гипергликемией. Несмотря на существующие методы лечения, для больных ДН характерен высокий риск развития терминальной почечной недостаточности. В связи с этим, нами была проведена сравнительная оценка терапевтической эффективности комбинированного лечения с мелатонином и метилэтилпиридином гидрохлоридом, обладающих антиоксидательным потенциалом.

**Методы:** в исследовании принимало участие 90 человек с ДН, развивающейся на фоне сахарного диабета 2 типа. Больные были разделены на 3 группы, численностью по 30 человек каждая. Первая группа пациентов находилась на базисном лечении; вторая группа участников дополнительно к базисной терапии получала 2 мг мелатонина; третья группа пациентов дополнительно к базисной терапии получала 10 мг метилэтилпиридинола гидрохлорида. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови. В ходе работы был осуществлен анализ клинико-биохимических показателей развития патологии, параметров биоchemiluminescences (БХЛ) и активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы у больных ДН, получавших базисное лечение и комбинированную терапию с исследуемыми препаратами.

**Результаты:** результаты исследования показали, что уровень гликемии, концентрация креатинина и постпрандиальная концентрация глюкозы достоверно снижались во всех трех группах пациентов. При этом, комбинированная терапия с мелатонином и метилэтилпиридином гидрохлоридом оказывала более существенное воздействие на активность СОД по сравнению с только базисным лечением. Кроме того, добавление в схему лечения мелатонина приводило к более значимому снижению уровня гликемии и протеинурии, а также изменению параметров БХЛ и активности каталазы в направлении показателей группы здоровых людей.

**Заключение:** полученные результаты, по-видимому, связаны с высокой биологической активностью мелатонина, обладающего регуляторной активностью по отношению к углеводному обмену и функционированию антиоксидантной системы.

### *Abstract*

**Goal:** one of the most common complications of diabetes mellitus is diabetic nephropathy (DN). The central role in the pathogenesis of this complication plays the oxidative stress mediated by chronic hyperglycemia. Despite the existing methods of treatment, DN patients are characterized by a high risk of developing end-stage renal failure. In this regard, we carried out a comparative assessment of the therapeutic efficacy of combined treatment with melatonin and methylethylpyridinol hydrochloride that has antioxidant potential.

**Methods:** the study involved 90 people with DN developing on the background of type 2 diabetes mellitus. The patients were divided into 3 groups of 30 people. The first group of patients was on basic treatment; the second group of the participants received 2 mg of melatonin in addition to the basic therapy; the third group of patients, in addition to the basic therapy, received 10 mg of methylethylpyridinol hydrochloride. The control group consisted of 65 healthy individuals with normal indicators of general and biochemical blood tests. In the course of the work, the analysis of clinical and biochemical indicators of the pathology development, parameters of biochemiluminescence (BCL), and the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase in DN patients of all three groups was carried out.

**Results:** the results of the study showed that the level of glycaemia, concentration of creatinine and postprandial glucose were significantly decreased in all three groups of patients. The combined therapy with melatonin and methylethylpyridinol hydrochloride had a more significant effect on the SOD activity as compared with the basic treatment. In addition, the addition of melatonin to the treatment regimen led to a more significant decrease in the level of glycaemia and proteinuria, as well as a change in BCL parameters and catalase activity in the direction of their values in the control group.

**Conclusion:** our results are probably associated with the high biological activity of melatonin, which has a regulatory activity in relation to carbohydrate metabolism and the functioning of the antioxidant system.

**Key words:** *diabetic nephropathy, melatonin, methylethylpyridinol, oxidative stress, superoxide dismutase, catalase*

## Введение

Диабетическая нефропатия (ДН) является одной из наиболее распространенных причин хронической болезни почек и выступает основной причиной терминальной почечной недостаточности, что обусловлено ростом заболеваемости сахарным диабетом 2 типа [1]. Развитие и прогрессирование ДН опосредуют различные факторы, среди которых наиболее значимыми являются гипергликемия, артериальная гипертензия, ожирение [2]. Гипергликемия выступает главной движущей силой разрушения почечных клубочков. Хронически повышенный уровень глюкозы в крови приводит к образованию конечных продуктов гликирования (AGE) и вызывает клубочковую гипертрофию. Гипергликемия вместе с гемодинамическими изменениями в клубочках, помимо этого, обуславливает возникновение механических повреждений клеток с последующим высвобождением в кровяное русло цитокинов и ростовых факторов [3]. Данные изменения приводят к чрезмерной генерации активных форм кислорода (АФК), главными источниками которых выступает дыхательная цепь митохондрий, ксантиноксидаза, NADPH-оксидаза и NO-синтаза [2]. Кроме того, высокая концентрация AGE при сахарном диабете способствует экспрессии в почках рецепторов к ним (RAGE), что усиливает генерацию АФК и активирует NADPH-оксидазу, синтазу оксида азота и циклооксигеназу (COX) [4].

Экспериментально установлено, что развитие окислительного стресса в почках при сахарном диабете обуславливают метаболические и гемодинамические нарушения. Нефрон является инсулинонезависимой структурой, и поток глюкозы в клетки регулируется её концентрацией в крови и экспрессией переносчиков глюкозы (GLUT1). В клетках гипергликемия опосредует увеличение уровня АФК, что приводит к усилению образования оксида азота и последующему расширению клубочковых артериол. Кроме того, гипергликемия активирует систему «ренин-ангиотензин-альдостерон», приводя к избыточной продукции ангиотензина II и повышению клубочкового капиллярного давления. Данные изменения, помимо повреждения клубочков, способствуют активации GLUT1 в мезангиальных клетках, что приводит к увеличению утилизации глюкозы и вторичному повреждению клеток [5]. Окислительный стресс влияет также на передачу сигналов трансформирующего фактора роста  $\beta$ , вызывая клубочковую и канальцевую гипертрофию. Данные изменения характеризуются накоплением мезангиальных клеток, что способствует отложению внеклеточного матрикса, утолщению базальных мембран канальцев и клубочков, дисфункции подоцитов и индукции апоптоза [3].

Патогенному действию АФК противостоит антиоксидантная система (АОС), к ферментам первой линии защиты которой относят супероксиддис-

мутазу (СОД, КФ 1.15.1.1) и каталазу (КФ 1.11.1.6). СОД катализирует превращение супероксидного анионрадикала ( $O_2^{\cdot -}$ ) с образованием пероксида водорода ( $H_2O_2$ ) и кислорода. Каталаза осуществляет разложение пероксида водорода до воды, что препятствует образованию из  $H_2O_2$  гидроксильного радикала в реакции Фентона. Таким образом, данные ферменты отвечают за эффективную элиминацию первичных АФК и играют важнейшую роль в защите клеток от эндогенных свободных радикалов, способных давать начало более реакционноспособным формам [6].

В настоящее время ведущие направления терапии больных сахарным диабетом с поражением почек включают снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний, коррекцию гликемии, контроль артериального давления и ингибирование ренин-ангиотензиновой системы. Рекомендованным стандартом в лечении ДН являются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина вследствие их установленного эффекта в замедлении прогрессирующего снижения почечной функции. Тем не менее, риск терминальной почечной недостаточности у пациентов с ДН остается высоким, в связи с чем актуальным представляется поиск новых методов лечения, которые обеспечивали бы дополнительную защиту почек в сочетании со стандартной терапией [7]. Альтернативным подходом к фармакотерапии ДН и других осложнений СД может являться использование производных 3-оксипиридина, в частности метилэтилпиридинола гидрохлорида. В экспериментальных работах показана его потенцирующая активность в отношении инсулина, способность повышать толерантность к нагрузке глюкозой, нейропротекторное и антигипоксическое действие при острых цереброваскулярных патологиях [8]. Интерес представляют также мелатонин-корректирующие препараты, для которых показана способность снижать уровень оксидативного стресса при различных патологических состояниях у экспериментальных животных [9, 10]. Мелатонин известен как мощный антиоксидант, кроме того, данный гормон действует повсеместно, проникая через биологические мембраны [11].

Таким образом, целью настоящей работы стал сравнительный анализ эффективности воздействия комбинированной терапии с мелатонином и метилэтилпиридинолом гидрохлоридом на клинико-биохимические показатели, параметры биолюминесценции (БХЛ), активность СОД и каталазы у пациентов с ДН.

## Материалы и методы

Клиническое исследование проводилось в эндокринологических отделениях БУЗ ВО «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» и БУЗ ВО «Воронеж-

ская городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 10». В исследовании принимали участие 90 человек с ДН, развивающейся на фоне сахарного диабета 2 типа, из них 43 мужчины (47,8%) и 47 женщин (52,2%). Все пациенты, поступившие в стационар, были с декомпенсированным сахарным диабетом 2 типа и нуждались в коррекции терапии. Возраст больных составлял от 38 до 81 года: средний возраст –  $65,6 \pm 9,3$  года. Средняя длительность сахарного диабета составила  $8,5 \pm 2,1$  лет. Диагноз сахарного диабета 2 типа и ДН установлены согласно клиническим рекомендациям, при уровне суточной протеинурии более  $0,03$  г/сут. Из сопутствующих заболеваний чаще всего регистрировались следующие: артериальная гипертензия (100%), диабетическая ретинопатия (100%), ожирение (69%), хроническая сердечная недостаточность (66%). Критериями исключения из исследования явились: сахарный диабет 1 типа, вирусные гепатиты, острые инфекционные заболевания, острый инфаркт миокарда, злокачественные новообразования, острое нарушение мозгового кровообращения. Больные были разделены на 3 группы. Первая группа пациентов (30 человек) находилась на базисном лечении: сахароснижающие препараты (бигуаниды, препараты сульфониламочевины, ингибиторы дипептидилпептидазы-4), гипотензивные препараты (АПФ-блокаторы,  $\beta$ -адреноблокаторы), гиполипидемические препараты (статины). Вторая группа пациентов (30 человек) дополнительно к базисной терапии получала 2 мг мелатонина внутрь – по 1 таблетке 1 раз в день, после приема пищи, вечером, за 1-2 ч перед сном, в течение 14 дней. Третья группа пациентов (30 человек) дополнительно к базисной терапии получала 10 мг метилэтилпиридинола гидрохлорида – препарата, улучшающего микроциркуляцию и обладающего ангиопротекторным и антиоксидантным эффектом, внутримышечно по 2 мл раствора, утром 1 раз в сутки, в течение 14 дней. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови. В ходе клинического исследования использовали сыворотку крови больных, находившихся на лечении в стационаре. Кровь для исследования забирали из локтевой вены в пробирки типа “вакутейнер” – в утреннее время, натощак. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании. Было получено одобрение этического комитета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», выписка из протокола №4 от 29.09.2016 г.

Уровень глюкозы натощак и постпрандиальный уровень глюкозы оценивали с помощью глюкометра “Сателлит Плюс” (“ЭЛТА”, Россия). Определение суточной протеинурии проводили методом Брандберга-Робертса-Стольникова.

Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) определяли по формуле СКД-ЕРІ ([www.nkdep.nih.gov](http://www.nkdep.nih.gov)).

Концентрацию мочевины и креатинина анализировали с помощью диагностических наборов фирмы Ольвекс (Россия).

В качестве маркера уровня мелатонина у пациентов анализировали содержание мелатонинсульфата в моче методом иммуноферментного анализа с помощью набора фирмы Buhlmann (Германия).

Для определения интенсивности свободнорадикальных процессов и общей антиоксидантной активности применяли метод индуцированной пероксидом водорода с сульфатом железа БХЛ с помощью биохемилуминометра БХЛ-07 (Россия) с программным обеспечением [12]. Кинетическую кривую БХЛ регистрировали в течение 30 с и определяли следующие параметры: светосумму хемилуминесценции (S), интенсивность вспышки (Imax), характеризующие интенсивность свободнорадикального окисления, и величину тангенса угла наклона кривой ( $\text{tg}\alpha$ ), отражающую общую антиоксидантную активность.

Активность СОД определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата (ФМС) и НАДН при длине волны 540 нм [13]. Среда спектрофотометрирования включала следующие компоненты: 0,1 М фосфатный буфер (рН 7,8), 0,33 мМ ЭДТА, 0,41 мМ НСТ (Alfa Aesar, Великобритания), 0,01 мМ ФМС (AppliChem, Германия), 0,8 мМ НАДН (AppliChem, Германия). Активность каталазы определяли при длине волны 410 нм с использованием следующих реактивов: буферно-субстратная смесь, содержащая 10 мл трис-НСI-буфера (рН 7,4) и 30 мл 0,08% пероксида водорода; 4,5% раствор аммония молибденовокислого [14].

Статистическая обработка материала включала использование стандартных методов вариационной статистики (расчет средних значений, стандартной ошибки среднего, стандартного отклонения, t-критерия Стьюдента) и непараметрического теста Манна-Уитни с использованием программы “SPSS 23.0”. Для сравнения степени изменения показателей ( $\Delta$ ) рассчитывали разницу между показателями после и до лечения. Значения  $\Delta$  трех групп были проанализированы с использованием одностороннего ANOVA с помощью специального теста Тьюки. Для выявления корреляционных взаимосвязей между  $\Delta$  изучаемых показателей использовали коэффициент ранговой корреляции Пирсона. В настоящей работе приводятся значения средней (0,30-0,69) и сильной (>0,70) степени корреляции. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Клинико-биохимические показатели участников исследования представлены в таблице 1. Как показали результаты работы, уровень гликемии и постпрандиальная концентрация глюкозы достоверно снижались во всех трех группах пациентов. Однако

Таблица 1 | Table 1

**Клинико-биохимические показатели в сыворотке крови и концентрация мелатонинсульфата в моче у больных диабетической нефропатией, получавших базисную терапию (первая группа), комбинированное лечение с мелатонином (вторая группа) и комбинированное лечение с метилэтилпиридином гидрохлоридом (третья группа)**

**Clinical and biochemical parameters in blood serum and concentration of melatonin sulfate in urine in diabetic nephropathy patients who received basic therapy (first group), combined treatment with melatonin (second group) and combined treatment with methylethylpyridinol hydrochloride (third group)**

Показатель	1 группа			2 группа			3 группа		
	До лечения	После лечения	<i>p</i>	До лечения	После лечения	<i>p</i>	До лечения	После лечения	<i>p</i>
Концентрация глюкозы натощак, ммоль/л	10,5±3,1	7,7±2,1	<0,001	10,9±2,2	7,0±2,5*	<0,001	10,2±2,0	6,7±2,1	<0,001
Постпрандиальная концентрация глюкозы, ммоль/л	12,1±4,1	8,9±2,6	0,001	10,9±3,5	7,8±2,2	<0,001	10,5±3,6	7,1±1,5	<0,001
Уровень суточной протеинурии, г/сут	0,54±0,45	0,26±0,30	<0,001	0,78±0,65	0,29±0,29*	<0,001	0,63±0,66	0,28±0,43	<0,001
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	52,0±21,26	59,87±23,75	0,072	52,37±29,55	61,33±32,13	0,159	54,5±20,8	66,1±20,3	0,186
Концентрация мочевины, ммоль/л	6,7±1,8	5,8±1,4	0,052	9,4±3,0	7,6±2,4	0,043	8,5±3,5	6,9±2,1	0,061
Концентрация креатинина, мкмоль/л	113,1±22,0	101,3±17,45	0,021	111,7±28,9	98,2±20,1	0,024	116,9±24,6	106,3±39,3	0,043
Концентрация мелатонинсульфата в моче, нг/мл	7,1±0,6	7,5±0,5	0,326	7,1±0,6	8,8±0,7*	0,041	7,1±0,6	8,5±0,7*	0,043

Примечание: данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение; \* – достоверность отличий в изменении показателей в ходе лечения от соответствующих значений первой группы,  $p < 0,05$ .

Note: data are presented as mean ± standard deviation; \* – reliability of differences in changes in indicators during treatment from the corresponding values of the first group,  $p < 0,05$ .

комбинированная терапия с мелатонином оказывала более значимое ( $p=0,019$ , по сравнению с базисным лечением) понижающее воздействие на концентрацию глюкозы натощак у больных ДН. Кроме того, лечение с применением мелатонина способствовало достоверному уменьшению уровня суточной протеинурии ( $p=0,010$ , по сравнению с базисным лечением), а также, в отличие от терапии, получаемой участниками первой и третьей групп, достоверно уменьшало концентрацию мочевины в сыворотке крови ( $p=0,043$ ). Концентрация креатинина при этом значимо снижалась в ходе лечения у больных всех групп.

Результаты исследования показали, что развитие патологии у больных ДН было сопряжено с индукцией окислительного стресса, о чем свидетельствовали показатели БХЛ. Так, значения  $I_{\text{max}}$  и  $S$  были достоверно увеличены до лечения у участников всех групп по сравнению с показателями здоровых добровольцев. В то же время,  $\text{tg}\alpha 2$ , отражающий общий антиоксидантный потенциал, у больных до лечения был снижен (рис. 1). Кроме того, на фоне развития окислительного стресса у больных наблюдались разнонаправленные сдвиги активности СОД и каталазы по сравнению с группой здоровых людей (рис. 2). Проведение лечения во всех трех группах пациентов приводило к снижению показателей  $I_{\text{max}}$  и  $S$ , а также увеличению значения  $\text{tg}\alpha 2$  ( $p < 0,05$ , рис. 1). При этом, достоверно наиболее значимое воздействие на параметры БХЛ оказывала комбинированная терапия

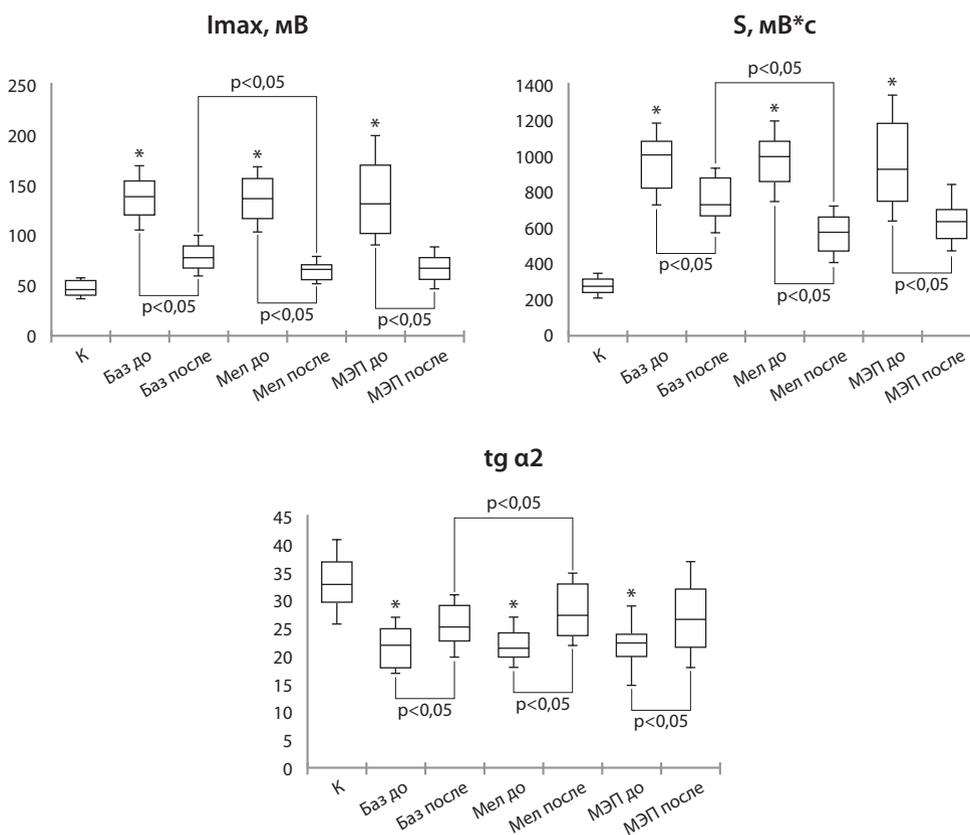
с мелатонином ( $p < 0,05$ ). Во всех группах пациентов в ходе лечения происходило также значимое изменение активности СОД и каталазы, которая приближалась к показателям у здоровых добровольцев ( $p < 0,001$ , рис. 2). При этом, комбинированная терапия как с мелатонином, так и метилэтилпиридином гидрохлоридом оказывала более значимое потенцирующее воздействие на активность СОД, представленную в Е/мл и Е/мг белка, по сравнению со стандартным лечением. В то же время, достоверно более существенное воздействие на активность каталазы оказывала только терапия с мелатонином.

Для оценки взаимосвязи окислительного стресса и степени развития патологии в условиях проводимого лечения был проведен корреляционный анализ  $\Delta$  клинико-биохимических показателей и параметров окислительного статуса у участников исследования (табл. 2). Для пациентов второй группы была характерна отрицательная корреляция между  $\Delta$  концентрации глюкозы натощак и  $\Delta$  активности СОД ( $p=0,003$ ), а для участников третьей группы – положительная взаимосвязь между  $\Delta$  постпрандиальной концентрации глюкозы и  $\Delta$  активности каталазы ( $p=0,027$ ), а также отрицательная корреляция  $\Delta$  концентрации креатинина с  $\Delta$  активности СОД ( $p=0,026$ ). В то же время, в первой группе больных наблюдалась положительная корреляция  $\Delta$  постпрандиальной концентрации глюкозы с  $\Delta$  активности СОД ( $p=0,038$ ).

**Корреляция между изменениями ( $\Delta$ ) исследуемых показателей в ходе лечения в группах участников**  
**Correlation between changes ( $\Delta$ ) of the studied parameters during treatment in groups of participants**

Участники первой группы	
$\Delta$ постпрандиальной концентрации глюкозы	$\Delta$ активности СОД $r=0,381$ $p=0,038$
Участники второй группы	
$\Delta$ концентрации глюкозы натощак	$\Delta$ активности СОД $r=-0,589$ $p=0,003$
Участники третьей группы	
$\Delta$ постпрандиальной концентрации глюкозы	$\Delta$ активности каталазы $r=0,507$ $p=0,027$
$\Delta$ концентрации креатинина	$\Delta$ активности СОД $r=-0,592$ $p=0,026$

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза Note: SOD – superoxide dismutase

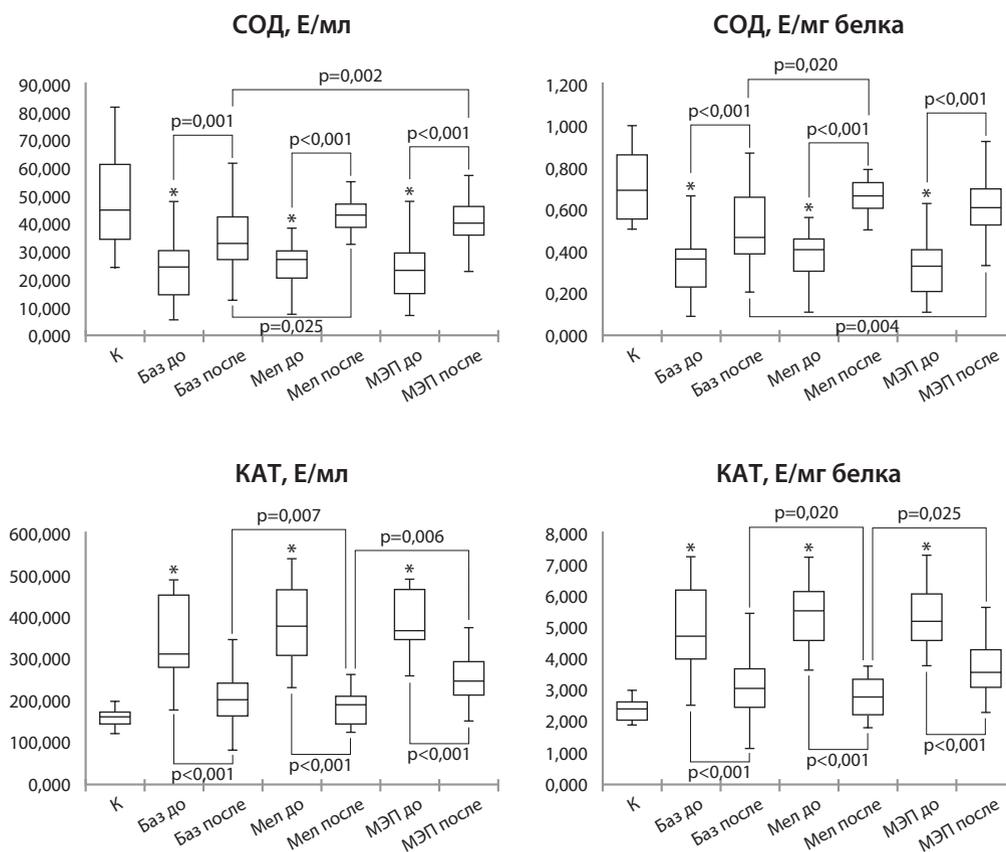


**Рис. 1.** Воздействие мелатонина и метилэтилпиридинола гидрохлорида на показатели биоchemiluminesценции в сыворотке крови пациентов. Параметры биоchemiluminesценции  $I_{max}$  (максимальная вспышка), S (светосумма) и  $tg\ \alpha_2$  (тангенс угла наклона касательной к кривой биоchemiluminesценции) в сыворотке крови участников контрольной группы (К), больных диабетической нефропатией, получавших базисную терапию (Баз до и Баз после), комбинированное лечение с мелатонином (Мел до и Мел после) и комбинированное лечение с метилэтилпиридинолом гидрохлоридом (МЭП до и МЭП после).

Примечание: \* – достоверность отличий показателей от контрольной группы,  $p < 0,05$ .

**Fig. 1.** The effect of melatonin and methylethylpyridinol hydrochloride on biochemiluminescence parameters in the blood serum of patients. Biochemiluminescence parameters  $I_{max}$  (maximum flash), S (light sum) and  $tg\ \alpha_2$  (tangent of the slope of the tangent to the biochemiluminescence curve) in the blood serum of participants in the control group (C), patients with diabetic nephropathy, receiving basic therapy (Bas before and Bas after), combined treatment with melatonin (Mel before and Mel after) and combined treatment with methylethylpyridinol hydrochloride (MEP before and MEP after).

Note: \* – reliability of differences between indicators from the control group,  $p < 0.05$ .



**Рис. 2.** Воздействие мелатонина и метилэтилпиридинола гидрохлорида на активность супероксиддисмутазы и каталазы в сыворотке крови пациентов. Активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в сыворотке крови участников контрольной группы (К), больных диабетической нефропатией, получавших базисную терапию (Баз до и Баз после), комбинированное лечение с мелатонином (Мел до и Мел после) и комбинированное лечение с метилэтилпиридинолом гидрохлоридом (МЭП до и МЭП после).  
Примечание: \* – достоверность отличий показателей от контрольной группы,  $p < 0,05$ .

**Fig. 2.** The effect of melatonin and methylethylpyridinol hydrochloride on the activity of superoxide dismutase and catalase in the blood serum of patients. The activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in the blood serum of participants in the control group (C), patients with diabetic nephropathy, who received basic therapy (Bas before and Bas after), combined treatment with melatonin (Mel before and Mel after) and combined treatment with methylethylpyridinol hydrochloride (MEP before and MEP after).  
Note: \* – reliability of differences between indicators from the control group,  $p < 0.05$ .

## Обсуждение

Настоящее исследование было посвящено анализу эффективности комбинированной терапии с мелатонином и метилэтилпиридинола гидрохлоридом по сравнению с базисным лечением при диабетической нефропатии. Как было показано в ходе работы, добавление в схему терапии тестируемых препаратов способствовало более существенному приближению клинико-биохимических показателей развития патологии и параметров оксидативного статуса к соответствующим показателям у здоровых добровольцев.

Исходя из полученных нами данных, большинство клинико-биохимических показателей достоверно изменялось во всех группах пациентов, однако наиболее значимые сдвиги наблюдались у больных, получавших комбинированную терапию с мелатонином. Более выраженный эффект

комбинированного лечения с мелатонином может быть обусловлен гипогликемическим и нефропротекторным действием данного гормона. Анализ содержания мелатонинсульфата в моче пациентов показал, что в ходе терапии во второй и третьей группе происходило повышение уровня данного гормона ( $p < 0,05$ , табл. 1). Мелатонинсульфат является основным продуктом превращения мелатонина в организме человека, его концентрация в моче служит объективным показателем содержания мелатонина. В условиях чрезмерной генерации АФК мелатонин может активно функционировать в качестве сквенджера свободных радикалов, превращаясь в различные продукты: 3-гидроксимелатонин, N[1]-ацетил-N[2]-формил-5-метоксикинумарин и другие [15]. Повышение содержания мелатонина в организме участников второй и третьей группы, по-видимому, было сопряжено с благоприятным влиянием комбинированной терапии, обеспечивающей позитив-

ные изменения состояния оксидативного статуса пациентов. Мелатонин обладает также противовоспалительным и антиапоптотическим потенциалом, что позволяет ему смягчать патологические процессы в тканях, вызванные гипергликемией. Данный гормон способен усиливать секрецию инсулина, повышать к нему чувствительность тканей, тормозить глюконеогенез в печени [16]. Известно, что в условиях гипергликемии развивается митохондриальная дисфункция в проксимальных канальцах почек, что обусловлено возрастанием реабсорбции глюкозы и последующим увеличением интенсивности гликолиза и окислительного фосфорилирования, приводящего к усилению окислительного стресса [17]. В то же время, в эксперименте на животных для мелатонина была показана способность позитивно воздействовать на функционирование и структуру митохондрий, а также снижать количество апоптотических клеток в проксимальных канальцах нефрона [18]. В свою очередь, метилэтилпиридинол гидрохлорид снижает интенсивность ПОД и активирует антиоксидантную систему организма, а также обладает гипогликемическим эффектом при экспериментальном сахарном диабете [8].

Роль окислительного стресса в развитии осложнений диабета, включая ДН, является общепризнанной, о чем свидетельствуют результаты оценки концентрации продуктов свободнорадикального окисления, таких как 4-гидроксиноненаля и малонового диальдегида [3]. Угнетение функционирования компонентов АОС является существенным фактором развития диабета. Так, в эксперименте на животных была установлена отрицательная взаимосвязь между интенсивностью пероксидного окисления липидов и активностью СОД [19]. Полученные нами данные об интенсивности свободнорадикального окисления и активности СОД у участников исследования согласуются с имеющимися представлениями о состоянии оксидативного статуса при диабете. Кроме того, результаты настоящей работы продемонстрировали повышенную активность каталазы у пациентов до лечения, что может быть результатом компенсаторного ответа АОС на чрезмерную генерацию АФК. Каталаза считается основным почечным антиоксидантом, а её дефицит ускоряет повреждение почек при диабете вследствие пероксисомной дисфункции [20]. Показанные нами более существенные изменения параметров БХЛ и активности антиоксидантных ферментов у пациентов, получавших комбинированную терапию с мелатонином и метилэтилпиридинолом гидрохлоридом, связаны, очевидно, с антиоксидантной активностью тестируемых средств. Так, было показано, что метилэтилпиридинол способен ингибировать пероксидное окисление липидов и активировать АОС [21]. Наряду с этим, метилэтилпиридинол может оказывать позитивное воздействие на энергетический метаболизм клеток путем увеличения биодоступности сукцината [21]. Данное

средство, помимо прочего, используется в качестве антиоксиданта и ангиопротектора при диабетической ретинопатии [21]. Мелатонин, по-видимому, обладает большей антиоксидантной активностью, которая заключается в его способности тормозить свободнорадикальное окисление посредством нескольких механизмов, включая прямое взаимодействие с АФК, оксидом азота и пероксинитритом. Данный гормон также регулирует уровень эндогенных антиоксидантов в клетке [22]. Необходимо отметить, что помимо прямого взаимодействия со свободными радикалами, мелатонин может оказывать антиоксидантное действие через свои рецепторы, МТ1 и МТ2. Кроме того, в отличие от классических антиоксидантов, мелатонин является так называемым терминальным антиоксидантом: он не способствует протеканию окислительных реакций, а его метаболиты также могут действовать как антиоксиданты-«сканвенджер», не приобретая окислительных свойств [23]. Известно также, что мелатонин улучшает митохондриальное дыхание и усиливает синтез АТФ в физиологических и патологических условиях. Следовательно, благодаря наличию антиоксидантной активности, данный гормон способен защищать белки электрон-транспортной цепи и митохондриальную ДНК от окислительного повреждения, вызванного свободными радикалами [24].

Для пациентов второй группы была характерна отрицательная корреляция между степенью снижения концентрации глюкозы натощак и повышения активности СОД, а для участников третьей группы – положительная взаимосвязь между степенью понижения постпрандиальной концентрации глюкозы и уменьшения активности каталазы, а также отрицательная корреляция степени падения концентрации креатинина с возрастанием активности СОД. Полученные данные демонстрируют, что у участников второй и третьей группы уменьшение показателей развития патологии согласуется с приближением активности антиоксидантных ферментов к значениям у здоровых добровольцев. Эти результаты подтверждают эффективность комбинированной терапии с мелатонином и метилэтилпиридинолом гидрохлоридом в отношении смягчения окислительного стресса и дисбаланса в функционировании АОС при ДН. В то же время, в первой группе больных наблюдалась положительная корреляция  $\Delta$  постпрандиальной концентрации глюкозы с  $\Delta$  активности СОД, одной из причин которой может быть недостаточное потенцирующее воздействие стандартного лечения на активность СОД по сравнению с комбинированной терапией с мелатонином и метилэтилпиридинолом гидрохлоридом.

## Заключение

Проведенный сравнительный анализ эффективности комбинированной терапии с мелатонином

и метилэтилпиридином гидроклоридом показал, что добавление исследуемых соединений в схему терапии оказывало более значимый позитивный эффект на гликемический профиль, параметры БХЛ и активность СОД у больных ДН по сравнению с базисным лечением. Комбинированная терапия с мелатонином способствовала наиболее существенному изменению активности каталазы и уровня протенинури, которые приближались к показателям у здоровых доноров. Полученные результаты могут быть обусловлены высокой биологической активностью мелатонина, обладающего гипогликемическими, антиоксидантными свойствами и способностью регулировать функционирование АОС.

**Никто из авторов не имеет конфликтов интересов**

*The authors declare no conflict of interests*

### Список литературы

1. Tesch G.H. Diabetic nephropathy – is this an immune disorder? Clin Sci (Lond). 2017; 131(16): 2183-2199. DOI: 10.1042/CS20160636.
2. Sifuentes-Franco S., Padilla-Tejeda D.E., Carrillo-Ibarra S., et al. Oxidative Stress, Apoptosis, and Mitochondrial Function in Diabetic Nephropathy. International Journal of Endocrinology. 2018; 2018(2): 1-13. DOI: 10.1155/2018/1875870.
3. Miranda-Díaz A.G., Pazurín-Villaseñor L., Yanomsky-Escatell F.G., et al. Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. J Diabetes Res. 2016; 2016: 7047238. DOI: 10.1155/2016/7047238.
4. Sanajou D., Haghjo A.G., Argani H., et al. AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: Current status and future directions. Eur J Pharmacol. 2018; 833: 158-164. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.06.001.
5. Sagoo M.K., Gnudi L. Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? Free Radic Biol Med. 2018; 116: 50-63. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.040.
6. Mesquita A., Weinberger M., Silva A., et al. Caloric restriction or catalase inactivation extends yeast chronological lifespan by inducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide dismutase activity. PNAS. 2010; 107(34): 15123-15128. DOI: 10.1073/pnas.1004432107.
7. Voelker J., Berg P.H., Sheetz M., et al. Anti-TGF-β1 Antibody Therapy in Patients with Diabetic Nephropathy. JASN. 2017; 28(3): 953-962. DOI: 10.1681/ASN.2015111230.
8. Волчегорский И.А., Мирошниченко И.Ю., Рассохина Л.М. и соавт. Анксиолитическое и антидепрессивное действие эмоксипина, реамберина и мексидола при экспериментальном сахарном диабете. Журнал неврологии и психиатрии. 2017; 5: 52-57. DOI: 10.17116/jnevro20171175152-57.
9. Volchegorskii I.A., Miroshnichenko I.Yu., Rassokhina L.M. et al. Anxiolytic and antidepressant effects of emoxipine, reamberin and mexidol in experimental diabetes mellitus. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. 2017; 2017(5): 52-57. DOI: 10.17116/jnevro20171175152-57.
10. Горбенко М.В., Попова Т.Н., Шульгин К.К., и соавт. Оценка степени фрагментации ДНК, активности аконитгидратазы и уровня цитрата при сахарном диабете 2 типа у крыс и введении мелатонина. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2012; 20(3): 21-26. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2012321-26.
11. Agarkov A.A., Popova T.N., Matasova L.V., et al. Assessment of DNA fragmentation, aconitate hydratase activity, and citrate levels in type 2 diabetes mellitus in rats under melatonin administration. Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova. 2012; 20(3): 21-26. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2012321-26.
12. Горбенко М.В., Попова Т.Н., Шульгин К.К., и соавт. Влияние мелаксена и вальдоксана на активность глутатионовой антиоксидантной системы и НАДФН-генерирующих ферментов в сердце крыс при экспериментальном гипертензиозе. 2013; 76(10): 12-15. DOI: 10.30906/0869-2092-2013-76-10-12-15.
13. Gorbenko M.V., Popova T.N., Shulgin K.K., et al. Activity and catalytic properties of glutathione peroxidase in toxic liver damage. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2013; 76(10): 12-15. DOI: 10.30906/0869-2092-2013-76-10-12-15.
14. Попов С.С., Пашков А.Н., Золоедов В.И., и соавт. Применение мелатонина в комбинированной терапии при лечении лекарственного гепатита. Клиническая медицина. 2013; 91(3): 50-53.
15. Popov S.S., Pashkov A.N., Zolodov V.I., et al. The use of melatonin in combined therapy of drug-induced hepatitis. Klinicheskaya medicina. 2013; 91(3): 50-53.
16. Piskarev I.M., Trofimova S.V., Ivanova I.P., et al. Investigation of the level of free-radical processes in substrates and biological samples using induced chemiluminescence. Biophysics. 2015; 60: 400-408. DOI: 10.1134/S0006350915030148.
17. Nishikimi M., Rao N.A. Yagi, K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen. Biochem. Biophys. Res. Co. 1972; 46(2): 849-864. DOI: 10.1016/s0006-291x(72)80218-3.
18. Góth, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta. 1991; 196(2-3): 143-151. DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-m.
19. Zhao D., Yu Y., Shen Y, et al. Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants. Front Endocrinol. 2019; 10: 249. DOI: 10.3389/fendo.2019.00249.
20. Meng X., Li Y., Li S., et al. Dietary Sources and Bioactivities of Melatonin. Nutrients. 2017; 9(4): E367. DOI: 10.3390/nu9040367.
21. Lindblom R., Higgins G., Coughlan M., et al. Targeting Mitochondria and Reactive Oxygen Species-Driven Pathogenesis in Diabetic Nephropathy. Rev Diabet Stud. 2015; 12(1-2): 134-156. DOI: 10.1900/RDS.2015.12.134.
22. Stacchiotti A., Favero G., Giugno L., et al. Mitochondrial and metabolic dysfunction in renal convoluted tubules of obese mice: Protective role of melatonin. PLoS One. 2014; 9(10): e111141. DOI: 10.1371/journal.pone.0111141.
23. Giribabu N., Rao P.V. Kumar K.P., et al. Aqueous Extract of Phyllanthus niruri Leaves Displays In Vitro Antioxidant Activity and Prevents the Elevation of Oxidative Stress in the Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 2014: 834815. DOI: 10.1155/2014/834815.

10.1155/2014/834815.

20. *Xie R., Zhang H., Wang X-Z., et al.* The protective effect of betulinic acid (BA) diabetic nephropathy on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Food Funct.* 2017; 8(1): 299-306. DOI: 10.1039/c6fo01601d.

21. *Peresypkina A., Pazhinsky A., Pokrovskii M., et al.* Correction of Experimental Retinal Ischemia by l-Isomer of Ethylmethylhydroxypyridine Malate. *Antioxidants (Basel)*. 2019; 8(2): E34. DOI: 10.3390/antiox8020034.

22. *Loves D.A., Webster N.R., Murphy M.P., et al.* Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *Br J Anaesth.* 2013; 110(3): 472-480. DOI: 10.1093/bja/aes577.

23. *Fernando S., Rombauts L.* Melatonin: shedding light on infertility? – A review of the recent literature. *J Ovarian Res.* 2014; 7: 98. DOI: 10.1186/s13048-014-0098-y.

24. *Korkmaz A., Reiter R.J., Topal T., et al.* Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials. *Mol Med.* 2009; 15(1-2): 43-50. DOI: 10.2119/molmed.2008.00117.

Дата получения статьи: 04.12.2020

Дата принятия к печати: 16.03.2021

Submitted: 04.12.2020

Accepted: 16.03.2021