

Попов С.С.¹, Ануфриева Е.И.¹, Крыльский Е.Д.², Шульгин К.К.², Веревкин А.Н.²,
Пашков А.Н.¹, Болотских В.И.¹, Волюнкина А.П.¹

ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕРАПИИ С МЕЛАТОНИНОМ НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-го ТИПА

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, 394036, Воронеж, Россия

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, 394018, Россия

Хроническая болезнь почек (ХБП) — основная причина развития терминальной почечной недостаточности и является осложнением сахарного диабета (СД), ключевую роль в патогенезе которого играет окислительный стресс. В связи с этим представляется целесообразным использование в терапии ХБП препаратов с антиоксидантной активностью. **Цель работы.** Оценить воздействие комбинированной терапии с мелатонином на клинко-биохимические показатели развития патологии, концентрацию пигментного эпителиального фактора (PEDF) и оксидативный статус пациентов с ХБП, развивающейся при СД 2-го типа. **Материал и методы.** В исследовании принимали участие 60 человек с ХБП, развивающейся на фоне СД 2-го типа. Больные были разделены на 2 группы численностью 30 человек каждая. 1-я группа пациентов находилась на базисном лечении; 2-я группа участников дополнительно к базисной терапии получала 2 мг мелатонина. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови. В ходе работы был осуществлен анализ клинко-биохимических показателей развития патологии, уровня PEDF методом иммуноферментного анализа, активности свободнорадикального окисления методом железиндуцированной биохимилуминесценции (БХЛ) и концентрации восстановленного глутатиона (GSH) у участников исследования. **Результаты.** Применение мелатонина на фоне базисного лечения способствовало более существенному снижению интенсивности свободнорадикального окисления и уровня PEDF, а также возрастанию содержания GSH и общей антиоксидантной активности у больных ХБП. Наблюдаемые изменения сопровождались сдвигами показателей протеинурии, гликемии и концентрации мочевины в направлении показателей группы здоровых добровольцев. **Заключение.** Полученные результаты были, по-видимому, обусловлены более существенным снижением уровня окислительного стресса у пациентов, дополнительно получавших мелатонин, для которого характерно наличие антиоксидантной активности. Улучшение оксидативного статуса у пациентов второй группы при этом отражалось на степени изменений клинко-биохимических показателей развития патологии.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек; сахарный диабет 2-го типа; пигментный эпителиальный фактор; окислительный стресс; оксидативный статус; мелатонин.

Для цитирования: Попов С.С., Ануфриева Е.И., Крыльский Е.Д., Шульгин К.К., Веревкин А.Н., Пашков А.Н., Болотских В.И., Волюнкина А.П. Воздействие терапии с мелатонином на показатели оксидативного статуса при хронической болезни почек при сахарном диабете 2-го типа. *Клиническая медицина*. 2021;99(2):121–127.
DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2021-99-2-121-127>

Для корреспонденции: Евгений Дмитриевич Крыльский — канд. биол. наук; e-mail: evgenij.krylsky@yandex.ru

Информация об авторах

Попов С.С. (Popov S.S.), <http://orcid.org/0000-0002-4438-9201>
Крыльский Е.Д. (Krylskiy E.D.), <http://orcid.org/0000-0002-8855-5515>
Шульгин К.К. (Shulgin K.K.), <http://orcid.org/0000-0001-9234-8124>
Веревкин А.Н. (Verevkin A.N.), <http://orcid.org/0000-0002-7412-9988>
Пашков А.Н. (Pashkov A.N.), <http://orcid.org/0000-0003-2454-0397>

Popov S.S.¹, Anufrieva E.I.¹, Krylskiy E.D.², Shulgin K.K.², Verevkin A.N.², Pashkov A.N.¹,
Bolotskikh V.I.¹, Volynkina A.P.¹

THE EFFECT OF COMBINED MELATONIN THERAPY ON INDICATORS OF OXIDATIVE STATUS IN CHRONIC KIDNEY DISEASE DEVELOPING IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS

¹Voronezh State Medical University named after Burdenko N.N., 394036, Voronezh, Russia

²Voronezh State University, 394018, Voronezh, Russia

Chronic kidney disease (CKD) is the main cause of end-stage renal failure and is a complication of diabetes mellitus (DM). Oxidative stress plays the key role in its pathogenesis. In this regard, the use of drugs with antioxidant effect in DN therapy seems to be reasonable. **Objective.** In the course of this work, the effect of combination melatonin therapy on the biochemical parameters of the pathology development, concentration of pigment epithelial factor (PEDF) and the oxidative status of patients with CKD developing in type II diabetes was assessed. **Material and methods.** The study involved 60 people with CKD developing in type II diabetes. The patients were divided into 2 groups; each group included 30 people. The first group of patients underwent basic treatment; the second group of participants was given 2 mg of melatonin in addition to the basic therapy. The control group consisted of 65 apparently healthy individuals with normal indicators of general and biochemical blood tests. In the course of the work, the analysis of biochemical indicators of the pathology development, level of PEDF by enzyme immunoassay, the activity of free radical oxidation by the method of iron-induced bioluminescence (BCL) and the concentration of reduced glutathione (GSH) in the study participants was carried out. **Results.** The addition of melatonin to basic treatment led to a more significant decrease in the intensity of free radical-induced oxidation and the level of PEDF, as well as an increase in the GSH content and general antioxidant effect in patients with CKD. The observed changes were accompanied by shifts in the indicators of proteinuria, hyperglycemia and urea concentration close to the ones detected in

healthy volunteers group. **Conclusion.** The results obtained were, apparently, due to a more significant decrease in the level of oxidative stress in patients who additionally received melatonin, which is characterized by the presence of antioxidant activity. An improvement in the oxidative status in patients of the second group was linked with the degree of changes in the clinical and biochemical parameters of pathology.

Key words: chronic kidney disease; type II diabetes mellitus; pigment epithelial factor; oxidative stress; oxidative status; melatonin.

For citation: Popov S.S., Anufrieva E.I., Krylskiy E.D., Shulgin K.K., Verevkin A.N., Pashkov A.N., Bolotskikh V.I., Volynkina A.P. The effect of combined melatonin therapy on indicators of oxidative status in chronic kidney disease developing in type 2 diabetes mellitus. *Klinicheskaya meditsina*. 2021;99(2):121–127. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2021-99-2-121-127>

For correspondence: Evgenii D. Krylskiy — MD, PhD., Voronezh State University; evgenij.krylsky@yandex.ru

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Recived 13.12.2020

Известно, что структурные изменения в почках при хронической болезни почек (ХБП), уменьшение скорости клубочковой фильтрации и уремия могут быть вызваны чрезмерной выработкой свободных радикалов и снижением активности антиоксидантной защиты организма [1].

Хроническая гипергликемия способствует активации окислительного стресса, секреции цитокинов, включая трансформирующий фактор роста β -1, вызывает нарушения системы ренин-ангиотензин-альдостерон и приводит к формированию конечных продуктов позднего гликирования, что в совокупности ведет к повреждению почечных канальцев и подоцитов, апоптозу, отложению внеклеточного матрикса и альбуминурии [2]. Избыточное гликирование биосубстратов и активация свободнорадикального окисления (СО) в условиях хронической гипергликемии не только оказывают прямое повреждающее действие на молекулярные и клеточные структуры, ткани и органы, но и посредством активации транскрипционного фактора NF- κ B вызывают тромбогенную трансформацию сосудистой стенки, нарушение секреции инсулина, а также появление генетических мутаций и ускорение апоптоза [3]. Защиту от окислительного стресса обеспечивает антиоксидантная система организма. Ее центральным неферментативным звеном является трипептид глутатион (GSH), концентрация которого может выступать показателем редокс-состояния тканей [4].

Пигментный эпителиальный фактор (PEDF) представляет собой многофункциональный гликопротеин суперсемейства ингибиторов сериновых протеаз, который распространен во многих органах и тканях, таких как почки, глаза, печень, легкие и жировая ткань. PEDF участвует в различных биологических процессах, включая ангиогенез, обновление стволовых клеток, нейрогенез, а также обладает ретинопротекторной, нейропротекторной, противовоспалительной и антифиброзной активностью. Имеются сведения, что у пациентов с СД 2-го типа увеличен уровень циркулирующего PEDF [5]. Повышенный уровень PEDF в плазме может способствовать усугублению инсулинорезистентности, что способствует прогрессированию нефропатии. Кроме того, возрастание PEDF в плазме крови является предиктором ухудшения почечной функции и развития микроальбуминурии/протеинурии у пациентов с СД 2-го типа [6].

В настоящее время клиническое ведение ХБП включает в себя контроль артериального давления и гликемии, а также методы лечения, направленные на снижение альбуминурии. Тем не менее подобные стратегии только замедляют прогрессирование патологии до терминальной стадии заболевания почек [2]. В связи с этим целесообразным представляется разработка новых способов комбинированной терапии развивающейся при СД 2-го типа ХБП с нефропротективным действием, направленной на подавление одного из основных факторов развития осложнений — окислительного стресса. Показано, что для снижения степени выраженности оксидативного стресса, сопровождающего патологические состояния у экспериментальных животных, могут быть использованы препараты, корригирующие уровень мелатонина в организме [7, 8]. Мелатонин связывает свободные радикалы, одновременно индуцируя естественную систему антиоксидантной защиты организма. Обладая собственным антиоксидантным потенциалом, мелатонин действует повсеместно, проникая через биологические мембраны [9]. В ходе работы мы использовали лекарственный препарат циркадин, содержащий в своем составе синтетический аналог гормона мелатонина.

Целью настоящей работы явилась оценка интенсивности СО биомолекул, содержания GSH и PEDF у больных ХБП, развивающейся на фоне СД 2-го типа, при проведении базисного лечения и комбинированной терапии с мелатонином.

Материал и методы

Клиническое исследование проводилось в эндокринологических отделениях БУЗ ВО «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» и БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №10». В исследование были включены 60 человек с ХБП, развивающейся на фоне СД 2-го типа. Из них 19 (48,3%) мужчин и 41 (51,7%) женщина. Возраст больных составлял от 38 до 81 года: средний возраст — $65,6 \pm 9,3$ года. Диагноз ХБП установлен согласно клиническим рекомендациям при скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее $60 \text{ мл/мин/1,73 м}^2$, уровне суточной протеинурии более $0,03 \text{ г/сут}$. Из сопутствующих заболеваний чаще всего регистрировались артериальная гипертензия

(100%), диабетическая ретинопатия (100%), ожирение (69%), хроническая сердечная недостаточность (66%). Критериями исключения из исследования явились: СД 1-го типа, вирусные гепатиты, острые инфекционные заболевания, острый инфаркт миокарда, злокачественные новообразования, острое нарушение мозгового кровообращения. Клиническое исследование было рандомизированным неслепым (открытым) контролируемым. Пациенты были рандомизированы с использованием простой фиксированной рандомизации. 1-я группа пациентов (30 человек) получала базисное лечение: ограничение натрия до 2,3 г/сут (поваренной соли до 5 г/сут), гипотензивные препараты (АПФ-блокаторы, β -адреноблокаторы), сахароснижающие препараты (бигуаниды, препараты сульфонилмочевины, ингибиторы дипептидилпептидазы-4), гиполипидемические препараты (статины). 2-я группа пациентов (30 человек) дополнительно к аналогичной базисной терапии получала циркадин, содержащий 2 мг мелатонина (Circadin, RAD Neurim Pharmaceuticals EEC Ltd., Великобритания) внутрь, по 1 таблетке 1 раз в день после приема пищи, вечером за 1–2 ч перед сном. Продолжительность терапии с мелатонином составляла 2 нед. Показатели анализировались при поступлении пациентов в стационар

и перед выпиской, после 2 нед. лечения. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц в возрасте от 21 до 52 лет с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови, которые проходили плановые обследования в БУЗ ВО «Воронежская городская поликлиника № 10». В ходе клинического исследования использовали сыворотку крови больных, находившихся на лечении в стационаре. Кровь для исследования забирали в пробирки типа «вакутейнер» в утреннее время натощак из локтевой вены.

СКФ определяли по формуле CKD-EPI (<https://www.niddk.nih.gov/health-information/community-health-outreach/information-clearinghouses/nkdep?dkrd=lgdmw0002>).

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

Уровень глюкозы натощак и постпрандиальный уровень глюкозы оценивали с помощью глюкометра «Сателлит Плюс» («ЭЛТА», Россия). Определение суточной протеинурии проводили методом Брандберга–Робертса–Стольниковца.

Расчет показателей гликированного гемоглобина производили референсным методом с использованием анализатора D 10 фирмы Bio-Rad (США).

Таблица 1

Клинико-лабораторная характеристика пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в начале исследования

Показатель	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	p_1
Пол м/ж	30/35	8/22	11/19	0,414
Возраст, годы	42,3 $\pm$ 3,2	64,1 $\pm$ 7,9	69,0 $\pm$ 10,5	0,243
Средняя длительность сахарного диабета	–	9,1 $\pm$ 4,4	10,2 $\pm$ 5,1	0,551
Вес	83 $\pm$ 5,2	97 $\pm$ 5,1	92 $\pm$ 4,8	0,564
ИМТ	26,1 $\pm$ 0,9	31,6 $\pm$ 1,1	30,4 $\pm$ 1,0	0,488
Среднее систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	114 $\pm$ 4,3	139,7 $\pm$ 5,8	142,2 $\pm$ 6,3	0,541
Среднее диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	71,1 $\pm$ 8,0	78,2 $\pm$ 8,2	79,1 $\pm$ 8,5	0,326
Стадии ХБП	–			0,334
С2, n (%)		3 (10)	3 (10)	
С3а, n (%)		20 (67)	22 (73)	
С3б, n (%)		7 (23)	5 (17)	
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	101,9 $\pm$ 19,7	52,0 $\pm$ 21,26*	52,37 $\pm$ 29,55*	0,866
Концентрация креатинина, мкм	88,73 $\pm$ 14,8	113,37 $\pm$ 22,03*	111,70 $\pm$ 28,93*	0,767
Концентрация мочевины, мМ	5,45 $\pm$ 1,21	6,69 $\pm$ 1,81*	9,40 $\pm$ 3,01*	0,274
Уровень суточной протеинурии, г/сут	0,03 $\pm$ 0,006	0,540 $\pm$ 0,448*	0,781 $\pm$ 0,645*	0,117
Уровень гликированного гемоглобина, %	5,23 $\pm$ 0,78	8,03 $\pm$ 1,88*	8,34 $\pm$ 1,92*	0,312
Концентрация глюкозы натощак, мМ	4,80 $\pm$ 0,80	10,54 $\pm$ 3,10*	10,94 $\pm$ 2,18*	0,290
Постпрандиальная концентрация глюкозы, мМ	5,60 $\pm$ 0,90	12,06 $\pm$ 4,10*	10,87 $\pm$ 3,49*	0,232
Уровень PEDF, нг/мл	9,01 $\pm$ 2,11	17,00 $\pm$ 4,70*	18,04 $\pm$ 4,25*	0,376
Концентрация мелатонин сульфата в моче, нг/мл	8,9 $\pm$ 0,81	7,1 $\pm$ 0,60*	7,1 $\pm$ 0,60*	0,893
Концентрация глутатиона, мМ	0,87 $\pm$ 0,13	0,51 $\pm$ 0,20*	0,51 $\pm$ 0,14*	0,779
Imax, мВ	47,1 $\pm$ 6,8	136,4 $\pm$ 18,3*	134,5 $\pm$ 20,6*	0,353
S, мВ $\times$ с	279,8 $\pm$ 39,8	970,8 $\pm$ 154,9*	977,1 $\pm$ 131,3*	0,221
tga2	33,0 $\pm$ 3,8	21,7 $\pm$ 3,6*	21,2 $\pm$ 2,9*	0,877

Примечание: * — отличия от контрольной группы достоверны, $p < 0,05$; p_1 — достоверность отличий между 1-й и 2-й группами пациентов.

Содержание мелатонин сульфата в моче пациентов измеряли 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 биохемилюминесценции (БХЛ) с помощью биохемилюминометра БХЛ-07 (Россия) с программным обеспечением. Кинетическую кривую БХЛ регистрировали в течение 30 с и определяли следующие параметры: светосумму хемилюминесценции (S), интенсивность вспышки (Imax), характеризующие интенсивность СО, и величину тангенса угла наклона кривой ($\text{tg}\alpha 2$), отражающую общую антиоксидантную активность.

Концентрацию GSH определяли с помощью реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой (Sigma Aldrich, США) [10].

Уровень PEDF в сыворотке крови измеряли иммуноферментным методом с использованием набора фирмы MerckMillipore (США).

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 SPSS23.0. Достоверными считали различия при $p < 0,05$ [11].

Результаты

Исходные характеристики участников исследования представлены в табл. 1.

Результаты работы показали, что комбинированная терапия с мелатонином способствует более существенному снижению интенсивности процессов СО у больных по сравнению со стандартным лечением. Так, применение исследуемого препарата способствовало уменьшению показателей БХЛ Imax и S ($p < 0,05$). В то же время параметр $\text{tg}\alpha 2$, отражающий общий антиоксидантный потенциал, увеличивался у пациентов, принимавших мелатонин, относительно данных до лечения ($p < 0,05$) (рис. 1). При этом изменения показателей БХЛ, наблюдаемые после проведения стандартной терапии, были менее выраженными ($p < 0,05$).

Комбинированное лечение с мелатонином способствовало увеличению у больных ХБП уровня GSH ($p < 0,001$), в то время как в первой группе данный показатель достоверно не изменялся (рис. 2).

Данные об изменении клинко-биохимических показателей и уровня PEDF в ходе лечения представлены в табл. 2. У пациентов, дополнительно получавших мелатонин, в отличие от участников 1-й группы достоверно уменьшалось содержание PEDF ($p < 0,001$) в сыворотке крови. Уровень суточной протеинурии после лечения снижался в обеих группах, однако комбинированная терапия с мелатонином оказывала достоверно более эффективное воздействие на уровень протеинурии ($p = 0,010$) и концентрацию мочевины ($p = 0,043$). Кроме

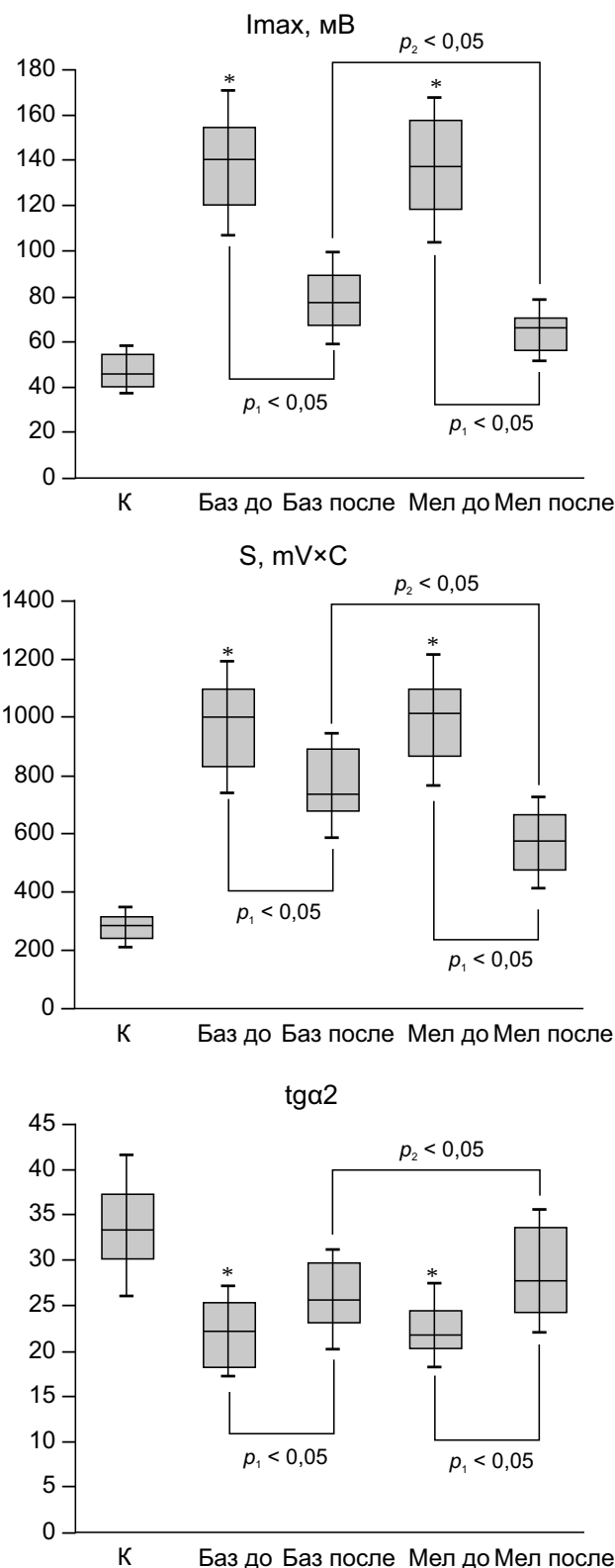


Рис. 1. Показатели биохемилюминесценции Imax, S и $\text{tg}\alpha 2$ у людей контрольной группы (К), больных, получающих базисную терапию (Баз после), на фоне показателей до лечения (Баз до), а также пациентов, получающих комбинированную терапию с мелатонином (Мел после), на фоне показателей до лечения (Мел до):

* — отличия от контрольной группы достоверны, $p < 0,05$; p_1 — уровень значимости отличий между показателями до и после лечения в группах; p_2 — уровень значимости отличий между произошедшими в ходе лечения изменениями показателей у 2-й группы по сравнению с 1-й группой

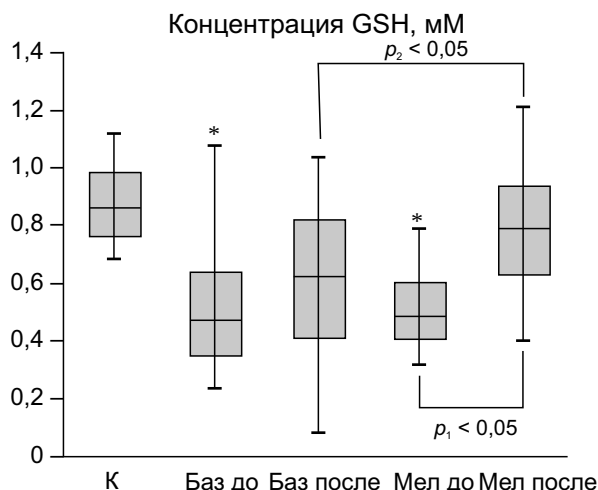


Рис. 2. Концентрация восстановленного глутатиона (GSH) у людей контрольной группы (К), больных, получающих базисную терапию (Баз после), на фоне показателей до лечения (Баз до), а также пациентов, получающих комбинированную терапию с мелатонином (Мел после), на фоне показателей до лечения (Мел до):

* — отличия от контрольной группы достоверны, $p < 0,05$; p_1 — уровень значимости отличий между показателями до и после лечения в группах; p_2 — уровень значимости отличий между произошедшими в ходе лечения изменениями показателей у 2-й группы по сравнению с 1-й группой

того, у пациентов 2-й группы наблюдалась более выраженная тенденция к возрастанию скорости клубочковой фильтрации ($p = 0,034$). Комбинированное лечение с мелатонином способствовало также уменьшению уровня глюкозы натощак, постпрандиальной гипергликемии ($p < 0,001$) и уровня гликированного гемоглобина ($p = 0,010$) относительно показателей до лечения. В то же время на фоне стандартной терапии концентрация глюкозы натощак и степень гликирования гемоглобина уменьшались менее выражено по сравнению с комбинированным лечением ($p = 0,019$ и $p = 0,045$ соответственно). Концентрация креатинина в сыворотке крови достоверно снижалась у участников обеих групп. Ана-

лиз содержания мелатонин сульфата в моче показал, что у пациентов второй группы в ходе терапии происходило повышение уровня данного гормона относительно показателей до лечения ($p = 0,043$).

Обсуждение

В ходе настоящей работы была проведена оценка антиокислительного потенциала и терапевтической эффективности мелатонина при ХБП. Было показано, что добавление к базисному лечению мелатонина способствовало уменьшению уровня PEDF и улучшению оксидативного статуса у больных, что подтверждалось повышением концентрации GSH и изменением показателей БХЛ в сторону контрольных значений. Кроме того, снижение уровня окислительного стресса под воздействием исследуемого препарата способствовало более существенным позитивным сдвигам показателей гликемии, протеинурии и СКФ.

Как известно, хроническая гипергликемия приводит к образованию необратимых продуктов гликозилирования липидов и белков, в том числе к гликированию гемоглобина, о чем свидетельствуют данные пациентов с ХБП. Гликозилирование биомолекул опосредует развитие окислительного стресса, способствующего ускорению процессов пролиферации клеток и еще более выраженному развитию ХБП [12]. Известно также, что у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа отмечается повышение экскретируемого с мочой 8-гидроксидезоксигуанозина, маркера окислительного повреждения ДНК, что положительно коррелирует со степенью тубулоинтерстициального повреждения почек. Кроме того, дополнительный маркер повреждения ДНК, 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин, коррелировал с прогрессированием заболевания у больных диабетом 2-го типа в течение 5-летнего периода наблюдения [13]. В свою очередь, положительные изменения показателей интенсивности СО, наблюдаемые при приеме мелатонина, были, очевидно, связаны с проявлением им антиоксидантной

Таблица 2

Изменение в ходе лечения клиничко-биохимических показателей, уровня PEDF в сыворотке крови и концентрация мелатонин сульфата в моче у пациентов с ХБП, получавших базовое лечение (1-я группа), и больных, получавших комбинированную терапию с мелатонином (2-я группа)

Показатель	1-я группа	p_1	2-я группа	p_1	p_2
Δ скорости клубочковой фильтрации, мл/мин	$7,87 \pm 6,43$	0,072	$8,97 \pm 6,19$	0,159	0,034
Δ концентрации креатинина, мкмМ	$-12,03 \pm 9,84$	0,021	$-13,47 \pm 9,13$	0,024	0,254
Δ концентрации мочевины, мМ	$-1,06 \pm 0,61$	0,052	$-1,8 \pm 1,93$	0,043	0,301
Δ уровня суточной протеинурии, г/сут	$-0,281 \pm 0,283$	$< 0,001$	$-0,491 \pm 0,417$	$< 0,001$	0,010
Δ концентрации глюкозы натощак, мМ	$-2,83 \pm 2,41$	$< 0,001$	$-3,98 \pm 2,14$	$< 0,001$	0,019
Δ постпрандиальной концентрации глюкозы, мМ	$-3,13 \pm 3,90$	0,002	$-3,06 \pm 3,09$	$< 0,001$	0,939
Δ уровня гликированного гемоглобина, %	$-1,33 \pm 1,28^*$	0,020	$-2,30 \pm 1,41$	0,010	0,045
Δ уровня PEDF, нг/мл	$-1,37 \pm 6,52$	0,314	$-7,11 \pm 4,13$	$< 0,001$	$< 0,001$
Δ концентрации мелатонин сульфата в моче, нг/мл	$0,4 \pm 0,54$	0,326	$1,7 \pm 0,66$	0,041	0,025

Примечание: p_1 — уровень значимости изменений показателей, произошедших в ходе лечения, в группах; p_2 — уровень значимости различий изменения показателей у 2-й группы по сравнению с 1-й группой.

активности, которая заключается в способности как непосредственно обезвреживать свободные радикалы, так и поддерживать функционирование ферментативных и пул неферментативных антиоксидантов [14].

В сыворотке крови людей, поступивших в стационар, наблюдалась увеличенная концентрация PEDF по сравнению с участниками контрольной группы. Предполагается, что повышенный уровень PEDF в кровотоке может представлять собой компенсаторный системный ответ на снижение экспрессии PEDF в пораженных тканях и органах [15]. Действительно, как было показано, уровень экспрессии PEDF снижался в почках крыс со стрептозоциновым диабетом [16], тогда как в сыворотке крови больных СД его уровень повышался [17]. Имеются данные, что PEDF оптимизирует функцию митохондрий в условиях окислительного стресса в клетках пигментного эпителия сетчатки, а его защитные эффекты специфически связаны с активацией PI3K/Akt и модуляцией функции разобщающего митохондриального белка 2 [18]. Существуют и другие исследования, подтверждающие антиоксидантную и протекторную роль PEDF [19–21]. В то же время повышенный уровень PEDF в плазме может способствовать усугублению инсулинорезистентности, что способствует прогрессированию нефропатии. Кроме того, возрастание PEDF в плазме крови является предиктором ухудшения почечной функции и развития микроальбуминурии/протеинурии у пациентов с СД 2-го типа [22]. По всей видимости, у исследуемых нами участников второй группы комбинированное лечение с мелатонином обеспечивало более существенное смягчение проявлений хронической гипергликемии, уменьшение степени повреждения тканей в ходе СО и, как следствие, торможение компенсаторного увеличения содержания PEDF в сыворотке крови. Полученные нами результаты согласуются с данными об изменении уровня этого фактора у экспериментальных животных в условиях реализации мелатонином антиокислительно-го действия [23].

Улучшение состояния оксидативного статуса у участников второй группы сопровождалось изменением клинико-биохимических показателей развития патологии. Окислительный стресс играет одну из центральных ролей в патогенезе ХБП на фоне СД 2-го типа, вызывая повреждение почечных канальцев в результате нарушения функционирования митохондрий при гипергликемии [12, 13]. По-видимому, снижение уровня окислительного стресса у пациентов, получавших дополнительно мелатонин, могло в некоторой степени оказывать позитивное воздействие на уровень гликемии и протеинурии.

Таким образом, использование комбинированной терапии с мелатонином по сравнению с базисным лечением способствовало более выраженному снижению интенсивности СО, уровня PEDF и повышению концентрации GSH, что могло вносить определенный вклад в изменение клинико-биохимических показателей развития ХБП в направлении контрольных значений.

Данное исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, небольшая продолжительность лечения в ста-

ционаре и ограниченная выборка пациентов не позволяет говорить о прямой взаимосвязи эффектов мелатонина с уровнем гликемии и функции почек у участников исследования. Во-вторых, выборка участников исследования не была отобрана заранее и не может считаться репрезентативной, т.е. экстраполируемость результатов исследования ограничена. Более того, в будущем требуется поиск новых методов лечения, которые могут более эффективно регулировать состояние оксидативного статуса и клинические показатели, в частности СКФ.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что комбинированная терапия с мелатонином по сравнению с базисным лечением обеспечивает более существенный антиокислительный эффект, что выражается в снижении показателей БХЛ (S и Imax) в сыворотке крови пациентов. Помимо этого, мелатонин способствует более значимому возрастанию общей антиоксидантной активности, содержания GSH и снижению уровня PEDF у больных ХБП. Наблюдаемые различия в эффективности анализируемых терапевтических подходов по отношению к показателям гликемии и протеинурии у пациентов могли быть обусловлены улучшением оксидативного статуса больных, получавших мелатонин. Таким образом, представляется целесообразным применение препаратов мелатонина в терапии ХБП, развивающейся при СД 2-го типа.

Соблюдение прав человека

Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании. Было получено одобрение об утверждении проведения клинических исследований Этического комитета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», выписка из протокола №4 от 29.09.2016 г. Исследования были выполнены в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Webster A.C., Nagler E.V., Morton R.L., Masson O. Chronic Kidney Disease. *The Lancet*. 2017;389(10075):25–31. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32064-5
2. Huang C., Zhang L., Shi Y., Yi H., Zhao Y., Chen J., Pollock C.A., Chen X.M. The KCa3.1 blocker TRAM34 reverses renal damage in a mouse model of established diabetic nephropathy. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192800. DOI: 10.1371/journal.pone.0192800
3. Горина Е.И., Попова Т.Н., Шульгин К.К., Попов С.С., Панченко Л.Ф., Сафонова О.А. Воздействие бигуанидиновых производных на развитие оксидативного стресса при гипергликемии у крыс. *Биомедицинская химия*. 2018;64(3):261–267. [Gorina E.I., Popova T.N., Shul'gin K.K., Popov S.S., Panchenko L.F., Safonova O.A. The effect of biguanide derivatives on oxidative stress in rats with hyperglycemia. *Biomedicinskaya himiya*. 2018;64(3):261–267. (in Russian)]. DOI 10.18097/PBMC20186403261
4. Calabrese V., Cornelius C., Leso V., Trovato-Salinaro A., Ventimiglia B., Cavallaro M. et al. Oxidative stress, glutathione status,

- sirtuin and cellular stress response in type 2 diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease*. 2012; 1822(5):729–736. DOI: 10.1016/j.bbadis.2011.12.003
5. Cheung C.Y.Y., Lee C.H., Tang C.S., Xu A., Au K.W., Fong C.H.Y., et al. Genetic regulation of Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF): An exome-chip association analysis in Chinese subjects with Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2019;68(1):198–206. DOI: 10.2337/db18-0500
6. Hui E., Yeung C.Y., Lee P.C., Woo Y.C., Fong C.H., Chow W.S., Xu A., Lam K.S. Elevated circulating pigment epithelium-derived factor predicts the progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014;99(11):E2169–2177. DOI: 10.1210/jc.2014-2235
7. Агарков А.А., Попова Т.Н., Матасова Л.В., Попов С.С., Искусных И.Ю., Склярова Е.И. Оценка степени фрагментации ДНК, активности аконитатгидратазы 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. [Agarkov A.A., Popova T.N., Matasova L.V., Popov S.S., Iskusnykh I.Y., Sklyarova E.I. Estimation of DNA fragmentation, aconitase activity and citrate level under type 2 diabetes at rat and introduction of melatonin. *Rossiiskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova*. 2012;20(3):21–26. (in Russian)]. DOI: 10.17816/PAV-LOVJ2012321-26
8. Горбенко М.В., Попова Т.Н., Шульгин К.К., Попов С.С. Влияние мелаксена и вальдоксана на активность глутатионовой антиоксидантной системы и НАДФН-генерирующих ферментов в сердце крыс при экспериментальном гипертиреозе. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013;76(10):12–15. [Gorbenko M.V., Popova T.N., Shulgin K.K., Popov S.S. Effects of melaxen and valdoxan on the activity of glutathione antioxidant system and NADPH-producing enzymes in rat heart under experimental hyperthyroidism conditions. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2013;76(10):12–15. (in Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2013-76-10-12-15
9. Попов С.С., Пашков А.Н., Золоедов В.И., Шведов Г.И. Применение мелатонина в комбинированной терапии при лечении лекарственного гепатита. *Клиническая медицина*. 2013;91(3):50–53. [Popov S.S., Pashkov A.N., Zolodov V.I., Shvedov G.I. The use of melatonin in combination therapy in the treatment of drug hepatitis. *Klinicheskaya medicina*. 2013;91(3):50–53. (in Russian)]
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959;82(1):70–77. DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6
11. Артюхов В.Г., Калаева В.А., Холявка М.Г. Поиск, систематизация, обработка и анализ информации в биофизических и биологических исследованиях. Воронеж: Издательский дом ВГУ. 2018:125. [Artyuhov V.G., Kalaeva V.A., Holyavka M.G. Search, systematization, processing and analysis of information in biophysical and biological research. Voronezh: Izdatel'skiy dom VGU. 2018:125. (in Russian)]
12. Har R., Scholey J.W., Daneman D., Mahmud F.H., Dekker R., Lai V. et al. The effect of renal hyperfiltration on urinary inflammatory cytokines/chemokines in patients with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2013;56(5):1166–1173. DOI: 10.1007/s00125-013-2857-5
13. Galvan D.L., Green N.H., Danesh F.R. The hallmarks of mitochondrial dysfunction in chronic kidney disease. *Kidney International*. 2017;92(5):1051–1057. DOI: 10.1016/j.kint.2017.05.034.
14. Tan D.X., Manchester L.C., Esteban-Zubero E., Zhou Z., Reiter R.J. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. *Molecules*. 2015;20(10):18886–18906. DOI: 10.3390/molecules20101888
15. He X., Cheng R., Benyajati S., Ma J.X. PEDF and its roles in physiological and pathological conditions: implication in diabetic and hypoxia-induced angiogenic diseases. *Clin. Sci. (Lond)*. 2015;128(11):805–823. DOI: 10.1042/CS20130463
16. Ishibashi Y., Matsui T., Taira J., Higashimoto Y., Yamagishi S. Protective role of PEDF-derived synthetic peptide against experimental diabetic nephropathy. *Horm. Metab. Res.* 2016;48(9):613–619. DOI: 10.1055/s-0042-108448
17. Rubin A., Salzberg A.C., Imamura Y., Grivtishvili A., Tombran-Tink J. Identification of novel targets of diabetic nephropathy and PEDF peptide treatment using RNA-seq. *BMC Genomics*. 2016;17(1):936. DOI: 10.1186/s12864-016-3199-8
18. He Y., Leung K.W., Ren Y., Pei J., Ge J., Tombran-Tink J. PEDF improves mitochondrial function in RPE cells during oxidative stress. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014;55:6742–6755. DOI: 10.1167/iovs.14-14696
19. Yamagishi S., Nakamura K., Ueda S., Kato S., Imaizumi T. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) blocks angiotensin II signaling in endothelial cells via suppression of NADPH oxidase: a novel anti-oxidative mechanism of PEDF. *Cell. Tissue Res.* 2005;320(3):437–445. DOI: 10.1007/s00441-005-1094-8
20. Yoshida T., Akiba J., Matsui T., Nakamura K., Hisamoto T., Abe M. et al. Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) prevents hepatic fat storage, inflammation, and fibrosis in dietary steatohepatitis of mice. *Dig. Dis. Sci.* 2017;62(6):1527–1536. DOI: 10.1007/s10620-017-4550-x
21. Li X.H., Wang H.P., Tan J., Wu Y.D., Yang M., Mao C.Z. et al. Loss of pigment epithelium-derived factor leads to ovarian oxidative damage accompanied by diminished ovarian reserve in mice. *Life Sciences*. 2019;216:129–139. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.11.015
22. Hui E., Yeung C.Y., Lee P.C., Woo Y.C., Fong C.H., Chow W.S., Xu A., Lam K.S. Elevated circulating pigment epithelium-derived factor predicts the progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014;99(11):E2169–2177. DOI: 10.1210/jc.2014-2235
23. Ozdemir G., Ergün Y., Bakariş S., Kılınc M., Durdu H., Ganiyusufoğlu E. Melatonin prevents retinal oxidative stress and vascular changes in diabetic rats. *Eye (Lond)*. 2014;28(8):1020–1027. DOI: 10.1038/eye.2014.127