

На правах рукописи

СИМАНЕНКОВА
Анна Владимировна

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЛИРАГЛУТИДОМ
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.02 – эндокринология
14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Шляхто Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Власов Тимур Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Халимов Юрий Шавкатович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра и клиника военно-полевой терапии, начальник

Чурилов Леонид Павлович – кандидат медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра патологии, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 20___ г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.054.03 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2, www.almazovcentre.ru).

Автореферат разослан «___» _____ 20___ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 208.054.03,
кандидат медицинских наук

Леонова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Сахарный диабет (СД) 2 типа остается одной из ведущих проблем здравоохранения. Особую медико-социальную проблему представляют осложнения СД 2 типа, среди которых ишемический инсульт и хроническое нарушение мозгового кровообращения занимают важное место (Bottle A. et al., 2009). Диагностика хронического нарушения мозгового кровообращения представляет сложность, так как не существует доказанных маркеров, характеризующих это расстройство. Выявление этих маркеров представляется важным, так как позволит исследовать динамику развития поражения центральной нервной системы (ЦНС) и оценить потенциальное влияние лекарственных средств на данное расстройство.

Столь широкая распространенность поражения ЦНС при СД 2 типа диктует необходимость поиска препаратов, которые обладали бы, наряду с основным сахароснижающим действием, защитным эффектом в отношении головного мозга.

Свою эффективность и безопасность в терапии СД 2 типа продемонстрировали препараты из класса агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1). Имеются экспериментальные и клинические данные о кардиопротективном эффекте данного класса лекарственных средств (Bao W. et al., 2011; Dokken B.V. et al., 2011; Lonborg J. et al., 2012; Read P.A. et al., 2012). Сведения же об их нейропротективном эффекте скудны и сводятся преимущественно к экспериментальным данным. Известно, что введение агонистов рецептора ГПП-1 после экспериментальной ишемии головного мозга оказывает защитный эффект (Teramoto S. et al., 2011; Zhu H. et al., 2016). В то же время, наиболее перспективным представляется изучение возможного нейропротективного эффекта препарата при введении его до ишемии, так как именно профилактика и снижение тяжести клинических проявлений мозговых катастроф является ключевым направлением современной медицины.

По представленным в литературе данным, прицельная оценка нейропротективного эффекта инкретиномиметиков в отношении профилактики и/или улучшения восстановления после инсульта у людей не производилась. В настоящее время завершен ряд мультицентровых исследований, описывающих кардиоваскулярную безопасность агонистов рецептора ГПП-1, в том числе оценивающих частоту развития нефатального инсульта и смерти от сердечно-сосудистых причин (Darsalia V. et al., 2018). По результатам данных исследований, инкретиномиметик семаглутид показал способность снижать частоту возникновения инсульта при СД 2 типа (Marso S.P. et al., 2016). В то же время, работы, оценивающие влияние инкретиномиметиков на так называемые «суррогатные» конечные точки, исследующие воздействие данной группы препаратов на выраженность хронического нарушения мозгового кровообращения, практически не представлены.

Доказательство наличия у данного класса лекарственных средств защитного действия в отношении ЦНС при СД 2 типа может послужить оптимизации схем сахароснижающей терапии, с включением в нее, наряду с метформином, являющимся препаратом первой линии, инкретиномиметиков.

Степень разработанности темы

СД 2 типа сопровождается рядом структурных изменений в головном мозге, таких как формирование очагов лейкоареоза, атрофии, уменьшение объема серого и белого вещества, а также развитие мелких очагов ишемического повреждения – микроинсультов

(Schmidt R. et al., 2004; Bryan R.N. et al., 2014). В то же время, отсутствуют общепринятые методы выявления данных нарушений, в связи с чем представляется важным поиск маркеров повреждения нейронов и нейроглии в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения у больных СД 2 типа.

Описанные структурные изменения ЦНС приводят к формированию когнитивных нарушений. Существует множество шкал оценки когнитивного дефицита, однако отсутствуют достоверные данные об информативности данных шкал в отношении выявления наличия и, в особенности, динамики развития когнитивного снижения у больных СД на фоне достижения или недостижения нормализации гликемического профиля, а также на фоне применения различных вариантов сахароснижающей терапии.

В настоящее время все большее внимание уделяется плеiotропным эффектам сахароснижающих препаратов. Имеются единичные данные о нейропротективном действии агониста рецептора ГПП-1 лираглутида, ставшего предметом нашего изучения в силу наибольшей гомологии эндогенному ГПП-1, при введении его после ишемии головного мозга у крыс без СД (Teramoto S. et al., 2011; Zhu H. et al., 2016). В то же время отсутствуют сведения о защитном эффекте препарата при введении его до моделирования ишемии мозга животным без СД. Имеются и сведения о положительном влиянии лираглутида на параметры повреждения мозга в эксперименте на животных с СД 2 типа (Briyal S. et al., 2014; Li P. et al., 2016). Однако в качестве группы сравнения в этих работах выступают животные с СД без сахароснижающей терапии, в связи с чем представляется невозможным судить о нейропротективном эффекте препарата, вне связи с улучшением углеводного обмена.

Наконец, клинические данные о нейропротективном действии лираглутида крайне немногочисленны. Фактически, это лишь исследование LEADER (Marso S.P. et al., 2016), показавшее отсутствие достоверных различий в частоте нефатального инсульта и снижение показателей сердечно-сосудистой смертности при лечении лираглутидом.

Известно, что при СД 2 типа имеет место дисфункция эндотелия (Calles-Escandon J., Cipolla M., 2001; Forst T. et al., 2009). Однако ранее не изучалась взаимосвязь между выраженностью изменений в ЦНС и проявлениями эндотелиальной дисфункции.

Сведения об эндотелиопротективном эффекте инкретиномиметиков в клинике достаточно противоречивы. Имеются данные о наличии положительного влияния различных агонистов ГПП-1 на функциональное состояние эндотелия (Koska J. et al., 2010; Suzuki K. et al., 2014; Koska J. et al., 2015) и о его отсутствии (Kelly A.S. et al., 2012). Возможно, противоречивость сведений связана с большими различиями в дизайне исследования, в длительности анамнеза СД у исследуемых больных, а также со значительными расхождениями в терапии в группах сравнения.

Цель работы

Определить выраженность структурно-функциональных повреждений центральной нервной системы при сахарном диабете 2 типа и изучить возможность коррекции этих нарушений лираглутидом.

Задачи исследования

1. Оценить уровень маркеров повреждения центральной нервной системы нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови и определить выраженность когнитивного дефицита у больных сахарным диабетом 2 типа.

2. Изучить функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом 2 типа с различным уровнем маркеров повреждения центральной нервной системы нейронспецифической енолазы и белка S100.
3. Установить влияние лираглутида на выраженность когнитивного дефицита, а также на уровень нейронспецифической енолазы и белка S100, и на функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом 2 типа с различным уровнем гликемического контроля.
4. На основании проспективного наблюдения выявить факторы, определяющие необходимость раннего назначения комбинированной сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа.
5. Исследовать влияние лираглутида на выраженность неврологического дефицита и объем повреждения мозга в условиях транзиторной фокальной ишемии у крыс без сахарного диабета.
6. Определить влияние лираглутида на выраженность неврологического дефицита и объем повреждения мозга у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа в зависимости от уровня гликемии в условиях транзиторной фокальной ишемии.

Научная новизна

Доказано, что при СД 2 типа имеет место повреждение головного мозга, характеризующееся функциональными и морфологическими изменениями. Подтверждены данные о значении нейронспецифической енолазы (NSE) как маркера нейронального повреждения при СД, повышающегося при СД 2 типа и не связанного с контролем гликемии на момент исследования и/или с длительностью анамнеза заболевания. Впервые описана роль белка S100 как маркера глиального повреждения при СД, повышение которого также наблюдается при данной патологии и не связано с показателями гликемического контроля.

Впервые показано, что эндотелиальная дисфункция не только имеет место при СД 2 типа, но и является звеном в патогенезе повреждения ЦНС, что подтверждается наличием связей между повышением маркеров эндотелиального и нейронального повреждения.

Впервые разработана математическая дискриминантная модель прогнозирования достижения или не достижения удовлетворительного контроля гликемии на фоне монотерапии метформином, включающая клинические и лабораторные показатели, такие как принадлежность к женскому полу, отягощенная наследственность по СД, уровень эндотелина-1 и тканевого активатора плазминогена. Данная модель может применяться в практическом здравоохранении с целью решения вопроса о раннем назначении комбинированной сахароснижающей терапии.

Впервые описано наличие у лираглутида нейропротективного эффекта при применении его ДО моделирования транзиторной ишемии головного мозга у крыс без СД, что позволило подтвердить, что описанный защитный эффект не обусловлен положительным влиянием препарата на углеводный обмен. Также впервые описан нейропротективный эффект лираглутида у животных с СД на фоне транзиторной ишемии головного мозга и проведено сравнение его с эффектом метформина. Показано, что, несмотря на сходно удовлетворительный контроль гликемии на фоне обоих методов лечения, только лираглутид защищает головной мозг от ишемического-реперфузионного повреждения.

Впервые описан нейро- и эндотелиопротективный эффект лираглутида у пациентов с СД 2 типа. Данный эффект реализуется вне зависимости от степени контроля гликемии, не снижаясь даже при ухудшении гликемического профиля.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования дополнили сведения о характере хронического повреждения ЦНС при СД 2 типа, выявив признаки поражения нейронов и нейроглии при данном заболевании, даже в отсутствии манифестных инсультов. Кроме того, данное исследование расширило представление о вкладе эндотелиальной дисфункции в механизмы поражения ЦНС при СД, обнаружив взаимосвязь между нейрональным повреждением и нарушением вазомоторной и гемостатической функций эндотелия.

По результатам экспериментального и клинического исследования, доказано наличие у агониста рецептора ГПП-1 лираглутида самостоятельного эндотелиопротективного и нейропротективного эффекта, который реализуется независимо от влияния препарата на гликемический профиль. Полученные данные расширяют сведения о фармакодинамике лираглутида, и позволяют рекомендовать данный препарат в качестве наиболее предпочтительного варианта сахароснижающей терапии, в добавление к метформину.

Разработана модель прогнозирования возможности или невозможности достижения удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии метформином, которая может быть внедрена в практическое здравоохранение с целью оптимизации тактики сахароснижающей терапии.

В результате проведенного исследования выявлены маркеры повреждения ЦНС, а также маркеры дисфункции эндотелия, концентрация которых претерпевает динамику, в зависимости от степени контроля гликемии и при применении различных препаратов. Оценка уровня описанных маркеров в крови может использоваться в клинической практике для изучения состояния ЦНС и эндотелия у больных СД 2 типа и отслеживания его динамики на фоне фармакотерапии СД.

При сравнении различных шкал когнитивной оценки найдены шкалы, позволяющие наиболее точно изучить исходное функциональное состояние ЦНС, а также отследить его динамику на фоне различных вариантов терапии. Монреальская шкала когнитивной оценки и Краткая шкала оценки психического статуса могут быть рекомендованы к применению у больных СД 2 типа с целью исследования изменений когнитивного статуса на фоне проводимой терапии.

Установлено, что доплерографическое изучение ацетилхолин-индуцированной вазодилатации в области микроциркуляторного русла предплечья является более точным методом оценки функции эндотелия при СД 2 типа, чем измерение традиционных биохимических показателей, и может быть рекомендовано к использованию в широкой клинической практике для анализа эндотелиопротективной эффективности сахароснижающих средств.

Методология и методы исследования

Настоящая работа была выполнена в дизайне клинико-экспериментального открытого проспективного сравнительного исследования.

Клиническая часть исследования проводилась у 52 пациентов с СД 2 типа. В течение 3 мес все больные представляли собой общую группу и получали монотерапию

метформинном, затем были разделены на две группы – группу 1, в которой был достигнут целевой уровень гликированного гемоглобина и продолжена монотерапия метформинном, и группу 2, в которой через 3 мес эугликемия достигнута не была, в связи с чем к терапии был добавлен лираглутид. Общее время наблюдения составило 9 месяцев. Исходно, а также каждые 3 мес производилась оценка общих клинико-лабораторных показателей, а также исследовались показатели нарушений в ЦНС (с применением шкал когнитивной оценки и определением уровня маркеров нейроглиального повреждения нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови) и показатели эндотелиальной дисфункции (доплерографическая оценка эндотелий-зависимой вазодилатации и определение уровня эндотелина-1, тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена-1 в крови).

Экспериментальная часть работы включала 2 этапа. На первом этапе изучался защитный эффект введения лираглутида до моделирования транзиторной фокальной ишемии головного мозга у крыс без СД. На втором этапе осуществлялось сравнение защитного эффекта лираглутида, при применении его до моделирования фокальной ишемии головного мозга, с эффектом метформина, у крыс с экспериментальным СД 2 типа. Нейропротективное действие оценивалось при помощи изучения выраженности неврологического дефицита и объема повреждения мозга.

Проверка гипотез относительно характера повреждения головного мозга при сахарном диабете, роли дисфункции эндотелия, а также относительно эндотелио- и нейропротективного эффекта лираглутида осуществлялась с использованием общепринятых методов статистического анализа. Выводы по результатам работы были сделаны на основании наличия или отсутствия достоверных различий и корреляций.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Сахарный диабет 2 типа, даже в отсутствие манифестных инсультов, сопровождается поражением центральной нервной системы, проявляющимся развитием когнитивных нарушений, а также нейрональным и глиальным повреждением, о чем свидетельствует высокий уровень нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови; одним из звеньев патогенеза повреждения центральной нервной системы при сахарном диабете 2 типа является дисфункция эндотелия.
2. Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид уменьшает показатели нейроглиального повреждения центральной нервной системы и уменьшает дисфункцию эндотелия при сахарном диабете 2 типа, независимо от влияния на гликемический профиль.
3. Установлен комплекс неблагоприятных прогностических факторов, таких как женский пол, отягощенная наследственность по сахарному диабету, высокий уровень тканевого активатора плазминогена и эндотелина-1, определяющих невозможность достижения эугликемии на фоне монотерапии метформинном и требующих раннего назначения комбинированной сахароснижающей терапии.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в составлении плана исследования, разработке компьютерной базы данных. Автор лично участвовал во всех этапах экспериментального исследования (уход за животными, моделирование СД, взятие крови на анализ, моделирование транзиторной ишемии мозга, интраоперационное доплерографическое

исследование скорости кровотока в средней мозговой артерии, оценка неврологического дефицита, забор головного мозга и изготовление препарата для морфологической оценки объема повреждения). Автор принимал личное участие во всех этапах работы с пациентами (включение больных в исследование, назначение сахароснижающей терапии, динамическое наблюдение; выполнение доплерографии микроциркуляторного русла предплечья с проведением пробы с ацетилхолином; исследование когнитивного статуса с применением валидизированных шкал). После окончания исследования автор участвовал в математической и статистической обработке результатов.

Апробация и внедрение результатов в практику

По материалам диссертации опубликовано 26 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах, рецензируемых Высшей аттестационной комиссией, и 1 статья в зарубежном журнале. Среди опубликованных печатных работ, 3 статьи в журналах, входящих в Scopus.

Результаты исследования доложены на 9 научно-практических конференциях: Symposium of the International Atherosclerosis Society «Anitschkow Days» (Санкт-Петербург, 2016, стендовый доклад); Всероссийской конференции с международным участием «Командный подход в современной эндокринологии» (Санкт-Петербург, 2016, стендовый доклад); 9-ой Международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2016, устный доклад); II Международной научно-практической конференции «Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия» (Смоленск, 2016, устный доклад); Научно-практической конференции «Первая Санкт-Петербургская школа по реабилитации: Фундаментальные аспекты медицинской реабилитации» (Санкт-Петербург, 2017, устный доклад); XII Международном конгрессе «Метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и атеросклероз» (MSDA) (Санкт-Петербург, 2017, стендовый доклад); VIII (XXV) Всероссийском диабетологическом конгрессе с международным участием «Сахарный диабет – пандемия XXI века» (Москва, 2018, устный доклад); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы современной эндокринологии: фокус на регионы» (Санкт-Петербург, 2018, устный доклад); 54th Annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) (Берлин, 2018, стендовый доклад).

Исследование было поддержано грантом Российского Фонда фундаментальных исследований, субсидиями молодым ученым Комитета по Науке и Высшей школе Правительства Санкт-Петербурга, грантом «УМНИК» Фонда содействия инновациям. Основные материалы диссертационной работы введены в практику в эндокринологическом отделении СПб ГБУЗ «Городская больница Святой преподобномученицы Елизаветы», в эндокринологическом отделении клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, в гастроэнтерологическом отделении СПб ГБУЗ «Городская больница № 26».

Степень достоверности

Степень достоверности результатов работы определяется применением современных методов клинического, лабораторного и инструментального исследования, а также статистической обработки данных. Достоверность описываемого защитного эффекта лираглутида обусловлена выявлением данного эффекта при клиническом исследовании, с последующим феноменологическим подтверждением его в условиях эксперимента.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав результатов собственного исследования, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 25 отечественных и 165 зарубежных источников. Работа изложена на 157 страницах машинописного текста, иллюстрирована 40 таблицами и 18 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

Исследование включало в себя клиническую и экспериментальную части.

Клиническое исследование

В исследование были включены мужчины и женщины от 45 до 75 лет с СД 2 типа (n=64) с гликированным гемоглобином (HbA1C) 7,5-9,0% на фоне монотерапии метформином. В течение 3 мес производилась титрация дозы метформина либо до достижения удовлетворительного контроля гликемии, либо до максимальной дозы (3000 мг/сут). Те пациенты, которые достигли удовлетворительного контроля гликемии (HbA1C менее 7,5%), были включены в группу 1 (терапия метформином была продолжена в течение еще 6 мес). Больные, не достигшие эугликемии (уровень HbA1C более 7,5%) на монотерапии метформином были включены в группу 2 – у них к терапии метформином был добавлен лираглутид (Виктоза, Ново Нордиск, Дания) на последующие 6 мес.

При ретроспективном анализе было выяснено, что будущие группы 1 и 2 различались по ряду клинических и биохимических параметров (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика пациентов будущих групп 1 и 2 (исходно)

Клинические характеристики			
Параметр	Группа 1, n (%)	Группа 2, n (%)	Достоверность различий, p
Пол			0,044
мужской	14 (50%)	5 (20,8%)	
женский	14 (50%)	19 (79,2%)	
Анамнестические характеристики			
Длительность анамнеза СД, лет	1,75 (0,0; 5,25)	10,0 (8,0; 15,0)	0,000
Наследственность по СД			0,021
отягощена	6 (21,4%)	13 (54,2%)	
не отягощена	22 (78,6%)	11 (45,8%)	

Исходно, через 3, 6 и 9 месяцев оценивались HbA1c, показатели эндотелиальной дисфункции (ацетилхолин(АХ)-индуцированная эндотелий-зависимая вазодилатация,

уровни ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1), тканевого активатора плазминогена (t-РА), эндотелина-1 в крови), а также показатели повреждения ЦНС (применялись шкалы оценки когнитивной функции: Монреальская шкала когнитивной оценки (МОСА), краткая шкала оценки психического статуса (MMSE), батарея лобных тестов, тест рисования часов, таблицы Шульте, и маркеры нейроглиального повреждения: NSE, белок S100).

Определение эндотелий-зависимой вазодилатации осуществлялось при помощи доплерографической оценки линейной скорости кровотока в микроциркуляторном русле предплечья с использованием прибора Минимакс-Допплер-К, модель НБ, Россия, посредством датчика с частотой излучения 25 МГц. Производилось исследование исходной скорости кровотока, затем выполнялся ионофорез 0,3% раствора АХ с помощью прибора «ПоТок» (Каскад-ФТО, Россия). Сила тока составляла 0,9 мА, время экспозиции – 1 мин. Затем в течение 8 минут ежеминутно измерялась линейная скорость кровотока.

Определение HbA1C осуществлялось в цельной крови иммунотурбидиметрическим методом на приборе Abbott Architect-C800 с использованием набора реагентов АО «Витал Девелопмент Корпорейшн», Санкт-Петербург, Россия. Оценка уровня NSE осуществлялось в цитратной плазме при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA kit, Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Австрия), белка S100 – в плазме ЭДТА также с помощью ИФА (ELISA kit, Technozym, Technoclonе GmbH, Австрия). Концентрация эндотелина-1 (big endothelin-1) определялась в цитратной плазме при помощи ИФА (ELISA kit, Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Австрия), уровень антигенов t-РА и РАI-1 оценивался в ЭДТА-плазме при помощи ИФА (ELISA kit, Technozym, Technoclonе GmbH, Австрия). Указанные исследования выполнялись на автоматическом иммуноферментном анализаторе ELx 800, фирма ВЮ-ТЕК INSTRUMENTS, США).

Экспериментальное исследование

Экспериментальное исследование включало 2 этапа.

I этап. Крысы-самцы стока Вистар (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») массой 200-255 г без СД были разделены на 2 группы: «КОНТРОЛЬ» (n=15) и «ЛИР» (n=15). В течение 7 дней крысам группы «КОНТРОЛЬ» вводился физиологический раствор, крысам группы «ЛИР» – лираглутид (Виктоза, НовоНордиск, Дания) 1 мг/кг п/к. 1 раз в 2 дня измерялся уровень гликемии при помощи глюкометра Ассу-Сhek Performa (Roshe, Германия). Через 5 часов после последнего введения препарата/физиологического раствора животным обеих групп под хлоралгидратным наркозом (430 мг/кг в/б) воспроизводилась ишемия головного мозга по методике J. Koizumi, в модификации E.Z. Longa (Longa E.Z. et al., 1989). Длительность ишемии составляла 30 минут. Через 48 часов реперфузии в обеих группах оценивался неврологический дефицит по шкале J.H. Garcia (Garcia J.H. et al., 1995) и объем инфаркта мозга при помощи окраски срезов мозга 0,1 % раствором 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (MP Biomedicals, США).

II этап. Всем животным производилось моделирование СД 2 типа. Для этого в течение 4 недель крысы-самцы стока Вистар (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») массой 200-250 г (n=60) содержались на диете с высоким содержанием насыщенных жиров (25%). Затем вводился никотинамид 230 мг/кг в/б и стрептозотацин 60 мг/кг в/б. Через 2 и 3 суток определялась гликемия. При выявлении в 2 измерениях, выполненных в разные дни, гликемии больше 11,1 ммоль/л, диагностировался СД. При обнаружении меньших значений гликемии выполнялся пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ). При выявлении во время ПГТТ, после введения глюкозы, в любой из точек

гликемии больше 11,1 ммоль/л, диагностировался СД, при выявлении меньших значений данная патология не подтверждалась, и животные исключались из эксперимента.

Через 12 дней животные были разделены на 3 группы: группа «МЕТ» (n=20) (терапия порошком метформина 97% 200 мг/кг 1 раз в сутки per os – через желудочный зонд – в течение 7 дней), группа «ЛИР» (n=20) (терапия лираглутидом (Виктоза, НовоНордиск, Дания) 0,03 мг/кг п/к 1 раз в сутки 7 дней), группа «СД без лечения» (n=20) (животные не получали сахароснижающей терапии 7 дней). В течение последующих 7 дней 1 раз в 2 дня осуществлялось измерение гликемии во всех трех группах. Затем производилось моделирование транзиторной фокальной ишемии головного мозга, как описано выше. Через 48 часов производилась оценка неврологического дефицита и объема повреждения мозга.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных производилась при помощи программного пакета IBM SPSS Statistics-22 (IBM, США) и Statistica-10 (Statsoft, США).

Значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия Крускала–Уоллеса, анализ между двумя группами осуществлялся с применением критерия Манна–Уитни для независимых выборок, с применением непараметрического дисперсионного анализа (апостериорное попарное сравнение групп при помощи критерия Данна). Значимость различий внутри одной группы оценивалась с помощью непараметрических критериев Фридмана и Вилкоксона для зависимых переменных с введением поправки Бонферрони с false discovery rate. Все показатели представлены в виде «медиана (25%; 75%)». Корреляционный анализ проводился с использованием rs-критерия Спирмена. Сравнение частоты встречаемости качественных признаков в группах и анализ таблиц сопряженности выполнялись с помощью χ^2 -критерия Пирсона и точного критерия Фишера.

Для построения дискриминантной модели прогнозирования возможности достижения эугликемии на монотерапии метформином осуществлялся пошаговый дискриминантный анализ значимости показателей. Для получения прогноза рассчитывались показатели линейных дискриминантных функций ЛДФ1 и ЛДФ2, производилось их сравнение и определялся прогноз, в соответствии с преобладающим значением.

Соблюдение этических требований

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. До включения в исследование у всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

Результаты исследования

Клиническое исследование

Исходно в исследование были включены 64 пациента, 12 больных прекратили участие в исследовании, и в окончательный анализ были включены данные 52 пациентов.

В течение 3 мес все больные получали монотерапию метформином. На этом фоне через 3 мес 28 пациентов достигли HbA1C менее 7,5% (6,75 (6,3; 7,2) и были включены в группу 1. 24 человека имели HbA1C более 7,5% (8,2 (7,68; 8,68) %) и были включены в группу 2 – к терапии метформином был добавлен лираглутид.

Через 6 мес у пациентов группы 1 сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, HbA1C составлял 6,89 (6,45; 7,5)%. В группе 2, на фоне добавления к терапии лираглутида, в целом наблюдалось улучшение гликемического профиля ($p=0,093$), HbA1C составил 7,6 (7,2; 8,3)%.

Через 9 мес в группе 1 у 25 пациентов HbA1C не превышал целевого уровня 7,5% (6,7 (6,2; 7,0)%) (подгруппа 1а). У 3 пациентов наблюдалось ухудшение гликемии, что отражалось в нарастании HbA1C с 7,5 (6,3; 7,5)% до 8,2 (7,6; 8,7)%, $p=0,1$ (подгруппа 1б). В группе 2 через 9 мес 18 человек имели положительную динамику гликемии, уровень HbA1C составил 7,35 (6,43; 7,75)% (подгруппа 2а). У 5 пациентов наблюдалась отрицательная динамика (подгруппа 2б) – HbA1C 8,1 (7,75; 8,6)%.

Исходные уровни PAI-1, t-PA, эндотелина-1, NSE и белка S100 не коррелировали с длительностью анамнеза СД 2 типа и концентрацией HbA1C. Представляется важным выявление корреляционной связи между уровнем PAI-1 и NSE ($r=0,389$, $p=0,004$), а также эндотелина-1 и NSE ($r=0,397$, $p=0,004$), что позволяет предполагать наличие взаимосвязи между нейрональным повреждением и дисфункцией эндотелия при СД 2 типа.

Между пациентами будущих групп 1 и 2 были различия по ряду клинико-анамнестических и лабораторных параметров, что позволило предположить, что определенное их сочетание может стать основой прогнозирования невозможности достижения эугликемии на монотерапии метформином. Была создана математическая дискриминантная модель прогнозирования низкой эффективности монотерапии метформином. Для получения прогноза рассчитывали показатели линейных дискриминантных функций ЛДФ₁ и ЛДФ₂ (таблица 2).

Таблица 2 – Признаки, включенные в модель прогнозирования недостижения эугликемии на монотерапии метформином и их значимость

Наименование признаков линии дискриминантной функции	Единицы измерения и градации признаков	Коэффициенты		Уровень значимости, р
		ЛДФ ₁ (эугликемия на монотерапии метформином достигнута)	ЛДФ ₂ (эугликемия на монотерапии метформином НЕ достигнута)	
Уровень эндотелина-1 (X1)	пмоль/л	1,31	2,96	0,005
Принадлежность к женскому полу (X2)	Есть – 1 Нет – 0	4,42	8,23	0,007
Отягощенная наследственность по СД (X3)	Есть – 1 Нет – 0	1,69	2,48	0,02
Уровень t-PA (X4)	нг/мл	4,01	6,54	0,01
Константы	–	-6,59	-19,39	–
Примечание – ЛДФ – линейная дискриминантная функция.				

На основании сравнения значений показателей ЛДФ₁ и ЛДФ₂, полученных при вычислении формул (1, 2): ЛДФ₁ = $-6,59 + 1,31X1 + 4,42X2 + 1,69X3 + 4,01X4$ (1); ЛДФ₂ = $-19,39 + 2,96X1 + 8,23X2 + 2,48X3 + 6,54X4$ (2), возможно прогнозирование достижения или не достижения HbA1C менее 7,5% на монотерапии метформином. Модель обладает классификационной способностью в среднем 97,1%.

**Динамика маркеров эндотелиальной дисфункции
и нейроглиального повреждения**

Исходный уровень PAI-1 был выше нормы в обеих группах, но в группе 2 достоверно больше, чем в группе 1. Через 3 мес лечения метформином PAI-1 достоверно снизился в группе 1, достигнув верхней границы нормы, и в дальнейшем не имел достоверной динамики. В группе 2 через 3 мес концентрация PAI-1 достоверно уменьшилась, но не достигла нормы. Через 6 мес уровень PAI-1 имел тенденцию к дальнейшему снижению, однако по-прежнему превышал норму. Через 9 мес показатель не претерпевал достоверной динамики. Лираглутид не оказал положительного влияния на описываемый показатель.

Исходный уровень t-PA был в пределах нормы в обеих группах и не претерпевал достоверной динамики в ходе наблюдения (таблица 3).

Таблица 3 – Динамика концентрации PAI-1 и t-PA, нг/мл

Показатель	Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес
PAI-1	1	48,79 (32,96; 96,2)	43,03 (27,75; 50,5) §	43,24 (29,29; 54,76)	44,71 (26,87; 51,29)
	2	87,3 (75,75; 108,93)*	64,37 (45,94; 71,7)* §	52,74 (45,94; 68,12)*	57,66 (42,87; 60,48)
t-PA	1	5,26 (3,39; 6,07)	3,0 (2,37; 5,05) §	3,29 (2,58; 4,43)	3,25 (2,08; 4,78)
	2	5,16 (4,19; 7,7)	4,68 (2,77;5,49)	4,2 (2,73; 6,35)	3,44 (2,81; 4,26)

Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$, по сравнению с предыдущим измерением.

Исходно концентрация эндотелина-1 находилась в пределах нормы в группе 1 и превышала ее в группе 2. Через 3 мес уровень эндотелина-1 в группе 1 по-прежнему оставался в пределах нормы, через 6 и 9 мес не претерпевал достоверных изменений. В то же время, через 9 мес в подгруппе 1б наблюдалось достоверное нарастание эндотелина-1 на фоне ухудшения гликемического профиля. У пациентов группы 2 через 3 мес уровень эндотелина-1 достиг нормы и оставался в ее пределах в течение последующего времени. Через 9 мес концентрация эндотелина-1 не различалась у пациентов подгруппы 2а, имевших удовлетворительный контроль гликемии, и подгруппы 2б, на фоне ухудшения гликемии (таблица 4).

Таблица 4 – Динамика концентрации эндотелина-1, пмоль/л, NSE, мкг/л, и белка S100, нг/л

Показатель	Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес	
					«+» динамика	«-» динамика
эндотелин-1	1	0,74 (0,28; 1,23)	0,62 (0,3; 1,4)	0,29 (0,2; 0,91)	0,25 (0,18; 0,8)	0,32 (0,18; 0,49)§
	2	2,14 (0,73; 3,23)*	0,49 (0,14; 1,07)§	0,38 (0,22; 0,7)	0,32 (0,11; 1,04)	0,19 (0,13; 0,76)*

Продолжение таблицы 4

Показатель	Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес	
					«+» динамика	«-» динамика
NSE	1	8,74 (4,52; 23,9)	6,81 (4,28; 12,0)§	6,68 (4,55; 10,28)	4,04 (3,39; 5,78)	4,86 (3,5; 5,84)
	2	26,55 (15,06; 43,95)*	14,58 (7,42; 26,8)§	5,87 (4,18; 8,66)§	6,43 (3,48; 6,43)	4,58 (3,99; 6,53)*
Белок S100	1	73,2 (21,98; 176,05)	34,62 (19,45; 128,5)§	20,81 (13,1; 70,5)	19,2 (14,16; 59,52)	67,4 (19,33; 86,7)
	2	136,85 (79,55; 296,03)	38,8 (23,71; 82,6)§	44,28 (22,61; 69,15)	29,54 (12,88; 45,24)	23,2 (18,19; 50,68)*
Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$, по сравнению с предыдущим измерением.						

Таким образом, лираглутид не оказывает достоверного влияния на показатели гемостатической функции эндотелия. В то же время, применение данного препарата позволяет снизить выраженность вазомоторной эндотелиальной дисфункции, вне зависимости от показателей углеводного обмена.

Исходный уровень NSE и белка S100 превышал норму в обеих группах. При этом концентрация NSE была достоверно выше в группе 2, различий в концентрации S100 между группами 1 и 2 не было. Улучшение контроля гликемии привело к достоверному снижению NSE и белка S100 в группе 1 через 3 мес. Через 6 мес концентрация NSE в группе 1 приблизилась к верхней границе нормы, белка S100 – достигла нормы. Через 9 мес в группе 1 уровень NSE достиг нормы (4,05 (3,61; 6,8) мкг/л), уровень белка S100 по-прежнему оставался в ее пределах (20,82 (13,1; 70,5) нг/л). Важно отметить, что через 9 мес уровень NSE и белка S100 находился в референсном диапазоне в подгруппе 1а. У пациентов подгруппы 1б наблюдалось нарастание как NSE, так и белка S100.

В группе 2 через 3 мес наблюдалось снижение уровня NSE и белка S100, однако оба показателя по-прежнему превышали норму. Через 6 мес концентрация NSE достоверно снизилась и достигла нормы. В то же время, снижения уровня белка S100 через 6 мес не было. Через 9 мес в группе 2 концентрация NSE оставалась в пределах нормы, претерпевая дальнейшее снижение (4,59 (4,02; 5,94) мкг/л; $p=0,062$). Уровень белка S100 снизился и фактически достиг верхней границы нормы в группе 2 через 9 мес (26,37 (19,27; 49,75) нг/л). Важно отметить, что концентрация как NSE, так и белка S100 через 9 мес не различалась у пациентов подгрупп 2а и 2б (таблица 4).

Таким образом, мы показали, что СД 2 типа, даже в отсутствии манифестных инсультов, сопровождается нейроглиальным повреждением головного мозга. Лираглутид оказывает нейропротективное действие, которое реализуется вне зависимости от влияния препарата на углеводный обмен.

Оценка ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации

Исходно в обеих группах отмечалось нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации после ионофореза АХ.

При оценке в группе 1, за все время наблюдения на было выявлено достоверной динамики исследуемых показателей, несмотря на достижение эугликемии. В группе 2 через 3 мес не наблюдалось изменения показателей эндотелий-зависимой вазодилатации. В то же время, добавление к терапии лираглутида через 6 мес привело к нарастанию площади под кривой «время*линейная скорость кровотока», которая достигла таковой, характерной для здоровых лиц, через 9 мес. Лечение лираглутидом вызвало увеличение амплитуды реакции через 9 мес, данный показатель достиг нормы. Динамика исследуемых параметров представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группах 1 и 2

Время оценки	Группа	Т нач, мин	Т оконч, мин	Т макс, мин	А, % от исходной	AUC 1, мин*% мин*%	AUC 2, мин*% мин*%	AUC общ, мин*% мин*%
норма		1 (1; 1)	7,5 (6; 8)	4 (3; 4)	270,0 (248,0; 298,0)	746,50 (555,23; 800,70)	395,30 (199,70; 967,71)	1071,87 (810,30; 1511,17)
исходно	1	1 (1;3)	6 (4;7)	3 (1,5; 4)	150,07 (130,59; 170,52) #	206,99 (75,04; 445,14) #	132,32 (0; 195,65) #	326,27 (95,84; 622,54) #
	2	1 (1;1)	7 (5;8)	4 (2;5)	150,2 (140,1; 225,0) #	240,1 (174,7; 327,9) #	225,1 (112,6; 331,7) *#	562,4 (225,1; 638,0) #
3 мес	1	1 (1;3)	6 (5;7)	3,5 (2,0;5,0)	150,07 (120,09; 200,0) #	237,9 (120,09; 407,53) #	100,1 (55,92; 199,7) #	399,43 (172,85; 662,91) #
	2	1 (1;1)	6 (5;8)	3,0 (2,0;3,0)	150,1 (144,7; 200,0) #	305,11 (216,94; 466,64) #	133,27 (61,19; 215,06) #	533,08 (366,45; 641,79) #
6 мес	1	1 (1;2)	7 (5;8)	3 (2;4)	140,06 (133,16; 150,09) #	230,62 (100,0; 336,22) #	141,11 (53,02; 225,14) #	309,93 (225,1; 561,1) #
	2	1 (1;1)	7 (7;8)	3,5 (3;4)	215,1 (182,74; 235,26) *#	449,64 (374,35; 550,28) *#	263,73 (197,15; 413,62) *§#	751,46 (643,01; 827,24) *§#
9 мес	1	1 (1;3)	6 (4;7)	3 (3;4)	181,04 (142,45; 304,23) #	222,15 (178,77; 259,62) #	146,62 (0; 259,62) #	422,48 (178,77; 572,51) #
	2	1 (1;1)	7,5 (6;8)	3,5 (3;4)	302,21 (216,76; 404,1) *§	693,35 (483,01; 808,2) *§	455,5 (204; 704,3) *§	893,2 (769,4; 1512) *§

Примечание – * – p<0,05 между группами 1 и 2; § – p<0,05, по сравнению с предыдущим измерением; # – p<0,05, по сравнению с нормой; Т нач – время начала нарастания линейной скорости кровотока; Т оконч – время достижения исходной линейной скорости кровотока; Т макс – время достижения максимальной амплитуды линейной скорости кровотока; А – амплитуда реакции на АХ; AUC1 – площадь под первой фазой кривой «время*линейная скорость кровотока» (1-4 мин); AUC2 – площадь под второй фазой кривой «время*линейная скорость кровотока» (4-8 мин); AUCобщ – общая площадь под кривой «время*линейная скорость кровотока» (1-8 мин).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у лираглутида самостоятельного защитного действия в отношении вазомоторной функции эндотелия, не связанного с влиянием препарата на углеводный обмен.

Как указывалось выше, медиана концентрации эндотелина-1 достигла нормы в обеих группах уже через 3 мес наблюдения. К 6 месяцу наблюдения 75% и максимальные показатели также практически вошли в границы нормы. В то же время, амплитуда эндотелий-зависимой вазодилатации и общая площадь под кривой «время*линейная скорость кровотока» через 6 мес не претерпевали достоверной динамики в группе 1 и выросли, но не достигли нормы в группе 2, что отражает более медленное восстановление функциональных показателей, которыми являются доплерографические параметры. Амплитуда реакции на АХ и АУС достигли референсного интервала в группе 2 через 9 мес и не достигли его вовсе в группе 1.

Следовательно, такой общедоступный и неинвазивный метод оценки вазомоторной функции эндотелия, как доплерография сосудов микроциркуляторного русла, позволяет выявить сохраняющиеся нарушения даже тогда, когда лабораторные маркеры указывают на нормализацию состояния эндотелия, поэтому оценка эндотелий-зависимой вазодилатации сосудов микроциркуляторного русла, вероятно, может стать способом верификации полноценного восстановления функции эндотелия.

Оценка когнитивной функции

Наибольшую информативность в отношении **динамики** когнитивного статуса показали Краткая шкала оценки психического статуса (MMSE) и Монреальская шкала когнитивной оценки (МОСА).

Исходно большинство пациентов групп 1 и 2 имели нарушения когнитивного статуса при оценке по шкале MMSE (28,0 (26,0; 29,0) и 28,5 (27,0; 30,) баллов, соответственно). Через 3 мес у пациентов группы 1 наблюдалось увеличение количества баллов по MMSE (29,0 (28,0; 30,0), $p=0,050$); через 6 и 9 мес дальнейшей динамики не было. Однако через 9 мес у больных подгруппы 1а показатели когнитивной функции не претерпевали изменений, в то время как у пациентов подгруппы 1б наблюдалось достоверное снижение когнитивного статуса. У больных группы 2 не наблюдалось динамики когнитивных показателей по MMSE через 3 мес (28,0 (27,0; 29,0)). Через 6 мес, на фоне добавления к терапии лираглутида, имело место достоверное улучшение когнитивного статуса (29,0 (29,0; 30,0)), через 9 месяцев отмечалось дальнейшее улучшение. Примечательно, что описанная положительная динамика была выявлена у больных подгруппы 2а и 2б (таблица 6).

Таблица 6 – Динамика когнитивной функции с применением шкалы MMSE, 6-9 мес. Когнитивная функция в баллах

Шкала	Время оценки	Группа 1		Группа 2	
		«+» динамика	«-» динамика	«+» динамика	«-» динамика
MMSE, медиана (25%; 75%)	6 мес	29,0 (24,0; 30,0)	30,0 (29,0; 30,0)	29,0 (27,5; 30,0)	29,0 (28,5; 30,0)
	9 мес	28,5 (27,5; 29,25)	29,0 (24,0; 30,0)§§	30,0 (27,75; 30,0)§§	30,0 (27,75; 30,0)§

Примечание – уровень различий, p : * – $<0,05$ между группами 1 и 2; §§ – $<0,05$, по сравнению с предыдущим измерением; § – 0,05-0,1, по сравнению с предыдущим измерением; «+» динамика – положительная динамика гликемии; «-» – отрицательная динамика гликемии.

При оценке по шкале МОСА в обеих группах исходно выявлялись когнитивные нарушения, которые не претерпевали достоверной динамики в ходе наблюдения. В то же время, через 9 мес в подгруппе 1б, на фоне ухудшения контроля гликемии, наблюдалось снижение количества баллов, что отражало нарастание когнитивного дефицита (28,0 (27,0; 30,0) через 6 мес – 27,0 (26,0; 28,0) через 9 мес баллов), в подгруппе 2б ухудшения не было (24,0 (23,0; 28,5) – 27,0 (24,75; 27,75) баллов).

Таким образом, терапия лираглутидом способна предотвращать прогрессирование когнитивных нарушений, имеющих место при СД 2 типа, и даже положительно влиять на когнитивный статус больных, вне зависимости от степени контроля углеводного обмена.

Экспериментальное исследование

Нейропротективный эффект агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида получил свое подтверждение в результатах экспериментального исследования.

I этап. На фоне введения интактным крысам лираглутида в течение 7 дней в сверхтерапевтической дозе (1 мг/кг) эпизодов гипогликемии зафиксировано не было. Через 48 часов после моделирования транзиторной фокальной ишемии головного мозга, когнитивный статус у крыс группы «ЛИР» был достоверно лучше такового у крыс группы «КОНТРОЛЬ». Объем повреждения мозга у крыс группы «ЛИР» также был достоверно меньше, по сравнению с таковым у контрольных животных (рисунок 1).

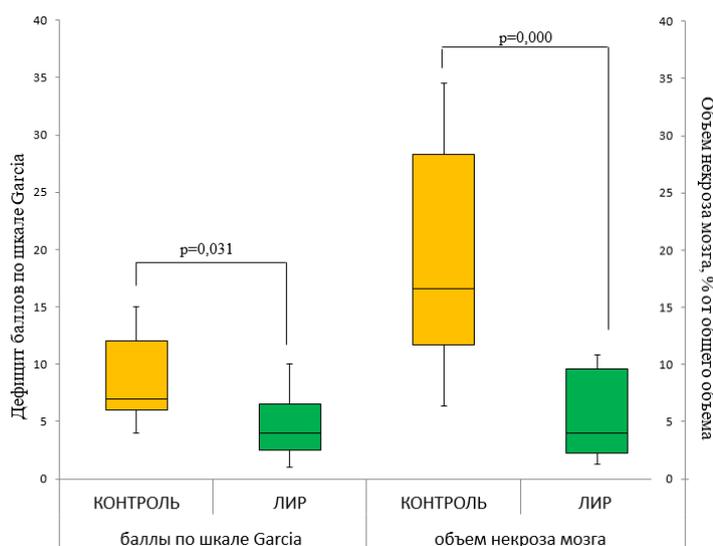


Рисунок 1 – Дефицит баллов по шкале J.H. Garcia (Garcia J.H. et al., 1995) и объем повреждения головного мозга у крыс без СД

Следовательно, лираглутид оказывает защитный эффект в отношении головного мозга в условиях ишемии, даже в отсутствии реализации своего основного сахароснижающего действия.

II этап. На втором этапе эксперимента изучалось потенциальное нейропротективное действие агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида, в сравнении с метформином – сахароснижающим препаратом первой линии, у животных с СД. Выраженность неврологического дефицита достоверно не различалась у крыс с экспериментальным СД 2 типа, не получавших сахароснижающей терапии (группа «СД без лечения»), и у крыс с СД, получавших лечение лираглутидом или метформином в среднетерапевтических дозах (рисунок 2). Следовательно, степень контроля гликемии

сама по себе не является фактором, обуславливающим значимость неврологических нарушений, вызванных ишемическим-реперфузионным повреждением. При этом лираглутид не оказал самостоятельного защитного действия на функциональный неврологический статус.

Объем повреждения головного мозга в группе «ЛИР» был достоверно меньше такового в группе «СД без лечения», а также в группе «МЕТ». При этом объем некроза в группе животных, получавших терапию метформином, не отличался от такого у животных с СД, не получавших лечения. Важно отметить, что контроль гликемии в группах «ЛИР» и «МЕТ» был одинаково удовлетворительным (рисунок 2).

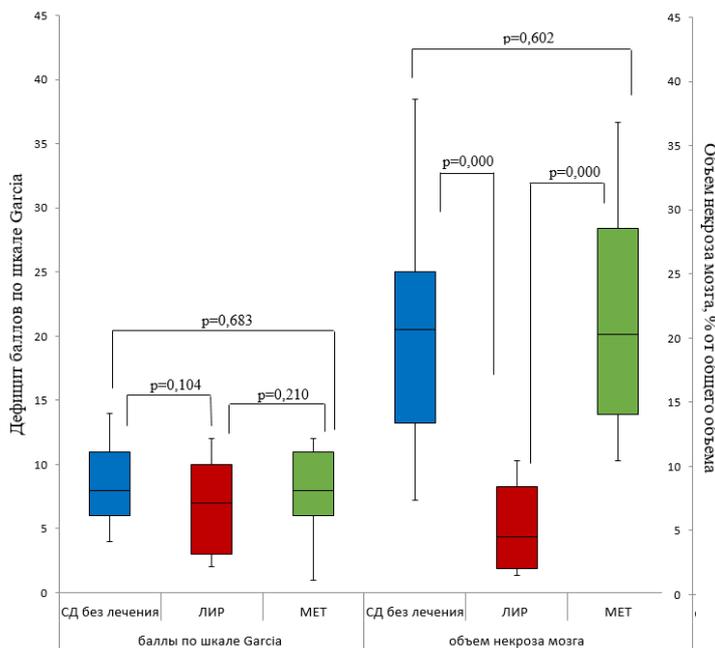


Рисунок 2 – Дефицит баллов по шкале J.H. Garcia (Garcia J.H. et al., 1995) и объем повреждения головного мозга у крыс с экспериментальным СД

Следовательно, лираглутид обладает самостоятельным инфаркт-лимитирующим нейропротективным действием, не обусловленным его положительным влиянием на углеводный обмен.

Таким образом, мы показали, что СД 2 типа сопровождается структурными и функциональными нарушениями ЦНС, что проявляется в развитии когнитивного дефицита, обнаруживаемого с помощью валидизированных шкал когнитивной оценки, а также в повышении маркеров повреждения нейронов и нейроглии в системном кровотоке. Использование данных методов оценки состояния ЦНС может применяться в клинической практике с целью раннего выявления нарушений в ЦНС и их эффективной коррекции. Данная работа обозначила роль дисфункции эндотелия не только в качестве феномена, имеющего место при СД 2 типа, но в качестве звена патогенеза поражения ЦНС при СД 2 типа.

Улучшение контроля гликемии, а также длительная экспозиция эугликемии позволяют уменьшить выраженность нарушений как гемостатической, так и вазомоторной функции эндотелия. Эффекты метформина в отношении функции эндотелия опосредованы влиянием препарата на гликемический профиль, нивелируясь при ухудшении последнего. ЛИР не оказывает самостоятельного положительного влияния на гемостатическую функцию эндотелия, действуя лишь опосредованно, за счет

изменения гликемического профиля. В то же время, лираглутид улучшает вазомоторную функцию, вне зависимости от гликемического статуса, что проявляется в снижении уровня эндотелина-1 и в улучшении параметров эндотелий-зависимой вазодилатации. Вероятно, эндотелиопротективный эффект лираглутида является самостоятельным, и реализация его происходит независимо от влияния на глюкозо-зависимую секрецию инсулина. Возможно, эндотелиопротективный эффект опосредуется не только взаимодействием ГПП-1 со специфическим трансмембранным G-рецептором, но также включает рецептор-неопосредованные механизмы.

Кроме того, улучшение гликемического статуса обладает защитным действием в отношении ЦНС, приводя к снижению уровня маркеров как нейронального, так и глиального повреждения. Метформин не показал самостоятельного протективного эффекта в отношении ЦНС. Лираглутид обладает нейропротективными свойствами, проявляющимися независимо от влияния препарата на углеводный обмен. Свидетельства этому были получены в ходе клинического исследования, в виде снижения уровня NSE и белка S100, и в дальнейшем нашли подтверждение на экспериментальном этапе работы, когда лираглутид продемонстрировал защитный эффект в отношении головного мозга в условиях транзиторной ишемии как в отсутствие СД, так и у животных с экспериментальным СД 2 типа, чего не произошло на фоне терапии метформином, не смотря на сходно удовлетворительный контроль гликемии при применении обоих вариантов сахароснижающей терапии.

Необходимо более длительное изучение нейропротективных свойств лираглутида для оценки возможности препарата предотвращать развитие ишемического инсульта у пациентов с СД 2 типа или уменьшать выраженность неврологических проявлений и улучшать функциональное восстановление после инсульта. Кроме того, необходимо исследовать защитный эффект лираглутида в отношении ЦНС у более широкой выборки пациентов, в том числе, страдающих ишемической болезнью сердца или перенесших острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе. Наконец, большой научный и практический интерес представляет получение ответа на вопрос, является ли описанный в данной работе нейропротективный эффект агониста рецептора ГПП-1 лираглутида класс-эффектом, характерным для всех представителей этой группы лекарственных средств, или же реализуется лишь у лираглутида, обладающего высокой степенью гомологичности эндогенному ГПП-1.

Выводы

1. Для пациентов с сахарным диабетом 2 типа характерно нарушение когнитивной функции и высокие уровни маркеров нейроглиального повреждения нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови.
2. У больных сахарным диабетом 2 типа присутствует взаимосвязь между уровнем маркера нейронального повреждения нейронспецифической енолазы и выраженностью эндотелиальной дисфункции, проявляющейся высоким уровнем ингибитора активатора плазминогена-1 и эндотелина-1.
3. На фоне терапии лираглутидом у больных сахарным диабетом 2 типа улучшаются показатели когнитивной функции и снижается концентрация нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови, вне зависимости от гликемического профиля.
4. Терапия лираглутидом сопровождается улучшением показателей ацетилхолин-индуцированной вазодилатации в микроциркуляторном русле предплечья и

снижением уровня эндотелина-1 в крови у больных сахарным диабетом 2 типа вне зависимости от степени компенсации углеводного обмена.

5. Введение лираглутида уменьшает выраженность неврологического дефицита и объем повреждения мозга у крыс без сахарного диабета в условиях транзиторной фокальной ишемии головного мозга.
6. Применение лираглутида у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа уменьшает объем повреждения мозга при экспериментальном ишемическом инсульте вне зависимости от влияния на уровень гликемии.
7. Отсутствие достижения эугликемии на монотерапии метформином наблюдается с большей частотой при сочетании таких факторов, как женский пол, отягощенная наследственность по сахарному диабету, высокий уровень тканевого активатора плазминогена и эндотелина-1, что необходимо учитывать при определении терапевтической тактики.

Практические рекомендации

1. Учитывая высокую частоту структурных и функциональных нарушений в центральной нервной системе при сахарном диабете 2 типа, всем пациентам с сахарным диабетом рекомендовано проведение обследования, включающее определение когнитивного статуса и исследование уровня нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови.
2. Определение ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации в области микроциркуляторного русла предплечья является более точным методом оценки дисфункции эндотелия при сахарном диабете 2 типа, чем измерение уровня циркулирующих маркеров эндотелиальной дисфункции в крови, и может быть рекомендовано к использованию в клинической практике для анализа эндотелиопротективной эффективности сахароснижающих средств.
3. Выявление структурно-функциональных нарушений центральной нервной системы и эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом 2 типа диктует необходимость добавления к терапии метформином агониста рецептора глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида, обладающего защитным эффектом в отношении центральной нервной системы и эндотелия.
4. При выборе терапевтической тактики следует использовать формулу прогнозирования достижения эугликемии на монотерапии метформином. При сочетании таких клинико-лабораторных показателей, как принадлежность к женскому полу, отягощенная наследственность по сахарному диабету, высокий уровень эндотелина-1 и тканевого активатора плазминогена, при уровне гликированного гемоглобина 7,5-9,0%, следует назначать комбинированную сахароснижающую терапию.

Список опубликованных работ

1. *Симаненкова, А.В.* Нейропротективное действие агониста рецептора глюкагоноподобного пептида-1 / *А.В. Симаненкова, А.А. Жигалова, А.Г. Шумеева, С.Г. Чефу, М.Э. Колпакова, Е.Н. Остроухова, Т.Д. Власов* // *Мед. вестн. Башкортостана.* – 2014. – Т. 9, № 5. – С. 156-159.
2. *Власов, Т.Д.* Механизмы нейропротективного действия инкретиномиметиков / *Т.Д. Власов, А.В. Симаненкова, С.В. Дора, Е.В. Шляхто* // *Сахарный диабет.* – 2016. – Т. 19, № 1. – С. 16-23.

3. *Симаненкова, А.В.* Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 уменьшает дисфункцию эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, Л.В. Васина, М.И. Бутомо, С.В. Дора, Е.В. Шляхто // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 57-63.
4. *Симаненкова, А.В.* Допплерография микроциркуляторного русла как способ оценки эндотелиопротективных свойств лекарственных препаратов у больных сахарным диабетом 2-го типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, Л.В. Васина, М.И. Бутомо, Е.В. Шляхто, Т.Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 120-128.
5. *Симаненкова, А.В.* Эндотелиопротективный эффект лираглутида у больных сахарным диабетом 2-го типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, М.И. Бутомо, Т.Д. Власов, Е.В. Шляхто // Артериальная гипертензия. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 81-92.
6. *Filchenko, I.* Neuroprotective effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonist is independent of glycaemia normalization in type two diabetic rats / I. Filchenko, A. Simanenkova, S. Chefu, M. Kolapkova, T. Vlasov // *Diabetes & Vascular Disease Research*. – 2018. – Vol. 15, № 6. – P. 567-570.
7. *Симаненкова, А.В.* Методика моделирования сахарного диабета 2 типа у крыс / А.В. Симаненкова, И.А. Фильченко // Санкт-Петербургские научные чтения – 2015 : тез. VI Междунар. молодежного мед. конгр. – СПб., 2015. – С. 276-277.
8. *Симаненкова, А.В.* Влияние агониста рецептора глюкагоноподобного пептида-1 на функцию эндотелия у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Трансляционная медицина / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, С.В. Дора, Т.Д. Власов // Командный подход в современной эндокринологии : тез. Всерос. конф. с междунар. участием. – СПб., 2016. – Прил. № 2. – С. 48-49.
9. *Симаненкова, А.В.* Влияние лираглутида на показатели эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом 2 типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, С.В. Дора, Т.Д. Власов // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования : Материалы 9-ой Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 2016. – С. 274-277.
10. *Симаненкова, А.В.* Влияние лираглутида на эндотелиальную дисфункцию у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и здоровье : материалы Междунар. медико-биологической конф. молодых исследователей. – СПб., 2016. – Т. 19. – С. 359-360.
11. *Симаненкова, А.В.* Дисфункция эндотелия - универсальный механизм или нарушение отдельных функций? Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, С.В. Дора, Е.Ю. Васина, Т.Д. Власов // Материалы второй междунар. науч.-практ. конф. / под редакцией О.В. Молоткова, О.В. Халепю. – Смоленск: Изд-во СГМУ, 2016. – С. 199-202.
12. *Симаненкова, А.В.* Плейотропный нейропротективный эффект агониста рецептора глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, Е.Н. Остроухова, С.В. Дора, Т.Д. Власов // Инновационные технологии в эндокринологии : сб. тез. III Всерос. эндокринологического конгр. с междунар. участием. – М., 2017. – С. 106.
13. *Симаненкова, А.В.* Лираглутид обладает нейропротективным эффектом, не связанным с улучшением гликемического профиля / А.В. Симаненкова, Е.В. Шляхто, Т.Д. Власов

- // Сахарный диабет – пандемия XXI века : сб. тез. VIII (XXV) Всерос. диабетологического конгр. с международным участием. – М., 2018. – С. 542-543.
14. *Симаненкова, А.В.* Нейропотективный эффект лираглутида при транзиторной ишемии головного мозга у крыс / А.В. Симаненкова, И.А. Фильченко, С.Г. Чефу, Е.В. Шлякто, Т.Д. Власов // Актуальные вопросы современной эндокринологии: фокус на регионы : тез. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – СПб., 2018. – Прил. №1. – С. 44.
 15. *Симаненкова, А.В.* Вклад дисфункции эндотелия в повреждение центральной нервной системы при сахарном диабете 2 типа / А.В. Симаненкова, М.Н. Макарова, Л.В. Васина, Т.Д. Власов // Смоленский мед. альманах. – 2018. – № 4. – С. 195-197.
 16. *Simanenkova, A.* Neuroprotective effect of liraglutide in patients with metabolic syndrome / A. Simanenkova, M. Makarova, S. Dora, T. Vlasov, E. Shlyakhto // Symposium of the International Atherosclerosis Society "Anitschkow Days. – СПб., 2016. – P. 248.
 17. *Filchenko, I.* Neuroprotective effect of liraglutide in transient focal brain ischemia in rats with type 2 diabetes / I. Filchenko, A. Simanenkova, T. Vlasov // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2017. – Vol. 37, Suppl. 1. – P. 312-377.
 18. *Simanenkova, A.* Liraglutide attenuates neuroglial damage and endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome / A. Simanenkova, M. Makarova, L. Vasina, S. Dora, T. Vlasov, E. Shlyakhto // Метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и атеросклероз : сб. тез. XII Междунар. конгр. (MSDA 2017). Артериальная гипертензия. – 2017. – Т. 23, Прил. 1. – С. 33-34.
 19. *Simanenkova, A.* Neuroprotective property of liraglutide / A. Simanenkova, M. Makarova, L. Vasina, T. Vlasov, E. Shlyakhto // Diabetologia. – 2018. – Vol. 61, Suppl. 1. – P. 355.

Список принятых сокращений

АХ	– ацетилхолин
ГПП-1	– глюкагоноподобный пептид-1
ИФА	– иммуноферментный анализ
ЛДФ	– линейная дискриминантная функция
ЛИР	– лираглутид
Мес	– месяц (-ев, -а, -ами, и т.д.)
МЕТ	– метформин
СД	– сахарный диабет
ЦНС	– центральная нервная система
AUC	– Area Under Curve, площадь под кривой
HbA1C	– Гликированный гемоглобин
LEADER	– Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of cardiovascular outcome Results
MMSE	– Краткая шкала оценки психического статуса
МОСА	– Монреальская шкала когнитивной оценки
NSE	– нейронспецифическая енолаза
РАI-1	– ингибитор активатора плазминогена-1
t-РА	– тканевой активатор плазминогена