

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*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

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Шляхто Евгений Владимирович

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Власов Тимур Дмитриевич

доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2018

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	5
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1 Инкретины и инкретиномиметики: основные физиологические и фармакологические эффекты .....	17
1.2 Место лираглутида среди агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 .....	19
1.3 Кардиопротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 .....	22
1.3.1 Кардиопротективный эффект лираглутида .....	24
1.4 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 .....	28
1.4.1 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 при нейродегенеративных заболеваниях .....	29
1.4.2 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 при ишемии головного мозга .....	31
1.4.3 Нейропротективный эффект лираглутида .....	33
1.4.3.1 Применение лираглутида у животных без сахарного диабета .....	33
1.4.3.2 Применение лираглутида у животных с экспериментальным сахарным диабетом .....	34
1.4.3.3 Клинические данные о нейропротективном эффекте лираглутида .....	36
1.5 Маркеры нейроглиального повреждения .....	36
1.5.1 Нейронспецифическая енолаза .....	36
1.5.2 Белок S100.....	39
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ .....	41
2.1 Клиническое исследование .....	41
2.1.1 Критерии включения и невключения .....	41

2.1.2 Дизайн исследования .....	43
2.1.3 Исследование биохимических показателей крови.....	46
2.1.4 Оценка когнитивной функции .....	47
2.1.5 Определение ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации .....	49
2.2 Экспериментальное исследование .....	50
2.2.1 Дизайн первого этапа .....	51
2.2.2 Дизайн второго этапа .....	55
2.3 Статистическая обработка данных.....	59
2.4 Соблюдение этических требований .....	60
<b>Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>61</b>
3.1 Оценка общих клинико-лабораторных показателей .....	61
3.1.1 Исследование исходных параметров.....	61
3.1.2 Динамика гликированного гемоглобина и массы тела. Распределение по группам.....	64
3.1.3 Динамика показателей липидного спектра.....	67
3.1.4 Динамика показателей инсулин-секреторной функции поджелудочной железы.....	69
3.2 Оценка уровня маркеров эндотелиальной дисфункции и нейроглиального повреждения .....	71
3.2.1 Исследование исходных параметров.....	71
3.2.2 Исследование динамики маркеров эндотелиальной дисфункции и нейроглиального повреждения .....	75
3.3 Прогнозирование достижения удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии метформином .....	80
3.4 Оценка ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации .....	85
3.5 Оценка показателей когнитивной функции .....	96
3.5.1 Оценка выраженности депрессии и тревоги .....	96
3.5.2 Исследование когнитивной функции с применением шкал МОСА и MMSE.....	101

3.5.3 Исследование когнитивной функции с применением батареи лобных тестов, теста рисования часов, таблиц Шульте и опросника самооценки памяти.....	104
Глава 4 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ .....	107
4.1 Результаты первого этапа.....	107
4.1.1 Влияние лираглутида на гликемию и массу тела.....	107
4.1.2 Влияние лираглутида на выраженность неврологического дефицита .....	109
4.1.3 Влияние лираглутида на объем повреждения головного мозга .....	110
4.2 Результаты второго этапа.....	111
4.2.1 Оценка выживаемости .....	111
4.2.2 Динамика массы тела .....	113
4.2.3 Динамика гликемии.....	115
4.2.4 Динамика параметров липидного обмена.....	118
4.2.5 Влияние метформина и лираглутида на выраженность неврологического дефицита.....	120
4.2.6 Влияние метформина и лираглутида на объем повреждения головного мозга .....	121
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	123
ВЫВОДЫ.....	136
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	137
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	138
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	140

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Сахарный диабет (СД) 2 типа остается одной из ведущих проблем современного здравоохранения. По данным Атласа Международной диабетической федерации (IDF) 2017 года, в мире насчитывается до 425 млн больных СД [105].

Особую медико-социальную проблему представляют собой осложнения СД 2 типа. Одну из ведущих позиций среди них занимают ишемический инсульт и хроническое нарушение мозгового кровообращения [4, 6]. Частота инсульта среди больных СД 2 типа, по разным данным, в 2-6 раз выше, чем у лиц без СД [181].

В то же время, диагностика хронического нарушения мозгового кровообращения, в отсутствие манифестных инсультов, представляет определенную сложность, так как не существует доказанных маркеров, характеризующих это расстройство. Выявление данных маркеров представляется чрезвычайно важным, так как позволит исследовать динамику развития поражения центральной нервной системы (ЦНС) и оценить потенциальное влияние различных 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.

На фармакологическом рынке появляется все большее разнообразие сахароснижающих лекарственных средств, доказывающих свою высокую эффективность в терапии СД 2 типа. Так, свою эффективность и безопасность продемонстрировали препараты из класса агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), или инкретиномиметиков.

Имеются единичные экспериментальные и клинические данные о кардиопротективном эффекте данного класса лекарственных средств [28, 80, 90, 92, 155]. Сведения же о потенциальном нейропротективном эффекте инкретиномиметиков крайне скудны и сводятся преимущественно к экспериментальным данным. Известно, что введение агонистов рецептора ГПП-1 после экспериментальной ишемии головного мозга оказывает защитный эффект в виде снижения выраженности неврологических проявлений и уменьшения объема повреждения мозга [81, 178]. 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 мировой литературе данным, прицельная оценка самостоятельного 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 различных агонистов рецептора ГПП-1, в том числе оценивающих частоту развития нефатального инсульта и смерти от сердечно-сосудистых причин [175]. По результатам данных исследований, инкретиномиметик семаглутид показал способность снижать частоту возникновения инсульта при СД 2 типа [163]. В то же время, работы, оценивающие влияние инкретиномиметиков на так называемые «суррогатные» конечные точки, исследующие воздействия 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 метформинем, являющимся препаратом первой линии, инкретиномиметиков, с целью потенциальной первичной и вторичной профилактики поражения ЦНС.

### **Степень разработанности темы исследования**

Известно, что 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 [62, 126]. 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 и опросников 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. Определение наиболее информативных шкал исследования когнитивного дефицита может послужить их внедрению в широкую клиническую практику с целью комплексного изучения эффективности сахароснижающей терапии, в том числе, в отношении защиты ЦНС.

В настоящее время все большее внимание уделяется плейоторопным эффектам сахароснижающих препаратов, в частности, их кардио- и нейропротективным свойствам.

Имеются единичные экспериментальные данные о нейропротективном действии агониста рецептора ГПП-1 лираглутида мозга [81, 178], который стал предметом нашего изучения в силу наибольшей гомологии эндогенному ГПП-1. В то же время, отсутствуют сведения о защитном эффекте данного препарата при введении его до моделирования ишемии головного мозга животным без СД. Имеются и сведения о положительном влиянии лираглутида на параметры повреждения головного мозга в эксперименте на животных с СД 2 типа [41, 42, 174]. Однако в качестве группы сравнения в представленных работах выступают животные с СД, не получающие сахароснижающей терапии, в связи с чем представляется невозможным судить о самостоятельном нейропротективном эффекте препарата, вне связи с улучшением углеводного обмена.

Наконец, клинические данные о нейропротективном действии лираглутида крайне немногочисленны. Фактически, это лишь исследование LEADER [118], 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 [45, 87]. Однако ранее не изучалась взаимосвязь между выраженностью изменений в ЦНС и проявлениями эндотелиальной дисфункции.

Сведения об эндотелиопротективном эффекте инкретиномиметиков в клинике достаточно противоречивы. Имеются сведения о наличии положительного влияния различных агонистов ГПП-1 на функциональное состояние эндотелия [79, 96, 107] и о его отсутствии [66]. Возможно, противоречивость данных связана с большими

различиями в дизайне исследования, в длительности анамнеза СД у исследуемых больных, а также со значительными расхождениями в терапии в группах сравнения.

Доказательство наличия у лираглутида защитного действия в отношении эндотелия сосудов и состояния ЦНС может послужить предпосылкой к раннему включению данного препарата в состав комбинированной терапии у больных СД 2 типа.

### **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

В работе показано, 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 важным 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.

В данной работе 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 значимость работы**

Результаты настоящего 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, данная работа расширила представления о вкладе эндотелиальной дисфункции в механизмы поражения ЦНС при СД, обнаружив взаимосвязь между нейрональным повреждением и нарушением вазомоторной и гемостатической функций эндотелия.

В результате проведенного исследования обнаружен защитный эффект лираглутида в отношении ЦНС и эндотелия сосудов, который реализуется независимо от влияния препарата на гликемический профиль. Полученные данные расширяют сведения о фармакодинамике лираглутида, предполагая, что основной сахароснижающий эффект и плейотропное действие данного лекарственного средства реализуются с вовлечением различных механизмов, которые, вероятно, лишь частично обусловлены взаимодействием со специфическим трансмембранным G-белковым рецептором ГПП-1.

### **Практическая значимость работы**

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

По результатам экспериментального и клинического исследования, доказано наличие у агониста рецептора ГПП-1 лираглутида самостоятельного эндотелиопротективного и нейропротективного эффекта, что позволяет рекомендовать данный препарат в качестве наиболее предпочтительного варианта сахароснижающей терапии, в добавление к метформину.

В результате настоящего исследования выявлены маркеры повреждения ЦНС, а также маркеры дисфункции эндотелия, которые служат индикаторами имеющегося поражения нейронов, нейроглии и эндотелия, и концентрация которых претерпевает динамику, в зависимости от степени контроля гликемии и при применении различных

препаратов. Оценка уровня описанных маркеров нейроглиального повреждения и эндотелиальной дисфункции в крови может использоваться в клинической практике для изучения состояния ЦНС и эндотелия у больных СД 2 типа и отслеживания динамики данного поражения на фоне фармакотерапии СД.

При исследовании различных шкал когнитивной оценки найдены шкалы, позволяющие наиболее точно изучить исходное функциональное состояние ЦНС, а также отследить его динамику на фоне различных вариантов сахароснижающей 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 фармакотерапии.

Сопоставление динамики параметров эндотелий-зависимой вазодилатации и уровня циркулирующего маркера вазомоторной дисфункции эндотелия эндотелина-1 позволило заключить, что доплерографическое изучение ацетилхолин-индуцированной вазодилатации в области микроциркуляторного русла предплечья является более точным методом оценки функции эндотелия при сахарном диабете 2 типа, чем измерение уровня эндотелина-1, 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 сахарным диабетом 2 типа, подписавших информированное согласие. В течение 3 месяцев все больные представляли собой общую группу и получали монотерапию метформином, затем были разделены на две группы – группу 1, в которой был достигнут целевой уровень гликированного гемоглобина и продолжена монотерапия метформином, и группу 2, в которой через 3 месяца эугликемия достигнута не была, в связи с чем к терапии был добавлен лираглутид. Общее время наблюдения составило 9 месяцев. Исходно, а также каждые 3 месяца производилась оценка общих клинико-лабораторных показателей, а также исследовались показатели нарушений в центральной нервной

системе (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 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 сахарного диабета. На втором этапе осуществлялось сравнение защитного эффекта лираглутида, при применении его до моделирования фокальной ишемии головного мозга, с эффектом метформина, у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 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 метформином и требующих раннего назначения комбинированной сахароснижающей терапии.

### **Степень достоверности**

Степень достоверности результатов работы определяется применением современных методов клинического, лабораторного и инструментального исследования, а также статистической обработки данных. Статистическая обработка данных производилась при помощи программного пакета IBM SPSS Statistics-22 (IBM, США) и Statistica-10 (Statsoft, США). Для определения достоверности различий между группами использовались критерия Крускала-Уоллеса и Манна-Уитни, с применением непараметрического дисперсионного анализа, внутри группы – критерии Фридмана и Вилкоксона с введением поправки Бонферрони с false discovery rate; для создания математической модели прогнозирования недостижения эугликемии на монотерапии метформином использовался пошаговый дискриминантный анализ.

Кроме того, достоверность описываемого защитного эффекта лираглутида обусловлена выявлением данного эффекта при клиническом исследовании, с последующим феноменологическим подтверждением его в условиях эксперимента.

### **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 следующими грантами и субсидиями:

1. Грант Российского Фонда фундаментальных исследований. «Нейропротективный эффект агониста рецептора глюкагоноподобного пептида-1» (2014, 2015) (НР 14-04-32385/14, НР 14-04-32385/15).
2. Субсидия молодым ученым Комитета по Науке и Высшей школе Правительства Санкт-Петербурга. «Изучение защитных свойств агонистов рецептора ГПП-1 при ишемии головного мозга у крыс с сахарным диабетом» (2015) (ПСП №15913).
3. Грант «УМНИК» Фонда содействия инновациям. «Исследование защитных свойств агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида в отношении дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 2 типа» (2016-2017) (9986ГУ).
4. Субсидия молодым ученым Комитета по Науке и Высшей школе Правительства Санкт-Петербурга. «Исследование нейропротективного эффекта различных групп антидиабетических препаратов и возможность его применения для рационализации фармакотерапии сахарного диабета 2 типа» (2017) (ПСП №17499).

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».

### **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 сахарного диабета, взятие крови на анализ, выполнение оперативного вмешательства – моделирование транзиторной ишемии головного мозга, интраоперационное доплерографическое исследование скорости кровотока в корковой ветви средней мозговой артерии, оценка неврологического дефицита, с последующим забором головного мозга и изготовлением препарата для морфологической оценки объема повреждения). Кроме того, автор принимал личное участие во всех этапах работы с пациентами (включение больных в исследование на основании критериев включения и невключения, 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 полученных результатов.

### **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.

## ГЛАВА 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Сахарный диабет (СД) 2 типа остается одной из ведущих проблем современного здравоохранения. По данным Атласа Международной диабетической федерации (IDF) 2017 года, в мире насчитывается до 425 млн больных СД. Это означает, что сейчас каждый одиннадцатый взрослый человек страдает этим заболеванием. Ежегодно во всем мире затрачивается 727 биллонов долларов на лечение СД. IDF прогнозирует, что к 2045 году число больных СД составит 629 млн. На 2017 год в Российской Федерации насчитывается более 8 миллионов больных СД [105].

Особую медико-социальную проблему представляют собой острые и хронические осложнения СД 2 типа. Хорошо известно, что такие хронические осложнения заболевания, как диабетическая ретинопатия, нефропатия, нейропатия являются ведущими причинами инвалидизации и смертности данной когорты больных. В структуре причин смерти больных СД 2 типа инфаркт миокарда и инсульт продолжают занимать ведущие позиции [4, 6]. Частота инсульта среди больных СД 2 типа, по разным данным, в 2-6 раз выше, чем у лиц без СД [181]. Наиболее часто у больных СД 2 типа развивается ишемический инсульт. Так, риск возникновения ишемического инсульта среди больных СД составляет 18% для мужчин и 22% – для женщин. Геморрагический инсульт у данной когорты больных наблюдается с той же частотой, что и в общей популяции [165]. Кроме того, СД 2 типа приводит к развитию хронического нарушения мозгового кровообращения, которое, не вызывая очаговой неврологической симптоматики, проявляется когнитивными расстройствами той или иной степени выраженности.

Все это диктует необходимость поиска лекарственных препаратов, которые обладали бы, наряду с основным сахароснижающим действием, дополнительным защитным эффектом в отношении других органов и систем, в частности, головного мозга.



## **1.1 Инкретины и инкретиномиметики: основные физиологические и фармакологические эффекты**

В последние годы все большую эффективность в лечении СД 2 типа демонстрируют препараты из класса инкретинов.

Эндогенные инкретины – это гормоны желудочно-кишечного тракта, вырабатываемые в ответ на поступление пищи и вызывающие стимуляцию секреции эндогенного инсулина [11, 25]. К ним относятся, прежде всего, глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), глюкагоноподобный пептид-2 (ГПП-2), глюкозозависимый инсулиотропный пептид (ГИП). Все они являются продуктами посттрансляционного процессинга генов: ГПП-1 и ГПП-2 – гена проглюкагона, а ГИП – гена проГИП [103]. Биологические эффекты ГПП-1 в настоящий момент наиболее изучены и играют ключевую роль в регуляции углеводного обмена в физиологических условиях.

ГПП-1 секретируется преимущественно энтероэндокринными L-клетками дистальных отделов тонкой кишки [103] и реализует свои эффекты посредством связывания с трансмембранным G-рецептором. Данные рецепторы представлены в различных тканях, включая поджелудочную железу, легкие, сердце, почки, желудок, кишечник и, кроме того, обнаружены во многих регионах головного мозга и в некоторых периферических нейронах [75]. При взаимодействии ГПП-1 с рецептором меняется конформация последнего и повышается уровень внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), что приводит к активации ферментов: протеинкиназы А и цАМФ-активированных обменных протеинов (ЕРАК), которые отвечают за непосредственную реализацию эффектов ГПП-1 [103].

ГПП-1 вызывает секрецию инсулина, угнетает секрецию глюкагона. Важно отметить, что данные эффекты ГПП-1 являются глюкозозависимыми, т.е. реализуются лишь при повышении гликемии и прекращаются при нормализации уровня глюкозы крови. Кроме того, ГПП-1 усиливает транскрипцию гена инсулина, таким образом, стимулируя биосинтез последнего. Важным эффектом ГПП-1 является повышение пролиферации бета-клеток и ингибирование их апоптоза. ГПП-1 замедляет опорожнение желудка, подавляя его моторику [11, 75, 103]. Наконец, проникая через

гемато-энцефалический барьер и взаимодействуя с рецепторами гипоталамуса, ГПП-1 стимулирует возникновение чувства насыщения [59, 125].

Однако эндогенный ГПП-1 очень быстро инактивируется ферментом дипептидилпептидазой-4 (ДПП-4), который присутствует на поверхности эндотелиальных клеток сосудов слизистой оболочки кишечника [75]. Период полужизни ГПП-1 составляет около двух минут [3].

Известно, что при пероральном приеме глюкозы секретируется значительно больше инсулина, чем при внутривенном введении такого же количества глюкозы. Эта разница обусловлена тем, что при всасывании глюкозы в желудочно-кишечном тракте запускается функционирование инкретиновой системы, что, в свою очередь, стимулирует секрецию инсулина бета-клетками поджелудочной железы. Разницу между секрецией инсулина в ответ на пероральную и внутривенную нагрузки глюкозой называют инкретиновым эффектом, который реализуется преимущественно посредством ГИП и ГПП-1 [3, 11]. Предполагается, что именно инкретины, и непосредственно ГПП-1, обеспечивают до 70% постпрандиальной секреции инсулина [3].

Также известно, что при СД 2 типа наблюдается значительное снижение инкретинового эффекта, что имеет место и при других метаболических нарушениях, в том числе, при ожирении, нарушенной толерантности к глюкозе. Снижение инкретинового эффекта проявляется уменьшением инсулинового ответа на прием пищи, что приводит к возрастанию постпрандиальной гликемии [55, 103].

Причины нарушенного инкретинового ответа в настоящий момент продолжают оставаться предметом обсуждений. Сведения о наличии или отсутствии снижения выработки ГИП при СД крайне противоречивы. Различные исследователи описывают сниженную, нормальную или даже повышенную секрецию данного гормона при СД 2 типа [54, 60, 115, 152, 157, 160]. Факт наличия или отсутствия снижения выработки ГПП-1 и возможный вклад данного явления в нарушение инкретинового ответа при СД является предметом еще больших обсуждений. Существуют данные о том, что снижение инкретинового эффекта у пациентов с СД может быть обусловлено хронической гипергликемией, в отсутствие первичного дефекта секреции ГИП или ГПП-1. С другой стороны, описываемые изменения могут быть обусловлены не нарушением выработки гормонов, а снижением сродства ГИП и ГПП-1 к их рецепторам на  $\beta$ -клетках поджелудочной железы в условия гипергликемии [130]. Однако все

большее число ученых сходится во мнении, что СД 2 типа сопровождается снижением выработки ГПП-1 L-клетками [55, 164].

Именно поэтому препараты из класса инкретинов, являющиеся агонистами рецептора ГПП-1, представляются в настоящее время столь перспективными. Существующие на современном фармакологическом рынке инкретиномиметики имеют больший период полужизни, чем эндогенный ГПП-1, в частности, в связи с устойчивостью к действию ДПП-4. Экспериментальные и клинические исследования показали, что этим препаратам присущи упомянутые выше эффекты эндогенного ГПП-1 [5, 11, 125, 184], что позволяет успешно использовать их в лечении СД 2 типа.

## **1.2 Место лираглутида среди агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1**

В настоящий момент в Российской Федерации зарегистрирован ряд агонистов рецептора ГПП-1. Это препараты, применяемые 2 раза в сутки (эксенатид), 1 раз в сутки (лираглутид, ликсисенатид) и 1 раз в неделю (эксенатид длительного действия, дулаглутид). Албиглутид и семаглутид, вводимые так же 1 раз в неделю, не зарегистрированы в России.

Кроме того, в настоящий момент более десятка аналогов ГПП-1 и низкомолекулярных агонистов рецептора ГПП-1 проходят клинические испытания в различных странах мира. Основные направления в разработке и внедрении новых аналогов ГПП-1 сводятся к увеличению интервалов между инъекциями, в частности, до 2 и 4 недель (ITCA 650, Efgrenatide, VRS 859), а также к попытке создания пероральных форм (NN9924, NN9926, NN9927, TTP054, TTP273, ZYOG1, ARI-1732TS) [20, 32]. На стадии исследований находятся молекулы, представляющие собой агонисты сразу нескольких инкретиновых рецепторов, в частности, ГПП-1, ГПП-2, ГИП и др. [32]. Новейшие тенденции в научных исследованиях данного направления связаны с изучением возможности фармакологической стимуляции секреции собственных инкретинов путем воздействия на рецептор GPR119, локализованный на L- и K-клетках кишечника, а также на  $\beta$ -клетках поджелудочной железы. Возможно, в будущем

в классе лекарственных средств с инкретиновой активностью появится новая группа препаратов: агонисты GPR119 рецепторов [1, 17, 24].

20 июня 2018 года компания НовоНордиск заявила об успешном завершении 3а фазы исследования PIONEER 4, в котором производилось сравнение пероральной формы препарата семаглутид, применяемого в виде таблетки 1 раз в сутки, с препаратом для подкожного введения лираглутидом (Виктоза) в лечении пациентов с СД 2 типа, а также исследования PIONEER 7, сравнивающего действие пероральной формы семаглутида с ингибитором ДПП-4 ситаглиптином у аналогичной когорты больных.

PIONEER 4 представляло собой 52-недельное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование эффективности и безопасности семаглутида в дозе 14 мг, в сравнении с лираглутидом 1,8 мг, проводившееся у 711 пациентов с СД 2 типа с неудовлетворительным контролем гликемии на фоне терапии метформином (МЕТ); часть из этих больных также получала ингибитор натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа. Было показано, что пероральная форма семаглутида приводит к снижению гликированного гемоглобина (HbA1C) на 1,3% и 1,2% через 26 и 52 недели терапии, соответственно; лираглутид же вызывал снижение данного показателя на 1,1% и 0,9%, соответственно. Применение семаглутида приводило и к достоверно более выраженной потере массы тела. Установленный Американской диабетологической ассоциацией (ADA) целевой уровень HbA1C менее 7,0% был достигнут у 69% больных, получавших семаглутид, и у 63% пациентов на терапии лираглутидом.

PIONEER 7 представляло собой 52-недельное открытое исследование, в котором производилось сравнение семаглутида в различных дозах, 3, 7 и 14 мг, которые подбирались в зависимости от клинической необходимости, с ингибитором ДПП-4 ситаглиптином в дозе 100 мг у 504 пациентов с СД 2 типа с неудовлетворительным контролем гликемии на фоне терапии 1 или 2 пероральными сахароснижающими препаратами. Было показано, что семаглутид приводит к достоверно более выраженному снижению HbA1C, по сравнению с ситаглиптином, при этом 63% больных, получавших семаглутид, достигли установленного ADA целевого уровня HbA1C менее 7,0%, по сравнению с 28% больных на фоне приема ингибитора ДПП-4. Аналогично, снижение массы тела было достоверно более выраженным у пациентов, получавших семаглутид [147].

В исследовании PIONEER 10 производилось сравнение эффективности пероральной формы семаглутида в дозах 3, 7 и 14 мг с дулаглутидом, агонистом ГПП-1 для подкожного введения 1 раз в неделю, в дозе 0,75 мг. Было выявлено, что применение семаглутида в дозе 14 мг в течение 52 недель приводит к достоверно более выраженному снижению уровня HbA1C и массы тела у больных СД 2 типа, чем дулаглутид 0,75 мг [143].

Таким образом, вероятно, выведение на фармакологический рынок пероральной формы агониста рецепторов ГПП-1 может стать перспективным направлением, сочетающим безопасность, эффективность и удобство применения.

Настоящее исследование направлено на изучение свойств лираглутида (ЛИР), так как из представленных в Российской Федерации инкретиномиметиков только он на 97% гомологичен эндогенному ГПП-1. Эксенатид же и ликсисенатид являются производными эксендина-4, на 53% гомологичного эндогенному ГПП-1 [74, 82, 95]. Кроме того, лираглутид является длительно действующим аналогом ГПП-1 (T<sub>1/2</sub> до 13 часов), в то время как эксенатид и ликсисенатид – это короткодействующие, преимущественно прандиальные, агонисты рецептора ГПП-1 (T<sub>1/2</sub> около 2-4 часов) [35, 97]. Молекула дулаглутида состоит из двух цепей, соединенных дисульфидными связями, каждая из которых представляет собой аналог модифицированного человеческого ГПП-1, ковалентно связанный с фрагментом тяжелой цепи (Fc) модифицированного человеческого иммуноглобулина IgG4 с помощью небольшой полипептидной цепочки. Такие особенности структуры делают молекулу дулаглутида устойчивой к действию ДПП-4 и обеспечивают столь длительный период полужизни (T<sub>1/2</sub> составляет 4,7 дня). Несмотря на описанные характеристики, фрагмент молекулы дулаглутида, являющийся аналогом ГПП-1, только на 90% гомологичен нативному человеческому ГПП-1 [19]. Таким образом, в арсенале представленных в настоящий момент инкретиномиметиков ЛИР обладает наибольшей схожестью с нативным ГПП-1, являясь не только агонистом его рецептора, но и аналогом эндогенного ГПП-1, что позволяет предполагать, что он наиболее полно реализует все эффекты последнего.

В молекуле ЛИР произведена замена аминокислотного остатка лизина на остаток аргинина в позиции 34; кроме того, добавлена цепочка из остатков жирных кислот, содержащая 16 атомов углерода, прикрепленная посредством остатка глутамата к лизину в позиции 26, что дает возможность нековалентного связывания ЛИР

с альбумином плазмы крови, что, в свою очередь, не только придает препарату устойчивость к действию ДПП-4 и противодействует его почечному клиренсу, но также позволяет молекулам ЛИР формировать гептамеры. Данное свойство приводит к замедлению абсорбции препарата из места инъекции и удлиняет период его полужизни в плазме крови, который достигает 13 часов [149, 166, 176].

Известно, что эффективность агонистов рецептора ГПП-1 частично снижается по причине формирования в организме человека антител к ним. В этой связи представляется чрезвычайно важным тот факт, что ЛИР обладает меньшей иммуногенностью, чем другие инкретиномиметики, в частности, эксенатид [38, 48, 123]. В исследовании LEAD-6 (Liraglutide Effect and Action in Diabetes-6) было показано, что у 61% пациентов с СД 2 типа, получавших эксенатид, наблюдалась выработка специфических антител, в то время как терапия ЛИР приводила к формированию антител лишь у 2,6% больных [39, 116].

В последние годы все больший интерес вызывают потенциальные плейотропные эффекты агонистов рецептора ГПП-1, в частности, ЛИР. Появляется все больше экспериментальных данных о кардиопротективном эффекте данной группы препаратов. В то же время, имеющиеся клинические данные и результаты многоцентровых рандомизированных исследований немногочисленны и противоречивы.

### **1.3 Кардиопротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1**

Кардиопротективный эффект инкретиномиметиков был изучен в ряде работ на животных моделях как *in vivo*, так и *ex vivo* [28, 90, 92]. Показано, что при моделировании ишемии миокарда у крыс путем окклюзии левой передней нисходящей артерии на 30 минут, введение албиглутида в дозах 1, 3 и 10 мг/кг в течение трех дней до воспроизведения ишемии дозозависимо уменьшает размер зоны некроза миокарда, улучшает параметры постишемической гемодинамики, а также потребление глюкозы миокардом [28]. При длительном лечении ГПП-1 крыс, перенесших инфаркт миокарда, увеличивается фракция выброса левого желудочка, уменьшаются конечно-

систолический и конечно-диастолический объемы левого желудочка, объем левого предсердия [91].

При анализе рандомизированного плацебо-контролируемого двойного слепого исследования, проводившегося у больных без СД, перенесших инфаркт миокарда с элевацией сегмента ST, было обнаружено, что подкожное введение эксенатида за 15 мин до чрескожной ангиопластики и в течение последующих 6 часов оказывает значимый кардиопротективный эффект, проявляющийся в уменьшении размера некроза миокарда [80]. При исследовании пациентов с ишемической болезнью сердца без СД было доказано, что применение инкретиномиметика ГПП-1(7-36)амида улучшает сократительную функцию миокарда [155].

Анализ другого двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования показал, что внутривенное введение эксенатида по 6 часов в течение 2 дней пациентам с СД 2 типа и сердечной недостаточностью II-IV ф.кл. позволяет улучшить параметры гемодинамики, а именно увеличить сердечный индекс и снизить давление заклинивания в легочной артерии [68].

В исследовании SUSTAIN-6 (The Semaglutide Unabated Sustainability in Treatment of Type 2 Diabetes) изучалась кардиоваскулярная безопасность терапии семаглутидом в дозах 0,5 и 1,0 мг в течение 104 недель, по сравнению с плацебо, у пациентов с СД 2 типа, получавших стандартную сахароснижающую терапию на момент рандомизации. Было выяснено, что применение семаглутида у больных с СД 2 типа, имеющих высокий кардиоваскулярный риск, приводит к снижению смертности по сердечно-сосудистым причинам, частоты нефатального инфаркта миокарда и нефатального инсульта, что абсолютно подтвердило безопасность препарата (non-inferiority), и даже обозначило его преимущества [163].

Отсутствие повышения кардиоваскулярного риска при применении агониста рецептора ГПП-1 было продемонстрировано также в исследовании ELIXA (The Evaluation of Lixisenatide in Acute Coronary Syndrome), в котором оценивалась безопасность («non-inferiority») и потенциальные преимущества («superiority») добавления ликсисенатида к стандартной сахароснижающей терапии у пациентов, страдающих СД 2 типа, перенесших инфаркт миокарда или госпитализированных по поводу нестабильной стенокардии в течение 180 дней до рандомизации. В ходе проспективного наблюдения оценивались такие показатели как сердечно-сосудистая

смертность, инфаркт миокарда, инсульт или повторная госпитализация по поводу нестабильной стенокардии. Было показано, что терапия ликсисенатидом в течение 25 месяцев не ухудшает сердечно-сосудистого прогноза, однако защитный эффект данного препарата выявлен не был [124].

Наконец, исследование EXSCEL (Exenatide Study of Cardiovascular Event Lowering Trial) подразумевало оценку безопасности и эффективности применения эксенатида длительного действия, вводимого 1 раз в неделю, у пациентов с СД 2 типа, имеющих или не имеющих предсуществующую сердечно-сосудистую патологию. Среди включенных в исследование пациентов 73,1% имели какое-либо сердечно-сосудистое заболевание на момент рандомизации. Терапия эксенатидом продолжалась в среднем 3,2 года. Частота наступления комбинированной первичной конечной точки, которая включала смерть по сердечно-сосудистой причине, или нефатальный инфаркт миокарда, или нефатальный инсульт, статистически достоверно не различалась на фоне применения эксенатида или плацебо, что позволило подтвердить кардиоваскулярную безопасность препарата («non-inferiority»). В то же время, описываемое исследование не обнаружило у эксенатида длительного действия самостоятельного протективного эффекта. Частота смерти по сердечно-сосудистой причине, фатального или нефатального инфаркта миокарда, фатального или нефатального инсульта, госпитализации по поводу сердечной недостаточности или по поводу острого коронарного синдрома, достоверно не различались между двумя группами [72].

### ***1.3.1 Кардиопротективный эффект лираглутида***

#### *Экспериментальные данные*

В литературе представлен ряд сведений о кардиопротективном эффекте аналога эндогенного ГПП-1 лираглутида.

М.Н. Noyan-Ashraf с соавторами исследовали потенциальное кардиопротективное действие ЛИР у мышей без СД и с экспериментальным СД 2 типа в условиях ишемии миокарда. ЛИР вводился здоровым животным в течение 7 дней до ишемии, которая моделировалась посредством перманентного лигирования левой передней нисходящей



артерии. Кроме того, авторы изучали защитный эффект 7-дневной терапии ЛИР до воспроизведения ишемии миокарда по описанной выше методике, в сравнении с МЕТ или плацебо, у мышей с экспериментальным СД 2 типа, смоделированным содержанием животных на высокожировой диете в течение 4 недель с последующим введением стрептозотоцина. Послеоперационное наблюдение продолжалось 28 дней. Применение ЛИР у животных без СД повышало выживаемость после инфаркта миокарда, уменьшало объем некроза и выраженность проявлений гипертрофии сердечной мышцы. Аналогично, лечение ЛИР мышей с экспериментальным СД 2 типа повышало выживаемость, по сравнению с плацебо, чего не наблюдалось на фоне применения МЕТ, несмотря на сходно удовлетворительный контроль гликемии. В то же время, важно отметить, что авторы не выявили инфаркт-лимитирующего действия ЛИР или уменьшения выраженности гипертрофии миокарда у мышей с СД 2 типа, получавших ЛИР [90].

Qian Zhang с соавторами в 2018 году исследовали защитный эффект ЛИР у крыс Sprague–Dawley на фоне моделирования экспериментального СД 2 типа. Последний воспроизводился путем содержания животных на высокожировой диете в течение 4 недель с последующим введением стрептозотоцина 30 мг/кг. Часть животных в дальнейшем получала 0,9% раствор NaCl, часть – ЛИР в малой дозе 0,2 мг/кг/день, часть – высокодозную терапию ЛИР (0,4 мг/кг/день) в течение 12 недель. Авторы показали, что применение ЛИР позволяет уменьшить проявления инсулинорезистентности, приводит к нарастанию уровня адипонектина, оксида азота, а также достоверно улучшает функцию левого желудочка у крыс с СД 2 типа [121].

### *Клинические данные*

В 2016 году были опубликованы результаты исследования, проведенного W.R. Chen с соавторами, в котором изучалась эффективность и безопасность применения ЛИР у 96 больных с инфарктом миокарда с элевацией ST на фоне проведения экстренного чрескожного коронарного вмешательства. ЛИР вводился подкожно в дозе 1,8 мг за 30 минут до вмешательства и в дальнейшем в течение 7 дней после процедуры (0,6 мг первые 2 дня, 1,2 мг последующие 2 дня, затем в дозе 1,8 мг в течение 3 дней). Через 3 месяца пациенты, получавшие ЛИР, имели больший индекс спасения миокарда, вычисляемый посредством оценки зоны риска при выполнении

магнитно-резонансной томографии (МРТ), чем больные, получавшие плацебо. Кроме того, конечный объем некроза миокарда в группе ЛИР был меньше такового в группе плацебо. Дальнейшее наблюдение в течение 6 месяцев показало, что частота кардиоваскулярных событий не отличалась в описываемых двух группах [71].

T. Nozue с коллегами в 2016 году произвели ретроспективный анализ эффективности применения ЛИР, в сравнении со стандартной сахароснижающей терапией, у пациентов с СД 2 типа и инфарктом миокарда, перенесших успешное чрескожное коронарное вмешательство. Изучались результаты МРТ, выполненной в остром периоде инфаркта и через 6 месяцев после него. Через 6 месяцев после события у пациентов, получавших стандартную терапию, наблюдалось нарастание конечно-систолического и конечно-диастолического объема левого желудочка, в то время как оно отсутствовало у больных, применявших ЛИР. Индекс массы миокарда левого желудочка был достоверно меньше в группе ЛИР как в исходной точке, так и через 6 месяцев после перенесенного инфаркта, по сравнению с таковым в группе стандартной терапии. Полученные данные позволили авторам сделать вывод о том, что применение ЛИР способно предотвращать прогрессирование ремоделирования левого желудочка у пациентов с СД 2 типа, перенесших чрескожное коронарное вмешательство по поводу инфаркта миокарда [69].

В то же время, ряд исследователей указывает на отсутствие у ЛИР достоверного кардиопротективного эффекта. В 2017 году были опубликованы результаты LIVE (The effect of Liraglutide on left Ventricular function), мультицентрового двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования, изучавшего влияние ЛИР на функцию левого желудочка у пациентов с хронической сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса, страдающих или не страдающих СД 2 типа [63]. Применение ЛИР в течение 24 недель как у пациентов с СД 2 типа, так и без него, не привело ни к уменьшению ремоделирования левого желудочка (имела место статистически не достоверная отрицательная динамика в виде усиления дилатации левого желудочка), ни к изменению класса сердечной недостаточности по New York Heart Association Functional Classification (NYHA) или качества жизни. Одно из возможных объяснений данных феноменов заключается в наличии у ЛИР положительного хронотропного эффекта, который был ранее описан и для других инкретиномиметиков и обусловлен прямой стимуляцией данными препаратами рецепторов ГПП-1, расположенных в сино-атриальном узле [89].

Отдельного внимания заслуживают результаты двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного исследования FIGHT (Functional Impact of GLP-1 for Heart failure Treatment), в котором ЛИР применялся у больных с хронической сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса (25 (19; 33) %), госпитализированных по поводу сердечной недостаточности. 52% пациентов страдали СД 2 типа. ЛИР назначался в первоначальной дозе 0,6 мг/сутки с последующей титрацией дозы до 1,8 мг/сутки; данная терапия продолжалась 6 месяцев. Первичной конечной точкой являлся так называемый суммарный ранговый балл, который рассчитывался исходя из времени до летального исхода, срока до повторной госпитализации и динамики уровня NT-proBNP (N-терминальный фрагмента мозгового натрийуретического пептида) от начала до конца исследования; большее значение данного суммарного показателя характеризовало лучший исход. Терапия ЛИР достоверно не влияла ни на суммарный ранговый балл, ни в отдельности на каждый из показателей. При отдельном анализе группы больных, страдающих СД 2 типа, были получены аналогичные результаты. Таким образом, данное исследование не выявило у ЛИР самостоятельного протективного эффекта при применении его у больных с сердечной недостаточностью; в то же время, была доказана сердечно-сосудистая безопасность препарата («non-inferiority») [70].

Чрезвычайно важные результаты оценки сердечно-сосудистой безопасности и эффективности ЛИР были получены в двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании LEADER (Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of cardiovascular outcome Results). Все пациенты, включенные в исследование, страдали СД 2 типа и имели  $HbA1C \geq 7,0\%$ . Критериями включения было отсутствие сахароснижающей терапии на момент рандомизации, либо прием одного и более перорального сахароснижающего препарата и/или инсулинотерапия. В исследование были включены пациенты старше 50 лет, имеющие как минимум одно верифицированное сердечно-сосудистое заболевание (ССЗ), страдающие хронической сердечной недостаточностью II-III функционального класса по NYHA или хронической болезнью почек  $\geq$  III стадии). Другая группа пациентов включала лиц старше 60 лет, отвечающих одному из следующих критериев: наличие микроальбуминурии или протеинурии, артериальной гипертензии и гипертрофии левого желудочка, систолической или диастолической дисфункции левого желудочка, либо лодыжечно-

плечевого индекса менее 0,9. Рандомизацию прошли 9340 пациентов, при этом 81% из них имели ССЗ. Было показано, что лечение ЛИР в течение 3,5 лет достоверно положительно влияет на так называемую главную конечную точку – срок до наступления любого из следующих событий: смерть по сердечно-сосудистым причинам, нефатальный инфаркт миокарда и нефатальный инсульт. Терапия ЛИР приводила к уменьшению частоты общей смертности, преимущественно за счет снижения сердечно-сосудистой смертности. При этом у пациентов, уже имевших ССЗ на момент рандомизации, протективный эффект ЛИР был более выраженным. Значимых различий в частоте нефатальных инфарктов миокарда и инсультов, а также госпитализации по поводу сердечной недостаточности, в группах ЛИР и плацебо не было [118]. Таким образом, исследование LEADER продемонстрировало наличие у ЛИР не только сердечно-сосудистой безопасности, но и эффективности (“superiority”), при применении его у больных СД 2 типа, прежде всего, с отягощенным сердечно-сосудистым анамнезом [23].

#### **1.4 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1**

Несмотря на наличие отдельных работ, освещающих кардиопротективный эффект инкретиномиметиков, в частности, ЛИР, сведения о нейропротективном эффекте данной группы лекарственных средств крайне скудны. Имеются единичные экспериментальные работы, демонстрирующие защитный эффект агонистов рецептора ГПП-1 в отношении головного мозга, клинические же исследования практически не проводились.

В то же время, рецепторы к ГПП-1 широко представлены в различных отделах головного мозга. Наибольшая плотность данных рецепторов находится в лобной коре, таламусе, гипоталамусе, гиппокампе, мозжечке и черной субстанции [34], т.е. основных регионах, ответственных за регуляцию энергетического гомеостаза и автономных функций. В гипоталамусе описываемые рецепторы представлены преимущественно в дугообразном (связанным с регуляцией аппетита), паравентрикулярном (синтезирующим окситоцин, который снижает аппетит, и соматостатин, замедляющий

моторику желудка), дорсомедиальном (отвечающем за регуляцию артериального давления и частоты сердечных сокращений) и супрахиазматическом (формирующем циркадные ритмы) ядрах. Рецепторы ГПП-1 представлены в дорсальном комплексе блуждающего нерва, особенно в ядре солитарного тракта, и в меньшей степени – в субфурникальном органе и *area postrema* (хеморецепторном отделе ствола мозга, ответственном за развитие рвотного рефлекса) [17, 44]. Известно, что посредством взаимодействия с рецепторами в головном мозге ГПП-1 способствует формированию чувства насыщения; кроме того, снижая активность блуждающего нерва, ингибирует моторику желудка, работу желудочных желез и выделение панкреатического сока [85]. Однако, помимо хорошо известных центральных эффектов ГПП-1, такая широкая распространенность его специфических рецепторов в различных регионах головного мозга создает предпосылки к реализации и потенциального плейотропного нейропротективного эффекта, в основе которого, по крайней мере, отчасти, также лежит взаимодействие молекулы ГПП-1 с G-белковым трансмембранным рецептором [75, 111].

Кроме того, рецепторы ГПП-1 обнаружены в эндотелии сосудов [135], что представляется важным в связи с тем, что его эндотелиопротективные свойства могут вносить определенный вклад в механизмы защиты головного мозга, в частности, в условиях ишемического повреждения. Имеются единичные данные о том, что ГПП-1 улучшает функцию эндотелия при СД [67, 179.], в частности, за счет усиления антиоксидантного потенциала эндотелиоцитов [93].

#### ***1.4.1 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 при нейродегенеративных заболеваниях***

Наряду с СД 2 типа, нейродегенеративные заболевания представляют собой неуклонно растущую проблему, затрагивающую медицинские, социальные и экономические аспекты. В то же время, средств патогенетической терапии нейродегенеративных заболеваний мало, и их поиск представляет собой большую трудность для современной фармакологии и науки в целом. В 2012 году в США было проведено эпидемиологическое исследование, которое продемонстрировало связь

между СД 2 типа и рядом нейродегенеративных патологий, в том числе болезнью Альцгеймера и Паркинсона. Ученые доказали, что у всех вышеперечисленных нозологий существуют общие патогенетические механизмы, включающие оксидативный стресс, инсулинорезистентность, аномальный процессинг протеинов, в том числе, в клетках мозга [138].

Кроме того, известно, что наличие СД само по себе увеличивает вероятность развития болезни Альцгеймера и Паркинсона [101, 102]. Повышенный риск нейродегенеративных заболеваний и инсульта у больных 2 типом диабета подразумевает, что сходные механизмы клеточной гибели, вероятно, связанные с инсулиновой дисрегуляцией, имеют место при данных патологиях [102].

Долгое время считалось, что головной мозг является инсулиннезависимым органом, не имеющим рецепторов к инсулину и утилизирующим глюкозу без его участия. Однако в настоящее время доказано, что ткань мозга экспрессирует инсулиновые рецепторы, взаимодействуя с которыми инсулин не только участвует в регуляции транспорта глюкозы и ее метаболизма, но также оказывает прямой регуляторный эффект в отношении роста нейритов, нейрогенеза, синаптической пластичности, и реализует свой антиапоптотический потенциал, в том числе, в условиях оксидативного стресса [13].

При болезни Альцгеймера, даже в отсутствии СД, наблюдается десенситизация инсулиновых рецепторов в головном мозге. Показано, что агонисты рецептора ГПП-1 способствуют восстановлению чувствительности инсулиновых рецепторов во всех органах и тканях, в том числе, в мозге. Кроме того, при болезни Альцгеймера, ввиду снижения чувствительности инсулиновых рецепторов, в головном мозге возникает относительная инсулиновая недостаточность. В результате эффекты инсулина реализуются неполноценно. В этой связи особенно важна способность ГПП-1 оказывать влияние как фактор роста, сходное с влиянием инсулина [101].

Проводилось множество исследований эффектов ГПП-1 и его длительно действующих аналогов на клеточных и животных моделях болезни Альцгеймера, Паркинсона, бокового амиотрофического склероза и других дегенеративных заболеваний. Было показано, что ГПП-1 и инкретиномиметики защищают синапсы и ускоряют синаптическую передачу, улучшают нейрогенез, усиливают дифференцировку нейронов, индуцированную фактором роста нервов, подавляют апоптоз, защищают

нейроны от оксидативного стресса, уменьшают формирование хронического воспалительного ответа в головном мозге при нейродегенеративных заболеваниях [98, 101, 138].

Были проведены и единичные клинические исследования эффективности инкретиномиметиков при нейродегенеративных заболеваниях.

В работе I. Aviles-Olmos и коллег [77] освещена безопасность и эффективность применения эксендина-4 в течение 12 месяцев у пациентов с болезнью Паркинсона. Авторы наблюдали улучшение моторной функции и когнитивного статуса на фоне применения инкретиномиметика.

M. Gejl с соавторами изучали эффективность применения ЛИР в течение 26 недель у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера. Было показано, что метаболизм глюкозы во всех отделах головного мозга, оцениваемый при помощи позитронно-эмиссионной томографии, снизился в группе плацебо за время наблюдения, в то время как лечение ЛИР привело к численно выраженному, однако статистически не достоверному (возможно, в связи с малым объемом выборки больных: 18 человек в группе лираглутида, 20 – в группе плацебо) усилению метаболизма глюкозы через 6 месяцев. Данное явление, по мнению авторов, может косвенно свидетельствовать о снижении выраженности синаптической дисфункции и о замедлении прогрессирования заболевания. В то же время, изменений в когнитивном статусе выявлено не было [108].

Требуются дальнейшие клинические исследования для всесторонней оценки потенциальной эффективности инкретиномиметиков у пациентов, страдающих нейродегенеративными заболеваниями.

#### ***1.4.2 Нейропротективный эффект агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 при ишемии головного мозга***

Существует ряд работ, в которых продемонстрировано защитное действие агонистов рецептора ГПП-1 в условиях фокальной ишемии головного мозга у животных [43, 81, 94, 101, 102, 138].

В исследовании S. Teramoto и соавторов [81] воспроизводилась транзиторная 60-минутная фокальная ишемия головного мозга мыши путем эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии при помощи монофиламентной методики [156]. Непосредственно после ишемии, а также через 1 и 3 часа реперфузии внутривенно вводился эксендин-4. Использовались четыре различные дозы препарата: 0,005, 0,05, 0,5 и 2,5 мг/кг массы тела. Мыши контрольной группы получали физиологический раствор в тех же дозах и в том же режиме. Через 24 часа, 72 часа и через 7 дней определялась выраженность неврологического дефицита и затем производилось извлечение головного мозга для оценки объема повреждения путем окраски срезов раствором крезила фиолетового прочного. Авторы показали, что эксендин-4 в дозах 0,5 и 2,5 мг/кг значительно уменьшает размер повреждения мозга, по сравнению с контролем. Наибольший эффект наблюдался при введении препарата непосредственно после моделирования ишемии. Кроме того, у мышей, получавших эксендин-4 в вышеуказанных дозах, выраженность неврологического дефицита во всех точках измерения была достоверно меньше, по сравнению с контролем.

Не менее показательно исследование, проведенное в 2012 году V. Darsalia с соавторами [94]. Крысам с СД 2 типа линии Goto-Kakizaki в течение 4 недель внутрибрюшинно вводился эксендин-4 в дозах 0,1, 1 и 5 мкг/кг 2 раза в день, что сопоставимо с дозами, используемыми для лечения СД 2 типа у человека, в пересчете на массу тела. По прошествии 4 недель производилось моделирование транзиторной 90-минутной фокальной ишемии головного мозга. После моделирования ишемии, инъекции эксендина-4 продолжались еще в течение 2 или 4 недель в прежних дозах, затем оценивался объем повреждения мозга. Было отмечено, что эксендин-4 в дозе 5 мкг/кг достоверно уменьшает размер повреждения, по сравнению с контролем. Разницы в нейропротективном эффекте препарата при введении его в течение 2 или 4 недель после ишемии получено не было.

По представленным в мировой литературе данным, прицельная оценка самостоятельного нейропротективного эффекта инкретиномиметиков в отношении профилактики и/или улучшения восстановления после инсульта у людей не производилась. Как указывалось выше, в настоящее время завершен ряд мультицентровых исследований, описывающих кардиоваскулярную безопасность различных агонистов рецептора ГПП-1, в том числе оценивающих частоту развития



нефатального инсульта и смерти от сердечно-сосудистых причин [175]. По результатам данных исследований, семаглутид оказался единственным агонистом рецептора ГПП-1, способным снижать частоту возникновения инсульта при СД 2 типа. В то же время, работы, оценивающие влияние инкретиномиметиков на так называемые «суррогатные» конечные точки, исследующие воздействия данной группы препаратов на выраженность хронического нарушения мозгового кровообращения, практически не представлены.

### ***1.4.3 Нейропротективный эффект лираглутида***

Экспериментальное и клиническое изучение нейропротективного эффекта ЛИР представляется чрезвычайно перспективным ввиду высокой степени гомологичности препарата эндогенному ГПП-1, как указывалось выше. Имеются единичные экспериментальные исследования защитного эффекта ЛИР при введении его до или после моделирования ишемии у животных без СД и с экспериментальным СД 2 типа.

#### ***1.4.3.1 Применение лираглутида у животных без сахарного диабета***

Исследование потенциального нейропротективного эффекта ЛИР у животных без СД представляется чрезвычайно важным, так как позволяет оценить защитное влияние препарата вне зависимости от его воздействия на гликемический профиль.

Описан нейропротективный эффект ЛИР при введении его после моделирования ишемии головного мозга у крыс. Так, Н. Zhu с коллегами производили моделирование перманентной электрокоагуционной фокальной ишемии головного мозга в бассейне левой средней мозговой артерии крыс Sprague Dawley. Введение ЛИР в дозе 100 мкг/кг осуществлялось через 1 час после выполнения манипуляции и затем продолжалось в течение 1 или 3 дней 1 раз в день в прежней дозе. Неврологическая и морфологическая оценка объема повреждения мозга осуществлялись на 3 день. Было показано, что применение ЛИР в течение 3 дней уменьшает выраженность неврологического дефицита и оказывает инфаркт-лимитирующее действие [178].

В 2013 году К. Sato с соавторами воспроизводили транзиторную фокальную ишемию головного мозга крыс в течение 90 минут [139]. Через 1 час реперфузии внутрибрюшинно вводился ЛИР в дозе 700 мкг/кг или физиологический раствор. Через 1 час и через 24 часа реперфузии изучалась выраженность неврологического дефицита, через 24 часа производилось извлечение мозга для оценки объема повреждения. Авторы показали, что терапия ЛИР достоверно уменьшает выраженность неврологического дефицита и объем некроза мозга, по сравнению с введением физиологического раствора. Похожие результаты были получены в исследовании Р. Lu и соавт. (2017) [122]. Введение ЛИР непосредственно в начале реперфузии в дозах 0,5 или 0,7 мг/кг позволяло уменьшить выраженность неврологического дефицита и число поврежденных нейронов в зоне пенумбры.

Таким образом, ряд исследователей описал способность ЛИР ограничивать объем повреждения головного мозга при введении его после экспериментальной ишемии в отсутствие СД, что подтверждает наличие у препарата нейропротективного действия, не связанного с влиянием на гликемический профиль, при использовании его в качестве агента посткондиционирования. В то же время, не менее важным представляется изучение потенциального защитного действия препарата при введении его до ишемии, ведь именно профилактические мероприятия являются в настоящее время одним из ключевых направлений развития медицины. Подобные работы у животных без СД не проводились.

#### *1.4.3.2 Применение лираглутида у животных с экспериментальным сахарным диабетом*

Имеются данные о защитном действии ЛИР при применении его ДО моделирования ишемии у крыс с СД.

S. Briyal с соавторами производили моделирование стрептозотоцинового СД у крыс Sprague-Dawley. В дальнейшем крысам экспериментальной группы назначалась терапия ЛИР в дозе 50 мкг/кг подкожно в течение 14 дней до моделирования транзиторной фокальной ишемии головного мозга путем окклюзии средней мозговой

артерии. Крысы группы сравнения вместо ЛИР получали физиологический раствор. Через 24 часа после моделирования ишемии производилась оценка неврологического дефицита, а также оценивались объем повреждения и маркеры оксидативного стресса и апоптоза. Применение ЛИР позволило уменьшить выраженность неврологического дефицита и объем повреждения мозга, а также снизить экспрессию маркеров оксидативного стресса и про-апоптотического белка Вах и повысить экспрессию антиапоптотического Bcl-2 [41, 42].

В ряде исследований проводили оценку защитного эффекта ЛИР при применении его ПОСЛЕ моделирования ишемии головного мозга в условиях экспериментального СД.

Так, в работе P. Li с соавторами в 2016 году на модели транзиторной 60-минутной фокальной ишемии головного мозга у мышей с СД линии db/db оценивали эффект эксендина-4 и ЛИР, вводимых в концентрации 0,1 мг/мл внутривентриально в течение 0, 3, 6 или 12 часов реперфузионного периода. Как эксендин-4, так и ЛИР продемонстрировали нейропротективный эффект, проявлявшийся в снижении содержания ядерного фактора-каппаВ и межклеточных молекул адгезии-1 в головном мозге, значимых различий между препаратами не было. При этом данный защитный эффект был более выражен при применении препаратов в течение 12 часов [174].

Однако описанные выше работы не позволяют в полной мере исключить взаимосвязь между нейропротективным эффектом инкретиномиметика и его положительным влиянием на углеводный обмен. В случаях, когда в качестве контрольной группы выступают животные с СД, не получающие сахароснижающей терапии, а следовательно, имеющие гипергликемию, само по себе достижение эугликемии на фоне применения любого сахароснижающего препарата может оказать определенный защитный эффект в отношении головного мозга. В этой связи представляется чрезвычайно важным проведение исследования нейропротективного эффекта ЛИР в сравнении его с потенциальным эффектом другого сахароснижающего препарата, нормализующего углеводный обмен, не вызывая при этом гипогликемии, которая сама по себе может оказывать повреждающее действие на ЦНС. Подобные работы ранее не выполнялись.

### *1.4.3.3 Клинические данные о нейропротективном эффекте лираглутида*

Как указывалось ранее, клинические данные о нейропротективном эффекте агонистов рецептора ГПП-1 и, в частности, ЛИР, крайне немногочисленны. Фактически, это лишь исследование LEADER [118], показавшее отсутствие достоверных различий в частоте нефатального инсульта и снижении показателей сердечно-сосудистой смертности при лечении ЛИР. Столь скудные клинические данные о потенциальном нейропротективном эффекте ЛИР и отсутствие достоверных сведений о его влиянии на хроническое нарушение мозгового кровообращения, частое среди больных с СД 2 типа, диктует необходимость проведения исследований с использованием «суррогатных» конечных точек, с отслеживанием динамики клинических и лабораторных маркеров, отражающих структурное и функциональное состояние головного мозга.

Известно, что механизмы, лежащие в основе развития манифестных ишемических инсультов и так называемых «немых» инсультов, или микроинсультов, имеющих место при СД 2 типа и, вероятно, являющихся основой формирования хронического нарушения мозгового кровообращения и когнитивных нарушений, принципиально сходны. Это прежде всего оксидативный стресс и усиление перекисного окисления липидов, воспаление, а также дегенерация дендритов [106, 141]. В этой связи представляется обоснованной оценка динамики уровня циркулирующих маркеров нейроглиального повреждения у пациентов с СД 2 типа, даже в условиях отсутствия перенесенных верифицированных ишемических инсультов. Наиболее показательными маркерами нейроглиального повреждения являются нейронспецифическая енолаза (NSE) и белок S100.

## **1.5 Маркеры нейроглиального повреждения**

### *1.5.1 Нейронспецифическая енолаза*

Нейронспецифическая енолаза представляет собой цитоплазматический гликолитический фермент, обнаруживаемый в нейронах и тканях нейроэндокринного

происхождения, таких как мозговое вещество надпочечников, парафолликулярные С-клетки щитовидной железы. Изоформа  $\gamma\gamma$  является преимущественно нейрональной [51, 109]. В клинической практике NSE широко используется в качестве онко-маркера, прежде всего, мелкоклеточного рака легкого [53, 188]. Концентрация NSE повышается в системном кровотоке и в цереброспинальной жидкости в результате повреждения нейронов различного генеза. Ряд исследований выявило нарастание NSE в условиях нейродегенеративных процессов, гипоксического или ишемического повреждения головного мозга, травматического поражения ЦНС [51, 100]. S-S. Zheng с коллегами описали повышение NSE у пациентов с СД 2 типа, перенесших внутримозговое кровоизлияние, и различия в уровне данного маркера на фоне различных вариантов терапии [110]. Исследование концентрации NSE у пациентов с СД 2 типа и без него, перенесших ишемический инсульт, показало, что данный маркер является лабораторным предиктором, определяющим прогноз восстановления после мозгового события, вне зависимости от наличия СД [151].

В то же время, данные о повышении NSE у пациентов с СД в отсутствие достоверно зафиксированного значимого поражения ЦНС (ишемического инсульта, кровоизлияния) крайне скудны.

X. Shang с коллегами исследовали уровень NSE и других известных онкомаркеров, таких как СА-19-9, СА-72-4 и раковый эмбриональный антиген у пациентов с СД и без него, не имеющих онкопатологии. Было выяснено, что все указанные онкомаркеры были повышены при СД и степень повышения NSE не коррелировала с уровнем HbA1C [180].

S.A. Named с соавторами показали, что уровень NSE в крови у пациентов с СД 2 типа повышен, по сравнению со здоровыми людьми, и не зависит от степени контроля гликемии или вида получаемой сахароснижающей терапии. Авторы обнаружили, что степень выраженности когнитивного дефицита у данной когорты больных коррелирует с уровнем NSE и также не зависит от степени контроля гликемии на момент обследования. Авторы заключили, что в условиях длительно существующего нарушения углеводного обмена, имеющего место при СД 2 типа, наблюдается прямое повреждение ЦНС, характеризующееся повышением NSE и когнитивным снижением [140].

Крайне противоречивые данные были получены H.S. Sandhu и коллегами в 2008 году. Авторы показали, что уровень матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК)

нейронспецифической енолазы у пациентов с СД достоверно выше такового у здоровых людей. Однако, пациенты с СД, страдающие диабетической нейропатией, имели более низкий уровень мРНК NSE, чем больные СД без нейропатии и чем здоровые люди, что, на наш взгляд, трудно объяснимо и требует дальнейшего изучения. Пациенты с СД и нейропатией, имеющие сопутствующую препролиферативную или пролиферативную ретинопатию, имели значимо более высокий уровень NSE, чем больные СД с нейропатией и ретинопатией начальной стадии. Авторы заключили, что уровень мРНК NSE снижен при диабетической ретинопатии, при этом являясь чувствительным маркером, позволяющим отдифференцировать начальную стадию диабетической ретинопатии от более поздних стадий у пациентов с СД и нейропатией [129].

Данные, противоположные представленным выше, были получены в работе, выполненной в 2013 году J. Li с коллегами, в которой оценивался уровень NSE у пациентов с СД 1 и 2 типа с явлениями диабетической нейропатии или без нее. Авторы обнаружили, что уровень NSE незначительно, однако статистически достоверно, выше у людей, страдающих СД, по сравнению со здоровыми лицами. В то же время, среди пациентов с СД уровень NSE значимо выше у больных, имеющих проявления диабетической нейропатии. Была обнаружена положительная корреляционная связь между концентрацией NSE и выраженностью нейропатии, которая не зависела от степени контроля гликемии на момент исследования, уровня HbA1C, длительности анамнеза СД или типа СД [146].

Та же группа авторов исследовала взаимосвязь между повышением NSE и проявлениями диабетической ретинопатии. Известно, что диабетическая ретинопатия представляет собой нейроваскулярную патологию, ранние проявления которой включают в себя нейродегенеративный компонент. В этой связи авторы предположили возможное повышение NSE в условиях диабетической ретинопатии. В исследовании принимали участие пациенты с СД 1 и 2 типа, а также здоровые добровольцы; лица с проявлениями диабетической нейропатии, ассоциированной с повышением NSE, как было показано ранее [146], не были включены в исследование. Ученые выявили корреляцию между степенью повышения NSE и стадией ретинопатии, вне зависимости от других факторов, характеризующих углеводный обмен (уровень гликемии, HbA1C, длительность СД) [145].

Таким образом, большинство исследователей, занимающихся вопросом поражения ЦНС при СД 2 типа, сходятся во мнении, что уровень NSE повышен при СД, вне зависимости от длительности заболевания или контроля гликемии. Кроме того, нарастание данного маркера коррелирует с выраженностью хронических осложнений СД, таких как нейропатия и ретинопатия. Однако сведения крайне скудны, и требуется дальнейшее изучение этой проблемы для полноценного понимания взаимосвязи данного биохимического показателя и нарушений углеводного обмена.

### ***1.5.2 Белок S100***

Белки семейства S100 представляют собой кальций-связывающие протеины, принимающие участие в различных внутриклеточных процессах, таких как клеточный рост и дифференцировка, регуляция клеточного цикла, транскрипция. Белки этого семейства имеют выраженную клеточную и тканевую специфичность и играют определенную роль в развитии ряда патологий, в частности, ревматоидного артрита, кардиомиопатии, онкопатологии [99, 162, 183]. Белок S100B экспрессируется преимущественно в астроцитах и оказывает паракринный трофический эффект в отношении нейронов [113]. Большую роль играет внеклеточная концентрация данного белка. Так, наномолярные концентрации S100B оказывают трофическое действие, в то время как патологическое повышение его концентрации приводит к активации нейроглии, что является одним из звеньев патогенеза болезни Альцгеймера [52]. Повышение уровня белка S100 наблюдается при повреждении ЦНС различного генеза, в частности, при ишемии, при травматических поражениях головного мозга, субарахноидальных кровоизлияниях, а также при нейродегенеративных патологиях [99].

Убедительных данных о нарастании белка S100 при СД не представлено. G. Çatlı с соавторами обнаружили повышение S100 при диабетическом кетоацидозе при отсутствии достоверного повышения данного маркера у больных с СД 1 типа без кетоацидоза и у здоровых людей [40].

Несмотря на отсутствие исследований, направленных на изучение уровня белка S100 при СД 2 типа, данное направление представляется перспективным, ввиду

предположительного поражения нейроглии в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения, с высокой частотой наблюдающегося у данной когорты больных.

Таким образом, экспериментальные и клинические данные о потенциальном нейропротективном эффекте агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида крайне немногочисленны. В то же время, частота острого и хронического нарушения мозгового кровообращения у пациентов, страдающих СД 2 типа, значимо выше, чем в общей популяции, и потенциальное обнаружение у сахароснижающего препарата дополнительного защитного действия в отношении ЦНС представляется крайне важным и перспективным.



## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой и кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова и включало клиническую и экспериментальную части.

#### 2.1 Клиническое исследование

##### *2.1.1 Критерии включения и исключения*

В исследование были включены мужчины и женщины от 45 до 75 лет с СД 2 типа (n=64). У всех пациентов имел место неудовлетворительный контроль гликемии (HbA1C от 7,5 до 9,0%) на фоне монотерапии метформином (МЕТ). Исследование инициировалось у больных, получавших до 2 000 мг МЕТ в сутки (включительно), с тем, чтобы была возможна титрация дозы препарата в дальнейшем.

Все пациенты получали фиксированную антигипертензивную и гиполипидемическую терапию в течение не менее 3 месяцев до начала данного проекта. В ходе исследования указанная терапия не корректировалась. Спектр антигипертензивных препаратов был ограничен следующими группами: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента/блокаторы рецепторов ангиотензина II, блокаторы кальциевых каналов, диуретики. Гиполипидемическая терапия была представлена группой статинов. Такое ограничение сопутствующей терапии было обусловлено стремлением максимально лимитировать возможные лекарственные влияния на функцию эндотелия и ЦНС.

Пациентам разъяснялась суть исследования, потенциальные риски. У всех больных было получено письменное информированное согласие на участие в проекте.

В исследование не были включены пациенты с какими-либо сопутствующими патологиями, кроме ожирения, гипертонической болезни и дислипидемии.

*Критерии невключения* представлены ниже:

- Сахарный диабет 1 типа.
- Прием МЕТ в дозе более 2000 мг/сут или других сахароснижающих препаратов, в т.ч. инсулинотерапия.
- Неконтролируемая артериальная гипертензия на момент включения в исследование.
- Ишемическая болезнь сердца (ИБС).
- Нарушения ритма и проводимости, требующие медикаментозной коррекции.
- Хроническая сердечная недостаточность III–IV функционального класса.
- Тяжелые хронические осложнения СД (синдром диабетической стопы, диабетическая пролиферативная ретинопатия, диабетическая нефропатия, хроническая болезнь почек (ХБП) С3б и выше).
- Выраженная патология печени (уровень АЛТ, АСТ в крови в 3 и более раз выше верхней границы нормы; уровень билирубина в 2 и более раз выше верхней границы нормы; явления печеночно-клеточной недостаточности).
- Хроническая болезнь почек (ХБП) С3б и выше любой этиологии.
- Прием любых препаратов, не соответствующих критериям включения в исследование.
- Клинически значимая дыхательная недостаточность.
- Парез желудка.
- Перенесенные транзиторные ишемические атаки, инсульт за последние 6 месяцев.
- Гипотиреоз, тиреотоксикоз.
- Анемический синдром.
- Диффузные заболевания соединительной ткани и васкулиты.
- Злокачественные новообразования, в т.ч. в анамнезе.
- Клинико-anamnestические данные о перенесенных в течение последних 3 месяцев острых состояниях (инфекции, травмы, хирургические вмешательства, обострения хронических заболеваний).
- Воспалительные заболевания кишечника.

- Беременность и период грудного вскармливания.
- Прием наркотических средств, злоупотребление алкоголем.

Производилось активное исключение ИБС, в том числе безболевого ишемии миокарда, частой среди больных СД 2 типа. С этой целью в условиях отделения функциональной диагностики клиники НИИ сердечно-сосудистых заболеваний клиники научно-клинического исследовательского центра ПСПбГМУ им. И.П. Павлова выполнялась проба с дозированной физической нагрузкой. Нагрузочное тестирование проводилось на тредмиле «Cardio Control» (Голландия, 2002 г.), за отклонение сегмента ST принимались его максимальное снижение или подъем, измеряемые через 0,06 с после точки j. Исследование проводилось в утренние часы, не ранее, чем через 2 часа после завтрака, при условии отмены возможных антиишемических препаратов (в случае, если пациент получал последние до включения в исследования без достоверно выявленных показаний). При верификации ИБС таким пациентам назначалась необходимая терапия, включая в общем случае бета-блокаторы, дезагреганты, статины, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента/сартаны, но эта когорта не была включена в дальнейшее исследование.

### *2.1.2 Дизайн исследования*

На момент включения в исследование все пациенты представляли собой общую группу.

В течение 3 месяцев у всех больных проводилась титрация дозы МЕТ, либо до достижения удовлетворительного контроля гликемии, либо до максимальной дозы 3 000 мг/сут.

Через 3 месяца на повторном визите производилось определение HbA1C. Те пациенты, которые достигли удовлетворительного контроля гликемии (HbA1C менее 7,5%), были включены в группу 1 (у них терапия МЕТ была продолжена в течение еще 6 мес). Больные, не достигшие эугликемии (уровень HbA1C 7,5% и более) на монотерапии МЕТ, были включены в группу 2 – у них к терапии МЕТ был добавлен лираглутид (ЛИР) (Виктоза, Ново Нордиск, Дания) на последующие 6 мес. Целевым

был выбран уровень HbA1C менее 7,5%, в соответствии с «Алгоритмами специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 2017 года, т.к. 26 пациентов (40,6%) относились к пожилому возрасту, и указанный показатель HbA1C является для них целевым [2].

Через 6 и 9 месяцев от начала исследования производилось повторное определение HbA1C в обеих группах. В группе 1 удовлетворительным считался гликемический профиль, позволяющий поддерживать целевой уровень HbA1C менее 7,5%. В случае, если пациент имел нарастание HbA1C, он прекращал участие в исследовании, производилась коррекция сахароснижающей терапии. Пациенты группы 2 продолжали участие в исследовании в том случае, если концентрация HbA1C достигала целевого уровня менее 7,5% или в случае наличия положительной динамики в отношении гликемического профиля (снижение HbA1C на 0,5% и более за прошедшие 3 мес). При ухудшении контроля гликемии пациенты прекращали свое участие в исследовании, осуществлялась коррекция терапии.

Первоначальная доза ЛИР в группе 2 составляла 0,6 мг/сут. Через 7 дней от момента инициации терапии доза была увеличена до 1,2 мг/сут (при удовлетворительной переносимости). При недостижении эугликемии на фоне применения ЛИР в дозе 1,2 мг/сут предлагалось увеличение дозы препарата до 1,8 мг/сут.

В течение всего времени наблюдения в случае выявления нежелательных явлений на фоне введения ЛИР, таких как тошнота, рвота, боли в животе, выполнялся биохимический анализ крови с определением уровня трансаминаз (АЛТ, АСТ) и амилазы.

Исходно, а также через 3, 6 и 9 месяцев от начала исследования, помимо определения HbA1C, выполнялась оценка показателей повреждения ЦНС (анализ крови на маркер нейронального повреждения нейронспецифическую енолазу (NSE) и маркер повреждения нейроглии белок S100, оценка когнитивной дисфункции с применением валидизированных шкал) и эндотелиальной дисфункции (анализ крови на маркеры гемостатической (тканевой активатор пламиногена (t-PA), ингибитор активатора пламиногена-1 (PAI-1)) и вазомоторной (эндотелин-1) функции эндотелия, а также доплерографическое исследование эндотелий-зависимой вазодилатации).

Дизайн клинического исследования кратко представлен на рисунке 1.

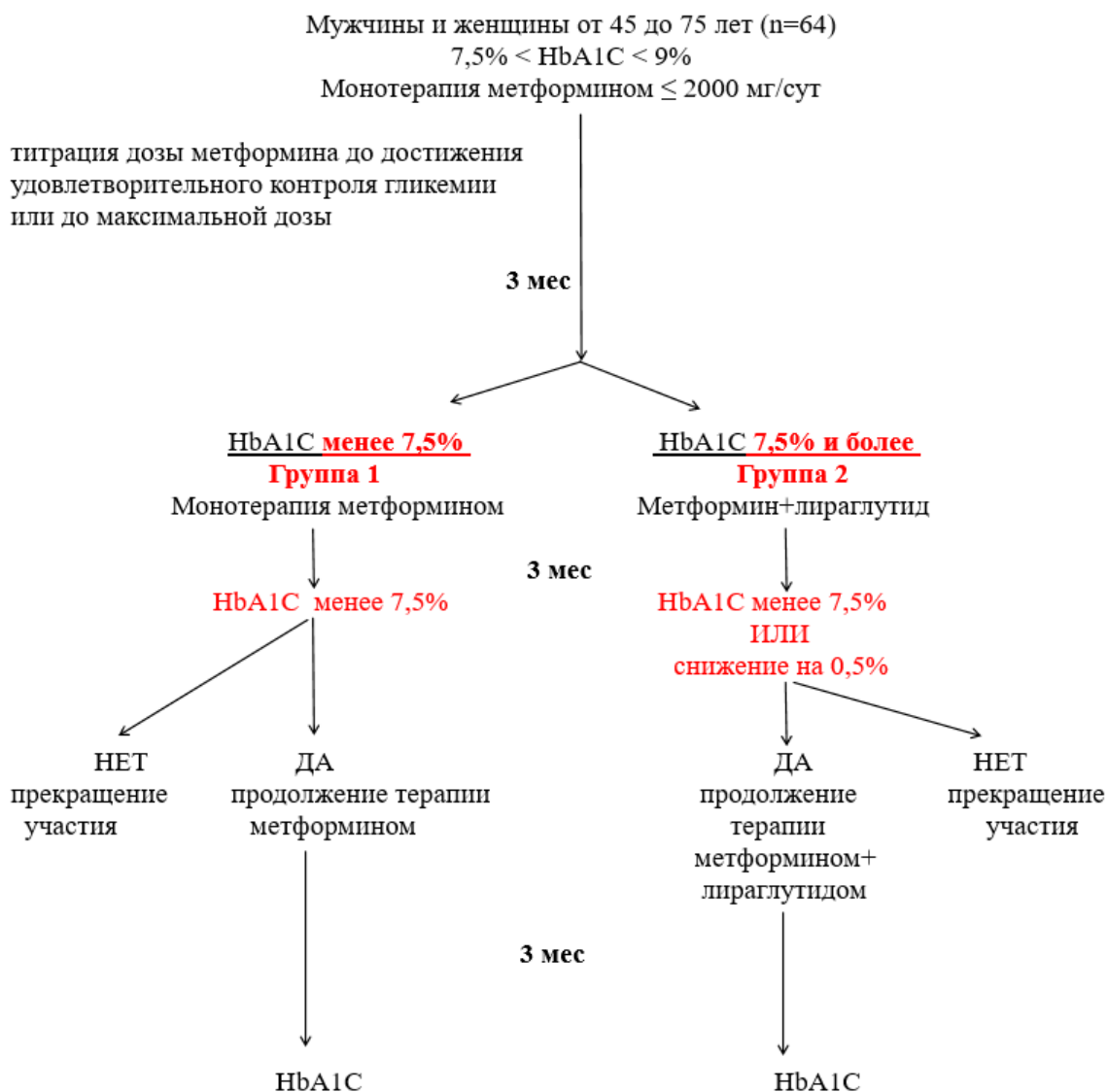


Рисунок 1 – Дизайн клинического исследования

Кроме того, трехкратно производилось определение инсулин-секреторной функции поджелудочной железы (С-пептида и инсулина), а также показателей липидного спектра. В группе 1 измерение выполнялось исходно, через 3 и через 6 мес терапии МЕТ. В группе 2 за исходный был принят уровень С-пептида, инсулина и параметры липидограммы перед началом терапии ЛИР; повторная оценка выполнялась через 3 и 6 мес терапии лираглутидом.

Для изучения выраженности дислипидемии у обследуемых пациентов нами были приняты целевые показатели липидного спектра на основе «Алгоритмов специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 2017 года [2]. Так, был установлен целевой уровень общего холестерина (ОХ) менее 4,5 ммоль/л,

холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) больше 1,0 ммоль/л для мужчин и больше 1,3 ммоль/л для женщин, триглицеридов (ТГ) – менее 1,7 ммоль/л. Выбор целевого уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) был основан на рекомендациях «Алгоритмов специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» [2] и уточнен, с учетом принятых в 2018 году Рекомендаций по лечению артериальной гипертензии Европейского кардиологического общества и Европейского общества по артериальной гипертензии [190]. В соответствии с последним документом, пациентов с СД 2 типа, имеющих осложнения данного заболевания, необходимо относить к очень высокому сердечно-сосудистому риску (риск сердечно-сосудистых осложнений 4), и целевой уровень ХС ЛПНП у них составляет менее 1,8 ммоль/л. Наличие тяжелых осложнений СД, таких как синдром диабетической стопы или пролиферативная ретинопатия, являлись критериями невключения в настоящее исследование; в то же время, все пациенты имели хотя бы одно хроническое осложнение СД (к примеру, диабетическую сенсорную/моторную/сенсомоторную нейропатию, автономную нейропатию, и/или непролиферативную ретинопатию, и/или микроальбуминурию как проявление нефропатии). Следовательно, для обследуемых нами пациентов был принят целевой уровень ХС ЛПНП менее 1,8 ммоль/л.

### ***2.1.3 Исследование биохимических показателей крови***

Кровь пациента забиралась из локтевой вены. Анализ выполнялся натощак, до приема плановой терапии. Пациент находился в процедурном кабинете в положении сидя не менее 5 минут до взятия крови.

Определение HbA1C осуществлялось цельной крови иммунотурбидиметрическим методом на приборе Abbott Architect-C800 с использованием набора реагентов АО «Витал Девелопмент Корпорейшн», Санкт-Петербург, Россия.

Исследование 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, Technoclone 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-PA и PAI-1 оценивался в ЭДТА-плазме при помощи ИФА (ELISA kit, Technozym, Technoclone GmbH, Австрия). Указанные выше исследования выполнялись на автоматическом иммуноферментном анализаторе ELx 800, фирма BIO-TEK INSTRUMENTS, США).

Оценка показателей липидного спектра осуществлялась в сыворотке крови с помощью наборов реагентов для определения холестерина «CHOL2/Cholesterol», для определения ЛПВП Холестерина «HDLC3/HDL Cholesterol plus 3<sup>rd</sup> generat.», для определения ЛПНП Холестерина «LDL\_C (2<sup>nd</sup> gen)/ Cholesterol LDL 2<sup>nd</sup> Gen», для определения Триглицеридов «TRIGL/Triglycerides» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) на анализаторе Cobas c311 (Roche, Германия).

Исследование С-пептида осуществлялось в сыворотке крови при помощи набора реагентов «С-peptide Elecsys», с использованием набора калибраторов «С-peptide CalSet Cobas» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Определение инсулина выполнялось также в сыворотке крови посредством набора реагентов «Insulin Elecsys», а также набора калибраторов «Insulin CalSet Elecsys» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Описанные исследования осуществлялись при помощи анализатора Cobas e411 (Roche, Германия). Образцы плазмы, полученные в результате центрифугирования цельной крови, подвергались анализу сразу или хранились в эппендорфах при температуре 18° С, согласно инструкции, прилагаемой к диагностическим наборам.

#### ***2.1.4 Оценка когнитивной функции***

Исследование когнитивного статуса осуществлялось при помощи шкал оценки когнитивной функции: Монреальской шкалы когнитивной оценки (МОСА) [177], Краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE) [86], Батарей лобных тестов (Frontal Assessment Battery (FAB)) [173], Теста рисования часов [49], Таблиц Шульте [9, 12]. При повторном обследовании использовались другие варианты тестов, показавшие свою надежность и взаимозаменяемость в работах ряда исследователей

[22, 30, 76]. Так, производилась замена слов, требующих запоминания пациентом, рисунка, который больному необходимо скопировать.

Нормальный когнитивный статус, по шкале МОСА, характеризуется 26 баллами и более. Значения меньше указанного отражают наличие когнитивного дефицита большей или меньшей степени выраженности.

В соответствии со шкалой MMSE, люди с неизменной когнитивной функцией имеют 30 баллов. Легкие когнитивные нарушения характеризуются 28-29 баллами. Пациенты с умеренными когнитивными нарушениями имеют 25-27 баллов. Деменция легкой степени отражается в снижении количества баллов по MMSE до 20-24, умеренной степени – до 11-19 баллов, признаки тяжелой деменции сопровождаются снижением баллов по MMSE до 0-10.

В соответствии с Батареей лобных тестов, нормальный когнитивный статус соответствует 18 баллам. Легкие когнитивные нарушения характеризуются 16-17 баллами. Признаки умеренной лобной дисфункции отражаются в снижении количества баллов до 12-15, деменцию лобного типа следует подозревать при снижении количества баллов до 11 и менее.

Тест рисования часов позволяет предполагать отсутствие когнитивных нарушений в случае получения испытуемым 10 баллов. Более низкий результат подразумевает когнитивную дисфункцию.

Таблицы Шульте позволяют исследовать устойчивость внимания и объем памяти, возможность быстрого поиска цифр от 1 до 25, распределенных рандомно в квадрате по 5 цифр в ряду. Нормальным принято считать выполнение задания за 25-30 секунд. Четких критериев оценки степени выраженности когнитивного снижения, как и в случае Теста рисования часов, не существует.

Все указанные методы исследования подразумевают участие врача и пациента. Перед началом анализа пациенты находились в кабинете врача не менее 10 мин. Больным были даны подробные инструкции, касающиеся выполнения предложенных заданий, и разъяснена целесообразность проводимого обследования.

Кроме того, пациентам предлагался Опросник самооценки памяти McNair и Kahn [14, 128], подразумевающий самостоятельное заполнение обследуемым валидизированной анкеты – с целью изучения субъективного восприятия пациентом его когнитивного статуса. Когнитивные нарушения характеризуются 43 баллами и более.



Для объективизации результатов, получаемых при применении шкал оценки когнитивной функции, производилось исключение тяжелых вариантов тревоги и депрессии (с применением опросников Спилбергера-Ханина и Бека, соответственно). Выявление данных расстройств учитывалось при анализе результатов оценки когнитивного статуса, а пациентам была рекомендована консультация психотерапевта для постановки соответствующего диагноза и определения необходимости терапевтической коррекции.

Шкала Спилбергера-Ханина [21] подразумевает оценку ситуативной и личностной тревожности. Пациенты с низкой ситуативной/личностной тревожностью имеют до 30 баллов по шкале Спилбергера-Ханина, умеренную тревожность – 31-44 балла, высокую тревожность следует подозревать при наличии 45 и более баллов.

По данным шкалы Бека [31, 36], отсутствие депрессии характеризуется 0-9 баллами, субдепрессия – 10-15 баллами, умеренная депрессия – 16-19 баллами, депрессия средней тяжести – 20-29 баллами, тяжелая депрессия может сопровождаться 30-63 баллами.

### ***2.1.5 Определение ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации***

Определение эндотелий-зависимой вазодилатации осуществлялось при помощи доплерографической оценки линейной скорости кровотока в микроциркуляторном русле предплечья в одной и той же области с использованием прибора Минимакс-Допплер-К, модель НБ, Россия, посредством датчика с частотой излучения 25 МГц, позволяющим измерять кровотоки в ткани до глубины 0,5 см. Перед проведением процедуры пациенты в течение 30 мин находились в помещении с температурой воздуха 24-25° С в состоянии покоя. Производилось исследование исходной скорости кровотока, затем выполнялся ионофорез 0,3% раствора ацетилхолина (АХ) с помощью прибора «ПоТок» (Каскад-ФТО, Россия). Сила тока составляла 0,9 мА, время экспозиции – 1 мин. После выполнения ионофореза АХ в течение 8 минут ежеминутно измерялась линейная скорость кровотока, которая определялась в процентах, по сравнению с исходной скоростью. Оценивалось время начала и окончания реакции, амплитуда

(максимальная линейная скорость кровотока) реакции и время ее достижения, а также площадь под кривой (Area Under Curve – AUC) «время\*линейная скорость кровотока», мин\*%. Производилась измерение AUC1 – площади под первой фазой кривой за 1-4 мин, и AUC2 – площади под второй фазой кривой ответа на АХ (4-8 мин), а также AUCобщ (AUC1+AUC2). Раздельное определение AUC1 и AUC2 обусловлено существующим предположением, что начальная фаза кривой АХ-индуцированной вазодилатации обусловлена преимущественно влиянием оксида азота (NO), в то время как вторая фаза характеризуется влиянием эндотелиального гиперполяризующего фактора (ЭГФ) [16]. В этой связи нами оценивалось влияние ЛИР на оба ключевых компонента вазомоторной функции эндотелия отдельно.

## 2.2 Экспериментальное исследование

Целью экспериментальной части работы было получение феноменологического доказательства наличия у ЛИР нейропротективного эффекта. В качестве модели для изучения данного эффекта была избрана модель транзиторной фокальной ишемии головного мозга в бассейне левой средней мозговой артерии, т.к. именно данный топический вариант ишемического инсульта наиболее характерен для человека [50, 84]. Условия ишемического-реперфузионного повреждения, создаваемые при помощи данной модели, позволяют наиболее полно оценить потенциальные нейропротективные свойства лекарственных препаратов. Кроме того, механизмы, лежащие в основе развития манифестных ишемических инсультов и так называемых «немых» инсультов, или микроинсультов, имеющих место при СД 2 типа и, вероятно, являющихся основой формирования хронического нарушения мозгового кровообращения и когнитивных нарушений, принципиально сходны. Это, прежде всего оксидативный стресс и воспаление, усиление перекисного окисления липидов, а также дегенерация дендритов [106, 141]. Такая схожесть патофизиологических реакций позволяет предполагать, что обнаружение нейропротективного эффекта ЛИР в условиях экспериментального ишемического инсульта создаст предпосылки для выявления подобного эффекта в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения у больных СД 2 типа.

В то же время, прямая экстраполяция экспериментальных данных в клинику представляется не правомочной.

Помимо феноменологического доказательства наличия у ЛИР нейропротективных свойств, задачей экспериментального исследования было исключение взаимосвязи между защитным эффектом препарата в отношении головного мозга и его положительным влиянием на углеводный обмен. В этой связи, работа включала 2 этапа. На первом этапе ЛИР вводился животным, не страдающим СД; таким образом исключалось защитное влияние вызванной препаратом эугликемии. На втором этапе ЛИР применялся уже у крыс с СД 2 типа, однако для исключения влияния эугликемии была создана группа сравнения – животные с СД, получающие метформин (МЕТ).

Исследования проводились на крысах-самцах стока Вистар (масса 200-255 г), полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»».

Крысы содержались не более, чем по 5 голов в одной клетке, на неограниченном потреблении корма (стандартный рацион для лабораторных крыс К-120 «ООО «Лабораторкорм», Россия) и воды, при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет: темнота). Температура поддерживалась в пределах 22-25° С, относительная влажность – 50-70%. Проветривание и стерилизация воздуха с помощью кварцевой лампы осуществлялись ежедневно (включение кварцевой лампы на 15 мин каждые 2 часа).

Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного. Оценивали окраску кожи и видимых слизистых, поведение, характер двигательной активности, наличие судорог, изменение характера дыхательных движений, положение хвоста. Взвешивание проводили при поступлении животных и в период карантина – не реже 1 раза в неделю. Животные, имевшие отклонения по весу, общему состоянию или поведению, не были включены в эксперимент.

### ***2.2.1 Дизайн первого этапа***

В ходе эксперимента животным контрольной группы («КОНТРОЛЬ») (n=15) подкожно вводился 0,9% раствор NaCl в объеме 0,5 мл 1 раз в сутки в течение 7 дней.

Животным группы «ЛИР» (n=15) подкожно вводился лираглутид (Виктоза, НовоНордиск, Дания) в дозе 1 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней. Была выбрана доза препарата, заведомо превышающая среднетерапевтическую, для максимально полной оценки его потенциального нейропротективного действия.

Ежедневно в одно и то же время измерялась масса тела крыс обеих групп, а также определялась масса оставшегося корма. Кроме того, производилось определение уровня гликемии 1 раз в 2 дня. Гликемия оценивалась в одно и то же время, при этом животное находилось на свободном потреблении корма. Производилась пункция хвостовой вены, после чего содержание глюкозы в полученной капле венозной крови определялось при помощи глюкометра Accu-Chek Performa (Roshe, Германия). Нормальными считались значения гликемии от 3,3 до 7,8 ммоль/л, поскольку измерение производилось в течение дня (не натощак). Гипогликемия диагностировалась при уровне глюкозы менее 2,8 ммоль/л (за основу были взяты «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом 2017 года») [2].

Через 5 часов после последнего введения препарата/физиологического раствора животным обеих групп под хлоралгидратным наркозом (430 мг/кг внутривенно) воспроизводилась фокальная ишемия головного мозга с помощью модели транзиторной окклюзии левой средней мозговой артерии по методике J. Koizumi et al. (1986) в модификации E.Z. Longa (1989) [159].

Методика заключается во введении окклюдера – нити длиной 20-22 мм (Docol Corporation, США) во внутреннюю сонную артерию на глубину 20-22 мм до места отхождения средней мозговой артерии, устье которой перекрывается вводимым окклюдером. В результате введения нити происходит ишемизация мозга в бассейне левой средней мозговой артерии. Верификация снижения регионарного кровотока на фоне окклюзии осуществлялась при помощи доплерографии (Минимакс-Допплер-К модель НБ, Россия). Доступ к корковой ветви левой средней мозговой артерии осуществлялся через трепанационное окно. Уменьшение линейной скорости кровотока на 70% и более, по сравнению с исходной, свидетельствовало о наличии ишемии в исследуемом бассейне.

Длительность окклюзии составляла 30 минут, после чего нить извлекалась, рана ушивалась.

Во время проведения оперативного вмешательства, а также в послеоперационном периоде до момента прекращения действия наркоза, производился контроль ректальной температуры животного, которая поддерживалась на уровне 37,0° С при помощи терморегулирующего столика.

После моделирования ишемии (с момента выхода из наркоза) каждое животное помещалось в отдельную клетку.

Через 48 часов реперфузии в обеих группах оценивался неврологический дефицит по шкале J.H. Garcia [137].

Данная шкала включает 6 показателей, каждый из которых имеет оценку в баллах, которые затем суммируются (таблица 1). Здоровое животное имеет 18 баллов, максимально выраженный неврологический дефицит характеризуется 3 баллами.

Таблица 1 – Шкала оценки неврологического дефицита J.H. Garcia, 1995 [137]

Параметр	Количество баллов			
	0	1	2	3
Спонтанная активность (в клетке в течение 5 мин)	Движения отсутствуют	Едва двигается	Двигается, но не приближается по крайней мере к 3 сторонам клетки	Двигается и достигает по крайней мере 3 сторон клетки
Симметричность движений (4 конечности)	Правая сторона: отсутствует движение	Правая сторона: небольшое движение	Правая сторона: двигается медленно	Обе стороны двигаются симметрично
Симметричность движений предплечий (крыса вытягивает конечности, когда ее держат за хвост)	Правая сторона: отсутствует вытягивание конечностей	Правая сторона: небольшое движение, чтобы вытянуть конечности	Правая сторона: двигается и пытается вытянуть конечность меньше, чем с левой стороны	Симметричные вытягивания
Залезание по стенке проволочной клетки)	–	Не удается забраться	Правая сторона слабая	Нормально забирается

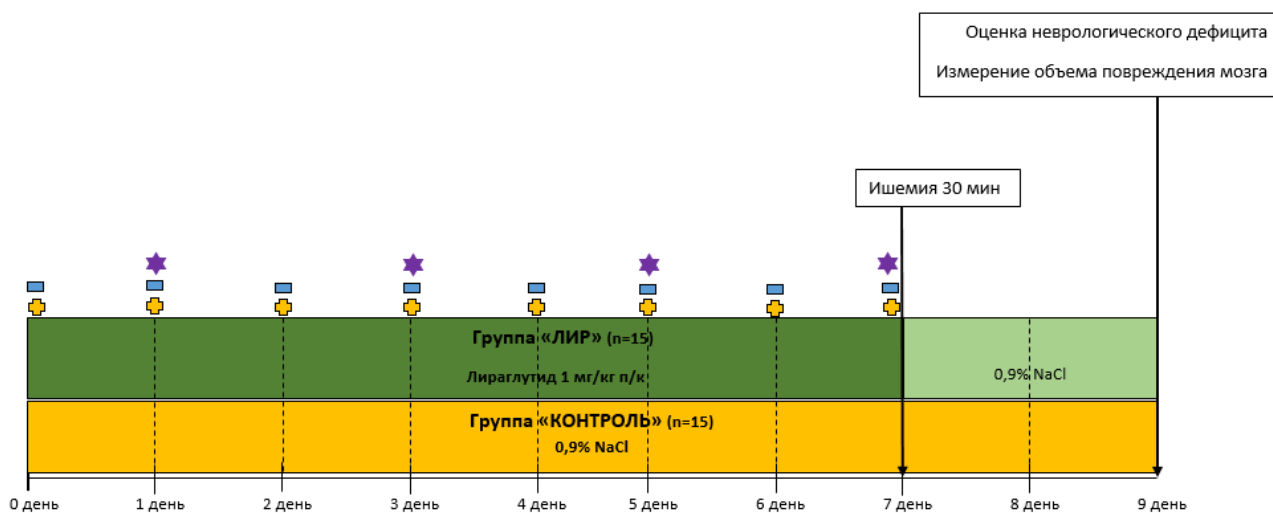
## Продолжение таблицы 1

Параметр	Количество баллов			
	0	1	2	3
Реакция на прикосновение к каждой стороне туловища	–	Отсутствует ответ с правой стороны	Слабый ответ с правой стороны	Симметричный ответ
Ответ на прикосновение к вибриссам	–	Отсутствует ответ с правой стороны	Слабый ответ с правой стороны	Симметричный ответ

После оценки неврологического дефицита производилось определение объема инфаркта мозга при помощи окраски срезов мозга 0,1% раствором 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Этот общепринятый метод позволяет на макроскопическом уровне отграничить некротизированную ткань от ткани мозга, сохранившей жизнеспособность. Для этого производилось изготовление 5-ти срезов головного мозга толщиной 2 мм. Срезы мозга помещали в 0,1% раствор ТТХ (MP Biomedicals, США), окрашивающий жизнеспособную ткань с сохраненной активностью НАД-зависимых ферментов в ярко-красный цвет. Инкубация срезов осуществлялась в течение 15 минут при температуре 37° С и рН 7,4. После инкубации срезов с ТТХ обе поверхности всех срезов фотографировали цифровой камерой Olympus C-4000, сопряженной с помощью микрофотографического устройства с микроскопом МБС-10 (ЛОМО, Санкт-Петербург). Цифровые изображения срезов затем обрабатывались компьютерным методом с помощью программ ImageJ, Adobe Photoshop 8.0, которые позволяют рассчитать площадь зоны некроза. Затем, суммируя результат по всем срезам, вычисляли объем повреждения мозга, по отношению к общему объему мозга (в %).

В случае уменьшения планируемого количества животных в группе при гибели животных, производилось наращивание объема группы с целью достижения заявленного количества крыс в каждой из групп в конце эксперимента.

Дизайн I этапа экспериментального исследования представлен на рисунке 2.



Примечание – - оценка массы тела крыс; - определение массы оставшегося корма; - измерение гликемии

Рисунок 2 – Дизайн I этапа экспериментального исследования

### 2.2.2 Дизайн второго этапа

На втором этапе исследования всем животным, включенным в эксперимент, производилось моделирование СД 2 типа.

Для этого крысы-самцы стока Вистар (n=60) (масса 200-250 г), по истечении акклиматизационного периода, в течение 4 недель содержались на диете с высоким содержанием насыщенных жиров (25%). 10 крыс (группа здорового контроля) продолжали находиться на стандартном лабораторном корме К-120. Эта группа была создана с целью динамической оценки массы тела, гликемии, уровня общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ) в связи со значительными различиями в нормальных значениях указанных показателей, по данным литературы; других вмешательств в этой группе не осуществлялось.

Через 4 недели у всех животных (в т.ч. группы здорового контроля) определялась гликемия посредством пункции хвостовой вены, как описано выше, при помощи глюкометра Ассу-Chek Performa (Roshe, Германия). Нормальными считались значения гликемии 3,3-7,8 ммоль/л. Кроме того, определялась концентрация ОХ и ТГ при помощи

прибора MultiCare In (Biochemical Systems International, Италия) с использованием тест-полосок на ОХ и ТГ. Нормальным считался уровень ОХ до 5,2 ммоль/л, ТГ – до 2,3 ммоль/л – нормы, характерные для общей популяции у людей. Было решено воздержаться от принятия в качестве нормы целевого уровня ОХ и ТГ для больных СД (4,5 и 1,7 ммоль/л, соответственно) – с тем, чтобы было возможно производить сравнение концентрации ОХ и ТГ у животных с СД (на фоне терапии и без нее) с таковой у здоровых животных без СД. Общепринятых норм ОХ и ТГ для крыс не существует.

После определения описанных выше биохимических показателей всем экспериментальным животным (n=60) вводился раствор никотинамида 230 мг/кг внутривентриально в качестве панкреатопротектора, через 15 мин – раствор стрептозотоцина 60 мг/кг внутривентриально в качестве панкреатотоксина. Методика моделирования СД 2 типа при помощи содержания животных на диете, богатой насыщенными жирами, с последующим применением никотинамида и стрептозотоцина описана в литературе [7, 18, 182].

С момента введения никотинамида и стрептозотоцина каждое животное помещалось в отдельную клетку и находилось в этих условиях до окончания опыта. В течение всего последующего эксперимента крысы продолжали находиться на диете с повышенным содержанием насыщенных жиров.

На вторые и третьи сутки после введения никотинамида и стрептозотоцина производилось определение гликемии по описанной методике. При выявлении в 2 измерениях, выполненных в разные дни, гликемии больше 11,1 ммоль/л диагностировался СД. Подобные критерии постановки диагноза СД у крыс представлены в работах зарубежных коллег [154, 169].

При обнаружении меньших значений гликемии хотя бы в одном из измерений выполнялся пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ). Измерение гликемии производилось исходно (натощак), а также через 15, 30 и 60 мин после зондового введения 40% раствора глюкозы 3 г/кг массы тела животного. При определении гликемии натощак нормальными значениями считались до 6,1 ммоль/л (поскольку измерение производилось в хвостовой вене). Уровень 6,1-7,0 ммоль/л расценивался как «серая» зона, гликемия больше 7,0 ммоль/л натощак соответствовала критериям СД. При выявлении во время ПГТТ, после введения глюкозы, в любой из точек гликемии



больше 11,1 ммоль/л, при наличии или отсутствии гипергликемии натощак больше 7,0 ммоль/л, диагностировался СД [61]. При выявлении меньших значений данная патология не подтверждалась, и животные исключались из дальнейшего эксперимента.

Наблюдение за животными продолжалось в течение 14 дней с момента введения никотинамида и стрептозотоцина. При появлении на данном этапе симптомов, характерных для абсолютной инсулиновой недостаточности, то есть клинической картины СД 1 типа (полидипсия, полиурия, интенсивная потеря массы тела), эти животные исключались из дальнейшего эксперимента.

Через 14 дней после введения никотинамида и стрептозотоцина производилось определение гликемии, уровня ОХ и ТГ, как описано выше. Аналогичная манипуляция осуществлялась у крыс группы здорового контроля. Затем экспериментальные животные были разделены на 3 группы:

- группа «МЕТ» (n=20) (терапия порошком МЕТ 97% 200 мг/кг 1 раз в сутки per os – через желудочный зонд – в течение 7 дней);
- группа «ЛИР» (n=20) (терапия ЛИР (Виктоза, НовоНордиск, Дания) 0,03 мг/кг подкожно 1 раз в сутки на протяжении 7 дней);
- группа «СД без лечения» (n=20) (животные не получали сахароснижающей терапии в течение 7 дней).

Дозы ЛИР и МЕТ, применявшиеся на II этапе эксперимента, были выбраны после анализа литературных данных [26, 41, 42, 120, 150, 167, 178] и были близки к таковым, используемым в терапии СД 2 типа у человека (в отличие от первого этапа эксперимента, когда доза ЛИР заведомо превышала среднетерапевтическую).

В течение 7 дней 1 раз в 2 дня осуществлялось измерение гликемии во всех трех экспериментальных группах (на 2, 4 и 6 дни лечения). Критерием нормализации гликемии считалось достижение уровня меньше 7,8 ммоль/л в течение дня.

Через 7 дней производилось определение гликемии, уровня ОХ и ТГ, как описано выше (аналогично – у крыс группы здорового контроля).

Затем производилось моделирование транзиторной фокальной ишемии головного мозга по методике J. Koizumi, в модификации E.Z. Longa. Далее следовало 48 часов реперфузии, во время которых животные продолжали находиться на диете с повышенным содержанием насыщенных жиров и получать указанную терапию

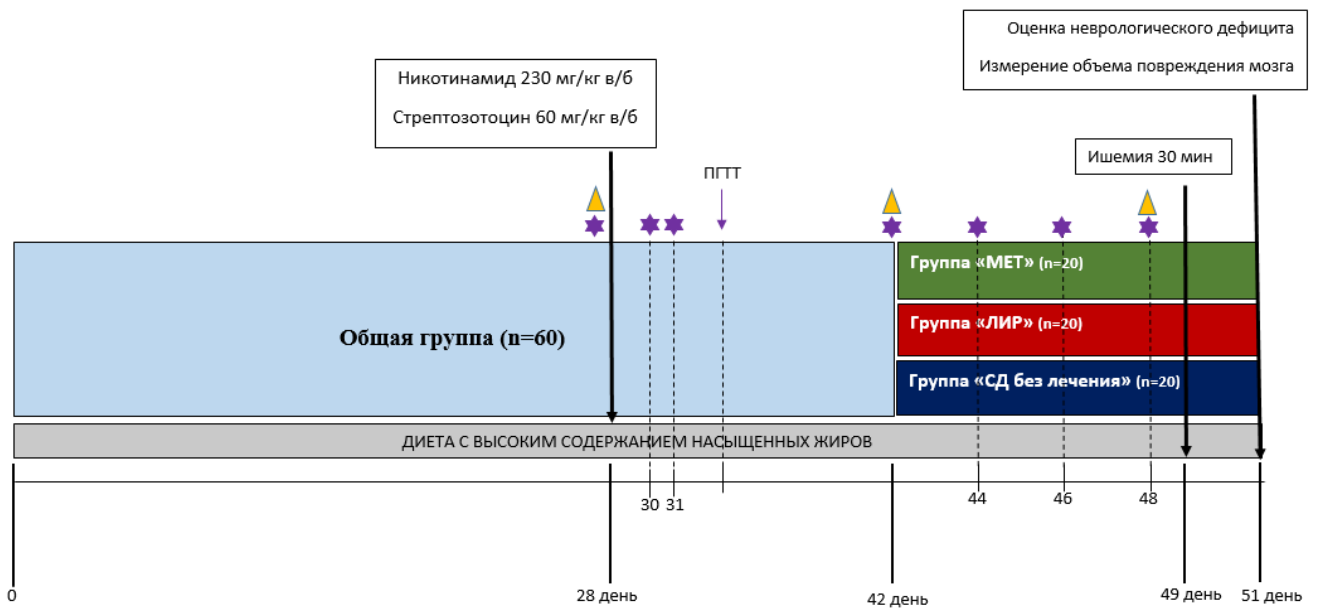
в прежних дозах (метформин в группе «МЕТ» и лираглутид в группе «ЛИР»); животные группы «СД без лечения» оставались без сахароснижающих препаратов).

Через 48 часов производилась оценка неврологического дефицита по шкале J.H. Garcia и извлечение биоматериала с окраской срезов головного мозга 0,1% раствором ТТХ для изучения объема повреждения мозга.

В ходе всего эксперимента 1 раз в 2 дня измерялась масса тела всех животных, в т.ч. группы здорового контроля (начиная от исходной точки).

В случае уменьшения планируемого количества животных в группе (при гибели животных, отсутствии развития СД 2 типа или при выявлении клинической симптоматики, не позволявшей исключить абсолютную инсулиновую недостаточность), производилось наращивание объема группы с целью достижения заявленного количества крыс в каждой из групп в конце эксперимента.

Кратко дизайн II этапа экспериментального исследования представлен на рисунке 3.



Примечание – ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест, ☆ - определение гликемии, ▲ - измерение общего холестерина и триглицеридов. Оценка массы тела осуществлялась 1 раз в 2 дня в ходе всего эксперимента

Рисунок 3 – Дизайн II этапа экспериментального исследования

### 2.3 Статистическая обработка данных

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

Производился статистический ретроспективный анализ мощности выборки, который показал, что мощность выборки является достаточной.

Статистический анализ производился при помощи непараметрических методов, т.к. в ходе динамического наблюдения распределение в ряде подгрупп не соответствовало критериям нормальности.

Значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллеса и 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 (FDR). Все показатели представлены в виде «медиана (25%; 75%)». Значения  $P$  меньше 0,05 рассматривались как значимые.

Взаимосвязь между количественными показателями исследовалась при помощи корреляционного анализа (rs-критерий Спирмена).

Сравнение частоты встречаемости качественных признаков в группах и анализ таблиц сопряженности выполнялись с помощью  $\chi^2$ -критерия Пирсона и точного критерия Фишера.

Перед построением дискриминантной модели прогнозирования возможности достижения эугликемии на монотерапии МЕТ были проанализированы наиболее значимые признаки при помощи оценки отношения шансов. Далее осуществлялся пошаговый дискриминантный анализ значимости показателей. На этом основании была создана математическая дискриминантная модель прогнозирования низкой эффективности монотерапии метформином. Для получения прогноза достижения или не достижения эугликемии (HbA1C менее 7,5%) на монотерапии МЕТ рассчитывались показатели линейных дискриминантных функций ЛДФ<sub>1</sub> и ЛДФ<sub>2</sub>. Далее сравнивались

показатели ЛДФ1 и ЛДФ2 и определялся прогноз, в соответствии с преобладающим значением.

Графики и диаграммы построены в программах Statistica for Windows, Excel, GraphPadPrism.

## **2.4 Соблюдение этических требований**

Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации.

Проведение экспериментального исследования одобрено Этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, протокол № 100\_ПФ\_24112015/1 от 24.11.2015.

Протокол клинического исследования также был одобрен Этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

## ГЛАВА 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1 Оценка общих клинико-лабораторных показателей

##### 3.1.1 Исследование исходных параметров

Исходно все пациенты представляли собой общую группу (n=64). Однако было выяснено, что ряд клинических и лабораторных показателей отличался у тех больных, которые через 3 мес достигли удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии МЕТ и были затем выделены в группу 1, и у тех пациентов, которые через 3 мес не достигли нормализации гликемического профиля и были включены в группу 2.

12 пациентов не явились на повторный визит через 3 месяца и были исключены из дальнейшего наблюдения. 52 человека продолжили участие в исследовании.

Пациенты будущих групп № 1 (n=28) и № 2 (n=24) не различались по наличию отягощенной наследственности по сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), по характеру сопутствующей терапии, по факту курения. При этом наблюдалось достоверное различие по полу: число лиц женского пола в будущей группе 2 было больше, и по наличию отягощенной наследственности по СД: число лиц с отягощенной наследственностью в группе 2 было больше (таблица 2).

Таблица 2 – Клинико-анамнестические характеристики (качественные) пациентов будущих групп 1 и 2

Параметр	Группа 1, n (%)	Группа 2, n (%)	Достоверность различий, p
<b>Пол</b>			
мужской	14 (50%)	5 (20,8%)	<b>0,044</b>
женский	14 (50%)	19 (79,2%)	
<b>Наследственность по ССЗ</b>			
отягощена	16 (57,1%)	17 (70,8%)	0,391
не отягощена	12 (42,9%)	7 (29,2%)	

## Продолжение таблицы 2

Параметр	Группа 1, n (%)	Группа 2, n (%)	Достоверность различий, p
<b>Наследственность по СД</b>			<b>0,021</b>
отягощена	6 (21,4%)	13 (54,2%)	
не отягощена	22 (78,6%)	11 (45,8%)	
<b>Курение</b>			1,000
да	6 (21,4%)	6 (25,0%)	
нет	22 (78,6%)	18 (75,0%)	
<b>Сопутствующая терапия</b>			
иАПФ	14 (50,0%)	10 (41,7%)	0,762
сартаны	7 (25,0%)	8 (33,3%)	0,532
диуретики	9 (32,1%)	11 (45,8%)	0,363
блокаторы кальциевых каналов	12 (42,9%)	9 (37,5%)	0,771
статины	25 (89,3%)	21 (87,5%)	0,856
Примечание – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; СД – сахарный диабет; иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента.			

Пациенты будущих групп 1 и 2 не различались по возрасту и длительности анамнеза гипертонической болезни (ГБ). В то же время, длительность анамнеза СД была достоверно больше у пациентов группы 2 (таблица 3).

Таблица 3 – Клинико-anamнестические характеристики (количественные) пациентов будущих групп 1 и 2

Параметр	Группа 1, медиана (25%; 75%)	Группа 2, медиана (25%; 75%)	Достоверность различий, p
Возраст, лет	56,0 (49,25; 66,0)	57,0 (54,75; 63,25)	0,430
Длительность анамнеза СД, лет	1,75 (0,0; 5,25)	10,0 (8,0; 15,0)	<b>0,000</b>
Длительность анамнеза ГБ, лет	10,0 (2,0; 20,75)	10,0 (2,0; 26,0)	0,819
Примечание – СД – сахарный диабет; ГБ – гипертоническая болезнь.			

В исследование были включены больные с впервые выявленным СД 2 типа (n=7), все эти пациенты вошли в группу 1. При этом важно отметить, что различий в исходном уровне HbA1C между описываемыми группами не было (таблица 4).

Примечательно, что, несмотря на достоверно большую длительность анамнеза СД в группе 2, у данных пациентов не наблюдалось снижения инсулин-секреторной способности бета-клеток. Уровень С-пептида незначительно превышал норму в обеих группах, более выражено в группе 2, однако различия между группами не достоверны. Концентрация инсулина же находилась в пределах референсного интервала у пациентов группы 1 и была выше нормы у больных группы 2 (различия между группами не достоверны). Различий в исходной массе тела между группами 1 и 2 не было (таблица 4). Несмотря на это, сочетанное повышение уровня инсулина и С-пептида в группе 2 позволяет предполагать, что данные пациенты имели более выраженные проявления инсулинорезистентности, чем пациенты группы 1, что сопровождалось компенсаторной гиперинсулинемией.

Таблица 4 – Клинико-лабораторные характеристики пациентов будущих групп 1 и 2

Параметр	Норма	Группа 1, медиана (25%; 75%)	Группа 2, медиана (25%; 75%)	Достоверность различий, p
HbA1C, %	–	8,4 (7,5; 9,0)	7,8 (7,54; 8,7)	0,471
Масса тела, кг	–	84,0 (85,0; 104,5)	87,0 (74,0; 102,0)	0,527
С-пептид, нг/мл	1,10-4,40	4,46 (1,15; 4,46)	4,57 (4,47; 6,14)	0,432
Инсулин, пмоль/л	17,8-173,0	102,0 (77,2; 102,0)	180,65 (141,1; 248,18)	0,192

На момент включения в исследование 89,3% пациентов группы 1 и 87,5% пациентов группы 2 получали гиполипидемическую терапию ингибиторами 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзима-А-редуктазы (статины). На этом фоне в обеих группах имелись проявления дислипидемии (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели липидного спектра пациентов будущих групп 1 и 2

Показатель	Группа 1, медиана (25%; 75%)	Группа 2, медиана (25%; 75%)	Достоверность различий, р
ОХ	4,91 (4,74; 5,42)	4,81 (3,33; 6,37)	0,796
ХС ЛПВП	1,45 (1,17; 1,65)	0,89 (0,66; 1,42)	0,172
ХС ЛПОНП	0,81 (0,46; 1,29)	1,1 (0,79; 1,18)	0,437
ХС ЛПНП	2,8 (2,32; 3,13)	2,19 (1,87; 3,77)	0,977
ТГ	1,75 (1,0; 2,8)	2,4 (1,73; 2,58)	0,437
К/А	2,67 (1,93; 3,27)	3,66 (2,84; 4,05)	<b>0,042</b>
Примечание – ОХ – общий холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ТГ – триглицериды, К/А – коэффициент атерогенности.			

### *3.1.2 Динамика гликированного гемоглобина и массы тела.*

#### *Распределение по группам*

##### *Три месяца монотерапии МЕТ*

Через 3 мес наблюдения 28 пациентов достигли уровня HbA1C менее 7,5% и составили группу 1 – данная группа продолжила получать монотерапию МЕТ. У данных пациентов не наблюдалось достоверной динамики массы тела.

24 человека через 3 мес имели уровень HbA1C более 7,5% и были включены в группу 2 – у них к монотерапии МЕТ был добавлен ЛИР. У этих больных не произошло достоверного снижения HbA1C, по сравнению с исходным уровнем, как и наблюдалось статистически достоверной динамики массы тела, однако имела место тенденция к ее увеличению,  $p=0,074$  (таблица 6).

##### *Шесть месяцев наблюдения*

Через 6 мес все пациенты группы 1 ( $n=28$ ) по-прежнему имели удовлетворительный контроль гликемии на фоне продолжающейся монотерапии МЕТ. При этом динамики массы тела не наблюдалось.



Таблица 6 – Динамика HbA1C и массы тела у пациентов групп 1 и 2 в течение 9 месяцев исследования

Показатель		Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес	
					«+» динамика, медиана (25%; 75%)	«-» динамика, медиана (25%; 75%)
HbA1C, %	группа 1	8,4 (7,5; 9,0)	6,75 (6,3; 7,2)§	6,89 (6,45; 7,5)	6,7 (6,2; 7,0)	8,2 (7,6; 8,7)
	группа 2	7,8 (7,54; 8,7)	8,2 (7,68; 8,68) *	7,6 (7,2; 8,3) *	7,35 (6,43; 7,75)	8,1 (7,75; 8,6)§
Масса тела, кг	группа 1	84,0 (85,0; 104,5)	95,5 (85,5; 101,5)	96,0 (83,5; 105,75)	96,0 (72,5; 109,0)	91,0 (88,0; 92,0)
	группа 2	87,0 (74,0; 102,0)	95,0 (82,0; 115,0)	93,0 (77,0; 107,0)§	83,5 (78,5; 98,5)	114,5 (78,0; 139,0)
Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением; «+» динамика – положительная динамика гликемии; «-» динамика – отрицательная динамика гликемии.						

В группе 2 через 6 мес, на фоне добавления к терапии ЛИР, в целом выявлялось некоторое улучшение гликемического профиля; различия, по сравнению с предыдущим измерением, не достоверны, однако наблюдалась статистическая тенденция,  $p=0,093$ . В то же время, было отмечено достоверное снижение массы тела на фоне первичного добавления к терапии ЛИР, обладающим описанным анорексигенным действием [10, 185],  $p=0,028$ .

У 18 пациентов группы 2 через 6 мес были достигнуты целевые показатели гликемии (уровень HbA1C менее 7,5% – 7,2 (6,88; 7,43) %). Эти пациенты демонстрировали тенденцию к снижению массы тела,  $p=0,078$ . У 5 больных группы 2 наблюдалась лишь положительная динамика в отношении контроля гликемии (снижение HbA1C на 0,5% и более за прошедшие 3 мес) – HbA1C составил 7,9 (7,65; 8,4)%. Данные больные продолжили участие в исследовании. Двое были переведены на дозу ЛИР 1,8 мг/сут. Остальные трое предпочли продолжить терапию ЛИР в дозе 1,2 мг/сут последующие 3 мес по парамедицинским причинам. У описываемых больных

не наблюдалось достоверных изменений в массе тела. У 1 пациентки наблюдалась отрицательная динамика: произошло нарастание уровня HbA1C с 7,4% до 8,4%. Больная прекратила дальнейшее участие в исследовании.

#### *Девять месяцев наблюдения*

Через 9 мес в группе 1 в целом сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, и уровень HbA1C составлял 6,95 (6,5; 7,75)%. Достоверной динамики массы тела не наблюдалось (масса тела через 9 мес составляла 92,0 (79,0; 106,0) кг,  $p=0,655$ ).

При этом у 25 пациентов HbA1C по-прежнему не превышал установленного целевого уровня менее 7,5%, группа 1а. У описываемой подгруппы пациентов масса тела не имела достоверной динамики.

У 3 пациентов в группе 1 наблюдалось ухудшение гликемического профиля, что отражалось в нарастании HbA1C с 7,5 (6,3; 7,5)% до 8,2 (7,6; 8,7)%, группа 1б. Пациенты группы 1б также не имели достоверной динамики массы тела.

В группе 2 в целом не наблюдалось достоверного изменения концентрации HbA1C, которая составляла 7,7 (7,2; 8,2)%. Это сопровождалось отсутствием изменений в массе тела.

При этом, из 23 больных, составлявших на тот момент группу 2, у 16-ти был достигнут целевой уровень HbA1C, и двое пациентов демонстрировали положительную динамику в виде снижения концентрации HbA1C на 0,5% и более за прошедшие 3 месяца. У данных пациентов уровень HbA1C составил 7,35 (6,43; 7,75)% при уровне 7,5 (6,95; 8,3)% через 6 мес,  $p=0,080$ , группа 2а. У больных группы 2а не наблюдалось изменений в массе тела, что согласуется с отсутствием динамики данного показателя в группе 2 в целом.

У 5 пациентов имела место отрицательная динамика на фоне продолжавшейся комбинированной терапии МЕТ+ЛИР. У них концентрация HbA1C через 9 мес составляла 8,1 (7,75; 8,6)%, при 7,5 (7,15; 7,8)% через 6 мес,  $p=0,042$ , группа 2б. У больных группы 2б наблюдалась тенденция к увеличению массы тела, что выражалось в нарастании данного параметра с 98,5 (71,0; 134,0) кг на 6 месяце исследования до 114,5 (78,0; 139,0) кг на 9 месяце,  $p=0,100$ .

Динамика уровня HbA1C и массы тела в течение всего исследования в группах 1 и 2 представлена в таблице 6.

Таким образом, по результатам нашего исследования, у пациентов, получавших в течение всего времени наблюдения монотерапию МЕТ, не было выявлено снижения массы тела, несмотря на регулярные разъяснения необходимости контроля массы тела. Следовательно, полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии у МЕТ анорексигенного эффекта, который ранее был описан рядом авторов [37, 168]. По результатам настоящего исследования, влияние МЕТ на массу тела отсутствовало как у больных, достигших удовлетворительного контроля гликемии, так и у лиц, имевших неудовлетворительный гликемический профиль.

Добавление к терапии ЛИР приводило к снижению массы тела. Важно отметить, что анорексигенный эффект препарата наиболее полно реализовался на старте терапии, хотя сохранялся и в дальнейшем, уже не будучи статистически достоверным. При этом в течение первых трех месяцев комбинированной терапии пациенты, достигшие эугликемии, имели тенденцию к снижению массы тела. Масса тела больных, не достигших целевого показателя HbA1C, достоверно не снизилась. Можно предполагать, что анорексигенный эффект ЛИР сопутствует сахароснижающему. Данная гипотеза нашла свое подтверждение у пациентов группы 2б – при нарастании уровня HbA1C наблюдалась тенденция к увеличению массы тела.

Контроль гликемии, за счет глюкозозависимой стимуляции секреции инсулина и подавления выработки глюкагона, и снижение массы тела, прежде всего, посредством взаимодействия с центром голода и насыщения в гипоталамусе, относятся к основным терапевтическим эффектам ЛИР [11, 103]. Показано, что ЛИР оказывает как гипогликемизирующее, так и центральное анорексигенное действие, путем взаимодействия со специфическим трансмембранным G-белковым рецептором [59, 75]. Вероятно, данные процессы протекают параллельно, в связи с чем пациенты, достигающие на терапии ЛИР удовлетворительного контроля гликемии, имеют и выраженную потерю массы тела.

### ***3.1.3 Динамика показателей липидного спектра***

Как указывалось выше, исходно у пациентов обеих групп наблюдались признаки дислипидемии (таблица 7).

Таблица 7 – Динамика показателей липидного спектра в группах 1 и 2 в течение 6 месяцев терапии

Показатель		Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)
ОХ	группа 1	4,91 (4,74; 5,42)	5,63 (4,5; 5,63)	4,81 (4,63; 4,81)
	группа 2	4,81 (3,33; 6,37)	4,56 (3,87; 6,4)	4,64 (3,28; 6,62)
ХС ЛПВП	группа 1	1,45 (1,17; 1,65)	0,95 (0,79; 0,95)	1,46 (1,1; 1,46)
	группа 2	0,89 (0,66; 1,42)	0,91 (0,66; 1,23)	1,13 (0,63; 1,26) *
ХС ЛПОНП	группа 1	0,81 (0,46; 1,29)	0,64 (0,53; 0,64)	0,89 (0,39; 0,89)
	группа 2	1,1 (0,79; 1,18)	1,06 (0,62; 2,35) §	0,91 (0,76; 2,9)
ХС ЛПНП	группа 1	2,8 (2,32; 3,13)	3,74 (3,18; 3,74)	2,78 (2,34; 2,78) §
	группа 2	2,19 (1,87; 3,77)	2,58 (1,77; 3,4)	1,68 (1,08; 3,73)
ТГ	группа 1	1,75 (1,0; 2,8)	1,39 (1,16; 1,39)	1,94 (0,84; 1,94)
	группа 2	2,4 (1,73; 2,58)	2,32 (1,35; 5,12) §	1,98 (1,66; 6,32)
К/А	группа 1	2,67 (1,93; 3,27)	4,9 (4,7; 4,9)	2,17 (2,16; 2,17)
	группа 2	3,66 (2,84; 4,05) *	3,57 (2,07; 14,25)	2,8 (2,25; 8,64)

Примечание – ОХ – общий холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ТГ – триглицериды; К/А – коэффициент атерогенности; \* –  $p < 0,05$  между группами 1 и 2; § –  $p < 0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.

На фоне монотерапии МЕТ в течение 6 мес в группе 1 не наблюдалось достоверной динамики уровня ОХ, ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП и ТГ (таблица 7). Таким образом, терапия МЕТ не оказывает положительного влияния на параметры липидного спектра, несмотря на достижение удовлетворительного контроля гликемии.

Добавление же к терапии ЛИР привело к улучшению показателей липидного обмена.

Уровень ОХ и ХС ЛПВП не претерпевали достоверной динамики в группе 2 в течение 6 месяцев наблюдения.

В то же время, через 6 мес терапии ЛИР наблюдалась тенденция ( $p=0,084$ ) к снижению уровня ХС ЛПНП, по сравнению с исходным уровнем, что характеризует

антиатерогенный потенциал ЛИР. ХС ЛПОНП достоверно снизился через 3 мес лечения ЛИР. Аналогично, концентрация ТГ в группе 2 достоверно уменьшилась через 3 мес и далее продолжала снижаться, уже статистически не достоверно. Наконец, коэффициент атерогенности, который исходно был выше в группе 2, снизился на фоне терапии ЛИР, и уже через 3 мес лечения различий между группами 1 и 2 не наблюдалось. Снижение коэффициента атерогенности находилось на уровне статистической тенденции через 3 мес терапии ( $p=0,059$ ); дальнейшее уменьшение не достигало степени достоверности (таблица 7).

Таким образом, ЛИР оказывает положительное влияние на параметры липидного обмена, прежде всего за счет снижения проатерогенных фракций липидов – ХС ЛПНП и ЛПОНП, а также за счет уменьшения выраженности гипертриглицеридемии.

Способность ЛИР улучшать показатели липидного спектра, в частности, снижать концентрацию ТГ, независимо от наличия или отсутствия сопутствующей терапии статинами, находит подтверждение в работах ряда авторов [117, 119]. Также в литературе описана и способность препарата предотвращать нарастание ХС ЛПОНП [73]. Наконец, исследование LEADER показало возможность ЛИР снижать уровень ХС ЛПНП, по сравнению с плацебо [118]. Данное исследование продемонстрировало и способность ЛИР снижать уровень ОХ и повышать концентрацию ХС ЛПВП, чего не наблюдалось у описываемых нами больных. Вепнятно, такие различия обусловлены недостаточным сроком наблюдения (по результатам LEADER, указанные изменения липидного спектра были выявлены через 3 года).

### ***3.1.4 Динамика показателей инсулин-секреторной функции поджелудочной железы***

Как указывалось выше, исходно уровень С-пептида незначительно превышал норму в обеих группах, концентрация же инсулина была выше нормы только в группе 2, что трактовалось нами как проявление более выраженной инсулинорезистентности у этих больных.

У пациентов группы 1, находившихся в течение всего времени наблюдения на монотерапии МЕТ, концентрация С-пептида и инсулина не претерпевала достоверной

динамики. При этом уровень С-пептида уже через 3 месяца, на фоне достижения удовлетворительного гликемического профиля, незначительно снизился, достигнув референсного интервала, и оставался в его пределах через 6 месяцев. Уровень инсулина в группе 1 соответствовал норме в течение всего времени исследования (таблица 8).

В группе 2 концентрация С-пептида через 3 месяца достоверно снизилась, достигнув нормы, и оставалась в ее пределах к 6-му месяцу наблюдения. Примечательно, что концентрация инсулина также достоверно снизилась в течение первых трех месяцев терапии ЛИР, достигнув нормальных значений, несмотря на то, что удовлетворительный контроль гликемии в данной группе в целом еще не был достигнут (HbA1C 7,6 (7,2; 8,3)%). Через 6 месяцев терапии ЛИР уровень инсулина сохранялся в пределах нормы (таблица 8).

Таблица 8 – Динамика уровня С-пептида и инсулина у пациентов групп 1 и 2 в течение 6 месяцев наблюдения

Показатель		Норма	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)
С-пептид, нг/мл	группа 1	1,10-4,40	4,46 (1,15; 4,46)	3,59 (1,19; 3,59)	3,26 (0,83; 3,26)
	группа 2		4,57 (4,47; 6,14)	3,41 (2,34; 4,72) §	3,5 (1,98; 6,18)
Инсулин, пмоль/л	группа 1	17,8-173,0	102,0 (77,2; 102,0)	59,1 (42,5; 59,1)	148,3 (70,6; 148,3)
	группа 2		180,65 (141,1; 248,18)	161,05 (108,65; 200,98) §	140,9 (117,8; 173,1)
Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.					

Следовательно, применение у пациентов группы 1 МЕТ, являющегося известным инсулиносенситайзером, привело к уменьшению выраженности инсулинорезистентности, проявившемуся в снижении исходно незначительно повышенного С-пептида, что произошло одновременно с достижением эугликемии. Добавление к терапии ЛИР вызвало снижение как С-пептида, так и инсулина, оба

из которых были повышены исходно, и данный эффект реализовался раньше, чем был достигнут удовлетворительный контроль гликемии. Это позволяет предполагать, что исследуемый препарат способен улучшать чувствительность тканей к инсулину. Данное свойство ЛИР описано в ряде экспериментальных и клинических работ [64, 65, 187].

### 3.2 Оценка уровня маркеров эндотелиальной дисфункции и нейроглиального повреждения

#### 3.2.1 Исследование исходных параметров

Исходный уровень PAI-1 был выше нормы в обеих группах, причем в группе 2 достоверно больше, чем в группе 1. Уровень t-PA был в пределах референсных значений в обеих группах и достоверно не различался между группами. Концентрация эндотелина-1 находилась в пределах нормы у пациентов группы 1 и превышала норму у пациентов группы 2. При этом уровень эндотелина-1 был достоверно выше в группе 2 (таблица 9).

Таблица 9 – Исходный уровень маркеров дисфункции эндотелия и нейроглиального повреждения в группах 1 и 2

Показатель	Норма	Группа 1, медиана (25%; 75%)	Группа 2, медиана (25%; 75%)	Достоверность различий, p
<b>PAI-1, нг/мл</b>	7,0-43,0	48,79 (32,96; 96,2)	87,3 (75,75; 108,93)	<b>0,028</b>
t-PA, нг/мл	2,0-8,0	5,26 (3,39; 6,07)	5,16 (4,19; 7,7)	0,368
<b>эндотелин-1, пмоль/л</b>	0,227-0,809	0,74 (0,28; 1,23)	2,14 (0,73; 3,23)	<b>0,045</b>
<b>NSE, мкг/л</b>	2,3-6,5	8,74 (4,52; 23,9)	26,55 (15,06; 43,95)	<b>0,044</b>
S100, нг/л	11,7-25,0	73,2 (21,98; 176,05)	136,85 (79,55; 296,03)	0,246
Примечание – PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1; t-PA – тканевой активатор плазминогена; NSE – нейронспецифическая енолаза, S100 – белок S100.				

Были выявлены достоверные различия в исходном уровне NSE между группами 1 и 2. При этом в обеих группах показатель превышал норму, характерную для здоровых лиц. Исходный уровень белка S100 был повышен в обеих группах. При этом достоверных различий в концентрации данного маркера нейроглиального повреждения между группами 1 и 2 не наблюдалось (таблица 9).

Таким образом, будущие группы 1 и 2 различались по полу, длительности анамнеза СД 2 типа, наличию отягощенной наследственности по СД, а также по исходному уровню таких маркеров дисфункции эндотелия, как PAI-1 и эндотелин-1, и концентрации маркера нейронального повреждения NSE. В этой связи, описанные показатели, в том или ином сочетании, могут рассматриваться в качестве предикторов возможности достижения пациентом эугликемии на монотерапии МЕТ.

Важно отметить, что исходные уровни PAI-1, t-PA, эндотелина-1, NSE и белка S100 не коррелировали с параметрами углеводного обмена, такими как длительность анамнеза СД 2 типа, концентрация HbA1C, а также уровень инсулина и С-пептида (таблица 10).

Таблица 10 – Корреляционная связь между маркерами эндотелиальной дисфункции и нейроглиального повреждения и показателями углеводного обмена

Показатель	Корреляция	t-PA	PAI-1	эндотелин-1	белок 100	NSE
Длительность анамнеза СД	коэффициент корреляции, r	0,141	0,13	0,171	0,095	0,19
	достоверность различий, p	0,38	0,417	0,286	0,551	0,234
HbA1C	коэффициент корреляции, r	0,128	0,093	0,148	-0,019	0,154
	достоверность различий, p	0,42	0,56	0,35	0,906	0,33
С-пептид	коэффициент корреляции, r	-0,253	0,764	0,826	-0,837	0,467
	достоверность различий, p	0,747	0,236	0,174	0,163	0,533



## Продолжение таблицы 10

Показатель	Корреляция	t-PA	PAI-1	эндотелин-1	белок 100	NSE
Инсулин	коэффициент корреляции, r	-0,190	-0,001	0,350	0,069	-0,369
	достоверность различий, p	0,653	0,998	0,395	0,871	0,368

Представленные данные еще раз подтверждают гипотезу, что уровни PAI-1, эндотелина-1, NSE могут являться предикторами возможности или невозможности достижения удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии MET, вероятно, являясь индикаторами тяжести нейроглиального повреждения и эндотелиальной дисфункции, но не маркерами длительности СД, компенсации углеводного обмена или выраженности инсулинорезистентности. Однако для прогнозирования терапевтического ответа на MET необходима комплексная оценка роли каждого из перечисленных клинических и лабораторных показателей.

Была выявлена положительная корреляционная связь между уровнем t-PA и PAI-1 ( $r=0,554$ ,  $p=0,000$ ), что, вероятно, отражает реально существующее взаимодействие между данными двумя компонентами системы фибринолиза (рисунок 4).

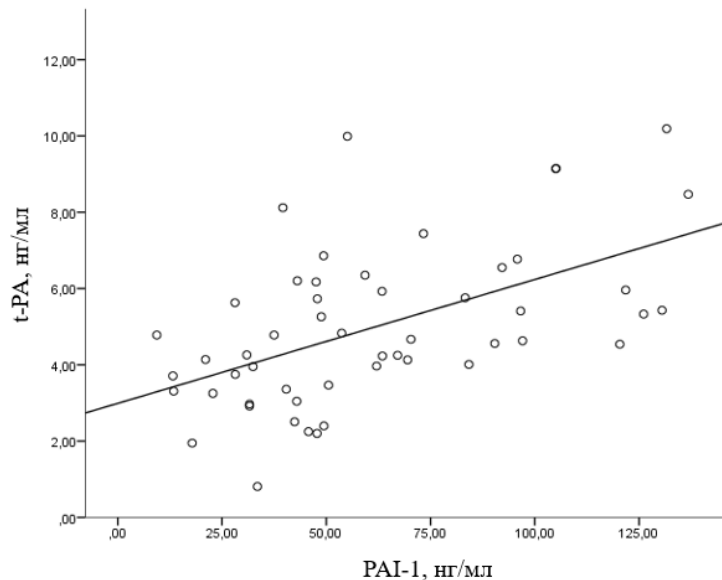


Рисунок 4 – Корреляционная связь между концентрацией t-PA и PAI-1

Также была обнаружена положительная корреляционная связь между концентрацией белка S100 и NSE ( $r=0,353$ ,  $p=0,044$ ), что может свидетельствовать о характере патологического процесса в ЦНС при СД 2 типа с одновременным поражением глиальных и нейрональных элементов (рисунок 5).

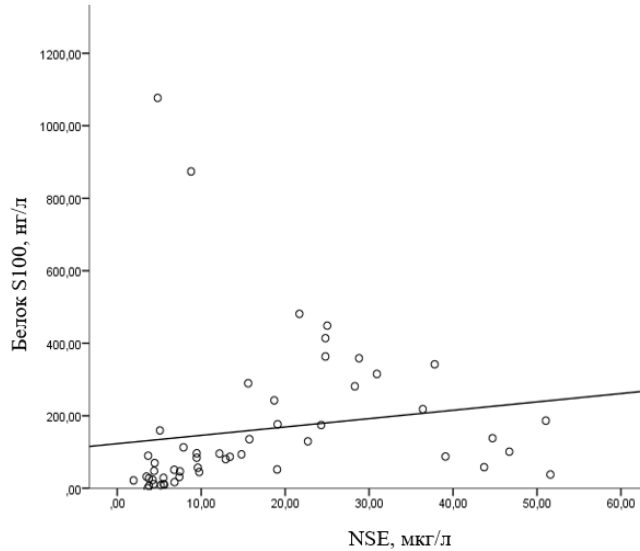


Рисунок 5 – Корреляционная связь между концентрацией белка S100 и NSE

Представляется важным выявление корреляционных связей между маркером нейронального повреждения NSE и маркерами нарушения гемостатической – PAI-1 ( $r=0,389$ ,  $p=0,004$ ), и вазомоторной – эндотелин-1 ( $r=0,397$ ,  $p=0,004$ ) функций эндотелия (рисунки 6, 7). Обнаруженная корреляционная связь подтверждает гипотезу о вкладе дисфункции эндотелия в поражение ЦНС при СД 2 типа.

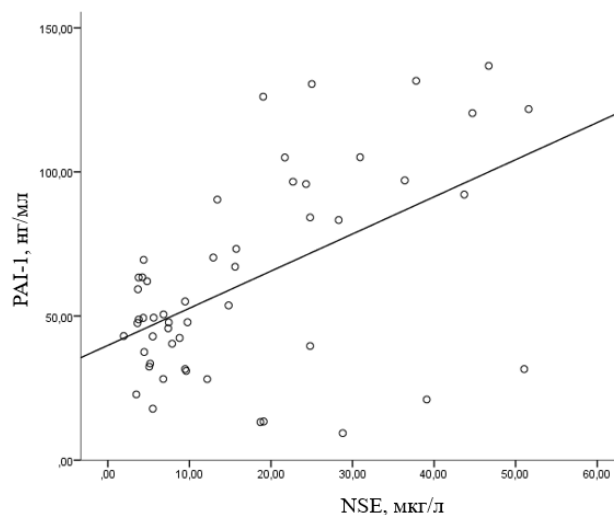


Рисунок 6 – Корреляционная связь между концентрацией PAI-1 и NSE

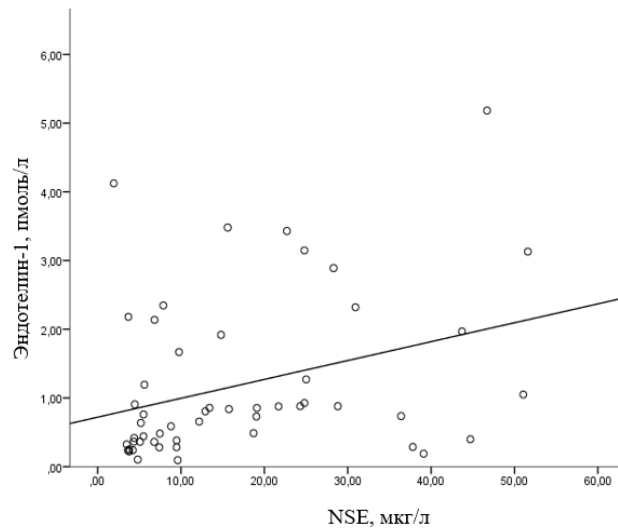


Рисунок 7 – Корреляционная связь между концентрацией эндотелина-1 и NSE

Для верификации связи между нейрональным повреждением и дисфункцией эндотелия, все пациенты были разделены на две группы по уровню NSE: уровень  $NSE \leq$  медиана (10,97 мкг/л) и  $NSE >$  медианы (10,97 мкг/л), различия между данными группами достоверны. Затем было произведено сравнение концентрации эндотелина-1 и PAI-1 в полученных двух группах и были выявлены достоверные различия в исследуемых показателях (таблица 11).

Таблица 11 – Различия в уровне PAI-1 и эндотелина-1 в зависимости от уровня NSE

Маркер дисфункции эндотелия	$NSE \leq 10,97$ мкг/л	$NSE > 10,97$ мкг/л	Достоверность различий, p
PAI-1, нг/мл	46,65 (33,23;51,67)	87,3 (37,6;108,93)	0,003
Эндотелин-1, пмоль/л	0,4 (0,27; 0,98)	0,88 (0,73; 2,46)	0,002

### ***3.2.2 Исследование динамики маркеров эндотелиальной дисфункции и нейроглиального повреждения***

Уровень PAI-1 достоверно снизился в группе 1 через 3 мес, достигнув верхней границы нормы, на фоне удовлетворительного контроля гликемии. В дальнейшем

данный показатель не имел достоверной динамики, оставаясь на верхней границе нормы через 6 мес и чуть выше ее через 9 мес (таблица 12).

Таблица 12 – Динамика концентрации PAI-1, нг/мл

Группа	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес, медиана (25%; 75%)
Группа 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)
Группа 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)
Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.				

В группе 2 через 3 мес, на фоне некоторого улучшения контроля гликемии, концентрация PAI-1 значительно уменьшилась, хотя и не достигла нормы. Через 6 мес уровень PAI-1 имел тенденцию к дальнейшему снижению, однако по-прежнему превышал нормальные значения. Через 9 мес показатель не претерпевал достоверной динамики (таблица 12). Учитывая отсутствие выявленной корреляции PAI-1 с концентрацией HbA1C, мы считаем, что нормализация описываемого маркера в группе 1 связана прежде всего с большей длительностью эугликемии и меньшей вариабельностью гликемии в этой группе. ЛИР не оказал положительного влияния на описываемый показатель.

В течение всего периода наблюдения концентрация t-РА оставалась в пределах референсных значений как в группе 1, так и в группе 2 (таблица 13).

Таким образом, улучшение контроля гликемии, а также длительная экспозиция эугликемии позволяют уменьшить выраженность нарушения гемостатической функции эндотелия. В то же время, ЛИР не оказывает самостоятельного положительного влияния на гемостатическую функцию эндотелия, действуя лишь опосредованно, за счет изменения гликемического профиля.

Таблица 13 – Динамика концентрации t-РА, нг/мл

Группа	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес, медиана (25%; 75%)
Группа 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)
Группа 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.				

Концентрация эндотелина-1 в группе 1, исходно не выходящая за пределы референсного интервала, через 3 мес по-прежнему оставалась в пределах нормы. Через 6 и 9 мес в группе 1 в целом данный показатель не претерпевал достоверных изменений. В то же время, через 9 мес в группе 1б наблюдалось достоверное нарастание концентрации эндотелина-1 на фоне ухудшения гликемического профиля. Различия в уровне эндотелина-1 у пациентов групп 1а и 1б достоверны,  $p = 0,045$  (таблица 14).

Таблица 14 – Динамика концентрации эндотелина-1, пмоль/л

Группа	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес, медиана (25%; 75%)	
				«+» динамика	«-» динамика
Группа 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) §
Группа 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)*
Примечание – * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; § – $p < 0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.					

У пациентов группы 2 через 3 мес, на фоне некоторого улучшения контроля гликемии, произошло снижение уровня эндотелина-1, показатель достиг нормы

и оставался в ее пределах в течение последующего времени исследования. Необходимо отметить, что через 9 мес концентрация эндотелина-1 не различалась у пациентов группы 2а, имевших удовлетворительный контроль гликемии, и у больных группы 2б, на фоне ухудшения углеводного обмена (таблица 14). При этом уровень описываемого маркера у пациентов группы 2б был достоверно ниже такового у пациентов группы 1б,  $p=0,032$ .

Таким образом, улучшение контроля гликемии положительно влияет на вазомоторную функцию эндотелия, приводя к снижению концентрации эндотелина-1. Эффекты МЕТ в отношении вазомоторной функции эндотелия опосредованы влиянием препарата на гликемический профиль, нивелируясь при ухудшении последнего. ЛИР же обладает эндотелиопротективным свойством, улучшая вазомоторную функцию вне зависимости от гликемического статуса. Вероятно, эндотелиопротективный эффект ЛИР является самостоятельным, и реализация его происходит параллельно влиянию на инсулин-зависимую секрецию инсулина. Возможно, эндотелиопротективный эффект опосредуется не только взаимодействием ГПП-1 со специфическим трансмембранным G-рецептором, но также включает рецептор-неопосредованные механизмы.

Улучшение контроля гликемии привело к достоверному снижению уровня 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 референсного интервала. Через 9 мес в группе 1 в целом наблюдалось некоторое снижение NSE (4,05 (3,61; 6,8) мкг/л), статистически не достоверное, показатель достиг нормы. Уровень белка S100 по-прежнему оставался в пределах референсного интервала (20,82 (13,1; 70,5) нг/л). Важно отметить, что через 9 мес уровень NSE и белка S100 находился в референсном диапазоне в группе 1а. В то же время, у пациентов группы 1б наблюдалось нарастание концентрации как NSE, так и белка S100. Уровень NSE у пациентов группы 1а был достоверно ниже такового у пациентов группы 1б ( $p=0,015$ ). Аналогично, наблюдались достоверные различия в концентрации S100 между группами 1а и 1б ( $p=0,048$ ).

В группе 2 через 3 мес наблюдалось снижение уровня NSE и белка S100, однако оба показателя по-прежнему превышали референсные значения. Через 6 мес, при добавлении к терапии ЛИР, концентрация NSE достоверно снизилась и достигла нормы. В то же время, достоверного снижения уровня белка S100 через 6 мес не наблюдалось, медиана данного показателя превышала норму. Через 9 мес в целом 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, по сравнению с предыдущим измерением ( $p=0,1$ ), и фактически достиг верхней границы нормы в группе 2 через 9 мес (26,37 (19,27; 49,75) нг/л). Важно отметить, что концентрация NSE через 9 мес не различалась у пациентов групп 2а и 2б. Аналогично, уровень белка S100 не различался у пациентов группы 2а и 2б. При этом концентрация как NSE, так и белка S100 у пациентов группы 1б была достоверно выше таковой у пациентов группы 2б (таблицы 15, 16).

Таблица 15 – Динамика концентрации белка NSE, мкг/л

Группа	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес, медиана (25%; 75%)	
				«+» динамика	«-» динамика
Группа 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)
Группа 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)*
Примечание – * – $p<0,05$ между группами 1 и 2; § – $p<0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.					

Таблица 16 – Динамика концентрации белка S100, нг/л

Группа	Исходно, медиана (25%; 75%)	3 мес, Медиана (25%; 75%)	6 мес, медиана (25%; 75%)	9 мес, медиана (25%; 75%)	
				«+» динамика	«-» динамика
Группа 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)
Группа 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.					

Полученные данные свидетельствуют о том, что улучшение гликемического статуса обладает защитным действием в отношении ЦНС, приводя к снижению уровня маркеров как нейронального, так и глиального повреждения. МЕТ не показал самостоятельного протективного эффекта в отношении ЦНС, его положительное действие, вероятно, обусловлено улучшением гликемического профиля. ЛИР обладает нейропротективными свойствами, проявляющимися независимо от влияния препарата на углеводный обмен. При этом защитное влияние ЛИР в отношении нейроглии тем более выражено, чем длительнее срок применения препарата, что нашло отражение в полной нормализации белка S100 лишь через 6 мес терапии ЛИР (9 мес наблюдения). Требуется дальнейшее изучение механизмов нейропротективного эффекта агонистов рецептора ГПП-1.

### **3.3 Прогнозирование достижения удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии метформином**

В ходе исследования был проведен анализ основных клинических и лабораторных характеристик пациентов групп 1 и 2, для выявления параметров, повышающих вероятность недостижения целевого уровня HbA1C на монотерапии МЕТ. При вычислении отношения шансов были использованы следующие показатели: исходный уровень HbA1C более 8,0% (указанный уровень является верхним допустимым, в соответствии с «Алгоритмами специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 2017 года), концентрация маркеров нейроглиального повреждения белка S100 и NSE и маркеров дисфункции эндотелия PAI-1, t-PA и эндотелина-1 выше нормы, в качестве лабораторных признаков, а также такие клиничко-anamнестические показатели, как анамнез СД и ГБ более 5 лет, женский пол (т.к. ранее нами было установлено, что в будущей группе 2 преобладают лица женского пола), факт курения, наличие отягощенной наследственности по СД и по ССЗ (рисунок 8).

В ходе статистического анализа было выяснено, что недостижение эугликемии на монотерапии МЕТ достоверно чаще отмечается у лиц женского пола, с анамнезом СД более 5 лет, с отягощенной наследственностью по СД и при наличии курения. Однако



ни один из указанных признаков не может рассматриваться в качестве самостоятельного предиктора невозможности достижения эугликемии на МЕТ. Требуется установление комплекса прогностических факторов, на основании методов математико-статистического моделирования.

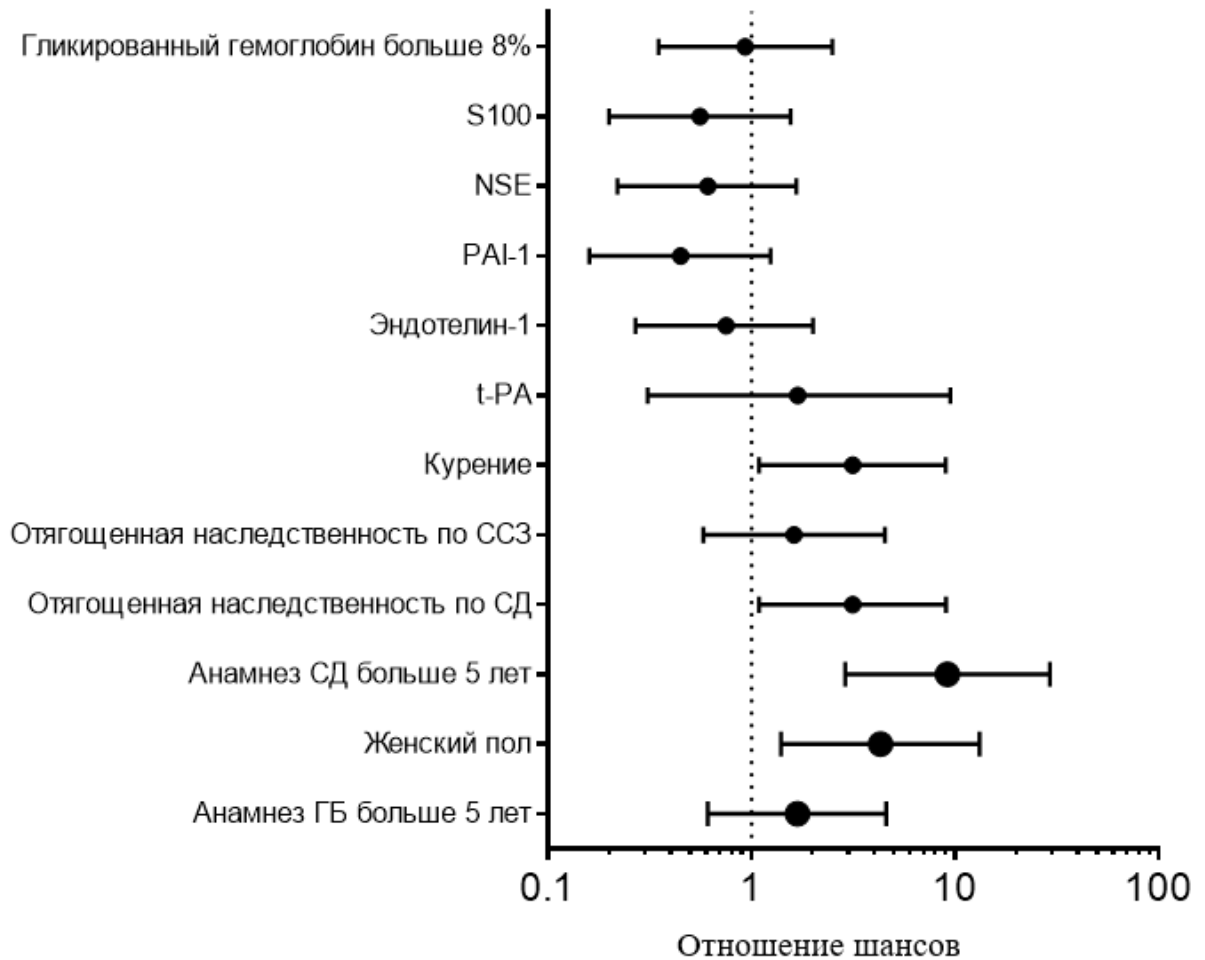


Рисунок 8 – Отношение шансов недостижения эугликемии на монотерапии МЕТ

В дальнейший статистический анализ были включены данные мужчин и женщин в возрасте от 45 до 75 лет с уровнем HbA1C 7,5%-9,0% на монотерапии МЕТ в дозе до 2000 мг/сут (в соответствии с критериями включения в основное исследование).

Осуществлялся пошаговый дискриминантный анализ значимости исходных показателей. Параметры, включенные в анализ, представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Клинико-лабораторные характеристики пациентов групп 1 и 2, включенные в дискриминантный анализ

Параметр	Группа 1	Группа 2	Достоверность различий, p
<b>Пол</b>			<b>0,044</b>
мужской, n (%)	14 (50%)	5 (20,8%)	
женский, n (%)	14 (50%)	19 (79,2%)	
<b>наследственность по ССЗ</b>			0,391
отягощена, n (%)	16 (57,1%)	17 (70,8%)	
не отягощена, n (%)	12 (42,9%)	7 (29,2%)	
<b>Наследственность по СД</b>			<b>0,021</b>
отягощена, n (%)	6 (21,4%)	13 (54,2%)	
не отягощена, n (%)	22 (78,6%)	11 (45,8%)	
<b>Курение</b>			1,000
да, n (%)	6 (21,4%)	6 (25,0%)	
нет, n (%)	22 (78,6%)	18 (75,0%)	
возраст, лет, медиана (25%; 75%)	56,0 (49,25; 66,0)	57,0 (54,75; 63,25)	0,430
<b>длительность анамнеза СД, лет, медиана (25%; 75%)</b>	1,75 (0,0; 5,25)	10,0 (8,0; 15,0)	<b>0,000</b>
длительность анамнеза ГБ, лет, медиана (25%; 75%)	10,0 (2,0; 20,75)	10,0 (2,0; 26,0)	0,819
гликированный гемоглобин, %, медиана (25%; 75%)	8,4 (7,5; 9,0)	7,8 (7,54; 8,7)	0,471
<b>уровень PAI-1, нг/мл, медиана (25%; 75%)</b>	48,79 (32,96; 96,2)	87,3 (71,75; 108,93)	<b>0,028</b>
уровень t-РА, нг/мл, медиана (25%; 75%)	5,26 (3,39; 6,07)	5,16 (4,19; 7,7)	0,368
<b>уровень эндотелина-1, пмоль/л, медиана (25%; 75%)</b>	0,74 (0,28; 1,23)	2,14 (0,73; 3,23)	<b>0,045</b>
<b>уровень NSE, мкг/л, медиана (25%; 75%)</b>	8,74 (4,52; 23,9)	26,55 (15,06; 43,95)	<b>0,044</b>
уровень белка S100, нг/л, медиана (25%; 75%)	73,2 (21,98; 176,05)	136,85 (79,55; 296,03)	0,246

Наибольшую прогностическую значимость имело **сочетание** следующих параметров: принадлежность к женскому полу, наличие отягощенной наследственности по СД, а также высокие уровни эндотелина-1 и t-РА. На основании данных показателей была создана математическая **дискриминантная модель прогнозирования низкой эффективности монотерапии метформином**. Для получения прогноза достижения или не достижения эугликемии (HbA1C менее 7,5%) на монотерапии МЕТ рассчитывались показатели линейных дискриминантных функций ЛДФ<sub>1</sub> и ЛДФ<sub>2</sub> (таблица 18).

Таблица 18 – Признаки, включенные в модель прогнозирования недостижения эугликемии на монотерапии МЕТ и их значимость

Наименование признаков линии дискриминантной функции	Единицы измерения и градации признаков	Коэффициенты		Уровень значимости, p
		ЛДФ1 (эугликемия на монотерапии метформином достигнута)	ЛДФ2 (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-РА (X4)	нг/мл	4,01	6,54	0,01
Константы	–	-6,59	-19,39	–
Примечание – ЛДФ – линейная дискриминантная функция.				

Производилось вычисление ЛДФ1 и ЛДФ2 по формулам (1, 2):

$$\text{ЛДФ1} = -6,59 + 1,31X1 + 4,42X2 + 1,69X3 + 4,01X4, \quad (1)$$

$$\text{ЛДФ2} = -19,39 + 2,96X1 + 8,23X2 + 2,48X3 + 6,54X4, \quad (2)$$

Далее сравнивались показатели ЛДФ1 и ЛДФ2 и определялся прогноз, в соответствии с преобладающим значением.

Оценка качества созданной модели показала, что классификационная способность составляет 97,1% (таблица 19). При этом более высокую чувствительность модель демонстрирует в отношении прогнозирования возможности (100%) и несколько меньшую – в отношении невозможности (83,3%) достижения эугликемии на монотерапии МЕТ.

Таблица 19 – Классификация пациентов групп 1 и 2 с помощью модели прогноза и наблюдавшиеся исходы

Исходы	Прогнозируемые			Прогнозируемая вероятность исходов, %
	эугликемия на монотерапии метформином достигнута	эугликемия на монотерапии метформином НЕ достигнута	всего наблюдений	
эугликемия на монотерапии метформином достигнута	28	0	28	100%
эугликемия на монотерапии метформином НЕ достигнута	1	5	6	83,3%
Всего в прогнозе	29	5	34	97,1%
Примечание – по строкам: классификация соответственно базе данных; по столбцам: классификация соответственно прогнозу.				

Важно отметить, что модель включает в себя параметры, отражающие как клиничко-анамнестические характеристики больных (принадлежность к женскому полу, наличие отягощенной наследственности по СД), так и лабораторные маркеры эндотелиальной дисфункции, причем спектр последних охватывает оценку как вазомоторной (энотелин-1), так и гемостатической (t-РА) функции эндотелия. Таким

образом, прогнозирование возможности или невозможности достижения эугликемии на монотерапии МЕТ строится на комплексном анализе данных больного, одну из ключевых ролей в котором играет исследование состояния эндотелия. Мы предполагаем, что вклад эндотелиальной функции в прогнозирование ответа пациента на медикаментозную терапию еще раз подтверждает гипотезу о том, что эндотелиальная дисфункция является не просто следствием СД 2 типа, но и важным патогенетическим звеном развивающихся системных проявлений данного заболевания, возможно, характеризующим «тяжесть» последнего, а следовательно, и объясняющим возможную частичную резистентность к проводимой терапии.

Описанная модель может применяться в практике врача-эндокринолога и терапевта. Она позволяет определить возможность достижения эугликемии на монотерапии МЕТ у пациента 45-75 лет с СД 2 типа с HbA1C 7,5-9,0%. При получении у такого больного значения ЛДФ1>ЛДФ2 рекомендовано продолжать титрацию дозы МЕТ в течение последующих 3 месяцев. Если ЛДФ2>ЛДФ1, вероятно, монотерапия МЕТ окажется малоэффективной. В этой связи, таким больным целесообразно как можно раньше интенсифицировать сахароснижающую терапию с включением в нее препаратов, обладающих дополнительным защитным эффектом в отношении функции эндотелия, каким, по результатам нашего исследования, обладает агонист рецептора ГПП-1 ЛИР. Является ли данное свойство препарата класс-эффектом, требует дальнейшего изучения.

### **3.4 Оценка ацетилхолин-индуцированной эндотелий-зависимой вазодилатации**

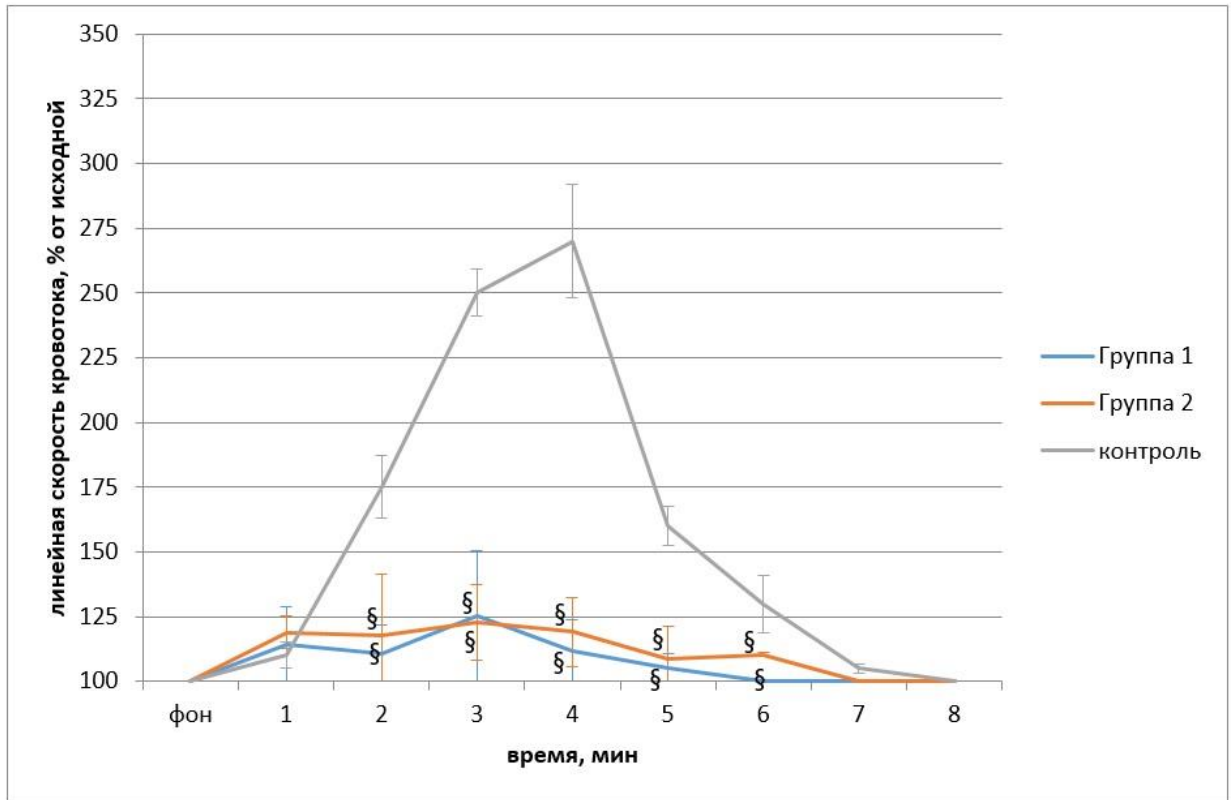
**Исходно** как у пациентов группы 1, так и у пациентов группы 2, имело место нарушение ответа на АХ, по сравнению со здоровыми людьми. Это отражалось прежде всего в уменьшении площади под кривой «время\*скорость кровотока», причем наблюдалось уменьшение площади как под первой фазой кривой ответа на АХ (AUC1), обусловленной преимущественно влиянием NO, так и под второй фазой кривой (AUC2), характеризующей преимущественно активность эндотелиального гиперполяризующего фактора (ЭГФ). При этом AUC1 и общая AUC не различались в группах 1 и 2. В то же

время, AUC2 в группе 2 была достоверно больше таковой в группе 1, что позволяет предположить менее значительное угнетение активности ЭГФ в группе 2, которое, в то же время, было достоверным, при сравнении с контрольной группой. Причины описанных изменений требуют дальнейшего изучения и анализа. С целью выявления причин большей исходной активности ЭГФ в группе 2 был выполнен поиск возможной корреляционной связи между AUC2 и ключевыми клинико-лабораторными характеристиками, такими как исходный уровень HbA1C, длительность анамнеза СД и ГБ, возраст, а также уровень инсулина и С-пептида. Была обнаружена отрицательная корреляционная связь между AUC2 и исходным уровнем HbA1C ( $r=-0,417$ ,  $p=0,022$ ), что соотносится с данными о том, что HbA1C в группе 2 был ниже, чем в группе 1, статистически незначимо. Других достоверных корреляционных связей выявлено не было. Следовательно, можно предполагать, что активность ЭГФ является параметром, наиболее чувствительным к колебаниям гликемии и уровню контроля гликемии на момент обследования.

Амплитуда реакции на АХ в обеих группах была достоверно ниже таковой в группе здоровых лиц и не отличалась между группами 1 и 2.

Не было выявлено достоверных различий во времени начала реакции эндотелий-зависимой вазодилатации после ионофореза АХ, во времени окончания реакции, а также во времени достижения максимальной амплитуды ответа на АХ между группами 1 и 2, а также по сравнению с контрольной группой. Указанные параметры не претерпевали статистически значимых изменений в течение всего времени наблюдения.

Показатели линейной скорости кровотока, измеренные в течение 8 минут после выполнения ионофореза АХ, продемонстрированы на рисунке 9. Все указанные выше параметры представлены в таблице 20.



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

Рисунок 9 – Линейная скорость кровотока после ионофореза ацетилхолина (исходно)

Таблица 20 – Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группах 1 и 2 в течение всего времени наблюдения

Время оценки	Группа	T нач, мин	T оконч, мин	T макс, мин	A, % от исходной	AUC 1, мин*%	AUC 2, мин*%	AUC общ, мин*%
исходно	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)
	группа 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) #
	группа 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) #

Продолжение таблицы 20

Время оценки	Группа	Т нач, мин	Т оконч, мин	Т макс, мин	А, % от исходной	AUC 1, мин*%#	AUC 2, мин*%#	AUC общ, мин*%#
3 мес	группа 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) #
	группа 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	группа 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) #
	группа 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	группа 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) #
	группа 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).

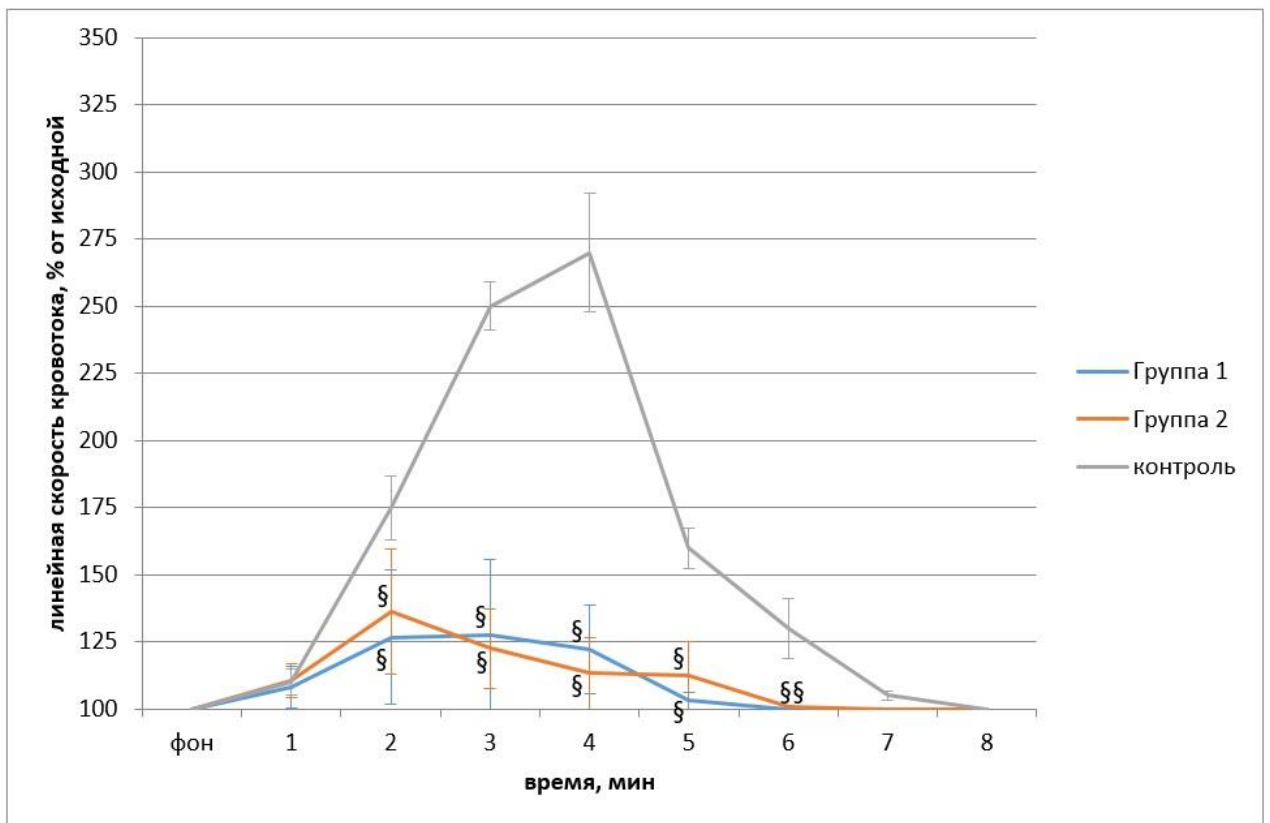
**Через 3 мес** монотерапии МЕТ ни в группе 1, ни в группе 2 не наблюдалось достоверной динамики показателей эндотелий-зависимой вазодилатации, несмотря на то, что у пациентов группы 1 был достигнут удовлетворительный контроль гликемии.



Значения AUC общей в группах 1 и 2 достоверно не выросли, по сравнению с исходными показателями. Примечательно, что через 3 мес не выявлялось достоверных различий в AUC1 и в AUC2 между группами 1 и 2, при этом данные параметры были значимо ниже нормальных. Возможно, это связано с постепенным снижением AUC2 в группе 2, на фоне сохранявшегося неудовлетворительного контроля гликемии, несмотря на то, что указанное снижение не было статистически достоверным.

Амплитуда ответа на АХ не претерпевала достоверных изменений в группах 1 и 2 и не различалась между группами, будучи достоверно ниже нормальной (таблица 20).

Ни на одной из минут измерения не было достоверных различий в линейной скорости кровотока между группами 1 и 2 (рисунок 10).



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

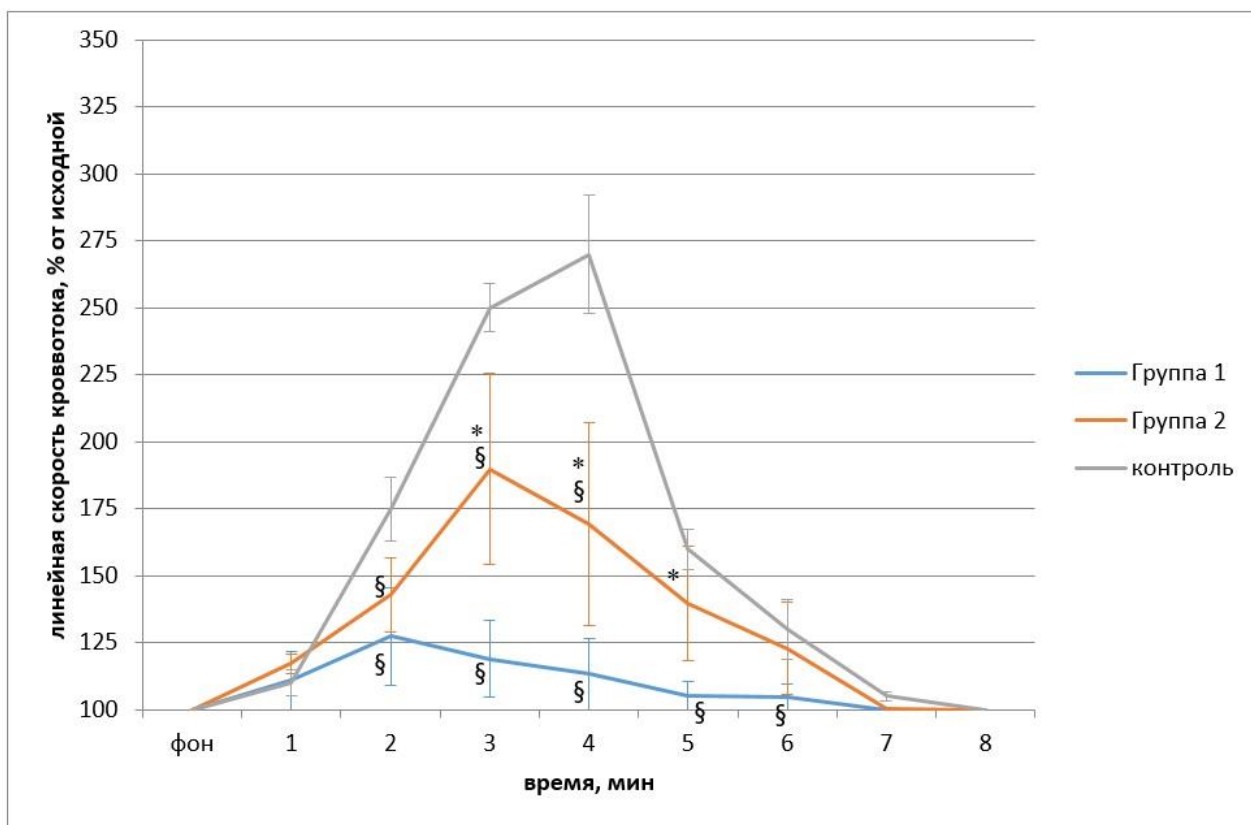
Рисунок 10 – Линейная скорость кровотока после ионофореза ацетилхолина (3 мес)

**Через 6 мес** в группе 1 сохранялся стойко удовлетворительный контроль гликемии, что, однако, не сопровождалось улучшением показателей эндотелий-зависимой вазодилатации. Не наблюдалось достоверного нарастания AUC общей, AUC1

и AUC2. Амплитуда реакции на АХ не претерпевала достоверных изменений, по сравнению с предыдущим измерением, и была ниже нормального показателя.

При этом в группе 2, на фоне добавления к терапии ЛИР, наблюдалось значимое улучшение ответа на АХ. Так, AUC1 имела тенденцию к нарастанию, ( $p=0,09$ ), AUC2 же и AUC общая достоверно увеличились, однако не достигли нормальных показателей. Аналогично, амплитуда линейной скорости кровотока достоверно увеличилась, однако также не достигла нормы (таблица 20).

Группы 1 и 2 различались по показателям AUC 1, 2 и общей и по амплитуде линейной скорости кровотока через 6 мес. Линейная скорость кровотока была достоверно выше в группе 2 на 3, 4 и 5 минутах измерения, по сравнению с группой 1 (рисунок 11).

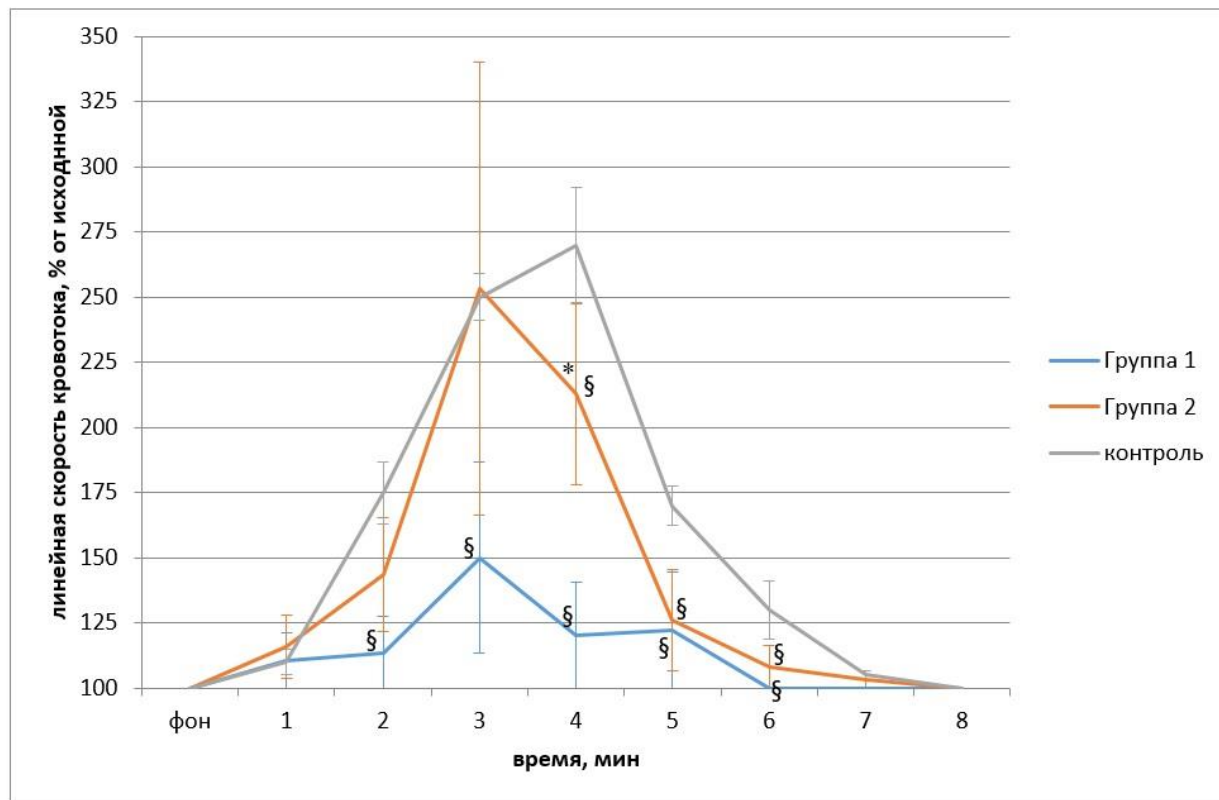


Примечание – \* –  $p<0,05$  между группами 1 и 2; § –  $p<0,05$ , по сравнению с контролем.

Рисунок 11 – Линейная скорость кровотока после ионофореза ацетилхолина (6 мес)

**Через 9 мес** в группе 1 по-прежнему не наблюдалось значимой динамики показателей эндотелий-зависимой вазодилатации (рисунок 12). AUC 1, 2 и общая не

наросли и оставались достоверно ниже значений, характерных для здоровых лиц. Аналогично, амплитуда линейной скорости кровотока не увеличилась, по сравнению с предыдущим измерением (таблица 20).



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

Рисунок 12 – Линейная скорость кровотока после ионофореза ацетилхолина (9 мес)

При этом важно отметить, что пациенты группы 1а не имели достоверной динамики показателей эндотелий-зависимой вазодилатации на фоне монотерапии МЕТ. В то же время у больных группы 1б АUC2 была достоверно меньше таковой у больных группы 1а, что, вероятно, отражает закономерное прогрессивное ухудшение функции эндотелия и снижение активности ЭГФ в условиях ухудшения гликемического профиля. Эти данные согласуются с выявленным нами уменьшением АUC2 в группе 2 через 3 мес терапии МЕТ, в условиях нецелевых показателей гликемии. АUC1, отражающая прежде всего активность NO, и АUC общая достоверно не отличались у пациентов групп 1а и 1б. Возможно, ЭГФ является более чувствительным в отношении колебания гликемии компонентом вазомоторной функции эндотелия, чем NO. Примечательно, что в группе 1б имела место тенденция к укорочению времени реакции на АХ. Так, начало

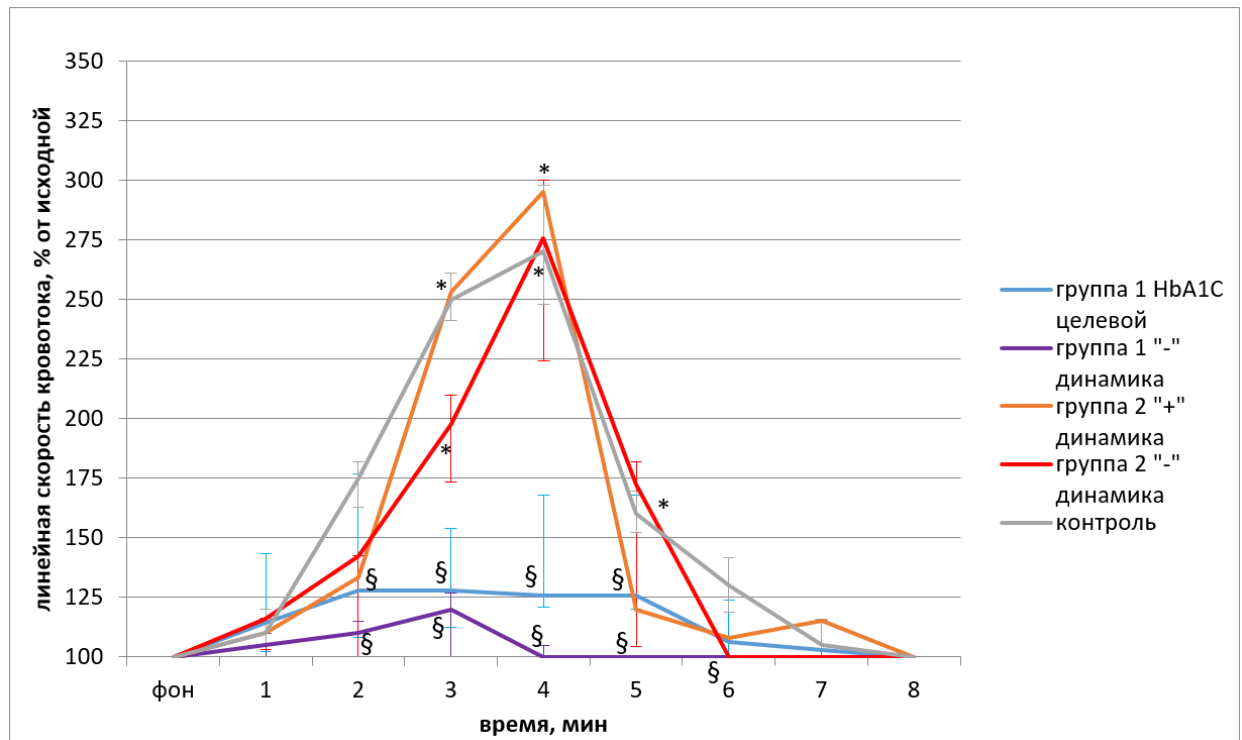
нарастания линейной скорости кровотока у этих больных наблюдалось на 2,0 (1,0; 3,0) минуте, возвращение скорости кровотока к исходному показателю – на 4,0 (4,0; 7,0) минуте (таблица 21, рисунок 13).

Таблица 21 – Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группе 1 через 9 мес

Подгруппа	Т нач, мин	Т оконч, мин	Т макс, мин	А, % от исходной	AUC1, мин*%*	AUC2, мин*%*	AUC общ, мин*%*
Группа 1 «+», медиана (25%; 75%)	1 (1,0; 1,5)	6,5 (6,0; 7,5)	3,5 (3,0; 4,5)	161,75 (136,13; 242,63)	240,76 (203,54; 259,62)	259,62 (122,17; 331,75)	519,24 (325,71; 572,51)
Группа 1 «-», медиана (25%; 75%)	2 (1,0; 3,0)	4,0 (4,0; 7,0)	3 (3;3)	207,02 (150,07; 357,54)	178,77 (75,04; 471,07)	0,0 (0,0; 171,06)	178,77 (75,04; 642,13)
Уровень значимости, р	<b>0,081</b>	<b>0,081</b>	0,14	0,142	0,394	<b>0,026</b>	0,178
Примечание – группа 1 «+» – пациенты группы 1 с удовлетворительным контролем гликемии; группа 1 «-» – пациенты группы 1 с ухудшением контроля гликемии.							

Полученные данные позволяют предположить, что улучшение контроля гликемии и длительное сохранение эугликемии не приводят к восстановлению функциональных вазомоторных показателей эндотелия, а лишь предотвращают закономерное прогрессирование данных нарушений. МЕТ не обладает самостоятельным эндотелиопротективным действием, реализуя свои защитные эффекты лишь посредством влияния на гликемический профиль.

У пациентов группы 2 через 9 мес наблюдалось улучшение показателей эндотелий-зависимой вазодилатации, что отражалось в прогрессивном нарастании AUC 1, 2 и общей, а также амплитуды линейной скорости кровотока. Все указанные показатели достигли таковых, характерных для здоровых лиц, через 9 мес (таблица 20, рисунок 12). При этом нормализация указанных параметров имела место как в группе 2а, так и в группе 2б (рисунок 13). Не было выявлено достоверных различий ни в амплитуде эндотелий-зависимой вазодилатации, ни в показателях AUC, ни в продолжительности ответа на АХ между пациентами групп 2а и 2б (таблица 22).



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

Рисунок 13 – Линейная скорость кровотока после ионофореза ацетилхолина (9 мес), различия между подгруппами

Таблица 22 – Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группе 2 через 9 мес

Подгруппа	Т нач, мин	Т оконч, мин	Т макс, мин	А, % от исходной	AUC1, мин*%*	AUC2, мин*%*	AUC общ, мин*%*
Группа 2 «+», медиана (25%; 75%)	1 (1; 1,75)	7,5 (5,5; 8,0)	3,5 (3,0; 4,0)	346,37 (229,55; 409,87)	736,53 (555,23; 819,74)	509,73 (164,68; 744,71)	1180,87 (808,38; 1541,37)
Группа 2 «-», медиана (25%; 75%)	1 (1; 1)	7,0 (6,0; 8,0)	3,5 (3,0; 5,5)	265,87 (203,49; 726,72)	576,89 (299,94; 1688,75)	371,30 (192,30; 979,74)	821,32 (702,73; 2584,86)
Уровень значимости, p	0,442	1,0	0,721	0,721	0,442	1,0	0,234

Примечание – группа 2 «+» – пациенты группы 2 с удовлетворительным контролем гликемии; группа 2 «-» – пациенты группы 2 с ухудшением контроля гликемии.

Полученные результаты указывают на наличие у ЛИР самостоятельного защитного действия в отношении вазомоторной функции эндотелия, не связанного с влиянием препарата на углеводный обмен. Эти данные согласуются с описанным ранее снижением уровня эндотелина-1 у пациентов, получающих комбинированную терапию МЕТ+ЛИР, которое также реализуется вне зависимости от концентрации HbA1C и времени экспозиции эугликемии.

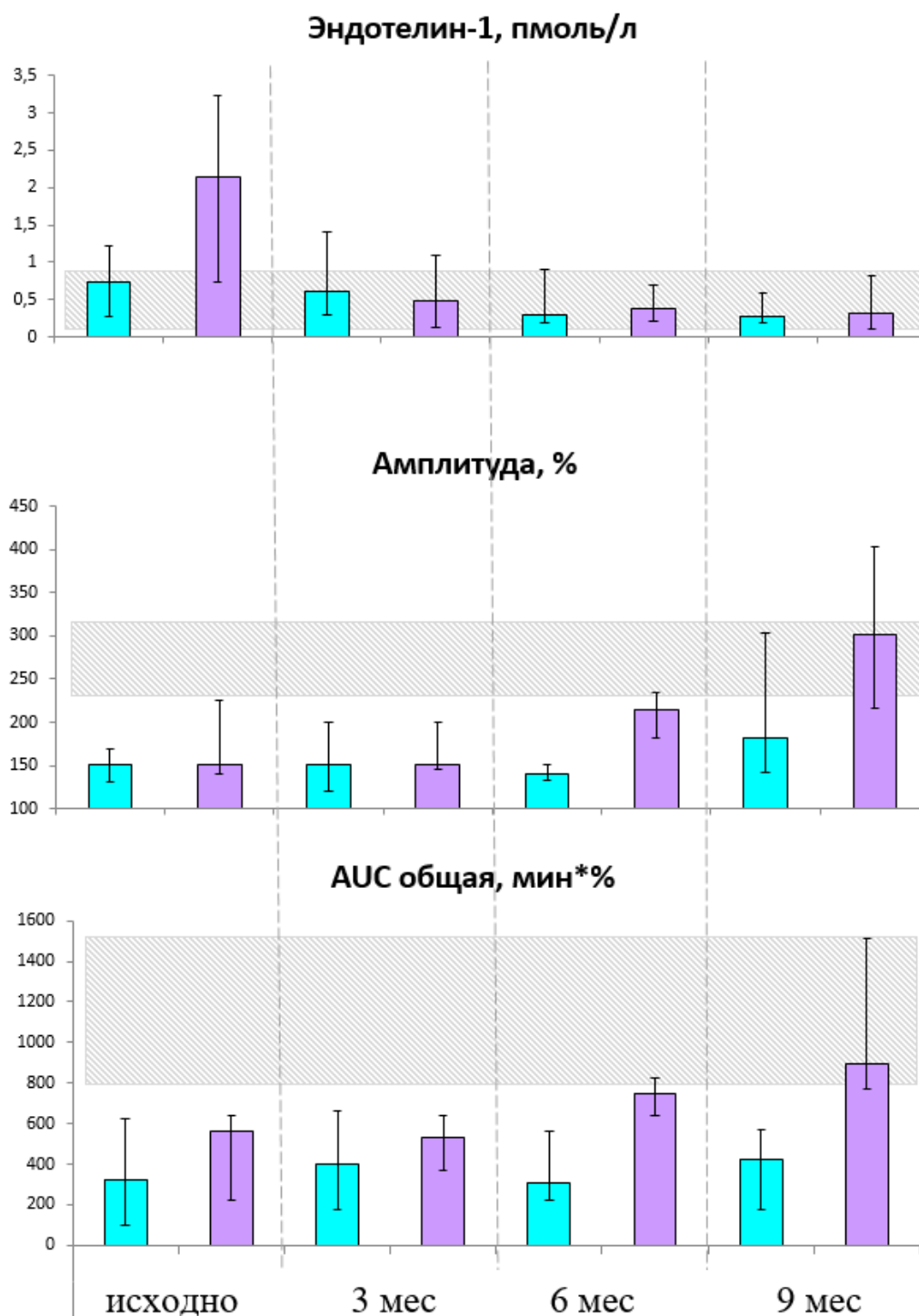
Как указывалось выше, медиана концентрации эндотелина-1 достигла нормы в обеих группах уже через 3 мес наблюдения, при этом значения 75% и максимальные показатели еще выходили за пределы референсного интервала. К 6 месяцу наблюдения данные параметры также практически вошли в границы нормы (максимальное значение эндотелина-1 в группе 1 составило 0,91 пмоль/л при норме 0,227-0,809 пмоль/л).

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 АUC достигли референсного интервала в группе 2 через 9 мес и не достигли его вовсе в группе 1 (рисунок 14).

Следовательно, такой общедоступный и неинвазивный метод оценки вазомоторной функции эндотелия, как доплерография сосудов микроциркуляторного русла с применением различных функциональных проб, в частности, ионофореза АХ, позволяет выявить сохраняющиеся нарушения даже тогда, когда лабораторные маркеры указывают на нормализацию состояния эндотелия. Именно нормализация доплерографических параметров, вероятно, может служить индикатором полноценного восстановления функции эндотелия.

Допплерографическое исследование линейной скорости кровотока может применяться в широкой клинической практике для изучения состояния вазомоторной функции эндотелия и, при выявлении нарушений последней, может служить основой включения в терапию препаратов, обладающих плеiotропными эндотелиопротективными свойствами. Кроме того, данный неинвазивный метод может использоваться для оценки эффективности применяемой сахароснижающей терапии в отношении защиты эндотелия, что, в свою очередь, может лечь в основу первичной

и вторичной профилактики осложнений СД, одним из ключевых звеньев в патогенезе которых является дисфункция эндотелия.



Примечание –  группа 1;  – группа 2;  – норма.

Рисунок 14 – Динамика уровня эндотелина-1 и доплерографических показателей в группах 1 и 2 в течение всего периода наблюдения

### 3.5 Оценка показателей когнитивной функции

С целью выявления потенциальной взаимосвязи когнитивной функции пациентов с их психологическим статусом был выполнен корреляционный анализ показателей всех шкал когнитивной оценки и шкал депрессии Бека и тревоги Спилбергера-Ханина.

Была обнаружена положительная корреляция между данными самоопросника памяти и выраженностью депрессии ( $r=0,417$ ,  $p=0,005$ ) и тревоги, как личностной ( $r=0,355$ ,  $p=0,018$ ), так и ситуативной ( $r=0,337$ ,  $p=0,025$ ), причем коэффициент корреляции самооценки памяти с депрессивной реакцией был выше. Большое количество баллов по самоопроснику памяти отражает большую выраженность когнитивной дисфункции, в связи с чем наличие положительной корреляционной связи с указанными шкалами представляется закономерной. При этом не было обнаружено взаимосвязи показателей депрессии и тревоги с количеством баллов по другим шкалам. Вероятно, это обусловлено тем, что опросник самооценки памяти является единственной анкетой, заполняемой самостоятельно пациентом, и отражающей его субъективное восприятие собственного когнитивного статуса.

С учетом полученных данных, мы проводили дополнительный анализ результатов опросника самооценки памяти с поправкой на данные шкал Бека и Спилбергера-Ханина.

Кроме того, была выявлена корреляционная связь между выраженностью депрессии и личностной тревожности ( $r=0,360$ ,  $p=0,013$ ), что отражает частое наличие смешанных тревожно-депрессивных состояний у человека. Наконец, корреляция личностной и ситуативной тревожности характеризует реально существующую ассоциацию между данными эндогенным и экзогенно-обусловленным расстройствами ( $r=0,633$ ,  $p=0,000$ )

#### 3.5.1 Оценка выраженности депрессии и тревоги

Исходно у 13 человек в группе 1 и у 6 человек в группе 2 не было обнаружено депрессии. У остальных пациентов была выявлена депрессия различной степени выраженности (таблица 23).



Таблица 23 – Выраженность депрессии по шкале Бека у пациентов групп 1 и 2 исходно

Группа	Характеристика группы	Нет депрессии (0-9 баллов)	Субдепрессия (10-15 баллов)	Умеренная депрессия (16-19 баллов)	Депрессия средней тяжести (20-29 баллов)	Тяжелая депрессия (30-63 баллов)
Группа 1	кол-во больных (%)	13 (46,4%)	8 (28,6%)	6 (21,4%)	1 (3,6%)	0
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	5,0 (2,0; 7,0)	11,0 (10,0; 12,0)	18,0 (17,0; 19,0)	23	–
Группа 2	кол-во больных (%)	6 (25,0%)	16 (66,6%)	0	1 (4,2%)	1 (4,2%)
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	6,0 (2,0; 7,0)	11,0 (10,5; 11,0)	–	25	30

Через 3 и 6 месяцев как в группе 1, так и в группе 2 не было достоверной динамики показателя депрессии.

Через 9 мес в группе 1 наблюдалось достоверное снижение выраженности депрессии, по сравнению с таковой через 6 мес (таблица 24), но только у пациентов группы 1а, у больных группы 1б значимых изменений депрессивного статуса не было (таблица 25).

Таблица 24 – Динамика депрессии с применением шкалы Бека в группах 1 и 2. Выраженность депрессии в баллах

Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес
Группа 1, медиана (25%; 75%)	9,0 (4,0;16,5)	8,0 (6,0; 11,0)	6,5 (3,5; 13,0)	5,0 (2,5; 8,0)§
Группа 2, медиана (25%; 75%)	7,0 (4,0; 18,0)	6,5 (5,0; 17,5)	8,5 (5,25; 15,75)	11,0 (6,0; 16,0)
Примечание – уровень различий, р: * – <0,05 между группами 1 и 2; § – <0,05, по сравнению с предыдущим измерением.				

В группе 2 через 9 мес на фоне продолжавшейся комбинированной МЕТ+ЛИР не наблюдалось достоверных изменений выраженности депрессивной реакции. При этом достоверная динамика отсутствовала в группах 2а и 2б. (таблица 25).

Таблица 25 – Динамика депрессии по шкале Бека в группах 1 и 2 (6-9 мес).  
Выраженность депрессии в баллах

Время оценки	Группа 1		Группа 2	
	«+» динамика	«-» динамика	«+» динамика	«-» динамика
6 мес	8,5 (5,0; 15,5)	4,5 (1,5; 5,25)	14,5 (6,0; 23,25)	6,0 (4,5; 10,5)
9 мес	6,5 (3,0; 9,0)§	3,0 (2,0; 7,0)	14,0 (3,75; 25,75)	8,0 (6,0; 11,0)

Примечание – уровень различий, р: § – <0,05, по сравнению с предыдущим измерением.

Полученные данные позволяют предположить, что снижение выраженности депрессии в группе 1а связано скорее с большой экспозицией эугликемии, нежели чем с достижением эугликемии. При помощи корреляционного анализа была исключена прямая связь проявлений депрессии и уровня гликемии (HbA1C) –  $r=0,236$ ,  $p=0,346$ . Вероятно, характер сахароснижающей терапии не оказывает непосредственного влияния на проявления депрессивной реакции, в то время как длительное нахождение в состоянии эугликемии снижает выраженность депрессивного фона. Требуется дальнейшее проспективное наблюдение для подтверждения данной гипотезы.

Исходная выраженность тревожности в группах 1 и 2 представлена в таблице 26.

Через 3 мес уровень ситуативной и личностной тревожности в группах 1 и 2 достоверно не изменился.

Через 6 мес в группе 1 наблюдалась тенденция к снижению выраженности ситуативной тревожности,  $p=0,1$ , при этом степень личностной тревожности достоверно увеличилась. Через 9 мес в группе 1 в целом наблюдалась тенденция к дальнейшему уменьшению ситуативной тревожности,  $p=0,091$ . При этом отдельный анализ у больных с удовлетворительным и неудовлетворительным контролем гликемии не показал

достоверной динамики данного параметра. Личностная тревожность через 9 мес в целом не претерпевала динамики, по сравнению с предыдущим измерением ( $p=0,498$ ). Важно отметить, что, несмотря на транзиторное повышение личностной тревожности через 6 мес, за все время наблюдения в группе 1 имела место тенденция ( $p=0,079$ ) к уменьшению данного параметра.

Таблица 26 – Выраженность ситуативной и личностной тревожности по шкале Спилбергера-Хинина у пациентов групп 1 и 2 исходно

Параметр	Группа	Характеристика группы	Низкая ( $\leq 30$ баллов)	Умеренная (31-44 баллов)	Высокая ( $\geq 45$ баллов)	
Ситуативная тревожность	группа 1	кол-во больных (%)	6 (21,5%)	13 (46,4%)	9 (32,1%)	
		кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	29,0 (25,0; 30,0)	39,0 (37,0; 41,0)	49,0 (47,0; 50,0)	
	группа 2	кол-во больных (%)	0	21 (87,5%)	3 (12,5%)	
		кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	–	37,0 (35,0; 40,0)	54, 54, 49	
	Личностная тревожность	группа 1	кол-во больных (%)	0	17 (60,7%)	11 (39,3%)
			кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	–	39,0 (36,0; 42,0)	51,0 (47,0; 54,0)
группа 2		кол-во больных (%)	0	2 (8,3%)	22 (91,7%)	
		кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	–	39, 43	51,0 (47,0; 55,0)	

В то же время, в группе 2, на фоне первичного добавления к терапии ЛИР через 6 мес, было достигнуто достоверное снижение ситуативной тревожности, личностная

тревожность при этом не претерпевала динамики. Через 9 мес отсутствовали достоверные изменения как личностной, так и ситуативной тревожности (таблица 27).

Таблица 27 – Динамика ситуативной и личностной тревожности по шкале Спилбергера-Ханина в группах 1 и 2. Выраженность тревоги в баллах

Параметр	Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес	
					«+» динамика	«-» динамика
Ситуативная тревожность, медиана (25%; 75%)	группа 1	40,0 (31,5; 47,0)	43,0 (33,0; 49,0)	39,0 (28,75; 44,5)	38,0 (32,75; 44,75)	34,0 (28,0; 54,0)
	группа 2	40,0 (35,5; 51,5)	42,5 (35,5; 53,0)	40,0 (34,0; 46,0)§	43,0 (42,0; 56,75)	43,0 (20,0; 44,0)
Личностная тревожность, медиана (25%; 75%)	группа 1	45 (41,75; 52,0)	39,5 (31,0; 48,75)	47,0 (42,75; 50,0) §	40,0 (38,0; 43,0)	43,0 (36,0; 43,0)
	группа 2	50 (43,0; 50,0)	42,0 (42,0; 42,0)	44,0 (42,0; 44,0)	49,0 (39,75; 56,75)	43,0 (36,0; 43,0)

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

Вероятно, прогрессивное снижение ситуативной тревожности через 6 и 9 месяцев, а также тенденция к уменьшению личностной тревожности за все время наблюдения в группе 1 связаны с длительной экспозицией эугликемии в этой группе. Проведенный корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между уровнем HbA1C и выраженностью ситуативной ( $r=0,317$ ,  $p=0,199$ ) или личностной тревожности ( $r=0,123$ ,  $p=0,625$ ), в связи с чем не правомочно говорить о непосредственном влиянии самой эугликемии на выраженность описываемых показателей. Первичное добавление к терапии ЛИР также привело к снижению ситуативной тревожности через 6 мес от начала исследования. Ввиду отсутствия корреляции между концентрацией HbA1C и исследуемым показателем, представляется маловероятной непосредственная связь

между уровнем тревоги и гликемией. Возможно, положительное влияние оказал сам факт первичного улучшения гликемического профиля у пациентов, которые ранее не могли достичь эугликемии на монотерапии МЕТ.

### 3.5.2 Исследование когнитивной функции с применением шкал МОСА и MMSE

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

Исходно большинство пациентов групп 1 (24 человека) и 2 (20 человек) имели умеренно выраженные нарушения когнитивной функции **по шкале МОСА**. 4 пациентов группы 1 имели нормальные показатели ( $\geq 26$  баллов) (26,5 (26,0; 28,0) баллов), в группе 2 также 4 больных не демонстрировали когнитивной дисфункции (28,5 (27,5; 29,5) баллов).

Через 3 мес в группе 1, на фоне улучшения контроля гликемии, наблюдалась тенденция к улучшению показателей когнитивной оценки ( $p=0,075$ ). Через 6 мес дальнейшая динамика указанного показателя отсутствовала. Пациенты группы 2 не имели динамики по шкале МОСА через 3 и через 6 мес (таблица 28).

Таблица 28 – Динамика когнитивной функции с применением шкал МОСА и MMSE исходно-6 мес. Когнитивная функция в баллах

Шкала	Группа	Исходно	3 мес	6 мес
МОСА, медиана (25%; 75%)	Группа 1	24,0 (22,0; 25,0)	26,0 (23,0; 28,0)	27,0 (24,0; 29,0)
	Группа 2	25,0 (21,75; 28,25)	25,0 (21,5; 26,0)	26,0 (23,0; 28,0)
MMSE, медиана (25%; 75%)	Группа 1	28,0 (26,0; 29,0)	29,0 (28,0; 30,0)	29,0 (28,0; 30,0)
	Группа 2	28,5 (27,0; 30,0)	28,0 (27,0; 29,0)	29,0 (29,0; 30,0)§
Примечание – уровень различий, р: * – $<0,05$ между группами 1 и 2; § – $<0,05$ , по сравнению с предыдущим измерением.				

Через 9 мес в группе 1 в целом отсутствовала достоверная динамика показателей когнитивной функции по МОСА. При этом, у больных группы 1а количество баллов по МОСА осталось без изменений, у пациентов группы 1б имело место достоверное снижение когнитивных показателей (таблица 29).

В группе 2 в целом также не определялось достоверной динамики по МОСА через 9 мес. При этом в группе 2а не наблюдалось достоверных изменений когнитивного статуса, в то время как в группе 2б имела место тенденция к улучшению когнитивной функции,  $p=0,1$  (таблица 29). Таким образом, применение ЛИР не приводит к достоверному улучшению когнитивного статуса, при оценке по шкале МОСА, однако вызывает стабилизацию ее на исходном уровне, в то время как МЕТ, вероятно, не обладает самостоятельным эффектом в отношении функционального состояния ЦНС, при его исследовании по данной шкале.

Таблица 29 – Динамика когнитивной функции с применением шкал МОСА и MMSE, 6-9 мес. Когнитивная функция в баллах

Шкала	Время оценки	Группа 1		Группа 2	
		«+» динамика	«-» динамика	«+» динамика	«-» динамика
МОСА, медиана (25%; 75%)	6 мес	27,0 (22,0; 29,0)	28,0 (27,0; 30,0)	26,0 (23,0; 27,5)	24,0 (23,0; 28,5)
	9 мес	27,0 (23,25; 29,0)	27,0 (26,0; 28,0)§§	25,5 (21,25; 28,25)	27,0 (24,75; 27,75)§
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.

Исходный когнитивный статус пациентов групп 1 и 2 по шкале MMSE представлен в таблице 30.

Таблица 30 – Когнитивный статус пациентов групп 1 и 2 по шкале MMSE исходно

Группа	Характеристика группы	Норма (30 баллов)	Легкие когнитивные нарушения (28-29 баллов)	Умеренные когнитивные нарушения (25-27 баллов)	Деменция легкой степени (20-24 балла)	Деменция умеренной степени (11-19 баллов)	Тяжелая деменция (0-10 баллов)
Группа 1	кол-во больных (%)	4 (14,3%)	10 (35,7%)	12 (42,9%)	2 (7,1%)	0	0
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	30	29,0 (28,0; 29,0)	26,0 (25,0; 26,0)	23 и 24	–	–
Группа 2	кол-во больных (%)	3 (12,5%)	4 (16,7%)	17 (70,8%)	0	0	0
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	30	28,5 (28,0; 29,0)	27,0 (27,0; 27,0)	–	–	–

Через 3 мес у пациентов группы 1 наблюдалось увеличение количества баллов по шкале MMSE,  $p=0,050$ . Через 6 месяцев дальнейшей динамики выявлено не было.

У больных группы 2 не наблюдалось динамики когнитивных показателей по MMSE через 3 мес. В то же время, через 6 мес, на фоне добавления к терапии ЛИР, имело место достоверное улучшение когнитивного статуса (таблица 28).

Через 9 мес в группе 1 в целом по-прежнему отсутствовала динамика когнитивного статуса. При этом у больных группы 1а показатели когнитивной функции не претерпевали изменений, в то время как у пациентов группы 1б наблюдалось достоверное снижение когнитивного статуса (таблица 29).

В группе 2 через 9 месяцев имело место дальнейшее прогрессивное улучшение когнитивных показателей. Примечательно, что описанная положительная динамика была выявлена у больных группы 2а и 2б,  $p=0,068$ .

### 3.5.3 Исследование когнитивной функции с применением батареи лобных тестов, теста рисования часов, таблиц Шульте и опросника самооценки памяти

Тест рисования часов, Батарея лобных тестов, таблицы Шульте и Опросник самооценки памяти оказались менее информативными в отношении исследования **динамики** когнитивных нарушений на фоне различных вариантов сахароснижающей терапии.

Применение таблиц Шульте обнаружило замедление скорости реакции исходно в группах 1 и 2 (нормальным принято считать выполнение задания за 25-30 секунд), различий между группами не было. В течение 9 мес исследования достоверной динамики ни в одной из групп не наблюдалось (таблица 31).

Таблица 31 – Динамика показателей шкал когнитивной оценки (таблиц Шульте, теста рисования часов, батареи лобных тестов, самоопросника оценки памяти) в группах 1 и 2

Шкала	Группа	Исходно	3 мес	6 мес	9 мес
Таблицы Шульте, сек, медиана (25%; 75%)	группа 1	40,0 (32,0; 40,0)	65,0 (28,0; 65,0)	49,0 (33,0; 49,0)	53,0 (32,0; 53,0)
	группа 2	76,0 (72,0; 76,0)	79,0 (64,0; 79,0)	75,0 (60,0; 75,0)	50,0 (45,0; 50,0)
Тест рисования часов, баллы, медиана (25%; 75%)	группа 1	4,5 (4,0; 8,0)	6,5 (3,25; 9,0)	6,5 (4,0; 9,0)	9,0 (5,25; 9,75)
	группа 2	4,0 (3,25; 7,75)	4,5 (4,0; 8,0)	8,0 (4,75; 9,0)	9,0 (4,75; 9,0)
Батарея лобных тестов, баллы, медиана (25%; 75%)	группа 1	15,0 (13,25; 17,5)	17,0 (14,0; 17,75)	17,5 (14,0; 18,0)	17,5 (16,25; 18,0)
	группа 2	16,5 (10,75; 17,0)	14,0 (9,5; 16,25)	15,0 (12,5; 17,5)	17,5 (15,5; 18,0)
Опросник самооценки памяти, баллы, медиана (25%; 75%)	группа 1	21,0 (13,0; 27,0)	15,0 (9,0; 31,5)	22,0 (7,25; 38,5)	15,0 (5,0; 27,0)
	группа 2	15,5 (8,75; 20,75)	19,0 (13,0; 24,0)	16,5 (12,75; 28,0)	21,0 (16,0; 24,0)



Тест рисования часов выявил наличие когнитивных расстройств исходно как в группе 1, так и в группе 2 (нормальная функция характеризуется 10 баллами). В ходе проспективного наблюдения имело место постепенное улучшение описываемого показателя, однако не было обнаружено статистически достоверных изменений, по сравнению с каждым предшествующим определением, ни в одной из групп (таблица 31).

Когнитивный статус пациентов групп 1 и 2 при оценке с помощью Батарей лобных тестов представлен в таблице 32.

Таблица 32 – Когнитивный статус у пациентов групп 1 и 2, в соответствии с батареей лобных тестов, исходно

Группа	Характеристика группы	Норма (18 баллов)	Легкие когнитивные нарушения (16-17 баллов)	Умеренная лобная дисфункция (12-15 баллов)	Деменция лобного типа ( $\leq 11$ баллов)
Группа 1	кол-во больных (%)	6 (21,4%)	9 (32,2%)	12 (42,8%)	1 (3,6%)
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	18	17,0 (16,5; 17,0)	13,5 (12,0; 14,0)	9
Группа 2	кол-во больных (%)	3 (12,5%)	14 (58,4%)	5 (20,8%)	2 (8,3%)
	кол-во баллов, медиана (25%; 75%)	18	17,0 (17,0; 17,0)	12,0 (12,0; 13,0)	9,0; 11,0

В ходе 9 месяцев исследования достоверной динамики когнитивной функции, в соответствии с Батареей лобных тестов, не было (таблица 31).

Наконец, показатели Опросника самооценки памяти находились в пределах нормы исходно как в группе 1, так и в группе 2 (когнитивные нарушения характеризуются 43 баллами и более) и не претерпевали достоверных изменений в ходе исследования (таблица 31).

Таким образом, данные шкал MMSE и МОСА являются наиболее показательными при оценке динамики когнитивного статуса на фоне проводимой терапии и могут применяться в широкой клинической практике для комплексного исследования функционального состояния ЦНС, являясь общедоступными и простыми в использовании.

Можно предполагать, что улучшение контроля гликемии оказывает некоторый положительный эффект на показатели когнитивной функции, что выражается в увеличении количества баллов по МОСА и MMSE на фоне нормализации HbA1C. В то же время, нами не было обнаружено самостоятельного защитного эффекта MET в отношении функции ЦНС, что проявляется в ухудшении показателей когнитивного статуса по МОСА и MMSE при ухудшении гликемического профиля в группе монотерапии MET. ЛИР оказывает независимое от гликемии защитное действие в отношении функционального состояния ЦНС, что подтверждается улучшением когнитивного статуса даже в условиях ухудшения гликемического профиля.

## ГЛАВА 4

### РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 4.1 Результаты первого этапа

Как указывалось в главе «Материал и методы», первый этап экспериментального исследования подразумевал изучение нейропротективного эффекта ЛИР у животных без экспериментального СД – с тем, чтобы исключить потенциальное положительное влияние нормализации гликемического профиля при СД под действием препарата.

В исследование были включены 30 крыс. 15 составили контрольную группу («КОНТРОЛЬ») (масса 244,5 (239,0; 247,5) г), 15 крыс вошли в группу «ЛИР» (масса 248,0 (245,0; 251,0) г). Животным контрольной группы подкожно вводился 0,9% раствор NaCl в объеме 0,5 мл 1 раз в сутки в течение 7 дней, животным группы «ЛИР» подкожно вводился лираглутид (Виктоза, НовоНордиск, Дания) в дозе 1 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней.

Достоверных различий в исходной массе тела животных не было,  $p > 0,05$ .

Гибели животных в ходе эксперимента, до моделирования ишемии, не происходило. Две крысы контрольной группы погибли в первые сутки реперфузионного периода по причине интенсивного отека головного мозга с вклиниванием ствола в большое затылочное отверстие, что было обнаружено при вскрытии животных. Гибели животных в группе «ЛИР» не было.

##### *4.1.1 Влияние лираглутида на гликемию и массу тела*

На первом этапе экспериментального исследования ЛИР применялся в дозе 1 мг/кг. При этом введение ЛИР в течение 7 дней крысам без СД не вызывало гипогликемии. Показатели гликемии оставались в пределах нормы в обеих группах в течение 7 дней измерений. Полученные данные подтверждают, что секреция инсулина на фоне применения агонистов рецептора ГПП-1 является глюкозозависимой [11],

в связи с чем данная группа препаратов обладает крайне низким риском развития гипогликемии, даже при применении в сверхтерапевтических дозах.

На 5 день эксперимента у животных группы «ЛИР» был выявлен достоверно более низкий уровень гликемии, по сравнению с животными контрольной группы ( $p=0,004$ ). Во всех остальных точках достоверных различий между группами не было ( $p>0,05$ ) (таблица 33). Данные изменения представляются клинически не значимыми, т.к. показатели гликемии в обеих группах при всех измерениях не отличались от нормальных.

Таблица 33 – Уровень гликемии (ммоль/л) у крыс без СД

Группа	1 день	3 день	5 день	7 день
КОНТРОЛЬ, медиана (25%; 75%)	5,90 (5,60; 6,40)	6,50 (5,65; 6,75)	5,55 (5,50; 5,75)	5,90 (5,80; 6,40)
ЛИР, медиана (25%; 75%)	5,45 (5,28; 6,10)	6,00 (5,10; 6,25)	5,40 (4,90; 5,63) *	5,80 (5,70; 6,00)
Примечание – достоверность различий, $p$ : * – $<0,05$ , по сравнению с контролем.				

Введение 0,9% раствора NaCl в течение 7 дней в контрольной группе не изменяло пищевого поведения крыс, что сопровождалось естественной прибавкой массы тела. На фоне применения ЛИР в течение 7 дней до моделирования ишемии наблюдалось отсутствие естественной прибавки массы тела и даже первоначальное снижение массы, наиболее выраженное на второй день. Данное явление сопровождалось уменьшением потребления корма в группе «ЛИР», по сравнению с контролем. Указанные параметры представлены в таблице 34.

Таблица 34 – Динамика массы тела и потребления корма у крыс без СД

Группа	Параметр	1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	6 день	7 день
КОНТРОЛЬ	вес крыс, г,	244,5	248,5	253,0	260,0	264,0	265,0	264,5
	медиана	(239,0;	(233,5;	(247,5;	(253,5;	(258,0;	(256,0;	(257,5;
	(25%; 75%)	247,5)	250,5)	266,0)	261,0)	265,0)	267,0)	268,0)

## Продолжение таблицы 34

Группа	Параметр	1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	6 день	7 день
КОНТРОЛЬ	вес корма, г,	100,0	77,0	71,6	59,0	47,0	30,0	15,5
	медиана (25%; 75%)	(100,0; 100,0)	(71,9; 82,7)	(60,4; 79,0)	(53,5; 66,0)	(36,0; 75,5)	(18,5; 42,5)	(8,0; 22,5)
ЛИР	вес крыс, г,	248,0	232,0	230,0	230,0	239,0	239,0	242,0
	медиана	(245,0;	(227,0;	(227,0;	(227,0;	(232,0;	(233,0;	(236,0;
	(25%; 75%)	251,0)	236,0)*	236,0)*	237,0)*	244,0)*	245,0)*	250,0)*
	вес корма, г,	100,0	95,0	88,4	74,2	67,4	58,0	51,0
медиана	(100,0;	(92,4;	(85,0;	(70,0;	(59,4;	(53,0;	(50,0;	
(25%; 75%)	100,0)	96,0)*	92,8)*	85,0)*	71,6)*	66,6)*	57,0)*	
Примечание – достоверность различий, р: * – <0,05, по сравнению с контролем.								

#### 4.1.2 Влияние лираглутида на выраженность неврологического дефицита

Через 48 часов после моделирования ишемии производилась оценка неврологического дефицита с целью изучения функционального состояния ЦНС животных после ишемического-реперфузионного повреждения. Животные контрольной группы после воспроизведения транзиторной фокальной ишемии головного мозга имели выраженный неврологический дефицит. Применение ЛИР в течение 7 дней до моделирования ишемии вызвало достоверное уменьшение проявлений неврологического дефицита, по сравнению с контрольной группой (рисунок 15).

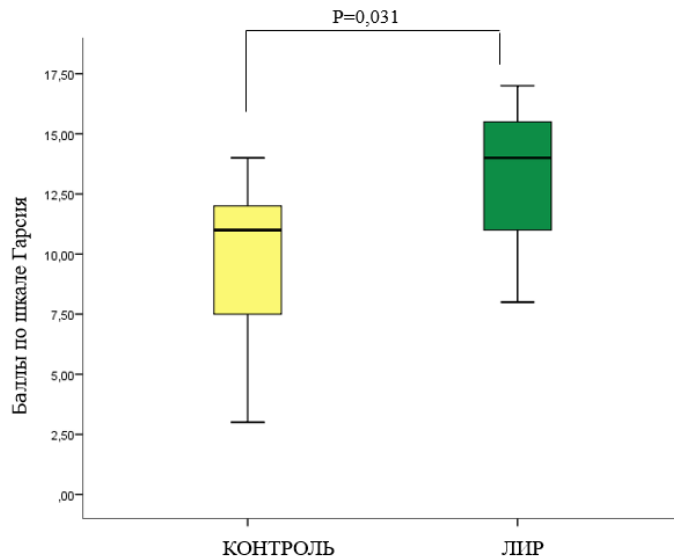


Рисунок 15 – Сохранность неврологических реакций (по шкале Garcia J.H.) [137]

#### 4.1.3 Влияние лираглутида на объем повреждения головного мозга

Окраска биоматериала головного мозга 0,1% раствором ТТХ позволила выявить, что крысы контрольной группы, не получавшие ЛИР, имели выраженное повреждение мозга, вызванное транзиторной фокальной ишемией. Применение ЛИР в дозе 1 мг/кг в течение 7 дней до воспроизведения ишемии привело к достоверному уменьшению объема повреждения мозга, по сравнению с контрольной группой (рисунок 16).

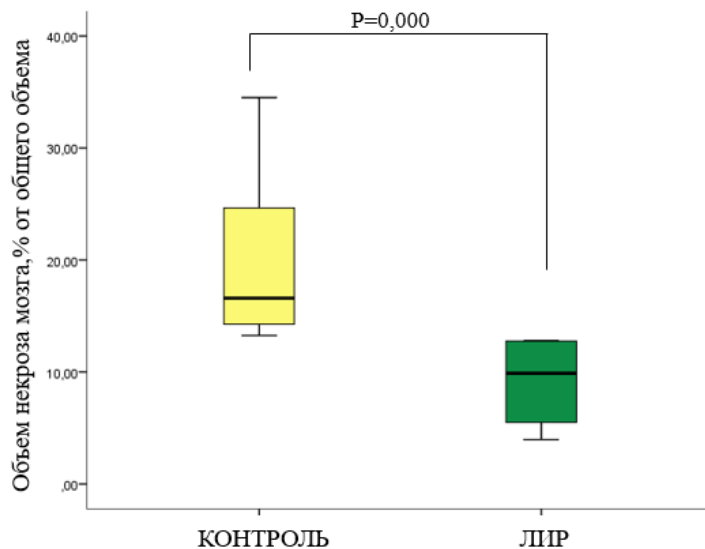


Рисунок 16 – Объем повреждения мозга (в % от общего объема мозга)

Таким образом, применение ЛИР у животных без СД обладает нейропротективным действием в условиях ишемического-реперфузионного повреждения, вызванного транзиторной фокальной ишемией головного мозга. Проведение первого этапа экспериментального исследования у животных без СД позволило доказать, что данный защитный эффект не обусловлен положительным влиянием препарата на гликемический профиль.

## **4.2 Результаты второго этапа**

Второй этап экспериментального исследования подразумевал изучение нейропротективных свойств ЛИР у крыс с СД 2 типа. Как указывалось в главе «Материалы и методы», в качестве экспериментальной группы выступали крысы, получавшие лираглутид (группа «ЛИР»), контрольной – крысы с экспериментальным СД 2 типа, не получавшие сахароснижающей терапии (группа «СД без лечения»). С целью исключения протективного эффекта нормализации гликемии под действием лираглутида, была создана группа сравнения – крысы, получавшие метформин (группа «МЕТ»).

### ***4.2.1 Оценка выживаемости***

В случае смерти животных или выведения их из дальнейшего исследования (при отсутствии развития СД или при выявлении так называемых «больших» симптомов СД, не позволяющих исключить абсолютную инсулиновую недостаточность (полидипсия, полиурия и интенсивное похудание)), заявленный объем каждой из групп (по 20 животных) достигался увеличением исходного объема.

В ходе эксперимента у 8 животных не удалось эффективно смоделировать СД 2 типа. Уровень гликемии хотя бы в одном из двух повторных измерений, производимых после введения никотинамида и стрептозотоцина, был ниже 11,1 ммоль/л. Так, у описываемых 8 животных гликемия при первом измерении составляла

6,8 (6,7; 7,3) ммоль/л, при втором – 6,7 (6,7; 7,2) ммоль/л. По результатам выполненного ПГТТ ни в одной из точек измерения не была достигнута гликемия больше 11,1 ммоль/л. Результаты ПГТТ у описываемых 8 животных представлены в таблице 35.

Данные животные были исключены из эксперимента.

Таблица 35 – Результаты перорального глюкозотолерантного теста у крыс на фоне отсутствия развития СД 2 типа

Показатель	Натоцак	15 мин	30 мин	60 мин
Гликемия, ммоль/л	4,55 (4,35; 4,8)	6,75 (6,1; 7,4)	9,25 (8,1; 10,1)	9,7 (7,4; 10,15)

У трех крыс на 2-3 сутки после введения никотинамида и стрептозотоцина развилась клиническая симптоматика, характерная для абсолютной инсулиновой недостаточности. Гликемия составляла 20,5, 22,7 и 25,2 ммоль/л на 2 сутки и 19,6, 23,4 и 21,7 ммоль/л на 3 сутки. Имели место признаки полидипсии и полиурии – потребление воды превышало таковое, характерное для здорового животного, что сопровождалось интенсивным намоканием подстилки; в то же время, количественное измерение потребляемой жидкости не являлось задачей настоящего исследования. Описываемые признаки, вероятнее всего, обусловлены высокой гипергликемией. Наиболее «надежным» признаком абсолютной инсулиновой недостаточности является потеря массы тела, что и наблюдалось у описываемых трех животных. На 2 сутки после введения никотинамида и стрептозотоцина потеря массы составляла 10, 7 и 12 г, на 3-и сутки – 12, 10 и 13 г, по сравнению с исходной массой тела. В ходе дальнейшего наблюдения сохранялась прогрессирующая потеря массы, в связи с чем животные были исключены из эксперимента.

В ходе всего опыта, до оперативного вмешательства – моделирования транзиторной фокальной ишемии мозга – не происходило гибели животных, несмотря на повышенный риск развития инфекционной патологии в условиях сниженной иммунореактивности на фоне СД.



Гибель животных имела место в раннем послеоперационном периоде до выхода из наркоза и вскоре после него, а также через 1 сутки от начала реперфузии. В группе «ЛИР» погибло 5 крыс, в группе «МЕТ» – 4 крыс, в группе «СД без лечения» – 6 крыс.

Производилось выборочное макроскопическое исследование внутренних органов животных. Наиболее распространенной причиной гибели был массивный отек головного мозга с вклиниванием ствола мозга в большое затылочное отверстие, развившийся на фоне значимого ишемического-реперфузионного повреждения, у трех животных было обнаружено субарахноидальное кровоизлияние и геморрагический инсульт при разрыве сосудов головного мозга.

Таким образом, в ходе всего эксперимента по разным причинам произошло выбывание 26 животных. В связи с этим общее число животных, включенных в эксперимент, было увеличено до 86.

#### ***4.2.2 Динамика массы тела***

Как было описано в главе «Материалы и методы», исследование массы тела крыс всех трех экспериментальных групп («ЛИР», «МЕТ» и «СД без лечения»), а также крыс группы здорового контроля производилось 1 раз в 2 дня в ходе всего эксперимента.

В течение первых 6 недель эксперимента, согласно дизайну, крысы всех трех будущих экспериментальных групп представляли собой общую группу – осуществлялся первый этап опыта, содержание на высокожировой диете.

В течение первых 4 недель у крыс общей экспериментальной группы, на фоне диеты с повышенным содержанием насыщенных жиров, наблюдалась достоверно более интенсивная прибавка массы тела, чем у крыс контрольной группы, находившихся на стандартном рационе. Прибавка массы тела как у экспериментальных, так и у контрольных животных в течение первых 4 недель была равномерной и составляла 6,5 (4,0; 9,5) г и 5,0 (1,0; 9,0) г за 2 суток, соответственно. Различия в прибавке массы тела между группами достоверны,  $p < 0,05$  (таблица 3б).

Через 2 суток после введения стрептозотоцина у крыс экспериментальной группы наблюдалось достоверное снижение массы тела, по сравнению с таковой до введения

препарата ( $p < 0,05$ ). Важно отметить, что данное явление носило преходящий характер, и на третьи сутки после применения стрептозотоцина восстановилась закономерная прибавка массы тела. Нельзя исключить, что описанный феномен обусловлен транзиторной инсулиновой недостаточностью, не укладывающейся, с учетом его кратковременного характера, а также отсутствия других характерных признаков инсулинопении, в клиническую картину СД 1 типа. Через 6 недель от начала опыта, перед разделением на подгруппы, в общей группе наблюдалась прогрессивная прибавка массы тела, однако различий в массе между контрольной и общей экспериментальной группой, наблюдавшихся через 4 недели, на этом этапе не было (таблица 36).

Таблица 36 – Динамика массы тела (г)

Группа	Исходно	4 недели	2 день после СТР	3 день после СТР	6 недель (перед лечением)	2 день лечения	4 день лечения	6 день лечения
СД без лечения, медиана (25%; 75%)						325,0 (300,0; 355,0)	329,0 (306,0; 359,0)	334,0 (310,0; 363,0)
МЕТ, медиана (25%; 75%)	224,0 (205,0; 235,0)	315,0 (296,0; 346,0)*	303,0 (289,0; 339,0)*	307,0 (285,0; 337,0)*	320,0 (297,0; 353,0)	308,0 (296,5; 337,0)* §	319,5 (301,5; 361,0)* §	325,0 (306,0; 363,5)* §
ЛИР, медиана (25%; 75%)						301,0 (280,0; 324,0)* §#	296,0 (277,04 326,5)* §#	288,5 (267,0; 321,0)* §#
Контроль, медиана (25%; 75%)	224,0 (205,0; 235,0)	285,0 (270,0; 310,0)	293,0 (27,0; 314,0)	294,0 (277,0; 316,0)	323,0 (307,0; 346,0)	327,0 (312,0; 350,0)	334,0 (316,0; 352,0)	338,0 (320,04; 353,0)
Примечание – СТР – стрептозотоцин; * – $p < 0,05$ , по сравнению с контролем; § – $p < 0,05$ , по сравнению с группой «СД без лечения»; # – $p < 0,05$ между группами «МЕТ» и «ЛИР».								

Применение как метформина, так и лираглутида уже через 2 дня привело к достоверному снижению массы тела в соответствующих группах, как по сравнению с животными с СД, не получавшими лечения, так и по сравнению с крысами контрольной группы. Описанные различия между группами сохранялись в течение всех 7 дней терапии (таблица 36).

Примечательно, что, несмотря на то, что масса тела крыс группы «МЕТ» во всех точках измерения была ниже таковой крыс с СД без лечения и крыс контрольной группы, применение МЕТ не препятствовало физиологической прибавке массы тела. В то же время, введение ЛИР вызывало прогрессивное снижение массы тела животных. Масса тела крыс группы «ЛИР» на 6 день введения препарата была достоверно ниже таковой на 4 день лечения. Различия в массе тела животных групп «ЛИР» и «МЕТ» достоверны во всех точках измерения (таблица 36). Полученные данные еще раз подтверждают, что применение ЛИР даже в дозах, не превышающих среднетерапевтические, обладает анорексигенным действием, что может эффективно использоваться в терапии СД 2 типа, ввиду крайне частой ассоциации данного заболевания с абдоминальным ожирением.

#### *4.2.3 Динамика гликемии*

Содержание на высокожировой диете с не привело к нарастанию гликемии, то есть гиперхолестеринемическая диета сама по себе не приводит к каким-либо нарушениям углеводного обмена у крыс. Уровень гликемии через 4 недели от начала опыта не отличался у крыс общей экспериментальной и контрольной групп (таблица 37).

Введение стрептозотоцина вызвало нарастание гликемии как на вторые, так и на третьи сутки после манипуляции. Медиана гликемии на 2 и 3 сутки соответствовала критериям СД (больше 11,1 ммоль/л) (таблица 37).

Таблица 37 – Динамика гликемии (ммоль/л)

Группа	4 недели	2 день после СТР	3 день после СТР	6 недель (перед лечением)	2 день лечения	4 день лечения	6 день лечения
СД без лечения, медиана (25%; 75%)					11,3 (8,5; 14,8)	12,4 (8,6; 14,5)	11,9 (8,9; 14,0)*
МЕТ, медиана (25%; 75%)	6,0 (5,8; 6,6)	12,5 (8,3; 18,1)	11,3 (8,1; 12,5)	10,5 (7,2; 15,7)*	7,0 (5,9; 10,5) §	7,9 (7,05; 9,2) §	6,2 (5,7; 6,3) §
ЛИР, медиана (25%; 75%)					7,3 (6,7; 7,7) §	5,6 (5,5; 6,75) §#	6,4 (6,3; 6,9) §
Контроль, медиана (25%; 75%)	5,8 (5,5; 6,7)	–	–	5,7 (5,6; 6,9)	–	–	6,4 (5,8; 6,7)

Примечание – СТР – стрептозотцин; \* –  $p < 0,05$ , по сравнению с контролем; § –  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «СД без лечения»; # –  $p < 0,05$  между группами «МЕТ» и «ЛИР».

В то же время, лишь у 39 из 86 крыс гликемия в обеих точках измерения соответствовала критериям СД (17,85 (15,2; 19,6) ммоль/л на 2 сутки и 16,5 (12,5; 18,8) ммоль/л на 3 сутки). Остальным 47 крысам потребовалось выполнение ПГТТ. Как указывалось выше, у 8 животных, по результатам ПГТТ, не удалось достичь гликемии больше 11,1 ммоль/л ни в одной из точек (результаты ПГТТ данных животных представлены в разделе 3.2.1 «Оценка выживаемости»). Эти крысы были исключены из дальнейшего эксперимента. У 39 животных при проведении ПГТТ хотя бы в одной из точек измерения была выявлена гликемия больше 11,1 ммоль/л, что позволило диагностировать СД. Результаты ПГТТ описываемых крыс представлены в таблице 38.

Таблица 38 – Результаты перорального глюкозотолерантного теста у крыс на фоне развития СД 2 типа

Параметр	Натошак	15 мин	30 мин	60 мин
Гликемия, ммоль/л, медиана (25%; 75%)	4,6 (4,0; 5,8)	10,4 (8,1; 12,5)	14,3 (11,5; 16,1)	17,4 (14,1; 21,6)

Примечательно, что у лишь у 3 из данных 39 животных, у которых, по результатам ПГТТ, удалось достичь развития СД 2 типа, уровень гликемии натошак соответствовал критериям СД (больше 7,0 ммоль/л в венозной крови). У остальных крыс данный показатель был в норме (до 6,1 ммоль/л) (у 32 крыс) или находился в «серой» зоне (6,1-7,0 ммоль/л) (у 4 животных). Таким образом, уровень гликемии натошак у крыс, вероятно, не является надежным критерием оценки углеводного обмена. Наиболее высокие показатели гликемии были достигнуты через 30 и 60 мин после зондового введения раствора глюкозы (таблица 38).

Через 6 недель от начала опыта, перед разделением животных на подгруппы по характеру терапии, у крыс общей экспериментальной группы, а также у крыс контрольной группы производилось повторное определение гликемии. Уровень глюкозы венозной крови у крыс с СД 2 типа был достоверно выше такового у крыс без СД (таблица 37).

Последующие 7 дней наблюдения крысы группы «СД без лечения» по-прежнему имели высокие показатели гликемии. Назначение как МЕТ, так и ЛИР уже на второй день привело к достоверному снижению гликемии, по сравнению с группой «СД без лечения», медиана гликемии на 2-й день терапии соответствовала норме. На четвертый день лечения в группе «ЛИР» наблюдалось дальнейшее снижение гликемии, достоверное, по сравнению с предыдущим измерением. У животных группы «МЕТ» достоверной динамики гликемии, по сравнению с предшествующим определением, не было, в связи с чем гликемия в группе «ЛИР» на 4 день была достоверно ниже, чем в группе «МЕТ». Однако необходимо подчеркнуть, что в обеих описываемых группах уровень глюкозы соответствовал нормальным показателям (таблица 37).

На 6 сутки терапии гликемия в группах «МЕТ» и «ЛИР» по-прежнему оставалась в пределах референсного диапазона. Было отмечено достоверное снижение гликемии

в группе «МЕТ», по сравнению с предыдущим уровнем, на фоне чего различий между группами в данной точке не наблюдалось (таблица 37).

Таким образом, применение как МЕТ, так и ЛИР привело к стойкой нормализации гликемии. Следовательно, дальнейшая оценка потенциальных нейропротективных свойств МЕТ и ЛИР может производиться без учета гликемического профиля. Достижение эугликемии в обеих группах позволяет оценивать самостоятельный нейропротективный эффект препаратов, не связанный с нормализацией углеводного обмена.

#### *4.2.4 Динамика параметров липидного обмена*

Содержание на высокожировой диете не привело к нарастанию уровня ОХ в общей экспериментальной группе, по сравнению со здоровым контролем. Вероятно, это связано с тем, что липидный обмен у крыс характеризуется выраженной стабильностью, и алиментарный фактор в виде избыточного поступления насыщенных жиров, несмотря на достоверную прибавку массы тела, не приводит к его нарушению (таблица 39).

В то же время, четырехнедельное содержание на гиперхолестеринемической диете вызвало достоверное нарастание уровня ТГ в общей экспериментальной группе, по сравнению с таковым в контрольной группе (таблица 40).

Развитие манифестного СД 2 типа после введения никотинамида и стрептозотоцина не привело к достоверной динамике ни ОХ, ни ТГ; уровень ОХ по-прежнему не отличался от такового у здоровых животных, концентрация ТГ сохранялась повышенной и достоверно отличалась от таковой контрольной группы. Следовательно, наличие нарушений углеводного обмена само по себе напрямую не потенцирует гиперхолестеринемию и гипертриглицеридемию у крыс.

Примечательно, что лечение как МЕТ, так и ЛИР привело к снижению уровня ТГ, по сравнению с таковым у животных с СД, не получавших терапии. При этом различий в уровне ТГ между группами «МЕТ» и «ЛИР» не было. Концентрация ТГ в группах «МЕТ» и «ЛИР» не отличалась от таковой в группе здорового контроля (таблица 40). В то же время, терапия ни МЕТ, или ЛИР не оказала достоверного воздействия

на уровень ОХ. Данный показатель не отличался от такового у здоровых крыс контрольной группы в течение всего времени эксперимента (таблица 39).

Таблица 39 – Динамика ОХ (ммоль/л)

Группа	4 недели	6 недель (перед лечением)	7 недель (на фоне лечения)
СД без лечения, медиана (25%; 75%)	3,35 (3,2; 3,8)	3,3 (3,2; 3,8)	3,7 (3,2; 4,2)
МЕТ, медиана (25%; 75%)			4,05 (3,8; 4,35)
ЛИР, медиана (25%; 75%)			3,9 (3,7; 4,4)
Контроль медиана (25%; 75%)	3,6 (3,3; 3,8)	3,45 (3,4; 3,6)	3,8 (3,5; 4,2)

Таблица 40 – Динамика ТГ (ммоль/л)

Группа	4 недели	6 недель (перед лечением)	7 недель (на фоне лечения)
СД без лечения, медиана (25%; 75%)	2,8 (2,5; 3,2)*	2,7 (2,1; 3,2)*	2,7 (2,4; 3,7)*
МЕТ, медиана (25%; 75%)			2,0 (1,45; 3,2) §
ЛИР, медиана (25%; 75%)			2,1 (1,8; 3,1) §
Контроль, медиана (25%; 75%)	2,1 (1,7; 2,3)	2,2 (1,8; 2,6)	2,0 (1,7; 2,55)
Примечание – * – $p < 0,05$ , по сравнению с контролем; § – $p < 0,05$ , по сравнению с группой «СД без лечения»; # – $p < 0,05$ между группами «МЕТ» и «ЛИР».			

Таким образом, используемая в настоящем исследовании модель СД 2 типа не вызывает развития гиперхолестеринемии – возможно, ввиду особенностей метаболизма крыс. Данная модель приводит к развитию гипертриглицеридемии. Как МЕТ, так и ЛИР в равной степени способны нивелировать указанную гипертриглицеридемию, несмотря

на то, что лишь ЛИР значимо модифицирует пищевое поведение, уменьшая объем потребляемой пищи посредством воздействия на центральные механизмы [11].

#### **4.2.5 Влияние метформина и лираглутида на выраженность неврологического дефицита**

Выраженность неврологического дефицита достоверно не различалась у животных с СД, не получавших сахароснижающей терапии, и у крыс, получавших лечение ЛИР или МЕТ (рисунок 17). Следовательно, степень контроля гликемии сама по себе не является фактором, обуславливающим значимость неврологических нарушений, вызванных ишемическим-реперфузионным повреждением. При этом ЛИР не оказал самостоятельного защитного действия на функциональный неврологический статус – количество баллов по шкале Гарсия у крыс группы «ЛИР» достоверно не отличалось от такового у крыс группы «МЕТ».

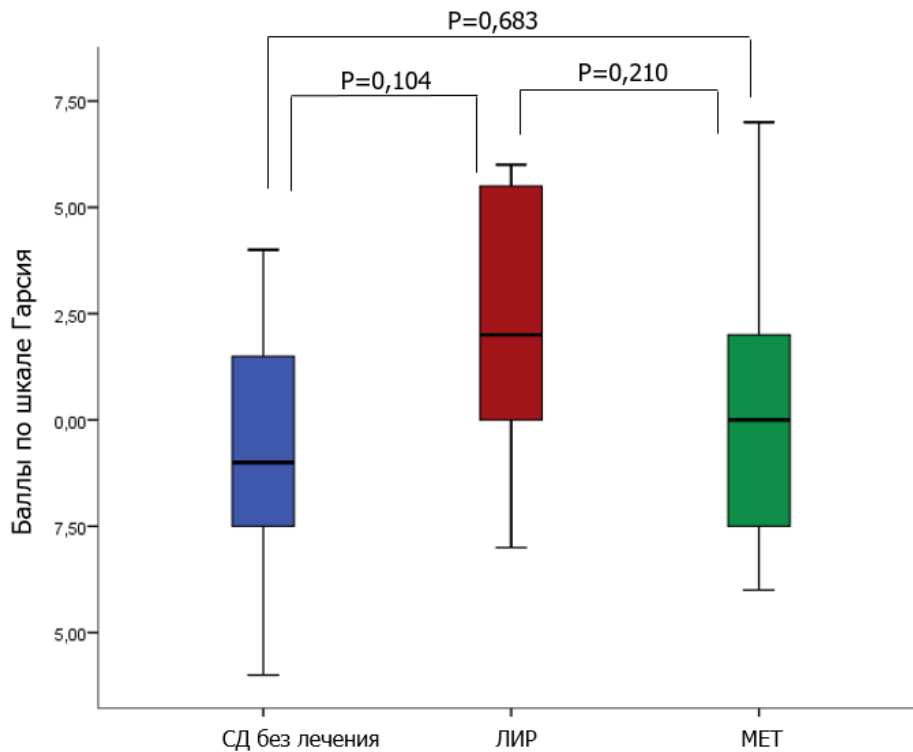


Рисунок 17 – Сохранность неврологических реакций (по шкале Garcia J.H.) [137]



#### 4.2.6 Влияние метформина и лираглутида на объем повреждения головного мозга

Объем повреждения головного мозга, вызванного транзиторной фокальной ишемией в бассейне левой средней мозговой артерии, в группе «ЛИР» был достоверно меньше такового в группе «СД без лечения». При этом объем некроза в группе животных, получавших терапию МЕТ, не отличался от такого у животных с СД, не получавших лечения. Важно отметить, что контроль гликемии в группах «ЛИР» и «МЕТ» был одинаково удовлетворительным. Объем некроза у крыс на фоне терапии ЛИР был значимо меньше, чем у животных, леченных МЕТ (рисунок 18). Следовательно, ЛИР обладает самостоятельным инфаркт-лимитирующим нейропротективным действием, не обусловленным его положительным влиянием на углеводный обмен.

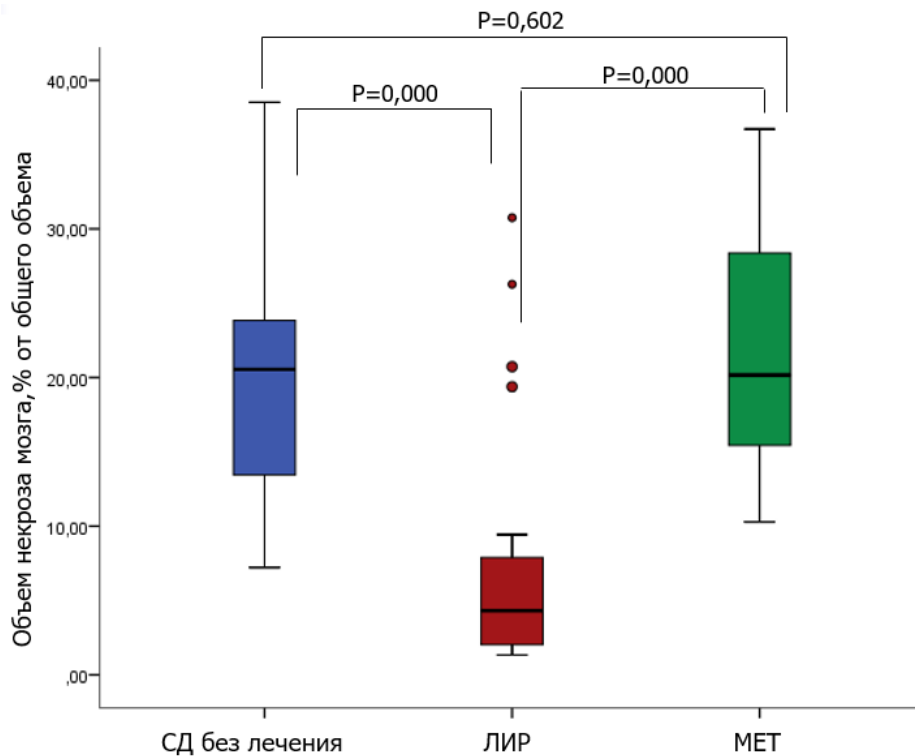


Рисунок 18 – Объем повреждения головного мозга у крыс с СД (в % от общего объема мозга)

Примечательно, что объем повреждения головного мозга у крыс с СД, получавших ЛИР, был сходным с таковым у здоровых животных без СД, получавших ЛИР в течение 7 дней до моделирования ишемии (4,32 (1,89; 8,3)% и (3,97 (2,2; 9,6)%, соответственно), и достоверно меньше некроза мозга у крыс без СД, не получавших ЛИР (16,6 (11,67; 28,3)%). Таким образом, применение ЛИР способно нивелировать повреждающий эффект СД 2 типа в отношении головного мозга.

Полученные в результате второго этапа экспериментального исследования данные еще раз подтверждают наличие у ЛИР нейропротективного эффекта, не связанного с влиянием препарата на гликемический профиль. В то же время, второй этап эксперимента показал, что инфаркт-лимитирующее действие ЛИР наиболее выражено, в то время как функциональный неврологический статус в условиях СД не поддается прямой коррекции ЛИР.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хорошо известно, что СД 2 типа сопровождается рядом структурных изменений в головном мозге. Прежде всего, это развитие очагов лейкоареоза, атрофии, уменьшение объема серого и белого вещества мозга, а также формирование мелких очагов ишемического поражения, что приводит к развитию микроинсультов, или «немых» инсультов [62, 126]. Все перечисленные изменения приводят к постепенно развивающейся деменции различной степени выраженности. Структурно-морфологическая диагностика данных нарушений представляет определенную сложность. В большинстве случаев очаги лейкоареоза, атрофии и даже небольшие фокусы ишемии могут быть обнаружены при помощи МРТ. Однако данный метод нейровизуализации характеризуется высокой стоимостью, требует оборудования и квалифицированного медицинского персонала, что ограничивает его рутинное использование.

Настоящее исследование позволило выявить маркеры поражения ЦНС, которые могут быть использованы в клинической практике врача-эндокринолога или терапевта. Это NSE – маркер нейронального повреждения, и белок S100, характеризующий поражение нейроглии. По результатам проведенного исследования, уровень данных маркеров у пациентов с СД 2 типа не коррелирует с уровнем HbA1C или длительностью анамнеза СД, следовательно, можно предположить, что данные маркеры характеризуют обусловленное СД нейроглиальное повреждение как таковое, вне зависимости от показателей углеводного обмена. Сведения, полученные нами в отношении NSE, согласуются с результатами работ других авторов, которые выявили повышение данного маркера при СД 2 типа и не отметили его взаимосвязи с показателями гликемического профиля [140, 146]. Повышение же белка S100 при СД 2 типа, в отсутствии манифестного поражения ЦНС, в частности, инсульта, кровоизлияния или нейродегенеративного процесса, в настоящем исследовании описано впервые, данные других авторов по этому вопросу не представлены.

Важно отметить, что в ходе настоящего исследования впервые удалось отследить динамику концентрации NSE и белка S100 на фоне различных вариантов сахароснижающей терапии. Мы выяснили, что как NSE, так и белок S100 снижаются

на фоне улучшения контроля гликемии, что свидетельствует в пользу того, что улучшение гликемического профиля само по себе обладает определенным защитным действием в отношении ЦНС. В то же время, чрезвычайно важной находкой, на наш взгляд, явились данные о том, что фармакологические препараты, в частности, инкретиномиметик ЛИР, могут приводить к самостоятельному снижению описываемых показателей. Таким образом, NSE и белок S100 могут использоваться не только в качестве маркеров поражения ЦНС при СД, но также как индикаторы эффективности сахароснижающей терапии в плане защиты головного мозга. Такие данные в мировой литературе не представлены.

Применение ЛИР у больных с СД 2 типа вызвало снижение уровня NSE и белка S100, причем данное явление имело место как у больных с удовлетворительным, так и с неудовлетворительным гликемическим профилем. В то же время, снижение маркеров нейроглиального повреждения в группе MET имело место только на фоне эугликемии, ухудшение же углеводного обмена приводило к нарастанию описываемых маркеров. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что ЛИР обладает плеiotропным нейропротективным эффектом, не связанным с воздействием препарата на гликемический профиль; защитный же эффект MET не является самостоятельным, будучи полностью обусловленным влиянием на углеводный обмен. Полученные данные являются первыми в своем роде, подобные исследования ранее не проводились.

Помимо обнаружения маркеров, характеризующих структурные изменения в ЦНС, в ходе настоящего исследования также были подтверждены литературные сведения о функциональных изменениях ЦНС при СД. Известно, что СД 2 типа характеризуется снижением скорости психомоторной деятельности [158], беглости речи [46], нарушением способности к вербальному запоминанию, к фиксации внимания [47, 132], замедлением скорости обработки информации [132], уменьшением объема оперативной памяти, что в совокупности является основой развивающегося когнитивного дефицита [56, 114].

В ходе настоящего исследования, при помощи шкал оценки когнитивного статуса, мы выявили, что большая часть пациентов имеет когнитивное снижение той или иной степени. Данный феномен определялся при применении практически всех шкал и опросников, причем каждая из шкал была направлена на оценку несколько различных функциональных параметров. Так, когнитивный дефицит был выявлен при помощи

шкал MMSE и MOCA, подразумевающих комплексное исследование когнитивного статуса, а именно ориентацию в пространстве и во времени, память и запоминание, пространственное мышление, способность к обобщению и другие функции; при помощи таблиц Шульце, позволяющих оценить устойчивость внимания и объем памяти; при использовании теста рисования часов, а также батареи лобных тестов, дающей возможность исследовать когнитивный статус, в том числе выявить развивающуюся деменцию лобного типа.

Полученные данные позволяют предполагать, что СД 2 типа сопровождается разнонаправленными изменениями когнитивной функции, что может быть диагностировано в клинической практике при помощи описанных выше шкал. Подобная диагностика проводится крайне редко, в то же время, на наш взгляд, она представляется чрезвычайно важной, так как позволяет обнаружить «доклинические» стадии когнитивной дисфункции, которые еще, как правило, не ухудшают качество жизни больного, не влияют значимо на его профессиональную деятельность, однако требуют лечения и профилактики дальнейшего прогрессирования. Кроме того, помимо выявления легких и умеренной выраженности нарушений, при применении батареи лобных тестов, у нескольких больных критерияльно были обнаружены признаки деменции лобного типа. Однако, только данные опросника не являются основанием для постановки диагноза. В то же время, выявление столь значимых отклонений во время скринингового обследования обуславливает большую значимость широкого внедрения данных методов тестирования. Обнаружение описанных изменений является показанием к консультации специалиста узкого профиля.

Однако, помимо феноменологического описания когнитивных нарушений, сопровождающих СД 2 типа, целью настоящей работы было изучение их потенциальной обратимости и выяснение причин их положительной или отрицательной динамики посредством исследования влияния гликемии и фармакотерапии на данный процесс.

Ранее ряд авторов ставил себе целью обнаружить воздействие различных сахароснижающих препаратов на выраженность когнитивной дисфункции. Имеются указания на отсутствие влияния определенных вариантов сахароснижающей терапии, будь то диетотерапия, различные виды пероральных препаратов, инсулин, на выраженность когнитивных нарушений. С другой стороны, существуют сведения о том, что среди только пероральных лекарственных средств, MET положительно влияет

на ряд когнитивных функций, в частности, улучшает вербальную обучаемость, объем оперативной памяти и исполнительную функцию [171]. В то же время, другое крупное исследование показало, что длительное применение препаратов сульфонилмочевины, тиазолидиндионов или инсулина не ассоциировано с повышенным риском развития деменции по типу болезни Альцгеймера, в то время как длительный прием МЕТ незначительно увеличивает этот риск [133]. Сведения же о положительном влиянии инкретиномиметиков и ингибиторов ДПП-4 на когнитивный статус сводятся лишь к экспериментальным данным [57, 58, 127, 170].

Таким образом, в настоящее время результаты клинических исследований заставляют большинство исследователей сходиться во мнении, что ни одна из групп сахароснижающих препаратов не оказывает убедительного положительного влияния на когнитивный статус, если не учитывать воздействие на углеводный обмен. В этой связи рекомендован индивидуализированный подход в лечении больных с СД 2 типа и когнитивным дефицитом, с применением препаратов, обладающих прежде всего минимальным риском гипогликемии [104, 136, 153].

Проведенное нами исследование показало, что улучшение контроля гликемии оказывает некоторый положительный эффект на параметры когнитивной функции, что отражается прежде всего в изменении количества баллов по МОСА и MMSE. При этом, по оценке при помощи шкалы MMSE, добавление к терапии ЛИР вызывает улучшение когнитивной функции, как на фоне улучшения, так и без улучшения показателей углеводного обмена. МЕТ же не обладает самостоятельным нейропротективным действием. При оценке по шкале МОСА, применение ЛИР не приводит к достоверному улучшению когнитивного статуса, однако вызывает стабилизацию его на исходном уровне, в то время как на фоне приема МЕТ когнитивный статус ухудшается при ухудшении контроля гликемии.

Важно отметить, что данные шкал MMSE и МОСА, вероятно, являются наиболее показательными при оценке **динамики** когнитивного статуса на фоне проводимой терапии и могут применяться в клинической практике для комплексного изучения функционального состояния ЦНС, являясь общедоступными и простыми в использовании.

Полученные нами данные являются подтверждением наличия у ЛИР положительного влияния не только на структурные изменения, но и на функцию ЦНС,

вне зависимости от гликемии, и отсутствия такого влияния у МЕТ. Однако для верификации этих сведений требуется проведение исследований с большим объемом выборки и большей длительностью наблюдения.

Подтверждение плейотропного нейропротективного эффекта ЛИР было получено также и в ходе экспериментального исследования.

Первый этап, выполнявшийся на животных без СД, показал, что применение ЛИР в течение 7 дней до моделирования ишемии приводит к уменьшению выраженности неврологического дефицита и объема повреждения мозга. Эти данные получены нами впервые. Исследования зарубежных коллег были направлены на изучение защитного эффекта ЛИР у животных без СД при введении его **после** ишемии [139, 178]. В то же время, именно доказательство эффективности профилактического применения препарата представляется клинически значимым, так как демонстрирует потенциальную возможность использования его в качестве средства первичной и вторичной профилактики мозговых катастроф у больных СД.

Кроме того, применение ЛИР на первом этапе исследования именно у животных без СД позволило доказать, что защитный эффект препарата не обусловлен его положительным влиянием на гликемический профиль.

На втором этапе производилось сравнение нейропротективного эффекта ЛИР с эффектом МЕТ у крыс с СД 2 типа. Такое исследование также было первым в своем роде. В литературе описан защитный эффект ЛИР у крыс с экспериментальным СД [41, 42, 174], однако в качестве группы контроля выступали животные с СД, не получавшие сахароснижающей терапии. Нам удалось добиться сходно удовлетворительного контроля гликемии у животных, получавших МЕТ и ЛИР, а следовательно, исключить влияние такого фактора, как протективное действие эугликемии. У крыс с СД 2 типа применение ЛИР оказало инфаркт-лимитирующее действие, по сравнению с МЕТ или физиологическим раствором (группа животных с СД без лечения), в то же время достоверного положительного влияния ЛИР на выраженность неврологического дефицита не наблюдалось. Возможно, функциональное состояние ЦНС является более чувствительным показателем, и для реализации фармакологического влияния на него требуется большая экспозиция терапии или большие дозы препарата. Примечательно, что МЕТ не оказал защитного действия

ни на функциональные (неврологический дефицит), ни на морфологические (объем повреждения мозга) параметры.

Таким образом, результаты экспериментального этапа исследования послужили феноменологическим доказательством наличия у ЛИР нейропротективного эффекта при ишемии головного мозга. Экспериментальное исследование помогло окончательно подтвердить, что защитный эффект ЛИР не обусловлен его влиянием на углеводный обмен.

Известно, что СД 2 типа является заболеванием, сопровождающимся нарушением функционального состояния сосудистого эндотелия [45, 87]. В то же время, до сих пор не определено, какой вариант дисфункции эндотелия превалирует у данной категории больных, страдает ли преимущественно вазомоторная или гемостатическая функция.

Мы изучали вазомоторную функцию эндотелия при помощи доплерографии микроциркуляторного русла с ионофорезом АХ с целью исследования эндотелий-зависимой вазодилатации, а также посредством определения уровня эндотелина-1 в кровотоке. Гемостатическая функция изучалась при помощи оценки уровня РА1-1 и t-РА в кровотоке.

Исходно у пациентов обеих групп имело место нарушение ответа на АХ, по сравнению со здоровыми людьми. Это отражалось прежде всего в уменьшении площади под кривой «время\*скорость кровотока», причем наблюдалось уменьшение как AUC1, обусловленной преимущественно влиянием NO, так и AUC2, характеризующей прежде всего активность ЭГФ [15, 16].

Данные различных авторов о нарушении активности и/или биодоступности NO и ЭГФ в условиях инсулинорезистентности и СД противоречивы. По мнению ряда исследователей, в условиях инсулинорезистентности, NO-зависимая вазодилатация нарушается прежде всего, в то время как ЭГФ-зависимая вазодилатация долго не снижается и даже способна нарастать – вероятно, в рамках компенсаторной реакции [142]. Ряд авторов напротив указывает на преимущественное снижение активности и/или биодоступности ЭГФ [29, 83, 112, 131, 134].

По результатам настоящего исследования, несмотря на то, что AUC1 и AUC общая не различались в исследуемых группах, AUC2 в будущей группе 2 была достоверно больше таковой в будущей группе 1, что позволяет предположить менее



значительное угнетение активности ЭГФ в группе 2, которое, в то же время, было достоверным, при сравнении с контрольной группой. Патогенез описанных изменений требует дальнейшего изучения. С целью выявления причин большей исходной активности ЭГФ в группе 2 был выполнен поиск возможной корреляционной связи между AUC2 и ключевыми клинико-лабораторными характеристиками, такими как исходный уровень HbA1C, длительность анамнеза СД и ГБ, возраст. Была обнаружена отрицательная корреляционная связь между AUC2 и исходным уровнем HbA1C. Следовательно, можно предполагать, что активность ЭГФ является параметром, наиболее чувствительным к колебаниям гликемии и уровню контроля гликемии на момент обследования.

В ходе всего времени наблюдения пациенты группы 1, получавшие монотерапию МЕТ, не имели достоверного улучшения показателей эндотелий-зависимой вазодилатации. Ни один из исследуемых параметров (время начала и окончания реакции на АХ, максимальная амплитуда реакции и время ее достижения, а также AUC 1, 2 и общая) не претерпевал достоверной положительной динамики. При этом важно отметить, что пациенты, имевшие стойко удовлетворительный контроль гликемии в течение всего времени приема МЕТ, не имели достоверной динамики показателей эндотелий-зависимой вазодилатации. В то же время, у больных, имевших ухудшение гликемического профиля через 9 мес терапии МЕТ, AUC2 была достоверно меньше таковой у больных, имевших эугликемию, что, вероятно, отражает закономерное прогрессивное ухудшение функции эндотелия и снижение активности ЭГФ в условиях ухудшения гликемического профиля. AUC1, отражающая прежде всего активность NO, и AUC общая достоверно не отличались у пациентов группы 1 с удовлетворительным и неудовлетворительным контролем гликемии. Возможно, ЭГФ является более чувствительным в отношении колебания гликемии компонентом вазомоторной функции эндотелия, чем NO.

Полученные данные позволяют предположить, что улучшение контроля гликемии и длительное сохранение эугликемии не приводят к восстановлению функциональных вазомоторных параметров, а лишь предотвращают закономерное прогрессирование данных нарушений. МЕТ не обладает независимым эндотелиопротективным действием, реализуя свои защитные эффекты лишь через влияние на гликемический профиль.

Добавление к терапии ЛИР, напротив, вызвало улучшение показателей эндотелий-зависимой вазодилатации уже через 6 месяцев наблюдения (то есть через 3 месяца комбинированной терапии) и полную их нормализацию через 9 месяцев. При этом не было выявлено достоверных различий ни в амплитуде эндотелий-зависимой вазодилатации, ни в показателях AUC, ни в продолжительности ответа на АХ между пациентами с удовлетворительным и неудовлетворительным контролем гликемии.

Полученные данные свидетельствуют в пользу наличия у ЛИР защитного действия в отношении вазомоторной функции эндотелия, которое не связано с его влиянием на углеводный обмен.

Подтверждение этому было получено при исследовании концентрации эндотелина-1. Исходный уровень эндотелина-1 был повышен только у тех пациентов, которые в дальнейшем не достигли удовлетворительного контроля гликемии на фоне трехмесячной монотерапии МЕТ (группа 2). В то же время, исходная концентрация эндотелина-1 у пациентов, имевших хороший ответ на монотерапию МЕТ (группа 1), не отличалась от таковой у здоровых лиц. Мы не обнаружили корреляции между уровнем данного маркера дисфункции эндотелия и длительностью СД 2 типа и/или концентрацией HbA1C, что позволяет рассматривать его в качестве индикатора возможности или невозможности достижения эугликемии на фоне приема только МЕТ.

Мы обнаружили, что на фоне применения МЕТ концентрация эндотелина-1 находилась в пределах нормы в течение всего времени наблюдения только у пациентов, имевших стойко удовлетворительный контроль гликемии. При этом у больных, получавших монотерапию МЕТ, ухудшение гликемического профиля через 9 мес сопровождалось увеличением уровня эндотелина-1. Это позволило нам предположить, что МЕТ не обладает самостоятельным защитным действием в отношении вазомоторной функции эндотелия, и колебания эндотелина-1 происходят в зависимости от изменений гликемического профиля. Это согласуется с данными, полученными при анализе эндотелий-зависимой вазодилатации, где МЕТ также не продемонстрировал протективного действия в отношении вазомоторной функции эндотелия.

В то же время, добавление к терапии ЛИР в группе 2 привело к нормализации концентрации эндотелина-1, причем описанный эффект наблюдался как у пациентов, имевших положительную динамику в отношении контроля гликемии, так и больных с ухудшением гликемического профиля через 9 мес наблюдения. Этот феномен

свидетельствует в пользу наличия у ЛИР самостоятельного эндотелиопротективного действия, не связанного с влиянием препарата на углеводный обмен, что согласуется с достоверным улучшением показателей эндотелий-зависимой вазодилатации под действием ЛИР, также вне зависимости от гликемического профиля.

Примечательно, что медиана концентрации эндотелина-1 достигла нормы в обеих группах уже через 3 мес наблюдения, при этом значения 75% и максимальные показатели еще выходили за пределы референсного интервала. К 6 месяцу наблюдения данные параметры также практически нормализовались. В то же время, амплитуда эндотелий-зависимой вазодилатации и AUC общая через 6 мес не претерпевали достоверной динамики в группе монотерапии MET и выросли, но не достигли нормы, в группе терапии MET и ЛИР, что отражает более медленное восстановление функциональных показателей вазомоторной функции эндотелия, которыми являются доплерографические параметры. Амплитуда реакции на АХ и AUC достигли референсного интервала в группе 2 лишь через 9 мес и не достигли его вовсе в группе 1.

Следовательно, такой доступный и неинвазивный метод оценки вазомоторной функции эндотелия, как высокочастотная ультразвуковая доплерография сосудов микроциркуляторного русла с применением функциональных проб, в частности, ионофореза АХ, позволяет выявить сохраняющиеся нарушения даже тогда, когда лабораторные маркеры указывают на нормализацию состояния эндотелия. Именно нормализация доплерографических параметров, вероятно, может служить индикатором полноценного восстановления функции эндотелия.

Результаты настоящей работы позволяют рекомендовать использование доплерографической оценки линейной скорости кровотока в широкой клинической практике для исследования эффективности применяемой сахароснижающей терапии в отношении защиты эндотелия, с целью первичной и вторичной профилактики осложнений СД, одним из ключевых звеньев в патогенезе которых является дисфункция эндотелия. Кроме того, данный неинвазивный метод может использоваться для изучения состояния вазомоторной функции эндотелия; выявление нарушений последней может служить основанием для включения в терапию препаратов, обладающих плейотропными эндотелиопротективными свойствами.

Помимо выявления нарушений вазомоторной функции эндотелия, нам удалось также обнаружить изменения в показателях гемостатической функции. Так, уровень

РАI-1 превышал границы нормы у всех больных СД 2 типа. Это в целом согласуется с данными, полученными в работах других авторов. В частности, было показано, что активность РАI-1 выше у лиц с сочетанием СД 2 типа и метаболического синдрома, а также у лиц с метаболическим синдромом без СД, по сравнению со здоровыми людьми [33]. Рядом авторов была выявлена корреляция между концентрацией РАI-1 и осложнениями СД [148, 189].

Нами обнаружен повышенный уровень РАI-1 у всех пациентов с СД 2 типа, причем в исследование не включались пациенты с тяжелыми осложнениями СД. Аналогично изменениям, описанным выше для эндотелина-1, уровень РАI-1 был выше у тех пациентов, которые не достигли через 3 мес монотерапии МЕТ нормализации гликемического профиля. При этом концентрация РАI-1 в нашем исследовании не коррелировала ни с длительностью анамнеза СД, ни с уровнем HbA1C, что позволяет рассматривать данный маркер как второй потенциальный индикатор возможности или невозможности достижения эугликемии на монотерапии МЕТ. Однако исследование лишь одного или двух лабораторных маркеров, на наш взгляд, является недостаточным для точного прогнозирования ответа на фармакотерапию, требуется учет взаимодействия этих и других факторов.

В ходе наблюдения РАI-1 снизился у пациентов обеих групп, как на фоне монотерапии МЕТ, так и на фоне комбинированной терапии МЕТ и ЛИР. При этом уровень данного маркера достиг нормы в группе монотерапии МЕТ и сохранялся повышенным в группе комбинированной терапии. Учитывая отсутствие выявленной корреляции РАI-1 непосредственно с концентрацией HbA1C, мы считаем, что нормализация описываемого маркера в группе 1 связана прежде всего с большей длительностью эугликемии и меньшей вариабельностью гликемии в этой группе. ЛИР не оказал положительного влияния на описываемый показатель.

Концентрация t-РА на протяжении всего исследования находилась в пределах референсных значений в обеих группах, и достоверных различий между группами выявлено не было.

Таким образом, настоящее исследование позволило выяснить, что у больных СД 2 типа имеет место нарушение как гемостатической, так и вазомоторной функции эндотелия. Улучшение контроля гликемии положительно влияет на вазомоторную функцию, а также на гемостатическую функцию, вероятно, в условиях длительной

экспозиции эугликемии. ЛИР улучшает вазомоторную функцию эндотелия, что не обусловлено его воздействием на углеводный обмен. В то же время, препарат не оказывает достоверного влияния на показатели гемостатической функции.

Данные, полученные в ходе настоящего исследования, на наш взгляд, представляют ценность, так как сведения об эндотелиопротективном эффекте инкретиномиметиков в клинике достаточно противоречивы. Было показано, что однократное введение эксенатида больным с НТГ и впервые выявленным СД 2 типа улучшает эндотелиальную функцию [107]. У больных с анамнезом СД 2 типа более 5 лет лечение эксенатидом вызывает снижение гликемии натощак, массы тела, уровня артериального давления и ОХ, а также приводит к нарастанию индекса реактивной гиперемии [79]. Кроме того, эксенатид улучшает потокзависимую вазодилатацию плечевой артерии у больных СД 2 типа, по сравнению с производным сульфонилмочевины глимепиридом [78]. Имеются данные о том, что применение ЛИР вызывает снижение артериального давления, улучшает показатели липидного спектра, а также положительно влияет на показатели потокзависимой вазодилатации, по сравнению с терапией ингибитором ДПП-4 [96].

В то же время, имеются сведения о том, что терапия эксенатидом в течение 3 месяцев не улучшает реактивности сосудов, определенной при помощи плетизмографии, по сравнению с МЕТ, у пациентов, страдающих ожирением и НТГ [66]. Аналогично, ряд авторов полагает, что ЛИР не улучшает кровоток в области предплечья у больных СД 2 типа, при определении его при помощи венозной окклюзионной плетизмографии на фоне введения АХ или нитропруссид натрия, по сравнению с плацебо и глимепиридом [172].

Возможно, столь противоречивые данные относительно эндотелиопротективного эффекта агонистов рецептора ГПП-1 связаны с большими различиями в дизайне исследования, в длительности анамнеза СД у исследуемых больных, а также, что представляется наиболее значимым, со значительными расхождениями в терапии в группах сравнения: плацебо, ингибиторы ДПП-4, имеющие схожие эффекты с агонистами рецептора ГПП-1, препараты сульфонилмочевины или инсулинотерапия – лекарственные средства, способные вызвать гипогликемию, в том числе нераспознанную, что само по себе может негативно сказываться на эндотелиальной функции.

В соответствии с дизайном нашего исследования, в качестве группы сравнения выступали пациенты, получавшие монотерапию МЕТ, механизм действия которого принципиально отличается от такового у инкретиномиметиков и который не вызывает гипогликемии. Кроме того, нами не было обнаружено других работ, в которых вазомоторная и гемостатическая функции эндотелия на фоне применения ЛИР оценивались бы отдельно у пациентов, достигших и не достигших эугликемии. Таким образом, дизайн данного исследования позволил доказать, что защитный эффект ЛИР в отношении вазомоторной функции действительно не зависит от влияния препарата на гликемический профиль.

Одной из задач нашего исследования было изучение возможной взаимосвязи между дисфункцией эндотелия и поражением ЦНС у пациентов СД 2 типа. Нами была выявлена положительная корреляционная связь между уровнем PAI-1, являющегося маркером гемостатической функции эндотелия, и NSE как индикатора нейронального повреждения. Кроме того, положительная корреляционная связь была обнаружена между концентрацией эндотелина-1, маркера вазомоторной функции эндотелия, и NSE. Следовательно, поражение ЦНС происходит содружественно с нарушением обеих ключевых функций эндотелия. Вероятно, нарушение функционального состояния сосудистого эндотелия является одним из звеньев патогенеза повреждения ЦНС при СД 2 типа.

В литературе широко представлены данные о наличии эндотелиальной дисфункции у больных СД 2 типа [45, 87]. Также хорошо известно, что именно дисфункция эндотелия лежит в основе развития хронических осложнений СД 2 типа, таких как диабетическая полинейропатия, ретинопатия, нефропатия, и даже вносит важный вклад в патогенез острых осложнений СД, таких как инфаркт миокарда, инсульт [88, 186]. В то же время, до настоящего момента не исследовалась взаимосвязь между хроническим повреждением ЦНС, протекающим с деструкцией части нейронов, по типу «немых» инсультов, и нарушением функции эндотелия. Выявленная взаимосвязь между данными процессами, на наш взгляд, диктует необходимость комплексного подхода в лечении СД 2 типа, с включением в него препаратов, обладающих как нейро-, так и эндотелиопротективными свойствами, какие в данной работе были обнаружены у ЛИР.

В ходе данного исследования был проведен комплексный анализ факторов, которые могли оказать потенциальное влияние на возможность или невозможность

достижения удовлетворительного контроля гликемии на монотерапии МЕТ. При помощи пошагового дискриминантного анализа была построена математическая модель прогнозирования низкой эффективности монотерапии МЕТ. Было показано, что сочетание таких факторов, как принадлежность к женскому полу, отягощенная наследственность по СД 2 типа, а также высокие концентрации эндотелина-1 и t-РА свидетельствует о низкой вероятности достижения эугликемии на монотерапии МЕТ. Данная модель может применяться в клинической практике врача-эндокринолога с целью решения вопроса о необходимости более ранней интенсификации терапии или же, напротив, возможности продолжения применения только МЕТ у пациентов со сходными ключевыми клинико-лабораторными характеристиками. Подобная модель ранее не создавалась.

Таким образом, во время нашего исследования были выявлены структурные и функциональные поражения ЦНС и определен вклад дисфункции эндотелия в их формирование. На основании анализа ключевых клинико-лабораторных характеристик, нами была построена модель прогнозирования достижения эугликемии на монотерапии МЕТ. Мы выяснили, что агонист рецептора ГПП-1 ЛИР обладает нейро- и эндотелиопротективными свойствами (прежде всего, в отношении вазомоторной функции эндотелия), не связанными с влиянием на гликемический профиль.

## 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 СОКРАЩЕНИЙ**

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспаратаминотрансфераза
АХ	– ацетилхолин
ГБ	– гипертоническая болезнь
ГИП	– глюкозозависимый инсулиотропный пептид
ГПП-1	– глюкагоноподобный пептид-1
ГПП-2	– глюкагоноподобный пептид-2
ДПП-4	– дипептидилпептидаза-4
иАПФ	– ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИФА	– иммуноферментный анализ
К/А	– коэффициент атерогенности
ЛИР	– лираглутид
ЛДФ	– линейная дискриминантная функция
Мес	– месяц (-ев, -а, -ами, и т.д.)
МЕТ	– метформин
мРНК	– матричная рибонуклеиновая кислота
МРТ	– магнитно-резонансная томография
ОХ	– общий холестерин
ПГТТ	– пероральный глюкозотолерантный тест
СД	– сахарный диабет
ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
ТГ	– триглицериды
ТТХ	– 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид
ХС ЛПВП	– холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС ЛПНП	– холестерин липопротеинов низкой плотности
ХС ЛПОНП	– холестерин липопротеинов очень низкой плотности
ХБП	– хроническая болезнь почек
цАМФ	– циклический аденозинмонофосфат

ЦНС	– центральная нервная система
ЭГФ	– эндотелиальный гиперполяризующий фактор
ADA	– Американская диабетологическая ассоциация
AUC	– Area Under Curve, площадь под кривой
ELIXA	– The Evaluation of Lixisenatide in Acute Coronary Syndrome
ЕРАК	– цАМФ-активированные обменные протеины
EXSCEL	– Exenatide Study of Cardiovascular Event Lowering Trial
FAB	– Frontal Assessment Battery, Батарея лобных тестов
FDR	– false discovery rate
FIGHT	– Functional Impact of GLP-1 for Heart failure Treatment
HbA1C	– Гликированный гемоглобин
IDF	– Международная диабетическая федерация
LEAD-6	– Liraglutide Effect and Action in Diabetes-6
LEADER	– Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of cardiovascular outcome Results
LIVE	– The effect of Liraglutide on left Ventricular function
MMSE	– Краткая шкала оценки психического статуса
МОСА	– Монреальская шкала когнитивной оценки
NO	– оксид азота
NSE	– нейронспецифическая енолаза
NT-proBNP	– N-терминальный фрагмента мозгового натрийуретического пептида
NYHA	– New York Heart Association
PAI-1	– ингибитор активатора плазминогена-1
SUSTAIN	– The Semaglutide Unabated Sustainability in Treatment of Type 2 Diabetes
t-PA	– тканевой активатор плазминогена

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Агонисты GPR119 рецепторов: характеристика, физиологическая роль и перспективы использования в терапии сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома / И.Н. Тюренков [и др.] // Успехи физиол. наук. – 2015. – Т. 46, № 4. – С. 28-37.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова // Сахарный диабет. – 2017. – № 20 (1S), 8-й вып. – С. 1-112.
3. Аметов, А.С. Роль и место инкретинов в достижении всестороннего гликемического контроля / А.С. Аметов, А.В. Бращенкова // Рус. мед. журн. – 2011. – Т. 19, № 27. – С. 1690-1693.
4. Аметов, А.С. Сахарный диабет 2 типа и сердечно-сосудистые заболевания: столкновение двух глобальных неинфекционных эпидемий / А.С. Аметов, М.А. Лысенко // РМЖ. – 2011. – № 13. – С. 802-805.
5. Анциферов, М.Б. Новые подходы к лечению сахарного диабета типа 2: глюкагоноподобный пептид-1 и эксенатид (Баета) / М.Б. Анциферов, Л.Г. Дорофеева // Фарматека. – 2007. – № 11. – С. 14-19.
6. Асфандиярова, Н.С. Смертность при сахарном диабете 2 типа / Н.С. Асфандиярова // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, № 4. – С. 12-21.
7. Байрашева, В.К. Моделирование сахарного диабета и диабетической нефропатии в эксперименте / В.К. Байрашева // Соврем. проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 247.
8. Гребень, Н.Ф. Психологические тесты для профессионалов / Н.Ф. Гребень. – Минск: Соврем. шк., 2007. – 496 с.
9. Дашина, М.Г. Роль психологического исследования для оценки когнитивных нарушений у освидетельствуемых пожилого возраста / М.Г. Дашина, Н.И. Караченцева, Н.Н. Тимошникова // Мед.-соц. экспертиза и реабилитация. – 2013. – № 4. – С. 53-56.

10. Дедов, И.И. Виктоза (лираглутид): первый аналог человеческого ГПП-1 в лечении сахарного диабета 2-го типа. Практическое руководство для врачей / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М., 2010. – 46 с.
11. Дедов, И.И. Инкретины: новая веха в лечении сахарного диабета 2-го типа. Практическое руководство для врачей / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М.: Дипак, 2010. – 92 с.
12. Деменции: рук. для врачей / Н.Н. Яхно [и др.]. – 3-е изд. – М.: «МЕДпресс-информ», 2011. – 272 с.
13. Инсулин и инсулинорезистентность: новые молекулы-маркеры и молекулы-мишени для диагностики и терапии заболеваний центральной нервной системы / А.Б. Салмина [и др.] // Бюл. сиб. медицины. – 2013. – Т. 12, № 5. – С. 104-118.
14. Лечение недементных когнитивных нарушений у пациентов с артериальной гипертензией и церебральным атеросклерозом (по данным российского мультицентрового исследования «ФУЭТЕ») / Н.Н. Яхно [и др.] // Неврол. журн. – 2012. – № 4. – С. 49-55.
15. Малахова, З.Л. Эндотелий-зависимая вазодилатация сосудов кожи здорового человека: оксид азота или гиперполяризующий фактор? / З.Л. Малахова, Е.Ю. Васина, Т.Д. Власов // Рос. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 8. – С. 930-939.
16. Неинвазивный метод исследования эндотелиального гиперполяризующего фактора в клинике / З.Л. Малахова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 70-74.
17. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях / И.Н. Тюренков [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 58-67.
18. Новая модель сахарного диабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс / В.К. Байрашева [и др.] // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 44-55.
19. Регистр лекарственных средств России. Инструкция к препарату Трулисити [Электронная ссылка]. – Режим доступа: [https://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_90812.html](https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_90812.html).
20. Система инкретинов как перспективная фармакологическая мишень для сахароснижающей терапии / Д.В. Куркин [и др.] // Фарматека. – 2016. – № 5. – С. 45-50.

21. Спилбергер, Ч.Д. Исследование тревожности / Ч.Д. Спилбергер, адаптация Ю.Л. Ханин // Диагностика эмоционально-нравственного развития / ред. и сост. И.Б. Дерманова. – СПб., 2002. – С. 124-126.
22. Сравнительный анализ методов оценки когнитивной дисфункции в периоперационном периоде у пациентов пожилого возраста после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов / М.Е. Политов [и др.] // Рос. мед. журн. – 2015. – Т. 21, № 3. – С. 20-25.
23. Старостина, Е.Г. Лираглутид: новая ступень на пути к сердечно-сосудистой безопасности и эффективности сахароснижающей терапии / Е.Г. Старостина, Ю.А. Карпов // Атмосфера. Новости кардиологии. – 2017. – № 3. – С. 23-31.
24. Фундаментальные основы поиска лекарственных средств для терапии сахарного диабета 2-го типа / А.А. Спасов [и др.] // Вестн. РАМН. – 2013. – № 2. – С. 43-49.
25. Шестакова, Е.А. Инкретиновая и «антиинкретиновая» системы в патогенезе сахарного диабета 2 типа: факты и гипотезы / Е.А. Шестакова // Сахарный диабет. – 2011. – Т. 14, № 3. – С. 26-29.
26. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin protects against global cerebral ischemia in male rats: interference of AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway / G. Ashabi [et al.] // Metabolic. Brain Disease. – 2014. – Vol. 29, № 1. – P. 47-58.
27. Agrell, B. The clock-drawing test / B. Agrell, O. Dehlin // Age and Ageing. – 1998. – Vol. 27. – P. 399-403.
28. Albiglutide, a long lasting glucagonlike peptide-1 analog, protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury: evidence for improving cardiac metabolic efficiency / W. Bao [et al.] // PloS one. – 2011. – Vol. 6, № 8. – P. e23570.
29. Altered endothelium-dependent responsiveness in the aortas and renal arteries of Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, a model of non-insulin-dependent diabetes mellitus / S. Kagota [et al.] // Gen Pharmacol. – 2000. – Vol. 34. – P. 201-209.
30. Alternate-form reliability of the Montreal Cognitive Assessment screening test in a clinical setting. Dement / A.S. Costa [et al.] // Geriatr. Cogn. Disord. – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 379-384.
31. An inventory for measuring depression / A.T. Beck [et al.] // Archives General Psychiatry. – 1961. – Vol. 4. – P. 561-571.

32. An overview of new GLP-1 receptor agonists for type 2 diabetes / B. Tomlinson [et al.] // *Expert Opin. Investig. Drugs.* – 2016. – Vol. 25, № 2. – P. 145-158.
33. Association of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activator with type 2 diabetes and metabolic syndrome in Malaysian subjects / Z. Al-Hamodi [et al.] // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2011. – Vol. 10. – P. 23.
34. Athauda, D. The glucagon-like peptide-1 (GLP) receptor as a therapeutic target in parkinson's disease: mechanisms of action / D. Athauda, T. Foltynie // *Drug Discov. Today.* – 2016. – Vol. 21, № 5. – P. 802-818.
35. Barnett, A.H. Lixisenatide: evidence for its potential use in the treatment of type 2 diabetes / A.H. Barnett // *Core Evid.* – 2011. – Vol. 6. – P. 67-79.
36. Beck, A.T. Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation / A.T. Beck, R.A. Steer, M.G. Garbin // *Clin. Psychol. Review.* – 1988. – Vol. 8, № 1. – P. 77-100.
37. Beneficial effects of metformin on energy metabolism and visceral fat volume through a possible mechanism of fatty acid oxidation in human subjects and rats / I. Tokubuchi [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 2. – P. e0171293.
38. Blonde, L. Comparison of liraglutide versus other incretin-related anti-hyperglycaemic agents / L. Blonde, E. Montanya // *Diabetes Obes. Metab.* – 2012. – Vol. 14, Suppl. 2. – P. 20-32.
39. Blonde, L. Effect Action in Diabetes-6 Study Group. Switching to once-daily liraglutide from twice-daily exenatide further improves glycemic control in patients with type 2 diabetes using oral agents / L. Blonde, J. Rosenstock // *Diabetes Care.* – 2010. – Vol. 33. – P. 1300-1303.
40. Brain injury markers: S100 calcium-binding protein B, neuron-specific enolase and glial fibrillary acidic protein in children with diabetic ketoacidosis / G. Çatl [et al.] // *Pediatr. Diabetes.* – 2018. – Vol. 19, № 5. – P. 1000-1006.
41. Briyal, S. Effect of liraglutide on oxidative stress and apoptosis in rats following focal cerebral ischemia / S. Briyal, A. Gulati // *Critical Care Medicine.* – 2012. – Vol. 40, Iss. 12. – P. 1-328.
42. Briyal, S. Neuroprotective and anti-apoptotic effects of liraglutide in the rat brain following focal cerebral ischemia / S. Briyal, S. Shah, A. Gulati // *Neuroscience.* – 2014. – Vol. 281. – P. 269-281.

43. Briyal, S. Repeated administration of exendin-4 reduces focal cerebral ischemia-induced infarction in rats / S. Briyal, K. Gulati, A. Gulati // *Brain research*. – 2012. – Vol. 1427. – P. 23-34.
44. Cabou, C. GLP-1, the gut-brain, and brain-periphery axes / C. Cabou, R. Burcelin // *Rev. Diabet. Stud.* – 2011. – Vol. 8, № 3. – P. 418-431.
45. Calles-Escandon, J. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective / J. Calles-Escandon, M. Cipolla // *Endocrine Reviews*. – 2001. – Vol. 22, № 1. – P. 36-52.
46. Change in cognitive function by glucose tolerance status in older adults: a 4-year prospective study of the Rancho Bernardo study cohort / A.M. Kanaya [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 164, № 12. – P. 1327-1333.
47. Changes in cognitive abilities over a 4-year period are unfavorably affected in elderly diabetic subjects: results of the Epidemiology of Vascular Aging Study / A. Fontbonne [et al.] // *Diabetes Care*. – 2001. – Vol. 24, № 2. – P. 366-370.
48. Clinical relevance of anti-exenatide antibodies: safety, efficacy and cross-reactivity with long-term treatment / M.S. Fineman [et al.] // *Diabetes Obes. Metab.* – 2012. – Vol. 14. – P. 546-554.
49. *Clock Drawing* / M.I. Freedman [et al.]. – Oxford: Oxford University Press, 1994. – 192 p.
50. Complications and pitfalls in rat stroke models for middle cerebral artery occlusion: a comparison between the suture and macro sphere model using magnetic resonance angiography / T. Gerriets [et al.] // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35. – P. 2372-2377.
51. Cooper, E.H. Serum Neuron-Specific Enolase in children's cancer / E.H. Cooper, J. Pritchard, C.C. Bailey // *Br. J. Cancer*. – 1987. – Vol. 56, № 1. – P. 65-67.
52. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphoterin and S100 proteins through receptor for advanced glycation end products (RAGE) activation / H.J. Huttunen [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 40096-40105.
53. Correlations between serial pro-gastrinreleasing peptide and neuron-specific enolase levels, and the radiological response to treatment and survival of patients with small-cell lung cancer / A. Ono [et al.] // *Lung Cancer*. – 2012. – Vol. 76. – P. 439-444.
54. Crockett, S.E. Gastric inhibitory peptide (GIP) in maturity-onset diabetes mellitus / S.E. Crockett, E.L. Mazzaferri, S. Cataland // *Diabetes*. – 1976. – Vol. 25. – P. 931-935.



55. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients / M.B. Toft-Nielsen [et al.] // *J. clinical endocrinology and metabolism*. – 2001. – Vol. 86, № 8. – P. 3717-3723.
56. Diabetes mellitus and cognitive impairments / E. Saedi [et al.] // *World J. Diabetes*. – 2016. – Vol. 7, № 17. – P. 412-422.
57. DPP4-inhibitor improves neuronal insulin receptor function, brain mitochondrial function and cognitive function in rats with insulin resistance induced by high-fat diet consumption / N. Pipatpiboon [et al.] // *Eur. J. Neurosci*. – 2013. – Vol. 37, № 5. – P. 839-849.
58. DPP-4 inhibitors improve cognition and brain mitochondrial function of insulin-resistant rats / H. Pintana [et al.] // *J. Endocrinol*. – 2013. – Vol. 218, № 1. – P. 1-11.
59. Drucker, D.J. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides / D.J. Drucker // *Gastroenterology*. – 2002. – Vol. 122, № 2. – P. 531-544.
60. Ebert, R. Hypo- and hypersecretion of GIP in maturity-onset diabetics (Abstract) / R. Ebert, W. Creutzfeldt // *Diabetologia*. – 1980. – Vol. 19. – P. 271-272.
61. Effect on glycemia in rats with type 2 diabetes induced by streptozotocin: low-frequency electro-pulse needling stimulated Weiwang-xiashu (EX-B 3) and Zusanli (ST 36) / C. Bingyan [et al.] // *J. Tradit. Chin Med*. – 2016. – Vol. 36, № 6. – P. 768-778.
62. Effect of Diabetes on Brain Structure: The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes MR Imaging Baseline Data / R.N. Bryan [et al.] // *Radiology*. – 2014. – Vol. 272, № 1. – P. 210-216.
63. Effect of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 analogue, on left ventricular function in stable chronic heart failure patients with and without diabetes (LIVE)—a multicentre, double-blind, randomized, placebo-controlled trial / A. Jorsal [et al.] // *Eur. J. Heart Fail*. – 2017. – Vol. 19. – P. 69-77.
64. Effect of liraglutide on adipose insulin resistance and hepatic de-novo lipogenesis in non-alcoholic steatohepatitis: substudy of a phase 2, randomised placebo-controlled trial / M. Armstrong [et al.] // *Lancet*. – 2014. – Vol. 383, Iss. – P. S21.
65. Effect of liraglutide on dietary lipid-induced insulin resistance in humans / J. Koska [et al.] // *Diabetes Obes Metab*. – 2018. – Vol. 20. – P. 69-76.
66. Effects of exenatide vs. metformin on endothelial function in obese patients with prediabetes: a randomized trial / A.S. Kelly [et al.] // *Cardiovasc. Diabetol*. – 2012. – Vol. 11. – P. 64.

67. Effects of glucagon-like peptide-1 on endothelial function in type 2 diabetes patients with stable coronary artery disease / T. Nyström [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 287. – P. E1209-E1215.
68. Effects of intravenous exenatide in type 2 diabetic patients with congestive heart failure: a double-blind, randomised controlled clinical trial of efficacy and safety / D. Nathanson [et al.] // *Diabetologia.* – 2012. – Vol. 55, № 4. – P. 926-935.
69. Effects of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 analog, on left ventricular remodeling assessed by cardiac magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention / T. Nozue [et al.] // *Heart Vessels.* – 2016. – Vol. 31, № 8. – P. 1239-1246.
70. Effects of liraglutide on clinical stability among patients with advanced heart failure and reduced ejection fraction: a randomized clinical trial / K.B. Margulies [et al.] // *JAMA.* – 2016. – Vol. 316, № 5. – P. 500-508.
71. Effects of Liraglutide on Reperfusion Injury in Patients With ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction / W.R. Chen [et al.] // *Circ. Cardiovasc. Imaging.* – 2016. – Vol. 9, № 12. – P. e005146.
72. Effects of Once-Weekly Exenatide on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes / R.R. Holman [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – Vol. 377, № 13. – P. 1228-1239.
73. Efficacy and safety of the human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in combination with metformin and thiazolidinedione in patients with Type 2 diabetes (LEAD-4 Met+TZD) / B. Zinman [et al.] // *Diabetes Care.* – 2009. – Vol. 32, № 7. – P. 1224-1230.
74. Eli Lilly Nederland Byetta® (exenatide) European SPC [Electronic resource]. – Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_Product\\_Information/human/000698/WC500051845.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/000698/WC500051845.pdf).
75. Enhancing the GLP-1 receptor signaling pathway leads to proliferation and neuroprotection in human neuroblastoma cells / Y. Li [et al.] // *J. neurochemistry.* – 2010. – Vol. 113, № 6. – P. 1621-1631.
76. Evidence of the Sensitivity of the MoCA Alternate Forms in Monitoring Cognitive Change in Early Alzheimer's Disease / A.S. Costa [et al.] // *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* – 2013. – Vol. 37, № 1-2. – P. 95-103.

77. Exenatide and the treatment of patients with Parkinson's disease / I. Aviles-Olmos [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2013. – Vol. 123. – P. 2730-2736.
78. Exenatide improves endothelial function assessed by flow mediated dilation technique in subjects with type 2 diabetes: results from an observational research / C. Irace [et al.] // *Diab. Vasc. Dis. Res.* – 2013. – Vol. 10, № 1. – P. 72-77.
79. Exenatide protects against glucose- and lipid-induced endothelial dysfunction: evidence for direct vasodilation effect of GLP-1 receptor agonists in humans / J. Koska [et al.] // *Diabetes.* – 2015. – Vol. 64, № 7. – P. 2624-2635.
80. Exenatide reduces reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction / J. Lonborg [et al.] // *Eur. heart J.* – 2012. – Vol. 33, № 12. – P. 1491-1499.
81. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, provides neuroprotection in mice transient focal cerebral ischemia / S. Teramoto [et al.] // *J. cerebral blood flow and metabolism.* – 2011. – Vol. 31, № 8. – P. 1696-1705.
82. Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting beta-cells / R. Göke [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 19650-19655.
83. Exercise training improves acetylcholine-induced endothelium-dependent hyperpolarization in type 2 diabetic rats, Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats / A. Minami [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2002. – Vol. 162. – P. 85-92.
84. Experimental studies of ischemic brain edema: I: A new experimental model of cerebral embolism in which recirculation can introduced into the ischemic area / J. Koizumi [et al.] // *Jpn J. Stroke.* – 1986. – Vol. 8. – P. 108.
85. Expression and distribution of glucagon-like peptide-1 receptor mrna, protein and binding in the male nonhuman primate (*Macaca mulatta*) brain / K.M. Heppner [et al.] // *Endocrinology.* – 2015. – Vol. 156, № 1. – P. 255-267.
86. Folstein, M.F. «Mini-mental state»: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician / M.F. Folstein, S.E. Folstein, P.R. McHugh // *J. Psychiatr. Res.* – 1975. – Vol. 12, № 3. – P. 189-198.
87. Forst, T. Cardiovascular effects of disturbed insulin activity in metabolic syndrome and in type 2 diabetic patients / T. Forst, C. Hohberg, A. Pfützner // *Hormone and Metabolic Research.* – 2009. – Vol. 41, № 2. – P. 123-131.

88. Forst, Th. Cardiovascular Benefits of GLP-1-Based Therapies in Patients with Diabetes Mellitus Type 2: Effects on Endothelial and Vascular Dysfunction beyond Glycemic Control / Th. Forst, M.M. Weber, A. Pfützner // *Experimental Diabetes Research*. – 2012. – Vol. 2012. – 9 p.
89. GLP-1 receptor localization in monkey and human tissue novel distribution revealed with extensively validated monoclonal antibody / C. Pyke [et al.] // *Endocrinology*. – 2014. – Vol. 155. – P. 1280-1290.
90. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice / M.H. Noyan-Ashraf [et al.] // *Diabetes*. – 2009. – Vol. 58, № 4. – P. 975-983.
91. Glucagon-like peptide-1 and the exenatide analogue AC3174 improve cardiac function, cardiac remodeling, and survival in rats with chronic heart failure / Q. Liu [et al.] // *Cardiovascular diabetology*. – 2010. – Vol. 9. – P. 76.
92. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), immediately prior to reperfusion, decreases neutrophil activation and reduces myocardial infarct size in rodents / B.B. Dokken [et al.] // *Hormone and metabolic research*. – 2011. – Vol. 43, № 5. – P. 300-305.
93. Glucagon-like peptide 1 prevents reactive oxygen species-induced endothelial cell senescence through the activation of protein kinase A / H. Oeseburg [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1407-1414.
94. Glucagon-like peptide-1 receptor activation reduces ischaemic brain damage following stroke in Type 2 diabetic rats / V. Darsalia [et al.] // *Clinical science*. – 2012. – Vol. 122, № 10. – P. 473-483.
95. Glucagon-like peptide 1 receptor agonist ZP10 A increases insulin mRNA expression and prevents diabetic progression in db/db mice / C. Thorkildsen [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2003. – Vol. 307. – P. 490-496.
96. Greater efficacy and improved endothelial dysfunction in untreated type 2 diabetes with liraglutide versus sitagliptin / K. Suzuki [et al.] // *Dokkyo J. Med. Sci.* – 2014. – Vol. 41, № 3. – P. 211-220.
97. Gut-brain connection: The neuroprotective effects of the anti-diabetic drug liraglutide / E.M. Candeias [et al.] // *World J. Diabetes*. – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 807-827.

98. Harkavyi, A. Glucagon-like peptide 1 receptor stimulation as a means of neuroprotection / A. Harkavyi, P.S. Whitton // *British J. pharmacology*. – 2010. – Vol. 159, № 3. – P. 495-501.
99. Heizmann, C.W. S-100 proteins: structure, functions and pathology / C.W. Heizmann, G. Fritz, B.W. Schafer // *Front Biosci*. – 2002. – Vol. 7. – P. 1356-1367.
100. Herrmann, M. Brain derived proteins as markers of acute stroke: their relation to pathophysiology, outcome prediction and neuroprotective drug monitoring / M. Herrmann, H. Ehrenreich // *Restor. Neurol. Neurosci*. – 2003. – Vol. 21, № 3-4. – P. 177-190.
101. Holscher, C. Potential role of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in neuroprotection / C. Holscher // *CNS drugs*. – 2012. – Vol. 26, № 10. – P. 871-882.
102. Holst, J.J. Neuroprotective properties of GLP-1: theoretical and practical applications / J.J. Holst, R. Burcelin, E. Nathanson // *Current medical research and opinion*. – 2011. – Vol. 27, № 3. – P. 547-558.
103. Holst, J.J. The physiology and pharmacology of incretins in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* / J.J. Holst // *Obesity and Metabolism*. – 2008. – Vol. 10. – P. 14-21.
104. Hopkins, R. Management of Adults With Diabetes and Cognitive Problems / R. Hopkins, K. Shaver, R.S. Weinstock // *Diabetes Spectrum*. – 2016. – Vol. 29, № 4. – P. 224-237.
105. IDF Diabetes Atlas [Electronic resource]. – 8<sup>th</sup> ed. – 2017. – Available at: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html>.
106. Immunological profile of silent brain infarction and lacunar stroke / P. Sarchielli [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e68428.
107. Improvement of postprandial endothelial function after a single dose of exenatide in individuals with impaired glucose tolerance and recent-onset type 2 diabetes / J. Koska [et al.] // *Diabetes Care*. – 2010. – Vol. 33, № 5. – P. 1028-1030.
108. In Alzheimer's Disease, 6-Month Treatment with GLP-1 Analog Prevents Decline of Brain Glucose Metabolism: Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Clinical Trial / M. Gejl [et al.] // *Front Aging Neurosci*. – 2016. – Vol. 8. – P. 108.
109. Increased serum creatine kinase BB and neuron-specific enolase following head injury indicates brain damage / I.M. Skogseid [et al.] // *Acta Neurochir (Wien)*. – 1992. – Vol. 115, № 3-4. – P. 106-111.

110. Interventional therapy of diabetes mellitus type 2 complicated with acute cerebral hemorrhage by using dexmedetomidine / S.-S. Zheng [et al.] // *J. Acute Disease*. – 2016. – Vol. 5, № 5. – P. 419-422.
111. Ischemia-induced changes in glucagon-like peptide-1 receptor and neuroprotective effect of its agonist, exendin-4, in experimental transient cerebral ischemia / C.H. Lee [et al.] // *J. Neurosci Res*. – 2011. – Vol. 89, № 7. – P. 1103-1113.
112. Katakam, P.V. EDHF-mediated relaxation is impaired in fructose-fed rats / P.V. Katakam, M.R. Ujhelyi, A.W. Miller // *J. Cardiovasc. Pharmacol*. – 1999. – Vol. 34. – P. 461-467.
113. Kligman, D. Purification and characterisation of a neurite extension factor from bovine brain / D. Kligman, D.R. Marshak // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1985. – Vol. 82. – P. 7136-7139.
114. Kodl, C.T. Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus / C.T. Kodl, E.R. Seaquist // *Endocrine Reviews*. – 2008. – Vol. 29, № 4. – P. 494-511.
115. Krarup, T. Immunoreactive gastric inhibitory polypeptide / T. Krarup // *Endocrine Reviews*. – 1988. – Vol. 9. – P. 122-134.
116. LEAD-6 Study Group. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6) / J.B. Buse [et al.] // *Lancet*. – 2009. – Vol. 374. – P. 39-47.
117. Liraglutide, a long-acting human glucagonlike peptide-1 analog, given as monotherapy significantly improves glycemic control and lowers body weight without risk of hypoglycemia in patients with Type 2 diabetes / T. Vilsboll [et al.] // *Diabetes Care*. – 2007. – Vol. 30, № 6. – P. 1608-1610.
118. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes / S.P. Marso [et al.] // *N. Engl. J. Med*. – 2016. – Vol. 375, № 4. – P. 311-322.
119. Liraglutide Effect on Blood Pressure, Lipids Profile, and Liver Enzymes in Arab Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Prospective LIRA-BPL Study / E.I.E. Abdelgadir [et al.] // *J. Diabetes Metab*. – 2015. – Vol. 6. – P. 591.
120. Liraglutide-induced reduction of myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via ERK1/2 signaling pathway / Z. Liu [et al.] // *Tropical J. Pharmaceutical*. – 2017. – Vol. 16, № 8. – P. 1835-1840.
121. Liraglutide protects cardiac function in diabetic rats through the PPAR $\alpha$  pathway / Q. Zhang [et al.] // *Bioscience Reports*. – 2018. – Vol. 38. – P. BSR20180059.

122. Liraglutide protects injured neurons through down-regulating RAGE expression in ischemic rat brain after MCAO / P. Lu [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2017. – Vol. 10, № 6. – P. 7232-7241.
123. Liraglutide treatment is associated with a low frequency and magnitude of antibody formation with no apparent impact on glycemic response or increased frequency of adverse events: results from the Liraglutide Effect and Action in Diabetes (LEAD) trials / J.B. Buse [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96. – P. 1695-1702.
124. Lixisenatide in Patients with Type 2 Diabetes and Acute Coronary Syndrome / M.A. Pfeffer [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 373. – P. 2247-2257.
125. Long-term liraglutide treatment is associated with increased insulin content and secretion in  $\beta$ -cells, and a loss of  $\alpha$ -cells in ZDF rats / T. Schwasinger-Schmidt [et al.] // *Pharmacological Research.* – 2013. – Vol. 76. – P. 58-66.
126. Magnetic Resonance Imaging of the Brain in Diabetes / R. Schmidt [et al.] // *Diabetes.* – 2004. – Vol. 53, № 3. – P. 687-692.
127. McClean, P.L. Lixisenatide, a drug developed to treat type 2 diabetes, shows neuroprotective effects in a mouse model of Alzheimer's disease / P.L. McClean, C. Hölscher C. // *Neuropharmacology.* – 2014. – Vol. 86. – P. 241-258.
128. McNair, D. Self-assessment of cognitive deficit in geriatric psychopharmacology / D. McNair, R.J. Khan R.J. – New Canaan, CT: Mark Powley Associates Inc., 1983. – P. 137-143.
129. Measurement of circulating neuron-specific enolase mRNA in diabetes mellitus / H.S. Sandhu [et al.] // *Ann N. Y. Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 1137. – P. 258-263.
130. Meier, J.J. Is the Diminished Incretin Effect in Type 2 Diabetes Just an Epi-Phenomenon of Impaired  $\beta$ -Cell Function? / J.J. Meier, M.A. Nauck // *Diabetes.* – 2010. – Vol. 59. – P. 1117-1125.
131. Mesenteric arterial function in vitro in three models of experimental hypertension / X. Wu [et al.] // *J. Hypertens.* – 1996. – Vol. 14. – P. 365-372.
132. Messier, C. Impact of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes on cognitive aging / C. Messier // *Neurobiol Aging.* – 2005. – Vol. 26, Suppl. 1. – P. 26-30.
133. Metformin, other antidiabetic drugs and risk of Alzheimer's disease: a population based case control study / P. Imfield [et al.] // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 2012. – Vol. 60. – P. 916-921.

134. Miller, A.W. Impaired endothelium-mediated relaxation in coronary arteries from insulin-resistant rats / A.W. Miller, P.V. Katakam, M.R. Ujhelyi // *J. Vasc. Res.* – 1999. – Vol. 36. – P. 385-392.
135. Mudaliar, S. Effects of incretin hormones on beta-cell mass and function, body weight, and hepatic and myocardial function / S. Mudaliar, R.R. Henry // *Am. J. Med.* – 2010. – Vol. 123, Suppl. – P. S19-S27.
136. Munshi, M.N. Cognitive Dysfunction in Older Adults With Diabetes: What a clinician Needs to Know / M.N. Munshi // *Diabetes Care.* – 2017. – Vol. 40, № 4. – P. 461-467.
137. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats: statistical validation / J.H. Garcia [et al.] // *Stroke.* – 1995. – Vol. 26, № 4. – P. 627-634.
138. Neuroprotective and neurotrophic actions of glucagon-like peptide-1: an emerging opportunity to treat neurodegenerative and cerebrovascular disorders / I. Salcedo [et al.] // *British J. pharmacology.* – 2012. – Vol. 166, № 5. – P. 1586-1599.
139. Neuroprotective effects of liraglutide for stroke model of rats / K. Sato [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14, № 11. – P. 21513-21524.
140. Neuropsychological, Neurophysiological and Laboratory Markers of Direct Brain Injury in Type 2 Diabetes Mellitus / S.A. Hamed [et al.] // *J. Neurology and neuroscience.* – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 2.
141. Nishimura, N. Big effects from tiny vessels: imaging the impact of microvascular clots and hemorrhages on the brain / N. Nishimura, C.B. Schaffer // *Stroke.* – 2013. – Vol. 44, № 6, Suppl. 1. – P. S90-92.
142. Nitric oxide modulation of endothelium-derived hyperpolarizing factor in agonist-induced depressor responses in anesthetized rats / S. Kobuchi [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 762. – P. 26-34.
143. Novo Nordisk – Oral semaglutide demonstrates greater reductions in HbA1c and body weight and comparable number of adverse events vs dulaglutide in Japanese people with type 2 diabetes [Electronic resource]. – Bagsvaerd, Denmark, 2018. – Available at: <https://www.pharmacytimes.com/resource-centers/diabetes/oral-semaglutide-demonstrates-benefits-for-patients-with-type-2-diabetes>.



144. Novo Nordisk Victoza® (liraglutide) European SPC [Electronic resource]. – Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_Product\\_Information/human/001026/WC500050017.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/001026/WC500050017.pdf).
145. NSE, a novel biomarker, is elevated as an indicator of diabetic retinopathy including macular oedema / J. Li [et al.] // *Diabet. Med.* – 2015. – Vol. 32, № 1. – P. 102-107.
146. NSE, a potential biomarker, is closely connected to diabetic peripheral neuropathy / J. Li [et al.] // *Diabetes Care.* – 2013. – Vol. 36, № 11. – P. 3405-3410.
147. Oral semaglutide shows statistically significantly greater reductions in HbA1c and weight compared to Victoza® and sitagliptin in the PIONEER 4 and 7 trials [Electronic resource]. – Available at: <https://www.novonordisk.com/bin/getPDF.2200408.pdf>.
148. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: relation to diabetic micro-vascular complications and carotid intima media thickness / A.A.M. Adly [et al.] // *J. Diabetes Complications.* – 2014. – Vol. 28, № 3. – P. 340-347.
149. Potent derivatives of glucagon-like peptide-1 with pharmacokinetic properties suitable for once daily administration / L.B. Knudsen [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2000. – Vol. 43. – P. 1664-1669.
150. Pre-treatment with metformin activates Nrf2 antioxidant pathways and inhibits inflammatory responses through induction of AMPK after transient global cerebral ischemia / G. Ashabi [et al.] // *Metabolic. Brain Disease.* – 2015. – Vol. 30, № 3. – P. 747-754.
151. Prediction of Outcome in Diabetic Acute Ischemic Stroke Patients: A Hospital-Based Pilot Study Report / A.R. Nayak [et al.] // *Ann Neurosci.* – 2016. – Vol. 23. – P. 199-208.
152. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance / K. Vollmer [et al.] // *Diabetes.* – 2008. – Vol. 57. – P. 678-687.
153. Puttanna, A. Management of diabetes and dementia / A. Puttanna, N.K. Padinjakara // *British J. diabetes.* – 2017. – Vol. 17, № 3. – P. 93-99.
154. Rat model of food-induced non-obese-type 2 diabetes mellitus: comparative pathophysiology and histopathology / A.O. Adeyi [et al.] // *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 4, № 1. – P. 51-58.

155. Read, P.A. Cardioprotection against ischaemia induced by dobutamine stress using glucagon-like peptide-1 in patients with coronary artery disease / P.A. Read, F.Z. Khan, D.P. Dutka // *Heart*. – 2012. – Vol. 98, № 5. – P. 408-413.
156. Reduced brain edema and infarction volume in mice lacking the neuronal isoform of nitric oxide synthase after transient MCA occlusion / H. Hara [et al.] // *J. cerebral blood flow and metabolism*. – 1996. – Vol. 16, № 4. – P. 605-611.
157. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients / T. Vilsbøll [et al.] // *Diabetes*. – 2001. – Vol. 50. – P. 609-613.
158. Relationship between hyperglycemia and cognitive function in older NIDDM patients / G.M. Reaven [et al.] // *Diabetes Care*. – 1990. – Vol. 13, № 1. – P. 16-21.
159. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats / E.Z. Longa [et al.] // *Stroke*. – 1989. – Vol. 20, № 1. – P. 84-91.
160. Ross, S.A. Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide following oral glucose in diabetes mellitus / S.A. Ross, J.C. Brown, J. Dupre // *Diabetes*. – 1977. – Vol. 26. – P. 525-529.
161. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke / U. Misler [et al.] // *Stroke*. – 1997. – Vol. 28. – P. 1956-1960.
162. Schäfer, B.W. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology / B.W. Schäfer, C.W. Heizmann // *Trends Biochem. Sci.* – 1996. – Vol. 21. – P. 134-140.
163. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes / S.P. Marso [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 375. – P. 1834-1844.
164. Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in normal subjects and type 2 diabetic patients / E. Muscelli [et al.] // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1340-1348.
165. Stroke in diabetic and non-diabetic patients: course and prognostic value of admission serum glucose / C. Stollberger [et al.] // *Ann. Med.* – 2005. – Vol. 37, № 5. – P. 357-364.
166. Structure-activity and protraction relationship of long-acting glucagon-like peptide-1 derivatives: importance of fatty acid length, polarity, and bulkiness / K. Madsen [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 50. – P. 6126-6132.

167. Targeting adenosine monophosphate-activated protein kinase by metformin adjusts post-ischemic hyperemia and extracellular neuronal discharge in transient global cerebral ischemia / Y. Farboo [et al.] // *Microcirculation*. – 2015. – Vol. 22, № 7. – P. 534-541.
168. The anorexigenic effects of metformin involve increases in hypothalamic leptin receptor expression / G. Aubert [et al.] // *Metabolism*. – 2011. – Vol. 60, № 3. – P. 327-334.
169. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model / M. Zhang [et al.] // *Experimental Diabetes Research*. – 2008. – № 6. – P. 704045.
170. The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease / P.L. McClean [et al.] // *J. Neurosci*. – 2011. – Vol. 31, № 17. – P. 6587-6594.
171. The Effect of Diabetes Medication on Cognitive Function: Evidence from the PATH Through Life Study / P.M. Herath [et al.] // *BioMed Research International*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 7208429.
172. The effect of liraglutide on endothelial function in patients with type 2 diabetes / D. Nandy [et al.] // *Diab. Vasc. Dis Res*. – 2014. – Vol. 11, № 6. – P. 419-430.
173. The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside / B. Dubois [et al.] // *Neurology*. – 2000. – Vol. 55. – P. 1621-1626.
174. The GLP-1 receptor agonists exendin-4 and liraglutide alleviate oxidative stress and cognitive and micturition deficits induced by middle cerebral artery occlusion in diabetic mice / P. Li [et al.] // *BMC Neurosci*. – 2016. – Vol. 17. – P. 37.
175. The high need for trials assessing functional outcome after stroke rather than stroke prevention with GLP-1 agonists and DPP-4 inhibitors / V. Darsalia [et al.] // *Cardiovascular Diabetology*. – 2018. – Vol. 17. – P. 32.
176. The molecular basis for the delayed absorption of the once daily human GLP-1 analogue, liraglutide / D.B. Steensgaard [et al.] // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57, Suppl. 1. – P. A164.
177. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment / Z.S. Nasreddine [et al.] // *J. Am. Geriatr. Soc*. – 2005. – Vol. 53, № 4. – P. 695-699.
178. The Neuroprotection of Liraglutide Against Ischaemia-induced Apoptosis through the Activation of the PI3K/AKT and MAPK Pathways / H. Zhu [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 26859.

179. The possible protective role of glucagon-like peptide 1 on endothelium during the meal and evidence for an «endothelial resistance» to glucagon-like peptide 1 in diabetes / A. Ceriello [et al.] // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34. – P. 697-702.
180. The serum levels of tumor marker CA19-9, CEA, CA72-4, and NSE in type 2 diabetes without malignancy and the relations to the metabolic control / X. Shang [et al.] // *Saudi Med J*. – 2017. – Vol. 38, № 2. – P. 204-208.
181. Trends in cardiovascular admissions and procedures for people with and without diabetes in England, 1996-2005 / A. Bottle [et al.] // *Diabetologia*. – 2009. – Vol. 52, № 1. – P. 74-80.
182. Uninephrectomized high-fat-fed nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats: a model for the investigation of diabetic nephropathy in type 2 diabetes / V.K. Bairasheva [et al.] // *J. Diabetes Research*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 8317850.
183. Van Eldik, L.J. S100b expression in Alzheimer's disease: relation to neuropathology in brain regions / L.J. Van Eldik, W.S.T. Griffin // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1994. – Vol. 1223. – P. 398-403.
184. Wei, Q. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, inhibits cell apoptosis induced by lipotoxicity in pancreatic  $\beta$ -cell line / Q. Wei, Y.Q. Sun, J. Zhang // *Peptides*. – 2012. – Vol. 37, № 1. – P. 18-24.
185. Weight loss with liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide-1 analogue for type 2 diabetes treatment as monotherapy or added to metformin, is primarily as a result of a reduction in fat tissue / J. Jendle [et al.] // *Diabetes Obes. Metab.* – 2009. – Vol. 11, № 12. – P. 1163-1172.
186. Xu, J. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction / J. Xu, M.H. Zou // *Circulation*. – 2009. – Vol. 120. – P. 1266-1286.
187. Yamazaki, S. Liraglutide enhances insulin sensitivity by activating AMP-activated protein kinase in male Wistar rats / S. Yamazaki, H. Satoh, T. Watanabe // *Endocrinology*. – 2014. – Vol. 155, № 9. – P. 3288-3301.
188. Zhao, W.X. Serum neuron-specific enolase levels were associated with the prognosis of small cell lung cancer: a metaanalysis / W.X. Zhao, J.F. Luo // *Tumor Biology*. – 2013. – Vol. 34, № 5. – P. 3245-3248.

189. Zhong, Z-L. Plasma Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is Associated with End-Stage Proliferative Diabetic Retinopathy in the Northern Chinese Han Population / Z.-L. Zhong, S. Chen // *Exp. Diabetes Res.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 350852.
190. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension / B. Williams [et al] // *Eur. Heart J.* – 2018. – Vol. 39, Iss. 31. – P. 3021-3104.