

## **Актуальность**

Инсульт является одной из ведущих причин смерти больных сахарным диабетом (СД) 2 типа и приводит к гибели пациентов более, чем в 10% случаев [1]. Широкая распространенность инсульта и тяжесть его течения при СД 2 типа диктует необходимость поиска лекарственных средств, которые бы могли служить эффективным средством первичной и вторичной профилактики данного заболевания. Современные сахароснижающие препараты, агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (арГПП-1) и ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (иНГЛТ-2), способны снижать риск смерти, инфаркта миокарда, госпитализации по поводу сердечной недостаточности. В то же время, сведения о способности данных препаратов снижать риск инсульта, а также уменьшать тяжесть инсульта и улучшать постинсультное восстановление, крайне немногочисленны. Среди имеющихся сахароснижающих лекарственных средств только два препарата доказали способность уменьшать частоту инсульта у больных СД 2 типа – это длительно действующие арГПП-1 дулаглутид и семаглутид [2], а препараты из группы иНГЛТ-2 не продемонстрировали достоверного влияния на частоту инсультов в целом, хотя выявлены различия в их влиянии на частоту различных подтипов инсультов. Так, терапия низкоселективным канаглифлозином способна снижать риск геморрагического инсульта [3].

В ряде экспериментальных работ описан нейропротективный эффект различных по продолжительности действия арГПП-1 [4, 5], а также различных по степени селективности иНГЛТ-2, однако результатов прямого сравнения этих классов препаратов в литературе нет.

Еще одним серьезным осложнением СД 2 типа является хроническая недостаточность мозгового кровообращения (ХНМК). Не вызывая очаговой неврологической симптоматики, она приводит к развитию когнитивных нарушений, снижению качества жизни, инвалидизации и даже смерти.

Сведения о влиянии арГПП-1 и иНГЛТ-2 на ХНМК крайне немногочисленны. Имеются сведения о способности арГПП-1 уменьшать риск

развития деменции у пациентов с СД 2 типа, по сравнению с применением инсулина, производных сульфонилмочевины и ингибиторов дипептидилпептидазы-4 [6]. Пост-хок анализ исследования REWIND свидетельствует о возможности дулаглутида снижать когнитивную дисфункцию, и данный эффект наиболее выражен у пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний или ОНМК в анамнезе [7]. Терапия лираглутидом оказалась эффективной в плане улучшения краткосрочной и долгосрочной памяти у людей с предиабетом и недавно диагностированным СД 2 типа [8]. иНГЛТ-2 эмпаглифлозин продемонстрировал положительное влияние на когнитивную функцию, по сравнению с метформином и инсулином [9].

Настоящая работа явилась первым прямым сравнительным клинико-экспериментальным исследованием нейропротективного эффекта различных по продолжительности действия арГПП-1 и различных по селективности иНГЛТ-2 при остром и хроническом нарушении мозгового кровообращения и позволила выделить классы сахароснижающих препаратов, которые могут послужить средством профилактики и лечения данных расстройств.

#### **Материалы и методы. Дизайн исследования.**

Работа состояла из экспериментальной и клинической части.

На первом этапе экспериментального исследования изучаемые препараты вводились животным без СД, на втором этапе – животным с СД 2 типа до воспроизведения ишемического инсульта. Кроме того, на II этапе эксперимента у части животных с СД осуществлялось иммуногистохимическое исследование ткани головного мозга для изучения механизмов нейропротективного действия препаратов. В клиническое исследование были включены пациенты с СД 2 типа с неудовлетворительным контролем гликемии, которым назначались исследуемые препараты с целью динамической оценки уровня маркеров нейронального повреждения и когнитивного статуса.

#### **I этап экспериментального исследования.**

Исследование проводилось на крысах-самцах Wistar. Были сформированы следующие группы животных: «Контроль» (введение 0,9% раствора NaCl п/к 1 р/д), «МЕТ» (метформин per os 200 мг/кг 1 р/д), «ЭМПА» (эмпаглифлозин per os 2 мг/кг 1 р/д), «КАНА» (канаглифлозин per os 25 мг/кг 1 р/д), «ЛИРА» (лираглутид 1 мг/кг п/к 1 р/д), «ДУЛА» (дулаглутид 0,12 мг/кг п/к каждые 72 часа), «СЕМА» (семаглутид 0,012 мг/кг п/к 1 р/д). Препараты применялись в течение 7 дней, затем моделировался ишемический инсульт в бассейне левой средней мозговой артерии по методике J. Koizumi et al. (1986) в модификации E.Z. Longa (1989) [10] при помощи введения окклюдера – нити длиной 20-22 мм (Doccol Corporation, США) во внутреннюю сонную артерию до места отхождения средней мозговой артерии, устье которой перекрывалось окклюдером на 30 минут. Через 48 часов реперфузии во всех группах оценивался неврологический дефицит по шкале J.H. Garcia [11], затем осуществлялся забор крови для определения маркеров нейроглиального повреждения (белка S100B $\beta$ , нейронспецифической енолазы, НСЕ, легких цепей нейрофиламента, ЛЦН). После эвтаназии осуществлялось определение объема повреждения мозга при помощи окраски 5-ти срезов толщиной 2 мм раствором трифенилтетразолия хлорида (ТТХ, MP Biomedicals, США).

### II этап экспериментального исследования

Крысы Wistar находились на диете, богатой насыщенными жирами, на протяжении всего эксперимента. Производилось введение никотинамида 230 мг/кг и стрептозотоцина 60 мг/кг для индукции СД 2 типа. Через 4 недели животные были разделены на группы в соответствии с получаемой терапией: «СД» - СД без лечения, «СД+МЕТ» - метформин (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, США) per os 200 мг/кг 1 р/д 1 раз в день – группа сравнения, «СД+ЭМПА» - эмпаглифлозин per os 2 мг/кг 1 р/д, «СД+КАНА» - канаглифлозин per os 25 мг/кг 1 р/д, «СД+ЛИРА» - лираглутид 0,06 мг/кг п/к 1 р/д, «СД+ДУЛА» - дулаглутид 0,12 мг/кг п/к каждые 72 часа, «СД+СЕМА» - семаглутид 0,012 мг/кг п/к 1 р/д. Кроме того, была создана группа «Контроль» – животные, содержащиеся на стандартном корме, которые не подвергались каким-либо

интервенциям. Через 8 недель соответствующей терапии часть животных была подвергнута моделированию транзиторной фокальной ишемии мозга [10], у части животных был забран материал головного мозга для выполнения гистологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования.

### Клиническое исследование

В исследование были включены мужчины и женщины с СД 2 типа в возрасте от 40 до 75 лет на монотерапии метформином. Пациенты с целевым уровнем гликированного гемоглобина (HbA1c), были включены в группу «МЕТ» – у них коррекция терапии не проводилась. В случае, если уровень HbA1c превышал целевой не более, чем на 2,5%, к терапии добавлялись высокоселективный ингибитор ИГЛТ-2 эмпаглифлозин (группа «МЕТ+ЭМПА»), низкоселективный ингибитор ИГЛТ-2 канаглифлозин (группа «МЕТ+КАНА») или арГПП-1 («МЕТ+арГПП-1»). Также была создана группа здорового контроля. Производилось определение концентрации маркеров нейронального повреждения НСЕ и ЛЦН, а также оценка когнитивного статуса с применением шкал МОСА и MMSE исходно, через 3 мес и через 6 мес.

### **Результаты**

#### Экспериментальное исследование

У крыс без СД ни терапия ингибитором ИГЛТ-2, ни метформином, не привела к уменьшению выраженности неврологического дефицита, в то время как применение арГПП-1 привело к улучшению неврологического статуса. При этом различий во влиянии различных арГПП-1 на неврологический статус не было (рис. 1). Объем повреждения головного мозга во всех экспериментальных группах был меньше, чем в контрольной группе. В то же время, инфаркт-лимитирующий эффект обоих ингибиторов ИГЛТ-2 и всех арГПП-1 превосходил таковой у МЕТ и был сопоставим между собой (рис. 2А, 2Б).

Применение ни одного из исследуемых препаратов у животных без СД не привело к развитию гипогликемии в предоперационном периоде.

У животных контрольной группы, не получавших сахароснижающих препаратов, наблюдалось повышение уровня белка S100BB, как маркера

повреждения нейроглии. Терапия обоими иНГЛТ-2 привела к сопоставимому снижению данного параметра, чего не наблюдалось на фоне применения арГПП-1 и метформина. Вероятно, арГПП-1 уменьшают зону повреждения головного мозга при инсульте, однако их эффект не связан с уменьшением повреждения астроглии. Концентрация ЛЦН была максимальной в группе «Контроль» и несколько ниже в группе «МЕТ». Уровень ЛНЦ на терапии арГПП-1 и иНГЛТ-2 был ниже, чем в группах «Контроль» и «МЕТ», при этом наиболее низкая концентрация ЛЦН наблюдалась в группах «ЭМПА», «ЛИРА» и «ДУЛА».

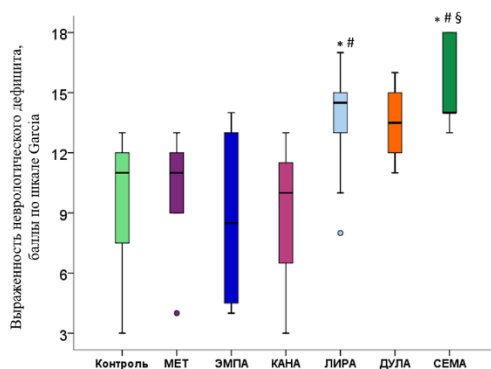


Рис. 1. Выраженность неврологического дефицита после ишемического инсульта на фоне различной сахароснижающей терапии. \*-  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «Контроль», # -  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «МЕТ», § -  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «КАНА»

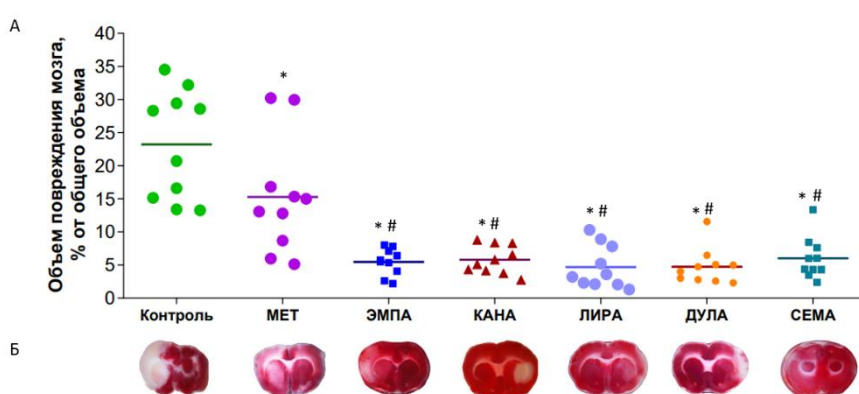


Рис. 2. Объем повреждения головного мозга, вызванного транзиторной фокальной ишемией в бассейне средней мозговой артерии, на фоне различной сахароснижающей терапии. (А) – объем повреждения мозга, % от общего объема мозга. (Б) – фото репрезентативных срезов. \*-  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «Контроль», # -  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «МЕТ», § -  $p < 0,05$ , по сравнению с группой «КАНА»

У крыс с СД 2 типа все исследованные арГПП-1 обладали сопоставимой способностью уменьшать проявления неврологического дефицита, и данное действие более выражено, чем у представителей иНГЛТ-2 и метформина. Объем некроза головного мозга был наибольшим в группе «СД» без лечения (30,55 (12,75; 33,50)%) и превосходил таковой в контрольной группе без СД (22,00 (10,75; 35,05)%). Применение всех исследованных сахароснижающих препаратов вызвало инфаркт-лимитирующее действие. При этом защитный эффект метформина был наименее выражен (объем некроза составил 25,15 (18,05; 25,25)% в группе «СД+МЕТ»). Объем повреждения в группах «СД+ЛИРА», «СД+ДУЛА», «СД+СЕМА», «СД+ЭМПА» и «СД+КАНА» был сопоставим и составил 5,53 (4,75; 7,05)%, 6,35 (4,75; 6,75)%, 6,00 (5,58; 9,05)%, 7,05 (5,53; 7,75)% и 6,70 (6,00; 7,05)%, соответственно.

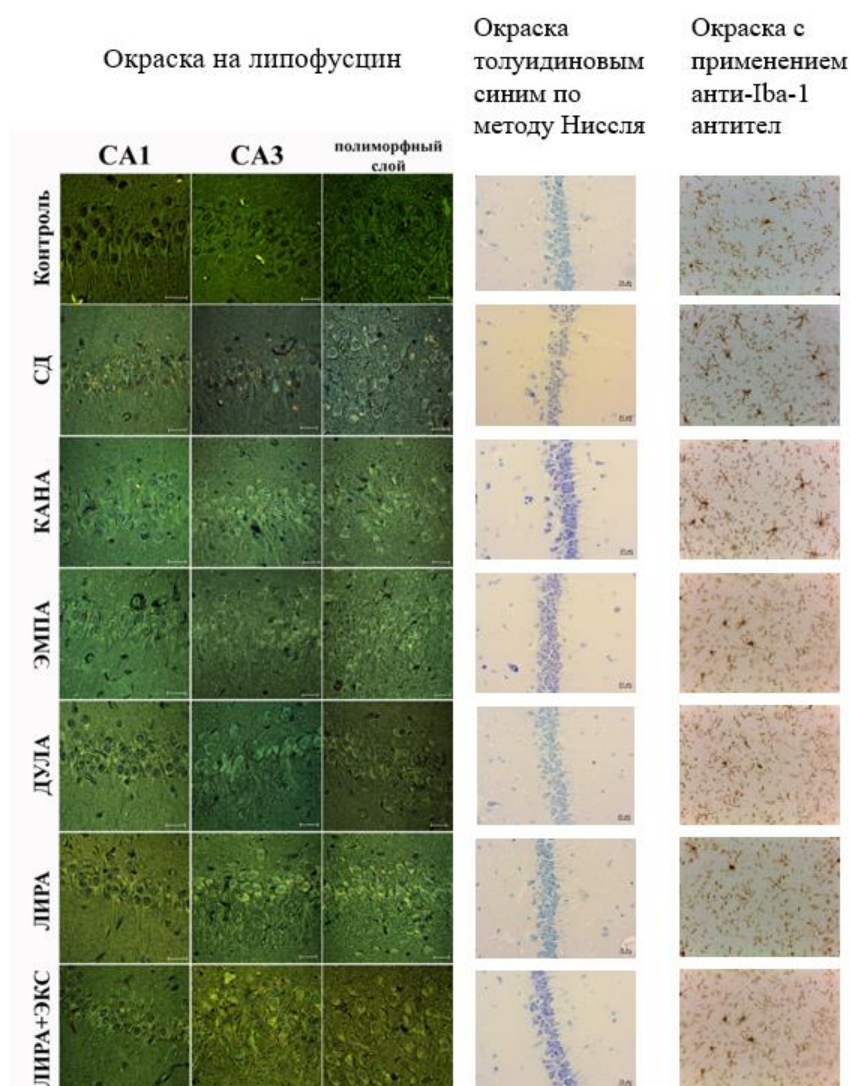


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование головного мозга

Таким образом, в ходе экспериментального исследования было выяснено, что арГПП-1 обладают более комплексным нейропротективным эффектом, чем иНГЛТ-2, что проявляется в уменьшении объема некроза головного мозга и в улучшении неврологического статуса. Полученные сведения создают предпосылки для изучения возможности клинического применения арГПП-1 в качестве средств первичной и вторичной профилактики инсульта и облегчения течения ишемического инсульта.

Механизм защитного эффекта арГПП-1 при СД 2 типа сводится к улучшению выживаемости нейронов, уменьшению активации микроглии, антиоксидантному эффекту. Как высоко-, так и низкоселективные иНГЛТ-2 улучшают морфологию нейронов и уменьшают оксидативный стресс, а высокоселективные иНГЛТ-2 также снижает выраженность воспаления (рис. 3).

#### Клиническое исследование

Пациенты с СД 2 типа, даже в условиях удовлетворительного контроля гликемии, имели нарушение когнитивной функции и повышенный уровень маркеров нейронального повреждения НСЕ и ЛЦН. Добавление к терапии арГПП-1 привело к снижению указанных маркеров, причем уровень ЛЦН претерпевал более значимую динамику, а также к улучшению когнитивной функции, что выражалось в увеличении количества баллов по шкале МОСА и MMSE. Среди иНГЛТ-2 эффект низкоселективного канаглифлозина более выражен, чем высокоселективного эмпаглифлозина (рис. 4).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что СД 2 типа характеризуется повреждением ЦНС по типу ХНМК вне прямой зависимости от степени контроля гликемии, что обуславливает целесообразность выбора в качестве сахароснижающей терапии препаратов с дополнительным положительным влиянием на ЦНС с целью профилактики инвалидизации и смертности больных. Обобщая результаты экспериментального и клинического исследования, арГПП-1 и иНГЛТ-2 обладают нейропротективным эффектом в условиях острого и хронического

нарушения мозгового кровообращения, действие арГПП-1 является более комплексным и выраженным. Данные препараты могут рассматриваться в качестве средств первичной и вторичной профилактики инсультов и ХНМК, тем самым профилируя инвалидизацию и смертность.

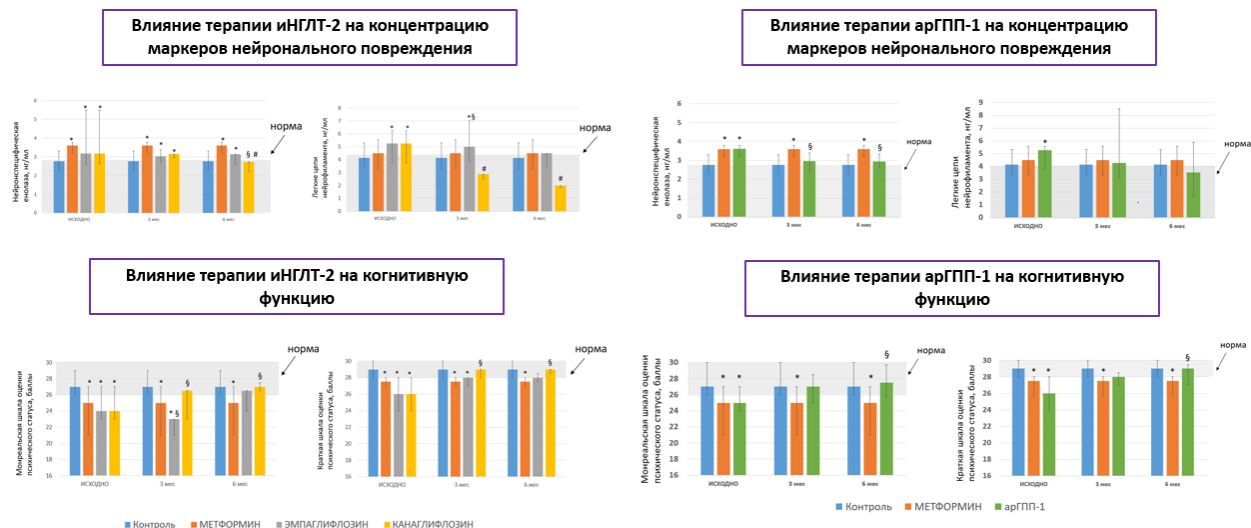


Рис. 4. Влияние терапии ИНГЛТ-2 и арГПП-1 на концентрацию маркеров нейронального повреждения и когнитивную функцию. \*  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль», §  $p < 0,05$  по сравнению с группой «МЕТ», #  $p < 0,05$  между группами «ЭМПА» и «КАНА»

Экономический эффект обусловлен снижением прямых и косвенных затрат на лечение больных с инсультом. Стоимость лечения одного пациента с инсультом составляет в России 127000 руб, сутки реабилитации в специализированных центрах от 7000 до 20000. Косвенные расходы из-за преждевременной смертности и инвалидности составляют 304 млрд. руб. в год. В то же время, средняя стоимость лечения одного пациента с СД при помощи ИНГЛТ-2 и арГПП-1 составляет около 36 000 и 120 000 руб. в год, соответственно. Экономический и социальный эффект от данной работы также связан с замедлением прогрессирования сосудистой деменции на фоне СД, что аналогично снижает прямые и косвенные затраты.

### Список литературы

1. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Майоров АЮ, и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом: Клинические рекомендации (Вып. 11). Сахарный диабет. 2023;26(2S):1-231.



2. Bellastella G, Maiorino MI, Longo M, et al. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Prevention of Stroke Systematic Review of Cardiovascular Outcome Trials With Meta-Analysis. *Stroke*. 2020 Feb;51(2):666-669.
3. Tsai WH, Chuang SM, Liu SC, et al. Effects of SGLT2 inhibitors on stroke and its subtypes in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2021 Jul 28;11(1):15364.
4. Zhu H, Zhang Y, Shi Z, et al. The Neuroprotection of Liraglutide Against Ischaemia-induced Apoptosis through the Activation of the PI3K/AKT and MAPK Pathways. *Sci Rep*. 2016 May 31;6:26859.
5. Sato K, Kameda M, Yasuhara T, et al. Neuroprotective effects of liraglutide for stroke model of rats. *Int J Mol Sci*. 2013 Oct 30;14(11):21513-24. doi: 10.3390/ijms141121513
6. Nørgaard CH, Friedrich S, Hansen CT, et al. Treatment with glucagon-like peptide-1 receptor agonists and incidence of dementia: Data from pooled double-blind randomized controlled trials and nationwide disease and prescription registers. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2022 Feb 23;8(1):e12268.
7. Cukierman-Yaffe T, Gerstein HC, Colhoun HM, et al. Effect of dulaglutide on cognitive impairment in type 2 diabetes: an exploratory analysis of the REWIND trial. *Lancet Neurol*. 2020 Jul;19(7):582-590.
8. Vadini F, Simeone PG, Boccatonda A, et al. Liraglutide improves memory in obese patients with prediabetes or early type 2 diabetes: a randomized, controlled study. *Int J Obes (Lond)*. 2020 Jun;44(6):1254-1263.
9. Mone P, Lombardi A, Gambardella J, et al. Empagliflozin Improves Cognitive Impairment in Frail Older Adults With Type 2 Diabetes and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Diabetes Care*. 2022 May 1;45(5):1247-1251.
10. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989 Jan;20(1):84-91.
11. Garcia JH, Wagner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation. *Stroke*. 1995 Apr;26(4):627-34; discussion 635.