

*На правах рукописи*

**Логвинова Екатерина Олеговна**

**КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У КРЫС С  
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И  
ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ,  
ИХ КОРРЕКЦИЯ НОВЫМ АГОНИСТОМ GPR119**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

**ВОЛГОГРАД – 2018**

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Научный руководитель:**

**Тюренок Иван Николаевич** член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Каленикова Елена Игоревна**, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

**Мирзоян Рубен Симонович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией цереброваскулярных расстройств Федерального государственного бюджетного научного учреждения «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова»

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Защита состоится «\_\_\_» ..... 2018 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте [www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета,

доктор биологических наук

**Любовь Ивановна Бугаева**

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность**

По данным Международной диабетической федерации (IDF) в 2017 году количество пациентов с сахарным диабетом во всем мире составляет 424,9 млн. В России официально по данным Федерального регистра сахарным диабетом страдает 3%, а реально - более 6% населения (8,5 млн) [Дедов И. И., 2017б]. Заболеваемость сахарным диабетом во всем мире является огромной проблемой общественного здравоохранения и носит характер пандемии.

Впервые о снижении интеллектуальных функций у больных СД сообщили в 1922 году W.Miles и H.Root [Miles W., 1922]. Авторы объективно показали снижение (на 15 процентов и более) памяти и внимания у пациентов с СД. Лечение диабета улучшало данные показатели, но не в полной мере.

В настоящее время нейропсихологическое тестирование у пациентов с СД выявляет более серьезные нарушения когнитивных функций, и они снижаются быстрее по сравнению со здоровыми лицами того же возраста, при проспективном наблюдении [Мохорт Е. Г., 2014; Левин О. С., 2015; Feinkohl I., 2015]. Почти у половины пациентов с СД 2 типа обнаруживаются отклонения от возрастной нормы, ухудшающие их качество жизни, однако в большинстве случаев когнитивные нарушения остаются легкими или умеренными [Мохорт Е. Г., 2014; Левин О. С., 2015]. По результатам мета-анализа 14 исследований с участием более 2 млн пациентов при сахарном диабете риск развития деменции повышается на 60%, причем риск развития сосудистой деменции увеличивается в 2–2,6 раза, а риск развития болезни Альцгеймера – в 1,5 раза, независимо от времени манифестации СД [Левин О. С., 2012; Мохорт Е. Г., 2014; Chatterjee S., 2016].

Установлено, что лечение СД может тормозить развитие когнитивных нарушений [Левин О. С., 2015; Wang F., 2017]. В последнее время все большее внимание исследователей привлекают гипогликемические препараты, которые не только снижали бы уровень глюкозы крови, но и обладали бы плеiotропным действием, в частности, улучшали бы когнитивные функции у пациентов с СД 2 типа. Нейропротективный эффект лекарственных средств, влияющих на систему инкретинов (агонистов ГПП-1 и ингибиторов ДПП-4), в настоящее время находится в центре исследований и разработок.

### **Степень научной разработанности проблемы**

В группе препаратов, обладающих инкретиномиметическим действием, выделяют аналоги ГПП-1, имитирующие действие глюкагонподобного пептида-1, и ингибиторы ДПП-4, пролонгирующие действие эндогенного ГПП-1. Агонисты GPR119,

стимулирующие выработку инкретинов и инсулина, улучшающие восстановление  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, находятся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний. В исследованиях на животных доказаны нейропротекторные свойства агонистов ГПП-1 и ингибиторов ДПП-4, в том числе на нейродегенеративных моделях [Kosaraju J., 2013a; Kosaraju J., 2013б; Liuc W, 2015; Athauda D., 2016; Kosaraju J., 2017].

**Цель исследования:** экспериментальное обоснование применения нового оригинального агониста GPR119 при когнитивных и неврологических нарушениях, связанных с хронической гипергликемией и нарушением мозгового кровообращения.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Изучить влияние 4х недельного введения агониста GPR119 на поведение животных, выраженность когнитивного дефицита при хронической ишемии головного мозга и воспроизведенного на её фоне никотинамид-стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета.

2. Изучить влияние терапевтического введения агониста GPR119 на сенсорно-моторную чувствительность и психоэмоциональное состояние животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения и гипергликемией.

3. Изучить влияние терапевтического введения агониста GPR119 на уровень глюкозы в крови и скорость ее утилизации при проведении перорального глюкозотолерантного теста на 14 и 28 дни после начала лечения.

4. Изучить влияние агониста GPR119 на мозговой кровоток и вазодилатирующую функцию эндотелия у животных с хронической ишемией головного мозга и гипергликемией.

5. Изучить влияние агониста GPR119 на морфологические изменения в различных структурах головного мозга животных с когнитивными, психоэмоциональными и сенсорно-моторными нарушениями, обусловленными хроническим нарушением мозгового кровообращения и гипергликемией.

### **Научная новизна работы**

Впервые выполнено исследование нейропротекторного действия нового агониста GPR119 при хроническом нарушении мозгового кровообращения и экспериментальном СД, изучено его влияние на психоэмоциональное поведение, сенсорно-моторные функции, когнитивный дефицит, на мозговой кровоток, вазодилатирующую функцию эндотелия и морфологические изменения в тканях головного мозга животных с ХНМК и СД.

## **Научно-практическая значимость и реализация результатов работы**

Полученные данные о возможности коррекции когнитивных, психоэмоциональных, сенсорно-моторных нарушений, вызванных хронической недостаточностью мозгового кровообращения и длительной гипергликемией, подтверждают важность разработки на основе данного соединения гипогликемического средства для терапии сахарного диабета 2 типа с дополнительными нейропротекторными свойствами. Результаты исследования используются в научной работе и учебном процессе на кафедрах фармакологии и биоинформатики, фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ВолГМУ, в лаборатории метаболитных лекарственных средств и фармакологии сердечно-сосудистых средств Научного Центра инновационных лекарственных средств при ВолГМУ.

## **Методология и методы диссертационного исследования**

Данное исследование было выполнено с учетом рекомендаций по доклиническому изучению пероральных лекарственных средств для лечения сахарного диабета [Спасов А. А., 2012], а также с учетом литературных данных, касающихся нейропротективных свойств инкретиномиметиков [Власов Т. Д., 2016; Тюренков И. Н., 2017б]. Дизайн исследования соответствовал целям, задачам, этическим правилам работы с лабораторными животными. При планировании эксперимента использовались опыт и рекомендации отечественных и зарубежных авторов. Все исследования выполнены с использованием современного оборудования, методов, отвечающих цели и задачам диссертационной работы.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Агонист GPR119 - соединение ZB-16 - оказывает нейропротекторное действие в условиях сочетанной патологии: хроническое нарушение мозгового кровообращения и никотинамид-стрептозотацин-индуцированный сахарный диабет, снижает психоневрологический дефицит, выраженность сенсорно-моторных нарушений, улучшает память и обучаемость крыс.

2. Курсовое пероральное введение соединения ZB-16 в течение 40 дней улучшает кровоток в общих сонных артериях и в проекции среднемозговой артерии, улучшает эндотелийзависимую вазодилатацию, снижает выраженность морфологических нарушений структур головного мозга у животных с экспериментальным СД и хроническим нарушением мозгового кровообращения по сравнению с контрольной группой

### **Личный вклад автора**

Автор провел анализ литературных данных, касающихся темы диссертации, участвовал в разработке плана и протоколов исследования, в формулировании цели и задач, проведении экспериментов, обработке и описании полученных данных.

### **Степень достоверности и апробации результатов**

В данной работе использовались современные методы исследования и высокотехнологическое оборудование, анализ результатов эксперимента проводился на программном обеспечении последнего поколения с использованием различных методов статистики в зависимости от характера данных. Основные материалы работы были представлены на XXII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области в направлении «Актуальные проблемы экспериментальной медицины», на 75 и 76 открытой научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2017, 2018). По результатам диссертационного исследования опубликовано 3 печатные работы в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов (глава 2), экспериментальной части, изложенной в 3-х главах (3, 4, 5), обсуждения результатов (глава 6), выводов и списка используемой литературы, содержащего 211 источников, из них 100 российских и 111 зарубежных. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит таблиц – 5, рисунков – 27.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** приводятся данные отечественной и зарубежной литературы касательно механизма снижения когнитивных функций у пациентов с СД, рассмотрено влияние атеросклероза и хронического нарушения мозгового кровообращения на когнитивный дефицит у таких больных. Атеросклероз при СД развивается гораздо быстрее, по сравнению со здоровыми людьми, из-за нарушений метаболизма, которые включают в себя гипергликемию, резистентность к инсулину, дислипидемию и дисфункцию эндотелия [Perales-Torres A. L., 2016], причем наличие СД осложняет и ухудшает течение атеросклероза [Каменская О. В., 2013].

Одним из перспективных направлений лечения когнитивных нарушений у пациентов с СД является применение средств с инкретиновой активностью, сахароснижающий эффект которых имеет глюкозозависимый характер с отсутствием риска развития гипогликемии. В последние годы эти препараты привлекают все большее внимание в связи с обнаруженными плейотропными свойствами ГПП-1.

В настоящее время на рынке представлены 2 группы препаратов с инкретиновой активностью: аналоги ГПП-1, имитирующие действие глюкагонподобного пептида-1, и ингибиторы ДПП-4, пролонгирующие действие эндогенного ГПП-1. В исследованиях на животных доказаны их нейропротекторное действие при болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона [Liuc W., 2015; Kosaraju J., 2017]. Агонисты GPR119, повышающие уровни инкретинов, являются перспективной группой гипогликемических лекарственных средств с плейотропными эффектами, в том числе нейропротекторным [More S. V., 2015].

Новый агонист GPR119 – соединение ZB-16 – снижает уровень глюкозы крови натощак и улучшает утилизацию глюкозы, что связано с увеличением секреции ГПП-1 и инсулина [Тюренков И. Н. 2017а]. Курсовое пероральное введение этого соединения крысам с фокальной ишемией головного мозга, воспроизведенной на фоне экспериментального сахарного диабета (ЭСД), способствовало ограничению выраженности психоневрологического дефицита, объема инфаркта и отека головного мозга [Тюренков И. Н. 2017б]. Кроме того, соединение ZB-16 (1 мг/кг per os) снижало эндотелиальную дисфункцию у животных с ЭСД, оказывало умеренное антиоксидантное действие и способствовало нормализации показателей липидного обмена [Тюренков И. Н. 2017в]. В связи с вышеизложенным представляет интерес оценка влияния агониста GPR119 - соединения ZB-16 - на когнитивные нарушения, связанные с хроническим нарушением мозгового кровообращения и гипергликемией.

**Во второй главе** диссертации изложены материалы и методы исследования.

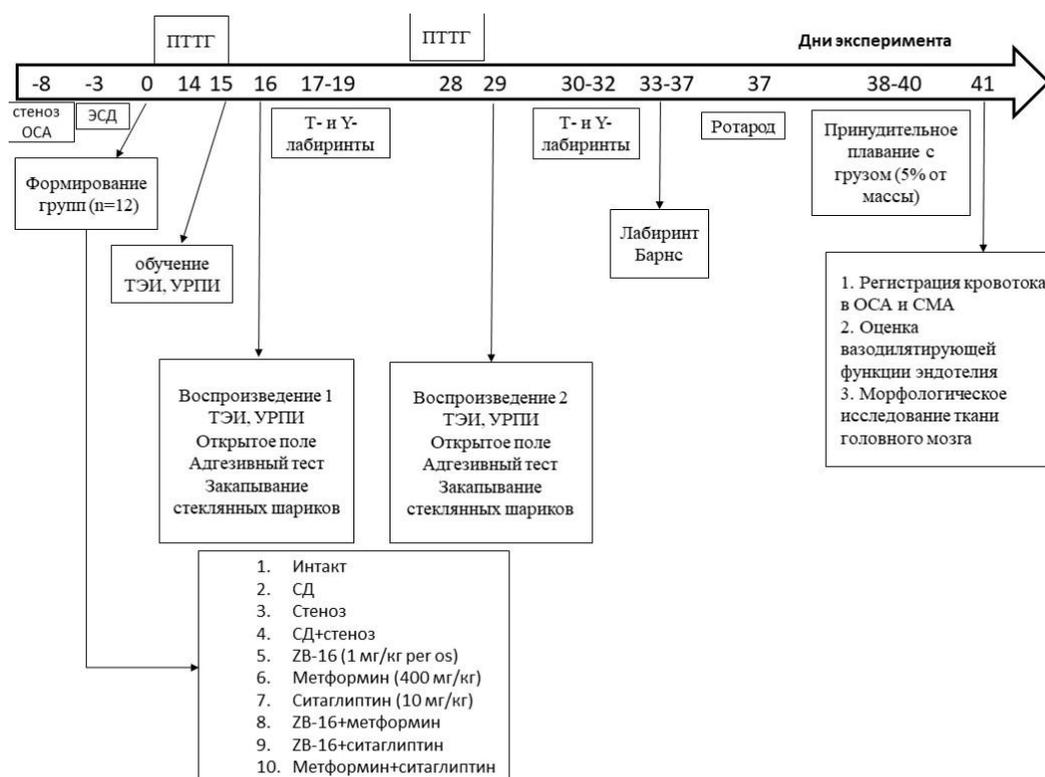
Эксперименты были выполнены на 120 беспородных крысах-самках в возрасте 12

месяцев, масса – 300-350 г (ФГУП «Питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО», д. Рапполово, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., Россия). Эксперименты проводились в соответствии с Приказом МЗ и СР РФ от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», с ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», с ГОСТ Р 51000.4-2011 «Общие требования к аккредитации испытательных лабораторий», с соблюдением Международных рекомендаций «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986) и были одобрены Региональным Независимым Этическим Комитетом (ГУ Волгоградский Медицинский Научный Центр, протокол № 2114-2017 от 07 апреля 2017).

Исследуемое соединение 5-хлор-2-(4-{[4-(3,3-диоксидо-1,3-бензоксатиол-6-ил)-2-фторфеноксид]метил}пиперидин-1-ил)пиримидин под лабораторным шифром ZB-16 (дипиарон) было синтезировано в АО «ИИХР» (г. Химки, РФ) и представляет собой высокоселективный агонист GPR119 ( $EC_{50}$  M – 7,25 нМ) [Chafeev M.A., 2015]. Соединение ZB-16 вводилось перорально один раз в сутки в дозе 1 мг/кг.

Первым препаратом сравнения был взят препарат из группы ингибиторов ДПП-4 ситаглиптин, так как данная группа наиболее близка по механизму действия агонистам GPR119. Среди препаратов группы ингибиторов ДПП-4 в качестве препарата сравнения был выбран ситаглиптин (Янсувия, Merck Sharp & Dohme B.V. Нидерланды) — первый и наиболее изученный представитель данного класса, зарегистрирован FDA в 2006 году и применяется в России с 2007 года. В нашем исследовании ситаглиптин вводился перорально в дозе 10 мг/кг.

Вторым препаратом сравнения был выбран метформин (400 мг/кг, per os), препарат первого ряда в лечении СД 2 типа [Дедов И. И. 2017а]. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



**Рис. 1. Дизайн исследования.** Примечание. Указаны дни исследования: 0 день – распределение животных по группам и начало лечения; регистрация кровотока в ОСА и проекции СМА, оценка функционального состояния эндотелия проводились по окончании всех поведенческих тестов

Хроническую недостаточность мозгового кровообращения вызывали стенозированием общих сонных артерий (ОСА) с ограничением кровотока по каждой до 50% [Тюренков И. Н., 2017а], под общей анестезией (золетил 20 мг/кг и ксилазин 8 мг/кг внутривенно). Оценка скорости кровотока по стенозированным артериям проводилась лазерной доплерографией до и после операции сразу после наложения лигатур. Экспериментальный никотинамид-стрептозотоцин-индуцированный СД (230/65 мг/кг в/бр) моделировали через 5 дней после стенозирования ОСА [Спасов А.А., 2011; Мазо В.К., 2016].

Через 3 суток после моделирования СД определяли уровень глюкозы крови, взятой из подъязычной вены, с помощью портативного глюкометра (Contour TC Bayer, Германия), в исследование включали животных с уровнем гликемии 11-19 ммоль/л. Далее животных распределяли по группам в соответствии с принципом рандомизации (табл. 1).

**Таблица 1.** Экспериментальные группы животных

	№	Патология	Лечение	Длительность лечения
Без лечен ия	1	Интакт	Дистиллированная вода (позитивный контроль)	40 дней
	2	<i>ХНМК</i>	Дистиллированная вода	40 дней
	3	СД	Дистиллированная вода	40 дней
	4	<i>ХНМК+СД</i>	Дистиллированная вода	40 дней
С лечен ием	5	<i>ХНМК+СД</i>	ZB-16	40 дней (лечение)
	6	<i>ХНМК+СД</i>	метформин	40 дней (лечение)
	7	<i>ХНМК+СД</i>	ситаглиптин	40 дней (лечение)
	8	<i>ХНМК+СД</i>	ZB-16 + метформин	40 дней (лечение)
	9	<i>ХНМК+СД</i>	ZB-16 + ситаглиптин	40 дней (лечение)
	10	<i>ХНМК+СД</i>	Метформин+ситаглиптин	40 дней (лечение)

Животные получали лечение на протяжении 40 дней, перорально. Из-за невозможности одновременного наблюдения за большим числом животных, входящих в 10 групп, исследование было выполнено в 3 потока, которые включались в эксперимент последовательно: по 40 животных через 5 дней.

Уровень гликемии измеряли после 6 часовой пищевой депривации на 14 и 28 дни после начала лечения в ходе перорального теста толерантности к глюкозе.

Показатели психоневрологического дефицита, состояние когнитивных и сенсорно-моторных функций животных оценивали на 15 и 29 дни после начала лечения в тестах ТЭИ, УРПИ, Открытое поле, адгезивном тесте, закапывания стеклянных шариков, в Т- и Y-образных лабиринтах, а на 33 день дополнительно в лабиринте Барнс, тесте удержания на вращающемся стержне (Ротарод) и тесте принудительного плавания с грузом (5% от массы животного).

Обучение в тестах ТЭИ и УРПИ проводили на 15 день после начала лечения, воспроизведение 1 - через 24 часа (16 день), воспроизведение 2 - через 4 недели (29 день). Фиксировали время до захода в темный отсек и латентный период подныривания соответственно. Тесты Открытое поле, адгезивный и закапывание стеклянных шариков проводили на 16 и 29 дни после начала лечения. В Открытом поле оценивалась двигательная (количество пересеченных квадратов) и ориентировочно-исследовательская активность (сумма стоек и актов обследования отверстий-норок) [Воронина Т.А., 2012; Островская, Р.У., 2012]. В ходе адгезивного теста фиксировалось время, за которое животное обратит внимание на посторонний предмет (сенсорная функция) и удалит его (сенсорно-моторная функция) [Зухурова М. А., 2013; Bracko O. 2014]. При проведении теста закапывания стеклянных шариков подсчитывали количество закопанных шариков на

2/3 диаметра и более, число сдвинутых с места и количество нетронутых шариков [Шабанов П. Д. 2016; Joel D., 2006; Albelda N., 2012].

При тестировании в Т- и Y-образных лабиринтах фиксировались следующие показатели: количество верных решений (выбор рукава с приманкой); количество животных, нашедших приманку; время подхода к кормушке; количество ошибок - выбор неподкрепляемого рукава [Самотруева М. А., 2009]; количество попыток, закончившихся пребыванием животного в развилке по истечении 2-х минут - «отказ» от решения [Голибродо В. А., 2014]; количество попыток, закончившихся пребыванием в исходном (стартовом) рукаве; время, проведенное в развилке, которое является показателем ориентационной активности [Никольская К. А., 2010]. Рассчитывалась сумма значений за 10 попыток, после чего выяснялось среднее значение в каждой группе в день. Эти средние значения суммировались таким образом: 17-19 дни от начала лечения (первая серия тестирования) и 30-32 дни (вторая серия).

Тестирование в лабиринте Барнс проводилось на протяжении 5-ти дней (33-37 дни от начала лечения), фиксировали количество ошибок за 5 минут наблюдения и время нахождения норки [Rosenfeld C. S., 2014; Vazyar S. 2017].

Выносливость и координацию движений животных оценивали на 37 день после начала лечения в тестах Ротарод [Bohlen M., 2009] и принудительное плавание с грузом (5% от массы животного, в течение 3-х дней) [Зайцева М. С. 2015]. Фиксировали суммарное время удержания на вращающемся стержне за 3 попытки и время плавания «до предела» - неспособность всплыть на поверхность воды в течение 10 сек или отказ животного от плавания (погружение на дно более чем на 10 сек).

После оценки всех элементов поведения проводилась оценка уровня локального мозгового кровотока в двух точках: в месте стеноза ОСА и в проекции средней мозговой артерии. Изменение эндотелийзависимой вазодилатации оценивали по колебаниям церебрального кровотока при внутривенном введении ацетилхолина (0,01 мг/кг - активатор выброса оксида азота), и нитро-L-аргинина (10 мг/кг - блокатор NO-синтаз [Тюренков И.Н., 2008].

Эвтаназия (декапитация) проводилась введением хлоралгидрата (800 мг/кг внутривенно), после чего забирали головной мозг для проведения морфометрического анализа. Исследовали относительную плотность нейронов и сосудов микроциркуляторного русла в различных участках гиппокампа (CA1, CA3+CA4) и функциональных отделах коры головного мозга (моторной и соматосенсорной).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, США) и Prism 5 (GraphPad Software Inc.,

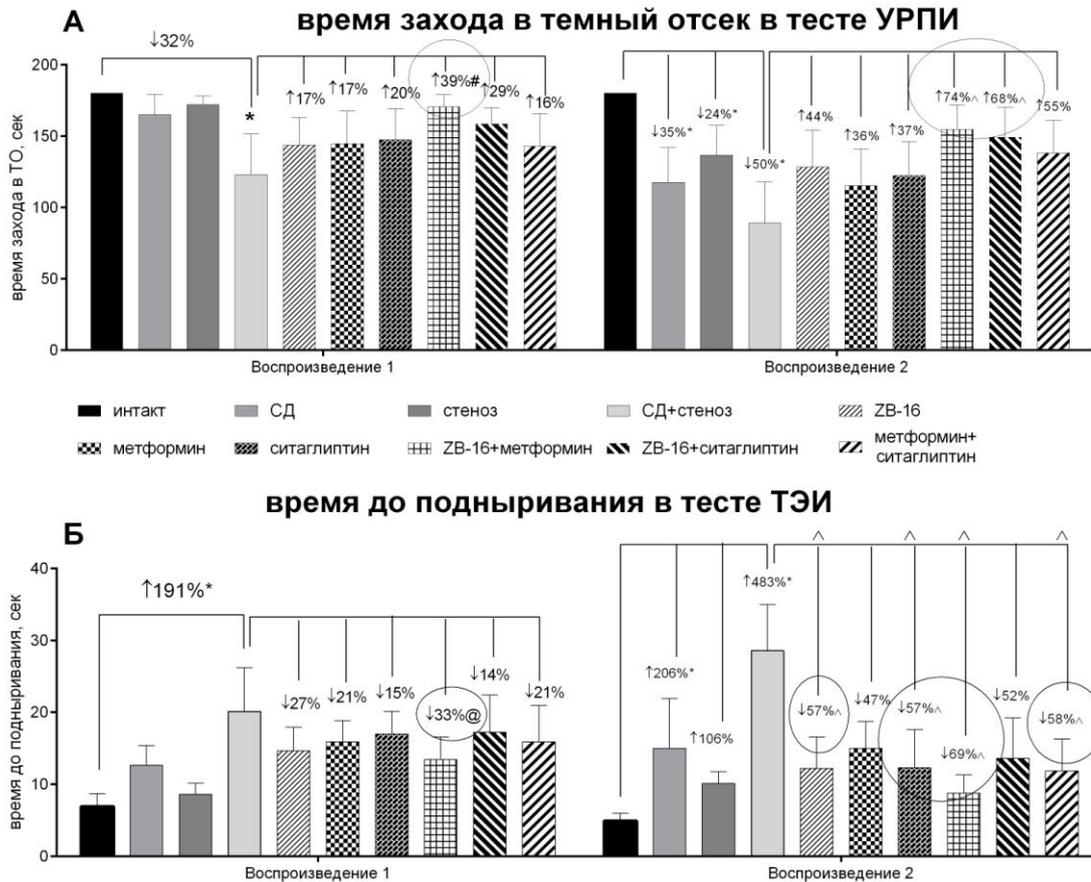
США). Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. В зависимости от типа данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) либо ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с последующим применением апостериорных критериев - t критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони или критерия Дана. Статистически значимыми расценивались различия при  $p < 0,05$  [Гланц С., 1999; Реброва О. Ю., 2006].

**В третьей главе** представлена оценка нарушений когнитивных функций у животных с хронической недостаточностью мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом, не получавших лечение.

При проведении ПТТГ через 14 и 28 дней после начала эксперимента в обеих группах с СД (СД и СД+стеноз) наблюдалось выраженное нарушение толерантности к глюкозе: через 30 минут после глюкозной нагрузки уровень гликемии поднялся на 174% у животных с комбинированной патологией СД+стеноз и на 130% у животных с СД и нормальным мозговым кровообращением (по сравнению с исходным). Через 2 часа после глюкозной нагрузки уровень глюкозы крови оставался достаточно высоким, превышая исходный на 35,7% и 17,3% в группах СД и СД+стеноз соответственно. Необходимо отметить, что комбинированная патология – ЭСД на фоне ХНМК (СД+стеноз) отягощает нарушение углеводного обмена (толерантность к глюкозе повышается больше) по сравнению с СД и нормальным мозговым кровообращением.

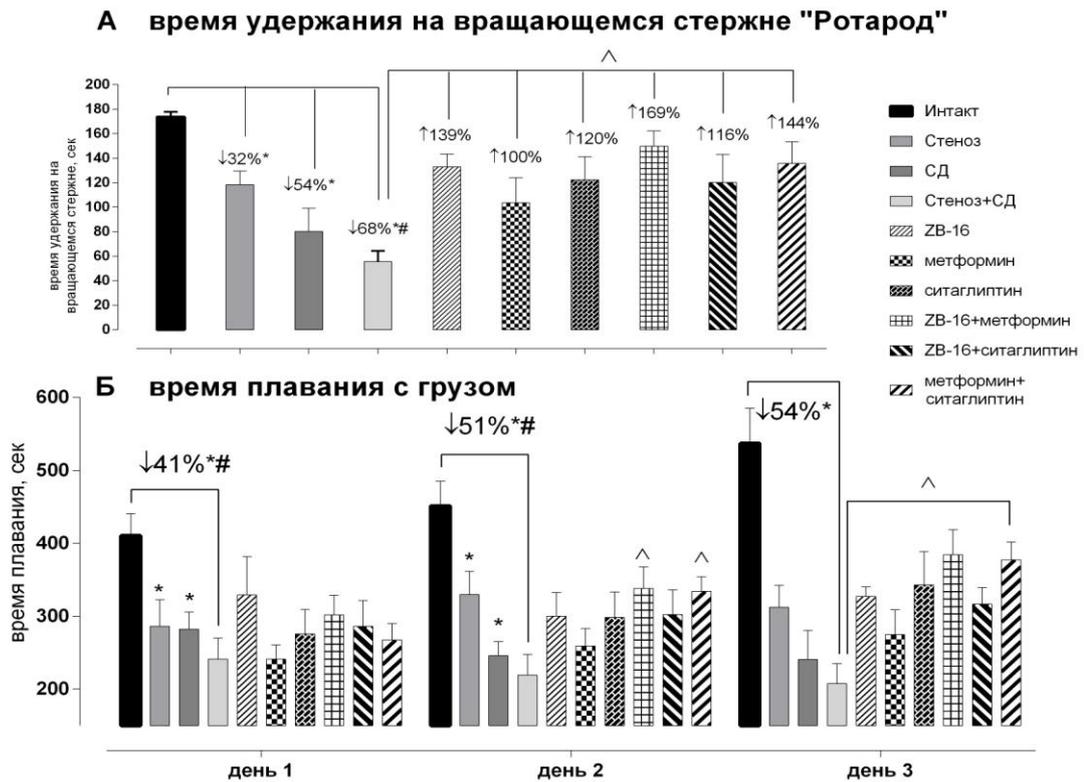
При анализе площади под кривой «уровень гликемии-время» ( $AUC_{0-120}$ , ммоль/л\*мин) было отмечено, что уровень  $AUC_{0-120}$  в группе комбинированной патологии снизился к 28 дню по сравнению с 14-м на 12%, тогда как у животных с СД и нормальным МК наблюдался прирост на 8% (что, впрочем, не было статистически значимо).

При оценке когнитивных функций у крыс с комбинированной патологией наблюдалось выраженное нарушение процессов формирования и сохранения памятного следа. В тесте УРПИ 33% животных этой группы зашли в темный отсек установки при первом (через 24 ч после обучения) и 56% при втором (через 2 недели после обучения) воспроизведении (рис. 2А). При обучении и обоих воспроизведениях в ТЭИ крысы группы СД+стеноз дольше других решали задачу экстраполяционного избавления (по сравнению с интактными животными более чем в два раза, рис. 2Б), что свидетельствует о выраженном снижении обучаемости и нарушении памяти.



**Рис. 2.** Результаты тестирования животных в установках УРПИ и ТЭИ. *Время захода и количество не зашедших (%) в темный отсек теста УРПИ (А); время и количество животных, решивших экстраполяционную задачу в ТЭИ (Б); \* – различия достоверны относительно группы интакт при  $p < 0,05$ ; # -  $p = 0,0519$ , @ -  $p = 0,1741$ , ^ -  $p < 0,05$  относительно группы СД+стеноз*

В тесте Открытое поле ориентировочно-исследовательская и двигательная активность животных, которым моделировали комбинированную патологию (ХНМК и СД), были существенно ниже, чем в других группах; при этом показатели двигательной активности, фиксируемые через 29 дней, были ниже, отмеченных через 16 (отклонение от интакта составило 60%, от ХНМК – 39%, от СД – 34%, снижение по сравнению с 16 днем – 17%). У животных с комбинированной патологией в тестах Ротарод (рис. 3А) и принудительного плавания с грузом (рис. 3Б) отмечались наименьшие показатели удержания на вращающемся стержне (суммарное за три попытки) и продолжительность плавания, причем время плавания последовательно снижалось в течение трех дней тестирования (на 13,9%), а у интактных животных оно наоборот увеличилось (на 30%).



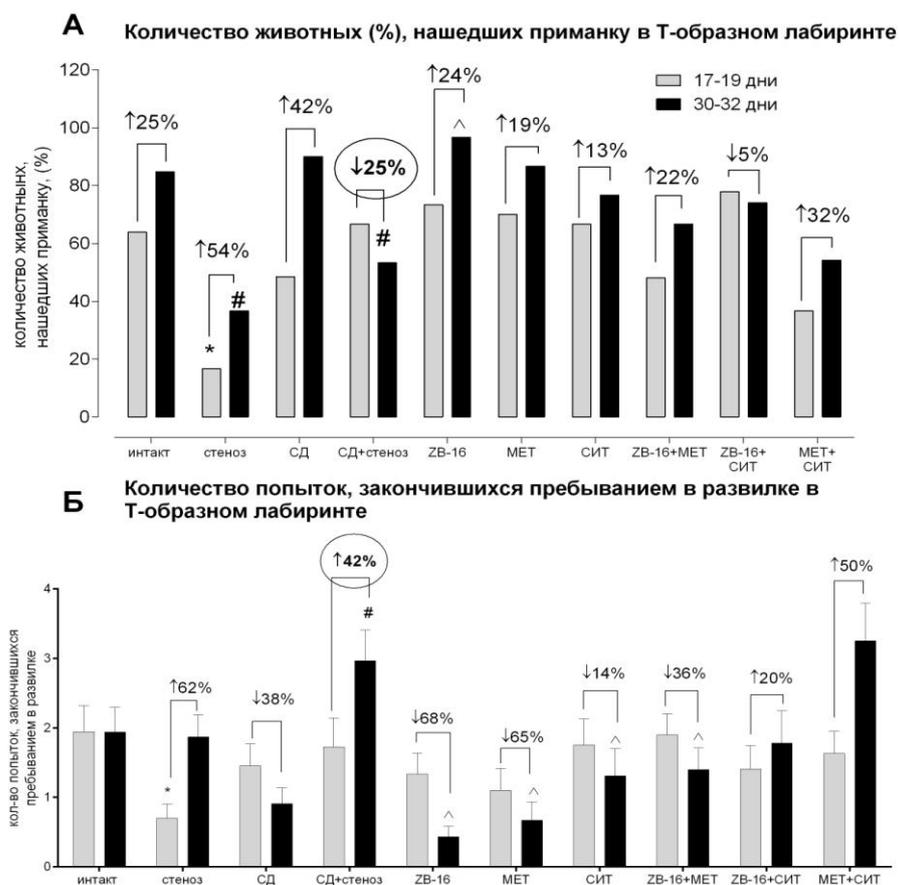
**Рис. 3.** Влияние исследуемых веществ на время удержания на вращающемся стержне в тесте Ротарод (А) и время плавания с грузом (Б) \* - различия достоверны относительно интактной группы животных при  $p < 0,05$ ; # - относительно группы Стеноз при  $p < 0,05$ ; ^ - относительно группы СД+стеноз при  $p < 0,05$

При проведении адгезивного теста в группе комбинированной патологии больше половины животных не сняли пластырь с одной (56% и 67%) или двух лап (44% и 56%) на 16 день и 29 день соответственно. Латентный период обнаружения и время, затраченное на избавление от пластыря, как на 16, так и на 29 дни тестирования в группе СД+стеноз были также максимальными, что говорит о значительном снижении тактильной чувствительности у животных этой группы.

В тесте закапывания стеклянных шариков в группе комбинированной патологии наблюдалось наибольшее число нетронутых шариков (на 106% больше интактных животных) и наименьшее число шариков, сдвинутых с первоначального места (на 32,5% меньше интакта), что может указывать на снижение двигательной активности и защитного поведения крыс с ХНМК и ЭСД.

В Т- и Y-образных лабиринтах животные с нарушением мозгового кровообращения, как с СД, так и без него, делали правильный выбор реже других групп на протяжении всех 6-ти дней тестирования (рис. 4А), и если количество ошибочных решений мало отличалось между группами, то крысы со стенозом ОСА реже принимали решение, оставаясь в развилке (рис. 4Б), или даже отказывались его принимать, возвращаясь в свой

рукав. Количество верных решений и доля животных, нашедших кормушку, мало отличались между лабиринтами.



**Рис. 4.** Результаты тестирования животных в Т-образном лабиринте. Количество животных, нашедших кормушку (А); Количество крыс, оставшихся в развилке по окончании 2-х минут (Б). Указан процент изменения показателя к 30 дню по сравнению с 15-м; \* – различия достоверны относительно группы интакт (17-19 дни) при  $p < 0,05$ ; # – различия достоверны относительно группы интакт (30-32 дни) при  $p < 0,05$ ; ^ - различия достоверны относительно группы СД+стеноз (30-32 дни) при  $p < 0,05$

В лабиринте Барнс крысы с комбинированной патологией на протяжении всех 5 дней тестирования дольше других находили норку (на 17% дольше интакта) и совершали при этом большее количество ошибок (на 24% по сравнению с интактными животными).

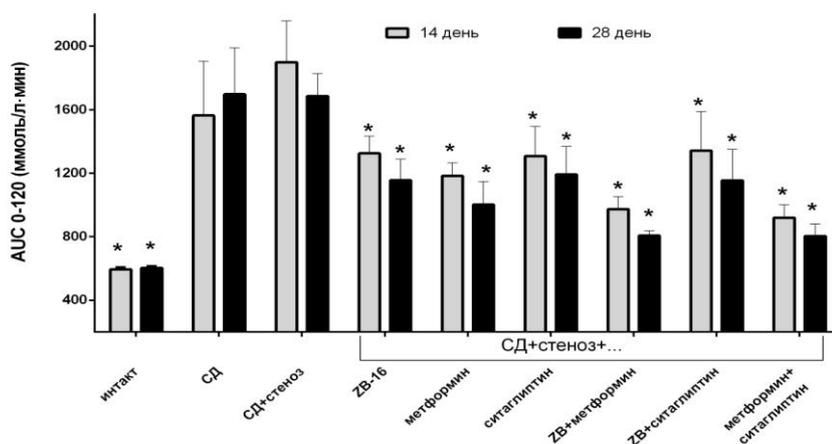
В целом, у животных с экспериментальным сахарным диабетом и хроническим нарушением мозгового кровообращения, по сравнению с интактной группой наблюдались меньшая двигательная и локомоторная активность, сниженное исследовательское поведение, выраженное нарушение тактильной чувствительности. При тестировании в лабиринтах выявлялись достоверные признаки когнитивного дефицита, проявляющиеся нарушением обучаемости, памяти, развитием апатии, снижением скорости принятия решения к действию и скорости ее исполнения.

На следующем этапе исследования мы оценивали эффективность фармакологической коррекции когнитивных нарушений при комбинированной патологии.

**В четвертой главе** представлены результаты влияния соединения ZB-16 и его комбинаций с метформином и ситаглиптином на уровень глюкозы крови и когнитивные функции крыс с хронической недостаточностью мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом.

Терапевтическое введение агониста GPR119 в течение 4-х недель привело к снижению уровня глюкозы в крови после 6-ти часовой депривации: в группе ZB-16 на 24% и 27%, в комбинации с метформином – на 33 и 35% по сравнению с группами животных с ЭСД и ХНМК+ЭСД, соответственно. При проведении ПТТГ через 28 дней после начала лечения наибольшее отличие от контрольной группы было зафиксировано в группах, получающих ZB-16 в комбинации с метформином, а также метформин с ситаглиптином: через 30 минут после нагрузки глюкозы уровень гликемии отличался от группы СД+стеноз на 57% для обеих групп, а через 120 минут - на 41% и 44% для групп ZB-16+метформин и метформин+ситаглиптин соответственно (28 день,  $p < 0,05$ ).

При анализе площади под кривой «уровень гликемии-время» ( $AUC_{0-120}$ , ммоль/л\*мин) было отмечено, что соединение ZB-16 как в монотерапии, так и в комбинации с метформином, существенно снижало площадь под кривой «уровень гликемии-время» (рис. 5): в группе «ZB-16» на 32% и 31%, в группе «ZB-16+метформин» – на 52% и 52% по сравнению с группами животных с ЭСД и ХНМК+ЭСД, соответственно ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об улучшении ее утилизации в сравнении с группами контроль-ЭСД и ХНМК+СД. Однако между собой лечебные группы по показателю  $AUC_{0-120}$  отличались незначительно.



**Рис. 5.** Площадь под кривой «уровень гликемии-время»  $AUC_{0-120}$  при проведении ПТТГ на 14 и 28 дни от начала лечения. \* - различия достоверны относительно группы СД+стеноз при  $p < 0,05$

Таким образом, соединение ZB-16 как в монотерапии, так и в комбинации с метформином и ситаглиптином, улучшало толерантность к глюкозе, выражающуюся в меньшей величине пика роста гликемии и меньшем ее уровне через 2 часа после глюкозной нагрузки. Комбинация ZB-16+метформин более других потенцировала гипогликемический эффект, тогда как комбинация ZB-16+ситаглиптин не имела преимуществ перед влиянием отдельных веществ на утилизацию глюкозы.

Далее нами было изучено влияние агониста GPR119 на когнитивные функции крыс с комбинированной патологией. В группе, получавшей соединение ZB-16 в комбинации с метформином, было на 22% ( $p=0,0610$ ) меньше животных, которые зашли в темный отсек в тесте УРПИ, при втором воспроизведении (рис. 2А), а зашедшие сделали это на 126 сек позже, что свидетельствует о лучшем закреплении информации в памяти животного негативного (болевого) воздействия. У животных, получавших соединение ZB-16 в комбинации с ситаглиптином, в установке УРПИ при воспроизведении через 29 дней латентный период захода в темный отсек был наибольшим и достоверно отличался от контрольной группы на 68% (рис. 2А), что может свидетельствовать о хорошем закреплении информации в памяти животного

При воспроизведении теста экстраполяционного избавления (рис. 2Б) через 29 дней поле начала лечения ЛП подныривания в группах, получавших соединение ZB-16 или его комбинацию с метформином, был на 17% ( $p=0,0519$ ) и 35% ( $p<0,05$ ), соответственно ниже чем в контрольной группе.

У животных, получавших комбинированное лечение соединением ZB-16 и метформином на протяжении 29 дней, двигательная и ориентировочно-исследовательская активность в Открытом поле была выше на 15% и 20%, в группе ZB-16 на 5% и 31% соответственно по сравнению с 16 днем (отличие от контрольной группы составило 81% и 181% для двигательной и ориентировочно-исследовательской активности соответственно). В то же время у животных, получавших только метформин, эти показатели к концу эксперимента были меньше на 12% и 7% (двигательная и ориентировочно-исследовательская активность соответственно), так же, как у животных, не получавших лечение (группа СД+стеноз). Тем не менее, если в тесте Открытое поле двигательная активность между контрольной группой и животными, получавшими ситаглиптин, значимо не отличалась, то время удержания на вращающемся стержне (Ротарод) и время принудительного плавания с грузом у них, как и у группы «ZB-16», существенно отличались от животных, не получавших лечение (рис. 3).

У животных, получавших соединение ZB-16 и его комбинацию с метформином, общее время удержания на вращающемся стержне установки Ротарод (рис. 3А) и

длительность плавания с грузом (рис. 3Б) были наибольшими, в сравнении с другими группами, в тесте принудительного плавания длительность последовательно повышалась с каждым днем тестирования, тогда как в контрольной группе снижалась.

У животных, получавших соединение ZB-16 или его комбинацию с метформином, было меньше животных, не снявших пластырь с одной или с обеих конечностей, по сравнению с контрольной группой (на 103% и 155% для группы ZB-16 и на 52% и 155% для группы ZB-16+метформин соответственно). Крысы этих групп через 29 дней после начала лечения на 16% и 21% (ZB-16), и 30% и 33% (ZB-16+метформин) быстрее контрольных удаляли пластырь с одной и с обеих лап соответственно. Лечение ситаглиптином не оказывало существенного влияния на сенсорно-моторную чувствительность крыс.

В тесте закапывания стеклянных шариков наибольшее отличие от контрольной группы было зафиксировано у животных, получавших соединение ZB-16 в комбинации с ситаглиптином: они больше шариков сдвигали с места и меньше закапывали как на 16, так и на 29 дни эксперимента. В группе, получавшей комбинированную терапию ZB-16+метформин, было незначительно больше (на 30%,  $p=0,2236$ ) количество закопанных шариков, а число нетронутых меньше (на 27%,  $p=0,1970$ ). Эти животные отличались более высокой активностью в клетке и чаще обращали внимание на инородные предметы, которые впоследствии закапывали в подстилку.

При тестировании в Т-образном лабиринте (рис. 4) крысы, получавшие соединение ZB-16, быстрее и чаще контрольной группы выбирали подкрепляемый рукав и подходили к приманке (на 71% и 49% соответственно), а также совершали меньше ошибок (на 17% по сравнению с контролем). В группах, получавших соединение ZB-16, метформин и ZB-16 в комбинации с ситаглиптином, к 30-му дню эксперимента на 44%, 33% и 24% больше животных нашли кормушку по сравнению с контролем (СД+стеноз). В целом, животные, получавшие лечение, в Т-образном лабиринте делали правильный выбор чаще и быстрее контрольной группы, и наилучшие результаты наблюдались в группе «ZB-16».

При тестировании в Y-образном лабиринте общая картина была аналогична Т-лабиринту. Среднее количество ошибок на 17-19 дни эксперимента было меньше, чем в Т-лабиринте. Крысы, получавшие соединение ZB-16 или его комбинацию с ситаглиптином, делали правильный выбор чаще и быстрее контрольной группы, также, как и в Т-образном лабиринте, значительно реже оставались в исходном рукаве или развилке.

В лабиринте Барнс время нахождения норки и количество ошибок на протяжении 5 дней тестирования мало отличалось между группами, однако полностью обучились только интактные крысы и животные, получавшие соединение ZB-16 в монотерапии и в

комбинации с ситаглиптином (100% группы). Доля животных, нашедших норку, в группе ZB-16+ситаглиптин в 1 день тестирования была наибольшей (на 96% больше, чем в контрольной группе), а на 4-й день - существенно меньше, чем у контроля (на 64%), что может говорить о габитуации к условиям тестирования.

Таким образом, в нашем исследовании у животных, получавших в течение 4-х недель соединение ZB-16 как в монотерапии, так и в комбинации с метформинном (в большей степени), с ситаглиптином (в меньшей степени) отмечалась более высокая ориентировочно-исследовательская и двигательная активность в тесте ОП, и более высокие показатели физической работоспособности и координации движений в тестах Ротарод и при плавании «до предела» с грузом 5% от массы тела (табл. 2). Группа, получавшая только ZB-16, делала больше правильных решений в Т- и Y-лабиринтах на протяжении всех 6-ти дней тестирования, в лабиринте Барнс лишь эти животные (100%) нашли норку на 3-й день, тогда как в контрольной группе, а также в группах «метформин» и «ситаглиптин» – по 90%. Эти данные позволяют считать, что соединение ZB-16 улучшало когнитивные функции у животных с ХНМК на фоне СД в большей степени, чем препараты сравнения метформин и ситаглиптин.

В таблице 2 представлены основные эффекты, отражающие действия исследуемых веществ на поведение животных в описанных выше тестах.

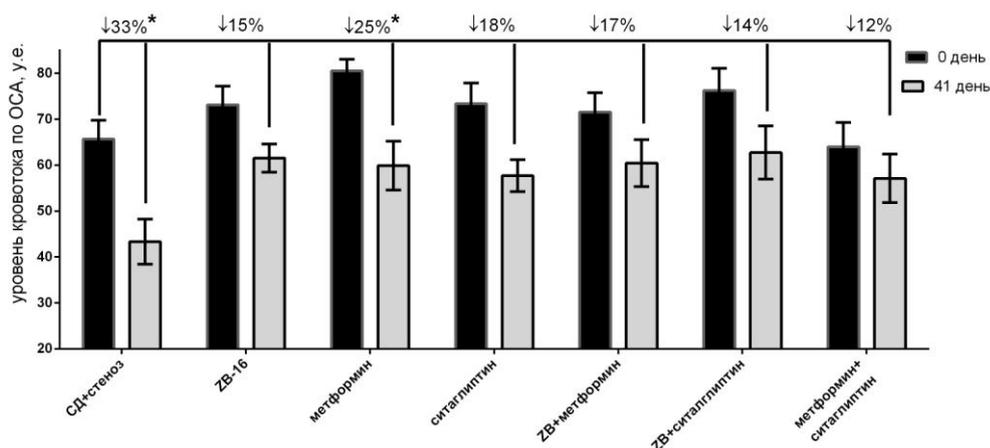
**Таблица 2.** Результаты тестирования животных, получавших гипогликемическую терапию на протяжении 40 дней.

Проводимые тесты/группы животных	ZB-16	МЕТ	СИТ	ZB-16+ МЕТ	ZB-16+ СИТ	МЕТ+СИТ
УРПИ				√	√	
ТЭИ	√		√	√	√	√
Открытое поле	√			√		√
Адгезивный				√		
Закапывание шариков	√				√	√
Ротарод и плавание	√	√	√	√	√	√
Т-и Y-лабиринты	√	√	√		√	
Барнс	√	√			√	

*Примечание.* Указаны группы животных, получавших соответствующее лечение в течение 40 дней, и проводимые тесты. Знаком √ отмечены группы животных, которые в данном тесте статистически значимо отличались от контрольной группы СД+стеноз. МЕТ- группа животных, получавшая метформин, СИТ- группа животных, получавшая ситаглиптин, МЕТ+СИТ - группа животных, получавшая комбинацию метформина и ситаглиптина

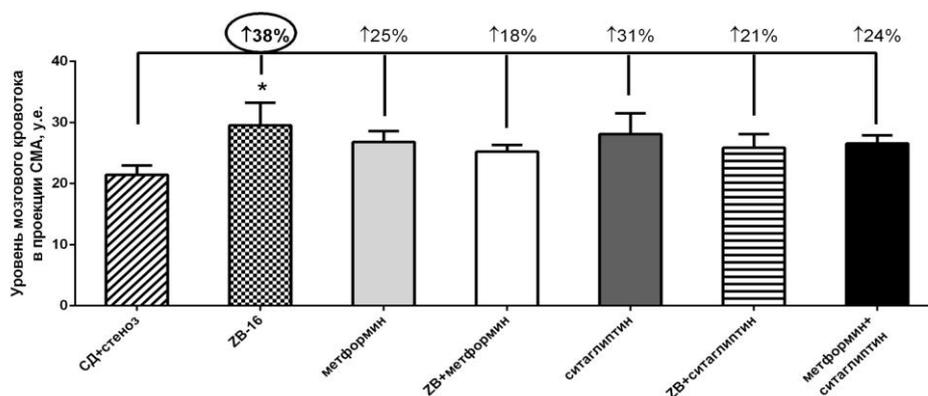
**В пятой главе** изложены результаты изучения влияние соединения ZB-16 и его комбинаций на мозговой кровотока и кровотока в общих сонных артериях животных с комбинированной патологией СД и ХНМК, а также приведены результаты морфометрического исследования головного мозга.

К концу эксперимента во всех группах наблюдалось сопоставимое снижение уровня кровотока по ОСА по сравнению с первоначальными данными, полученными после операции стенозирования (рис. 6).



**Рис. 6.** Уровень кровотока по ОСА (средний между левой и правой) на 0 день (перед операцией стенозирования) и в конце эксперимента (41 день). \* - различия достоверны относительно 0 дня (операция стенозирования ОСА) при  $p < 0,05$

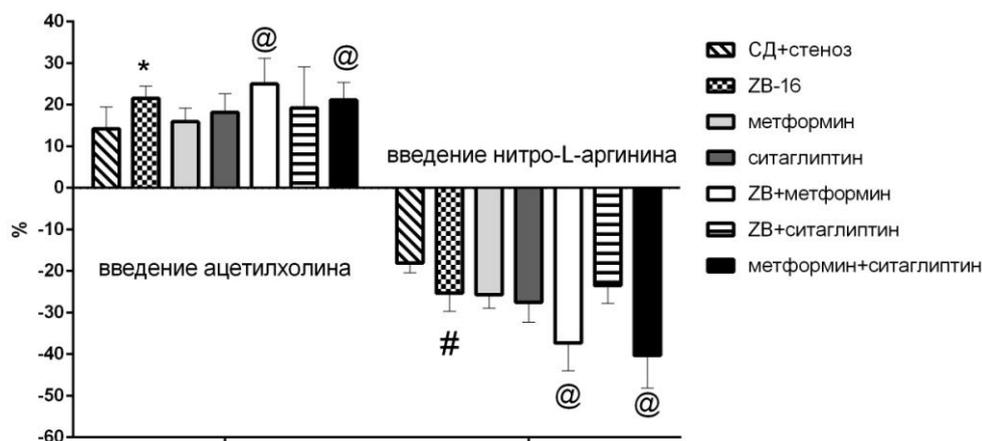
У всех животных, получавших лечение, кровотока в проекции СМА был выше контрольной группы (рис. 7), но статистически значимая разница наблюдалась только у крыс, получавших соединение ZB-16 (разница с группой СД+Стеноз составила 38%,  $p < 0,05$ ).



**Рис. 7.** Уровень мозгового кровотока в проекции СМА, у.е. \* - различия достоверны относительно группы СД+Стеноз при  $p < 0,05$

При оценке влияния соединения ZB-16 на вазодилатирующую функцию эндотелия было отмечено, что у крыс, получавших соединение ZB-16 или его комбинацию с метформином, скорость кровотока в проекции среднемозговой артерии повышалась при

введении ацетилхолина на 51% и 101% по сравнению с контрольной группой, и снижалась при введении нитро-L-аргинина на 39% и 106% по сравнению с контролем для групп «ZB-16» и «ZB-16+метформин», соответственно (рис. 8). Следует отметить, комбинирование метформина и ситаглиптина вызывало наибольшее изменение скорости мозгового кровотока при введении модификаторов синтеза оксида азота: на +77% и - 123% при введении ацетилхолина и нитро-L-аргинина соответственно.



**Рис. 8. Оценка эндотелийзависимой вазодилатации у животных с СД и ХНМК, получавших противодиабетическую терапию в течение 40 дней.** \* -  $p=0,1177$  относительно группы СД+стеноз, # -  $p=0,1620$  относительно группы СД+стеноз, @ -  $p<0,05$  относительно группы СД+стеноз

Обнаружив отличия в поведении, когнитивных и сенсорно-моторных функциях животных, представлялось важным ответить на вопрос, есть ли структурные повреждения головного мозга, и если есть, то дать им количественную оценку.

При морфометрическом исследовании образцов головного мозга было обнаружено, что относительная плотность нейронов у животных с комбинированной патологией была наименьшей как в зоне СА1 гиппокампа (на 87,8%, 43,5% и 25,3%), так и в зоне СА3+СА4 (на 128,0%, 74,3% и 53,1%, чем в группах интакт, СД и стеноз соответственно). У крыс, получавших соединение ZB-16 как в монотерапии, так и в комбинациях ZB-16+метформин и ZB-16+ситаглиптин, относительная плотность нейронов была существенно выше контрольной группы: в зоне СА1 гиппокампа – на 41,3%, 63,9% и 42,6%, в зоне СА3+СА4 – на 45,3%, 37,4% и 85,3% соответственно.

**В Обсуждении** приводится обобщение полученных результатов исследования и их интерпретация с учетом данных литературы.

Таким образом, агонист GPR119 – соединение ZB-16 – оказывает выраженное нейропротекторное действие как при монотерапии, так и в комбинации с метформином и ситаглиптином. Очевидно, это обусловлено не только гипогликемическим действием, так

как метформин и ситаглиптин сопоставимо снижают уровень сахара в крови у крыс с ЭСД. Ранее установлено, что соединение ZB-16 у животных с ЭСД стимулирует глюкозозависимую выработку ГПП-1, продукцию инсулина и утилизацию сахара, а ГПП-1 в свою очередь может обладать множеством эффектов (антигипоксическим, эндотелиопротективным и т. д.), что может лежать в основе нейропротективного действия соединения ZB-16.

## ВЫВОДЫ

1. Терапевтическое введение агониста GPR119 в течение 4 недель у животных с комбинированной патологией – ХНМК и ЭСД – оказывает выраженное гипогликемическое действие, снижая уровень глюкозы в крови (на 24% и 27%) и площадь под кривой «уровень гликемии-время» (на 32% и 31%) по сравнению с группами животных с ЭСД и ХНМК+ЭСД (все  $p < 0,05$ ), что говорит об улучшении утилизации глюкозы в сравнении с группами контроль-ЭСД и ХНМК+СД.

2. Соединение ZB-16 у животных с комбинированной патологией – хроническое нарушение мозгового кровообращения и экспериментальный сахарный диабет – при курсовом введении в течение 40 дней улучшает память и обучаемость по сравнению с контрольной группой: у этих животных в тесте УРПИ отмечался больший латентный период захода в темный отсек (на 57%) и меньший латентный период подныривания в ТЭИ (на 44% по сравнению с контролем), при тестировании в Т-лабиринте они совершали меньше ошибок (на 17% по сравнению с контролем), а также чаще (на 49%) и быстрее (на 71%) принимали верное решение – выбор подкрепляемого рукава и подход к приманке.

3. У животных с комбинированной патологией, которым вводили агонист GPR119 - соединение ZB-16 - в тесте Открытое поле регистрировалась более высокая ориентировочно-исследовательская (на 181%) и двигательная активность (на 81%), время удержания на вращающемся стержне в тесте Ротарод (на 169%) и время плавания с грузом «до предела» (на 52% больше по сравнению с контролем). При проведении адгезивного теста время снятия и обнаружения пластыря были на 19% меньше, чем у животных контрольной группы. Все это свидетельствует о выраженном нейропротективном действии соединения ZB-16.

4. У животных, получавших соединение ZB-16 в течение 40 дней, кровотоков в общих сонных артериях и в проекции среднемозговой артерии был выше, чем в контрольной группе СД+стеноз на 42% и 38%. При введении ацетилхолина скорость кровотока в проекции среднемозговой артерии повышалась на 56% и снижалась при введении нитро-L-аргинина на 39% больше по сравнению с контролем, что свидетельствует о более

высокой базальной и стимулированной продукции эндотелием оксида азота.

5. При морфометрическом анализе образцов головного мозга крыс с комбинированной патологией – ХНМК и ЭСД, получавших соединение ZB-16, была отмечена меньшая выраженность дегенеративных изменений головного мозга, где относительная плотность нейронов в зоне CA1 и CA3+CA4 гиппокампа, моторном и соматосенсорном отделах коры была на 41,3%, 45,3%, 19,9 % и 15% больше, чем у контрольной группы.

6. Комбинирование соединения ZB-16 с метформином приводило к усилению гипогликемического действия, снижая уровень глюкозы в крови (на 11%) и площадь под кривой «уровень гликемии-время» (на 20% и 24% больше по сравнению с животными, которым вводили только агонист GPR119 или метформин соответственно). У группы «ZB-16+метформин» также отмечалось более выраженное нейропротективное действие (снижалось время решения экстраполюционной задачи в ТЭИ на 25% и увеличивалось время до захода в ТО установки УРПИ на 17% по сравнению с животными, которые получали только соединение ZB-16) и меньшая выраженность дегенеративных изменений головного мозга (относительная плотность нейронов в зоне CA1 гиппокампа, моторном и соматосенсорном отделах коры была на 16%, 24,6% и 20% соответственно больше, чем в группе «ZB-16»). В то же время, сочетание соединения ZB-16 и ситаглиптина не приводило к усилению гипогликемического действия и нейропротективного эффекта.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Выявленное нейропротекторное действие агониста GPR119 - соединения ZB-16 - у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом свидетельствует о перспективности его применения у пациентов с СД и нарушенными когнитивными функциями.
2. Является целесообразным продолжить поиск гипогликемических препаратов из ряда агонистов GPR119 для коррекции метаболических и когнитивных нарушений у пациентов с СД.
3. Выводы работы позволяют рекомендовать поиск гипогликемических препаратов из ряда агонистов GPR119 для коррекции метаболических и когнитивных нарушений у пациентов с СД.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ****Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ**

1. Тюренков И. Н., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Волотова Е.В., Шафеев М.А., Логвинова Е.О. Гипогликемическое действие агониста GPR119 на модели развивающегося сахарного диабета // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2016. - № 3 (59). - С.104-108.
2. Тюренков И. Н., Озеров А. А., Куркин Д. В., Логвинова Е. О., Бакулин Д. А., Волотова Е. В., Бородин Д. Д. Структура и биологическая активность эндогенных и синтетических агонистов рецептора GPR119 // Успехи химии. – 2018. - №87. – С.151-166.
3. Тюренков И. Н., Куркин Д. В., Литвинов А. А., Логвинова Е. О., Морковин Е. И., Бакулин Д. А., Волотова Е. В. Методы моделирования острых нарушений мозгового кровообращения, применяемые при проведении доклинических исследований церебропротекторов // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2018. - № 1 (22). - С.186-197.

**Статьи в журналах и сборниках материалов конференций**

1. Логвинова Е. О. Гипогликемическое действие комбинации агониста рецептора GPR119 с метформином у животных с экспериментальным сахарным диабетом // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 75-ой открытой научно-практической конференции молодых учёных и студентов ВолгГМУ с международным участием. – Волгоград. – 2017. – С.422.
2. Логвинова Е. О. Поведенческие нарушения у крыс с недостаточностью мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом // XXII Региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области. – Волгоград. – 2017. – С.5.
3. Логвинова Е.О., Верхоляк Д.В., Арсланбекова В.А. Коррекция когнитивных нарушения у крыс с хронической недостаточностью мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом новым агонистом GPR119 и его комбинацией с метформином // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 76-ой международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов. – Волгоград. – 2018. – С.63.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

GPR119 – Рецептор 119, сопряженный с G-белком (англ. G-protein-coupled receptor 119)

ГПП-1 – глюкагон-подобный пептид-1

ДПП-4 - дипептидил-пептидаза - 4

МК – мозговой кровоток

ОСА – общая сонная артерия

ПТТГ – пероральный тест толерантности к глюкозе

СД – сахарный диабет

СМА – среднемозговая артерия

ТЭИ – тест экстраполяционного избавления

УРПИ – условный рефлекс пассивного избегания

ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения

ЭСД – экспериментальный сахарный диабет

**Логвинова**  
**Екатерина Олеговна**

**КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У КРЫС С  
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И  
ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ,  
ИХ КОРРЕКЦИЯ НОВЫМ АГОНИСТОМ GPR119**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Подписано в печать \_\_.\_\_. 2018 г.  
Формат 60x84/16. Печать офсетная Усл. -печ. л. \_\_.  
Усл. изд. л. \_\_ Тираж 100 экз. Заказ \_\_  
Отпечатано в типографии