

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ГЛЮКАГОНОПОДОБНОГО ПЕПТИДА-1 В КОМБИНАЦИИ С МЕТФОРМИНОМ И ЦИТИКОЛИНОМ

Д. А. Бакулин¹✉, Е. Е. Абросимова², Н. С. Ковалев³, В. Э. Пустынников⁴, Е. А. Фомичев⁵, Т. М. Андриашвили⁶, А. А. Соколова⁷, А. С. Кляусов⁸, Ю. И. Великородная⁹

Волгоградский государственный медицинский университет,
¹ Научный центр инновационных лекарственных средств,
^{2, 3, 4, 5, 6, 7} кафедра фармакологии и фармации Института НМФО,
⁸ кафедра иммунологии и аллергологии
⁹ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

✉ mbfdoc@gmail.com, 651670, <http://orcid.org/0000-0003-4694-3066>

Аннотация. При исследовании новых гипогликемических препаратов особое внимание уделяется изучению их влияния на риск развития сердечно-сосудистых осложнений сахарного диабета. У ряда противодиабетических препаратов (синтетические аналоги ГПП-1, бигуаниды, ингибиторы SGLT2) была отмечена способность снижать риск развития и/или облегчать течение инфаркта миокарда и инсульта, ограничивать прогрессирование атеросклероза. В работе исследован эффект введения нового средства с инкретиновой активностью (агониста GPR119 рецептора) – соединения ZB-16 (1 мг/кг) в комбинации с метформинном (400 мг/кг) и цитиколином (500 мг/кг) на выживаемость и психоневрологический дефицит животных после одномоментной необратимой окклюзии общих сонных артерий.

Ключевые слова: сахарный диабет, инсульт, GPR119, метформин.

Благодарности: работа поддержана РНФ (проект №20-75-10013).

Для цитирования: Церебропротективное действие нового агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в комбинации с метформинном и цитиколином / Д. А. Бакулин, Е. Е. Абросимова, Н. С. Ковалев [и др.] // Лекарственный вестник. 2022. Т. 23, № 1. С. 48–54.

В последние годы эффективность терапии сахарного диабета (СД), рассматривается не только с позиции установления строгого гликемического контроля, но и с позиции эффективной профилактики сердечно-сосудистых осложнений заболевания [1], а также безопасности лекарственных препаратов [2]. В клинических исследованиях UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study), ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes), ADVANCE (Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicon Modified Release Controlled Evaluation) и VADT (Veterans Affairs Diabetes Trial) было показано отсутствие прямой связи между строгим контролем уровня гликемии и снижением риска развития макрососудистых осложнений СД [3]. Последние рекомендации предписывают назначение интенсивной

терапии незамедлительно после постановки диагноза, при этом среди назначаемых препаратов предпочтение желательно отдавать тем, которые обладают возможностью снижать риск развития сердечно-сосудистых осложнений [1].

Так, назначение устойчивых к действию ДПП-4 аналогов глюкагон подобного пептида 1 (ГПП-1) – эксенатида и лираглутида, снижает риск развития сердечно-сосудистой патологии у людей с СД 2-го типа [1, 4, 5].

А при оценке спектра фармакологической активности и аспектов действия препаратов, влияющих на систему инкретинов, были обнаружены следующие плейотропные эффекты: эндотелио-, кардио- и церебропротекторное действие, реализующееся посредством снижения экспрессии провоспалительных цитокинов в сосудистой стенке и ингибирования апоптоза

в клетках-мишенях (эндотелиоциты, кардиомиоциты, нейроны) [4, 5].

Значение системы инкретинов в метаболизме углеводов велико. Секреция инкретинов клетками кишечника обуславливает до 70 % секреции инсулина после еды, также инкретины ингибируют секрецию глюкагона, ускоряют наступление насыщения и оказывают защитное действие на бета-клетки [5–7]. По мере развития СД и инсулинорезистентности у пациентов наблюдается снижение секреции основных инкретинов и/или чувствительности к ним. Что может объяснить меньшую эффективность ингибиторов дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), замедляющих распад эндогенных инкретинов, по сравнению с устойчивыми к ДПП-4 синтетическими аналогами инкретинов. В настоящее время разрабатывается новый подход по воздействию на систему инкретинов – стимуляция их секреции, посредством активации рецептора GPR119 локализованного преимущественно на L- и K-клетках кишечника [6, 8].

Препараты с подобным механизмом действия активно разрабатываются во всем мире последнее десятилетие, однако успешно про-

шедших третью фазу клинических исследований пока нет. Также отсутствуют экспериментальные исследования применения этих соединений и/или их комбинаций при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Цель работы

Изучить церебропротективное действие нового средства с инкретиновой активностью (агониста GPR119 рецептора, ZB-16) в комбинации с метформином и цитиколином на течение и исход нарушения мозгового кровообращения.

Методика исследования

Эксперимент выполняли на 85 крысах-самках (240–260 г, 6–8 мес.) (питомник «Рапполово», Санкт-Петербург). Протокол исследования был одобрен Региональным Независимым Этическим Комитетом. Болезненные процедуры выполняли под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг, в/б). Церебропротекторное действие оценивали с использованием модели необратимой окклюзии общих сонных артерий (ОСА) [9].

Исследуемое соединение (рис. 1) представляет собой селективный агонист рецептора GPR119 ($IC_{50} = 7$ нМ).

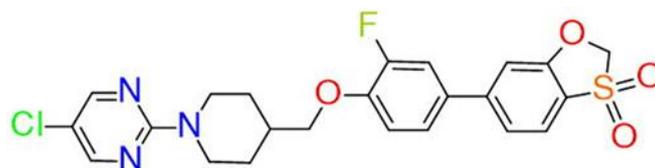


Рис. 1. Структура исследуемого соединения

По результатам предыдущих исследований соединение ZB-16 проявляет гипогликемическое действие *in vivo* как в условиях здорового организма (при глюкозной нагрузке), так и в условиях экспериментального СД [8].

С учетом предполагаемого инкретинопосредованного механизма сахароснижающего действия мы посчитали целесообразным оценить церебропротекторный потенциал агониста GPR119, который характерен для ряда препаратов с инкретиновой активностью [4].

В данном исследовании мы оценили церебропротективную активность агониста GPR119 рецептора, соединения ZB-16 и его комбинаций с метформином и цитиколином в условиях ишемии ГМ. Были созданы следующие группы животных:

- 1) «ЛО» – группа ложно-оперированных животных (n = 10);
- 2) «Контроль» – ишемия + 0,9 % NaCl (n = 15);
- 3) «ZB-16» – ишемия + ZB-16 (n = 12);
- 4) «Цитиколин» – ишемия + цитиколин;
- 5) «Цитиколин + ZB-16» – ишемия + цитиколин + ZB-16 (n = 12);
- 6) «Метформин» – ишемия + метформин (n = 12);
- 7) «Метформин + ZB-16» – ишемия + метформин + ZB-16 (n = 12);

Соединение ZB-16 (1 мг/кг) и метформин (400 мг/кг) вводили за 4 часа до операции, затем через 12, 24, 48 и 72 часа после операции (*per os*). Препарат «Цитиколин» (500 мг/кг [10]) вводили внутрибрюшинно через 2, 12, 24, 48 и 72 часа после операции.

Число летальных исходов и неврологический дефицит (баллы по шкале McGraw) регистрировали через 6, 12, 24, 48 и 72 часа после операции. Двигательную и исследовательскую активность оценивали в конце эксперимента в тесте «Открытое поле», координационные нарушения оценивали в тесте Ротарод, мнестическую функцию изучали в тестах УРПИ и ТЭИ, обучение в которых проводили за 24 часа до операции [9]. После обучения животных по принципу рандомизации распределяли в 7 групп.

Перед моделированием НМК, после введения соединений у животных определяли уровень гликемии с использованием глюкометра Контур ТС (Вауер, Германия). Было отмечено, что у здоровых животных введение как одного, так и не-

скольких препаратов не влияло на уровень гликемии, который составил $(4,2 \pm 0,4)$ ммоль/л.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием ПО MS Excel 2016 и Prism 6, а также критериев Шапиро – Уилка, Краскела – Уоллиса, Дана и критерия хи-квадрат.

Результаты исследования и их обсуждение

Окклюзия ОСА вызывала гибель значительного числа животных группы «контроль – ишемия», которые не получали лечения (см. табл.). Введение цитиколина и комбинации цитиколина с соединением ZB-16 приводило к значимому снижению летальности животных, количество погибших крыс было значимо ниже, чем в контрольной группе.

Таблица 1

Смертность в условиях ишемии головного мозга

Группа	Число погибших животных					n	%
	часы						
	6	12	24	48	72		
ЛО	-	-	-	-	-	10	0
Контроль	2	3 (5)	2 (7)	1 (8)	1 (9)	15	60
ZB-16	1	- (1#)	1 (2*)	1 (3#)	1 (4#)	12	33
Цитиколин	-	1 (1#)	1 (2*)	- (2*)	1 (3*)	12	25
Цитиколин + ZB-16	-	- (0)	- (0)	1 (1*)	2 (3*)	12	25
Метформин	-	2 (2)	1 (3)	1 (4)	2 (6)	12	50
Метформин + ZB-16	-	1 (1#)	- (1*)	1 (2*)	2 (4#)	12	33

Примечание: ЛО – ложно-оперированные животные; n – количество животных в группе; % – относительное количество погибших животных в группе в процентах; *, # – различия достоверны относительно контрольной группы при $p < 0,05$ и $p < 0,1$ (тенденция) соответственно (критерий хи-квадрат).

При дальнейшей оценке неврологического дефицита по шкале McGraw, наиболее выраженные нарушения наблюдались у животных, не получавших лечение (рис. 2А). К первым суткам после окклюзии ОСА неврологический балл группы «контроль – ишемия» составил более 5 баллов, а к 72 часам – уже более 6,5. Введение исследуемого соединения в комбинации с цитиколином препятствовало прогрессированию неврологического дефицита. Так, в группе животных, которым вводили данную комбинацию, общий неврологический балл через 72 часа составил $(3,04 \pm 1,23)$ балла, что может быть отнесено к неврологическому дефициту легкой степени выраженности.

Тест «Ротарод» проводили через 24, 48 и 72 часа после окклюзии ОСА. В контрольной группе наблюдалось значительное снижение

времени удержания на вращающемся стержне (рис. 2Б). У животных, получавших соединение ZB-16, наблюдалась выраженная позитивная динамика восстановления координации движений, сопоставимая с таковой в группе, получавшей цитиколин.

Наибольший церебропротекторный эффект наблюдался в группе, получавшей комбинацию цитиколин + ZB-16.

Через 72 часа после окклюзии ОСА в тесте «Открытое поле» исследовательская и двигательная активность у животных на фоне введения исследуемого соединения ZB-16, цитиколина и особенно их комбинации была значимо выше по сравнению с контрольной группой (рис. 3А). В тестах УРПИ и ТЭИ отмечено сохранение памятного следа в группах, получавших ZB-16 и ZB-16 + цитиколин (рис. 3Б).

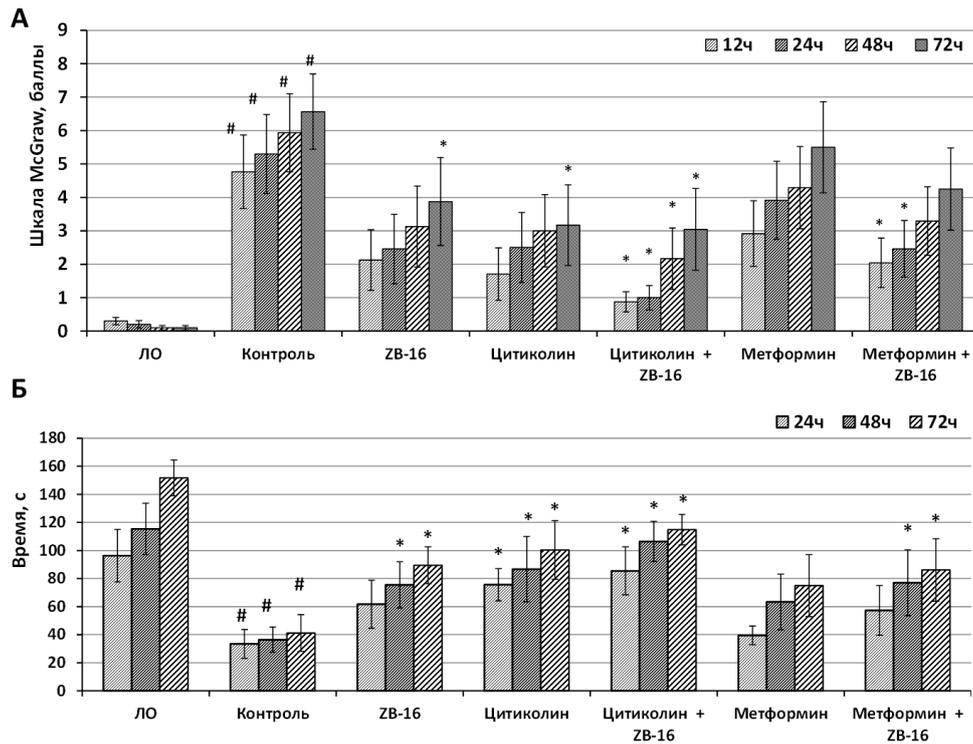


Рис. 2. Неврологический дефицит животных в баллах (McGraw) (А); время удержания на вращающемся стержне в тесте «Ротарод» (Б) у животных в условиях ишемии ГМ: * – различия достоверны относительно группы «контроль – ишемия» при $p < 0,05$; # – различия достоверны относительно ложнооперированной группы при $p < 0,05$

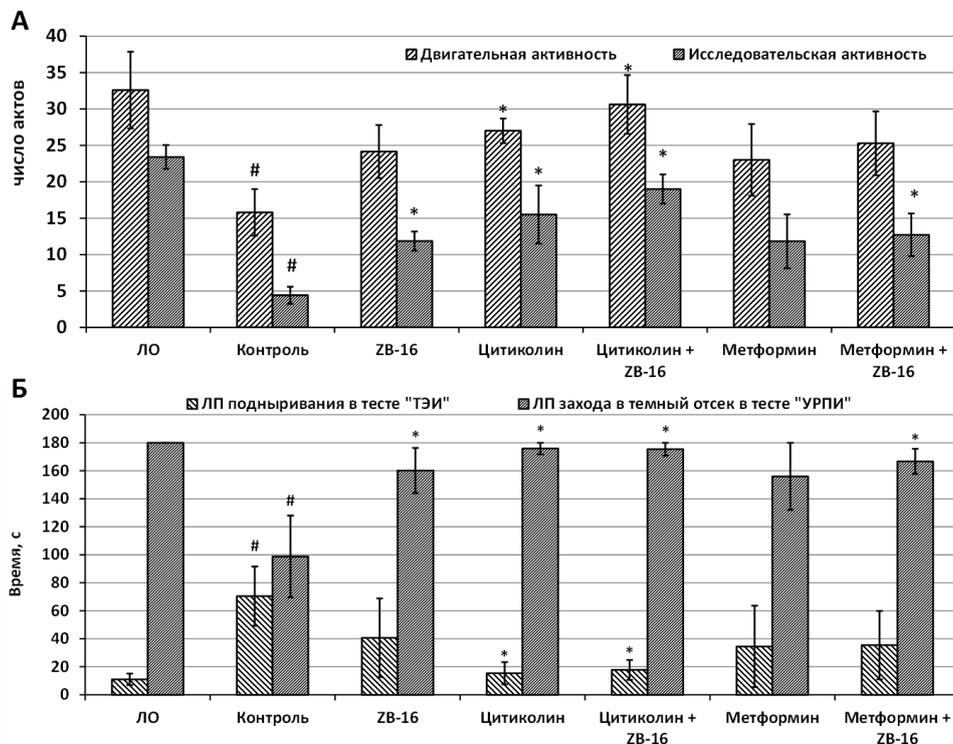


Рис. 3. Двигательная и исследовательская активность в тесте «Открытое поле» (А); латентный период захода в темный отсек в тесте УРПИ и латентный период подныривания в тесте ТЭИ (Б) у животных через 72 часа после окклюзии ОСА: ЛП – латентный период; * – различия достоверны относительно контрольной группы при $p < 0,05$; # – различия достоверны относительно ложнооперированной группы при $p < 0,05$

Особое медико-социальное значение при СД 2 имеют его сосудистые осложнения. По частоте причин инвалидизации и смертности лидирующее место у пациентов с СД занимают кардиоваскулярные и цереброваскулярные расстройства, такие как АГ, ИБС, инсульт, ХСН, атеросклероз, обусловленные развитием микро- и макроангиопатий [1].

Рецепторы ко многим инкретинам (в основном к ГПП-1) распространены довольно широко (ЖКТ, поджелудочная железа, кардио-, эндотелиоциты, ткани ЦНС, гладкомышечные клетки сосудов и др.). Из чего можно предположить, что функции инкретинов не ограничиваются регуляцией секреции инсулина и глюкагона. В настоящее время продолжают публиковаться результаты исследований кардио-, эндотелио- и церебропротективного действия инкретинов и соединений, влияющих на их концентрацию (синтетические аналоги, агонисты рецепторов, влияющих/регулирующих их секрецию) или метаболизм (ингибиторы ДПП-4). Показано, что инкретиномиметики в комплексе с эндотелиопозитивным способны оказывать церебропротективное действие, снижая смертность и последствия ишемии. Доказано, что применение инкретиномиметиков, а также повышение концентрации циркулирующих инкретинов в период острой фазы и восстановления снижает размер некроза и улучшает течение ишемии ГМ [4]. Можно предположить, что эти эффекты опосредованы не только их гипогликемическим действием, вызванным увеличением секреции инсулина, но очевидно и рядом других (плейотропных) эффектов. Актуальными для изучения являются вопросы влияния инкретиномиметиков на внутриклеточные сигнальные пути (PI3K/ПКВ, цАМФ/ПКА, АМПК и RISK-пути), регулирующие апоптоз, пролиферацию и функционирование клетки-мишени.

Соединение ZB-16, являясь агонистом GPR119 рецептора, стимулирует выработку инкретинов, что подтверждено при исследовании его гипогликемической активности *in vivo* [8]. Противодиабетические препараты на основе агонистов GPR119 предполагаются для применения пациентам с СД2, которые, как известно, имеют повышенный риск развития инсульта. Возможно, при системном применении, агони-

сты GPR119 будут снижать риск развития инсульта и облегчать восстановление после него.

В настоящее время во многих исследованиях влияние противодиабетических препаратов на риск развития сосудистых событий отмечается, что некоторые препараты снижают данный риск улучшая липидный профиль (метформин) или благодаря плейотропным эффектам (инкретиномиметики). Для инкретиномиметиков отмечались нейропротективные и кардиопротективные эффекты при моделировании патологии у здоровых животных, т. е. эффекты, не связанные с гипогликемическими свойствами препаратов. В данном экспериментальном исследовании сформированные группы соответствуют возможным группам пациентов в когорте больных СД2: больные СД2, пренебрегающие лечением либо получающие моно или комбинированную терапию СД2, а также пациенты, получившие нейропротекторную терапию после спонтанного НМК. На данном этапе мы использовали здоровых животных (без СД2) для того, чтобы ответить на вопрос: может ли новый агонист GPR119, обладающий инкретинопосредованным действием, а также его комбинация с широко применяющимися препаратами из группы сахароснижающих и нейропротекторных средств, повлиять на течение и исход ишемического поражения ГМ.

По результатам данного исследования мы установили, что агонист GPR119, соединение ZB-16 обладает церебропротекторным действием при моделировании окклюзии ОСА у интактных животных, незначительно уступая при этом нейропротекторному препарату цитиколину, при этом добавление метформина не увеличивает, но и не уменьшает церебропротекторный эффект соединения ZB-16. Совместное применение агониста GPR119 и цитиколина усиливает действие последнего.

Полученные результаты позволяют говорить о способности агониста GPR119 рецептора – соединения ZB-16 оказывать положительное влияние на течение и исход ишемического поражения ГМ при превентивно-терапевтическом применении. Дальнейшие исследования позволят оценить терапевтический потенциал агониста GPR119 рецептора при нарушениях мозгового кровообращения на фоне СД.

Заключение

Введение исследуемого агониста GPR119 достоверно снижает тяжесть неврологических симптомов у животных в условиях ишемии ГМ, незначительно уступая препарату цитиколин. При этом комбинация данных препаратов обладает более выраженной церебропротекторной активностью, чем два компонента по отдельности. Препарат «Метформин» не снижает тяжесть

течения ишемии ГМ, а добавление метформина к агонисту GPR119 не повышает церебропротекторную активность последнего.

Выявленная комбинация цитиколина с соединением с инкретиновой активностью (агонист GPR119) представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве эффективного средства для лечения последствий НМК на фоне СД.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дедов И. И., Шестакова М. В., Майоров А. Ю. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом // Сахарный диабет. 2021. № 24 (S1). С. 1.
2. Нейротоксикологические свойства соединения АВ-19 для профилактики и лечения осложнений сахарного диабета / Д. В. Мальцев [и др.] // Токсикологический вестник. 2020. № 4 (163). С. 39–43.
3. Гиляревский С. Р., Кузьмина И. М. Современная тактика снижения риска развития осложнений сердечно-сосудистых заболеваний с помощью применения метформина // Лечащий врач. 2010. № 4. С. 92–94.
4. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях / И. Н. Тюренков [и др.] // Проблемы эндокринологии. 2017. Т. 63, № 1. С. 58–67.
5. Фундаментальные основы поиска лекарственных средств для терапии сахарного диабета 2-го типа / А. А. Спасов [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. 2013. Т. 68, № 2. С. 43–49.
6. Агонисты GPR119 рецепторов: характеристика, физиологическая роль и перспективы использования в терапии сахарного диабета 2 и метаболического синдрома / И. Н. Тюренков [и др.] // Успехи физиологических наук. 2015. Т. 46, № 4. С. 28–37.
7. Роль микрофлоры кишечника, состава пищи, GPR41- и GPR43-рецепторов к короткоцепочечным жирным кислотам в энергетическом обмене позвоночных животных / И. Н. Тюренков [и др.] // Успехи физиологических наук. 2017. Т. 48, № 2. С. 100–112.
8. Chemistry and hypoglycemic activity of GPR119 agonist ZB-16 / I. N. Tyurenkov [et al.] // Frontiers in Endocrinology. 2018. Vol. 9. P. 543. doi: 10.3389/fendo.2018.00543
9. Нейропротекторное действие фенибута и нейроглутама при экспериментальной ишемии головного мозга на фоне измененной иммунореактивности / Е. В. Волотова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79, № 4. С. 18–25.
10. Парфенов В. А. Цитиколин в лечении инсульта и сосудистых когнитивных нарушений. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2009. № 3–4. С. 69–74.

Информация об авторах

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС Волгоградского государственного медицинского университета, mbfdoc@gmail.com

Абросимова Елизавета Евгеньевна – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, abrosimova.volgmed@gmail.com

Ковалев Николай Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, kovalev.volgmed@gmail.com

Пустынников Владислав Эдуардович – студент-исследователь кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, Pustynnikov200122@gmail.com

Фомичев Евгений Андреевич – студент-исследователь кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, FomichevVSMU@gmail.com

Андриашвили Тамара Мамукаевна – студент-исследователь кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, tamuna.andriashvili@yandex.ru

Соколова Алина Андреевна – студент-исследователь кафедры фармакологии и фармации Института НМФО Волгоградского государственного медицинского университета, chudi.lis.14@gmail.com

Кляусов Андрей Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры иммунологии и аллергологии Волгоградского государственного медицинского университета, *3ak-flash@mail.ru*

Великородная Юлия Ивановна – научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГБУ Волгоградского медицинского научного центра, *alta-u@mail.ru*

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 07.02.2022; одобрена после рецензирования 14.02.2022;
принята к публикации 18.02.2022