

УДК 616.831-005.1-089:615.281



Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминоксантином при нарушениях мозгового кровообращения

Д.В. Куркин¹, Д.А. Бакулин¹, Е.И. Морковин¹, Ю.В. Горбунова¹, А.В. Стрыгин¹,
Т.М. Андриашвили¹, А.А. Соколова¹, Н.С. Болохов¹, В.Э. Пустынников¹, Е.А. Фомичев¹,
А.В. Баскова², С.С. Полодянец³, А.В. Каспарова⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», 302026, Россия, г. Орёл, ул. Комсомольская, д. 95

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 350063, Россия, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, д. 4

⁴ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 10.01.2023

После рецензирования 16.04.2023

Принята к печати 20.04.2023

Цель. Оценить церебропротекторную активность комбинации ситаглиптина с аминоксантином у крыс с острым и хроническим нарушением мозгового кровообращения, а также черепно-мозговой травмой.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar в 3 этапа с использованием модели хронической патологии: хроническое нарушение мозгового кровообращения (ХНМК), а также 2-х моделей острого повреждения головного мозга (ГМ) – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и черепно-мозговая травма (ЧМТ). ХНМК моделировали двусторонним стенозированием общих сонных артерий (на 50%); в качестве ОНМК использовали модель геморрагического инсульта, вызванного внутримозговой инъекцией аутокрови; ЧМТ моделировали механическим повреждением ткани ГМ. Для оценки тяжести течения патологии использовали следующие тесты: «Адгезивный тест», «Открытое поле», «Водный лабиринт Морриса», а также шкалы Garcia и «Combs&D'Alecy». У животных с острым повреждением ГМ в конце эксперимента определяли выраженность отека пораженной гемисферы. В качестве лечения вводили ситаглиптин (10 мг/кг), аминоксантин (25 мг/кг) или их комбинацию. Полученные данные подвергались статистической обработке.

Результаты. В ходе исследования было установлено, что введение комбинации ситаглиптина с аминоксантином, в отличие от действия каждого из компонентов по отдельности, оказывало церебропротекторное действие у животных с хроническим или острым вариантом повреждения ГМ, снижая выраженность психоневрологических (когнитивных и сенсорно-моторных) нарушений, а также отека ГМ.

Заключение. Аминоксантин как блокатор iNOS усиливает действие ситаглиптина, предотвращая развитие отека ГМ и уменьшая выраженность неврологического дефицита (выраженность когнитивных и сенсорно-моторных нарушений), у животных с острой или хронической недостаточностью мозгового кровообращения.

Ключевые слова: ингибиторы ДПП-4; ситаглиптин; доклинические исследования; острые и хронические нарушения мозгового кровообращения; черепно-мозговая травма

Список сокращений: iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; mNSS – шкала оценки тяжести неврологической симптоматики; NO – оксид азота (II); GI – геморрагический инсульт; ГМ – головной мозг; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; иДПП-4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4; НГЛТ-2 – натрий-глюкозный котранспортер 2-го типа; НМК – нарушения мозгового кровообращения; АД – артериальное давление; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ОСА – общая сонная артерия; ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения; ЧМТ – черепно-мозговая травма; ЭД – эндотелиальная дисфункция.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, А.В. Баскова, С.С. Полодянец, А.В. Каспарова. Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминоксантином при нарушениях мозгового кровообращения. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):104-113. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-104-113

© Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, А.В. Баскова, С.С. Полодянец, А.В. Каспарова, 2023

For citation: D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, Yu.V. Gorbunova, A.V. Strygin, T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.S. Bolokhov, V.E. Pustynnikov, E.A. Fomichev, A.V. Baskova, S.S. Polodyants, A.V. Kasparova. Cerebroprotective effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in disorders of cerebral circulation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):104-113. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-104-113

Cerebroprotective effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in disorders of cerebral circulation

D.V. Kurkin¹, D.A. Bakulin¹, E.I. Morkovin¹, Yu.V. Gorbunova¹, A.V. Strygin¹,
T.M. Andriashvili¹, A.A. Sokolova¹, N.S. Bolokhov¹, V.E. Pustynnikov¹, E.A. Fomichev¹,
A.V. Baskova², S.S. Polodyants³, A.V. Kasparova⁴

¹ Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Orel State University n. a. I.S. Turgenev,
95, Komsomolskaya Str., Orel, Russia, 302026

³ Kuban State Medical University
4, Mitrofan Sedin Str., Krasnodar, Russia, 350063

⁴ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 10 Jan 2023

After peer review 16 April 2023

Accepted 20 April 2023

The aim of the study was to evaluate a cerebroprotective activity of the sitagliptin and aminoguanidine combination in rats with an acute and chronic cerebral circulation insufficiency, as well as with a traumatic brain injury.

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats in 3 stages using, respectively, a model of a chronic pathology: a chronic cerebral circulation insufficiency (CCCI), as well as 2 models of the acute brain injury (BI): an acute cerebral circulation insufficiency (ACCI), and a traumatic brain injury (TBI). A CCCI was modeled by a bilateral stenosis of the common carotid arteries (by 50%), a model of a hemorrhagic stroke caused by an intracerebral injection of the autologous blood was used as a stroke, a TBI was modeled by a mechanical damage to the brain tissue. To assess the pathology course severity, the following tests were used: Adhesion test, Open field, Morris water maze test, as well as Garcia and Combs&D'Alecy scales. In the animals with an acute damage to the brain at the end of the experiment, the severity of edema of the affected hemisphere was also determined. The treatment was with sitagliptin (10 mg/kg), aminoguanidine (25 mg/kg), or a combination thereof. The obtained data were subjected to the statistical processing.

Results. In the course of the study, it was found out that the administration of a sitagliptin and aminoguanidine combination, unlike each of the components, had a cerebroprotective effect in the animals with a chronic or acute damage to the brain, reducing the severity of psychoneurological (cognitive and sensory-motor) disorders, as well as the brain edema.

Conclusion. Aminoguanidine, as an iNOS blocker, enhances the action of sitagliptin, preventing the brain edema development and reducing the neurological deficit severity (the severity of cognitive and sensory-motor impairments) in the animals with an acute and chronic cerebral circulation insufficiency.

Keywords: DPP-4 inhibitors; sitagliptin; preclinical studies; acute and chronic cerebral circulation insufficiency; traumatic brain injury

Abbreviations: iNOS – inducible nitric oxide synthase; mNSS – modified Neurological Severity Score; NO – nitric oxide (II); HS – hemorrhagic stroke; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; iDPP-4 – inhibitors of dipeptidyl peptidase-4; SGLT-2 – sodium-glucose linked transporter-2; BP – blood pressure; CVDs – cerebrovascular disorders; ACCI – acute cerebral circulation insufficiency; CCAs – common carotid arteries; CCCI – chronic cerebral circulation insufficiency; TBI – traumatic brain injury; ED – endothelial dysfunction.

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации количество пациентов, страдающих от хронических нарушений мозгового кровообращения (ХНМК), составляет не менее 700 случаев на 100 000 человек. ХНМК проявляется как диффузное и постепенно усиливающееся ухудшение кровоснабжения мозговой ткани, способствующее формированию когнитивных и сенсорно-моторных нарушений. Фармакотерапия ХНМК направлена на улучшение гемоперфузии и метаболизма нервной ткани, а также снижение воспаления [1]. Значительное распространение имеют различные виды острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), характеризующиеся выраженным неврологическим дефицитом, высокой летальностью и требующие длительной реабилитации с возможностью применения нейропротективных препаратов с политаргетным механизмом действия

(противовоспалительным, антиоксидантным, вазодилатирующим и др.).

В 2010 и 2015 годах в мире было зарегистрировано соответственно 5,406 и 6,240 млн. смертей от инсультов. При этом значительной летальностью (около 60%) отличается геморрагический инсульт (ГИ), который составляет 10–15% от всех видов нарушений мозгового кровообращения (НМК) [2, 3]. Его самыми значимыми факторами риска являются наличие в анамнезе НМК, высокое артериальное давление (АД) и сахарный диабет (СД) [4].

Проблема черепно-мозговых травм (ЧМТ) также представляет собой серьезный вызов для современной медицины, особенно учитывая ограниченное число доступных и эффективных методов лечения, учитывающих патогенетические механизмы (воспаление, отёк и др.) [5].

Последствием ЧМТ, а также острых и хронических НМК является формирование неврологических нарушений, различных по спектру и выраженности, приводящих к потере трудоспособности и снижению качества жизни: когнитивные нарушения (проблемы с памятью, вниманием и обучением), сенсорные, двигательные и др. расстройства. Имеющий по распространённости характер пандемии СД существенно усложняет тяжесть течения и ухудшает прогноз острых и хронических патологий головного мозга (ГМ), связанных как с НМК, так и ЧМТ [4, 6]. В связи с этим существует потребность в лекарственных препаратах с церебропротекторным потенциалом, способных улучшить прогноз течения различного вида травм ГМ, которые также можно применять и в условиях СД.

В настоящее время доступен широкий спектр препаратов, способных в разной степени улучшать интеллектуально-мнестические способности человека, в том числе и при повреждениях тканей ГМ. Однако их эффективность не полностью соответствуют ожиданиям специалистов, поэтому продолжается поиск новых соединений и подходов, применение которых позволило бы снизить частоту развития деменции, повысить устойчивость тканей ГМ к действию различных неблагоприятных факторов, облегчить и/или ускорить их восстановление после различного вида травм.

Последние 10 лет не снижается интерес специалистов к препаратам из группы инкретиномиметиков. Клинические данные указывают на снижение риска возникновения и тяжести течения сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с СД 2 типа (инфаркт миокарда и инсульт) при применении прежде всего аналогов глюкагонподобного пептида-1 (ГПП-1). Открытые плейотропные свойства инкретиномиметиков лишь частично связаны с гипогликемическим действием, а их основой являются разнонаправленные эффекты ввиду широкой распространённости рецептора к ГПП-1 в организме и соответственно последствиями его активации [7, 8]. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ИДПП-4), обладая умеренной антигипергликемической активностью, являются одними из самых доступных и востребованных препаратов из группы инкретиномиметиков и активно изучаются в виде новых фиксированных комбинаций [9].

Аминогуанидин является ингибитором образования конечных продуктов гликирования и индуцибельной изоформы синтазы оксида азота (iNOS), активность которой сопровождается рядом позитивных эффектов, но лежит в основе патофизиологических процессов, составляющих суть большинства сердечно-сосудистых заболеваний [10]. Учитывая значительную негативную роль iNOS в патогенезе НМК, снижение активности этого фермента может стать эффективным способом терапии этой группы патологий. Во многих экспериментальных работах показано выраженное протекторное действие аминогуанидина [11–14] при

различных НМК, сопровождающихся активацией iNOS, тканевой гипоксией и отёком.

Изначально аминогуанидин разрабатывали в качестве антигликирующего агента с целевым позиционированием на применение при диабетической нефропатии [15]. Несмотря на прекращение клинических исследований из-за сомнений в безопасности и недостаточной эффективности, потенциал аминогуанидина в качестве перспективной молекулы для профилактики и лечения СД и его сосудистых осложнений остаётся нераскрытым, в том числе при комбинировании с другими антигипергликемическими средствами. Как было обозначено выше, аминогуанидин проявлял выраженное церебропротекторное действие на различных экспериментальных моделях НМК, а для ИДПП-4 также был доказан кардио- и церебропротекторный потенциал, не связанный с их гипогликемическим действием. Исходя из этого представляется целесообразным оценить возможность их сочетанного применения в доклинических исследованиях с целью коррекции последствий ХНМК и в условиях острого повреждения головного мозга (ОНМК и ЧМТ).

ЦЕЛЬ. Оценить церебропротекторную активность комбинации ситаглиптина с аминогуанидином у крыс с острым и хроническим НМК, а также ЧМТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модельные объекты

Все эксперименты были выполнены в соответствии с законодательством Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011) и техническими стандартами Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике. Дизайн исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ОНРР), о чем свидетельствует выписка из протокола № 132 от 20 мая 2019 года заседания Комиссии по экспертизе исследований при Волгоградском государственном медицинском университете.

Работу выполняли на 150 самцах крыс линии Wistar (возраст 5–6 мес, масса тела 250–300 г, питомник лабораторных животных «Рапполово»). После поступления из питомника животных помещали на карантин длительностью 14 сут в виварий Волгоградского государственного медицинского университета, в помещении которого они содержались на протяжении всего эксперимента при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях 40–60% влажности и сменяющегося цикла день/ночь (12/12 ч) с неограниченным доступом к пище и воде.

Все операционные процедуры проводили с использованием комбинированного наркоза: золетил 20 мг/кг (Zoletil®100, Valdepharm, Франция) + ксилазил 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Нидерланды) внутривенно. Глаза животных на протяжении операции были закрыты, на них наносили блефарогель для предотвращения

высыхания роговицы. После операции раны орошали раствором хлоргексидина (0,05%), края сшивали непрерывным хирургическим швом.

Моделирование патологии

Моделирование ХНМК посредством стеноза общих сонных артерий [16]

После выделения общих сонных артерий (ОСА) сосуды подвязывали к нейлоновой нити заданного диаметра, которую затем извлекали чтобы сосуд заполнил освободившееся пространство, которое позволит кровотоку восстановиться лишь на 50%. Скорость кровотока оценивали с использованием доплерографии, прибор полиграф MP150 с модулем LDF100C (Biorac Systems, США).

Моделирование геморрагического инсульта посредством внутримозговой инъекции аутокрови [17]

Наркотизированное животное фиксировали в стереотаксическом аппарате (Shenzhen RWD Life Science Co, Китай) с использованием зубного держателя и ушных фиксаторов. Сбривали шерстяной покров над теменной костью. После обработки операционного поля скальпелем делали разрез кожи по срединной линии над брегмой (длиной 8–10 мм). С использованием бормашины РЭСТАР-03 (ООО «РЭСТАР», Россия) на уровне брегмы (на 3,5 мм латеральнее средней линии) просверливали черепное отверстие диаметром 1 мм в левом коронковом шве. Далее забирали 100 мкл крови из хвостовой вены в туберкулиновый шприц без антикоагулянта, фиксировали его в стереотаксическом аппарате и медленно вводили через черепное отверстие под оболочки ГМ, используя иглу толщиной 29G.

Моделирование черепно-мозговой травмы

Для моделирования острой травмы ГМ (ЧМТ) после аналогичной подготовки операционного поля, согласно стереотаксическим координатам с использованием бормашины просверливали отверстие в теменной кости (Ø 4 мм), после чего модифицированным мандрен-ножом наносили травму тканей ГМ.

Определение выраженности патологических изменений и эффективности лечения

Неврологический дефицит у животных с острой патологией (ОНМК и ЧМТ) оценивали с использованием следующих шкал: 9-балльная шкала «Combs&D'Alecy» и шкала Garcia [18, 19]. Шкала «Combs&D'Alecy» применялась для выявления экстрапирамидных нарушений. Она включает в себя проведение тестов для оценки мышечной силы, цепкости-тяги и равновесия животных. Меньший суммарный балл соответствует более выраженным неврологическим нарушениям. По шкале Garcia определяли выраженность следующих показателей: мышечный тонус, двигательная активность, основные

физиологические рефлексы, координация движений, тактильная чувствительность. По каждому тесту присваивали следующие баллы: 3 – норма, 2 – незначительное нарушение симметричности, 1–0 – выраженные нарушения или отсутствие движения.

Психоневрологический дефицит животных с ХНМК оценивали по модифицированной шкале неврологической симптоматики mNSS (modified Neurological Severity Score) [18]. Оценка по этой шкале осуществляется на основе различных параметров, включая силу мышц, двигательные навыки, сенсорные функции и координацию движений. Максимальное количество баллов – 14, минимальное – 0. Чем выше суммарный балл по шкале mNSS, тем более тяжёлым считается неврологический дефицит.

Сенсорно-моторные нарушения (чувствительность и мелкую моторику передних конечностей) оценивали с помощью адгезивного теста [18, 20]. В качестве инородного предмета на волярную поверхность передних лап животного быстро приклеивали квадратные отрезки лейкопластыря (5 мм², Верофарм, Россия). О выраженности сенсорно-моторных нарушений судили по времени обнаружения и удаления животными лейкопластыря с лап.

Двигательные нарушения оценивали в тесте «Открытое поле», в котором по количеству пересечённых в течение 3-х мин секторов судили о спонтанной двигательной активности, а по сумме стоек и заглядываний в отверстия – об ориентировочно-исследовательской активности.

Степень гидратации тканей ГМ определяли следующим образом: большие полушария рассекали на ипси- и контралатеральную (левую и правую) части, взвешивали и высушивали поражённую гемисферу в термостате при 100°C в течение 24 ч для определения % содержания воды (W, %) по формуле:

$$W = \frac{\text{влажный вес} - \text{сухой вес}}{\text{влажный вес}} \times 100\%$$

Когнитивные функции животных с ХНМК оценивали в тесте «Водный лабиринт Морриса» [18, 21], который предназначен для исследования формирования пространственной памяти. Установка представляет собой бассейн для воды, разделённый на 8 обозначенных зон (4 основные и 4 дополнительные; Рис. 1), в центр одной из которых помещена погруженная на 1 см в воду платформа, а на стенах установки (в точках «N», «E», «S», «W») закреплены визуальные ориентиры.

Схема эксперимента: в течение 4 тренировочных дней (по 4 попытки в день) животное помещали в воду на расстоянии 10 см от стенки лабиринта по определенной схеме и фиксировали латентный период нахождения затопленной платформы (Рис. 1). Тестовые сессии длились по 1 мин с перерывом между подходами 30 сек. Если крыса в течение 1 мин не находила платформу, её приманивали к платформе и оставляли на ней на 15 сек.

Дизайн исследования

Исследование выполняли в 3 серии (Рис. 2): в первой моделировали ХНМК путём стенозирования ОСА на 50%, лечение начинали через 40 сут после операции и продолжали в течение 21 сут; во 2-й и 3-й сериях эксперимента животным моделировали острую травму ГМ методами создания ЧМТ или ГИ, лечение начинали на 2-е сут после операции и проводили в течение 14 сут, выраженность симптомов психоневрологического дефицита во всех сериях оценивали до и после лечения. В качестве лечения вводили ситаглиптин (Янувия, 10 мг/кг/сут., *per os*) или аминоксантидин (Sigma, 25 мг/кг/сут., *v/b*) или их комбинацию (доза, режим и путь введения для каждого препарата сохранялся). В конце исследования у животных с ХНМК определяли выраженность нарушений когнитивных функций в тесте «Водный лабиринт Морриса», а у животных с ОНМК, после эвтаназии, определяли выраженность отёка ГМ.

В каждой серии исследования животных разделяли на равные ($n=10$) группы: интактная, ОНМК/ХНМК+плацебо (0,9% NaCl) – «Плацебо», ОНМК/ХНМК+ситаглиптин – «Сит», ОНМК/ХНМК+аминоксантидин – «Амг», ОНМК/ХНМК+ситаглиптин+аминоксантидин – «Сит+Амг». Дозы веществ подбирали с учётом литературных данных [22, 23].

Эвтаназия

В соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 года, животных эвтаназировали после завершения эксперимента путём помещения в CO₂-камеру, в условиях заполнения её диоксидом углерода.

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с применением программного обеспечения Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кейлса. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$. Цифровые значения представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частичная перевязка ОСА на 50% вызывала у животных выраженные симптомы психоневрологического дефицита, которые проявились на 61-е сут эксперимента в виде повышения балла неврологического дефицита по шкале mNSS (4,2±2,1 против 0,1±0,1; $p < 0,05$), снижение показателей двигательной (18,6±7,1 против 49,8±15,5; $p < 0,05$) и ориентировочно-исследовательской активности (3,1±0,5 против 7,5±1,6; $p < 0,05$), латентного периода

обнаружения и снятия инородных предметов с ладоней передних лап животного. У данных животных также отмечали нарушения когнитивной функции поскольку они значительно дольше запоминали место нахождения затопленной платформы в водном лабиринте Морриса (54,9±12,9 против 22,1±7,2; $p < 0,05$ соответственно). У животных, которым частично перевязывали ОСА и в течение 21 сут вводили ситаглиптин или аминоксантидин, симптомы психоневрологического дефицита были выражены в меньшей степени чем у тех, которым вводили плацебо, но результаты исследования указывали на недостаточную эффективность этих препаратов. При введении комбинации этих препаратов животным с частично перевязанными ОСА симптомы психоневрологического дефицита, показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, мелкой моторики и когнитивной дисфункции были выражены в меньшей степени. При этом различия с показателями животных, которым вводили плацебо, были статистически значимыми ($p < 0,05$), что позволило судить о наличии церебропротекторных свойств исследуемой комбинации (табл. 1).

У животных, которым моделировали острую травму ГМ, возникающую при ЧМТ или ГИ, отмечали выраженные нарушения, которые проявлялись в виде симптомов неврологического дефицита по шкалам «Combs&D'Alecy» и Garcia, снижении двигательной и ориентировочной активности, нарушениями мелкой моторики передних конечностей (табл. 2). Также у этих животных фиксировали более выраженный отёк головного мозга. У животных, которым после моделирования ЧМТ или моделирования ГИ вводили ситаглиптин или аминоксантидин, показатели психоневрологического дефицита незначимо отличались от зафиксированных в группе, получавшей плацебо. При введении комбинации этих препаратов симптомы психоневрологического дефицита, как и степень отёка ГМ были значимо ниже по сравнению с группой без лечения в условиях обеих патологий. Полученные результаты свидетельствовали о значимом протективном действии комбинации ситаглиптина с аминоксантидином у животных с острой травмой ГМ (ОНМК и ЧМТ).

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая неутешительную динамику распространения нарушений углеводного обмена и ожирения, бремя СД и соответственно его осложнений будет также расти. Несмотря на значительные достижения в области фармакологии (разработка новых классов антигипергликемических лекарственных средств – ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (НГЛТ-2), агонисты ГПП-1 и ГПП-1/ГИП), терапии (разработка новых алгоритмов и тактик лечения пациентов с СД) и диагностики (раннее выявление, доступный скрининг), эффективность лечения СД и профилактика его осложнений остаются недостаточными.

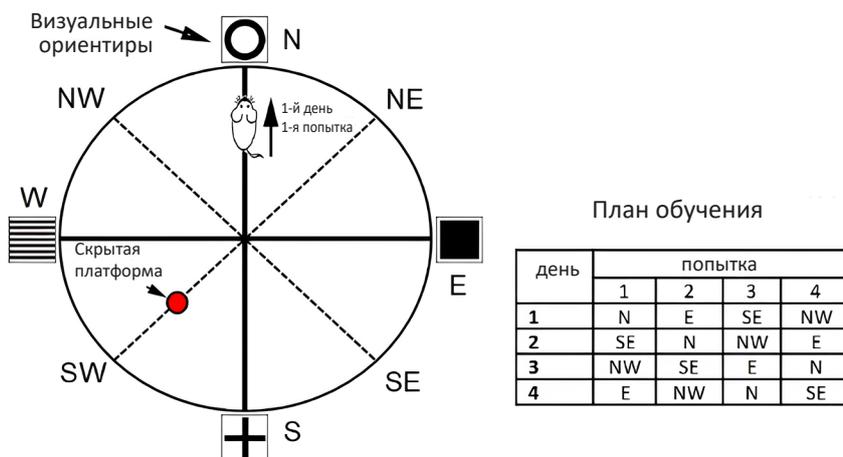


Рисунок 1 – Разметка установки и схема мест посадки животных при обучении в водном лабиринте Морриса

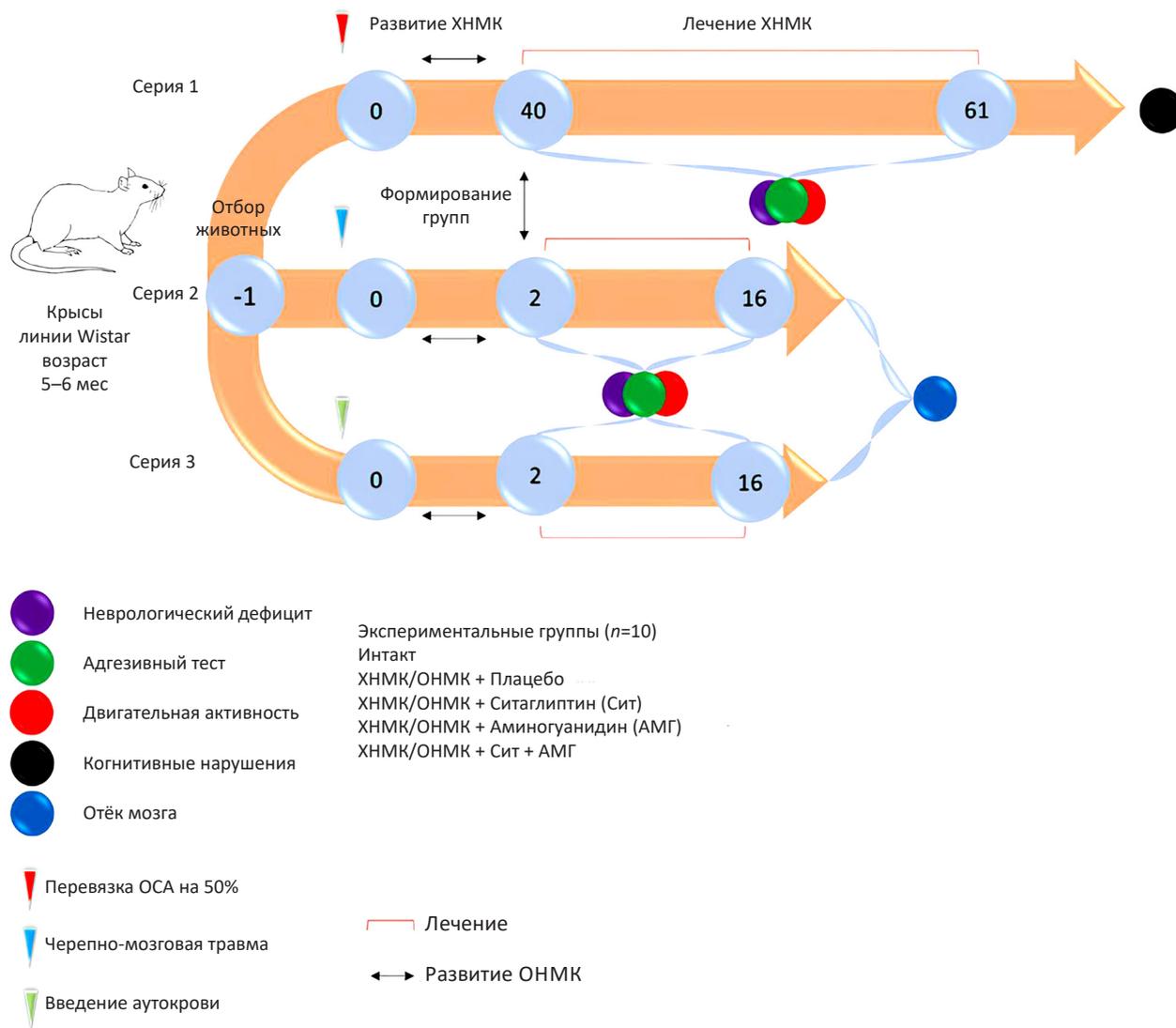


Рисунок 2 – Дизайн исследования

Примечание: ОСА – общие сонные артерии, ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, Сит – ситаглиптин, АМГ – аминогуанидин

Таблица 1 – Показатели психоневрологического дефицита у животных с ХНМК

Показатель		Интактные	ХНМК+			
			Плацебо	Сит	Амг	Сит+Амг
Шкала mNSS, баллы		0,1±0,1*	4,2±2,1	1,2±0,4*	1,1±1,2	0,5±0,8*
Открытое поле	ДА	49,8±15,5*	18,6±7,1	27,3±8	25,6±5,4	35,8±7,8*
	ОИА	7,5±1,6*	3,1±0,5	3,4±1,3	3,9±1,6	3,2±1,2
Адгезивный тест	Среднее время обнаружения стикера, сек	10,9±5,8*	101,2±41,6	41,7±17,6*	48,4±31,6	33,6±15,8*
	Среднее время снятия стикера, сек	11,2±6,3*	114,2±49,4	43,3±15,7*	53,8±32,2	39,1±11,9*
Водный лабиринт Морриса	День 1, время поиска, сек	72,3±5,6*	95,8±15,1	89,4±10,7	82,8±5,7	86,8±9,5
	День 2, время поиска, сек	59,1±8,2	69,7±19,3	79,4±11,2	69,7±9,5	59,9±7,5
	День 3, время поиска, сек	56,3±12,3	57,1±11,1	69,9±10,7	52,1±8,5	45,1±7,9*
	День 4, время поиска, сек	32,3±7,3*	51,8±14,3	49,4±10,8	49,8±4,9	37,1±5,2*

Примечание: ДА – двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения, Амг – аминуганидин, Сит – ситаглиптин, * – различия с группой плацебо значимы при $p < 0,05$

Таблица 2 – Показатели психоневрологического дефицита у животных с острой травмой ГМ (ОНМК и ЧМТ)

Группа	Неврологический дефицит, балл		Открытое поле		Адгезивный тест				Содержание воды в поражённой гемисфере, %
	Шкала «Combs & D'Alecy»	Шкала Garcia	ДА	ОИА	Левая лапа Ипсилатеральная поражению		Правая лапа Конралатеральная поражению		
					Время обнаружения стикера, сек	Время снятия стикера, сек	Время обнаружения стикера, сек	Время снятия стикера, сек	
Интакт	9±0,0*	18±0,0*	42,4±8,2*	25,4±1,6*	15,8±1,1*	23,9±1,4*	14,8±1,3*	19,2±1,2*	76,32±0,03*
ЧМТ+ плацебо	3±0,1	8,7±0,4	5,1±0,9	5,2±0,3	123,6±15,3	135,9±14,5	180,0±0,0	180,0±0,0	78,58±0,15
ЧМТ+Сит	3,1±0,2	8,7±0,3	4,0±1,2	1,9±0,4	91,1±14,1*	102,1±12,7*	180,0±0,0	180,0±0,0	78,88±0,21
ЧМТ+Амг	3,2±0,2	8,8±0,4	5,2±1,3	1,2±0,2	99,6±12,4	108,9±11,5	180,0±0,0	180,0±0,0	78,19±0,13*
ЧМТ+Сит+Амг	4,9±0,2*	9,9±0,5	20,5±2,9*	10,5±0,3*	92,9±14,4*	102,7±22,2	180,0±0,0	180,0±0,0	77,83±0,12*
Интакт	9±0,0*	18±0,0*	45,2±1,8*	19,4±1,8*	13,9±1,4*	15,8±1,1*	14,8±1,8*	19,2±1,9*	76,06±0,13*
ОНМК+ плацебо	3±0,3	8,5±0,6	5,5±0,9	3,8±0,4	91,2±11,3	96,8±12,1	180,0±0,0	180±0,0	79,12±0,15
ОНМК+Сит	3,9±0,2	9,6±0,3	4,8±0,6	3,2±0,6	80,8±12	83,4±18,2	128,2±10,1*	180±0,0	78,59±0,19*
ОНМК+Амг	3,0±0,4	8,7±0,6	5,8±0,3	2,2±0,5	81,8±11	85,9±14,7	135,3±8,1*	180±0,0	78,49±0,29*
ОНМК+Сит+Амг	4,8±0,2*	10,9±0,5*	25,0±1,7*	15,1±2,3*	52,5±11,6*	63,6±11,4*	66±11,8*	75,2±8,1*	78,05±0,24*

Примечание: ЧМТ – черепно-мозговая травма, t – время, ДА – двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, Амг – аминуганидин, Сит – ситаглиптин, * – различия (в сравнении с группой плацебо) значимы при $p < 0,05$.

Очевидно, что компенсация нарушений углеводного обмена является залогом эффективной профилактики осложнений СД, но, в силу различных причин, лишь небольшая доля пациентов с этим диагнозом могут достигать и поддерживать значения гликемии, установленные врачом. Низкая доступность современных высокоэффективных антигипергликемических лекарственных средств, а также наличие побочных эффектов, ограничивающих приверженность пациентов к лечению, являются существенными препятствиями для попыток управления СД.

Основной причиной смерти при СД остаются его сердечно-сосудистые осложнения, ведущей причиной которых является формирующаяся под действием хронической гипергликемии

эндотелиальная дисфункция и, как следствие, нарушение микроциркуляции. Даже случайно произошедшая ЧМТ в условиях СД протекает значительно тяжелее, с более высоким риском инвалидизации или летального исхода [6]. Хроническое воспаление и оксидативный стресс не только оказывают повреждающее действия на эндотелий, усугубляя его дисфункцию, но и повышают экспрессию iNOS, что в данных условиях играет значительную негативную роль.

Продукция оксида азота индуцибельной синтазой (iNOS) значительно превышает таковую у остальных изоформ. Помимо участия NO в процессе синтеза, секреции инсулина и микроциркуляции, эта молекула принимает участие в поддержании гомеостаза всех тканей организма. Высокие

концентрации NO, возникающие при активации iNOS, оказывают негативное действие на сердечно-сосудистую систему усиливая эндотелиальную дисфункцию (ЭД). Подавление активности iNOS может играть положительную роль в отношении ЭД и функционировании инсулярного аппарата [10].

В разные годы разрабатывались различные подходы к модуляции активности iNOS – блокирование продукции АФК в восходящем направлении, введение ВН4, введение фолиевой кислоты для рециркуляции ВН2 в ВН4, применение ингибиторов аргиназы, ресвератрола, кальция добезилата, кавноксина, усилителей транскрипции NOS (AVE3085 и AVE9488), L-аргинина, блокаторов и активаторов различных NOS [10], но ни один из них не нашёл широкого распространения в медицинской практике.

Аминогуанидин разрабатывался в качестве лекарственного средства для терапии СД и его осложнений (нефропатия). Этот препарата совмещает в себе несколько потенциально ценных свойств, а именно способность снижать активность iNOS и уменьшать накопление конечных продуктов гликирования. Аминогуанидин был снят с продвижения на фармацевтическом рынке по причинам, которые в настоящее время могут быть пересмотрены с позиций современных требований (изменение показаний, проведение дополнительных исследований) и возможностей (оптимизация молекулы, проведение дополнительных исследований по протоколам с использованием современных методов сбора и обработки информации). Аминогуанидин интересен также с точки зрения результатов доклинических исследований его церебропротекторных свойств при различных НМК, что приобретает высокую ценность учитывая причины и последствия осложнений СД.

Ингибиторы ДПП-4 первые представители класса антигипергликемических препаратов механизм действия которых связан с влиянием на систему

инкретинов, которая участвует не только в регуляции углеводного обмена, но и оказывает ряд не связанных с ним эффектов. Так для инкретиномиметиков в большей (агонисты ГПП-1) или меньшей (идГПП-4) степени установлены церебро-, кардио- и эндотелиопротективные свойства [24].

Создание комбинированных лекарственных препаратов, наряду с разработкой оригинального лекарственного средства или его аналога, новой лекарственной формы, нового показания к применению, является одной из выигрышных стратегий получения нового фармацевтического продукта.

Учитывая широкий спектр плейотропных эффектов идГПП-4, перечень которых расширяется по мере накопления опыта клинического применения, мы посчитали целесообразным оценить церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина и аминогуанидина.

В данной работе церебропротекторные эффекты комбинации ситаглиптина и аминогуанидина устанавливали на моделях хронического и острого НМК и было обнаружено, что действие комбинации значительно превосходит эффекты препаратов, вводимых по отдельности, что указывает на синергизм, обусловленный различными мишенями воздействия и соответственно эффектами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинированное применение ситаглиптина и аминогуанидина оказывало церебропротекторное действие при ХНМК, воспроизводимого стенозом ОСА на 50% и острой травмой ГМ, воспроизводимой нанесением ЧМТ или при экспериментальном ГИ, снижая выраженность симптомов психоневрологического дефицита, улучшая когнитивные функции и уменьшая выраженность отёка ГМ. Комбинация ситаглиптина с аминогуанидином может стать основой разработки нового перспективного подхода к лечению СД и его осложнений.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 20-75-10013).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин, А.В. Стрыгин – идея и планирование исследования, оформление графического материала, утверждение финальной версии рукописи; Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; Е.И. Морковин, А.В. Каспарова, С.С. Полодянец – статистическая обработка данных, оформление графического материала, редактирование текста; Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, А.В. Баскова – сбор и анализ литературных данных, написание рукописи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Соловьева Э.Ю., Амелина И.П. Церебральная микроангиопатия в развитии хронической ишемии мозга: подходы к лечению // Медицинский совет. – 2020. – № 2. – С. 16–24. DOI: 10.21518/2079-701X2020-2-16-24
2. Мачинский П.А., Плотникова Н.А., Ульянов В.Е., Кемайкин С.П., Рыбаков А.Г. Сравнительная характеристика показателей смертности и летальности от ишемического и геморрагического инсультов в России // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 3 (51). – С. 101–118. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
3. Feigin V.L., Krishnamurthi R.V., Parmar P., Norrving B., Mensah G.A., Bennett D.A., Barker-Collo S., Moran A.E., Sacco R.L., Truelsen T., Davis S., Pandian J.D., Naghavi M., Forouzanfar M.H., Nguyen G., Johnson C.O., Vos T., Meretoja A., Murray C.J., Roth G.A. Update on the Global Burden of Ischemic and Hemorrhagic Stroke in 1990–2013: The GBD 2013 Study // *Neuroepidemiology*. – 2015. – Vol. 45, No. 3. – P. 161–176. DOI: 10.1159/000441085
4. Воронина В.П., Загребельный А.В., Лукина Ю.В., Кутишенко Н.П., Дмитриева Н.А., Лерман О.В., Лукьянов М.М., Окшина Е.Ю., Благодатский С.В., Иванова Л.П., Бойцов С.А., Драпкина О.М., Марцевич С.Ю. Особенности течения мозгового инсульта у больных сахарным диабетом по данным регистра РЕГИОН-М // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18, № 5. – С. 60–65. DOI: 10.15829/1728-8800-2019-5-60-65
5. Galgano M., Toshkezi G., Qiu X., Russell T., Chin L., Zhao L.R. Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors // *Cell Transplant*. – 2017. – Vol. 26, No. 7. – P. 1118–1130. DOI: 10.1177/0963689717714102
6. Lustenberger T., Talving P., Lam L., Inaba K., Bass M., Plurad D., Demetriades D. Effect of diabetes mellitus on outcome in patients with traumatic brain injury: a national trauma databank analysis // *Brain Inj*. – 2013. – Vol. 27, No. 3. – P. 281–285. DOI: 10.3109/02699052.2012.743178
7. Аметов А.С., Невольникова А.О., Тертычная Е.А. Возможности агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в снижении сердечно-сосудистого риска у пациентов с сахарным диабетом типа 2: что нового? // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2019. – Т. 8, № 3 (28). – С. 44–53. DOI: 10.24411/2304-9529-2019-13005
8. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 58–67. DOI: 10.14341/probl201763149-58
9. Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Морковин Е.И., Стрыгин А.В., Горбунова Ю.В., Волотова Е.В., Макаренко И.Е., Сапарова В.Б., Драй Р.В., Петров В.И. Физиология, фармакология и перспективы применения ингибиторов дипептидилпептидазы-4 // Фармация и фармакология. – 2023. – Т. 11, № 1. – С. 19–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-19-47
10. Куркин Д.В., Абросимова Е.Е., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Дубровина М.А., Борисов А.В., Стрыгин А.В., Морковин Е.И., Тюренков И.Н. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 130–153. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-2-130-153
11. Vakili A., Zahedi-Khorasani M. Effect of aminoguanidine on post-ischemic damage in rodent model of stroke // *Pak J Pharm Sci*. – 2008. – Vol. 21, No. 1. – P. 24–28.
12. Vakili A., Hosseinzadeh F., Sadogh T. Effect of aminoguanidine on post-ischemic brain edema in transient model of focal cerebral ischemia // *Brain Res*. – 2007. – Vol. 1170. – P. 97–102. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.07.016
13. Pérez-Asensio F.J., Hurtado O., Burguete M.C., Moro M.A., Salom J.B., Lizasoain I., Torregrosa G., Leza J.C., Alborch E., Castillo J., Knowles R.G., Lorenzo P. Inhibition of iNOS activity by 1400W decreases glutamate release and ameliorates stroke outcome after experimental ischemia // *Neurobiol Dis*. – 2005. – Vol. 18, No. 2. – P. 375–384. DOI: 10.1016/j.nbd.2004.10.018
14. Sugimoto K., Iadecola C. Effects of aminoguanidine on cerebral ischemia in mice: comparison between mice with and without inducible nitric oxide synthase gene // *Neurosci Lett*. – 2002. – Vol. 331, No. 1. – P. 25–28. DOI: 10.1016/S0304-3940(02)00834-0
15. Thornalley P.J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts // *Arch Biochem Biophys*. – 2003. – Vol. 419, No. 1. – P. 31–40. DOI: 10.1016/j.abb.2003.08.013
16. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Верхоляк Д.В., Бакулин Д.А., Волотова Е.В., Тюренков И.Н. Изменение скорости мозгового кровообращения у крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – № 1 (61). – С. 36–39.
17. Wu G., Bao X., Xi G., Keep R.F., Thompson B.G., Hua Y. Brain injury after intracerebral hemorrhage in spontaneously hypertensive rats // *J Neurosurg*. – 2011. – Vol. 114, No. 6. – P. 1805–1811. DOI: 10.3171/2011.1.JNS101530
18. Kurkin D.V., Bakulin D.A., Morkovin E.I., Kalatanova A.V., Makarenko I.E., Dorotenko A.R., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Verkholiyak D.V., Abrosimova E.E., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Tyurenkov I.N. Neuroprotective action of Cortixin, Cerebrolysin and Actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16, No. 7. – Art. ID: e0254493. DOI: 10.1371/journal.pone.0254493
19. Дайнеко А.С., Шмонин А.А., Шумеева А.В. Методы оценки неврологического дефицита у крыс после 30-минутной фокальной ишемии мозга на ранних и поздних сроках постишемического периода // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 68–78. DOI: 10.24884/1682-6655-2014-13-1-68-78
20. Bouet V., Boulouard M., Toutain J., Divoux D., Bernaudin M., Schumann-Bard P., Freret T. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice // *Nat Protoc*. – 2009. – Vol. 4, No. 10. – P. 1560–1564. DOI: 10.1038/nprot.2009.125
21. Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory // *Nat Protoc*. – 2006. – Vol. 1, No. 2. – P. 848–858. DOI: 10.1038/nprot.2006.116
22. Han W., Li Y., Cheng J., Zhang J., Chen D., Fang M., Xiang G., Wu Y., Zhang H., Xu K., Wang H., Xie L., Xiao J. Sitagliptin improves functional recovery via GLP-1R-induced anti-apoptosis and facilitation of axonal regeneration after spinal cord injury // *J Cell Mol Med*. – 2020. – Vol. 24, No. 15. – P. 8687–8702. DOI: 10.1111/jcmm.15501
23. Sugimoto K., Yagihashi S. Effects of aminoguanidine on structural alterations of microvessels in peripheral nerve of streptozotocin diabetic rats // *Microvasc Res*. – 1997. – Vol. 53, No. 2. – P. 105–112. DOI: 10.1006/mvres.1996.2002
24. Аметов А.С., Камынина Л.Л., Ахмедова З.Г. Кардиопротективные эффекты агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 // Кардиология. – 2014. – Т. 54, № 7. – С. 92–96. DOI: 10.18565/cardio.2014.7.92-96

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Стрыгин Андрей Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6997-1601. E-mail: drumsav@mail.ru

Андриашвили Тамара Мамукаевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0983-666X. E-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

Соколова Алина Андреевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии

и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5116-8458. E-mail: chudi.lis.14@gmail.com

Болохов Никита Сергеевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2458-5731. E-mail: neekit.main@gmail.com

Пустынников Владислав Эдуардович – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9561-5320. E-mail: pustynnikov200122@gmail.com

Фомичев Евгений Андреевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1837-4337. E-mail: fomichevVSMU@gmail.com

Баскова Александра Владимировна – студент 5-го курса кафедры стоматологии ФГБОУ ВО «ОГУ им. И.С. Тургенева». ORCID ID: 0009-0005-7573-1638. E-mail: baskova_a@internet.ru

Полодянец Саркис Суменович – студент 5-го курса, стоматологический факультет, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0003-5406-4878. E-mail: vip.polodyants@mail.ru

Каспарова Анна Вадимовна – студент 5-го курса, стоматологический факультет, ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0002-7292-5451. E-mail: anyakaspasrova@yandex.ru