

На правах рукописи

Бочкарева

Бочкарева Лейла Азимовна

**Противовоспалительные эффекты метформина и ингибиторов
натрий-глюкозного котранспортера 2 типа на динамику атеросклеротических проявлений
у больных сахарным диабетом 2 типа**

3.1.19. Эндокринология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Недосугова Людмила Викторовна

Официальные оппоненты:

Суплотова Людмила Александровна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапии с курсами эндокринологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, профессор кафедры

Мисникова Инна Владимировна – доктор медицинских наук, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского), отделение терапевтической эндокринологии, руководитель отделения; кафедра эндокринологии ФУВ, профессор кафедры

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «22» сентября 2025 г в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.33 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук

Мартirosян Нарине Степановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Распространенность сахарного диабета в мире неукоснительно растет. Численность заболеваемости сахарным диабетом 2 типа (СД2) по прогнозам ВОЗ составит к 2045 году 693 млн. Принимая во внимание данные Федерального регистра сахарного диабета Российской Федерации по состоянию на январь 2023 года количество пациентов, состоящих на учете с диагнозом сахарный диабет достигает 4962762 (3,31% населения РФ), при чем на долю СД2 приходится 4,58 млн. пациентов (92,33 %) (Викулова и др., 2023). Сахарный диабет входит в десять основных причин смертности по данным ВОЗ, смертность от сахарного диабета выросла на 70 % с 2000 года. При сравнительном анализе средней продолжительности жизни пациентов с СД2 и общей популяцией выявлено снижение продолжительности жизни в среднем на 5 лет при наличии СД2 в анамнезе, что обусловлено, в первую очередь, активными атеросклеротическими процессами, которые неизбежно приводят к пятикратному росту показателей летальности от сердечно-сосудистой патологии. (Недосугова, 2013). Несомненное первенство среди патологий, приводящих к повышению смертности и ухудшению качества жизни у пациентов с СД2, отводится атеросклерозу (АС). Множественные метаболические нарушения, характерные для СД2, вовлечены в прогрессирование АС. На сегодняшний день одной из ведущих причин изменений сосудистого гомеостаза и периферической нервной системы считают гипергликемию наряду с дислипидемией, инсулинорезистентностью, повышенным артериальным давлением. Известно, что даже непродолжительные эпизоды гипергликемии оказывают эффект долгосрочных эпигенетических модификаций, ассоциированных с изменением характера экспрессии ряда генов, даже при последующей нормализации уровня гликемии. Ведущую роль в появлении и прогрессировании АС, патогенезе СД2 играет хроническое воспаление. Нарушение толерантности воспалительного ответа моноцитов рассматривается как важный механизм патогенеза хронического воспаления. Макрофаги играют ключевую роль в патогенезе инсулинорезистентности за счет продукции воспалительных цитокинов, которые поддерживают воспаление путем вовлечения новых иммунных клеток (моноцитов и нейтрофилов), поляризации Т-клеток и активации фибробластов (Кириченко и др., 2023).

Атеросклероз – это вялотекущее хроническое воспалительное заболевание, поражающее интиму артерий с участием иммунной системы. При этом воспаление отмечается на всех этапах атерогенеза. Воспалительные факторы, играющие важную роль при формировании атеросклероза, повреждении атеросклеротической бляшки и агрегации тромбоцитов с последующим формированием атеротромбоза, имеют более высокие показатели при СД2.

Ключевая роль в формировании атеросклеротического воспаления принадлежит клеткам врожденного иммунитета – макрофагам. Дисбаланс между М-1 и М-2 путями трансформации макрофагов ассоциирован с неадекватной секрецией провоспалительных цитокинов последними, что опосредует вялотекущее хроническое воспаление, интенсификацию атеросклеротических процессов и метаболических нарушений путем образования пенистых клеток, а также синтезом медиаторов воспаления. При приеме сахароснижающей терапии возможно уменьшение выработки провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, должно привести к снижению интенсивности вялотекущего воспаления, а адекватный и своевременный гликемический контроль при манифестации СД2 может привести к снижению вероятности развития осложнений, улучшению прогноза течения СД2, возможно, благодаря метаболической/гликемической памяти.

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению патогенеза СД2 и АС, в научном мире остается актуальным изучение роли толерантности иммунного ответа, воспаления, а также влияния инновационных групп сахароснижающих препаратов на основные звенья патогенеза СД2 с целью улучшения качества жизни пациентов и профилактики осложнений. Первостепенное значение для разработки наиболее эффективных методов профилактики манифестации СД2 и прогрессирования АС имеет получение фундаментальных знаний о механизмах развития патологии, что будет способствовать появлению новых стратегий в лечении. В связи с этим представляется актуальным изучение влияния различных групп сахароснижающих препаратов на противовоспалительную активацию и толерантность иммунного ответа моноцитов/макрофагов у пациентов с СД2, что может позволить внести вклад в современные возможности профилактики и лечения как СД2, так и его поздних осложнений.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день влияние сахароснижающей терапии на толерантность иммунного ответа мало изучено. Появление новых групп сахароснижающих препаратов, таких как ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (НГЛТ-2), открывают новые горизонты использования не только для снижения уровня гликемии – глюкозоцентрический подход, но и для снижения частоты осложнений СД2 и сердечно-сосудистых рисков (ХСН, ХБП, неалкогольная жировая болезнь печени) – кардио-рено-метаболический подход. В научной литературе нет данных о влиянии ингибиторов НГЛТ-2 на толерантность иммунного ответа, взаимосвязи провоспалительных цитокинов с клинико-лабораторными показателями сердечно-сосудистого риска у пациентов с СД2 на фоне приема ингибиторов НГЛТ-2. Несколько исследований, проведенных на животных моделях, демонстрировали противовоспалительные эффекты ингибиторов НГЛТ-2 за счет снижения экспрессии маркеров воспаления МСР-1, ИЛ-6, р38. На моделях ХБП эмпаглифлозин ослаблял ИЛ-1 β -индуцированное воспаление в

нормогликемических клетках проксимальных канальцев почек человека, что указывает на глюкозозависимое противовоспалительное действие ингибиторов НГЛТ-2 за счет влияния на гены CXCL8/IL8, LOX, NOV, PTX3 и SGK1 (Бочкарева, 2025; Pirklbauer, 2021). Было выявлено, что дапаглифлозин приводил к подавлению регуляции инфламмосомы NLRP3, опосредованной итаконатом, на животной модели прогрессирующей ХБП (Бочкарева, 2025; Ke, 2022). Применение эмпаглифлозина приводит к снижению долькового воспаления при неалкогольном стеатогепатите (Бочкарева, 2025; Perakakis, 2021). Таким образом, изучение провоспалительной активации моноцитов/макрофагов у пациентов с СД2 и определение взаимосвязи между уровнем провоспалительных цитокинов и клинико-лабораторными показателями АС и сердечно-сосудистой патологии, особенно в дебюте заболевания, имеет важное значение для профилактики осложнений и улучшения сердечно-сосудистых прогнозов у пациентов с СД2. Данная проблема явилась основанием для создания концепции нашей работы.

Цель и задачи исследования

Изучить воспалительную активацию и толерантность иммунного ответа моноцитов/макрофагов при СД2 и провести оценку взаимосвязи воспалительного статуса моноцитов с клинико-лабораторными и инструментальными маркерами атеросклероза на фоне терапии метформином и ингибиторами натрий-глюкозного котранспортера 2 типа.

Задачи исследования:

1. Изучить провоспалительный (M1) путь активации моноцитов-макрофагов у пациентов с впервые выявленным СД2, не получавших терапию, в сравнении с пациентами без СД2.
2. Определить уровни гетероплазии митохондриального генома у пациентов с СД2 и в контрольной группе, изучить взаимосвязь между уровнем секреции провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β и уровнем гетероплазий митохондриального генома.
3. Изучить влияние терапии метформином пролонгированного действия и ингибиторами НГЛТ-2 (дапаглифлозином и эмпаглифлозином) на толерантность иммунного ответа по уровню базальной, стимулированной и повторно стимулированной секреции провоспалительных цитокинов моноцитами-макрофагами.
4. Изучить влияние терапии метформином пролонгированного действия и ингибиторами НГЛТ-2 (дапаглифлозином и эмпаглифлозином) на клинические и метаболические факторы риска развития атеросклеротического поражения сосудов, фракцию выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) при впервые выявленном СД2.

Научная новизна

Впервые в рамках настоящего исследования была исследована активация и толерантность воспалительного ответа моноцитов у пациентов с впервые выявленным СД2 по сравнению с контрольными лицами без СД2. Показано, что у пациентов с СД2 достоверно выше базальная и

повторно стимулированная секреция ФНО- α , базальная секреция ИЛ-6, а также достоверно выше базальная, стимулированная и повторно стимулированная секреция хемокинов ИЛ-8 и MCP-1.

Впервые изучена взаимосвязь гетероплазмии митохондриальной ДНК по вариантам m.12315G>A, m.14459G>A, m.15059G>A, m.13513G>A, 14846G>A, m.1555A>G, m.5178C>A, m.3336T>C с СД2. Выявлено, что у пациентов с СД2 достоверно выше уровни гетероплазмии митохондриального генома m.12315G>A, m.14459G>A, m.15059G>A и достоверно ниже уровни гетероплазмии m.13513G>A, m.14846G>A по сравнению с лицами без СД2. Выявлена отрицательная корреляция между уровнем гетероплазмии m.13513G>A и уровнями повторно стимулированной и базальной секреции ФНО- α .

Установлено влияние сахароснижающих препаратов (пролонгированного метформина, дапаглифлозина, эмпаглифлозина) на провоспалительную активацию и толерантность иммунного ответа моноцитов у пациентов с впервые выявленным СД2. Показано достоверное снижение базальной секреции ИЛ-1 β в первичной культуре моноцитов на фоне приема метформина, достоверное снижение базальной секреции ФНО- α в первичной культуре моноцитов на фоне приема всех исследованных препаратов, повторно стимулированной секреции ФНО- α на фоне приема метформина.

Определены положительные корреляционные взаимосвязи между уровнем секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов и атеросклерозом сонных артерий, уровнем гликемии, общего холестерина, триглицеридов и ИМТ у пациентов с впервые выявленным СД2. Показано положительное влияние метформина пролонгированного действия на динамику толщины интимо-медиального слоя общей сонной артерии (ТИМС ОСА), а также дапаглифлозина на ФВ ЛЖ.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе исследования путем эксперимента были получены новые, фундаментальные знания о роли толерантности иммунного ответа, влиянии сахароснижающей терапии на провоспалительные цитокины, влиянии провоспалительных цитокинов на гетероплазмии митохондриального генома. Проведенное исследование позволило оценить терапевтические эффекты метформина пролонгированного действия, дапаглифлозина, эмпаглифлозина у пациентов с впервые выявленным СД2. Выявлены корреляционные связи между уровнем провоспалительных цитокинов и сердечно-сосудистыми показателями (ФВ ЛЖ, ТИМС ОСА) прогрессирования атеросклероза до и после терапии пролонгированным метформином, дапаглифлозином, эмпаглифлозином в сравнении с контрольной группой без СД2. Полученные данные могут активно использоваться для профилактики прогрессирования атеросклероза на фоне СД2, а также позволят улучшить качество жизни пациентов. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о необходимости продолжения изучения роли тренированного

иммунитета, провоспалительных цитокинов, мутаций митохондриального генома у пациентов с СД2, а также вносят важный вклад в необходимость проведения профилактики СД2. Основные положения послужат развитию новых фундаментальных научных работ и тактик для работы врача-эндокринолога.

Методология и методы исследования

Вектор деятельности научно-исследовательской работы был определен на основании концептуальных материалов как отечественной, так и иностранной литературы. В контексте реализации запланированных задач, а также осуществления исследовательской деятельности были применены различные методы, основанные на актуальных подходах, тактиках и принципах доказательной медицины. Для достижения цели была разработана программа исследований, которая включала общеклинические обследования, инструментальные методы исследования (эхокардиография, ЭКГ, ультразвукового сканирования сонных артерий в режиме высокого разрешения), специальные методы исследования (определение провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, МСР-1, ФНО- α и уровня мутаций митохондриального генома) и статистический анализ. На основании анализа полученных результатов сделаны выводы и сформулированы практические рекомендации.

Личный вклад автора

Личный вклад автора осуществлялся на всех этапах проведенной работы. Соискатель участвовал в постановке целей и задач исследования, разработке концепции работы, дизайн – проекте. Соискателем проведен поиск литературы в российских и зарубежных источниках. Автор занимался подбором исследовательского материала в течение 2 лет на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская поликлиника №46 Департамента здравоохранения города Москвы», где были выполнены лабораторные и инструментальные методы исследования. Автором лично проводились клинические обследования пациентов, а также оценка их лабораторно – инструментальных показателей, проведен статистический анализ полученных данных. Соискатель осуществил интерпретацию полученных результатов, сформулировал выводы, согласно поставленной цели и задачам. Автор провел подготовку материалов для публикаций, обосновал практическое применение полученных результатов, доложил информацию на конференциях.

Положения, выносимые на защиту

1. Впервые выявленный СД2 по сравнению с контролем характеризуется модификацией моноцитов-макрофагов по провоспалительному (M1) пути.
2. Уровень гетероплазии митохондриального генома по вариантам m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A, m.15059G>A отличается у пациентов с СД2 по

сравнению с лицами без СД2. Уровень гетероплазии m.13513G>A коррелирует с уровнем секреции ФНО- α .

3. Уровень секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов снижается на фоне сахароснижающей терапии при впервые выявленном СД2, метформин наиболее эффективно подавляет воспалительный ответ моноцитов.

4. Показатели воспалительного ответа моноцитов взаимосвязаны с сердечно-сосудистыми факторами риска, характеристиками АС и его осложнений при СД2.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа «Противовоспалительные эффекты метформина и ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2 типа на динамику атеросклеротических проявлений у больных сахарным диабетом 2 типа» соответствует паспорту научной специальности 3.1.19. Эндокринология и области исследования: п. 4 «Развитие представлений об этиологии и патогенезе заболеваний эндокринной системы, метаболических заболеваний и состояний на основе системного анализа, фундаментальных и прикладных исследований» и п. 5 «Разработка научных, методологических и клинических подходов в диагностике заболеваний эндокринной системы с использованием современных клинических, лабораторных, инструментальных, других методов исследования и современных технологий».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования, положений, выносимых на защиту, и выводов подтверждается достаточным количеством наблюдений, полнотой и глубиной литературно-библиографического поиска, использованием современных лабораторно-инструментальных методов исследования, статистического анализа, соответствующих поставленной цели и сформулированным задачам.

Полученные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на научно-практической конференции «Эндокринология: вызовы 21 века» (Москва, 18.10.2023 г.); XX Московском городском съезде эндокринологов «Эндокринология столицы 2024» (Москва, 30.03.2024 г.). Результаты исследования были представлены на ежегодных международных конгрессах European Atherosclerosis Society (Милан, Италия, 2022 г.) и European Atherosclerosis Society (Мангейм, Германия, 2023 г.).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры эндокринологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 10.03.2025, протокол № 8.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные научные положения, результаты, выводы и практические рекомендации диссертационного исследования внедрены и используются в лечебном процессе отделения эндокринологии Государственного бюджетного учреждения «Городская поликлиника № 46» Департамента здравоохранения города Москва (акт о внедрении б/н от 22.07.2024), а также в учебный процесс на кафедре эндокринологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (акт о внедрении № 436 от 23.07.2024) для обучения студентов, ординаторов и аспирантов по дисциплине «Эндокринология».

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 8 работ, в том числе 1 научная статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в базе данных RSCI, 3 иные публикации по результатам исследования, 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 115 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Список литературы включает 205 источников (из них 11 отечественных и 194 зарубежных). Работа иллюстрирована 13 таблицами, 13 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре эндокринологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (ректор–академик РАН, профессор, д.м.н. П.В. Глыбочко). Проведение диссертационной работы одобрено локальным Комитетом по этике ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол №18-24 от 18.07.2024 г.). Исследование выполнено в рамках гранта Российского научного фонда (РНФ) № 22-25-00149.

Дизайн исследования

Нами было проведено рандомизированное открытое сравнительное исследование. Набор пациентов осуществлялся в течение 2-х лет с 2022 по 2023 гг. на базе государственного

бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская поликлиника №46 Департамента здравоохранения города Москвы» (главный врач поликлиники – Д.В. Серов). В исследование были включены 80 человек, из которых 60 составили пациенты с впервые выявленным СД2, разделенные на 3 группы с помощью генератора случайных чисел в составе пакета Microsoft Office Excel. При включении в исследование пациенту присваивался порядковый номер (код) по возрастанию. В результате участники исследования получили рекомендации по приему сахароснижающих препаратов: первая группа – пациенты, которым назначен метформин пролонгированного действия 1000 мг/сут (n=20), вторая группа – дапаглифлозин 10 мг/сут (n=20), третья группа – эмпаглифлозин 25 мг/сут (n=20), и 20 пациентов без СД2 составили группу контроля. Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

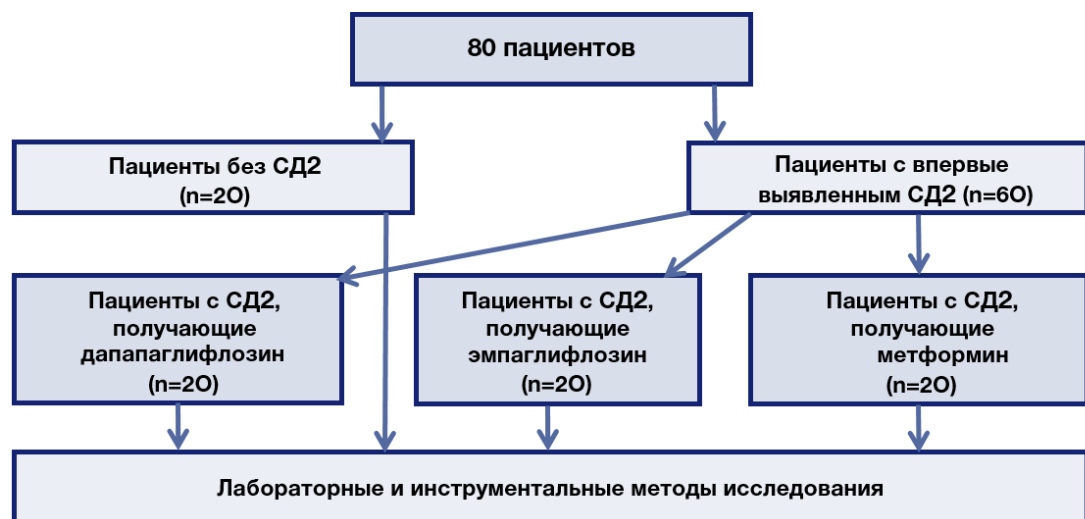


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии включения:

1. Пациенты мужского и женского пола в возрасте 35-80 лет;
2. Пациенты с впервые выявленным СД2, ранее не получающие сахароснижающую терапию;
3. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения:

1. Сахарный диабет 1 типа;
2. Беременность, лактация;
3. Острый ИМ в течение 12 недель до момента включения; ОНМК в течение 12 недель до момента включения;
4. Наличие психических заболеваний;
5. Наличие тяжелых инфекционных заболеваний.

Критерии исключения:

1. Нарушение протокола исследования;
2. Острая хирургическая, травматологическая или другая патология, требующая госпитализации и/или медикаментозной коррекции во время участия в исследовании;
3. Отказ от продолжения участия в исследовании на любом этапе;
4. Беременность.

После получения подписанных информированных согласий у всех обследуемых проведены сбор анамнеза, общеклиническое обследование (оценка роста, веса, ОТ/ОБ, АД, ЧСС, физикальные данные). Клинический анализ крови, мочи, биохимический анализ крови (уровень гликированного гемоглобина (HbA1c), липидный спектр крови (холестерин, триглицериды, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП), АСТ, АЛТ, глюкоза, креатинин, мочевины) проводились до назначения терапии и через 3 месяца на фоне проводимой терапии, а также пациентам без СД2 на 1 и 2 визитах. Всем участникам исследования проводилось определение маркеров воспаления (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β , MCP-1, vCРБ) в культуральной жидкости методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов Human TNF-alpha/TNFSF1A, IL-1beta/IL-1F2, CCL2/MCP-1 IL-6 и IL-8 DuoSet ELISA (R&D Systems, США) до назначения терапии и через 3 месяца на фоне проводимой терапии. Были получены образцы крови для выявления первичной культуры моноцитов/макрофагов путем выделения лейкоцитарной фракции при центрифугировании в градиенте фиколл-пак с последующей селективной магнитной сортировкой CD14⁺ клеток с использованием колонок LS Columns и парамагнитных наночастиц CD14 MicroBeads, human (Miltenyi Biotec Inc., США), исследования провоспалительной активации моноцитов и выделения ДНК с использованием коммерческого набора для выделения и очистки ДНК (QIAGEN GmbH, Германия). Уровни гетероплазмии мутаций мтДНК m.1555A>G, m.3336T>C, m.5178C>A, m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A и m.15059G>A определяли методом вырезания 5'-концевой метки (qPCR, TaqMan Assay) на системе для ПЦР в реальном времени 7500 Fast (Applied Biosystems, США). Оценка атеросклеротического статуса проводилась с помощью ультразвукового сканирования сонных артерий в режиме высокого разрешения. Толщина интима-медиального слоя (ТИМС) на дальней стенке дистального 10-мм фрагмента общей сонной артерии (ОСА) определялась с использованием специализированного программного обеспечения M'Ath (M'Ath, Франция). Пациентам также было проведено ЭКГ, эхокардиографическое исследование для оценки ФВ ЛЖ.

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводился с использованием программы SPSS 27.0 (SPSS, США). Для проверки типа распределения использовался W-критерий Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD), а также

в виде медианы и квартилей, Me[Q1;Q3]. Для оценки различий секреции провоспалительных цитокинов между группами был использован U-критерий Манна-Уитни. Критерий Вилкоксона использовался для внутригрупповых сравнений для анализа динамики клинических данных и воспалительной реакции моноцитов пациентов с диабетом после периода терапии сахароснижающими препаратами с целью выявления наиболее эффективных сахароснижающих препаратов. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента Пирсона. Уровень статистической значимости различий был принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика исследуемых

Для решения поставленных задач в исследование было включено 80 человек, из которых 60 пациентов с впервые выявленным СД2 и 20 человек контрольной группы без СД2. Основным критерием для формирования групп было наличие впервые выявленного СД2. Диагноз СД2 устанавливался при наличии двух показателей, находящихся в диабетическом диапазоне: HbA1c $\geq 6,5\%$ и глюкоза ≥ 7 ммоль/л.

Результаты сравнительной клинико-лабораторной характеристики пациентов с СД2 и участников контрольной группы представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Клинико-лабораторная характеристика участников исследования

Характеристики	Контрольная группа n=20	Группа СД 2 типа n=60	Достоверность отличий, p
Возраст, годы	60 (5)	63 (9)	0,167
Пол, м/ж	1/9	25/36	0,263
ИМТ, кг/м ²	26,6 (3,8)	30,6 (6,3)	<0,001
Артериальная гипертония, %	38%	69%	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	4,9 (0,5)	7,8 (1,0)	<0,001
HbA1c, %	6,0 (0,4)	6,8 (0,8)	<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	5,8 (0,8)	5,4 (1,1)	0,126
Триглицериды, ммоль/л	1,3 (0,6)	1,7 (0,9)	0,005
ЛПНП, ммоль/л	2,1 (1,3)	3,4 (1,0)	<0,001
ЛПВП, ммоль/л	3,7 (3,2)	1,7 (0,7)	<0,001
ТИМС ОСА, мкм	776 (104)	1113 (187)	<0,001
Степень стеноза СА, %	10 (8)	24 (16)	<0,001
Креатинин, мкмоль/л	82,6 (10,1)	89,6 (20,8)	0,108
Мочевина, ммоль/л	4,8 (0,7)	7,0 (2,5)	0,009
АЛТ, ЕД/л	23,3 (9,7)	29,3 (20,3)	0,148
АСТ, ЕД/л	26,0 (7,6)	29,8 (19,8)	0,288

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). HbA1c, гликозилированный гемоглобин; ИМТ, индекс массы тела; ЛПНП, липопротеины низкой плотности; ЛПВП, липопротеины высокой плотности; ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; АЛТ, аланинаминотрансфераза; АСТ, аспаратаминотрансфераза.

В зависимости от назначенной сахароснижающей терапии группа СД2 была разделена на 3 подгруппы: монотерапия дапаглифлозином, эмпаглифлозином и метформином пролонгированного действия. Проведен сравнительный и функциональный анализ М1 поляризации моноцитов, влияния терапии на клинические и метаболические факторы развития атеросклеротического поражения сосудов, ФВ ЛЖ при СД2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с СД2 в зависимости от назначенной терапии (метформин пролонгированного действия, дапаглифлозин, эмпаглифлозин) представлена в Таблице 2.

Группы сопоставимы по полу, возрасту, ИМТ, АД, показателям углеводного и липидного обмена, атеросклероза, функции почек.

Таблица 2 – Клинико-лабораторные характеристики пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа

	Группа Метформин n=20	Группа Дапаглифлозин n=20	Группа Эмпаглифлозин n=20
Возраст, лет	66,9 (10,9)	64,3 (10,6)	69,0 (10,7)
Пол, м/ж	9/11	10/10	6/14
ИМТ, кг/м ²	31,3 (4,8)	32,3 (7,8)	31,6 (6,1)
Сист. АД, мм рт ст	128 (8)	131 (60)	127 (6)
Диаст. АД, мм рт ст	82 (6)	82 (3)	82 (3)
Курение, %	15	0	15
ИБС, %	30	25	40
Глюкоза, ммоль/л	7,6 (0,7)	8,0 (1,1)	7,8 (1,4)
НbA1c, %	7,0 (0,7)	6,9 (0,6)	6,9 (0,7)
Общий ХС, ммоль/л	5,3 (1,3)	5,8 (1,7)	5,1 (0,8)
ЛПВП, ммоль/л	1,1 (0,3)	1,2 (0,3)	1,5 (1,1)
ТГ, ммоль/л	1,7 (0,9)	2,6 (3,2)	1,4 (0,8)
ЛПНП, ммоль/л	3,4 (1,0)	3,7 (1,1)	3,1 (0,9)
ТИМС ОСА, мкм	1,079 (0,126)	1,098 (0,198)	1,168 (0,183)
Атеросклероз ОСА, %	50	55	60
Креатинин, мкмоль/л	95,5 (25,8)	87,0 (16,6)	91,4 (20,1)
Мочевина, ммоль/л	6,9 (2,7)	7,6 (2,6)	6,5 (2,2)
АЛТ, ЕД/л	33,4 (18,8)	33,0 (26,3)	20,8 (10,0)

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). Т-критерий. Достоверных отличий между группами не выявлено по всем показателям, $p > 0,05$. НbA1c, гликозилированный гемоглобин; ИМТ, индекс массы тела; ИБС, ишемическая болезнь сердца; ТГ, триглицериды; ЛПНП, липопротеиды низкой плотности; ЛПВП, липопротеиды высокой плотности; ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; СА, сонная артерия; АЛТ, аланинаминотрансфераза; АСТ, аспартатаминотрансфераза.

Исследование провоспалительной активации моноцитов

Провоспалительная активация моноцитов оценивалась по уровню базальной и ЛПС-стимулированной секреции провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β и МСР-

1. Результаты оценки базальной, стимулированной секреции и секреции цитокинов в ответ на повторную стимуляцию представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Секреция воспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами/макрофагами участников исследования

Уровень цитокинов		Контрольная группа, n=20	Группа СД 2 типа, n=60	p
ФНО- α , пг/мл	Базальная	78 [53;116]	415 [208;950]	<0,001
	Стимулированная	2785 [1681;4166]	2590 [1753;4892]	0,478
	Повторная стимуляция	91 [73;146]	197 [135;251]	<0,001
ИЛ-1 β , пг/мл	Базальная	84 [48;108]	92 [53;114]	0,547
	Стимулированная	753 [575;1038]	626 [347;1062]	0,130
	Повторная стимуляция	89 [71;101]	75 [55;117]	0,352
МСР-1, пг/мл	Базальная	1681 [1286;2415]	4000 [2450;6932]	<0,001
	Стимулированная	14434 [8771;19703]	25437 [10467;32908]	0,008
	Повторная стимуляция	3109 [2307;4086]	4701 [2961;9028]	0,004
ИЛ-6, пг/мл	Базальная	878 [855;898]	4774 [4231;5548]	<0,001
	Стимулированная	29457 [18807;50453]	45911 [30575;60608]	0,083
	Повторная стимуляция	943 [924;1042]	1176 [1040;1431]	0,051
ИЛ-8, пг/мл	Базальная	1944 [1360;4115]	18802 [7242;25753]	<0,001
	Стимулированная	30014 [14568;32736]	62316 [51825;66373]	<0,001
	Повторная стимуляция	9241 [3324;12071]	10348 [6064;18232]	0,016

Примечание: Данные представлены в виде Ме [Q1;Q3]. ИЛ-1 β , интерлейкин-1 β ; ИЛ-6, интерлейкин-6; ИЛ-8, интерлейкин-8; ФНО- α , фактор некроза опухоли- α ; МСР-1, моноцитарный хемотаксический протеин-1.

У пациентов с СД2 достоверно выше показатели базальной секреции ФНО- α – 415 пг/мл [208;950], МСР-1 – 4000 пг/мл [2450;6932], ИЛ-6 – 4774 пг/мл [4231;5548], ИЛ-8 – 18802 пг/мл [7242;25753], $p < 0,001$. Стимулированная секреция ИЛ-8 в группе СД2 составила 62316 пг/мл [51825;66373] и достоверно отличалась от секреции ИЛ-8 в контрольной группе – 30014 пг/мл [14568;32736], $p < 0,001$. Стимулированная секреция МСР-1 также была значимо выше в группе СД2 – 25437 пг/мл [10467;32908] по сравнению с контрольной группой – 14434 пг/мл [8771;19703], $p = 0,008$. Уровень ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-6 был выше при СД 2 типа, но не достиг статистической значимости.

После повторной стимуляции в группе СД2 были значимо выше уровни ФНО- α – 197 пг/мл [135;251] ($p < 0,001$), МСР-1 – 4701 пг/мл [2961;9028] ($p = 0,004$) и ИЛ-8 – 10348 пг/мл [6064;18232] ($p = 0,016$) по сравнению с контрольной группой – 91 пг/мл [73;146], 3109 пг/мл [2307;4086] и 9241 пг/мл [3324;12071] соответственно. При этом уровень повторно стимулированной секреции ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, МСР-1 и ФНО- α в обеих группах был значительно ниже, чем уровень секреции после первой стимуляции, что демонстрирует наличие

толерантности иммунного ответа макрофагов в отношении секреции ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, МСР-1 и ФНО- α , поскольку толерантность иммунного ответа рассматривается как сниженный ответ на повторную ЛПС-стимуляцию после возвращения клеток в неактивированное состояние.

Полученные нами результаты демонстрируют наличие более выраженного воспалительного ответа у пациентов с впервые выявленным СД2 в сравнении с контрольной группой. Результаты исследования выявили провоспалительную активацию моноцитов-макрофагов с повышенной секрецией цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, МСР-1 и ФНО- α у пациентов с впервые выявленным СД2.

Оценка гетероплазмии митохондриального генома в исследуемых группах

Учитывая данные литературы известно, что гетероплазмии митохондриального генома могут быть одной из важных причин развития АС. Для изучения и выявления взаимосвязей с провоспалительными цитокинами, нами были рассмотрены определенные варианты гетероплазмий митохондриального генома.

Результаты оценки гетероплазмии митохондриального генома представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Уровень гетероплазмии вариантов митохондриального генома у пациентов с СД2 по сравнению с контрольной группой

Вариант гетероплазмии мтДНК	Контрольная группа	Группа СД 2 типа	Достоверность отличий, p
m.12315G>A, %	35 (7)	42 (5)	0,029
m.14459G>A, %	23 (4)	28 (3)	0,048
m.15059G>A, %	28 (10)	43 (11)	0,006
m.13513G>A, %	47 (7)	35 (5)	0,043
m.14846G>A, %	36 (8)	28 (7)	0,012
m.1555A>G, %	35 (8)	34 (7)	0,635
m.5178C>A, %	17 (1)	18 (1)	0,161
m.3336T>C, %	16 (2)	21 (22)	0,287

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). мтДНК, митохондриальная ДНК.

Было показано, что уровень мутаций митохондриального генома отличается достоверно между группами пациентов с СД2 и без диабета по следующим вариантам гетероплазмии: m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A, m.15059G>A. Уровень следующих вариантов гетероплазмии был достоверно выше в группе пациентов с СД2: m.12315G>A – 42 (5)% против 35 (7)% в контрольной группе, p=0,029; m.14459G>A – 28 (3)% против 23 (4)% в контрольной группе, p=0,048; m.15059G>A – 43 (11)% против 28 (10)% в контрольной группе, p=0,006. Уровень следующих вариантов гетероплазмии был выше в контрольной группе: m.13513G>A – 47 (7)% против 35 (5)% в группе СД2, p=0,043; m.14846G>A – 36 (8)% против 28 (7)% в группе СД2, p=0,012.

Для выявления взаимосвязи провоспалительной активации моноцитов с мутациями митохондриального генома был проведен корреляционный анализ. Анализ в общей выборке и контрольной группе не выявил значимых корреляций между исследованными параметрами. Корреляционный анализ в группе пациентов с СД2 выявил значимую отрицательную корреляцию между уровнем гетероплазмии m.13513G>A и уровнями повторно стимулированной и базальной секреции ФНО- α , $r=-0,976$, $p=0,004$ и $r=-0,975$, $p=0,005$, соответственно. Таким образом, в исследовании выявлен более высокий уровень митохондриальных гетероплазмий в группе пациентов с впервые выявленным СД2 по сравнению с контролем без СД2. Можно предположить, что митохондриальные гетероплазмии m.12315G>A, m.14459G>A, m.15059G>A являются предикторами развития АС и осложнений СД2.

Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема метформина пролонгированного действия

Результаты повторного клинико-лабораторного обследования участников исследования на фоне приема метформина пролонгированного действия в течение трех месяцев представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема метформина пролонгированного действия

Характеристики	До лечения	После лечения	Достоверность отличий, p
ИМТ, кг/м ²	31,3 (4,8)	29,9 (5,3)	0,380
Глюкоза, ммоль/л	7,6 (0,7)	6,1 (0,5)	<0,001
НbA1c, %	7,0 (0,7)	6,3 (0,4)	0,002
Общий холестерин, ммоль/л	5,3 (1,3)	5,8 (1,4)	0,215
Триглицериды, ммоль/л	1,7 (0,9)	2,0 (1,2)	0,273
ЛПНП, ммоль/л	3,4 (1,0)	3,8 (1,2)	0,268
ЛПВП, ммоль/л	1,1 (0,3)	1,3 (0,4)	0,104
ТИМС ОСА, мкм	1079 (126)	1139 (178)	0,224
Креатинин, мкмоль/л	90,5 (25,8)	90,4 (28,6)	0,977
Мочевина, ммоль/л	6,9 (2,7)	6,7 (2,8)	0,507
АЛТ, ЕД/л	33,4 (18,8)	25,2 (12,8)	0,038
АСТ, ЕД/л	29,5 (9,8)	24,9 (11,3)	0,043

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). НbA1c, гликозилированный гемоглобин; ИМТ, индекс массы тела; ЛПНП, липопротеиды низкой плотности; ЛПВП, липопротеиды высокой плотности; ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; АЛТ, аланинаминотрансфераза; АСТ, аспаратаминотрансфераза.

В группе метформина пролонгированного действия выявлено достоверное снижение гликемии с 7,6 (0,7) ммоль/л до 6,1 (0,5) ммоль/л ($p<0,001$) и гликозилированного гемоглобина с 7,0 (0,7)% до 6,3 (0,4)% ($p<0,002$).

Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема дапаглифлозина

Результаты повторного клинико-лабораторного обследования пациентов на фоне приема дапаглифлозина в течение трех месяцев представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема дапаглифлозина

Характеристики	До лечения	После лечения	Достоверность отличий, p
ИМТ, кг/м ²	32,3 (7,8)	30,5 (8,0)	0,520
Глюкоза, ммоль/л	8,0 (1,1)	6,1 (1,2)	<0,001
НbA1c, %	7,0 (0,6)	5,9 (1,7)	0,083
Общий холестерин, ммоль/л	5,9 (1,7)	5,4 (0,9)	0,189
Триглицериды, ммоль/л	2,7 (3,3)	1,9 (1,0)	0,236
ЛПНП, ммоль/л	3,7 (1,2)	3,4 (0,8)	0,228
ЛПВП, ммоль/л	1,3 (0,3)	1,4 (0,4)	0,338
ТИМС ОСА, мкм	1098 (196)	1136 (207)	0,443
Креатинин, мкмоль/л	87,0 (16,6)	86,1 (27,5)	0,807
Мочевина, ммоль/л	7,6 (2,6)	7,4 (2,7)	0,306
АЛТ, ЕД/л	33,0 (26,3)	25,6 (13,4)	0,101
АСТ, ЕД/л	35,2 (30,2)	30,9 (20,4)	0,117

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). НbA1c, гликозилированный гемоглобин; ИМТ, индекс массы тела; ЛПНП, липопротеиды низкой плотности; ЛПВП, липопротеиды высокой плотности; ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; АЛТ, аланинаминотрансфераза; АСТ, аспаратаминотрансфераза.

На фоне приема дапаглифлозина отмечается достоверное снижение уровня гликемии с 8,0 (1,1) ммоль/л до 6,1 (1,2) ммоль/л (p <0,001). Уровень липидов (общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПВП), АЛТ, АСТ, креатинина, мочевины на фоне приема дапаглифлозина без существенных изменений. Отмечается незначительное снижение ИМТ с 32,3 (7,8) кг/м² до 30,5 (8,0) кг/м² (p=0,520).

Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема эмпаглифлозина

Результаты повторного клинико-лабораторного обследования пациентов на фоне приема эмпаглифлозина в течение трех месяцев представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Динамика клинико-лабораторных характеристик участников исследования на фоне приема эмпаглифлозина

Характеристики	До лечения	После лечения	Достоверность отличий, p
ИМТ, кг/м ²	31,6 (6,0)	31,2 (4,6)	0,795
Глюкоза, ммоль/л	7,8 (1,4)	6,2 (0,6)	0,001
НbA1c, %	6,9 (0,7)	6,0 (0,4)	<0,001

Продолжение Таблицы 7

Общий холестерин, ммоль/л	5,1 (0,8)	4,7 (1,2)	0,272
Триглицериды, ммоль/л	1,4 (0,8)	1,3 (0,6)	0,494
ЛПНП, ммоль/л	3,1 (0,9)	2,9 (1,0)	0,689
ЛПВП, ммоль/л	1,5 (1,1)	1,4 (0,5)	0,611
ТИМС ОСА, мкм	1168 (182)	1043 (134)	0,021
Креатинин, мкмоль/л	91,4(20,1)	95,5(24,1)	0,080
Мочевина, ммоль/л	6,5(2,2)	6,9(2,8)	0,537
АЛТ, ЕД/л	20,8(10,0)	18,9(8,3)	0,170
АСТ, ЕД/л	24,1(9,7)	23,1(7,2)	0,430

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). HbA1c, гликозилированный гемоглобин; ИМТ, индекс массы тела; ЛПНП, липопротеиды низкой плотности; ЛПВП, липопротеиды высокой плотности; ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; АЛТ, аланинаминотрансфераза; АСТ, аспартатаминотрансфераза.

На фоне трехмесячного приема эмпаглифлозина отмечается значимое снижение уровня гликированного гемоглобина с 6,9 (0,7) % до 6,0 (0,4) %, $p < 0,001$; уровня гликемии с 7,8 (1,4) ммоль/л до 6,2 (0,6) ммоль/л, $p < 0,001$. Отмечается значимое уменьшение ТИМС ОСА на фоне применения эмпаглифлозина с 1168 (182) мкм до 1043 (134) мкм, $p = 0,021$.

Результаты иммуноферментного анализа концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , секретируемых моноцитами пациентов с СД2 на фоне терапии метформином пролонгированного действия, дапаглифлозином, эмпаглифлозином

По данным проведенного нами исследования обращает внимание, что через три месяца приема метформина пролонгированного действия достоверно снижалась базальная секреция ИЛ-1 β с 96 [54;116] пг/мл до 74 [34;81] пг/мл ($p = 0,023$) и ФНО- α с 326 [165;413] пг/мл до 168 [118;275] пг/мл ($p = 0,033$), а также повторно стимулированная секреция ФНО- α с 219 [193;359] пг/мл до 180 [119;261] пг/мл, $p = 0,037$. Это отражает толерантность иммунного ответа на фоне приема метформина пролонгированного действия.

При приеме дапаглифлозина через 3 месяца отмечалось снижение секреции ИЛ-1 β и ФНО- α во всех точках, за исключением стимулированной секреции ФНО- α , но достоверное изменение выявлено только в отношении снижения базальной секреции ФНО- α с 989 [419;1482] пг/мл до 187 [94;247] пг/мл ($p < 0,001$) и повторно стимулированной секреции ИЛ-1 β с 59 [52;115] пг/мл до 26 [14;61] пг/мл ($p = 0,011$). При приеме эмпаглифлозина положительного влияния на секрецию ИЛ-1 β не обнаружено. Положительный эффект в отношении секреции ФНО- α выразился в снижении уровня базальной секреции с 414 [163;746] пг/мл до 243 [192;340] пг/мл ($p = 0,040$), однако также выявлено повышение повторно стимулированной секреции ФНО- α с 147 [128;260] пг/мл до 275 [185;362] пг/мл, $p = 0,022$. Это свидетельствует о нарушении толерантности иммунного ответа и прогрессировании воспаления на фоне приема эмпаглифлозина.

Повышение уровня стимулированной секреции ФНО- α и ИЛ-1 β на фоне приема сахароснижающих препаратов свидетельствует об улучшении иммунного ответа культивируемых моноцитов на фоне терапии. Результаты иммуноферментного анализа концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , секретируемых моноцитами пациентов с СД2 представлены в Таблицах 8–9.

Для оценки взаимосвязи секреции воспалительных цитокинов с клинико-лабораторными характеристиками риска развития АС участников исследования был проведен корреляционный анализ. ФНО- α считается одним из важных факторов, индуцирующих развитие резистентности к инсулину в жировой ткани, это обуславливает развитие СД2 при ожирении, что подтверждают результаты нашего исследования. Обнаружена умеренная прямая взаимосвязь базальной и ЛПС-стимулированной секреции ФНО- α с ИМТ, $r=0,631$, $p<0,001$, и $r=0,582$, $p<0,001$, соответственно. Кроме того, уровень базальной и стимулированной секреции ФНО- α прямо коррелировал с уровнем гликемии, $r=0,427$, $p=0,012$ и $r=0,372$, $p=0,037$, соответственно.

Таблица 8 – Влияние сахароснижающей терапии на секрецию ИЛ-1 β культивируемыми моноцитами пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Группа	Секреция ИЛ-1 β , пг/мл	При включении	После 3-х месяцев терапии	Достоверность изменений, p
Метформин	Базальная	96 [54;116]	74 [34;81]	0,023
	Стимулированная	422 [295;871]	1372 [344;2465]	0,015
	Повторная стимуляция	73 [46;113]	78 [25;92]	0,232
Дапаглифлозин	Базальная	87 [51;134]	40 [21;79]	0,079
	Стимулированная	835 [552;1404]	600 [313;1251]	0,411
	Повторная стимуляция	59 [52;115]	26 [14;61]	0,011
Эмпаглифлозин	Базальная	92 [63;97]	77 [19;133]	0,687
	Стимулированная	563 [303;1262]	1382 [152;2612]	0,277
	Повторная стимуляция	83 [66;120]	81 [11;152]	0,469
Примечание: Данные представлены в виде Ме [Q1;Q3].				

Таблица 9 – Влияние сахароснижающей терапии на секрецию ФНО- α культивируемыми моноцитами пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Группа	Секреция ФНО- α , пг/мл	При включении	После 3-х месяцев терапии	Достоверность изменений, p
Метформин	Базальная	326 [165;413]	168 [118;275]	0,033
	Стимулированная	2190 [1625;4637]	3356 [1192;5703]	0,526
	Повторная стимуляция	219 [193;359]	180 [119;261]	0,037
Дапаглифлозин	Базальная	989 [419;1482]	187 [94;247]	<0,001
	Стимулированная	646 [196;4158]	2872 [1916;4880]	0,218
	Повторная стимуляция	182 [105;210]	153 [132;227]	0,737

Продолжение Таблицы 9

Эмпа- глифлозин	Базальная	414 [163;746]	243 [192;340]	0,040
	Стимулированная	239 [151;2175]	1849 [1011;4052]	0,054
	Повторная стимуляция	147 [128;260]	275 [185;362]	0,022
Примечание: Данные представлены в виде Ме [Q1;Q3].				

Рисунок 2 демонстрирует корреляцию базальной секреции ФНО- α с ИМТ участников исследования в группе СД2, которая явилась наиболее достоверной по результатам корреляционного анализа. В результате анализа корреляции уровней секреции провоспалительных цитокинов со степенью атеросклероза сонных артерий у пациентов с СД2 выявлена умеренная прямая корреляция ЛПС-стимулированной секреции ФНО- α со степенью атеросклеротического стеноза в бассейне сонных артерий, $r=0,498$, $p<0,001$ (Рисунок 3).

Уровень базальной секреции ИЛ-1 β на фоне трехмесячного приема метформина коррелирует с АЛТ, $r=0,468$, $p=0,037$, и с АСТ, $r=0,638$, $p=0,002$.

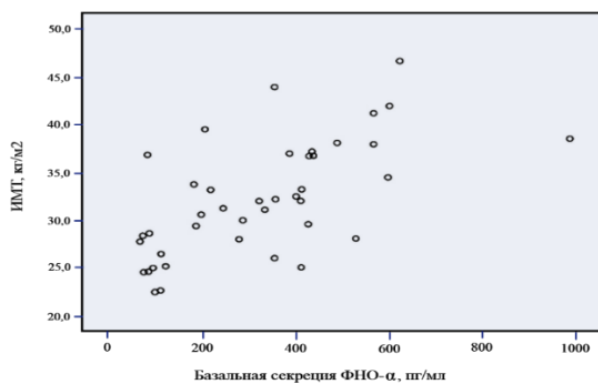


Рисунок 2 – Взаимосвязь базальной секреции ФНО- α и ИМТ у пациентов с СД2. ФНО- α , фактор некроза опухоли- α ; ИМТ, индекс массы тела

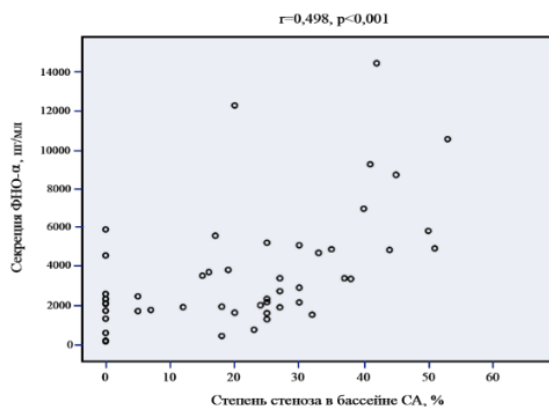


Рисунок 3 – Взаимосвязь степени стеноза при наличии АСБ в бассейне сонных артерий с секрецией ФНО- α культивируемыми моноцитами участников исследования СА, сонные артерии; ФНО- α , фактор некроза опухоли- α

У пациентов с СД2 выявлена достоверная корреляция базальной секреции ИЛ-6 с уровнями общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, $r=0,369$, $p=0,043$ и $r=0,435$, $p=0,001$, соответственно. Базальная секреция МСР-1 у пациентов с СД2 прямо коррелировала с уровнем триглицеридов в сыворотке крови, $r=0,385$, $p=0,003$. Также обращает внимание положительная корреляция между уровнем креатинина у пациентов с СД2 с МСР-1 после повторной стимуляции, $r=0,426$, $p=0,001$. У пациентов с СД2 показана умеренная прямая корреляция со степенью атеросклероза сонных артерий ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-8, $r=0,656$, $p<0,001$ (Рисунок 4). По результатам проспективного исследования был проведен

корреляционный анализ изменений секреции цитокинов на фоне сахароснижающей терапии с динамикой клинико-лабораторных характеристик сердечно-сосудистого риска, который выявил прямую корреляцию снижения базальной секреции ФНО- α после 3-х месяцев терапии метформином с уменьшением ТИМС ОСА, $r=0,626$ ($p=0,003$), что отражено на Рисунке 5.

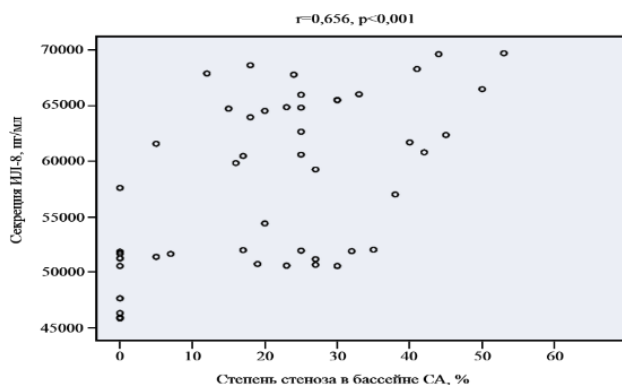


Рисунок 4 – Взаимосвязь степени стеноза при наличии АСБ в бассейне сонных артерий с секрецией провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами участников исследования СА, сонные артерии; ИЛ-8, интерлейкин-8

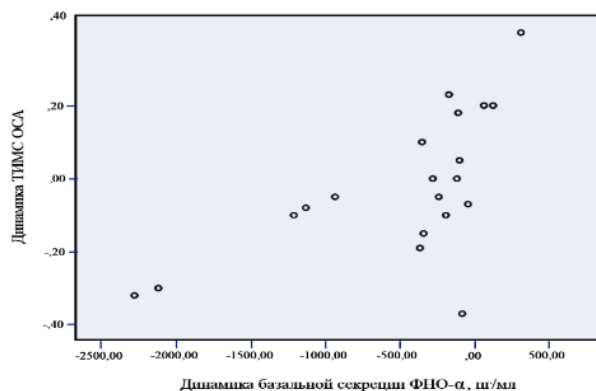


Рисунок 5 – Взаимосвязь изменений ТИМС ОСА с динамикой базальной секреции ФНО- α после 3 месяцев приема метформина ТИМС ОСА, толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии; ФНО- α , фактор некроза опухоли-

Динамика значений вчСРБ, фракции выброса на фоне противодиабетической терапии

В исследовании проведена оценка уровня вчСРБ, ФВ ЛЖ у пациентов с впервые выявленным СД2 до и на фоне сахароснижающей терапии. Во всех группах на фоне приема сахароснижающих препаратов отмечается благоприятная динамика в отношении уровня вчСРБ в сыворотке крови, но показатели не были статистически достоверными во всех группах. Показатель ФВ ЛЖ по данным ЭхоКГ не отличался достоверно между группами при включении пациентов в исследование. В группе пациентов, получающих дапаглифлозин, на фоне терапии отмечалось достоверное увеличение ФВ при повторном обследовании через 3 месяца от 61,6 (4,0) % до 62,2(3,7) %, динамика +0,6 (1,2) %, $p=0,040$.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с впервые выявленным СД2 отмечается активация моноцитов-макрофагов по М1 пути. Базальная и ЛПС-стимулированная секреция провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , МСР-1 была достоверно выше в группе пациентов с впервые выявленным СД2 по сравнению с контрольной группой. Уровень повторно стимулированной секреции ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β , МСР-1 и ФНО- α в обеих группах был значительно ниже, чем уровень секреции после

первой стимуляции, что демонстрирует наличие толерантности иммунного ответа макрофагов в отношении секреции ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β , МСР-1.

2. Терапия метформином пролонгированного действия сопровождается достоверным снижением базальной секреции ИЛ-1 β , базальной и повторно стимулированной секреция ФНО- α . При приеме дапаглифлозина отмечалось снижение секреции ИЛ-1 β и ФНО- α во всех точках, однако достоверное изменение выявлено только в отношении базальной секреции ФНО- α . Прием эмпаглифлозина сопровождался снижением базальной секреции ФНО- α и достоверным повышением повторно стимулированной секреции ФНО- α , что свидетельствует о нарушении толерантности иммунного ответа.

3. Обнаружена взаимосвязь базальной и ЛПС-стимулированной секреции ФНО- α с ИМТ и уровнем гликемии. У пациентов с СД2 выявлена достоверная корреляция базальной секреции ИЛ-6 с уровнями общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, а также корреляция базальной секреции МСР-1 с уровнем триглицеридов в сыворотке крови.

4. На фоне терапии метформином снижение секреции ФНО- α коррелирует с положительной динамикой ТИМС ОСА. Отмечается значимое уменьшение ТИМС ОСА на фоне терапии эмпаглифлозином.

5. Терапия дапаглифлозином сопровождается достоверным увеличением ФВ ЛЖ на 0,6 % ($p=0,040$).

6. Впервые выявленный СД2 характеризуется гетероплазмиями митохондриального генома по вариантам m.12315G>A, m.14459G>A, m.15059G>A. Корреляционный анализ в группе пациентов с впервые выявленным СД2 выявил значимую отрицательную корреляцию между уровнем гетероплазмии m.13513G>A и уровнями повторно стимулированной и базальной секреции ФНО- α .

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Раннее назначение сахароснижающей терапии метформином и ингибиторов НГЛТ-2 в дебюте СД2 имеет дополнительные преимущества в снижении хронического воспаления, уменьшении степени прогрессирования АС и снижении риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

2. Применение дапаглифлозина можно рассматривать как оптимальный вариант для увеличения ФВ ЛЖ при СД2.

3. Провоспалительные цитокины ФНО- α , МСР-1, ИЛ-6, ИЛ-8 могут рассматриваться в качестве терапевтических мишеней для разработки патогенетического лечения СД2 и его хронических осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Некоторые механизмы развития воспаления при сахарном диабете 2 типа / **Л.А. Бочкарева**, Л.В. Недосугова, Н.А. Петунина, М.Э. Тельнова, Е.В. Гончарова // **Сахарный диабет**. – 2021. – Т. 24, № 4. – С. 325–333. – doi: 10.14341/DM12746.
2. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications / L.V. Nedosugova, Y.V. Markina, **L.A. Bochkareva**, I.A. Kuzina, N.A. Petunina, I.Y. Yudina and T.V. Kirichenko // **Biomedicines**. – 2022. – Vol. 10(5). – P. 1168. – doi.org/10.3390/biomedicines10051168.
3. Monocyte activation in coronary heart disease and type 2 diabetes / T.V. Kirichenko, L.V. Nedosugova, **L.A. Bochkareva**, K.O. Galstyan, A.N. Orekhov, I.A. Sobenin // **Atherosclerosis**. – 2022. – Vol. 355. – P. 12.
4. Воспалительный статус моноцитов при Сахарном диабете 2 типа / Т.В. Кириченко, **Л.А. Бочкарева**, Л.В. Недосугова, Ю.В. Маркина, И.А.Кузина, Н.А. Петунина, Т.В. Толстик, А.И. Богатырева, В.А. Антонов, А.М. Маркин // **Биомедицина**. – 2023. – Т. 19, № 4. – С. 25–34. [RSCI].
5. The Effect of Gliflozin Therapy on TNF- α Secretion by Cultured Monocytes in Patients with Diabetes / T.V. Kirichenko, **L.A. Bochkareva**, Y.V. Markina, T.V. Tolstik, A.I. Bogatyreva, A.M. Markin, A.A. Tulskiy, I.A. Kuzina, L.V. Nedosugova, N.A. Petunina and A.N.Orekhov // **OnLine Journal of Biological Sciences**. – 2024. – Vol. 24(3). – P. 330–335. – doi: 10.3844/ojbsci.2024.330.335.
6. Взаимосвязь провоспалительной активации моноцитов с факторами риска атеросклероза при сахарном диабете 2 типа / Т.В. Кириченко, **Л.А. Бочкарева**, Л.В. Недосугова, Ю.В. Маркина, И.А. Кузина, Т.В. Толстик, А.И. Богатырева, А.М. Маркин // **Атеросклероз и дислипидемии**. - 2024. –Т.54, №1.– С. 45-51. – doi: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0006. [RSCI].
7. Провоспалительная активация и толерантность иммунного ответа моноцитов у пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа / **Л.А. Бочкарева**, Л.В. Недосугова, И.А. Кузина, Н.А. Петунина, Т.В. Кириченко, Ю.В. Маркина // **Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике. Сборник тезисов IV Конференции по лечению и диагностике сахарного диабета**. – Москва, 2024. – С. 23.
8. Влияние сахароснижающей терапии на провоспалительную активацию моноцитов/макрофагов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / **Л.А. Бочкарева**, Л.В. Недосугова, И.А. Кузина, Ю.В. Маркина, Т.В. Кириченко, Н.А. Петунина // **Эффективная фармакотерапия**. – 2025. – Т. 21, № 1. – С. 20–25. – doi: 10.33978/2307-3586-2025-21-1-20-25.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АЛТ – аланинаминотрансфераза
АС – атеросклероз
АСТ – аспартатаминотрансфераза
вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок
ИЛ-4 – интерлейкин -4
ИЛ-6 – интерлейкин -6
ИЛ-8 – интерлейкин -8
ИЛ-1 β – интерлейкин -1 β
ЛОНП – липопротеины очень низкой плотности
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
МСР-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1
НГЛТ-2 – ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа
ОИМ – острый инфаркт миокарда
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
СД2 – сахарный диабет 2 типа
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
ТГ – триглицериды
ТИМС ОСА – толщина интимо-медиального слоя общей сонной артерии
ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка
ФНО- α – фактор некроза опухолей – α
ХБП – хроническая болезнь почек
ХС – холестерин
ХСН – хроническая сердечная недостаточность