

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Краснова Марина Викторовна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ЭМПАГЛИФЛОЗИНА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ
МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ НОРМОГЛИКЕМИИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, доцент

Ивкин Дмитрий Юрьевич

Санкт–Петербург

2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Хроническая сердечная недостаточность.....	14
1.2. Современные подходы к лечению хронической сердечной недостаточности	15
1.3. Применение ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа в кардиологии	15
1.3.1. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа в остром периоде инфаркта миокарда.....	25
1.3.2. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа при хронической сердечной недостаточности	28
1.3.3. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа при нарушениях ритмах сердца	36
1.3.4. Иные кардиотропные эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа.....	40
1.3.5. Роль типовых процессов гипоксии при сердечно–сосудистых заболеваниях и влияние ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–типа на эти процессы	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	48
2.1 Компьютерный прогноз спектра биологической активности глифлозинов (PASS).....	48
2.2 Объекты исследования	51
2.3 Экспериментальные животные	54
2.4 Электрокардиографическое исследование	55
2.5 Эхокардиографическое исследование.....	55
2.6 Оценка толерантности к физической нагрузке	56
2.7 Эвтаназия.....	57
2.8 Гистологический анализ.....	58
2.9 Молекулярно–биологический анализ	59

2.10	Выделение желудочковых кардиомиоцитов	59
2.11	Регистрация ионных токов.....	60
2.12	Запись переходных процессов Ca ²⁺	61
2.13	Дизайн экспериментов.....	61
2.14	Статистическая обработка результатов исследования.....	70
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .		71
3.1	Влияние эмпаглифлозина на эхокардиографические и гистологические показатели, а также уровни фактора, индуцируемого гипоксией-1 α и сукцинатдегидрогеназного комплекса, субъединица A, на 10, 20 и 30 сутки после моделирования острого инфаркта миокарда у нормогликемических животных...	71
3.2	Эффективность стартовой терапии экспериментальной хронической сердечной недостаточности эмпаглифлозином в сравнении с традиционно используемыми средствами базисной терапии в условиях нормогликемии	87
3.3	Сравнительная оценка переносимости физической нагрузки у животных с постинфарктной хронической сердечной недостаточностью под воздействием эмпаглифлозина и средств традиционной базисной терапии	102
3.4	Оценка антиаритмического потенциала эмпаглифлозина на моделях хлоридкальциевой, строфантиновой и адреналиновой аритмий	105
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		123
ВЫВОДЫ.....		126
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....		127
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....		128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		132

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Основными причинами формирования хронической сердечной недостаточности (ХСН) у пациентов в Российской Федерации являются артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, а также сочетание этих и иных заболеваний (Поляков, Д.С. [и др.], 2021; Ситникова, М.Ю. [и др.], 2018; Драпкина, О.М. Самородская И.В., 2021; Фомин, И.В. [и др.], 2010; Rana, J.S., [et al.] 2021). Лидирующее место в смертности при сердечно–сосудистых заболеваниях (ССЗ) занимает инфаркт миокарда (ИМ) (Терещенко, С.Н. [и др.], 2020) и его осложнение в виде постинфарктной хронической сердечной недостаточности (ПИ ХСН) (Клинические рекомендации, 2020).

В эпидемиологических исследованиях, проведенных в Российской Федерации (ЭПОХА–ХСН, ЭПОХА–Госпиталь–ХСН и ЭПОХА–Декомпенсация–ХСН), было показано, что уровень распространенности пациентов с ХСН на 2017 г. составляет 8,2 %, при этом средняя годовая смертность с I–IV функциональным классом ХСН составляет 6 %, а у пациентов с клинически выраженной ХСН – 12 % (Поляков, Д.С. [и др.], 2021; Поляков, Д.С. [и др.], 2019; Фомин, И.В. [и др.], 2016).

Результаты рандомизированного клинического исследования (РКИ) EMPA–REG OUTCOME, в котором участвовало более 7 тысяч пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) и высоким риском развития сердечно–сосудистых событий продемонстрировали, что прием ингибитора натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа (iSGLT2) эмпаглифлозина снижал риск основных неблагоприятных ССС на 14 %, сердечно–сосудистой смертности – на 38 % и общей смертности – на 32 %, частоту госпитализаций по поводу ХСН – на 35 % (Zinman, B. [et al.], 2015).

Множество РКИ, подтверждающих нефро- и кардиопротективное действия iSGLT2, были проведены на пациентах с СД2 или на доклинических моделях данной патологии, где эти эффекты могут являться результатом их метаболического (гипогликемического) действия. Проведены и проводятся РКИ

не только по эмпаглифлозину, но и по прочим препаратам данного класса: канаглифлозину (CANVAS), дапаглифлозину (DARE-19, DAPA-HF, DAPA-CKD), сотаглифлозину (SOLOIST-HF, SCORED), эртуглифлозину (VERTIS CV) и другим (NCT01032629, 2023; Kosiborod, M.N. 20212021; Wiviott, S.D. [et al.], 2019; Verma, S. [et al.], 2023; Pandey, A. [et al.], 2023; Chen, J.Y. [et al.], 2023). Тем не менее, вклад препаратов данного класса в коррекцию развития ХСН при применении в профилактических схемах до конца не установлен. Имеющиеся в данный момент РКИ в большинстве своем демонстрируют роль монотерапии iSGLT2 при СД2 в торможении прогрессирования заболевания (Kosiborod, M. [et al.], 2017; Ferrannini, E. [et al.], 2010; Rosenstock, J. [et al.], 2012). Следовательно, установление эффективности глифлозинов в развитии ПИ ХСН в условиях нормогликемии является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования

С 2020 г. наблюдается прогрессивный рост количества публикаций по iSGLT2 по тематикам: сердечно - сосудистая диабетология, диабет, и ожирение, что говорит о неугасающем росте интереса научного общества к эффектам, оказываемым iSGLT2. В период с 2014 г. по 2024 г. в поисковой системе по биомедицинским исследованиям PubMed были опубликованы более 5000 статей и обзоров об исследованиях iSGLT2 (запрос поисковой строки: «((iSGLT2) OR (SGLT2 inhibitors)) OR (Sodium-glucose Cotransporter-2 Inhibitors)», 2024) (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>, 2024).

В плейотропные эффекты iSGLT2 представлены несколькими разнообразными воздействиями на системы и органы в организме. Одним из первых предполагаемых механизмов было усиление глюкозурии и натрийуреза, приводящее к осмотическому диурезу и регуляции объема циркулирующей крови. Так, работа Zinman В. и соавт. EMPA-REG OUTCOME заложила фундаментальные основы понимания роли iSGLT2, а именно эмпаглифлозина, при сердечно - сосудистых патологиях (Zinman, В. [et al.], 2015). Выводы большинства РКИ сделаны на основе применения iSGLT2 у пациентов с уже

сформированной ПИ ХСН, тогда как эффективность и целесообразность коррекции патологии на ранних этапах развития остается по большей степени не изучена, равно как и отсутствует понимание того, на какой фактор внезапной сердечной смертности (ВСС) глифлозины оказывают свое действие.

В то же время иная гипотеза, которая, однако, подвергается сомнениям со стороны некоторых авторов, состоит в действии *iSGLT2* на натрий–водородный ионнообменник 1 изоформы (NHE–1) (Trum, M. [et al.], 2020; Zuurbier, C. J. [et al.], 2021; Chung, Y.J. [et al.], 2021).

Ведущие исследователи соглашаются в том, что кардиопротекторная роль *iSGLT2* не зависит от снижения уровня глюкозы. Поэтому многие исследования были сосредоточены на механизме их кардиопротекторных эффектов. Так, в работе Lim V.G. и соавт. впервые было предположено, что наблюдаемое клинически улучшение сердечно–сосудистой выживаемости на фоне приема *iSGLT2* может осуществляться посредством прямого цитопротекторного эффекта, в том числе за счет защиты от повреждения миокарда ишемией–реперфузией (Lim, V.G. [et al.], 2019).

В качестве одного из перспективных путей лечения ХСН рассматривают воздействие *iSGLT2* на функции митохондрий [Kiyuna, L.A [et al.], 2018; Lyu, Y. [et al.], 2023]. Было показано, что эмпаглифлозин способен компенсировать микроциркуляторные нарушения в сердце путем ингибирования деления митохондрий при диабетической кардиомиопатии (Zhou, H. [et al.], 2018). В работе Lyu Y. и соавт. было продемонстрировано, что кардиопротективное действие эмпаглифлозина может быть связано с нормализацией работы митохондрий и увеличением продукции аденозинтрифосфата (АТФ) (Lyu, Y. [et al.], 2023).

Согласно одной из гипотез, выдвинутой Madonna R. и соавт., эмпаглифлозин также может ослаблять фиброз, о чем свидетельствует уменьшение содержания коллагена в кардиомиоцитах на фоне лечения (Madonna, R. [et al.], 2020).

В связи с отсутствием экспрессии SGLT2 в клетках миокарда логично полагать, что своё кардиопротективное действие эмпаглифлозин способен оказывать через иные независимые пути. Результативное снижение внутриклеточного уровня Na^+ и Ca^{2+} посредством ингибирования NHE-1, натрий-кальциевого ионообменника (NCX) и натриевых каналов Nav1.5 может приводить к снижению окислительного стресса и сигнализации кальций/кальмодулин-стимулированной протеинкиназы II (CaMKII) и пути NHE-1/NCX/активных форм кислорода (АФК)/CaMKII/оксида азота (NO) (Chen, S. [et al.], 2024). В работе Chen S. и соавт. было продемонстрировано, что у животных с нокаутом SGLT2 применение эмпаглифлозина способствует улучшению диастолической и систолической функции миокарда при формировании сердечной недостаточности путем ингибирования пути NHE1-NO (Chen, S. [et al.], 2024).

Затрагивая вопрос ВСС при ХСН, следует обратить внимание на желудочковые аритмии как один из важнейших факторов риска. Апостериорный анализ исследования РКИ DECLARE-TIMI 58 показал снижение частоты возникновения фибрилляции предсердий (ФП) и эпизодов трепетания предсердий у лиц с СД2, принимавших дапаглифлозин (Zelniker, T.A. [et al.], 2020). Несмотря на то, что Zhou Z. и соавт. представили противоречивые результаты исследования CREDENCE, недавние метаанализы РКИ указывают на значительное снижение частоты предсердных аритмий по сравнению с плацебо (Zhou, Z. [et al.], 2021; Fernandes, G. [et al.], 2021; Li, D. [et al.], 2021; Li, H.L. [et al.], 2021).

Таким образом, исследование механизмов влияния эмпаглифлозина на формирование и течение ХСН актуально как с фундаментальной, так и с практической точек зрения.

Соответствие исследований государственным и ведомственным программам

Работа выполнена в рамках научных платформ медицинской науки «Кардиология и ангиология» и «Фармакология» (приказ Минздрава России от 30 апреля 2013 г. №281 «Об утверждении научных платформ медицинской науки»

поиск и разработка новых фармакологических средств с кардиотропной активностью входит в число одного из приоритетных задач современной российской медицинской науки). Кроме того, разработка и исследование средств фармакологической коррекции является одним из приоритетных направлений фундаментальных и поисковых научных исследований (3.2.4. Фармакология и фармация (фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности)) согласно Распоряжению Правительства РФ от 31 декабря 2020 г. №3684-р Об утверждении Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 годы).

Цель исследования

Экспериментальная оценка эффективности эмпаглифлозина при инфаркте миокарда, постинфарктной хронической сердечной недостаточности и нарушениях ритма сердца у животных с нормогликемией.

Задачи исследования

1. Изучить влияние эмпаглифлозина на эхокардиографические и гистологические изменения в сердце, а также маркеры гипоксического повреждения миокарда в динамике до 30 дней после моделирования инфаркта миокарда у нормогликемических животных;
2. Оценить эффективность стартовой терапии экспериментальной хронической сердечной недостаточности эмпаглифлозином в сравнении с традиционно используемыми средствами базисной терапии в условиях нормогликемии;
3. Провести сравнительную оценку переносимости физической нагрузки у животных с постинфарктной хронической сердечной недостаточностью под воздействием эмпаглифлозина и средств традиционной базисной терапии;
4. Провести оценку антиаритмического потенциала эмпаглифлозина на скрининговых моделях аритмий и выявить возможный механизм его реализации.

Научная новизна исследования

Продемонстрирована фармакотерапевтическая эффективность применения эмпаглифлозина на модели ПИ ХСН у нормогликемических животных в сравнении с препаратами традиционной базисной терапии. Получены данные о том, что терапия эмпаглифлозином на протяжении 3 месяцев способствует повышению выживаемости животных, улучшению структурно-геометрических показателей левого желудочка, увеличивая конечно-диастолический, ударный и минутный объемы и фракцию выброса, что сопоставимо с результатами животных, получавших ингибитор ангиотензинпревращающего фермента фозиноприл, и превосходит эхокардиографические показатели животных (по показателям величина систолической экскурсии плоскости кольца митрального клапана, размер правого и левого предсердия по длинной оси, толщина межжелудочковой перегородки) групп бета-1-адреноблокатора бисопролола и антагониста альдостерона спиронолактона.

Показано, что на фоне 3-месячной терапии эмпаглифлозином наблюдался выраженный рост толерантности к физической нагрузке по сравнению с животными других групп с ПИ ХСН.

Выявлено, что применение эмпаглифлозина, начиная с первого дня после моделирования ИМ, способствует уменьшению размера его зоны, устойчивому росту фракции выброса (ФВ) и фракции укорочения (ФУ) левого желудочка (ЛЖ), а также уровня сукцинатдегидрогеназного комплекса, субъединица А (SDHA), и уровня фактора, индуцируемого гипоксией-1 α (HIF-1 α).

На основных скрининговых моделях аритмогенеза у животных продемонстрирован антиаритмический потенциал эмпаглифлозина, наибольшее свое влияние он показал при хлоридкальциевой модели, не проявил значимого влияния в строфантиновой и адреналиновой моделях. Применение эмпаглифлозина приводит к уменьшению встречаемости экстрасистол, увеличению выживаемости животных, более быстрому восстановлению синусового ритма. Увеличение дозы эмпаглифлозина не приводит к росту эффективности.

Продемонстрировано положительное влияние эмпаглифозина на трансмембранные токи Ca^{2+} и переходные процессы Ca^{2+} на изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей. Наблюдаемая усиленная и ускоренная внутриклеточная динамика Ca^{2+} может отражать способность препарата оптимизировать силу и время сократительного цикла сердца, что может быть одним из важных элементов в проявлении антиаритмических свойств.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе экспериментально обоснованы возможность и целесообразность коррекции функций миокарда при ХСН в условиях нормогликемии с использованием эмпаглифозина.

Наличие антиаритмического эффекта и понимание механизма его реализации определяет возможность использования глифлозинов как средств, предотвращающих ВСС у кардиологических пациентов как с СД2, так и без него.

Увеличение толерантности к физической нагрузке на фоне применения эмпаглифозина совместно с благоприятными сердечно-сосудистыми эффектами делает возможным рассмотрение применения препарата в качестве средства реабилитации пациентов после перенесенного ИМ.

Результаты исследования позволяют рекомендовать эмпаглифозин и его аналоги для дальнейшего изучения в качестве средств фармакологической коррекции кардиологических патологий у различных категорий больных.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования, а именно: «Кардиотропные свойства ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2 типа» внедрены в учебный процесс по учебным дисциплинам «Фармакология» и «Клиническая фармакология» в рамках программы высшего образования – программы специалитета по специальности 33.05.01 «Фармация» очной формы обучения, а также в научно–исследовательской деятельности кафедры фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного

учреждения высшего образования «Санкт–Петербургский государственный химико–фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Также результаты диссертационного исследования, а именно: «Механизмы реализации эффекта влияния эмпаглифлозина при сердечной недостаточности в условиях нормогликемии» внедрены в учебный процесс по учебным дисциплинам «Фармакология» и «Клиническая фармакология» в рамках программы высшего образования–программы специалитета по специальности 33.05.01 «Фармация» очной формы обучения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Пермская государственная фармацевтическая академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Положения, выносимые на защиту

1 Эмпаглифлозин при инфаркте миокарда обладает выраженными кардиотропными эффектами, что подтверждается совокупностью экспериментальных эхокардиографических, гистологических и молекулярно-биологических данных.

2 Эмпаглифлозин при хронической сердечной недостаточности улучшает функциональные показатели левого желудочка, повышает толерантность к физической нагрузке и снижает смертность, сопоставимо с фозиноприлом, и превосходя бисопролол и спиронолактон.

3 Эмпаглифлозин на хлоридкальциевой модели аритмии снижает летальность экспериментальных животных, но является малоэффективным при строфантиновой и адреналиновой аритмиях. Эскалация дозы эмпаглифлозина до 10 мг/кг не приводит к увеличению эффективности. Показано положительное влияние препарата на трансмембранные токи кальция и переходные процессы кальция на изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей.

Степень достоверности и апробация работы

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов и методологических подходов, соответствующих поставленным задачам. Сформулированные в диссертационной работе выводы были подтверждены экспериментальным материалом, анализом литературы, точностью статистической обработки первичных данных.

Основные результаты работы были доложены на Международных и Всероссийских научных конференциях студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация–потенциал будущего» (Санкт–Петербург, Россия, 2018, 2019 и 2020), III и IV Всероссийских научно–практических конференциях с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Санкт–Петербург, Россия, 2018, 2019), XIV и XV научно–практической конференции «Биомедицина и биомоделирование», (Санкт–Петербург, Россия, 2019 и 2020), на международной научно–практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, Узбекистан, 2020) на конгрессе «Сердечная недостаточность» Европейского кардиологического общества (ESC Heart Failure 2018–Vienna, Austria; 2019–Athens, Greece), на международном молодежном форуме «Неделя науки–2023» (Ставрополь, Россия, 2023).

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов

Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования. Автору принадлежит ведущая роль в проведении исследований. При написании диссертационной работы автором выполнены анализ отечественной и зарубежной литературы, сбор данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, сформулированы выводы и практические рекомендации, оформлена рукопись.

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 15 работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных перечнем Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России и 1 статья, входящая в перечень SCOPUS.

Структура и объем работы

Полный объем диссертации составляет 169 страниц, в том числе 37 рисунков и 12 таблиц. Диссертация включает введение, обзор литературы (глава 1, с. 14–47), материалы и методы исследований (глава 2, с. 48–70), результаты собственных исследований и их обсуждение (глава 3, с. 71–122), заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список использованных источников. Литературный указатель включает 316 источника, из них 295 — на иностранном (английском) языке.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Хроническая сердечная недостаточность

Клинические рекомендации Европейского кардиологического общества 2023 года определяют сердечную недостаточность (СН) не как единственный патологический диагноз, а как клинический синдром, который включает целый комплекс основных симптомов (таких как одышка, отеки нижних конечностей и усталость), который также может сопровождаться повышением венозного давления в яремных венах, периферическими отеками и лёгочными хрипами (McDonagh, T.A. [et al.], 2021; McDonagh, T.A. [et al.], 2023). Все это является следствием структурных и/или функциональных аномалий сердца, из-за чего происходит рост давления внутри сердца и/или нехватка сердечного выброса (СВ), как во время физических нагрузок, так и в период покоя (McDonagh, T.A. [et al.], 2021; McDonagh, T.A. [et al.], 2023).

Несмотря на имеющиеся достижения в области изучения патогенеза и лечения ХСН, данная патология остается одной из самых распространенных и тяжелых осложнений ССЗ (Терещенко, С.Н. [и др.], 2020).

СН можно рассматривать как прогрессирующее заболевание, которое приводит к повреждению миокарда, и, соответственно, к уменьшению числа функционирующих кардиомиоцитов или к снижению способности миокарда нормально сокращаться. В большинстве случаев начало снижения сократимости миокарда протекает бессимптомно или с минимальными проявлениями, что осложняет раннюю диагностику развития заболевания.

СД2 является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений, а также рассматривается в качестве эквивалента наличия у пациента клинически выраженного ССЗ. В 60–75 % случаев причиной летальных исходов у пациентов с СД2 являются ССЗ, что говорит о необходимости уделять этой проблеме особое внимание (Bloomgarden, Z.T., 2008; Gaede, P. [et al.], 2003). С учетом сложных патофизиологических связей между СД2, ожирением, АГ и атеросклерозом особое значение для всех имеющих в практике и появляющихся новых гипогликемических средств приобретает не только их способность

обеспечивать контроль гликемии, но и их влияние на факторы сердечно–сосудистого риска у больных СД2 (Law, M.R. [et al.], 2009).

1.2. Современные подходы к лечению хронической сердечной недостаточности

Исходя из патогенеза ХСН, основным медикаментозным направлением лечения заболевания является снижение избыточной активации симпато–адреналовой системы (САС) и ренин–ангиотензин–альдостероновой системы (РААС). Это достигается ограничением задержки Na^+ и воды в организме (диуретики и блокаторы неприлизина), снижением общего периферического сопротивления сосудов (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), блокаторы рецепторов ангиотензина II), нормализацией сердечного выброса (иАПФ, БАБ, сердечные гликозиды), а также замедлением ремоделирования миокарда и сосудов (иАПФ, блокаторы рецепторов ангиотензина II, антагонисты альдостерона, блокаторы неприлизина) (Терещенко, С.Н. [и др.], 2020).

В клинических рекомендациях по ХСН 2020 года дапаглифлозин впервые рекомендуется всем пациентам с симптомной СН и сниженной ФВ ЛЖ вне зависимости от наличия или отсутствия СД2 и при отсутствии противопоказаний для снижения риска госпитализации из–за СН и смерти (Терещенко, С.Н. [и др.], 2020). Пациентам с ХСНнФВ и СД2 рекомендованы дапаглифлозин, эмпаглифлозин и канаглифлозин (за исключением тяжелых пациентов 3 и 4 функциональных классов для канаглифлозина) (Терещенко, С.Н. [и др.], 2020).

1.3. Применение ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа в кардиологии

Флоризин — это вещество полифенольной структуры, дигидрохалкон, содержится в основном в незрелых яблоках, вегетативных тканях яблони (листья и кора) (Park, S., Park, S.K., 2022). Способность флоризина неспецифически ингибировать натрий–глюкозный котранспортер 1–го типа (SGLT1) и SGLT2

позволяет квалифицировать его как вещество с антидиабетическими свойствами (Yu, Y.W. [et al.], 2024). Некоторые исследования показали, что ингибирование SGLT2 индуцирует состояние, имитирующее дефицит питательных веществ и кислорода, которое включает активацию аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназы (AMPK), сиртуина-1 (SIRT1) и/или фактора, индуцируемого гипоксией-1 α . (HIF-1 α) [Packer, M., 2020]. Взаимодействие этих медиаторов может стимулировать аутофагию. С другой стороны, флоризин может замедлить процесс фиброза после ИМ, ингибировать воспаление, опосредованное поляризацией макрофагов, нормализовать уровень липидов в крови и ингибировать окислительный стресс (Lee, T.M. [et al.], 2017; Lambert, R. [et al.], 2015 ; Cai, Q. [et al.], 2013; Gupta, P. [et al.], 2013).

Несмотря на выраженный ингибирующий эффект в отношении SGLT, флоризин в конечном итоге был признан непригодным для дальнейшей разработки в качестве гипогликемического препарата из-за некоторых критических недостатков. Значения концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) флоризина составляют 35,6 нМ / 330 нМ для SGLT2/SGLT1 (Dardi, I. [et al.], 2016). Флоризин действует как iSGLT1 на белки SGLT1 в кишечнике, что приводит к побочным эффектам со стороны желудочно-кишечного тракта, связанным с мальабсорбцией глюкозы и галактозы и плохой биодоступностью при пероральном приеме (Ramani, J. [et al.], 2022).

Чтобы преодолеть данные ограничения были предприняты обширные исследования по разработке новых аналогов флоризина с большей биодоступностью, стабильностью и селективностью к SGLT2 (рис. 1). Изначально внимание было обращено на аналоги О-гликозида и был синтезирован пероральный селективный iSGLT2 T-1095 (Oku, A. [et al.], 1999). T-1095 имел интенсивный метаболизм в печени с образованием активной формы T-1095A, что приводило к дозозависимому снижению реабсорбции глюкозы в моче и подавлению повышения уровня глюкозы в крови, а также к увеличению экскреции глюкозы с мочой (Oku, A. [et al.], 1999). Рассчитанные значения IC₅₀ T-1095A для SGLT1 и SGLT2 человека составляли примерно 200 нМ и 50 нМ

соответственно, что свидетельствовало о более селективной и мощной ингибирующей активности по сравнению с флоризином (Oku, A. [et al.], 1999). Затем были получены и другие производные О–глюкозида – серглифлозин, ремоглифлозин и AVE2268 (Katsuno, K. [et al.], 2007; Fujimori, Y. [et al.], 2008; Bickel, M. [et al.], 2008; Derdau, V. [et al.], 2010). Хотя эти О–глюкозиды показали минимальную деградацию, опосредованную глюкозидазой, и повышенное системное воздействие, их плохая стабильность и неполная фармакологическая селективность в отношении SGLT2 привлекли интерес многих ученых к другим производным флоризина – С–глюкозидам.

С момента первого синтеза С–глюкозидных аналогов флоризина в 2000 году предпринимались многочисленные попытки найти оптимальные заместители с достаточной эффективностью и селективностью в отношении к SGLT2 (Link, J.T., Sorensen, B.K., 2000). Анализ зависимости структура–активность (SAR) по изучению замещения между двумя бензольными кольцами и размещения глюкозильного фрагмента по отношению к дистальному бензольному кольцу привел к открытию дапаглифлозина. В 2008 году Meng и соавт. разработали дапаглифлозин с липофильными этокси–заместителями в 4–м положении В–кольца флоризина (Meng, W. [et al.], 2008). Дапаглифлозин — первый препарат, открытый как высокоселективный iSGLT2 со значением IC_{50} 1,1 нМ (рис. 1) (Manoj, A. [et al.], 2020).

После появления дапаглифлозина было разработано несколько С–глюкозидов iSGLT2. Канаглифлозин был открыт путем замены фенильного кольца на тиофеновое. Значение IC_{50} канаглифлозина по отношению к SGLT2 составляет 2,2 нМ (рис. 1) (Cai, W. [et al.], 2015).

Эмпаглифлозин был третьим препаратом в классе глифлозинов, который одобрило Европейское агентство лекарственных средств (EMA) и комитет Управления по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) в 2014 году. Он имеет самую высокую селективность к SGLT2 по сравнению с SGLT1 (примерно в 2700 раз) среди iSGLT2, представленных на рынке (Alkabbani, W., Gamble, J.M., 2021). По строению он сходен с дапаглифлозином, с

тетрагидрофурановым фрагментом вместо этильной группы этилфенилэфирной части молекулы со значением IC_{50} 3,1 нМ (рис. 1).

Многие японские фармацевтические компании в последние годы проводят разработку $iSGLT2$ следующего поколения, включая ипраглифлозин, тофоглифлозин, лузеоглифлозин, эртуглифлозин и сотаглифлозин (Bays, H., 2013; Mudaliar, S. [et al.], 2015).

Ипраглифлозин представляет собой селективный $iSGLT2$ на основе бензотиофена со значением IC_{50} 7,4 нМ (рис. 1) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, 2023).

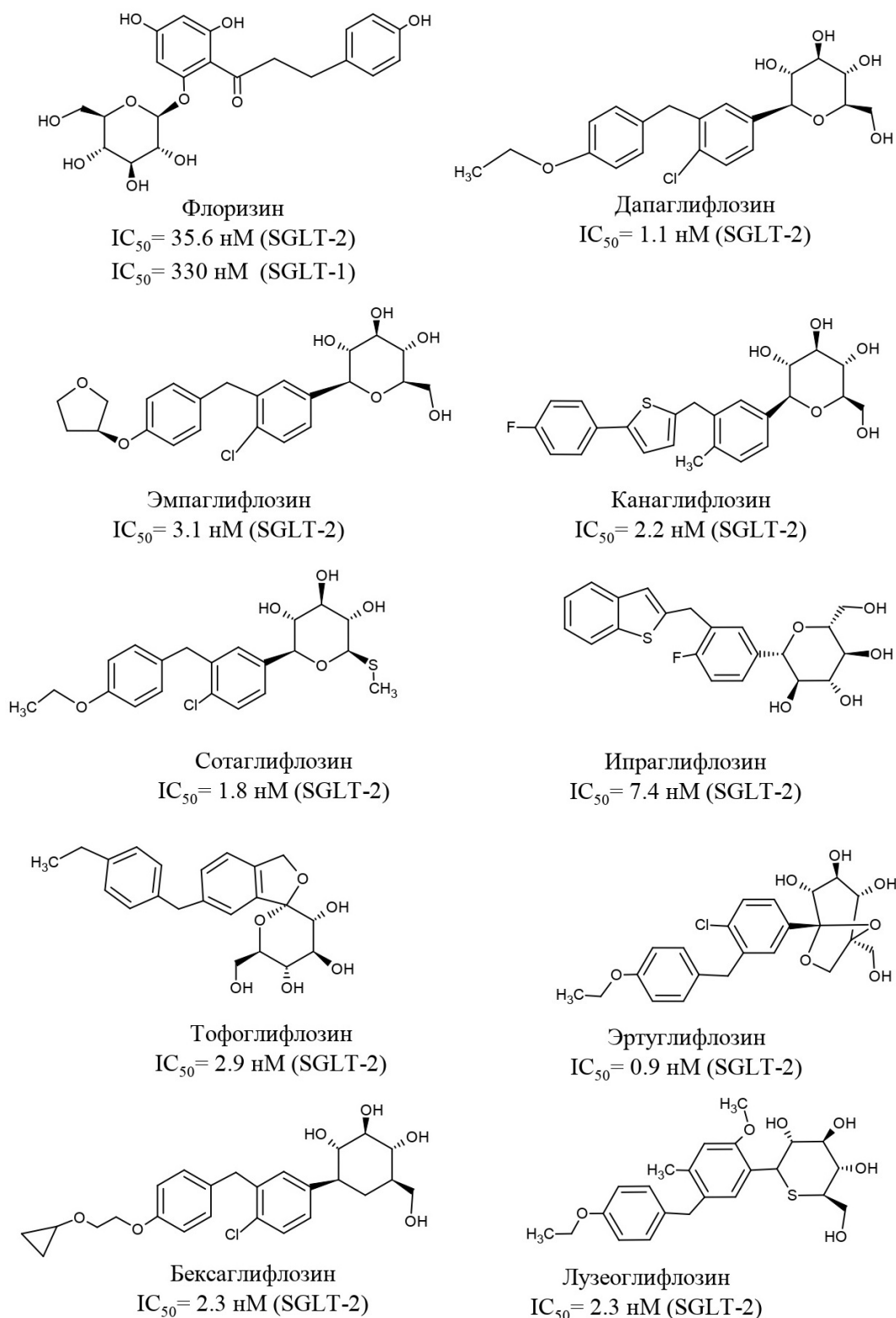


Рисунок 1. Флоризин и члены семейства глифлозинов с их значениями концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) против SGLT2 (Изменено и дополнено на основе электронного ресурса PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, 2023))

Тофоглифлозин – О–спирокетал С–гликозид, селективный iSGLT2 со значением IC_{50} 2,9 нМ, получивший одобрение в качестве противодиабетического средства в Японии (рис. 1) (Kumar, S. [et al.], 2020).

Также для лечения СД2 в Японии был одобрен лузеоглифозин со значением IC_{50} 2,3 нМ к SGLT2 (Seino, Y., 2014). Лузеоглифозин в своей структуре состоит из тианового кольца, в отличие от пиранового кольца, присутствующего в большинстве глифлозинов, с группой $-OCH_3$ в положении –С6 в бензольном кольце для улучшения эффективности и селективности в отношении ингибирования SGLT2.

Сотаглифлозин представляет собой неселективный SGLT со значением IC_{50} 1,8 нМ к SGLT–2 (рис. 1) Он содержит L–ксилозид с метилтиозаместителями (Deeks, E.D., 2019). Это единственный С–гликозид iSGLT2, эффективный против сахарного диабета 1 типа при сниженной дозе инсулина.

Эртуглифлозин является селективным и мощным iSGLT2. Это циклическое производное диоксибицикло [3.2.1] октана со значением IC_{50} 0,9 нМ к SGLT2 (рис. 1) (Marrs, J.C., Anderson, S.L., 2020).

Бексаглифлозин является новейшей разработкой этого класса гипогликемических средств (рис. 1) (Azzam, O. [et al.], 2021). Это С–арилгликозид со значением IC_{50} 2,3 нМ к SGLT2.

Представителей iSGLT2 нельзя назвать новым классом антидиабетических средств, в клиническую практику эти лекарства впервые вошли в 2013 году, именно с них началась фармакологическая революция в эндокринологии, кардиологии и нефрологии. Первым событием стала публикация в 2015 году результатов исследования EMPA–REG OUTCOME, которое наряду с демонстрацией безопасности представителя класса iSGLT2 эмпаглифлозина у пациентов с СД2, также демонстрирует благоприятный сердечно–сосудистый эффект благодаря проявлению вторичной фармакодинамике препарата (Zinman, B. [et al.], 2015).

После метформина (в относительно малочисленной выборке пациентов исследования UKPDS) ни одно из новых антидиабетических средств,

поступающих на рынок, до 2015 года, не смогло доказать положительного влияния на кардиоваскулярный прогноз (NCT01099865, 2023; Green, J.B. [et al.], 2015). Более того, некоторые лекарства негативно влияли на ССС, провоцируя развитие ИМ и СН (Pfeffer, M.A. [et al.], 2015; Nissen, S.E., Wolski K., 2007; Scirica, V.M. [et al.], 2014). Тем более удивительным оказался тот факт, что эмпаглифлозин, а затем и другие iSGLT2, снижали риск декомпенсации СН и темпы прогрессирования ХБП. Эти уникальные качества сделали iSGLT2 объектом активного изучения с целью понимания механизмов такого позитивного влияния.

Результаты EMPA–REG OUTCOME, CANVAS program и DECLARE TIMI очевидно демонстрируют свою кардиотропную и нефротропную ценность эффектов iSGLT2 (Zinman, B. [et al.], 2015; Neal, B. [et al.], 2017).

На большом экспериментальном материале показано, что iSGLT2 эмпаглифлозин, канаглифлозин и дапаглифлозин замедляют прогрессирование СН при ее моделировании у нормогликемических животных (Lim, V.G. [et al.], 2019; Byrne, N.J [et al.], 2017; Yurista, S.R. [et al.], 2019; Cappetta, D. [et al.], 2020). Итоги РК DAPA HF (NCT03036124) и EMPEROR Reduced (NCT03057977) убедительно продемонстрировали благоприятное действие iSGLT2 на течение и прогноз ХСН у пациентов, не страдающих СД2 (Packer, M. [et al.], 2020; Packer, M. [et al.], 2021; McMurray, J.J. [et al.], 2014).

Гипогликемическое действие iSGLT2 не может в полной мере объяснить данные эффекты. Это также подтверждается и тем, что кривая выживаемости Каплана–Мейера в исследовании EMPA–REG OUTCOME имеет раннее расхождение, и применение ряда высокоактивных гипогликемических препаратов может оказать отрицательное влияние на риск развития СН., и, наконец, существует целый ряд плеiotропных эффектов, которые имеют отношение к снижению САД, натрийурезу и осмотическому диурезу, которые могут быть полезны для профилактики и лечения ХСН. (Куликов, А.н. [и др.], 2021; Zinman, B. [et al.], 2015; McMurray, J.J. [et al.], 2014; Martens, P. [et al.], 2017). Кроме того, при анализе работ по исследованию влияния сотаглифлозина (iSGLT 1 и 2 типов)

на функции сердца, возникает вопрос, могут ли эти эффекты быть усилены дополнительным ингибированием SGLT1 (Bode, D. [et al.], 2021; Cefalo, C.M.A. [et al.], 2019). Суммарные фармакодинамические эффекты iSGLT2 отражены на рисунке 2, а возможные точки приложения, влияющие на причины и факторы ВСС на рисунке 3 (Fathi, A. [et al.], 2021; Браунвальд Е., 2011).

В вопросах безопасности наиболее частыми побочными эффектами глифлозинов были увеличение риска диабетического кетоацидоза, появления урогенитальных инфекций и, редко – гангрены Фурнье (Bersoff–Matcha, S.J. [et al.], 2019; Scheen, A.J., 2019).

Ряд вопросов о глифлозинах остается без ответа. Какой из возможных кардиотропных механизмов действия iSGLT2 является ведущим? Почему различные представители iSGLT2 по-разному влияют на смертность от сердечно-сосудистых причин у больных СД2? Результаты РКИ EMPA–REG OUTCOME наводят на мысль о том, что снижение кардиоваскулярной смертности, вызванное эмпаглифлозином, нельзя объяснить только уменьшением частоты обострений ХСН, т.к. доля этих событий в группе плацебо составляет лишь 1/7 часть от всех причин летальных исходов. Значительный вес в общей структуре летальности занимают ВСС ($\approx 27\%$) и смерть от прочих кардиоваскулярных причин ($\approx 40\%$), где кардиальный генез смерти лишь предполагается (Zinman, B. [et al.], 2015). Учитывая пробелы в понимании ключевых кардиоваскулярных эффектов iSGLT2, нельзя исключить, что благоприятное влияние на кардиоваскулярный прогноз можно хотя бы отчасти объяснить их антиаритмогенным действием, снижающим риск внезапной смерти.

Механизмы iSGLT2 при сердечной недостаточности



Рисунок 2. Фармакодинамика ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2 типа (Адаптировано из Fathi A. и соавт. 2021 (Fathi, A. [et al.], 2021)). Примечания: SIRT1 – сиртуин 1 ; AMPK – 5'аденозинмонофосфат–активируемая протеинкиназа; HIF–1 – фактор, индуцируемый гипоксией 1; HIF–2 – фактор, индуцируемый гипоксией 2; NHE–1 – натрий–водородный ионнообменник 1 изоформы; SGLT–1 – натрий–глюкозный котранспортер 1 типа; АТФ – аденозинтрифосфат



Рисунок 3. Точки приложения iSGLT2 на причины и факторы возникновения внезапной сердечной смерти (Адаптировано из Браунвальд Е. 2011 (Браунвальд Е., 2011)). Примечание: ВСС–внезапная сердечная смерть; СН–сердечная недостаточность; ХСН–хроническая сердечная недостаточность; ЛЖ–левый желудочек.

1.3.1. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа в остром периоде инфаркта миокарда

Наиболее частым осложнением ИМ у пациентов является последующее формирование ХСН (Swaroop, G., 2022). Пациенты после ИМ с дисфункцией ЛЖ имеют более высокий риск ВСС или развития ССЗ. Данные доклинических и некоторых клинических исследований *iSGLT2* продемонстрировали, что лекарственная терапия данным классом препаратов может значительно улучшить краткосрочные и долгосрочные результаты, включая влияние на смертность, возникновения повторного инфаркта и прогрессирование ХСН (von Lewinski, D. [et al.], 2022). Предполагается, что улучшение выживаемости при ССЗ, наблюдаемое клинически, может быть связано с прямым цитопротекторным эффектом, включая защиту от ишемически/реперфузионного (И/Р) повреждения миокарда.

Доклинические исследования

В экспериментальной работе модели И/Р изолированных сердец крыс (40 минут ишемии и 30 минут реперфузии) предварительное введение эмпаглифлозина не изменяло размера зоны инфаркта (Jespersen, N.R. [et al.], 2017). Однако, во время 25–минутной ишемии и 2–часовой реперфузии в изолированных сердцах мышей эмпаглифлозин задерживал развитие ишемической контрактуры (Jespersen, N.R. [et al.], 2017). По некоторым данным, реперфузионное повреждение изолированных сердец оставалось неизменным или даже усугублялось при обработке эмпаглифлозином (Uthman, L. [et al.], 2018). Эти эффекты могут указывать на ингибирование NHE–1 во время ишемии. Кроме того, применение эмпаглифлозина в более высокой дозе (выше, чем максимальная концентрация, применяемая в КИ) демонстрирует потенциальное цитотоксическое действие. Также эмпаглифлозин не влиял на ток кальция в митохондриях изолированных сердец (Jespersen, N.R. [et al.], 2017; Uthman, L. [et al.], 2018; Andreadou, I. [et al.], 2017).

Предварительное назначение эмпаглифлозина животным (за 7 дней до моделирования ИМ у крыс) снижало зону ишемического повреждения сердца, в то время как обработка изолированного сердца препаратом за 1,5 часа до И/Р не демонстрировало значимых результатов в снижении дисфункции ЛЖ (Seefeldt, J.M. [et al.], 2021). Эмпаглифлозин благоприятно влияет на функцию и ремоделирование сердца у недиабетических крыс с дисфункцией ЛЖ после ИМ, что связано со значительным улучшением сердечного метаболизма и продукции сердечного АТФ (Yurista, S.R. [et al.], 2019).

Хроническое пероральное введение эмпаглифлозина на протяжении 6 недель способствовало уменьшению размера зоны ИМ через 30 минут/2 часа И/Р, однако острое введение препарата за 24 или 4 часа до И/Р не влияло на размер инфаркта (Nikolaou, P.E. [et al.], 2021). Хроническое введение эмпаглифлозина привело к значительному снижению биомаркеров окислительного стресса. Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 (STAT-3) активировался фосфорилированием Y(705) (Stat-3-Y-705) на 10-й минуте реперфузии, но оставался неизменным через 2 часа реперфузии и в протоколе острого введения препарата. Протеомный анализ продемонстрировал, что при хроническом применении запускается несколько путей реперфузии, включая окислительный стресс и появляются белки, связанные с интегрином. Показатели супероксиддисмутаза и фактор роста эндотелия сосудов повышались во время реперфузии. Предварительная обработка эмпаглифлозином (за 24 часа) повышала жизнеспособность микрососудистых эндотелиальных клеток человека при нормоксии и при 3-часовой гипоксии/1-часовой реоксигенации и снижала выработку АФК (Nikolaou, P.E. [et al.], 2021).

Аутофагия, важный процесс деградации цитоплазматических компонентов и дисфункциональных органелл, действует как механизм защиты клеток в ответ на стресс (Fernández, Á. F. [et al.], 2018). Однако, аутофагия также может быть критическим регулятором гибели клеток, характеризующимся образованием аутофагосом и цитоплазматической вакуолизацией (Green, D. R., Llambi, F., 2015; Galluzzi, L. [et al.], 2018). Дисфункция аутофагии связана с несколькими

сердечными заболеваниями, в том числе с такими как СН и ИМ (Fernández, Á. F. [et al.], 2018; Chen, X. [et al.], 2019; Wang, D. [et al.], 2021; Sciarretta, S. [et al.], 2018). Избыточная аутофагия кардиомиоцитов возникает из-за ишемии и гипоксии после ИМ, что приводит к апоптозу и дисфункции кардиомиоцитов (Liu, C.Y. [et al.], 2018; Wang, X. [et al.], 2018). Это означает, что аутофагия может быть важной терапевтической мишенью при СН после ИМ. В экспериментальной работе Jiang и соавт. кардиопротективное действие эмпаглифлозина связывают с подавлением аутофагии кардиомиоцитов (аутофагической гибели клеток) (Jiang, K. [et al.], 2022). На модели ИМ у недиабетических и диабетических мышей, лечение значительно уменьшало размер инфаркта и фиброз миокарда, тем самым приводя к улучшению сердечной функции и выживаемости животных. В условиях ишемии и дефицита глюкозы, когда процесс аутофагии уже стимулирован, эмпаглифлозин напрямую ингибирует активность NHE-1 в кардиомиоцитах, регулируя чрезмерную аутофагию. Эмпаглифлозин может снижать процесс аутофагии путем нацеливания на NHE-1 кардиомиоцитов, уменьшая их гибель кардиомиоцитов из-за чрезмерной аутофагии, тем самым играя кардиопротекторную роль (Deng, R [et al.], 2022).

Клинические исследования

Данные, полученные Шальной С.А. и соавт. в ходе исследования о распространенности ССЗ среди населения Российской Федерации, показывают наличие общей доли ИМ у 2,9 % от популяции: из них 5,2 % составляют мужчины и 1,5 % – женщины, с тенденцией к росту доли с увеличением возраста (Шальная, С.А. [и др.], 2022; Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Проведённое к 31.08.2023 Было проведено РКИ EMPACT-MI (NCT04509674) направленное на оценку влияния гипогликемического средства - iSGLT2 эмпаглифлозина (Джардинс®, Boehringer Ingelheim) на госпитализацию пациентов с СН и смертность после перенесенного ОИМ (NCT04509674, 2023). На данный момент результаты данного исследования находятся в стадии анализа и их публикация, и ещё только должны стать общедоступными (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

Официальные данные исследования, проведенных в рамках программы EMPA–RESPONSE-AHF (NCT03200860), подтверждают возможность использования iSGLT2 у госпитализированных пациентов с ОИМ непосредственно в период их восстановления (NCT03200860, 2023). В исследовании EMPA–RESPONSE–AHF, проведенное среди пациентов с ОИМ, рандомизированных в течение суток после возникновения ИМ, эмпаглифлозин показал свою безопасность и хорошо переносимость, снижая выраженность эффектов комбинированной конечной точки (Damman, K. [et al.], 2020; Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

В РКИ EMPULSE (NCT04157751), включавшим пациентов с первичным диагнозом острой de novo или декомпенсированной ХСН независимо от ФВ ЛЖ было изучено влияние применения эмпаглифлозина при назначении препарата в срок до 3 дней после события и на протяжении лечения до 90 дней. У большего числа пациентов, получавших эмпаглифлозин, наблюдалась клиническая польза по сравнению с плацебо, что соответствует первичной конечной точке. Клиническая польза и хорошая переносимость наблюдалась как при острой de novo, так и при декомпенсированной ХСН и наблюдалась независимо от ФВ или наличия или отсутствия СД2 (Voors, A.A. [et al.], 2022).

Таким образом, можно утверждать, что терапия iSGLT2 связана со значительным снижением риска ВСС (Oates, C.P. [et al.], 2023).

1.3.2. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа при хронической сердечной недостаточности

Клинические и экспериментальные исследования iSGLT2 показывают выраженный положительный эффект у пациентов с ХСНнФВ, так и ХСНсФВ, снижая риск госпитализации по поводу СН, а также ВСС и смерть от различных причин. Значимые положительные результаты РКИ послужили поводом для включения эмпаглифлозина и дапаглифлозина в рекомендации по лечению ХСН (Seino, Y., 2014).

Доклинические исследования

Возможные механизмы кардиопротекторного действия глифлозинов при ХСН могут включать несколько компонентов. Хотя SGLT2 не были обнаружены в кардиомиоцитах, SGLT1, по-видимому, высоко экспрессируется в сердце человека, крыс и мышей, и, возможно, может быть активирован в ишемических, гипертрофических и диабетических сердцах (Law, M.R. [et al.], 2009; Banerjee, S.K. [et al.], 2009; Kashiwagi, Y. [et al.], 2015; Vrhovac, I. [et al.], 2015; Di Franco, A. [et al.], 2017; Van Steenberghe, A. [et al.], 2017).

На мышцах линии C57BL/6J проверялась эффективность эмпаглифлозина в доксорубин-индуцированной модели СН. Было продемонстрировано, что эмпаглифлозин обладает защитным эффектом, снижая выраженность гипертрофических изменений сердца и повышая уровень β -гидроксибутирата (Oh, S.M. [et al.], 2019).

Длительное лечение животных с ХСН эмпаглифлозином способствовало улучшению функций сердца, снижению внутриклеточного уровня АФК, вызывало значительное снижение NT-proBNP (мозгового натрийуретического гормона) и hs-CRP (высокочувствительного С-реактивного белка) и ингибирование экспрессии iNOS (индуцируемой NO-синтазы). Эмпаглифлозин может улучшить сердечную функцию у крыс с ХСН, и этот механизм может включать ингибирование воспаления, снижение окислительного стресса миокарда и уменьшение фиброза миокарда (Wang, Z. [et al.], 2024).

Длительное лечение мышей с сформировавшейся ХСН эмпаглифлозином способствовало ингибированию деления митохондрий и улучшало эффективность энергетического метаболизма у животных. Эмпаглифлозин уменьшал фиброз миокарда и сердечную дисфункцию, модулируя митохондриальную динамику у мышей с СН. Таким образом, кардиопротективное действие эмпаглифлозина может быть связано с нормализацией работы митохондрий и увеличением продукции АТФ (Wang, Z. [et al.], 2024).

Клинические исследования

Результаты крупного РКИ EMPA–REG OUTCOME (NCT01131676) впервые продемонстрировали способность iSGLT2 эмпаглифлозина (Джардинс[®], Boehringer Ingelheim) снижать относительный риск смертности от ССЗ, а также снижать риск госпитализаций по поводу СН (Zinman, В. [et al.], 2015).

Пациенты с СД2 и сопутствующими ССЗ, в данном РКИ получали лечение эмпаглифлозином в двух дозах–10 или 25 мг/сут. У данных пациентов была отмечена более низкая вероятность смерти, чем в группе плацебо. Преимущество в отношении выживаемости не имело связей с причинами смерти. Эмпаглифлозин уменьшал риск сердечно–сосудистых смертей на треть, что соответствовало 38 % достоверному уменьшению относительного риска смертности от ССЗ и 32 % достоверному относительному уменьшению общей летальности (Zinman, В. [et al.], 2015).

После объединения результатов применения эмпаглифлозина в двух группах было обнаружено, что первичная конечная точка в комбинированной группе эмпаглифлозина возникала не так часто, как у пациентов, принимавших плацебо (10,5 % против 12,1 %). Эмпаглифлозин не снижал частоту нелетальных ИМ и нелетального инсульта, поэтому разница в частоте первичной конечной точки была обусловлена, прежде всего, 38 % снижением относительного риска ССС, включая смерть после ИМ, смерть у пациентов с СН и ВСС. (Monami, М. [et al.], 2017). Суммарная летальность в группе эмпаглифлозина также уменьшилась, что указывает на отсутствие компенсаторного увеличения смертности от других причин. Снижение смертности стабильно наблюдалось во всех проанализированных подгруппах пациентов. Результаты данного исследования послужили основой для последующего тщательного изучения эффектов глифлозинов, связанных с СН.

Дальнейшее изучение эмпаглифлозина у больных с ХСН осуществлялись в рамках проекта EMPEROR HF, программа которого состоит из двух исследований III фазы по применению препарата у пациентов с ХСН и сниженной ФВ ЛЖ (EMPEROR–Reduced, NCT03057977) и с сохраненной ФВ ЛЖ (EMPEROR–

Preserved, NCT03057951). В программу включались не только больные с СД2, но и пациенты, страдающие СН без диабета (NCT03057977, 2023; NCT03057951, 2023; Zannad, F. [et al.], 2020). Пациенты, которые получали эмпаглифлозин, имели более низкие риски сердечно–сосудистых заболеваний и госпитализации в случае СН, чем те, кто получал плацебо диабета (NCT03057977, 2023; NCT03057951, 2023; Zannad, F. [et al.], 2020). Это не зависело от наличия или отсутствия СД2. Эффекты сравнимы с результатами пациентов, которые принимают любые из предлагаемых в настоящий момент препаратов для терапии ХСН (включая сакурбитрил и валсартан), независимо от СД2 (Packer, M. [et al.], 2023). Уровень смертности и госпитализации по причине СН у пациентов, получавших лечение, снизилось на 25% в сравнении с пациентами группы плацебо диабета (NCT03057977, 2023; NCT03057951, 2023; Zannad, F. [et al.], 2020).

Было проведено исследование влияния iSGLT2 дапаглифлозина на кардиоваскулярные и почечные исходы среди пациентов с СД2 и установленными атеросклеротическими ССЗ или множественными факторами риска их развития в РКИ DECLARE–TIMI 58 (NCT01730534) (NCT01730534, 2023; Wiviott, S.D. [et al.], 2018). Пациенты, получавшие лечение дапаглифлозином, имели более низкую частоту возникновения сердечно–сосудистой смерти и госпитализации по причине СН по сравнению с пациентами, которые получали плацебо (Raz, I. [et al.], 2018; Kato, E.T. [et al.], 2019; Шестакова, М.В. 2019). Также в ходе КИ производили оценку профиля безопасности препарата, который демонстрировал более низкую частоту возникновения серьезных нежелательных явлений (Wiviott, S.D. [et al.], 2019; Furtado, R.H. [et al.], 2019).

Данные КИ III фазы DAPA–HF (NCT03036124), в котором происходило применение дапаглифлозина с целью предотвращения неблагоприятных исходов при СН вне зависимости от статуса СД2, демонстрируют, что препарат снижает частоту развития событий первичной конечной точки, а именно смертность от ССЗ и тяжесть течения СН у пациентов с СН со сниженной ФВ (McMurray, J.J.V. [et al.], 2019; NCT03036124, 2023; Docherty, K. [et al.], 2020; Jhund, P.S. [et al.],

2021; Docherty, K.F. [et al.], 2020). Первичные исходы, выраженные в виде смерти от ССЗ, госпитализации по поводу СН или экстренного обращения по поводу СН в группе пациентов, получавших эмпаглифлозин в дозе 10 мг составляли 16,3 % по сравнению с 21,2 % группы пациентов, получавших плацебо ($p < 0,001$), что включало в себя следующие данные: смерть от ССЗ 9,6 % против 11,5 % и госпитализация по поводу СН 9,7 % против 0,1 %. Дапаглифлозин по сравнению с плацебо ассоциировался со снижением частоты желудочковых аритмий (ЖА) (снижение развития ЖА (2,1 % против 2,7 %, $p = 0,037$), а также снижением ВСС (3,9 % против 4,8 %)) (Curtain, J.P. [et al.], 2021; Light, P.E., 2021). Новаторским и имеющим большое значение стал тот факт, что результаты DAPA-HF сопоставимы по своему влиянию на первичную конечную точку среди пациентов с наличием и отсутствием СД2. Эти данные служат дополнительным доказательством того факта, что дапаглифлозин проявляет свою клиническую активность не только при наличии СД2 (Curtain, J., 2021). Польза от применения препарата была одинаковой для всех возрастных категорий пациентов; признаков неблагоприятных событий, связанных с профилем безопасности препарата, включая снижение функции почек, выраженную гипогликемию и ампутации, не было выявлено (McMurray, J.J.V. [et al.], 2019; Jhund, P.S. [et al.], 2021).

Программа исследования сердечно-сосудистых заболеваний CANagliflozin (CANVAS), состоящая из исследования CANVAS (NCT01032629) и CANVAS-R (NCT01989754), исследований сердечно-сосудистых исходов, оценивала безопасность и эффективность канаглифлозина на ССС у пациентов с СД2 типа и установленным ССЗ или как минимум с двумя факторами риска ССЗ (NCT01032629, 2023; NCT01989754, 2023; Neal, B. [et al.], 2017). Результаты программы CANVAS продемонстрировали преимущества в снижении риска комбинированного исхода серьезных ССС (смерть от ССЗ, нефатальный ИМ или нефатальный инсульт) по сравнению с плацебо (Neal, B. [et al.], 2017). Риск возникновения события в первичной комбинированной конечной точке была на 14 % ниже по сравнению с плацебо ($p < 0,001$) (Neal, B. [et al.], 2017). Кроме того отмечалось снижение риска госпитализации по поводу СН на 33 % и на 22 %

снижение относительного риска смерти от ССЗ (Neal, B. [et al.], 2017; Radholm, K. [et al.], 2018). Результаты КИ продемонстрировали значительное снижение HbA1c на 0,5–1,0 %, а также снижение массы тела и артериального давления (АД) при приеме канаглифлозина по сравнению с плацебо (Rosenthal, N. [et al.], 2015). Помимо снижения массы тела и АД, канаглифлозин повлиял на несколько других факторов риска ССЗ, изменяя состав тела, уровень мочевой кислоты, жесткость сосудов, САД, сердечную рабочую нагрузку и уровень магния (Blonde, L. [et al.], 2016; Davies, M.J. [et al.], 2015; Pfeifer, M. [et al.], 2017; Gilbert, R.E. [et al.], 2017) . Следует отметить, что такие эффекты были зарегистрированы как с учетом ССЗ в анамнезе, так и без них (Davies, M.J. [et al.], 2017).

Гемодинамические эффекты iSGLT2, включая снижение АД и внеклеточного объема, как правило, являются благоприятными эффектами и могут частично объяснять наблюдаемое снижение связанных с ССС и смертности. Однако осмотический диурез на фоне приема канаглифлозина может привести к обезвоживанию и переносится не всеми пациентами. Подобно предыдущим исследованиям канаглифлозина, в программе CANVAS осмотический диурез и уменьшение объема чаще возникали при приеме канаглифлозина по сравнению с плацебо (Neal, B. [et al.], 2017; Usiskin, K. [et al.], 2014; Qiu, R. [et al.], 2017).

Также наблюдалось умеренное повышение уровня холестерина и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Rosenthal, N. [et al.], 2015). Общие побочные эффекты, наблюдаемые в КИ фазы III канаглифлозина, соответствовали механизму действия iSGLT2 и включали генитальные грибковые инфекции и побочные эффекты, связанные с осмотическим диурезом (Rosenthal, N. [et al.], 2015; Wu, J.H. [et al.], 2016; Nyirjesy, P. [et al.], 2014). Однако наблюдался повышенный риск ампутации нижних конечностей, причем 71 % ампутаций происходили на пальце ноги или плюсне (Neal, B. [et al.], 2017). Механизм, с помощью которого канаглифлозин увеличивал риск ампутации, остается неизвестным. Важно отметить, что лечение канаглифлозином, по-видимому, не связано с факторами, провоцирующими ампутацию, включая инфекции, гангрену и язвы диабетической стопы (Matthews, D.R. [et al.], 2017). Следует отметить, что

систематический сбор данных об ампутациях не проводился в исследовании EMPA–REG OUTCOME (частота ампутаций 6,5 на 1000 пациенто–лет) (Inzucchi, S.E. [et al.], 2018). В исследовании дапаглифлозина DECLARE–TIMI 58, не наблюдалось дисбаланса риска ампутации в общей популяции, хотя данные по когорте вторичной профилактики еще не представлены (Wiviott, S.D. [et al.], 2019; http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2017/02/WC500222191.pdf, 2023).

При сравнении результатов трех ретроспективных исследований: EMPA–REG OUTCOME (эмпглифлозин), программы CANVAS (канаглифлозин) и CVD–REAL (сравнение iSGLT2 с другими гипогликемическими средствами) было выявлено, что у всех субъектов данных РКИ, кто имеет высокий риск развития ССЗ или уже страдающих от них, iSGLT2 снижают смертность от ССЗ и снижают риск ССС (для эмпглифлозина и канаглифлозина) (Perkovic, V. [et al.], 2019; Kluger, A.Y. [et al.], 2019).

Эмпглифлозин, дапаглифлозин и канаглифлозин продемонстрировали близкие кардиоренальные класс–эффекты и сходные профили безопасности (Perkovic, V. [et al.], 2019; Kluger, A.Y. [et al.], 2019). Рассмотрение четырех РКИ (EMPA–REG OUTCOME (эмпглифлозин), CANVAS (канаглифлозин), DECLARE–TIMI 58 (дапаглифлозин) и CREDENCE (канаглифлозин)) демонстрирует, что у пациентов, получавших iSGLT2, происходит снижение относительного риска проявлений или усугублений ССЗ. Из четырех испытаний iSGLT2 исследование CREDENCE (канаглифлозин) показало наибольшие показатели риска ССС, а DECLARE–TIMI 58 (дапаглифлозин) – наименьшие. Эти данные согласуются и с тем, что пациенты исследования CREDENCE (канаглифлозин) имели также и самые высокие показатели почечных событий, а в исследовании DECLARE–TIMI 58 (дапаглифлозин) эти события были наименьшими (Perkovic, V. [et al.], 2019; Kluger, A.Y. [et al.], 2019; Zelniker, T.A. [et al.], 2019).

По диуретическим свойствам iSGLT2 проявляют некоторое сходство с мочегонными препаратами. Они вызывают длительное уменьшение объема

внеклеточной жидкости и плазмы (Lambers Heerspink, H.J. [et al.], 2013; Kimura, G., 2016). Предполагается, что устойчивое снижение внутрисосудистого объема и АД приводит к снижению преднагрузки и постнагрузки сердца, тем самым уменьшая нагрузку и улучшая функцию ЛЖ. Такие гемодинамические изменения внутрисосудистого объема и АД наблюдаются без увеличения частоты сердечных сокращений (ЧСС), что позволяет предположить, что iSGLT2 снижают рефлекторную гиперактивность симпатического нерва или влияют на другие нейрогормональные пути, влияющие на сердце (Scheen, A.J., 2016; Chilton, R. [et al.], 2015; Sano, M., 2018; Kario, K. [et al.], 2018). Однако, следует отметить, что диуретический эффект отмечается только на ранних этапах применения препаратов и с течением времени экскреция натрия при приеме и отсутствии приема iSGLT2 уравнивается (Kario, K. [et al.], 2018).

При применении эмпаглифлозина в качестве дополнения к рекомендованному лечению у пациентов с ХСНнФВ наблюдалось снижение общего количества госпитализаций, требующих интенсивной терапии, а также хирургического вмешательства (McDonagh, T.A. [et al.], 2021). Кроме того у части пациентов наблюдалось улучшение или отсутствие ухудшения функционального класса. Данные эффекты были очевидны уже через 28 дней после начала терапии и сохранялись в течение длительного периода наблюдения (Packer, M. [et al.], 2020).

Назначение эмпаглифлозина пациентам с ХСНнФВ, не страдающим диабетом, значительно улучшает такие параметры, как объем, массу, систолическую функцию ЛЖ, функциональные возможности и качество жизни по сравнению с плацебо (NCT03485222, 2023). Эти данные убедительно подтверждают роль iSGLT2 в лечении пациентов с ХСНнФВ независимо от их гликемического статуса (Astrup, G.L. [et al.], 2011).

1.3.3. Эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа при нарушениях ритмах сердца

Основная проблема пациентов с ХСН – тесная связь с появлением аритмий (Santos–Gallego, C.G. [et al.], 2021). Распространенным терминальным событием ХСН является ВСС вследствие аритмогенного события, однако антиаритмические свойства iSGLT2 до сих пор не были проспективно исследованы (Kolesnik, E. [et al.], 2022).

ВСС и ЖА являются серьезными осложнениями у пациентов с ХСНнФВ (Nakase, M. [et al.], 2023). БАБ, антагонисты минералокортикоидных рецепторов и ингибиторы рецепторов ангиотензина и неприлизина значительно снижают эти осложнения, но уровень смертности у пациентов с ХСНнФВ остается высоким (Al–Gobari, M. [et al.], 2018). По результатам апостериорного анализа DAPA–HF у пациентов, получавших дапаглифлозин, наблюдалась меньшая частота серьезных ЖА, реанимированной остановки сердца или ВСС (Curtain, J.P. [et al.], 2021). Это открытие может свидетельствовать об обнадеживающем потенциале iSGLT2 как обладателя клинически значимых антиаритмических свойств. Однако вопрос о том, уменьшает ли iSGLT2 ЖА и ВСС, остается спорным, а механизм iSGLT2 при аритмиях остается неизвестным (Sfairopoulos, D. [et al.], 2022).

Доклинические исследования

К возможным эффектам глифлозинов можно отнести гипотезу об подавлении препаратами NHE–1, что приводит к снижению поступления Na^+ и Ca^{2+} в цитоплазму кардиомиоцитов и увеличению уровня Ca^{2+} в митохондриях (Baartscheer, A. [et al.], 2017; Uthman, L. [et al.], 2018; Куликов, А.Н. [и др.], 2021). Кроме того, эмпаглифлозин и канаглифлозин способны индуцировать вазодилатацию интактного сердца.

Предварительное лечение эмпаглифлозином защищает сердце от последующей тяжелой летальной ЖА, вызванной ишемией миокарда и реперфузионным повреждением. Эти защитные преимущества могут возникать вследствие активации митоген–активируемой протеинкиназы $\frac{1}{2}$ – зависимого

сигнального пути (ERK1/2) выживания клеток независимым от глюкозы образом (Hu, Z. [et al.], 2021).

Доклинические исследования продемонстрировали эффективность эмпаглифлозина в перфузируемых сердцах *ex vivo* и изолированных кардиомиоцитах (Cowie, M.R. [et al.], 2021). В исследовании Philippaert К и соавт. показано, что эмпаглифлозин напрямую ингибирует поздний ток Na^+ (I_{NaL}) на мышинной модели СН, вызванной поперечным сужением аорты (Philippaert, К. [et al.], 2021). Кроме того, эмпаглифлозин снижает выработку АФК и активность СаМКП, важных регуляторов I_{NaL} при заболеваниях сердца (Cowie, M.R., Fisher, M., 2020; Mustroph, J. [et al.], 2018).

В модели ХСН с сохраненной ФВ (ХСНсФВ) у мышей наблюдалось повышение I_{NaL} . Применение в клинически значимой концентрации эмпаглифлозина предотвращает активацию I_{NaL} и аритмогенные проявления патологии (Hegyi, В. [et al.], 2022). Однако этот эффект эмпаглифлозина на Na^+ -канал не является острым ингибированием, а требует предварительной инкубации препарата, и этот эффект имитируется ингибированием СаМКП. Более того, эмпаглифлозин резко ингибирует H_2O_2 -индуцированный I_{NaL} с IC_{50} в 7 раз выше в кардиомиоцитах, чем в клеточной линии, полученной из эмбриональных почек человека (HEK293) (Cowie, M.R., Fisher, M., 2020). Таким образом, предполагается, что эмпаглифлозин, вероятно, регулирует I_{NaL} при ХСНсФВ непрямым механизмом, который может включать СаМКП. Это согласуется с результатами, согласно которым обработка эмпаглифлозином в течение 24 часов подавляет активность СаМКП и выход Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР), а также усиливает транзиторные процессы Ca^{2+} (Mustroph, J. [et al.], 2018).

Эмпаглифлозин снижает предрасположенность к ЖА путем облегчения электрофизиологического ремоделирования после ИМ у мышей, а именно значительно уменьшая интервал QT (Hegyi, В. [et al.], 2022). Протокол динамической стимуляции использовали для определения продолжительности потенциала действия и внутриклеточного Ca^{2+} на исходном уровне и после инфузии эмпаглифлозином. Перфузия препаратом не изменяла длительность

потенциала действия при 80 % реполяризации (APD80) и продолжительность переходного процесса кальция при 80 % релаксации (CaD80) в нормальных желудочках, одновременно укорачивая их в зоне инфаркта, пограничной зоне и удаленной зоне сердца при ИМ при кардиостимуляции. После введения эмпаглифлозина скорость проводимости в инфарктных желудочках увеличилась, тогда как в нормальных желудочках существенных изменений не наблюдалось. Время нарастания потенциала действия, время нарастания Ca^{2+} -переходной продолжительности были улучшены после перфузии препаратом в инфарктных желудочках, тогда как в нормальных желудочках существенных изменений не наблюдалось. Эмпаглифлозин уменьшал раннюю постдеполяризацию, желудочковую экстрасистолию и фибрилляцию желудочков (ФЖ), подвергшихся инфаркту, снижая продолжительность фибрилляции (Хуе, G. [et al.], 2022).

Эмпаглифлозин ослабляет аритмогенез при диабетической кардиомиопатии путем нормализации внутриклеточного Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах (Kadosaka, T. [et al.], 2023).

Эмпаглифлозин снижает индуцированные убаином нарушения регуляции Na^+ и Ca^{2+} в миоцитах желудочков в Na^+ -зависимом порядке (Peng, X. [et al.], 2023). Убаин значительно повышал цитозольные уровни Na^+ и нарушал регуляцию обработки Ca^{2+} , включая увеличение временной амплитуды Ca^{2+} , повышенное содержание Ca^{2+} в СР и усиленное спонтанное высвобождение Ca^{2+} . Нарушения, вызванные убаином, были устранены введением эмпаглифлозина. Эффективность эмпаглифлозина была более высокой при более высоких уровнях цитозольного Na^+ . Предварительное использование ингибитора Na^+/H^+ ионнообменника устраняло эффекты эмпаглифлозина.

На модели СД2, индуцированного путем использования диеты с высоким содержанием жиров и инъекции низких доз стрептозотоцина, были предоставлены данные, демонстрирующие прямую связь между митохондриальной дисфункцией и предрасположенностью к развитию ФП (Yurista, S.R. [et al.], 2020). Авторы также продемонстрировали, что

эмпаглифлозин обладает способностью восстанавливать функцию митохондрий, улучшать электрическое и структурное ремоделирование и предотвращать ФП.

Эмпаглифлозин улучшал индуцированное соталолом удлинение интервала QT и интервала QTc (Özgür Barış, V. [et al.], 2021). Интервал QT, продолжительность зубца T и интервал QTc были короче, а частота сердечных сокращений была выше, чем у животных без лечения.

Клинические исследования

Защита от ЖА, которые способны привести к ВСС, является одним из наиболее значимых мероприятий. В РКИ EMBODY были включены пациенты с острым ИМ и СД2 для оценки влияния эмпаглифлозина на сердечную симпатическую и парасимпатическую активность. По результатам наблюдения было установлено, что у пациентов, принимавших эмпаглифлозин, наблюдалось значительное увеличение протекции от возникновения ЖА (Shimizu, W. [et al.], 2020; Althobaiti, F.M. [et al.], 2022; Ravendran, K. [et al.], 2023).

Вариабельность гликемии связана с сердечно–сосудистой формой диабетической кардиальной автономной нейропатией, а гипергликемия приводит к желудочковой тахикардии у больных, которые оказались госпитализированными с возникновением острого ИМ (Matsutani, D. [et al.], 2018; Tran, H.V. [et al.], 2018). Более того, наличие СД2 без острого ИМ независимо связано с возрастанием летальности от всех видов причин у больных с желудочковыми тахиаритмиями при поступлении (Weidner, K. [et al.], 2018). В одном из исследований применение дапаглифлозина приводит к снижению среднего АД без изменения ЧСС или симпатической активности (van Bommel, E.J. [et al.], 2020). В предыдущих фундаментальных исследованиях сообщалось, что дапаглифлозин подавляет длительную реполяризацию желудочков (Zhang, N. [et al.], 2019; Durak, A.A. [et al.], 2018; Beitelshees, A.L. [et al.], 2019). Действительно, было показано, что iSGLT2 влияют на несколько других общих модифицируемых факторов риска и сопутствующих заболеваний, связанных с ССЗ, таких как функция почек, уровень мочевой кислоты и уровень липидов в плазме (Zinman, B.

[et al.], 2015; Wiviott, S.D. [et al.], 2019; Neal, B. [et al.], 2017; Beitelshes, A.L. [et al.], 2019; Coleman, R.L. [et al.], 2020). В совокупности результаты данного исследования сопоставимы с результатами предыдущих исследований (Zinman, B. [et al.], 2015; Neal, B. [et al.], 2017; Wiviott, S.D. [et al.], 2018) [].

В работе Mustroph и соавт. продемонстрировано, что эмпаглифлозин снижал активность САМКП и связанную с ней потерю Ca^{2+} CP, что влияет на аритмогенез (Mustroph, J. [et al.], 2018). Кроме того, эмпаглифлозин также оказывает косвенное влияние на этот процесс опосредованно путем уменьшения ремоделирования сердца и его гипертрофии (Byrne, N.J [et al.], 2017).

При сравнении электрокардиографических характеристик у пациентов с СД2 и СН до и после начала приема эмпаглифлозина, было отмечено, что применение препарата было связано со значительным увеличением длительности комплекса QRS на электрокардиограмме (ЭКГ) (Antwi–Amoabeng, D. [et al.], 2022).

1.3.4. Иные кардиотропные эффекты ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа

Наибольшее внимание привлекают опосредованные механизмы кардиотропного действия эмпаглифлозина. Среди них рассматриваются такие аспекты, как снижение воспаления, оксидативного стресса и степени фиброза миокарда, что подтверждается рядом экспериментальных исследований (Gaede, P. [et al.], 2003; Law, M.R. [et al.], 2009; Martens, P. [et al.], 2017). Также упоминаются гипотензивный эффект, уменьшение жесткости артерий, улучшение функции эндотелия и ренопротективные свойства. (Lee, T.M., Chang, N.C., Lin, S.Z., 2017; Joubert, M. [et al.], 2017).

Доклинические исследования

Предполагается, что глифлозины способствуют повышению эффективности энергообеспечения миокарда за счет увеличения уровня β -гидроксибутирата, который является предпочтительным субстратом для окисления, а также за счет

улучшения транспортировки кислорода, связанного с ростом гематокрита. (Martens, P. [et al.], 2017). *iSGLT2* увеличивают уровень кетоновых тел в крови, что позволяет свободно поглощать их клеткам миокарда, что делает их более эффективным источником АТФ при СН по сравнению с жирными кислотами (Ferrannini, E. [et al.], 2016). Увеличение использования кетоновых тел, жирных кислот и аминокислот с разветвленной цепью приводит к увеличению содержания АТФ в миокарде у животных, получавших эмпаглифлозин (Oshima, H. [et al.], 2019).

В модели стрептозотоцин–индуцированной диабетической кардиомиопатии на крысах стока Wistar эмпаглифлозин влиял на структурные изменения миокарда, снижая дезорганизацию клеток и фокальный некроз. Происходил рост конечного систолического давления ЛЖ, максимальной скорости подъема давления ЛЖ, максимальной скорости снижения давления в ЛЖ, и снижение конечного диастолического давления ЛЖ. В зависимости от дозы препарат ослаблял апоптоз кардиомиоцитов и подавлял стресс эндоплазматического ретикулума (Zhou, Y., Wu, W., 2017).

У крыс с генетической моделью предиабета/метаболического синдрома SHR/NDmcr–cp (+/+) эмпаглифлозин снижал массу ЛЖ и размеры кардиомиоцитов, а также размер зоны фиброза. При этом он не оказывал влияния на ЧСС, АД, симпатическую активность или барорецепторную функцию (Kusaka, H. [et al.], 2016).

Канаглифлозин ослабляет прогрессирование атеросклероза, уменьшая гиперлипидемию и гипергликемию, а также воспалительный процесс, снижая экспрессию воспалительных молекул, таких как MCP–1 и VCAM–1. Более того, было обнаружено, что канаглифлозин увеличивает стабильность атеросклеротических бляшек за счет увеличения экспрессии соотношения TIMP–1/MMP–2 (Nasiri–Ansari, N. [et al.], 2018).

У мышей db/db с предиабетом и ожирением (диастолической дисфункцией и гипертрофией ЛЖ) эмпаглифлозин снижал размер зоны фиброза миокарда и поперечное сечение области кардиомиоцитов, уменьшал интерстициальное

отложение коллагена I и III, снижал коронарное утолщение артерий, а также интерстициальный фиброз, уменьшал выраженность маркеров гипертрофии (уменьшались уровни матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), тяжелой цепи бета-миозина, фосфорилированной киназы, регулируемой внеклеточными сигналами, фосфорилированной фактор транскрипции Jun (c-Jun) NH₂-терминальной киназы и экспрессии p-P38) и ремоделирование сердечной мышцы. Эмпаглифлозин улучшал движение межжелудочковой перегородки, снижал СВ и МО крови, а также уменьшал эндотелийзависимое нарушение релаксации сосудов. Препарат способствовал снижению инфильтрации макрофагов в сердце (Lin, B [et al.], 2014; Nabibi, J. [et al.], 2017). При этом он не оказывал эффекта на оксидативный стресс в сердце в пятинедельном эксперименте, но проявлял свое положительное влияние в десятинедельном опыте (Lin, B [et al.], 2014; Nabibi, J. [et al.], 2017).

У мышей BTBR ob/ob с СД2 и ожирением дапаглифлозин уменьшал уровень коллагена I и III, снижал процент фиброза и размер инфаркта миокарда. Препарат улучшал диастолическую функцию ЛЖ, увеличивая ФВ и ФУ, но не систолическую. Происходило снижение апоптоз-ассоциированного Speck-подобного белка, содержащего CARD, каспазы-1, интерлейкина-1 β , интерлейкина-6 и экспрессии фактора некроза опухоли- α . В культуре сердечных фибробластов мышей этой же линии препарат показал снижение уровня инфламмасом, маркеров воспаления и апоптоза кардиомиоцитов, в отличие от эмпаглифлозина, который не оказал влияния на экспрессию апоптозных белков в аналогичной модели (Nabibi, J. [et al.], 2017; Hammoudi, N. [et al.], 2017).

У преддиабетических крыс с резистентностью к инсулину на высокожировой диете дапаглифлозин способствовал уменьшению размера зоны ИМ при моделировании И/Р. Препарат снижал уровень малонового диальдегида в ишемизированной зоне, а также снижал экспрессию белков апоптоза (Ye, Y. [et al.], 2017; Tanajak, P. [et al.], 2018). Дапаглифлозин способствовал улучшению и систолической, и диастолической функции ЛЖ, оптимизировал вариабельность частоты сердечных сокращений (Joubert, M. [et al.], 2017).

Перфузия высокой дозой дапаглифлозина (10 мМ) в течение 60 минут увеличивала STAT-3 фосфорилирование в поврежденной области постишемических сердец крыс (Gaede, P. [et al.], 2003). При этом наблюдался высокий уровень IL-10, что, как предполагается, облегчает переход макрофагов из воспалительной формы M1 в противовоспалительный фенотип M2 и, следовательно, ингибирует дифференцировку миофибробластов и образование внеклеточного матрикса (Nikolaou, P.E. [et al.], 2021).

Клинические исследования

За последние 30 лет экспериментальные работы как *in vitro*, так и *in vivo* показали, что иммунная система через свои провоспалительные пути участвует в развитии неблагоприятного ремоделирования миокарда и, в конечном итоге, – СН (Frangogiannis, N.G., 2012). Большая часть доказательств основана на более ранних исследованиях интенсивной воспалительной среды при ИБС и повреждении сердца после ИМ (Entman, M.L. [et al.], 1991). Воспалительную реакцию можно рассматривать с двух сторон: с одной стороны, необходимо инициировать полезный репаративный процесс поврежденного сердца, но с другой, гиперактивация, даже в незначительной степени, может привести к гибели кардиомиоцитов, гипертрофии, фиброзу и утрате нормальной сердечной архитектоники, с её функциональными последствиями (Frangogiannis, N.G., 2014). Процесс ремоделирования миокарда, связанный с воспалительной реакцией, затрагивает каждую клетку сердечной ткани, включая кардиомиоциты, которые претерпевают изменения в размере, форме и сократимости (Mill, J.G. [et al.], 2011). У пациентов с СН наблюдается иммунная активация и слабое воспаление в ответ на различные стимулы, включая ишемию, инфекцию, токсины и нейрогормональную активацию. Иммунную активацию и высвобождение воспалительных цитокинов можно рассматривать как часть адаптивного ответа на повреждение миокарда и в некоторых случаях они могут быть необходимы для поддержания функции миокарда. Однако экспрессия медиаторов воспаления на более поздних стадиях СН приводит не только к апоптозу клеток миокарда и

ремоделированию желудочков, но также к пагубному воздействию на другие системы, способствующие системным аспектам синдрома СН (Briasoulis, A. [et al.], 2016).

Было продемонстрировано, что эмпаглифлозин улучшает функцию эндотелия и кардиомиоцитов при ХСНсФВ за счет снижения провоспалительных окислительных путей и окисления протеинкиназы Gα (Kolijn, D. [et al.], 2021).

1.3.5. Роль типовых процессов гипоксии при сердечно–сосудистых заболеваниях и влияние ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–типа на эти процессы

Тканевая гипоксия или ишемия, возникающая из-за артериальной окклюзии, вызывает активность фактора, индуцируемого гипоксией (HIF) (Semenza, G.L., Wang, G.L., 1992; Wang, G.L., Semenza, G.L., 1995; Wang, G.L. [et al.], 1995; Tanaka, T. [et al.], 2004; Isoe, T. [et al.], 2010; Yuan, H.T. [et al.], 2003; Kapitsinou, P.P. [et al.], 2014).

HIF представляют собой облигатные гетеродимерные факторы транскрипции, которые включают два класса: класс I или HIF–α и класс II или HIF–1β. Существует три изоформы HIF–α (HIF–1α, HIF–2α и HIF–3α), причем первые две регулируют гипоксическую трансактивацию генов (Catrina, S.B., Zheng, X., 2021; Stanigut, A.M. [et al.], 2022). Деятельность данных факторов различается. HIF–1α способствует воспалению, апоптозу и фиброзу, тогда как HIF–2α индуцирует эритропоэз (Stanigut, A.M. [et al.], 2022; Semenza, G.L., 2023). Доставка VEGF–A (фактор роста эндотелия сосудов, ген которого кодирует HIF) в миокард также способствует образованию коллатералей и улучшает функцию сердца после ИМ (Oduk, Y. [et al.], 2018). Более того, Resar и соавт. обнаружили, что однонуклеотидный полиморфизм (SNP) в локусе HIF1A связан с развитием коллатералей у пациентов с ИБС (Resar, J.R. [et al.], 2005). Эти сообщения предполагают, что HIF–1α действует как маркер для обнаружения ишемии миокарда и индуцирует образование коллатералей для поддержания гомеостаза тканей. HIF–1α в кардиомиоцитах может также напрямую ингибировать гибель

кардиомиоцитов при ишемии. Специфическая для кардиомиоцитов сверхэкспрессия HIF-1 α подавляет апоптоз кардиомиоцитов за счет активации антиоксидантного гена HO-1 (Chaudhuri, R.D. [et al.], 2021).

Хотя HIF-1 α и HIF-2 α гармонируют, усиливая доставку кислорода и снижая потребление кислорода, обе изоформы обладают антагонистическим действием на воспаление и фиброз в различных органах. Устойчивая активация HIF-1 α способствует активации провоспалительных цитокинов, транскрипции профибротических генов, инфильтрации макрофагов и отложению коллагена (Packer, M., 2020).

С клинической точки зрения значительный интерес представляет роль HIF при И/Р повреждении. И/Р представляет собой парадоксальное явление, при котором быстрая реоксигенация ишемизированного миокарда приводит к избыточной продукции АФК и апоптозу кардиомиоцитов (Kido, M. [et al.], 2005).

Производство АФК посредством обратного транспорта электронов в митохондриях было предложено в качестве механизма И/Р повреждения (Chouchani, E.T. [et al.], 2014). Во время ишемии продукция АТФ в митохондриях прекращается, и восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) накапливается внутри митохондрий. Этот чрезмерный НАДН превращает фумарат в сукцинат, и, в результате, сукцинат накапливается. При реоксигенации накопленный сукцинат превращает электроны в комплекс I и производит избыточные АФК. Поскольку HIF-1 α усиливает гликолитические ферменты и киназу пируватдегидрогеназы 1, что ограничивает приток субстратов в митохондрии, HIF-1 α может облегчать выработку АФК (Kim, J.W. [et al.], 2006).

Митохондрии и их митохондриальная дыхательная цепь являются ведущими поставщиками энергии для миоцита. Следовательно, митохондриальная дисфункция будет прямо или косвенно влиять на течение заболеваний сердца, включая ремоделирование миокарда и сосудов, развитие атеросклероза и его последствий: гипертрофии желудочков, ИМ и СН (Murphy, M.P., Hartley, R.C., 2018). С другой стороны, митохондриальная дисфункция также играет существенную роль в патофизиологии заболеваний жировой ткани,

включая ожирение, СД2, инсулинорезистентность, связанную с высоким кровяным давлением, и дислипидемию (Porter, L.C. [et al.], 2018).

Поврежденный миокард постепенно истощается, что приводит к нарушению сокращения и расслабления миокарда (Dominic, E.A. [et al.], 2014). При гипертрофии миокарда происходит увеличение количества и размеров митохондрий в зависимости от повышенной потребности в энергии (Zak, R. [et al.], 1980). Имеются изменения в динамике митохондрий и митофагии, связанные с развитием и прогрессированием сердечно-сосудистых патологий, включая диабетическую кардиомиопатию, ремоделирование сердца и гипертрофию (Vásquez-Trincado, C. [et al.], 2016). Многие из этих изменений приводят к повреждению митохондрий, которые невозможно удалить из-за отсутствия активности SIRT1. В конце концов, уровни энергии снижаются, что приводит к снижению сердечной функции.

Более того, стратегии, направленные на увеличение доставки кетонов в сердце, оказались полезными при лечении СН. Уровни кетоновых тел в плазме повышаются при длительном лечении iSGLT2. Сдвиг в сторону производства кетоновых тел (и отказ от окисления глюкозы) был предложен как потенциальный механизм быстрого сердечно-сосудистого эффекта от iSGLT2 (Ferrannini, E. [et al.], 2016). iSGLT2 снижает концентрацию Na^+ и Ca^{2+} в цитозоле сердца, ингибируя Na^+/H^+ ионнообменник и способствуя появлению состояния, физиологически подобному голоданию, с увеличением выработки кетонов, адекватного субстрата для поврежденного сердца (Horton, J.L. [et al.], 2019). Однако в исследовании на мышах с эмпаглифлозином присутствие кетонов, составляющих лишь несколько процентов от общего количества калорий из доступного топлива, не увеличивало эффективность работы сердца, а вместо этого приводило к увеличению выработки АТФ, что, в свою очередь, позволило улучшить биоэнергетику сердца (Verma, S. [et al.], 2018).

Сукцинатдегидрогеназа (SDH), или митохондриальный комплекс II, имеет ключевое значение в цикле лимонной кислоты (САС) и процессе окислительного фосфорилирования (OXPHOS) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Она катализирует

окисление сукцината, промежуточного продукта САС, в фумарат и осуществляет перенос электронов от сукцината к убихинону для OXPHOS (Ramachandra, C.J.A. [et al.], 2020; Xu, W., Li, L., Zhang, L., 2020). SDH состоит из четырех субъединиц, каждая из которых кодируется ядерным геномом: субъединица А (SDHA), с ковалентно связанным кофактором флавинадениндинуклеотида (ФАД); субъединица В, содержащая три кластера [Fe-S], представляет собой растворимый гетеродимер, являющийся каталитическим центром фермента; субъединица С и субъединица D составляют целостную мембранную область, закрепляющую комплекс на внутренней митохондриальной мембране (Xu, W., Li, L., Zhang, L., 2020; Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Компьютерный прогноз спектра биологической активности глифлозинов (PASS)

Для прогнозирования предполагаемых фармакологических активностей iSGLT2 использовались различные программы и базы данных. Структуры представителей класса были получены с использованием сервера PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, 2023). Для полученных структур были произведены расчеты биологической активности соединений в программе PASS ONLINE (<https://www.way2drug.com/PassOnline>, 2023) (табл. 1). Данная манипуляция была необходима для дальнейшего сопоставления предсказанных и реальных сердечно-сосудистых класс-эффектов iSGLT2. На основе списка прогнозируемых видов активности с оценками вероятности наличия каждого вида активности P_a и вероятности отсутствия каждого вида активности P_i можно предполагать спектр активности исследуемых соединений. Чем больше для конкретной активности значение P_a и чем меньше значение P_i , тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте.

Таблица 1. Предсказанные компьютерной программой PASS основных фармакологических эффектов глифлозинов и механизмов их реализации

	Бексаглифлозин		Дапаглифлозин		Ипраглифлозин		Канаглифлозин		Лузеоглифлозин	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
iSGLT2	0,121	0,002	0,621	0,001	0,505	0,001	0,404	0,001	0,898	0,001
iSGLT1	0,0066	0,005	0,302	0,002	0,224	0,002	0,226	0,002	0,888	0,001
Гипогликемический	0,464	0,044	0,573	0,027	0,460	0,044	0,502	0,036	0,393	0,060
Кардиозащитное	–	–	0,596	0,006	0,514	0,010	0,480	0,012	0,355	0,046
Регулятор Ca²⁺	0,322	0,088	0,337	0,076	0,263	0,175	0,263	0,175	0,436	0,029
Антигипотензивный	0,373	0,047	0,188	0,077			0,512	0,053	0,263	0,099
Ингибитор экспрессии HIF1α	0,290	0,189	0,469	0,068	0,499	0,057	0,512	0,053	–	–
Ингибитор HIF1α	–	–	0,307	0,004	0,156	0,055	0,171	0,039	–	–
Кардиотоническое	0,229	0,137			–	–			0,230	0,136
Антагонист апоптоза	–	–	0,199	0,121	–	–	0,177	0,171	–	–
Агонист апоптоза	–	–	0,292	0,131	–	–	0,218	0,197	0,210	0,205

Продолжение таблицы 1. Предсказанные компьютерной программой PASS основных фармакологических эффектов глифлозинов и механизмов их реализации

	Сотаглифлозин		Тофоглифлозин		Эмпаглифлозин		Эртуглифлозин	
iSGLT2	0,678	0,001	0,863	0,001	0,658	0,001	0,355	0,001
iSGLT1	0,241	0,002	0,456	0,001	0,242	0,002	0,625	0,001
Гипогликемический	–	–	0,311	0,089	0,516	0,034		
Кардиозащитное	0,275	0,104	0,276	0,104	0,416	0,022		
Регулятор Ca²⁺	0,252	0,199	0,318	0,092	0,236	0,23	0,272	0,158
Антигипотензивный	–	–	0,210	0,045	–	–		
Ингибитор экспрессии HIF1α	–	–	0,621	0,03	0,465	0,07	0,534	0,047
Ингибитор HIF1α	–	–	0,215	0,015	0,187	0,028	0,534	0,047
Кардиотоническое	–	–	0,288	0,085	–	–		
Антагонист апоптоза	–	–	0,225	0,088	–	–	–	–
Агонист апоптоза	0,317	0,117	0,376	0,084	–	–	–	–

Примечание: iSGLT2 – ингибирование натрий-глюкозного котранспортера 2 типа; iSGLT1 – ингибирование натрий-глюкозного котранспортера 1 типа; HIF-1 α – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа; Pa – вероятность наличия каждого вида активности; Pi – вероятность отсутствия каждого вида активности

2.2 Объекты исследования

Обоснование суточной дозы лекарств

Эмпаглифлозин (Джардинс[®], Boehringer Ingelheim) в дозе 1 мг/кг является минимальной дозой, способствующей изменению уровня глюкозурии у крыс, согласно информации от компании Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc. (https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/204629Orig1s000PharmR.pdf, 2023; Краснова, М.В. [и др.], 2023) (табл. 2). Поэтому данная доза считается минимально эффективной при более низком риске гипогликемии и кетоза у недиабетических животных.

Фозиноприл (Моноприл[®], Бристол–Майерс Сквибб) применялся в низкой дозе 10 мг/кг с целью минимизации эффекта снижения АД, но достаточного для снижения активности ангиотензин–превращающего фермента (АПФ) (табл. 2) (Найек, Т. [et al.], 1999).

В предыдущих исследованиях Gohlke и соавт., было продемонстрировано, что продолжительное лечение низкодозированным иАПФ приводило к изменениям в кардиодинамике и сердечном метаболизме, сходным с тем, что наблюдалось при высокой дозе. Кроме того, фозиноприл в дозе 10 мг/кг был эффективен в модели И/Р у крыс (табл. 2) (Gohlke, P. [et al.], 1994; Xia, A. [et al.], 2014).

Суточная доза бисопролола (Конкор[®], Такеда) составляла 10 мг/кг и была выбрана основываясь на исследовании Watanabe и соавт., которое показывало значительный эффект на выживаемость и функции сердца на модели ХСН у крыс (табл. 2) (Watanabe, K. [et al.], 2001).

Суточная доза для спиронолактона (Верошпирон[®], Геден Рихтер) составила 20 мг/кг и была выбрана по результатам исследования Cezar и соавт. (табл. 2) (Cezar, M.D. [et al.], 2015). Данная доза снижала частоту развития ХСН у спонтанно–гипертензивных крыс.

Все препараты вводились 1 р/сут внутрижелудочно с использованием зонда в виде свежеприготовленных суспензий. Животным, получавшим эмпаглифлозин, вводили полную дозу препарата с самого начала лечения, в отличие от животных,

получавших референтные препараты (табл. 2). Интактные и контрольные животные получали воду очищенную в эквивалентных количествах в том же режиме.

Таблица 2. Испытуемый и референтные препараты

ПРЕПАРАТ		Механизм действия	Доза	1-я неделя	2-я неделя	3-я неделя	4-я неделя	2,3-й месяцы	
Испытуемый	Эмпаглифлозин (Джардинс [®] , Boehringer Ingelheim)	ингибитор натрийзависимого переносчика глюкозы 2-го типа	1 мг/кг	полная доза					
Референтные	Фозиноприл (Моноприл [®] , Бристол-Майерс Сквибб)	ингибитор ангиотензинпревр ащающего фермента	10 мг/кг	1/8	1/4	1/2	3/4	полная доза	
					от полной дозы				
	Бисопролол (Конкор [®] , Такеда)	β- адреноблокирую щее средство	10 мг/кг	1/8	1/4	1/2	3/4	полная доза	
				от полной дозы					
	Спиринолактон (Верошпирон [®] , Гедеон Рихтер)	антагонист альдостерона	20 мг/кг	1/8	1/4	1/2	3/4	полная доза	
				от полной дозы					

2.3 Экспериментальные животные

Данные о животных, использованных в экспериментах, представлены в таблице 3. Все животные были получены из питомника лабораторных животных ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН. Масса животных после адаптационного периода на момент начала эксперимента отражена в таблице 3.

Животные содержались в условиях светового дня и ночи (12/12 часов). Им предоставлялся стандартный корм и питьевая вода в неограниченном количестве. Все процедуры с животными проводились в соответствии с принципам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей, Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, решением Совета Евразийской экономической комиссии N 81 "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств" от 3 ноября 2016 г (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, 1986). Проведенные исследования одобрены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (протокол № Empr/Preclinical от 15.09.2018; протокол № Empr/IM от 10.02.2019; протокол № Empr/Arrh от 04.10.2020).

Таблица 3. Характеристика животных, использованных в экспериментах

Тип животных	Пол	Использованное количество	Масса, г
Аутбредные крысы	самцы	120	200,00 ± 20,00
Крысы стока Wistar	самки	60	200,00 ± 20,00
Мыши линии C57BL/6	самки	30	22,00 ± 2,00
Аутбрендные мыши	Самцы	12	23,6 ± 3,4
C57BL/KsJ-db/db	Самцы	12	23,2 ± 3,5

2.4 Электрокардиографическое исследование

ЭКГ записывали с использованием ветеринарного компьютерного электрокардиографа «Поли–спектр–8/В» (Нейрософт, Россия) в стандартных отведениях (I, II, III) (Краснова, М.В. [и др.], 2020). Наступление ишемии определялось по электрокардиографическим критериям: подъем сегмента ST, наступлению ишемических аритмий.

2.5 Эхокардиографическое исследование

ЭхоКГ выполняли животным в наркозе с использованием ультразвуковой системе MyLab Touch SL 3116 (Esaote, Италия). Животных укладывали на подогреваемый столик в положении лежа на спине. Шерсть над областью сердца предварительно выбривали для максимального контакта с гелем и ультразвуковым сосудистым линейным датчиком высокого разрешения с частотой 13 МГц.

ЭхоКГ выполняли в В–режиме (двумерное сканирование) и М–режиме (одномерное сканирование) (рис. 4). В М–режиме оценивали: толщину межжелудочковой перегородки (МЖПд) и толщину задней стенки левого желудочка в диастолу (ЗСд), конечный диастолический (КДРлж) и систолический (КСРлж) размеры ЛЖ (мм), а также измеряли частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин) [Куликов, А.Н. [и др.], 2021]. Рассчитывали: величину фракции выброса ЛЖ методом Тейхольца (ФВ (Т), %), фракцию укорочения ЛЖ по формуле: $(\text{КДРлж} - \text{КСРлж}) \times 100 / \text{КДРлж}$ (ФУ, %), относительную толщину миокарда ЛЖ (ОТМлж, ед) по формуле: $(\text{ЗСд} \times 2) / \text{КДРлж}$, массу миокарда ЛЖ (ММлж, г) по формуле: $1,05 \times ((\text{КДРлж} + \text{МЖПд} + \text{ЗСд})^3 - \text{КДРлж}^3)$ (Казаченко, А.А. [и др.], 2008; Куликов, А.Н. [и др.], 2021). Кроме того, в 4–камерном сечении оценивали величину систолической экскурсии плоскости кольца митрального клапана (MAPSE, мм) и величину систолической экскурсии плоскости кольца трикуспидального клапана (TAPSE, мм) (Казаченко, А.А. [и др.], 2008; Куликов, А.Н. [и др.], 2021). В В–режиме оценивали величину конечно–диастолического (КДОлж, мл) и конечно–систолического (КСОлж, мл) объемов ЛЖ 2D–методом

Симпсона с расчетом ударного объема (УО, мл) и фракции выброса ЛЖ (ФВ (С), %), минутный объем ЛЖ рассчитывали как произведение ЧСС на величину УО (МО, мл/мин); определяли также: передне–заднюю проекцию левого предсердия (ЛПпз, мм), его размеры по короткой (ЛПк, мм) и по длинной осям (ЛПд, мм) и размеры правого предсердия по короткой (ППк, мм) и длинной осям (ППд, мм) (Казаченко, А.А. [и др.], 2008; Куликов, А.Н. [и др.], 2021).

Выражаем глубокую д.м.н., проф. Куликову А.Н. за помощь в проведении исследования.

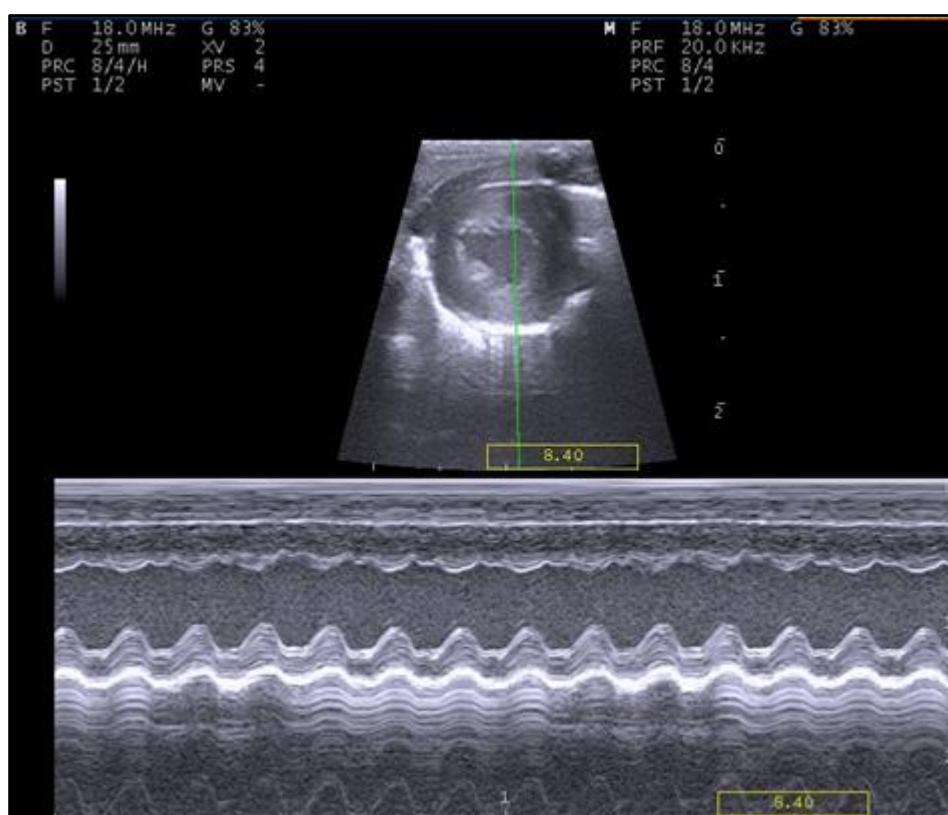


Рисунок 4. Эхокардиограмма экспериментального животного в М-режиме (левый желудочек в парастеральном сечении по короткой оси).

2.6 Оценка толерантности к физической нагрузке

Физическую выносливость (физическая выносливость на тредмиле, доклинический аналог теста шестиминутной ходьбы у человека) – это обычная физиологическая нагрузка, которую используют для определения сердечно–сосудистой патологии, отсутствующей в состоянии покоя, и адекватности

функции сердца (Браунвальд Е., 2011). Тредмил–тест используется главным образом для определения и прогноза оценки функциональных резервов, а также эффективности терапии.

Физическую выносливость оценивалась с помощью однократного размещения экспериментальных животных на беговой дорожке (Treadmill System for rats, TSE, Германия) с установленной скоростью 0,7 м/сек и углом наклона 15°. Исследование продолжалось до полного утомления животных. Критерием утомления служило отсутствие реакции крысы на электрический разряд силой 2 мА в течение не менее 5 секунд (Куликов, А.Н. [и др.], 2016; Краснова, М.В. [и др.], 2018). В качестве анализируемых показателей фиксировали пройденную дистанцию в метрах и суммарное время бега в секундах.

2.7 Эвтаназия

Животным, у которых проводилось гистологическое и молекулярно–биологическое исследование, выполняли с помощью внутрисердечной инъекции 30 % раствора калия хлорида животным в наркозе, чтобы остановить сердце в диастолу. После эвтаназии животных вскрывали, сердце извлекали, область с визуализированной зоной некроза помещали в раствор 10 % забуференного нейтрального формалина для дальнейшего гистологического исследования, а оставшийся миокард замораживали в жидком азоте для последующего молекулярно–биологического анализа (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

Животные, у которых извлекались желудочковые кардиомиоциты для исследования ионных токов, умерщвляли путем обезглавливания с использованием гильотины для грызунов. Предварительно мышам выполняли внутрибрюшинную инъекцию гепарина (1000 Ед/кг) для предотвращения свертывания крови в коронарных сосудах сердца.

Остальных животных подвергали эвтаназии путем усыпления углекислым газом в CO₂–боксе модели THF3481–V01 (производитель BIOSCAPE (EHRET), Германия) с последующим обескровливанием путем перерезания основных кровеносных сосудов.

2.8 Гистологический анализ

Сердца для гистологического анализа помещали в 10%-й забуференный формалин и фиксировали в течение 24 ч, после чего образцы вырезали и помещали в гистологические кассеты. Образцы тканей подвергались стандартной гистологической проводке в гистопроцессоре Thermo Scientific Excelsior AS (Thermo Shandon Limited, Англия) с последующим заливкой в парафин и секционированием с использованием ротационного микротомата. Срезы толщиной 3-3,5 мкм помещали на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином. Аналитический этап работы выполнялся с применением проходящего света и микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия).

Наличие и степень выраженности морфологических проявлений закономерного развития индуцированных острых расстройств кровообращения в миокарде (некроза, воспалительной инфильтрации, разрастаний грануляционной и зрелой соединительной ткани) оценивалась при гистологическом исследовании полуколичественно с использованием градации: «0» (отсутствие морфологических проявлений), «1» (слабая степень выраженности морфологических проявлений), «2» (умеренная степень выраженности проявлений) и «3» (высокая степень выраженности проявлений).

Полуколичественная оценка выраженности некроза мышечной ткани включала: 1 – наличие и распространенность зоны некроза; 2 – воспаления - наличие, распространенность и степень выраженности перифокальной клеточной инфильтрации, а также клеточной инфильтрации разрастаний грануляционной или фиброзной ткани в процессе формирования заместительного кардиосклероза; 3 – наличие, распространенность и степень зрелости грануляционной ткани, разрастающейся в зоне повреждения миокарда; и 4 – наличие, распространенность и степень зрелости соединительной ткани, формирующейся в исходе заместительного кардиосклероза.

Выражаем глубокую благодарность д.м.н. Кареву В.Е. за помощь в проведении гистологического исследования.

2.9 Молекулярно–биологический анализ

Выделение общего белка проводили с помощью буфера для радиоиммунопреципитации (50 мМ Трис–HCl, pH 7,5, содержащего 10 мМ HEPES, 60 мМ KCl, 1 мМ ЭДТА и 0,075 % NP–40). Концентрацию белка определяли с помощью набора Pierce BCA Protein assay kit (Pierce; Thermo Fisher Scientific, Inc.). Электрофорез белка (10 мкг) выполняли в 10 % SDS–PAGE (TGX FastCast, Bio–Rad Laboratories, Inc.) и затем переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Bio–Rad Laboratories, Inc.). Мембраны блокировали в PBS, содержащем 5% обезжиренного молока, в течение 60 минут при комнатной температуре. Затем мембраны инкубировали с первичными антителами в течение 12 ч при 4 °C: SDHA (1:1000), tubulin (1:1000) и HIF–1 α (1:1000). Мембрану инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч с пероксидазой–аффинипур козьего антимышиного иммуноглобулина G (IgG) (H+L; 1:2000; Bio–Rad Laboratories, Inc.). Для визуализации сигнала использовалась система ChemiDoc MP Imaging System (Bio–Rad Laboratories, Inc.). В качестве контроля загрузки использовался tubulin.

2.10 Выделение желудочковых кардиомиоцитов

Грудную полость эвтаназированных мышей вскрывали и быстро иссекали сердце. Сердце присоединяли к аппарату Лангендорфа с использованием канюли для аорты для ретроградной перфузии раствором, не содержащим Ca²⁺, следующего состава в ммоль/л: 116,27 NaCl, 4,03 KCl, 1,66 NaH₂PO₄, 25,24 NaHCO₃, 30 таурина, 4,91 Na–пирата, 2,2 MgCl₂, 10 hepes, 11,11 глюкозы и 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина, pH 7,2, скорректированный NaOH. Спустя 10 мин перфузии данным раствором, сердце перфузировали в течение 18–20 мин тем же раствором, содержащим 0,45 мг/мл коллагеназы типа II (Worthington, Lakewood, NJ, USA) и 20 μ моль/л CaCl₂. Растворы непрерывно барботировали карбогеном, содержащим 95 % O₂ и 5 % CO₂. Температуру уравнивали при +37°C. Для выделения отдельных клеток камеры сердца удаляли и механически разрушали миокард желудочка (путем разрезания

хирургическими ножницами и осторожного пипетирования). Кардиомиоциты хранили в среде Kraftbrühe, содержащей в ммоль/л: 50 L-глутаминовой кислоты, 20 hepes, 20 таурина, 3 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 30 KCl, 0,5 EGTA, 30 KH_2PO_4 , 10 глюкозы, pH 7,2, скорректированный с помощью KOH. Клетки хранили в среде Kraftbrühe в течение 2 часов до начала экспериментами.

2.11 Регистрация ионных токов

Записи тока Ca^{2+} канала I_{Ca} проводили в свежеизолированных миоцитах желудочков при + 37°C. Сбор данных проводился с помощью усилителя Axopatch 200B и программного обеспечения Clampex, версия 10.3 (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Ионные токи получали при 20-50 кГц и низкочастотную фильтрацию при 5 кГц с использованием системы сбора 1440A аналогово-цифрового интерфейса Digidata (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Патч-пипетки сопротивлением 2,5 – 3,5 МОм вытягивались из боросиликатного стекла B150-110-10 (Sutter Instrument, Novato, CA, USA) с помощью пуллера пипеток P-1000 (Sutter Instrument, Novato, CA, USA). Емкости пипетки и клеток, а также сопротивление доступу были полностью компенсированы. Сопротивление серии компенсировалось на 85-90%.

I_{Ca} регистрировали в растворе, содержащемся в ммоль/л: 130 NaCl, 5 CsCl, 2 $CaCl_2$, 1 $MgCl_2$, 5 Na-пирувата, 10 hepes, 10 глюкозы, pH 7,4, отрегулированный NaOH. Раствор пипетки, содержащийся в ммоль/л: 130 CsCl, 1 $MgCl_2$, 5 EGTA, 10 hepes, 5 MgATP, 15 тетраэтиламмония хлорида, pH 7,2, отрегулированный CsOH. I_{Ca} был вызван из удерживающего потенциала – 50 мВ с 200 мс предварительной импульсной модуляцией до -40 мВ для инактивации зависимого от напряжения тока натрия и 300 мс деполяризующего напряжения от – 40 до + 50 мВ с шагом 10 мВ. Все протоколы импульсов применяли более чем через 5 мин после разрыва мембраны. Плотность тока, I_{Ca} , приведенная к емкости мембраны клетки, наносили на график по отношению к ступеням напряжения. Записанные следы были проанализированы с использованием программного обеспечения Clampfit,

версия 10.3 (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Выражаем глубокую благодарность к.б.н. Карпушеву А.В. за помощь в проведении исследования.

2.12 Запись переходных процессов Ca^{2+}

Внутриклеточные переходные процессы Ca^{2+} регистрировали в свежеизолированных желудочковых кардиомиоцитах при $+37^\circ\text{C}$. Клетки нагружали 5 мкмоль/л ацетоксиметилловым эфиром путем 20-минутной инкубации в темноте при комнатной температуре в растворе Тирода, содержащемся в ммоль/л: 140 NaCl, 6 KCl, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 глюкозы, 10 hepes, pH 7,4, отрегулированный NaOH. Флуоресцентная визуализация была выполнена с использованием установки флуоресцентной фотометрии (IonOptix, Milton, MA, USA). Переходные процессы Ca^{2+} детектировали при возбуждении 340 или 380 нм и излучением при длине волны 510 нм во время стимуляции поля частотой 1 Гц двухпороговыми импульсами квадратной волны с длительности 10 мс. Следы флуоресцентного сигнала были записаны как отношение излучений на соответствующих длинах волн возбуждения и проанализированы с использованием программного обеспечения IonWizard, версия 7.4.3.160 (IonOptix, Milton, MA, USA).

2.13 Дизайн экспериментов

Острый период развития экспериментальной ХСН

ИМ моделировали у 60 наркотизированных крыс методом перманентной перевязки левой коронарной артерии (ЛКА) (Krasnova, M. [et al.], 2020). В работе была использована смесь золетила 50 (0,5 мг/кг массы тела, производитель Virbac, Франция) и ксилазина (0,05 мл/кг массы тела, производитель Interchemie Werken «de Adelaar» BV, Нидерланды), которая вводилась внутримышечно непосредственно перед операцией. Продолжительность наркоза составляла в среднем 1–1,5 часа в зависимости от проводимой манипуляции.

Искусственная вентиляция легких (ИВЛ) проводилась при использовании системы для ИВЛ для мелких животных SAR–830/AP (CWE–Inc, США). Уровень

частоты дыхания был установлен на 60/мин, а уровень дыхательного объема составлял 3 мл/100 г массы тела (Карпов, А.А. [и др.], 2014). Животным производили интубацию трахеи с использованием трубки для интубации, проходя через голосовые связки. Через L-образный разрез кожи от верхнего края тела грудины до мечевидного отростка по средней линии и далее по ходу VII ребра до средней аксиллярной линии производили доступ к сердцу, с последующим разведением грудных мышц в четвертом межреберье (рис. 5) (Карпов, А.А. [и др.], 2014).

Выражаем глубокую благодарность к.м.н. Карпову А.А. за помощь в проведении исследования.

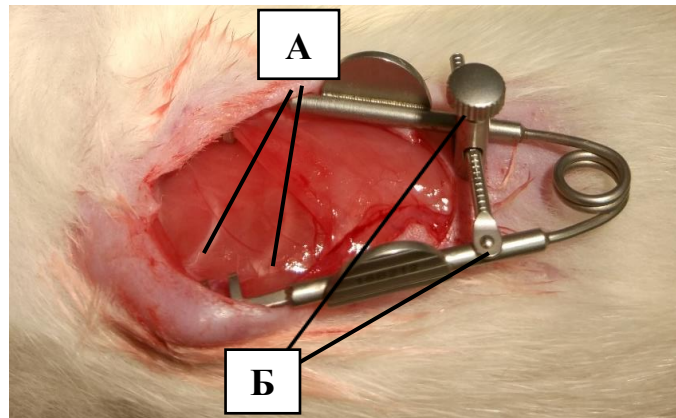


Рисунок 5. Процесс проведение торакотомии у крысы. А—четвертое межреберье (передне–боковая поверхность сердца); Б—ранорасширители, разводящие края раны

Далее проводилась визуализация сердца четвертое межреберье и тупым способом при помощи браншей анатомических пинцетов удаляли перикард. На границе свободного края ушка левого предсердия визуализировали ЛКА, под которую подводилась лигатура (пролен 6/0, Ethicon, Германия), непосредственно у края ушка левого предсердия (ЛП) (рис. 6) (Карпов, А.А. [и др.], 2014). В процессе выполнения операции у животных параллельно производилась запись ЭКГ в стандартных отведениях до операции и через 10 мин после наложения лигатуры на ЛКА. Далее послойно ушивали операционную рану. Шов на коже

был обработан спиртовым 5 % раствором йода. После операции внутривенно вводили цефтриаксон (50 мг/кг) для профилактики послеоперационных инфекционных осложнений (Карпов, А.А. [и др.], 2014).

Выражаем глубокую благодарность к.м.н. Карпову А.А. за помощь в проведении исследования.

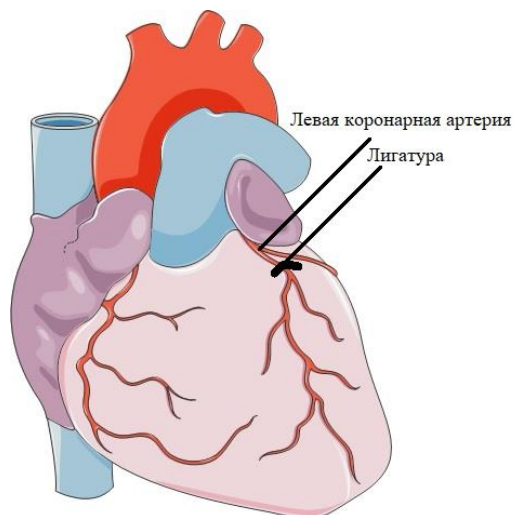


Рисунок 6. Место наложения лигатуры при моделировании перманентного ишемического повреждения

Сразу же после операции, основываясь на значениях ЭхоКГ и данных второго стандартного отведения ЭКГ, животные были рандомизированы на две группы: контрольная группа с ИМ без лечения ($n=30$), получавшая плацебо (группа №1) и группа, получавшая эмпаглифлозин в дозе 1 мг/кг ежедневно с первого дня эксперимента ($n=30$) (группа №2). На 10-й, 20-й и 30-й день после операции животным производили ЭКГ и ЭхоКГ исследование, осуществляли взятие материала и анализ гистологического материала (у 10 животных каждой группы) и молекулярно-биологический анализ. Эвтаназию проводили наркотизированным животным с помощью внутрисердечной инъекции 30 % раствора калия хлорида для остановки сердца в диастолу. После эвтаназии животных вскрывали, сердце извлекали, область с визуализированной зоной некроза помещали в раствор 10 % забуференного нейтрального формалина для дальнейшего гистологического исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

Схема эксперимента приведена на рисунке 7.

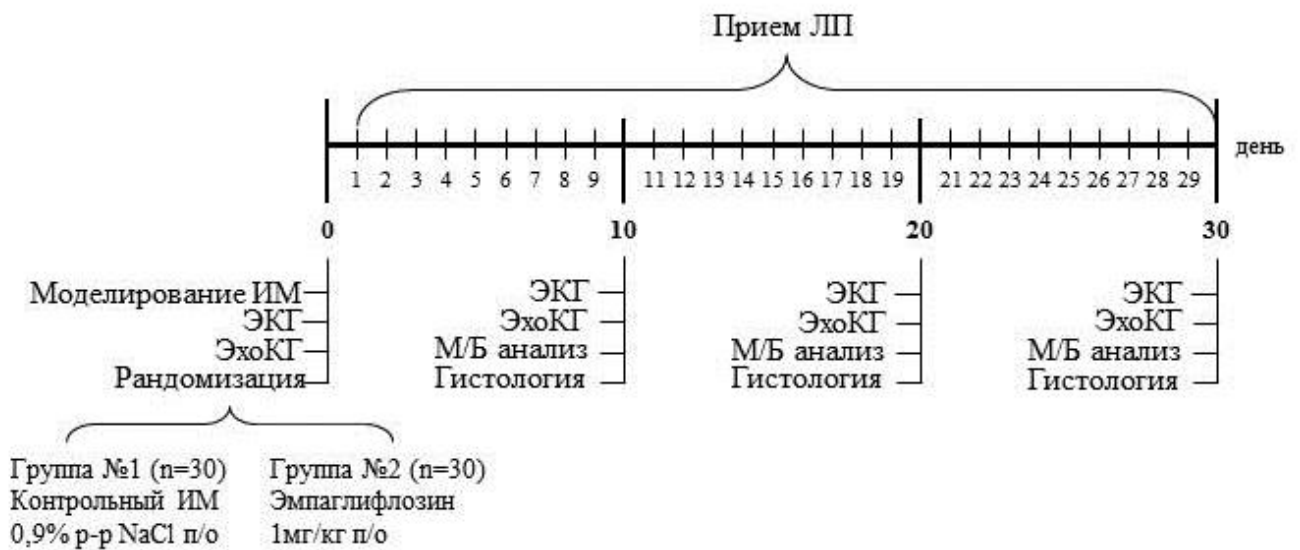


Рисунок 7. Схема эксперимента по использованию эмпаглифлозина на модели острого инфаркта миокарда. Примечания: ИМ–инфаркт миокарда; ЭхоКГ–эхокардиографическое исследование; ЭКГ–электрокардиограмма; п/о–перорально; ЛПП–лекарственный препарат; М/б анализ–молекулярно-биологический анализ

Сравнительная эффективность эмпаглифлозина и препаратов традиционной терапии при экспериментальной ХСН в условиях нормогликемии

Исследование было проведено на 50 крысах–самцах с ПИ ХСН и 10 животных ложнооперированной группы (группа №6). Через месяц после операции, под контролем ЭхоКГ оперированные животные были поделены на 5 равных групп по 10 животных: группа №1 включала животных с ХСН без лечения, получавших перорально воду очищенную, группа №2–животных, получавших эмпаглифлозин (1 мг/кг), группа №3 –иАПФ фозиноприл (10 мг/кг), группа №4 –БАБ бисопролол (10 мг/кг), группа №5–антагонист альдостерона спиронолактон (20 мг/кг). Также оценивалась начальная толерантность к физической нагрузке у животных (Краснова, М.В. [и др.], 2018).

Через 3 месяца терапии проводили анализ показателей ЭхоКГ, суточного диуреза, продолжительности бега на тредмиле (переносимость физической нагрузки) (рис. 8) (Краснова, М.В. [и др.], 2018).

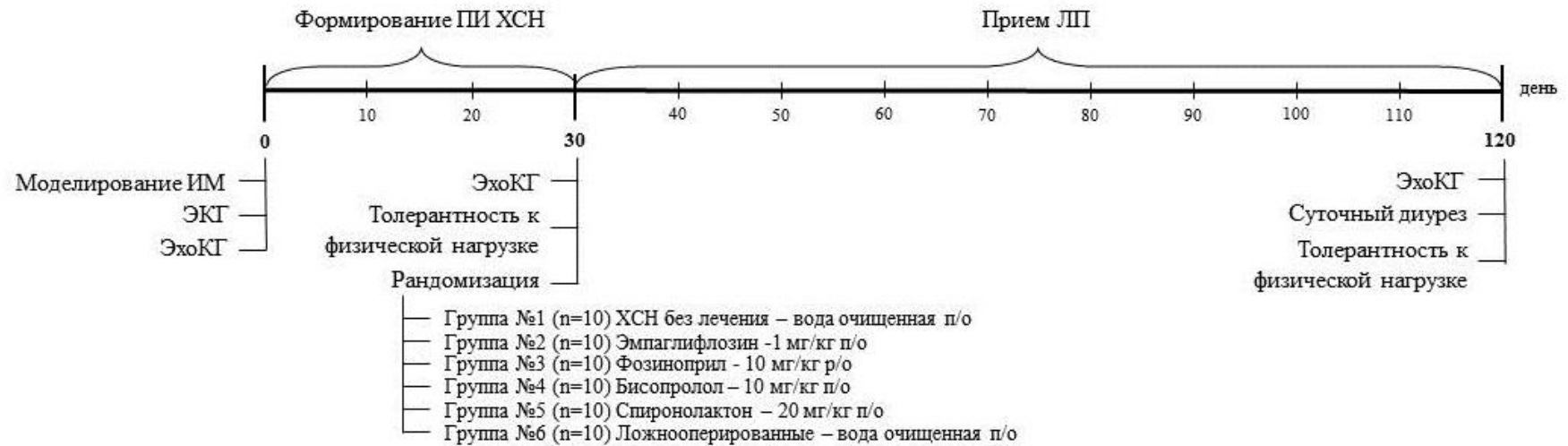


Рисунок 8. Схема эксперимента сравнительной эффективности эмпаглифлозина и препаратов базовой терапии при экспериментальной ПИ ХСН в условиях нормогликемии. Примечания: ХСН–хроническая сердечная недостаточность; ИМ–инфаркт миокарда; ЭхоКГ–эхокардиографическое исследование; ЭКГ–электрокардиограмма; ЛП– лекарственный препарат; п/о–перорально

Моделирование желудочковой аритмии с использованием хлорида кальция

Нарушение ритма моделировали болюсной инъекцией 10 % раствора CaCl_2 в каудальную вену (*v. cava caudalis*) (доза 300 мг/кг) наркотизированным мышам (смесь золетила 50 (0,5 мг/кг массы тела, производитель Virbac, Франция) и ксилазина (0,05 мл/кг массы тела, производитель Interchemie Werken «de Adelaar» BV, Нидерланды)) линии C57BL/6. Экспериментальные животные (n=30) были разделены на 3 равные группы. 10 мышей контрольной группы, которые получили 0,9 % физиологический раствор, 10 мышей первой исследуемой группы получали эмпглифозин в дозе 1 мг/кг на протяжении четырех периодов полувыведения препарата до моделирования аритмии, 10 мышей второй исследуемой группы получали эмпглифозин в дозе 10 мг/кг в том же режиме (рис. 9) (Краснова, М.В. [и др.], 2020).

Моделирование желудочковой аритмии с использованием убаина (строфантина G)

У 30 крыс самок Wistar находящихся в наркозе (смесь золетила 50 (0,5 мг/кг массы тела, производитель Virbac, Франция) и ксилазина (0,05 мл/кг массы тела, производитель Interchemie Werken «de Adelaar» BV, Нидерланды)) моделировали нарушения ритма путем введения строфантина G (убаина) в каудальную вену (*v. cava caudalis*) (доза 0,250 мг/кг). Животные были поделены на 3 группы. Контрольной группе, состоявшей из 10 животных, вводили 0,9 % физиологический раствор. Животным 1 группы (n=10) вводили эмпглифозин в дозе 1 мг/кг в течение 4-х периодов полувыведения препарата начиная за 16 часов до моделирования аритмии. Животным 2 группы (n=10) вводили эмпглифозин по аналогичной схеме, но в дозе 10 мг/кг (рис. 9) (Краснова, М.В. [и др.], 2020).

Моделирование желудочковой аритмии с использованием адреналина

Нарушение ритма моделировали на наркотизированных путем внутривенного введения адреналина в дозе 100 мкг/кг в каудальную вену (*v. cava caudalis*) крыс самок Wistar. Экспериментальные животные (n=30) были

разделены на 3 равные группы. 10 крысы контрольной группы, которые получили 0,9 % физиологический раствор, 10 животных первой исследуемой группы получали эпаглифозин в дозе 1 мг/кг на протяжении четырех периодов полувыведения препарата до моделирования аритмии, 10 животных второй исследуемой группы получали эпаглифозин в дозе 10 мг/кг в том же режиме (рис. 9) (Краснова, М.В. [и др.], 2020).

Во всех трех моделях аритмогенеза ЭКГ регистрировали до и сразу после инъекции, далее ЭКГ мониторировали в течение 20 мин (рис. 9). Учитывали количество животных, у которых удалось спровоцировать ЖА, и количество летальных исходов, сопровождавшихся стойкой ФЖ.

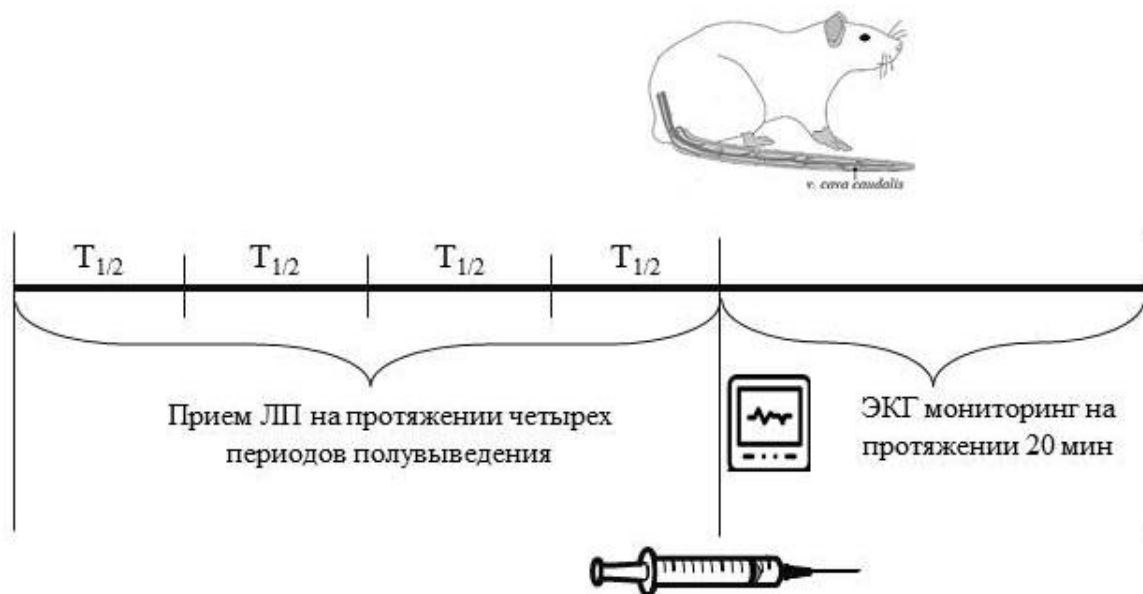


Рисунок 9. Схема экспериментов по изучению фармакопревенции эпаглифлозина относительно желудочковых аритмий. Примечания: ЛПП— лекарственный препарат; ЭКГ—электрокардиография

Выявление возможного механизма реализации феномена снижения сердечно-сосудистой смертности эпаглифлозином

Оценка влияния эпаглифлозина на трансмембранные токи кальция на изолированных желудочковых кардиомиоцитах выполнялась на 12 белых аутбрендных мышах-самцах (нормогликемия) и на 12 мышах-самцах линии

C57BL/KsJ-db/db (гипергликемия) для сравнительной оценки влияния СД2 на работу кальциевых каналов (рис. 10). У животных проводили выделение желудочковых кардиомиоцитов и поделили их на следующие 4 группы:

- Группа №1 – желудочковые кардиомиоциты аутбрендных мышей без инкубации эмпаглифлозина (нормогликемия);
- Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты аутбрендных мышей после двухчасовой инкубации с 5 мкмоль/л раствора эмпаглифлозина (нормогликемия);
- Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты мышей C57BL/KsJ-db/db без инкубации эмпаглифлозина (гипергликемия);
- Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты мышей C57BL/KsJ-db/db после двухчасовой инкубации с 5 мкмоль/л раствора эмпаглифлозина (гипергликемия);

Проводили запись трансмембранных токов кальция методом patch-clamp и внутриклеточные кальциевые переходные процессы на изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей.

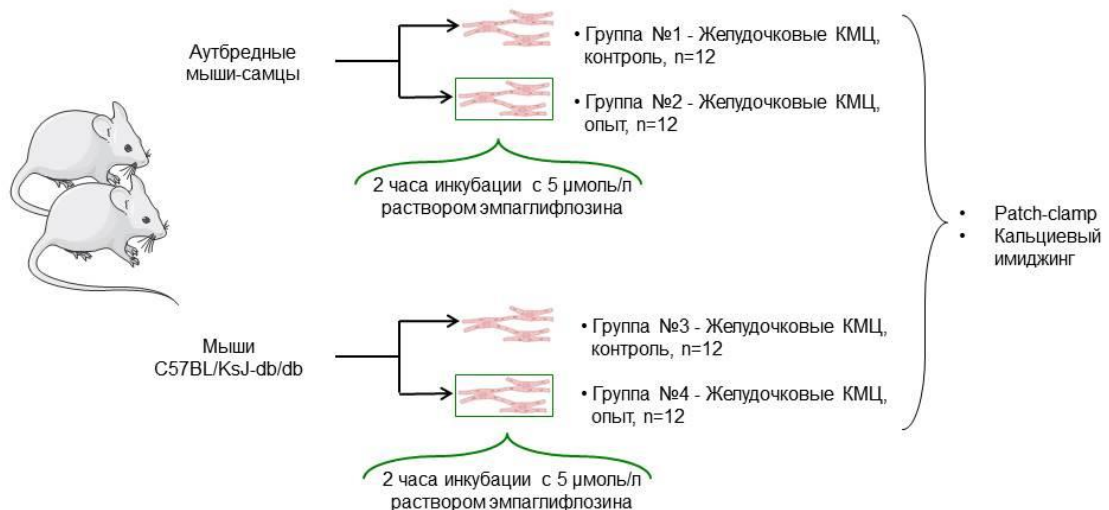


Рисунок 10. Схема эксперимента записи трансмембранных токов кальция методом patch-clamp и внутриклеточных кальциевых переходных процессов на изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей

2.14 Статистическая обработка результатов исследования

Анализ данных проводился с использованием пакета Statistica v10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), причем значения $p \leq 0,05$ рассматривались как указывающие на статистическую значимость, числовые данные представлены в виде от 25^{го} до 75^{го} перцентиля с указанием медианы; планки погрешностей отражают 2,5 и 97,5 перцентили.

Для проверки нормальности распределения использовали одно-, двух- и многофакторный дисперсионный анализ. Статистический метод анализа двух выборок применяли для попарного сравнения групп. Достоверность различий также выявляли с помощью теста Стьюдента или непараметрических критериев Манна–Уитни–Уилкоксона.

Анализ выживаемости проводили с помощью метода Каплана–Мейера (Kaplan, E.L., Meier P., 1958). Значимость различий определяли с помощью рангового теста Мантела–Кокса.

Наличие и степень выраженности морфологических проявлений закономерного развития индуцированных острых расстройств кровообращения в миокарде оценивалась при гистологическом исследовании полуколичественно с использованием градации от «0» до «3», данные представлены на диаграмме с указанием медианы, min и max значениями.

Значимость различий между распределениями частот развития аритмических событий и летальности оценивали с критерия углового преобразования Фишера.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Влияние эмпаглифлозина на эхокардиографические и гистологические показатели, а также уровни фактора, индуцируемого гипоксией-1 α и сукцинатдегидрогеназного комплекса, субъединица А, на 10, 20 и 30 сутки после моделирования острого инфаркта миокарда у нормогликемических животных

Для оценки влияния эмпаглифлозина на течение ОИМ нами была выбрана модель перманентной перевязки ЛКА у крыс (Карпов, А.А. [и др.], 2014). В метаанализе Sayour A.A и соавт. показано, что iSGLT2 уменьшают размер ИМ в доклинических моделях И/Р миокарда на животных (Sayour, A.A. [et al.], 2021). Однако, модель перманентной перевязки ЛКА принципиально отличается от моделей И/Р. Благодаря высокой точности воспроизведения и хорошим результатам выживаемости животных модель наложения лигатуры на ЛКА у крыс является «золотым стандартом» моделирования ишемического повреждения и последующей ПИ ХСН. В ряде случаев, учитывая современные тенденции в лечении острого коронарного синдрома (ОКС) в клинической практике (коронарная ангиопластика, тромболизис), применяется методика И/Р повреждения, сопровождающаяся расслаблением лигатуры через заданное время. Этот подход лучше отражает процессы, происходящие при применении высокотехнологичной помощи в лечении ОКС, однако сопровождается большей вариабельностью результатов внутри экспериментальной группы и сложностью достижения постинфарктной СН. Исходя из этого, проведённое исследование можно считать актуальным.

Выживаемость животных

Выживаемость животных на 10 сутки в группе контроля составляла 80 %, а в группе терапии – 100 % (Рис. 11). Далее смертей животных не наблюдалось, летальные исходы были обусловлены выведением крыс из эксперимента в соответствии с протоколом. Эти данные свидетельствуют о наибольшей тяжести

острого периода формирования патологии (первые 10 суток) в условиях отсутствия терапии.

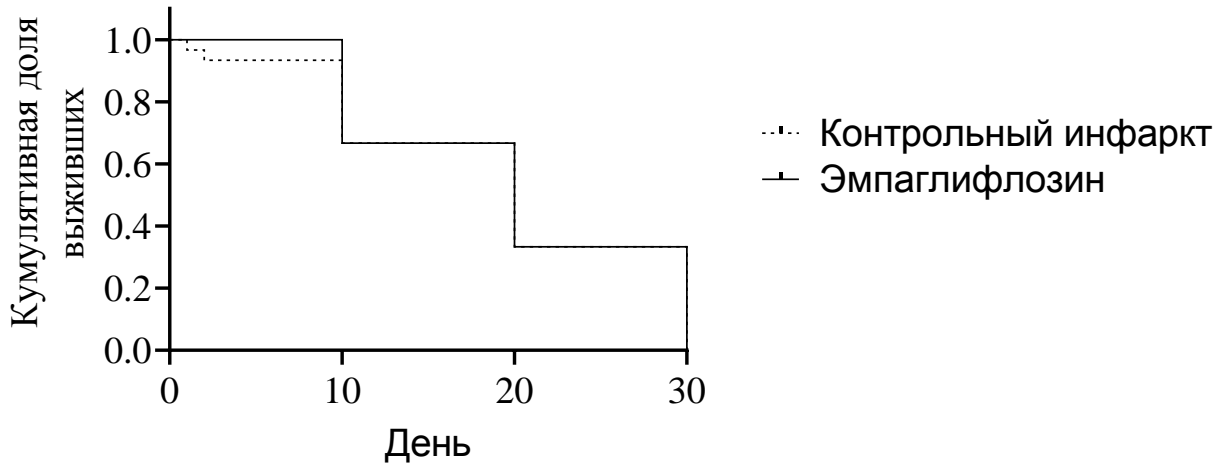


Рисунок 11. Кумулятивная доля выживших экспериментальных животных в зависимости от группы

Эхокардиографические изменения

ФВ(Т) здоровых крыс данного пола и возраста по литературным данным варьирует от 53,7 до 86 % (Куликов, А.Н. [и др.], 2016). При этом ФВ в группе контрольного инфаркта (группа №1) на 10 день ожидаемо была снижена и составила $18,71 \pm 7,60$ % с возрастанием к 20 дню до $37,12 \pm 6,34$ %, и снижением на 30 день до $24,90 \pm 5,49$ %, что соответствует формированию ПИ ХСН. В случае применения эмпаглифлозина (группа №2) значимые приросты эффективности работы миокарда наблюдались на 10 ($31,04 \pm 15,52$ %), 20 ($47,58 \pm 12,68$ %) и 30 ($35,49 \pm 10,98$ %) дни, превосходя контрольные показатели в 1,50, 1,36, 2,00 раза, соответственно, а на точке «20 дней» достигали своего абсолютного максимума ($47,58 \pm 1,87$ %) (рис. 12А). Значимые различия имеются на точке 30 дней ($p=0,0476$) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

ФУ по литературным данным у здоровых крыс-самцов составляет от 37 до 52 % (Куликов, А.Н. [и др.], 2016). В группе контрольного инфаркта на 10 день значение ФУ составляло $7,41 \pm 3,31$ %, возрастая в 2,09 раза на 20 день до

значения $15,51 \pm 1,78 \%$, а на 30 день показатель резко падал практически до значений 10го дня и составлял $9,91 \pm 1,15 \%$. В опытной группе значение ФУ превосходили аналогичный показатель контрольной группы в 2,00, 1,36 и 4,98 раза и составлял $14,85 \pm 6,43 \%$, $21,12 \pm 6,44 \%$ и $14,88 \pm 5,02 \%$ ($p=0,0476$). Картина изменений ФУ на 10, 20 и 30 дни полностью сопоставима с таковой по ФВ как в контрольной, так и опытной группе (рис. 12Б) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

Значимых различий по показателям КДР ЛЖ и КСР ЛЖ между исследуемыми группами контрольного инфаркта и группы лечения получено не было (рис. 12В, Г). Так, в группе контрольного инфаркта КДР ЛЖ показатель составлял $9,53 \pm 1,30$ мм, $8,37 \pm 0,57$ мм и $8,65 \pm 1,53$ мм на 10, 20 и дни, а в группе лечения эмпаглифлозином $8,96 \pm 1,85$ мм, $7,96 \pm 0,98$ мм и $8,33 \pm 1,04$ мм соответственно. Значение КСР ЛЖ у животных контрольной группы составляло $8,82 \pm 1,18$ мм (10 день), $7,08 \pm 0,60$ мм (20 день) и $7,39 \pm 2,39$ мм (30 день). В опытной группе КСР ЛЖ имело значения $7,69 \pm 2,04$ мм, $6,31 \pm 1,21$ мм и $7,12 \pm 1,24$ мм на 10,20 и 30 дни (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

Полученные данные коррелируют с результатами работы Liu Y. и соавт., в которой лечение мышей эмпаглифлозином на ранних этапах после ИМ показало улучшение сердечной функции в виде прироста ФВ и ФУ ЛЖ на 14 дней после лигирования ЛКА, а также уменьшение размера зоны инфаркта и интерстициального фиброза (Liu, Y. [et al.], 2021). Эмпаглифлозин ингибировал апоптоз кардиомиоцитов, уменьшая окислительный стресс и восстанавливая потенциал митохондриальной мембраны.

Показатель ЧСС на 30 сутки достоверно увеличился на 20,46 % в группе терапии по сравнению с патологией без лечения, что можно связать с компенсаторной реакцией на фоне уменьшения значений функциональных показателей миокарда (рис. 12Д) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

На рисунке 11 сведены результаты исследования в динамике.

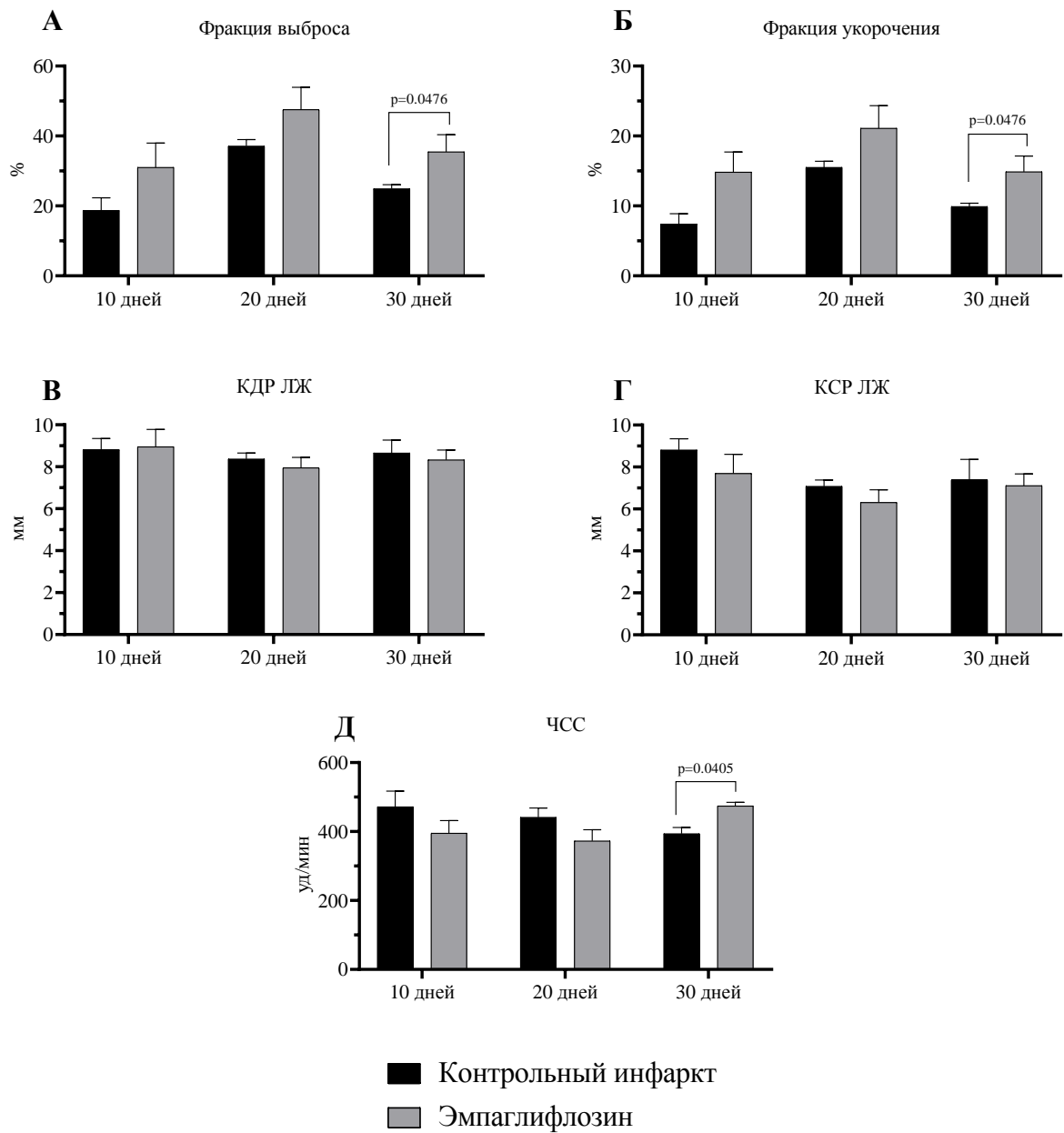


Рисунок 12. Динамика изменений основных эхокардиографических показателей в сравнении между группой №1 (патология без лечения) и группой №2 (патология с лечением эмпаглифлозином): А–изменение значения фракции выброса левого желудочка, %; Б–изменение значения фракции укорочения левого желудочка, %; В–изменение конечно–диастолического размера левого желудочка (КДР ЛЖ), мм; Г–изменение конечно–систолического размера левого желудочка (КСР ЛЖ), мм; Д–изменение частоты сердечных сокращений (ЧСС), уд/мин

Гистологические изменения

Экспериментальные данные демонстрируют, что применение эмпаглифлозина способствует уменьшению размера зоны инфаркта и последующего ремоделирования сердца и развития постинфарктной хронической сердечной недостаточности (von Lewinski, D. [et al.], 2021).

В группе контрольного инфаркта (естественное течение после экспериментального ОИМ без лечения) патологические изменения на 10 день закономерно представлены преимущественно выраженным повреждением в виде некроза с умеренно выраженными реактивными экссудативными воспалительными изменениями и формированием умеренно или значительно выраженных грануляций. В крупных очагах некроза кардиомиоцитов наблюдалось формирование умеренно выраженной незрелой грануляционной ткани с полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией (рис. 13). Грануляционная ткань характеризуется незрелостью (зрелой соединительной ткани нет) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

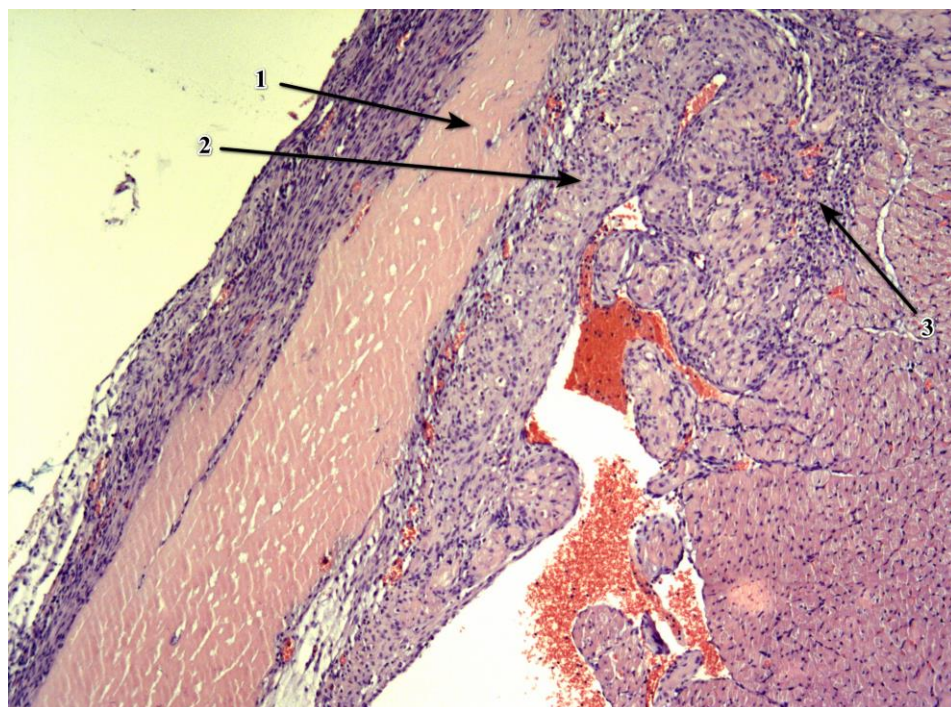


Рисунок 13. Крупные очаги некроза кардиомиоцитов с формированием умеренно выраженной незрелой грануляционной ткани и умеренно выраженной полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией у животного контрольной группы на 10 сутки исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

К 20 дню эксперимента признаки повреждения (некроз) отсутствуют, сохраняется умеренно или слабо выраженная экссудативная клеточная реакция (воспаление) и преимущественно умеренные разрастания грануляционной ткани без явлений формирования грубой фиброзной ткани. Наблюдалось возникновение крупноочагового кардиосклероза со слабовыраженной перифокальной лимфоцитарной инфильтрацией (рис. 14) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

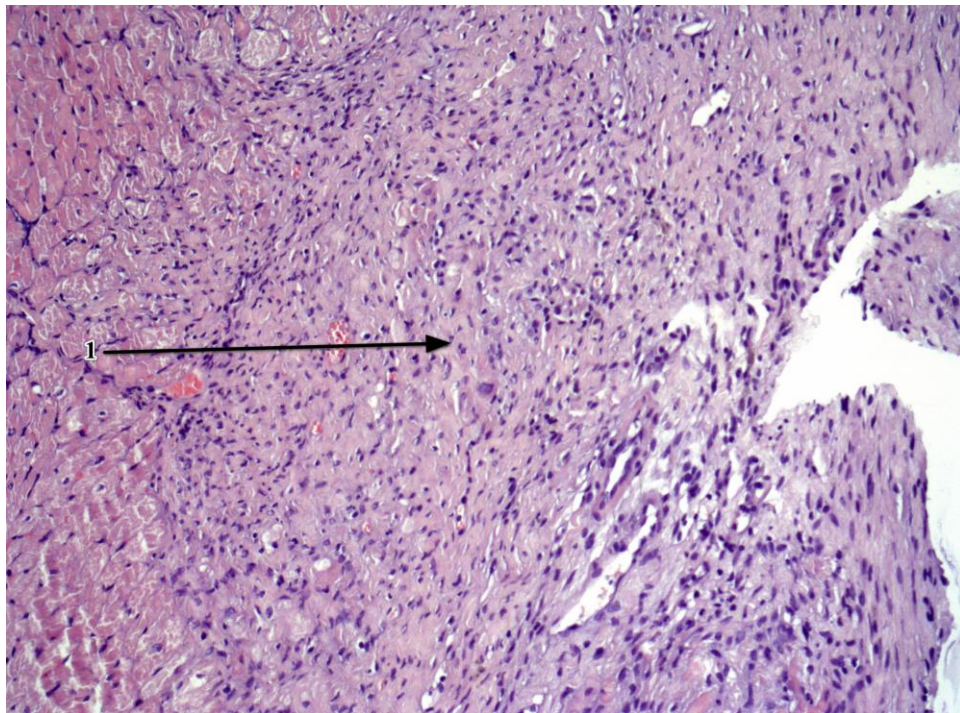


Рисунок 14. Крупноочаговый кардиосклероз со слабо выраженной перифокальной лимфо–гистиоцитарной инфильтрацией с примесью плазматических клеток и гемосидерофагов инфильтрацией у животного контрольной группы на 20 сутки исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

К 30 дню эксперимента признаки повреждения (некроз) отсутствуют, экссудативная клеточная реакция (воспаление) выражено слабо, умеренные разрастания грануляционной ткани сочетаются с формированием умеренных или выраженных разрастаний грубой рубцовой ткани. В двух наблюдениях отмечено формирование тяжелой СН (рис. 15) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

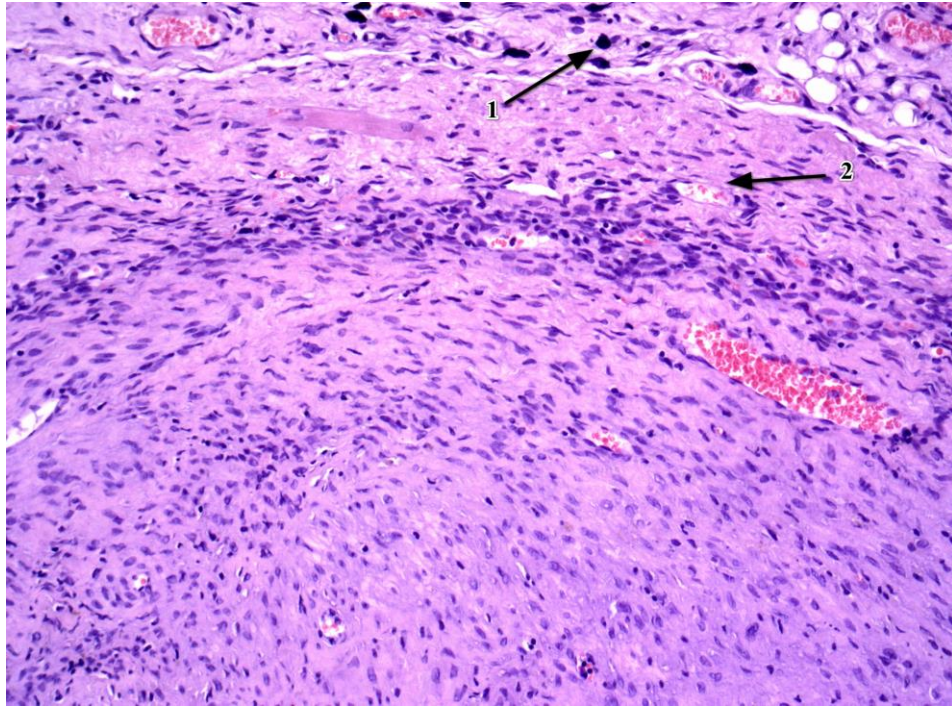


Рисунок 15. Крупные очаги формирования зрелой грануляционной и соединительной ткани, со слабо выраженной перифокальной лимфо–гистиоцитарной инфильтрацией с примесью плазматических клеток, гемосидерофагов, тучных клеток инфильтрацией у животного контрольной группы на 30 сутки исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

В группе терапии эмпаглифлозином признаки повреждения миокарда (в виде некроза) на 10 день были значительно выражены лишь у части животных, у остальных были выражены умеренно и слабо или не выражены вовсе. Тем не менее, воспалительные экссудативные изменения наблюдались у всех животных, были выражены умеренно или значительно и сопровождалась выраженными разрастаниями грануляционной ткани. Грубая соединительная ткань на этом сроке эксперимента не была сформирована, но наблюдалось возникновение эпителиоидно–клеточной реакции вокруг шовного материала (рис. 16) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

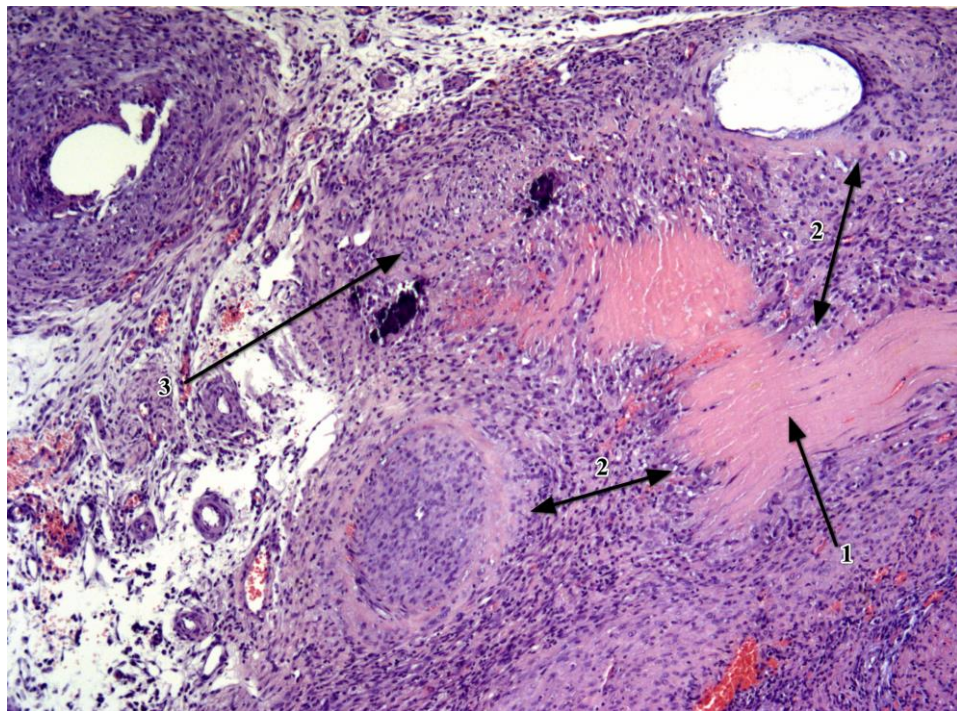


Рисунок 16. Крупноочаговые некрозы кардиомиоцитов, окруженные обширными полями незрелой грануляционной ткани с умеренно выраженной лимфо–плазмоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофилов, тучных клеток и гемосидерофагов, с дилатацией полостей сердца инфильтрацией у животного группы эмпаглифлозина на 10 сутки исследования. Очаговая эпителиоидноклеточная реакция вокруг шовного материала, очаги кальциноза (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

На 20 день эксперимента у части животных сохранялись признаки повреждения миокарда среди умеренно выраженной воспалительной инфильтрации и выраженных разрастаний грануляционной ткани. Вместе с тем, у всех животных при этом наблюдалось слабо выраженное образование грубой соединительной ткани. Наблюдалось возникновение очагового миксоматоза в зоне формирующегося рубца (рис. 17) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

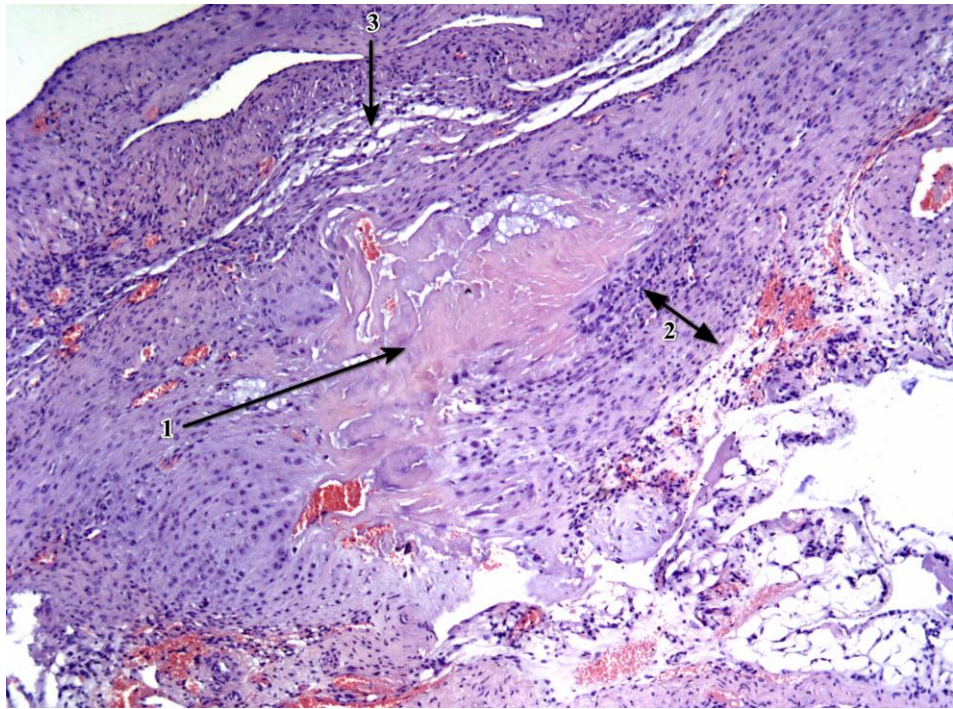


Рисунок 17. Очаги некроза кардиомиоцитов, крупные очаги формирования незрелой и зрелой грануляционной ткани с умеренно выраженной лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофилов, очаговым гемосидерозом, очаговый миксоматоз у животного группы эмпаглифлозина на 20 сутки исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

На 30 день эксперимента экссудативная воспалительная реакция чаще была слабо выражена, слабо и умеренно выраженные разрастания грануляционной ткани сочетались с разной степени выраженности разрастаниями грубой рубцовой ткани. Сохранялась выраженность миксоматоза в зоне рубца (рис. 18) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

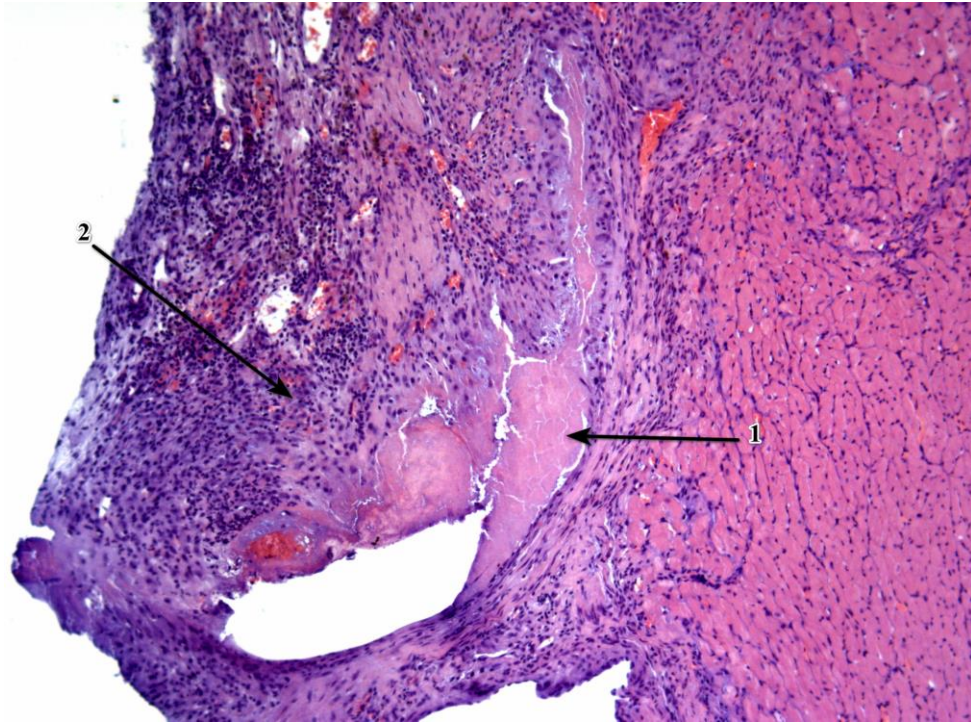


Рисунок 18. Очаговые некрозы кардиомиоцитов, окруженные полями незрелой и зрелой грануляционной ткани с очаговой выраженной лимфо–плазмоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофилов, тучных клеток и гемосидерофагов, с дилатацией полостей сердца у животного группы эмпаглифлозина на 30 сутки исследования (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023)

Распределение балльных оценок выраженности гистоморфологических признаков в экспериментальных группах приведено на рисунке 19. На основании характера и с учетом степени выраженности выявленных патологических изменений, экспериментальный ОИМ в группе животных, получавших эмпаглифлозин, по отношению к группе патологии без лечения, протекал со сниженной элиминацией некротического детрита, более частой умеренной и

высокой степенью выраженности экссудативного воспаления в зоне повреждения и неравномерностью формирования грануляционной ткани, а также более ранним образованием (уже к 20 дню) зрелой соединительной ткани (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Полученные в эксперименте данные подтверждают прогноз, представленный в таблице 1, по кардиозащитному эффекту.

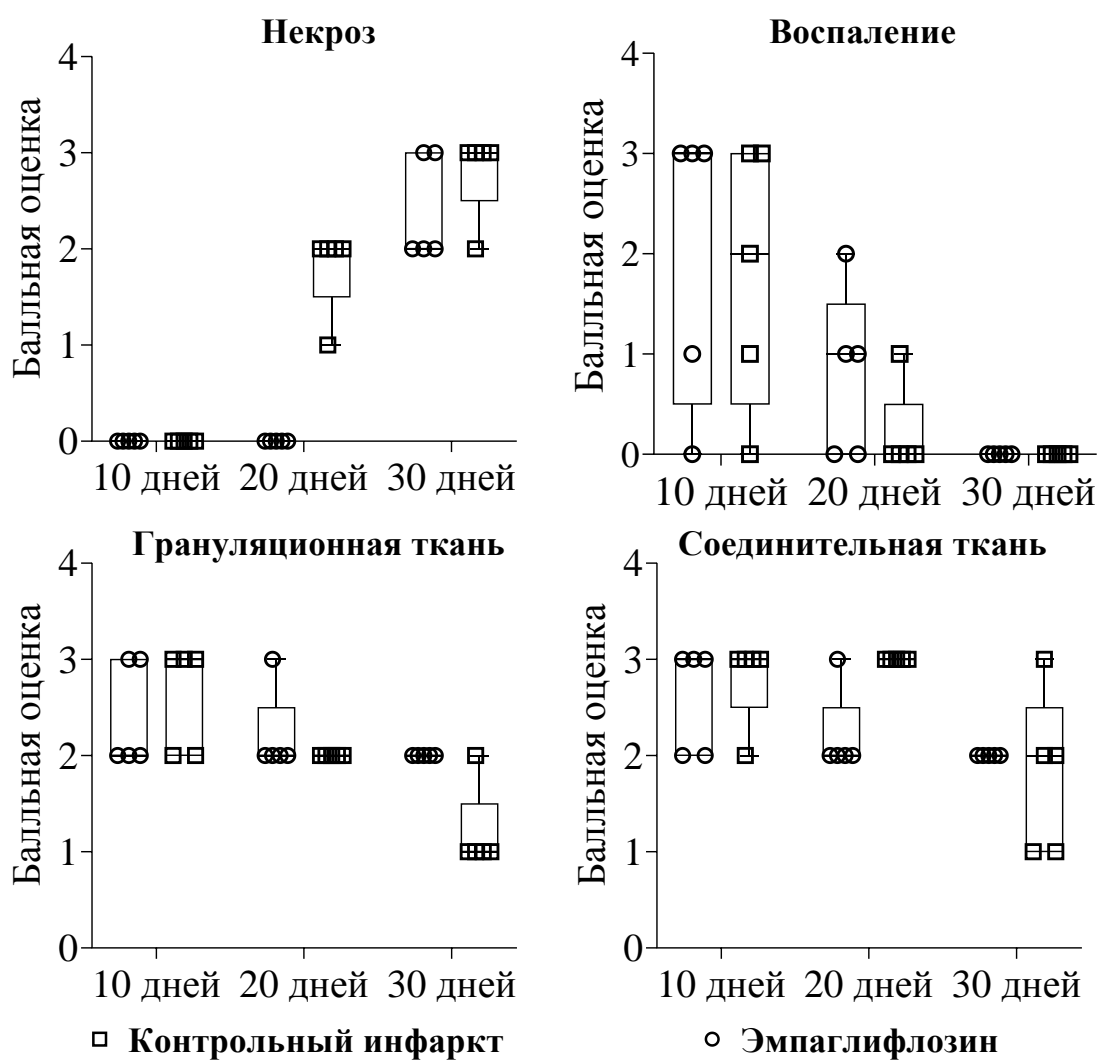


Рисунок 19. Распределение балльных оценок выраженности гистоморфологических признаков. Примечание: ИМ – инфаркт миокарда

Предполагается, что эмпаглифлозин снижает площадь инфаркта и обеспечивает кардиозащиту у недиабетических крыс с ишемической дисфункцией ЛЖ за счет непрямого, замедленного внутреннего механизма. Однако введение препарата недиабетическим крысам в ранние сроки после ИМ способствовало снижению фиброза миокарда и ингибированию фиброзного пути TGF- β 1/Smad3, вероятно, до того, как эмпаглифлозин начнет проявлять какой-либо гемодинамический, либо физиологический эффект (Daud, E. [et al.], 2021). Отложение коллагена, измеренное как объемная доля коллагена, было выше как в рубце, так и в отдаленных областях сердца в контрольной группе.

Спустя 2 недели после моделирования ИМ у мышей линии C57BL/6/6 в группе лечения эмпаглифлозином наблюдалось улучшение сердечной функции, уменьшение размера инфаркта и интерстициального фиброза. Эмпаглифлозин также ингибировал апоптоз кардиомиоцитов, уменьшая окислительный стресс и восстанавливая потенциал митохондриальной мембраны. Анализ методом иммуноблоттинга показал, что передача сигналов активированной клеточной протеинкиназы, контролирующей энергетический баланс клетки (AMPK) может опосредовать кардиопротекторную роль эмпаглифлозина (Liu, Y. [et al.], 2021).

Молекулярно-биологический анализ

На 10 сутки после моделирования ИМ HIF-1 α как в группе контрольного инфаркта, так и в группе лечения эмпаглифлозином показатель находился на одном уровне без значимых отличий ($11,53 \pm 5,08$ против $11,18 \pm 5,39$). На 20 сутки в контрольном инфаркте наблюдалось снижение уровня HIF-1 α на 22,75% ($8,91 \pm 5,16$), которое вернулось в исходное значение к 30 дню исследования ($11,56 \pm 12,58$) (рис. 20А, рис. 21А). Это может свидетельствовать о замедлении репаративных процессов в зоне ишемии на фоне слабовыраженной экссудативной воспалительной реакции и формирования умеренных и выраженных разрастаний грубой рубцовой ткани (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

В опытной группе на 20 сутки наблюдалось достоверное увеличение уровня HIF-1 α на 38,36 % от значения показателя группы на 10 день ($15,46 \pm 6,13$,

$p < 0,05$). Это может говорить о том, что терапия эмпаглифлозином повышает устойчивость миокарда к воздействию гипоксии посредством увеличения количества HIF-1 α , с последующим восстановлением доставки кислорода к тканям, предотвращением гибели клеток миокарда, приводящей к развитию некротических очагов и фиброза. К 30 суткам показатель уменьшился ($13,32 \pm 12,12$), однако все равно превосходил на 19,17% уровень значения показателя 10 дней (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

При межгрупповом сравнении можно отметить, что на 20 дней исследования уровень HIF-1 α в опытной группе достоверно превосходил в 1,74 раза значение группы контрольного инфаркта. Таким образом можно предположить, что эмпаглифлозин вызывает увеличение экспрессии HIF-1 α . Полученные данные сопоставимы с результатами, полученными в работе Wang G.L. и соавт., где на модели ИМ на грызунах сверхэкспрессия HIF-1 α в кардиомиоцитах уменьшала размер инфаркта и улучшала сердечную функцию за счет увеличения плотности сосудов (Wang, G.L. [et al.], 1995).

Сообщается, что фармакологическая активация HIF-1 α во время реперфузии ослабляет И/Р повреждение, что позволяет предположить, что сигнальный путь HIF-1 α является потенциальной мишенью лечения И/Р повреждения (Si, J. [et al.], 2014).

В мышинной модели гипертрофии сердца, вызванной перегрузкой давлением, HIF-1 α накапливается в миокарде по мере прогрессирования гипертрофии, для поддержания плотности сосудов в миокарде (Sano, M. [et al.], 2007). Индуцибельный кардиомиоцитарно-специфичный нокаут HIF-1 α вызывает разрежение микроциркуляторного русла и сердечную дисфункцию (Sano, M. [et al.], 2007). Аналогично, мыши с гетерозиготным нокаутом HIF-1 α более восприимчивы к перегрузке давлением и у них развивается более тяжелая СН (Silter, M. [et al.], 2010). Эти результаты позволяют предположить, что HIF-1 α необходим для поддержания плотности микрососудов и сердечной функции при гипертрофии сердца.

Обращая внимание на то, что эмпаглифлозин улучшал ФУ и ФВ у животных опытной группы (рис. 12 А, Б), что сравнимо с результатами ЭхоКГ в исследовании Sato T., где ФВ ЛЖ значительно снизилась у мышей с нокаутом NIF-1 α по сравнению с контрольными мышами, а сердечный фиброз был более выражен у мышей с нокаутом NIF-1 α можно предположить, что NIF-1 α играет кардиозащитную роль, предотвращая чрезмерный фиброз сердечной мышцы (Sato, T., 2023).

Анализируя данные показателя SDHA можно заметить, что уже на 10 сутки исследования уровень SDHA в опытной группе достоверно превосходил в 2,30 раза показатель контрольной группы ($80,08 \pm 4,54$ против $8,74 \pm 5,87$, $p < 0,05$.) и имел более высокие значения на 20 ($14,49 \pm 6,07$ против $10,74 \pm 7,84$) и 30 ($13,48 \pm 8,51$ против $5,58 \pm 2,54$, $p < 0,05$.) дни (в 1,35 и 2,42 раза, соответственно) (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023).

В группе контроля показатель SDHA незначительно увеличивался на 20 сутки по сравнению с 10 сутками (на 22,87%), а к 30 дню после моделирования патологии снижался (на 36,19%), что может свидетельствовать о нарушении протекания окислительного фосфорилирования в митохондриях кардиомиоцитов за счет снижения активности работы ЭТЦ (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Недостаток АТФ и накопление АФК будут способствовать повреждению клеток миокарда в условиях гипоксии.

В опытной группе наибольшее увеличение уровня SDHA наблюдалось на 10 сутки после моделирования ИМ. На 20 и 30 сутки происходило снижение уровня показателя (на 27,84% и 32,84% от показателя на 10 день, соответственно), однако эти уровни все равно превосходили показатель контрольной группы (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Это может указывать на ингибирование процессов оксидативного стресса, восстановление работы ЭТЦ и биоэнергетики в кардиомиоцитах после ИМ на фоне терапии эмпаглифлозином (рис. 20Б, рис. 21 Б).

Множественные данные указывают на корреляцию между уровнем SDHA и сердечной дисфункцией (Boateng, S., Sanborn, T., 2013; van Opbergen, C.J.M. [et al.], 2019; Abdellatif, M. [et al.], 2021; Fan, M. [et al.], 2020; Hsu, C.P. [et al.], 2009;

Ding, F. [et al.], 2022; Grune, J. [et al.], 2022; Li, J. [et al.], 2020). Накопления сукцината (промежуточного звена цикла Кребса) во время ишемии сердца достаточно, чтобы вызвать массивную генерацию АФК за счет индукции обратного транспорта электронов в ЭТЦ во время реперфузии (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Дефекты SDHA были зарегистрированы у десятков пациентов с тяжелой и потенциально смертельной СН [van Opbergen, C.J.M. [et al.], 2019; Fan, M. [et al.], 2020; Hsu, C.P. [et al.], 2009; Ding, F. [et al.], 2022].

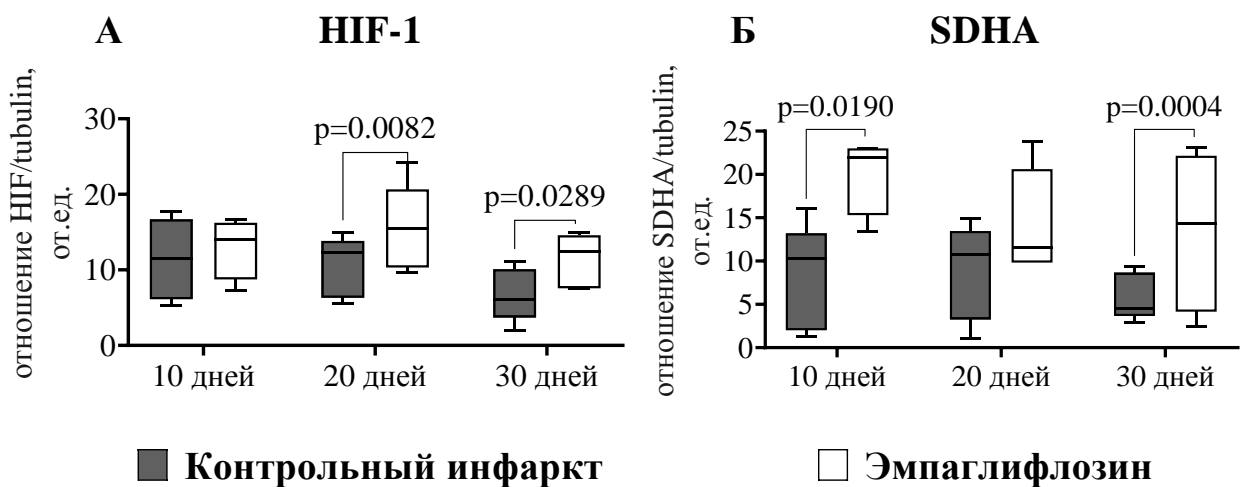


Рисунок 20. Изменение значений показателей молекулярно–биологического исследования (вестерн–блотт анализа): А – динамика изменения уровня фактора, индуцируемого гипоксией–1 α (HIF–1 α); Б – динамика изменения уровня сукцинатдегидрогеназного комплекса, субъединица А (SDHA).

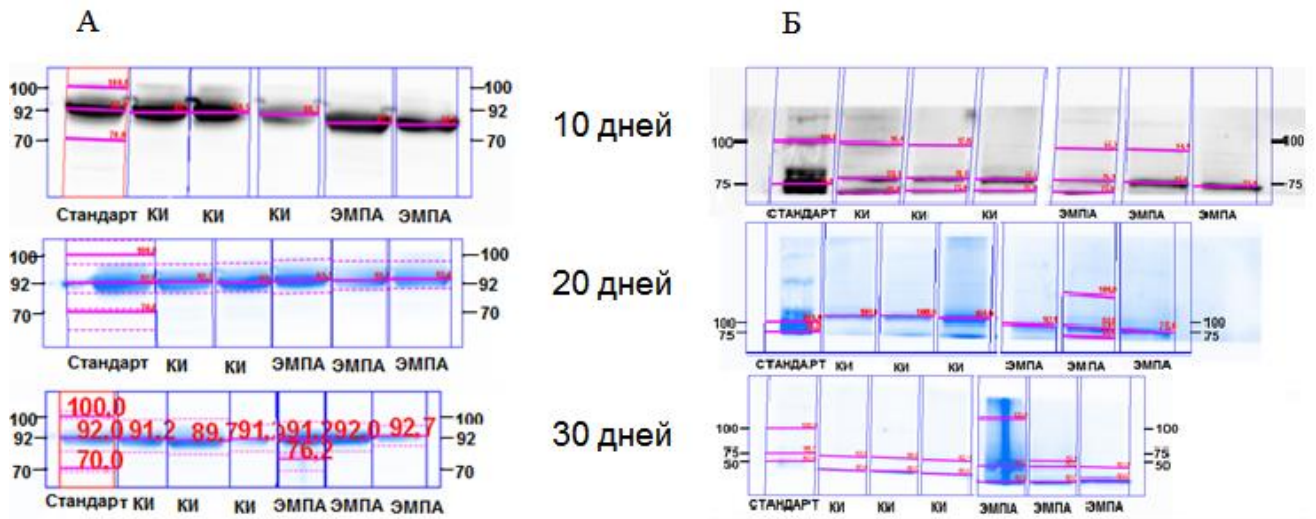


Рисунок 21. Вестерн-блот анализ изменения количества белка: А – фактора, индуцируемого гипоксией-1 α (HIF-1 α); Б – сукцинатдегидрогеназного комплекса, субъединица А (SDHA). Примечание: КИ – контрольный инфаркт ЭМПА – инфаркт миокарда + эмпаглифлозин

Экспериментально показано, что активность комплекса II при гипоксии снижается медленнее и в меньшей степени, нежели комплекса I (Ивкин, Д.Ю. [и др.], 2023). Это объясняется тем, что входящий в состав SDHA в качестве протетической группы ФАД в отличие от ФМН комплекса I в условиях умеренного дефицита кислорода не диссоциирует и продолжает выполнять свою электронтранспортную функцию. Временная, обратимая активация SDHA при гипоксии является экстренной компенсаторной реакцией, направленной на поддержание функционирования ЭТЦ в условиях блокады комплекса I. Она обеспечивает быструю энергопродукцию с целью немедленной компенсации происходящих изменений, а также стабилизацию транскрипционного фактора HIF и запуск процессов долговременной адаптации к гипоксии (Zhang, Y. [et al.], 2019).

В таблице 1 были представлены данные о возможном влиянии эмпаглифлозина на ингибирование экспрессии HIF и ингибирование HIF.

3.2 Эффективность стартовой терапии экспериментальной хронической сердечной недостаточности эпаглифлозином в сравнении с традиционно используемыми средствами базисной терапии в условиях нормогликемии

В методе перфузии изолированного сердца диабетических и недиабетических крыс по Лангендорфу, крысы, длительно получавшие канаглифлозин (в течение 4 недель), демонстрировали меньшие размеры зоны инфаркта. Это первая демонстрация кардиозащитного действия канаглифлозина против И/Р повреждения, как у диабетических, так и у недиабетических животных. Напротив, прямая обработка изолированных сердец крыс без диабета канаглифлозином, солюбилизированным в изолированном перфузионном буфере Лангендорфа, не оказала влияния на размер инфаркта (Lim, V.G. [et al.], 2019).

Анализ данных ЭхоКГ через месяц после моделирования СН показал, что полученная модель была успешной. Полученные данные показателей ЭхоКГ сопоставимы с таковыми в работах по моделированию ПИ ХСН (Казаченко, А.А. [и др.], 2008; Карпов, А.А. [и др.], 2014). Так, у прооперированных животных по сравнению с ложнооперированными крысами были достоверно увеличены КДРлж ($8,00 \pm 1,09$ мм против $6,43 \pm 0,35$ мм), КСРлж ($6,27 \pm 1,48$ мм против $3,63 \pm 0,25$ мм), КДОлж ($0,40 \pm 0,11$ мм против $0,23 \pm 0,02$ мм) и КСОлж ($0,26 \pm 0,10$ мм против $0,09 \pm 0,01$ мм) и снижены ФУ ($21,09 \pm 10,37$ % против $52,02 \pm 6,05$ %), ФВ (Т) ($47,48 \pm 16,32$ % против $84,75 \pm 3,66$ %), ФВ (С) ($37,24 \pm 12,19$ % против $68,06 \pm 3,14$ %), MAPSE ($1,11 \pm 0,33$ мм против $1,57 \pm 0,12$ мм) и TAPSE ($1,60 \pm 0,61$ мм против $3,38 \pm 0,56$ мм). Размеры стенок ЛЖ, размеры ПЖ и предсердий при этом значимо не отличались от таковых у животных ложнооперированной группы (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Прооперированные животные были рандомизированы на пять опытных групп на основании ФУ и ФВ (Т) (табл. 4).

Таблица 4. Эхокардиографические показатели у исследуемых групп животных через 1 месяц после выполнения оперативного вмешательства

Показатель/ Группа	Группа №1, n=10	Группа №2, n=10	Группа №3, n=10	Группа №4, n=10	Группа №5, n=10	Группа №6 (Л/О), n=10
КДРлж, мм	8,01 ± 1,11*	7,93 ± 1,19*	7,85 ± 0,95*	8,28 ± 0,89*	8,01 ± 1,40*	6,43 ± 0,35
КСРлж, мм	6,12 ± 0,44*	5,97 ± 1,59*	6,14 ± 1,19*	6,46 ± 1,50*	6,45 ± 1,85*	3,63 ± 0,25
МЖПд, мм	1,30 ± 0,30	1,31 ± 0,46	1,34 ± 0,35	1,23 ± 0,44	1,34 ± 0,53	1,81 ± 0,09
ЗСд, мм	1,48 ± 0,40	1,76 ± 0,39	1,60 ± 0,26	1,80 ± 0,41	1,63 ± 0,49	1,66 ± 0,18
ММлж, г	0,90 ± 0,17*	0,90 ± 0,29	0,81 ± 0,168	0,92 ± 0,205*	0,85 ± 0,255	0,72 ± 0,161
ОТМлж, ед	0,46 ± 0,11	0,45 ± 0,13	0,42 ± 0,10	0,45 ± 0,16	0,43 ± 0,18	0,51 ± 0,11
ФУ, %	21,00 ± 9,90*	19,32 ± 11,01*	21,40 ± 9,90*	22,92 ± 11,33*	20,97 ± 11,66*	52,02 ± 6,05
ФВ (Т), %	46,11 ± 16,81*	47,09 ± 11,30*	49,71 ± 14,00*	49,14 ± 18,72*	45,54 ± 18,42*	84,75 ± 3,66
ЧСС, уд/мин	410,00 ± 25,00	424,00 ± 72,00	407,00 ± 34,00*	406,00 ± 59,00*	448,00 ± 32,00	456,00 ± 45,00
КДОлж, мл	0,39 ± 0,12*	0,35 ± 0,11*	0,39 ± 0,09*	0,42 ± 0,09*	0,45 ± 0,11*	0,23 ± 0,02
КСОлж, мл	0,25 ± 0,10*	0,22 ± 0,10*	0,25 ± 0,09*	0,27 ± 0,09	0,30 ± 0,12*	0,09 ± 0,01
УО, мл	0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,14 ± 0,05	0,15 ± 0,05	0,16 ± 0,04	0,14 ± 0,01
МО, мл/мин	61,54 ± 23,01	52,00 ± 15,51	58,72 ± 21,43	61,5 ± 24,0	70,21 ± 19,20	62,88 ± 6,85
ФВ (С), %	38,22 ± 14,21*	37,40 ± 12,00*	37,94 ± 12,91*	36,40 ± 11,61*	36,32 ± 12,61*	68,06 ± 3,14
MAPSE, мм	1,08 ± 0,33*	1,08 ± 0,29*	1,01 ± 0,32*	1,17 ± 0,39*	1,23 ± 0,34*	1,57 ± 0,12

Показатель/ Группа	Группа №1, n=10	Группа №2, n=10	Группа №3, n=10	Группа №4, n=10	Группа №5 , n=10	Группа №6 (Л/О), n=10
ТАPSE, мм	1,41 ± 0,64*	1,56 ± 0,67*	1,99 ± 0,75*	1,69 ± 0,47*	1,35 ± 0,33*	3,38 ± 0,56
ЛПпз, мм	4,47 ± 0,81	3,60 ± 0,93	3,62 ± 0,45	4,14 ± 0,81	4,35 ± 0,85	3,76 ± 1,05
ЛПк, мм	5,38 ± 0,82	5,46 ± 0,98	5,23 ± 0,51	5,53 ± 0,61	5,56 ± 0,89	–
ЛПд, мм	5,49 ± 0,53	4,90 ± 0,83	4,90 ± 0,77	5,36 ± 1,05	5,64 ± 0,63	–
ПЖ, мм	3,10 ± 0,43	2,98 ± 0,32	3,13 ± 0,63	3,14 ± 0,33	2,80 ± 0,37	3,03 ± 0,63
ППк, мм	3,73 ± 1,35	4,23 ± 0,81	4,05 ± 0,63	4,12 ± 0,61	3,65 ± 0,76	4,00 ± 0,59
ППд, мм	5,64 ± 0,71	4,99 ± 0,86	4,64 ± 0,85	5,39 ± 0,45	4,99 ± 0,97	–
С последующим лечением:	Вода очищенная	Эмпаглифлозин	Фозиноприл	Бисопролол	Спиронолактон	Вода очищенная

Примечание: Л/О – ложнооперированные животные; *– достоверное отличие ($p < 0,05$) от соответствующего показателя с группой № 6 (ложнооперированная) по критерию.

Максимальное время работы на продолжительность работы на беговой дорожке (тредмиле) у животных исследуемых групп колебалось от 312 ± 95 с (группа №5) до 342 ± 59 с (группа №2), и 790 ± 145 с в группе №6 (ложнооперированные). Статистически значимые различия присутствовали между группой №6 (ложнооперированной) и остальными группами (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Таким образом, животные исследуемых групп №1–№5 представляли собой результативную модель ХСН и были сопоставимы по массе тела, ЭхоКГ и физическим данным, что дало основание для последующего сравнения эффектов эмпаглифлозина и основных базисных средств лечения СН.

Выживаемость животных спустя 3 месяца лечения ПИ ХСН

Через 3 месяца наблюдения отмечена гибель одного животного из группы №1 (ХСН без лечения), 3–х животных из группы №3 (фозиноприл), 1–го животного из группы №4 (бисопролол) и 3–х животных из группы №5 (спиронолактон) (рис. 22). В группах №2 (эмпаглифлозин) и №6 (ложнооперированные) выжили все животные (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020). Данные по смертности у животных с ХСН как получавших лечение препаратами, так и без лечения, соотносятся с экспериментальными данными других исследователей (Gao, K. [et al.], 2020; Buss, S.J. [et al.], 2006). Также полученные данные коррелируют с данными по уровням смертности в РКИ при лечении референтными препаратами (Chang, C.H. [et al.], 2015).

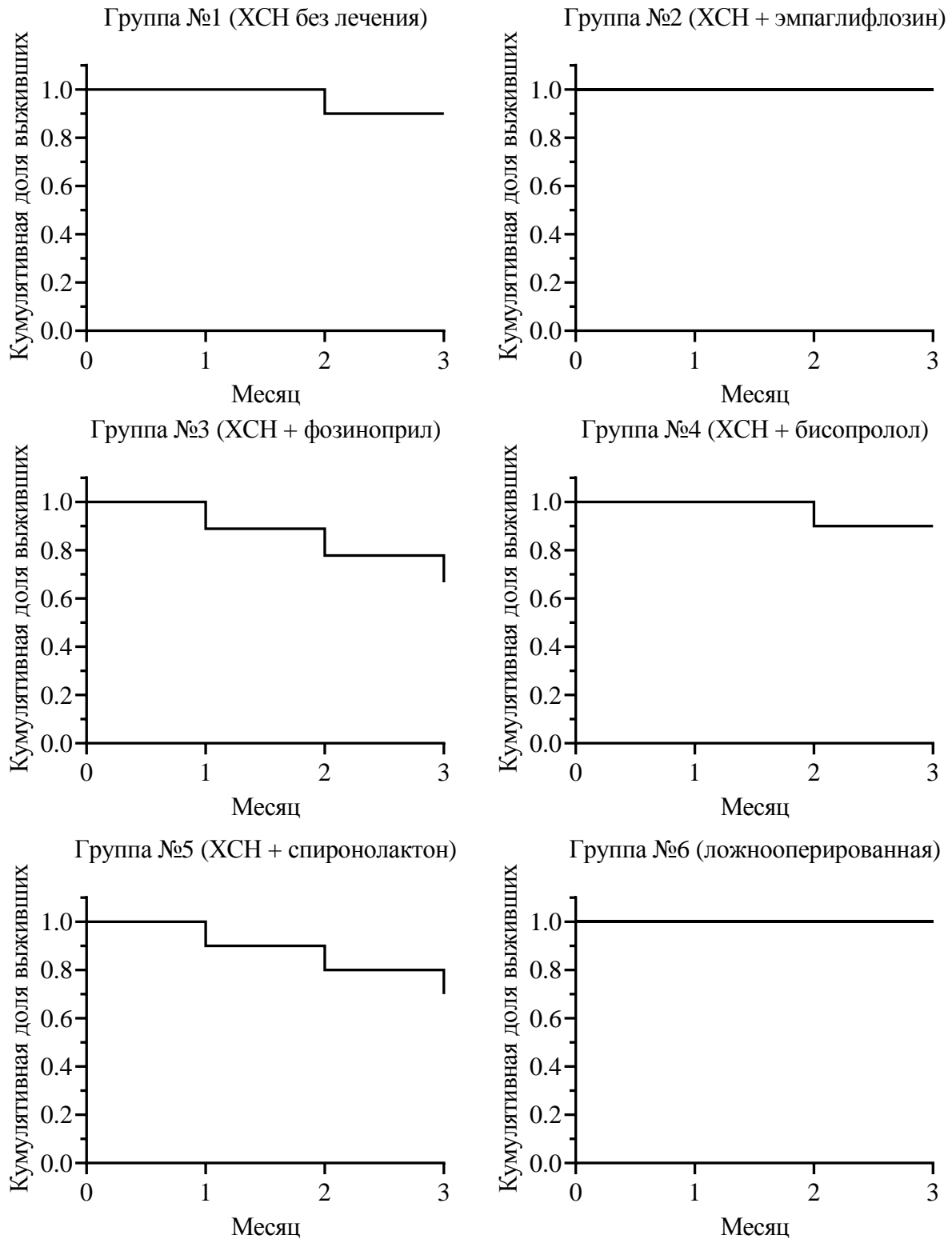


Рисунок 22. Кумулятивная доля выживших экспериментальных животных в зависимости от группы. Примечание: ХСН–хроническая сердечная недостаточность.

Масса тела животных спустя 3 месяца лечения ПИ ХСН

Масса тела повысилась у выживших животных всех исследуемых групп, за исключением группы №4, получавшей бисопролол (рис. 23).

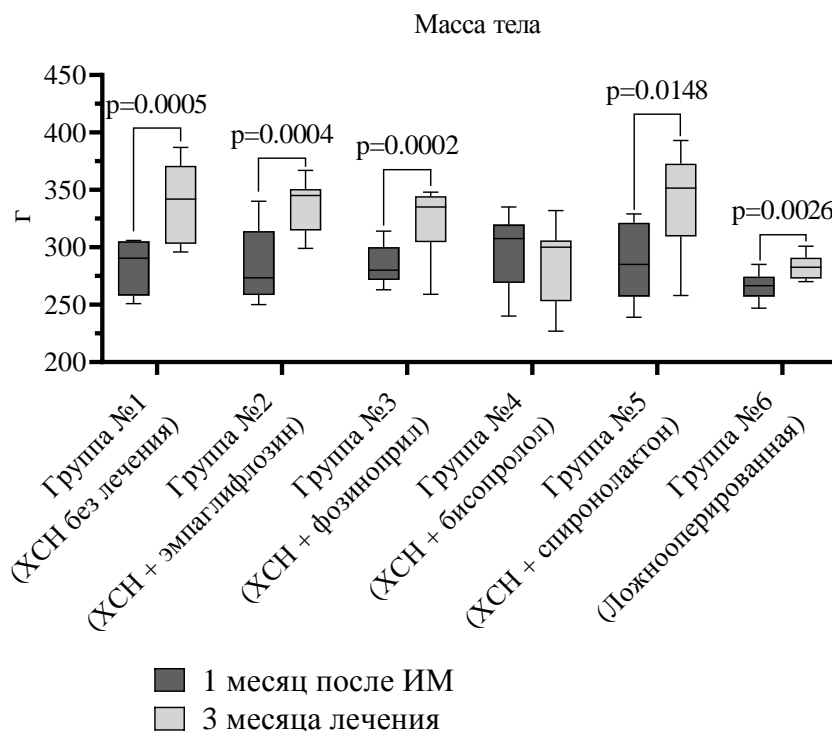


Рисунок 23. Масса тела животных исследуемых групп исходно и через 3 месяца наблюдения. Примечание: ХСН–хроническая сердечная недостаточность; ИМ–инфаркт миокарда; &–достоверное отличие ($p < 0,05$) от соответствующего показателя с группой №6 (ложнооперированная) по критерию

Эхокардиографические изменения спустя 3 месяца лечения ПИ ХСН

У животных группы №1 было отмечено дальнейшее достоверное повышение показателей КДРлж (на 10,64 %), КСРлж (на 17,70 %), КДОлж (на 35,08 %) и КСОлж (на 43,48 %) и достоверное снижение ФУ (на -22,07 %), ФВ (Т) (на -17,92 %) и ФВ (С) (на -15,25 %), кроме того, достоверно увеличились размеры предсердий: ЛПк (на 25,72 %), ЛПд (на 20,39 %), ППд (на 12,75 %) относительно исходных (после рандомизации через 1 месяц после моделирования ИМ) значений показателей (таблицы 5, 6). Описанные изменения характерны для

дальнейшего прогрессирования ХСН. У животных группы №2, получавших лечение эмпаглифлозином, отмечено только увеличение переднезаднего размера левого предсердия (на 17,75 %) и размера левого предсердия по длинной оси (на 45 %), значимых изменений размеров ЛЖ и ФВ ЛЖ не произошло, более того, несколько вырос минутный объем (25,55 %). Увеличение ЛПпз (на 24,59 %) и ППд (на 19,15 %) отмечено и у животных группы №3, получавших фозиноприл, размеры ЛЖ и ФВ ЛЖ при этом также существенно не изменились. Напротив, ухудшение функции ЛЖ было отмечено у животных группы №4, получавших бисопролол, оно характеризовалось, снижением ФУ (на -40,91 %), ФВ (Т) (на -33,55 %) и MAPSE (на -21,85 %). У животных, получавших спиронолактон, значимых изменений ЭхоКГ не произошло, за исключением некоторого утолщения МЖПд (на 17,91 %). Достоверной динамики размеров сердца и показателей его сократимости не выявлено и у животных ложнооперированной группы №6, хотя было зарегистрировано повышение ударного (на 28,51 %) и минутного объемов (на 17,68 %) ЛЖ (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Информативность и чувствительность межгруппового сравнения данных ЭхоКГ в завершающей точке исследования были существенно ограничены уменьшившимся объемом выборки, особенно в группах животных, получавших фозиноприл и спиронолактон. При этом высока вероятность того, что из эксперимента выбыли животные с наиболее тяжелыми проявлениями ХСН. Тем не менее, наибольшее число «позитивных» различий с группой сравнения (крысы с ХСН, не получавшие лечения) отмечено у животных, получавших фозиноприл, они имели меньшие размеры ЛЖ и ЛП. На 2-е место можно поставить группу, получавшую эмпаглифлозин, так как у этих животных отмечались более выраженная систолическая экскурсия плоскости митрального кольца (MAPSE) и меньший размер ППд. Крысы, получавшие спиронолактон, отличались от животных 1-й группы только меньшим размером ЛПк, а у животных, получавших бисопролол, и вовсе не обнаружили значимых различий (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Таблица 5. Эхокардиографические показатели у исследуемых групп животных через 3 месяца терапии

Показатель/ Группа	Группа №1 (ХСН без лечения), n=9	Группа №2 (ХСН + эмпаглифлозин) , n=10	Группа №3 (ХСН + фозиноприл), n=7	Группа №4 (ХСН + бисопролол), n=9	Группа №5 (ХСН + спиронолактон) , n=7	Группа №6 (Л/О), n=10
КДРлж, мм	8,79 ± 0,44*	8,15 ± 0,91*	7,52 ± 0,93*	7,70 ± 2,57*	8,19 ± 1,25*	6,9 ± 0,62
КСРлж, мм	7,46 ± 0,79*	6,42 ± 1,63*	5,76 ± 1,45*	6,61 ± 2,20*	6,67 ± 1,71*	3,3 ± 0,83
МЖПд, мм	1,34 ± 0,31*	1,43 ± 0,20*	1,43 ± 0,60	1,16 ± 0,36*	1,58 ± 0,56	1,79 ± 0,18
ЗСд, мм	1,80 ± 0,29	1,63 ± 0,28	1,64 ± 0,38	1,66 ± 0,36	1,47 ± 0,36	1,55 ± 0,33
ММлж, г	0,93 ± 0,210	0,92 ± 0,13*	0,79 ± 0,19	0,82 ± 0,33	0,92 ± 0,30	0,78 ± 0,106
ОТМлж, ед	0,34 ± 0,08*	0,39± 0,07	0,45 ± 0,15	0,39 ± 0,12	0,38 ± 0,15	0,46 ± 0,13
ФУ, %	16,30 ± 6,81*	18,43 ± 11,00*	24,42 ± 10,91*	13,52 ± 4,07*	19,61 ± 10,72*	52,00 ± 9,00
ФВ (Т), %	37,90 ± 13,11*	43,43 ± 18,11*	52,10 ± 18,62*	32,61 ± 8,63*	43,42 ± 18,91*	87,00 ± 7,00
ЧСС, уд/мин	372,00 ± 95,00	409,00 ± 31,00	394,00±63,00	380,00 ± 55,00	407,00 ± 58,00	411,00 ± 59,00
КДОлж, мл	0,53 ± 0,09*	0,45 ± 0,12*	0,39 ± 0,09*	0,47 ± 0,14*	0,55 ± 0,16*	0,24 ± 0,04
КСОлж, мл	0,36 ± 0,12*	0,30 ± 0,12*	0,25 ± 0,09*	0,32 ± 0,13*	0,39 ± 0,18*	0,07 ± 0,03
УО, мл	0,17 ± 0,06	0,15 ± 0,06	0,15 ± 0,03*	0,15 ± 0,05	0,15 ± 0,04	0,18 ± 0,03
МО, мл/мин	66,11 ± 28,00	61,23 ± 21,21	59,71 ± 19,22	63,80 ± 19,71	57,61 ± 10,30*	74,00 ± 19,30

Показатель/ Группа	Группа №1 (ХСН без лечения), n=9	Группа №2 (ХСН + эмпаглифлозин) n=10	Группа №3 (ХСН + фозиноприл), n=7	Группа №4 (ХСН + бисопролол), n=9	Группа №5 (ХСН + спиронолактон) , n=7	Группа №6 (Л/О), n=10
ФВ (С), %	32,42 ± 12,32*	34,61 ± 14,43*	38,80 ± 10,61*	33,82 ± 11,00*	29,72 ± 13,00*	72,00 ± 8,70
MAPSE, мм	1,08 ± 0,39*	1,23 ± 0,11*	1,07 ± 0,25*	0,92 ± 0,19*	0,95 ± 0,20*	1,59 ± 0,30
TAPSE, мм	1,52 ± 0,55*	1,70 ± 0,89*	1,86 ± 0,53*	1,41 ± 0,28*	1,34 ± 0,48*	2,69 ± 0,59
ЛПЗ, мм	5,12 ± 1,19	5,22 ± 0,57	4,51 ± 0,57	5,41 ± 1,06	5,42 ± 0,57	4,30 ± 0,84
ЛПК, мм	6,76 ± 0,72	6,36 ± 0,71	5,55 ± 0,44	6,27 ± 0,87	5,96 ± 0,24	–
ЛПД, мм	6,60 ± 0,86	6,31 ± 0,71	5,33 ± 0,56	6,39 ± 1,33	5,84 ± 0,77	–
ПЖ, мм	3,08 ± 0,53	2,94 ± 0,26	2,84 ± 0,31	2,98 ± 0,70	2,90 ± 0,35	2,74 ± 0,36
ППК, мм	4,24 ± 0,86	4,16 ± 0,78	4,20 ± 0,66	4,41 ± 0,82	3,78 ± 0,76	4,34 ± 0,46
ППД, мм	6,36 ± 0,68	5,52 ± 0,79	5,52 ± 0,82	5,84 ± 0,71	5,65 ± 0,79	–

Примечания: ХСН–хроническая сердечная недостаточность; Л/О–ложнооперированные животные; * – достоверное отличие ($p < 0,05$) от соответствующего показателя с группой № 6 (ложнооперированная) по критерию.

Таблица 6. Значимые изменения эхокардиографических показателей у исследуемых групп животных через 3 месяца наблюдения в сравнении со значениями показателей через 1 месяц после моделирования ИМ

Показатель/ Группа	КДР _{лж}	КСР _{лж}	МЖП _д	ЗСд	ММ _{лж}	ОТМ _{лж}	ФУ	ФВ(Т)	ЧСС	КДО _{лж}	КСО _{лж}	УО	МО	ФВ(С)	MAPSE	TAPSE	ЛП _{лз}	ЛП _к	ЛП _д	ПЖ	ПП _к	ПП _д
Группа №1 (ХСН без лечения)	+	+								+	+							+	+			+
Группа №2 (ХСН + эмпаглифлозин)													+				+		+			
Группа №3 (ХСН + фозиноприл)																	+					+
Группа №4 (ХСН + бисопролол)								-									+					
Группа №5 (ХСН + спиронолактон)			+																			
Группа №6 (Л/О)												+	+									

Примечания: «+»–увеличение значения показателя в динамике ($p < 0,05$); «-»–уменьшение значения показателя в динамике ($p < 0,05$); Л/О–ложнооперированные.

В итоге, у животных группы №2 (эмпаглифлозин) MAPSE оказалась выше в 1,14 раза, а размер правого предсердия по длинной оси ниже в 1,15 раз, чем у крыс группы №1, не получавших лечения (табл. 7), при этом MAPSE у животных группы №2 (эмпаглифлозин) также была выше, чем таковая в группах №4 (бисопролол) и №5 (спиронолактон) в 1,34 и 1,29 раз, соответственно, а размер левого предсердия по длинной оси выше, чем у животных, получавших фозиноприл (группа №3) в 1,24 раза. В свою очередь, животные группы №3 (фозиноприл) имели меньшие размеры ЛЖ и левого предсердия, чем животные группы №1 (ХСН без лечения) в 1,22 и 1,24 раза и животные группы №5 (спиронолактон) в 1,20 раз, а также лучшие показатели сократимости (ФУ в 1,80 раз, ФВ(Т) в 1,60 раз), чем животные группы №4 (бисопролол). По размерам и функции камер сердца животные группы №4 не отличались от группы ХСН без лечения (№1) и группы №5, получавшей спиронолактон, но имели худшие показатели сократимости ЛЖ в сравнении с группами №3 (фозиноприл) (ФУ в 1,80, ФВ(Т) в 1,60 раз) и группой №2 (эмпаглифлозин) (MAPSE в 1,29 раз). Животные группы №5 (спиронолактон) отличались от группы контроля (№1) лишь меньшим размером левого предсердия по короткой оси (в 1,13 раз), они имели более низкую MAPSE (в 1,29 раз), чем животные группы №2 (эмпаглифлозин) и более значительные КДО ЛЖ (в 1,41 раз) и переднезадний размер левого предсердия (в 1,20 раз), чем животные группы №3 (фозиноприл) (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Таблица 7. Значимые различия эхокардиографических данных между группами животных спустя 3 месяца лечения

	Группа №1	Группа №2	Группа №3	Группа №4	Группа №5	Группа №6	
Группа №1		ППд: 1>2 MAPSE: 1<2	КДРлж: 1>3 КСРлж: 1>3 КДОлж: 1>3 ЛПк: 1>3 ЛПд: 1>3	–	ЛПк: 1>5	КДРлж: 1>6 КСРлж: 1>6 МЖПд: 1<6 ОТМлж: 1<6 ФУ: 1<6 ФВ(Т): 1<6	КДОлж: 1>6 КСОлж: 1>6 ФВ (С): 1<6 MAPSE: 1<6 TAPSE: 1<6
Группа №2	ППд: 2<1 MAPSE: 2>1		ЛПд: 2>3	МЖПд: 2>4 MAPSE: 2>4	MAPSE: 2>5	КДРлж: 2>6 КСРлж: 2>6 МЖПд: 2<6 ММлж: 2>6 ФУ: 2<6 ФВ (Т): 2<6	КДОлж: 2>6 КСОлж: 2>6 ФВ (С): 2<6 MAPSE: 2<6 TAPSE: 2<6
Группа №3	КДРлж: 3<1 КСРлж: 3<1 КДОлж: 3<1 ЛПк: 3<1 ЛПд: 3<1	ЛПд: 3<2		ФУ: 3>4 ФВ(Т): 3>4	КДОлж: 3<5 ЛПпз: 3<5	КДРлж: 3>6 КСРлж: 3>6 ФУ: 3<6 ФВ (Т): 3<6 УО: 3<6	КДОлж: 3>6 КСОлж: 3>6 ФВ (С): 3<6 MAPSE: 3<6 TAPSE: 3<6
Группа №4	–	МЖПд: 4<2 MAPSE: 4<2	ФУ: 4<3 ФВ (Т): 4<3		–	КДРлж: 4>6 КСРлж: 4>6 МЖПд: 4<6 ФУ: 4<6 ФВ (Т): 4<6	КДОлж: 4>6 КСОлж: 4>6 ФВ (С): 4<6 MAPSE: 4<6 TAPSE: 4<6
Группа №5	ЛПк: 5<1	MAPSE: 5<2	КДОлж: 5>3 ЛПпз: 5>3	–		КДРлж: 5>6 КСРлж: 5>6 ФУ: 5<6 ФВ(Т): 5<6 МО: 5<6	КДОлж: 5>6 КСОлж: 5>6 ФВ (С): 5<6 MAPSE: 5<6 TAPSE: 5<6

Примечания: В ячейках таблицы указаны только показатели с уровнем значимости $p < 0,05$; Группа №1 – ХСН без лечения; Группа №2 – ХСН+эмплаглифлозин; Группа №3 – ХСН+фозиноприл; Группа №4 – ХСН+бисопролол; Группа №6 – ХСН+спиронолактон; Группа №6 – ложнооперированные животные; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ППд – размер правого предсердия по длинной оси; MAPSE – величина систолической экскурсии плоскости кольца митрального клапана; КДРлж – конечный диастолический размер левого желудочка; КСРлж – конечный систолический размер левого желудочка; ЛПк–размер левого предсердия по короткой оси; ЛПд – размер левого предсердия по длинной оси; КДОлж–конечно-диастолический объем левого желудочка; МЖПд – толщина межжелудочковой перегородки; ФУ–фракция укорочения; ФВ (Т) – фракция выброса левого желудочка методом Тейхольца; ЛПпз – передне-задняя проекция левого предсердия (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020)

Влияние на суточный диурез у животных спустя 3 месяца лечения ПИ ХСН

Суточный диурез у животных группы №2 ($9,8 \pm 0,92$ мл) и группы №5 ($11,1 \pm 1,3$ мл) оказался выше, чем в группах №1 ($6,9 \pm 1,25$ мл), №3 ($7,39 \pm 0,53$ мл) и №4 ($7,51 \pm 0,80$ мл) и значимо не отличался от объема выделяемой мочи у животных контрольной группы ($12,7 \pm 7,4$ мл) (рис. 24). При этом диурез у животных, получавших спиронолактон (группа №5), был значимо выше, чем у животных, получавших эмплаглифлозин (группа №2) (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Мочегонное действие является одним из наиболее очевидных клинических эффектов эмплаглифлозина, которые можно наблюдать при СН (Heerspink, H.J. [et al.], 2016). Это можно объяснить основным механизмом действия iSGLT2 на реабсорбцию глюкозы в почках, за которой следует экскреция глюкозы с мочой и воды (Martens, P. [et al.], 2017). Также наблюдалась явная тенденцию к более высокому объему суточной мочи у животных групп эмплаглифлозина и спиронолактона, чем у животных других групп. Таким образом, из-за

повышенной экскреции воды и натрия лечение эмпаглифлозином может привести к снижению сердечной преднагрузки.

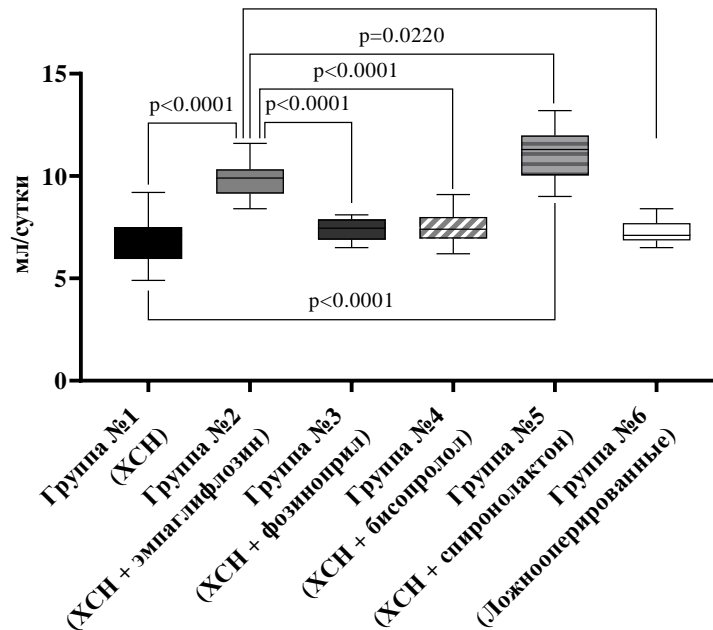


Рисунок 24. Суточный диурез у исследуемых групп через 3 месяца монотерапии.

В данном эксперименте протестирована гипотеза о вероятной эффективности эмпаглифлозина при моделировании ХСН у крыс с нормогликемией. Особый интерес вызывали потенциальные влияния этого лекарственного средства на ремоделирование ЛЖ, центральную гемодинамику, а также – на толерантность к физической нагрузке (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Установлено, что животные, получавшие эмпаглифлозин, были существенно более выносливыми, чем животные, не получавшие препарат. При этом у крыс исследуемой группы масса ЛЖ и масса сердца, а также конечно-диастолический объем ЛЖ оказались выше, чем у животных группы сравнения, не получавших лечения. Этот неожиданный факт находится в определенном противоречии с высокой толерантностью к нагрузке и высоким минутным объемом ЛЖ. Принято считать, что развитие эксцентрической гипертрофии

миокарда является неблагоприятным вариантом ремоделирования ЛЖ, отражающим прогрессирование систолической дисфункции ЛЖ. Однако положительная динамика фракции выброса и ударного объема у крыс исследуемой группы убеждают в обратном (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Благоприятное воздействие эмпаглифлозина на миокард также было продемонстрировано в исследованиях на крысах с сердечной недостаточностью (Yurista, S.R. [et al.], 2019; Santos-Gallego, C.G. [et al.], 2019; Connelly, K.A. [et al.], 2019). Данные этих авторов, как и результаты полученные в данном эксперименте, свидетельствуют о том, что введение эмпаглифлозина нормогликемическим крысам с ХСН предотвращает развитие патологического ремоделирования ЛЖ и функционального ухудшения работы миокарда, в отличие от животных с ХСН без лечения. Примечательно, что только в этой группе (эмпаглифлозина) не было случаев смерти.

Крысы группы фозиноприла подтверждают хорошо известное положительное действие иАПФ на ремоделирование и функцию сердца; размеры левого желудочка и фракция выброса (Migliavaca, C.V. [et al.], 2020). Напротив, крысы, получавшие бисопролол, несмотря на его длительное применение, значительно снижали ФУ, ФВ (Т) и MAPSE, что можно интерпретировать как кардио–депрессивный эффект (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020). Этот отрицательный эффект можно объяснить высокой дозой бисопролола (10 мг/кг), хотя эта доза была выбрана на основе предыдущих исследований и титровали, как описано выше. Животные, получавшие бисопролол, также не набирали вес, как животные в других группах (Watanabe, K. [et al.], 2001). Животные из группы спиронолактона не продемонстрировало каких-либо значительных изменений размеров и функции сердца, что не было удивительно, но контрастировало с большим количеством смертей (3 случая).

Подводя итоги анализа полученных данных, необходимо отметить, что прием эмпаглифлозина у нормогликемических крыс с экспериментальной ХСН приводит к замедлению прогрессирования дисфункции ЛЖ (в сравнении с

крысами, не получающими лечения), повышает переносимость физической нагрузке и объем выделяемой мочи. При сравнении с другими базисными средствами лечения ХСН эмпаглифлозин значительно превосшел их по влиянию на толерантность к физической нагрузке, по влиянию на ремоделирование сердца уступил фозиноприлу, а по диуретическому эффекту – спиронолактону, но при этом значительно превосходил остальные препараты сравнения по данным показателям (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

3.3 Сравнительная оценка переносимости физической нагрузки у животных с постинфарктной хронической сердечной недостаточностью под воздействием эмпаглифлозина и средств традиционной базисной терапии

Максимальное время работы на тредмиле у животных исследуемых групп через месяц после лигирования ЛКА находилось на уровне от 312 ± 95 с (группа №5) до 342 ± 59 с (группа №2), притом значение показателя в группе ложнооперированных животных было 790 ± 145 с, без статистически значимых межгрупповых различий за исключением достоверного отличия всех групп от группы №6 (ложнооперированной) (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

Выносливость при работе на тредмиле через 3 месяца ощутимо снизилась у всех исследуемых групп животных (рис. 25), при этом наиболее выраженными эти изменения были в группах №1, №3, №4, и №5. В итоге, максимальное время работы оказалось самым высоким у крыс, получавших эмпаглифлозин (289 ± 27 с, $p \leq 0,05$), оно было значимо выше, чем у животных групп №1 в 1,61 раз (180 ± 53 с, $p \leq 0,05$), №3 в 1,58 раз (183 ± 61 с), №4 в 1,47 раз (197 ± 95 с) и №5 в 1,97 раз (147 ± 46 с) (Куликов, А.Н. [и др.], 2021; Krasnova, M. [et al.], 2020).

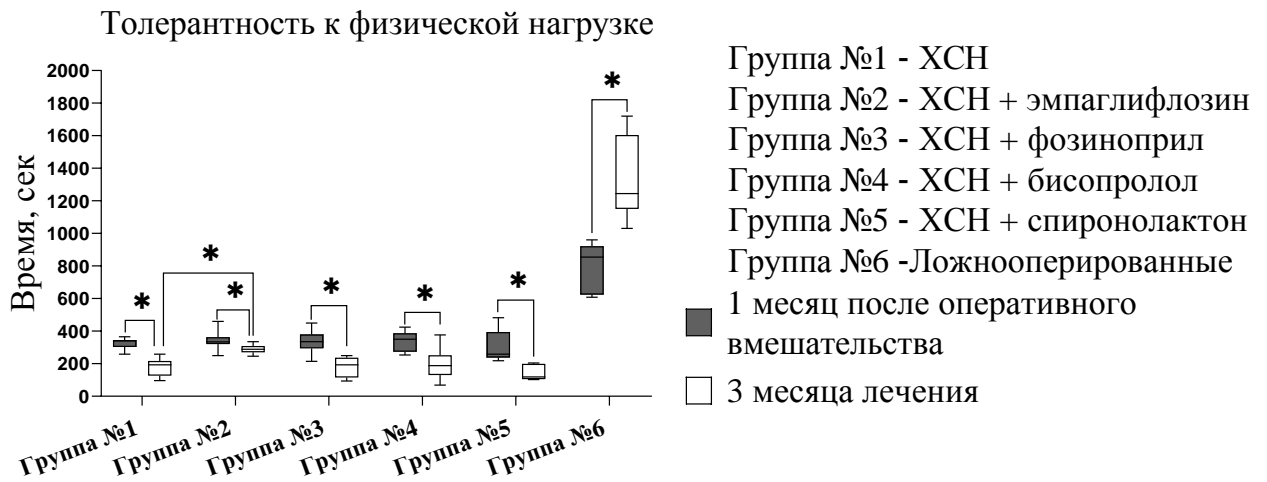


Рисунок 25. Максимальное время работы на тредмиле у исследуемых групп животных через 1 месяц после молелирования инфаркта миокарда и спустя три месяца монотерапии. Примечания: значения показателя групп 1–5 на 1 месяц после оперативного вмешательства и через 3 месяца лечения достоверно отличается от значений группы № 6

Куликов А.Н. и соавт. в своей работе, используя аналогичную модель ХСН у нормогликемических крыс, обнаружили, что ингибирование SGLT2 в течение 3 месяцев увеличивало толерантность к физическим нагрузкам (Куликов, А.Н. [и др.], 2016). Этот эффект был связан с улучшением сердечной функции, о чем свидетельствует увеличение УО, МО и ФВ ЛЖ. Эти данные согласуются с результатами, полученными в эксперименте.

Способность эмпаглифлозина улучшать толерантность к физической нагрузке также нашла свое подтверждение в клинической практике. Dogan N.B. и соавт. в своем исследовании на пациентах с СД2 и СН обнаружили способность iSGLT2 увеличивать продолжительность упражнений спустя месяц после начала терапии (Dogan, N.B. [et al.], 2023).

Кардиореспираторный нагрузочный тест для определения пикового потребления кислорода в настоящее время является одним из наиболее точных маркеров для прогнозирования случаев повторных госпитализаций и смертности пациентов с ХСН (Колоскова, Н.Н., 2014). Методика определения потребления

кислорода основана на выполнении физической нагрузки на тредмиле или велоэргометре, во время которой проводится изучение концентрации вдыхаемого кислорода и уровня выдыхаемого углекислого газа. В исследовании EMPA-TROPISM эмпаглифлозин продемонстрировал значительное улучшение толерантности к физической нагрузке, оцениваемой по пиковому потреблению кислорода и расстоянию ходьбы за 6 минут (Peng, Y. [et al.], 2023). Так, у пациентов с ХСНнФВ без СД2 после 6 месяцев лечения значение пикового потребления кислорода составило $1,1 \pm 2,6$ мл/мин/кг против $-0,5 \pm 1,9$ мл/мин/кг плацебо, а в тесте 6-минутной ходьбы показатель составлял 81 ± 64 м против -35 ± 68 м плацебо. Улучшение функциональных возможностей у данных пациентов сопровождалось значительным улучшением объемов ЛЖ, массы ЛЖ и систолической функции.

Результаты данного эксперимента также нашли свое подтверждение и в систематическом анализе Peng Y. и соавт., где была проведена оценка влияния iSGLT2 на один из параметров толерантности к физической нагрузке, а именно на значение пикового потребления кислорода (Peng, Y. [et al.], 2023). По сравнению с контрольной группой объединенные результаты РКИ показали, что iSGLT2 могут значительно увеличивать данный показатель у пациентов как с ХСН и СД2, так и без диабета (Peng, Y. [et al.], 2023).

Аналогичные результаты по улучшению толерантности к физической нагрузке были получены и в исследовании на ограниченном числе пациентов с ХСНнФВ. Применение дапаглифлозина на протяжении 6 месяцев привело к значимому увеличению показателя пиковой концентрации кислорода по сравнению с контрольной группой (Reis, J. [et al.], 2022).

В проведенном исследовании эмпаглифлозин улучшает толерантность к физическим нагрузкам на беговой дорожке, превосходя все эталонные соединения. Примечательно, что сердечная кахексия, которая поражает 10-16% пациентов с ХСН, как известно, является независимым фактором риска смертности при СН (Kosiborod, M. [et al.], 2017; Nilsson, K.R. [et al.], 2008; Anker, S.D. [et al.], 1997). В данном исследовании эмпаглифлозин увеличил

максимальное время активности на беговой дорожке в 1,6 раза по сравнению с животными с ХСН без лечения средством. Следовательно, эмпаглифлозин можно рассмотреть в качестве возможного терапевтического варианта коррекции нарушения физической работоспособности при ХСН.

3.4 Оценка антиаритмического потенциала эмпаглифлозина на моделях хлоридкальциевой, строфантиновой и адреналиновой аритмий

Аритмии являются распространенным осложнением при ССЗ и вносят существенный вклад смертность. Патофизиология, лежащая в основе аритмий, сложна и остается не до конца изученной, что объясняет, почему в основном доступна только симптоматическая терапия. Оценка сложного взаимодействия между различными типами клеток сердца, включая кардиомиоциты проводящей системы и рабочего миокарда, фибробласты и сердечные иммунные клетки, остается серьезной проблемой в исследованиях аритмии, поскольку ее можно исследовать только *in vivo* [Clauss, S., 2019].

Способность уменьшать риск аритмических событий является одним из возможных объяснений воздействия *iSGLT2* на сердечно-сосудистую смертность у больных ХСН с СД2 и без него (Zinman, B. [et al.], 2015; McMurray, J.J.V. [et al.], 2019). Данная гипотеза подтверждается экспериментальными данными, которые свидетельствуют о прямом воздействии *iSGLT2* на обмен Ca^{2+} в кардиомиоцитах, а также о его способности замедлять патологическое ремоделирование сердца при ХСН (Baartscheer, A. [et al.], 2017). Ca^{2+} -зависимые сигнальные пути имеют важное значение для правильной регуляции связи между возбуждением и сокращением, а также для экспрессии генов, зависящей от CaMKII (Mattiuzzi, A. [et al.], 2015). Избыточное накопление Ca^{2+} в кардиомиоцитах может вызвать аритмогенную электрическую нестабильность и активировать сигнальные пути, способствующие развитию гипертрофии (Coronel, R. [et al.], 2013; Baartscheer, A. [et al.], 2003).

В качестве ведущего фактора возникновения кальцийзависимых аритмий рассматривают возникновение поздних постдеполяризаций. Повышению

триггерной готовности способствует высокая активность CaMKII, свойственная ХСН (Bers, D.M., Stiffel, V.M. 1993). CaMKII вызывает преждевременную утечку кальция из СР и активации NCX, что в свою очередь приводит к приросту внутриклеточного положительного заряда за счет входа ионов натрия и дополнительной (поздней) деполяризации (Mustroph, J. [et al.], 2018). Кроме того, гипертрофия сердца является критическим триггером электрофизиологических изменений, которые предрасполагают к аритмиям и представляют собой основной фактор риска внезапной сердечной смерти (Tomaselli, G.F., Marban, E., 1999). Следовательно, предупреждение чрезмерного накопления кальция в цитозоле кардиомиоцита, может быть одним из способов профилактики опасных нарушений ритма и патологического ремоделирования у больных ХСН.

Хлоридкальциевая модель аритмии

На модели аритмии, индуцированной введением хлорида кальция, все мыши контрольной группы умерли от ФЖ и асистолии (табл. 8). В первой опытной группе только у 5 из 10 животных были спровоцированы нарушения ритма: ФЖ развилась у 1 животного (что обусловило летальный исход), редкий идиовентрикулярный ритм у 2 мышей, ФП у 1 животного, редкий предсердный ритм у 1 животного. При этом 9 из 10 мышей выжили (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Во второй группе исследования нарушения ритма удалось вызвать у 9 из 10 животных: ФЖ у 3 мышей, желудочковая тахикардия у 1 животного, ФП у 1 животного, остановка сердца у 3 животных, брадиаритмия с паузами до 0,5 с у 1 животного (типичные примеры аритмий иллюстрированы в рисунках 26–28). Погибли в результате нарушений ритма 5 мышей из 10 (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Частота провокации аритмии у мышей группы №1 оказалась значимо ниже, чем в контроле ($p=0,033$), то же можно сказать и о летальности ($p=0,0001$). Частота возникновения аритмии у животных 2-й группы значимо не отличалась

от данных контроля ($p > 0,999$), однако летальность оказалась более низкой ($p = 0,033$) (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Таким образом, превентивное введение эмпаглифлозина в дозе 1 мг/кг мышам эффективно предотвращало индуцированные CaCl_2 ЖА и смерть, введение в дозе 10 мг/кг снижало риск летального исхода (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Таблица 8. Исходы моделирования аритмических событий при использовании кальцийзависимой модели у мышей C57BL/6

Исходы	Число животных с данным типом исхода		
	Контроль (n=10)	Эмпаглифлозин	
		1 мг/кг (n=10)	10 мг/кг (n=10)
Фибрилляция желудочков	5	1	3
Желудочковая тахикардия	1	–	1
Асистолия	2	–	3
Брадисистолия	2	3	1
Фибрилляция предсердий	–	1	1
Любая аритмия	10	5*	9
Летальный исход	10	1 [#]	5 ^{\$}

Примечания: * – различия в частоте событий с группой контроля $\phi_3 = 1,76$, $p < 0,05$; # – различия в частоте событий с группой контроля $\phi_3 = 2,79$, $p < 0,01$;

\$ – различия в частоте событий с группой контроля $\phi_3 = 1,76$, $p < 0,05$

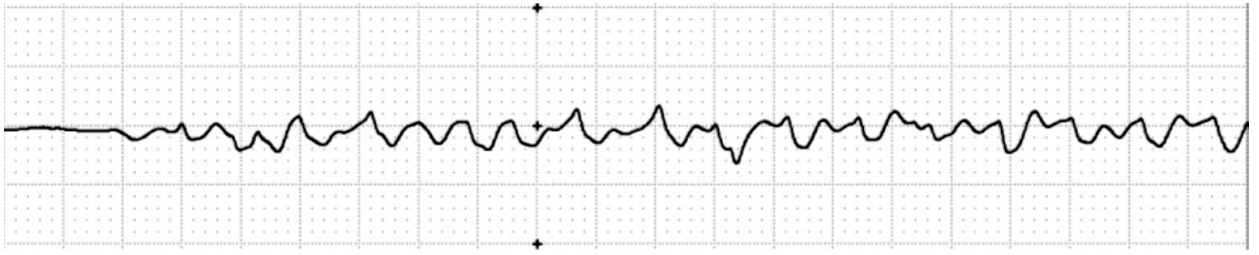


Рисунок 26. Фибрилляция желудочков у мыши контрольной группы, вызванная введением хлорида кальция, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ; ≈ 50 Гц)

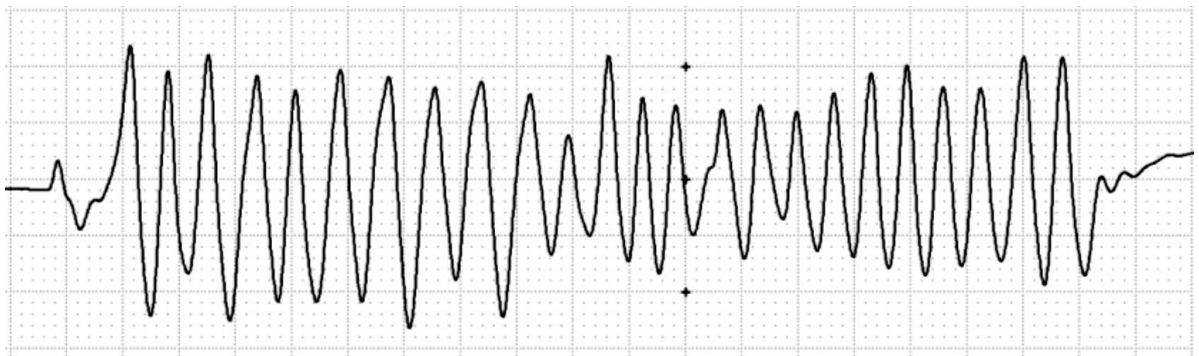


Рисунок 27. Желудочковая тахикардия, вызванная введением хлорида кальция у мыши группы №2, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ; ≈ 50 Гц)



Рисунок 28. Брадисистолия из АВ-соединения у мыши группы №2, вызванная введением хлорида кальция, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ; ≈ 50 Гц)

Строфантиновая модель аритмии

После введения строфантина разнообразные нарушения ритма развились у 5 из 10 животных контрольной группы. В большинстве случаев это были дисфункция АВ–соединения или синусового узла. Так, у 3 животных зарегистрирована АВ–блокада 3 степени (у одного из животных сочеталась с ФП), в 2 случаях отмечено угнетение синусового узла с развитием брадикардии до 70 уд/мин. Летальных исходов не зарегистрировано (табл. 9) (рис. 29, 30) (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

У крыс, получавших эмпглифлозин в дозе 1 мг/кг (группа №1), нарушения ритма отмечены только у 3 животных из 10. Это были: АВ–блокада 3 степени (1 крыса), ФП (1 крыса) и полная СА–блокада с медленным замещающим предсердным ритмом частотой 133 в мин (1 крыса). Погибли 2 животных (с АВ–блокадой 3 степени и полной СА–блокадой) (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Нарушения ритма удалось спровоцировать у 7 из 10 животных группы №2, получавших эмпглифлозин в дозе 10 мг/кг. У 2 крыс выявлена АВ–блокада 3 степени, у 2 животных–угнетение синусового узла с паузами до 0,5 с или с полной остановкой сердца, у 1 крысы–брадисистолическая ФПс ЧЖС 210 в мин, у 2 животных–ускоренные желудочковые ритмы (УЖР). Погибли в результате аритмий 4 крысы из 10 (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Статистический анализ показал, что частота возникновения аритмий по отношению к контролю не отличалась значимо у животных обеих исследуемых групп ($p=0,370$ для животных группы №1; $p=0,476$ для животных группы №2). Летальность у крыс группы №1, получавших эмпглифлозин в дозе 1 мг/кг, не отличалась от таковой у животных контрольной группы ($p>0,999$). Между тем, у крыс, получавших эмпглифлозин в дозе 10 мг/кг, отмечена тенденция к более частым, нежели в контроле, летальным исходам, хотя различия и оказались незначимыми ($p=0,087$) (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Таблица 9. Исходы моделирования аритмических событий при использовании строфантиновой модели у крыс Wistar

Исходы	Число животных с данным типом исхода		
	Контроль (n=10)	Эмпаглифлозин	
		1 мг/кг (n=10)	10 мг/кг (n=10)
Фибрилляция желудочков	–	–	–
Желудочковая тахикардия или УЖР	–	–	2
АВ блокада 3 степени (с или без ФП)	3	1	2
Бради–асистолия (без АВ–блокады)	2	1	2
Фибрилляция предсердий	1	1	1
Любая аритмия	6	3	7
Летальный исход	–	2	4

Примечания: УЖР–ускоренный желудочковый ритм, ФП–фибрилляция предсердий, АВ–блокада– атриовентрикулярная блокада.

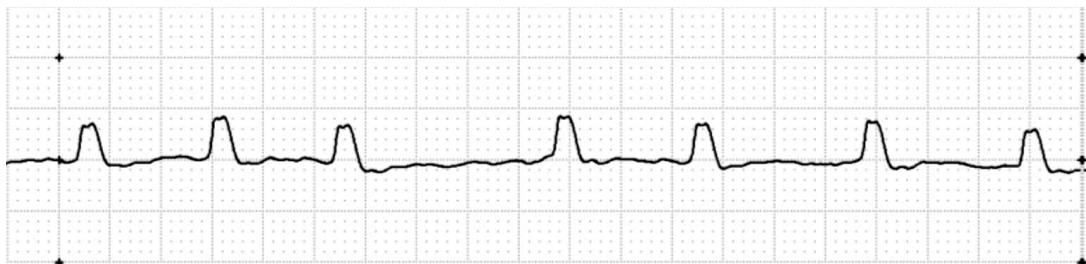


Рисунок 29. Фибрилляция предсердий у крысы группы №1, вызванная введением строфантина, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ; ≈50

Гц)

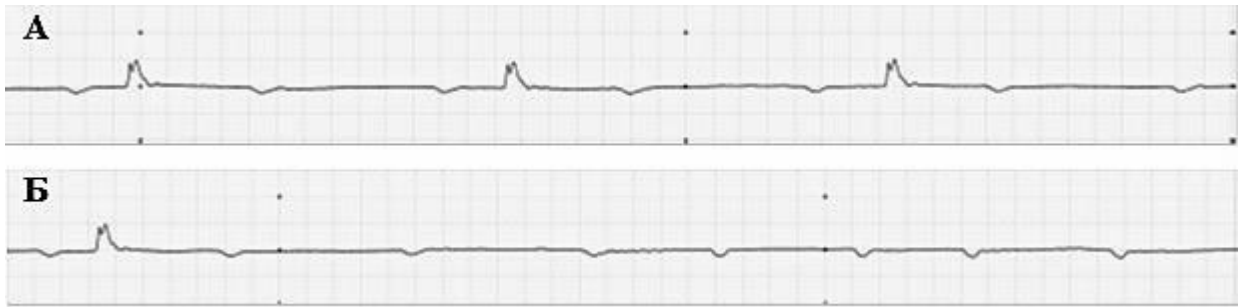


Рисунок 30. Атриовентрикулярная (АВ) блокада у животных, отведение II: А– АВ–блокада 3 степени у крысы группы №2, вызванная введением строфантина; Б–далеко зашедшая АВ–блокада с паузой более 2 с, обусловленной блокадой «выхода» желудочков (частота развертки 100 м

Адреналиновая модель аритмии

На модели аритмии, индуцированной введением адреналина, все животные контрольной группы умерли от АВ блокады 3 степени и желудочковых экстрасистол (табл. 10) (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

В первой опытной группе также у всех животных были спровоцированы нарушения ритма сердца в виде АВ блокады 3 степени, приводящее к смерти всех животных (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Во второй группе исследования нарушения ритма удалось вызвать у всех 10 животных: желудочковая тахикардия у 4 мышей, желудочковая экстрасистолия у 2 животных, АВ блокада 3 степени у 4 животных . Погибли в результате нарушений ритма 8 мышей из 10 (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Типичные примеры аритмий иллюстрированы в рисунках 31–33.

Частота провокации аритмии у мышей во всех трех группах оказалась равной 100%, при этом летальность в группе контроля и группе №1 равна 100%, а в группе №2 80%. При этом оба показателя значимо не отличалась от данных контроля (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Таким образом, превентивное введение эмпаглифлозина в дозе 10 мг/кг мышам более эффективно предотвращало индуцированные адреналином ФЖ и

смерть, однако говорить о достоверной выраженности эффекта не возможно (Краснова, М.В. [и др.], 2023).

Таблица 10. Исходы моделирования аритмических событий при использовании адреналиновой модели у мышей

Исходы	Число животных с данным типом исхода		
	Контроль (n=10)	Эмпаглифлозин	
		1 мг/кг (n=10)	10 мг/кг (n=10)
Желудочковая тахикардия	2	–	4
Желудочковая экстрасистолия	2	–	2
АВ блокада 3 степени (с или без ФП)	6	10	4
Любая аритмия	10	10	10
Летальный исход	10	10	8

Примечания: АВ–блокада– атриовентрикулярная блокада, ФП–фибрилляция предсердий.

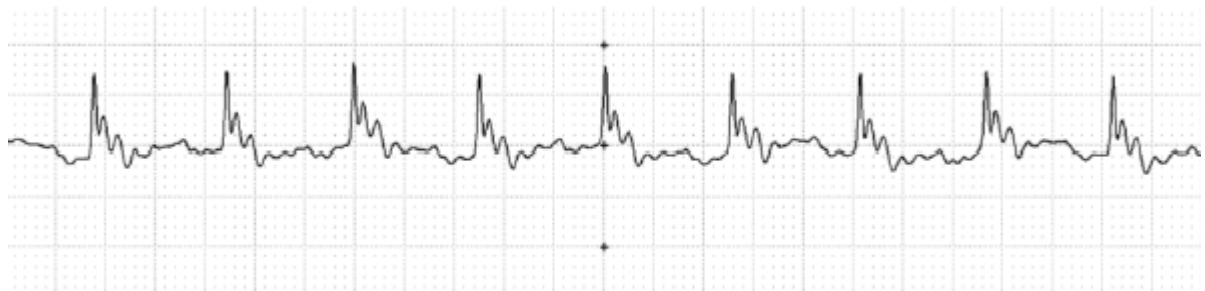


Рисунок 31. Желудочковая тахикардия, вызванная введением адреналина у мыши контрольной группы, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ)



Рисунок 32. Атриовентрикулярная (АВ) блокада 3 степени у животного группы №1, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ; ≈ 50 Гц)

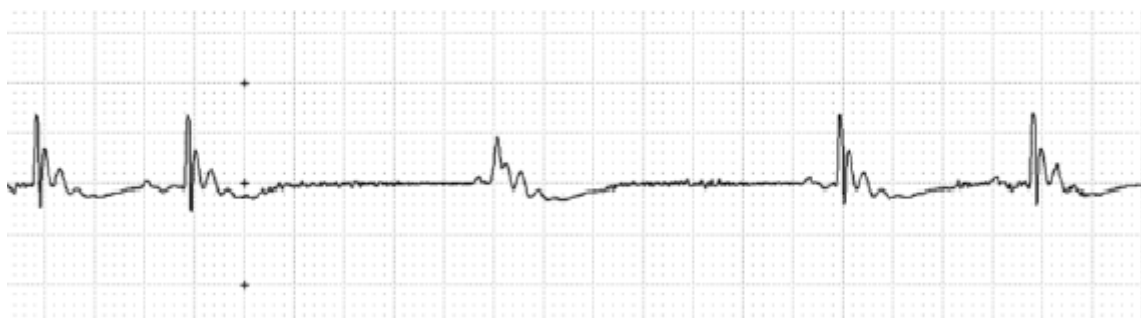


Рисунок 33. Желудочковая экстрасистолия, у мыши группы №2, отведение II (частота развертки 100 мм/с, амплитуда 10 мм/мВ)

Ранее, на желудочковых кардиомиоцитах человека и мыши было показано, что эмпаглифлозин снижает активность СаМКП и как следствие уменьшает СаМКП–зависимый выход Ca^{2+} из СР, что по мнению авторов определяет положительный эффект эмпаглифлозина при СН (Mustroph, J. [et al.], 2018). В другой работе на кардиомиоцитах, полученных из человеческих индуцированных плюрипотентных клеток было показано, что эмпаглифлозин восстанавливал динамику выбросов Ca^{2+} из СР и сократимость, нарушенные высоким уровнем глюкозы во внешней среде (Ng, К.М. [et al.], 2018). Авторами высказывается предположение, что высокая внеклеточная концентрация глюкозы, усиливая работу SGLT–2, увеличивает внутриклеточную концентрацию Na^+ , что активирует обратный режим работы NCX и усиливает вход Ca^{2+} . В обоих случаях в качестве причины патологических нарушений: гипертрофии и СН, рассматривается избыточный уровень внутриклеточного Ca^{2+} .

Следует добавить, что, по мнению некоторых исследователей, Ca^{2+} , транспортируемый в клетку через NCX, способен активировать рианодиновые

рецепторы и запускать таким образом высвобождение депонированного Ca^{2+} из СР еще до активации I_{CaL} (Han, C. [et al.], 2002). Можно предположить, что кардиопротекторный эффект эмпаглифлозина состоит в предотвращении избыточного входа Ca^{2+} . Эмпаглифлозин, блокируя NHE-1, останавливает вход Na^+ (Baartscheer, A. [et al.], 2017). Это согласуется с ранее опубликованными данными по снижению концентрации внутриклеточного Na^+ в желудочковых кардиомиоцитах мыши при действии эмпаглифлозина (Mustroph, J. [et al.], 2018). Также, в работе на желудочковых миоцитах крысы и кролика было продемонстрировано, что эмпаглифлозин подавляет эффект повышения внутриклеточных уровней Na^+ и Ca^{2+} при высокой концентрации глюкозы во внеклеточной среде (Baartscheer, A. [et al.], 2017). Трансмембранный градиент концентрации Na^+ определяет I_{NCX} , т.е. накопление внутриклеточного Na^+ обуславливает обратный режим работы NCX, вход Ca^{2+} взамен выхода Na^+ (Brini, M., Carafoli, E., 2011).

Таким образом, прекращение входа Na^+ при блокаде SGLT2 эмпаглифлозином предупреждает развитие $I_{\text{NCX-out}}$ и, следовательно, вход и накопление в клетке Ca^{2+} . Это может быть актуально у больных ХСН при эндогенном угнетении активности $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATФазы}$, лечении сердечными гликозидами, а также при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда, когда активируется также NHE-1 (Schwinger, R.H. [et al.], 1999; Li, S.Z. [et al.], 2007; Wu, F. [et al.], 2010). Многие исследователи считают блокаду реверсивного режима работы NCX перспективным направлением кардиопротекции, есть также экспериментальные данные об эффективности специфических блокаторов обратного NCX (Iwamoto, T., 2004).

Способность невысоких доз эмпаглифлозина снижать частоту аритмических событий и смертность у мышей с кальцийзависимой моделью аритмий. Между тем, при чрезмерном накоплении кальция в цитоплазме кардиомиоцитов отсутствуют условия для активации обратного режима работы NCX, и, следовательно, не этот механизм отвечает за антиаритмическое действие эмпаглифлозина (Краснова, М.В. [и др.], 2023). Есть основания предполагать, что

избыток кальция в цитозоле может поглощаться СР, т.к. в предыдущем нашем исследовании была показана способность эмпаглифлозина повышать активность SERCA2a у крыс на модели ОИМ (Goerg, J. [et al.], 2021). Кроме того, антиаритмическое действие iSGLT2 может реализовываться через блокаду позднего натриевого тока или опосредованно через улучшение энергетики миокарда (Philippaert, K. [et al.], 2021; Azam, M.A. [et al.], 2021; Lahnwong, S. [et al.], 2020).

Данные других исследователей подтверждают гипотезу о антиаритмическом действии iSGLT2. Так, Lahnwong S. et al. показали способность дапаглифлозина снижать риск возникновения аритмий при моделировании И/Р у крыс, авторы получили доказательства того, что действие препарата реализуется через уменьшение выраженности апоптоза кардиомиоцитов и улучшение энергетики миокарда за счет ослабления митохондриальной дисфункции (Lahnwong, S. [et al.], 2020). Метаанализ 22 КИ iSGLT2 у СД2, осложненным ХБП или ХСН, проведенный Li H. Et al., показал, что назначение этих лекарств ассоциировано со значимым снижением риска ФП и желудочковой тахикардии (Li, S.Z. [et al.], 2007).

В таблице 1 были представлены данные о возможном влиянии эмпаглифлозина на регулирование уровня Ca^{2+} .

Выявление возможного механизма реализации феномена снижения сердечно-сосудистой смертности эмпаглифлозином

Несмотря на то, что экспрессия SGLT2 в сердце отсутствует (Chen, J. [et al.], 2010; Vrhovac, I. [et al.], 2014; Zhou, L. [et al.], 2003), iSGLT2, по-видимому, оказывают иное кардио-специфическое влияние на патофизиологические молекулярные механизмы в клетке. Одной из мишеней эмпаглифлозина в кардиомиоцитах был предложен NHE-1 (Baartscheer, A. [et al.], 2016; Chung, Y.J. [et al.], 2020; Lee, T.I. [et al.], 2019; Trum, M. [et al.], 2020; Uthman, L. [et al.], 2017; Uthman, L. [et al.], 2019). Следующим объектом для iSGLT2 можно считать поздний ток Na^+ (Hegyí, B. [et al.], 2022; Hegyí, B. [et al.], 2022; Lee, T.I. [et al.],

2019; Philippaert, K. [et al.], 2021). Другим важным механизмом, который может быть клинически полезным, является обращение с Ca^{2+} (Hegyı, B. [et al.], 2023). Внутриклеточный Ca^{2+} является критическим инициатором сократительного цикла в кардиомиоцитах (Szedlak, P. [et al.], 2023). Следовательно, правильная регуляция динамики Ca^{2+} значима для нормальной работы сердца.

Оценка острого эффекта эмпаглифлозина на пиковую плотность тока кальция

При оценке влияния эмпаглифлозина на трансмембранные токи Ca^{2+} методом patch-clamp было выявлено, что плотность тока I_{Ca} (амплитуда пикового тока, нормализованная к емкости клеток) в желудочковых кардиомиоцитах мышей db/db (группа №3) была снижена по сравнению с таковой в желудочковых кардиомиоцитах контрольных мышей (группа №1) (рис. 34А,Б, рис. 35, табл. 11). Двух часовая инкубация с 5 мкмоль/л эмпаглифлозина значительно увеличивала плотность тока I_{Ca} как в желудочковых кардиомиоцитах аутбрендных мышей с нормогликемией (группа №2), так и у животных с гипергликемией (группа №4) (рис. 34А,Б, рис. 35). Однако следует отметить, что повышенная плотность тока в этих двух случаях имела разные абсолютные значения. Значения I_{Ca} в группе №4 близки к значениям группы №1, в то время как в группе №2 I_{Ca} еще выше. Этот результат указывает на то, что эмпаглифлозин способен усиливать канальную активность Ca^{2+} .

Таблица 11. Пиковая плотность тока I_{Ca} при 0 мВ, пА/пФ

Показатель/ Группа	Группа №1	Группа №2	Группа №3	Группа №4
Пиковая плотность тока I_{Ca} при 0 мВ	13.1 ± 1.5	18.0 ± 1.4	7.4 ± 0.5	13.1 ± 1.0

Примечание: Группа №1 – контрольные желудочковые кардиомиоциты (нормогликемия); Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (нормогликемия); Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты (гипергликемия); Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (гипергликемия).

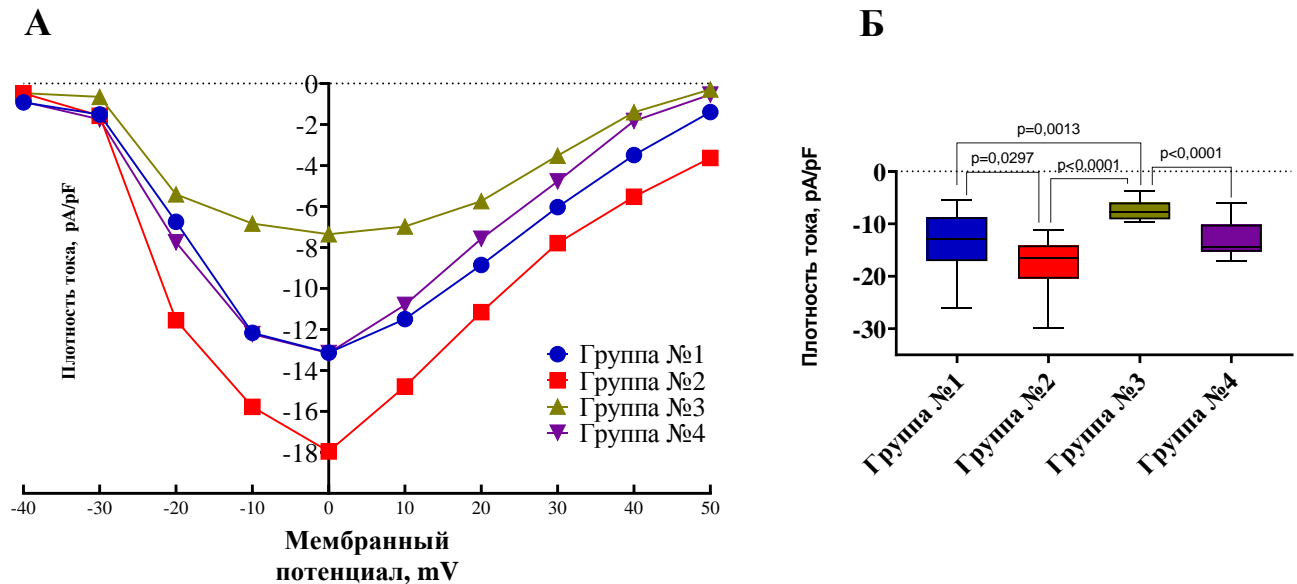


Рисунок 34. А – зависимость плотности тока Ca^{2+} от напряжения в изолированных желудочках кардиомиоцитов; Б – пиковая плотность тока Ca^{2+} при напряжении 0 мВ. Примечание: Группа №1 – контрольные желудочковые кардиомиоциты (нормогликемия); Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (нормогликемия); Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты (гипергликемия); Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (гипергликемия)

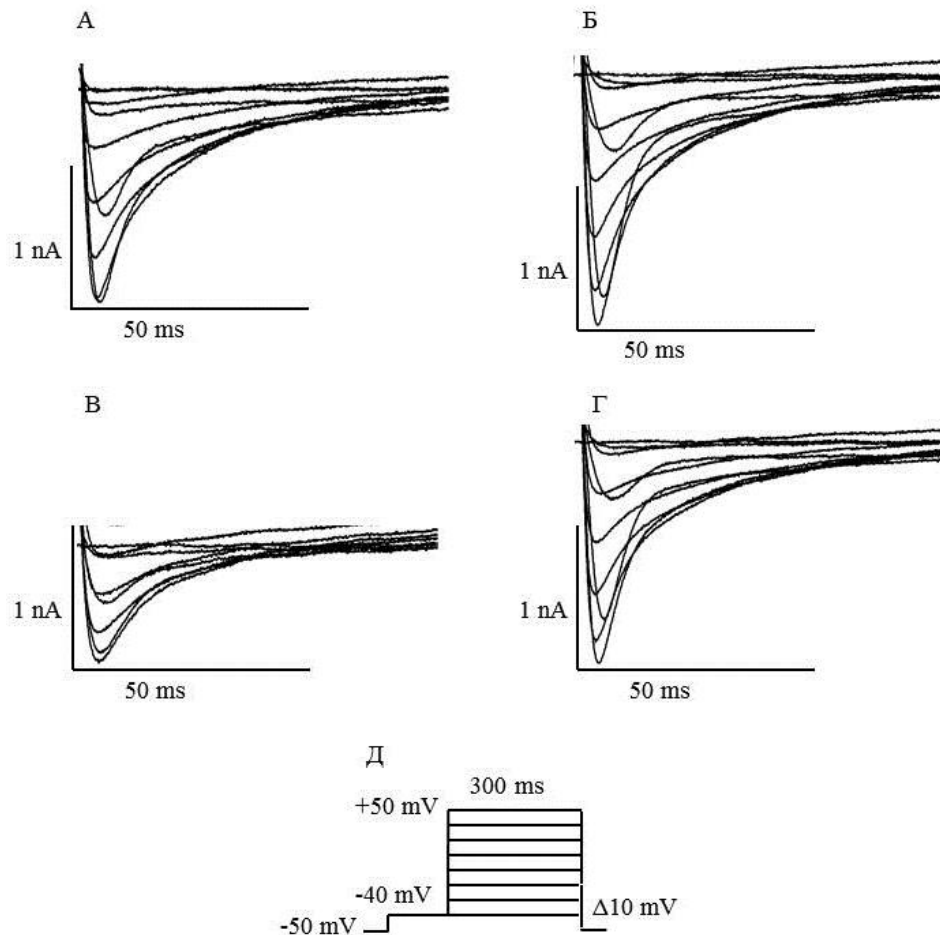


Рисунок 35. А – Репрезентативные записи суммарного тока Ca^{2+} в контрольных желудочковых кардиомиоцитах при нормогликемии (группа №1); Б – Репрезентативные записи суммарного тока Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах, обработанных эмпаглифлозином, при нормогликемии (группа №2); В – Репрезентативные записи суммарного тока Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах при гипергликемии (группа №3); Г – Репрезентативные записи суммарного тока Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах, обработанных эмпаглифлозином, при гипергликемии (группа №4); Д – Протокол подачи тестирующих стимулов.

Оценка острых эффектов эмпаглифлозина на трансмембранный ток кальция

Проводилась оценка параметров внутриклеточных переходных процессов Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах мышей. Было обнаружено, что амплитуда волны Ca^{2+} и интенсивность её подъема в желудочковых кардиомиоцитах мышей с гипергликемией группы №3 не отличались от таковых в кардиомиоцитах

животных группы №1 (рис. 35 А, Б). Однако интенсивность распада волны Ca^{2+} в кардиомиоцитах мышей db/db (группы №3) была увеличена, а продолжительность волны была сокращена по сравнению с таковой в клетках мышей группы №1 (рис. 35 В-Е).

Двухчасовая инкубации с 5 мкмоль/л эмпаглифлозина значительно ускорили временную динамику волны Ca^{2+} в желудочковых кардиомиоцитах аутбредных мышей (группа №2). Амплитуда волны Ca^{2+} и интенсивность её подъема и распада были увеличены, а продолжительность волны была сокращена (рис. 36, рис. 37, табл. 12). Однако в желудочковых кардиомиоцитах мышей db/db (группа №4) параметры волны Ca^{2+} имели противоположную картину изменений. Амплитуда волны Ca^{2+} и интенсивность подъема и распада были значительно снижены, но продолжительность волны существенно не изменилась после инкубации с эмпаглифлозином (рис. 36, рис. 37, табл. 12).

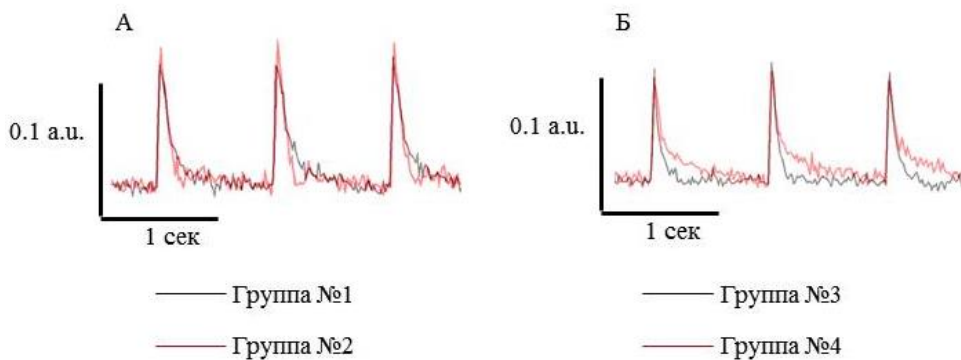


Рисунок 36. Репрезентативное изображение Ca^{2+} волн: А – Группа №1 и Группа №2, Б – Группа №3 и Группа №4. Примечание: Группа №1 – контрольные желудочковые кардиомиоциты (нормогликемия); Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (нормогликемия); Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты (гипергликемия); Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (гипергликемия)

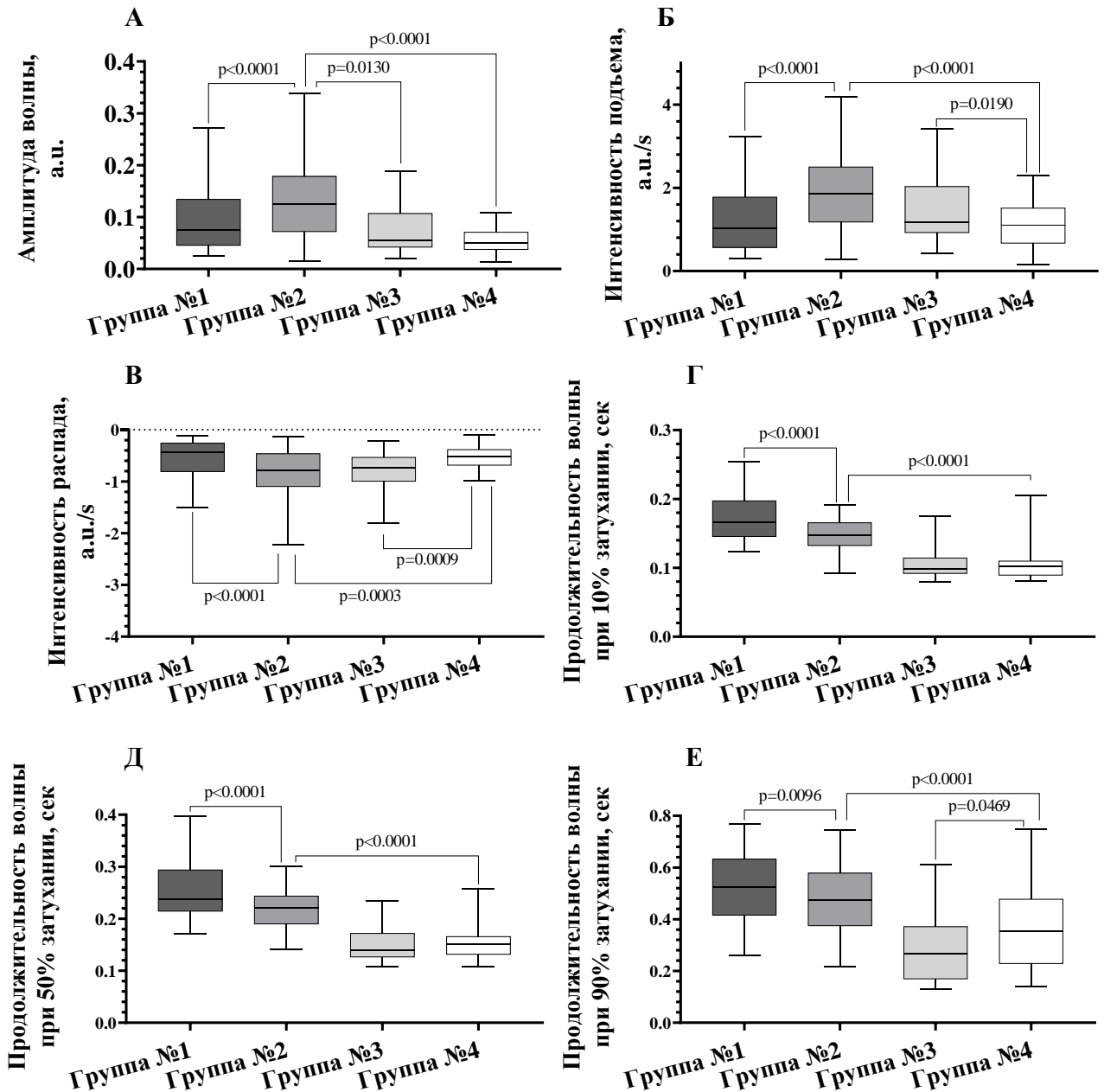


Рисунок 37. Острый эффект эмпаглифлозина на динамику кальциевых волн. А – Амплитуда Ca^{2+} волны; Б – Интенсивность подъема; В – Скорость распада Ca^{2+} волны; Г – Длительность Ca^{2+} волны при 10% затухании; Д – Длительность Ca^{2+} волны при 50% затухании; Е – Длительность Ca^{2+} волны при 90% затухании.

Примечание: Группа №1 – контрольные желудочковые кардиомиоциты (нормогликемия); Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (нормогликемия); Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты (гипергликемия); Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (гипергликемия)

Таблица 12. Параметры внутриклеточных Ca^{2+} переходных процессов

Параметр/Группа	Группа №1	Группа №2	Группа №3	Группа №4
Амплитуда Ca^{2+} волны	$0,096 \pm 0,005$	$0,134 \pm 0,007$	$0,078 \pm 0,008$	$0,055 \pm 0,004$
Интенсивность подъема	$1,232 \pm 0,072$	$1,875 \pm 0,095$	$1,519 \pm 0,141$	$1,126 \pm 0,085$
Скорость распада	$0,555 \pm 0,033$	$0,847 \pm 0,047$	$0,777 \pm 0,065$	$0,527 \pm 0,033$
Длительность Ca^{2+} волны при 10% затухании	$0,173 \pm 0,003$	$0,148 \pm 0,002$	$0,104 \pm 0,003$	$0,106 \pm 0,004$
Длительность Ca^{2+} волны при 50% затухании	$0,256 \pm 0,005$	$0,218 \pm 0,004$	$0,149 \pm 0,005$	$0,154 \pm 0,006$
Длительность Ca^{2+} волны при 90% затухании	$0,519 \pm 0,013$	$0,473 \pm 0,012$	$0,292 \pm 0,024$	$0,361 \pm 0,025$

Примечание: Группа №1 – контрольные желудочковые кардиомиоциты (нормогликемия); Группа №2 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (нормогликемия); Группа №3 – желудочковые кардиомиоциты (гипергликемия); Группа №4 – желудочковые кардиомиоциты, обработанные эмпаглифлозином (гипергликемия).

Данные эксперимента согласуются с данными исследования Карпушева А.В. и соавт., которое показало, что 24 часа воздействия эмпаглифлозина значительно увеличили амплитуду и сократили время восстановления переходных процессов Ca^{2+} (Karpushev, A.V. [et al.], 2022).

Кроме того, результаты работы являются аналогичными экспериментам, где эмпаглифлозин нормализовал нарушенную кинетику переходных процессов Ca^{2+} и восстанавливал пониженную плотность тока I_{Ca} в желудочковых

кардиомиоцитах у животных в модели сахарного диабета и диабетической кардиомиопатии (Lee, T.I. [et al.], 2019; Kadosaka, T. [et al.], 2023). Тем не менее, Pabel S. и его коллеги не смогли наблюдать подобные эффекты эмпаглифлозина на временную амплитуду и кинетику Ca^{2+} , диастолические уровни Ca^{2+} и саркоплазматическую нагрузку Ca^{2+} в кардиомиоцитах человека, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток после хронического лечения препаратом (Pabel, S. [et al.], 2020). Также следует отметить, что другой представитель класса iSGLT2 дапаглифлозин, снижает амплитуду переходных процессов Ca^{2+} и I_{Ca} в кардиомиоцитах желудочков крысы (Hamouda, N. N. [et al.], 2015).

Считается, что эффективность лечения iSGLT2 при сердечно-сосудистых патологиях с точки зрения влияния на Ca^{2+} включают предотвращение внутриклеточной перегрузки Ca^{2+} (Jing, Y. [et al.], 2022). Предполагается, что это происходит в результате ингибирования фосфорилирования рианодинового рецептора 2 (RyR2), которое предотвращает утечку Ca^{2+} , и от повышенного обратного захвата Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум из-за улучшенного функционирования Ca^{2+} – АТФазы саркоплазматического/эндоплазматического ретикулума изоформы 2a (SERCA2a) (Hammoudi, N. [et al.], 2017; Kadosaka, T. [et al.], 2023; Lee, T.I. [et al.], 2019). Последнее объясняет уменьшение времени распада переходных процессов Ca^{2+} .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе получены результаты, демонстрирующие эффективность применения эмпаглифлозина непосредственно после моделирования острого ИМ, при ХСН и некоторых жизнеугрожающих аритмиях. Результаты проведенной работы подтверждают способность iSGLT2 эмпаглифлозина положительно влиять на функциональные характеристики сердца животных с ХСН в условиях нормогликемии.

При применении эмпаглифлозина у животных сразу после моделирования ИМ наблюдалось восстановление систолической функции ЛЖ, достигая статистически достоверного отличия значений ФВ(Т) и ФУ ЛЖ к 30 дню исследования. Полученные данные сопоставимы с результатами эксперимента Liu Y. и соавт., в котором после двух недель лечения эмпаглифлозином животных с перенесенным ИМ происходило восстановление показателей ФВ(Т) и ФУ ЛЖ (Liu, Y. [et al.], 2021). При анализе гистологической картины изменения кардиомиоцитов выявлено, что в группе животных, получавших лечение эмпаглифлозином, наблюдалось снижение выраженности фиброза миокарда. В экспериментальных работах эмпаглифлозин также способствовал уменьшению размера инфаркта и снижению фиброза миокарда после перенесенного ИМ (Daud, E. [et al.], 2021; Liu, Y. [et al.], 2021). Значение показателя HIF-1 α в группе, получавшей лечение эмпаглифлозином, было выше контрольной группой на протяжении всего исследования. Это может говорить о том, что эмпаглифлозин повышает устойчивость миокарда к воздействию гипоксии посредством увеличения количества HIF-1 α , с последующим восстановлением доставки кислорода к тканям, предотвращением гибели клеток миокарда, приводящей к развитию некротических очагов и фиброза (Wang, G.L. [et al.], 1995). Уровень SDHA в группе терапии эмпаглифлозином также был выше на протяжении всего эксперимента, с наибольшим его возрастанием на 10 сутки после моделирования ИМ. Учитывая множественные данные, указывающие на корреляцию между уровнем SDHA и сердечной дисфункцией активация SDHA на фоне терапии эмпаглифлозином при гипоксии является экстренной компенсаторной реакцией,

направленной на ингибирование процессов оксидативного стресса, восстановление работы дыхательной цепи переноса электронов и биоэнергетики в кардиомиоцитах после ИМ (Ding, F. [et al.], 2022; Grune, J. [et al.], 2022; Zhang, Y. [et al.], 2019).

Применение эмпаглифлозина у нормогликемических крыс с экспериментальной ХСН на протяжении 3-х месяцев приводит к замедлению прогрессирования дисфункции ЛЖ (в сравнении с крысами, не получающими лечения). Улучшение сердечной функции у животных с ХСН подтверждается как экспериментальными работами, так и результатами РКИ (Oh, С.М. [et al.], 2019; Wang, Z. [et al.], 2024; Zinman, В. [et al.], 2015; Kato, Е.Т. [et al.], 2019; Docherty, К.Ф. [et al.], 2020). При сравнении с другими базисными средствами лечения ХСН эмпаглифлозин по влиянию на ремоделирование сердца уступил фозиноприлу, но при этом значительно превосходил остальные препараты сравнения.

Оценка толерантности к физической нагрузке, как одного из маркеров для прогнозирования тяжести протекания ХСН, показала, что выносливость у животных с ПИ ХСН, получавших на протяжении трех месяцев лечение эмпаглифлозином, превосходила показатели животных, получавших фозиноприл, бисопролол), спиронолактон, а также животных с ХСН без лечения, что согласуется с данными систематического анализа Peng Y. и соавт., согласно которому iSGLT2 значительно увеличивает пиковое потребление кислорода у пациентов с ХСН (Peng, Y. [et al.], 2023).

Эмпаглифлозин продемонстрировал свой антиаритмический потенциал при введении животным хлорида кальция, увеличивая выживаемость животных и снижая частоту возникновения аритмических событий. В строфантиновой модели аритмии и в случае индуцирования аритмии путем введения адреналина выраженного позитивного влияния эмпаглифлозина на предотвращение развития аритмий не наблюдалось. Во всех трех видах аритмий увеличение дозы эмпаглифлозина до 10 мг/кг не способствовало росту его эффективности. Защитные преимущества препарата были продемонстрированы в перфузируемых сердцах *ex vivo* и изолированных кардиомиоцитах, так и в работах по анализу

изменения ЭКГ под влиянием препарата при различных патологиях (Cowie, M.R. [et al.], 2021; Hegyi, B. [et al.], 2022; Özgür Barış, V. [et al.], 2021).

Оценка влияние эмпаглифлозина на трансмембранные токи Ca^{2+} и переходные процессы Ca^{2+} на изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей позволяет предположить, что усиленная и ускоренная внутриклеточная динамика Ca^{2+} может отражать способность препарата оптимизировать силу и время сократительного цикла сердца . Считается, что эффективность лечения iSGLT2 при сердечно-сосудистых патологиях с точки зрения влияния на Ca^{2+} включают предотвращение внутриклеточной перегрузки Ca^{2+} (Jing, Y. [et al.], 2022). Предполагается, что это происходит в результате ингибирования фосфорилирования рианодинового рецептора 2 (RyR2), которое предотвращает утечку Ca^{2+} , и от повышенного обратного захвата Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум из-за улучшенного функционирования Ca^{2+} - АТФазы саркоплазматического/эндоплазматического ретикулума изоформы 2a (SERCA2a) (Hammoudi, N. [et al.], 2017; Kadosaka, T. [et al.], 2023; Lee, T.I. [et al.], 2019). Последнее объясняет уменьшение времени распада переходных процессов Ca^{2+} .

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали, что применение эмпаглифлозина при ряде патологий сердечно-сосудистого континуума может превышать по выраженности благоприятного эффекта средства традиционной базисной терапии.

ВЫВОДЫ

1. Улучшение систолической функции ЛЖ у животных с ОИМ, получавших лечение эмпаглифлозином, выражалось в устойчивом возрастании ФУ (в 1,5 раза, $p=0,0476$) и ФВ (в 1,4 раза, $p=0,0476$) ЛЖ к 30 суткам эксперимента. Гистологические изменения свидетельствуют о более раннем снижении воспаления (к 10 дню) и образовании соединительной ткани (к 20 дню) под действием испытуемого препарата. Изменения уровней SDHA на 10 сутки в 2,3 раза ($p<0,05$) и на 30 сутки в 2,4 раза ($p<0,05$) и HIF-1 α на 20 сутки в 1,7 раза ($p<0,05$) свидетельствуют о реализации кардиопротекторного действия эмпаглифлозина путем запуска процессов долговременной адаптации к гипоксии;
2. Под воздействием эмпаглифлозина в модели ПИ ХСН наблюдалась 100 % выживаемость на протяжении всего эксперимента, сопоставимая с группой ложнооперированных животных. На фоне трехмесячного применения эмпаглифлозина не происходило снижение ФВ(Т) и ФУ ($43,43 \pm 18,11$ % и $18,43 \pm 11,00$ %, соответственно), в отличие от групп патологии без лечения ($37,90 \pm 13,11$ % и $16,30 \pm 6,81$ %) или терапии бисопрололом ($32,61 \pm 8,63$ % и $13,52 \pm 4,07$ %).
3. Хроническое введение эмпаглифлозина на протяжении трех месяцев у животных с ПИ ХСН способствовало более выраженному увеличению толерантности к физической нагрузке (289 ± 27 с), чем у животных, получавших фозиноприл (183 ± 61 с, $p<0,05$), бисопролол (197 ± 95 с, $p<0,05$) и спиронолактон (147 ± 46 с, $p<0,05$), а также животных с ХСН без лечения (180 ± 53 с, $p<0,05$);
4. Реализованный антиаритмический потенциал эмпаглифлозином в дозе 1 мг/кг на модели хлоридкальциевой аритмии позволил снизить риск развития аритмий ($\varphi_3=1,76$, $p<0,05$) и летальности ($\varphi_3=2,79$, $p<0,01$) животных по сравнению с контрольной группой, в отличие от строфантиновой и адреналиновой моделей аритмий. Эскалация дозы до 10 мг/кг приводила к аритмогенным эффектам и увеличивала летальность. Введение эмпаглифлозина мышам с нормогликемией увеличивало пиковую плотность на 37,4 % ($p=0,0297$), а диабетическим мышам – на 77,0 % ($p<0,0001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С учетом полученных данных целесообразно продолжить изучение антиаритмической эффективности эмпаглифлозина, а именно влияния на предотвращение возникновения жизнеугрожающих аритмий у пациентов с ПИ ХСН, и выявление механизма, за счет которого реализуется данный эффект.

2. Представляется целесообразной оценка эффективности комбинированных схем терапий iSGLT2 с традиционными средствами базовой терапии: БАБ и препаратами, влияющими на РААС в различных комбинациях, а также оценка возможных лекарственных взаимодействий между iSGLT2 и представителями препаратов данных классов.

3. Перспективным является дальнейшее изучение возможности применения эмпаглифлозина в качестве средства, улучшающего толерантность к физической нагрузке у пациентов с ХСН.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- АВ–блокада — атриовентрикулярная блокада
- АГ — артериальная гипертензия
- АД — артериальное давление
- АТФ — аденозинтрифосфат
- АФК — активная форма кислорода
- БАБ — бета–1–адреноблокаторы
- ВСС — внезапная сердечная смерть
- ДИ — доверительный интервал
- ЖА — желудочковые аритмии
- ЗСд — толщина задней стенки левого желудочка в диастолу
- И/Р — ишемия/реперфузия
- иАПФ — ингибитор ангиотензинпревращающего фермента
- ИБС — ишемическая болезнь сердца
- ИВЛ — искусственная вентиляция легких
- ИМ — инфаркт миокарда
- КДО — конечно–диастолический объем
- КДР — конечно–диастолический размер
- КИ — клинические исследования
- КСО — конечно–систолический объем
- КСР — конечно–систолический размер
- ЛЖ — левый желудочек
- ЛП — левое предсердие
- ЛПд — предсердие по длинной оси
- ЛПк — левое предсердие по короткой оси
- ЛПНП — липопротеины низкой плотности
- ЛПпз — передне–задняя проекция левого предсердия
- МЖПд — толщина межжелудочковой перегородки
- МО — минутный объем
- мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота

НАДН — никотинамидадениндинуклеотид
ОИМ — острый инфаркт миокарда
ПИ ХСН — постинфарктная хроническая сердечная недостаточность
ПЖ — правый желудочек
ППд — правое предсердие по длинной оси
ППк — правое предсердие по короткой оси
РААС — ренин–ангиотензин–альдостероновая система
РКИ — рандомизированное клиническое исследование
САД — систолическое артериальное давление
СВ — сердечный выброс
СД2 — сахарный диабет 2 типа
СН — сердечная недостаточность
СР — саркоплазматический ретикулум
ССЗ — сердечно–сосудистые заболевания
ССС — сердечно–сосудистые события
УЖР — ускоренный желудочковый ритм
УО — ударный объем
ФВ — фракция выброса
ФВ(С) — фракция выброса левого желудочка по Симпсону
ФВ(Т) — фракция выброса левого желудочка по Тейхольцу
ФП — фибриляция предсердий
ФУ — фракция укорочения
ХБП — хроническая болезнь почек
ХСН — хроническая сердечная недостаточность
ХСНнФВ — СН со сниженной ФВ ЛЖ
ХСНсФВ — СН с сохранной ФВ ЛЖ
ХСНунФВ — СН с умеренно сниженной ФВ ЛЖ
ЧЖС — частота желудочковых сокращений
ЧСС — частота сердечных сокращений
ЭКГ — электрокардиография

- ЭТЦ — дыхательная цепь переноса электронов
- ЭхоКГ — эхокардиографическое исследование
- АМРК — 5'АМФ-активируемая протеинкиназа
- САС — цикл лимонной кислоты
- CaMKII — Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа II
- ЕМА — Европейское агенство лекарственных средств
- FDA — комитет Управления по контролю за продуктами и лекарствами
- HbA1c — гликированный гемоглобин
- HIF — фактор, индуцируемый гипоксией
- HIF-1 α — фактор, индуцируемый гипоксией-1 α
- hs-CRP — высокочувствительный С-реактивный белок
- IC₅₀ — концентрация полумаксимального ингибирования
- IgG — иммуноглоблин G
- I_{NAL} — поздний ток Na⁺
- iNOS — индуцируемая NO-синтаза
- iSGLT1 — ингибитор натрий-глюкозного котранспортера 1 типа
- iSGLT2 — ингибитор натрий-глюкозного котранспортера 2 типа
- MAPSE — величина систолической экскурсии плоскости кольца митрального клапана
- NCX — натрий-кальциевый ионнообменник
- NHE-1 — натрий-водородный ионнообменник 1 изоформы
- NO — оксид азота
- NT-proBNP — мозговой натрийуретический гормон
- OXPPOS — окислительное фосфорилирование
- RyR2 — рианодиновый рецептор 2
- SAR — анализ зависимости структура-активность
- SDH — сукцинатдегидрогеназа
- SDHA — сукцинатдегидрогеназный комплекс, субъединица A
- SERCA2a — Ca^{2+} -АТФаза саркоплазматического/эндоплазматического ретикулума изоформа 2a

SIRT1 — сиртуин 1

TAPSE — величина систолической экскурсии плоскости кольца трикуспидального клапана

VEGF-A — фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойцов С.А. Хроническая сердечная недостаточность: эволюция этиологии, распространенности и смертности за последние 20 лет.// Терапевтический архив. — 2022. — Т. 94. — № 1. — С. 5–8.
2. Браунвальд Е. Болезни сердца по Браунвальду Т.1: руководство по сердечно–сосудистой медицине. — Издательство Логосфера (Изд.), 2011.–гл.36. — С. 1046–1047.
3. Драпкина О.М. Смертность от артериальной гипертензии: необходимость исследований причин региональных различий/ Драпкина О.М., Самородская И.В.// Профилактическая медицина. — 2021. — Т. 24. — № 6. — С. 79–84.
4. Ивкин Д.Ю. Об эффективности эмпаглифлозина в терапии экспериментального инфаркта миокарда/ Ивкин Д.Ю., Краснова М.В., Оковитый С.В. [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2023. — Т. 12. — № 4.— С. 136–145.
5. Казаченко А.А. Сравнительная характеристика некоторых фармакологических моделей хронической сердечной недостаточности/ Казаченко А.А., Оковитый С.В., Куликов А.Н. [и др.]// Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2008. — Т. 71. — № 6. — С. 16–19.
6. Карпов А. А. Моделирование постинфарктной сердечной недостаточности путем окклюзии левой коронарной артерии у крыс: техника и методы морфофункциональной оценки/ Карпов А. А., Ивкин Д. Ю., Драчева А. В. [и др.]// Биомедицина. — 2014. — Т. 3. — № 3. — С. 32–48.
7. Клинические рекомендации: хроническая сердечная недостаточность/ ред. совет: под редакцией Терещенко С.Н., Галявич А.С., и др. – Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2020.–155 с.
8. Колоскова Н.Н. Определение пикового потребления кислорода: физиологические основы и области применения/ Колоскова Н.Н., Шаталов К.В., Бокерия Л.А. // Креативная кардиология. — 2014. — V. 8. — P. 48–57.

9. Краснова М.В., Ивкин Д.Ю., Оковитый С.В. Оценка эффективности фармакопревенции эмпаглифлозином экспериментальной постинфарктной ХСН// Сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации». — Санкт-Петербург. — 2019. — С. 29–32

10. Краснова М.В. Предупреждение возникновения желудочковых аритмий при применении ингибитора SGLT2 эмпаглифлозина/ Краснова М.В., Ивкин Д.Ю., Оковитый С.В.// Материалы международного молодежного форума, посвященного 85-летию стгму «Неделя науки – 2023». — Ставрополь, 2023. — С. 274–275.

11. Краснова М.В. Сравнительная эффективность эмпаглифлозина и препаратов базовой терапии при постинфарктной хронической сердечной недостаточности у нормогликемических крыс/ Краснова М.В., Ивкин Д.Ю., Оковитый С.В.// В сборнике: Инновации в здоровье нации. Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. — Санкт-Петербург, 2018. — С. 182-186.

12. Краснова М.В. Сравнительная эффективность эмпаглифлозина и препаратов базовой терапии при постинфарктной хронической сердечной недостаточности у нормогликемических крыс/ Краснова М.В., Ивкин Д.Ю., Карпов А.А. // Трансляционная медицина. — 2018. — №3. — С. 201. Краснова М.В. Сравнительная эффективность эмпаглифлозина и препаратов базовой терапии при постинфарктной хронической сердечной недостаточности у нормогликемических крыс/ Краснова М.В., Оковитый С.В., Куликов А.Н. [и др.]// Трансляционная медицина. — 2020. — приложение №2 — С. 143.

13. Куликов А.Н. Эффективность эмпаглифлозина при экспериментальной хронической сердечной недостаточности в условиях нормогликемии/ Куликов А.Н., Краснова М.В., Ивкин Д.Ю. [и др.]// Кардиология: новости, мнения, обучение. — 2021. — Т. 9. — № 1. — С. 9–16.

14. Куликов А.Н. Эффекты эмпаглифлозина при экспериментальной модели хронической сердечной недостаточности у крыс с нормогликемией/

Куликов А.Н., Оковитый С.В., Ивкин Д.Ю., [и др.]// Журнал Сердечная Недостаточность. — 2016. — Т. 17. — № 6. — С. 454–460.

15. Поляков Д.С. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА–ХСН/ Поляков Д.С., Фомин И.В., Беленков Ю.Н. [и др.]// Кардиология. — 2021. — Т. 61. — № 4. — С. 4–14.

16. Поляков Д.С. ЭПОХА-Д-ХСН: гендерные различия в прогнозе жизни больных ХСН при острой декомпенсации сердечной недостаточности (часть 2)/ Поляков Д.С., Фомин И.В., Вайсберг А.Р.// Кардиология. — 2019. — Т. 59. — № 4S. — С. 33-43.

17. Ситникова М.Ю. Результаты 3 лет работы Российского госпитального регистра хронической сердечной недостаточности (RUSSIAN hoSPital Heart Failure Registry–RUS–HFR): взаимосвязь менеджмента и исходов у больных хронической сердечной недостаточностью/ Ситникова М.Ю., Лясникова Е.А., Юрченко А.В. [и др.]// Кардиология. — 2018. — Т. 58. — № 10S. — С. 9–19.

18. Фомин И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что сегодня мы знаем и что должны делать// Российский кардиологический журнал. — 2016. — Т. 8. — С. 7-13.

19. Фомин И.В. Эпидемиология хронической сердечной недостаточности в Российской Федерации. В кн.: Хроническая сердечная недостаточность/ Фомин И. В., Агеев Ф. Т. [и др.]// М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. — С. 7–77.

20. Шальнова С.А. Инфаркт миокарда в популяции некоторых регионов России и его прогностическое значение/ Шальнова С.А. Драпкина О.М., Куценко В.А., [и др.]// Российский кардиологический журнал. — 2022. — № 27(6). — С. 4952.

21. Шестакова М.В. Исследование DECLARE–TIMI 58 в контексте EMPA–REG OUTCOME и CANVAS// Сахарный диабет. — 2019. — Т. 22. — № 6. — С. 592–601.

22. A Study of the Effects of Canagliflozin (JNJ–28431754) on Renal Endpoints in Adult Participants With Type 2 Diabetes Mellitus (CANVAS–R)//

[Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01989754> (дата обращения 11.12.2023).

23. Abdellatif M. NAD(+) metabolism in cardiac health, aging, and disease/ Abdellatif M., Sedej S., Kroemer G.// *Circulation*. — 2021. — V. 144. — №. 22. — P. 1795–1817.

24. Aistrup G. L., Balke C. W., Wasserstrom J. A. Arrhythmia triggers in heart failure: the smoking gun of $[Ca^{2+}]_i$ dysregulation//*Heart Rhythm*.—2011.—Т. 8.—№. 11.—С. 1804–1808.

25. Al-Gobari M. Effectiveness of drug interventions to prevent sudden cardiac death in patients with heart failure and reduced ejection fraction: an overview of systematic reviews/ Al-Gobari M., Al-Aqeel S., Gueyffier F. et al.//*BMJ open*. — 2018. — V. 8. — №. 7. — P. e021108.

26. Alkabbani W. Profile of ipragliflozin, an oral SGLT2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes: the evidence to date/ Alkabbani W., Gamble J.M.//*Drug Design, Development and Therapy*. — 2021. — P. 3057–3069.

27. Althobaiti F.M. Efficacy and Safety of Empagliflozin in Type 2 Diabetes Mellitus Saudi Patients as Add-On to Antidiabetic Therapy: A Prospective, Open-Label, Observational Study/ Althobaiti F.M., Alsanosi S.M., Falemban A.H., [et al.]// *Journal of Clinical Medicine*. — 2022. — V. 11. — №. 16. — P. 4769.

28. Andreadou I., Empagliflozin Limits Myocardial Infarction in Vivo and Cell Death in Vitro: Role of STAT3, Mitochondria, and Redox Aspects/ Andreadou I., Efentakis P., Balafas E., [et al.]// *Frontiers in Physiology*. — 2017. — V. 8. — P. 1077.

29. Anker S.D. Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia/ Anker S.D., Chua T.P., Ponikowski P. [et al.]// *Circulation*. — 1997. — V. 96. — № 2. — P. 526–534.

30. Antwi-Amoabeng D. Association between Empagliflozin Use and Electrocardiographic Changes/ Antwi-Amoabeng D., Sathappan S., Beutler B.D., [et al.]// *Clinical Practice*. — 2022. — V. 12. — № 4. — P. 557–564.

31. Are the "Cardiac Benefits" of Empagliflozin Independent of Its Hypoglycemic Activity? (ATRU-4). (EMPA-TROPISM// [Электронный ресурс].

URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03485222?term=NCT03485222&rank=1>
(дата обращения 11.12.2023).

32. Azam M.A. Anti-arrhythmic and inotropic effects of empagliflozin following myocardial ischemia/ Azam M.A., Chakraborty P., Si D., [et al.]// *Life Sciences*. — 2021. — V. 276. — P. 119440.

33. Azzam O. Bexagliflozin for type 2 diabetes: an overview of the data/ Azzam O., Carnagarin R., Lugo-Gavidia L.M. [et al.]// *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. — 2021. — V. 22. — № 16. — P. 2095–2103.

34. Baartscheer A. (Na⁺Ca²⁺)_i and the driving force of the Na⁺/Ca²⁺-exchanger in heart/ Baartscheer A., Schumacher C.A., Belterman C.N.W., [et al.]// *Cardiovascular Research*. — 2003. — V. 57. — P. 986–995.

35. Baartscheer A. Empagliflozin decreases myocardial cytoplasmic Na⁺ through inhibition of the cardiac Na⁺/H⁺ exchanger in rats and rabbits/ Baartscheer A., Schumacher C.A., Wüst R.C., [et al.]// *Diabetologia*. — 2017. — V. 60. — № 3. — P. 568–573.

36. Baartscheer A. Empagliflozin prevents worsening of cardiac function in an experimental model of pressure overload-induced heart failure/ Baartscheer A., Schumacher C.A., Wüst R.C.I., [et al.]// *JACC: Basic to Translational Science*. — 2017. — V. 2. — P. 347–354.

37. Banerjee S.K. SGLT1 is a novel cardiac glucose transporter that is perturbed in disease states/ Banerjee S.K., McGaffin K.R., Pastor-Soler N.M., [et al.]// *Cardiovascular Research*. — 2009. — V. 84. — № 1. — P. 111–118.

38. Bays H. Sodium glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors: targeting the kidney to improve glycemic control in diabetes mellitus// *Diabetes Therapy*. — 2013. — V. 4. — № 2. — P. 195–220.

39. Beitelshes A.L. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: a case study in translational research/ Beitelshes A.L., Leslie B.R., Taylor S.I.// *Diabetes*. — 2019. — V. 68. — P. 1109–1120.

40. Bers D.M. Ratio of ryanodine to dihydropyridine receptors in cardiac and skeletal muscle and implications for E–C coupling/ Bers D.M., Stiffel V.M.// *American Physiological*. — 1993. — V. 264. — № 6 1. — P. 1587–1593.
41. Bersoff–Matcha S.J. Fournier gangrene associated with sodium–glucose cotransporter–2 inhibitors: a review of spontaneous postmarketing cases / Bersoff–Matcha S.J., Chamberlain C., Cao C. [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. 2019. — V. 170. — № 11. — P. 764–769.
42. Bickel M. Effects of AVE2268, a substituted glycopyranoside, on urinary glucose excretion and blood glucose in mice and rats/ Bickel M., Brummerhop H., Frick W. [et al.]//*Arzneimittelforschung*. — 2008. — V. 58. — №. 11. — P. 574–580.
43. Blonde L. Effects of canagliflozin on body weight and body composition in patients with type 2 diabetes over 104 weeks/ Blonde L., Stenlöf K., Fung A., [et al.]// *Postgraduate Medicine*. — 2016. — V. 128. — P. 37 1– 380.
44. Bloomgarden, Z.T. Cardiovascular Disease and Diabetes// *Diabetes Spectrum*. — 2008. — V. 21. — № 3. — P. 44–55.
45. Boateng S. Acute myocardial infarction/ Boateng S., Sanborn T.// *Disease–a–Month*. — 2013. — V. 59. — №. 3. — P. 83–96.
46. Bode D. Dual SGLT1 and SGLT2 inhibition improves left atrial dysfunction in HFpEF/ Bode D., Semmler L., Wakula P., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2021. — V. 20. — № 1. — P. 7.
47. Briasoulis A. The role of inflammation and cell death in the pathogenesis, progression and treatment of heart failure/ Briasoulis A., Androulakis E., Christophides T. [et al.]// *Cardiac Failure Review*. — 2016. — V. 21. —P. 169–176.
48. Brini M. The plasma membrane Ca²⁺ ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium/ Brini M., Carafoli E.// *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. — 2011. — V. 3. — № 2. — P. a004168.
49. Buss S.J. Spironolactone Preserves Cardiac Norepinephrine Reuptake in Salt-Sensitive Dahl Rats/ Buss S.J., Backs J., Kreusser M.M. [et al.]// *Endocrinology*. — 2006. — V. 147. — № 5. — P. 2526–2534.

50. Byrne N.J. Empagliflozin Prevents Worsening of Cardiac Function in an Experimental Model of Pressure Overload–Induced Heart Failure/ Byrne N.J., Parajuli N., Levasseur J.L., [et al.]// *JACC Basic to Translational Science*. — 2017. — V. 2. — № 4. — P. 347–354.

51. Cai Q. Investigation of the protective effects of phlorizin on diabetic cardiomyopathy in db/db mice by quantitative proteomics/ Cai Q., Li, B., Yu, F. [et al.]// *Journal of Diabetes Research*. — 2013. — V. 2013. — P. 263845.

52. Cai W. Design of SGLT2 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes: a history driven by biology to chemistry/ Cai W., Jiang L., Xie Y. [et al.]// *Medicinal Chemistry*. — 2015. — V. 11. — № 4. — P. 317–328.

53. CANVAS–CANagliflozin cardioVascular Assessment Study (CANVAS) // [Электронный ресурс]. — 2018. URL: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT01032629> (дата обращения 14.11.2023).

54. Cappetta D. Amelioration of diastolic dysfunction by dapagliflozin in a non–diabetic model involves coronary endothelium/ Cappetta D., De Angelis A., Ciuffreda L.P., [et al.]// *Pharmacological research*, — 2020. — V. 157. — P. 104781.

55. Catrina S.B. Hypoxia and hypoxia–inducible factors in diabetes and its complications/ Catrina S.B., Zheng X.// *Diabetologia*. — 2021. — V. 64. — P. 709–716.

56. Cefalo C.M.A. Sotagliflozin, the first dual SGLT inhibitor: current outlook and perspectives/ Cefalo C.M.A., Cinti F., Moffa S., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2019. — V. 18. — № 1. — P. 20.

57. Cezar M.D. Early spironolactone treatment attenuates heart failure development by improving myocardial function and reducing fibrosis in spontaneously hypertensive rats/ Cezar M.D., Damatto R.L., Pagan L.U., [et al.]// *Cellular Physiology and Biochemistry*. — 2015. — V. 36. — № 4. — P. 1453–1466.

58. Chang C.H. Different Angiotensin-converting enzyme inhibitors and the associations with overall and cause-specific mortalities in patients with hypertension/ Chang C.H., Lin J.W., Caffrey J.L. [et al.]// *American Journal of Hypertension*. — 2015. — V. 28. — № 6. — P. 823–830.

59. Chaudhuri R.D. Cardiac-specific overexpression of HIF-1 α during acute myocardial infarction ameliorates cardiomyocyte apoptosis via differential regulation of hypoxia-inducible pro-apoptotic and anti-oxidative genes/ Chaudhuri R.D., Banik A., Mandal B. [et al.]//Biochemical and Biophysical Research Communications. — 2021. — V. 537. — P. 100–108.
60. Chen J. Quantitative PCR tissue expression profiling of the human SGLT2 gene and related family members/ Chen J., Williams S., Ho S., [et al.]// Diabetes Therapy. — 2010. — V. 1. — № 2. — P. 57–92.
61. Chen J. Effects of SGLT2 inhibitors on cardiac function and health status in chronic heart failure: a systematic review and meta-analysis/ Chen J., Jiang C., Guo M., [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2024. — V. 23. — № 1. — P. 2.
62. Chen J.Y. Impact of SGLT2 inhibitors on patient outcomes: a network meta-analysis/ Chen J.Y., Pan H.C., Shiao C.C. [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2023. — V. 22. — № 290. — P. 1–15.
63. Chen S. Empagliflozin prevents heart failure through inhibition of the NHE1-NO pathway, independent of SGLT2/ Chen S., Wang Q., Bakker D. [et al.]// Basic Research in Cardiology. — 2024.
64. Chen X. Role of TLR4/NADPH oxidase 4 pathway in promoting cell death through autophagy and ferroptosis during heart failure/ Chen X., Xu S., Zhao C., [et al.]// Biochemical and biophysical research communications. — 2019. — V. 516. — № 1. — P. 37–43.
65. Chilton R. Effects of empagliflozin on blood pressure and markers of arterial stiffness and vascular resistance in patients with type 2 diabetes/ Chilton R., Tikkanen I., Cannon C.P., [et al.]// Diabetes, Obesity and Metabolism. — 2015. — V. 17. — № 12. — P. 1180–1193.
66. Chouchani E. T. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS/ Chouchani E. T., Pell V. R., Gaude E. [et al.]//Nature. — 2014. — V. 515. — № 7527. — P. 431–435.

67. Chung Y. J. SGLT2 inhibitors and the cardiac Na⁺/H⁺ exchanger-1: the plot thickens/ Chung Y. J., Park K. C., Tokar S. [et al.]// Cardiovascular Research. — 2021. — V. 117. — № 14. — P. 2702-2704.

68. Chung Y.J. Off-target effects of sodium-glucose co-transporter 2 blockers: Empagliflozin does not inhibit Na⁺/H⁺ exchanger-1 or lower [Na⁺]_i in the heart/ Chung Y.J., Park K.C., Tokar S., [et al.]// Cardiovascular Research. — 2020. — V. 117. — P. 2794–2806.

69. Clauss S. Animal models of arrhythmia: classic electrophysiology to genetically modified large animals/ Clauss S., Bleyer C., Schüttler D. [et al.]// Nature Reviews Cardiology. — 2019. — V. 8. — P. 457–475.

70. Coleman R.L. Can the cardiovascular risk reductions observed with empagliflozin in the EMPA–REG OUTCOME trial be explained by concomitant changes seen in conventional cardiovascular risk factor levels?/ Coleman R.L., Gray A.M., Broedl Md U.C., [et al.]// Diabetes, Obesity and Metabolism. — 2020. — V. 22. — P. 1151–1156.

71. Connelly K.A. Empagliflozin improves diastolic function in a nondiabetic rodent model of heart failure with preserved ejection fraction/ Connelly K.A., Zhang Y., Visram A. [et al.]// JACC Basic to Translational Science. — 2019. — V. 4. — № 1. — P. 27–37.

72. Coronel R. Electrophysiological changes in heart failure and their implications for arrhythmogenesis/ Coronel R., Wilders R., Verkerk A.O., [et al.]// Biochimica et Biophysica Acta. — 2013. — V. 1832. — P. 2432–2441.

73. Cowie M.R. SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control/ Cowie M.R., Fisher M.// Nature Reviews Cardiology. — 2020. — V. 17. — P. 761–772.

74. Curtain J.P. Effect of dapagliflozin on ventricular arrhythmias, resuscitated cardiac arrest, or sudden death in DAPA–HF/ Curtain J.P., Docherty K.F., Jhund P.S., [et al.]// European Heart Journal. — 2021. — V. 42. — № 36. — P. 3727–3738.

75. Damman K. Randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre pilot study on the effects of empagliflozin on clinical outcomes in patients with acute

decompensated heart failure (EMPA–RESPONSE–AHF)/ Damman K., Beusekamp J.C., Boorsma E.M., [et al.]// *European Journal of Heart Failure*. — 2020. — V. 22. — P. 713–722.

76. Dardi I. SGLT2 inhibitors/ Dardi I., Kouvatsos T., Jabbour S. A.// *Biochemical pharmacology*. — 2016. — V. 101. — P. 27–39.

77. Daud E. The impact of empagliflozin on cardiac physiology and fibrosis early after myocardial infarction in non–diabetic rats/ Daud E., Ertracht O., Bandel N., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2021. — V. 20. — № 1. — P. 132.

78. Davies M.J. Effect of canagliflozin on serum uric acid in patients with type 2 diabetes mellitus/ Davies M.J., Trujillo A., Vijapurkar U., [et al.]// *Diabetes, Obesity and Metabolism*. — 2015. — V. 17. — P. 426–429.

79. Davies M.J. Efficacy and safety of canagliflozin in patients with type 2 diabetes based on history of cardiovascular disease or cardiovascular risk factors: a post hoc analysis of pooled data/ Davies M.J., Merton K., Vijapurkar U., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2017. — V. 16. — P. 1–40.

80. Deeks E. D. Sotagliflozin: a review in type 1 diabetes// *Drugs*. — 2019. — V. 79. — № 18. — P. 1977–1987.

81. Deng R. Novel cardioprotective mechanism for Empagliflozin in nondiabetic myocardial infarction with acute hyperglycemia/ Deng R., Jiang K., Chen F., [et al.]// *Biomed Pharmacother*. — 2022. — V. 154. — P. 113606.

82. Derdau V. Synthesis of isotopically labelled SGLT inhibitors and their metabolites/ Derdau V., Fey T., Atzrodt J.// *Tetrahedron*. — 2010. — V. 66. — № 7. — P. 1472–1482.

83. Di Franco A. Sodium–dependent glucose transporters (SGLT) in human ischemic heart: A new potential pharmacological target/ Di Franco A., Cantini G., Tani A., [et al.]// *International Journal of Cardiology*. — 2017. — V. 243. — P. 86–90.

84. Ding F. cirHIPK3 prevents cardiac senescence by acting as a scaffold to recruit ubiquitin ligase to degrade HuR/ Ding F., Lu L., Wu C. [et al.]// *Theranostics*. — 2022. — V. 12. — № 17. — P. 7550–7566.

85. Docherty K. Consistent Benefit of Dapagliflozin According to Background Therapy in Patients with HFrEF: An Analysis of the DAPA–HF Trial/ Docherty K., Jackson A., Inzucchi S.E., [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2020. — V. 75. — № 11. — P. 656.

86. Docherty K.F. Effect of Dapagliflozin on Outpatient Worsening of Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction: A Prespecified Analysis of DAPA–HF/ Docherty K.F., Jhund P.S., Anand I., [et al.]// *Circulation*. — 2020 — V. 142— P. 1623–1632.

87. Dogan N.B. Cardioprotective Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors and Their Possible Association With Normalization of the Circadian Index of Heart Rhythm/ Dogan N.B., Yasar H.Y., Kilicaslan B. [et al.]// *Texas Heart Institute Journal*. — 2023. — V. 50. — № 6. — P. e238196.

88. Dominic E.A. Mitochondrial cytopathies and cardiovascular disease/ Dominic E.A., Ramezani A., Anker S.D. [et al.]// *Heart*. — 2014. — V. 100. — № 8. — P. 611–618.

89. Durak A. A SGLT2 inhibitor dapagliflozin suppresses prolonged ventricular–repolarization through augmentation of mitochondrial function in insulin–resistant metabolic syndrome rats/ Durak A., Olgar Y., Degirmenci S., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2018. — V. 17. — P. 144.

90. Effects of Empagliflozin on Clinical Outcomes in Patients With Acute Decompensated Heart Failure (EMPA–RESPONSE)// [Электронный ресурс]. URL: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03200860> (дата обращения 11.12.2023).

91. EMPACT–MI: A Study to Test Whether Empagliflozin Can Lower the Risk of Heart Failure and Death in People Who Had a Heart Attack (Myocardial Infarction// [Электронный ресурс]. URL: [https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04509674?term=EMPACT–MI&draw=2&rank=1](https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04509674?term=EMPACT-MI&draw=2&rank=1) (дата обращения 11.12.2023).

92. EMPagliflozin outcomE tRial in Patients With chrOnic heaRt Failure With Reduced Ejection Fraction (EMPEROR–Reduced) // [Электронный ресурс]. — 2021. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03057977> (дата обращения 14.11.2023).
93. EMPagliflozin outcomE tRial in Patients With chrOnic heaRt Failure With Preserved Ejection Fraction (EMPEROR–Preserved)// [Электронный ресурс]. URL: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT03057951> (дата обращения 11.12.2023).
94. Entman M.L. Inflammation in the course of early myocardial ischemia/ Entman M.L., Michael L., Rossen R.D., [et al.]// The FASEB Journal. — 1991. — V. 11 — P. 2529–2537.
95. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, European Treaty Series–No. 123, Strasbourg, 1986.
96. European Medicines Agency. SGLT2 inhibitors: information on potential risk of toe amputation to be included in prescribing information 2017// [Электронный ресурс]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2017/02/WC500222191.pdf (дата обращения 11.12.2023).
97. Fan M. Overexpression of the histidine triad nucleotide–binding protein 2 protects cardiac function in the adult mice after acute myocardial infarction/ Fan M., Chen Z., Huang Y. [et al.]// Acta Physiologica. — 2020. — V. 228. — №. 4. — P. e13439.
98. Fathi A. SGLT2–inhibitors; more than just glycosuria and diuresis/ Fathi A., Vickneson K., Singh J.S.// Heart Failure Reviews. — 2021. — V. 26. — № 3. — P. 623–642.
99. Fernandes G. C. Association of SGLT2 inhibitors with arrhythmias and sudden cardiac death in patients with type 2 diabetes or heart failure: a meta-analysis of 34 randomized controlled trials/ Fernandes G. C., Fernandes A., Cardoso R. [et al.]// Heart Rhythm. — 2021. — V. 18. — № 7. — P. 1098-1105.

100. Fernández Á. F. Disruption of the beclin 1–BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice/ Fernández, Á.F., Sebtí, S., Wei, Y. [et al.]// *Nature*. — 2018. — V. 558. — № 7708. — P. 136–140.
101. Ferrannini E. CV protection in the EMPA–REG OUTCOME trial: a “thrifty substrate” hypothesis/ Ferrannini E., Mark M., Mayoux E/ *Diabetes care*. — 2016. — V. 39. — №. 7. — P. 1108–1114.
102. Ferrannini E. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double–blind, placebo–controlled, phase 3 trial/ Ferrannini E., Ramos S.J., Salsali A. [et al.]// *Diabetes Care*. — 2010. — № 10. — P. 2217–2224.
103. Ferrannini E. Shift to Fatty Substrate Utilization in Response to Sodium–Glucose Cotransporter 2 Inhibition in Subjects Without Diabetes and Patients With Type 2 Diabetes/ Ferrannini E., Baldi S., Frascerra S., [et al.]// *Diabetes*. — 2016. — V. 65. — № 5. — P. 1190–1195.
104. Frangiannis N.G. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair// *Circulation Research*. — 2012. — V. 110. — № 1. — P. 159–173.
105. Frangiannis N.G. The immune system and the remodeling infarcted heart: cell biological insights and therapeutic opportunities// *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. — 2014. — V. 63. — № 3. — P. 185–195.
106. Fujimori Y. Remogliflozin etabonate, in a novel category of selective low–affinity sodium glucose cotransporter (SGLT2) inhibitors, exhibits antidiabetic efficacy in rodent models/ Fujimori Y., Katsuno K., Nakashima I. [et al.]// *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. — 2008. — V. 327. — №. 1. — P. 268–276.
107. Furtado R.H. Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and previous myocardial infarction/ Furtado R.H., Bonaca M.P., Raz I., [et al.]// *Circulation*. — 2019. — V. 139. — P. 2516–2527.
108. Gaede P. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes/ Gaede P., Vedel P., Larsen N., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2003. — V. 348. — № 5. P.383–393.

109. Galluzzi L. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018/ Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. [et al.]// *Cell Death and Differentiation*. — 2018. — V. 25. — № 3. — P. 486–541.
110. Gao K. Qishen granules exerts cardioprotective effects on rats with heart failure via regulating fatty acid and glucose metabolism/ Gao K., Zhang J., Gao P. [et al.]// *Chinese Medicine*. — 2020. — V. 15. — № 21. — P. 1–15.
111. Gilbert R.E. Effects of canagliflozin on serum magnesium in patients with type 2 diabetes mellitus: a post hoc analysis of randomized controlled trials/ Gilbert R.E., Mende C., Vijapurkar U., [et al.]// *Diabetes Therapy*. — 2017. — V. 8. — P. 451–458.
112. Goerg J. Low-Dose Empagliflozin Improves Systolic Heart Function after Myocardial Infarction in Rats: Regulation of MMP9, NHE1, and SERCA2a/ Goerg J., Sommerfeld M., Greiner B., [et al.]// *International Journal of Molecular*. — 2021. — V. 22. — № 11. — P. 5437.
113. Gohlke P. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves cardiac function. Role of bradykinin/ Gohlke P., Linz W., Schölkens B.A., [et al.]// *Hypertension*. — 1994. — V. 23. — № 4. — P. 411–418.
114. Green D. R. Cell death signaling/ Green D. R., Llambi F.// *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. — 2015. — V. 7. — № 12.—P. a006080.
115. Green J.B. Effect of sitagliptin on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes/ Green J.B., Bethel M.A., Armstrong P.W., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2015. — V. 373. — № 3. — P. 232–242.
116. Grune J. Neutrophils incite and macrophages avert electrical storm after myocardial infarction/ Grune J., Lewis A.J.M., Yamazoe M. [et al.]// *Nature Cardiovascular Research*. — 2022. — V. 1. — № 7. — P. 649–664.
117. Gupta P. Cardioprotective effect of ritonavir, an antiviral drug, in isoproterenol induced myocardial necrosis: a new therapeutic implication/ Gupta P., Kanwal A., Putcha U. K. [et al.]// *Journal of translational medicine*. — 2013. — V. 11. — № 1. — P. 1–6.

118. Habibi J. Sodium glucose transporter 2 (SGLT2) inhibition with empagliflozin improves cardiac diastolic function in a female rodent model of diabetes/ Habibi J., Aroor A.R., Sowers J.R., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2017. — V. 16. — № 1. — P. 9.

119. Hammoudi N. Empagliflozin Improves Left Ventricular Diastolic Dysfunction in a Genetic Model of Type 2 Diabetes/ Hammoudi N., Jeong D., Singh R., [et al.]// *Cardiovascular Drugs and Therapy*. — 2017. — V. 3. — P. 233–246.

120. Hamouda N.N. Dapagliflozin reduces the amplitude of shortening and Ca(2+) transient in ventricular myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats/ Hamouda N.N., Sydorenko V., Qureshi M.A., [et al.]// *Molecular and cellular biochemistry*. — 2015. — V. 400. — № 1-2. — P. 57–68.

121. Han C. Role of the Na(+)-Ca(2+) exchanger as an alternative trigger of CICR in mammalian cardiac myocytes/ Han C., Tavi P., Weckström M.// *Biophysical Journal*. — 2002. — V. 82. — № 3. — P. 1483–1496.

122. Hayek T. The angiotensin-converting enzyme inhibitor, fosinopril, and the angiotensin II receptor antagonist, losartan, inhibit LDL oxidation and attenuate atherosclerosis independent of lowering blood pressure in apolipoprotein E deficient mice/ Hayek T., Attias J., Coleman R., [et al.]// *Cardiovascular Research*. — 1999. — V. 44 — P. 579–587.

123. Heerspink H.J. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors in the treatment of diabetes mellitus: cardiovascular and kidney effects, potential mechanisms, and clinical applications/ Heerspink H.J., Perkins B.A., Fitchett D.H. [et al.]// *Circulation*. — 2016. — V. 134. — № 10. — P. 752–772.

124. Hegyi B. Diabetes and Excess Aldosterone Promote Heart Failure With Preserved Ejection Fraction/ Hegyi B., Mira Hernandez J., Ko C.Y., [et al.]// *Journal of the American Heart Association*. — 2022. — V. 11. — № 23. — P. e027164.

125. Hegyi B. Empagliflozin Reverses Late Na⁺ Current Enhancement and Cardiomyocyte Proarrhythmia in a Translational Murine Model of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction/ Hegyi B., Mira Hernandez J., Shen E.Y., [et al.]// *Circulation*. — 2022. — V. 145. — № 13. — P. 1029–1031.

126. Hegyi B. Empagliflozin Reverses Late Na⁺ Current Enhancement and Cardiomyocyte Proarrhythmia in a Translational Murine Model of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction/ Hegyi B., Mira Hernandez J., Shen E.Y., [et al.]// *Circulation*. — 2022. — V. 145. — №. 13. — P. 1029–1031.

127. Hegyi B., Bers D.M. New cardiac targets for empagliflozin: O-GlcNAcylation, CaMKII, and calcium handling// *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. — 2023. — V. 324. — № 3. — P. H338–H340.

128. High-sensitivity C-reactive Protein and United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Risk Score in Type 2 Diabetes// [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01099865?term=NCT01099865&rank=1> (дата обращения 11.12.2023).

129. Horton J.L. The failing heart utilizes 3-hydroxybutyrate as a metabolic stress defense/ Horton J. L., Davidson M. T., Kurishima C. [et al.]// *JCI insight*. — 2019. — V. 4. — №. 4. — P. e124079.

130. Hsu C.P. Nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates cell survival through autophagy in cardiomyocytes/ Hsu C.P., Hariharan N., Alcendor R.R. [et al.]// *Autophagy*. — 2009. — V. 5. — №. 8. — P. 1229–1231.

131. Hu Z. Empagliflozin protects the heart against ischemia/reperfusion-induced sudden cardiac death/ Hu Z., Ju F., Du L., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2021. — V. 20. — №. 1. — P. 199.

132. Inzucchi S.E. Empagliflozin and assessment of lower-limb amputations in the EMPA-REG OUTCOME trial/ Inzucchi S.E., Iliiev H., Pfarr E., [et al.]// *Diabetes Care*. — 2018. — V. 41. — P. e4–5.

133. Isoe T. High glucose activates HIF-1-mediated signal transduction in glomerular mesangial cells through a carbohydrate response element binding protein/ Isoe T., Makino Y., Mizumoto K. [et al.]// *Kidney international*. — 2010. — V. 78. — № 1. — P. 48–59.

134. Iwamoto T. Forefront of Na⁺/Ca²⁺ Exchanger Studies: Molecular Pharmacology of Na⁺/Ca²⁺ Exchange Inhibitors// *Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 2004. — V. 96. — P. 27–32.

135. Jespersen N.R. Sodium glucose transporter 2 (SGLT2) inhibition does not protect the myocardium from acute ischemic reperfusion injury but modulates postischemic mitochondrial function/ Jespersen N.R., Lassen T.R., Hjortbak M.V., [et al.]// *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. — 2017. — V. 6. — P. 2–4.

136. Jhund .PS. Dapagliflozin and Recurrent Heart Failure Hospitalizations in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: An Analysis of DAPA–HF/ Jhund P.S., Ponikowski P., Docherty K.F., [et al.]// *Circulation*. — 2021. — V. 143. — P. 1962–1972.

137. Jiang K. Cardioprotective mechanism of SGLT2 inhibitor against myocardial infarction is through reduction of autosis/ Jiang K., Xu Y., Wang D., [et al.]// *Protein and Cell*. — 2022. — V. 5 — P. 336–359.

138. Jing Y. Anti-Arrhythmic Effects of Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors/ Jing Y., Yang R., Chen W., [et al.]// *Frontiers in pharmacology*. — 2022. — V. 13. — P. 898718.

139. Joubert M. The Sodium–Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Dapagliflozin Prevents Cardiomyopathy in a Diabetic Lipodystrophic Mouse Model/ Joubert M., Jagu B., Montaigne D., [et al.]// *Diabetes*. — 2017. — V. 66. — № 4. — P. 1030–1040.

140. Kadosaka T. Empagliflozin attenuates arrhythmogenesis in diabetic cardiomyopathy by normalizing intracellular Ca²⁺ handling in ventricular cardiomyocytes/ Kadosaka T., Watanabe M., Natsui H., [et al.]// *American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology*. — 2023. — V. 324. — №. 3. — P. H341–H354.

141. Kapitsinou P.P. Endothelial HIF–2 mediates protection and recovery from ischemic kidney injury/ Kapitsinou P.P., Sano H., Michael M. [et al.]//*The Journal of clinical investigation*. — 2014. — V. 124. — № 6. — P. 2396–2409.

142. Kaplan E.L. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations/ Kaplan E.L., Meier P. // *Journal of the American Statistical Association*. — 1958. — V. 53. — № 282. — P. 457–481.

143. Kario K. 24-hour blood pressure-lowering effect of an SGLT2 inhibitor in patients with diabetes and uncontrolled nocturnal hypertension: results from the

randomized, placebo–controlled SACRA study/ Kario K., Okada K., Kato M., [et al.]// *Circulation*. — 2018. — V. 139. — P. 2089–2097.

144. Karpushev A.V. SGLT2 Inhibitor Empagliflozin Modulates Ion Channels in Adult Zebrafish Heart/ Karpushev A.V., Mikhailova V.B., Klimenko E.S., [et al.]// *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — V. 23. — P. 9559.

145. Kashiwagi Y. Expression of SGLT1 in Human Hearts and Impairment of Cardiac Glucose Uptake by Phlorizin during Ischemia–Reperfusion Injury in Mice/ Kashiwagi Y., Nagoshi T., Yoshino T., [et al.]// *PLoS One*. — 2015. — V. 10. — № 6. — P. e0130605.

146. Kato E.T. Effect of dapagliflozin on heart failure and mortality in type 2 diabetes mellitus/ Kato E.T., Silverman M.G., Mosenzon O., [et al.]// *Circulation*. — 2019. — V. 139. — № 22. — P. 2528–2536.

147. Katsuno K. Sergliflozin, a novel selective inhibitor of low–affinity sodium glucose cotransporter (SGLT2), validates the critical role of SGLT2 in renal glucose reabsorption and modulates plasma glucose level/ Katsuno K., Fujimori Y., Takemura Y. [et al.]// *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. — 2007. — V. 320. — № 1. — P. 323–330.

148. Kido M. Hypoxia–inducible factor 1–alpha reduces infarction and attenuates progression of cardiac dysfunction after myocardial infarction in the mouse/ Kido M., Du L., Sullivan C.C. [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2005. — V. 46. — № 11. — P. 2116–2124.

149. Kim J.W. HIF–1–mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia/ Kim J.W., Tchernyshyov I., Semenza G.L. [et al.]// *Cell metabolism*. — 2006. — V. 3. — № 3. — P. 177–185.

150. Kimura G. Importance of inhibiting sodium–glucose cotransporter and its compelling indication in type 2 diabetes: pathophysiological hypothesis// *Journal of the American Society of Hypertension*. — 2016. — V. 10. — № 3. — P. 271–278.

151. Kiyuna L.A. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: Challenges and opportunities/ Kiyuna L.A., Albuquerque R., Chen C.H., [et al.]// *Free radical biology and medicine*. — 2018. — V. 129. — P. 155–168.

152. Kluger A.Y. Class effects of SGLT2 inhibitors on cardiorenal outcomes/ Kluger A.Y., Tecson K.M., Lee A.Y., [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2019. — V. 18. — № 1. — P. 99.

153. Kolesnik E. SGLT2 Inhibitors and Their Antiarrhythmic Properties/ Kolesnik E., Scherr D., Rohrer U. [et al.]// International Journal of Molecular Sciences. — 2022. — V. 23. — № 3. — P. 1678.

154. Kolijn D. Empagliflozin improves endothelial and cardiomyocyte function in human heart failure with preserved ejection fraction via reduced pro-inflammatory-oxidative pathways and protein kinase G α oxidation/ Kolijn D., Pabel S., Tian Y., [et al.]// Cardiovascular Research. — 2021. — V. 117. — № 2. — P. 495–507.

155. Kosiborod M. Lower risk of heart failure and death in patients initiated on sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors versus other glucose-lowering drugs: the CVD-REAL study (comparative effectiveness of cardiovascular outcomes in new users of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors)/ Kosiborod M., Cavender M.A., Fu A.Z. [et al.]// Circulation. — 2017. — V. 137. — № 9. — P. 989–991.

156. Kosiborod M.N. Dapagliflozin in patients with cardiometabolic risk factors hospitalised with COVID-19 (DARE-19): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial/ Kosiborod M.N., Esterline R., Furtado R.H.M. [et al.]// Lancet Diabetes Endocrinology. — 2021. — V. 9. — № 9. — P. 586–594.

157. Kumar S. Recent developments in sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors as a valuable tool in the treatment of type 2 diabetes mellitus/ Kumar S., Khatik G. L., Mittal A. //Mini Reviews in Medicinal Chemistry. — 2020. — V. 20. — № 3. — P. 170–182.

158. Kusaka H. Empagliflozin lessened cardiac injury and reduced visceral adipocyte hypertrophy in prediabetic rats with metabolic syndrome/ Kusaka H., Koibuchi N., Hasegawa Y., [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2016. — V. 11. — V. 15. — № 1. — P. 157.

159. Krasnova M. Comparative efficacy of empagliflozin and drugs of baseline therapy in post-infarct heart failure in normoglycemic rats/ Krasnova M., Kulikov A.,

Okovityi S. [et al.]// *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* — 2020. — V. 393. — № 9. — P. 1649-1658.

160. Lahnwong S. Acute dapagliflozin administration exerts cardioprotective effects in rats with cardiac ischemia/reperfusion injury/ Lahnwong S., Palee S., Apaijai N., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology.* — 2020. — V. 19. — № 1. — P. 91.

161. Lambers Heerspink H.J. Dapagliflozin a glucose-regulating drug with diuretic properties in subjects with type 2 diabetes/ Lambers Heerspink H.J., de Zeeuw D., Wie L., [et al.]// *Diabetes, Obesity and Metabolism.* — 2013. — V. 15. — № 9. — P. 853–862.

162. Lambert R. Intracellular Na⁺ Concentration ((Na⁺)_i) Is Elevated in Diabetic Hearts Due to Enhanced Na⁺–Glucose Cotransport/ Lambert R., Srodulski S., Peng X., [et al.]// *Journal of the American Heart Association.* — 2015. — V. 4. — № 9. — P. e002183.

163. Law M.R. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies/ Law M.R., Morris J.K., Wald N.J.// *BMJ.* — 2009. — V. 338. — P. b1665.

164. Lee T.I. Empagliflozin Attenuates Myocardial Sodium and Calcium Dysregulation and Reverses Cardiac Remodeling in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats/ Lee T.I., Chen Y.C., Lin Y.K., [et al.]// *International journal of molecular sciences.* — 2019. — V. 20. — № 7. — P. 1680.

165. Lee T.M. Dapagliflozin, a selective SGLT2 Inhibitor, attenuated cardiac fibrosis by regulating the macrophage polarization via STAT3 signaling in infarcted rat hearts/ Lee T.M., Chang N.C., Lin S.Z.// *Free Radical Biology and Medicine.* — 2017. — V. 104. — P. 298–310.

166. Li D. Protective effects of sodium-glucose transporter 2 inhibitors on atrial fibrillation and atrial flutter: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials/ Li D., Liu Y., Hidru T.H. et al.// *Frontiers in Endocrinology.* — 2021. — V. 12. — P. 619586.

167. Li H. L. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2i) and cardiac arrhythmias: a systematic review and meta-analysis/ Li H. L., Lip G. Y., Feng Q. [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2021. — V. 20. — № 1. — P. 1-13.

168. Li J. Fibroblast growth factor 21 inhibited ischemic arrhythmias via targeting miR-143/EGR1 axis/ Li J., Xu C., Liu Y. [et al.]// *Basic Research in Cardiology*. — 2020. — V. 115. — №. 2. — P. 9.

169. Li S.Z. Role of reverse mode Na⁺/Ca²⁺ exchanger in the cardioprotection of metabolic inhibition preconditioning in rat ventricular myocytes/ Li S.Z., Wu F., Wang B., [et al.]// *European Journal of Pharmacology*. — 2007. — V. 561. — № 1–3. — P. 14–22.

170. Light P.E. Decoding the effects of SGLT2 inhibitors on cardiac arrhythmias in heart failure// *European Heart Journal*. — 2021. — V. 42. — № 36. — P. 3739–3740.

171. Lim V.G. SGLT2 inhibitor, canagliflozin, attenuates myocardial infarction in the diabetic and nondiabetic heart/ Lim V.G., Bell R.M., Arjun S., [et al.]// *JACC: Basic to Translational Science*. — 2019. — V. 4. — № 1. — P. 15–26.

172. Lin B. Glycemic control with empagliflozin, a novel selective SGLT2 inhibitor, ameliorates cardiovascular injury and cognitive dysfunction in obese and type 2 diabetic mice/ Lin B., Koibuchi N., Hasegawa Y., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2014. — V. 26. — № 13. — P. 148.

173. Link J.T. A method for preparing C-glycosides related to phlorizin/ Link J.T., Sorensen B.K.// *Tetrahedron Letters*. — 2000. — V. 41. — № 48. — P. 9213–9217.

174. Liu C.Y. LncRNA CAIF inhibits autophagy and attenuates myocardial infarction by blocking p53-mediated myocardial transcription/ Liu C.Y., Zhang Y.H., Li R.B., [et al.]// *Nature communications*. — 2018. — V. 9. — №. 1. — P. 29.

175. Liu Y. Empagliflozin prevents from early cardiac injury post myocardial infarction in non-diabetic mice/ Liu Y., Wu M., Xu J., [et al.]// *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 2021. — V. 161. — P. 105788.

176. Lyu Y. Empagliflozin ameliorates cardiac dysfunction in heart failure mice via regulating mitochondrial dynamics/ Lyu Y., Huo J., Jiang W., [et al.]// *European Journal of Pharmacology*. — 2023. — V. 942. — P. 175531.

177. Madonna R. Empagliflozin reduces the senescence of cardiac stromal cells and improves cardiac function in a murine model of diabetes/ Madonna R., Doria V., Minnucci I. [et al.]// *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. — 2020. — V. 24. — № 21. — P. 12331-12340.

178. Manoj A. SGLT2 inhibitors, an accomplished development in field of medicinal chemistry: an extensive review/ Manoj A., Das, S., Kunnath Ramachandran A. [et al.]// *Future Medicinal Chemistry*. — 2020. — V. 12. — № 21. — P. 1961–1990.

179. Marrs J.C. Ertugliflozin in the treatment of type 2 diabetes mellitus/ Marrs J.C., Anderson S.L.// *Drugs in Context*. — 2020. — V. 9. — № 2020–7–4. — P. 1–10.

180. Martens P. Promise of SGLT2 inhibitors in heart failure: diabetes and beyond/ Martens P., Mathieu C., Verbrugge F.H.// *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*. — 2017. — V. 19. — № 3. — P. 23.

181. Matsutani D. Glycemic variability in continuous glucose monitoring is inversely associated with baroreflex sensitivity in type 2 diabetes: a preliminary report/ Matsutani D., Sakamoto M., Iuchi H., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2018. — V. 17. — P. 36.

182. Matthews D.R. CANagliflozin cardioVascular assessment study (CANVAS)/ Matthews D.R., Fulcher G., De Zeeuw D., [et al.]// Presented at the 53rd annual meeting of the European Association for the study of diabetes. — September 11–15, 2017.

183. Mattiazzi A. Chasing cardiac physiology and pathology down the CaMKII cascade/ Mattiazzi A., Bassani R.A., Escobar A.L., [et al.]// *American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology*. — 2015. — V. 308. — № 10. — P. H1177–H1191.

184. McDonagh T.A. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology

(ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC/ McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., [et al.]// *European Heart Journal*. — 2021. — V. 42. — № 36 — P. 3599–3726–3718.

185. McDonagh T.A. 2023 Focused Update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC/ McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., [et al.]// *European Heart Journal*. — 2023. — V. 44. — № 37. — P. 3627–3639.

186. McMurray J.J. Heart failure: a cardiovascular outcome in diabetes that can no longer be ignored/ McMurray J.J., Gerstein H.C., Holman R.R., [et al.]// *Lancet Diabetes and Endocrinology*. — 2014. — V. 10. — P. 843–851.

187. McMurray J.J.V. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction/ McMurray J.J.V., Solomon S.D., Inzucchi S.E., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2019. — V. 381. — № 21. — P. 1995–2008.

188. Meng W. Discovery of dapagliflozin: a potent, selective renal sodium–dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes/ Meng W., Ellsworth B.A., Nirschl A.A. [et al.]// *Journal of medicinal chemistry*. — 2008. — V. 51. — № 5. — P. 1145–1149.

189. Migliavaca C.B. High-dose versus low-dose angiotensin converting enzyme inhibitors in heart failure: systematic review and meta-analysis/ Migliavaca C.B., Stein C., Colpani V. [et al.]// *Open Heart*. — 2020. — V. 7. — P. e001228.

190. Mill J.G. Remodeling in the ischemic heart: the stepwise progression for heart failure/ Mill J.G., Stefanon I., dos Santos L., [et al.]// *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. — 2011. — V. 44— P. 890–898.

191. Monami M. Safety issues with glucagon–like peptide–1 receptor agonists (pancreatitis, pancreatic cancer and cholelithiasis): Data from randomized controlled trials/ Monami M., Nreu B., Scatena A., [et al.]// *Diabetes, Obesity and Metabolism*. — 2017. — V. 19. — № 9. — P. 1233–1241.

192. Mudaliar S. Sodium–glucose cotransporter inhibitors: effects on renal and intestinal glucose transport: from bench to bedside/ Mudaliar S., Polidori D., Zambrowicz B. [et al.]// *Diabetes care*. — 2015. — V. 38. — № 12. — P. 2344–2353.

193. Multicenter Trial to Evaluate the Effect of Dapagliflozin on the Incidence of Cardiovascular Events (DECLARE–TIMI58)// [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01730534> (дата обращения 11.12.2023).

194. Murphy M.P. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies/ Murphy M.P., Hartley R.C.// *Nature Reviews Drug Discovery*. — 2018. — V. 17. — № 12. — P. 865–886.

195. Mustroph J. Empagliflozin reduces Ca/calmodulin–dependent kinase II activity in isolated ventricular cardiomyocytes/ Mustroph J., Wagemann O., Lucht C.M., [et al.]// *ESC Heart Failure*. — 2018. — V. 5. — P. 642–648.

196. Nakase M. Effect of dapagliflozin on ventricular repolarization in patients with heart failure with reduced ejection fraction/ Nakase M., Yahagi K., Horiuchi Y. et al.// *Heart Vessels*. — 2023. — V. 38. — P. 1414–1421.

197. Nasiri–Ansari N. Canagliflozin attenuates the progression of atherosclerosis and inflammation process in APOE knockout mice/ Nasiri–Ansari N., Dimitriadis G.K., Agrogiannis G. [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2018. — V. 17. — P. 106.

198. Neal B. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes/ Neal B., Perkovic V., Mahaffey K.W., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2017. — V.377. — №7. — P. 644–657.

199. Neal B. Optimizing the analysis strategy for the CANVAS Program—a pre–specified plan for the integrated analyses of the CANVAS and CANVAS–R trials/ Neal B., Perkovic V., Mahaffey K.W., [et al.]// *Diabetes, Obesity and Metabolism*. — 2017. — V. 19. — P. 926–935.

200. Ng K.M. Empagliflozin Ammeliorates High Glucose Induced–Cardiac Dysfuntion in Human Ipsc–Derived Cardiomyocytes/ Ng K.M., Lau Y.M., Dhandhanian V., [et al.]// *Scientific Reports*. — 2018. — V. 8. — № 1. — P. 14872.

201. Nikolaou P.E. Chronic Empagliflozin Treatment Reduces Myocardial Infarct Size in Nondiabetic Mice Through STAT-3-Mediated Protection on Microvascular Endothelial Cells and Reduction of Oxidative Stress/ Nikolaou P.E., Efentakis P., Abu Qourah F., [et al.]// *Antioxidants and Redox Signaling*. — 2021. — V. 34. — № 7. — P. 551–571.

202. Nilsson K.R. Chronic heart failure and exercise intolerance: the hemodynamic paradox/ Nilsson K.R., Duscha B.D., Hranitzky P.M. [et al.]// *Current Cardiology Reviews*. — 2008. — V. 4. — № 2. — P. 92–100.

203. Nissen S.E. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes/ Nissen S.E., Wolski K.// *The New England Journal of Medicine*. — 2007. — V. 356. — № 24. — P. 2457–2471.

204. Nyirjesy P. Genital mycotic infections with canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus: a pooled analysis of clinical studies/ Nyirjesy P., Sobel J.D., Fung A., [et al.]// *Current Medical Research and Opinion*. — 2014. — V. 30. — P. 1109–1119.

205. Oates C.P. SGLT2 inhibitors reduce sudden cardiac death risk in heart failure: Meta-analysis of randomized clinical trials/ Oates C.P., Santos-Gallego C.G., Smith A. [et al.]// *The Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. — 2023. — V. 34. — № 5. — P. 1277–1285.

206. Oduk Y. VEGF nanoparticles repair the heart after myocardial infarction/ Oduk Y., Zhu W., Kannappan R. [et al.]// *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 2018. — V. 314. — № 2. — P. H278–H284.

207. Oh C.M. Cardioprotective Potential of an SGLT2 Inhibitor Against Doxorubicin-Induced Heart Failure/ Oh C.M., Cho S., Jang J.Y., [et al.]// *Korean Circulation Journal*. — 2019. — V. 49. — № 12. — P. 1183–1195.

208. Oku A. T-1095, an inhibitor of renal Na⁺-glucose cotransporters, may provide a novel approach to treating diabetes/ Oku A., Ueta K., Arakawa K. [et al.]// *Diabetes*. — 1999. — V. 48. — № 9. — P. 1794–1800.

209. Oshima H. Empagliflozin, an SGLT2 Inhibitor, Reduced the Mortality Rate after Acute Myocardial Infarction with Modification of Cardiac Metabolomes and

Antioxidants in Diabetic Rats/ Oshima H., Miki T., Kuno A., [et al.]// *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. — 2019. — V. 368. — № 3. — P. 524–534.

210. Özgür Barış V. Empagliflozin significantly attenuates sotalol–induced QTc prolongation in rats/ Özgür Barış V., Dinçsoy B., Gedikli E., [et al.]// *Kardiologia Polska*. — 2021. — V. 79. — № 1. — P. 53–57.

211. Pabel S. Long-term effects of empagliflozin on excitation-contraction-coupling in human induced pluripotent stem cell cardiomyocytes/ Pabel S., Reetz F., Dybkova N., [et al.]// *Journal of molecular medicine*. — 2020. — V. 98. — № 12. — P. 1689–1700.

212. Packer M. Autophagy stimulation and intracellular sodium reduction as mediators of the cardioprotective effect of sodium–glucose cotransporter 2 inhibitors//*European Journal of Heart Failure*. — 2020. — V. 22. — № 4. — P. 618–628.

213. Packer M. Blinded Withdrawal of Long–Term Randomized Treatment with Empagliflozin or Placebo in Patients with Heart Failure/ Packer M., Butler J., Zeller C., [et al.]// *Circulation*. — 2023. — V. 148. — P. 1011–1022.

214. Packer M. Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure/ Packer M., Anker S.D., Butler J. [et al.]// *New England Journal of Medicine*. — 2020. — V. 383. — № 15. — P. 1413–1424.

215. Packer M. Effect of Empagliflozin on the Clinical Stability of Patients With Heart Failure and a Reduced Ejection Fraction: The EMPEROR–Reduced Trial/ Packer M., Anker S.D., Butler J., [et al.]// *Circulation*. — 2021. — V. 143. — № 4. — P. 326–336.

216. Packer M. Role of impaired nutrient and oxygen deprivation signaling and deficient autophagic flux in diabetic CKD development: implications for understanding the effects of sodium–glucose cotransporter 2–inhibitors//*Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. — 2020. — V. 31. — № 5. — P. 907.

217. Pandey A. Ertugliflozin and hospitalization for heart failure across the spectrum of pre–trial ejection fraction: post–hoc analyses of the VERTIS CV trial/

Pandey A., Kolkailah A.A., Cosentino F. [et al.]// *European Heart Journal*. — 2023. — ehad639.

218. Park S. Anti-oxidant and anti-aging effects of phlorizin are mediated by DAF-16-Induced stress response and autophagy in caenorhabditis elegans/ Park S., Park S.K.//*Antioxidants*. — 2022. — V. 11. — № 10. — P. 1996.

219. PASS ONLINE// [Электронный ресурс]. URL: <https://www.way2drug.com/PassOnline> (дата обращения 11.12.2023).

220. Peng X. Empagliflozin Ameliorates Ouabain-Induced Na⁺ and Ca²⁺ Dysregulations in Ventricular Myocytes in an Na⁺-Dependent Manner/ Peng X., Li L., Lin R., [et al.]// *Cardiovascular Drugs and Therapy*. — 2023. — V. 37. — №. 3. — P. 461–469.

221. Peng Y. The effect of SGLT-2 inhibitors on cardiorespiratory fitness capacity: A systematic review and meta-analysis/ Peng Y., Qin D., Wang Y. [et al.]// *Frontiers in Physiology*. — 2023. — V. 13. — P. 1081920.

222. Perkovic V. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy/ Perkovic V., Jardine M.J., Neal B., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2019. — V. 1. — P. 2295–2306.

223. Pfeffer, M.A. Lixisenatide in Patients with Type 2 Diabetes and Acute Coronary Syndrome/ Pfeffer M.A., Claggett B., Diaz R., [et al.]// *The New England Journal of Medicine*. — 2015. — V.373. — P. 23–37.

224. Pfeifer M. Effects of canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, on blood pressure and markers of arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus: a post hoc analysis/ Pfeifer M., Townsend R.R., Davies M.J., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2017. — V. 16. — P. 1– 29.

225. Pharmacology/toxicology review and evaluation for NDA 204629. Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.// [Электронный ресурс]. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/204629Orig1s000PharmR.pdf (дата обращения 11.12.2023).

226. Philippaert K. Cardiac Late Sodium Channel Current Is a Molecular Target for the Sodium/Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Empagliflozin/ Philippaert K.,

Kalyaanamoorthy S., Fatehi M., [et al.]// *Circulation*. — 2021. — V. 143. — № 22. — P. 2188–2204.

227. Philippaert K. Cardiac Late Sodium Channel Current Is a Molecular Target for the Sodium/Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Empagliflozin/ Philippaert K., Kalyaanamoorthy S., Fatehi M., [et al.]// *Circulation*. — 2021. — V. 143. — P. 2188–2204.

228. Porter L.C. NAD⁺-dependent deacetylase SIRT3 in adipocytes is dispensable for maintaining normal adipose tissue mitochondrial function and whole body metabolism/ Porter L.C., Franczyk M.P., Pietka T. [et al.]// *American Journal of Physiology–Endocrinology and Metabolism*. — 2018. — V. 315. — № 4. — P. E520–E530.

229. PubChem// [Электронный ресурс].
URL:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения 11.12.2023).

230. PubMed// [Электронный ресурс]. URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения 10.07.2024).

231. Qiu R. Longer-term safety and tolerability of canagliflozin in patients with type 2 diabetes: a pooled analysis/ Qiu R., Balis D., Xie J., [et al.]// *Current Medical Research and Opinion*. — 2017. — V. 33. — P. 553–562.

232. Radholm K. Canagliflozin and heart failure in type 2 diabetes mellitus: results from the CANVAS Program (Canagliflozin Cardiovascular Assessment Study)/ Radholm K., Figtree G., Perkovic V., [et al.]// *Circulation*. — 2018 — V. 138. — P. 458–468.

233. Ramachandra C.J.A. Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection/ Ramachandra C.J.A., Hernandez–Resendiz S., Crespo–Avilan G.E. [et al.]// *EBioMedicine*. — 2020. — V. 57. — P. 102884.

234. Ramani J. A review on the medicinal chemistry of sodium glucose co-transporter 2 inhibitors (SGLT2–I): Update from 2010 to present/ Ramani J., Shah H., Vyas V.K. [et al.]// *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. — 2022. — V. 6. — P. 100074.

235. Ravendran K. The Use of Empagliflozin Post Myocardial Infarction/ Ravendran K., Madouros N., Yoztyurk E., [et al.]// *Cureus*. — 2023. — V. 15. — №. 6. — P. e40602.
236. Raz I. DECLARE–TIMI 58: Participants' baseline characteristics/ Raz I., Mosenzon O., Bonaca M.P., [et al.]// *Diabetes, Obesity and Metabolism*. — 2018. — V. 20. — № 5. — P. 1102–1110.
237. Reis J. Dapagliflozin Impact on the Exercise Capacity of Non-Diabetic Heart Failure with Reduced Ejection Fraction Patients/ Reis J., Teixeira A.R., Gonçalves A.V. [et al.]// *Journal of Clinical Medicine*. — 2022. — V. 11. — № 10. — P. 2935.
238. Report presented by Dr. James Curtain at the European Society of Cardiology Virtual Congress. — August 27, 2021.
239. Resar J. R. Hypoxia–inducible factor 1 α polymorphism and coronary collaterals in patients with ischemic heart disease/ Resar J. R., Roguin A., Voner J. [et al.]// *Chest*. — 2005. — V. 128. — № 2. — P. 787–791.
240. Rosenstock J. Effects of dapagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on HbA(1c), body weight, and hypoglycemia risk in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on pioglitazone monotherapy/ Rosenstock J., Vico M., Wei L. [et al.]// *Diabetes Care*. — 2012. — № 7. — P. 1473–1478.
241. Rosenthal N. Canagliflozin: a sodium glucose co–transporter 2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus/ Rosenthal N., Meininger G., Ways K., [et al.]// *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 2015 — V. 1358. — P. 28–43.
242. Sano M. A new class of drugs for heart failure: SGLT2 inhibitors reduce sympathetic overactivity// *Journal of Cardiology*. — 2018. — V. 5. — P. 471–476.
243. Sano M. p53–induced inhibition of Hif–1 causes cardiac dysfunction during pressure overload/ Sano M., Minamino T., Toko H. [et al.]// *Nature*. — 2007. — V. 446. — №. 7134. — P. 444–448.
244. Santos-Gallego C. G. Randomized trial of empagliflozin in nondiabetic patients with heart failure and reduced ejection fraction/ Santos-Gallego C. G., Vargas-

Delgado A. P., Requena-Ibanez J. [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2021. — V. 77. — № 3. — P. 243–255.

245. Santos-Gallego C.G. Empagliflozin ameliorates adverse left ventricular remodeling in nondiabetic heart failure by enhancing myocardial energetics/ Santos-Gallego C.G., Requena-Ibanez J.A., San Antonio R. [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2019. — V. 73. — № 15. — P. 1931–1944.

246. Sato T. The roles of HIF-1 α signaling in cardiovascular diseases/ Sato T., Takeda N.// *Journal of Cardiology*. — 2023. — V. 81. — № 2. — P. 202–208.

247. Sayour A.A. Sodium–glucose cotransporter 2 inhibitors reduce myocardial infarct size in preclinical animal models of myocardial ischaemia–reperfusion injury: a meta–analysis/ Sayour A.A., Celeng C., Oláh A., [et al.]// *Diabetologia*. — 2021. — V. 64. — № 4. — P. 737–748.

248. Scheen A.J. Reappraisal of the diuretic effect of empagliflozin in the EMPA–REG OUTCOME trial: comparison with classic diuretics// *Diabetes and Metabolism*. — 2016. — V. 42. — № 4. — P. 224–233.

249. Scheen AJ. An update on the safety of SGLT2 inhibitors. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2019. — V. 18. — № 4. — P. 295–311.

250. Schwinger R.H. Reduced sodium pump α_1 , α_3 , and β_1 –isoform protein levels and Na^+ , K^+ –ATPase activity but unchanged Na^+ – Ca^{2+} exchanger protein levels in human heart failure/ Schwinger R.H., Wang J., Frank K., [et al.]// *Circulation*. — 1999. — V. 99. — № 16. — P. 2105–2112.

251. Sciarretta S. Trehalose–induced activation of autophagy improves cardiac remodeling after myocardial infarction/ Sciarretta S., Yee D., Nagarajan N., [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2018. — V. 71. — № 18. — P. 1999–2010.

252. Scirica B.M. Heart failure, saxagliptin, and diabetes mellitus: observations from the SAVOR–TIMI 53 randomized trial/ Scirica B.M., Braunwald E., Raz I., [et al.]// *Circulation*. — 2014. — V. 130. — № 18. — P. 1579–1588.

253. Seefeldt J.M. Cardioprotective effects of empagliflozin after ischemia and reperfusion in rats/ Seefeldt J.M., Lassen T.R., Hjortbak M.V., [et al.]// *Scientific Reports*. — 2021. — V. 11. — № 1. — P. 9544.
254. Seino Y. Luseogliflozin for the treatment of type 2 diabetes//*Expert Opinion on Pharmacotherapy*. — 2014. — V. 15. — № 18. — P. 2741–2749.
255. Semenza G.L. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation/ Semenza G.L., Wang G.L.//*Molecular and cellular biology*. — 1992. — V. 12. — № 12. — P. 5447–5454.
256. Semenza G.L. Hypoxia–inducible factors: roles in cardiovascular disease progression, prevention, and treatment// *Cardiovascular Research*. — 2023. — V. 119. — № 2. — P. 371–380.
257. Sfaïropoulos D. Association between sodium–glucose cotransporter–2 inhibitors and risk of sudden cardiac death or ventricular arrhythmias: a meta–analysis of randomized controlled trials/ Sfaïropoulos D., Zhang N., Wang Y. et al.//*EP Europace*. — 2022. — V. 24. — № 1. — P. 20–30.
258. Shimizu W. EMBODY trial investigators. Effects of empagliflozin versus placebo on cardiac sympathetic activity in acute myocardial infarction patients with type 2 diabetes mellitus: the EMBODY trial/ Shimizu W., Kubota Y., Hoshika Y., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2020. — V. 19. — № 1. — P. 148.
259. Si J. HIF–1 α signaling activation by post–ischemia treatment with astragaloside IV attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury/ Si J., Wang N., Wang H. [et al.]//*PloS one*. — 2014. — V. 9. — № 9. — P. e107832.
260. Silter M. Impaired Ca²⁺–handling in HIF–1 α +/– mice as a consequence of pressure overload/ Silter M., Kögler H., Zieseniss A. [et al.] //*Pflügers Archiv–European Journal of Physiology*. — 2010. — V. 459. — P. 569–577.
261. Silva Dos Santos D. Empagliflozin reduces arrhythmogenic effects in rat neonatal and human iPSC-derived cardiomyocytes and improves cytosolic calcium handling at least partially independent of NHE1/ Silva Dos Santos D., Turaça L.T., [et al.]// *Scientific reports*. — 2023. — V. 13. — № 1. — P. 8689.

262. Stanigut A.M. Hypoxia–Inducible Factors and Diabetic Kidney Disease—How Deep Can We Go?/ Stanigut A.M., Pana C., Enciu M. [et al.]//International Journal of Molecular Sciences. — 2022. — V. 23. — № 18. — P. 10413.

263. Study to Evaluate the Effect of Dapagliflozin on the Incidence of Worsening Heart Failure or Cardiovascular Death in Patients With Chronic Heart Failure (DAPA–HF)// [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03036124> (дата обращения 11.12.2023).

264. Swaroop G. Post–myocardial Infarction Heart Failure: A Review on Management of Drug Therapies. Cureus. — 2022. — V. 14. — № 6. — P. e25745.

265. Szedlak P., Steele D.S., Hopkins P.M. Cardiac muscle physiology// BJA education. — 2023. — V. 23. — № 9. — P. 350–357.

266. Tanajak P. Cardioprotection of dapagliflozin and vildagliptin in rats with cardiac ischemia–reperfusion injury/ Tanajak P., Sa–Nguanmoo P., Sivasinprasasn S., [et al.]// Journal of Endocrinology. — 2018. — V. 236. — № 2. — P. 69–84.

267. Tanaka T. Hypoxia in renal disease with proteinuria and/or glomerular hypertension/ Tanaka T., Miyata T., Inagi R. [et al.]//The American journal of pathology. — 2004. — V. 165. — № 6. — P. 1979–1992.

268. The top 10 causes of death// [Электронный ресурс]. — 2020. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (дата обращения 11.12.2023).

269. Tomaselli G.F. Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure/ Tomaselli G.F., Marban, E. Cardiovascular Research. — 1999. — V. 42. — P. 270–283.

270. Tran H.V. Hyperglycemia and risk of ventricular tachycardia among patients hospitalized with acute myocardial infarction/ Tran H.V., Gore J.M., Darling C.E., [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2018. — V. 17. — P. 136.

271. Trum M. Empagliflozin inhibits Na⁺/H⁺ exchanger activity in human atrial cardiomyocytes/ Trum M., Riechel J., Lebek S. [et al.]// ESC heart failure. — 2020. — V. 7. — № 6. — P. 4429–4437.

272. Usiskin K. Safety and tolerability of canagliflozin in patients with type 2 diabetes: pooled analysis of phase 3 study results/ Usiskin K., Kline I., Fung A., [et al.]// *Postgraduate Medicine*. — 2014. — V. 126. — P. 16–34.

273. Uthman L. Class effects of SGLT2 inhibitors in mouse cardiomyocytes and hearts: inhibition of Na⁺/H⁺ exchanger, lowering of cytosolic Na⁺ and vasodilation/ Uthman L., Baartscheer A., Bleijlevens B., [et al.]// *Diabetologia*. — 2018. — V. 61. — №. 3. — P. 722–726.

274. Uthman L. Delayed ischaemic contracture onset by empagliflozin associates with NHE1 inhibition and is dependent on insulin in isolated mouse hearts/ Uthman L., Nederlof R., Eerbeek O., [et al.]// *Cardiovascular research*. — 2019. — V. 115. — № 10. — P. 1533–1545.

275. Uthman L. Direct Cardiac Actions of Sodium Glucose Cotransporter 2 Inhibitors Target Pathogenic Mechanisms Underlying Heart Failure in Diabetic Patients / Uthman L., Baartscheer A., Schumacher C.A., [et al.] // *Frontiers in Physiology*. — 2018. — V. 9. — P. 1575.

276. van Bommel E.J. Effects of dapagliflozin and gliclazide on the cardiorenal axis in people with type 2 diabetes/ van Bommel E.J., Smits M.M., Ruiter D., [et al.]// *Journal of Hypertension*. — 2020. — V. 38. — №. 9. — P. 1811–1819.

277. van Opbergen C.J.M. Mitochondrial dysfunction as substrate for arrhythmogenic cardiomyopathy: a search for new disease mechanisms/ van Opbergen C.J.M., den Braven L., Delmar M. [et al.]// *Frontiers in Physiology*. — 2019. — V. 10. — P. 1496.

278. Van Steenbergen A Sodium–myoinositol cotransporter–1, SMIT1, mediates the production of reactive oxygen species induced by hyperglycemia in the heart/ Van Steenbergen A., Balteau M., Ginion A., [et al.]// *Scientific Reports*. — 2017. — V. 27. — № 7. — P. 41166.

279. Vásquez-Trincado C. Mitochondrial dynamics, mitophagy and cardiovascular disease/ Vásquez-Trincado C., García-Carvajal I., Pennanen C. [et al.]// *The Journal of physiology*. — 2016. — V. 594. — №. 3. — P. 509–525.

280. Verma S. Empagliflozin increases cardiac energy production in diabetes: novel translational insights into the heart failure benefits of SGLT2 inhibitors/ Verma S., Rawat S., Ho K. L. [et al.]// *JACC: Basic to Translational Science*. — 2018. — V. 3. — № 5. — P. 575–587.

281. Verma S. Time to Benefit With Sotagliflozin in Patients With Worsening Heart Failure/ Verma S., Bhatt D.L., Dhingra N.K. [et al.]// *Journal of the American College of Cardiology*. — 2023. — № 81. — P. 1546–1549.

282. von Lewinski D. Can sodium glucose cotransporter 2 (SGLT–2) inhibitors be beneficial in patients with acute myocardial infarction? / von Lewinski D., Benedikt M., Tripolt N., [et al.]// *Kardiologia Polska*. — 2021. — V. 79. — № 5. — P. 503–509.

283. von Lewinski D. Empagliflozin in acute myocardial infarction: the EMMY trial/ von Lewinski D., Kolesnik E., Tripolt N.J. [et al.]// *European Heart Journal*. — 2022. — V. 43. — № 41. — P. 4421–4432.

284. Voors A.A. The SGLT2 inhibitor empagliflozin in patients hospitalized for acute heart failure: a multinational randomized trial/ Voors A.A., Angermann C.E., Teerlink J.R. [et al.]// *Nature medicine*. — 2022. — V. 28. — № 3. — P. 568–574.

285. Vrhovac I. Localizations of Na(+)-D–glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart/ Vrhovac I., Balen Eror D., Klessen D., [et al.]// *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. — 2015. — V. 467. — № 9. — P. 1881–1898.

286. Wang D. Cardioprotection of Panax Notoginseng saponins against acute myocardial infarction and heart failure through inducing autophagy/ Wang D., Lv L., Xu Y., [et al.]// *Biomedicine and Pharmacotherapy*. — 2021. — V. 136. — P. 111287.

287. Wang G.L. Hypoxia–inducible factor 1 is a basic–helix–loop–helix–PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension/ Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A. [et al.]// *Proceedings of the national academy of sciences*. — 1995. — V. 92. — № 12. — P. 5510–5514.

288. Wang G.L. Purification and characterization of hypoxia–inducible factor 1 (*)/ Wang G.L., Semenza G.L.// *Journal of biological chemistry*. — 1995. — V. 270. — № 3. — P. 1230–1237.

289. Wang X. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction/ Wang X., Guo Z., Ding Z.// *Journal of the American Heart Association*. — 2018. — V. 7. — № 9. — P. e008024.

290. Wang Z. Empagliflozin improves cardiac function in rats with chronic heart failure/ Wang Z., Liu Q., Wang X., [et al.]// *Naunyn–Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. — 2024. — V. 397. — № 2. — P. 1037–1044.

291. Watanabe K. Bisoprolol improves survival in rats with heart failure/ Watanabe K., Ohta Y., Inoue M. [et al.]// *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. — 2001. — V. 38. — № 1. — P. S55–S58.

292. Weidner K. Type 2 diabetes is independently associated with all-cause mortality secondary to ventricular tachyarrhythmias/ Weidner K., Behnes M. Schupp T., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2018. — V. 17. — P. 125.

293. Wiviott S.D. Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in Type 2 diabetes / Wiviott S.D., Raz I., Bonaca M.P. // *The New England Journal of Medicine*. — 2019. — № 380. — P. 347–357.

294. Wiviott S.D. The design and rationale for the Dapagliflozin Effect on Cardiovascular Events (DECLARE)–TIMI 58 Trial/ Wiviott S.D., Raz I., Bonaca M.P., [et al.]// *American Heart Journal*. — 2018. — V. 200. — P. 83–89.

295. Wu F. Low extracellular K^+ increases intracellular Ca^{2+} oscillation and injury by activating the reverse mode $Na^+–Ca^{2+}$ exchanger and inhibiting the Na^+ , K^+ ATPase in rat cardiomyocytes/ Wu F., Wei G.Z., Li W.J., [et al.]// *International Journal of Cardiology*. — 2010. — V. 140. — № 2. — P. 161–168.

296. Wu J.H. Effects of sodium–glucose cotransporter–2 inhibitors on cardiovascular events, death, and major safety outcomes in adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta–analysis/ Wu J.H., Foote C., Blomster J., [et al.]// *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. — 2016. — V. 4. — P. 41419.

297. Xia A. Cardioprotective effect of betulinic acid on myocardial ischemia reperfusion injury in rats/ Xia A., Xue Z., Li Y., [et al.]// *Evidence–Based Complementary and Alternative Medicine*. — 2014. — V. 2014. — P. 573745.

298. Xu W. NAD(+) metabolism as an emerging therapeutic target for cardiovascular diseases associated with sudden cardiac death/ Xu W., Li L., Zhang L.// *Frontiers in Physiology*. — 2020. — V. 11. — P. 90.

299. Xue G. Sodium–Glucose cotransporter 2 inhibitor empagliflozin decreases ventricular arrhythmia susceptibility by alleviating electrophysiological remodeling post–myocardial–infarction in mice/ Xue G., Yang X., Zhan G., [et al.]// *Frontiers Pharmacology*. — 2022. — V. 13. — P. 988408.

300. Ye Y. SGLT2 Inhibition with Dapagliflozin Reduces the Activation of the Nlrp3/ASC Inflammasome and Attenuates the Development of Diabetic Cardiomyopathy in Mice with Type 2 Diabetes. Further Augmentation of the Effects with Saxagliptin, a DPP4 Inhibitor/ Ye Y., Bajaj M., Yang H.C., [et al.]// *Cardiovascular Drugs and Therapy*. — 2017. — V. 2. — P. 119–132.

301. Yu Y.W. Phlorizin, a novel caloric restriction mimetic, stimulates hypoxia and protects cardiomyocytes through activating autophagy via modulating the Hif-1 α /Bnip3 axis in sepsis–induced myocardial dysfunction/ Yu Y.W., Chen X., Yan J.Y. [et al.]// *International Immunopharmacology*. — 2024. — V. 126. — P. 111241.

302. Yuan H.T. Peritubular capillary loss after mouse acute nephrotoxicity correlates with down–regulation of vascular endothelial growth factor–A and hypoxia–inducible factor–1 α / Yuan H.T., Li X.Z., Pitera J.E. [et al.]// *The American journal of pathology*. — 2003. — V. 163. — № 6. — P. 2289–2301.

303. Yurista S.R. Sodium–glucose co–transporter 2 inhibition as a mitochondrial therapy for atrial fibrillation in patients with diabetes?/ Yurista S.R., Silljé H.H.W., Rienstra M., [et al.]// *Cardiovascular Diabetology*. — 2020. — V. 19. — №. 1. — P. 5.

304. Yurista S.R. Sodium–glucose co–transporter 2 inhibition with empagliflozin improves cardiac function in non–diabetic rats with left ventricular dysfunction after myocardial infarction/ Yurista S.R., Silljé H.H.W., Oberdorf–Maass S.U., [et al.]// *European Journal of Heart Failure*. — 2019. — V.7. — P. 862–873.

305. Zak R. Mitochondrial proliferation in cardiac hypertrophy/ Zak R., Rabinowitz M., Rajamanickam C. [et al.]//Basic research in cardiology. — 1980. — V. 75. — № 1. — P. 171–178.

306. Zannad F. SGLT2 inhibitors in patients with heart failure with reduced ejection fraction: a meta-analysis of the EMPEROR-Reduced and DAPA-HF trials/ Zannad F., Ferreira J.P., Pocock S.J. [et al.]// The Lancet. — 2020. — V. 396. — № 10254. — P. 819–829.

307. Zelniker T. A. Effect of dapagliflozin on atrial fibrillation in patients with type 2 diabetes mellitus: insights from the DECLARE-TIMI 58 trial / Zelniker T. A., Bonaca M. P., Furtado R. H. [et al.]// Circulation. — 2020. — V. 141. — № 15. — P. 1227-1234.

308. Zelniker T.A. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials/ Zelniker T.A., Wiviott S.D., Raz I., [et al.]// Lancet. — 2019. — V. 393. — P. 31–39.

309. Zhang N. Dapagliflozin improves left ventricular remodeling and aorta sympathetic tone in a pig model of heart failure with preserved ejection fraction/ Zhang N., Feng B., Ma X., [et al.]// Cardiovascular Diabetology. — 2019. — V. 18. — P. 107.

310. Zhang Y. HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway-induced-autophagy plays protective role during myocardial ischemia-reperfusion injury/ Zhang Y., Liu D., Hu H., [et al.]// Biomedicine and Pharmacotherapy. — 2019. — V. 120. — P. 109464.

311. Zhou H. Empagliflozin rescues diabetic myocardial microvascular injury via AMPK-mediated inhibition of mitochondrial fission/ Zhou H., Wang S., Zhu P. [et al.]// Redox biology. — 2018. — V. 15. — P. 335-346.

312. Zhou L. Human cardiomyocytes express high level of Na⁺/glucose cotransporter 1 (SGLT1)/ Zhou L., Cryan E.V., D'Andrea M.R., [et al.]// Journal of Cellular Biochemistry. — 2003. — V. 90. — № 2. — P. 339–346.

313. Zhou Y. The Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Empagliflozin, Protects against Diabetic Cardiomyopathy by Inhibition of the Endoplasmic Reticulum

Stress Pathway/ Zhou Y., Wu W.// Cellular Physiology and Biochemistry. — 2017. — V. 41. — № 6. — P. 2503–2512.

314. Zhou Z. Effect of SGLT2 inhibitors on stroke and atrial fibrillation in diabetic kidney disease: results from the CREDENCE trial and meta-analysis/ Zhou Z., Jardine M. J., Li Q. [et al.]// Stroke. — 2021. — V. 52. — № 5. — P. 1545-1556.

315. Zinman B. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes/ Zinman B., Wanner C., Lachin J.M. [et al.]// The New England Journal of Medicine. — 2015. — V. 373. — № 22. — P. 2117–2128.

316. Zuurbier C. J. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin inhibits the cardiac Na⁺/H⁺ exchanger 1: Persistent inhibition under various experimental conditions/ Zuurbier C. J., Baartscheer A., Schumacher C. A [et al.]// Cardiovascular Research. — 2021. — V. 117. — № 14. — P. 2699-2701.