

# Физиология и фармакология инкретинов при лечении сахарного диабета 2 типа

Иене Дж. ХОЛСТ

Отдел биомедицинских научных исследований, Институт Рапит, Университет Копенгагена, Копенгаген, Дания

Перевод и публикация статьи *The physiology and pharmacology of incretins in type 2 diabetes mellitus* Jens J. Hoist из *Journal Compilation # 2008 Blackwell Publishing Ltd Diabetes, Obesity and Metabolism, 10 (Suppl. 3), 2008,14-21*, спонсированы компанией Ново Нордиск А/С

Право на перевод и публикацию получено от *Wiley Publishers, John Wiley & Sons, Ltd, Global Rights UK, 30 сентября 2008 г, номер контракта 0052177*

Два инкретиновых гормона - глюкозозависимый инсулиотропный полипептид и глюкагоноподобный пептид-1 служат для того, чтобы регулировать уровень глюкозы в крови в ответ на пероральный прием глюкозы, - этот эффект получил название инкретинового эффекта. Инкретины увеличивают плазменную концентрацию инсулина за счет нескольких механизмов, большинство из которых осуществляются опосредованно через рецепторы к ГИП и ГПП-1. Инкретины, воздействуя непосредственно на поджелудочную железу, стимулируют выброс инсулина, но также могут действовать и на клеточном уровне, увеличивая транскрипцию гена инсулина и его биосинтез. Инкретины могут снижать уровень гликемии и за счет «неинсулиновых» механизмов: путем замедления опорожнения желудка и снижения потребления пищи. При сахарном диабете 2 типа (СД2) эффект инкретинов уменьшен; в результате инсулиновая секреция снижается, а уровень глюкозы в крови растет. Тем не менее, действие инкретинов возможно восстановить у таких пациентов путем введения экзогенных инкретинов. Внутривенное введение ГПП-1 может стимулировать секрецию инсулина, снижать секрецию глюкагона и нормализовать уровень гликемии у больных с СД2, плохо поддающихся прежней терапии. Возможности такой терапии являются сейчас предметом детального исследования.

Первые печатные работы, говорящие о том, что в слизистой кишечника образуется фактор, способный стимулировать эндокринную часть поджелудочной железы, были опубликованы еще 100 лет назад [1]. В течение последних 30 лет было проведено множество испытаний, которые объяснили механизм регуляции синтеза и секреции, способ действия веществ, известных сегодня как инкретины. Как отмечает профессор Nauck [2], инкретины играют ключевую роль при СД2, и терапия, основанная на применении инкретинов, может помочь остановить прогрессирование этого тяжелого заболевания.

Инкретины - это кишечные гормоны, два наиболее мощных из которых называются «глюкозозависимый инсулиотропный полипептид» (ГИП) и «глюкагоноподобный пептид» (ГПП)-1. В табл. 1 даны результаты сравнения свойств и биологического действия этих двух инкретиновых гормонов [3]. Инкретины увеличивают плазменный уровень инсулина вслед за приемом пищи посредством нескольких механизмов, и этот процесс получил название «инкретинового эффекта».

Так, увеличенная секреция инсулина наблюдается после пероральной (как противоположность внутривенному) нагрузки глюкозой и отвечает за 80% выработки инсулина после приема глюкозы [4].

У лиц без диабета инкретиновый эффект обеспечивает поддержание физиологического уровня глюкозы в крови после приема углеводов вне зависимости от количества принятой пищи [4], так как инкретины способны усиливать секрецию инсулина поджелудочной железой в соответствии с потребностью организма. Однако у больных СД2 инкретиновый эффект ослабевает или вовсе исчезает [5].

Многочисленные положительные эффекты инкретинов и их существенный терапевтический потенциал (особенно ГПП-1) в отношении регуляции уровня гликемии привлекли значительный интерес ученых. Целью данного обзора является обобщение данных о физиологии и фармакологии инкретиновых гормонов и представление данных по дальнейшему изучению их роли у здорового человека и больного СД2.

ГИП	ГПП-1
<b>42 аминокислоты</b> Синтезируется К-клетками двенадцатиперстной и тощей кишки Инактивируется ДПП-4 в ЫНг-терминальной части Стимулирует глюкозозависимую секрецию инсулина Минимальный эффект в отношении опорожнения желудка Не влияет на секрецию глюкагона Не влияет на процесс насыщения и массу тела Способствует увеличению массы Р-клеток Секреция ГИП у больных диабетом сохранена Неполноценный инсулиотропный эффект у больных СД2 → не подходит для создания препаратов на его основе	<b>30/31 аминокислота</b> Синтезируется L-клетками тощей и подвздошной кишки Инактивируется ДПП-4 в ЫНг-терминальной части Стимулирует глюкозозависимую секрецию инсулина Замедляет опорожнение желудка Подавляет секрецию глюкагона Снижает количество потребляемой пищи и массу тела Способствует увеличению массы Р-клеток Секреция ГПП-1 у больных диабетом снижена Сохраненный инсулиотропный эффект у больных СД2 → подходит для создания препаратов на его основе

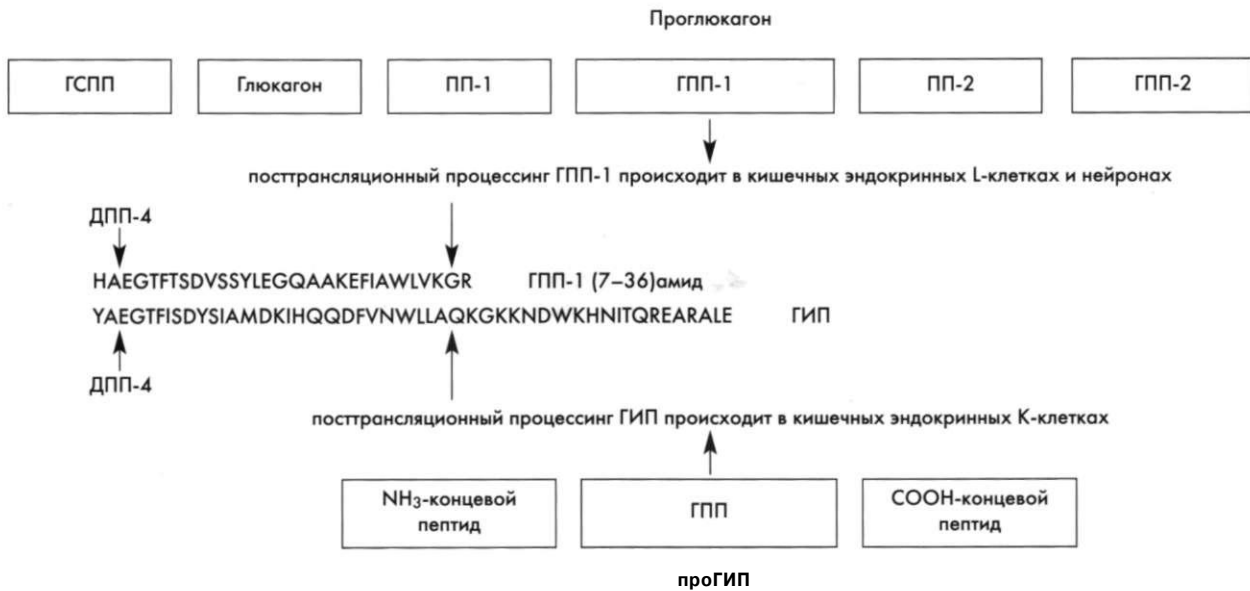


Рис. 1. Структура препроглюкагона и препроГИП, кодирующих глюкагоноподобный пептид (ГПП)-1 и глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид (ГИП) соответственно. Стрелка обозначает позицию дипептидилпептидазы (ДПП)-4 при расщеплении пептидов в позиции 2 (аланин). ГСПП - глицил-связанный панкреатический пептид; ПП - промежуточный пептид.

### Синтез и метаболизм инкретинов

ГИП - наиболее крупный из инкретинов - состоит из 42 аминокислот, ГПП-1 включает в себя 30. И ГИП, и ГПП-1 являются членами семейства глюкагоновых пептидов, синтезирующихся путем экспрессии проглюкагонового и проГИП генов, кодирующих ГПП-1 и ГИП соответственно, а также другие протеины (рис. 1).

Проглюкагоновый ген экспрессируется в  $\alpha$ -клетках поджелудочной железы, в кишечных L-клетках и клетках ствола головного мозга [6]. ГПП-1 высвобождается в двух формах: ГПП-1 (7-36)амид и ГПП-1 (7-37); первая составляет практически 80% циркулирующего ГПП-1 [7]. Экспрессия ГИП гена происходит в некрупных K-клетках, преимущественно находящихся в проксимальной части кишечника. Некоторые клетки могут синтезировать как ГИП, так и ГПП-1.

Как ГПП-1, так и ГИП подвергаются расщеплению ферментом дипептидилпептидазой (ДПП)-4 в позиции 2 (аланин) [9,10] (рис. 1). После секреции ГПП-1 и ГИП быстро расщепляются ДПП-4; ГПП-1 разрушается, еще не покинув кишечник, так как ДПП-4 присутствует на поверхности эндотелиальных клеток капилляров слизистой. ГИП более устойчив к действию ДПП-4, поэтому покидает кишечник в неизменном виде [11].

### Факторы, влияющие на секрецию инкретинов

Высвобождение ГПП-1 и ГИП зависит от пищевых, неврогенных и гормональных факторов и происходит сразу же вслед за приемом пищи: значительное увеличение концентрации инкретинов отмечается через 10-15 минут [12]. Результаты показали, что секреция ГПП-1 и ГИП стимулируется всасыванием жиров, углеводов и только для ГПП-1 - протеинов [13]. Более того, простого контакта этих нутриентов со слизистой кишечника достаточно для высвобождения инкретиновых гормонов из K- и L-клеток, что приводит к быстрому подъему уровня инсулина в крови [14]. Уже отмечалось, что подъем плазменной концентрации ГПП-1 происходит слишком быстро, чтобы быть следствием прямой активации L-клеток; большинство из этих клеток расположены в дистальной части

тонкой кишки, поэтому для того, чтобы нутриенты достигли этого уровня и вызвали подъем ГПП-1, потребовалось бы больше времени. Альтернативной теорией, объясняющей время высвобождения инкретинов из K- и L-клеток, является теория неврогенной регуляции. Активация холинергических мускариновых,  $\beta$ -адренергических и пептидергических (субстраты - нейропептид, гастрин-высвобождающий пептид) рецепторов, находящихся на поверхности L-клеток, вызывает секрецию ГПП-1 [14, 15]; однако данных, подтверждающих наличие вагусного влияния на функцию L-клеток, очень мало активация симпатической нервной системы вовсе ингибирует секреторную функцию L-клеток [6].

Третьим фактором, оказывающим влияние на раннюю фазу инкретиновой секреции, является паракринное влияние соматостатина, высвобождаемый из соседних D-клеток кишечника, подавляет секрецию инкретинов [14], а угнетен» действия соматостатина (посредством иммунонейтрализации) вызывает резкий подъем уровня ГПП-1 [16]. Сам по себе ГИП в высоких дозах стимулирует выработку ГПП-1 L-клетками [17,18], хотя наличие этого эффекта у человека не было доказано [19].

### Фармакология инкретиновых рецепторов

Эффекты ГПП-1 и ГИП опосредуются через рецепторы связанные с G-белком [20]. Рецепторы к ГПП-1 (rГПП-1) были найдены в ряде тканей, в том числе в островках поджелудочной железы, почках, сердце, желудке, легких, а также периферической и центральной нервной системе. Соединение rГПП-1 с ГПП-1 вызывает конформационные изменения молекуле рецептора, что активирует специфический G-белок и способствует увеличению уровня циклического АМФ (цАМФ). Подъем концентрации цАМФ активирует два класса цАМФ-связывающих протеинов: протеинкиназа А (ПКА) и Эпак [21]. Эпак - это сравнительно недавно открыты цАМФ-связывающий протеин, который в ответ на повышение уровня цАМФ в (3-клетке вызывает быстрый кальций-зависимый экзоцитоз инсулина [21].

Человеческий rГИП существует в двух изоформах и находится не только в островковых клетках, но и в жировой ткани и головном мозге. Как и rГПП-1, так и rГИП опосредуют св

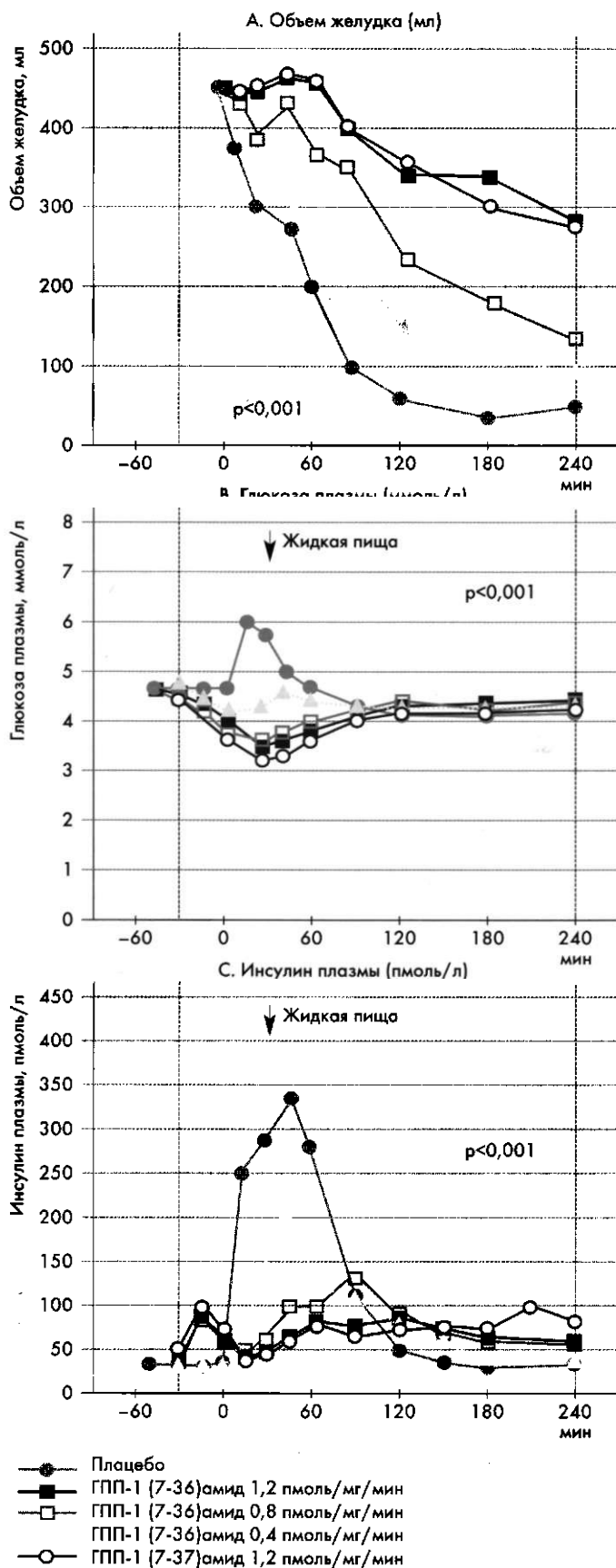


Рис. 2. У здоровых добровольцев степень опорожнения желудка (А) и уровень глюкозы плазмы (В) снижаются по мере увеличения дозы глюкагоноподобного пептида (ГПП)-1 (7-36) амида, в то время как секреция инсулина (С) возрастает [28]

действие через аценилатциклазу, что приводит к увеличению внутриклеточного уровня цАМФ. Так же, как и при стимуляции рГПП-1, при стимуляции рГИП активируются МАП-киназа, фосфолипаза А2 и фосфатидилинозитол 3-киназа/ПК В.

### Модели действия инкретиннов

Стимуляции внутриклеточных путей через рГПП-1 и рГИП могут иметь синергичные или антагонистические модели действия.

ГПП-1 обладает множественным влиянием на определенные ткани и эндокринную часть поджелудочной железы, но его принципиальным действием является потенцирование глюкозозависимой секреции инсулина [22-25]. Увеличенные уровни внутриклеточного цАМФ стимулируют ПК А, что приводит к экзоцитозу инсулиновых гранул из р-клеток. Повышение уровня цАМФ, таким образом, является первичным медиатором ГПП-1 индуцированной секреции инсулина [26]. ГПП-1 также усиливает транскрипцию гена инсулина, биосинтез инсулина и способствует (β-клеточной) пролиферации через активацию рГПП-1 [27]. В отличие от ГИП, ГПП-1 при действии на α-клетки вызывает снижение секреции глюкагона [25].

ГПП-1, как и ГИП, так же потенцирует глюкозозависимую секрецию инсулина при помощи внутриклеточных путей. ГИП также усиливает транскрипцию гена инсулина и его биосинтез, а также снижает уровень β-клеточного апоптоза; тем не менее, первостепенным эффектом инкретиннов на β-клетки является увеличение выброса инсулина, что приводит к снижению уровня глюкозы в крови.

В желудке ГПП-1 стимулирует рГПП-1, благодаря чему замедляется опорожнение желудка. Достигается это путем сложного механизма активации афферентных волокон блуждающего нерва и торможения прохождения импульса по эфферентным [6]. Исследование на здоровых добровольцах показало, что при внутривенном введении ГПП-1 вызывает дозозависимое снижение скорости опорожнения желудка (рис. 2) [28].

В результате, постпрандиальный уровень глюкозы в крови был снижен вплоть до базального уровня. Стимулированный приемом пищи подъем концентрации инсулина также не наблюдался.

В недавнем исследовании был изучен эффект рГПП-1 стимулированного торможения опорожнения желудка на фоне антагонизма с эритромицином (антибиотиком и прокинетиком, который увеличивает сокращения гладкой мускулатуры и ускоряет прохождение пищи по желудочно-кишечному тракту). При назначении эритромицина инсулиновый ответ совпадал с таковым без введения ГПП-1 [29]. Современная позиция заключается в том, что снижение постпрандиальной концентрации глюкозы при назначении ГПП-1 достигается преимущественно за счет торможения опорожнения желудка (возможно, путем вовлечения блуждающего нерва), а не только благодаря увеличению синтеза инсулина поджелудочной железой.

Тогда как ГИП не имеет известных сердечно-сосудистых эффектов, рГПП-1 были обнаружены в сердце, что нашло свое применение. Исследования, посвященные изучению мышей, лишенных рГПП-1, выявили у них сниженную сократимость левого желудочка и диастолическую дисфункцию [30], а испытания на собаках показали, что введение ГПП-1 может улучшить сердечную функцию у животных с сердечной недостаточностью [31], усиливая сердечный выброс. На животных с ишемией миокарда была продемонстрирована способность ГПП-1 уменьшать размер инфаркта, что говорит о возможной кардиопротективной роли этого инкретина [32].

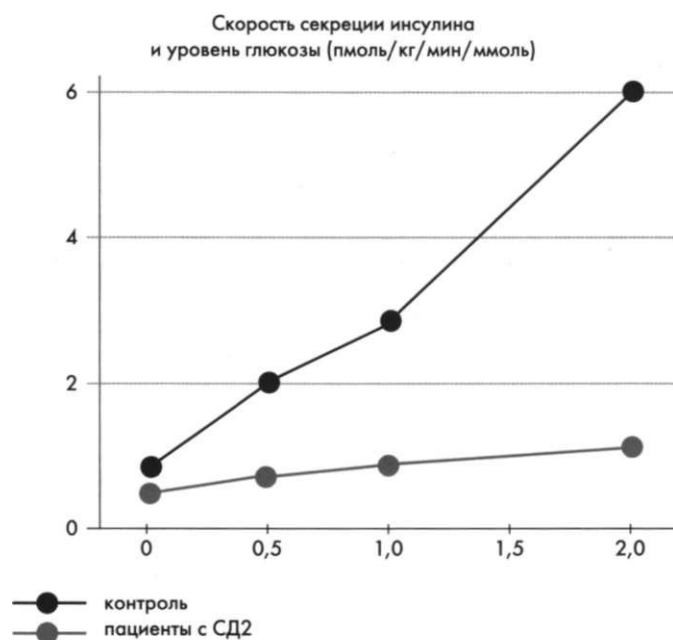


Рис. 3. Дозозависимый эффект глюкагоноподобного пептида (ГПП-1) на чувствительность р-клеток к глюкозе [оценен для каждой дозы ГПП-1 как наклон кривой между показателями скорости секреции инсулина (ССИ) и уровня глюкозы] у пациентов с СД2 и здоровых лиц из группы контроля. График показывает снижение активности ГПП-1 у пациентов [38]

Так как рГПП-1 были найдены в ядрах гипоталамуса, отвечающих за процесс насыщения, то воздействие на рГПП-1 в головном мозге может влиять на пищевое поведение. У крыс введение ГПП-1 в желудочки мозга способствовало уменьшению времени приема пищи и ее количества, в то время как противоположный эффект наблюдался при назначении антагонистов ГПП-1 [33, 34]. Последующие испытания показали, что центральное введение ГПП-1 агонистов вызывает уменьшение кратковременных приемов пищи и воды тем самым снижая вес тела [34, 35]. Агонисты рГПП-1 при периферическом их назначении способны регулировать вес тела у человека, способствуя насыщению и уменьшая количество потребленной пищи, что было доказано на здоровых лицах, а также больных диабетом и ожирением [6].

Как ГИП, так и ГПП-1 обладают дополнительным сахароснижающим эффектом, не связанным с влиянием на поджелудочную железу и желудок. В печени ГПП-1 ингибирует продукцию глюкозы и способствует усвоению глюкозы жировой и мышечной тканью, но эти эффекты вторичны по отношению к регуляции секреции инсулина и глюкагона [6].

### Сниженный инкретиновый эффект является следствием сахарного диабета 2 типа

Инкретиновые гормоны ответственны за множество биологических эффектов у лиц без диабета, хотя их основным действием является снижение уровня глюкозы в крови. У пациентов с СД2 инкретиновый эффект значительно снижен [5] (явление, которое также наблюдается при других метаболических нарушениях, таких как ожирение и инсулинорезистентность [36]). Отсутствие инкретинового эффекта ведет за собой снижение инсулинового ответа на прием углеводов и, соответственно, увеличение уровня глюкозы в крови.

Что остается непонятным, так это причина ослабления инкретинового эффекта у больных с СД2. Что же нарушает-

ся: секреция инкретиновых гормонов или их действие? Исследования у людей показали, что секреция ГПП-1 у больных СД2 снижена по сравнению с лицами с нормальным метаболизмом углеводов [37]. В течение 4-часового теста, измеряющего концентрацию ГПП-1, площадь под кривой через 240 минут после приема пищи у пациентов с СД2 была значительно ниже, чем у лиц с нормальной толерантностью к глюкозе, что, по-видимому, является следствием заболевания [37]. Это же исследование выявило несильное, но ощутимое снижение концентрации ГИП у больных с СД2 в отличие от лиц с нормальной толерантностью к глюкозе.

Чтобы лучше понять, как изменяется инкретиновый ответ у пациентов с СД2, мы должны обратиться к ряду исследований Кjemis и соавт. [38]. Влияние различных доз ГПП-1 на чувствительность Р-клеток к глюкозе у пациентов с СД2 и в группе контроля определялось путем измерения предпеченочного уровня инсулина после нарастающей инфузии глюкозы и ГПП-1. В исследовании обнаружилось, что у пациентов с СД2, несмотря на то, что чувствительность р-клеток к глюкозе возрастала при увеличении дозы ГПП-1 и потенциально могла достигнуть нормальных значений, активность инкретинового эффекта ГПП-1 была существенно снижена у больных с СД2 (рис. 3).

Влияние ГИП на секрецию инсулина также изучалась у пациентов, страдающих СД2. В ранних исследованиях Nausck и соавт. [39] продемонстрировали, что в отличие от ГПП-1, способного вызвать практически нормальный инсулиновый ответ в ходе гипергликемического клэмпа, ГИП обладал очень малой активностью. В более поздних испытаниях Visboll и соавт. [40] доложили о результатах исследования, посвященного эффекту болюсной дозы ГИП или ГПП-1 (для изучения ранней фазы инсулиновой секреции) и продолжительного введения ГИП или ГПП-1 (для оценки поздней фазы инсулинового ответа). И ранняя, и поздняя фаза инсулинового ответа нарушены у пациентов с СД2. Результаты данного исследования показали, что болюсное назначение и ГИП, и ГПП-1 усиливало раннюю фазу инсулиновой секреции, в то время, как на поздний ответ ГИП никак не влиял (введение ГПП-1 нормализовало его). Авторы предположили, что такой дефектный ответ на введение ГИП связан с потерей инкретинового эффекта у больных с СД2 и что возможная причина недостаточности этого эффекта находится на пострецепторном уровне [40].

До недавнего времени оставалось непонятным, являлся ли недостаточный инкретиновый эффект причиной или следствием сахарного диабета 2 типа. Последние работы ставили перед собой цель ответить на этот вопрос путем сравнения характера снижения инкретинового ответа у пациентов с СД, но не 2 типа (хронический панкреатит и вторичный диабет, хронический панкреатит и нормальная толерантность к глюкозе), у больных с СД2 и у здоровых лиц [41]. Инкретиновый эффект был значительно снижен у лиц с СД, но не 2 типа, по сравнению со здоровыми лицами, поэтому последовал вывод о том, что нарушение инкретинового ответа является следствием диабета, а не исходной патологией.

В итоге следует отметить, что сниженный инкретиновый эффект у пациентов с СД2 связан как с уменьшением секреции ГПП-1, так и с дефектным ответом на ГИП и ГПП-1 и, вероятнее всего, этот феномен является скорее следствием, а не причиной развития СД2.

### Восстановление инкретинового ответа при помощи экзогенных инкретиновых гормонов

Обнаружение сниженного инкретинового ответа у больных с СД2 привело к идее использования экзогенных инкретиновых гормонов в качестве терапии данного заболевания. Хотя экзогенный ГПП-1 может нормализовать индуцированную глюкозой секрецию инсулина, экзогенный ГИП не обла-

Таблица 2

Эффекты ГПП-1 и ГПП-1 агонистов на $\beta$ -клетки (по данным исследования на животных моделях и in vitro)	
Процесс	Влияние ГПП-1
Экспрессия гена проинсулина Биосинтез проинсулина Пролиферация $\beta$ -клеток Неогенез $\beta$ -клеток Апоптоз $\beta$ -клеток	!

дает инсулинотропным действием [39], поэтому ГПП-1 остается единственной терапевтической возможностью. Nauck с соавт. показали, что при внутривенном введении ГПП-1 (7-36)амида стимулировалась секреция инсулина, уменьшалась секреция глюкагона и нормализовался плазменный уровень глюкозы в крови у больных с СД2, с плохим контролем уровня гликемии [39]. Для оценки потенциала ГПП-1 в лечении сахарного диабета были изучены результаты 6-недельного подкожного введения ГПП-1 недостаточно компенсированным пациентам с СД2 [42]. Результаты показали, что и средний уровень глюкозы крови, и концентрация глюкозы натощак были существенно уменьшены, а показатель HDAIC снизился на 1,3%. Более того, наблюдалось торможение опорожнения желудка, снижение массы тела (предположительно из-за снижения аппетита), увеличение чувствительности к инсулину и усиление секреции  $\beta$ -клеток. При введении ГПП-1 не было отмечено никаких существенных побочных эффектов.

Улучшение гликемических показателей после назначения ГПП-1 может быть результатом восстановления нормальной функции  $\beta$ -клеток. В самом деле, испытания in vitro говорят о том, что  $\beta$ -клетки, резистентные к глюкозе, становятся после введения ГПП-1 «глюкозокомпетентными» - термин, используемый для описания функционального состояния  $\beta$ -клеток, чувствительных к глюкозе и в конечном счете секретирующих инсулин [43]. В табл. 2 обобщены преимущества ГПП-1 в отношении  $\beta$ -клеток.

### Терапевтический потенциал

Способность ГПП-1 вызывать значительное улучшение показателей гликемического контроля обладает очевидным потенциалом для лечения СД2, однако использование нативного ГПП-1 невозможно в связи с определенными фармакологическими особенностями. Например, нативный ГПП-1 быстро разрушается ферментом DPP-4 in vivo, имея период полужизни только 1,5-2 минуты. Более того, неустойчивая пептидная природа инкретинов и, соответственно, инкретиномиметиков делает невозможным назначение этих препаратов перорально. Сейчас существует два подхода к решению этих проблем: назначение DPP-4 ингибиторов или инкретиномиметиков, устойчивых к разрушению DPP-4. Информация по эффективности и устойчивости этих препаратов дана в статье доктора Garber этого выпуска [44].

### Заключение

Продолжающиеся исследования выявляют все новые и новые свойства инкретинов, имеющие принципиальное значение в нормальной физиологии человека, однако у больных СД2 инкретиновый эффект значительно снижен. Это заболевание характеризуется пониженной секрецией ГПП-1 и уменьшенной чувствительностью  $\beta$ -клеток к этому гормону, а также практически полной потерей инсулинотропного эффекта ГИП. Тем не менее, экзогенное введение супрафизиологических концентраций ГПП-1 (но не ГИП) может восстановить инкретиновый эффект у пациентов с СД2, поэтому препараты, основанные на ГПП-1, имеют большой терапевтический потенциал.

В настоящее время в клиническую практику лечения больных СД2 входят несколько препаратов, основанных на инкретиновых гормонах, и данная терапия в скором будущем может изменить наше представление о лечении этого заболевания.