

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА GPR119 НА ВЫРАБОТКУ ИНСУЛИНА И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ У ИНТАКТНЫХ И ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Д. В. Куркин, Д. А. Бакулин, Е. В. Волотова, И. Н. Тюренков

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии и биофармации ФУВ*

В работе показано, что гипогликемическое действие агониста рецептора GPR119 – соединения ZB-16 является инкретинопосредованным и реализуется через повышение секреции инсулина при глюкозной нагрузке. Курсовое введение ZB-16 снижает толерантность к глюкозе и индекс инсулинорезистентности в условиях сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, инсулин, GPR119, ZB-16, дипиарон, крысы.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-60-63

INFLUENCE OF GPR119 RECEPTOR AGONIST ON INSULIN PRODUCTION AND INSULIN RESISTANCE IN INTACT RATS AND RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

D. V. Kurkin, D. A. Bakulin, E. V. Volotova, I. N. Tyurenkov

*Volgograd State Medical University,
Department of Pharmacology and Biopharmacy*

Hypoglycemic action of ZB-16, a novel GPR119 receptor agonist, is incretin-mediated and involves increased secretion of insulin in response to a glucose load. The administration of ZB-16 reduces glucose tolerance and insulin resistance index in rats with type 2 diabetes mellitus.

Key words: diabetes, insulin, GPR119, ZB-16, dipiaron, rats.

Число зарегистрированных пациентов с сахарным диабетом (СД) в России составляет более 4,35 млн человек (на конец 2016 г.), при этом реальное количество больных может превышать эту цифру в 2 раза (около 6 % населения) [1].

При развитии СД 2 типа (СД 2), по мере развития инсулинорезистентности и истощения β -клеток, увеличивается толерантность к глюкозе и развивается гипергликемия натощак и преддиабет переходит в СД 2 [6].

Развитие СД 2 сопровождается снижением выработки инкретинов, которые в норме обеспечивают до 50–70 % постпрандиальной секреции инсулина и улучшают функциональное состояние эндокринной части поджелудочной железы, стимулируя пролиферацию и подавляя апоптоз бета-клеток. Поэтому в последние годы активно развивается новая группа гипогликемических препаратов, влияющих на систему инкретинов: агонисты рецепторов ГПП-1 и ингибиторы ДПП-4 [4, 6].

Открытие рецептора GPR119, локализованного на L- и K-клетках кишечника и β -клетках поджелудочной железы, сделало возможным реализацию нового подхода в регуляции работы системы инкретинов. Активация GPR119 приводит к повышению синтеза и секреции эндогенных инкретинов и повышению глюкозозависимой секреции инсулина, а создание агонистов GPR119 рассматривается в качестве перспективного подхода в разработке новой группы гипогликемических препаратов [3, 6, 8].

В настоящее время агонисты GPR119 активно изучаются в качестве средств для лечения ожирения и СД 2, оценивается их влияние на секрецию инкретинов и инсулина, функциональное состояние β -клеточного аппарата, а также эндотелиальную дисфункцию и риск сосудистых осложнений при СД [4, 7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка влияния агониста рецептора GPR119 – соединения ZB-16 на выработку инсулина и инсулинорезистентность у интактных и животных с экспериментальным сахарным диабетом.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 90 крысах-самках линии Wistar массой 240–260 г (ФГУП ПЛЖ «Рапполово», Ленинградская область, РФ). Исследование было одобрено Региональным независимым этическим комитетом (ГУ Волгоградский Медицинский Научный Центр) (протокол № 191-2014 от 25 февраля 2014).

Соединение ZB-16 (дипиарон), синтезированное в ЗАО ИИХР (Химки, Россия), представляет собой селективный агонист рецептора GPR119 ($EC_{50} = 7,25 \text{ нМ}$), который по результатам ряда экспериментов обладает выраженной гипогликемической активностью в дозе 1 мг/кг [2].

Настоящее исследование проводилось на интактных и животных с экспериментальным сахарным диабетом (ЭСД), $n = 10$. У интактных животных изучаемые

параметры оценивались после однократного, а у животных с ЭСД – после курсового (4 нед.) введения соединения ZB-16.

Экспериментальный СД моделировался путем внутрибрюшинного введения никотинамида (230 мг/кг) и стрептозоцина (65 мг/кг) с интервалом 15 мин [5]. Через 3 суток оценивался уровень гликемии натощак (после 6 ч голодания) глюкометром Контрур ТС (Bayer, Германия) и формировались группы с ЭСД, сопоставимые по среднему и медианному уровню глюкозы (критерий включения: 8–14 ммоль/л).

Уровень инсулина в крови определялся методом ИФА с использованием набора Mercodia Rat Insulin ELISA (Mercodia, Швеция).

На основании уровня гликемии и инсулина, рассчитывался индекс НОМА-IR: $\text{НОМА} = \text{Insulin} \{ \text{mU/l} \} \times \text{Glucose} \{ \text{mg/dl} \} + \log \{ \text{Insulin} \{ \text{mU/ml} \} \}$, который позволяет оценить инсулинорезистентность.

Действие инсулина *in vivo* оценивалось непрямими (пероральный тест на толерантность к глюкозе (ПТТГ) и внутривенный тест на толерантность к глюкозе (ВВТТГ)) и прямыми (инсулиновый тест толерантности (ИТТ)) методами [5].

Статистическую обработку проводили с использованием критериев Шапиро-Уилка и *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Значимыми признавались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя 4 недели после моделирования ЭСД в группе без лечения наблюдался высокий уровень гликемии натощак и выраженное нарушение толерантности к глюкозе (табл.). В группе ZB-16 уровень гликемии натощак и значение AUC были ниже, чем в контрольной на 19 % и 35 %.

При проведении ПТТГ оценивался уровень инсулина до и через 15 минут после введения глюкозы. В контрольной группе уровень инсулина натощак на 18 % был ниже, по сравнению с интактной, при этом в группе, получавшей ZB-16, уровень инсулина до глюкозной нагрузки был незначимо выше (табл.). Это можно объяснить тем, что для агонистов GPR119, как и для средств с инкретиновой активностью, характерно глюкозозависимое повышение секреции инсулина.

Через 15 минут после введения глюкозы в контрольной группе прирост инсулина составил +53,6 % (табл. 1). В опытной группе, получавшей ZB-16, абсолютный уровень инсулина был ниже такового в интактной, но относительный прирост в данных группах был сопоставим: +69,7 % и +70,6 % соответственно. Подобный эффект может быть связан как с прямым действием агониста GPR119 на β -клетки, так и посредством повышения инкретинового эффекта.

В группе, получавшей соединение ZB-16, наблюдалась тенденция к снижению индекса инсулинорезистентности (НОМА) (табл.).

Показатели углеводного обмена у животных при проведении ПТТГ через 4 недели терапии

Показатель	Интакт	ЭСД	ZB-16
Уровень гликемии, ммоль/л	4,2 ± 0,1	9,9 ± 0,5 [#]	8,0 ± 0,2*
AUC при ПТТГ, ммоль/л*мин	601,8 ± 3	1914,8 ± 47,0 [#]	1237,9 ± 34,0*
Инсулин, нг/мл	1,53 ± 0,08	1,25 ± 0,15 [#]	1,45 ± 0,30
Инсулин на 15 мин при ПТТГ, нг/мл	2,61 ± 0,13	1,92 ± 0,13 [#]	2,46 ± 0,14*
НОМА	6,70 ± 0,25	9,50 ± 1,08 [#]	8,60 ± 1,05

Примечание. ЭСД – группа животных с экспериментальным сахарным диабетом без лечения; AUC при ПТТГ – площадь под кривой «уровень гликемии-время» при проведении перорального теста на толерантность к глюкозе (ПТТГ); НОМА – индекс инсулинорезистентности.

[#]Различия достоверны по отношению к группе Интакт ($p < 0,05$); *различия достоверны по отношению к группе ЭСД ($p < 0,05$).

Таким образом, несмотря на сниженный базальный уровень инсулина, в группе, получавшей ZB-16, его относительная глюкозозависимая секреция была на уровне здоровых животных, что особенно важно для установления контроля за постпрандиальной гипергликемией.

Для оценки влияния инкретинового эффекта на выраженность гипогликемического действия ZB-16 был проведен пероральный и внутривенный тест на толерантность к глюкозе на интактных животных. Опытная группа получила соединение ZB-16 однократно за 2 часа до теста.

После внутривенного введения глюкозы уровень гликемии в обеих группах возрастал в среднем до 9–11 ммоль/л, при этом у животных, получавших предварительно ZB-16, максимальный прирост был несколько меньше (+80 %), чем у интактных (+94,7 %), но различия не достигали статистической значимости (рис. 1А).

При пероральном введении глюкозы в интактной группе через 60 мин наблюдался выраженный прирост уровня гликемии (+34,8 % на пике), при этом в опытной группе, получившей ZB-16, пик практически не наблюдался и на 60 мин прирост составил (+6,6 %) (рис. 1Б).

Таким образом, полученные данные показывают, что введение соединения ZB-16 более выраженно ограничивает пик гликемии при пероральном введении глюкозы, что указывает на значительный вклад инкретинового эффекта в реализацию гипогликемического действия ZB-16.

Для оценки влияния ZB-16 на чувствительность к инсулину был проведен ИТТ на интактных и животных с ЭСД.

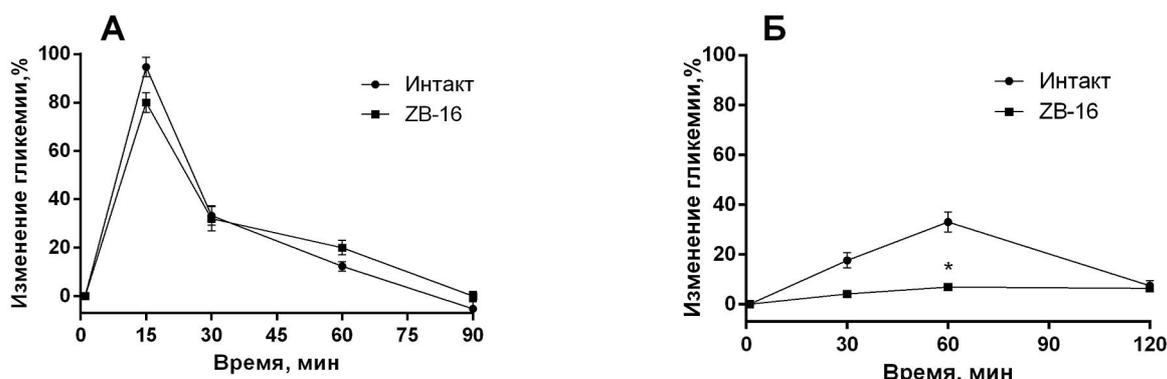
После введения инсулина интактным животным в контрольной группе наблюдалось повышение уровня гликемии с 60 по 180 мин, и в опытной группе на 120 и 180 мин теста наблюдался значимо меньший уровень гликемии (рис. 2А). Таким образом, ZB-16 пролонгирует

действие инсулина, что может быть связано либо с увеличением его секреции или с увеличением чувствительности тканей к нему.

На животных с ЭСД, сахароснижающий эффект тех же доз инсулина (30 минут) выражен меньше, чем у животных без ЭСД (рис. 2Б), что может быть связано с формирующейся инсулинорезистентностью. У животных, получавших соединение ZB-16 в течение 4 недель,

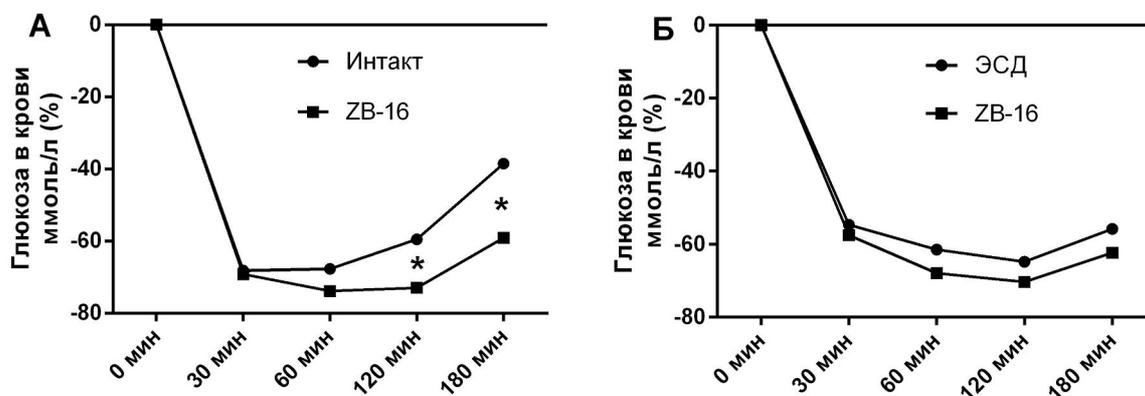
эффекты экзогенного инсулина были более выраженными по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, при курсовом введении ZB-16 животным с ЭСД и формирующейся инсулинорезистентностью, тенденция к потенцированию эффектов экзогенного инсулина выражена существенно меньше, что может быть связано со снижением инсулин-секретирующей функции поджелудочной железы.



*Достоверно по отношению к группе Интакт ($p < 0,05$).

Рис. 1. Влияние агониста GPR119 рецептора – соединения ZB-16 на изменение уровня гликемии (%) в условиях внутривенного (А) и перорального (Б) теста на толерантность к глюкозе у интактных крыс



*Достоверно по отношению к группе Интакт ($p < 0,05$).

Рис. 2. Динамика уровня гликемии (%) при проведении инсулинового теста толерантности (ИТТ) на интактных (А) и животных с ЭСД (Б)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Гипогликемическое действие агониста рецептора GPR119 является инкретинопосредованным и реализуется через повышение секреции инсулина при глюкозной нагрузке.

2. Курсовое введение соединения ZB-16 снижает толерантность к глюкозе и индекс инсулинорезистентности при глюкозной нагрузке в условиях экспериментального СД.

3. Соединение ZB-16 пролонгирует и потенцирует действие экзогенного инсулина, при однократном введении интактным животным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным

сахарным диабетом. 8-й выпуск // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 1S. – С. 1–121.

2. Иващенко А.В., Иващенко А.А., Кравченко Д.В. и др. Замещенные 4-[[4-(3,3-диоксидо-1,3-бензоксатиол-6-ил)арилокси]метил] пиперидины как агонисты рецепторов GPR119, фармацевтическая композиция, способы их получения и применения. Патент на изобретение RU 2576037 28.11.2014

3. Куркин Д.В., Волотова Е.В., Бакулин Д.А. и др. Влияние нового агониста рецептора GPR119 соединения ZB-16 на коагуляционный гемостаз крыс при экспериментальном сахарном диабете // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2016. – № 1 (57). – С. 48–51.

4. Куркин Д.В., Волотова Е.В., Бакулин Д.А. и др. Система инкретинов как перспективная фармакологическая мишень для сахароснижающей терапии // Фарматека. – 2016. – № 5. – С. 45–50.

5. Сласов А.А., Воронкова М.П., Снугур Г.Л. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению пе-

поральных лекарственных средств для лечения сахарного диабета // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: под ред. А.Н. Миронова. – Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 670–684.

6. Спасов А.А., Челляева Н.И. Потенциал фармакологической модуляции уровня и активности инкретинов при сахарном диабете типа 2 // Биомедицинская химия. – 2015. – Т. 61, № 4. – С. 488–496.

7. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Кардиоваскулярные эффекты инкретиномиметиков и их терапевтический потенциал // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2017. – Т. 72, № 1. – С. 66–75.

8. Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Бакулин Д.А. и др. Сравнение гипогликемической активности нового агониста GPR119 и ингибитора ДПП-4 ситаглиптина // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, № 1. – С. 38–43.

REFERENCES

1. Dedov I.I., Shestakova M.V., Majorov A.Ju. i dr. Algoritmy specializirovannoj medicinskoj pomoshhi bol'nym saharным diabetom. 8-j vypusk [Algorithms of specialized medical care for patients with diabetes mellitus] *Saharnyj diabet.* 2017, T.20, no1S, S.1-121 (In Russ.)

2. Ivashhenko A.V., Ivashhenko A.A., Kravchenko D.V. i dr. Zameshennyye 4-{[4-(3,3-dioksido-1,3-benzoksatiol-6-il)ariloksi]metil} piperidiny kak agonisty receptorov GPR119, farmacevticheskaja kompozicija, sposoby ih poluchenija i primenenija. Patent na izobrenie RUS 2576037 28.11.2014.

3. Kurkin D.V., Volotova E.V., Bakulin D.A. i dr. Vlijanie novogo agonista receptora GPR119 soedinenija ZB-16 na koaguljacionnyj gemostaz kryс pri jeksperimental'nom saharном diabete [The effect

of the novel GPR11 receptor agonist compound ZB-16 on coagulation hemostasis in rats with experimental diabetes mellitus] *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta.* 2016, no1(57), S.48-51 (In Russ.)

4. Kurkin D.V., Volotova E.V., Bakulin D.A. i dr. Sistema inkretinov kak perspektivnaja farmakologicheskaja mishen' dlja saharosnizhajushhej terapii [The system of incretins as a promising pharmacological target for hypoglycemic therapy] *Farmateka.* 2016, no5, S.45-50 (In Russ.)

5. Spasov A.A., Voronkova M.P., Snigur G.L. i dr. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniju peroral'nyh lekarstvennyh sredstv dlja lechenija saharного diabeta [Methodical recommendations on the preclinical study of oral medications for the treatment of diabetes mellitus] *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv:* pod red. A.N. Mironova. Ch. 1. M.: Grif i K, 2012, S.670-684 (In Russ.)

6. Spasov A.A., Chepljaeva N.I. Potencial farmakologicheskoy moduljacii urovnja i aktivnosti inkretinov pri saharном diabete tipa 2 [Potential for pharmacological modulation of the level and activity of incretins in type 2 diabetes mellitus] *Biomedicinskaja himija.* 2015, T.61, no4, S.488-496 (In Russ.)

7. Tjurenkov I.N., Bakulin D.A., Kurkin D.V., Volotova E.V. Kardiovaskuljarnye jeffekty inkretinomimetikov i ih terapevticheskij potencial [Cardiovascular effects of incretinomimetics and their therapeutic potential] *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk.* 2017, T.72, no1, S.66-75. (In Russ.)

8. Tjurenkov I.N., Kurkin D.V., Bakulin D.A. i dr. Sravnenie gipoglikemicheskoj aktivnosti novogo agonista GPR119 i ingibitora DPP-4 sitagliptina [A comparison of the hypoglycemic activity of the novel agonist GPR119 and the inhibitor of DPP-4 sitagliptin] *Problemy jendokrinologii.* 2016, T.62, no1, S.38–43 (In Russ.)

Контактная информация

Куркин Денис Владимирович – к. фарм. н., ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: strannik986@mail.ru