

Новый мономерный тройной агонист излечивает ожирение и сахарный диабет у грызунов
Андреева С.И.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

A new monomeric triagonist corrects obesity and diabetes in rodents

Andreeva S.I.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya st., Moscow, Russia, 119991

DOI: 10.14341/OMET2015163-65

В настоящее время ожирение и сахарный диабет 2 типа (СД2) представляют собой глобальную угрозу для здоровья человечества и быстро увеличивающуюся нагрузку на мировое экономическое развитие. Первый и, как правило, основной метод лечения — модификация образа жизни — не всегда является эффективным, поэтому приходится прибегать ко второму этапу, а именно лекарственной терапии. Однако, несмотря на эту необходимость, современные фармакологические препараты для снижения массы тела при длительном применении оказываются, как правило, недостаточно эффективными или небезопасными, отчасти, потому что направлены на отдельную молекулярную цель.

Ранее ученые рассматривали возможности сбалансированного высокомогущего двойного агониста (коагониста) для рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и глюкагона в одной молекуле. Этот пептид показал синергетическую способность в снижении массы тела через скоординированные термогенные и анорексигенные воздействия, которые присущи компонентам данной молекулы, глюкагону и ГПП-1 соответственно. В то же самое время был открыт другой эффективный коагонист для рецепторов ГПП-1 и глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (ГИП), который улучшал гликемический контроль, снижал массу тела и имел низкую вероятность желудочно-кишечных побочных эффектов в доклинических исследованиях. Установив уникальную эффективность этих коагонистов глюкагона и ГИП в комплексе с ГПП-1, ученые задумались о создании одновременного и сбалансированного тройного агониста на все три рецептора в одной молекуле, которая смогла бы воспроизвести превосходные терапевтические результаты всех субстанций.

Brian Finan et al. сообщили об открытии нового мономерного пептида, который устраняет ожирение и СД2 у грызунов, одновременно действуя на рецепторы трех ключевых метаболически связанных гормонов: ГПП-1, ГИП и глюкагона. Данный тройной агонист (триагонист) получен путем последовательного химического усовершенствования из объединенных остатков вышеперечисленных природных гормонов для придания желаемого профиля действия на каждый отдельный рецептор. За основу взята последовательность проверен-

ного коагониста ГПП-1/глюкагон с включением ГИП агонизма без снижения активности ГПП-1 и глюкагона. Аминоизомасляная кислота была замещена в позиции 2, чтобы передать резистентность к дипептидилпептидазе IV-опосредованной деградации и инактивации. Ранее было отмечено, что это замещение аминокислоты также способствует смешанному агонизму на рецепторы ГПП-1 и ГИП, но отрицательно влияет на активность глюкагона. Затем были включены аминокислоты Glu16, Arg17, Gln20, Leu27 и Asp28 для противодействия негативному влиянию на рецепторы глюкагона. Эти замещения также служили дополнительным функциям по улучшению растворимости, вторичной структуры и химической стабильности. Чтобы увеличить время действия и оптимизировать применение *in vivo*, ученые «липидировали» Lys10 с пальмитиновой кислотой (C16:0) через γ -карбоксилатное соединение. Ацильный остаток стимулирует связывание альбумина, в то же время поддерживая смешанный агонизм. И наконец, особенностью триагониста является наличие C-терминального остатка от эксендина-4 (аналога ГПП-1, полученного от рептилий), что приводит к существованию 39 остатков в одной молекуле и обладанию превосходной растворимостью, активностью и сбалансированным воздействием на каждый из трех рецепторов. Кроме того, ученые доказали, что полученный триагонист не имеет перекрестной реакции с другими рецепторами, включая рецепторы к вазоактивному кишечному пептиду и гипоталамическому пептиду, активирующему аденилатциклазу, которые являются представителями глюкагон/секретин класса пептидных гормонов.

Для того чтобы определить, обладает ли триагонист активностью *in vitro* на каждый рецептор в отдельности, ученые исследовали его эффекты на накопление цАМФ в клеточных линиях, которые представляют собой традиционные цели для ГПП-1, ГИП и глюкагона. В β -клеточной линии поджелудочной железы мышей (MIN6), которая обильно экспрессирует рецепторы к ГПП-1, коагонист ГПП-1/ГИП и триагонист вызвали продукцию цАМФ с активностью, подобной природному ГПП-1, тем самым подтверждая полную активацию рецепторов ГПП-1 в β -клетках поджелудоч-

ной железы. В дифференцированных адипоцитах мышей (3T3-L1), которые обильно экспрессируют ГИП-рецепторы, продукция цАМФ была индуцирована ГИП, коагонистом ГПП-1/ГИП и триагонистом с аналогичной мощностью, подтверждая полную активацию рецепторов ГИП на адипоциты. В гепатоцитах крыс, которые экспрессируют рецепторы глюкагона, продукция цАМФ была стимулирована глюкагоном и триагонистом с похожей силой, в то время как коагонист ГПП-1/ГИП продемонстрировал в 30 раз более низкую мощность, тем самым доказывая полную активность рецепторов глюкагона на гепатоциты.

Для того чтобы определить, обладает ли триагонист активностью *in vivo* на каждый отдельный рецептор, ученые сравнили гликемические эффекты у различных моделей грызунов, используя селективные антагонисты для каждого рецептора. Чтобы подтвердить присутствие активности ГПП-1, мышам с ожирением сначала ввели антагонист к рецепторам ГПП-1, а затем — триагонист. После чего было отмечено снижение улучшенной толерантности к глюкозе, наблюдаемой с триагонистом в отдельности, тем самым доказывая влияние на ГПП-1 рецепторы *in vivo*. Для подтверждения наличия активности ГИП мышам с ожирением и отсутствием рецепторов к ГПП-1 сначала ввели антагонист к рецепторам ГИП, а затем — триагонист. Также было отмечено, что улучшение гликемического контроля с триагонистом в отдельности было притуплено, демонстрируя активность ГИП *in vivo*. Для подтверждения активности глюкагона *in vivo*, ученые ввели мышам, пролеченным стрептозотоцином, антагонист к рецепторам глюкагона, а затем — триагонист и оценили гипергликемию, индуцированную глюкагоновым компонентом пептида. Предварительное введение антагониста рецепторов глюкагона ингибировало острый, транзиторный гипергликемический эффект, наблюдаемый с триагонистом, тем самым доказывая, что триагонист обладает классической активацией рецепторов глюкагона.

Brian Finan et al. изучили вклад каждого отдельного компонента триагониста в обеспечении общей метаболической эффективности. Вклад ГПП-1 исследовали у мышей с отсутствием рецепторов к ГПП-1, которых кормили пищей с высоким содержанием жиров. Триагонист уменьшил массу тела на 18,3% у мышей с рецепторами к ГПП-1 и только на 10,5% — у мышей без рецепторов к ГПП-1. Такой же эффект был получен в отношении массы жировой ткани и суммарного поступления пищи. В отсутствие активности ГПП-1, активность ГИП не смогла противодействовать активности глюкагона, и триагонист увеличил уровень глюкозы крови у мышей с отсутствием рецепторов к ГПП-1. Отражая это, триагонист улучшил гликемический контроль у группы контроля, но ухудшил у мышей с отсутствием рецепторов к ГПП-1. Эти результаты

демонстрируют, что вкладом активности ГПП-1 к общей эффективности триагониста является уменьшение диабетогенного риска длительного и максимального агонизма на рецепторы глюкагона. Ученые исследовали вклад компонента ГИП у мышей с отсутствием рецепторов к ГИП, получающих диету с высоким содержанием жиров. В отличие от мышей с отсутствием рецепторов к ГПП-1, триагонист уменьшил массу тела, жировую массу и поступление пищи у обоих видов мышей (с отсутствием рецепторов к ГИП и у группы контроля). Однако глюкозопонижающий эффект триагониста был ниже в случае мышей с отсутствием рецепторов к ГИП, но оставшаяся активность ГПП-1 была способна предотвратить риск повышения уровня глюкозы со стороны глюкагона. Этот результат показал вклад активности ГИП внутри триагониста по снижению уровня глюкозы крови и смягчению гипергликемического эффекта глюкагона, хотя в меньшей степени, чем ГПП-1. Вклад глюкагона в триагонисте изучался у мышей, получающих высокожирное питание и у которых отсутствовали рецепторы к глюкагону. Триагонист уменьшал массу тела на 7,7% и снижал жировую массу у мышей группы контроля, хотя у мышей с отсутствием рецепторов к глюкагону изменений отмечено не было. Кроме того, триагонист потерял анорексигенный эффект и не улучшал толерантность к глюкозе у этих мышей.

В то же самое время, ученые доказали безопасное снижение массы тела без риска гипогликемии при длительном лечении триагонистом. С этой целью тощим, эугликемическим мышам однократно болюсно интраперитонеально вводили триагонист, после чего было отмечено снижение уровня глюкозы крови. Однако ученые не наблюдали гипогликемии в любых тестируемых дозах через 24 часа после инъекции. Дополнительно, триагонист не уменьшал массу тела, тощую массу и поступление пищи после длительного лечения в любых тестируемых дозах у этих тощих мышей. Чтобы проверить, обладает ли тройной агонист устойчивой эффективностью, ученые вводили триагонист крысам с ожирением в течение 11 недель в двух дозировках. К 11 неделе более низкая доза триагониста уменьшила массу тела на 9,7%, а более высокая — на 26,4%, такая же дозозависимая манера была отмечена и в снижении поступления пищи. Однако при 2 недельном наблюдении за мышами с ожирением, которые в течение 3 недель получали триагонист, было отмечено возвращение массы тела до практически прежнего уровня и восстановление мягкой гипергликемии, поэтому триагонист не вызывает необратимого повреждения в этих доклинических исследованиях.

Следует отметить, что эффективность данного триагониста зависит от правильной и сбалансированной дозы глюкагонового компонента. У мышей с ожирением было отмечено, что триагонист

уменьшал массу тела на 22,8%, ГПП-1/ГИП коагонист — на 14,9%, а несбалансированный триагонист (с 5% активностью глюкагона) — на 19,3%. Однако последний из указанных агонистов имел более внушительный эффект по снижению уровня глюкозы крови натощак, чем сбалансированный триагонист и коагонист.

Brian Finan et al. сравнивали положительный эффект триагониста на снижение массы тела, гликемический контроль и другие метаболические показатели в сравнении с тремя структурно соответствующими и фармакокинетически совпадающими коагонистами. В качестве первой оценки, ученые сравнили триагонист с эквивалентными дозами коагонистов ГПП-1/глюкагон и ГИП/глюкагон и лираглутида (липидированный аналог ГПП-1). В низких дозах лираглутида и коагонист ГИП/глюкагон не снижали массу тела и не улучшали толерантность к глюкозе по сравнению с группой контроля. В то же время коагонист ГПП-1/глюкагон понизил массу тела на 9,9%. Это понижение массы тела происходило без сопутствующего улучшения толерантности к глюкозе. Лечение триагонистом снижало массу тела на 15,1%. Тройной агонист — единственное соединение, которое благоприятно влияло на гликемический контроль и уменьшало потребление пищи. Кроме того, ученые сравнивали триагонист с ГПП-1/ГИП коагонистом в эквивалентной дозе у мышей с ожирением. Коагонист уменьшал массу тела на 15,7%, тогда как триагонист — на 26,6% после 20 дней лечения. Триагонист снижал массу тела в дозозависимой манере, так что на 33% сниженная доза триагониста уменьшала массу тела на 14,7%. Оба смешанных агониста вызывали похожее уменьшение в поступлении пищи без влияния на опорожнение желудка. Такое лечение способствовало потере жировой массы без изменения тощей массы. Коагонист ГПП-1/ГИП и триагонист показали себя одинаково эффективными в снижении уровня глюкозы крови натощак и улучшении толерантности к глюкозе без возникновения гипогликемии, и продемонстрировали то, что длительный агонизм на рецепторы глюкагона не уменьшает

существенное улучшение гликемии, достигнутое одновременным двойным инкретиновым коагонизмом. Однако триагонист понижает циркулирующие концентрации инсулина в большей степени, чем коагонист, что свидетельствует об улучшении чувствительности к инсулину. Только тройной агонист увеличивает концентрации фактора роста фибробластов 21 в крови, что является селективным действием глюканового компонента внутри триагониста. Кроме того, триагонист снижал концентрации холестерина в большей степени, чем коагонист. Оценка других клинических параметров не выявила существенных различий между этими агонистами.

Также, ученые сравнили активность исследованного триагониста с недавно открытыми пептидами, также подразумевающими тройной агонизм (YAG-glucagon и [DA2]GLP-1/GcG). Эти пептиды демонстрируют активность в 1000 раз меньшую, чем активность природных гормонов. При введении мышам с ожирением этих пептидов в суммарной дозе, превышающей в 16 раз дозы описанного триагониста, не было отмечено снижения веса, поступления пищи, снижения уровня глюкозы крови натощак по сравнению с группой контроля. Эти результаты *in vivo* подтверждают несбалансированную активность и уменьшенный потенциал на рецепторы предполагаемых триагонистов и демонстрируют, что эти пептиды значительно уступают в отношении метаболической эффективности, даже в сравнении с классическим моноагонистом рецепторов ГПП-1 (эксендином-4). Суммируя вышесказанное, эти пептиды не могут выступать в роли мощных смешанных агонистов, поэтому их нельзя классифицировать в качестве триагонистов и следует использовать с осторожностью.

Таким образом, триагонист ГПП-1/ГИП/глюкагон представляет собой значительный шаг вперед в исследованиях по созданию смешанных агонистов в одной молекуле. Хотелось бы верить, что данный пептид станет «золотым стандартом» терапии ожирения и СД2, постепенно становясь альтернативой хирургическому методу лечения ожирения.

Реферат по материалам статьи

Finan B, Yang B, Ottaway N, Smiley DL, Ma T, Clemmensen C, et al. A rationally designed monomeric peptide triagonist corrects obesity and diabetes in rodents. *Nature Medicine*. 2014;21(1):27–36. doi: 10.1038/nm.3761.