

Ця заявка є частковим продовженням Попередньої заявки США №60/089,044, поданої 12 червня 1998р. і претендує на дату реєстрації зазначеної заявки.

Послаблена толерантність до глюкози (impaired glucose tolerance, IGT) поширена серед населення США. Поширення послабленої толерантності до глюкози зростає з 11% від загальної кількості населення віком 20-74 роки до 24% у віковій групі 40-75 років з сімейним діабетом і надлишковою вагою, що становить більше, ніж 120% від нормальної. У осіб з послабленою толерантністю до глюкози існує великий ризик розвитку серцево-судинних захворювань, а також інсулінонезалежного цукрового діабету (non-insulin dependent diabetes mellitus, MDDM), відомого також як діабет 2-го типу.

Послаблена толерантність до глюкози характеризується ранніми, помірно вираженими дефектами функції β-клітин підшлункової залози, що супроводжується інсулінорезистентністю. Зазначені ранні дефекти включають послаблення здатності β-клітин сприймати невеликі зміни концентрації глюкози у плазмі і реагувати на них відповідними рівнями секреції інсуліну, а також незначне зміщення вправо кривої доза-ефект стосовно залежності секреції інсуліну від глюкози. При IGT дуже рано втрачається чутливість до глюкози і здатність β-клітин до швидкої секреції інсуліну, коли мінімально підвищуються 2-х годинні рівні глюкози. З часом, при IGT домінує погіршення регуляції рівня глюкози через прогресуюче послаблення функції β-клітин. Це в багатьох випадках призводить до погіршення станів гіперінсулінонемії, ожиріння і до серцево-судинного захворювання, яке інколи називають синдромом Х. У багатьох випадках, при запущеному IGT, це призводить до остаточної втрати регуляції рівня глюкози і до початку NIDDM.

Як зазначалось, стан IGT є серйозним фактором ризику для здоров'я. Пацієнти з IGT частіше страждають на ожиріння і мають високі рівні інсуліну у плазмі, які часто є токсичними. Такі високі рівні інсуліну, як правило, спричинені постійно зростаючою нездатністю м'язів, інших тканин, і жирових клітин використовувати інсулін для поглинання глюкози з плазми крові. Стан IGT призводить до зростання ризику широкого діапазону серцево-судинних захворювань.

Глюкагоноподібний пептид-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1), природний пептид тонкої кишки, виділяється з L-клітин кишки, і діє як гормон інкретин, що стимулює секрецію інсуліну β-клітинами в залежності від концентрації глюкози. Його терапевтичні можливості при NIDDM були показані раніше, так, при екзогенному вливанні фармакологічних доз GLP-1, як правило, знижуються рівні глюкози в плазмі. Проте, GLP-1 не покращує істотним чином функцію β-клітин при NIDDM. Nathan D.M., Schreiber E., Fogel H., Mojsov S., Habener J.F. Insulinotropic action of glucagon-like peptide-1 (7-37) in diabetic and nondiabetic subjects (Інсулінотропна дія глюкагоноподібного пептиду-1 (7-37) у діабетиків і недіабетиків). *Diabetes Care* 15:270-276, 1992; Gutniak M., Orskov C, Hoist J.J., Ahren B., Efendric S. Antidiabetogenic effects of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus (Антидіабетогенна дія глюкагоноподібного пептиду-1 (7-36), амиду, у здорових осіб і пацієнтів, що хворіють на цукровий діабет). *N. Engl J. Med.* 326:1316-1322, 1992; Nauck M.A., Kleine N., Orskov C, Hoist J.J., Willms B., Creutzfeldt W. Normalization of fasting hyperglycemia by exogenous glucagon-like peptide-1 (7-36 amide) in type II (non-insulin-dependent) diabetic patients (Нормалізація голодної гіперглікемії екзогенним глюкагоноподібним пептидом-1 (7-36, амідом) у пацієнтів, які хворіють на діабет 2-го типу (інсулінонезалежний діабет). *Diabetologia* 36:741-744, 1993; Gutniak M.K., Linde B., Hoist J.J., Efendie S. Subcutaneous injection of incretin hormone glucagon-like peptide-1 abolishes postprandial glycemia NIDDM (Підшкірна ін'єкція гормону інкретину глюкагоноподібного пептиду-1 припиняє глікемію після прийому їжі у осіб з NIDDM). *Diabetes Care* 17:1039-1044, 1994; Rachman I, Gribble F.M., Barrow B.A., Levy J.C., Buchanan K.D., Turner R.C. Normalization of insulin responses to glucose by overnight infusion of glucagon-like peptide 1 (7-36) amide in patients with NIDDM (Нормалізація інсулінових реакцій на глюкозу шляхом введення протягом ночі глюкагоноподібного пептиду-1 (7-36), амиду, пацієнтам з NIDDM). *Diabetes* 45:1524-1530, 1996; Rachman J., Barrow B.A., Levy J.C., Turner R.C. Near-normalization of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM (Часткова нормалізація концентрацій денної глюкози у осіб з MDDM за допомогою безперервного введення глюкагоноподібного пептиду-1 (GLP-1)). *Diabetologia* 40:205-211, 1997.

На сьогодні стан IGT не лікується. Проте, це патологічний стан, пов'язаний з серйозним ризиком для здоров'я, що піддається розпізнаванню. У цілому, симптоми стану IGT поступово поглиблюються, а сам стан IGT часто призводить до втрати регуляції рівня глюкози в плазмі, що є діабетом 2-го типу. Необхідна терапія.

Численні дослідження, проведені протягом останніх кількох років показали, що застосування GLP-1 у випадках NIDDM знижує рівні глюкози та інсуліну у крові і, в результаті, повинно стати перспективним методом терапії цього захворювання. Проте жодні дослідження до цього часу не показали, що GLP-1 може, потенційно, коригувати втрату здатності β-клітин сприймати підвищення концентрації глюкози в крові та швидко реагувати на них секрецією інсуліну. Таке погіршення здатності реагувати на підвищення концентрації глюкози в крові та тісно пов'язувати чутливість до збільшення глюкози в крові та секрецію інсуліну β-клітинами є головною причиною стану IGT. У попередніх дослідженнях, де вивчали введення GLP-1 особам з NIDDM, показана здатність GLP-1 нормалізувати рівень глюкози в плазмі натщесерце і стимулювати кумулятивну секрецію інсуліну β-клітинами. Проте вливання GLP-1 протягом ночі особам з NIDDM не покращувало реакцію на глюкозу при прийомі їжі наступного дня. Коли GLP-1 вливали особам з NIDDM протягом 19 годин, протягом ночі та протягом трьох звичайних прийомів їжі, рівні глюкози в плазмі знижувались, проте послаблена функція після прийому їжі β-клітин тільки незначно поліпшувалась.

Реакцію β-клітин у осіб з IGT на пролонговане вливання GLP-1 раніше не вивчали, оскільки не було показань на те, що результат відрізнятиметься від результату введення GLP-1 особам з NIDDM, до цього часу не проводились детальні дослідження дії GLP-1 на реакцію β-клітин на незначне підвищення і зниження концентрації глюкози у плазмі.

Згідно з цим, потрібен метод затримання розвитку IGT і відновлення нормального метаболізму глюкози.

Таким чином, мета цього винаходу полягає в тому, щоб забезпечити метод відновлення чи поліпшення функції β-клітин і їхньої чутливості та, таким чином, характеру секреції інсуліну у відповідь на рівні глюкози плазми в організмі з послабленою толерантністю до глюкози.

Наступна мета даного винаходу полягає в тому, щоб забезпечити метод затримки або попередження погіршення функції β -клітин, яка відповідає за розвиток послабленої толерантності до глюкози у втрату регуляції рівня глюкози в плазмі, що є ознакою початку NTODM.

Ще одна мета даного винаходу полягає у тому, щоб послабити наслідки IGT щодо серцево-судинних захворювань, цим самим зменшуючи ризик серцево-судинних захворювань і мозкового удару.

Метод досягнення цих та інших цілей стане очевидним з наступного детального опису.

Винахідники встановили, що призначення GLP-1 особам з послабленою толерантністю до глюкози відновлює тісно скоординовану реакцію секреції інсуліну на підвищення рівнів глюкози у плазмі, тим самим відновлюючи характер секреції інсуліну β -клітинами у відповідь на підвищення концентрації глюкози у плазмі, характерні для нормальних осіб, які не хворіють на IGT.

Таким чином, даний винахід направлений на забезпечення методу лікування організму з послабленою толерантністю до глюкози та інсулінорезистентністю за допомогою GLP-1, в такій кількості, яка є ефективною для відновлення, поліпшення чи нормалізації чутливості та функції β -клітин і характеру секреції інсуліну у цьому організмі. Винахід також направлений на забезпечення методу зниження рівня інсуліну в плазмі у осіб з IGT і, одночасно, послаблення інсулінорезистентності та вторинного серцево-судинного захворювання.

При проведенні досліджень, описаних у цьому документі у прикладах, винахідники несподівано помітили, що, всупереч випадковій і некоординованій реакції інсуліну, яка, в характерних випадках, зустрічається у осіб з IGT, введення GLP-1 особам з IGT явно відновлює чутливу, швидку і координовану секрецію інсуліну β -клітинами у відповідь на обережні імпульсні збільшення рівня глюкози у плазмі, аналогічні до характеру секреції інсуліну у здорових людей.

На Фіг.1 показані реакції глюкози, інсуліну і GLP-1 на пероральне введення 75 мг глюкози у п'яти осіб з послабленою толерантністю до глюкози (IGT \bullet) і у п'яти осіб з інсуліннезалежним цукровим діабетом (MDDM \square). На Фіг.1A показано середнє значення реакції глюкози. На Фіг.1B показана реакція інсуліну. На Фіг.1C показана реакція GLP-1.

На Фіг.2 з'являються середні значення швидкості секреції інсуліну (insulin secretion rates, ISR) і середні значення концентрації глюкози у кожної особи протягом вливання глюкози разом з вливанням сольового розчину (O) або вливанням GLP-1 (\bullet). На Фіг.2A наведено порівняння для осіб з IGT. На Фіг.2B показано порівняння для осіб з NTODM.

На Фіг.3 наведені криві концентрації глюкози, швидкості секреції інсуліну (ISR) і концентрації інсуліну у двох осіб з IGT, особи D01 і D02. На Фіг.3A і 3C показана реакція на вливання сольового розчину. На Фіг.3B і 3D показана реакція на вливання GLP-1.

На Фіг.4 наведено порівняння рівнів глюкози, швидкості секреції інсуліну (ISR) і рівнів інсуліну у двох осіб з NTODM, особи D07 і D09. На Фіг.4A і 4C показані криві під час вливання сольового розчину. На Фіг.4B і 4D показані криві під час вливання GLP-1.

На Фіг.5 наведено порівняння даних спектрального аналізу секреції інсуліну у осіб під час вливання сольового розчину і GLP-1. Результати спектрального аналізу, показані зліва, стосуються осіб з IGT. Результати спектрального аналізу, наведені справа, стосуються осіб з NTDDM.

На Фіг.6 наводиться порівняння нормованої спектральної потужності під час вливання сольового розчину і вливання GLP-1. На Фіг.6A наводиться порівняння нормованої спектральної потужності під час вливання сольового розчину і вливання GLP-1 особі з IGT (D02). На Фіг.6B наводиться порівняння нормованої спектральної потужності під час вливання сольового розчину і вливання GLP-1 особі з NEDDM (D07).

Винахідники встановили, що введення GLP-1 особам з послабленою толерантністю до глюкози (IGT) відновлює або поліпшує функцію β -клітин підшлункової залози і здатність β -клітин швидко і координовано реагувати секрецією інсуліну на незначні підвищення або зміни концентрації глюкози у плазмі, тобто здатність до імпульсної секреції інсуліну, аналогічно до характеру секреції інсуліну, характерних для осіб, у яких немає IGT. Такий характер секреції інсуліну не відновлюється у тих осіб, у яких уже розвинувся NTODM, ознакою якого є втрата регуляції рівня глюкози у плазмі.

Функція β -клітин кількісно описується нормованою спектральною потужністю. Спектральною потужністю вимірюється функція β -клітин, яка не обумовлена коригуванням чутливості до інсуліну. Винахідники виявили, що у осіб з IGT GLP-1 поліпшує спектральну потужність до нормального діапазону значень. Графіки спектральної потужності вказують, що взаємне пов'язування (entrainment)* або тісна координація коливань глюкози плазми і секреції інсуліну у осіб з IGT після введення GLP-1 відновлюються до нормальних рівнів. Це поліпшення коливального характеру секреції інсуліну має важливе значення для підтримання нормального гомеостазу глюкози. Наприклад, показано, що вливання інсуліну, що імітує ультрадіанні коливання протягом періоду 120 хвилин є більш ефективним щодо зниження концентрацій глюкози у плазмі, ніж постійні вливання інсуліну (27).

У цьому винаході пропонується композиція, яка містить сполуку, що зв'язується з рецептором глюкагоноподібного пептиду-1 і ефективна для поліпшення здатності β -клітин сприймати незначні зміни концентрації глюкози у плазмі у осіб з IGT і реагувати на них. В одному з варіантів реалізації винаходу, сполукою, яка зв'язує рецептор, є глюкагоноподібний пептид-1. В іншому варіанті реалізації винаходу, сполукою, яка зв'язує рецептор, є варіант пептиду, у якому комбінація замісників, вилучень (deletions) і варіантів не відрізняється від глюкагоноподібного пептиду-1 більше, ніж на десять залишків амінокислот. Крім того, сполука, яка зв'язує рецептор, може містити полінуклеотид або агент, що активує вивільнення (release) GLP-1, молекулу, яка активує рецептор GLP-1, або сполуку, яка зв'язує рецептор GLP-1, і містить хімічно синтезовану молекулу, аналоги пептиду або агоністи GLP-1.

Винахідники виявили, що введення людського GLP-1 посилює або відновлює взаємне пов'язування реакцій секреції інсуліну на незначні зміни або підвищення рівня глюкози у плазмі. Відповідно, композиція за даним винаходом використовується з терапевтичному лікуванні для нормалізації послабленої толерантності до глюкози.

Винахідники показали в цьому дослідженні, що введення малої дози GLP-1 може поліпшити функцію β -

клітин щодо вироблення інсуліну у відповідь на підвищення рівнів глюкози у плазмі. Таким чином, GLP-1 можна застосовувати також для поліпшеного підтримання функції β -клітин у осіб з IGT. Введення GLP-1 також регулює або нормалізує характер секреції інсуліну, що призводить до зменшення загального інсуліну у плазмі осіб з IGT. Ця нормалізація, в свою чергу, послаблює інсулінорезистентність.

Термін "GLP-1", або глюкагоноподібний пептид, включає міметики GLP-1 і його вживання в контексті даного винаходу може поширюватись на глюкагоноподібні пептиди і споріднені пептиди, а також аналоги глюкагоноподібного пептиду-1, який зв'язується з протеїном - рецептором глюкагоноподібного пептиду-1 (GLP-1), таким як протеїн -рецептор GLP-1 (7-36), амід, і справляє відповідний біологічний ефект на секрецію інсуліну, як GLP-1 (7-36), амід, який є природною біологічно активною формою GLP-1. Див. Goke B. і Byrne M., *Diabetic Medicine*. 1996, 13:854-860. Рецептори GLP-1 - це протеїни на поверхні клітини, які знаходяться, наприклад, на поверхні β -клітин підшлункової залози, що виробляють інсулін. Глюкагоноподібні пептиди та їхні аналоги мають у своєму складі специфічні речовини з інсулінотропною дією, які є агоністами молекули рецептора GLP-1, тобто активаторами зазначеної молекули, та її впливу, як вторинного месенджера, на, серед іншого, β -клітини, що виробляють інсулін. Агоністи глюкагоноподібного пептиду, які виявляють активність через цей рецептор, були описані в: EP 0708179A2; Hjorth S.A. та ін., *J. Biol. Chem.* 269 (48):30121-30124 (1994); Siegel E. G. та ін. *Amer. Diabetes Assoc.* 57th Scientific Sessions, Boston (1997); Adelhorst K. та ін. *J. Biol. Chem.* 269(9):6275-6278 (1994); Deacon C.F. та ін. 16th International Diabetes Federation Congress Abstracts, *Diabetologia Supplement* (1997); Irwin D.M. та ін., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:7915-7920 (1997); Mosjov S. *Int. J. Peptide Protein Res.* 40:333-343 (1992). Глюкагоноподібні молекули включають поліпептиди, які є експресорами агоністів GLP-1, тобто активаторами молекули рецептора GLP-1, та її впливу, як вторинного месенджера, на, серед іншого, β -клітини, які виробляють інсулін. Міметики GLP-1, які також є агоністами β -клітин, включають, наприклад, хімічні сполуки, які спеціально призначені для активації рецептора GLP-1. Відомі також антагоністи глюкагоноподібного пептиду-1, див., наприклад, Watanabe Y. та ін., *J. Endocrinol* 140(1):45-52 (1994), і до їх числа належать ексендин (exendin) (9-39), амін, аналог ексендина, який є сильнішим антагоністом рецепторів GLP-1 (див., наприклад, WO97/46584). У недавніх публікаціях показано "Чорну вдову" (Black Widow) GLP-1 і Ser² GLP-1, див. G.G. Holz, IF. Hakner/ *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 121 (1998) 177-184 і Ritzel та ін. A synthetic glucagon-like peptide-1 analog with improved plasma stability (Синтетичний аналог глюкагоноподібного пептиду-1 з поліпшеною стабільністю плазми), *J. Endocrinol.* 1998 Oct., 159(1):93-102.

Наступні варіанти реалізації винаходу включають синтезовані хімічним методом глюкагоноподібні поліпептиди, а також будь-які поліпептиди чи їхні фрагменти, які мають суттєво подібну будову. "Суттєво подібна будова" ("substantially homologous"), що може стосуватись як порядку чергування залишків нуклеїнових кислот, так і порядку чергування залишків амінокислот, означає, що порядок чергування у конкретного об'єкта, наприклад, порядок чергування у мутанта, змінюється щодо еталонного порядку чергування за рахунок одного чи декількох заміщень, вилучень або приєднань, кінцевий ефект яких не призводить до несприятливої функціональної відмінності між еталонним порядком чергування і порядком чергування у об'єкта. У даному винаході порядки чергування залишків, які мають понад 50 відсотків подібності, а краще 90 відсотків подібності, еквівалентну біологічну дію щодо посилення реакції β -клітин на рівні глюкози плазми, та еквівалентні характеристики експресії (expression), вважаються такими, що мають суттєво подібну будову. Для визначення подібності слід нехтувати усіканням повноти послідовності. Порядки чергування залишків, які мають менші ступені подібності, порівнянню біоактивності і еквівалентні характеристики експресії вважаються еквівалентами.

GLP-пептиди ссавців і глюкагон закодовані тим самим геном. У клубовій кишці фенотип перетворюється на пептидні гормони GLP двох головних класів, а саме GLP-1 і GLP-2. Відомо чотири споріднені з GLP-1 пептиди, на які перетворюються фенотипні пептиди. GLP-1 (1-37) має порядок чергування залишків амінокислот His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (ПОСЛІД. Ід. №1). GLP-1 (1-37) амідується шляхом посттрансляційного перетворення з отриманням GLP-1 (1-36) NH₂ який має порядок чергування залишків амінокислот His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (ПОСЛІД. Ід. №3). GLP-1 (7-37) може також амідуватись з отриманням GLP-1 (7-36), амід, який є природною формою молекули GLP-1, і який має порядок чергування залишків амінокислот His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe De Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg (NH₂) (ПОСЛІД. Ід. № 4) і в природній формі молекули GLP-1.

Інтестинальні L-клітини виробляють GLP-1 (7-37) (ПОСЛІД. Ід. №3) і GLP-1 (7-36) (NH₂) (ПОСЛІД. Ід. №4) у співвідношенні, відповідно, 1 до 5. Ці усічені форми GLP-1 мають короткий період напіврозпаду in situ, тобто, менше 10 хвилин, та інактивуються амінопептидазою IV з отриманням Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (ПОСЛІД. Ід. №5) і, відповідно, Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg (NH₂) (ПОСЛІД. Ід. №6). Пептиди Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (ПОСЛІД. Ід. № 5) і Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gin Ala Ala Lys Glu Phe He Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg (NH₂) (ПОСЛІД. Ід. №6), розглядались стосовно впливу на продукування печінкової глюкози, проте вони не стимулюють секрецію або вивільнення інсуліну з підшлункової залози.

В отрутах ящірки-ядозуба (Gila monster) міститься шість пептидів, подібних до GLP-1. їхній порядок чергування залишків порівнюється з порядком чергування залишків амінокислот GLP-1 у Таблиці 1.

ТАБЛИЦЯ 1

a. HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL VKGRNH₂
 b. HSDGTFTSDLSKQMEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSNH₂
 c. DLSKQMEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSNH₂
 d. HEGGTFTSDLSKQMEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSNH₂
 e. HSDATFTA EYSKLLAKLALQKYLESLGSSTSPRPPSS
 f. HSDATFTA EYSKLLAKLALQKYLESLGSSTSPRPPSS
 g. HSDAIFTE EYSKLLAKLALQKYLASILGSRTSPPPNH₂
 h. HSDAIFTQ QSKLLAKLALQKYLASILGSRTSPPPNH₂

a = GLP-1 (ПОСЛІД. Ід. № 4).

b = Ексендин (exendin) 3 (ПОСЛІД. Ід. № 7).

c = Ексендин 4 (9-39) (NH₂) (ПОСЛІД. Ід. № 8).

d = Ексендин 4 (ПОСЛІД. Ід. № 9).

e = Гелоспектин (helospectin) I (ПОСЛІД. Ід. № 10).

f = Гелоспектин II (ПОСЛІД. Ід. № 11).

g = Гелодермін (helodermin) (ПОСЛІД. Ід. № 12).

h = Q⁸, Q⁹ Гелодермін (ПОСЛІД. Ід. № 13).

Основні подібності, як зазначено виділенням у Таблиці 1, це: пептиди c і h отримані з b і g, відповідно. Всі 6 пептидів, які зустрічаються у природі (a, b, d, e і g) подібні у положеннях 1, 7, 11 і 18. GLP-1 і ексендини 3 і 4 (a, b і d), крім того, подібні у положеннях 4, 5, 6, 8, 9, 15, 22, 23, 25, 26 і 29. У положенні 2, A, S і G є подібними структурно. У положенні 3, групи D безводна E (Asp і Glu) подібні структурно. У положеннях 22 і 23F (Phe) і I (Ile) подібні структурно до Y (Tyr) та L (Leu), відповідно. У такий же спосіб структурно еквівалентні у положенні 26L та I.

Таким чином, з 30 залишків амінокислот GLP-1, ексендини 3 і 4, ідентичні у 15 положеннях і еквівалентні у 5 додаткових положеннях. Виключними положеннями, де очевидні радикальні структурні зміни, це положення в залишках 16, 17, 19, 21, 24, 27, 28 і 30. Ексендини також мають 9 додаткових карбоксил-кінцевих груп.

GLP-1-подібні пептиди можна отримати за допомогою твердотілого хімічного синтезу пептиду. GLP-1 можна отримати також традиційними рекомбінантними методами, використовуючи стандартні методики, описані, наприклад, в Sambrook і Maniatis. "Рекомбінантний" ("recombinant"), у тому значенні, як цей термін вживається в даному тексті, означає, що протеїн отримують з рекомбінантних (наприклад, мікробіологічних чи ссавців) систем вияву активності гена, що були генетично модифіковані з тим, щоб вони містили ген - експресор активності щодо GLP-1 або його біологічно активних аналогів.

GLP-1-подібні пептиди можна добути і очистити з культур рекомбінантних клітин методами, до числа яких належать, не обмежуючись наведеним, осадження сульфатом амонію або етанолом, кислотна екстракція, аніон- або катіонобмінна хроматографія, фосфоцелюозна хроматографія, хроматографія гідрофобної взаємодії, афінна хроматографія, гідроксил-апатитна хроматографія і лектинна хроматографія. На заключних стадіях очищення можна застосувати високопродуктивну рідинну хроматографію (high performance liquid chromatography, HPLC).

Поліпептиди за даним винаходом можуть являти собою природно очищений продукт, або продукт, отриманий методами хімічного синтезу, або отриманий рекомбінантними методами з прокаріотичних або еукаріотичних організмів (наприклад, клітин бактерій, дріжджів, вищих рослин, комах і ссавців в культурі або *in vivo*). Залежно від організму, використаного в процедурі рекомбінантного отримання, пептиди за даним винаходом є, як правило, неглікозильованими, але можуть бути глікозильованими.

Активність GLP-1 можна визначити стандартними методами, як правило, за допомогою методик скринінгу активності щодо зв'язування з рецептором, в яких використовують відповідні клітини, які експресують (express) на своїй поверхні рецептор GLP-1, наприклад, лінії клітин інсуліноми, такі як клітини EJNmSF або клітини INS-1. Див. також Mosjov S. (1992) і EP0708170A2. Крім визначення специфічного зв'язування міченого елемента з мембраною, з використанням методів радіоімунного аналізу, можна також визначити cAMP активність чи секрецію інсуліну, залежну від рівня глюкози. В одному методі використовували кодування рецептора полінуклеотидом за даним винаходом для того, щоб трансфектувати клітини і, таким чином експресувати протеїн - рецептор GLP-1. Таким чином, наприклад, ці методи можна застосувати для скринінгу агоніста рецептора, приводячи такі клітини у контакт зі сполуками, що підлягають обстеженню, і визначення, чи генерують такі сполуки сигнал, тобто, чи активують вони рецептор.

Для виявлення, очищення та ідентифікації GLP-1-подібних пептидів з метою застосування в методах, описаних у цьому документі, можна використати поліклональні та моноклональні антитіла. Антитіла, такі як ABGA1178, виявляють непошкоджені незв'язані GLP-1 (1-37), або усічені з N-кінця GLP-1 (7-37), або (7-36) амід. Інші антитіла виявляють на самому кінці C-кінця молекулу-попередника, ця методика дозволяє шляхом віднімання розрахувати величину біологічно активного зрізаного пептиду, тобто GLP-1 (7-37), або (7-36) амиду (Orskov та ін. Diabetes, 1993, 42:658-661; OrskovTam. J. Clin. Invest. 1991, 87:415-423).

До числа інших скринінг-методик належить використання клітин, що експресують рецептор GLP-1, наприклад, трансфектованих CHO клітин, у системі для вимірювання pH або іонних змін на поверхні клітин, спричинених активацією рецептора. Наприклад, можна потенційного агоніста привести в контакт з клітиною, яка експресує протеїн - рецептор GLP-1 і виміряти реакцію вторинного месенджера, наприклад, сигнал трансдукції, іонних змін або змін pH з тим, щоб визначити ефективність потенційного агоніста.

Рецептор глюкагоноподібного пептиду-1, який зв'язує протеїни, за цим винаходом, можна використати у комбінації з відповідним носієм для фармацевтичних цілей. Такі композиції містять терапевтично ефективну кількість поліпептиду і носій або інертний наповнювач, придатні для фармацевтичних цілей. До числа таких носіїв належать, не обмежуючись наведеним переліком, сольовий розчин, сольовий розчин з буфером, декстроза, вода, гліцерин, етанол, лактоза, фосфат, маніт, аргінін, трегалоза та їхні комбінації. Рецептура мусить відповідати способу введення і її легко встановлять спеціалісти. Пептид GLP-1 можна також

застосувати у комбінації з відомими спеціалістам агентами, які збільшують тривалість періоду напіврозпаду пептиду *in vivo* для того, щоб посилити або пролонгувати біологічну активність пептиду. Наприклад, молекула або хімічний фрагмент (moiety) молекули перед введенням композиції може перебувати у ковалентному зв'язку зі сполукою* за даним винаходом. В альтернативному варіанті підсилюючий агент можна вводити одночасно з композицією. У наступному варіанті, агент може містити молекулу, котра, як відомо, є інгібітором ферментативного розщеплення GLP-1-подібних пептидів; її можна вводити одночасно з введенням композиції, що містить пептид GLP-1 або після введення зазначеної композиції. Таку молекулу можна вводити перорально чи шляхом ін'єкції.

GLP-1 можна вводити внутрішньовенно або підшкірно, а також можна вводити безперервно або швидко вводити великий об'єм за допомогою ін'єкції (bolus injection). У загальному випадку його можна призначати разом з ін'єкцією чи вливанням глюкози, перед нею чи після неї. Можна застосовувати такі дози: для безперервного вливання внутрішньовенно (IV.) 0,1 пікомоль/кг/хв. - 10 пікомоль/кг/хв., підшкірно - (S.C.) 0,1 пікомоль/кг/хв. - 75 пікомоль/кг/хв., а для одноразових ін'єкцій (bolus), внутрішньовенно, (IV.) 0,005 nmol/kg-20 nmol/kg і підшкірно (S.C.) 0,1 nmol/kg-100 nmol/kg.

Переважа надається призначенню пептиду GLP-1 шляхом безперервного введення. Проте GLP-1 можна вводити підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньочеревно, шляхом створення депо за допомогою ін'єкції, чим забезпечується тривале вивільнення, глибокої інсуфляції в легені з тривалим вивільненням, а також внутрішньовенно, внутрішньобукально (buccal), введення через імплантат або за допомогою Іншого методу доставки.

Ефективне лікування IGT також зменшує ризик серцево-судинних і цереброваскулярних захворювань. Воно, таким чином, може надаватись, як профілактичне лікування пацієнтам, у яких встановлено високий ризик таких захворювань.

Наступні приклади додатково ілюструють даний винахід. Проте, ці приклади у жоден спосіб не слід сприймати як обмеження рамками типових прикладів з точки зору можливостей щодо навчання чи розголошення даного винаходу.

Приклади

Дослідження, описані в даному документі, проводились на 10 особах, яких розділили на дві групи, виходячи з реакції глюкози плазми на пероральну пробу толерантності до глюкози, і визначаючи ступінь інтолерантності до глюкози за критеріями Всесвітньої організації охорони здоров'я (21). У п'яти осіб була IGT, а п'ять осіб були хворими на NTODM. Стать, вік, індекс маси тіла (body mass index, BM), основні рівні глюкози натщесерце, 2-х годинні рівні глюкози, інсулін натщесерце і HBA кожної особи представлені в Таблиці 2. Діабетики були старшими за віком від осіб з IGT, проте групи відповідали одна одній за BM. Середні рівні глюкози натщесерце і концентрації глікозильованого гемоглобіну були нижчими в групі осіб з IGT, порівняно з особами з NTODM. Рівні інсуліну натщесерце в обох групах не відрізнялись між собою.

Таблиця 2

Основні клінічні показники осіб з IGT і осіб з NTODM

Ідентифікація	Стать	Вік	BM	Глюкоза натщесерце (мілімоль)	2-х годинні рівні глюкози (мілімоль)	Інсулін натщесерце (мікро-моль/л)	Гліко-гемоглобін
IGT							
D01	Ч	50	25,7	5,78	8,99	54,84	5,8
D02	Ж	52	26,8	5,94	10,52	79,80	5,7
D03	ч	49	32,2	5,73	9,45	73,68	6,3
D04	ч	42	30,6	5,99	9,89	35,52	5,9
D05	ч	46	38,2	6,14	11,06	92,88	6,5
Середнє значення \pm SE		47,8 \pm 1,7	30,7 \pm 2,2	5,92 \pm 0,07	9,98 \pm 0,37	67,3 \pm 10,0	6,04 \pm 0,15
NTODM							
D06	ч	53	26,4	8,81	16,27	30,78	6,7
D07	ч	61	27,9	6,87	11,28	81,60	7,2
D08	4	60	34,2	7,66	15,05	37,44	5,9
D09	Ч	53	27,8	6,86	18,66	47,88	7,7
D10	Ч	66	23,9	8,34	12,9	24,84	8,1
Середнє значення \pm SE		58,6 \pm 2,5	28,1 \pm 1,7	7,71 \pm 0,39	14,83 \pm 1,29	44,5 \pm 10,0	7,12 \pm 0,39
Величина P		P<0,009	P=0,36	P<0,002	P<0,007	P=0,15	P<0,04

Рівні глюкози плазми визначали за глюкозо-оксидазною методикою (YSI, 1500G, Schlag Company, Bergisch-Gladbach, Німеччина). Варіаційний коефіцієнт цього методу складав <2%. Інсулін у плазмі визначали, використовуючи метод мікрочастинкового імуноферментного аналізу (Abbott Imx Microparticle Enzyme Immunoassay). Середній варіаційний коефіцієнт, властивий методу (intraassay coefficient), становив < 5 %. С-пептид у плазмі визначали, як було описано раніше в (22), Faber O.K., Binder C, Markussen I, Heding L.G., Naithani V.K., Kuzuwa H., Blix P., Horwitz D.L., Rubenstein A.H. Characterization of seven c-peptide antisera (Характеристика семи антисироваток с-пептиду). Diabetes 27, Suppl. 1:170-177, 1978. Нижня межа чутливості аналізу становила 0,02 пікомоль/мл, а варіаційний коефіцієнт, властивий методу, складав у середньому 6%. Глюкагон визначали, використовуючи набір для радіоімунного аналізу, наявний у продажу (Bierman, Bad Nauheim, Німеччина), варіаційний коефіцієнт, властивий методу, складав, в середньому, 8%. ER-GLP-1 визначали, використовуючи специфічні поліклональні антитіла GA 1178 (Affinity Research, Nottingham, Сполучене Королівство) (23). Вони на 100% вступали в реакцію з GLP-1 (1-36) амідом і зрізаним GLP-1 (7-36) амідом. Імунореактивний GLP-1-подібний матеріал виділяли зі зразків плазми, використовуючи картриджі С-

18, і ацетонітрил для елюювання зразків. Межа виявлення для цього аналізу складала 2 фемтомоль*/трубку. Антисироватка не вступала у взаємні реакції з GIP, глюкагоном підшлункової залози, гліцентином, окситомодуліном (охyntomodulin) або GLP-2. Варіаційний коефіцієнт, властивий методі, і варіаційний коефіцієнт сукупності методів (interassay coefficient) становили, відповідно, 3,4% і 10,4%.

Всі результати були представлені як середні значення \pm SEM. Аналіз даних здійснювали з використанням Системи статистичного аналізу (Statistical Analysis System, SAS Версія 6 для персональних комп'ютерів, SAS Institute, Inc., Сагу, Півн. Кароліна). Значимість відмінностей, викликаних впливанням GLP-1, між окремими особами в групі визначали за допомогою парних t-проб (paired t tests). Відмінності вважалися значними у тому разі, якщо $P < 0,05$.

Використовували стандартні кінетичні параметри для виведення (clearance) С-пептиду, скориговані щодо віку, статі і розміру поверхні тіла (24) Van Cauter E., Mestrez F., Sturis J., Polonsky K.S. Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels: comparison of individual and standard kinetic parameters for C-peptide clearance (Оцінка швидкості секреції інсуліну в залежності від рівнів С-пептиду: порівняння індивідуальних і стандартних кінетичних параметрів виведення С-пептиду). Diabetes 41:368-377, 1992 Ці параметри застосовували для того, щоб одержати ISR, виходячи з концентрацій С-пептиду в плазмі шляхом деконволюції (deconvolution), як було описано раніше (25, 26), в кожному 15-хвилинному інтервалі між відборами проб крові.

Діабетиків лікували виключно дієтою, за винятком особи D07, якого попередньо лікували гіпоглікемічним агентом, який він приймав перорально, зазначене лікування було припинено за 4 тижні до початку дослідження. Ніхто з пацієнтів-діабетиків ніколи не приймав інсулін. Всіх осіб посадили на дієту для підтримання маси тіла, яка включала не менше ніж 200г вуглеводів щоденно протягом двох тижнів перед початком дослідження.

Кожну особу вивчали шляхом проведення трьох окремих досліджень. Всі дослідження виконували після 12-годинного голодування протягом цілої ночі, починаючи з 7.00, якщо тільки інакше не було обумовлено щодо лежачих пацієнтів. Внутрішньовенний катетер вводили в кожне передпліччя, один для взяття проби крові, а інший - для введення, у разі необхідності, глюкози і GLP-1. В усіх експериментах руку, в яку був введений катетер для взяття проби, тримали під теплою ковдрою для того, щоб забезпечити артеріалізацію зразка, взятого з вени. В наступних прикладах GLP-1 вводили особам в формі GLP-1 (7-36) амідю.

Приклад 2 (Пероральна проба толерантності до глюкози)

Проби крові брали для визначення глюкози, С-пептиду, інсуліну, глюкагону і GLP-1 через 30-хвилинні інтервали протягом 120 хвилин після прийому 75г глюкози (Boehringer, Mannheim, Мангайм, Німеччина). Розраховували області зростання під кривою (AUC) від 0 до 120 хвилин для глюкози, інсуліну, С-пептиду, глюкагону і GLP-1. Концентрації глюкози використовували для того, щоб визначити ступінь інтолерантності до глюкози за критеріями Всесвітньої організації охорони здоров'я. Реакція осіб з IGT і з NIDDM на пероральне введення глюкози показана в Таблиці 3.

Реакції глюкози, інсуліну і GLP-1 у осіб на 75мг глюкози показані на Фіг.1. AUC для глюкози від 0 до 120 хвилин у групи осіб з IGT була нижчою, проте AUC для інсуліну, С-пептиду, глюкагону і GLP-1 не відрізнялись.

Таблиця 3

Реакція на пероральний прийом глюкози

2 годин AUC	IGT n=5	NIDDM n=5
Глюкоза (мілімоль. хв./л)	1290 \pm 41	1628 \pm 76*
Інсулін (пікомоль. хв./л)	53,750 \pm 10,648	26,083 \pm 10,047
С-пептид (пікомоль. хв./л)	293 \pm 40	180 \pm 48
Глюкагон (нанограм. хв./л)	8130 \pm 1324	6858 \pm 920
GLP-1 (пікомоль. хв./л)	805 \pm 141	983 \pm 111

$P < 0,05$ для IGT порівняно з NIDDM

Коли були побудовані графіки, середні значення ISR - середні рівні глюкози, виявили, що GLP-1 спричинює значне зниження рівнів глюкози без значних змін середніх швидкостей секреції інсуліну.

Приклад 3 (Призначення впливання глюкози за коливальною схемою)

Периферійне введення глюкози за коливальною схемою призводить до регулярних коливань глюкози плазми. У здорових людей β -клітини здатні виявляти циклічні підвищення і зниження півня глюкози та реагувати на них одночасними змінами секреції інсуліну. Ця настройка інсулін-секреторних коливань у відповідності до коливань глюкози називається взаємним пов'язуванням (entrainment). Відсутність взаємного пов'язування щодо глюкози є раннім виявом дисфункції β -клітин у осіб з IGT і з помірно вираженим NIDDM.

Ми використали протокол впливання малих доз глюкози за коливальною схемою, оскільки це дуже чутливий тест на здатність β -клітин відчувати невеликі зміни концентрації глюкози плазми і реагувати на них. Цим перевіряється цілісність зворотної реакції циклу, з яким пов'язані рівень глюкози і секреція інсуліну. Для нормальної реакції необхідною є неушкоджена здатність до чутливості щодо глюкози.

Щоб визначити, чи здатні β -клітини виявляти коливання рівня глюкози і реагувати на них, глюкозу вливали за коливальною схемою разом з невеликим об'ємом сольового розчину протягом 12 годин. Амплітуда заданих коливань була на 33% вищою і нижчою середнього значення швидкості 4мг/кг/хв., а періодичність становила 144 хвилини.

Щоб визначити вплив GLP-1 на здатність β -клітин реагувати на коливання глюкози, глюкозу вливали таким самим способом, а GLP-1 вливали з постійною швидкістю 0,4пікомоль/кг/хв. протягом 12 годин. Кожне дослідження мало початковий 2-годинний період (07.00-09.00), який дозволяв досягти стабільного стану. За

цим періодом слідував період тривалістю 10 годин (09.00-19.00), протягом якого брали проби крові на глюкозу, інсулін, С-пептид і глюкагон з інтервалом 15 хвилин, а на GLP-1 - з інтервалом 60 хвилин.

Середні рівні глюкози в обох групах протягом вливання GLP-1 були значно нижчими порівняно з середніми рівнями глюкози при вливанні сольового розчину; середнє зниження становило $2,4 \pm 0,6$ мілімоль у осіб з IGT ($P < 0,02$) і $5,2 \pm 0,5$ мілімоль у діабетиків ($P < 0,0005$).

Незважаючи на таке значне зниження концентрації глюкози у плазмі, середні значення ISR протягом вливання GLP-1, порівняно з вливанням сольового розчину, незначно відрізнялись у обох груп (Таблиця 4).

Таблиця 4

Реакції середнього значення глюкози і середнього значення ISR на 12-годинне вливання сольового розчину або GLP-1

Ідентифікація	Середнє значення глюкози, 12-годинне вливання сольового розчину	Середнє значення глюкози, 12-годинне вливання GLP-1	Середнє значення ISR, 12-годинне вливання сольового розчину	Середнє значення ISR, 12-годинне вливання GLP-1
IGT				
D01	7,49	6,48	376,1	390,9
D02	8,34	6,06	457,9	465,9
D03	10,16	6,46	900,2	1042,7
D04	7,90	6,36	328,5	365,9
D05	10,06	6,37	798,0	1005,8
Середнє значення \pm SEM	$8,79 \pm 0,56$	$6,35 \pm 0,08^*$	$572,1 \pm 116,1$	$654,2 \pm 152,1$
NIDDM				
D06	16,73	11,53	232,3	477,7
D07	17,28	10,51	640,3	715,4
D08	9,94	6,24	615,6	487,7
D09	13,95	8,84	366,5	412,5
D10	15,05	9,90	346,2	448,9
Середнє значення \pm SEM	$14,59 \pm 1,3$	$9,40 \pm 0,9^*$	$440,2 \pm 80,1$	$508 \pm 53,4$

* $P < 0,05$ за парним тестом, стосовно порівняння вливання сольового розчину і GLP-1.

Протягом вливання GLP-1, порівняно з вливанням сольового розчину, середні рівні інсуліну також підтримувались підвищеними до 102 ± 90 пікомоль/л; $P = 0,32$ у осіб з IGT і підвищеними до 7 ± 12 пікомоль/л; $P = 0,56$ у осіб з NTJDDM. Середні рівні глюкагону протягом вливання GLP-1, порівняно з вливанням сольового розчину, також не відрізнялись ($39,3 \pm 5,4$ пікограм/мл порівняно з $39,4 \pm 5,9$ пікограм/мл; $P = 0,94$) у осіб з IGT і ($46,4 \pm 3,2$ пікограм/мл порівняно з $42,8 \pm 5,4$ пікограм/мл; $P = 0,4$) у осіб з NTDDM. Рівні GLP-1, яких досягали протягом вливання GLP-1, становили $15,6 \pm 4,6$ пікомоль/л порівняно з $2,0 \pm 0,8$ пікомоль/л протягом вливання сольового розчину ($P < 0,001$). Ці рівні відповідали фізіологічним рівням після прийому їжі.

Приклад 4 (Взаємозв'язок між глюкозою та ISR у осіб з IGT)

У здорових людей кожен імпульс глюкози тісно пов'язаний з імпульсом у ISR. Раніше було показано, що цей зв'язок порушений у людей з IGT. Криві глюкози та ISR протягом вливання глюкози з сольовим розчином за коливальною схемою пересічному представникові групи з IGT, D02, показані на Фіг.3A і 3C. Ці результати показують, що у осіб з IGT під час вливання сольового розчину наявна втрата тісного зв'язку між глюкозою і ISR з багатьма коливаннями ISR, незалежно від рівня глюкози. У присутності фізіологічних рівнів GLP-1, що відповідають рівням після прийому їжі, (Фіг.3B і 3D) характер інсулін-секреторних реакцій на глюкозу у осіб з IGT поліпшувався, за кожним імпульсом глюкози наступав імпульс ISR. Отже, GLP-1 поліпшує здатність β -клітин до пов'язування з вливанням екзогенної глюкози у осіб з IGT.

Приклад 5 (Взаємозв'язок між глюкозою та ISR у осіб з NTDDM)

На Фіг.4 показані криві глюкози та ISR у особи з MDDM, D07. Наявний результат помітно протилежний результатів, отриманому для осіб з IGT; незважаючи на зниження концентрацій глюкози у плазмі та підтримання ISR, характер інсулін-секреторних реакцій на глюкозу протягом вливання GLP-1 не поліпшився (Фіг.4B і 4D), наявна велика кількість коливань ISR, незалежно від глюкози. Графіки глюкози та ISR протягом вливання глюкози з сольовим розчином за коливальною схемою показані на Фіг.4A і 4C.

Приклад 6 (Вплив GLP-1 на спектральну потужність у осіб з IGT та з NIDPM)

Щоб визначити, чи у окремих осіб секреція інсуліну була взаємно пов'язана з глюкозою, проводили спектральний аналіз кривих секреції інсуліну в часі. Аналіз спектральної потужності застосовували, щоб оцінити наявність тісного зв'язку між коливаннями рівня глюкози і коливаннями ISR. Цим методом оцінюють регулярність коливань секреції інсуліну при попередньо визначеній частоті. Спектральні піки відповідають домінуючій періодичності, а висота піків відповідає спектральній потужності. Кожен спектр був нормований, приймаючи, що загальна дисперсія кожної серії становить 100% і виражали як нормовану спектральну потужність.

Середня нормована спектральна потужність щодо глюкози у осіб з IGT становила $11,2 \pm 1,5$ протягом вливання сольового розчину і $13,2 \pm 1,6$ протягом вливання GLP-1 ($P = 0,19$), а у осіб з NTODM - $6,5 \pm 1,8$ протягом вливання сольового розчину і $9,8 \pm 0,7$ протягом вливання GLP-1 ($P = 0,18$). На Фіг.5 чітко показано, що вливання GLP-1 посилює інсулін-секреторні реакції на коливання рівня глюкози в плазмі у осіб з IGT, що призводить до більшого ступеня взаємного пов'язування секреції інсуліну щодо рівня глюкози. Ефект оцінювали кількісно, порівнюючи нормовану спектральну потужність кривих секреції інсуліну. Спектральна потужність для ISR підвищується від $2,9 \pm 1,4$, протягом вливання сольового розчину, до $8,9 \pm 1,7$, протягом

вливання GLP-1; ($P < 0,006$) і залишається без змін у осіб з NTDDM (від $1,1 \pm 0,5$ до $1,5 \pm 0,8$; $P = 0,6$).

Спектральний аналіз кривих коливання глюкози підтверджений наявністю піків на спектрах глюкози у плазмі на 144 хвилині, що відповідає періоду вливання екзогенної глюкози. Індивідуальні спектри потужності глюкози та ISR, отримані для однієї особи з IGT (Фіг.6A) і однієї особи з NIDDM (Фіг.6B) протягом вливання сольового розчину і протягом вливання GLP-1, показані на Фіг.6. Вони відповідають даним, наведеним на Фіг.3C і 3D, а також Фіг.4A і 4B. Спектральна потужність підвищується від 0,6 до 8,9 у осіб з IGT і змінюється мінімально, від 0,28 до 1,51, у осіб з NIDDM. Піки на спектрах глюкози у плазмі з'являються на 144 хвилині. Протягом вливання сольового розчину домінуючий спектральний пік для ISR не з'являвся на 144 хвилині, а спектральна потужність радше становила 0,2. Спектральна потужність при вливанні GLP-1 становила 1,5.

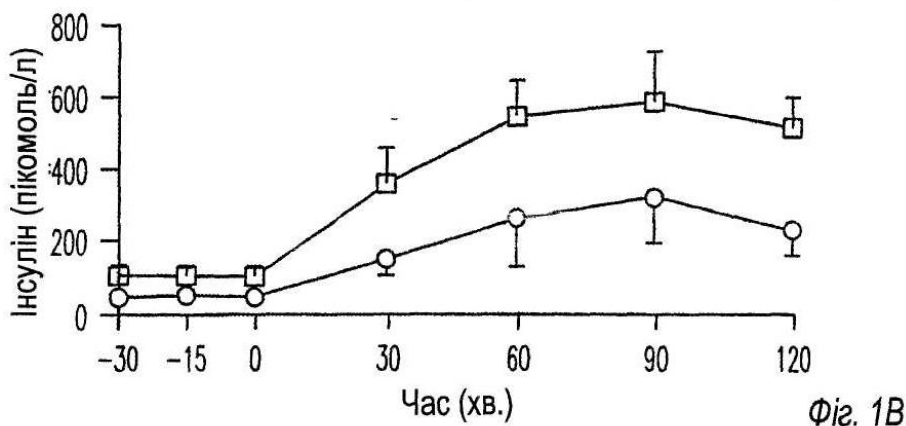
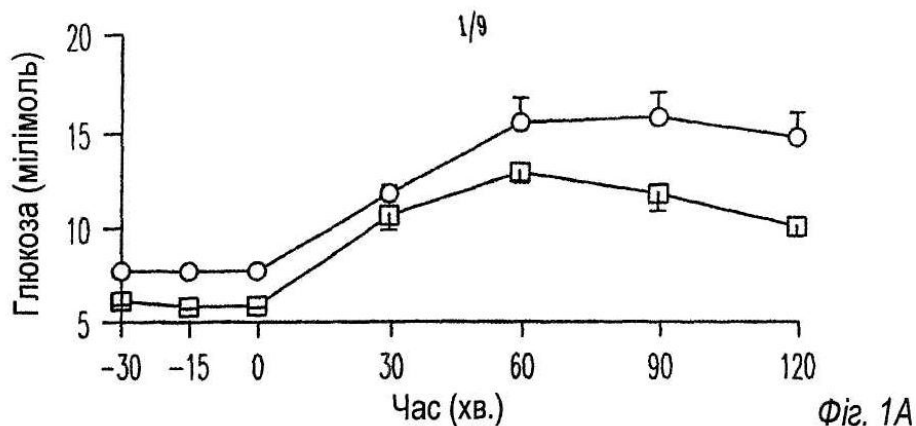
Протягом вливання сольового розчину, коли спектральна потужність для ISR на 144 хвилині становила 0,6, взаємне пов'язування було недостатнім (Фіг.3A). Протягом вливання GLP-1 (Фіг.3B), періодичність домінуючого піка на спектрі ISR становила 144 хвилини, показуючи, що GLP-1 спричинює взаємне пов'язування β -клітин у цієї особи.

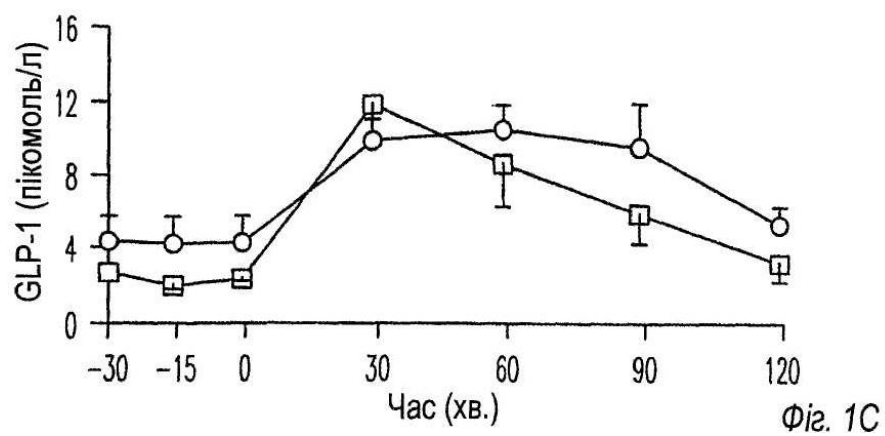
Середня величина нормованої спектральної потужності у осіб контрольної групи, відповідних за індексом маси тіла ($BMI 28,3$) з нормальною толерантністю до глюкози становила $7,2 \pm 0,6$ (9).

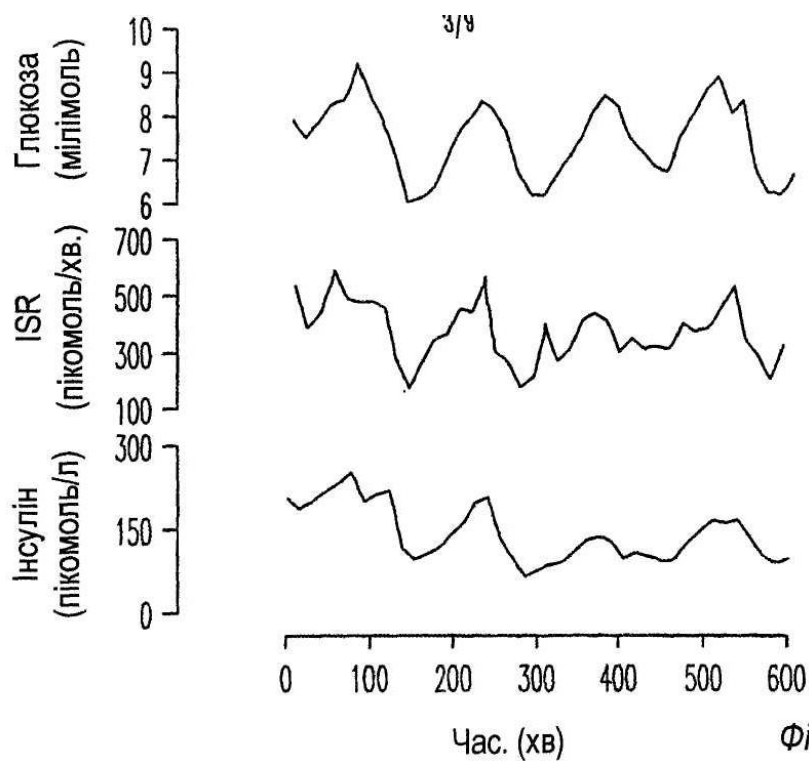
Результати цього дослідження показали, що безперервне вливання GLP-1 у кількості, що відповідає фізіологічним рівням після прийому їжі, знижує концентрації глюкози у плазмі та стимулює секрецію інсуліну у осіб з IGT і осіб з NIDDM. Найважливіше те, що GLP-1 відновлює здатність β -клітин відчувати глюкозу плазми у всіх осіб з IGT (кількісна оцінка за допомогою нормованої спектральної потужності) та реагувати на неї; у осіб, у яких уже розвинувся NIDDM реакція була нестійкою.

Можливо, механізми, які спричинюють поліпшення функції β -клітин за допомогою GLP-1, включають регулювання чутливих до глюкози елементів, усунення глюкотоксичності та поліпшення інсулінорезистентності. GLP-1 і глюкоза мають синергічну інсулінотропну дію на β -клітини, включно з стимуляцією циклічного утворення AMP, секрецією інсуліну, біосинтезом інсуліну і гена - експресора проінсуліну.

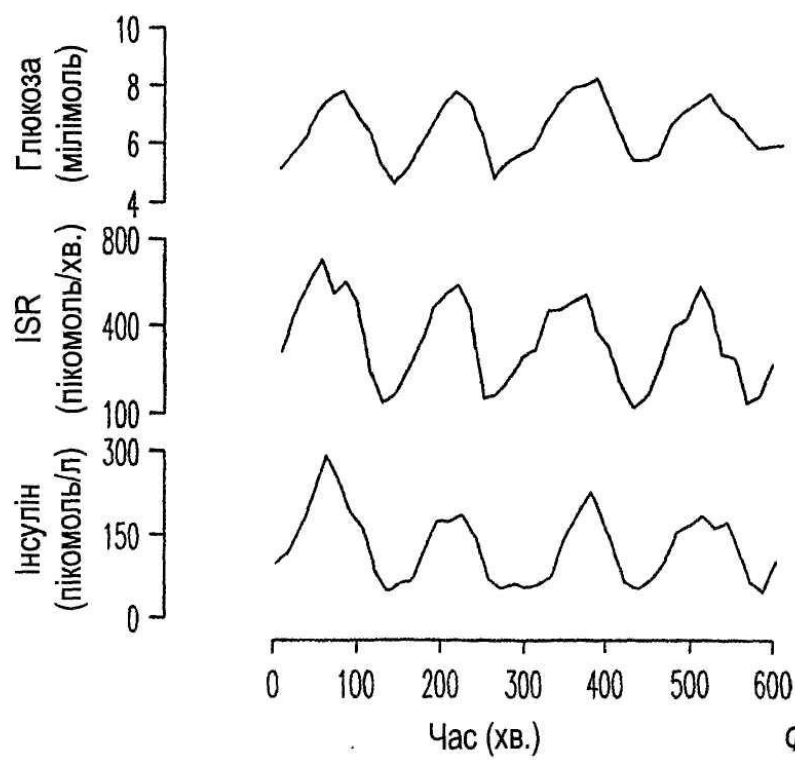
Ці приклади показали, що безперервне вливання фізіологічних рівнів GLP-1 знижує концентрації глюкози у плазмі та стимулює секрецію інсуліну у осіб з IGT і у осіб з NIDDM. Найважливіше те, що GLP-1 відновлює здатність β -клітин відчувати незначні зміни концентрацій глюкози у плазмі у осіб з IGT і реагувати на них; у осіб, у яких уже розвинувся MOOM, реакція була тільки нестійкою. Щодо осіб з IGT, спостерігалось значне підвищення спектральної потужності, яка є мірою функції β -клітин, що не зумовлена коригуванням чутливості до інсуліну.



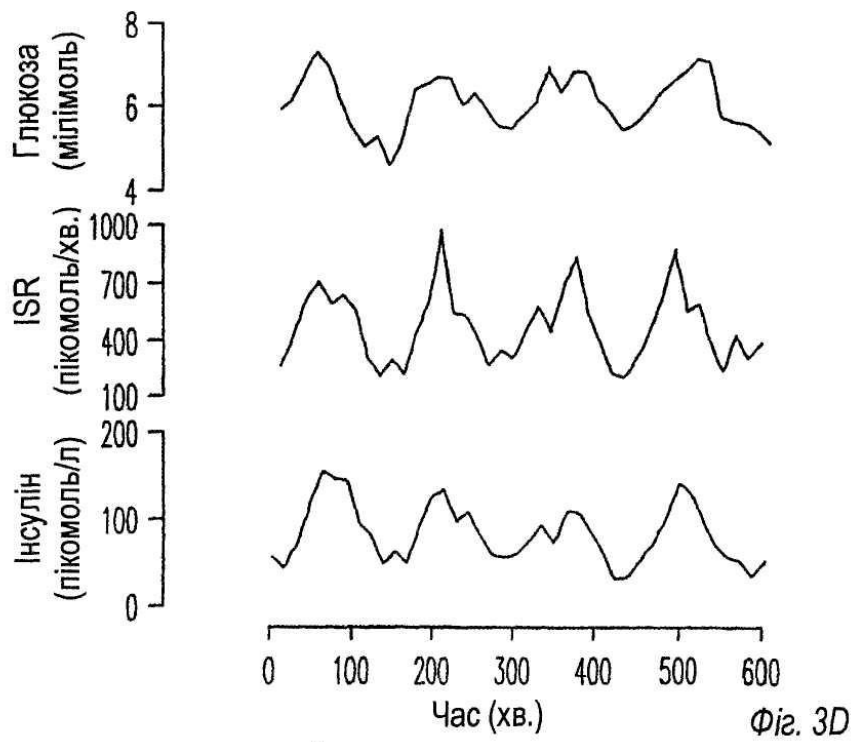
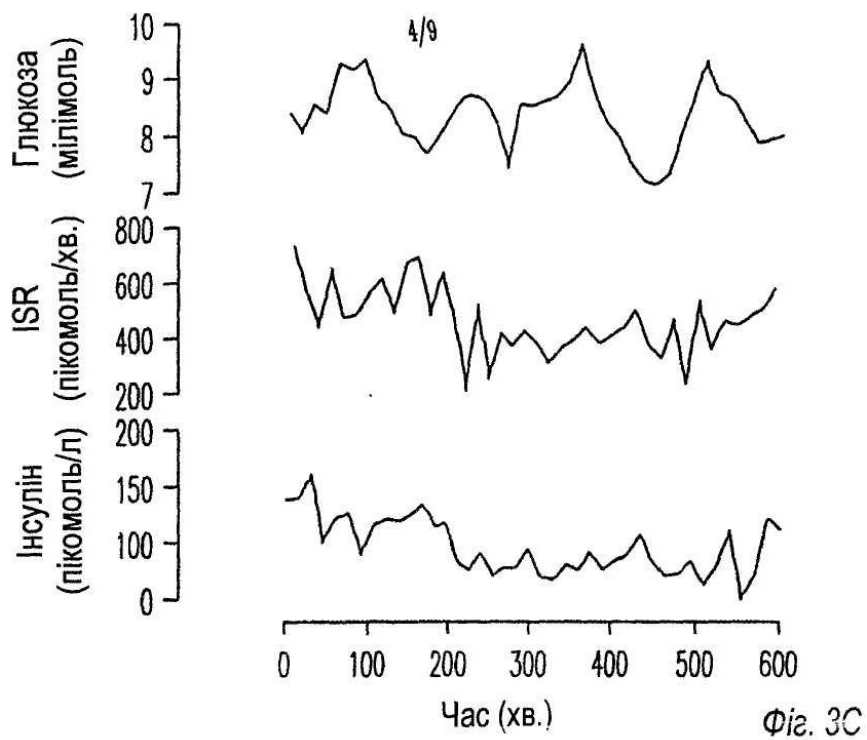


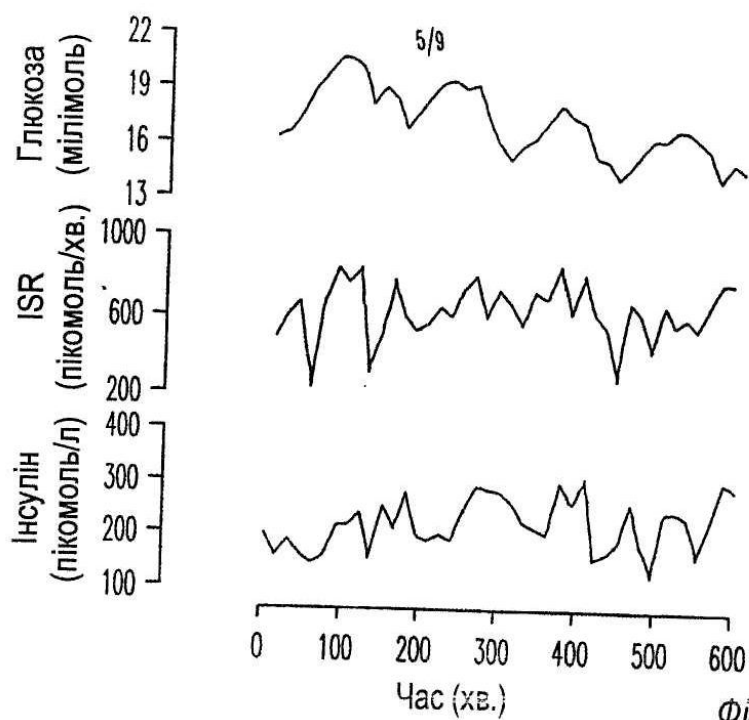


Фіг. 3А

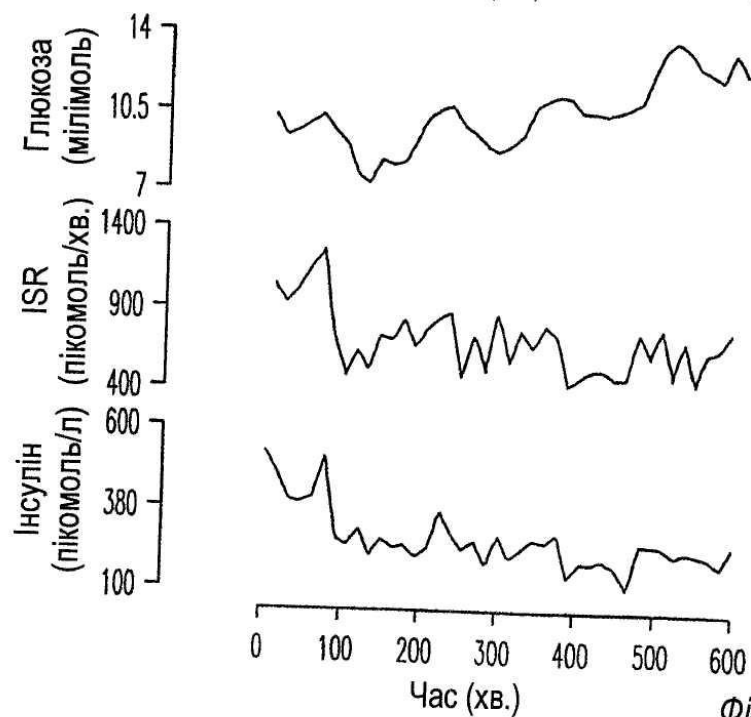


Фіг. 3В

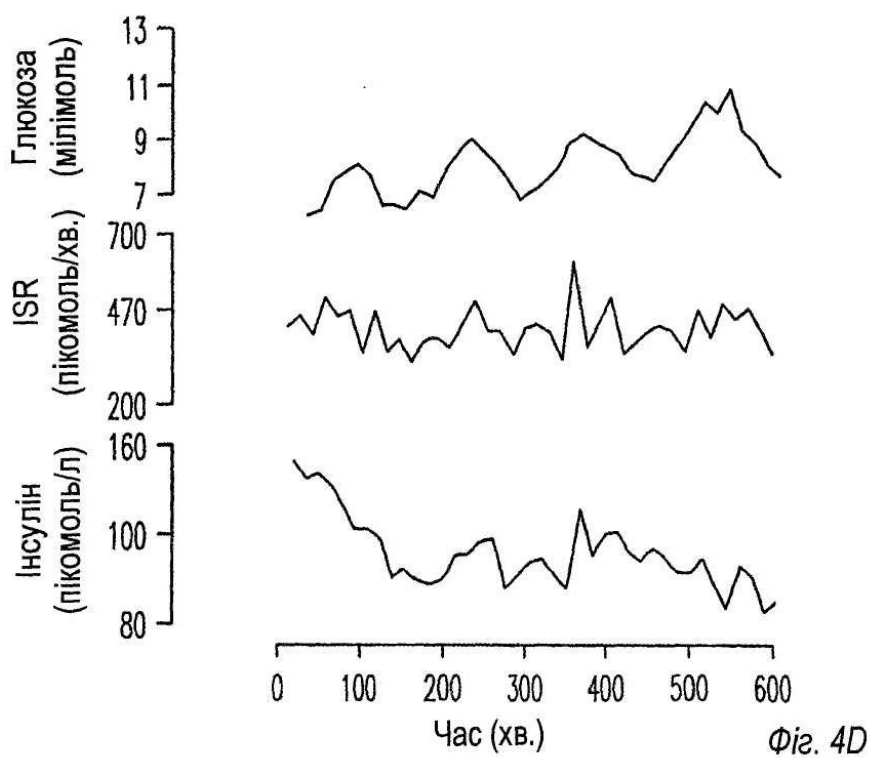
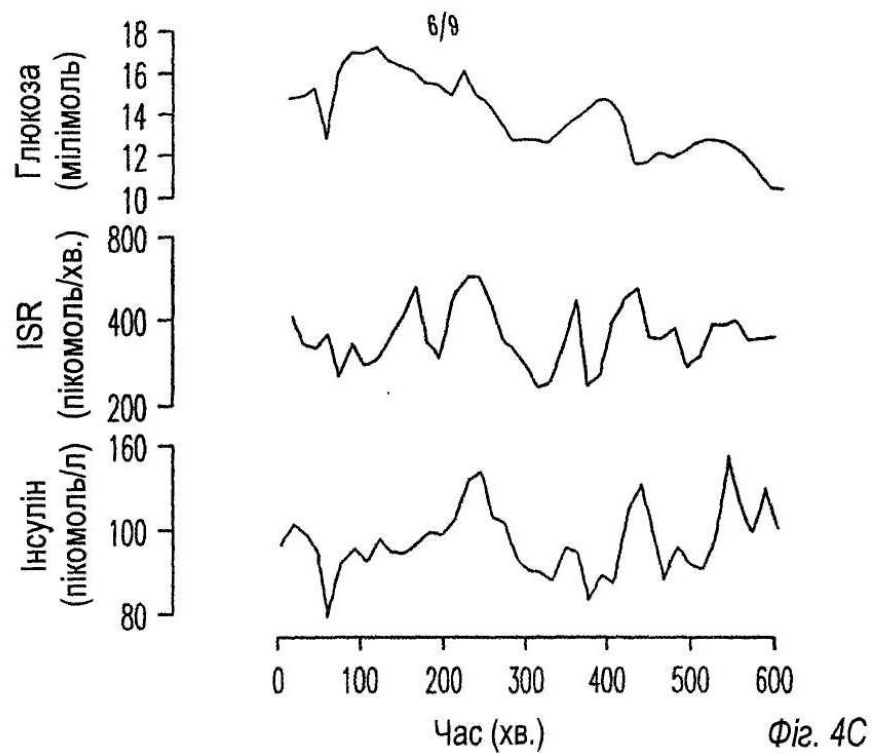


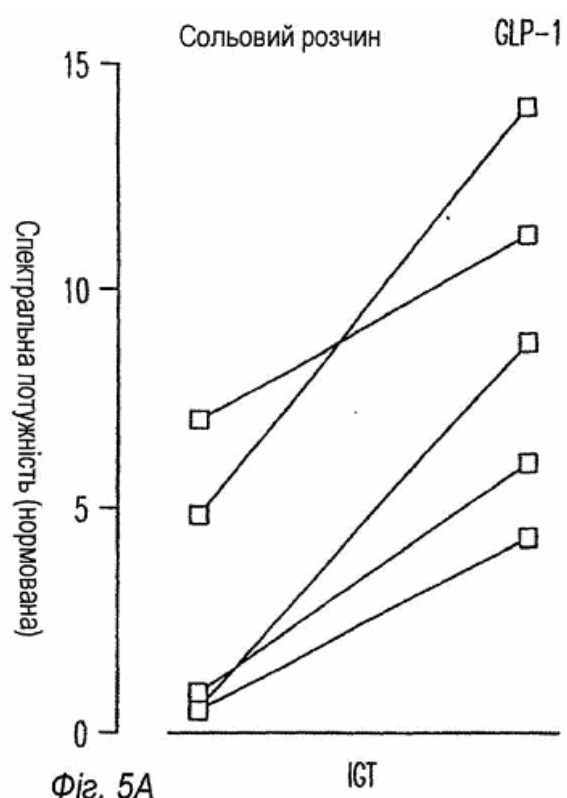


Фіг. 4А

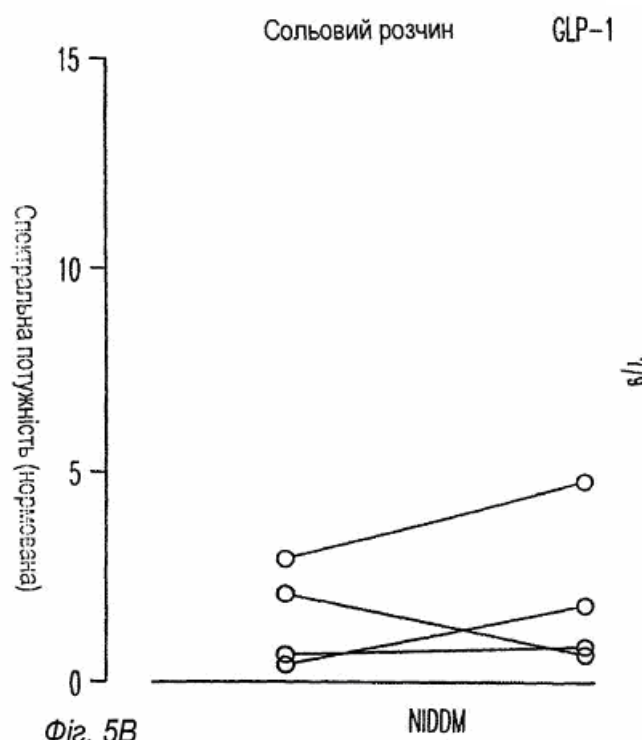


Фіг. 4В

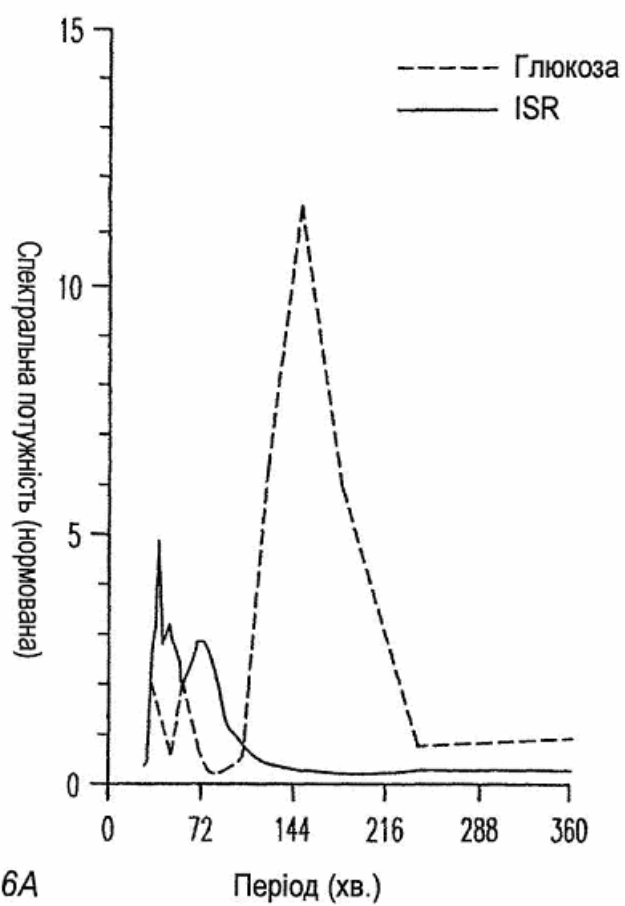




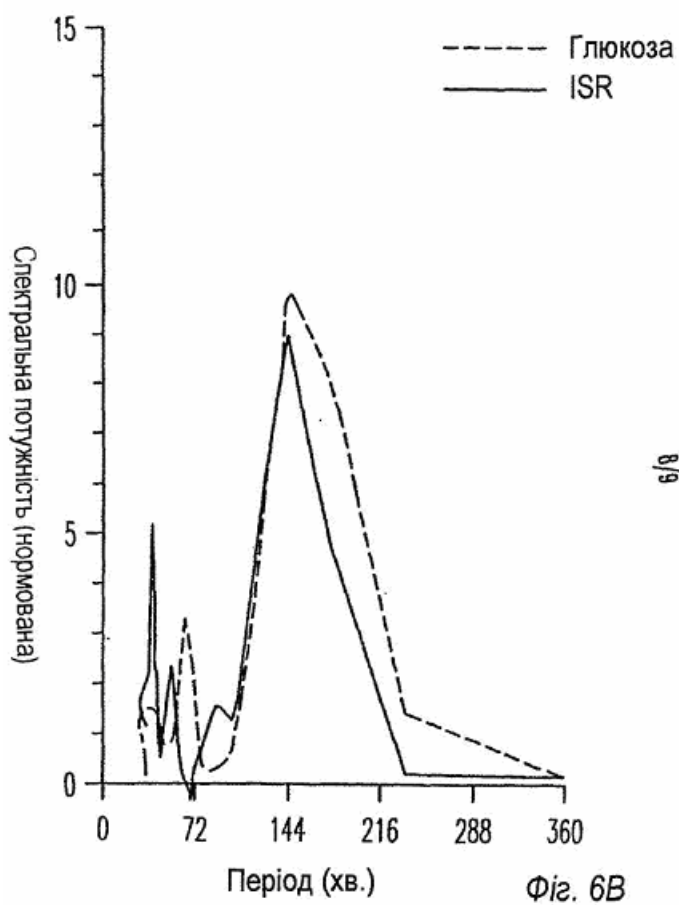
Фіг. 5А



Фіг. 5В



Фіг. 6А



Фіг. 6В

