

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России
Кафедра фармакологии и биоинформатики



**МЕТОДЫ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ
ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ.
ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ИХ КОРРЕКЦИЯ**

План

- I. Сахарный диабет – определение, классификация, распространенность, стандарты терапии
- II. Молекулярные механизмы действия противодиабетических средств
- III. Направленный поиск антидиабетических средств
- IV. Исследование антидиабетической активности новых веществ
- V. Отдаленные последствия сахарного диабета и их коррекция

I. Определение сахарного диабета и его классификация

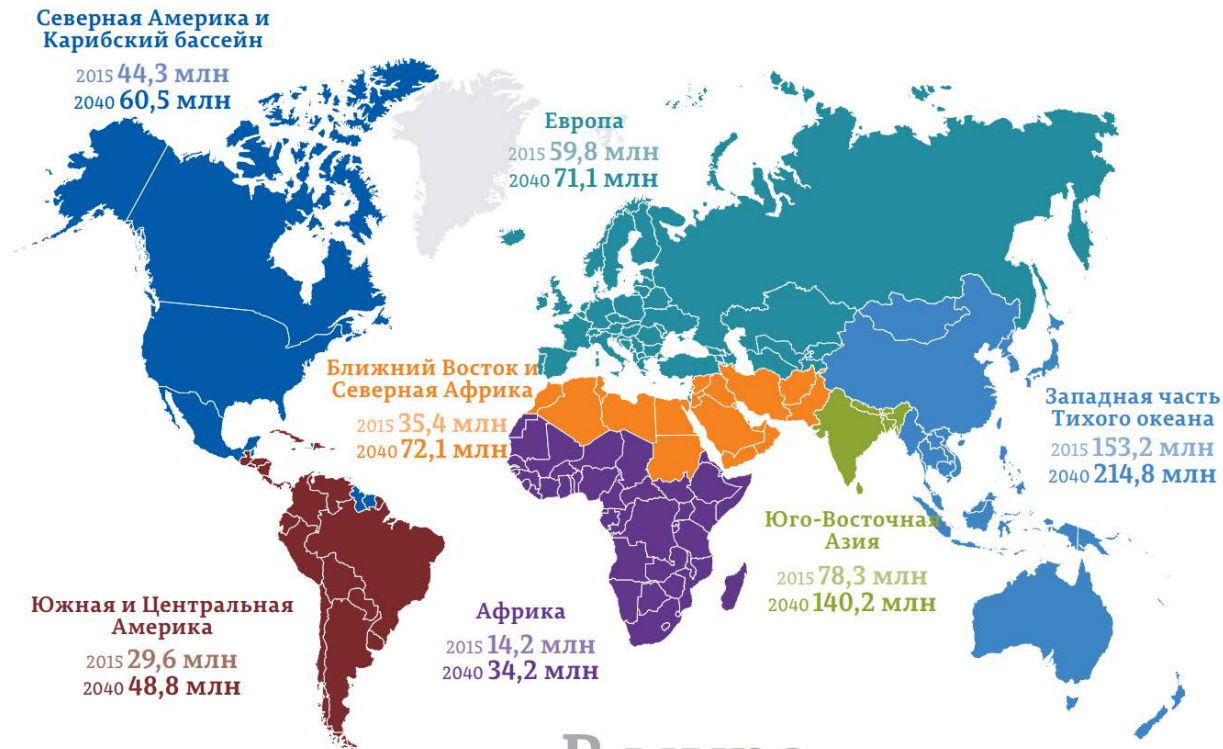
Сахарный диабет (СД) – это группа метаболических (обменных) заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, которая является результатом нарушения секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. Хроническая гипергликемия при СД сопровождается повреждением, дисфункцией и недостаточностью различных органов, особенно глаз, почек, нервов, сердца и кровеносных сосудов.

КЛАССИФИКАЦИЯ СД (ВОЗ, 1999, с дополнениями)

СД 1 типа • Иммуноопосредованный • Идиопатический	Деструкция β -клеток поджелудочной железы, обычно приводящая к абсолютной инсулиновой недостаточности
СД 2 типа	• с преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или • с преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без нее
Другие специфические типы СД	• Генетические дефекты функции β-клеток • Генетические дефекты действия инсулина • Заболевания экзокринной части поджелудочной железы • Эндокринопатии • СД, индуцированный лекарственными препаратами или химическими веществами • Инфекции • Необычные формы иммунологически опосредованного СД • Другие генетические синдромы, иногда сочетающиеся с СД
Гестационный СД	Возникает во время беременности*

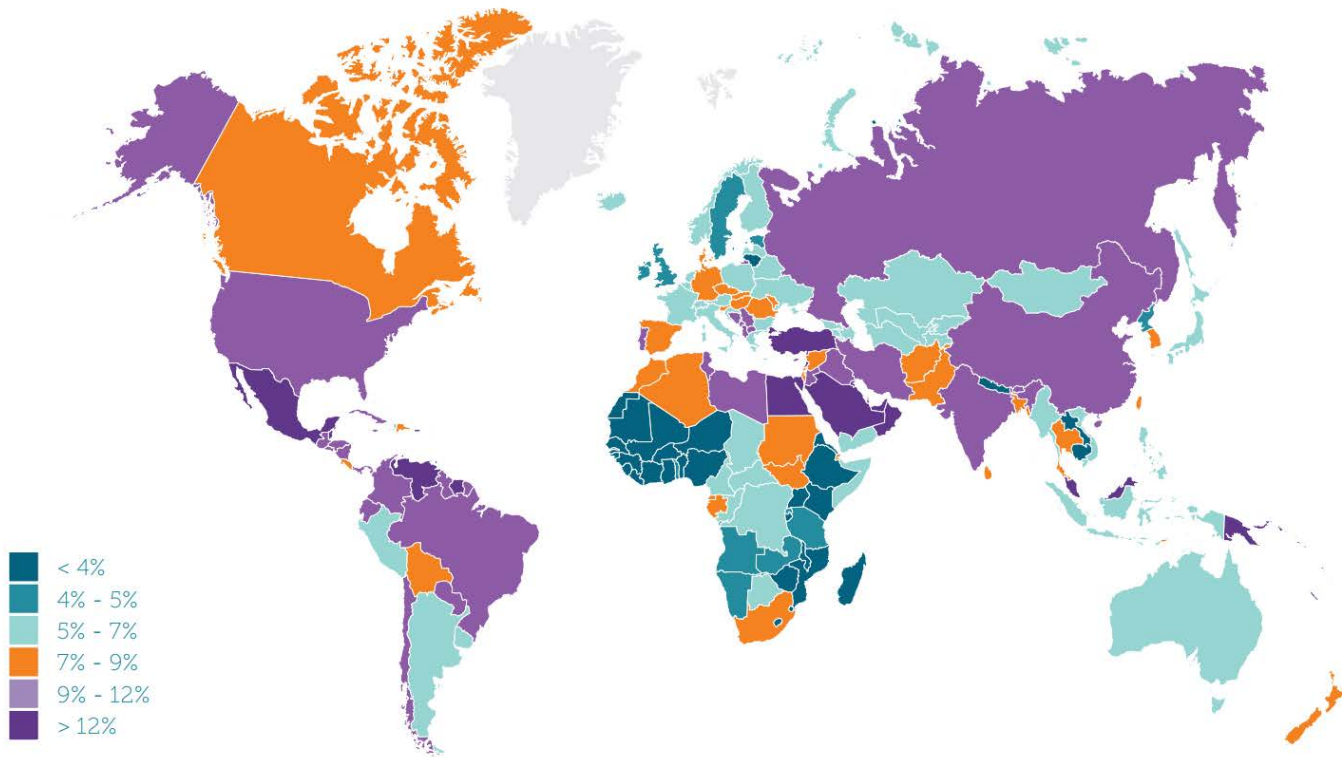
* Кроме манифестного СД

Количество людей с СД (20-79 лет) в мире и регионах.



В мире
2015 415 млн
2040 642 млн

Показатели распространенности СД среди взрослого населения (20–70 лет), 2015 г.

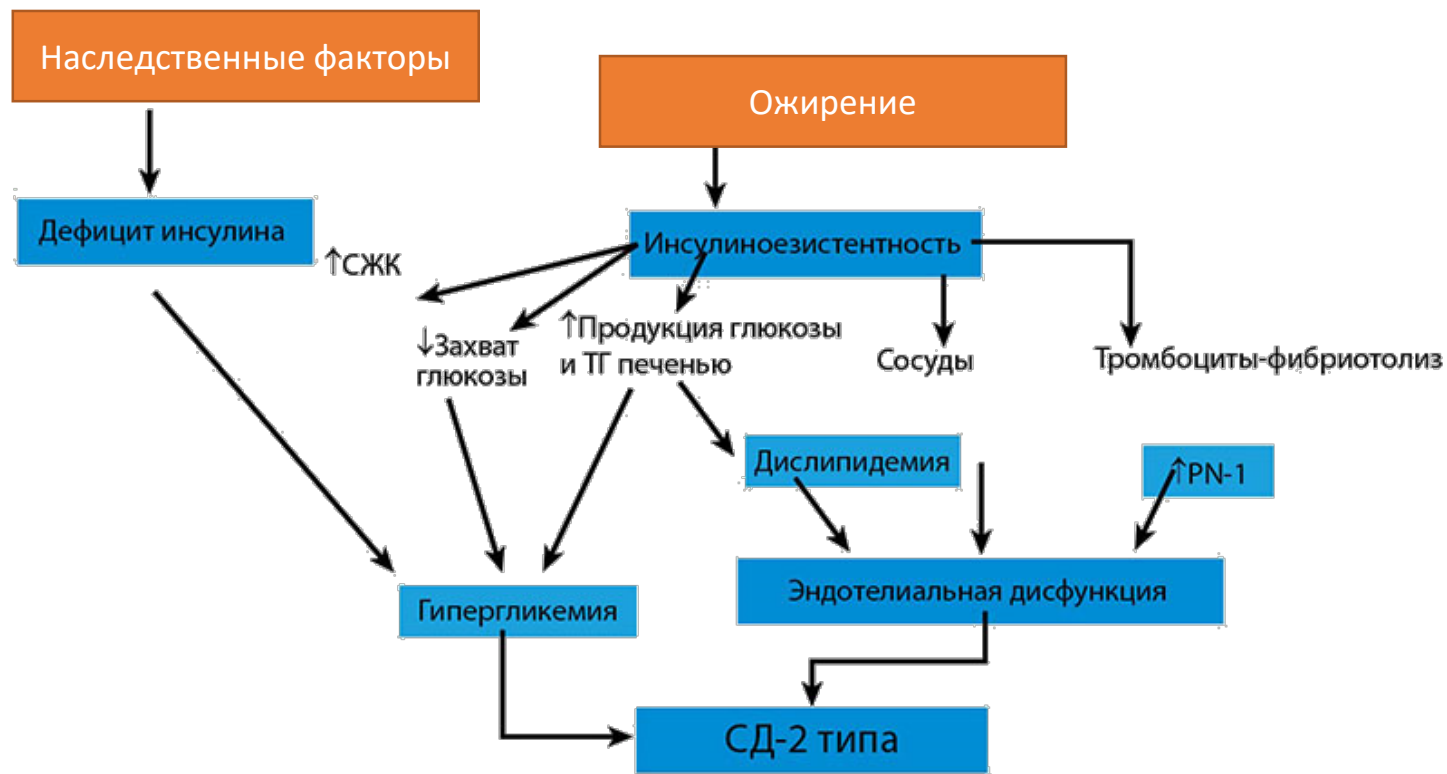


Патогенез сахарного диабета 1 типа

- I. Наличие генетической склонности или нарушения иммунитета
- II. Повреждающее действие различных факторов внешней среды (например, вирусная инфекция: вирус Коксаки, паротита, краснухи, инфекционного мононуклеоза, цитомегеловирус, другие)
- III. Активный аутоиммунный инсулин в поджелудочной железе, с выработкой антител к β - клеткам поджелудочной железы с их разрушением
- IV. Прогрессирование аутоиммунного инсулита, гибель $>50\%$ β - клеток
- V. Развития явного СД
- VI. Полная деструкция β - клеток

Длительность каждой стадии зависит от состояния иммунитета

Патогенез сахарного диабета 2 типа



Адаптировано-YM-Jirvinen H.In: Textbook of Diabetes 1. 3rd ed. Oxford UK Blackwell: 2003-22. 1-22.19.

Фазы развития сахарного диабета типа 2

- Наличие первичной инсулинорезистентности и других генетически обусловленных нарушений, способствующих снижению биологического действия инсулина;
- Достаточная адаптация островкового аппарата поджелудочной железы к повышенной секреции инсулина (нормальное состояние углеводного обмена, гиперплазия β -клеток поджелудочной железы);
- Умеренная декомпенсация островкового аппарата поджелудочной железы (нарушение гликемии натощак и/или нарушенная толерантность к углеводам);
- Выраженная декомпенсация β -клеток островков поджелудочной железы, клиническая манифестация СД (применение диетотерапии и пероральных сахароснижающих средств);
- Декомпенсация, структурные изменения β -клеток и недостаточная секреция инсулина (необходимо применение инсулинотерапии).

5. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 1 ТИПА

СД 1 типа — нарушение углеводного обмена, вызванное деструкцией β -клеток поджелудочной железы, обычно приводящей к абсолютной инсулиновой недостаточности.

5.1. ЛЕЧЕНИЕ СД 1 ТИПА

- Инсулинотерапия
- Обучение и самоконтроль
- **Заместительная инсулинотерапия является единственным методом лечения СД 1 типа**
- Питание и физическая активность лишь учитываются для коррекции дозы инсулина.

6. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА

СД 2 типа — нарушение углеводного обмена, вызванное преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без нее.

6.1. ЛЕЧЕНИЕ СД 2 ТИПА

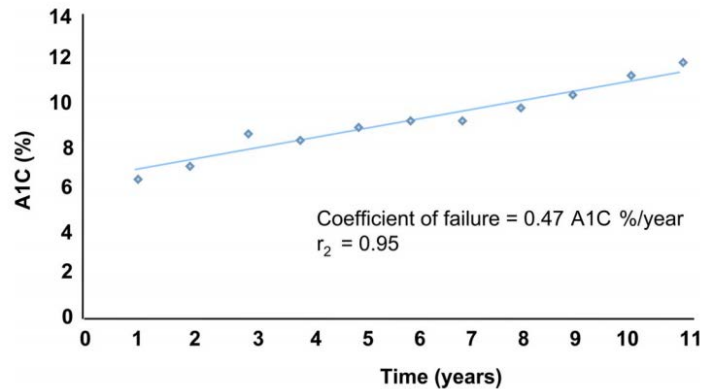
- Питание
- Физическая активность
- Сахароснижающие препараты
- Обучение и самоконтроль
- Хирургическое лечение (бариатрия) при морбидном ожирении (см. главу 22)

Группы сахароснижающих препаратов и механизм их действия

Группы препаратов	Механизм действия
Препараты сульфонилмочевины (СМ)	• Стимуляция секреции инсулина
Глиниды (меглитиниды)	• Стимуляция секреции инсулина
Бигуаниды (метформин)(Мет)	• Снижение продукции глюкозы печенью • Снижение инсулинорезистентности мышечной и жировой ткани
Тиазолидиндионы (глитазоны) (ТЗД)	• Снижение инсулинорезистентности мышечной и жировой ткани • Снижение продукции глюкозы печенью
Ингибиторы α -глюкозидаз	• Замедление всасывания углеводов в кишечнике
Агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида – 1 (аГПП-1)	• Глюкозозависимая стимуляция секреции инсулина • Глюкозозависимое снижение секреции глюкагона и уменьшение продукции глюкозы печенью • Замедление опорожнения желудка • Уменьшение потребления пищи • Снижение массы тела
Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (глиптины) (иДПП-4)	• Глюкозозависимая стимуляция секреции инсулина • Глюкозозависимое подавление секреции глюкагона • Снижение продукции глюкозы печенью • Не вызывают замедления опорожнения желудка • Нейтральное действие на массу тела
Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (глифлозины) (иНГЛТ-2)	• Снижение реабсорбции глюкозы в почках • Снижение массы тела • Инсулиннезависимый механизм действия
Инсулины	• Все механизмы, свойственные эндогенному инсулину

Неадекватность современной терапии СД2

Рост содержания HbA1C при стандартной терапии сахарного диабета 2 типа



Fonseca V. A. Defining and characterizing the progression of type 2 diabetes // Diabetes care. – 2009. – Vol. 32. – No. suppl 2. – P. S151-S156.

POPULATION HEALTH MANAGEMENT
Volume 17, Number 4, 2014
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/pop.2013.0099

Failure to Reach Target Glycated A1c Levels Among Patients with Diabetes Who Are Adherent to Their Antidiabetic Medication

Deborah Taira Juarez, ScD,¹ Carolyn Ma, PharmD,¹ Audrey Kumasaka,¹ Reid Shimada,² and James Davis, PhD³

Abstract

The objectives of this study were to describe patient characteristics and types of medications taken by those with poor glycemic control (A1c > 7%) despite being adherent to antidiabetic medications. This is a retrospective analysis of administrative data from adult patients with diabetes enrolled in a large health plan in Hawaii (n = 21,267 observations for 11,013 individuals) and adherent to their antidiabetic medications. Multivariable logistic regressions were estimated to determine characteristics and types of medications associated with poor glycemic control. Separate models were estimated to examine category of medication (insulin only, 1 oral medication, multiple oral medications, both oral medications and insulin) and specific therapeutic class of oral antidiabetic medications. **Despite being adherent to their medications, 56.1% of patients had poor glycemic control.** Compared to patients taking combination sulfonylureas, patients had a higher odds of having A1c > 7% for all other oral diabetic medications, with odds ratios ranging from OR = 2.07 for sulfonylureas alone to OR = 1.33 for combination DPP-4 inhibitors. More than half of patients in this study had poor A1c control despite being adherent to their medications. This suggests that physicians, pharmacists, and other providers may need to monitor treatment regimens more carefully, encourage healthy behaviors, and intensify pharmacological treatment as needed. (*Population Health Management* 2014;17:218–223)

II. Молекулярные механизмы действия противодиабетических средств

Некоторые перспективные мишени терапии СД2

Фруктозо-1,6-
бисфосфатаза (**FBP**)

АМФ-активируемая
протеинкиназа
(**AMPK**)

Протеин-тирозин
фосфатаза типа 1 β
(**PTP1B**)

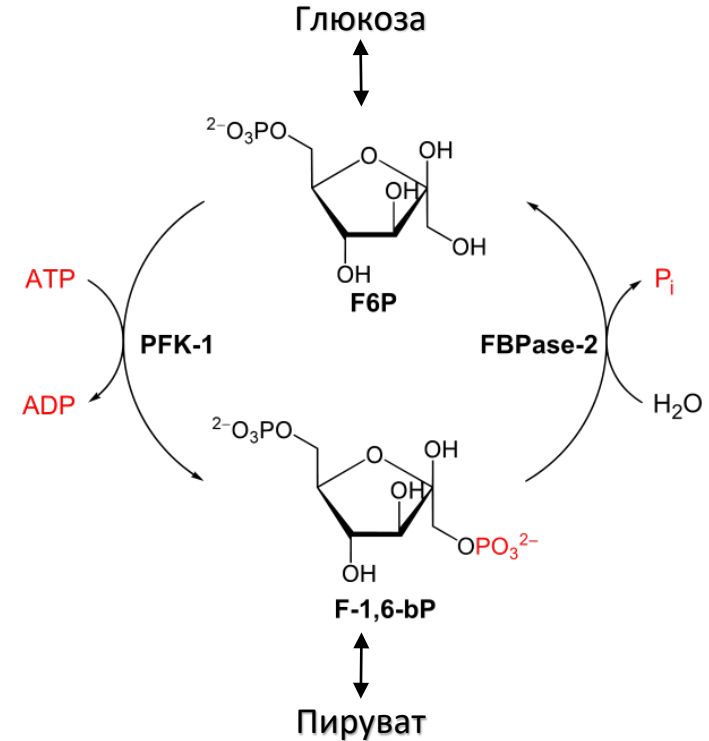
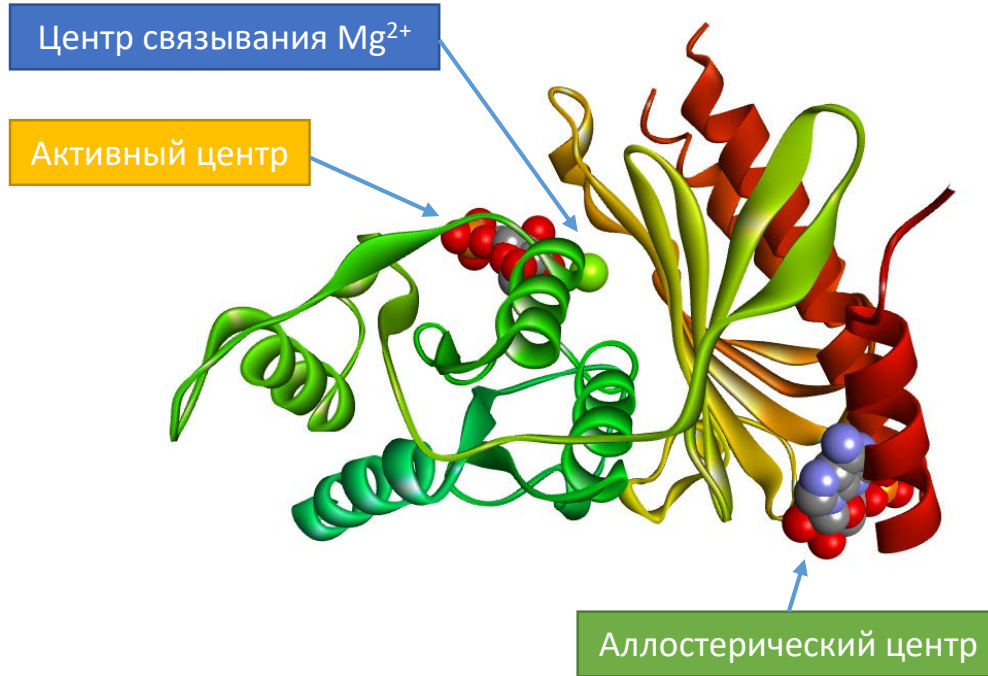
Гликогенсинтазы
киназа типа 3 β
(**GSK3B**)

Пируват-
дегидрогеназы
киназа типа 4
(**PDK4**)

Глюкокиназа (**GK**)

Поли(АДФ-
рибоза)полимераза
(**PARP**)

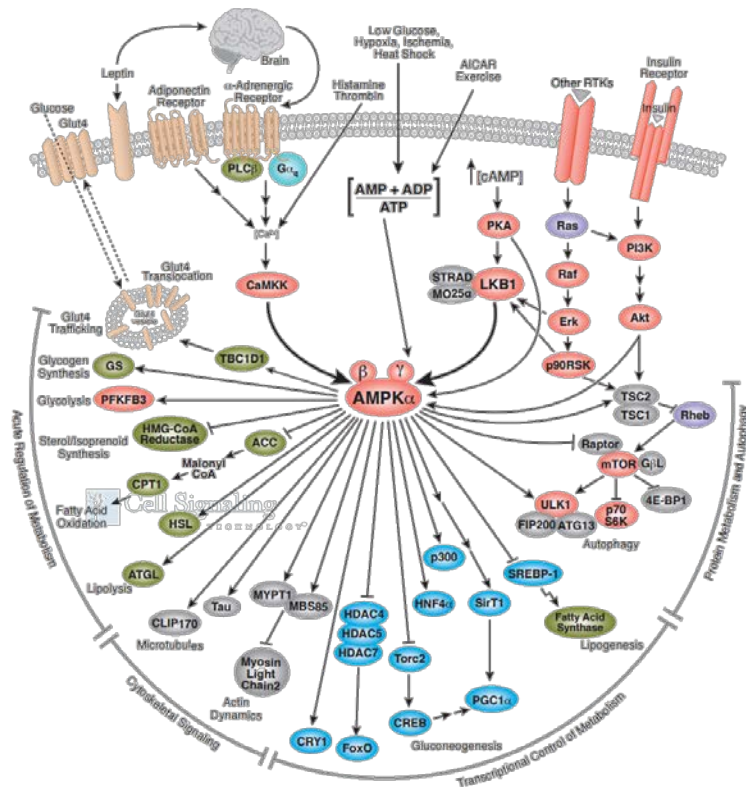
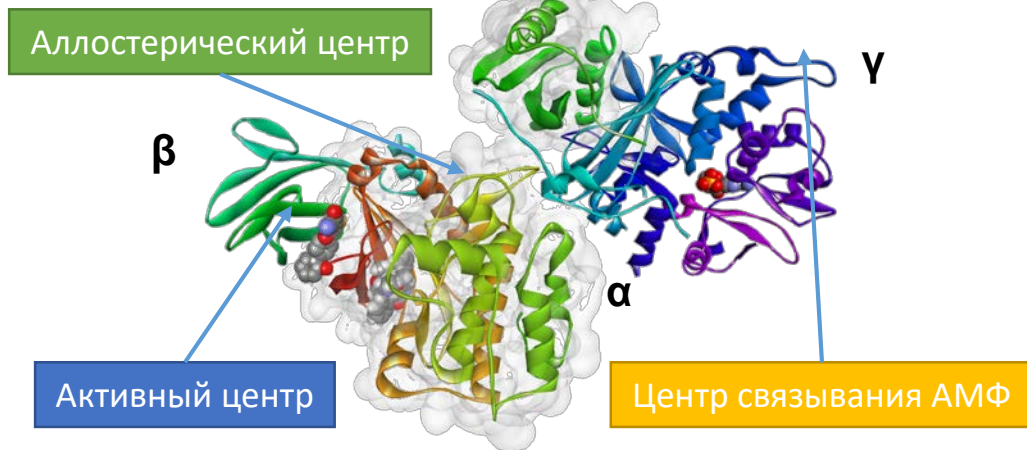
Фруктозо-1,6-бисфосфатаза (FBP)



Ke H. M., Zhang Y. P., Lipscomb W. N. Crystal structure of fructose-1, 6-bisphosphatase complexed with fructose 6-phosphate, AMP, and magnesium // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1990. – Vol. 87. – No. 14. – P. 5243-5247.

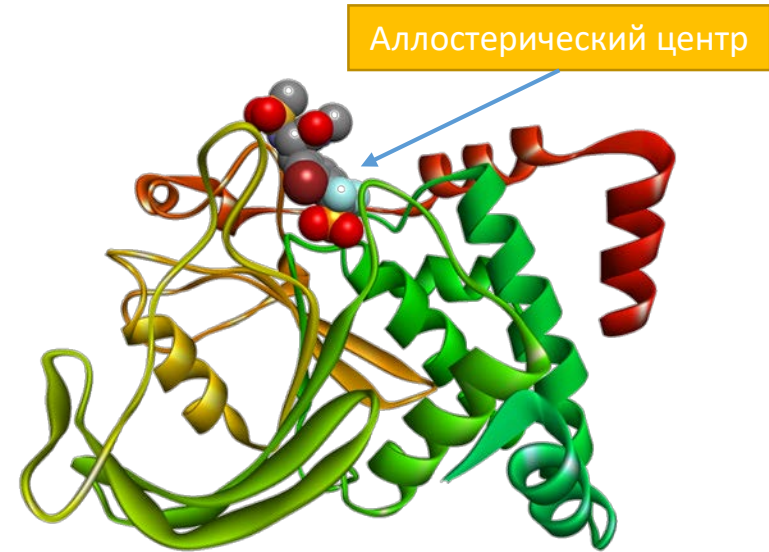
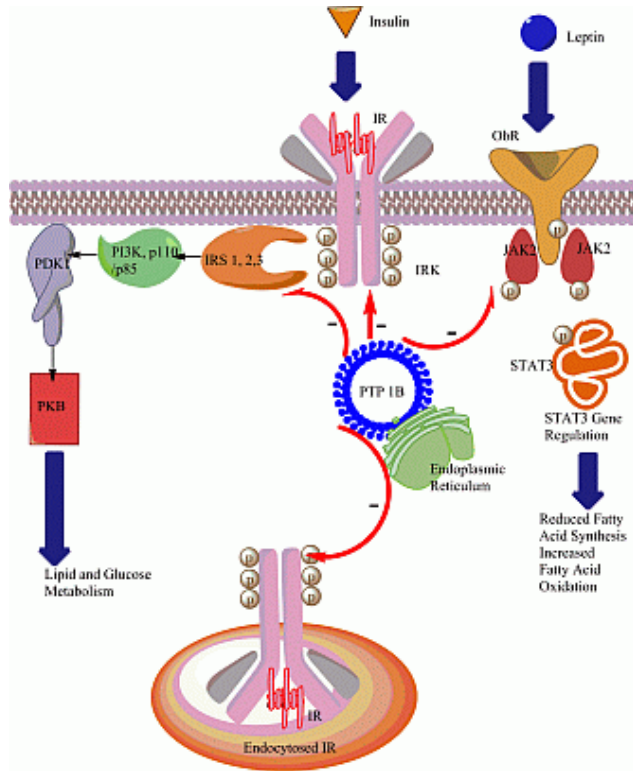
АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК)

Клеточная АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК) играет ключевую роль в регуляции энергетического гомеостаза клетки, участвует в регуляции метаболизма глюкозы и липидов и поэтому рассматривается как перспективная терапевтическая мишень для лечения СД2, ожирения, метаболического синдрома и опухолевых заболеваний. Также показано, что АМРК является важным модулятором процесса старения, что реализуется через взаимодействие с mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих) и сиртуинами



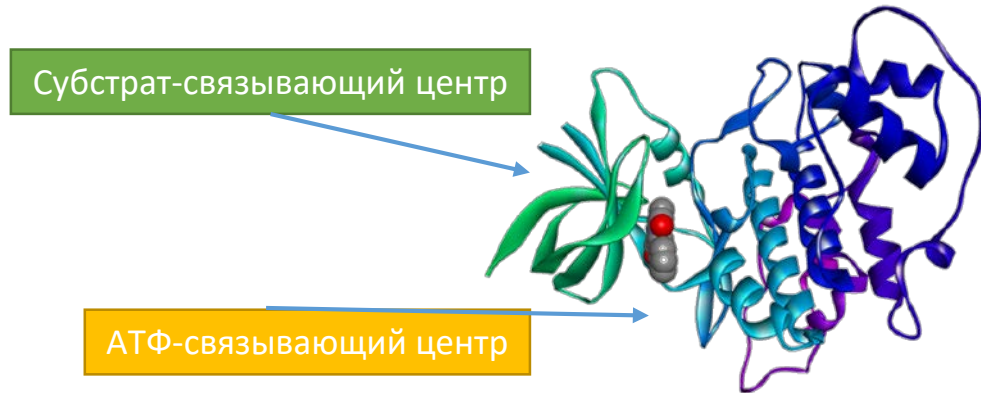
Calabrese M. F. et al. Structural basis for AMPK activation: natural and synthetic ligands regulate kinase activity from opposite poles by different molecular mechanisms // Structure. – 2014. – Vol. 22. – No. 8. – P. 1161-1172.

Протеин-тирозин фосфатаза типа 1 β (PTP1B)

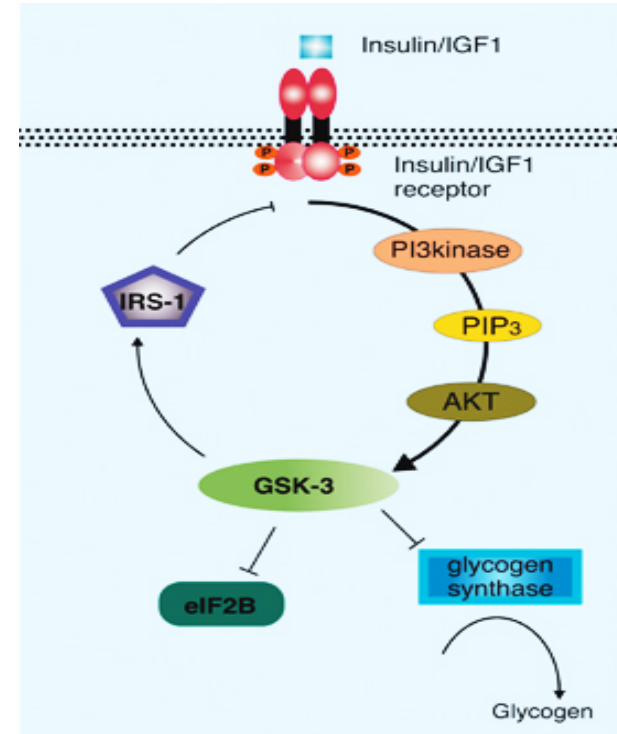


Протеинтирозинфосфатаза 1 β (PTP1B) является отрицательным регулятором сигнальных путей лептина и инсулина, дефосфорилируя их рецепторы и нижележащие компоненты каскадов.

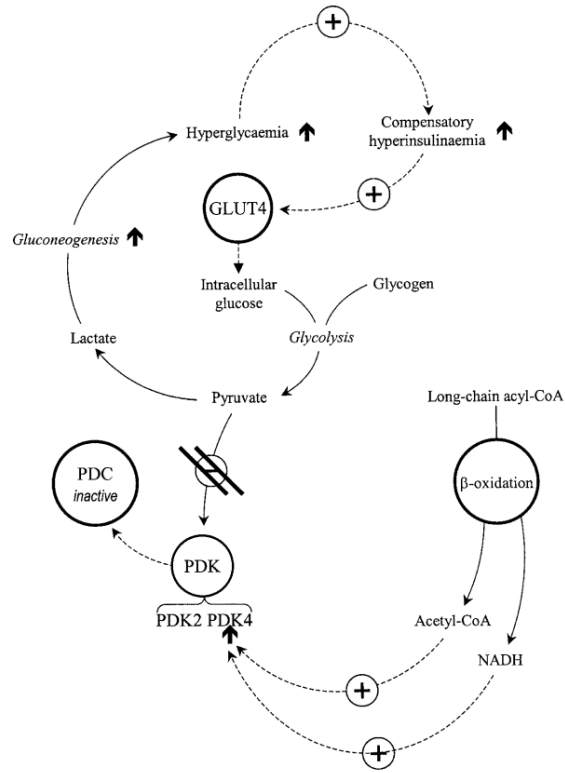
Гликогенсинтазы киназа типа 3β (GSK3B)



Гликогенсинтазы киназа типа 3β (GSK3B) – широко экспрессируемая пролин/сериновая протеинкиназа, участвующая во многих клеточных сигнальных путях. Показана ее роль в патогенезе болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний, ряда воспалительных и опухолевых заболеваний, инсульта, биполярного расстройства и др. В сахарном диабете 2-ого типа GSK3B способствует резистентности к инсулину посредством провоспалительного эффекта и ингибирования гликогенсинтазы

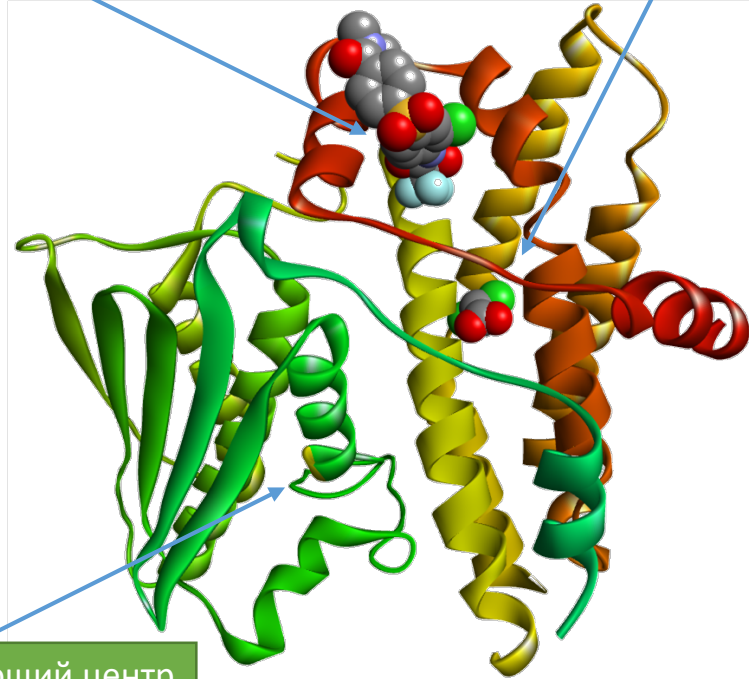


Пируватдегидрогеназы киназа типа 4 (PDK4)



Аллостерический центр

Центр связывания ДХА

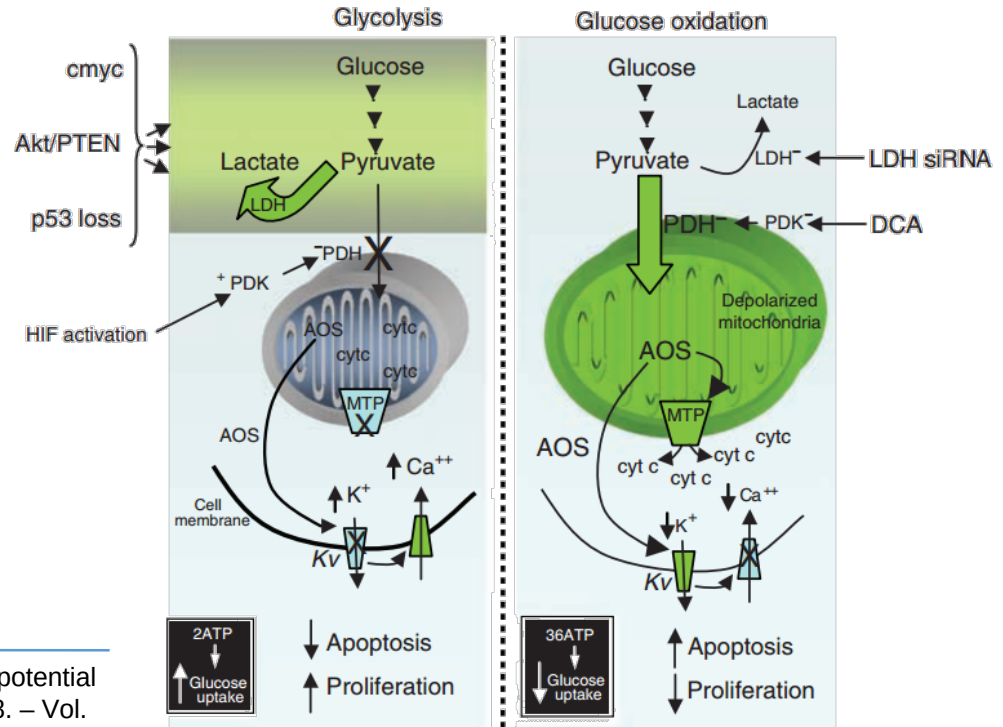


АТФ-связывающий центр

PDK4 как возможная мишень метаболически-ориентированной терапии онкологических заболеваний

Уникальный метаболизм большинства солидных опухолей (аэробный гликолиз, Vol.e. эффект Варбурга) опосредует устойчивость опухолевых клеток к апоптозу.

Дихлорацетат натрия (DCA) – ингибитор PDK4, увеличивает приток пирувата в митохондрии, способствуя аэробному окислению глюкозы. Это ведет к активации апоптоза и подавлению роста опухоли *in vitro* и *in vivo*.

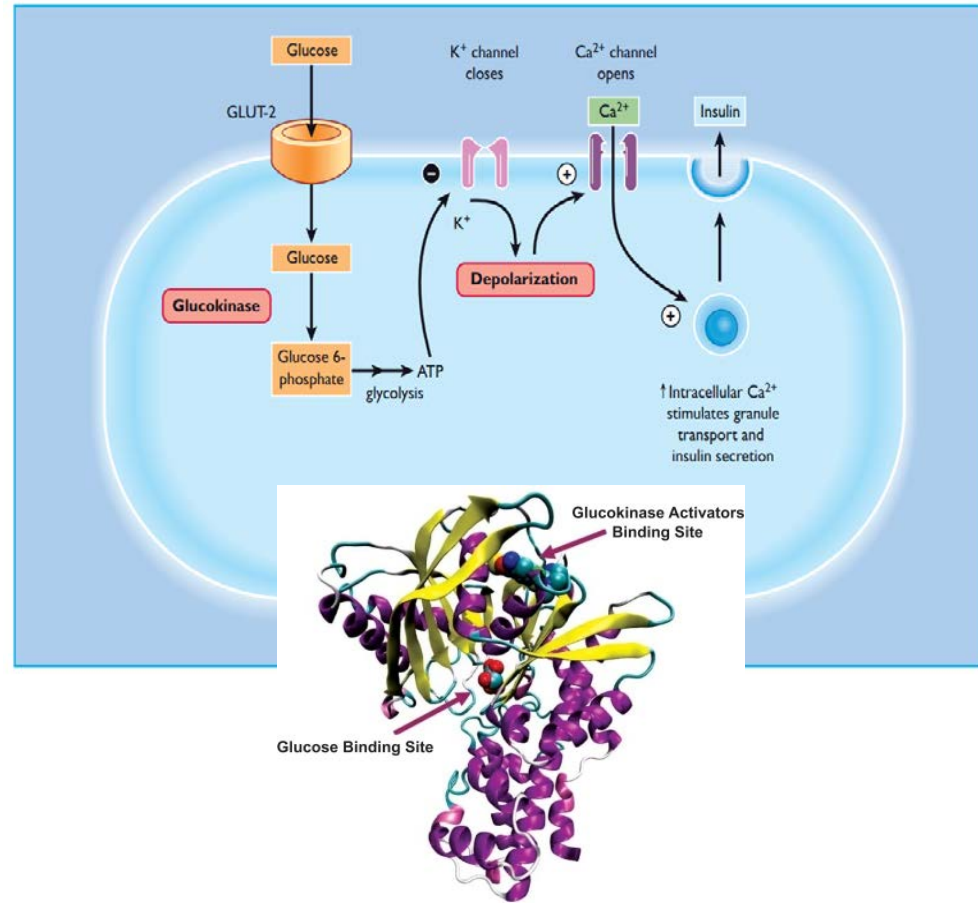


Michelakis E. D., Webster L., Mackey J. R. Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer // British journal of cancer. – 2008. – Vol. 99. – No. 7. – P. 989-994.

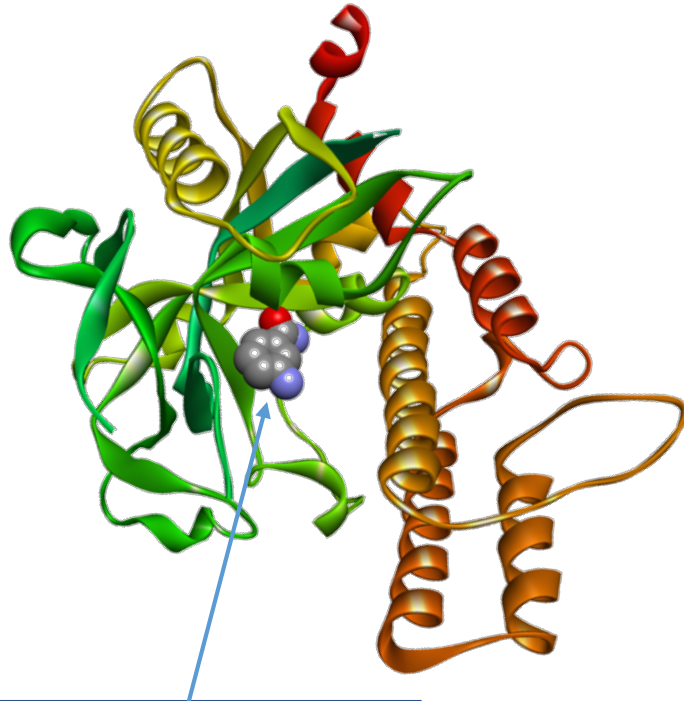
Michelakis E. D. et al. Metabolic modulation of glioblastoma with dichloroacetate // Science translational medicine. – 2010. – Vol. 2. – No. 31. – P. 31ra34-31ra34.

Глюкокиназа (GK)

Фосфорилирование глюкозы, катализируемое глюкокиназой, приводит к увеличению синтеза гликогена в печени и активации гликолиза. В поджелудочной железе глюкокиназа регулирует метаболический путь, в котором глюкоза преобразуется в пируват. В свою очередь, это приводит к увеличению активности цикла лимонной кислоты и транспорта электронов, увеличению соотношения АТФ/АДФ и способствует закрытию АТФ-чувствительных K^+ каналов, деполяризации мембраны и притоку ионов кальция. Это способствует превращению резервного пула гранул инсулина в легко высвобождающийся пул и, наконец, выходу инсулина в кровоток

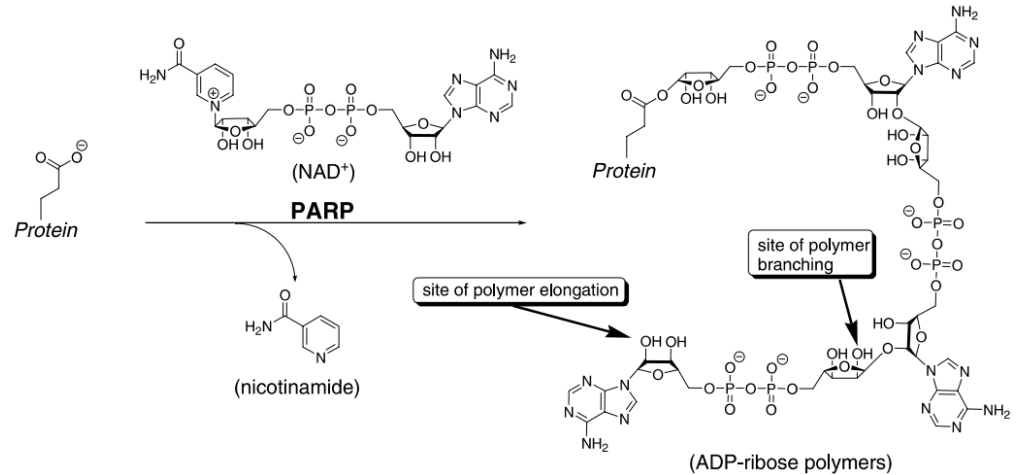


Поли(АДФ-рибоза)полимераза (PARP)

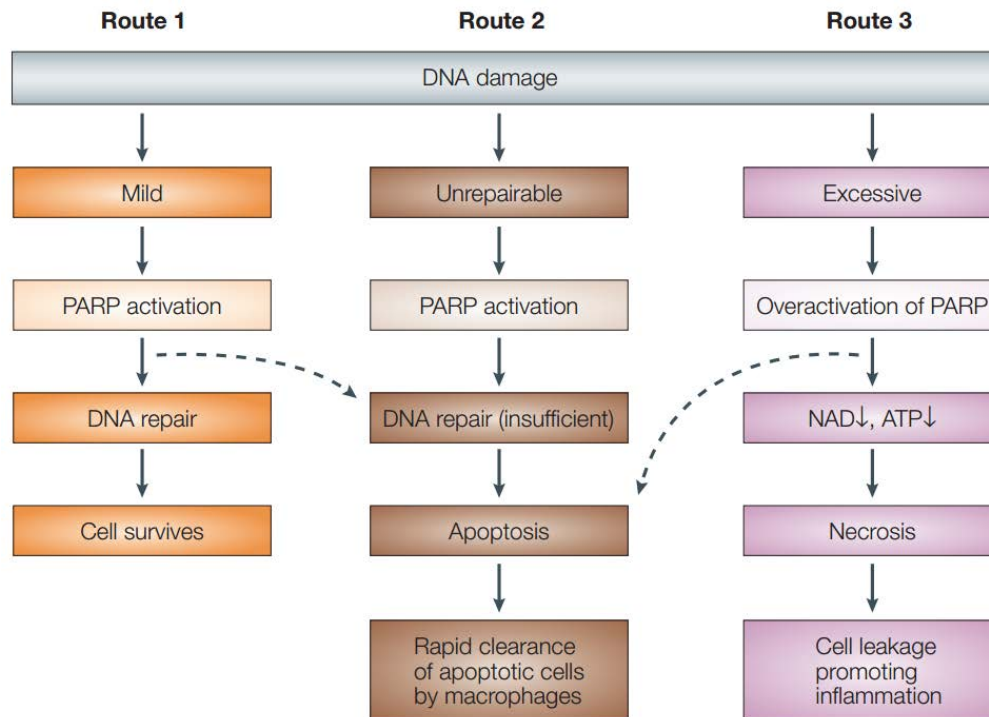


NAD⁺ связывающий центр

Реакция, катализируемая PARP1:



Активность PARP и определение судьбы клетки

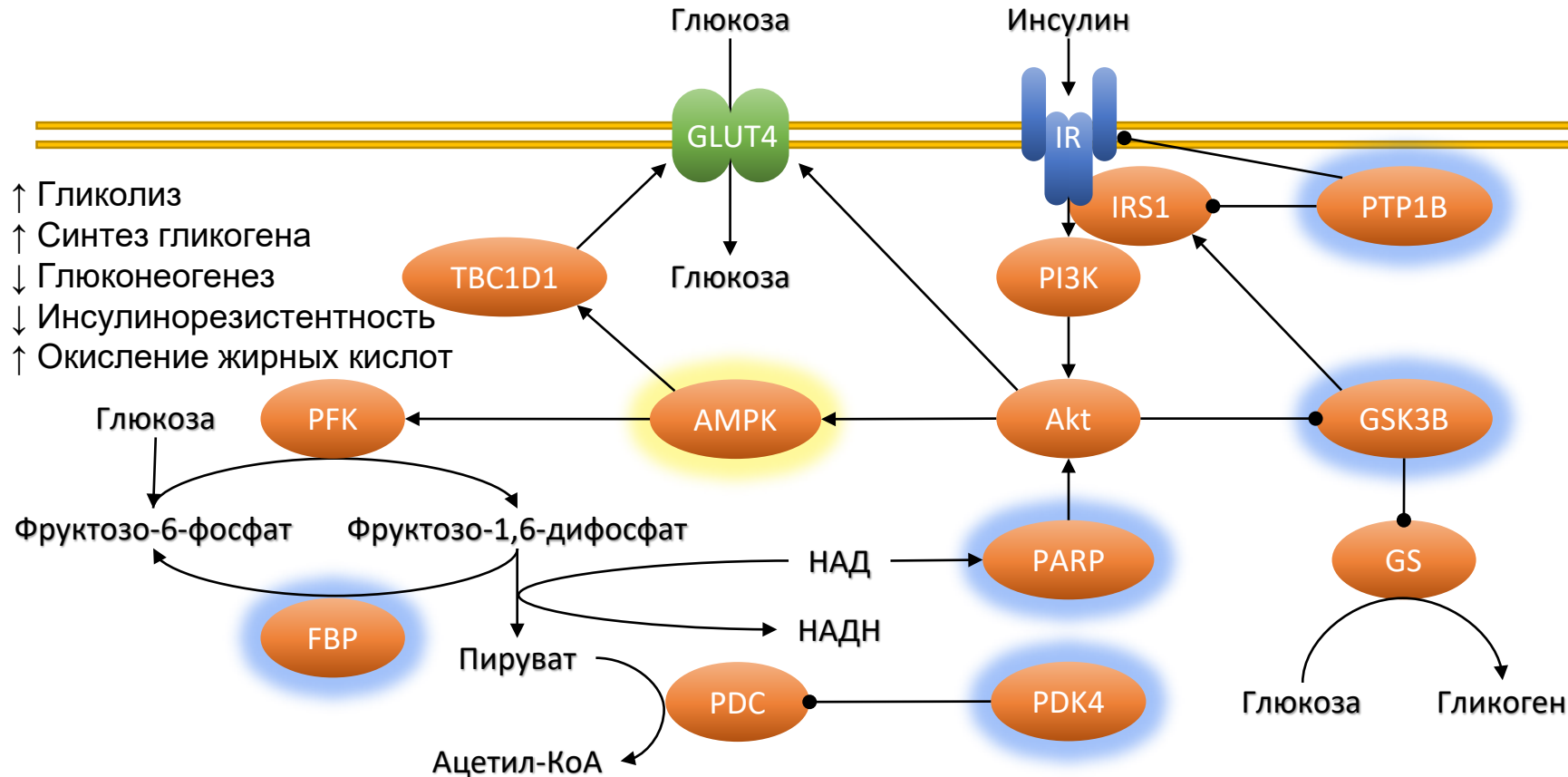


Ингибирование PARP в животных моделях

Модель заболевания	Ингибиторы PARP	Результат
Диабет	NA, 3-AB, INH2BP	Защита островков от некроза, снижение гипергликемии
Диабетическая кардиомиопатия	PJ-34, INO-1001	Улучшение сократимости миокарда
Диабетическая дисфункция эндотелия сосудов	PJ-34, INO-1001	Предотвращение или реверсия дисфункции эндотелия
Диабетическая ретинопатия	PJ-34	Ингибирование развития бесклеточных капилляров, воспалительного ответа и лейкостазиса
Диабетическая нейропатия	ISQ, PJ-34	Предотвращение потери афферентной и эфферентной проводимости

PJ-34, *N*-(6-oxo-5,6-dihydrophenanthridin-2-yl)-*N,N*-dimethylacetamide; **INO-1001**, Inotek's isoindolinone derivative; **NA**, nicotinamide; **3-AB**, 3-aminobenzamide; **INH2BP**, 5-iodo-6-amino-1,2-benzopyrone; **ISQ**, 1,5-dihydroxyisoquinoline.

Метаболические и сигнальные пути инсулинорезистентности



III. Направленный поиск антидиабетических средств

Методы оценки инсулинорезистентности

1. Оценка эффектов эндогенного инсулина	Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ)
	Внутривенный глюкозотолерантный тест (ВВГТТ)
	Постоянная инфузия глюкозы с модельной оценкой (ПИГМО)
2. Оценка эффектов экзогенного инсулина	Инсулиновый тест толерантности (ИТТ)
	Инсулиновый супрессивный тест (ИСТ)
	Эугликемический гиперинсулинемический клемп (ЭГК)

Животные модели экспериментального сахарного диабета 1 типа

Induction mechanism	Model	Main features	Possible uses
Chemical Induction	High dose streptozotocin	Simple model of hyperglycaemia.	New formulations of insulin
	Alloxan		Transplantation models.
	Multiple low dose streptozotocin	Model of induced insulinitis.	Treatments that may prevent beta cell death
Spontaneous autoimmune	NOD mice	Beta cell destruction due to an autoimmune process	Understanding genetics of type 1 diabetes
	BB rats		Understanding mechanism of type 1 diabetes
	LEW.1AR1/-iddm rats		Treatments that may prevent beta cell death
			Treatments that may manipulate autoimmune process
Genetically induced	AKITA mice	Beta cell destruction due to ER stress. Insulin dependent.	New formulations of insulin
			Transplantation models.
			Treatments to prevent ER stress
			(could also be used in type 2 diabetes research)
Virally-induced	Coxsackie B virus	Beta cell destruction induced by viral infection of beta cells	Establish potential role of viruses in the development of type 1 diabetes
	Encephalomyocarditis virus		
	Kilham rat virus		
	LCMV under insulin promoter		

Животные модели экспериментального сахарного диабета 2 типа

Induction mechanism	Model	Main features	Possible uses
Obese models (monogenic)	Lep ^{ob/ob} mice	Obesity-induced hyperglycaemia	Treatments to improve insulin resistance
	Lepr ^{db/db} mice		Treatments to improve beta cell function
	ZDF Rats		
Obese models (polygenic)	KK mice	Obesity-induced hyperglycaemia	Treatments to improve insulin resistance
	OLETF rat		Treatments to improve beta cell function
	NZO mice		Some models show diabetic complications
	TallyHo/Jng mice		
	NoncNZO10/LtJ mice		
Induced obesity	High fat feeding (mice or rats)	Obesity-induced hyperglycaemia	Treatments to improve insulin resistance
	Desert gerbil		Treatments to improve beta cell function
	Nile grass rat		Treatments to prevent diet-induced obesity
Non-obese models	GK rat	Hyperglycaemia induced by insufficient beta cell function/mass	Treatments to improve beta cell function Treatments to improve beta cell survival
Genetically induced models of beta cell dysfunction	hIAPP mice	Amyloid deposition in islets	Treatments to prevent amyloid deposition Treatments to improve beta cell survival
	AKITA mice	Beta cell destruction due to ER stress.	Treatments to prevent ER stress Treatments to improve beta cell survival

IV. Исследование антидиабетической активности новых веществ

Доклиническое изучение (*in vitro* и *in vivo*)

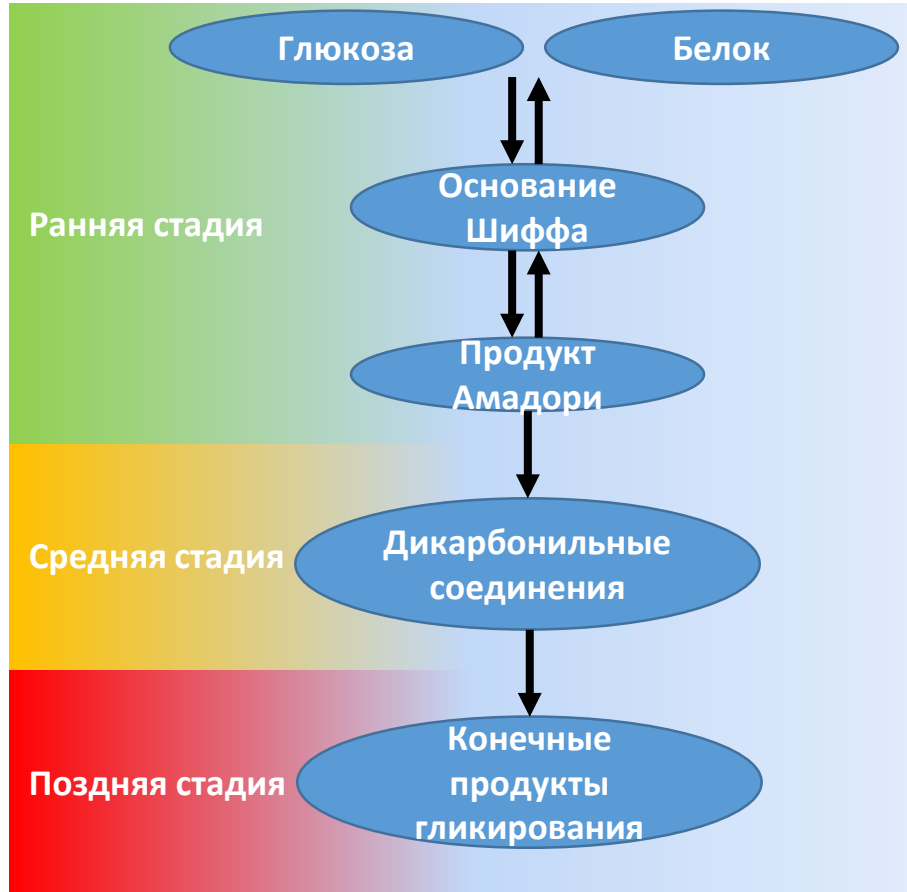
1. Исследование активности
 1. Утилизация глюкозы периферическими тканями (диафрагмой)
 2. Гидролиз мальтозы в кишечнике
 3. Глюконеогенез печени (захват аланина)
 4. Секреция инсулина β -клетками
 5. Апоптоз и пролиферация β -клеток
 6. Липидный профиль плазмы крови
 7. Антиоксидантная и гемореологическая активность
 8. Уровень HbA1C (гликированного гемоглобина)
 9. Масса тела, потребление жидкости и пищи
2. Токсикологические исследования
 1. Острая токсичность
 2. Хроническая токсичность (крысы, собаки)
 3. Аллергенность
 4. Иммунотоксичность
 5. Мутагенность

Клинические исследования

Определение безопасности и эффективности в сравнении с используемыми средствами

V. Отдаленные последствия СД и их коррекция

Патогенез осложнений сахарного диабета



Формирование конечных конечных продуктов гликирования (AGE) в три этапа, то есть ранняя, промежуточная и поздняя стадии с участием. На ранней стадии сахара реагируют со свободной аминогруппой с образованием основания Шиффа, которая подвергается перегруппировке с более стабильным продуктом, известным как продукт Амадори.

На промежуточной стадии продукт амадори деградирует до различных реакционноспособных дикарбонильных соединений.

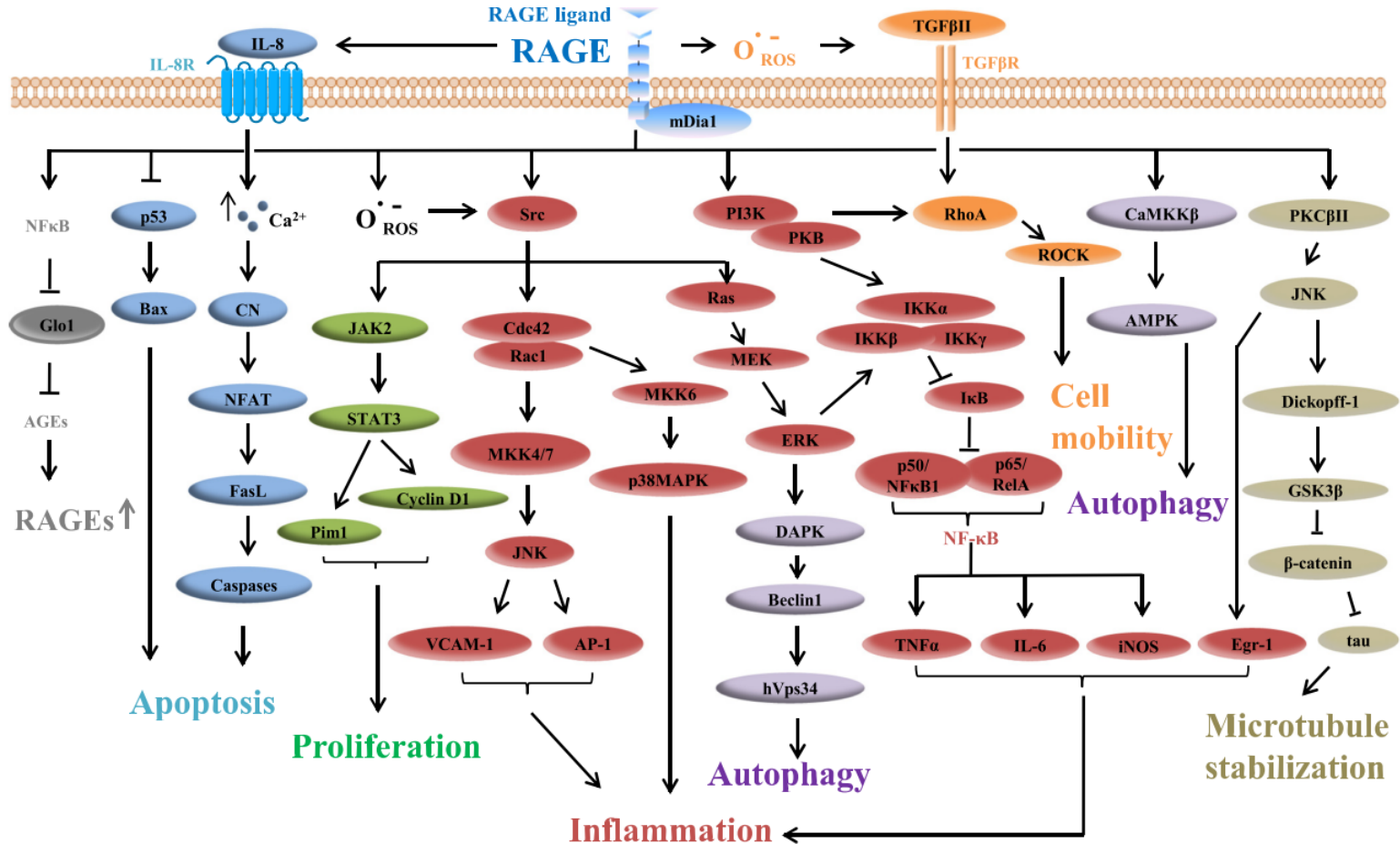
На поздней стадии процесса гликирования формируются AGE (необратимые соединения).

Патогенез осложнений сахарного диабета

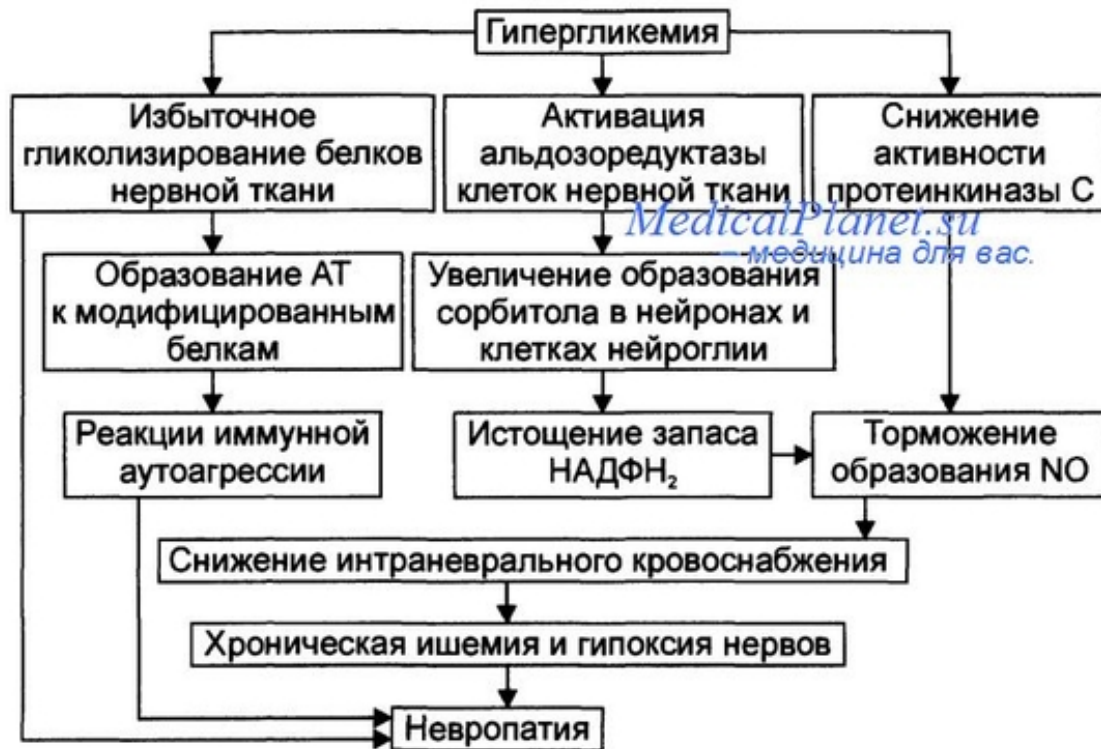


Постоянно повышенные уровни глюкозы при длительном диабете вызывают структурные и функциональные изменения в различных белках в организме, включая альбумин, глобулины, фибриноген и коллагены. Гликирование этих белков связано с индукцией вредных изменений в организме.

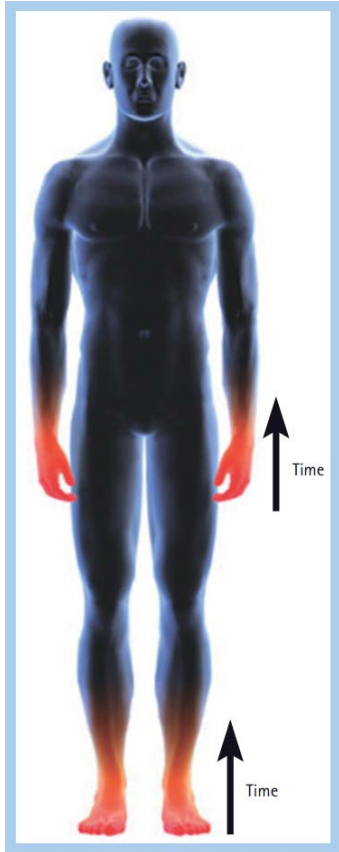
Патогенез осложнений сахарного диабета типа



Механизмы развития диабетической нейропатии



Изучение диабетической полинейропатии



Оценка порогов тактильной и болевой чувствительности :

- 1) тактильная аллодиния - появление болевых ощущений в ответ на неноцицептивные раздражители;
- 2) «гипералгезии» - появление интенсивного болевого ощущения при нанесении легкого ноцицептивного раздражителя;
- 3) формалиновый тест;
- 4) «горячая пластина».

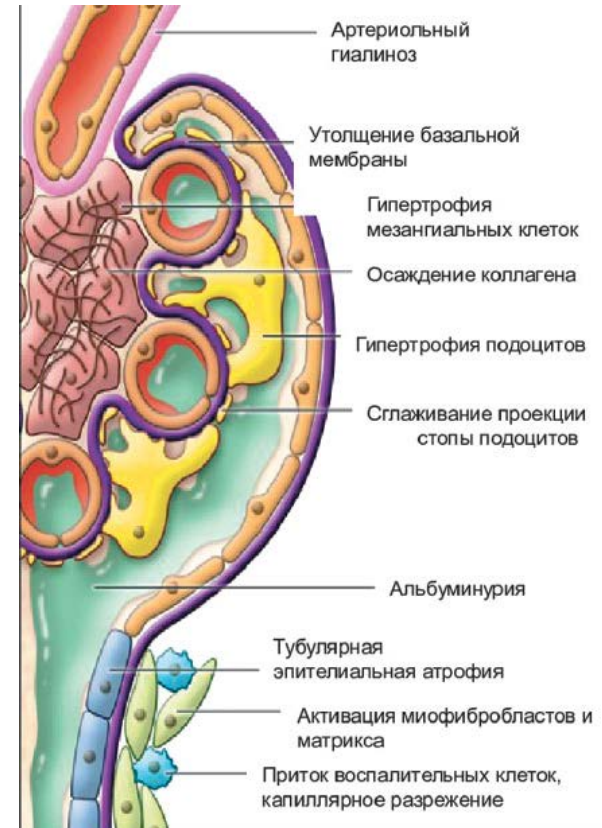
Механизмы развития диабетической нефропатии и подходы к ее профилактике и лечению



Изучение диабетической нефропатии

Оценка морфофункционального состояния почек:

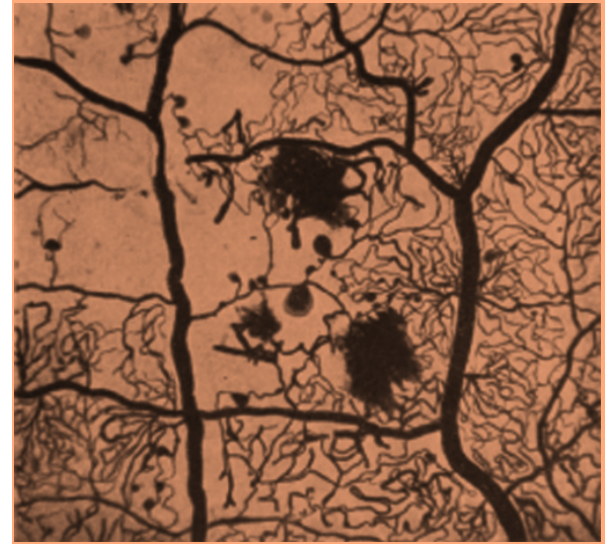
- 1) экскреция альбумина с мочой;
- 2) почечный клиренс креатинина;
- 3) накопление AGE
- 4) утолщение базальной мембраны клубочковых капилляров;
- 5) дистрофические и деструктивные изменения в почках;
- 6) гломерулосклероз.



Изучение диабетической ретинопатии

*Оценка микрогемодинамики в пределах
глазной щели:*

- 1) анализ формы и калибра сосудов;
- 2) наличие микроаневризм;
- 3) фон и густота сосудистого рисунка;
- 4) характер кровотока;
- 5) агрегация форменных элементов;
- 6) периваскулярные изменения.



Диабетическая ретинопатия.
Присутствуют кровотечения и
микроаневризмы; артериолярная
сторона кровообращения сильно
атрофирована.

Изучение диабетической кардиомиопатии

Оценка гемодинамических параметров и состояния миокарда:

- 1) снижение сократительной функции левого желудочка;
- 2) снижение диастолической функций сердечной мышцы;
- 3) уменьшение толщины стенки и увеличение внутреннего диаметра левого желудочка;
- 4) ишемия миокарда.

Изучение гемореологических нарушений

- 1) вязкость крови;
- 2) агрегация тромбоцитов;
- 3) агрегация эритроцитов;
- 4) «сладж»-феноменом конъюнктивных сосудов.