

УЛОГА ГЛУКАГОНУ СЛИЧНОГ ПЕПТИДА-ЈЕДАН (*GLP-1*) У РЕГУЛАЦИЈИ СЕКРЕЦИЈЕ ИНСУЛИНА

Татјана РАДОСАВЉЕВИЋ¹, Вера ТОДОРОВИЋ², Бранка ШИКИЋ¹

1. Институт за патолошку физиологију Медицинског факултета Универзитета, Београд; 2. Институт за медицинска истраживања, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ: Изнета су најсавременија сазнања о главном инкретину-хормону – *GLP-1*, посебно о улози овог хормона у регулацији секреције инсулина. Најпотентнији глюкоинкретин-хормон, *GLP-1*, стимулише секрецију инсулина зависну од нивоа гликозе и при еугликемији, односно *GLP-1* игра главну улогу у ентероинсулинској осовини. Познато је да *GLP-1* „дозвољава“, у активацији гликозе, да се повећа секреција инсулина из бета-ћелија, односно *GLP-1* може „опремити“ бета-ћелије да буду гликозно-компетентне. Он стимулише биосинтезу проинсулина (транскрипцију гена за инсулин), стимулише секрецију инсулина, а најновија истраживања указују да стимулише пролиферацију и неогенезу бета-ћелија ендокриног панкреаса. Такође, стимулише лучење соматостатина, а на алфа-ћелије делује тако што инхибише секрецију глюкагона. Међутим, нејасно је да ли *GLP-1* инхибише секрецију глюкагона непосредним дејством на алфа-ћелије или познатим паракриним ефектима инхибиције инсулина и соматостатина на алфа-ћелије. Он је инхибитор мотилитета и пражњења желуца и уноса хране, тако што изазива осећај ситости. На јетру, мишиће и масно ткиво испољава „инсулиномиметско“ дејство. Потентан је секретарог инсулина код здравих особа и особа с дијабетесом мелитусом независним од инсулина. Захваљујући својим дејствима, *GLP-1* може имати терапијске предности над актуелном терапијом дијабетеса мелитуса независног од инсулина.

Кључне речи: глюкагону сличан пептид-један, инсулин, инкретин. (СРП АРХ ЦЕЛОК ЛЕК).

Структура и локализација хормона GLP-један

Глукагон, *GLP-један (GLP-1)* и *GLP-два (GLP-2)* припадају фамилији регулационих пептида секретин – глюкагон. Њихова повезаност проистиче из постојања сличног ен-терминалног дела ових пептида. Глукагон и *GLP-1* и *GLP-2* настају посттранслационом обрадом заједничког прекурсора, проглукагона. Ген за проглукагон налази се у алфа-ћелијама ендокриног панкреаса и у ћелијама *L* слузнице црева [1, 2].

Хормон *GLP-1 (Glucagon-like-peptide-1)* је најзначајнији продукт интестинумске експресије гена проглукагона. Код човека, број ћелија које стварају *GLP-1* (ћелије *L*) повећава се од дуоденума до дисталног јејунума и илеума и од проксималног до дисталног колона, с максималном густином у ректуму [3]. Код пацова, број ћелија *L* такође се повећава од проксималног дела танког црева до илеума, где је нађен максималан број ових ћелија. Такође, ћелије *L* су нађене и у колону пацова, и то највише у дисталним деловима [3]. Постоје два облика молекула *GLP-1*, и то *GLP-1 (1-37)* и *GLP-1(амид 7-36)*, и доказано је да *GLP-1(амид 7-36)* показује најјаче инсулинотропно дејство и физиолошки игра најзначајнију улогу као модулатор ослобађања инсулина [4].

Механизам дејства хормона GLP-1

Хормон *GLP-1* стимулише лучење инсулина из бета-ћелија путем рецептора специфичних за *GLP-1*. Ови рецептори припадају групи интегралних протеина мембране, који су по хемијском саставу гликопротеини. Повезани су с протеином гуанин-нуклеотид (*G*) који се састоји од три полипептидне субјединице – алфа, бета и гама. Субјединица алфа може постојати у 15 различитих облика, од којих су два најважнија

– стимулишући протеин гуанин-нуклеотид (*Gas*) и инхибишући протеин гуанин-нуклеотид (*God*). Субјединице бета и гама служе за повезивање протеина *G* с молекулима у мембрани. Рецептори *GLP-1* на бета-ћелијама ендокриног панкреаса активирају везујуће протеине *GTP* путем аденил-циклазе, уз стварање *cAMP*. Пошто *cAMP* активира протеин-киназу *A*, разумљиво је да ће се стимулирати ослобађање инсулина фосфорилацијом специфичних супстрата протеина (Схема 1) [5-8].

Јонски канали и сигнални путеви у бета-ћелији ендокриног панкреаса, који су укључени у механизам лучења инсулина у одговору на гликозу и *GLP-1*, приказани су у схеми 2.

Кључни елемент овог модела је сигнални пут гликоза-гликолиза, који доводи до синтезе *ATP* и повећања односа *ATP/ADP* и *GLP-1*/рецептор, посредован путевима *cAMP*-*PKA*, чија је улога да затворе канале *K-ATP*. Затварање ових канала узрокује деполаризацију мембране бета-ћелије, доводећи до отварања канала *L*, тип јона калцијума, осетљивих на напон електрицитета. Главна компонента у процесу деполаризације јесте улазак јона натријума кроз неселективне катјонске канале активисане јоном калцијума. У одговору на активацију неселективних канала калцијума и улазак јона натријума, настаје улазак јона калцијума измењивачем јона натријума-калцијума. Истовремено се смањује делатност канала *K-ATP*, што води деполаризацији мембране и отварању калцијумских канала зависних од напона електрицитета, и стимулација лучења инсулина. Повећан улазак јона натријума кроз неселективне канале катјона и излазак јона калијума кроз канале *K-ATP* регулише *Na/K-ATP*-аза. Ослобађање интрацелулног склади-

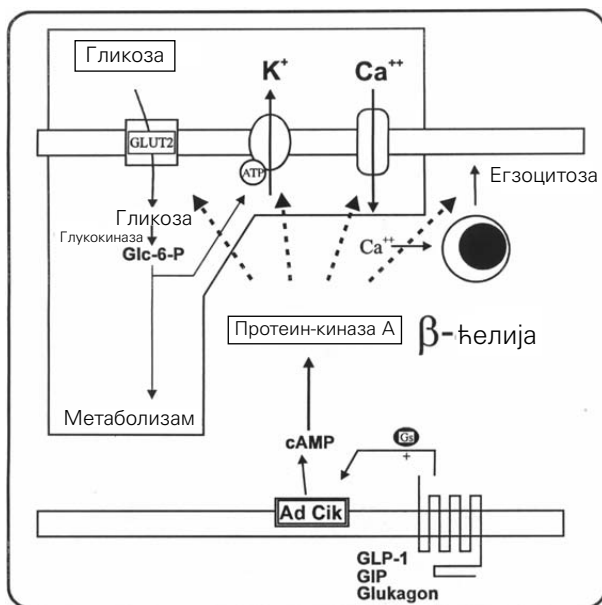


СХЕМА 1. Приказ интеракције између сигналних путева гликозе и глюко-инкретинског хормона.

Сигнални пут гликозе: улазак гликозе у бета-ћелије олакшаном дифузијом транспортера GLUT2 → фосфорилација гликозе глюкокиназом → катаболизам гликозе и синтеза ATP → затварање ATP-зависних канала јона калцијума, као последица промене у интрацелуларном односу ATP/ADP → индукција деполаризације мембране плазме, отварање волтажно-зависних канала јона калцијума и повећање концентрације јона калцијума у ћелији → егзоцитоза инсулина из секреторијних гранула.

Сигнални пут глюко-инкретинског хормона: везивање хормона за своје рецепторе (алфа-субјединица GTP-везујућег протеина Gs), са стимулацијом аденил-циклазе (Ad Cik) и стварањем cAMP → cAMP; потом активира cAMP-зависну протеин-киназу A, која учествује у фосфорилацији бројних елемената сигналног пута гликозе.

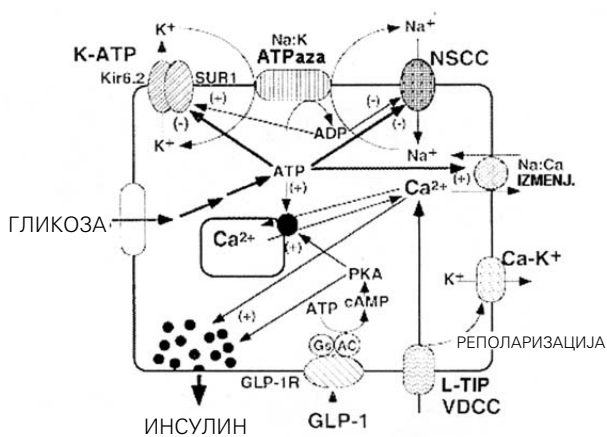


СХЕМА 2. Механизам дејства GLP-1.

шта јона калцијума у мембрани изазвано је слободним јоном калцијума у ћелији, тзв. калцијумом изазвано ослобађање јона калцијума. Улазак јона калцијума кроз калцијумске канале зависне од напона електрицитета представља покретач лучења инсулина процесом егзоцитозе. Протеинска киназа A фосфорилише протеин секреторијних гранула, што такође

може бити покретач лучења инсулина. Реполаризација мембране бета-ћелије одвија се отварањем канала јона калијума осетљивих на калцијум [9, 10].

Хормон GLP-1 у ентероинсулинској осовини

Хормон GLP-1 је најпотентнији инсулинотропни хормон који стимулише лучење инсулина зависног од гликозе и при еугликемији, односно GLP-1 игра главну улогу у ентероинсулинској осовини [11, 13]. Ослобађање овог хормона настаје после уноса различитих нутриционих фактора, као што су гликоза, масти и мешани оброк [14], као и дејством различитих пептида црева (бомбезин, енкефалини и GIP). Већ је речено да је при високим концентрацијама GIP и GLP-1 (амид 7-36) стимулација лучења инсулина подједнака, док је при физиолошким концентрацијама ефикаснији GLP-1. Дејство ових хормона на лучење инсулина адитивно је, што доказује да они делују преко истих сигналних механизма [15]. Познато је да је GLP-1 „пермисивно“ дејства у активацији гликозе да повећа лучење инсулина из бета-ћелија, односно GLP-1 може „опремити“ бета-ћелије да буду компетентне за гликозу [16]. Хормони GLP-1 и GIP су од кључног значаја за одржавање компетентности бета-ћелија у базалним условима. Ова два хормона су главни медијатори који регулишу постпрандијално ослобађање инсулина. Хормон GLP-1 смањује ниво гликозе постпрандијално путем појачаног лучења инсулина, смањеног ослобађања глукгона, као и стимулисањем инсулином-независног искоришћавања гликозе од периферних ткива. Наиме, GLP-1 корординише лучење хормона ендокриног панкреаса (инсулина и глукгона) поспешујући анаболизам гликозе [17]. Улога GLP-1 као инкретина подразумева да је физиолошко повећање концентрације овог хормона у плазми удружено са стимулисањем лучења инсулина у постпрандијалној фази физиолошке хипергликемије. У раном постпрандијалном периоду, почетак уласка хране у танко црево стимулише лучење GLP-1, који узрокује ослобађање инсулина, јер је висок ниво инсулина неопходан у овом периоду да би се спречила хипергликемија. Међутим, у касном постпрандијалном периоду настаје изразито смањење лучења GLP-1, чиме се обезбеђује заштита од хипогликемије [17].

Ефекат GLP-1 и GIP на лучење глукгона супротан је: GLP-1 знатно инхибише, а GIP стимулише лучење [18]. Хормон GLP-1 инхибише лучење глукгона посредно, јер није доказано да на алфа-ћелијама постоје рецептори за GLP-1 [12]. Дејство GLP-1 на ћелије D и бета-ћелије непосредно је, док је дејство на алфа-ћелије посредно, односно GLP-1 инхибише лучење глукгона паракриним механизмом путем стимулације лучења соматостатина [19]. Лучење глукгона може бити инхибирано стимулацијом бета-ћелија, ћелија D, што се слаже с концептом интраострвске интеракције у којој су инсулин и соматостатин инхибитори лучења глукгона. Хормон GLP-1 стимулише лучење амилина због колокализације с инсулином у бета-ћелијама. Ефекат GLP-1 на ћелије PP још није довољно испитан. Концентрација GLP-1

у плазми регулише базално стварање глукагона, а самим тим регулише и гликемију после гладовања [17]. Као последица дејства *GLP-1* на инсулин и глукагон, у крви се повећава моларни однос инсулина према глукагону, тако да се синтеза гликозе у јетри смањује. Хормон *GLP-1* смањује концентрацију гликозе у крви смањеним стварањем гликозе у јетри и повећаним процентом метаболичког клиренса гликозе, и то посредно, путем повећања моларног односа инсулина према глукагону [20]. Такође, *GLP-1* повећава активност гликоген-синтазе у хепатоцитима, при чему се смањује концентрација гликозе у крви [21].

Регулација лучења хормона *GLP-1*

Физиолошка последица повећаног лучења *GLP-1* и *GIP* на унос хране указује на значајну улогу ових хормона у ентероинсулинској осовини [11, 17]. Као што је познато, ниво *GLP-1* у крвотоку врло брзо расте, већ после 15–30 min од уноса оброка, пре него што храна доспе до дисталног дела црева, што указује на ентероендокрине везе између проксималног и дисталног дела црева. Доказано је да *GIP* стимулише лучење *GLP-1*, али само у условима *in vitro*, као и у перфундованом цреву пацова. Међутим, пошто *GIP* не доводи до појаве аферентних импулса у влакнима нерва вагуса у хепатопортном подручју, он не може бити покретач за ослобађање *GLP-1* путем еферентних сигнала до црева кроз централни или периферни нервни систем. То указује да у ентероинсулинској осовини делује као прави хормонски инкретин. За разлику од *GIP*, влакна нерва вагуса у хепатопортном подручју веома су осетљива на физиолошке концентрације *GLP-1* у *v. portae*, тако да хуморалну информацију претварају у нервну, која бива пренета до различитих делова централног нервног система, где се обради и преноси до циљних органа, као што је ендокрини панкреас. Ово указује да, за разлику од *GIP*, у ентероинсулинској осовини *GLP-1* делује као нервни и хуморални инкретин. Дакле, појава *GLP-1* у *v. portae* бива препозната од аферентних влакана нерва вагуса хепатопортног подручја и рефлексним путем повећава аферентне активности нерва вагуса у панкреасу, што представља „вагусни хепатопанкреасни рефлексни пут“. Значи, *GLP-1* може да делује и као неуроинкретин у ентероинсулинској осовини [22].

Физиолошка дејства *GLP-1*

Хормон *GLP-1* стимулише биосинтезу проинсулина (транскрипцију гена за инсулин). Везивањем *GLP-1* за рецептор који је повезан са стимулационим протеином *G* активише се јон калцијума, калмодулин-сензитивна аденил-циклаза и ствара се *cAMP*. Везивањем *cAMP* за регулациону јединицу протеин-киназе *A*, ослобађају се активне каталитичке јединице. Активна киназа фосфорилише нуклеарни транскрипциони активатор, који се везује за *CRE*, локализован у промотору гена проинсулина. Овај процес стимулише транскрипцију гена проинсулина и повећану биосинтезу инсулина с акумулацијом инсулина у бета-ћелији, који се излучује у одговору на гликозу и инкретине (*GLP-1* и *GIP*) (Схема 3). Хормон *GLP-1* стимулише

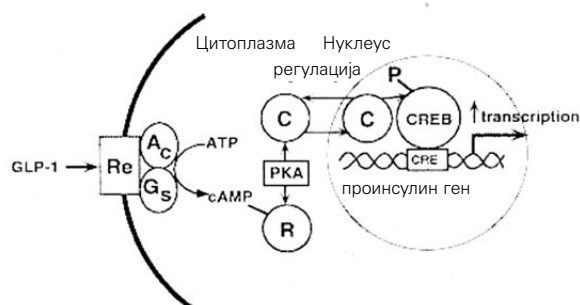


СХЕМА 3. Инсулинотропна активност *GLP-1* на бета-ћелије посредована активацијом сигналног пута *cAMP*.

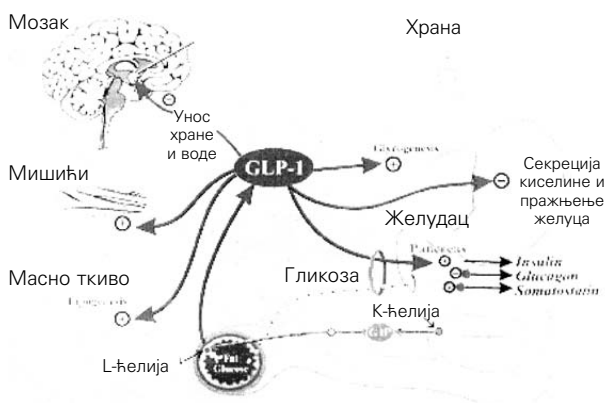


СХЕМА 4. Физиолошка дејства *GLP-1*.

лише секрецију инсулина, а најновија истраживања указују да *GLP-1* стимулише пролиферацију и неогенезу бета-ћелија ендокриног панкреаса. Такође, стимулише лучење соматостатина, а на бета-ћелије делује тако што инхибише секрецију глукагона. Међутим, нејасно је да ли *GLP-1* инхибише секрецију глукагона непосредним дејством на алфа-ћелије или познатим паракриним инхибиторским дејствима инсулина и соматостатина на алфа-ћелије. Хормон *GLP-1* је инхибитор мотилитета и прањњења желуца и уноса хране, тако што изазива осећај ситости. На јетру, мишиће и масно ткиво, *GLP-1* испољава „инсулинометско“ дејство индукујући липогенезу и гликогенезу (Схема 4) [9, 10]. Хормон *GLP-1* делује и на метаболизам протеина (смањује катаболизам протеина) и делује термички посредном стимулацијом лучења инсулина. Главна предност примене *GLP-1* у поређењу с егзогеним уносом инсулина јесте смањен или потпуно отклоњен ризик од хипогликемије. Хормон *GLP-1* може да функционише и као неуротрансмитер, преносећи сигнал из горњих делова система гастроинтестиналума до хипоталамуса, где активацијом рецептора за *GLP-1* инхибише унос хране и на тај начин регулише „понашање“ дигестивног система [2].

Хормон *GLP-1* је потентан секреторог инсулина код здравих особа и особа с дијабетесом мелитусом независним од инсулина. Захваљујући својим дејствима, *GLP-1* може имати терапијске предности над актуелном терапијом код особа с дијабетесом мелитусом независним од инсулина [23].

ЛИТЕРАТУРА

1. Hoist JJ. Glucagon, glucagon-like peptide-1 and their receptors: An introduction. *Acta Physiol Scand* 1996;157:309-15.
2. Hoist JJ. Enteroglucagon. *Annu Rev Physiol* 1997;59:257-71.
3. Eissele R, Goke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R et al. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide-cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur J Clin Invest* 1992;22:283-91.
4. Thorens B. Glucagon-like peptide-1 and control insulin secretion. *Diabet Metab* 1995;21:311-8.
5. Goke B, Steffen H, Goke R. The signal transduction of the glucagon-like peptide 1 receptor: Fishing beyond the protein kinase level. *Acta Physiol Scand* 1996;157:321-8.
6. Ahren B, Simonsson E, Karlsson S. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and cytoplasmic calcium in insulin producing cells. *Acta Physiol Scand* 1996;157:333-41.
7. Gefel D, Barg Y, Zimlichman R. Glucagon-like peptide-1 structure, function and potential use for NIDDM. *Isr J Med Sci* 1997;33:690-5.
8. Gromada J, Hoist JJ, Rorsman P. Cellular regulation of islet hormone secretion by the incretin hormone glucagon-like peptide-1. *Pflugers Arch* 1998;435:583-94.
9. Kieffer TJ, Habener JF. The glucagon-like peptides. *Endoc Rev* 1999;20:876-913.
10. Drucker DJ. Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology* 2001;142:521-7.
11. Wang Z, Wang RM, Owjii AA, Smith DM, Ghatei MA, Bloom SR. Glucagon-like peptide-1 is a physiological incretin in rat. *J Clin Invest* 1995;1:417-21.
12. Radosavljevic T. Patofiziološki aspekti enteroinsularne osovine na eksperimentalnom modelu hronične insuficijencije jetre. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Univerziteta, Beograd 1999.
13. Rachman J, Gribble FM, Barow BA, Levy JC, Buchanan KD, Turner RC. Normalization of insulin responses to glucose by overnight infusion of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996;45:1524-30.
14. Fieseler P, Bridenbaugh S, Nustede R, Martell J, Orskov C, Hoist JJ et al. Physiological augmentation of amino acid-induced insulin secretion by GIP and GLP-1 but not by CCK-8. *Am J Physiol* 1995;268:949-55.
15. Siegel EG, Schulze A, Schmidt WE, Creutzfeldt W. Comparison of the effect of GIP and GLP-1 on insulin release from rat pancreatic islets. *Eur J Clin Invest* 1992;22:154-7.
16. Holz GG, Kuhlreiber WM, Habener JF. Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 (7-37). *Nature* 1993;361:362-5.
17. Schirra J, Katschinski M, Weldmann C, Schafer T, Wank U, Arnold R et al. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest* 1996;97:92-103.
18. Orskov C. Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis. *Diabetologia* 1992;35:701-11.
19. Ding WG, Renstrom E, Rorsman P, Buschard K, Gromada J. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide stimulate Ca²⁺ induced secretion in rat alpha-cells by a protein kinase A-mediated mechanism. *Diabetes* 1997;46:792-800.
20. Hvidberg A, Nielsen MT, Hilsted J, Orskov C, Hoist JJ. Effect of glucagon-like peptide-1 on hepatic glucose production in healthy man. *Metabolism* 1994;43:104-8.
21. Lopez-Delgado MI, Morales M, Villanueva-Penacarrri ML, Malaisse WJ Valverde I. Effects of glucagon-like peptide-1 on the kinetics of glycogen synthase in a hepatocytes from normal and diabetic rats. *Endocrinology* 1998;139:2811-7.
22. Nakabayashi H, Nishizawa M, Nakagawa A, Takeda R, Nijijima A: Vagal hepatopancreatic reflex effects evoked by intraportal appearance of GLP-1. *Am J Physiol* 1996; 271: 808-13.
23. Nauck MA, Hoist JJ, Willms B, Schmiegel. Glucagon-like peptide-1 as a new therapeutic approach for type 2-diabetes. *Exp Clin Endocrin Diabet* 1997; 105:187-97.

TATJANA RADOSAVLJEVIĆ
 Institut za patološku fiziologiju
 Medicinski fakultet
 11 000 Beograd, Dr Subotića 1/II
 Tel.: 011/685-340; 011/3615075
 Faks: 011/685-340