

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

БАЛБОТКИНА
Евгения Владимировна

**ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЛЮКАГОНОПОДОБНОГО
ПЕПТИДА-1 В РЕГУЛЯЦИИ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОДЫ
И ИОНОВ НАТРИЯ У ДЕТЕЙ**

1.5.5. Физиология человека и животных
3.1.21. Педиатрия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

д.б.н., профессор, академик РАН,
главный научный сотрудник ИЭФБ РАН
Наточин Юрий Викторович

д.м.н., доцент, профессор
кафедры факультетской педиатрии
Кузнецова Алла Александровна

Санкт-Петербург
2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. УЧАСТИЕ ГЛЮКАГОНОПОДОБНОГО ПЕПТИДА-1 (ГПП-1) В РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1. ГПП-1: история открытия, структура, секреция	11
1.2. Функциональная роль ГПП-1 в организме	23
1.3. Особенности секреции ГПП-1 у детей	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	60
3.1. Значение рецептора ГПП-1 в регуляции водно-солевого баланса	60
3.2. Изучение стимула секреции ГПП-1	62
3.3. Исследование механизма действия ГПП-1 в почке	75
3.4. Влияние нативного гормона ГПП-1 и эксенатида на осморегулирующую и ионорегулирующую функции почек у крыс	77
3.5. Стимуляция секреции ГПП-1 водной нагрузкой у человека.....	89
3.5.1. Здоровые взрослые и дети	89
3.5.2. Целиакия и хронический гастродуоденит у детей.....	91
3.6. Функция почек после водной нагрузки у человека.....	92
3.6.1. Здоровые взрослые и дети	92
3.6.2. Хронический гастродуоденит и целиакия у детей.....	95
3.7. Влияние агониста рецепторов ГПП-1, эксенатида, на гликемию и функцию почек у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2)	98
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	107
4.1. Стимул для секреции ГПП-1.....	107
4.2. ГПП-1 и регуляция функции проксимального отдела нефрона.....	109
4.3. Влияние торможения деградации ГПП-1 в сыворотке крови на функцию почек.....	111
4.4. Роль инкретина в регуляции водно-солевого обмена у детей.....	113
4.5. Участие ГПП-1 в осморегуляции, взаимосвязь с нормализацией уровня гликемии.....	116
ВЫВОДЫ.....	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспаратаминотрансфераза
ГИП – глюкозозависимый инсулиноподобный полипептид
ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1
ГПП-1р – рецептор глюкагоноподобного пептида-1
ГПП-2 – глюкагоноподобный пептид -2
ГРП – гастрин релизинг пептид
ГТФ – гуанозинтрифосфат
ДПП-4 – дипептидилпептидаза-4
ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1
K_{ATФ}-каналы – АТФ-чувствительные калиевые каналы
кДНК – комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
КСН – компенсированная сердечная недостаточность
ЛПВН – липопротеиды высокой плотности
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
ПК 1/2/3 – прогормон конвертаза 1/2/3
ПК JNK – c-Jun N-концевая киназа (c-Jun N-terminal kinases)
ПК-Cζ – протеинкиназа-Cζ
ПК-A – протеинкиназа -A
ПК-C – протеинкиназа-C
CaMKII – кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase II)
СД2 – сахарный диабет 2 типа
ССН – субкомпенсированная сердечная недостаточность
ФИЗК – фосфатидилинозитол-3-киназа
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
BMP – bone morphogenetic proteins (костный морфогенетический белок)
Ca_v-каналы – потенциал зависимые кальциевые каналы L-типа
CRE – cAMP response elements (цАМФ-чувствительный элемент)
Eras2 – exchange protein directly activated by cAMP 2 (обменный белок, непосредственно активируемый цАМФ 2)
ERK – extracellular signal-regulated kinase (киназы, регулируемые внеклеточными сигналами)

Fox – forkhead box protein (фактора транскрипции)

GLUT2 – glucose transporter 2 (транспортер глюкозы 2 типа)

IRS2 – insulin receptor substrate-2 (субстрат-2 инсулинового рецептора)

K_A – коэффициент атерогенности

K_v-каналы – потенциал зависимые калиевые каналы

МАРК (в т.ч. MEK1/2=МАРК2, Raf =МАРК3, Ras, ERK1/2) – mitogen-activated protein kinase
(митоген-активируемая протеинкиназа)

PDX-1 – pancreatic and duodenal homeobox-1 (фактор промотора инсулина 1)

TGFβ – transforming growth factor β (трансформирующий фактор роста β)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Инкретины, в их числе глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), – это биологически активные вещества, которые секретируются специализированными клетками желудочно-кишечного тракта в кровь в ответ на поступление пищи и участвуют в глюкозозависимой секреции инсулина поджелудочной железой [40]. Активное изучение инкретинов началось в конце XX века с открытия ингибирующего желудочного полипептида [48] и возникновения предположения о возможности применения инкретинов в терапии сахарного диабета 2 типа (СД2) [273]. ГПП-1 секретируется L-клетками дистальных отделов тонкой кишки в кровь после приема пищи и клетками центральной нервной системы [65, 92]. Установлено, что ГПП-1 стимулирует пролиферацию клеток поджелудочной железы, подавляет секрецию кислоты в желудке и эвакуацию желудочного содержимого [243]. ГПП-1 участвует в регуляции контроля аппетита, потребления пищи и воды [164]. Разработана терапия СД2 и ожирения, основанная на использовании инкретинов, в частности препаратов синтетических миметиков ГПП-1 и соединений, влияющих на длительность циркуляции ГПП-1 в крови [139, 214]. Роль данных пептидов в организме существенно шире, чем участие в регуляции углеводного обмена. Известно, что ГПП-1 обладает нейропротективными [224, 302] и кардиопротективными [24, 95, 193] свойствами. Обсуждалась возможная роль ГПП-1 в регуляции потребления воды и солей у крыс [57], здоровых людей [164] и пациентов с ожирением [296]. Показано, что ГПП-1 и его миметики, такие как эксенатид, влияют на величину диуреза и натрийуреза у крыс [10, 67]. Эксенатид стимулирует экскрецию натрия почкой и повышает клиренс осмотически свободной воды при гипергидратации у крыс [11] и человека [22]. В связи с этим актуальной проблемой физиологии и патофизиологии является изучение факторов секреции инкретинов, в частности ГПП-1, исследование механизмов его интеграции в различные регуляторные процессы в норме и при патологии и возможность использования инкретиномиметиков в терапии нарушений как углеводного, так и водно-солевого обмена, а также их сочетаний.

Степень разработанности темы

Факторы, стимулирующие секрецию ГПП-1, и механизм участия ГПП-1 в регуляции водно-солевого гомеостаза не выявлены. Не установлено, существует ли взаимосвязь между влиянием ГПП-1 на уровень гликемии и на водно-солевой баланс. Отсутствуют данные об особенностях секреции ГПП-1 и его влиянии на состояние осмо- и ионорегулирующей функции почек у человека в зависимости от водно-солевого баланса организма, в том числе у детей при

целиакии и хроническом гастродуодените – заболеваниях желудочно-кишечного тракта, имеющих потенциальное влияние на секрецию инкретина. Настоящая работа призвана выявить физиологические условия, при которых реализуется действие ГПП-1 в регуляции водно-солевого баланса, что имеет как фундаментальное, так и клиническое значение.

Цель исследования

Изучить механизмы участия ГПП-1 в регуляции водно-солевого обмена, особенности секреции ГПП-1 и его влияния на функции почек в экспериментах на лабораторных животных и при некоторых формах патологии желудочно-кишечного тракта у детей в клинике.

Задачи работы

1. Определить роль ГПП-1 в механизме регуляции водно-солевого гомеостаза и восстановлении параметров жидкостей внутренней среды.
2. Сопоставить эффект ГПП-1 и его синтетического миметика (эксенатид) у крыс.
3. Определить факторы, стимулирующие секрецию ГПП-1.
4. Изучить сочетанное влияние эксенатида на уровень гликемии и натрийурез у пациентов с СД2.
5. Исследовать секрецию ГПП-1 и состояние осмо- и ионорегулирующей функции почек у здоровых детей и здоровых взрослых при различных условиях водного баланса.
6. Исследовать секрецию ГПП-1 и состояние осмо- и ионорегулирующей функции почек у детей при целиакии и хроническом гастродуодените при различных условиях водного баланса.

Научная новизна

Впервые показано, что стимулом секреции ГПП-1 служит растяжение желудка. В экспериментах на крысах установлена последовательность реакций, лежащих в основе эффекта данного инкретина в почке. ГПП-1 взаимодействует с ГПП-1-рецепторами в клетках проксимального канальца, уменьшает проксимальную реабсорбцию жидкости в нем, что увеличивает поступление канальцевой жидкости в дистальный сегмент нефрона. Диурез и осмоляльность мочи в этих условиях зависят от уровня секреции аргинин-вазопрессина нейрогипофизом.

Впервые показано функциональное значение ГПП-1 в водно-солевом гомеостазе – блокада вилдаглиптином ферментативного разрушения ГПП-1 сохраняет его в крови, что

ускоряет восстановление физико-химических параметров жидкостей внутренней среды после введения в организм избытка солей или воды.

Впервые показано, что ГПП-1 участвует в осморегуляции и стабилизации водно-солевого обмена у детей. При целиакии и хроническом гастродуодените снижено выведение воды почками в условиях функциональной пробы с водной нагрузкой. При хроническом гастродуодените, сопровождающемся повреждением слизистой оболочки желудка, введение воды не стимулирует секрецию ГПП-1.

Впервые показано, что секреция ГПП-1 в кровь возрастает в равной степени при поступлении в желудок воды или раствора глюкозы, установлена взаимосвязь гипогликемического и натрийуретического эффектов ГПП-1.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационной работы позволили выявить новый механизм в регуляции водно-солевого гомеостаза – каскадный механизм регуляции функции почек, ключевое значение в котором имеет гормон желудочно-кишечного тракта ГПП-1. Охарактеризованы особенности секреции ГПП-1 и осморегулирующей функции почек у детей с целиакией и хроническим гастродуоденитом. Полученные результаты дополняют фундаментальные представления о механизмах поддержания водно-солевого гомеостаза и имеют значение для понимания патогенеза симптомов нарушения водно-солевого обмена при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у детей.

Внедрение в практику результатов исследования

Основные положения диссертации включены в лекционный курс и практические занятия для студентов и клинических ординаторов кафедры факультетской педиатрии ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России.

Основные положения, выносимые на защиту

1. ГПП-1 является звеном каскадного механизма регуляции водно-солевого гомеостаза. Стимулируя рецепторы клеток проксимального канальца нефрона, ГПП-1 приводит к уменьшению изоосмотической реабсорбции жидкости, увеличению ее притока в дистальные отделы нефрона и к ускорению нормализации водно-солевого обмена.
2. Продление периода полужизни ГПП-1, циркулирующего в крови, путем блокады

активности фермента ДПП-4 ускоряет восстановление физико-химических параметров жидкостей внутренней среды при осморегуляции. Данный эффект сопоставим с действием эксенатида.

3. Стимулом секреции ГПП-1 служит растяжение желудка.
4. При потреблении воды прирост секреции ГПП-1 такой же, как и при потреблении глюкозы. Регуляция гликемии и ионорегуляция связаны участием ГПП-1.
5. ГПП-1 участвует в осморегуляции и обеспечении водно-солевого гомеостаза у здоровых детей и взрослых.
6. При ряде форм патологии желудочно-кишечного тракта (целиакия, хронический гастродуоденит) нарушена секреция ГПП-1 и зависящая от него осморегулирующая функция почек.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором самостоятельно проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, дано обоснование цели и составлена программа исследования. Все данные, приведенные в диссертационной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автором проведена статистическая обработка полученных данных, осуществлен их анализ и обобщение, проведена подготовка публикаций по материалам работы. Автором написаны все главы, сформулированы основные положения и выводы диссертационного исследования.

Обоснование достоверности и апробация полученных данных

Достоверность полученных результатов исследования обусловлена использованием современных методов исследования, репрезентативностью и достаточным объемом выборки.

Результаты работы доложены и обсуждены на XVII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2014), на IV Съезде физиологов СНГ «Физиология и здоровье человека» (Сочи-Дагомыс, 2014), на XVIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, посвященной двадцатилетию медицинского факультета СПбГУ «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2015), на Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и

висцеральных систем» (Санкт-Петербург–Колтуши, 2015), на совещании Объединенного научного совета СПбНЦ РАН «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2016), на XV Всероссийском совещании с международным участием и VIII Школе по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург, 2016), на конференции педиатров-нефрологов и урологов, посвященной «Памяти Альберта Вазгеновича Папаяна» (Санкт-Петербург, 2016), на Конгрессе с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2017 г.), на XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2017), на XXIII съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (Воронеж, 2017), на II конгрессе с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2018), на XXIV Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2018» (Санкт-Петербург, 2018), на Всероссийской молодежной конференции с международным участием «Современные аспекты интегративной физиологии» (Санкт-Петербург, 2018), на XXV Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2019» (Санкт-Петербург, 2019), на XVI Всероссийской конференции с международным участием «Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели» (Санкт-Петербург, 2020), на XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021» (Санкт-Петербург, 2021).

Диссертационная работа прошла экспертизу и получила грантовую поддержку в рамках следующих проектов:

1. Грант РФФИ №14-15-00730 «Исследование механизма участия глюкагоноподобного пептида-1 в селективной регуляции баланса воды и ионов» (рук. Наточин Ю. В.).
2. Грант РФФИ №17-04-01216 «Влияние инкретина на ионорегулирующую функцию почек» (рук. Кутина А.В.).
3. Грант РФФИ №18-315-00291 «Сравнительное исследование участия оксинтомулина и глюкагоноподобного пептида-1 в модуляции экскреции натрия и воды почками» (рук. Балботкина Е. В.).
4. Грант РФФИ №18-15-00358 «Молекулярные и системные механизмы интегрированного ответа почки в водно-солевом гомеостазе» (рук. Наточин Ю. В.).

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 18 научных работ, в том

числе 6 в изданиях из Перечня ВАК при Минобрнауки РФ, из них 4 – статьи, включенные в международные базы данных (WoS - 1, Scopus - 4).

Соответствие паспорту научной специальности

Научные положения диссертации и результаты исследования соответствуют паспорту научной специальности: 1.5.5 – Физиология человека и животных, пункты 1, 2, 3 и 10; 3.1.21 – Педиатрия, пункты 1, 2 и 3.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 23 отечественных и 302 иностранных источника. Диссертация иллюстрирована 29 таблицами и 29 рисунками.

ГЛАВА 1. УЧАСТИЕ ГПП-1 В РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. ГПП-1: история открытия, структура, секреция

1.1.1. История открытия инкретинов и «инкретинового эффекта»

После открытия инсулина Бантингом и Бестом в 1921 году, начался поиск гормона кишечника, влияющего на углеводный обмен. В 1930 году Ля Барру и Стилу удалось разделить неочищенный секретин на фракции, и в 1932 году Ля Барр дал название «инкретин» гормону, выделенному из экстракта слизистой верхнего отдела кишечника и способному вызывать гипогликемию [205]. В 1935 году Ханс Хеллер подтвердил эффект снижения концентрации глюкозы под влиянием экстракта слизистой двенадцатиперстной кишки у кроликов и человека. Хеллер назвал активное начало экстракта инсулотропным гормоном и дал ему имя дуоденин. Он предложил использовать дуоденин для терапии СД2 у человека [167]. Лоев и соавторы [209], а в последующем и Гроссман в своем обзоре «Гастроинтестинальные гормоны» опровергли инкретиновую концепцию и решили считать сомнительным наличие гормонов кишечника, способных регулировать уровень глюкозы в крови, до тех пор, пока не будет доказано обратное [160]. В связи с публикацией этих работ и сложившейся исторической ситуацией, исследование инкретинов было прервано на последующие 25 лет.

Взаимосвязь между гастроинтестинальным трактом и эндокринной частью поджелудочной железы была подтверждена лишь в 1960 году с развитием радиоиммунного анализа, когда стало возможным определение инсулина в плазме крови. Исследование секреторного ответа поджелудочной железы путем проведения перорального или внутривенного теста с нагрузкой глюкозой показали, что при одинаковом повышении гликемии секреция инсулина значительно выше при пероральном приеме глюкозы [246]. Перле и соавторы показали, что 50% секреции инсулина опосредовано факторами желудочно-кишечного тракта [241]. Данное взаимодействие в 1969 году получило название «кишечно-островковой оси» [313]. Исходя из этого, не только взаимодействие глюкозы с β -клеткой островка Лангерганса, но и интестинальные факторы участвуют в стимуляции секреции инсулина [68]. Таким образом, инкретины, в их числе и ГПП-1 – это биологически активные вещества, которые секретируются специализированными клетками желудочно-кишечного тракта в кровь в ответ на поступление пищи и участвуют в глюкозозависимой секреции инсулина поджелудочной железой [40].

Первый инкретиновый гормон был идентифицирован в 1970 году, он угнетал секрецию

желудочного сока у собак и был назван ингибирующий желудочный полипептид (gastric inhibitory polypeptide – GIP) [48]. Очищенные препараты этого полипептида стимулировали секрецию инсулина у человека [288], пептид был переименован в глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (ГИП; glucose-dependent insulintropic polypeptide - GIP) [287, 288].

Вслед за клонированием гена проглюкагона был идентифицирован второй пептид, имеющий непосредственное отношение к инкретиновому эффекту – ГПП-1 (1-36), выявлена его активная форма, состоящая из 29 аминокислот [273]. Оказалось, что ГПП-1 в физиологической концентрации является мощным стимулятором освобождения инсулина. Оба пептида выделяются в ответ на пищевую нагрузку и потенцируют глюкозозависимую секрецию инсулина [119, 233]. ГПП-1 оказывает более выраженное влияние на углеводный обмен, несмотря на то, что концентрация ГИП в плазме крови превосходит его в 4 раза. ГПП-1 обладает не только биологической активностью в отношении секреции инсулина β -клетками, но и оказывает трофическое действие на β -клетки и стимулирует их регенерацию [189].

1.1.2. ГПП-1 – член семейства проглюкагоновых белков

ГПП-1 принадлежит к семейству пептидных гормонов «глюкагон-секретин», которых объединяет сходство аминокислотной последовательности с молекулой глюкагона, составляющее от 21 до 48%. В состав этого семейства входят: глюкагон, ГПП-1 (7-37) и ГПП-1 (7-36), ГИП, секретин, ГПП-2, полипептиды, активирующие аденилатциклазу гипофиза -27 и -38, вазоактивный интестинальный пептид, соматолиберин, дипептид гистидин-метионин. Эти гормоны продуцируются эндокринными клетками желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, центральной и периферической нервной системы и проявляют разнообразную биологическую активность, некоторые из них действуют как нейротрансмиттеры [171, 275, 277].

ГПП-1 представляет собой продукт транскрипции гена проглюкагона, ответственного за синтез других проглюкагоновых пептидов [171]. У рыб, рептилий и птиц имеется несколько генов проглюкагона, у млекопитающих обнаружен только один ген [195]. Ген проглюкагона включает 10 тысяч пар нуклеотидов, расположен на длинном плече 2 хромосомы и состоит из 6 экзонов и 5 интронов [321]. Подобная структура гена была найдена у нескольких видов млекопитающих, включая крысу, хомяка, морскую свинку и человека. Аминокислотные последовательности ГПП-1 идентичны у исследованных млекопитающих и высоко гомологичны у многих низших позвоночных [44, 249]. ГПП-1 впервые был описан у рыбы удильщика или морского черта (лат. *Lophius piscatorius*) на основании клонирования

соответствующих комплементарных ДНК (кДНК) [237]. Четыре внутренних экзона индивидуально кодируют сигнальный пептид, глюкагон, ГПП-1 и ГПП-2 [44, 166]. Кодирующая последовательность ГПП-1 расположена в 4 экзоне [321]. Ген проглюкагона экспрессируется в α -клетках эндокринной части поджелудочной железы, L-клетках кишечника и нейронах, расположенных в хвостатом ядре переднего мозга и гипоталамусе [178]. Кроме того, ГПП-1 синтезируется небольшой популяцией нейронов в ядре солитарного тракта в продолговатом мозге у человека, крысы и обезьяны и в обонятельной луковице [218]. При транскрипции гена проглюкагона у млекопитающих образуется структурно единая для всех трех типов клеток матричная РНК (мРНК) [248]. У других позвоночных животных (рыбы, амфибии, рептилии), напротив, может быть два гена проглюкагона, что позволяет происходить альтернативному сплайсингу с формированием нескольких проглюкагон-мРНК, которые кодируют в поджелудочной железе ГПП-1, но не ГПП-2, и оба пептида в кишечнике [60, 196].

Основными детерминантами экспрессии гена проглюкагона в кишке, также как и в поджелудочной железе, являются уровень внутриклеточного цАМФ и активация сигнального пути протеинкиназы А (ПКА) [91]. Первичным регулятором экспрессии гена проглюкагона *in vivo* является прием пищи [229]. Голод уменьшает экспрессию гена проглюкагона в кишечнике крысы, тогда как повторное питание стимулирует этот процесс [96]. Диета с высоким содержанием клетчатки [263] или короткоцепочечных жирных кислот [278] повышает уровень мРНК проглюкагона в кишечнике. Гастрин релизинг пептид (ГРП) и ГИП повышают уровень мРНК проглюкагона в энтероэндокринных клетках кишечника мыши и в культурах первичных клеток кишечника плода крысы, соответственно. В поджелудочной железе экспрессия гена проглюкагона стимулируется гастрином, чувством голода и гипогликемией, а угнетается инсулином [216].

1.1.3. Посттрансляционный процессинг проглюкагона

Трансляция мРНК проглюкагона приводит к образованию белка-предшественника проглюкагона (молекулярная масса – 9 кДа), состоящего из 180 аминокислотных остатков, который затем проходит тканеспецифический посттрансляционный процессинг с помощью прогормонконвертазы (ПК), приводящий к образованию специфических пептидов в поджелудочной железе, кишечнике и мозге [248, 312].

В клетках поджелудочной железы с помощью ПК2 из проглюкагона образуются глюкагон, основной проглюкагоновый фрагмент, промежуточный пептид-1 и родственный глицентину полипептид [79, 248, 252]. 29-аминокислотный остаток глюкагона вырабатывается эндокринной частью поджелудочной железы, 14 из 27 аминокислотных остатков глюкагона

идентичны таковым в молекуле гормона желудочно-кишечного тракта секретина [304].

Посттрансляционная обработка проглюкагона в энтероэндокринных L-клетках преимущественно дистального отдела тонкого кишечника и в центральной нервной системе приводит к образованию глицентина (интестинальная форма глюкагона), оксинтомодулина, ГПП-1, ГПП-2 и промежуточного пептида-2 [65, 198, 248, 304]. Посттрансляционная обработка проглюкагона в кишечнике осуществляется ферментом ПК 1/3 [79].

Фермент ПК, ответственный за посттрансляционную обработку проглюкагона в центральной нервной системе не установлен, однако высокие уровни ПК1/3 и ПК2 присутствуют в ней повсеместно, включая гипоталамус, где также можно обнаружить нейроны, экспрессирующие проглюкагон. Посттрансляционная обработка молекулы проглюкагона в мозге крыс аналогична процессу, происходящему в кишечнике [179].

1.1.4. Формы ГПП-1

Биологически активный ГПП-1 образуется из ГПП-1(1-37) и представлен *in vivo* в виде двух эквипотентных циркулирующих молекулярных изоформ, синтезируемых и секретируемых в кишечнике одновременно: ГПП-1(7-36) амид и ГПП-1(7-37), структурно различающихся лишь одной аминокислотой. Одна из этих изоформ – ГПП-1(7-36) амид, подвергаясь амидированию, является доминирующей у человека и крысы и составляет приблизительно 80% от уровня активного ГПП-1 в циркуляции, ее концентрация после пищевой стимуляции достигает около 50 пмоль/л [219, 309], она же доминирует в головном мозге у крыс [179]. ГПП-1(7-37) изоформа является глицин-удлиненной, составляет 20% от уровня активного пептида, и ее стимулированная концентрация составляет 10 пмоль/л [219, 309]. ГПП-1(7-37) и ГПП-1(7-36) амид получают из их полноразмерных предшественников действием ПК1/3 [79]. Структура ГПП-1 в достаточной степени консервативна у всех изученных млекопитающих. В конечном итоге зрелая форма ГПП-1 состоит из 30-31 аминокислотного остатка [120]. Обе изоформы пептида имеют идентичный период полужизни, обладают одинаковым сродством к рецепторам и степенью биологической активности в отношении секреции инсулина [31, 37].

Концентрация общего ГПП-1 в плазме крови натощак у человека крайне низка и обычно составляет от 5 до 10 пмоль/л. В зависимости от метода определения базальная концентрация ГПП-1(7-36) амида у человека составляет от 0.4 до 7.0 пмоль/л [148, 309]. После пищевой стимуляции концентрация ГПП-1(7-36) амида увеличивается примерно в 2 – 4 раза и может достигать 50 пмоль/л. Уровень глицин-удлиненного ГПП-1(7-37) при стимуляции не превышает максимального базального значения и достигает 10 пмоль/л, при этом абсолютные пиковые значения зависят как от объема, так и от состава пищи [219, 309].

В поджелудочной железе 71% иммунореактивного ГПП-1 представлен большим проглюкагоновым фрагментом, 24% - ГПП-1(1-36) амидом и 5% - глицин-удлинённым ГПП-1(1-37), которые считаются неактивными, их биологические эффекты неизвестны. Поступление пищи в кишечник не вызывает изменения концентрации ГПП-1(1-36) амида и ГПП-1(1-37) в поджелудочной железе [309]. Обе кишечные формы ГПП-1 после секреции L-клетками быстро подвергаются инактивации под влиянием фермента ДПП-4 с образованием неактивных метаболитов ГПП-1(9-36) амида и ГПП-1(9-37), выступающих в роли антагонистов ГПП-1 рецепторов. Через 30 минут после подкожной инъекции ГПП-1 человеку ГПП-1(9-36) амид составляет примерно 78% от всего иммунореактивного ГПП-1 [88, 92].

1.1.5. Энтероэндокринные L-клетки тонкой кишки

ГПП-1 синтезируется и секретируется высокоспециализированными энтероэндокринными L-клетками желудочно-кишечного тракта после приема пищи [92, 163, 171]. По-видимому, L-клетки являются самыми многочисленными эндокринными клетками кишечника, а по распространенности в кишечнике их популяция является второй после энтерохромаффинных клеток. L-клетки у человеческого эмбриона появляются на 8 неделе внутриутробного развития в области подвздошной кишки, на 10 неделе – в проксимальных отделах тонкой кишки, а на 12 неделе – в толстой кишке. Значительное количество L-клеток диффузно локализовано в дистальных отделах тощей и подвздошной кишки, в толстой кишке, особенно в области прямой кишки [120]. Наибольшее количество L-клеток расположено в зоне кишечных крипт, и в меньшей степени – в области кишечных ворсинок. У человека, свиньи и крысы количество ГПП-1 позитивных клеток увеличивается от двенадцатиперстной кишки к дистальной тощей и подвздошной кишке и от проксимальной до дистальной части толстой кишки, достигая максимальной плотности в прямой кишке [174]. L-клетка представляет собой эпителиальную эндокринную клетку кишечника открытого типа, которая непосредственно контактирует с питательными веществами в просвете кишечника своей апикальной поверхностью и с элементами нервной системы и сосудами – базолатеральной поверхностью [290]. Соответственно, секреция ГПП-1 из L-клеток кишечника стимулируется различными питательными, нервными и эндокринными факторами. ГПП-1 колокализуется в L-клетках с другими проглюкагон-производными пептидами и, по крайней мере, частично – с пептидом YY (пептид тирозин-тирозин) [85].

1.1.6. Секреция ГПП-1

Уровень ГПП-1 в плазме в течение суток четко коррелирует с продукцией инсулина и повышен в дневное время [144]. Изменение концентрации ГПП-1 в плазме здорового человека носит пульсирующий характер, как в базальном, так и в стимулированном глюкозой состоянии [256]. Частота импульсов составляет около 7-9 в минуту, прием глюкозы существенно не влияет на частоту, но увеличивает амплитуду колебаний уровня ГПП-1. Уровни ГПП-1 и глюкозы в плазме крови натошак не зависят друг от друга, однако после проведения теста на толерантность к глюкозе между ними прослеживается корреляция [72, 234]. После перорального приема пищи секреция ГПП-1 у человека и грызунов осуществляется в двухфазном режиме. Несмотря на дистальную локализацию L-клеток в гастроинтестинальном тракте [120], высвобождение ГПП-1 в кровоток начинается в течение нескольких минут (5-8 мин) от момента приема пищи [40, 72, 234]. Фаза ранней секреции ГПП-1 длится по разным данным около получаса (32-34 мин) [147] и, вероятно, опосредована наличием не прямой нейроэндокринной регуляции. Было показано, что в досрочной выработке ГПП-1 после еды важную роль играют парасимпатическая вегетативная нервная система, в частности блуждающий нерв [34, 35, 269].

Поскольку блуждающий нерв высвобождает ацетилхолин, Анины и соавторы предположили участие мускариновых рецепторов в секреции ГПП-1. Установлено, что L-клетки экспрессируют три подтипа мускариновых рецепторов – M1, M2 и M3 [35]. Введение неспецифического антагониста M-холинорецепторов атропина не влияет на динамику секреции ГПП-1 и уровень гликемии в базальном состоянии [256]. Однако после пероральной нагрузки глюкозой он уменьшает амплитуду импульсов ГПП-1, не меняя их частоту. Он также снижает величину раннего ответа ГПП-1 у человека [256] и угнетает стимулированную жиром секрецию ГПП-1 у крыс [35]. Показано *in vivo*, что у человека пульсирующий механизм секреции ГПП-1 опосредован парасимпатической нервной системой [256]. Кроме того, атропин снижает стимулирующее действие холинергического агониста на секрецию ГПП-1 в изолированной перфузируемой подвздошной кишке. Данные исследований об участии подтипов мускариновых рецепторов в регуляции секреции ГПП-1 разнятся. В работах с использованием агонистов холинергических рецепторов секреция ГПП-1 зависела от активации M3 или M1 и M2 рецепторов [287]. В то же время антагонист M1 рецепторов, пирензепин, угнетал, антагонист M2 рецепторов, галамин, умеренно снижал, а антагонист M3 рецепторов, 4-дифенилацетокси-N-метилпиперидин не оказывал влияния на секрецию ГПП-1 [34, 35]. В отдельных работах в регуляции секреции ГПП-1 показано участие и никотиновых рецепторов: их блокада значительно уменьшала или полностью блокировала индуцированную секрецию ГПП-1 [30].

Клаустре и соавторы также предположили, что в контроле активности L-клеток подвздошной кишки также может играть роль адренергическая передача, поскольку агонисты α - и β -адренорецепторов усиливали высвобождение ГПП-1 [63].

Наряду с нервной системой в регуляции секреции ГПП-1 участвует ряд гормонов. Эндокринные факторы, непосредственно стимулирующие секрецию ГПП-1 – ГИП и гастрин релизинг пептид (ГРП), были исследованы на культурах кишечных L-клеток и участках кишки грызунов *in vitro* [260]. Вопреки полученным ранее данным о влиянии ГИП на афферентные волокна блуждающего нерва [268, 269], последующие исследования вызвали сомнения в его физиологической роли, поскольку ГИП стимулировал секрецию ГПП-1 только в высоких фармакологических концентрациях [165], а инфузия синтетического ГИП не влияла на секрецию ГПП-1 у человека *in vivo* [31]. Однако ГИП-индуцированная секреция ГПП-1 могла быть опосредована ГРП [267, 268], активность которого в отношении регуляции секреции ГПП-1 в настоящее время является наиболее доказанной. В многочисленных работах показано, что нейропептид ГРП стимулирует секрецию ГПП-1 *in vitro* и *in vivo* как у человека, так и у нескольких видов животных [258, 260, 267]. Мыши, нокаутные по гену рецептора ГРП, демонстрировали сниженный секреторный ответ ГПП-1 и инсулина и снижение толерантности к перорально поступившей глюкозе [258], а введение антагониста ГРП крысам полностью угнетает секрецию ГПП-1, индуцированную интрадуоденальным введением жира [267]. Это подтверждает, что наличие интактного рецептора ГРП необходимо для адекватной секреции ГПП-1. Поскольку блокада мускариновых рецепторов и ГРП рецепторов одинаково приводит к блокаде секреции ГПП-1, это может свидетельствовать в пользу связи данных путей.

Известно, что в L-клетках человека экспрессируется рецептор лептина, который стимулирует секрецию ГПП-1 в культуре эмбриональных L-клеток крысы, мыши и человека *in vitro*, а также *in vivo* у крыс и мышей с дефицитом лептина [34]. Более того, ожирение у мышей связано с устойчивостью к лептину и со снижением базальной и стимулированной глюкозой секрецией ГПП-1 [34]. Стимулирующим влиянием на секрецию ГПП-1 в кишечнике также обладает бомбезин [260, 268].

Среди гормонов, влияние которых на L-клетки было изучено, угнетать секрецию ГПП-1 способен инсулин. Он подавляет синтез и секрецию ГПП-1 как *in vitro*, так и *in vivo*, по-видимому, влияя через механизм обратной связи [192]. Показано, что локальное выделение соматостатина-28 из D-клеток ограничивает секрецию ГПП-1 *in vivo* у крыс и собак и *in vitro* в культурах энтероцитов крыс и лошадей [125]. Следовательно, регуляция секреции D-клеток может представлять собой средство контроля активности L-клеток. Мотилин также угнетает секрецию ГПП-1 [165]. Некоторые исследования показали, что нейропептид галанин может подавлять секрецию ГПП-1 из L-клеток кишечника крыс как *in vitro*, так и *in vivo* путем

антагонизма с ГИП [125]. Не подтверждено ранее существовавшее представление об участии пептида, связанного с геном кальцитонина, в регуляции секреции ГПП-1 [165]. В исследовании с участием человека выявлена локализация L-клеток в двенадцатиперстной кишке и показана их способность секретировать ГПП-1 в ответ на непосредственное взаимодействие с питательными веществами, что также обеспечивает раннюю фазу секреции пептида [131].

В отличие от первой фазы, регулируемой косвенными механизмами, вторая или поздняя фаза секреции пептида, вероятно, вызвана прямой стимуляцией L-клеток дистальных отделов кишечника расщепленными питательными веществами. Секрецию ГПП-1 в системный кровоток стимулирует как смешанная пища, так и отдельные питательные вещества. Большой рост концентрации ГПП-1 наблюдается после приема жидкой пищи, нежели твердой при идентичном ее составе [40, 144, 147, 218].

Основным стимулятором секреции ГПП-1 являются углеводы пищи (глюкоза и галактоза), эффект достигается посредством глюкозо-натриевого котранспортера кишечного эпителия [49, 144, 147, 268, 269]. Такие сахара, как фруктоза, 2-деоксиглюкоза и лактоза, не влияют на секрецию ГПП-1 L-клетками тонкой кишки. В исследованиях с введением глюкозы установлено, что пероральное, но не внутривенное ее введение стимулирует секрецию ГПП-1 у человека [31, 37, 147].

Наряду с глюкозой, пищевой жир также стимулирует секрецию ГПП-1. Длина цепочки жирных кислот и степень их насыщенности по-разному влияют на способность жиров стимулировать секрецию ГПП-1. Так, мононенасыщенные длинноцепочечные жирные кислоты, в отличие от коротко- и среднецепочечных полиненасыщенных или насыщенных жирных кислот, в значительно большей степени стимулируют выделение ГПП-1 [268, 269].

Смешанная пища, включающая белки, также стимулирует секрецию ГПП-1 у человека. Такая пища способствует синтезу и секреции ГПП-1 посредством образования пептонов (смеси олигопептидов с различным молекулярным весом), которые контактируют с L-клетками тонкой кишки. Способствует выработке ГПП-1 L-клетками пероральное поступление смеси или отдельных аминокислот и клетчатки, в то время как введение аминокислот в просвет кишки не вызывает секреции ГПП-1 [144, 147].

Таким образом, сигналы, генерируемые после поступления пищи, могут передаваться L-клеткам либо косвенно, посредством нейроэндокринных медиаторов, либо путем прямого контакта, что определяет раннюю и позднюю фазы секреции ГПП-1, соответственно. Секреция ГПП-1, вероятно, зависит от энтероэндокринной петли регуляции между проксимальными и дистальными отделами тонкого кишечника [35, 165, 267, 268].

1.1.7. Метаболизм ГПП-1

После секреции ГПП-1 его метаболизм является процессом, определяющим уровень биологически активного гормона в циркуляции. Выведение ГПП-1 из циркуляции осуществляется двумя основными механизмами – деградацией ферментом ДПП-4 и элиминацией почками.

После секреции L-клетками период полужизни биоактивного интактного ГПП-1 в кровообращении составляет менее 2 минут (около 60-90 секунд) из-за быстрой инактивации широко распространенным ферментом ДПП-4 [139, 199, 217]. Это подтверждено в исследованиях с назначением внутривенных инфузий ГПП-1 как здоровым добровольцам, так и больным СД2. Фермент ДПП-4, также известный как CD26 или белок 2, образующий комплекс с аденозиндезаминазой, широко экспрессирован на поверхности большинства клеток организма, включая кишечник [154], почки, печень [182], центральную нервную систему [231], а также лимфоциты и макрофаги [199]. ДПП-4 является трансмембранным гликопротеином, который формирует гомодимер с молекулярной массой около 250 кДа. Каждая субъединица состоит из большего внеклеточного домена с протеолитическими свойствами, трансмембранной цепи и меньшего внутриклеточного фрагмента. ДПП-4 представляет собой сериновую протеазу, которая специфически расщепляет аминоконцевую дипептидную связь в олигопептидах и белках, содержащих остаток аланина или пролина во втором положении, тем самым изменяя или угнетая их активность. В дополнение к мембраносвязанной форме, расположенной на клеточной поверхности, ДПП-4 существует в виде растворимого белка в кровотоке [217].

Молекулы ГПП-1 пересекают базальную мембрану эпителия кишечника, проникают в *Lamina propria* кишечной стенки. Впоследствии ГПП-1 попадает в капиллярную систему ворсинок, где он немедленно разрушается с помощью фермента ДПП-4, экспрессируемого на эндотелиальной поверхности сосудов. Исследования показали, что значительная часть молекул ГПП-1, составляющая от 50 до 75%, уже усечена ДПП-4 и тем самым инактивирована еще до выхода из системы кишечного кровотока. При этом концентрация активной формы ГПП-1, достигающей портальной системы, составляет лишь 20% от общей концентрации [154]. Согласно этой точке зрения, ГПП-1 может физиологически действовать скорее, как паракринный регулятор, чем как истинный гормон. В случае же ускоренного опорожнения желудка или большого объема питательных веществ происходит соответствующее усиление секреции ГПП-1, который проникает в системный кровоток, для дальнейшего взаимодействия с рецептором. Согласно этой точке зрения, ГПП-1 можно рассматривать как инкретиновый гормон второй линии (ГИП, глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид, является

первым), который главным образом активируется при переедании [170]. ДПП-4 расщепляет не только ГПП-1, но также нейропептид Y, пептид YY, ГИП, гормон роста, релизинг гормон, тканевые гормоны и хемокины [217].

ГПП-1-(7-36) амид, который содержит предпоследний остаток аланина и, таким образом, является субстратом для ДПП-4, быстро метаболизируется до ГПП-1-(9-36), ГПП-1-(7-35) и ГПП-1-(7-34) амидов, а ГПП-1-(7-37) – до ГПП-1-(9-37) [199, 200, 217]. ГПП-1-(1-37), который образуется в кишечнике в небольшом количестве, под воздействием недифференцированной протеазы метаболизируется до ГПП-1-(1-36) и ГПП-1-(7-36) амидов и до ГПП-1-(7-37) [218]. ГПП-1-(9-36) амид является основным продуктом расщепления и составляет 53.5% от концентрации интактного ГПП-1-(7-36) амида натощак, однако после приема пищи его уровень у человека возрастает до 75%, и он становится более распространенным, чем интактная молекула ГПП-1-(7-36) амида. ГПП-1-(9-36) амид также связывается с рецептором ГПП-1, хотя и с более низким сродством, чем амидная форма ГПП-1-(7-36), и может действовать как конкурентный антагонист рецептора ГПП-1 *in vivo*. Период его полураспада составляет 4-5 минут. Остальные метаболиты амидов также могут иметь антагонистическое влияние на ГПП-1-(7-36) амид и не проявляют инкретиновой активности [200].

Показано, что нейтральная эндопептидаза 24.11 (NEP-24.11), являющаяся мембраносвязанной Zn^{2+} -зависимой металлоэндопептидазой, имеет эндопептидазную активность на ГПП-1 *in vitro*. Около 50% ГПП-1, поступающего в кровоток, может подвергаться С-концевому расщеплению NEP-24.11 [75].

Другим, не менее важным механизмом ликвидации ГПП-1 является элиминация через почки, которая включает механизмы клубочковой фильтрации, канальцевой реабсорбции и катаболизма [140, 232, 264]. После фильтрации в клубочках катаболизм ГПП-1, вероятно, осуществляется путем интернализации в клетках канальцев или путем деградации при контакте с протеазами мембран щеточной каймы. У крыс двусторонняя нефрэктомия или лигирование мочеточника связаны с увеличенным периодом полураспада ГПП-1 [264]. Наблюдаются повышенные уровни ГПП-1 у пациентов с острой и хронической почечной недостаточностью [231]. Используя специфические способы анализа, основанные на определении N- и С-терминальных остатков, было установлено, что концентрации метаболитов ГПП-1 увеличиваются у пациентов с почечной недостаточностью, тогда как уровни интактного биоактивного ГПП-1 аналогичны уровням здоровых людей. Это подтверждает важность участия почек в элиминации ГПП-1 и его метаболитов [274].

1.1.8. Рецептор ГПП-1

Рецептор ГПП-1 (ГПП-1р) относится к семейству рецепторов, сопряженных с G-белком, 2 или В класса (рецепторы секретинного семейства) подсемейству В1 гуанинсвязывающих белков и является семидоменным трансмембранным гетеротримерным белком [191]. Анализ данных показал, что ГПП-1 имеет один сайт связывания [284]. Ген ГПП-1р человека охватывает 40 Кб, состоит, по меньшей мере, из 7 экзонов и локализуется на длинном плече 6 хромосомы (hchr 6p21.16) [175]. 5'-концевая и промоторная область гена человеческого ГПП-1р была клонирована и функционально охарактеризована в 1997 году [206].

ГПП-1р человека состоит из 463 аминокислот и имеет молекулярную массу примерно 63-65 кДа [284]. У грызунов и людей был идентифицирован единственный структурно идентичный ГПП-1р (гомология более 90%) [64]. Рецепторная последовательность содержит большой гидрофильный внеклеточный домен, которому предшествует короткая лидерная последовательность, необходимая для транслокации рецептора через эндоплазматический ретикулум во время биосинтеза, и семь гидрофобных мембранных доменов, которые связаны гидрофильными внутри- и внеклеточными петлями [308]. Аминоконцевая внеклеточная область ГПП-1р необходима для связывания лиганда – ГПП-1. Область, охватывающая 1-3 трансмембранные домены, участвует в связывании лиганда. Различные домены в пределах третьей внутриклеточной петли являются критическими для специфического связывания G-белка [80]. ГПП-1р, соединяясь с различными α -субъединицами G-белка ($G_{\alpha s}$, $G_{\alpha q}$, $G_{\alpha i}$ и $G_{\alpha o}$), приводит к увеличению уровня аденилатциклазы, фосфолипазы C, фосфатидилинозитол-3-киназы и внутриклеточного кальция и активации протеинкиназы-A и -C (ПК-A и -C), митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК) и E_{rac2} (exchange protein directly activated by cAMP 2 – обменный белок, непосредственно активируемый цАМФ 2) зависимых путей передачи сигнала [80, 142, 236].

ГПП-1р впервые был обнаружен в клетках инсулиномы крыс RIN1046-38 в 80-х годах XIX века при помощи комбинации методов с использованием радиоактивно меченного лиганда и измерения накопления цАМФ [142]. В последующем ГПП-1р был локализован на β -клетках островков поджелудочной железы крыс [118] и человека [300] и соматостатин секретирующих клетках [121]. Сайты связывания ГПП-1 также были выявлены на раковых клетках желудка человека, изолированных париетальных клетках желудка [257], на адипоцитах [250], в легком [58] и мозге [319] крысы.

Выявлены мРНК и белок ГПП-1р в клеточной линии медулярного рака и нормальных клетках щитовидной железы [97], в опухолях головного мозга и эмбриональных опухолях, но не в карциномах или лимфомах [134] у крысы и человека. Показана высокая экспрессия ГПП-1р

в нейроэндокринных опухолях кишечника и легких человека, особенно в инсулиномах [201]. Транскрипты мРНК ГПП-1р обнаружены в островках поджелудочной железы, легких, головном мозге, желудке, молочной железе, сердце и почках, но не в печени, лимфатических узлах, селезенке, надпочечниках, скелетных мышцах или жировой ткани большинства видов [50, 143, 319]. Выделена кДНК ГПП-1р из мозга и сердца человека [319]. Использование методов Нозерн-блота и защиты от РНКазы продемонстрировало сравнительно более высокие уровни мРНК транскриптов ГПП-1р в сердце и легких по сравнению с другими тканями [50, 319]. Белок ГПП-1р был обнаружен в корковом веществе почки, преимущественно в клетках проксимального канальца и его сосудах [134]. В кишечнике ГПП-1р локализуется в липидных рафтах и взаимодействует с кавеолином-1, что позволяет регулировать субклеточную локализацию рецепторов, обмен ими и их сигнализацию.

Исследования показали, что ГПП-1р экспрессируется во многих участках головного мозга крысы и человека: задней доле гипофиза, боковой перегородке, субфорникальном органе, таламусе, гипоталамусе, межножковом ядре и заднедорсальных ядрах покрышки, области *postrema*, ядрах нижней оливы и солитарного тракта [57, 59]. Эти рецепторы недоступны для периферического ГПП-1, но являются вероятными мишенями для ГПП-1, продуцируемого в стволе мозга (ядро солитарного тракта) и транспортируемого затем в отдаленные области центральной нервной системы [90, 217]. Кроме того, активация мозговых ГПП-1р может осуществляться посредством последовательного включения ГПП-1р в области *postrema* и ГПП-1-положительных нейронов ствола мозга [151].

В линиях островковых клеток ГПП-1р подвергается быстрой гомологичной и гетерологичной десенситизации и интернализации, причем оба процесса зависят от фосфорилирования специфических остатков в С-концевом хвосте ГПП-1р. Снижение чувствительности происходит при воздействии агониста ГПП-1р или при активации ПК-С [173, 323]. Данный феномен не наблюдается *in vivo* даже при длительном применении агониста [41].

К агонистам рецептора относятся ГПП-1(7–37), ГПП-1(7–36) амид, пептиды, выделенные из яда Аризонского ядозуба (лат. *Heloderma suspectum*), эксендин-3 и -4. Структурно родственные члены семейства глюкагона, такие как ГПП-2, глюкагон и ГИП, не проявляют перекрестной реактивности с рецептором ГПП-1 в физиологически значимых концентрациях. Эксендин-(9-39) – N-концевой усеченный пептид, производное агониста ГПП-1р эксендина-4, связывает ГПП-1р и функционирует как его специфический антагонист [112].

1.2. Функциональная роль ГПП-1 в организме

1.2.1. Углеводный обмен

Ряд различных, но дополняющих друг друга влияний ГПП-1 способствует снижению уровня глюкозы в сыворотке крови. Основное действие ГПП-1 и агонистов его рецепторов заключается в глюкозозависимой стимуляции секреции инсулина и увеличении количества мРНК инсулина. Кроме того, часть эффектов ГПП-1 и его агонистов обеспечивает увеличение массы и продолжительности жизни β -клеток [119, 142, 147].

1.2.1.1. Секреция инсулина

При повышении уровня глюкозы в крови транспортер глюкозы 2 типа (glucose transporter 2 – GLUT2) переносит ее через мембрану β -клетки для процесса гликолиза. Окисление глюкозы увеличивает соотношение АТФ/АДФ в цитозоле, приводя к закрытию АТФ-чувствительных калиевых каналов (K_{ATP} -каналы), последующей деполяризации плазматической мембраны и открытию потенциал зависимых кальциевых каналов L-типа (Ca_v) [84]. Происходит увеличение свободного цитозольного кальция, обусловленное его притоком извне и из внутриклеточного депо в эндоплазматическом ретикулуме [53]. Рост уровня кальция запускает слияние инсулин-содержащих секреторных везикул с плазматической мембраной и экзоцитоз инсулина [168]. GLUT2, определяющий скорость транспорта глюкозы в клетку [215], и, в большей степени, глюкокиназа, ограничивающая скорость метаболизма глюкозы, являются частью «глюкозного сенсора» в β -клетках. Они определяют чувствительность β -клеток к повышению уровня глюкозы в окружающей среде и величину секреции инсулина. Влияя на отдельные звенья вышеописанного механизма, ГПП-1 модулирует инсулиновый ответ поджелудочной железы [89].

После пероральной нагрузки глюкозой 60% инсулинового ответа обеспечивается инкретинами [185]. Инсулинотропное действие ГПП-1 осуществляется при взаимодействии со специфическим рецептором на мембране [191]. В β -клетках поджелудочной железы передача сигнала с ГПП-1r осуществляется преимущественно через $G_{\alpha s}$ белок, активацию аденилатциклазы и образование цАМФ [53, 142]. ЦАМФ является первичным эффектом секреции инсулина, индуцированной ГПП-1, и опосредует его действие через 2 основных механизма: (1) протеинкиназа-А-зависимое (ПК-А) фосфорилирование нижестоящих мишеней и (2) ПК-А-независимая активация факторов обмена гуаниновых нуклеотидов - Ерас2 [173].

К субстратам ПК-А, участвующим в секреции инсулина, относятся рецептор инозитол-

1,4,5-трифосфата на эндоплазматическом ретикулуме, переносчик глюкозы GLUT2 и K_{ATP} -каналы. ГПП-1 усиливает индуцированную глюкозой секрецию инсулина, вызывая сдвиг мембранного потенциала на 5-10 мВ в зависимости от концентрации глюкозы и облегчая закрытие K_{ATP} -каналов. Продление деполяризации мембраны усиливает активность Ca_v -каналов и увеличивает экзоцитоз инсулина до 10 минут [172]. Таким образом, ГПП-1 оказывает долгосрочное влияние на экзоцитоз инсулина.

После индуцированной глюкозой секреции инсулина в ответ на деполяризацию мембраны клетки открываются потенциал зависимые калиевые каналы (K_v -каналы), закрытые в покое клетки, и начинается процесс реполяризации [117]. Наиболее изученным в связи с секрецией инсулина стал $K_{v2.1}$ канал. Снижение активности этого канала на 60–70% в β -клетках крысы приводит к увеличению секреции инсулина на 60%. ГПП-1 и его миметик эксендин-4, вызывая гиперполяризацию мембраны, могут противодействовать току через K_v -каналы [210]. Данный эффект является рецептор опосредованным. Для полной деактивации K_v -канала необходима синергия цАМФ/ПК-А-зависимого и фосфатидилинозитол-3-киназа (ФИ-3К) / протеинкиназа-С ζ (ПК-С ζ) -зависимого путей передачи сигнала [36, 210].

Скорость метаболизма в β -клетках определяется окислением пирувата митохондриями β -клеток, который важен для активации секреции инсулина. Выход кальция из депо, вызванный ГПП-1, повышает концентрацию кальция в митохондриях, что усиливает метаболический и секреторный ответ β -клеток на последующее поступление глюкозы, и увеличивает синтез митохондриального АТФ, что способствует продолжению деполяризации мембраны β -клеток. Данный эффект является цАМФ зависимым и опосредован в равной степени как ПК-А, так и Ерас2 [89].

Экзоцитоз секреторных гранул инсулина происходит путем их слияния с плазматической мембраной, после чего содержимое гранул эвакуируется в кровоток. Стыковка гранул облегчается набором SNARE белков (SNAP REceptor = Soluble NSF (N-ethylmaleimide-sensitive factor) Attachment Protein – чувствительный к N-этилмалеимиду растворимый фактор присоединения белков). Этот комплекс также способствует прикреплению гранул к соседнему Ca_v -каналу в клеточной мембране, а локальное повышение кальция вследствие открытия Ca_v -канала стимулирует высвобождение инсулина [271]. Хотя существует связь между фосфорилированием SNAP и секрецией инсулина, пока нет прямых доказательств регулирующей роли фосфорилирования SNAP, индуцированного глюкозой или ГПП-1 [89].

В β -клетках существует 3 функционально различных пула секреторных гранул инсулина: резервный пул, расположенный глубоко в цитоплазме, и 2 пула, расположенных рядом с мембраной, пул быстрого высвобождения и пул немедленного высвобождения. ГПП-1 продляет секрецию инсулина, увеличивая количество секреторных гранул инсулина в пуле быстрого

высвобождения, который обеспечивает первую фазу секреции инсулина [26].

Взаимодействие ГПП-1 с рецептором также активирует путь CaMKII (Ca^{2+} /calmodulin dependent protein kinase II – кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II) – члена семейства повсеместно экспрессируемых Ca-зависимых киназ. Активация происходит за счет увеличения внутриклеточных уровней кальция посредством активации Ca_v -канала L-типа и высвобождения кальция из эндоплазматического ретикулума, после чего фермент подвергается аутофосфорилированию и приобретает большее сродство к кальмодулину. Кальмодулин активирует кальциневрин и запускает цепочку событий, приводящую к транскрипции инсулина в ядре [66].

ГПП-1p способен активировать систему вторичных посредников фосфолипазы C. Исследования на ооцитах хомяков показали, что ГПП-1p крысы при высокой экспрессии может связываться с α -субъединицами G-белка ($G_{q/11\alpha}$ и $G_{i1,2\alpha}$) и приводить к активации сигнального пути MAPK (mitogen-activated protein kinase – митоген-активируемая протеинкиназа) [236]. Однако прямое связывание ГПП-1p с $G_{q/11\alpha}$ и $G_{i1,2\alpha}$ в модели β -клеток продемонстрировано не было. В более поздних исследованиях показано, что активация MAPK-пути происходит после активации цАМФ, вызванной ГПП-1p. В частности, было показано, что киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase – ERK), активируются Ca^{2+} -зависимым и цАМФ-зависимым образом. ERK является конечным ферментом в каскаде Ras – Raf (MAPK3) – MEK1/2 (MAPK2) – ERK1/2 (MAPK). Стимуляция глюкозой активирует оба изомера ERK в β -клетках. Фосфорилирование ERK1/2 в ответ на ГПП-1 и эксендин-4 было продемонстрировано в клеточных линиях инсулиномы и в клетках островков поджелудочной железы человека [159, 238]. Активация каскада зависит от высвобождения кальция из эндоплазматического ретикулума, кальмодулин зависимых киназ и малых ГТФаз. В β -клетках ГПП-1 также активирует p38 MAP киназу, точный механизм, с помощью которого это происходит, неизвестен, возможно, он регулируется перекрестными сигналами от MAPK пути и пути фосфатидилинозитол-3-киназы [236, 255].

Фосфатидилинозитол-3-киназа (ФИЗК) участвуют во множестве процессов, происходящих в β -клетках (рост, выживание, метаболизм, регуляция ионных каналов). Существует 4 класса ФИЗК: I_A, I_B, II и III [293]. В β -клетках идентифицированы субъединицы I_A класса – p110 α , 110 β и p85 α и I_B класса – p110 γ . Принципиальное различие между классами I_A и I_B состоит в том, что ФИЗК I_B могут непосредственно активироваться свободными субъединицами $G_{\beta\gamma}$, высвобождаемыми после активации сопряженного с G-белком рецептора, и приводить к секреции инсулина [184]. Дефект секреции инсулина, вызванный потерей этого белка, устраняется введением эксендина-4, что свидетельствует о возможности компенсации ответа другими формами ФИЗК [137]. ФИЗК также способствует фосфорилированию и

активации ПК-В при воздействии фосфоинозитид-зависимой киназы-1, система которой в β -клетках активируется воздействием ГПП-1 [36]. Все 3 изоформы ПК-В также активируются инсулиноподобным фактором роста-1 (ИФР-1) в клеточных линиях инсулиномы [254]. ПК-В является инструментом для пролиферации и выживания β -клеток [261].

ФИЗК активируется, кроме прочего, субстратом-2 инсулинового рецептора (insulin receptor substrate-2 – IRS2), который участвует в регуляции роста, функционирования и выживаемости β -клеток [322]. ГПП-1 и эксендин-4 через ГПП-1р увеличивает экспрессию IRS2. Эксендин-4 способствует фосфорилированию ПК-В посредством активации IRS2 в островковых клетках поджелудочной железы у человека [238]. Выявлена связь между Rap киназами и ФИЗК при воздействии ГПП-1. Важным для пролиферации β -клеток механизмом оказался путь активации ФИЗК через тирозинкиназу Src [129, 137].

Мишень рапамицина млекопитающих (mammalian target of rapamycin – mTOR) является сигнальной молекулой ФИЗК и переходит в активную форму под влиянием ПК-В. В β -клетках островков поджелудочной железы крысы эксендин-4 и ГПП-1 стимулируют рост уровня цАМФ, что вызывает фосфорилирование mTOR и активацию рибосомальной протеинкиназы S6, которая увеличивает пролиферацию β -клеток и уменьшает апоптоз. Эффект mTOR непосредственно регулируется степенью активности K_{ATP} -каналов [279].

В 1987 году впервые продемонстрировано влияние ГПП-1 на повышение уровня мРНК инсулина [142]. В 1992 году показано, что ГПП-1 способствовал активации гена проинсулина, что приводило к увеличению уровня мРНК и содержания инсулина в β -клеточной линии [122]. Длительная обработка клеток инсулиномы крысы ГПП-1 приводит к увеличению внутриклеточного инсулина в 1.5 раза [147]. Использование ингибитора транскрипции актиномицина D и ингибитора синтеза белка циклогексамида показало, что увеличение транскрипции и, следовательно, трансляции инсулина объясняет увеличение его содержания в клетке. Однако эффект угнетения транскрипции не полностью устранял вызванное ГПП-1 повышение уровней транскрипта инсулина. Эти данные свидетельствовали о важности ГПП-1 для стабилизации транскрипта инсулина при опосредованном им повышении уровня инсулина в β -клетках инсулиномы. Угнетение транскрипции актиномицином D при этом снижало влияние ГПП-1 на активацию генов GLUT1 и гексокиназы I. Таким образом, было установлено, что положительные эффекты ГПП-1 на секрецию инсулина возникают из-за стимуляции транскрипции в β -клетке, а также усиления первой фазы секреции инсулина в ответ на глюкозу. В дальнейшем в культурах клеток была подтверждена способность ГПП-1 индуцировать транскрипцию гена инсулина как у крысы [280], так и у человека [153]. ГПП-1 увеличивает транскрипцию инсулина за счет стабилизации транскрипта инсулина и цАМФ-зависимой и независимой регуляции гена инсулина, а также за счет активации ключевого фактора

транскрипции β -клеток PDX-1 (pancreatic and duodenal homeobox-1 = фактор промотора инсулина 1), который связывается с регуляторными элементами промотора инсулина для стимуляции транскрипции [89].

Фактор промотора инсулина 1 (PDX-1) необходим для развития поджелудочной железы и для консервативной регуляции транскрипции инсулина. Его отсутствие приводит к отсутствию поджелудочной железы, а мутации в гене PDX-1 приводят к развитию MODY-диабета (сахарный диабет взрослого типа у молодых) [291]. Экспрессия PDX-1 [149], его внутриклеточная локализация [158] и связывание с ДНК [157] реагируют на метаболизм глюкозы в β -клетке. PDX-1 регулирует вызванный глюкозой быстрый рост экспрессии гена инсулина, играет центральную роль в транскрипции инсулина, в поддержании массы β -клеток, их роста и функционирования. PDX-1 является ключевым эффектором при передаче сигнала с активированного ГПП-1р и имеет решающее значение для проявления стимулирующего влияния агонистов ГПП-1р на дифференцировку, пролиферацию, выживание и функционирование β -клеток. PDX-1 связывается с элементами A1 и A3/A4 промоторов инсулина крысы и человека через основной ДНК-связывающий домен ТАТА. Он также связывается с участком промотора гена инсулина человека GG2, более важным для активации гена инсулина человека [207].

ГПП-1 вызывает рост концентрации мРНК и белка PDX-1 в клеточных линиях инсулиномы крыс [150]. Длительное воздействие агонистов ГПП-1р приводит к росту уровня PDX-1 в эндокринной и экзокринной частях поджелудочной железы, а также к увеличению ядерной локализации PDX-1 в β -клетках [188]. Установлено, что ГПП-1-индуцированная локализация PDX-1 в ядре клетки зависит от ПК-А и ФИЗК [149, 158]. Механизм ядерной локализации PDX-1, обусловленный ГПП-1, включает также фосфорилирование фактора транскрипции Fox (forkhead box protein) подкласса O1 (FoxO1). В активном состоянии FoxO1 является цитоплазматическим. FoxO1 и PDX-1 взаимно исключают друг друга из ядра β -клетки. В клеточной линии инсулиномы ГПП-1 индуцирует фосфорилирование и исключение FoxO1 из ядра посредством трансактивации рецептора эпидермального фактора роста с помощью ФИЗК/ПК-В зависимого пути, представленного в β -клетках [51].

1.2.1.2. Регуляция количества β -клеток

Масса β -клеток регулируется балансом между их пролиферацией и гибелью. Исследования на грызунах и человеке показали, что инкретиновые гормоны играют центральную роль в функционировании и гомеостазе массы β -клеток поджелудочной железы. Длительное введение агонистов ГПП-1р здоровым животным и грызунам с диабетом может

привести к увеличению массы β -клеток из-за увеличения пролиферации β -клеток, новообразования и / или снижения их апоптоза. Кроме того, показано, что агонисты ГПП-1р, улучшая функцию β -клеток и / или снижая инсулинорезистентность, могут облегчить течение диабета у лабораторных животных [105, 270].

При введении эксендина-4 крысам с частичной панкреатэктомией выявлено митогенное влияние агонистов ГПП-1р на β -клетки. У этих животных наблюдалось улучшение толерантности к глюкозе, снижение уровня гликированного гемоглобина и большая масса β -клеток, чем у контрольных животных. Кроме того, агонисты ГПП-1р прямо или косвенно стимулировали рост и α -клеток [114]. Введение ГПП-1 крысам и эксендина-4 мышам с дефектом рецептора лептина привело к росту числа отдельно расположенных клеток, секретирующих инсулин, увеличению площади β -клеток и процессов пролиферации [318].

Белки клеточного цикла важные для постнатального роста β -клеток и поддержания их массы, циклин D1 и D2, экспрессируются в β -клетках [71]. Отсутствие циклина D2 приводит к развитию диабета у мышей, имеющих дефект синтеза этого белка. Циклины запускают цепочку процессов, приводящих к активации PDX-1, росту массы β -клеток и адекватной секреции инсулина в ответ на глюкозу. Активация ГПП-1р регулирует экспрессию циклина D в β -клетках, этот процесс зависит от ПК-А, ФИЗК и MAPK (MEK/ERK) [111, 289]. Кроме того, установлено, что экспрессия циклина D1 так же зависит от влияния эксендина-4 на сайт связывания CRE (cAMP response elements – цАМФ-чувствительный элемент) на промоторе циклина D1 [111].

В исследовании Butler и его коллег продемонстрированы доказательства новообразования β -клеток на примере биоптатов поджелудочной железы пациентов, имевших длительный стаж сахарного диабета 1 типа (СД1) [46]. Была выдвинута гипотеза, что регенерация инсулинположительных клеток из протоковых клеток при СД1 является непрерывным процессом. Однако, эти данные не являются клинически значимыми, поскольку новые β -клетки подвержены аутоиммунному разрушению [294].

В 2000 году была показана возможность культивации и размножения клеток нейроэндокринного типа из поджелудочной железы мыши, которые затем могли бы дать начало клеткам подобным островковым и способным экспрессировать инсулин и глюкагон [265]. Имплантация таких клеток в субкапсулярную область почки мышей с сахарным диабетом увеличивала их выживаемость без дотации инсулина. Существование такой клетки предшественницы подтверждено в поджелудочной железе не только у грызунов [298], но и у человека [128]. Было показано, что клетки протоков поджелудочной железы человека, имплантированные под капсулу почек мышей вместе с «бессмертными» эмбриональными клетками человека, дают начало инсулин-положительным клеткам [102].

Влияние ГПП-1р на дифференцировку β -клеток исследуется косвенным путем по оценке наличия инсулин-положительных клеток в протоковой сети и / или при сравнении роста массы β -клеток со скоростью пролиферации, чтобы увидеть, могут ли они полностью отвечать за увеличение массы. Установлено, что регенерация островков протоковой сети была основной причиной в увеличении эндокринной массы поджелудочной железы, площади β -клеток и общего PDX-1 после введения эксендина-4 крысам и мышам [114].

Оценка способности агонистов ГПП-1р стимулировать эндокринную секрецию *in vitro* проводится на линиях клеток ацинусов и протоков поджелудочной железы. При хронической активации ГПП-1р эксендином-4 или ГПП-1 в линии ацинарных клеток крыс или клеток протоков человека были выявлены инсулин-положительные клетки (20%), глюкагон-положительные клетки (50%), и клетки, синтезирующие оба гормона (20%) [109]. Наблюдаемые процессы дифференцировки обусловлены как ПК-А и MAPK зависимыми путями, так и цАМФ независимым PKC ζ зависимым путем [255]. Обнаружено, что ГПП-1р индуцированная дифференцировка ацинарных клеток включает активацию сигнального пути BMP (bone morphogenetic proteins – костный морфогенетический белок) и сигнального механизма TGF β (transforming growth factor β – трансформирующий фактор роста β) [70, 295]. Также продемонстрирована важность роста общего и ядерного PDX-1 в ГПП-1р опосредованной дифференцировке клеток протоков [109].

1.2.1.3. Потенциальные эффекты активации рецептора ГПП-1 при бариатрической хирургии

У пациентов, перенесших операцию по шунтированию желудка по Roux-en-Y, наблюдается постпрандиальная гипогликемия с повышенным уровнем инсулина. Причиной этого явления, сходного с незидиобластозом, считали большое количество трофических (гуморальных) факторов, таких как ГПП-1 [155], высвобождаемых в результате попадания пищи в нижнюю часть тонкой кишки и приводящих к увеличению размеров островков и массы β -клеток. Для решения этой проблемы ранее в некоторых случаях проводили частичную панкреатэктомию. Однако в последующем было установлено, что пациенты, перенесшие панкреатэктомию, практически не избавлялись от симптомов. Существенная потеря веса из-за операции шунтирования вызывает заметное снижение инсулинорезистентности, возникающее в условиях гипертрофии β -клеток в результате предшествующего ожирения. Требуется месяцы или годы для полного восстановления гомеостатического механизма, контролирующего секрецию инсулина (в т. ч. и ГПП-1) и чувствительность тканей к нему после потери веса [176]. Таким образом, увеличение массы β -клеток не является причиной гипогликемии, и любой тип панкреатэктомии у пациентов после бариатрических операций неприемлим.

Суммируя все вышеизложенное о влиянии инкретина на углеводный обмен, можно с уверенностью утверждать, что активация ГПП-1р оказывает много положительных эффектов на секрецию инсулина и чувствительность β -клеток к глюкозе, на процессы транскрипции, пролиферации и регенерации β -клеток. ГПП-1 увеличивает количество инсулина, секретируемого каждой β -клеткой в ответ на глюкозу, и количество реагирующих на глюкозу β -клеток. Оба эффекта являются следствием способности ГПП-1 стимулировать продукцию цАМФ, что придает специфичность и эффективность сигнальным механизмам, которые модулируют процесс секреции инсулина. Реализация некоторых эффектов ГПП-1 происходит при интеграции нескольких сигнальных путей. Таким образом, очевидно, что двумя важнейшими аспектами регуляции функции β -клеток при участии ГПП-1 являются высокая взаимозависимость множественных путей усиления функции β -клеток и пространственное и временное формирование паттерна продукции цАМФ в β -клетках.

1.2.2. Желудочно-кишечный тракт

ГПП-1 и агонисты его рецепторов угнетают секреторную и моторную функции желудочно-кишечного тракта. Введение ГПП-1 вызывает замедление опорожнения желудка и поступления питательных веществ из желудка в тонкую кишку, что приводит к снижению постпрандиального уровня глюкозы в крови и способствует нормализации гликемии у пациентов с СД1 и СД2. ГПП-1 опосредованное снижение постпрандиальных колебаний уровня глюкозы оказалось связано с уменьшением уровня инсулина после еды [227, 320]. В исследованиях на людях использование эритромицина для противодействия ГПП-1-зависимому замедлению опорожнения желудка приводит к росту постпрандиальной секреции инсулина, однако гипогликемическое действие ГПП-1 значительно снижается [103]. Таким образом, в случае постпрандиальной гипергликемии, влияние агонистов ГПП-1р на опорожнение желудка может быть более важным, чем их инкретиновый эффект.

ГПП-1 играет роль физиологического регулятора в контроле аппетита и потреблении энергии у здоровых добровольцев и пациентов с избыточным весом и СД2 [138]. Фармакологические дозы ГПП-1 замедляют опорожнение желудка дозозависимым образом и угнетают потребление пищи, ускоряя наступление чувства насыщения вплоть до транзиторной тошноты и рвоты, в том числе и при внутрижелудочковом (центральном) введении [227]. Комбинация моторного, секреторного, гипогликемического и анорексигенного эффектов ГПП-1 приводит, в том числе, к потере веса у людей.

Механизмы, с помощью которых ГПП-1 и его миметики оказывают свое влияние на моторную функцию ЖКТ, еще полностью не выяснены. Экспрессия ГПП-1р на париетальных

клетках желудка указывает на возможность агонистов ГПП-1р напрямую угнетать опорожнение желудка и секрецию соляной кислоты [135]. Ряд исследований показал участие блуждающего нерва в опосредовании эффектов ГПП-1 [314]. Так, прекращение передачи сигналов с ГПП-1р экстендином-(9-39) или при денервации афферентных волокон блуждающего нерва отменяет блокирующий эффект ГПП-1 на скорость опорожнения желудка и секреции кислоты, как при центральном, так и при периферическом введении [300]. ГПП-1 и эксендин-4 могут проникать через гематоэнцефалический барьер из периферического кровотока, в связи с чем некоторые их эффекты могут быть опосредованы центральным воздействием [127]. Подтверждением этому является факт наличия нейронов центральной нервной системы, имеющих в своем составе ГПП-1р и осуществляющие экспрессию ГПП-1, в частности, ядро солитарного тракта [99]. Нервные пути, исходящие от этих нейронов, проецируются в таламическую и гипоталамическую области головного мозга, ответственные за контроль приема пищи [127, 221]. При этом внутрибрюшинное введение высокомолекулярного альбумин связанного агониста ГПП-1р также активирует нейроны головного мозга, связанные с перистальтикой ЖКТ и замедлением опорожнения желудка. Таким образом, угнетающее действие ГПП-1 и агонистов его рецепторов на гастроинтестинальную перистальтику, секреторную активность и чувство насыщения опосредуется активацией ГПП-1р, экспрессируемых на афферентных волокнах блуждающего нерва, передающих сенсорную информацию в мозг, а также прямой активацией ГПП-1р в центральной нервной системе, что подчеркивает важность взаимодействия периферических и центральных рецепторов [73, 235].

1.2.3. Центральная нервная система

Активация ГПП-1р его агонистом эксендином-4 стимулирует пролиферацию нейронов, о чем свидетельствует рост уровня ядерной ДНК и маркеров пролиферации в первичной культуре клеток гипоталамуса [62] и увеличение количества клеток-предшественников и молодых нейронов у мышей [228]. Сигналы, поступающие от ГПП-1р, опосредуют активацию цилиарного нейротрофического фактора, стимулирующего дифференцировку развивающихся нейронов и глиальных клеток [301]. Влияние ГПП-1 и его агонистов на пролиферацию нейронов зависит от используемой модели и обусловлено уровнем экспрессии ГПП-1р в ткани. Влияя на процессы нейрогенеза, активация ГПП-1р, в том числе способствует образованию аксонов и формированию синапсов в центральной нервной системе. Обработка человеческих нейроноподобных клеток эксендином-4 увеличивает количество несущих аксоны клеток [81]. Антагонисты ГПП-1р эксендин-(9-39) и -(9-36) амиды, напротив, вызывают снижение уровня маркеров пролиферации и количества клеток-предшественников у мышей [228].

Долговременная потенцияция (ДВП) – долговременное усиление синаптической передачи между двумя нейронами в результате их синхронной активности. ДВП используется как клеточный коррелят формирования памяти и важна в связи с наличием клинических проявлений нарушения памяти при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [223]. ГПП-1 и его миметики в нормальных физиологических условиях способствуют усилению синаптической передачи [299], улучшают ассоциативное и пространственное обучение и память у грызунов дикого типа при прохождении радиального лабиринта [301]. Данный эффект был обусловлен передачей сигналов через ГПП-1 α и снижался при введении эксендина (9-39), антагониста рецепторов ГПП-1.

Благоприятное влияние ГПП-1 на структуру и функцию нервных тканей и когнитивные процессы, наблюдаемое в физиологических условиях у взрослых грызунов, может быть эффективным и при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [223]. Сохранение этих физиологических свойств при патологии, а также возможность их экстраполяции на человека может принести большую пользу при нейродегенеративных заболеваниях.

Стимуляция ГПП-1 α эксендином-4, ГПП-1 или агонистом ГПП-1 длительного действия (Val⁸-ГПП-1) изменяет продукцию и накопление и снижает нейротоксичность амилоида- β , его предшественника и производных, являющихся ключевыми факторами болезни Альцгеймера [211, 222, 230, 315]. Кроме того, выявлено снижение выраженности признаков депрессии при длительном введении эксендина-4 грызунам, вероятно, обусловленное нейрогенным механизмом [301]. Таким образом, исследование ГПП-1 и его аналогов является перспективным направлением в терапии болезни Альцгеймера и других заболеваний человека, связанных с деменцией.

Использование агониста ГПП-1 α , эксендина-4, защищает животных от токсического воздействия 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина [136] – нейротоксина, избирательно убивающего дофаминергические клетки и используемого для изучения болезни Паркинсона у людей и других млекопитающих [213]. В исследованиях на клеточных культурах также показано, что эксендин-4 повышает эндогенные уровни тирозингидроксилазы, ключевого фермента в производстве дофамина в первичных дофаминергических нейронах [136] и нейронах *area postrema* [156]. ГПП-1 и эксендин-4 защищают дофаминергические нейроны и от другого нейротоксина – 6-гидроксидофамина (6-ГДА) и от вызванного им снижения тирозингидроксилаза-положительных нейронов [136]. Описанные данные иллюстрируют преимущества стимуляции ГПП-1 α в контексте моделей болезни Паркинсона с точки зрения выживаемости и функциональности дофаминовых клеток и устранения аномального поведения в случае болезни Паркинсона у человека.

ГПП-1 и эксендин-4 улучшили структурное и функциональное состояние нейронов и

поведенческие реакции животных после длительного воздействия высоких доз пиридоксина, приводящих к развитию тяжелой сенсорной невропатии, сходной с диабетической невропатией [104]. Эксендин-4 ослаблял вызванное стрептозотоцином снижение скорости проведения нервных импульсов в двигательных нервах и уменьшение плотности нервных волокон, наблюдающиеся у мышей с диабетом [324].

У животных с болезнью Хантингтона, получавших эксендин-4, наблюдалось снижение дефицита двигательной функции, нормализация уровня гликемии, уменьшение накоплений мутантного белка хантингина в поджелудочной железе и головном мозге и, как следствие, увеличение продолжительности жизни [110].

ГПП-1 и эксендин-4 обладают нейротрофическими свойствами, повышают холинергические маркеры и обладают нейропротективным действием в условиях оксидантного стресса и апоптоза. Эксендин-4 демонстрирует эффекты нейропротекции на уровне спинного мозга, сохраняет его структуру и плотность нейронов, смягчает последствия апоптоза и потерю холинергических маркеров [108]. Эта способность инкретинов может быть использована для терапии болезни Лу Герига, обусловленной мутациями в гене, кодирующем белок супероксиддисмутазу-1, участвующий в улавливании и детоксикации кислородных радикалов [239].

Выявлено повышение экспрессии ГПП-1 ρ в тканях, окружающих очаг инсульта, и его связь с клетками глии [197]. Предварительное и последующее влияние агониста ГПП-1 ρ эксендина-4 значительно уменьшало размер инфаркта в модели инсульта с преходящей окклюзией средней мозговой артерии у мышей. У грызунов наблюдалось расширение двигательной активности и уменьшение неврологического дефицита [115]. Активация ГПП-1 ρ при действии ГПП-1 и эксендина-4 уменьшали влияние гипоксии на нейроны коры головного мозга при инсульте. Ретроспективное исследование эффектов эксендина-4 при сердечно-сосудистых заболеваниях и инсульте у пациентов с СД2 типа выявило снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний у этих пациентов [116].

Кроме того ГПП-1 и агонисты его рецепторов уменьшают воздействие на нервные клетки окислительного стресса, являющегося общей чертой нескольких нейродегенеративных состояний и играющего ключевую роль в прогрессирующем характере таких заболеваний как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и болезнь Лу Герига, а также в таких острых расстройствах, как инсульт и черепно-мозговая травма. [100, 115].

Таким образом, активация инкретинового пути, управляемого ГПП-1 ρ , оказывает нейротрофическое и нейропротективное влияние, а также является функционально и поведенчески полезной в различных физиологических и патофизиологических состояниях.

1.2.4. Сердечно-сосудистая система

ГПП-1 обладает гемодинамическими и кардиопротективными свойствами: он улучшает работу сердечной мышцы, регулирует частоту сердечных сокращений, артериальное давление и тонус сосудов. ГПП-1_r обнаружен в сердце человека и грызунов, однако конкретный тип клеток, которые экспрессируют рецептор не определен. Кроме того, ГПП-1_r выявлен в областях центральной нервной системы, которые регулируют функцию сердечно-сосудистой системы.

ГПП-1 и его миметики обладают прессорным эффектом и вызывают рост артериального давления у грызунов, что обусловлено активацией его рецептора [151, 247]. Продолжительность и сила эффекта зависит от пути введения ГПП-1 и агонистов его рецепторов, а инъекция антагониста ГПП-1_r устраняет описанные эффекты. Введение β-адреноблокатора пропранолола усиливает, а α-адреноблокатора фентоламина уменьшает прессорные реакции на системно вводимый эксендин-4 [39]. Удаление мозгового вещества надпочечников препятствует развитию прессорного эффекта ГПП-1. Несмотря на многократно наблюдаемый гипертензивный эффект ГПП-1 у грызунов, у высших млекопитающих он описан не был [192]. В клинических исследованиях с участием человека не выявлено повышения системного артериального давления, а введение миметиков ГПП-1, эксенатида и лираглутида, вызывало его умеренное снижение [95]. Гипотензивный эффект ГПП-1, возможно, связан с активацией его рецептора локализованного в предсердии и последующей секрецией предсердного натрийуретического пептида [133]. Похожее влияние инкретины оказывают на частоту сердечных сокращений. ГПП-1 вызывает дозозависимую тахикардию у грызунов [151, 247]. Данный эффект отсутствует у высших млекопитающих [192] и практически не выражен у человека [95].

У мышей, лишенных ГПП-1_r наблюдается функциональный дефицит сократимости сердца, что приводит к формированию компенсаторной гипертрофии левого желудочка [54]. Введение ГПП-1 после ишемии, вызванной снижением перфузии миокарда, улучшает конечное диастолическое давление и фракцию выброса левого желудочка, т.е. влияет на сократимость сердечной мышцы. Эти данные позволяют предположить, что ГПП-1 может быть использован в терапии инфаркта миокарда для ограничения его площади после реперфузии [297]. У страдающих ожирением крыс линии Цукер (Zucker) ГПП-1 улучшал диастолическую функцию левого желудочка и увеличивал сердечный выброс, не влияя на сократимость сердечной мышцы. Влияние ГПП-1 на сократимость сердца было описано и для высших млекопитающих. ГПП-1 вызывал рост dp/dt левого желудочка (скорость увеличения внутрижелудочкового давления в фазе изометрического сокращения), ударного объема и сердечного выброса с

одновременным снижением конечного диастолического давления в левом желудочке у собак. Системное введение ГПП-1 (7-36) амида и его метаболита, ГПП-1 (9-36) амида, защищало миокард от повреждения, вызванного окклюзией коронарной артерии и последующей реперфузией. Предполагается, что сердечные эффекты ГПП-1 опосредованы центрально и не зависят от активации его периферических рецепторов в миокарде [192]. В качестве дополнения к основной терапии ГПП-1 способствовал улучшению фракции выброса и сократимости стенок камер сердца у пациентов с инфарктом миокарда и снижением фракции выброса менее 40%, в том числе и в периоде реперфузии [24]. Физиологические и молекулярные механизмы, лежащие в основе кардиопротективных эффектов ГПП-1 при ишемии и сердечной недостаточности не ясны.

ГПП-1_r экспрессируется в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов [113, 192]. В исследовании на аорте, легочных артериях и сердце грызунов показано, что ГПП-1 вызывает расширение сосудов эндотелиально зависимым механизмом [132, 316]. Реализация эндотелиальных эффектов ГПП-1 осуществляется с вовлечением АМФ-активируемой протеинкиназы [28], цАМФ/ПК-А и ФИЗК/ПК-Ва [132, 253]. В изолированных бедренных артериях крыс ГПП-1 вызывал эндотелий-независимую вазодилатацию [152], а его эффект на изолированные коронарные артерии был незначительным или отсутствовал [192]. Данных, подтверждающих сосудорасширяющее действие ГПП-1 и его аналогов *in vivo* у высших млекопитающих (собака, свинья), немного [192]. Исследований, непосредственно оценивающих сосудорасширяющую функцию ГПП-1 в крупных сосудах у человека, не найдено. Показано, что ГПП-1 увеличивает капиллярный кровоток в скелетных мышцах у крыс [253] и коронарный кровоток у собак и людей [106]. Сообщается об отсутствии или незначительном влиянии ГПП-1 на кровоток в скелетных мышцах у человека [27] и на коронарный кровоток у крупных животных и человека [145]. Таким образом, активация ГПП-1_r может быть использована для предотвращения эндотелиальной дисфункции при сосудистых заболеваниях.

1.2.5. Влияние ГПП-1 на механизмы мочеобразования

К концу 20-го века, было показано, что введение глюкагона экспериментальным животным вызывало изменение клубочковой фильтрации, диуреза, экскреции электролитов и мочевины [187]. Одним из экстрапанкреатических свойств ГПП-1 является его влияние на деятельность почек. Лучше всего изучены натрийуретическое и диуретическое действие ГПП-1 [57, 67, 146, 162, 203], его миметика эксенатида [67, 203, 204, 307], агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида [133], а также ингибиторов ДПП-4 – фермента, инактивирующего ГПП-1 [67], у животных и человека. Некоторые авторы предполагают участие ГПП-1 в регуляции (снижении)

потребления воды и соли у крыс [57], здоровых людей, пациентов с СД2 и ожирением [162, 295]. Указанные эффекты являются дозозависимыми и максимально проявляются при использовании агонистов рецепторов ГПП-1.

Рецепторы ГПП-1 в почке в виде белковой молекулы и мРНК выявлены у грызунов [55, 67], крупного рогатого скота [242], свиней и человека [139]. Установлена локализация рецептора в сосудах почек. Однако нет согласия по поводу его локализации в нефроне: есть свидетельства о его расположении в проксимальном канальце и клубочке нефрона, но нет данных о его наличии в дистальном канальце [55, 67, 139, 242]. У человека ГПП-1p обнаружен в почечных артериях крупного и среднего калибра [134].

Активация ГПП-1p снижает проксимальную реабсорбцию натрия, опосредованную через Na^+/H^+ -обменник 3 типа и натрий - глюкозный ко-транспортёр [67, 130, 220]. ГПП-1p взаимодействует с Na^+/H^+ -обменником на апикальной мембране, снижая его активность через протеинкиназа А (ПКА) зависимый механизм [55, 67, 307], увеличивая тем самым приток жидкости к дистальным отделам нефрона. Это совпадает с данными о щелочной реакции мочи у крыс [67] и человека [162] и с увеличением уровня внутрпочечного образования цАМФ [67]. Меньшая величина натрийуреза и диуреза в денервированной почке [220] свидетельствует об участии нервной системы в регуляции этих процессов. Антагонист рецепторов ГПП-1, эксендин-9, напротив, уменьшает экскрецию цАМФ с мочой и активность ПКА в кортикальном слое почек, демонстрируя блокаду передачи сигналов с рецептора ГПП-1 в почках. Крысы, которым вводили эксендин-9, демонстрировали пониженную СКФ, клиренс лития, объемный поток мочи и экскрецию натрия [303].

Натрийурез наблюдается не только у животных и здоровых людей, но и, в меньшей степени у пациентов, страдающих ожирением и инсулинорезистентностью [146, 162]. Миметик ГПП-1 эксенатид кроме стимуляции выведения ионов натрия с мочой увеличивает клиренс осмотически свободной воды (ОСВ) у крыс [212] и у здорового человека [107] в состоянии гипергидратации. Агонисты рецепторов ГПП-1 могут снижать сопротивление прегломерулярных сосудов [29, 307], усиливать клубочковый кровоток и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) у грызунов [29, 67, 220, 307]. Эти эффекты в сочетании с увеличением экскреции натрия и воды могут объяснить падение артериального давления, наблюдающееся после введения ГПП-1 крысам с гипертонией [220], а также аналогов ГПП-1 здоровым людям [146, 162]. Другая картина наблюдается у полных людей и пациентов, страдающих инсулинорезистентностью и СД2. Предполагается, что уменьшение образования ГПП-1 в этих группах приводит к увеличению проксимальной реабсорбции натрия и, как следствие, к увеличению объема жидкости и развитию гипертонии [33]. При введении фармакологической дозы ГПП-1 этим пациентам отмечается снижение обычно повышенной СКФ. Этот эффект

может быть связан с клубочково-канальцевой обратной связью, которая проявляется улучшением экскреции натрия при введении ГПП-1 [162].

Увеличение экскреции электролитов является вторичным по отношению к снижению канальцевой проксимальной реабсорбции. Увеличение натрийуреза сопровождается увеличением экскреции ионов кальция, фосфата и хлоридов как у здоровых грызунов, так и у животных с моделью СД. В исследованиях с участием здоровых людей и пациентов с ожирением также показано увеличение экскреции ионов кальция и хлоридов на фоне введения гипертонического солевого раствора совместно с ГПП-1. Хлорид после натрия наиболее преобладающий ион в фильтрате и его проксимальная реабсорбция связана с пассивным транспортом ионов натрия. Большая часть фильтруемого кальция реабсорбируется в проксимальном канальце и медуллярной части петли Генле. Этот транспорт также пассивный и следует за реабсорбцией ионов натрия, хлорида и воды. Уменьшение проксимальной реабсорбции ионов натрия приводит к уменьшению реабсорбции ионов хлора и как следствие ионов кальция [162].

Экскреция ионов калия умеренно увеличивается при инъекции эксенатида крысам [204] или вовсе не меняется на фоне введения ГПП-1 здоровым людям и пациентам с ожирением [162, 187]. Выведение ионов калия в основном определяется его экскрецией в просвет канальца под воздействием альдостерона, уровень которого не меняется при инфузии ГПП-1 [162].

Таким образом, многочисленные исследования демонстрируют, что фармакологические дозы ГПП-1 и агонистов его рецепторов вызывают диурез и натрийурез. ГПП-1 является физиологически значимым натрийуретическим фактором, который способствует поддержанию баланса натрия, частично за счет модуляции активности Na^+/H^+ -обменника 3 типа в проксимальном канальце нефрона. Физиологическая роль эндогенного ГПП-1 в регуляции основной функции почек остается открытым вопросом.

1.3. Особенности секреции ГПП-1 у детей

1.3.1. Секреция ГПП-1 у новорожденных детей

Имеется небольшое количество работ, посвященных изучению секреции и функции ГПП-1 у детей. Основное внимание в литературе уделяется новорожденным детям. Известно, что, как базальный, так и постпрандиальный уровни пептида у них значительно выше, чем у старших детей и взрослых [98, 123]. Установлено, что у недоношенных новорожденных базальный уровень общего ГПП-1 в течение первой недели жизни в 4 раза выше, чем у взрослых [98]. Базальный уровень амидированных форм ГПП-1 у недоношенных детей в 2 раза,

а у доношенных – в 10 раз выше, чем у старших детей и взрослых [98, 123]. Методом обратнo-фазовой хроматографии установлено, что основными амидированными формами являются ГПП-1 (7-36) и ГПП-1 (9-36) амид [98]. Уровень ГПП-1 при рождении у недоношенных детей находится в обратной зависимости от срока гестации, достигает пика к 3-4 неделе постнатального развития и остается высоким до 10-недельного возраста ребенка [161]. Пища стимулирует секрецию ГПП-1 у новорожденных сильнее, чем у взрослых [98, 183, 308], вызывая значительный прирост ГПП-1 амидов в крови через час после приема пищи [123]. Уровень общего ГПП-1 после еды также превосходит таковой у взрослых – 156.6 ± 70.9 пМ на 20 минуте и 121.5 ± 59.2 пМ на 60 минуте. Кормление недоношенных детей вызывает более высокое увеличение ГПП-1, чем у доношенных, что объясняется разницей в калорийности энтерального питания, ее объеме [123, 161] и частоте кормлений [98]. Частое кормление и постоянное нахождение пищи в кишечнике могут непрерывно стимулировать секрецию ГПП-1 у новорожденных, в то время как у взрослых уровень ГПП-1 измеряют после более чем 8 часов голодания [226, 307].

Фармакокинетика ГПП-1 у новорожденных не изучена [98]. Высокая концентрация пептида в крови, независящая от его быстрой деградации и метаболизма, объясняется высоким уровнем продукции эндогенного пептида в поджелудочной железе новорожденных, а также увеличением массы β -клеток и повышенной чувствительностью к стимуляции синтеза и секреции ГПП-1 [123]. Обнаружено значительное количество ГПП-1 в поджелудочной железе плодов крыс на поздних сроках беременности. Фракция ГПП-1, секретлируемая клетками поджелудочной железы, составляла 40% от его общего количества, в то время как у взрослых животных лишь 1%. Фетальный кишечный ГПП-1 у плодов и новорожденных крысят был очень низким и заметно увеличивался лишь после прекращения кормления грудным молоком [78].

Альтернативным объяснением высокого уровня ГПП-1 в крови новорожденных является его низкая деградация после секреции в кровь вследствие незрелости ферментативной системы ДПП-4 [98, 123]. Начальный этап расщепления ГПП-1 включает в себя разъединение последовательности Гис-Ала на N-конце пептида ферментом ДПП-4 [217]. Известно, что у взрослых активность этого фермента в кишечнике и почках высока [83], однако данных о состоянии этой системы в организме младенца мало. Можно предположить, что незрелость ферментного комплекса ДПП-4 потенциально может увеличить концентрацию в сыворотке крови интактного ГПП-1 и биологически неактивного метаболита ГПП-1 (9-36) амида. Однако концентрация не только ГПП-1 (9-36) амида, но и ГПП-1 (7-36) амида высока, что позволяет предполагать, что фермент ДПП-4 является зрелым у новорожденных [98]. Уровень активной формы ГПП-1 после рождения был выше, чем у взрослых после использования ингибитора

ДПП-4 [161]. Активность ДПП-4 у мышей в возрасте двух недель после рождения была очень низкой и увеличивалась к 2-3 месяцам [76]. Исследования показали, что ингибитор ДПП-4 приводит к нелинейному увеличению ДПП-4 и ГПП-1, это, вероятно, связано со снижением секреции ГПП-1 по механизму отрицательной обратной связи, или с неизвестными альтернативными путями метаболизма [76, 274].

ГПП-1 удаляется из периферической циркуляции после клубочковой фильтрации и катаболизма в канальцах [264], поэтому его высокая концентрация в крови новорожденных может быть связана со снижением его выведения почками [98]. Скорость клубочковой фильтрации у доношенных новорожденных детей низкая и составляет по разным данным от 10 до 30 мл/мин на m^2 и удваивается к концу первой недели жизни [16, 17]. У пациентов с хронической почечной недостаточностью и сниженной скоростью клубочковой фильтрации концентрация интактного ГПП-1 незначительно выше, чем у взрослых здоровых людей. Это связано с тем, что почка играет важную роль в удалении метаболитов пептида. Высокие уровни метаболита ГПП-1 (9-36) амида при хронической почечной недостаточности позволяют предположить, что выведение почкой является основным путем для его метаболизма в организме [274]. В исследовании Падидела и соавторов в 2009 году не было найдено отличий между уровнем интактного ГПП-1 и метаболитом ГПП-1 (9-36) амидом у новорожденных. Возможно, что ГПП-1 (9-36) амид присутствует в высоких концентрациях из-за меньшей скорости клубочковой фильтрации у новорожденных [98].

Некоторые анатомические особенности желудочно-кишечного тракта новорожденных могли влиять на метаболизм ГПП-1. Так, у взрослых пациентов, перенесших операцию шунтирования желудка и, как следствие, имеющих укороченную длину кишечника и ускоренное поступление пищи в его дистальные отделы (демпинг-синдром), описано повышение базального и постпрандиального уровней ГПП-1 в плазме [155]. Заметное повышение постпрандиального уровня ГПП-1 приводит к синдрому постпрандиальной гиперинсулинемической гипогликемии, состоянию, подобное которому наблюдается также при панкреатическом незидиобластозе. Это заболевание, сопровождается ускорением или усилением образования островков Лангерганса из эпителия панкреатических протоков, гипертрофией островков и пролиферацией островковых клеток. Незидиобластоз вызывает гиперсекрецию инсулина поджелудочной железой [82]. Укороченная длина кишки у новорожденных и более быстрое время прохождения пищи по кишечнику могли бы имитировать демпинг-синдром, однако, несмотря на значительное увеличение концентрации ГПП-1 и повышение концентрации инсулина в сыворотке крови в исследуемой популяции, не наблюдалось постпрандиальной гиперинсулинемической гипогликемии на 20 и 60 минутах после кормления новорожденных [98].

Неонатальный период характеризуется выраженными изменениями пролиферации, неогенеза и апоптоза панкреатических β -клеток. Эти данные свидетельствуют о том, что помимо глюкозозависимой стимуляции панкреатических β -клеток к секреции инсулина, ГПП-1 играет дополнительную роль в созревании энтероэндокринной системы и пролиферации β -клеток [47,98]. Кроме того, он стимулирует неогенез β -клеток, увеличивает их массу, снижает апоптоз и увеличивает дифференцировку экзокринно подобных клеток в сторону более зрелого β -клеточного фенотипа [47, 292]. Это подтверждает мнение Стофферса и соавторов в 2004 году о том, что высокий уровень ГПП-1 способствует созреванию β -клеток поджелудочной железы в неонатальном периоде [292].

Значительное увеличение объема потребляемой пищи к массе тела и частые кормления у новорожденных по сравнению со взрослыми способствует поддержанию уровня гликемии в нормальном диапазоне, обеспечивает дополнительные калории для роста организма и стимулирует созревание кишечника. В тоже время такая схема питания приводит к более высокому уровню секреции ГПП-1, избыток которого помогает развитию и созреванию энтероэндокринной системы [98, 161].

ГПП-1 играет важную роль в снижении перистальтики кишечника при потреблении пищи и регулирует липидный обмен, воздействуя на секрецию инсулина [281]. Более высокие уровни ГПП-1 у новорожденного предпочтительны для сохранения энергии и защиты целостности созревающего кишечника от перегрузки пищей. Это осуществляется за счет замедления опорожнения желудка и его функционирования подобно илеоцекальному клапану (или Баугиниевой заслонке) и увеличения превращения глюкозы в липиды [161].

Кроме секреции энтероэндокринными клетками в кровь ГПП-1 поступает в организм ребенка и с грудным молоком. Впервые выявляемые концентрации ГПП-1 были обнаружены Шуэлер и соавторами в 2013 году в пробах грудного молока. Средняя концентрация ГПП-1 в молоке составляла 14.1 ± 3.3 пМ, при этом в постмолоке содержалось на 30.6% больше ГПП-1, чем в предмолоке – 15.4 ± 3.1 пМ и 12.7 ± 3.1 пМ, соответственно. Изменение в секреции ГПП-1 от предмолока к постмолоку в течение короткого промежутка времени может свидетельствовать о происхождении ГПП-1 из ткани молочной железы [251]. Концентрация ГПП-1, молочного жира и лептина в предмолоке коррелировала с весом тела матери. Это может быть объяснено тем, что лептин увеличивает секрецию ГПП-1 [69]. Отсутствие корреляции между весом матери и концентрацией ГПП-1 в постмолоке может быть обусловлено неизвестными факторами, включая высвобождение готового пула гормона из ткани молочной железы. Для того чтобы ГПП-1 имел физиологическое действие в организме ребенка, он должен быть способен преодолеть слизистую желудочно-кишечного тракта и связаться с рецептором. Не выявлено связи между концентрацией ГПП-1 в грудном молоке и

антропометрическими показателями детей на 1 месяце жизни. Однако выявлена обратная связь между концентрацией ГПП-1 в постмолоке и младенческим весоростовым соотношением до 6 месяцев, что свидетельствует о влиянии гормонов, подавляющих аппетит, на регуляцию роста ребенка. Данная тенденция сохранялась и через 12 месяцев после рождения [251].

Известно, что ГПП-1 является быстрым гормоном аппетита, так как его концентрация у людей увеличивается в течение 10-30 минут после еды [49], и одним из анорексигенных гормонов, при внутривенном введении он снижает расход энергии при последующем приеме пищи [138]. Он также связывается с рецептором в дугообразном ядре гипоталамуса и угнетает нейроны экспрессирующие Y-нейропептид [141] и может выступать в роли нейромодулятора, способствуя чувству насыщения в стволе мозга через афферентные волокна блуждающего нерва [170, 194]. Низкая концентрация ГПП-1 в предмолоке в начале кормления способствует относительно неограниченному потреблению молока, а последующее увеличение его содержания в постмолоке сигнализирует о насыщении и прекращении кормления [138, 272].

Данные о влиянии способа вскармливания грудным молоком на аппетит ребенка в старшем возрасте противоречивы. В исследовании, проведенном Ди Сантисом и соавторами в 2011 году, дети, получавшие смешанное грудное молоко из бутылки, имели более низкую реакцию насыщения к 3-6 годам по сравнению с детьми, получавшими молоко непосредственно из груди. На основании этих данных автор утверждает, что динамика поступления грудного молока является одним из факторов, влияющих на регуляцию аппетита [86]. В то же время Барток и соавторы не выявили каких-либо значимых клинических отличий между этими двумя группами [43].

1.3.2. Секреция ГПП-1 у детей при различных заболеваниях

Важным аспектом секреции ГПП-1 является ее изменение в условиях патологии желудочно-кишечного тракта. Известно, что уровень ГПП-1 повышен у младенцев и детей с явлениями мальнутриции и снижается после проведения лечебных мероприятий [276]. Также, по неуточненным причинам, он повышен у больных в критическом (тяжелом) состоянии [45]. Данные об уровне ГПП-1 у детей с целиакией противоречивы. Так Кэдди и соавторы в 2006 году не выявили отличий в уровне ГПП-1 между пациентами с нелеченной целиакией и здоровыми людьми [245]. Напротив, в работе Папастаматаки и соавторов в 2013 году отмечено снижение базальной концентрации ГПП-1 в сыворотке крови у детей с целиакией, а также с СД1, по сравнению со здоровыми детьми [186].

Отмечается нарушение секреции ГПП-1 у девочек-подростков с расстройствами пищевого поведения. Базальный уровень ГПП-1 у девочек с алиментарным ожирением и

нервной анорексией ниже, чем у их здоровых сверстниц, так же, как и уровень ГПП-1 после проведения теста на толерантность к глюкозе [310]. У людей среднего возраста с алиментарным ожирением наблюдается такая же тенденция после данного теста [188]. Снижение секреции ГПП-1 при алиментарном ожирении может быть одной из причин данного заболевания и негативно влиять на его течение [310]. Снижение секреции ГПП-1 у девочек с нервной анорексией не подтверждает мнение, сформированное на основе экспериментов на крысах, о том, что ГПП-1 может быть вовлечен в патогенез анорексии [266]. В противоположность алиментарному ожирению при нервной анорексии низкий уровень ГПП-1 является благотворным и способствует аппетиту. На роль ГПП-1 в патогенезе простого ожирения указывает его сниженная секреция у тучных девочек [310]. Это может быть результатом снижения чувствительности L-клеток кишечника к пищевым стимулам, как у пациентов с СД2 или из-за высокого уровня пептидов, угнетающих секрецию ГПП-1 [93]. Зависимость между уровнями ГПП-1, глюкозы и инсулина, наблюдающаяся при пищевых расстройствах после теста на толерантность к глюкозе, предполагает, что данный гормон является инсулинотропным фактором не только у здоровых людей [190], но и у девочек с алиментарным ожирением и нервной анорексией [101].

Таким образом, ГПП-1 является уникальным биологически активным веществом, косвенно или напрямую регулирующим множество физиологических процессов в организме млекопитающих и человека. Его синтетические аналоги и связанные с ним патогенетически вещества широко применяют в терапии СД2 и контроле веса. Многочисленные научные изыскания говорят о возможности использования ГПП-1 и его миметиков для терапии заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем. Наибольший интерес для нашей работы представляют данные о возможной роли ГПП-1 в регуляции потребления воды и солей и его влиянии на работу почек. Влияние ГПП-1 на выведение натрия почкой и усиление образования осмотически свободной воды может иметь клиническое значение для коррекции ряда водно-электролитных расстройств. Связь локуса секреции ГПП-1 с локализацией некоторых форм патологии у детей, в частности с целиакией и гастродуоденитом, привела к мысли изучить особенности его секреции у детей при патологии желудочно-кишечного тракта. В связи с этим, одна из задач настоящей работы заключалась в том, чтобы выявить физиологические условия, при которых реализуется действие инкретина в регуляции водно-солевого баланса у детей, а также выяснить особенности его эффекта у них при патологии желудочно-кишечного тракта. Особенный интерес могли представлять результаты такого исследования для практики педиатра.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика лабораторных животных

Эксперименты проведены на самках крыс Вистар (*Rattus norvegicus* var. albino) в возрасте 3 – 5 месяцев массой тела 203 [189; 220] г общим числом 600 особей из вивария ИЭФБ РАН. Количество животных, использованных в эксперименте, указано в таблицах и подписях к рисункам. Обращение с животными, их содержание и проведение опытов соответствовало российским и международным правилам работы с лабораторными животными, протоколы исследования одобрены этическим комитетом ИЭФБ РАН. Крыс содержали в пластиковых клетках с древесно-стружечным наполнителем (5 крыс в клетке) в комнате вивария с контролируемой температурой. Животные получали стандартный гранулированный корм для грызунов, рецепт ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду *ad libitum*.

2.2. Формы физиологического эксперимента

Эксперименты на крысах проводили как при стандартном водно-солевом режиме, так и в состоянии измененного водно-солевого баланса. Накануне опыта в 17:00 у крыс забирали корм, но сохраняли свободный доступ к воде. На следующий день утром для оценки функции почек экспериментальное воздействие осуществляли на ненаркотизированных животных, после чего их помещали в индивидуальные клетки-пеналы с проволочным дном, через отверстия которого моча стекала по воронке в мерную пробирку. Сбор проб мочи осуществлялся при спонтанных мочеиспусканиях в течение 4 ч. Каждую пробу забирали отдельно, регистрировали время ее образования, измеряли объем и использовали для дальнейшего анализа.

Проведено 4 группы экспериментов.

I группа опытов проведена для подтверждения вовлечения рецептора ГПП-1 в нормализацию водно-солевого баланса. Функции почек крыс исследовали на фоне 2% водной нагрузки. Животным через гибкий резиновый зонд в желудок вводили дистиллированную воду в объеме 2.0 мл на 100 г массы тела одновременно с инъекцией:

- миметика ГПП-1, эксенатида, в дозе 0.015 нмоль на 100 г массы тела внутримышечно;
- антагониста рецепторов ГПП-1, экзендина-(9-39), в дозе 1.5 и 5.0 нмоль на 100 г массы тела внутрибрюшинно.

Препараты растворяли в 0.9% растворе хлорида натрия до необходимой концентрации и вводили в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела. Группу контроля составили животные,

получившие воду в объеме 2.0 мл на 100 г массы тела перорально, которым вместо препарата инъецировали физиологический раствор в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела внутримышечно или внутрибрюшинно.

II группа опытов была направлена на выявление стимула для секреции ГПП-1. Были проведены две серии опытов для оценки функции почек.

В 1 серии внутрибрюшинно вводили:

- 0.9% раствор NaCl в объеме 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 2.5% раствор NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;
- 6.7% раствор Trizma.HCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела.

Во 2 серии перорально вводили:

- воду в объеме 2.0 и 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 0.9% раствор NaCl в объеме 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 2.5% раствор NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;
- 6.7% раствор Trizma.HCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;

Контролем служили интактные крысы из вивария.

Для определения параметров сыворотки крови и концентрации ГПП-1 проведены три серии опытов.

В 1 серии внутрибрюшинно вводили:

- 50% раствор глюкозы в объеме 0.3 мл на 100 г массы тела;
- 0.9% раствор NaCl в объеме 2.0 или 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 2.5% раствор NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;
- 6.7% раствор Trizma.HCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела.

Во 2 серии перорально вводили:

- 50% раствор глюкозы в объеме 0.3 мл на 100 г массы тела;
- воду в объеме 2.0 и 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 0.9% раствор NaCl в объеме 2.0 или 5.0 мл на 100 г массы тела;
- 2.5% раствор NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;
- 6.7% раствор Trizma.HCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела;

В 3 серии крысам проводили кратковременное увеличение объема желудка с помощью баллона, раздувающегося до 3-5 мл. С этой целью использовали двухходовый катетер Фолея СН 8 из натурального латекса с силиконовым покрытием («Helm Medical», Германия), имеющий на конце трубки баллон в спавшемся состоянии. Крысам через рот вводили катетер Фолея на глубину 12-15 см так, чтобы баллон располагался в области желудка. Затем баллон раздували воздухом с помощью шприца до объема 2.0 мл на 100 г массы тела на 10 секунд. После этого из

баллона выпускали воздух и извлекали катетер. Контролем служили интактные крысы из вивария.

Для определения концентрации ГПП-1 в 1 и 2 сериях кровь забирали у наркотизированных животных из сосудов хвоста непосредственно перед введением растворов и через 5 минут после нагрузки. Аналогичным образом получали кровь у интактных контрольных животных и у крыс в 3 серии через 5 минут после использования катетера Фолея.

После нагрузочных проб с введением глюкозы определяли ее концентрацию в капиллярной крови из сосудов хвоста на 0, 5, 10, 15 и 30 мин. Для определения осмоляльности, концентрации ионов, креатинина и других биохимических показателей забирали кровь из общей сонной артерии под золетилевым наркозом (50% раствор золетила, «Virbac», 5 мг на 100 г массы тела внутримышечно) у контрольных животных – на 0 и 30 мин и у крыс, получивших нагрузочные пробы растворами солей и водой, – на 5, 15 и 30 мин. После этого животных декапитировали.

III группа опытов проведена с оценкой проксимальной реабсорбции по клиренсу лития [202]. Все эксперименты проводили после достижения стабильной концентрации лития в крови путем введения его солей. Крысы получали раствор хлорида лития перорально из поилок вивария в течение 72 часов, а затем внутримышечно один раз в день в последующие 4 дня до проведения эксперимента [7].

Для приготовления перорального раствора хлорид лития разводили в водопроводной воде до достижения им концентрации 16.8 мг на 100 г воды. Для приготовления раствора для внутримышечного введения 10 крысам навеску хлорида лития («НеваРеактив», Россия) 20 мг взвешивали на лабораторных электронных весах AJ 100L («Mettler», Швейцария) и растворяли в дистиллированной воде до достижения раствором общего объема 3.0 мл. Раствор хлорида лития 6.67 мг/мл вводили внутримышечно ежедневно в объеме 0.075 мл на 100 г массы тела животного.

На фоне хронического введения лития оценивали параметры функции почек в условиях перорального введения воды в объеме 2.0 мл на 100 г массы тела. Проведены следующие серии экспериментов:

- внутримышечное введение миметика ГПП-1, эксенатида, в дозе 0.015 нмоль на 100 г массы тела;
- внутримышечное введение 0.9% раствора хлорида натрия в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела.

Контролем служили животные, находившиеся в стандартных условиях водного баланса и получившие инъекцию физиологического раствора в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела внутримышечно.

Сбор проб мочи завершался острым экспериментом. Осуществляли забор крови для оценки осмоляльности, концентрации ионов, креатинина и других биохимических показателей в пробах сыворотки. Кровь забирали из общей сонной артерии под золетилловым наркозом на 125 минуте эксперимента (50% раствор золетила, «Virbac», 5 мг на 100 г массы тела внутримышечно), после чего животных декапитировали.

IV группа экспериментов проведена для оценки и сопоставления влияния на осморегулирующую и ионорегулирующую функции почек нативного гормона ГПП-1 и агониста его рецепторов, эксенатида. ГПП-1 инъецировали как в условиях циркуляции активного фермента ДПП-4, так и при ее блокаде ингибитором, вилдаглиптином. Проведено четыре серии экспериментов.

В 1 серии осуществляли внутримышечное введение миметика ГПП-1, эксенатида:

- в дозе 0.015, 0.05, 0.15, 0.5 и 1.0 нмоль на 100 г массы тела в неизменных условиях водно-солевого баланса;
- в дозе 0.015 нмоль на 100 г массы тела на фоне 2% пероральной водной нагрузки;
- в дозе 0.15 нмоль на 100 г массы тела на фоне перорального 0.9% раствора NaCl в объеме 5.0 мл на 100 г массы тела.

Во 2 серии ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль на 100 г массы тела вводили внутримышечно:

- в неизменных условиях водно-солевого баланса;
- на фоне 2% пероральной водной нагрузки;
- на фоне перорального 0.9% раствора NaCl в объеме 5.0 мл на 100 г массы тела.

В 3 серии инъецировали ингибитор ДПП-4, вилдаглиптин, в дозе 0.1 мг на 100 г массы тела внутрибрюшинно:

- в неизменных условиях водно-солевого баланса;
- на фоне 2% пероральной водной нагрузки;
- на фоне перорального 0.9% раствора NaCl в объеме 5.0 мл и 2.5% раствора NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела.

Препараты растворяли в 0.9% растворе хлорида натрия до необходимой концентрации и вводили в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела. Группу контроля для 1, 2 и 3 серий экспериментов составили животные, которым вместо препарата инъецировали физиологический раствор в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела внутримышечно или внутрибрюшинно.

В 4 серии вилдаглиптин, в дозе 0.1 мг на 100 г массы тела вводили внутрибрюшинно за 30 мин до ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль на 100 г массы тела внутримышечно:

- в неизменных условиях водно-солевого баланса;
- на фоне 2% пероральной водной нагрузки;
- на фоне перорального 2.5% раствора NaCl в объеме 1.8 мл на 100 г массы тела.

Группу контроля составили животные, которым вместо ГПП-1 инъецировали физиологический раствор в объеме 0.1 мл на 100 г массы тела внутримышечно.

2.3. Характеристика обследованных

2.3.1. Дети

Обследовано 56 детей, в том числе 16 пациентов с целиакией (12 мальчиков, 4 девочки), 19 пациентов с хроническим гастродуоденитом (5 мальчиков, 14 девочек). Обследование было проведено на базе педиатрических отделений ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета» МЗ РФ. Лечение пациентов в период обследования включало только симптоматическую и диетотерапию. Критерии включения: возраст от 10 до 18 лет, наличие подтвержденного диагноза целиакия и хронический гастродуоденит, подписанное родителями детей информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета» МЗ РФ (протокол исследования № 3/6 от 05 марта 2014 г.). Критерии исключения: болезнь Крона, язвенно-некротический колит, аллергическая энтеропатия, СД 1 или СД2, наличие лихорадки.

Контрольная группа включала 21 здорового ребенка (9 мальчиков, 12 девочек), являвшихся учащимися малого медицинского факультета ГНОУ СПбГДТЮ ЭБЦ «Крестовский остров». Критерии включения: отсутствие клинических признаков какого-либо заболевания в течение месяца до обследования и указаний на патологию желудочно-кишечного тракта и углеводного обмена в анамнезе, исключение приема любых лекарственных средств, возраст от 10 до 18 лет, подписанное родителями детей информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета» МЗ РФ (протокол исследования № 3/6 от 05 марта 2014 г.). Критерии исключения: нарушение самочувствия при проведении пробы с водной нагрузкой. Клинико-лабораторная характеристика детей, включенных в исследование, представлена в таблице 1 (Таблица 1).

У обследованных пациентов с целиакией длительность заболевания составляла от 1 года до 15 лет. Диагноз был выставлен в предшествующую госпитализацию на основании лабораторного и инструментального обследования, включавшего фиброгастродуоденоскопию с биопсией участка слизистой оболочки тонкой кишки с последующим гистологическим и морфометрическим исследованием биоптата, серологическое исследование с определением уровня антител к тканевой трансглутаминазе и антиглиадиновых антител. После чего было

рекомендовано соблюдение безглютеновой диеты.

Таблица 1 – Клинико-лабораторная характеристика детей, включенных в исследование

Показатель	Здоровые дети	Целиакия	Хронический гастродуоденит
N	21	16	19
Пол (м/ж)	9/12	12/4	5/14
Возраст	15 [15; 16]	16 [15; 17] ^{ns}	16 [14; 17] ^{ns}
Рост	168 [164; 170]	170 [162; 179] ^{ns}	164 [161; 173] ^{ns}
Масса тела	57 [49; 69]	56 [48; 70] ^{ns}	54 [47; 64] ^{ns}
S поверхности тела, м ²	1.6 [1.6; 1.8]	1.7 [1.5; 1.9] ^{ns}	1.6 [1.5; 1.8] ^{ns}
Длительность заболевания, г	–	8 [4; 15]	нет данных
P _{Osm} , мОсмоль/кг Н ₂ О	287 [286; 288]	–	–
P _{Na} , ммоль/л	145 [140; 146]	138 [138; 140] ^{ns}	139 [138; 140] ^{ns}
P _{Cl} , ммоль/л	106 [105; 106]	104 [102; 105] ^{ns}	105 [104; 106] ^{ns}
P _K , ммоль/л	4.7 [4.4; 5.0]	4.1 [4.0; 4.2]*	4.4 [4.1; 4.5] ^{ns}
P _{Cr} , мкмоль/л	93 [87; 104]	68 [66; 79]*	71 [67; 82]*
P _{TP} , г/л	66 [64; 72]	71 [70; 75] ^{ns}	72 [70; 75] ^{ns}
P _{Urea} , ммоль/л	4.1 [3.9; 4.4]	4.0 [3.4; 4.3] ^{ns}	4.3 [3.2; 4.7] ^{ns}
P _{Glu} , ммоль/л	5.3 [5.0; 5.4]	5.0 [4.7; 5.2] ^{ns}	4.9 [4.5; 5.1] ^{ns}
Примечание – Данные представлены как М [Q1; Q3]; N – число наблюдений; концентрация в сыворотке крови: P _{Na} – ионов натрия, P _{Cl} – хлорид-ионов, P _K – ионов калия, P _{Mg} – ионов магния, P _{Ca} – ионов кальция, P _{Cr} – креатинина, P _{TP} – общего белка, P _{Urea} – мочевины, P _{Glu} – глюкозы; P _{Osm} – осмоляльность сыворотки крови; сравнение с показателями группы здоровых детей: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.			

При поступлении в клинику в период проведения исследования основными симптомами были нарушение стула (66.7%), периодические боли в животе (50%), дефицит веса (25%), головные боли (25%), боли в конечностях (25%), высыпания на коже (25%), боли в спине (16.7%), снижение аппетита (16.7%), субфебрилитет (16.7%), головокружение (8.3%). По результатам морфологического исследования биоптатов на момент обследования состояние слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки соответствовало первой стадии изменений по классификации Марша. У детей не было проявлений сопутствующих заболеваний, исключены глистные инвазии, псевдотуберкулез, кишечные инфекции. Пациенты в период обследования находились на безглютеновой диете и получали только симптоматическую терапию.

У включенных в исследование пациентов с хроническим гастродуоденитом диагноз был поставлен на основании клинических данных, результатов фиброгастродуоденоскопии с проведением уреазного теста и гистологическим исследованием биоптата слизистой оболочки антрального отдела желудка. У 100% обследуемых отмечались жалобы на боли в животе. Среди остальных жалоб присутствовали следующие: тошнота (29.4%), рвота (11.8%), нарушение стула (11.8%), субфебрилитет (11.8%), снижение веса (11.8%), общая слабость (5.8%), метеоризм (5.8%), изжога (5.8%), головокружение (5.8%), головные боли (5.8%) и боли в конечностях

(5.8%). Двое детей поступили в стационар без каких-либо жалоб по социальным показаниям для обследования, в результате которого у них были обнаружены клиничко-инструментальные признаки хронического гастродуоденита. У 65% обследуемых выявлено инфицирование *H. pylori*. Пациентам проводилась этиопатогенетическая и симптоматическая терапия.

2.3.2. Взрослые

В обследовании принял участие 41 пациент с СД2 (12 мужчин, 29 женщин), в возрасте от 34 до 82 лет, среди них: 80% с компенсированной сердечной недостаточностью и 20% – с субкомпенсированной. Заключение о компенсации сердечной недостаточности основано на данных объективного осмотра и инструментальных исследований. Обследование проводилось на базе кардиологического отделения ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница РАН» в период с марта по ноябрь 2014 г. Критерии включения: длительность СД2 более 1 года, подписанное информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница РАН» (протокол исследования № 152 от 27 января 2014 г.). Критерии исключения: непереносимость терапии эксенатидом.

Контрольная группа включала 15 практически здоровых добровольцев женского пола в возрасте от 24 до 36 лет. Критерии включения: отсутствие клинических признаков какого-либо заболевания в течение месяца до обследования, указаний на патологию желудочно-кишечного тракта и углеводного обмена в анамнезе, исключение приема любых лекарственных средств, подписанное информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница РАН» (протокол исследования № 152 от 27 января 2014 г.). Критерии исключения: выявленное нарушение толерантности к глюкозе. Выбор такой группы был обусловлен тем, что представляло интерес сопоставить изменения функции почек у пациентов с СД2 и у здоровых людей.

У пациентов с СД2 сопутствующими заболеваниями были аутоиммунный тиреодит, гипотиреоз, диффузный узловой зоб, хронический пиелонефрит, мочекаменная болезнь, хронический обструктивный бронхит, хронический холецистит, хронический панкреатит, хронический гастрит, желчекаменная болезнь, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронический гастродуоденит, атеросклероз, дисциркуляторная энцефалопатия, дислипидемия, ожирение.

При поступлении в клинику жалобы включали загрудинную боль при физической нагрузке или стрессовой ситуации, боль и ощущение перебоев в ритме сердца, одышку при ходьбе и в покое, слабость, головную боль, головокружение, снижение остроты зрения, мелькание пятен, кругов, мушек перед глазами. У части пациентов обнаружены пастозность и

отеки нижних конечностей. У обследуемых присутствовали различные виды патологии сердечно-сосудистой системы: стенокардия, инфаркт миокарда, кардиосклероз, аортокоронарный склероз, нарушение ритма сердца, гипертоническая болезнь. В исследование включены пациенты, у которых в качестве сопутствующего заболевания диагностирован СД2; они были разделены на 2 группы по наличию компенсированной или декомпенсированной сердечной недостаточности, что клинически проявлялось наличием или отсутствием отеков. В стационаре пациенты соблюдали диету, получали стандартную терапию по поводу основного заболевания и СД2. Клинико-лабораторная характеристика взрослых, включенных в исследование, представлена в таблице 2 и 3 (Таблица 2, Таблица 3).

Таблица 2 – Клинико-лабораторная характеристика здоровых обследуемых

Показатель	Здоровые обследуемые
N	15
Возраст, лет	26 [26; 30]
Рост, см	168 [164; 171]
Вес, кг	57 [52; 65]
Глюкоза, ммоль/л	5.7 [5.6; 5.8]
Белок, г/л	76 [75; 81]
Креатинин, мкмоль/л	91 [89; 99]
Натрий, ммоль/л	139 [137; 141]
Калий, ммоль/л	4.2 [4.1; 4.6]
Хлор, ммоль/л	104 [102; 106]
Примечание – данные представлены как M [Q1; Q3]; N – число наблюдений.	

Таблица 3 – Клинико-лабораторная характеристика пациентов с СД2

Показатель	СД2 с ССН	СД2 с КСН	Женщины с СД2	Мужчины с СД2	Все пациенты с СД2
N	8	33	29	12	41
Возраст, лет	73 [61; 77]	53 [46; 58]*	55 [49; 63]	48 [43; 54] ^{NS}	53 [48; 61]
Рост, см	170 [166; 171]	164 [160; 169] ^{NS}	162 [159; 165]	175 [172; 177] [#]	164 [160; 170]
Вес, кг	90 [76; 126]	92 [85; 100] ^{NS}	90 [84; 100]	100 [97; 108] ^{NS}	92 [85; 102]
Стаж СД2, лет	4.0 [1.0; 9.3]	6.0 [1.0; 8.8] ^{NS}	6.0 [1.0; 10.0]	1.0 [1.0; 1.5] [#]	5.0 [1.0; 9.3]
Гликированный гемоглобин, ммоль/л	7.6 [7.2; 9.5]	8.3 [6.4; 9.0] ^{NS}	8.1 [6.3; 8.8]	10.3 [10.3; 10.4] [#]	8.3 [6.4; 9.0]
Глюкоза исходное значение, ммоль/л	6.2 [5.9; 6.6]	6.8 [5.1; 8.1] ^{NS}	6.4 [5.1; 7.6]	6.6 [6.6; 10.6] ^{NS}	6.6 [5.2; 8.0]
Глюкоза через 1 час после введения эксенатида, ммоль/л	5.4 [5.4; 7.7]	5.5 [5.1; 6.4] ^{NS}	5.5 [4.9; 6.4]	6.0 [6.9; 8.6] ^{NS}	5.5 [5.1; 6.5]
Мочевина, ммоль/л	7.3 [7.1; 10.5]	6.5 [5.2; 6.9] ^{NS}	7.1 [5.9; 7.8]	6.0 [4.8; 9.5] ^{NS}	6.8 [5.4; 8.0]
Белок, г/л	58 [56; 72]	65 [64; 68] ^{NS}	63 [60; 67]	65 [62; 72] ^{NS}	65 [61; 71]
Креатинин, мкмоль/л	103 [93; 142]	99 [95; 104] ^{NS}	96 [91; 104]	103 [97; 135] ^{NS}	100 [94; 110]
Натрий, ммоль/л	130 [127; 135]	133 [132; 138] ^{NS}	136 [133; 141]	131 [131; 133] ^{NS}	133 [131; 137]
Калий, ммоль/л	4.6 [4.1; 5.0]	4.9 [4.4; 5.0] ^{NS}	4.9 [4.3; 5.1]	4.9 [4.3; 5.0] ^{NS}	4.9 [4.3; 5.0]
Хлор, ммоль/л	93 [92; 98]	96 [91; 99] ^{NS}	97 [93; 103]	92 [92; 95] ^{NS}	95 [92; 98]
Холестерин, ммоль/л	4.5 [4.5; 5.0]	4.8 [3.5; 5.3] ^{NS}	4.3 [3.5; 4.6]	5.2 [5.2; 5.8] [#]	5.0 [3.8; 5.1]
Триглицериды, ммоль/л	2.4 [1.7; 2.4]	3.2 [1.7; 4.4] ^{NS}	2.1 [1.7; 2.3]	3.7 [2.8; 6.2] ^{NS}	2.3 [1.6; 3.0]
ЛПВП, ммоль/л	1.4 [1.2; 1.4]	1.2 [0.9; 1.4] ^{NS}	1.2 [1.0; 1.4]	1.4 [1.1; 1.4] ^{NS}	1.4 [1.0; 1.4]
ЛПНП, ммоль/л	3.0 [2.7; 3.2]	2.7 [1.9; 2.9] ^{NS}	2.6 [1.9; 2.9]	3.2 [2.9; 3.7] ^{NS}	2.9 [2.2; 3.1]
КА	2.6 [2.6; 2.6]	3.7 [2.6; 3.9] ^{NS}	2.6 [2.6; 2.6]	3.3 [3.0; 4.5] ^{NS}	2.6 [2.6; 3.6]
АЛТ, Ед/л	17 [17; 24]	32 [26; 53]*	24 [23; 30]	31 [31; 52] ^{NS}	25 [22; 50]
АСТ, Ед/л	18 [18; 18]	37 [35; 44] ^{NS}	28 [21; 37]	29 [29; 43] ^{NS}	34 [20; 41]
Примечание – данные представлены как М [Q1; Q3]; N – число наблюдений; ССН – субкомпенсированная сердечная недостаточность, КСН – компенсированная сердечная недостаточность, ЛПВН – липопротеиды высокой плотности, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, КА – коэффициент атерогенности, АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспартатаминотрансфераза; сравнение с группой пациентов с ССН: * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$; сравнение с группой пациентов с СД2 женского пола: # – $p \leq 0.05$, NS – $p > 0.05$.					

2.4. Структура исследования

Водная нагрузка. Для исследования водовыделительной функции почек и полного подавления секреции вазопрессина у человека применяют стандартную пробу с 2% водной нагрузкой – вариант пробы Фольгарда на разведение [94]. Испытуемому дают выпить воду в объеме 20 мл на 1 кг массы тела. В этом случае достигается максимальное снижение осмоляльности мочи до ~50 мОсмоль/кг H₂O и увеличение диуреза до ~20 мл/мин за счет усиления экскреции осмотически свободной воды до ~14.5 мл/мин [14]. В данной работе была использована 1% водная нагрузка (объем воды – 10 мл на 1 кг массы тела). Выбор такого варианта был обусловлен тем, что потребление 2% водной нагрузки сложно выполнить у детей. Нагрузка должна была стимулировать секрецию факторов, участвующих в перестройке осморегулирующей системы и способствующих ускорению выделения воды почкой. У детей, как и у взрослых добровольцев, использовалась 1% водная нагрузка достаточная для развития водного диуреза и стимулирующая секрецию факторов, участвующих в перестройке осморегулирующей системы [1, 21]. Немаловажным фактором является то, что такая проба не обременительна для ребенка и позволяет провести исследование, не вызывая дискомфорта. У пациентов с СД2 в связи клиническими особенностями их состояния (наличие патологии сердечно-сосудистой системы у большинства пациентов) была применена иная, более мягкая форма обследования – 0.7% водная нагрузка (объем воды – 7 мл на 1 кг массы тела) [20].

Для исследования функционального состояния почек дети самостоятельно или с участием родителей накануне дня сбора мочи фиксировали время последнего мочеиспускания перед сном или, при необходимости, ночью. В течение ночи дети ничего не ели и не пили. Утром в день обследования собирали первую пробу мочи, после чего натошак получали 1% водную нагрузку кипяченой водопроводной водой. Мочу собирали в течение 1 ч при произвольных мочеиспусканиях, регистрировали время сбора и объем проб. Непосредственно перед водной нагрузкой и через 5 мин после нее у обследуемых проводили забор капиллярной крови для определения концентрации ГПП-1. Утром в день обследования у детей натошак осуществляли забор венозной крови из локтевой вены для биохимического исследования.

Взрослые здоровые добровольцы накануне дня обследования также фиксировали в протоколе время последнего мочеиспускания перед сном или ночью, в течение ночи участники ничего не ели и не пили. Утром следующего дня они собирали первую пробу мочи, после чего им натошак давали 1% водную нагрузку. Далее пробы мочи собирали в течение 1 ч при произвольных мочеиспусканиях. Регистрировали время сбора и объем каждой пробы. Перед водной нагрузкой и через 5 и 15 мин после нее у обследуемых проводили забор капиллярной крови для определения осмоляльности и концентрации ионов. Осуществляли забор крови для

оценки биохимических параметров (общий белок, креатинин).

Для исследования функционального состояния почек у пациентов с СД2 натошак проводили сбор ночных проб мочи, фиксировали их объем и время мочеобразования, эти данные в дальнейшем служили исходным показателем для каждого пациента. В день обследования с 8:00 до 8:30 утра у пациентов производили забор венозной крови из локтевой вены для определения биохимических параметров. Пациенты в этот день, по согласованию с лечащим врачом, не принимали лекарственные препараты до окончания сбора проб.

Обследование каждого пациента проводилось в два этапа для группы с субкомпенсированной сердечной недостаточностью и в четыре этапа для группы с компенсированной сердечной недостаточностью. Первые два этапа были одинаковыми для обеих групп. Каждый этап занимал 1 день и включал сбор проб мочи до и после сопутствующих процедур. На всех этапах обследования у пациентов после введения препарата или водной нагрузки собирали мочу не менее 2 ч при произвольном мочеиспускании; точно регистрировали объем и время, в течение которого происходило образование каждой пробы мочи. Первый день был контрольным, собирали 2 пробы мочи: ночную и последующую без дополнительного введения препаратов или водной нагрузки. Во второй день больным подкожно вводили препарат миметика ГПП-1, эксенатида, (Баета®, «Ely Lilly», США) в дозе 5 мкг сразу после сбора ночной пробы мочи, проводилось измерение концентрации глюкозы в капиллярной крови до и через 1 ч после введения препарата. На третий день пациенты с компенсированной сердечной недостаточностью, получали водную нагрузку кипяченой водопроводной водой в объеме 7 мл на 1 кг массы тела; на четвертый – водная нагрузка и препарат эксенатида в дозе 5 мкг.

Тест на толерантность к глюкозе. Для сопоставления секреции ГПП-1 после водной нагрузки и приема глюкозы здоровым добровольцам был выполнен пероральный тест на толерантность к глюкозе [8]. Обследуемые не получали пищи в течение 8–14 ч, но им разрешали пить воду. Утром натошак определяли базальный уровень глюкозы. После этого они в течение 5 мин выпивали 250 мл раствора, содержащего 75 г глюкозы. Концентрацию глюкозы в крови измеряли через 5, 60 и 120 мин после нагрузки. Перед тестом и через 5 мин после него у обследуемых забирали капиллярную кровь для определения концентрации общего ГПП-1.

2.5. Подготовка проб, методы измерения и аппаратура

Подготовка сыворотки крови. Забор капиллярной или венозной крови для определения ее параметров производили в пробирки для сыворотки BD Microtainer® SST™ Tubes или BD Vacutainer® SST™ II Advance с разделительным гелем и активатором свертывания («Becton,

Dickinson and Company», США) или в пробирки типа эппендорф (Sarstedt, Германия). Для получения сыворотки пробы цельной крови после свертывания центрифугировали при 8000 оборотах в минуту на микроцентрифуге Hettich Micro 20 («Andreas Hettich GmbH», Германия) в течение 10 мин.

Измерение осмоляльности. Осмоляльность измеряли во всех нативных пробах мочи и сыворотки крови криоскопическим методом на микроосмометре 3300 («Advanced Instruments», США), предварительно откалибровав прибор с использованием стандартных растворов («Advanced Instruments», США) с осмоляльностью 50, 290 и 850 мОсмоль/кг H₂O.

Измерение концентрации ионов натрия, калия и хлорид-ионов. Концентрацию ионов натрия и калия в пробах мочи определяли в воздушно-пропановом пламени на 2-канальном пламенном фотометре Sherwood-420 («Sherwood Scientific», Великобритания). Ноль на приборе устанавливали по дистиллированной воде. Кривую калибровки строили с использованием стандартных растворов («Aldrich Chemical Company», США) с концентрацией натрия 0.75 ммоль/л и калия – 0.5 ммоль/л. В стандартный раствор для определения концентрации калия добавляли хлорид натрия с концентрацией 0.75 ммоль/л. Это необходимо для корректного определения концентрации исследуемых ионов в связи с содержанием в биологических жидкостях большого количества ионов натрия. Предварительно пробы мочи разводили дистиллированной водой в 1-800 раз в зависимости от величины диуреза, для анализа концентрации в сыворотке крови использовали нативные пробы.

Определение концентрации ионов натрия, калия и хлорид-ионов в сыворотке крови, а также хлорид-ионов в пробах мочи проводили на ионоселективном блоке автоматического биохимического анализатора Erba XL-200 («Erba-Lachema», Чехия). Предварительную калибровку ионоселективного блока осуществляли с использованием раствора для ISE блока Erba со стандартным содержанием ионов натрия, калия, хлора и лития («Medica», Германия).

Измерение концентрации ионов магния и кальция. Измерение концентрации ионов магния и кальция в пробах мочи и сыворотки крови проводили в воздушно-ацетиленовом пламени на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-6200 («Shimadzu», Япония). Пробы мочи предварительно разводили дистиллированной водой в 10-1600 раз в зависимости от величины диуреза, пробы сыворотки крови – дистиллированной водой в 100 раз. Ноль на приборе устанавливали по дистиллированной воде. Калибровочную кривую строили с помощью стандартных растворов («Aldrich Chemical Company», США) с концентрацией магния или кальция 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, 0.075 и 0.100 ммоль/л. В стандартные растворы добавляли раствор хлорида натрия с концентрацией 1.5 ммоль/л. Это необходимо для корректного определения концентрации исследуемых ионов в связи с содержанием в биологических жидкостях большого количества ионов натрия.

Измерение концентрации ионов лития. Оценку концентрации ионов лития в пробах мочи и сыворотки крови проводили на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-6200 («Shimadzu», Япония) методом эмиссионной фотометрии при длине волны 670.8 нм. Пробы мочи предварительно разводили в 10-50 раз, сыворотки крови – в 50 раз. Ноль на приборе устанавливали по дистиллированной воде. Калибровочную кривую строили с помощью растворов, приготовленных из стандартного раствора Flame Photometer Standard 1000 ppm Li («Sherwood», Великобритания). Концентрация лития в калибровочных растворах для оценки проб мочи составляла 0.0025, 0.0050, 0.0100, 0.0150, 0.0200, 0.0250, 0.0500 ммоль/л. Для корректного определения концентрации лития в связи с содержанием в биологических жидкостях большого количества ионов натрия в стандартные растворы добавляли раствор хлорида натрия с концентрацией 1.5 ммоль/л. Концентрация лития в калибровочном растворе для оценки проб сыворотки крови составляла 0.0300 ммоль/л. Для корректного определения концентрации лития в него добавляли раствор хлорида натрия с концентрацией 3.0 ммоль/л.

Измерение концентрации креатинина. Концентрацию креатинина в сыворотке крови и моче для расчета гломерулярной фильтрации определяли кинетическим методом по реакции Яффе без депротеинизации на автоматическом биохимическом анализаторе Erba XL-200 («Erba-Lachema», Чехия). Пробы мочи предварительно разводили в 1-50 раз дистиллированной водой в зависимости от величины диуреза, пробы сыворотки использовали в нативном состоянии.

Измерение других биохимических показателей сыворотки крови. Концентрацию общего белка в сыворотке крови измеряли биуретовым методом, мочевины – уреазным методом на автоматическом биохимическом анализаторе Erba XL-200 в нативных пробах. Концентрацию холестерина определяли энзиматическим колориметрическим методом (CHOD-PAF метод), триглицеридов – с помощью энзиматического метода определения глицерина (после предварительного проведения гидролиза липопротеиновой липазой) с использованием глицеролфосфат оксидазы (метод Триндера), липопротеидов высокой и низкой плотности – методом фотометрической колориметрии, аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы – УФ-кинетическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c8000 («Abbot», США).

Концентрацию глюкозы в капиллярной крови определяли с использованием тест-полосок на глюкометре Accu-Chek Go («Roche», Швейцария).

Подготовка проб капиллярной крови. Забор капиллярной крови для иммуноферментного анализа производили в охлажденные пробирки с K₃-ЭДТА Microvette® 200 («Sarstedt», Германия). Пробы крови центрифугировали при 2000 оборотах в минуту и температуре 4°C на центрифуге Hettich Micro 22R («Andreas Hettich GmbH», Германия) в течение 15 мин. Образцы

плазмы крови до проведения иммуноферментного анализа хранили при температуре -80°C .

Измерение концентрации ГПП-1. Концентрацию общего ГПП-1 определяли в пробах плазмы крови с помощью наборов для иммуноферментного анализа GLP-1 Total ELISA («Millipore», США). Измерение оптической плотности осуществляли в планшетах с 96 лунками по методике тест-системы на автоматическом ридере ELx808 («Bio-Tek Instruments», США).

Определение активности ДПП-4. Активность ДПП-4 определяли в пробах плазмы крови колориметрическим методом с помощью набора DPPIV/CD26 Assay Kit («ENZO», США), измерение оптической плотности и расчет активности ДПП-4 проводили на микропланшетном ридере ELx808 («Bio-Tek Instruments», США).

2.6. Формулы и расчеты

На основании полученных данных рассчитывали показатели, характеризующие деятельность почек: диурез, выведение осмотически активных веществ, экскрецию отдельных катионов, клиренс креатинина, осмотически свободной воды и осмотически активных веществ, свободной от натрия воды [14, 15]. Для лабораторных животных все показатели рассчитывали на 100 г массы тела, для обследуемых пациентов и добровольцев – на 1.73 м^2 площади поверхности тела по следующим формулам:

минутный диурез:

- для лабораторных животных: $V = V_t * 100 / t * m$, мл/мин;
- для обследуемых: $V = V_t * 1.73 / t * S$, мл/мин;

минутное выведение ионов с мочой: $U_{\text{Ion}}V = U_{\text{Ion}} * V$, мкмоль/мин;

минутное выведение осмотически активных веществ с мочой: $U_{\text{Osm}}V = U_{\text{Osm}} * V$, мкОсмоль/мин;

клиренс ионов: $C_{\text{Ion}} = U_{\text{Ion}} * V / P_{\text{Ion}}$, мл/мин;

клиренс эндогенного креатинина: $C_{\text{Cr}} = U_{\text{Cr}} * V / P_{\text{Cr}}$, мл/мин;

клиренс осмотически активных веществ: $C_{\text{Osm}} = U_{\text{Osm}} * V / P_{\text{Osm}}$, мл/мин;

клиренс осмотически свободной воды: $C_{\text{H}_2\text{O}} = V - C_{\text{Osm}}$, мл/мин, при отрицательном значении речь идет о реабсорбции осмотически свободной воды;

клиренс свободной от натрия воды: $C_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{Na}} = V - C_{\text{Na}}$, мл/мин, при отрицательном значении речь идет о реабсорбции свободной от натрия воды;

экскретируемая фракция ионов: $EF_{\text{Ion}} = (U_{\text{Ion}} * V / P_{\text{Ion}}) / (U_{\text{Cr}} * V / P_{\text{Cr}}) * 100$, %;

где:

V_t – объем пробы выделенной мочи, мл;

t – время, за которое была собрана данная проба мочи, мин;

m – масса тела животного, г;

S – площадь поверхности тела человека, m^2 ;

U_{Ion} – концентрация определяемого иона в пробе мочи (Na – натрий, K – калий, Mg – магний, Ca – кальций, Cl – хлор), ммоль/л;

U_{Osm} – концентрация осмотически активных веществ в пробе мочи, мОсмоль/л;

U_{Ck} – концентрация креатинина в пробе мочи, мкмоль/л;

P_{Ion} – концентрация определяемого иона в сыворотке крови, ммоль/л;

P_{Osm} – концентрация осмотически активных веществ в сыворотке крови, мОсмоль/л;

P_{Ck} – концентрация креатинина в сыворотке крови, мкмоль/л.

Показатели суммарного выведения веществ за необходимое время эксперимента рассчитаны на основании проб, полученных в заданный временной период:

суммарный объем мочи за временной интервал: $V^t = V^1 * t^1 + V^2 * t^2 + \dots + V^n * t^n$, мл;

суммарная экскреция иона с мочой за временной интервал: $U_{Ion}V^t = U_{Ion}V^1 * t^1 + U_{Ion}V^2 * t^2 + \dots + U_{Ion}V^n * t^n$, мкмоль;

суммарная экскреция осмотически активных веществ с мочой за временной интервал: $U_{Osm}V^t = U_{Osm}V^1 * t^1 + U_{Osm}V^2 * t^2 + \dots + U_{Osm}V^n * t^n$, мкОсмоль;

суммарный клиренс иона за временной интервал: $C_{Ion}^t = C_{Ion}^1 * t^1 + C_{Ion}^2 * t^2 + \dots + C_{Ion}^n * t^n$, мл;

суммарный клиренс осмотически активных веществ за временной интервал: $C_{Osm}^t = C_{Osm}^1 * t^1 + C_{Osm}^2 * t^2 + \dots + C_{Osm}^n * t^n$, мл;

суммарный клиренс осмотически свободной воды за временной интервал: $C_{H_2O}^t = C_{H_2O}^1 * t^1 + C_{H_2O}^2 * t^2 + \dots + C_{H_2O}^n * t^n$, мл;

суммарный клиренс свободной от натрия воды за временной интервал: $C_{H_2O}^{Nat} = C_{H_2O}^{Na1} * t^1 + C_{H_2O}^{Na2} * t^2 + \dots + C_{H_2O}^{Nan} * t^n$, мл;

Для временных интервалов была рассчитана средняя взвешенная величина скорости клубочковой фильтрации по формуле:

$$C_{Cr}^t = (C_{Cr}^1 * t^1 + C_{Cr}^2 * t^2 + \dots + C_{Cr}^n * t^n) / (t^1 + t^2 + \dots + t^n),$$

где $C_{Cr}^1, C_{Cr}^2, \dots, C_{Cr}^n$ – скорость клубочковой фильтрации при первом, втором и последующих мочеиспусканиях в рамках данного интервала времени; t^1, t^2, \dots, t^n – время, за которое собрана моча в рамках данного интервала времени.

Средние взвешенные величины функциональных параметров почки за временные интервалы были рассчитаны для каждого животного или обследуемого и усреднены в пределах экспериментальных групп.

2.7. Статистический анализ

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Microsoft Excel 2003 и STATISTICA 6.0 для организации и формирования матрицы данных, проведения автоматизированных табличных расчетов, подготовки графиков и диаграмм. Для оформления рисунков использован графический редактор CorelDRAW® Graphics Suite X6.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Методы описательной статистики включали оценку среднего арифметического (M) и ошибки среднего значения (m) для признаков, имеющих нормальное распределение. Для признаков, не соответствующих нормальному распределению, данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q1$, $Q3$). Категориальные данные описывались с указанием процентных долей.

Для сравнения признаков, имеющих нормальное распределение, использовали критерий Стьюдента для парного сравнения и/или дисперсионный анализ ANOVA для множественных сравнений с дальнейшим, при необходимости, парным сравнением данных и применением поправочного коэффициента. Для выявления различий в зависимых выборках, не соответствующих нормальному распределению, использовался критерий парного сравнения Вилкоксона или ранговый дисперсионный анализ Фридмана с дальнейшим, при необходимости, парным сравнением данных и применением поправочного коэффициента. Для независимых непараметрических выборок применялся парный U-критерий Манна-Уитни, для проверки равенства медиан нескольких выборок – критерий Краскела-Уоллиса.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального) или Пирсона (при нормальном распределении показателей).

Различия считали значимыми при вероятности ошибки менее 5% ($p \leq 0.05$).

2.8. Химические реактивы и препараты

Эксенатид (Баета®, «Eli Lilly», США)

Экзендин-(9-39) («Bachem», Швейцария)

Глюкагоноподобный пептид-1 («Bachem», Швейцария)

Вилдаглиптин («Matrix Scientific», Колумбия)

Золетил («Virbac», Франция)

Хлорид натрия («ЛенРеактив», Россия)

Глюкоза («Алмаксфарм», Россия),

Trizma.HCl («Sigma», США).

Хлорид лития («НеваРеактив», Россия)

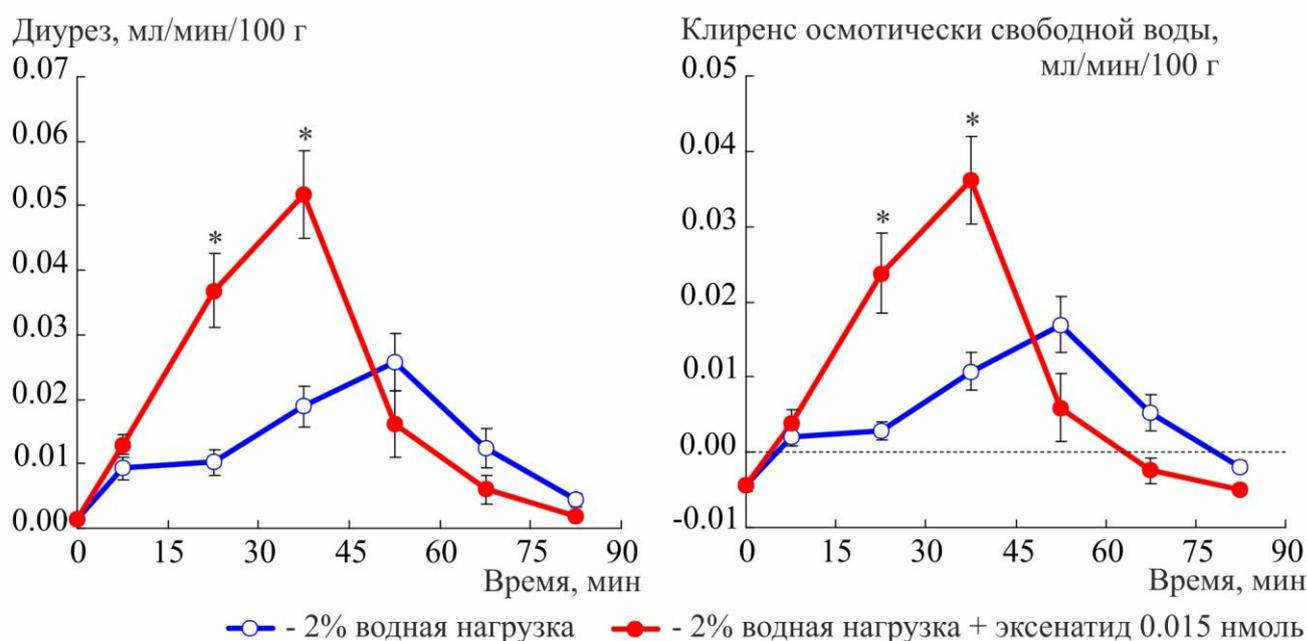
2.9. Экспериментальные животные

Крысы Вистар (*Rattus norvegicus* var. albino)

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Значение рецептора ГПП-1 в регуляции водно-солевого баланса

Для изучения влияния ГПП-1 на функцию почек через собственный рецептор проведены исследования с использованием эксенатида (агонист рецептора ГПП-1) и экзендина (антагонист рецепторов ГПП-1). При оценке влияния инкретиномиметика на функцию почек эксенатид, вводили на фоне 2% пероральной водной нагрузки. Препарат вызвал изменение как осморегулирующей, так и ионорегулирующей функции почек. Максимальное влияние эксенатида на выведение воды почкой наблюдалось в дозе 0.015 нмоль и длилось в течение первых 45 минут (Рисунок 1). Препарат ускорил выведение воды почками: пик водного диуреза сместился с 57 ± 3 на 36 ± 2 мин, клиренса осмотически свободной воды – с 58 ± 3 мин на 38 ± 2 мин от начала эксперимента (Рисунок 1).



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

Рисунок 1 – Динамика диуреза и клиренса осмотически свободной воды после инъекции эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне 2% пероральной водной нагрузки.

Эксенатид не только ускорял, но и усиливал водный диурез, экскрецию осмотически свободной и свободной от натрия воды, наблюдался рост скорости клубочковой фильтрации (Таблица 4). Отмечалось умеренное увеличение выведения осмотически активных веществ за счет ионов натрия и калия (Таблица 4).

Таблица 4 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс при внутримышечном введении эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне 2% пероральной водной нагрузки

Параметры, за 90 мин	2% водная нагрузка	2% водная нагрузка + эксенатид 0.015 нмоль
N	10	10
V, мл	0.58 ± 0.10	1.52 ± 0.01*
C _{Osm} , мл	0.34 ± 0.04	0.57 ± 0.05*
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.56 ± 0.10	1.40 ± 0.12*
C _{H₂O} , мл	0.23 ± 0.07	0.96 ± 0.12*
C _{Cr} , мл/мин	0.28 ± 0.02	0.34 ± 0.02*
U _{Osm} V, мкОсмоль	102 ± 11	169 ± 15*
U _{Na} V, мкмоль	2.2 ± 0.5	17.3 ± 3.3*
U _K V, мкмоль	1.0 ± 0.1	4.2 ± 0.7*
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.		

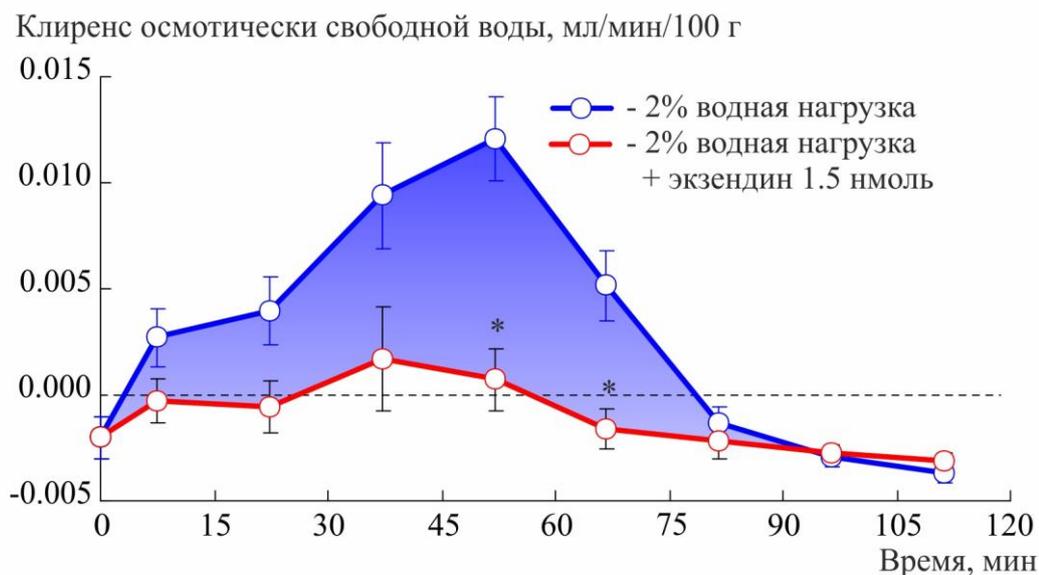
Антагонист рецепторов ГПП-1, экзендин, снизил выведение 2% водной нагрузки почками, проявив антидиуретические свойства. Прирост диуреза уменьшился за счет снижения клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды (Таблица 5). Более выраженный эффект наблюдался при введении экзендина в дозе 5.0 нмоль: величина диуреза и клиренса воды, свободной от натрия, стали меньше контрольных значений (Таблица 5).

Таблица 5 – Влияние экзендина на осморегулирующую и ионорегулирующую функции почек крыс на фоне 2% пероральной водной нагрузки

Параметры, за 2 часа	Контрольная группа	2% водная нагрузка	2% водная нагрузка + экзендин 1.5 нмоль	2% водная нагрузка + экзендин 5.0 нмоль
N	10	10	10	10
V, мл	0.24 ± 0.04	1.25 ± 0.09	0.79 ± 0.10* [@]	0.10 ± 0.01* ^{#@}
C _{Osm} , мл	0.78 ± 0.04	0.87 ± 0.04	0.91 ± 0.04 ^{ns-}	0.67 ± 0.04* ^{#-}
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.20 ± 0.03	1.22 ± 0.09	0.78 ± 0.10* [@]	0.05 ± 0.01* ^{#@}
C _{H₂O} , мл	-0.54 ± 0.03	0.38 ± 0.07	-0.12 ± 0.10* [@]	-0.58 ± 0.03* ^{#-}
C _{Cr} , мл/мин	0.30 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.01 ^{ns-}	0.29 ± 0.01 ^{nsNS-}
U _{Osm} V, мкОсмоль	232 ± 12	258 ± 13	273 ± 11 ^{ns-}	201 ± 11* ^{#-}
U _{Na} V, мкмоль	5.8 ± 1.6	3.4 ± 0.8	2.5 ± 0.5 ^{ns-}	5.9 ± 1.2 ^{nsNS-}
U _K V, мкмоль	21 ± 2	11 ± 2	12 ± 2 ^{ns-}	11 ± 2 ^{nsNS@}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение групп, получивших экзендин в дозе 1.5 и 5.0 нмоль: [#] – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05; сравнение с контрольной группой: [@] – p ≤ 0.05, ⁻ – p > 0.05.				

Наглядная демонстрация эффекта экзендина представлена на примере динамики

клиренса осмотически свободной воды (Рисунок 2).



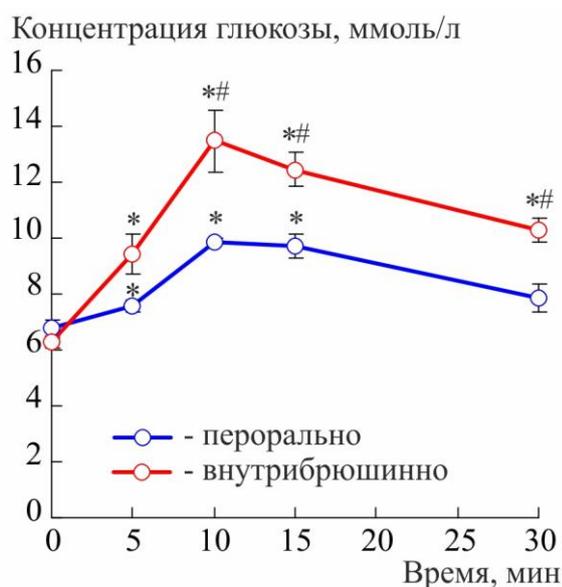
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

Рисунок 2 – Динамика клиренса осмотически свободной воды после инъекции экзендина в дозе 1.5 нмоль на фоне 2% водной нагрузки.

3.2. Изучение стимула секреции ГПП-1

Для определения стимула секреции ГПП-1 в нескольких сериях экспериментов оценено изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови, осмоляльности и концентрации ионов в сыворотке крови, а также сопутствующие этому изменения функции почек в ответ на различные виды нагрузочных проб.

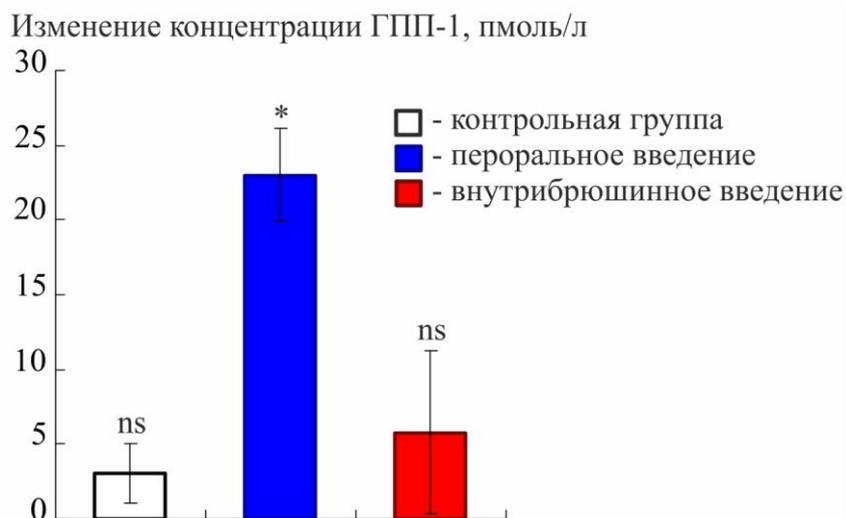
Пероральное и внутрибрюшинное введение 50% раствора глюкозы вызывает увеличение ее концентрации в сыворотке крови у крыс, однако величина прироста при пероральном введении меньше, чем при внутрибрюшинном (Рисунок 3). Уровень глюкозы возрастает с 5 мин, достигая максимума на 10 мин эксперимента, независимо от способа введения раствора (Рисунок 3). Нормализация уровня гликемии при пероральном введении происходит к 30 мин, при внутрибрюшинном введении – не наблюдается до окончания времени наблюдения (Рисунок 3).



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$; сравнение с группой, получившей раствор глюкозы перорально: # – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

Рисунок 3 – Динамика концентрации глюкозы в крови после внутрибрюшинного и перорального введения 50% раствора глюкозы крысам.

На фоне перорального введения раствора глюкозы, в отличие от внутрибрюшинного, концентрация ГПП-1 в плазме крови через 5 мин после нагрузки увеличивается более, чем в 7 раз (Рисунок 4).



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

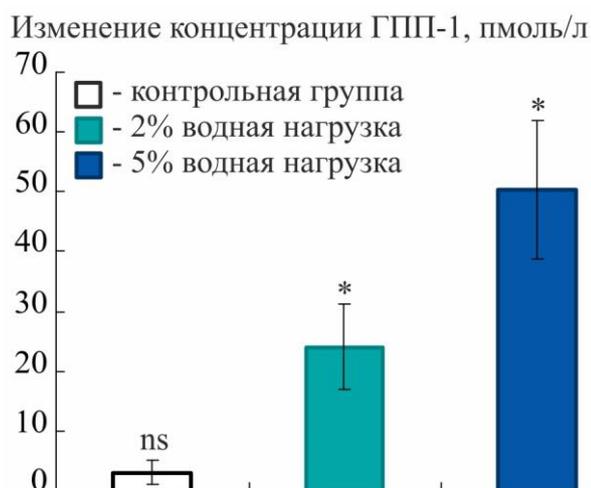
Рисунок 4 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови крыс после перорального и внутрибрюшинного введения 50% раствора глюкозы.

Пероральное введение 2% и 5% водной нагрузки вызывает у крыс снижение осмоляльности сыворотки крови и концентрации в ней ионов натрия и хлоридов на 15 минуте от момента введения нагрузки (Таблица 6), а также вызывает рост концентрации ГПП-1 в плазме крови через 5 мин после нагрузки (Рисунок 5). Более выраженные изменения параметров крови наблюдаются при использовании 5% водной нагрузки (Таблица 6, Рисунок 5).

Таблица 6 – Показатели сыворотки крови у крыс через 15 минут после 2% и 5% пероральной водной нагрузки

Параметры	Контрольная группа	2% водная нагрузка	5% водная нагрузка
N	10	10	10
Осмоляльность, мОсмоль/кг H ₂ O	299 ± 1	291 ± 1*	281 ± 1* [#]
Натрий, ммоль/л	143.9 ± 0.5	138.4 ± 0.3*	134.3 ± 0.6* [#]
Хлориды, ммоль/л	103.0 ± 0.4	99.0 ± 0.5*	93.3 ± 0.7* [#]
Калий, ммоль/л	4.4 ± 0.1	4.0 ± 0.1*	4.5 ± 0.1 ^{ns#}

Примечание – N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение 2% и 5% водной нагрузки: [#] – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$.



Примечание – Сравнение с исходным периодом (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

Рисунок 5 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови после пероральной водной нагрузки у крыс.

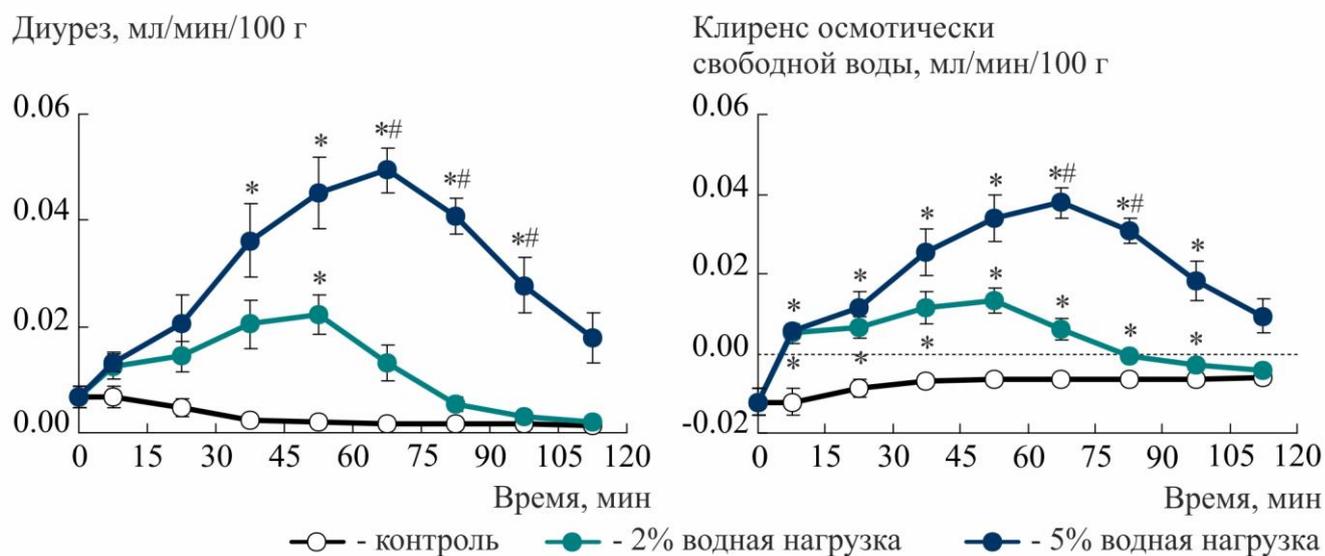
Почки в ответ на 2% и 5% водную нагрузку реагировали увеличением диуреза за счет роста клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды (Таблица 7). 5% водная нагрузка вызвала более выраженный ответ, а также увеличила выведение осмотически активных веществ; выведение ионов натрия и калия и скорость клубочковой фильтрации не менялись (Таблица 7).

Таблица 7 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после пероральной водной нагрузки

Параметры, за 2 часа	Контрольная группа	2% водная нагрузка	5% водная нагрузка
N	10	10	10
V, мл	0.24 ± 0.03	1.39 ± 0.13*	3.77 ± 0.19*#
C _{Osm} , мЛ	0.73 ± 0.04	0.88 ± 0.07 ^{ns}	1.18 ± 0.06*#
C _{H₂O^{Na}} , мЛ	0.21 ± 0.03	1.37 ± 0.13*	3.73 ± 0.19*#
C _{H₂O} , мЛ/мин	-0.49 ± 0.04	0.52 ± 0.10*	2.58 ± 0.16*#
C _{Cr} , мЛ	0.25 ± 0.01	0.26 ± 0.01 ^{ns}	–
U _{Osm} V, мкОсмоль	217 ± 10	261 ± 21 ^{ns}	353 ± 19*#
U _{Na} V, мкмоль	3.4 ± 0.6	3.4 ± 1.0 ^{ns}	5.2 ± 0.6 ^{nsNS}
U _K V, мкмоль	21 ± 2	15 ± 2 ^{ns}	23 ± 3 ^{nsNS}

Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение 2% и 5% водной нагрузки: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.

Эффект водной нагрузки на осморегулирующую функцию почки сохранялся в течение первых 105 мин эксперимента (Рисунок 6). Пик диуреза и клиренса осмотически свободной воды наблюдался на 48 ± 5 мин для 2% водной нагрузки и на 74 ± 7 мин – для 5% водной нагрузки (Рисунок 6).



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05; сравнение 2% и 5% водной нагрузки: # – p ≤ 0.05; N (число наблюдений) = 30.

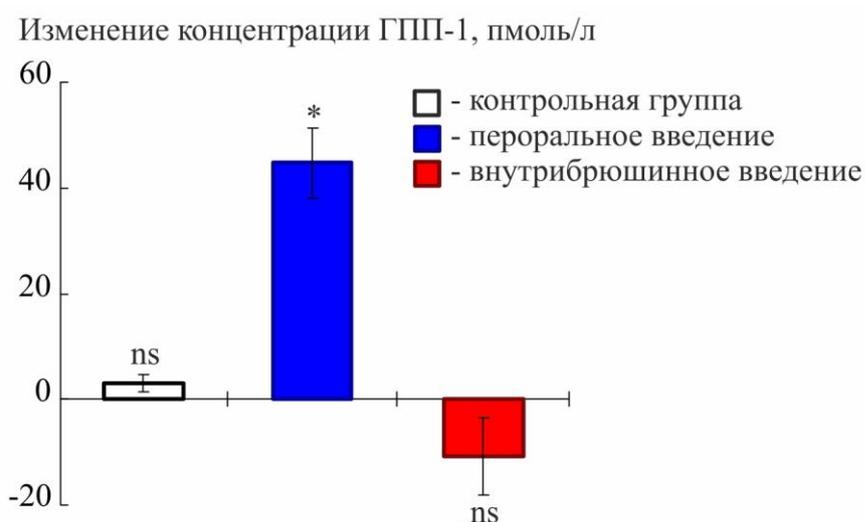
Рисунок 6 – Динамика диуреза и клиренса осмотически свободной воды после пероральной водной нагрузки у крыс.

Пероральное и внутрибрюшинное введение 0.9% раствора NaCl в объеме 5 мл на 100 г массы тела не влияло на осмоляльность и концентрацию ионов в сыворотке крови (Таблица 8).

Таблица 8 – Показатели сыворотки крови у крыс через 15 минут после внутрибрюшинного и перорального введения 0.9% раствора NaCl

Параметры	Контрольная группа	0.9% раствор NaCl внутрибрюшинно	0.9% раствор NaCl перорально
N	10	10	10
Осмоляльность, мОсмоль/кг H ₂ O	303 ± 1	303 ± 1 ^{ns}	304 ± 1 ^{ns}
Натрий, ммоль/л	143.3 ± 0.9	142.5 ± 0.4 ^{ns}	142.3 ± 1.2 ^{ns}
Хлориды, ммоль/л	104.8 ± 0.4	106.0 ± 0.8 ^{ns}	104.8 ± 0.9 ^{ns}
Калий, ммоль/л	4.01 ± 0.05	4.05 ± 0.08 ^{ns}	3.85 ± 0.07 ^{ns}
Примечание – N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$.			

Концентрация ГПП-1 растет через 5 минут после перорального, но не внутрибрюшинного введения 0.9% раствора NaCl в объеме 2 мл на 100 г массы тела (Рисунок 7).



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

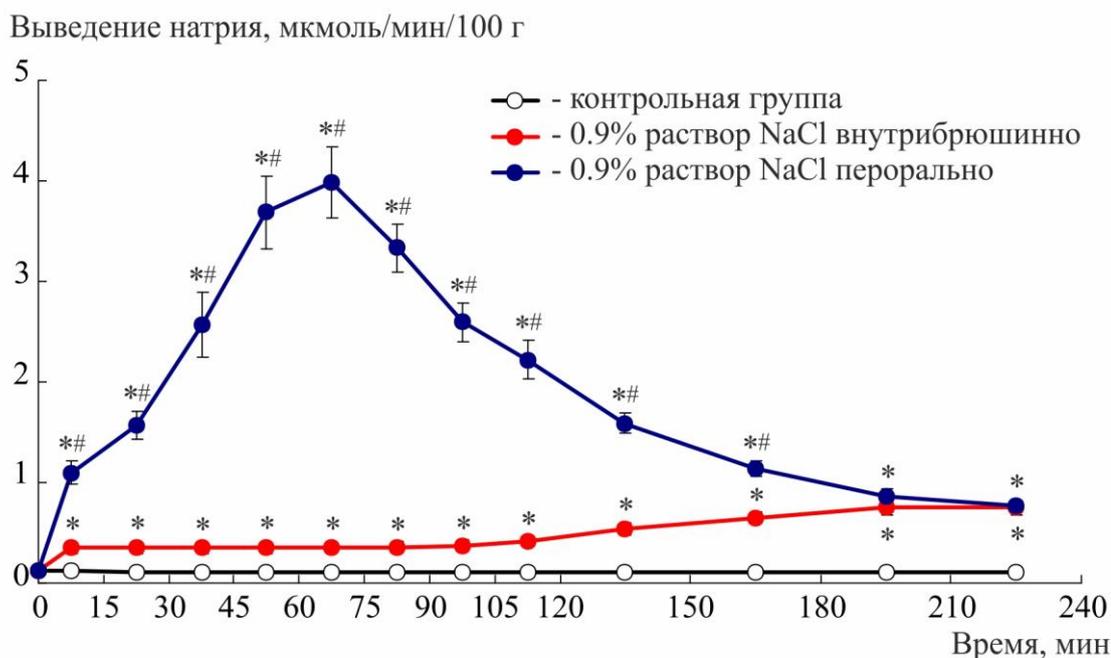
Рисунок 7 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови после перорального и внутрибрюшинного введения 0.9% раствора хлорида натрия у крыс.

Пероральное поступление 0.9% раствора NaCl (5 мл на 100 г массы тела) (изотоническая, объемная нагрузка) вызывало у крыс изменение как осморегулирующей, так и ионорегулирующей функции почек. Наблюдался рост диуреза за счет увеличения выведения осмотически активных веществ, а именно ионов натрия, хлоридов и, в меньшей степени калия (Таблица 9). Параллельно с этим увеличилась реабсорбция осмотически свободной и свободной от натрия воды (Таблица 9). Скорость клубочковой фильтрации не менялась (Таблица 9). Пик

выведения натрия и реабсорбции осмотически свободной воды на фоне пероральной нагрузки наблюдается на 75 ± 6 и 75 ± 5 минуте эксперимента, соответственно, основной объем нагрузки был выведен за первые 2 ч (Рисунок 8). Внутривентриальное введение 0.9% раствора NaCl незначительно увеличило диурез и выведение ионов натрия (Таблица 9).

Таблица 9 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после внутривентриального и перорального введения 0.9% раствора NaCl

Параметры, за 2 часа	Контрольная группа	0.9% раствор NaCl внутривентриально	0.9% раствор NaCl перорально
N	10	10	10
V, мл	0.22 ± 0.01	$0.38 \pm 0.06^*$	$1.94 \pm 0.15^{*#}$
C _{Osm} , мЛ	1.01 ± 0.04	1.39 ± 0.14^{ns}	$3.73 \pm 0.15^{*#}$
C _{H₂O^{Na}} , мЛ	0.12 ± 0.01	0.07 ± 0.06^{ns}	$-0.28 \pm 0.07^{*#}$
C _{H₂O} , мЛ	-0.80 ± 0.03	-1.01 ± 0.10^{ns}	$-1.79 \pm 0.09^{*#}$
C _{Cr} , мЛ/МИН	0.33 ± 0.01	0.39 ± 0.05^{ns}	0.31 ± 0.01^{nsNS}
U _{Osm} V, мкОсмоль	302 ± 12	414 ± 43^{ns}	$1112 \pm 46^{*#}$
U _{Na} V, мкмоль	13 ± 1	$43 \pm 6^*$	$316 \pm 19^{*#}$
U _{Cl} V, мкмоль	17 ± 2	–	$350 \pm 21^{*#}$
U _K V, мкмоль	30 ± 2	37 ± 4^{ns}	$66 \pm 6^{*#}$
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутривентриальным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$.			



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутривенным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

Рисунок 8 – Динамика выведения натрия после перорального и внутривенного введения 0.9% раствора NaCl у крыс.

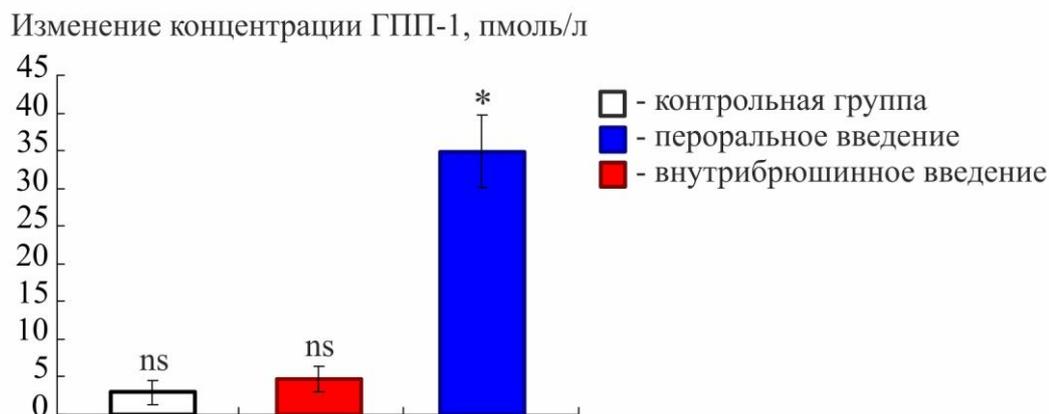
После перорального и внутривенного поступления 2.5% раствора хлорида натрия наблюдался рост осмоляльности, концентрации ионов натрия, калия и хлоридов в сыворотке крови крыс (Таблица 10). Внутривенное введение раствора вызвало более выраженные изменения параметров сыворотки крови (Таблица 10).

Таблица 10 – Показатели сыворотки крови у крыс через 15 минут после внутривенного и перорального введения 2.5% раствора NaCl

Параметры	Контрольная группа	2.5% раствор NaCl внутривенно	2.5% раствор NaCl перорально
N	10	10	10
Осмоляльность, мОсмоль/кг H ₂ O	303 ± 1	318 ± 1*	313 ± 1*#
Натрий, ммоль/л	143.3 ± 0.9	149.3 ± 0.4*	146.6 ± 0.6*#
Хлориды, ммоль/л	104.8 ± 0.4	115.3 ± 0.4*	108.6 ± 0.6*#
Калий, ммоль/л	4.01 ± 0.05	3.82 ± 0.10 ^{ns}	3.76 ± 0.07* ^{NS}
Примечание – N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутривенным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$.			

Рост концентрации ГПП-1 в плазме крови выявлен на 5 минуте только после

перорального поступления 2.5% раствора NaCl (Рисунок 9).



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

Рисунок 9 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови после перорального и внутрибрюшинного введения 2.5% раствора NaCl у крыс.

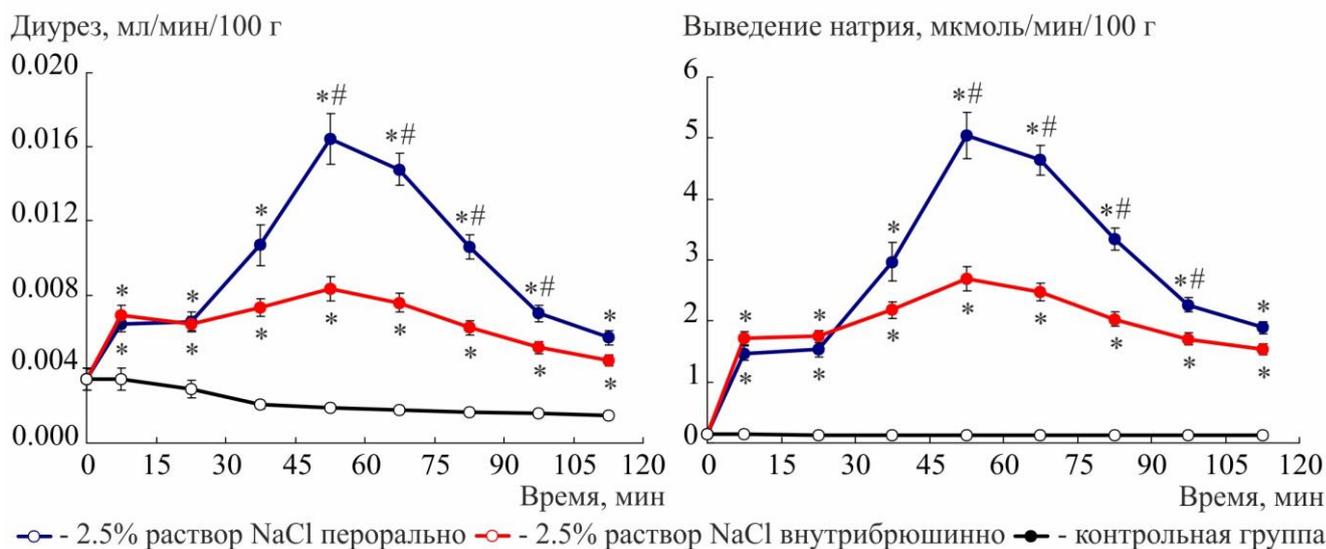
2.5% раствор хлорида натрия вызвал рост диуреза за счет увеличения выведения осмотически активных веществ, в частности ионов натрия, хлоридов и, в меньшей степени калия (Таблица 11). Значительно возросла реабсорбция осмотически свободной и свободной от натрия воды, скорость клубочковой фильтрации не менялась (Таблица 11). Пероральное введение раствора вызвало более выраженные изменения функции почек (Таблица 11).

Таблица 11 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после внутрибрюшинного и перорального введения 2.5% раствора NaCl

Параметры, за 2 часа	Контрольная группа	2.5% раствор NaCl внутрибрюшинно	2.5% раствор NaCl перорально
N	10	10	10
V, мл	0.25 ± 0.02	$0.79 \pm 0.04^*$	$1.17 \pm 0.06^{* \#}$
C_{Osm} , мЛ	1.09 ± 0.06	$3.07 \pm 0.10^*$	$3.85 \pm 0.13^{* \#}$
$C_{H_2O}^{Na}$, мЛ	0.14 ± 0.02	$-0.91 \pm 0.05^*$	$-1.26 \pm 0.05^{* \#}$
C_{H_2O} , мЛ	-0.84 ± 0.04	$-2.29 \pm 0.08^*$	$-2.67 \pm 0.08^{* \#}$
C_{Cr} , мЛ/МИН	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.01^{ns}	0.30 ± 0.01^{nsNS}
$U_{Osm}V$, мкОсмоль	325 ± 17	$916 \pm 29^*$	$1146 \pm 37^{* \#}$
$U_{Na}V$, мкмоль	16 ± 2	$241 \pm 10^*$	$347 \pm 14^{* \#}$
$U_{Cl}V$, мкмоль	17 ± 1	$278 \pm 18^*$	$302 \pm 26^{*NS}$
U_KV , мкмоль	36 ± 3	$118 \pm 5^*$	$110 \pm 4^{*NS}$

Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутрибрюшинным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$, NS – $p > 0.05$.

Пик диуреза и выведения ионов натрия наблюдался с 45 по 60 мин эксперимента независимо от вида нагрузки (Рисунок 10).



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутривбрюшинным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

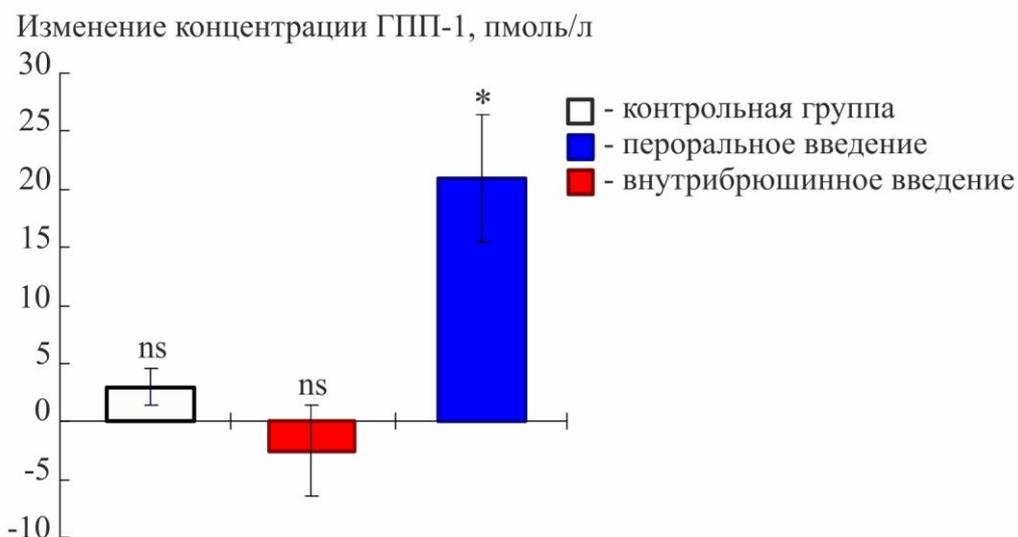
Рисунок 10 – Динамика диуреза и выведения натрия после перорального и внутривбрюшинного введения 2.5% раствора NaCl у крыс.

Через 30 мин после перорального и внутривбрюшинного введения 6.7% раствора Trizma.HCl увеличилась осмоляльность сыворотки крови и концентрация в ней хлорид-ионов и калия, снизилась концентрация ионов натрия (Таблица 12).

Таблица 12 – Показатели сыворотки крови у крыс через 30 минут после внутривбрюшинного и перорального введения 6.7% раствора Trizma.HCl

Параметры	Контрольная группа	6.7% раствор Trizma.HCl внутривбрюшинно	6.7% раствор Trizma.HCl перорально
N	10	10	10
Осмоляльность, мОсмоль/кг H ₂ O	300 ± 1	309 ± 1*	309 ± 1* ^{NS}
Натрий, ммоль/л	145.9 ± 0.2	142.3 ± 0.3*	141.9 ± 0.3* ^{NS}
Хлориды, ммоль/л	105.0 ± 0.4	109.4 ± 0.2*	109.9 ± 0.5* ^{NS}
Калий, ммоль/л	4.0 ± 0.1	5.1 ± 0.1*	5.1 ± 0.1* ^{NS}
Примечание – N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутривбрюшинным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$.			

Рост концентрации ГПП-1 в плазме крови был выявлен на 5 минуте только после перорального введения раствора Trizma.HCl (Рисунок 11).



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

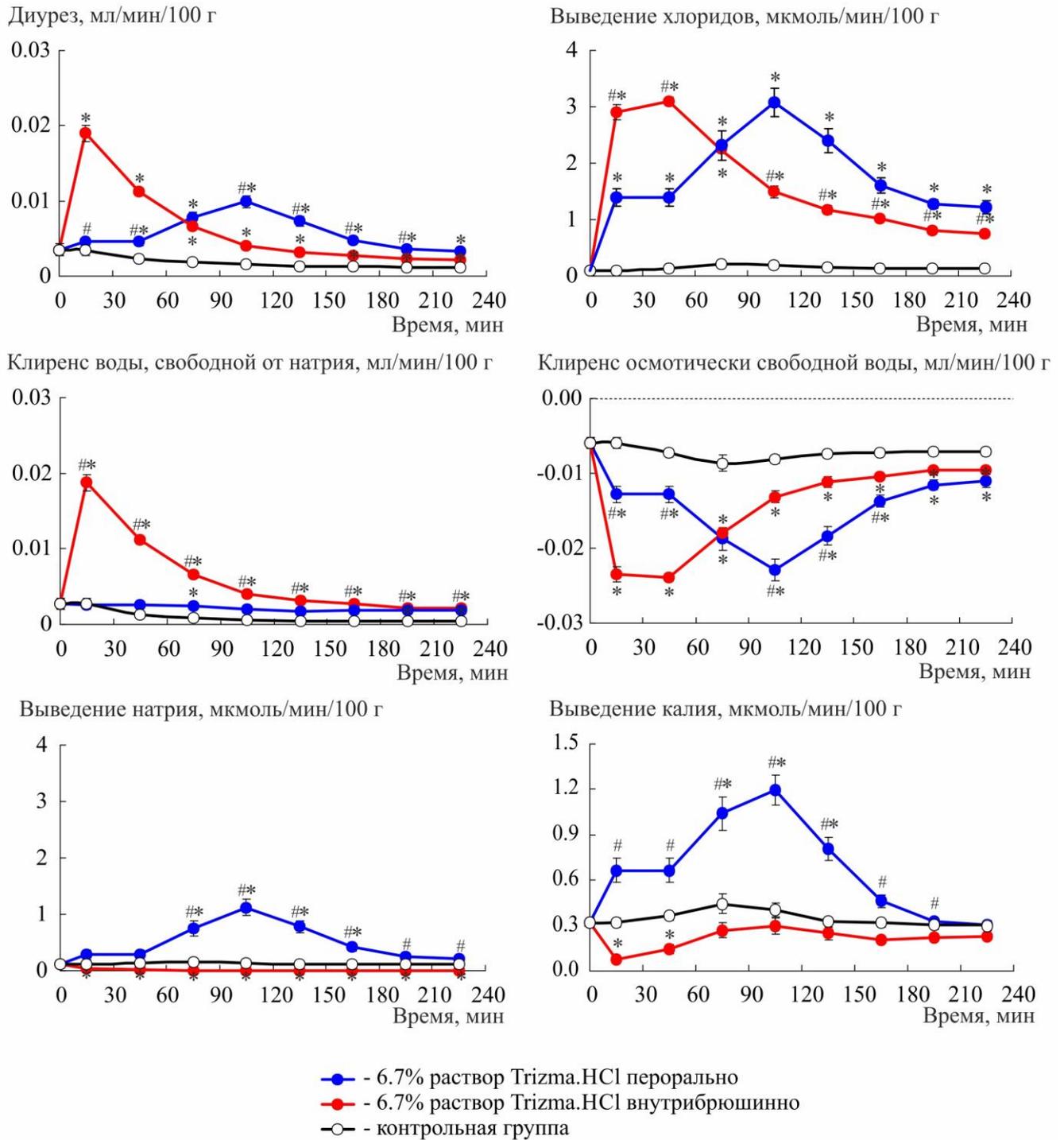
Рисунок 11 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови после перорального и внутрибрюшинного введения 6.7% раствора Trizma.HCl у крыс.

Поступление 6.7% раствора Trizma.HCl во внутреннюю среду организма приводит к изменению как осморегулирующей, так и ионорегулирующей функции почек. Внутрибрюшинное введение раствора вызвало больший рост диуреза за счет увеличения выведения свободной от натрия воды (Таблица 13). После внутрибрюшинного поступления раствора происходила реабсорбция, а после перорального – экскреция ионов натрия и калия (Таблица 13). Наблюдавшийся рост выведения осмотически активных веществ, хлорид-ионов и реабсорбции осмотически свободной воды, а также снижение клиренса креатинина не зависели от способа поступления избытка Trizma.HCl.

Таблица 13 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после внутрибрюшинного и перорального введения 6.7% раствора Trizma.HCl

Параметры, за 3 часа	Контрольная группа	6.7% раствор Trizma.HCl внутрибрюшинно	6.7% раствор Trizma.HCl перорально
N	10	10	10
V, мл	0.35 ± 0.04	1.41 ± 0.14*	1.17 ± 0.06*#
C _{Osm} , мл	1.69 ± 0.11	4.41 ± 0.11*	4.15 ± 0.18*NS
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.19 ± 0.02	1.39 ± 0.04*	0.40 ± 0.06*#
C _{H₂O} , мл	-1.34 ± 0.09	-3.00 ± 0.08*	-2.98 ± 0.13*NS
C _{Cr} , мл/МИН	0.32 ± 0.01	0.25 ± 0.01*	0.25 ± 0.01*NS
U _{Osm} V, мкОсмоль	504 ± 33	1313 ± 32*	1236 ± 55*NS
U _{Na} V, мкмоль	23.1 ± 3.9	2.6 ± 0.3*	108.9 ± 13.8*#
U _{Cl} V, мкмоль	27.4 ± 3.9	358 ± 9*	364 ± 21*NS
U _K V, мкмоль	65 ± 6	37 ± 6*	145 ± 10*#
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05, NS – p > 0.05; сравнение групп с пероральным и внутрибрюшинным введением раствора NaCl: # – p ≤ 0.05, NS – p > 0.05.			

При внутрибрюшинном введении раствора Trizma.HCl пик диуреза регистрировался на 22 ± 1 мин эксперимента, клиренса свободной от натрия воды – на 22 ± 2 мин, экскреции хлоридов – на 38 ± 4 мин, реабсорбции осмотически свободной воды – на 35 ± 4 мин, реабсорбции калия – на 32 ± 3 мин, реабсорбция натрия наблюдалась в течение всего времени эксперимента (Рисунок 12). При пероральном поступлении избытка Trizma.HCl пик клиренса свободной от натрия воды регистрировался на 119 ± 18 мин эксперимента, экскреции хлоридов и калия – на 121 ± 9 мин, реабсорбции осмотически свободной воды – на 124 ± 9 мин, диуреза – на 130 ± 8 мин, экскреции натрия – на 143 ± 14 мин (Рисунок 12).



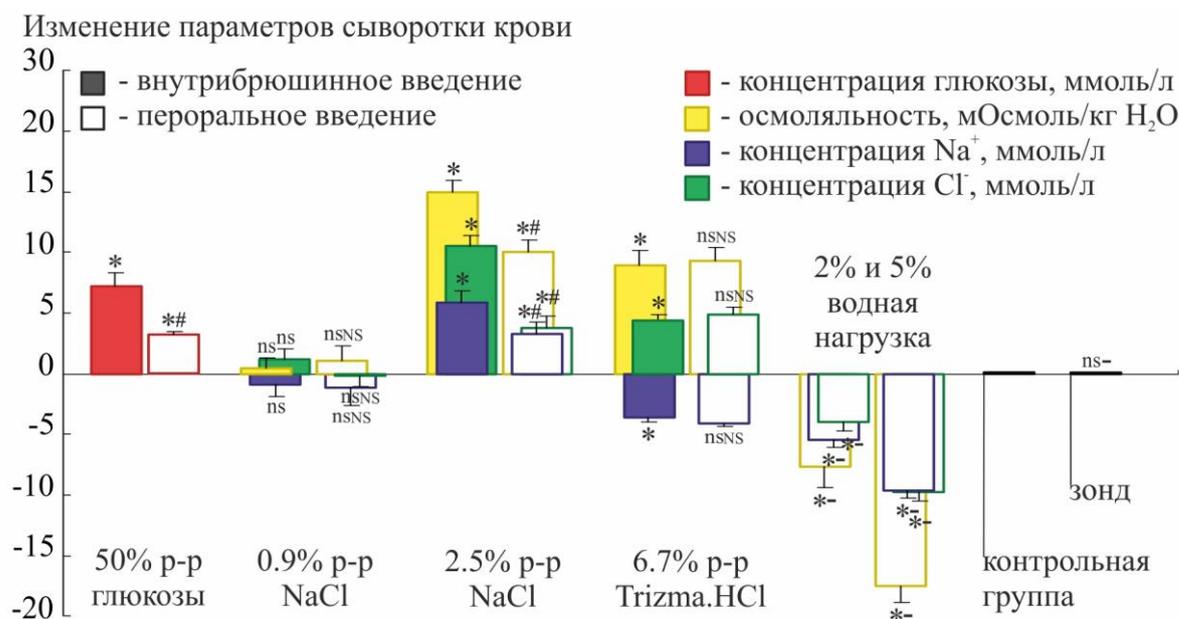
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$; сравнение групп с пероральным и внутрибрюшинным введением раствора NaCl: # – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30.

Рисунок 12 – Динамика диуреза, выведения ионов натрия, калия и хлорид-ионов, клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды после перорального и внутрибрюшинного введения 6.7% раствора Trizma.HCl у крыс.

Увеличение объема желудка вследствие раздувания эластичной резиновой камеры на конце зонда, также как и пероральное введение вышеописанных растворов, на 5 минуте

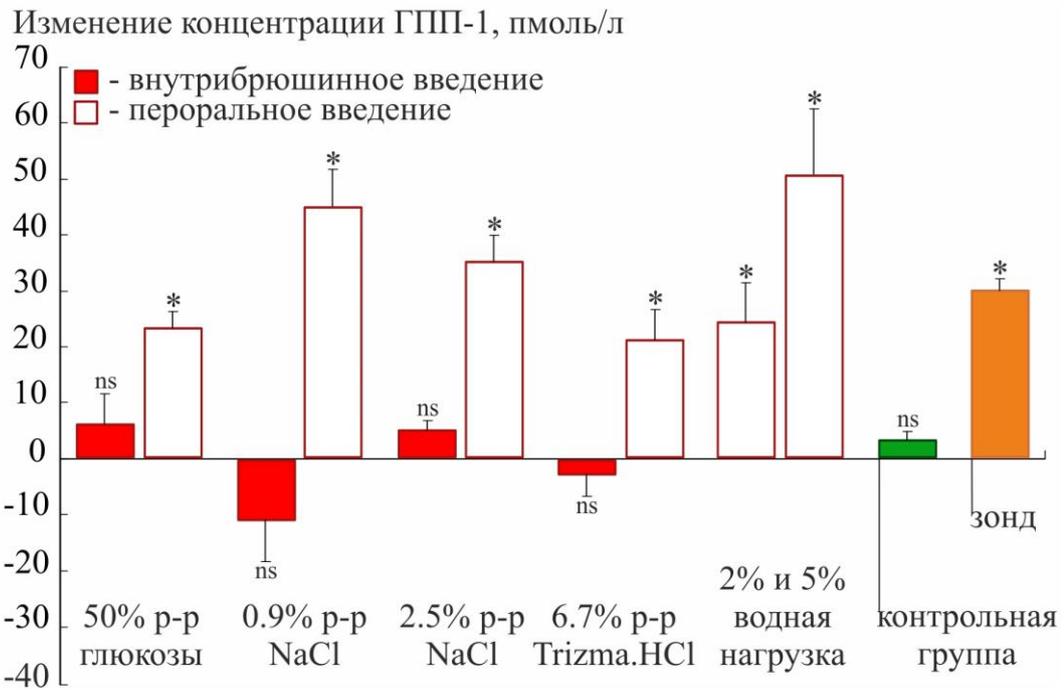
привело к увеличению концентрации ГПП-1 в плазме крови: Δ ГПП-1 после введения зонда – 29.8 ± 2.1 пмоль/л, Δ ГПП-1 в контрольной группе – 3.0 ± 1.6 пмоль/л ($p \leq 0.05$; $N = 20$).

Таким образом, несмотря на сопоставимое или более выраженное в случае некоторых внутрибрюшинных нагрузочных проб изменение параметров сыворотки крови (Рисунок 13), секреция ГПП-1 происходила только в ответ на пероральное поступление воды, растворов солей и глюкозы (Рисунок 14).



Примечание – Сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение между группами с пероральным и внутрибрюшинным введением растворов: # – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$, - - нет сравнения; N (число наблюдений) = 120.

Рисунок 13 – Изменение параметров сыворотки крови у крыс после перорального и внутрибрюшинного введения растворов и растяжения стенок желудка зондом.



Примечание – Сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 120.

Рисунок 14 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови у крыс после перорального и внутрибрюшинного введения растворов и растяжения стенок желудка зондом.

Растяжение желудка зондом не сопровождалось изменением состава сыворотки крови (Рисунок 13), но, несмотря на это, вызывало сопоставимый с пероральным введением нагрузочных проб рост концентрации ГПП-1 в плазме крови (Рисунок 14).

Полученные данные свидетельствуют о том, что стимулом для секреции ГПП-1 является растяжение стенок желудка. Повышение уровня ГПП-1 в плазме крови сопровождается более эффективной реакцией почки в ответ на сдвиги водно-солевого баланса, вызванные пероральным поступлением избытка воды и ионов в организм, что может свидетельствовать об участии ГПП-1 в поддержании гомеостаза внутренней среды.

3.3. Исследование механизма действия ГПП-1 в почке

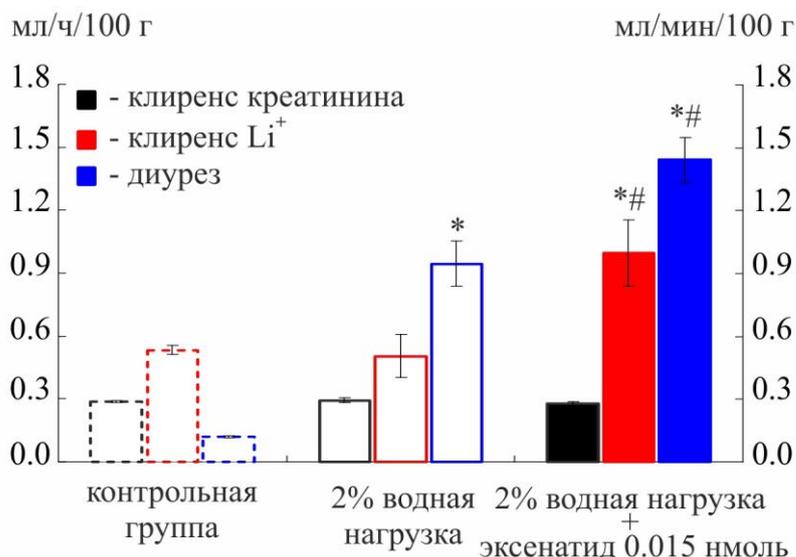
Поскольку ионы лития реабсорбируются в проксимальном канальце нефрона в равном соотношении с жидкостью [202, 306], увеличение клиренса лития при действии эксенатида на фоне водной нагрузки (Таблица 14) свидетельствует о снижении проксимальной реабсорбции жидкости, которая затем поступает в дистальные отделы нефрона.

Таблица 14 – Параметры функции почек после введения эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне пероральной водной нагрузки у крыс с достигнутой стабильной концентрацией ионов лития в сыворотке крови

Параметры, за 1 час	Контрольная группа	2% водная нагрузка +	
		-	эксенатид
N	10	10	10
V, мл	0.12 ± 0.01	0.94 ± 0.10*	1.44 ± 0.09*#
C _{Osm} , мл	0.43 ± 0.02	0.63 ± 0.04*	0.93 ± 0.04*#
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.09 ± 0.01	0.92 ± 0.10*	1.31 ± 0.09*#
C _{H₂O} , мл	-0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.08*	0.50 ± 0.08* ^{NS}
C _{Li} , мл	0.53 ± 0.04	0.50 ± 0.06 ^{ns}	1.00 ± 0.09*#
C _{Cr} , мл/мин	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01 ^{ns}	0.28 ± 0.01 ^{nsNS}
U _{Osm} V, мкОсмоль	129 ± 5	179 ± 12*	267 ± 10*#
U _{Na} V, мкмоль	3.8 ± 0.5	3.2 ± 0.1 ^{ns}	17.9 ± 4.3*#
U _K V, мкмоль	11.1 ± 1.1	5.0 ± 1.2*	18.6 ± 2.5 ^{ns#}
P _{Li} , ммоль/л	0.220 ± 0.002	0.220 ± 0.002 ^{ns}	0.220 ± 0.002 ^{nsNS}

Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение групп с введением 2% водной нагрузки: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.

Рост диуреза, наблюдающийся после введения эксенатида, сопровождается двукратным увеличением клиренса лития, при этом скорость клубочковой фильтрации (клиренс креатинина) остается неизменной (Рисунок 15).



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела за 1 ч; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение групп с введением 2% водной нагрузки: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05; N (число наблюдений) = 30.

Рисунок 15 – Диурез, клиренс лития и креатинина после введения эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне водной нагрузки у крыс с достигнутой стабильной концентрацией ионов лития в сыворотке крови.

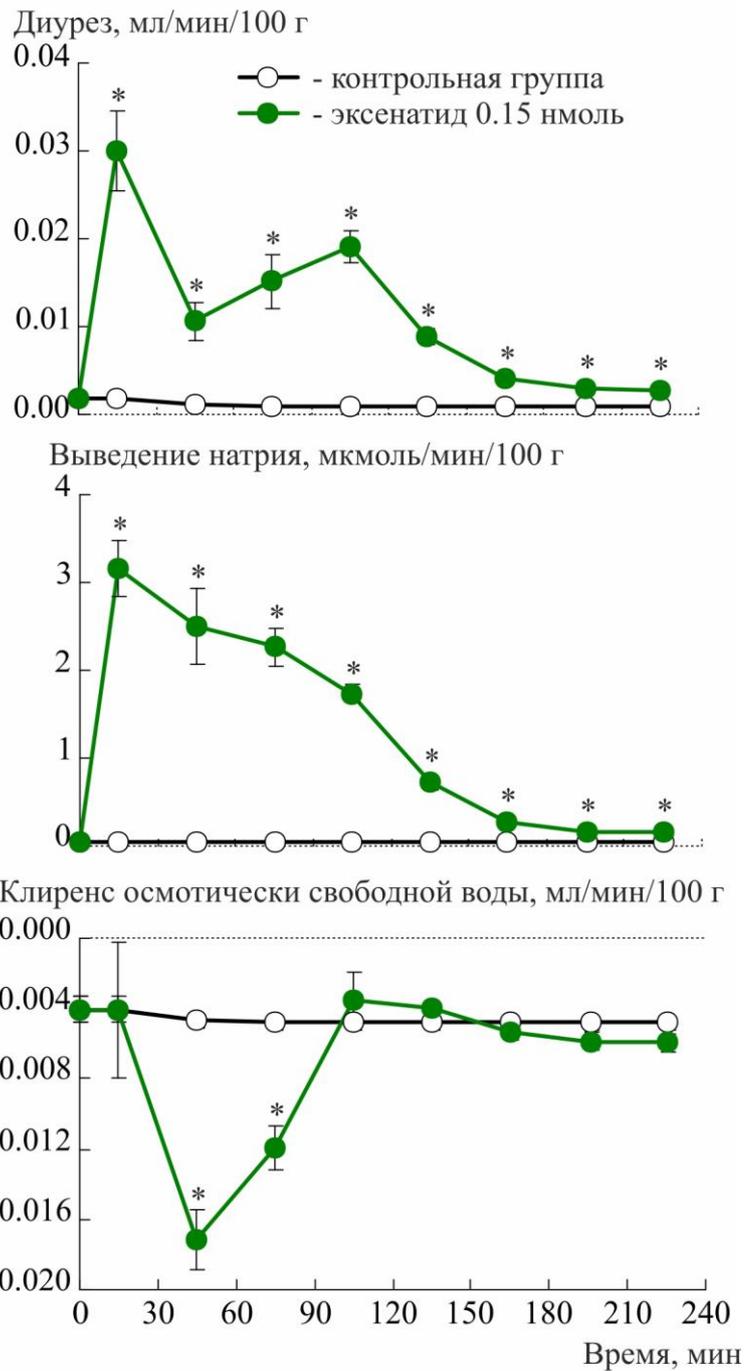
3.4. Влияние нативного гормона ГПП-1 и эксенатида на осморегулирующую и ионорегулирующую функции почек у крыс

При исследовании эффективности миметика ГПП-1, эксенатида, в диапазоне доз от 0.015 до 1.0 нмоль на 100 г массы тела выявлен рост диуреза за счет увеличения экскреции осмотически активных веществ и натрия в дозах от 0.05 до 1.0 нмоль на 100 г массы тела, экскреции калия – в дозах от 0.15 до 1.0 нмоль на 100 г массы тела и реабсорбции осмотически свободной воды – в дозах 0.5 и 1.0 нмоль на 100 г массы тела (Таблица 15). Максимально эффективной дозой препарата была 0.15 нмоль на 100 г массы тела (Таблица 15). Эксенатид ни в одной из изученных доз не оказал влияния на клиренс свободной от натрия воды и скорость клубочковой фильтрации (Таблица 15).

Изучение динамики действия эксенатида показало, что его влияние на диурез и экскрецию натрия в максимально эффективной дозе (0.15 нмоль) длилось в течение всего периода наблюдения (4 ч) и наиболее выражено первые 2 ч эксперимента (Рисунок 16). Пик диуреза, экскреции осмотически активных веществ и натрия в дозах от 0.05 до 1.0 нмоль на 100 г массы тела наблюдался в течение первого получаса эксперимента. Пик реабсорбции осмотически свободной воды в дозах 0.5 и 1.0 нмоль наблюдался в интервале 30-60 мин. Величина выведения натрия при действии эксенатида (1 нмоль) достигала 6.4 ± 0.8 мкмоль/мин на 100 г массы тела.

Таблица 15 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после введения эксенатида в неизмененных условиях водно-солевого баланса.

Параметры, за 2 ч	Контрольная группа	Эксенатид 0.015 нмоль	Эксенатид 0.05 нмоль	Эксенатид 0.15 нмоль	Эксенатид 0.5 нмоль	Эксенатид 1.0 нмоль
N	10	10	10	10	10	10
V, мл	0.14 ± 0.02	0.31 ± 0.05 ^{ns}	0.87 ± 0.16 ^{*NS}	2.25 ± 0.24 ^{*#}	2.44 ± 0.15 ^{*NS}	2.89 ± 0.24 ^{*NS}
C _{Osm} , мЛ	0.69 ± 0.06	0.99 ± 0.07 ^{ns}	1.75 ± 0.19 ^{*#}	3.35 ± 0.24 ^{*#}	3.89 ± 0.18 ^{*NS}	4.34 ± 0.23 ^{*NS}
C _{H₂O^{Na}} , мЛ	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.05 ^{ns}	0.23 ± 0.07 ^{nsNS}	0.19 ± 0.12 ^{nsNS}	-0.11 ± 0.11 ^{nsNS}	-0.19 ± 0.09 ^{nsNS}
C _{H₂O} , мЛ	-0.55 ± 0.06	-0.68 ± 0.06 ^{ns}	-0.88 ± 0.08 ^{nsNS}	-1.10 ± 0.12 ^{nsNS}	-1.45 ± 0.13 ^{*NS}	-1.45 ± 0.05 ^{*NS}
C _{Cr} , мЛ/мин	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.01 ^{ns}	0.33 ± 0.02 ^{nsNS}	0.31 ± 0.01 ^{nsNS}	0.32 ± 0.01 ^{nsNS}	0.33 ± 0.02 ^{nsNS}
U _{Osm} V, мкОсмоль	207 ± 17	295 ± 20 ^{ns}	522 ± 58 ^{*#}	999 ± 72 ^{*#}	1161 ± 54 ^{*NS}	1292 ± 68 ^{*NS}
U _{Na} V, мкмоль	4 ± 1	26 ± 6 ^{ns}	91 ± 18 ^{*NS}	290 ± 26 ^{*#}	360 ± 24 ^{*NS}	433 ± 30 ^{*NS}
U _K V, мкмоль	9 ± 2	23 ± 4 ^{ns}	28 ± 5 ^{nsNS}	37 ± 4 ^{*NS}	42 ± 3 ^{*NS}	55 ± 5 ^{*NS}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение с предшествующей группой: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.						



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

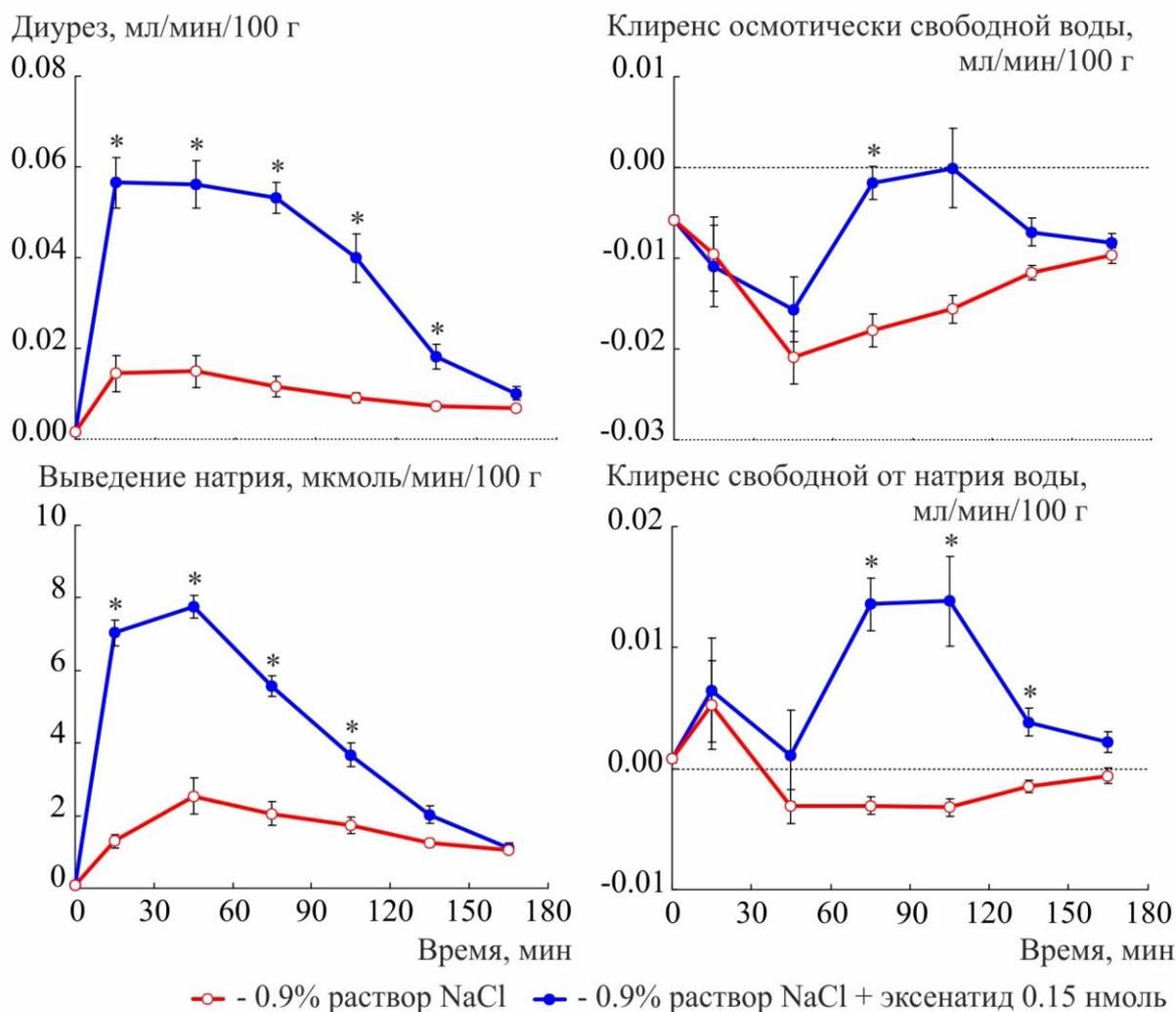
Рисунок 16 – Динамика диуреза, выведения ионов натрия и клиренса осмотически свободной воды при внутримышечном введении эксенатида в дозе 0.15 нмоль у крыс.

Для оценки влияния на ионорегулирующую функцию почек эксенатид в максимально эффективной дозе (0.15 нмоль) был введен на фоне 0.9% раствора хлорида натрия. Препарат вызвал рост диуреза, обусловленный увеличением выведения осмотически активных веществ и ионов натрия первые 60 мин эксперимента, а в последующем также возрастанием клиренса свободной от натрия воды и уменьшением реабсорбции осмотически свободной воды (Таблица

16, Рисунок 17). Скорость клубочковой фильтрации и выведение калия не менялись (Таблица 16). Эффект эксенатида на диурез и натрийурез длился в течение 2.5 и 2 ч, соответственно ($p \leq 0.05$) (Рисунок 17). Пик диуреза наблюдался в течение первых 15 мин эксперимента, экскреции осмотически активных веществ и натрия (8.4 ± 0.4 мкмоль/мин на 100 г массы тела) – в интервале 30-60 мин (Рисунок 17). Уменьшение реабсорбции осмотически свободной воды и рост клиренса свободной от натрия воды совпадали с началом снижения эффекта эксенатида на экскрецию натрия и наблюдались в интервалах 60-90 и 60-150 мин, соответственно (Рисунок 17).

Таблица 16 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после введения эксенатида в дозе 0.15 нмоль на фоне 0.9% перорального раствора хлорида натрия

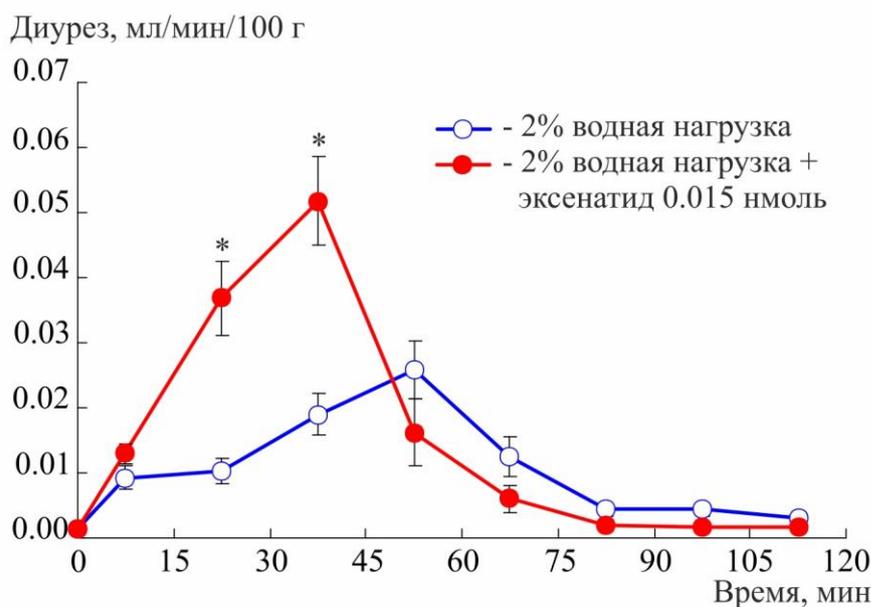
Параметры, за 2.5 ч	0.9% раствор NaCl	0.9% раствор NaCl + эксенатид
N	10	10
V, мл	1.72 ± 0.30	$6.72 \pm 0.16^*$
C_{Osm} , мЛ	3.99 ± 0.35	$7.78 \pm 0.19^*$
$C_{H_2O}^{Na}$, мЛ	-0.17 ± 0.14	$1.30 \pm 0.12^*$
C_{H_2O} , мЛ	-2.27 ± 0.24	$-1.06 \pm 0.13^*$
C_{Cr} , мл/мин	0.34 ± 0.01	0.33 ± 0.01^{ns}
$U_{Osm}V$, мкОсмоль	1188 ± 106	$2319 \pm 58^*$
$U_{Na}V$, мкмоль	266 ± 34	$782 \pm 17^*$
U_KV , мкмоль	96 ± 11	115 ± 10^{ns}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с контрольной группой: * – $p \leq 0.05$, ns – $p > 0.05$.		



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой без введения эксенатида: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

Рисунок 17 – Динамика диуреза, выведения ионов натрия, клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды при внутримышечном введении эксенатида в дозе 0.15 нмоль на фоне перорального введения 0.9% раствора NaCl у крыс.

Для оценки влияния инкретиномиметика на осморегулирующую функцию почек эксенатид вводили на фоне 2% пероральной водной нагрузки. Максимальное влияние эксенатида на выведение воды почкой наблюдалось в дозе 0.015 нмоль и длилось в течение первых 45 минут (Рисунок 18). Препарат смещал пик водного диуреза с 57 ± 3 на 36 ± 2 мин от начала эксперимента ($p \leq 0.05$).



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 20.

Рисунок 18 – Динамика диуреза после инъекции эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне 2% водной нагрузки.

Миметик не только ускорял, но и усиливал водный диурез, экскрецию осмотически свободной и свободной от натрия воды, наблюдался рост скорости клубочковой фильтрации (Таблица 17). Отмечалось умеренное увеличение выведения осмотически активных веществ за счет ионов натрия и калия (Таблица 17).

Таблица 17 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после введения эксенатида в дозе 0.015 нмоль на фоне 2% пероральной водной нагрузки

Параметры, за 90 мин	2% водная нагрузка	2% водная нагрузка + эксенатид
N	10	10
V, мл	0.58 ± 0.10	$1.52 \pm 0.01^*$
C_{Osm} , мл	0.34 ± 0.04	$0.57 \pm 0.05^*$
$C_{H_2O}^{Na}$, мл	0.56 ± 0.10	$1.40 \pm 0.12^*$
C_{H_2O} , мл	0.23 ± 0.07	$0.96 \pm 0.12^*$
C_{Cr} , мл/мин	0.28 ± 0.02	$0.34 \pm 0.02^*$
$U_{Osm}V$, мкОсмоль	102 ± 11	$169 \pm 15^*$
$U_{Na}V$, мкмоль	2.2 ± 0.5	$17.3 \pm 3.3^*$
U_KV , мкмоль	1.0 ± 0.1	$4.2 \pm 0.7^*$
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой, получившей только 2% водную нагрузку: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$.		

Таким образом, эксенатид оказал диуретическое и натрийуретическое действие в

широком диапазоне доз в стандартных условиях, взаимодействуя с рецептором ГПП-1 в проксимальном канальце нефрона. Миметик ГПП-1 продемонстрировал влияние на ионо- и осморегулирующую функции почек при изменении водно-солевого баланса организма животных. Препарат способствовал значительному увеличению выведения избытка натрия и воды из организма, вызывая восстановление водно-солевого гомеостаза.

Полученные данные были сопоставлены с эффектом нативного гормона ГПП-1. Регуляторный пептид ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль при циркуляции фермента ДПП-4 не влиял на ионо- и осморегулирующую функции почек как в стандартных, так и в измененных условиях водно-солевого баланса. Диурез, экскреция осмотически активных веществ, ионов натрия и калия, клиренс осмотически свободной и свободной от натрия воды не менялись (Таблица 18). Отмечалось небольшое увеличение скорости клубочковой фильтрации в стандартных условиях водно-солевого баланса (Таблица 18).

Таблица 18 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс после введения ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль в неизмененных условиях водно-солевого баланса и на фоне нагрузок

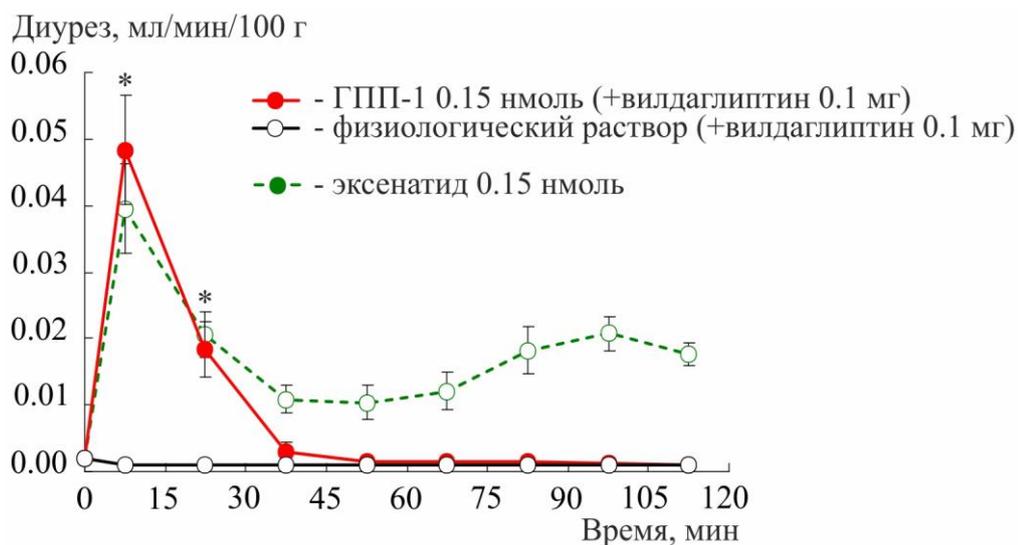
Параметры	-		2% водная нагрузка +		0.9% раствор NaCl +	
	-	ГПП-1	-	ГПП-1	-	ГПП-1
Время	1 час		90 мин		2 часа	
N	10	10	10	10	10	10
V, мл	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.02 ^{ns}	1.42 ± 0.06	1.27 ± 0.12 ^{ns}	1.89 ± 0.24	2.07 ± 0.34 ^{ns}
C _{Osm} , мл	0.37 ± 0.02	0.41 ± 0.03 ^{ns}	0.66 ± 0.03	0.70 ± 0.04 ^{ns}	3.31 ± 0.21	3.59 ± 0.36 ^{ns}
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02 ^{ns}	1.38 ± 0.06	1.21 ± 0.11 ^{ns}	-0.21 ± 0.10	-0.23 ± 0.10 ^{ns}
C _{H₂O} , мл	-0.30 ± 0.02	-0.31 ± 0.02 ^{ns}	0.76 ± 0.05	0.57 ± 0.09 ^{ns}	-1.42 ± 0.07	-1.51 ± 0.08 ^{ns}
C _{Cr} , мл/мин	0.25 ± 0.02	0.31 ± 0.02*	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.02 ^{ns}	0.30 ± 0.01	0.31 ± 0.01 ^{ns}
U _{Osm} V, мкОсмоль	109 ± 6	122 ± 8 ^{ns}	197 ± 10	209 ± 11 ^{ns}	985 ± 63	1069 ± 107 ^{ns}
U _{Na} V, мкмоль	7 ± 1	7 ± 1 ^{ns}	5 ± 1	8 ± 1 ^{ns}	295 ± 25	325 ± 46 ^{ns}
U _K V, мкмоль	8 ± 1	12 ± 2 ^{ns}	12 ± 2	12 ± 2 ^{ns}	60 ± 7	77 ± 9 ^{ns}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой без введения ГПП-1 в каждой паре: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.						

В стандартных условиях водно-солевого баланса при защите вилдаглиптином (ингибитор ДПП-4, 0.1 мг) ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль увеличил диурез за счет роста экскреции осмотически активных веществ, ионов натрия и калия (Таблица 19). Параллельно с этим возросла реабсорбция осмотически свободной воды (Таблица 19). ГПП-1 не оказал влияния на экскрецию свободной от натрия воды и скорость клубочковой фильтрации (Таблица 19).

Таблица 19 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс при введении ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль в неизменных условиях водно-солевого баланса и на фоне нагрузок с предварительным введением ингибитора ДПП-4, вилдаглиптина в дозе 0.1 мг

Параметры	Вилдаглиптин +					
	-		2% водная нагрузка +		0.9% раствор NaCl +	
	-	ГПП-1	-	ГПП-1	-	ГПП-1
Время	1 час		90 мин		2 часа	
N	10	10	10	10	10	10
V, мл	0.05 ± 0.01	1.07 ± 0.16*	1.24 ± 0.09	2.68 ± 0.10*	1.99 ± 0.18	2.83 ± 0.22*
C _{Osm} , мЛ	0.34 ± 0.02	1.50 ± 0.16*	0.79 ± 0.03	2.07 ± 0.09*	3.38 ± 0.17	4.11 ± 0.21*
C _{H₂O^{Na}} , мЛ	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.03 ^{ns}	1.16 ± 0.08	1.50 ± 0.10*	-0.17 ± 0.08	-0.19 ± 0.05 ^{ns}
C _{H₂O} , мЛ	-0.28 ± 0.02	-0.43 ± 0.05*	0.44 ± 0.07	0.61 ± 0.10 ^{ns}	-1.39 ± 0.07	-1.28 ± 0.07 ^{ns}
C _{Cr} , мл/мин	0.26 ± 0.01	0.31 ± 0.02 ^{ns}	0.31 ± 0.01	0.32 ± 0.01 ^{ns}	0.27 ± 0.02	0.29 ± 0.02 ^{ns}
U _{Osm} V, мкОсмоль	100 ± 5	447 ± 49*	236 ± 9	617 ± 27*	1008 ± 49	1225 ± 64*
U _{Na} V, мкмоль	5 ± 1	150 ± 20*	11 ± 2	166 ± 8*	305 ± 23	426 ± 30*
U _K V, мкмоль	9 ± 1	28 ± 5*	11 ± 2	32 ± 3*	60 ± 5	57 ± 4 ^{ns}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой без введения ГПП-1 в каждой паре: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.						

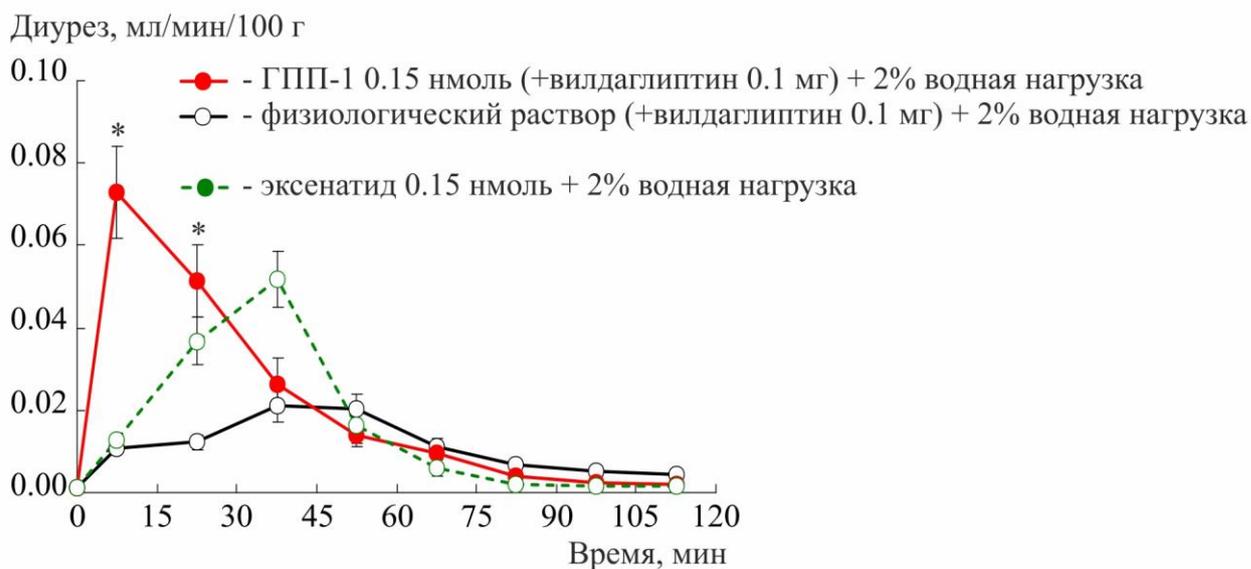
Оценка динамики показала, что эффект препарата длился в течение 30 мин и совпадал с максимумом действия эксенатида (Рисунок 19). Пик диуреза, экскреции осмотически активных веществ и натрия наблюдались в интервале 0-15 мин, пик реабсорбции осмотически свободной воды – с 15 по 30 мин, что совпадало с динамикой действия инкретиномиметика (Рисунок 19). Величина экскреции натрия на пике действия ГПП-1 достигла 6.1 ± 0.9 мкмоль/мин на 100 г массы тела и была сопоставима с таковой для эксенатида.



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой без введения ГПП-1: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30; эксенатид представлен на графике с целью наглядного сравнения динамики диуреза.

Рисунок 19 – Динамика диуреза после внутримышечной инъекции ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль у крыс в стандартных условиях водно-солевого баланса.

ГПП-1, защищенный от деградации вилдаглиптином, в условиях водной нагрузки оказал выраженное влияние на осморегулирующую функцию почек. Диурез возрос за счет свободной от натрия воды (Таблица 19). Продолжительность водного диуреза составила 30 мин от начала эксперимента. ГПП-1 значительно ускорил выведение избытка воды почками: пик диуреза сместился с 55 ± 3 на 14 ± 2 мин (Рисунок 20), экскреции осмотически свободной и свободной от натрия воды – с 56 ± 3 на 17 ± 2 мин ($p \leq 0.05$). Выведение осмотически свободной и свободной от натрия воды на пике действия препарата возрастает в 2 и 3 раза (сопоставимо с эксенатидом) и достигает 0.02 ± 0.01 мл и 0.04 ± 0.01 мл/мин на 100 г массы тела, соответственно ($p \leq 0.05$).

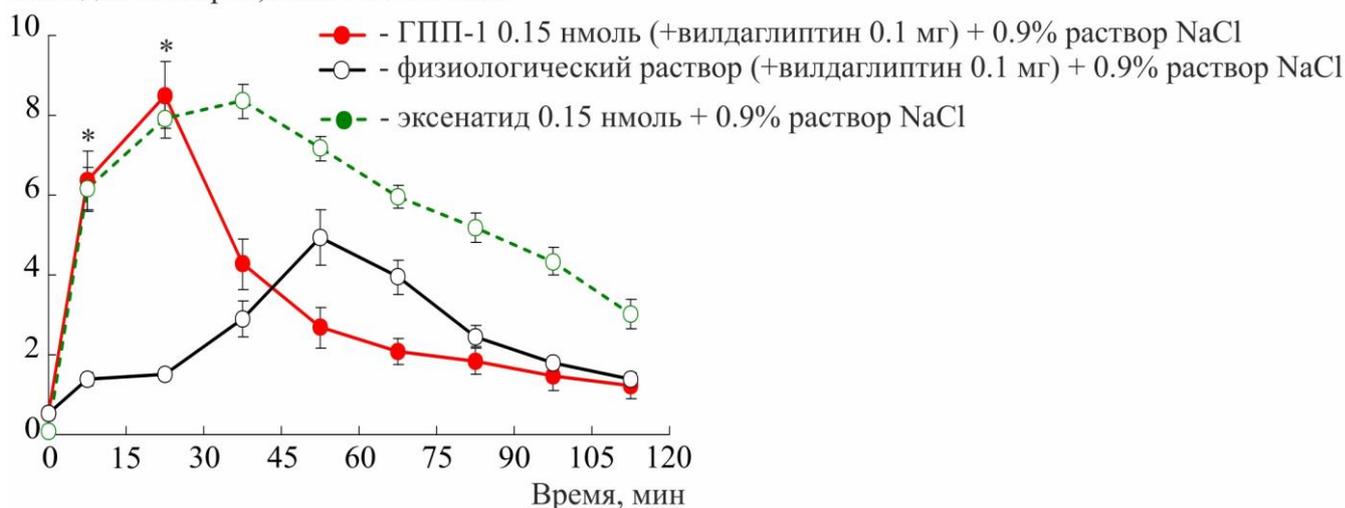


Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой без введения ГПП-1: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30; эксенатид представлен на графике с целью наглядного сравнения динамики диуреза.

Рисунок 20 – Динамика диуреза после введения ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль на фоне 2% пероральной водной нагрузки у крыс.

ГПП-1 на фоне блокады фермента ДПП-4 вилдаглиптином способствовал выведению избытка натрия, поступившего в виде 0.9% раствора NaCl. Наблюдался рост диуреза за счет увеличения экскреции осмотически активных веществ и ионов натрия (Таблица 19). Продолжительность основного эффекта составляла 30 мин от начала эксперимента и соответствовала максимуму действия эксенатида (Рисунок 21). ГПП-1 сместил пик диуреза с 66 ± 4 на 14 ± 1 мин ($p \leq 0.05$), пик экскреции осмотически активных веществ и натрийуреза – с 61 ± 4 на 15 ± 1 мин ($p \leq 0.05$) (Рисунок 21). Выведение натрия на пике действия препарата достигло 8.5 ± 0.8 мкмоль/мин на 100 г массы тела.

Выведение натрия, мкмоль/мин/100 г



Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; сравнение с группой без введения ГПП-1: * – $p \leq 0.05$; N (число наблюдений) = 30; эксенатид представлен на графике с целью наглядного сравнения динамики выведения натрия почками.

Рисунок 21 – Динамика выведения натрия после введения ГПП-1 в дозе 0.15 нмоль на фоне перорального введения 0.9% раствора NaCl.

Инъекция инкретина с предшествующим введением вилдаглиптина, позволяет оценить эффект ГПП-1 на ионо- и осморегулирующую функции почек. Влияние пептида на выведение избытка натрия сопоставимо по величине эффекта с максимумом действия его синтетического миметика, защищенного от деградации. Нативный гормон ускоряет выведение натрия из организма, однако продолжительность его действия уступает эксенатиду, в результате чего суммарное влияние инкретиномиметика на ионорегулирующую функцию почек превосходит эффект инкретина. Эффект ГПП-1 на осморегулирующую функцию почек уступает миметику по величине и продолжительности действия.

Внутрибрюшинное введение вилдаглиптина в дозе 0.1 мг на 100 г массы тела через 30 мин вызвало снижение активности ДПП-4 до 1.60 ± 0.12 мЕд/мкл (в контроле – 1.96 ± 0.09 мЕд/мкл, $p \leq 0.05$). Вилдаглиптин в дозе 0.1 мг не оказал влияния на функциональные параметры почек крыс в неизмененных условиях водно-солевого баланса (Таблица 20). Вилдаглиптин в дозе 0.1 мг на фоне 2% пероральной водной нагрузки вызвал небольшое увеличение экскреции осмотически активных веществ и ионов натрия (Таблица 20). На фоне перорального поступления 2.5% раствора хлорида натрия вилдаглиптин в дозе 0.1 мг умеренно увеличил экскрецию избытка натрия и усилил реабсорбцию свободной от натрия воды (Таблица 20).

Таблица 20 – Параметры осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек крыс при введении вилдаглиптина в дозе 0.1 мг в неизменных условиях водно-солевого баланса и на фоне нагрузок

Параметры	-		2% водная нагрузка +		2.5% раствор NaCl +	
	-	Вилдаглиптин	-	Вилдаглиптин	-	Вилдаглиптин
Время	1 час		90 мин		2 часа	
N	10	10	10	10	10	10
V, мл	0.18 ± 0.06	0.16 ± 0.04 ^{ns}	0.92 ± 0.05	1.07 ± 0.10 ^{ns}	1.12 ± 0.08	1.28 ± 0.08 ^{ns}
C _{Osm} , мЛ	0.59 ± 0.04	0.60 ± 0.03 ^{ns}	0.65 ± 0.04	0.84 ± 0.04*	3.83 ± 0.19	4.13 ± 0.18 ^{ns}
C _{H₂O^{Na}} , мл	0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.04 ^{ns}	0.88 ± 0.05	0.99 ± 0.09 ^{ns}	-1.32 ± 0.06	-1.80 ± 0.10*
C _{H₂O} , мл	-0.41 ± 0.05	-0.44 ± 0.05 ^{ns}	0.27 ± 0.04	0.23 ± 0.08 ^{ns}	-2.70 ± 0.14	-2.85 ± 0.11 ^{ns}
C _{Cr} , мл/мин	0.30 ± 0.02	0.33 ± 0.01 ^{ns}	0.25 ± 0.02	0.28 ± 0.01 ^{ns}	0.26 ± 0.01	0.29 ± 0.2 ^{ns}
U _{Osm} V, мкОсмоль	176 ± 11	178 ± 10 ^{ns}	192 ± 11	250 ± 12*	1140 ± 57	1231 ± 53 ^{ns}
U _{Na} V, мкмоль	16 ± 2	13 ± 4 ^{ns}	6 ± 1	10 ± 1*	344 ± 19	433 ± 24*
U _{Cl} V, мкмоль	8 ± 2	7 ± 1 ^{ns}	-	-	-	-
U _K V, мкмоль	13 ± 2	11 ± 1 ^{ns}	8 ± 1	14 ± 2 ^{ns}	101 ± 9	119 ± 7 ^{ns}
Примечание – Показатели функции почек и дозы рассчитаны на 100 г массы тела; N – число наблюдений; сравнение с группой без введения вилдаглиптина в каждой паре: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.						

3.5. Стимуляция секреции ГПП-1 водной нагрузкой у человека

3.5.1. Здоровые взрослые и дети

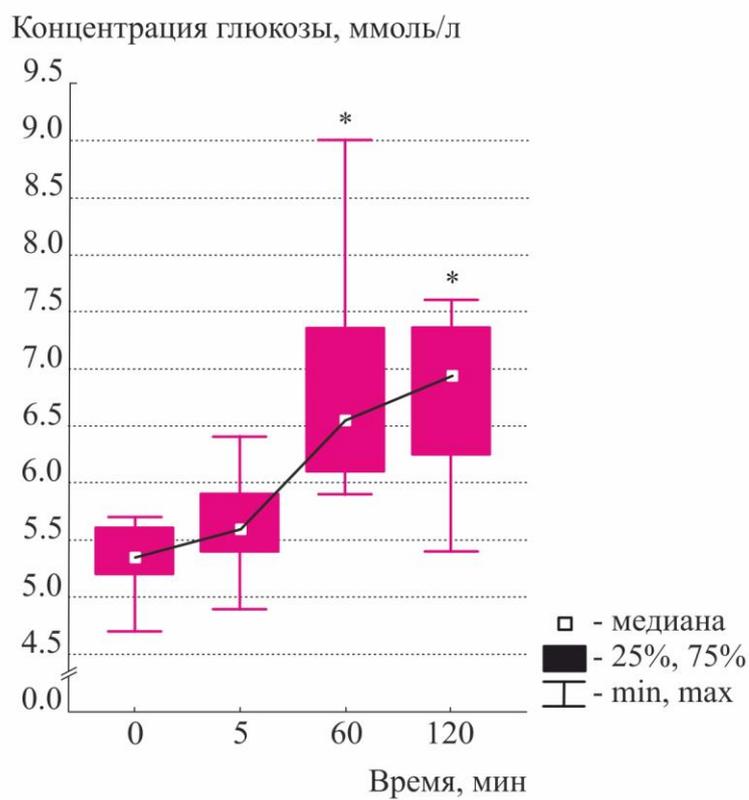
У здоровых взрослых концентрацию ГПП-1 в плазме крови измеряли после питья 1% водной нагрузки и сопоставляли с концентрацией пептида после проведения теста на толерантность к глюкозе. Для понимания стимулов секреции ГПП-1 также оценивали осмоляльность и содержание ионов в сыворотке крови после водной нагрузки и уровень гликемии после теста на толерантность к глюкозе.

Осмоляльность сыворотки крови у взрослых добровольцев в исходном периоде составила 290 [288; 297] мОсмоль/кг H₂O и уменьшилась к 15 мин после питья воды (Таблица 21). Водная нагрузка вызвала снижение концентрации ионов натрия и хлорид-ионов к 5 мин от начала исследования, дальнейшее ее снижение к 15 мин не отличалось от предшествующего значения (Таблица 21). Концентрации ионов калия, магния и кальция не менялись после потребления воды (Таблица 21).

Таблица 21 – Показатели сыворотки крови здоровых взрослых через 5 и 15 мин после 1% водной нагрузки

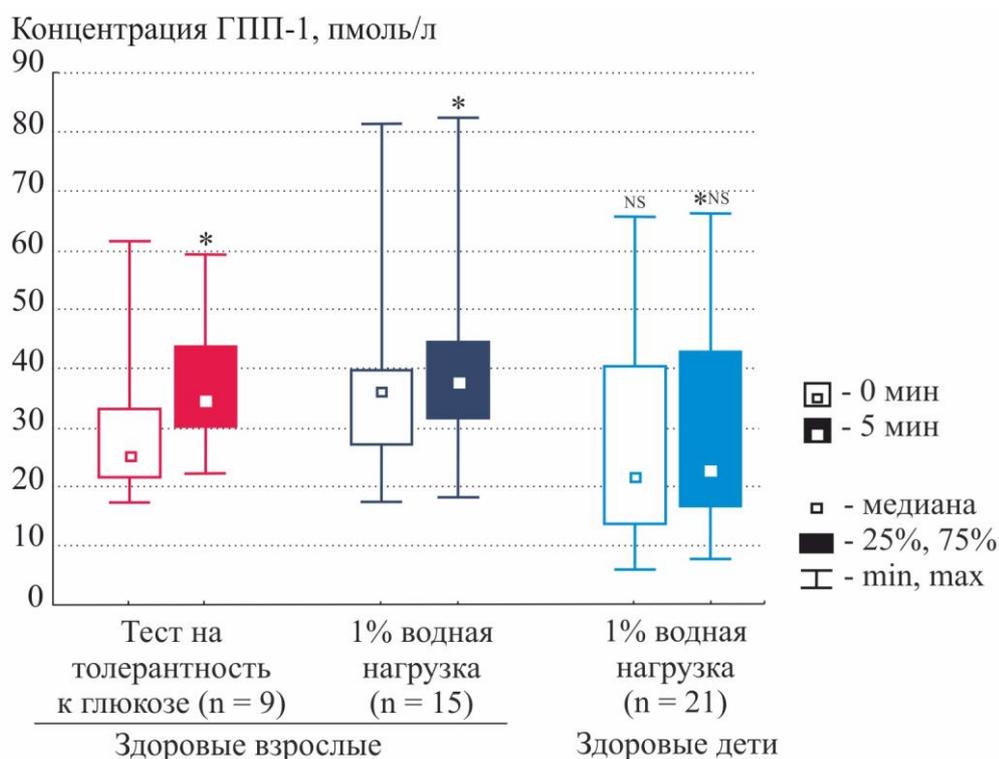
Показатель	0 мин	5 мин	15 мин
N	15		
P _{Osm} , мОсмоль/кг H ₂ O	291 [288; 297]	289 [285; 293] ^{ns}	287 [283; 292] ^{*#}
P _{Na} , ммоль/л	140 [137; 141]	138 [136; 139] [*]	137 [136; 138] ^{*NS}
P _{Cl} , ммоль/л	104.1 [102.3; 105.8]	103.8 [102.3; 104.6] [*]	102.6 [101.6; 104.2] ^{*NS}
P _K , ммоль/л	4.2 [4.1; 4.6]	4.2 [4.1; 4.4] ^{ns}	4.2 [3.9; 4.4] ^{nsNS}
P _{Mg} , ммоль/л	0.66 [0.60; 0.72]	0.62 [0.60; 0.68] ^{ns}	0.64 [0.60; 0.70] ^{nsNS}
P _{Ca} , ммоль/л	2.2 [2.1; 2.4]	2.1 [2.0; 2.5] ^{ns}	2.2 [2.0; 2.3] ^{nsNS}
Примечание – N – число наблюдений; сравнение с исходным периодом (0 мин): * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение с предшествующим значением: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.			

Базальный уровень глюкозы в сыворотке крови здоровых добровольцев составил 5.4 [5.2; 5.5] ммоль/л, через 5 мин после проведения теста на толерантность к глюкозе ее концентрация достоверно не отличалась от исходных значений (Рисунок 22). Максимальный рост гликемии наблюдался на 60 мин, повышенный уровень глюкозы сохранялся к 120 мин обследования (Рисунок 22). У взрослых концентрация ГПП-1 в плазме крови увеличивается на 5-ой мин при поступлении в желудок раствора глюкозы и воды на 8.0 [0.8; 12.8] и 2.6 [1.5; 5.8] пмоль/л, соответственно (Рисунок 23).



Примечание – Сравнение с исходным периодом (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; N (число наблюдений) = 9.

Рисунок 22 – Концентрация глюкозы в сыворотке крови у здоровых взрослых после теста на толерантность к глюкозе.



Примечание – Здоровые взрослые: тест на толерантность к глюкозе, N (число наблюдений) = 9, 1% водная нагрузка, N = 15; здоровые дети: 1% водная нагрузка, N = 21; сравнение с исходным периодом (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение с группой здоровых взрослых, получивших водную нагрузку, в исходном периоде (0 мин) и после водной нагрузки (5 мин): # – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$.

Рисунок 23 – Концентрация ГПП-1 в плазме крови через 5 мин после нагрузок у здоровых взрослых и детей.

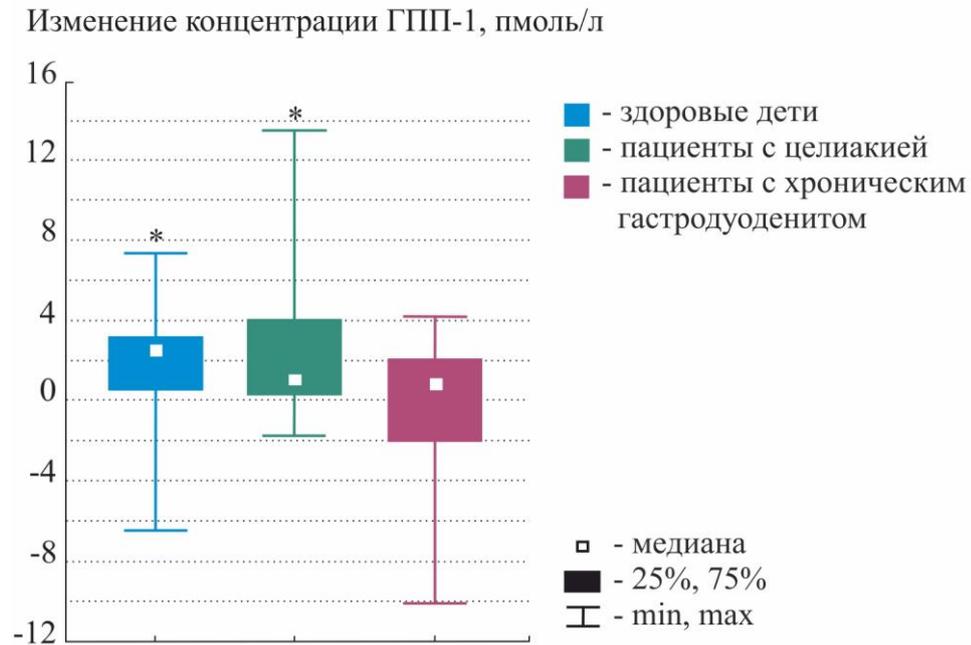
При измерении уровня ГПП-1 у здоровых детей базальная концентрация пептида составила 21.3 [13.6; 40.2] пмоль/л (Рисунок 23). Водная нагрузка стимулировала секрецию ГПП-1, прирост концентрации пептида в плазме крови у детей составил 2.7 [0.6; 3.2] пмоль/л от базального уровня ($p \leq 0.05$) и был сопоставим с таковым у здоровых взрослых (Рисунок 23).

3.5.2. Целиакия и хронический гастродуоденит у детей

Как шла речь выше (в главе 1), локус секреции ГПП-1 находится в тонком кишечнике. В связи с этим представляло интерес обследовать детей с патологией этих сегментов желудочно-кишечного тракта.

При измерении уровня ГПП-1 установлено, что базальная концентрация пептида в плазме крови при целиакии и хроническом гастродуодените была равна 21.5 [12.0; 44.7] и 32.4 [8.0; 51.1] пмоль/л, соответственно, и не отличалась от уровня здоровых детей – 21.3 [13.6; 40.2] ($p > 0.05$). Водная нагрузка при целиакии стимулировала рост концентрации ГПП-1 в плазме

крови по сравнению с базальным уровнем ($p \leq 0.05$), в то время как у пациентов с хроническим гастродуоденитом изменения уровня ГПП-1 не происходило ($p > 0.05$) (Рисунок 24).



Примечание – Здоровые дети, N (число наблюдений) = 21; целиакия, N = 16; хронический гастродуоденит, N = 19; сравнение с исходным уровнем (0 мин): * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$.

Рисунок 24 – Изменение концентрации ГПП-1 в плазме крови у детей после 1% водной нагрузки.

3.6. Функция почек после водной нагрузки у человека

3.6.1. Здоровые дети и взрослые

В исходный период, когда отсутствует поступление жидкости в организм, вазопрессин секретируется гипофизом в кровь, что приводит к работе почек в режиме антидиуреза, наблюдается реабсорбция осмотически свободной воды (Таблица 22).

Таблица 22 – Показатели осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек у здоровых детей в исходном периоде и через час после 1% водной нагрузки

Параметр	Исходный период	1% водная нагрузка
N	21	
V, мл/ч	24 [14; 33]	183 [130; 281]*
C _{Osm} , мл/ч	69 [41; 87]	130 [94; 142]*
C _{H₂O} , мл/ч	-42 [-66; -22]	89 [19; 122]*
C _{H₂O^{Na}} , мл/ч	5 [1; 13]	168 [91; 238]*
C _{Cr} , мл/мин	119 [106; 130]	113 [100; 149] ^{ns}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	20 [12; 26]	39 [28; 42]*
U _{Na} V, ммоль/ч	2.6 [0.7; 3.8]	4.4 [2.1; 5.6]*
U _K V, ммоль/ч	1.6 [1.0; 2.2]	4.3 [3.0; 5.6]*
U _{Mg} V, ммоль/ч	0.07 [0.05; 0.10]	0.10 [0.06; 0.12] ^{ns}
U _{Ca} V, ммоль/ч	0.007 [0.005; 0.011]	0.018 [0.009; 0.028]*
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение с исходным периодом: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.		

После водной нагрузки почки здорового ребенка в течение 1-го часа выделяют 36% [30; 53] от объема выпитой воды. Угнетение секреции вазопрессина водной нагрузкой привело к снижению осмотической проницаемости стенки почечных канальцев, это вызвало рост диуреза за счет увеличения клиренса осмотически свободной воды на фоне стабильной скорости клубочковой фильтрации (Таблица 22). Наблюдался значительный прирост клиренса свободной от натрия воды (Таблица 22). После питья воды у испытуемых отмечено небольшое увеличение экскреции осмотически активных веществ, в том числе выведения ионов натрия, калия и кальция, экскреция ионов магния осталась неизменной (Таблица 22).

Реакция организма ребенка на водную нагрузку зависит от исходного состояния водного баланса. Для выяснения правомочности этого предположения параметры осморегулирующей функции почек по данным ночных проб мочи были сопоставлены с величинами после водной нагрузки у каждого ребенка. У здоровых детей происходило тем более выраженное снижение осмоляльности мочи, чем ниже была ее осмоляльность в контрольном периоде ($r = 0.62$, $N = 21$, $p \leq 0.05$). Эффективность осморегулирующей функции почек зависит от стабилизации концентрации ионов натрия в сыворотке крови. Сопоставление клиренса свободной от натрия воды до и после питья воды у здоровых детей выявило зависимость между величиной этого показателя после ночного сна и после пробы с водной нагрузкой ($r = 0.54$, $N = 21$, $p \leq 0.05$). Состояние системы, поддерживающей постоянство объема внеклеточной жидкости, определяется величиной клиренса натрия и взаимосвязью ее величины в исходном периоде и после питья воды. Установлена взаимосвязь клиренса натрия после водной нагрузки и в контрольном периоде у здоровых детей ($r = 0.72$, $N = 21$, $p \leq 0.05$).

Почки взрослых людей в исходном периоде наблюдения функционировали в режиме антидиуреза, что подтверждается реабсорбцией осмотически свободной воды (Таблица 23). При сравнении функции почек у здоровых детей и взрослых не выявлено отличий по данным проб в исходном периоде, исключением была экскреция ионов кальция, которая у взрослых превосходила величину данного показателя у здоровых детей (Таблица 23).

Таблица 23 – Показатели осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек у взрослых добровольцев по данным исходного периода и через час после 1% водной нагрузки

Параметр	Исходный период		1% водная нагрузка	
	Дети	Взрослые	Дети	Взрослые
N	21	15	21	15
V, мл/ч	24 [14; 33]	34 [28; 46] ^{NS}	183 [130; 281]*	325 [226; 377]* ^{NS}
C _{Osm} , мл/ч	69 [41; 87]	81 [67; 93] ^{NS}	130 [94; 142]*	138 [105; 155]* ^{NS}
C _{H₂O} , мл/ч	-42 [-66; -22]	-41 [-51; -30] ^{NS}	89 [19; 122]*	197 [83; 242]* ^{NS}
C _{H₂O^{Na}} , мл/ч	5 [1; 13]	13 [0; 22] ^{NS}	168 [91; 238]*	275 [184; 338]* ^{NS}
C _{Cr} , мл/мин	119 [106; 130]	125 [107; 137] ^{NS}	113 [100; 149] ^{ns}	112 [104; 126] ^{nsNS}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	20 [12; 26]	24 [20; 28] ^{NS}	39 [28; 42]*	41 [31; 46]* ^{NS}
U _{Na} V, ммоль/ч	2.6 [0.7; 3.8]	3.1 [2.1; 4.8] ^{NS}	4.4 [2.1; 5.6]*	4.9 [4.0; 7.8]* ^{NS}
U _K V, ммоль/ч	1.6 [1.0; 2.2]	2.3 [1.7; 3.1] ^{NS}	4.3 [3.0; 5.6]*	4.8 [3.3; 6.1]* ^{NS}
U _{Mg} V, ммоль/ч	0.07 [0.05; 0.10]	0.09 [0.07; 0.11] ^{NS}	0.10 [0.06; 0.12] ^{ns}	0.08 [0.05; 0.12] ^{nsNS}
U _{Ca} V, ммоль/ч	0.007 [0.005; 0.011]	0.032 [0.019; 0.060] [#]	0.018 [0.009; 0.028]*	0.042 [0.027; 0.076] ^{ns#}
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение с исходным периодом в каждой группе: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение с группой здоровых детей в исходном периоде и после водной нагрузки: [#] – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.				

Водная нагрузка у взрослых вызвала семикратный рост диуреза за счет увеличения выведения осмотически свободной и свободной от натрия воды без изменения скорости клубочковой фильтрации (Таблица 23). Возрастное увеличение диуреза после питья воды сопровождалось увеличением экскреции осмотически активных веществ за счет роста выведения ионов натрия и калия, выведение ионов магния и кальция не менялось (Таблица 23).

У здоровых детей и взрослых в течение 1-го часа после 1% водной нагрузки почками был выделено одинаковое количество жидкости: 36% [30; 53] и 47% [37; 62] от объема выпитой воды, соответственно. Отличие показателей осмо- и ионорегулирующей функции почек у детей и взрослых после питья воды не выявлены, кроме экскреции кальция, которая у взрослых была более чем в 2 раза выше (Таблица 23).

Таким образом, состояние осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек в исходном периоде, а также ее изменение, возникающее после водной нагрузки, сопоставимы у здоровых детей и взрослых.

3.6.2. Хронический гастроуденит и целиакия у детей

В исходном периоде параметры ионорегулирующей и осморегулирующей функций почек у детей с хроническим гастроуденитом не отличались от показателей здоровых детей, почки функционировали в состоянии антидиуреза, о чем свидетельствует реабсорбция осмотически свободной воды (Таблица 24).

Таблица 24 – Показатели осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек у детей с хроническим гастроуденитом в исходном периоде и через час после 1% водной нагрузки

Параметр	Исходный период		1% водная нагрузка	
	Здоровые дети	Хронический гастроуденит	Здоровые дети	Хронический гастроуденит
N	21	19	21	19
V, мл/ч	24 [14; 33]	20 [17; 29] ^{NS}	183 [130; 281]*	91 [68; 159]*#
C _{Osm} , мл/ч	69 [41; 87]	52 [45; 65] ^{NS}	130 [94; 142]*	93 [77; 109]*#
C _{H2O} , мл/ч	-42 [-66; -22]	-27 [-43; -20] ^{NS}	89 [19; 122]*	22 [-17; 85]* ^{NS}
C _{H2O} ^{Na} , мл/ч	5 [1; 13]	7 [2; 11] ^{NS}	168 [91; 238]*	66 [52; 133]*#
C _{Cr} , мл/мин	119 [106; 130]	103 [93; 128] ^{NS}	113 [100; 149] ^{ns}	118 [114; 147] ^{nsNS}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	20 [12; 26]	16 [13; 19] ^{NS}	39 [28; 42]*	28 [23; 33]*#
U _{Na} V, ммоль/ч	2.6 [0.7; 3.8]	2.3 [1.5; 2.8] ^{NS}	4.4 [2.1; 5.6]*	3.7 [2.3; 4.9]* ^{NS}
U _K V, ммоль/ч	1.6 [1.0; 2.2]	1.1 [0.8; 1.6] ^{NS}	4.3 [3.0; 5.6]*	2.5 [1.8; 3.1]*#
U _{Mg} V, ммоль/ч	0.07 [0.05; 0.10]	0.09 [0.07; 0.10] ^{NS}	0.10 [0.06; 0.12] ^{ns}	0.08 [0.06; 0.11] ^{nsNS}
U _{Ca} V, ммоль/ч	0.007 [0.005; 0.011]	0.010 [0.005; 0.015] ^{NS}	0.018 [0.009; 0.028]*	0.017 [0.008; 0.031]* ^{NS}
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение с исходным периодом в каждой группе: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение с группой здоровых детей в исходном периоде и после водной нагрузки: # – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.				

Потребление избыточного количества воды у детей с гастроуденитом вызвало 5-кратное увеличение диуреза за счет роста клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды при неизменной скорости клубочковой фильтрации (Таблица 24). После водной нагрузки возросло выведение осмотически активных веществ за счет увеличения экскреции ионов натрия, калия и кальция (Таблица 24). Экскреция ионов магния не менялась (Таблица 24).

Пациенты с гастроуденитом продемонстрировали сниженную по сравнению со здоровыми детьми способность к выведению водной нагрузки: 24% [14; 35] против 36% [30; 53] от объема выпитой жидкости, соответственно (p ≤ 0.05). Снижение экскреции жидкости было вызвано меньшим, по сравнению с контрольной группой, клиренсом осмотически активных веществ и свободной от натрия воды при сопоставимых значениях скорости клубочковой

фильтрации и клиренса осмотически свободной воды (Таблица 24). У пациентов с гастродуоденитом отмечался меньший прирост экскреции осмотически активных веществ и ионов калия (Таблица 24). Выведение ионов натрия, магния и кальция не отличалось от показателей контрольной группы (Таблица 24).

При сопоставлении осмоляльности мочи у детей с хроническим гастродуоденитом, как и у их здоровых сверстников, было выявлено тем более выраженное снижение этого показателя после питья воды, чем ниже он был в контрольном периоде ($r = 0.78$, $N = 19$, $p \leq 0.05$). Не выявлено взаимосвязи между показателями клиренса свободной от натрия воды до и после питья воды при гастродуодените ($r = 0.26$, $N = 19$, $p > 0.05$). При расчете клиренса натрия установлена корреляция данного показателя в исходном периоде и после водной нагрузки ($r = 0.57$, $N = 19$, $p \leq 0.05$).

По данным исходного периода у пациентов с целиакией не выявлено отличий в показателях осмо- и ионорегулирующей функции почек по сравнению с их здоровыми сверстниками, почки функционировали в режиме антидиуреза (Таблица 25). Отличия выявлены только в скорости клубочковой фильтрации: при целиакии она была ниже, но оставалась в пределах возрастной нормы (Таблица 25).

Питье воды у детей, страдающих целиакией, вызвало рост диуреза, обусловленный увеличением клиренса воды, свободной от натрия, и умеренным ростом скорости клубочковой фильтрации (Таблица 25). После водной нагрузки возросло выведение осмотически активных веществ за счет увеличения экскреции ионов калия (Таблица 25). Экскреция ионов натрия, магния и кальция, а также выведение осмотически свободной воды не менялись (Таблица 25).

Таблица 25 – Показатели осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек у детей с целиакией в исходном периоде и через час после 1% водной нагрузки

Параметр	Исходный период		1% водная нагрузка	
	Здоровые дети	Целиакия	Здоровые дети	Целиакия
N	21	16	21	16
V, мл/ч	24 [14; 33]	20 [15; 31] ^{NS}	180 [130; 281]*	52 [47; 137]* [#]
C _{H2O} , мл/ч	-39 [-66; -22]	-27 [-40; -21] ^{NS}	89 [19; 122]*	-9 [-29; 29] ^{ns#}
C _{Osm} , мл/ч	66 [41; 87]	53 [41; 60] ^{NS}	119 [94; 142]*	74 [56; 119]* [#]
C _{H2O} ^{Na} , мл/ч	6 [1; 13]	10 [-1; 13] ^{NS}	161 [91; 238]*	43 [29; 87]* [#]
C _{Cr} , мл/мин	116 [106; 130]	92 [85; 99] [#]	113 [100; 149] ^{ns}	120 [109; 136]* ^{NS}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	20 [12; 26]	16 [12; 18] ^{NS}	35 [28; 42]*	22 [17; 36]* [#]
U _{Na} V, ммоль/ч	2.3 [0.7; 3.8]	2.1 [1.0; 2.7] ^{NS}	4.3 [2.1; 5.6]*	2.2 [1.3; 4.0] ^{nsNS}
U _K V, ммоль/ч	1.6 [1.0; 2.2]	1.0 [0.9; 1.4] ^{NS}	4.3 [3.0; 5.6]*	2.2 [1.3; 3.5]* [#]
U _{Mg} V, ммоль/ч	0.07 [0.05; 0.10]	0.08 [0.05; 0.10] ^{NS}	0.10 [0.06; 0.12] ^{ns}	0.08 [0.05; 0.12] ^{nsNS}
U _{Ca} V, ммоль/ч	0.007 [0.005; 0.011]	0.007 [0.006; 0.011] ^{NS}	0.019 [0.009; 0.028]*	0.011 [0.006; 0.030] ^{nsNS}
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение с исходным периодом в каждой группе: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение с группой здоровых детей в исходном периоде и после водной нагрузки: [#] – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.				

Пациенты с целиакией в течение 1-го часа после водной нагрузки выделили практически в 2 раза меньший объем жидкости, чем их здоровые сверстники: 21% [12; 42] против 36% [30; 53] от объема выпитой жидкости, соответственно (p ≤ 0.05). Полученное отличие было обусловлено значительно меньшим, по сравнению со здоровыми детьми, клиренсом осмотически свободной и свободной от натрия воды и осмотически активных веществ при сопоставимой скорости клубочковой фильтрации (Таблица 25). Меньший прирост экскреции осмотически активных веществ у пациентов с целиакией был обусловлен меньшей экскрецией ионов калия (Таблица 25). Экскреция ионов натрия, магния и кальция при целиакии не отличалась от значений группы здоровых детей (Таблица 25).

У детей с целиакией не выявлено взаимосвязи между величиной осмоляльности мочи в исходном периоде и после водной нагрузки (r = 0.27, N = 16, p > 0.05), что свидетельствует об отсутствии зависимости способности почек к разведению от исходного состояния водного обмена. При целиакии отсутствует зависимость величины клиренса свободной от натрия воды до и после водной нагрузки (r = -0.27, N = 16, p > 0.05) в отличие от их здоровых сверстников. Напротив, клиренс натрия после водной нагрузки коррелирует с данными проб в исходном периоде (r = 0.73, N = 16, p ≤ 0.05).

3.7. Влияние агониста рецепторов ГПП-1, эксенатида, на гликемию и функцию почек у пациентов с СД2

У пациентов с СД2 снижен инкретиновый эффект [259]. Предполагалось, что у этих пациентов также возможно уменьшение ответа почек на поступление избытка воды в связи с меньшей реакцией тканей на секретируемый ГПП-1. Для оценки этого предположения проведен ряд исследований с участием пациентов с СД2, которые получили водную нагрузку, а также введение инкретиномиметика, эксенатида.

При проведении обследования пациентов с СД2 не обнаружено отличий в функции почек у пациентов разного пола ни в одной группе, кроме исходного периода (Таблица 26). Выявлено отличие в величине диуреза и экскреции осмотически активных веществ за счет повышенного выведения натрия у мужчин по сравнению с женщинами (Таблица 26).

Таблица 26 – Показатели осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек у пациентов с СД2 в зависимости от пола

Параметр	Исходный период		0.7% водная нагрузка		Эксенатид		Эксенатид + 0.7% водная нагрузка	
	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М
N	29	12	26	7	29	12	26	7
V, мл/ч	32 [21; 43]	60 [46; 90]*	61 [42; 84]	129 [101; 139] ns	37 [28; 48]	52 [36; 70] ^{ns}	54 [39; 89]	72 [54; 80] ^{ns}
C _{Osm} , мл/ч	65 [50; 90]	144 [96; 162]*	73 [55; 103]	176 [141; 203] ^{ns}	85 [64; 120]	127 [41; 138] ^{ns}	87 [65; 113]	208 [117; 209] ^{ns}
C _{H2O} , мл/ч	-34 [-51; -22]	-50 [-101; -29] ^{ns}	-12 [-47; -2]	-48 [-111; -27] ^{ns}	-47 [-77; -27]	-48 [-79; -9] ^{ns}	-33 [-59; 4]	-80 [-116; -64] ^{ns}
C _{Cr} , мл/мин	86 [61; 129]	58 [39; 115] ^{ns}	109 [73; 130]	163 [119; 195] ^{ns}	84 [60; 112]	70 [30; 106] ^{ns}	109 [88; 121]	182 [71; 184] ^{ns}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	20 [15; 28]	42 [29; 49]*	22 [17; 30]	52 [42; 61] ^{ns}	25 [19; 36]	38 [12; 42] ^{ns}	26 [20; 34]	62 [36; 63] ^{ns}
U _{Na} V, ммоль/ч	4 [2; 7]	8 [6; 12]*	3 [2; 5]	13 [8; 16] ^{ns}	5 [3; 7]	9 [3; 10] ^{ns}	4 [2; 8]	12 [6; 13] ^{ns}
U _K V, ммоль/ч	1.5 [1.1; 1.9]	2.2 [1.2; 2.8] ^{ns}	2.6 [1.5; 3.2]	5.7 [3.2; 6.2] ^{ns}	2.8 [1.2; 3.5]	2.2 [1.0; 3.3] ^{ns}	2.5 [1.1; 3.7]	4.6 [3.7; 4.6] ^{ns}
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; Ж – пациенты женского пола, М – пациенты мужского пола; сравнение мужчин и женщин: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.								

Среди обследованных пациентов с СД2 было 33 человека с компенсированной сердечной недостаточностью и 8 с субкомпенсированной сердечной недостаточностью. Водная нагрузка в объеме 0.7% к массе тела получали только пациенты с компенсированной сердечной недостаточностью. Показатели функции почек, кроме скорости клубочковой фильтрации, по данным проб исходного периода не отличались у пациентов с компенсированной и субкомпенсированной сердечной недостаточностью (Таблица 27). Скорость клубочковой фильтрации была на 31% ниже у пациентов с субкомпенсированной сердечной недостаточностью, что не сказалось на эффекте от введения эксенатида у этой группы больных (Таблица 27).

Таблица 27 – Показатели ионорегулирующей и осморегулирующей функции почек у пациентов с СД2 с компенсированной и субкомпенсированной сердечной недостаточностью

Параметр	Исходный период		0.7% водная нагрузка	Эксенатид		Эксенатид + 0.7% водная нагрузка
	КСН	ССН	КСН	КСН	ССН	КСН
N	33	8	33	33	8	33
V, мл/ч	33 [24; 49]	55 [33; 62] ^{ns}	64 [46; 118]	43 [31; 53]	41 [19; 66] ^{ns}	58 [39; 89]
C _{Osm} , мл/ч	73 [50; 103]	100 [84; 129] ^{ns}	89 [56; 126]	88 [64; 131]	120 [34; 124] ^{ns}	88 [65; 139]
C _{H₂O} , мл/ч	-36 [-56; -22]	-48 [-56; -40] ^{ns}	-16 [-61; -2]	-48 [-77; -27]	-20 [-73; -13] ^{ns}	-42 [-66; 1]
C _{Cr} , мл/мин	88 [59; 136]	61 [32; 77]*	119 [76; 142]	88 [60; 115]	49 [24; 73] ^{ns}	109 [80; 146]
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	21 [15; 30]	31 [25; 39] ^{ns}	27 [17; 37]	26 [19; 39]	36 [10; 37] ^{ns}	27 [20; 42]
U _{Na} V, ммоль/ч	4 [2; 7]	7 [5; 8] ^{ns}	4 [2; 8]	5 [3; 8]	10 [2; 11] ^{ns}	4 [2; 8]
U _K V, ммоль/ч	1.5 [1.1; 2.2]	2.0 [1.6; 2.1] ^{ns}	2.8 [1.6; 3.7]	2.8 [1.7; 3.7]	2.0 [0.8; 3.1] ^{ns}	2.7 [1.8; 4.1]
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м ² площади поверхности тела; N – число наблюдений; ССН – субкомпенсированная сердечная недостаточность, КСН – компенсированная сердечная недостаточность; сравнение групп с КСН и ССН: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05.						

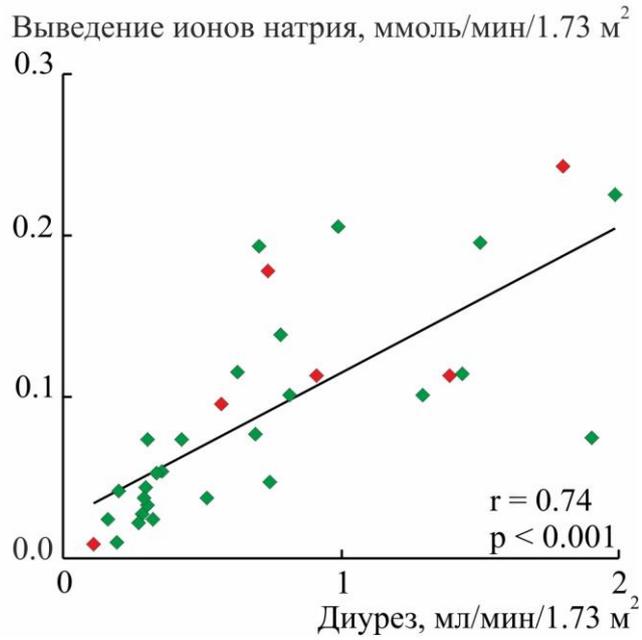
Обследование показало, что почки пациентов с СД2 сохраняли способность к осмотическому концентрированию мочи в ночное время. Об этом свидетельствует двукратная разница между величиной осмоляльности мочи и сыворотки крови в утренних пробах у пациентов с СД2: U_{Osm} = 623 [471; 816] мОсмоль/л, P_{Osm} = 300 [292; 304] мОсмоль/л (p ≤ 0.05), а также сопоставимая с показателями здоровых обследуемых величина реабсорбции осмотически свободной воды (Таблица 28) и величина осмоляльности мочи: 623 [471; 816] и 773 [508; 841]

мОсмоль/л, соответственно ($p \leq 0.05$).

Таблица 28 – Показатели ионорегулирующей и осморегулирующей функций почек у пациентов с СД2 и здоровых обследуемых в исходном периоде и после водной нагрузки

Параметр	Здоровые взрослые		Пациенты с СД2	
	Исходный период	1% водная нагрузка	Исходный период	0.7% водная нагрузка
N	15	15	41	33
V, мл/ч	33 [28; 46]	312 [226; 377] [#]	34 [24; 51] ^{ns}	64 [46; 118] ^{#@}
C _{Osm} , мл/ч	78 [67; 93]	136 [105; 155] [#]	74 [52; 106] ^{ns}	89 [56; 126] ^{NS-}
C _{H2O} , мл/ч	-39 [-51; -30]	179 [83; 242] [#]	-37 [-56; -24] ^{ns}	-16 [-61; -2] ^{NS@}
C _{Cr} , мл/мин	120 [107; 137]	112 [104; 126] ^{NS}	81 [57; 130] ^{ns}	119 [76; 142] ^{NS-}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	23 [20; 28]	41 [31; 46] [#]	23 [15; 31] ^{ns}	27 [17; 37] ^{NS-}
U _{Na} V, ммоль/ч	2.9 [2.1; 4.8]	4.9 [4.0; 7.8] [#]	4.5 [2.2; 7.1] [*]	3.7 [2.1; 7.5] ^{NS-}
U _K V, ммоль/ч	2.2 [1.7; 3.1]	4.6 [3.3; 6.1] [#]	1.6 [1.2; 2.2] ^{ns}	2.8 [1.6; 3.7] ^{#@}
<p>Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение здоровых взрослых и пациентов с СД2 в исходном периоде: * – $p \leq 0.05$, ^{ns} – $p > 0.05$; сравнение здоровых взрослых и пациентов с СД2 в исходном периоде и после водной нагрузки: [#] – $p \leq 0.05$, ^{NS} – $p > 0.05$; сравнение здоровых взрослых и пациентов с СД2 после водной нагрузки: [@] – $p \leq 0.05$, ⁻ – $p > 0.05$.</p>				

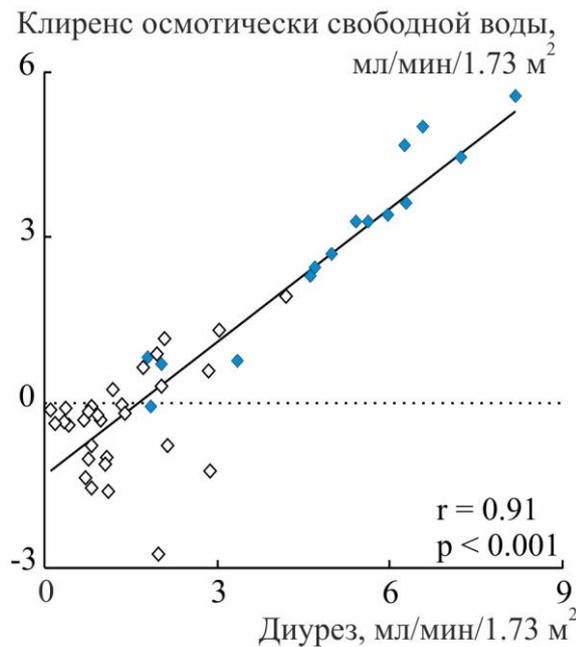
Скорость мочеотделения в исходном периоде зависела от экскреции осмотически активных веществ, прежде всего от экскреции ионов натрия (Рисунок 25), а также ионов калия ($r = 0.54$, $p \leq 0.05$).



Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; ■ – компенсированная сердечная недостаточность, ■ – субкомпенсированная сердечная недостаточность; N (число наблюдений) = 33.

Рисунок 25 – Зависимость величины диуреза от выведения ионов натрия в исходном периоде у пациентов с СД2.

Выявлена зависимость диуреза от образования осмотически свободной воды у пациентов с СД2 и у здоровых лиц после водной нагрузки (Рисунок 26). Однако способность к осмотическому разведению мочи у пациентов с СД2 меньше, чем у здоровых обследованных: $U_{Osm} = 403$ [311; 617] и 128 [117; 161] мОсмоль/л, соответственно ($p \leq 0.05$).



Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; □ – СД2, N (число наблюдений) = 33; ■ – контрольная группа, N = 15.

Рисунок 26 – Зависимость величины диуреза от клиренса осмотически свободной воды на фоне водной нагрузки у пациентов с СД2.

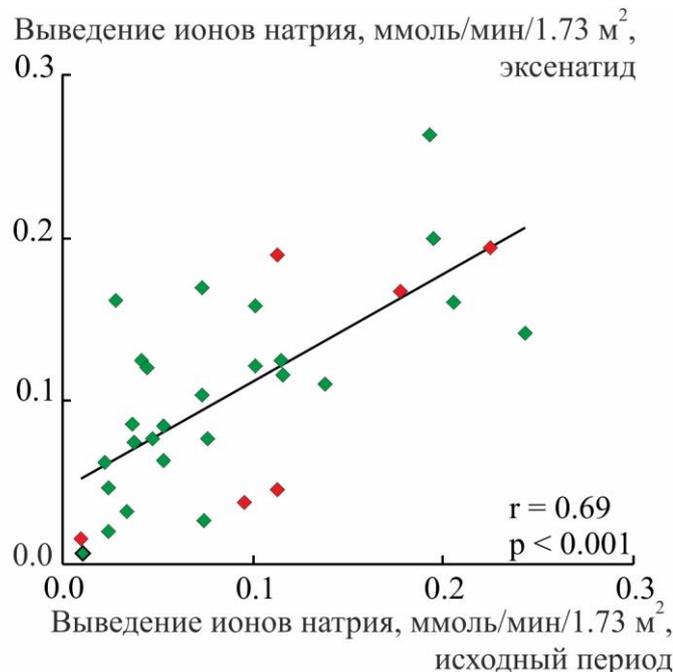
У пациентов с СД2 после водной нагрузки скорость клубочковой фильтрации не отличалась от таковой у здоровых лиц (Таблица 28). Экскретируемая фракция воды (доля выделенной воды от воды, поступившей в нефрон при фильтрации) при СД2 была в 3 раза ниже, чем в контрольной группе: 1.4% [0.9; 1.8] и 4.6% [2.8; 6.1], соответственно ($p \leq 0.05$). Выведение осмотически активных веществ и ионов у пациентов с СД2 не менялось после питья воды и не отличалось от показателей здоровых обследованных (Таблица 28). Выявлена зависимость между диурезом и выведением ионов натрия у пациентов с СД2 в исходном периоде как при субкомпенсированной сердечной недостаточности ($r = 0.81$, $p \leq 0.05$), так и при компенсированной сердечной недостаточности ($r = 0.70$, $p \leq 0.001$). Скорость мочеотделения коррелировала с выведением ионов калия только у пациентов с компенсированной сердечной недостаточностью ($r = 0.61$, $p \leq 0.001$). Инъекция эксенатида не меняла показатели функции почек, в том числе и выведение ионов натрия у пациентов с СД2 (Таблица 29).

Таблица 29 – Показатели ионорегулирующей и осморегулирующей функций почек у пациентов с СД2 при введении эксенатида

Параметр	Исходный период	Эксенатид	Эксенатид + 0.7% водная нагрузка
N	41	41	33
V, мл/ч	34 [24; 51]	38 [21; 54] ^{ns}	58 [39; 89] [#]
C _{Osm} , мл/ч	74 [52; 106]	80 [52; 131] ^{ns}	88 [65; 139] ^{NS}
C _{H₂O} , мл/ч	-37 [-56; -24]	-37 [-61; -25] ^{ns}	-42 [-66; 1] ^{NS}
C _{Cr} , мл/мин	81 [57; 130]	64 [46; 114] ^{ns}	109 [80; 146] ^{NS}
U _{Osm} V, мОсмоль/ч	23 [15; 31]	24 [15; 39] ^{ns}	27 [20; 42] ^{NS}
U _{Na} V, ммоль/ч	4.5 [2.2; 7.1]	4.6 [2.3; 8.6] ^{ns}	4.3 [2.5; 8.2] ^{NS}
U _K V, ммоль/ч	1.6 [1.2; 2.2]	1.5 [1.1; 2.2] ^{ns}	2.7 [1.8; 4.1] ^{NS}

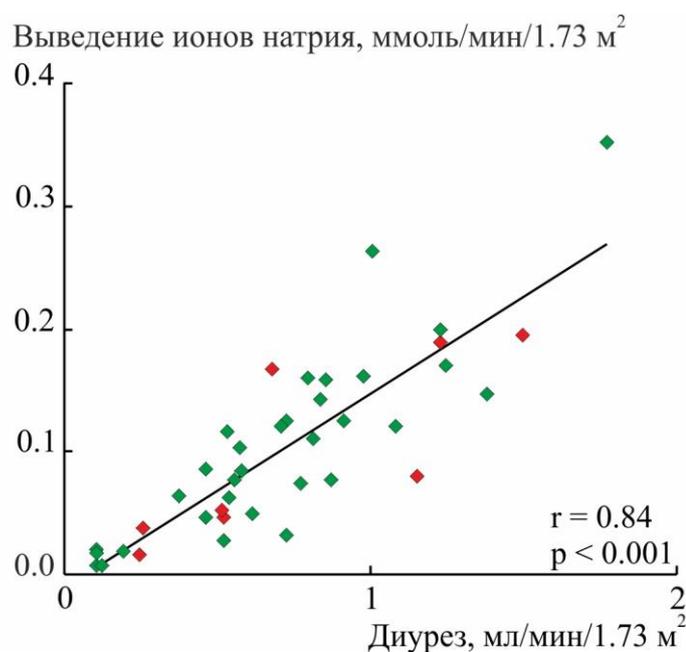
Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; N – число наблюдений; сравнение показателей после введения эксенатида с исходным периодом: * – p ≤ 0.05, ^{ns} – p > 0.05; сравнение показателей в паре эксенатид/эксенатид + водная нагрузка: [#] – p ≤ 0.05, ^{NS} – p > 0.05.

Выявлена зависимость между экскрецией ионов натрия в исходном периоде и после инъекции эксенатида (Рисунок 27), а также взаимосвязь диуреза и экскреции ионов натрия после введения эксенатида (Рисунок 28).



Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; ■ – компенсированная сердечная недостаточность, ■ – субкомпенсированная сердечная недостаточность, N (число наблюдений) = 33.

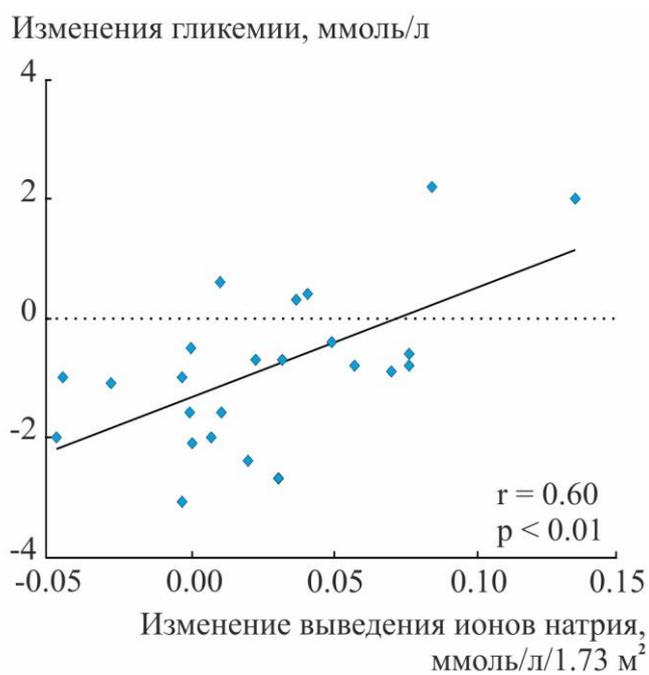
Рисунок 27 – Зависимость выведения ионов натрия после применения препарата эксенатида от величины натрийуреза в исходном периоде у пациентов с СД2.



Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м² площади поверхности тела; ■ – компенсированная сердечная недостаточность, ■ – субкомпенсированная сердечная недостаточность, N (число наблюдений) = 33.

Рисунок 28 – Зависимость величины диуреза от выведения ионов натрия на фоне применения препарата эксенатида у пациентов с СД2.

Сопоставлены изменение концентрации глюкозы в сыворотке крови и изменение экскреции ионов натрия после введения эксенатида у пациентов с СД2. Снижение гликемии было тем выраженнее, чем выше были ее исходные значения в сыворотке крови ($r = 0.82$, $p \leq 0.05$), чем сильнее снижалась концентрация глюкозы, тем меньше был натрийурез (Рисунок 29). Аналогичная картина наблюдалась в отношении ионов калия ($r = 0.52$, $p \leq 0.05$).



Примечание – Показатели функции почек рассчитаны на 1.73 м2 площади поверхности тела.

Рисунок 29 – Зависимость изменения выведения натрия от изменения гликемии на фоне применения препарата эксенатида у пациентов с СД2, N (число наблюдений) = 24.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Высказанная К. Людвигом в середине XIX века мысль о механизме мочеобразования как сочетании гломерулярной фильтрации и облигатной реабсорбции стала экспериментально доказанным фактом в первой трети XX века [282]. Было показано, что в работе почки сочетается нерегулируемая (облигатная) проксимальная реабсорбция и регулируемая гормонами факультативная реабсорбция в дистально расположенных отделах канальцев [2, 6, 283]. Сомнение в справедливости этих положений зародилось в 70-х годах XX века, когда стало ясно, что у теплокровных позвоночных по сравнению с холоднокровными и в процессе постнатального онтогенеза у млекопитающих, включая человека, одним из ключевых изменений в работе почки является рост проксимальной реабсорбции [13]. На рубеже XX-XXI веков стала обсуждаться вероятность регуляции объема проксимальной реабсорбции и последующего перераспределения объемов жидкости между сегментами нефрона как возможный механизм участия почек в гомеостазе [244], а также его нарушение в патогенезе ряда заболеваний. Выполненное нами исследование позволяет раскрыть некоторые механизмы регуляции процесса реабсорбции в проксимальном сегменте нефрона у детей и его изменение при ряде патологических состояний.

Предельно лаконично схема регуляции водно-солевого обмена включает афферентную часть – волюморцепторы (барорецепторы) в сосудистой стенке, центральные и периферические осморцепторы, центр интеграции информации в головном мозге, эфферентная часть обеспечена нервными импульсами и гормонами, которые изменяют функцию органов, обеспечивающих водно-солевой гомеостаз [3, 5, 169, 317]. В XXI веке было выявлено еще одно звено в этой схеме регуляции, связанное с участием гормонов желудочно-кишечного тракта, инкретинов [212, 244]. Задача нашего исследования заключалась в выяснении роли инкретинов в регуляции водно-солевого обмена при участии почек, исходя из данных педиатрической клиники и эндокринной патологии.

4.1. Стимул для секреции ГПП-1

Предполагалось, что ГПП-1, действуя на свои рецепторы в почках, может как самостоятельно, так и при участии зависимых от него факторов ускорять удаление избытка осмотически свободной воды почкой, что обеспечивает быстрое восстановление осмоляльности сыворотки крови как одного из ключевых параметров водно-солевого обмена. Возник закономерный вопрос о стимуле этой физиологической реакции. Она могла быть системным ответом на снижение осмоляльности крови и вовлечение различных групп осморцепторов

либо быть ответной реакцией на стимуляцию от стенок кишечника при всасывании воды. Кроме того, нельзя было исключить участие рефлекторных механизмов периферической нервной системы в этой схеме. Для ответа на этот вопрос были изучены закономерности изменения концентрации ГПП-1 в плазме крови, осмоляльности и концентрации ионов в сыворотке крови, а также сопутствующие этому изменения функции почек в ответ на различные виды нагрузочных проб.

Анализ полученных данных позволил прийти к выводу, что выявленное нарушение осморегулирующей функции почек у пациентов с целиакией не обусловлено изменением продукции ГПП-1, так как и базальная и стимулированная водной нагрузкой секреция гормона не отличались от значений в группе здоровых детей. Существует несколько вероятных причин нарушения водовыделительной функции у этих пациентов. Одной из них могло быть замедление всасывания воды и электролитов в тонкой кишке из-за снижения экспрессии основных ионных транспортеров и аквапоринов при целиакии [181, 285], что препятствовало поступлению жидкости в кровотоки и как следствие к почкам. Другой причиной могло быть изменение продукции ряда эндокринных факторов, регулирующих осмоляльность крови, или изменение реакции почек на них [177], в связи с чем происходила задержка жидкости в организме. По данным Кузнецовой и соавторов, пациенты с целиакией склонны к гипоосмии [9], что свидетельствует в пользу этой теории. При хроническом гастродуодените секреция ГПП-1 в ответ на питье воды, вероятно, нарушена вследствие поражения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, что отразилось на эффективности осморегуляции у этих пациентов.

Понимания целостной картины включения ГПП-1 в процессы регуляции водно-солевого баланса невозможно добиться, используя только данные, полученные в результате обследования пациентов и здоровых добровольцев. В этой связи для исследования механизма действия ГПП-1 в почке были проведены эксперименты на лабораторных животных. В нашей работе получены данные, что увеличение концентрации ГПП-1 в ответ на пероральную водную нагрузку и избыток глюкозы опережало изменение параметров сыворотки крови (снижение осмоляльности и концентрации ионов, рост гликемии), что исключает их роль как стимулов для секреции пептида. Рост концентрации ГПП-1 наблюдался только при пероральном, но не при внутривентральном введении используемых растворов (вода, 50% раствор глюкозы, 0.9% и 2.5% растворы NaCl, 6.7% раствор Trizma.HCl), что свидетельствует о важности естественного способа поступления растворов. Секреция ГПП-1, вызванная поступлением растворов через желудочно-кишечный тракт, сопровождалась меньшим либо равным изменением параметров сыворотки крови и более выраженным ответом почки, чем при внутривентральном введении. Растяжение желудка при раздувании резинового зонда не сопровождалось изменением состава

сыворотки крови, но вызывало сопоставимый с пероральным введением нагрузочных проб рост концентрации ГПП-1 в плазме крови. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что первичным стимулом для секреции ГПП-1 служит растяжение стенок желудка. Повышение уровня ГПП-1 в плазме крови сопровождается более эффективной реакцией почки в ответ на сдвиги водно-солевого баланса, вызванные пероральным поступлением избытка воды и ионов в организм, что свидетельствует об участии ГПП-1 в водно-солевом гомеостазе.

4.2. ГПП-1 и регуляция функции проксимального отдела нефрона

Определение стимула для секреции ГПП-1 не дает полного представления о его месте в схеме регуляции водно-солевого баланса. Необходимо было найти точку приложения действия пептида. ГПП-1r широко распространен в организме млекопитающих и человека [50, 58, 97, 118, 121, 143, 201, 250, 257, 301, 319], в том числе в корковом веществе почки, преимущественно в клетках проксимального канальца и сосудах [134]. По данным литературы, ГПП-1, взаимодействуя со своим рецептором на базальной мембране клеток проксимального канальца нефрона и используя в качестве посредника цАМФ, способен блокировать работу Na^+/H^+ -обменника 3 типа, расположенного в апикальной мембране клетки [55, 130]. Увеличение клиренса осмотически свободной воды при участии эксенатида, и полная блокада выведения избытка воды при действии антагониста рецепторов ГПП-1, экзендина, свидетельствовали в пользу влияния ГПП-1 через собственный рецептор в проксимальном канальце почек. Подтверждением этого факта стали эксперименты с измерением клиренса лития. Поскольку известно, что ионы лития реабсорбируются в проксимальном канальце нефрона в равном отношении с жидкостью [202], то увеличение диуреза и клиренса лития при действии эксенатида на фоне водной нагрузки при неизменной скорости клубочковой фильтрации говорит о снижении проксимальной реабсорбции жидкости, которая затем поступает в дистальные отделы нефрона.

Известно, что объем реабсорбируемой в проксимальном канальце воды строго соответствует количеству всасываемых осмотически активных веществ (изоосмотическая реабсорбция). Движению жидкости по осмотическому градиенту способствуют аквапорины-1, встроенные в апикальные мембраны клеток проксимального канальца [32, 38]. Основным осмотически активным элементом, определяющим движение жидкости в организме в целом и в почечных канальцах в частности, является натрий. Ранее считалось, что около 65% профильтрованного натрия подвергается облигатной нерегулируемой реабсорбции в проксимальном отделе нефрона и еще 25% реабсорбируется в петле Генле. Остальные 10% приходятся на дистальные отделы нефрона и собирательные трубки [2, 74, 77], где реабсорбция

ионов и воды зависит от потребностей организма в каждый отдельный момент времени, регулируется гормонами и эфферентными нервами и называется факультативной. Однако согласно полученным о ГПП-1 данным, представление о проксимальной реабсорбции как облигатной следует сменить и считать ее регулируемой.

Перераспределение объема жидкости между проксимальным и дистальным сегментами нефрона, вызванное ГПП-1 или эксенатидом имеет важнейшее регуляторное значение в гомеостатических реакциях почки. В обычных условиях водно-солевого баланса выявить усиление обратного всасывания натрия в почках под влиянием биологически активных веществ затруднительно, так как практически весь профильтровавшийся натрий подвергается реабсорбции. То же касается и воды в ночной период, когда секреция вазопрессина вызывает ее интенсивную реабсорбцию [305].

Наиболее ярко эффект блокады проксимальной реабсорбции проявляется в условиях выраженного изменения параметров внутренней среды (осмоляльность и объем циркулирующей крови, концентрация ионов натрия), для моделирования которых в эксперименте использованы нагрузочные пробы. Расширение желудка зондом приводит к секреции ГПП-1. Параллельно с этим начинается всасывание воды и растворенных веществ в желудочно-кишечном тракте, приводя к сдвигу показателей водно-солевого баланса организма. Важно отметить, что секреция ГПП-1, обусловленная передачей нервных импульсов [34, 35, 269], опережает изменение параметров крови и секрецию других биологически активных веществ, предохраняя внутреннюю среду от резких нарушений гомеостаза. Снижение проксимальной реабсорбции натрия приводит к тому, что больший объем осмоотической жидкости поступает в дистальные сегменты нефрона, где локализуется действие других гормонов.

В зависимости от сдвига параметров внутренней среды, можно рассмотреть несколько вариантов развития событий. Так питье воды в объеме равном 0.7%, 1% или 2% от массы тела приводит к снижению осмоляльности сыворотки крови, достаточному для торможения секреции вазопрессина [12, 94, 262] и перемещению аквапорина-2 из апикальной мембраны клеток собирательных трубок во внутриклеточные везикулы [180]. Снижение осмоотической проницаемости стенок и образование свободной от натрия воды вследствие реабсорбции ионов натрия, поступивших из проксимальных отделов, способствует более быстрому выведению осмоотически свободной и свободной от натрия воды и восстановлению осмоотического гомеосатаза [13]. Блокада рецепторов ГПП-1 в данной ситуации приводит к развитию антидиуреза.

При поступлении избытка натрия в организм процессы, происходящие в дистальном отделе нефрона, отличаются в зависимости от осмоляльности и объема использованного

раствора. В частности, после изотонической нагрузки NaCl увеличение объема циркулирующей крови без изменения осмоляльности сыворотки и концентрации ионов в ней приводит к уменьшению секреции вазопрессина и альдостерона [124, 262] и увеличению секреции предсердного натрийуретического пептида [61], что вызывает снижение как реабсорбции воды, так и натрия. Дополнительное их поступление из проксимального канальца под воздействием ГПП-1 ускоряет выведение натрия и воды почками, нормализуя водно-солевой баланс.

В условиях гипернатриемии (гиперосмоляльности крови), вызванной гипертонической нагрузкой NaCl, повышается секреция вазопрессина, увеличивается секреция предсердного натрийуретического пептида и снижается – альдостерона. Их совместное влияние на транспорт натрия и воды в почках приводит к значимому угнетению реабсорбции натрия в почечных канальцах при одновременном усилении обратного всасывания осмотически свободной и свободной от натрия воды и восстановлению водно-солевого гомеостаза. Вклад ГПП-1 в увеличение экскреции натрия состоит также в опосредованном им снижении глюкагона, который увеличивает реабсорбцию натрия в восходящем отделе петли Генле [4, 225].

Введение в организм избытка хлоридов в виде соли Trizma.HCl [18] приводит к увеличению осмоляльности крови и росту концентрации хлорид-ионов в ней, стимулируя секрецию вазопрессина и предсердного натрийуретического фактора и снижая секрецию альдостерона. Это приводит к росту реабсорбции осмотически свободной и свободной от натрия воды и способствует экскреции хлорид-ионов и натрия, нормализуя осмотический гомеостаз.

Таким образом, с учетом вышеизложенных фактов, события, происходящие в нефроне, можно представить следующим образом: стимуляция молекулярных ГПП-1_r в мембранах клеток проксимального канальца нефрона при участии ГПП-1 уменьшает изоосмотическую реабсорбцию жидкости в проксимальном канальце и увеличивает поступление не всосавшейся канальцевой жидкости в дистальный сегмент нефрона. Объем и осмоляльность мочи в этих условиях обусловлены, в основном, секрецией аргинин-вазопрессина. Эти процессы опосредованно влияют на деятельность почек в условиях необходимости ускорить или замедлить выведение воды и/или солей и имеют большее значение для адаптации к разным условиям водно-солевого режима.

4.3. Влияние торможения деградации ГПП-1 в сыворотке крови на функцию почек

Причиной снижения выведения воды почкой после водной нагрузки у пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта могло быть изменение секреции эндокринных факторов, влияющих на состояние осморегулирующей функции почек. К этим факторам,

согласно результатам проведенных нами исследований, относится ГПП-1. Влияние ГПП-1 на осморегулирующую функцию почек нашло окончательное подтверждение и в экспериментах с исключением действия ДПП-4, фермента, разрушающего ГПП-1. Эффект наблюдался при введении эксенатида, который не подвержен влиянию ДПП-4, а также при предварительной защите инъецированного ГПП-1 вилдаглиптином, ингибирующим действие ДПП-4.

Использование эксенатида, имеющего продленный период циркуляции в крови, позволило ярко продемонстрировать влияние системы инкретина на водно-солевой гомеостаз. Диуретическое и натрийуретическое действие инкретиномиметика наблюдалось в широком диапазоне доз в стандартных условиях водно-солевого баланса. Введение ГПП-1 в этих условиях не влияло на функцию почек, поскольку пептид быстро разрушается ферментом ДПП-4 [75, 88, 92, 199]. Защита от деградации ингибитором ДПП-4 вилдаглиптином увеличивает время циркуляции ГПП-1, что позволило оценить его действие в проксимальном канальце в стандартных условиях водно-солевого баланса. Эффект его на пике сопоставим по величине с максимумом действия эксенатида, однако уступает по продолжительности влияния, в результате чего влияние инкретиномиметика на ионорегулирующую функцию почек превосходит действие инкретина.

Несмотря на полученный результат, наибольший интерес все же представляла способность инкретина и его миметика ускорять нормализацию водно-солевого баланса в условиях функциональных нагрузочных проб. Установлено, что эксенатид, взаимодействуя с рецептором ГПП-1 в клетках проксимального канальца нефрона, оказал диуретическое и натрийуретическое действие не только в стандартных условиях, но и способствовал значительному увеличению выведения избытка осмотически свободной воды и натрия из организма при их избыточном поступлении, вызывая восстановление водно-солевого гомеостаза. Полученные данные были сопоставлены с эффектом инъецированного ГПП-1. При циркуляции в крови фермента ДПП-4 инъекция инкретина не влияла на ионо- и осморегулирующую функцию почек. Однако введение ГПП-1 после предшествующей инъекции вилдаглиптина позволило оценить эффект ГПП-1 на функции почек. Влияние ГПП-1 на осморегулирующую функцию почек хоть и уступало эксенатиду по величине и продолжительности действия, но проявлялось в росте клиренса осмотически свободной воды. Эффект ГПП-1 на выведение избытка натрия оказался сопоставим по величине с максимумом действия эксенатида. Инъецированный ГПП-1 ускорял выведение натрия из организма, однако продолжительность его действия уступала эксенатиду, в результате чего суммарное влияние миметика ГПП-1, эксенатида, на ионорегулирующую функцию почек превзошло эффект самого инкретина.

Таким образом, ГПП-1 оказывает влияние на ионо- и осморегулирующую функции

почек, что имеет важное фундаментальное значение для понимания механизма поддержания гомеостаза. В клинической практике педиатра следует учитывать способность ГПП-1 и препаратов, продлевающих его циркуляцию в кровотоке, влиять на углеводный обмен и на функции почек. Инкретиномиметики, вилдаглиптин и ГПП-1 в различных комбинациях могут быть использованы в терапии сочетанных нарушений углеводного и водно-солевого обмена.

4.4. Роль инкретина в регуляции водно-солевого обмена у детей

Поддержание постоянных значений физико-химических параметров жидкостей внутренней среды относится к числу наиболее строго контролируемых у животных и человека. Системы, отвечающие за поддержание гомеостаза постепенно формируются в процессе индивидуального развития и лабильны у детей по сравнению со взрослыми. В первом десятилетии XXI века было показано, что в структуру регуляции водно-солевого гомеостаза входят инкретины, в частности, ГПП-1 [67, 139], который ранее рассматривался как ключевой компонент регуляции углеводного обмена, он играет важнейшую роль в патогенезе СД2 [92]. В этой связи при выполнении работы наша задача состояла в том, чтобы получить ответ на два ключевых вопроса: 1) влияет ли на реализацию осморегулирующей функции почек патология отделов желудочно-кишечного тракта вовлеченных в секрецию ГПП-1; 2) насколько значима секреция ГПП-1 для осморегуляции при сопоставлении с регуляцией уровня гликемии. Для ответа на эти вопросы в структуру работы было включено обследование детей с целиакией и хроническим гастродуоденитом, а также пациентов с СД2.

Поскольку ГПП-1 синтезируется в кровь L-клетками подвздошной кишки в ответ на прием пищи или при непосредственной стимуляции всасываемыми нутриентами из просвета кишки [49, 256], в нашей работе была исследована секреция инкретинов при некоторых видах патологии желудочно-кишечного тракта, в частности, при целиакии и гастродуодените. Имеются данные, свидетельствующие о взаимосвязи функционального состояния желудочно-кишечного тракта и почек, как у здоровых обследованных, так и при патологии. Пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника имеют повышенный риск развития аутоиммунных заболеваний, в том числе с повреждением мочевыделительной системы [240]. Нарушение микробиоты кишечника, воспалительные заболевания кишечника рассматривается как один из факторов ухудшения течения диабетической нефропатии, хронической болезни почек и IgA-нефропатии [87, 208]. Это объясняется дефектами барьерной функции кишечника и повышенной транслокацией бактериальных эндотоксинов и токсинов в виде продуктов распада пищевых веществ в системный кровоток [162].

Целиакия обычно выявляется у детей первых лет жизни, одним из проявлений являются

симптомы расстройства пищеварения [19, 23]. Гастродуоденит встречается у детей различного возраста, также характеризуется расстройством пищеварения и может сопровождаться развитием выраженных водно-электролитных нарушений [23]. В литературе, посвященной целиакии и гастродуодениту, преимущественно обсуждают вопросы дисфункции желудочно-кишечного тракта [23, 311], однако не было исследований функционального состояния почек и системы водно-солевого обмена при этих формах патологии. При этом пациенты с целиакией по сравнению со здоровыми детьми имеют повышенную проницаемость кишечника для различных токсинов и более высокий риск заболеваний почек (диабетическая и IgA-нефропатии) [56]. Ряд симптомов при этих типах нефропатий связан с изменением водно-солевого обмена, что проявляется остеопорозом, склонностью к отекам, гипокальциемией, гипофосфатемией, снижением осмоляльности крови по сравнению со здоровыми детьми [9, 52, 286].

Для изучения взаимосвязи секреции ГПП-1 и водовыделительной функции почек при целиакии и хроническом гастродуодените было исследовано состояние водно-солевого баланса при этих формах патологии. Проведенное обследование детей показало, что в исходном состоянии осморегулирующая система у детей с патологией желудочно-кишечного тракта не отличается от показателей у здоровых детей. Однако эффективность системы поддержания водно-солевого гомеостаза может быть выявлена только в условиях использования функциональных проб. С этой целью была применена проба с водной нагрузкой. Полученные результаты показали, что у пациентов с исследованной патологией желудочно-кишечного тракта выведение избытка воды меньше, чем у их здоровых сверстников. Эти изменения не были связаны с нарушением процесса клубочковой фильтрации, а определялись изменением функции канальцев и проявлялись снижением клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды при целиакии и снижением клиренса осмотически активных веществ и свободной от натрия воды при хроническом гастродуодените.

Соответствие базального состояния водовыделительной функции показателям здоровых детей и ее нарушение после нагрузки привели к необходимости сопоставления реакции организма ребенка на водную нагрузку и исходного состояния водного баланса после ночной водной депривации. Параметры осморегулирующей функции почек полученные в исходном периоде были сопоставлены с величинами после водной нагрузки у каждого ребенка. Полученные результаты показали, что у здоровых детей и пациентов с хроническим гастродуоденитом способность почек к разведению сохранена и зависит от исходного состояния водного обмена. В то же время у детей с целиакией выявлена сниженная реакция на водную нагрузку. Почки этих детей демонстрируют значительно менее эффективное разведение мочи, что, как обсуждалось ранее, может быть связано с замедлением всасывания

воды и электролитов в тонкой кишке [181, 285], изменением продукции эндокринных факторов, регулирующих осмоляльность крови, и изменением реакции почек на них [177].

Осморегуляция в организме ребенка направлена на поддержание стабильных значений осмоляльности внеклеточной жидкости. Для количественной оценки эффективности этой системы регуляции определяют осмоляльность сыворотки крови. Функциональное значение осмотического давления внеклеточной жидкости состоит в обеспечении стабильности объема каждой клетки организма. Ведущую роль в создании осмоляльности внеклеточной жидкости играют ионы натрия и хлора. Регулируемая реабсорбция ионов в дистальном сегменте нефрона и собирательных трубках в условиях водной нагрузки обеспечивает образование осмотически свободной воды и восстановление водного баланса организма. Используемые в нашей работе варианты расчета клиренса натрия и воды в сочетании с различными вариантами объема водной нагрузки (10 и 20 мл на кг массы тела) позволили обсудить состояние осморегуляции и волюморегуляции на основе персонифицированной оценки реакции обследованных. С этой целью была сопоставлена реакция почек до и после питья избыточного количества воды с последующим расчетом клиренса натрия, свободной от натрия воды и осмотически свободной воды [244]. Полученные результаты показали, что у здоровых детей клиренс натрия и свободной от натрия воды после нагрузки коррелирует с величинами этих показателей после ночного сна. В то же время у детей с хроническим гастродуоденитом и при целиакии данная зависимость наблюдалась только для клиренса натрия, но не свободной от натрия воды.

Таким образом, при исследованной патологии желудочно-кишечного тракта наблюдается нарушение работы почек по выделению воды, выявлено качественное отличие реакции системы осморегуляции, но не регуляции объема внеклеточной жидкости при сдвигах осмоляльности сыворотки крови. Примененный подход имеет существенное прикладное значение, поскольку позволяет судить о склонности систем регуляции к задержке или выделению жидкости (волюморегуляция), осмотически свободной воды (осморегуляция), системы обеспечения регуляции объема клеток (свободная от натрия вода).

Причиной выявленных функциональных нарушений в работе почек у обследованных детей могло быть изменение секреции ГПП-1 в ответ на водную нагрузку. В ходе работы было установлено, что базальная концентрация ГПП-1 в крови у детей с патологией желудочно-кишечного тракта соответствовала уровню здоровых детей. Для пациентов с хроническим гастродуоденитом эти данные находят подтверждение в работе Tomasik [126]. Данные о ГПП-1 у пациентов с целиакией противоречивы, морфологические исследования слизистой оболочки подвздошной кишки показали сохранность энтероэндокринных клеток, секретирующих пептид [25]. С другой стороны, было продемонстрировано снижение уровня ГПП-1 у пациентов с целиакией [186]. Однако исследований концентрации ГПП-1 в крови у детей при сопоставлении

с состоянием осморегулирующей функции почек, в том числе в условиях измененного водного баланса, при целиакии и хроническом гастродуодените ранее не проводились. При пробе с водной нагрузкой концентрация ГПП-1 в плазме крови увеличивалась относительно контрольного периода у здоровых детей и пациентов с целиакией, в то время как у пациентов с хроническим гастродуоденитом изменения уровня ГПП-1 не происходило.

Анализ полученных данных позволяет прийти к выводу, что выявленное нарушение осморегулирующей функции почек у пациентов с целиакией не обусловлено изменением продукции ГПП-1, так как и базальная и стимулированная водной нагрузкой секреция пептида не отличались от значений в группе здоровых детей. По данным литературы, при целиакии страдает всасывание воды и электролитов в тонкой кишке [181], показано снижение экспрессии основных транспортеров ионов и аквапоринов [285]. Таким образом, причиной нарушенной водовыделительной функции может быть замедление всасывания воды в желудочно-кишечном тракте, изменение продукции ряда эндокринных факторов, регулирующих осмоляльность крови, или реакции почек на них. При хроническом гастродуодените секреция ГПП-1 в ответ на питье воды может быть нарушена вследствие поражения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, что отражается на эффективности осморегуляции у этих пациентов.

Таким образом, у детей питье воды стимулирует секрецию ГПП-1, который участвует в осморегуляции и более быстрой стабилизации водно-солевого обмена. При ряде форм патологии (целиакия, гастродуоденит), связанных с локусом секреции ГПП-1, снижается скорость выведения избытка воды почками после функциональной нагрузочной пробы. При гастродуодените уменьшена секреция ГПП-1 при введении воды. В экспериментальной части работы установлены новые звенья цепи процессов, лежащих в основе гомеостатического ответа при осморегуляции.

4.5. Участие ГПП-1 в осморегуляции, взаимосвязь с нормализацией уровня гликемии

По данным литературы ГПП-1 является важным фактором системы регуляции углеводного обмена [212, 276], в эксперименте было установлено, что он способен влиять на перестройку осморегулирующей системы и выделение жидкости почкой [10, 11, 22, 57, 67, 295]. Открытым оставался вопрос о взаимодействии указанных процессов в организме и вкладе ГПП-1 в каждый из них. Проведенное в нашей работе сопоставление реакции почек на водную нагрузку у здоровых детей и взрослых и пациентов с СД2, секреции ГПП-1 в ответ на поступление избытка воды и глюкозы, а также гипогликемического и натрийуретического действия миметика ГПП-1, эксенатида, позволило установить роль ГПП-1 в механизме

поддержания осмотического гомеостаза и его взаимосвязи с регуляцией углеводного обмена.

В ходе исследования выявлено, что секреция ГПП-1 и состояние осморегулирующей и ионорегулирующей функции почек в исходном периоде, а также их изменение, возникающее после водной нагрузки, у здоровых детей такие же, как у взрослых. В ночном периоде, когда отсутствует поступление жидкости в организм, возрастает секреция вазопрессина гипофизом в кровь, что приводит к уменьшению диуреза. В основе этого процесса лежит встраивание аквапорина-2 в люминальную мембрану клеток эпителия собирательных трубок нефрона и увеличение последующей реабсорбции осмотически свободной воды [325]. О наличии этого феномена свидетельствуют отрицательные значения расчетного показателя клиренса осмотически свободной воды [244] у здоровых детей и взрослых. Угнетение секреции вазопрессина водной нагрузкой приводит к удалению аквапорина-2 из люминальной мембраны клеток эпителия собирательных трубок и снижению ее осмотической проницаемости [325]. Это вызвало значительный рост диуреза за счет увеличения клиренса осмотически свободной и свободной от натрия воды на фоне стабильной скорости клубочковой фильтрации как у взрослых обследованных, так и у здоровых детей. Кратковременное уменьшение проксимальной реабсорбции и увеличение объема жидкости, поступающей в дистальные отделы, привело к возрастанию экскреции осмотически активных веществ. Описанные изменения в работе почек и снижение осмоляльности сыворотки крови после водной нагрузки свидетельствуют о развитии специфической реакции, направленной на выведение воды и восстановление осмотического гомеостаза.

В ходе исследования было установлено, что у пациентов с СД2 степень компенсации сердечной недостаточности не влияет на выведение воды и натрия почками в ночной период. Однако при декомпенсированной сердечной недостаточностью отмечалось снижение скорости клубочковой фильтрации, что объяснимо и вызвано, по-видимому, нарушением системы кровообращения. Обследование показало, что у больных с СД2 типа сохранена способность почек к осмотическому концентрированию, что подтверждается сопоставимой с показателями здоровых людей реабсорбцией осмотически свободной воды. Следовательно, в обычных условиях реакция почек на эндогенный вазопрессин адекватна и обеспечивает эффективную осморегуляцию у этих пациентов. Вопрос о реакции почек на вазопрессин при СД2 был изучен в нашей лаборатории [22], в литературе высказывалось мнение о дефекте системы осмотического концентрирования мочи у пациентов при СД2 [42]. Однако данные только о меньшей осмоляльности мочи у пациентов с СД2 по сравнению со здоровыми обследованными нельзя считать достаточно обоснованным аргументом без учета объема реабсорбции осмотически свободной воды, поскольку при диабете может быть значительная глюкозурия, осмотический диурез. По полученным нами данным, объем реабсорбируемой осмотически

свободной воды у пациентов с СД2 в ночных пробах мочи превосходит таковой у здоровых лиц. Тем самым, большая величина этого показателя указывает на более эффективную работу почек по осмотическому концентрированию в сопоставимых условиях секреции вазопрессина, описанных в литературе.

Выявленная в ходе исследования зависимость величины диуреза от выведения осмотически свободной воды после водной нагрузки подтвердила сохраненную способность почек пациентов с СД2 к осмотическому разведению мочи. Однако по сравнению со здоровыми обследованными эта функция была ослаблена, что проявлялось снижением экскретируемой фракции воды (доля воды, выделенной от объема жидкости, поступившей в нефрон при фильтрации). Эти данные позволяют заключить, что характер функциональных преобразований в почке после питья воды и вызванного им снижения уровня эндогенного вазопрессина сходен со здоровыми людьми, но у большей части пациентов с СД2 разведение мочи было меньшим. Эта реакция почек у пациентов с СД2 могла быть обусловлена меньшим, чем у здоровых обследованных, объемом воды при водной нагрузке, но применять большую нагрузку при СД2 не представлялось целесообразным по клиническим соображениям. Существенно, что система осморегуляции пациентов с СД2 реагировала подобно здоровым лицам.

Увеличение секреции ГПП-1 в ответ на потребление глюкозы и введение эксенатида служат стимулом для выделения в кровь инсулина β -клетками поджелудочной железы для предотвращения резкого увеличения гликемии [89, 92, 223, 273]. Это является сигнальным действием инкретина. По ранее существующим представлениям секреция ГПП-1 зависела от потребления углеводов, но не воды и солей [307]. Описанные выше наши данные продемонстрировали роль увеличения секреции этого пептида в осмотическом гомеостазе. Эффект ГПП-1 обусловлен действием на почку и, по данным литературы, требует вовлечения в реакцию Na^+/H^+ -обменника в клетках проксимального сегмента нефрона [55]. Выявление внутренней связи между этими разными эффектами у человека представляло значительный интерес в ходе проведения данной работы. Выполнение теста на толерантность к глюкозе позволило сопоставить секрецию ГПП-1 после водной нагрузки с традиционными данными о секреции этого гормона после приема глюкозы у взрослых добровольцев [8]. Исследование уровня ГПП-1 в плазме крови показало, что как при нагрузке глюкозой, так и при потреблении воды наблюдается близкий по величине прирост его концентрации.

Поскольку секреция ГПП-1 оказалась значима при регуляции как водно-солевого баланса, так и уровня гликемии, возник вопрос о взаимодействии этих процессов в организме человека. Для ответа на него было сопоставлено гипогликемическое и натрийуретическое действие миметика ГПП-1, эксенатида, у пациентов с СД2. Сопоставление изменения концентрации глюкозы в сыворотке крови в ответ на введение препарата эксенатид по

сравнению с исходным значением и сдвига экскреции ионов натрия почкой при действии этого же препарата у того же пациента дало ответ на этот вопрос. Было установлено, что снижение уровня гликемии зависело от ее исходного уровня и было тем больше, чем выше были начальные значения концентрации глюкозы в сыворотке крови. При этом система инкретинов реагировала на гипергликемию таким образом, что чем больше было снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови, тем меньше был натрийурез.

Таким образом, рост концентрации ГПП-1, сопровождающий изменения функции почек на фоне избытка воды, свидетельствует о его участии в процессах осморегуляции у здоровых детей и взрослых. Установлено сходство уровня секреции ГПП-1 при потреблении воды или глюкозы. Полученные данные свидетельствуют о зависимости эффективности системы инкретинов в отношении изменения уровня гликемии и реакции почек по выделению ионов натрия не только от исходных значений этих параметров у каждого отдельного пациента, но и от взаимного влияния регуляции гликемии и функции ионорегулирующей системы.

ВЫВОДЫ

1. Впервые показано, что у здоровых взрослых людей водная нагрузка вызывает увеличение концентрации ГПП-1 в плазме крови. Прирост секреции ГПП-1 после водной нагрузки сопоставим с таковой после нагрузки глюкозой.
2. Функциональное значение увеличения концентрации ГПП-1 в сыворотке крови для поддержания водно-солевого гомеостаза нашло подтверждение в экспериментах с введением эксенатида, миметика инкретина, или вилдаглиптина, блокирующего ферментативное разрушение ГПП-1, что ускоряло восстановление физико-химических параметров жидкостей внутренней среды при осморегуляции у крыс.
3. В экспериментах на крысах установлен механизм участия ГПП-1 в регуляции выделения воды и солей натрия почкой при сдвигах водно-солевого баланса. Механическое растяжение желудка служит стимулом для секреции в кровь ГПП-1, который стимулирует рецепторы мембран клеток проксимального сегмента нефрона. Это приводит к уменьшению реабсорбции жидкости в указанном сегменте нефрона, усиливает ее приток в дистальный отдел и собирательную трубку, где локализовано действие вазопрессина и натрийуретических гормонов. Объем и осмоляльность мочи в этих условиях зависят от реализации осморегулирующего рефлекса.
4. Обследование пациентов с СД2 при введении им эксенатида показало, что регуляция гликемии и экскреции натрия почкой связаны участием ГПП-1.
5. У здоровых детей водная нагрузка стимулирует секрецию ГПП-1, который участвует в

осморегуляции и стабилизации водно-солевого обмена.

6. При целиакии у детей снижена скорость выведения избытка воды почками в условиях функциональной пробы с водной нагрузкой. Водная нагрузка стимулирует секрецию ГПП-1 при целиакии.

7. При хроническом гастродуодените у детей функциональная проба с водной нагрузкой не приводит к увеличению концентрации ГПП-1 в плазме крови и скорости выведения избытка воды почками.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные результаты о роли секреции ГПП-1 в регуляции водно-солевого обмена у детей свидетельствуют о физиологическом значении предпочтительного перорального поступления жидкости по сравнению с парентеральным в соответствии с чувством жажды.

2. Полученные данные о снижении реакции почек на водную нагрузку (снижение экскреции осмотически свободной воды) у пациентов с формой патологии, сопровождающейся изменением секреции ГПП-1 (хронический гастродуоденит), необходимо учитывать во избежание гиперволемии, особенно при сочетанных заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

3. Учитывая увеличение заболеваемости сахарным диабетом 2 типа в XXI веке, целесообразно при диспансерном обследовании населения обратить особое внимание на наличие патологии желудочно-кишечного тракта, возникшей в детском возрасте и связанной с локусом секреции ГПП-1 (гастродуоденит) для прогноза, профилактики и выявления нарушений углеводного обмена в последующие годы, у взрослых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айзман, Р. И. Возрастные особенности гемодинамики у человека на стимуляцию осморегулирующей системы / Р. И. Айзман, О. Н. Петрова, И. О. Тупицин // Физиология человека. – 1988. – Т. 14, № 4. – С. 647–651.
2. Вандер, А. Физиология почек / А. Вандер. – СПб.: Питер, 2000. – 256 с.
3. Великанова, Л. К. Осморцепторы печени / Л. К. Великанова, Я. Д. Финкинштейн // Физиол. Ж. СССР им. Сеченова. – 1959. – Т. 45. – С. 1472–1476.
4. Галстян, Г. Р. Эволюция агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в терапии сахарного диабета 2 типа / Г. Р. Галстян, Е. А. Каратаева, Е. А. Юдович // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 286.
5. Гинецинский А. Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия / А. Г. Гинецинский. – М.: Изд. АН СССР, 1963. – 426 с.
6. Гинецинский, А. Г. Основы физиологии человека и животных / А. Г. Гинецинский, А. В. Лебединский. – Л.: Медгиз, 1947. – 745 с.
7. Замощина, Т. А. Влияние лития оксипутирата на ритмическую организацию суточной динамики содержания катионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Li^+ в крови, мозге и моче крыс в период летнего солнцестояния / Т. А. Замощина, Х. М. Шрейм, Е. В. Иванова // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 35–42.
8. Клинические рекомендации “Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом” / ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М., 2013. – В. 6. – 120 с.
9. Кузнецова, А. А. Водносольевой обмен и функции почек у детей при целиакии и хроническом гастродуодените / А. А. Кузнецова, М. О. Ревнова, Ю. В. Наточин // Педиатрия. – 2004. – Т. 83, № 5. – С. 27–30.
10. Кутина, А. В. Новый фактор регуляции натрийуреза при гиперволемии / А. В. Кутина, А. С. Марина, Ю. В. Наточин // ДАН. – 2011. – Т. 441, № 2. – С. 275–277.
11. Марина, А. С. Стимуляция эксенатидом выведения осмотически свободной воды почкой крыс при гипергидратации / А. С. Марина, А. В. Кутина, Ю. В. Наточин // ДАН. – 2011. – Т. 437, № 4. – С. 568–570.
12. Наточин, Ю. В. Исследование функции почек у экипажа космического корабля «Восход» / Ю. В. Наточин, М. М. Соколова, В. Ф. Васильева [и др.] // Космические исследования. – 1965. – Т. 3, № 6. – С. 935–939.
13. Наточин, Ю. В. Клубочковая фильтрация и проксимальная реабсорбция в эволюции почки позвоночных / Ю. В. Наточин // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1972. – Т. 8, № 3. – С. 289–297.

14. Наточин, Ю. В. Почка. Справочник врача / Ю.В. Наточин // СПб.: Изд-во СПбГУ, 1997. – 208 с.
15. Наточин, Ю. В. Физиология почки: формулы и расчеты / Ю. В. Наточин // Ленинград: Изд-во "Наука", 1974. – 59 с.
16. Папаян, А. В. Клиническая нефрология детского возраста: руководство для врачей / А. В. Папаян. – Санкт-Петербург: СОТИС, 1997. – 718 с.
17. Педиатрия: руководство для врачей и студентов / гл. ред. Н. Н. Володин, науч. ред. В. П. Булатов, М. Р. Рокицкий, Э. Г. Улумбеков. – пер с англ. доп. – Москва: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. – 833 с.
18. Рахметов, Б. Р. Соотношение между выведением натрия и хлоридов почкой некоторых позвоночных: дис. ... канд. биол. наук / Рахметов Берды Р. – Ленинград, 1970. – 151 с.
19. Ревна, М. О. Целиакия / М. О. Ревна // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 1996. – Т. 2. – С. 63–65.
20. Сахарный диабет: состояние осморегулирующей функции почек / Ю. В. Наточин, М. В. Шестакова, А. А. Кузнецова [и др.] // Терапевтический архив. – 2010. – Т. 6 – С. 9–14.
21. Стимуляция секреции глюкагоноподобного пептида-1 водной нагрузкой у человека / А. С. Марина, А. В. Кутина, Е. И. Шахматова [и др.] // ДАН. – 2014. – Т. 459, № 1. – С. 121–124.
22. Стимуляция эксенатидом выделения осмотически свободной воды почкой человека / Е. И. Шахматова, Ж. В. Шуцкая, М. Е. Владимирова [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2012. – Т. 98, №8. – С. 1021–1029.
23. Шабалов, Н. П. Детские болезни: учебник для вузов: в 2-х т. / Н. П. Шабалов. – СПб.: Питер, 2009. – 928 с. – Т. 1.
24. A pilot study to assess whether glucagon-like peptide-1 protects the heart from ischemic dysfunction and attenuates stunning after coronary balloon occlusion in humans / P. A. Read, S. P. Hoole, P. A. White [et al.] // Circ. Cardiovasc. Interv. – 2011. – Vol. 4, N 3. – P. 266–272.
25. A quantitative study of enteric endocrine cells in celiac sprue / A. M. Buchan, S. Grant, J. C. Brown [et al.] // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 1984. – Vol. 3, N 5. – P. 665–671.
26. A subset of 50 secretory granules in close contact with L-type Ca²⁺ channels accounts for first-phase insulin secretion in mouse beta-cells / S. Barg, L. Eliasson, E. Renström [et al.] // Diabetes. – 2002. – Vol. 51, Suppl. 3. – P. S74–S82.
27. Action of glucagon and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide on lipolysis in human subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle *in vivo* / E. Bertin, P. Arner, J. Bolinder [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 86, N 3. – P. 1229–1234.
28. Activation of AMP-activated protein kinase enhances angiotensin ii-induced proliferation in cardiac fibroblasts / Y. Hattori, K. Akimoto, T. Nishikimi [et al.] // Hypertension. – 2006. – Vol.

- 47, N 2. – P. 265–270.
29. Activation of GLP-1 receptors on vascular smooth muscle cells reduces the autoregulatory response in afferent arterioles and increases renal blood flow / E. P. Jensen, S. S. Poulsen, H. Kissow [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2015. – Vol. 308, N 8. – P. F867–F877.
 30. Activation of the parasympathetic nervous system is necessary for normal meal-induced insulin secretion in rhesus macaques / D. A. D'Alessio, T. J. Kieffer, G. J. Taborsky Jr [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86, N 3. – P. 1253–1259.
 31. Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7–36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations / M. A. Nauck, E. Bartels, C. Orskov [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1993. – Vol. 76, N 4. – P. 912–917.
 32. Agre, P. Nobel lecture. Aquaporin water channels / P. Agre // *Biosci. Rep.* – 2004. – Vol. 24, N 3. – P. 127–163.
 33. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals / H. C. Gerstein, J. F. Mann, Q. Yi [et al.] // *JAMA.* – 2001. – Vol. 286, N 4. – P. 421–426.
 34. Anini, Y. Muscarinic receptors control glucagon-like peptide 1 secretion by human endocrine L cells / Y. Anini, P. L. Brubaker // *Endocrinology.* – 2003. – Vol. 144, N 7. – P. 3244–3250.
 35. Anini, Y. Muscarinic receptors control postprandial release of glucagon-like peptide-1: *in vivo* and *in vitro* studies in rats / Y. Anini, T. Hansotia, P. L. Brubaker // *Endocrinology.* – 2002. – Vol. 143, N 6. – P. 2420–2426.
 36. Antagonism of rat beta-cell voltage-dependent K⁺ currents by exendin 4 requires dual activation of the cAMP/protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways / P. E. MacDonald, X. Wang, F. Xia [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 52. – P. 52446–52453.
 37. Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1(7–36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus / M. Gutniak, C. Orskov, J. J. Holst [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1992. – Vol. 326, N 20. – P. 1316–1322.
 38. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine / S. Nielsen, J. Frokiaer, D. Marples [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82, N 1. – P. 205–244.
 39. Autonomic nervous system-dependent and -independent cardiovascular effects of exendin-4 infusion in conscious rats / S. M. Gardiner, J. E. March, P. A. Kemp [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 154, N 1. – P. 60–71.
 40. Baggio, L. L. Biology of incretins: GLP-1 and GIP / L. L. Baggio, D. J. Drucker // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 132, N 6. – P. 2131–2157.

41. Baggio, L. L. Chronic exposure to GLP-1R agonists promotes homologous GLP-1 receptor desensitization *in vitro* but does not attenuate GLP-1R-dependent glucose homeostasis *in vivo* / L. L. Baggio, J. G. Kim, D. J. Drucker // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53, Suppl. 3. – P. S205–S214.
42. Bankir, L. Vasopressin and Diabetes mellitus / L. Bankir, P. Bardoux, M. Ahloulay // *Nephron*. – 2001. – Vol. 87, N 1. – P. 8–18.
43. Bartok, C. J. Babies fed breastmilk by breast versus by bottle: a pilot study evaluating early growth patterns / C. J. Bartok // *Breastfeed Med*. – 2011. – Vol. 6, N 3. – P. 117–124.
44. Bell, G. I. Hamster preproglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides / G. I. Bell, R. F. Santerre, G. T. Mullenbach // *Nature*. – 1983. – Vol. 302, N 5910. – P. 716–718.
45. Bench-to-bedside review: the gut as an endocrine organ in the critically ill / A. Deane, M. J. Chapman, R. J. Fraser [et al.] // *Crit. Care*. – 2010. – Vol. 14, N 5. – P. 228.
46. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes / A. E. Butler, J. Janson, S. Bonner-Weir [et al.] // *Diabetes*. – 2003. – Vol. 52, N 1. – P. 102–110.
47. Bouwens, L. Regulation of pancreatic beta-cell mass / L. Bouwens, I. Rooman // *Physiol. Rev*. – 2005. – Vol. 85, N 4. – P. 1255–1270.
48. Brown, J. C. Further purification of a polypeptide with enterogastrone activity / J. C. Brown, V. Mutt, R. A. Pederson // *J. Physiol. (Lond)*. – 1970. – Vol. 209, N 1. – P. 57–64.
49. Brubaker, P. L. Minireview: update on incretin biology: focus on glucagon-like peptide-1 / P. L. Brubaker // *Endocrinology*. – 2010. – Vol. 151, N 5. – P. 1984–1989.
50. Bullock, B. P. Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide 1 receptor / B. P. Bullock, R. S. Heller, J. F. Habener // *Endocrinology*. – 1996. – Vol. 137, N 7. – P. 2968–2978.
51. Buteau, J. Transcription factor FoxO1 mediates glucagon-like peptide-1 effects on pancreatic beta-cell mass / J. Buteau, M. L. Spatz, D. Accili // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55, N 5. – P. 1190–1196.
52. Calcium absorption and bone mineral density in celiacs after long term treatment with gluten-free diet and adequate calcium intake / M. Pazianas, G. P. Butcher, J. M. Subhani [et al.] // *Osteoporos Int*. – 2005. – Vol. 16, N 1. – P. 56–63.
53. cAMP-dependent mobilization of intracellular Ca²⁺ stores by activation of ryanodine receptors in pancreatic beta-cells. A Ca²⁺ signaling system stimulated by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1-(7-37) / G. G. Holz, C. A. Leech, R. S. Heller [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 1999. – Vol. 274, N 20. – P. 14147–14156.
54. Cardiac function in mice lacking the glucagon-like peptide-1 receptor / R. Gros, X. You, L. L. Baggio [et al.] // *Endocrinology*. – 2003. – Vol. 144, N 6. – P. 2242–2252.
55. Carraro-Lacroix, L. R. Regulation of Na⁺/H⁺ exchanger NHE3 by glucagon-like peptide 1

- receptor agonist exendin-4 in renal proximal tubule cells / L. R. Carraro-Lacroix, G. Malnic, A. C. Girardi // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2009. – Vol. 297, N 6. – P. 1647–1655.
56. Celiac disease and the risk of kidney diseases: a systematic review and meta-analysis / K. Wijarnpreecha, C. Thongprayoon, P. Panjawatanan [et al.] // *Dig. Liver Dis.* – 2016. – Vol. 48, N 12. – P. 1418–1424.
57. Central administration food and water intake of GLP-1- (7-36) in rats amide inhibits / M. Tangchristensen, D. S. Jessop, J. Larsen [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1996. – Vol. 271, N 4, Pt 2. – P. R848–R856.
58. Characterization of glucagon-like peptide-I(7-36)amide receptors of rat lung membranes by covalent cross-linking / G. Richter, R. Göke, B. Göke // *FEBS Lett.* – 1991. – Vol. 280, N 2. – P. 247–250.
59. Characterization of human and rat glucagonlike peptide-1 receptors in the neurointermediate lobe: lack of coupling to either stimulation or inhibition of adenylyl cyclase / F. Satoh, S. A. Beak, C. J. Small [et al.] // *Endocrinology.* – 2000. – Vol. 141, N 4. – P. 1301–1309.
60. Chen, Y. E. Tissue-specific expression of unique mRNAs that encode proglucagon-derived peptides or exendin-4 in the lizard / Y. E. Chen, D. J. Drucker // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272, N 7. – P. 4108–4115.
61. Choi, M. R. Protective renal effects of atrial natriuretic peptide: where are we now? / M. R. Choi, B. E. Fernández // *Front. Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 680213.
62. Chronic treatment of exendin-4 affects cell proliferation and neuroblast differentiation in the adult mouse hippocampal dentate gyrus / H. Li, C. H. Lee, K. Y. Yoo [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2010. – Vol. 486, N 1. – P. 38–42.
63. Claustre, J. Stimulatory effect of beta-adrenergic agonists on ileal L cell secretion and modulation by alpha-adrenergic activation / J. Claustre, S. Brechet, P. Plaisancie [et al.] // *J. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 162, N 2. – P. 271–278.
64. Cloning and functional expression of the human glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor / J. S. Dillon, Y. Tanizawa, M. B. Wheeler [et al.] // *Endocrinology.* – 1993. – Vol. 133, N 4. – P. 1907– 1910.
65. Complete sequences of glucagon-like peptide-1 from human and pig small intestine / C. Orskov, M. Bersani, A. H. Johnson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1989. – Vol. 264, N 22. – P. 12826–12829.
66. Crabtree, G. R. Calcium, calcineurin, and the control of transcription / G. R. Crabtree // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, N 4. – P. 2313–2316.
67. Crajoinas, R. O. Mechanisms mediating the diuretic and natriuretic actions of the incretin hormone glucagon-like peptide-1 / R. O. Crajoinas, F. T. Oricchio, T. D. Pessoa [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2011. – Vol. 301, N 2. – P. F355–F363.

68. Creutzfeldt, W. The incretin concept today / W. Creutzfeldt // *Diabetologia*. – 1979. – Vol. 16, N 2. – P. 75–85.
69. Cross-talk between adipose and gastric leptins for the control of food intake and energy metabolism / P. G. Cammisotto, E. Levy, L. J. Bukowiecki [et al.] // *Prog. Histochem. Cyto.* – 2010. – Vol. 45, N 3. – P. 143–200.
70. Cross-talk between bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta signaling is essential for exendin-4-induced insulin-positive differentiation of AR42J cells / K. H. Yew, M. Hembree, K. Prasadani [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, N 37. – P. 32209–32217.
71. Cyclins D2 and D1 are essential for postnatal pancreatic beta-cell growth / J. A. Kushner, M. A. Ciemerych, E. Sicinska [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 25, N 9. – P. 3752–3762.
72. D'Alessio, D. A. Enteral enhancement of glucose disposition by both insulin-dependent and insulin-independent processes. A physiological role of glucagon-like peptide I / D. A. d'Alessio, R. L. Prigeon, J. W. Ensink // *Diabetes*. – 1995. – Vol. 44, N 12. – P. 1433–1437.
73. Dailey, M. J. Glucagon-like peptide 1 and appetite / M. J. Dailey, T. H. Moran // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 24, N 2. – P. 85–91.
74. Dantzler, W. H. Regulation of renal proximal and distal tubule transport: sodium, chloride and organic anions / W. H. Dantzler // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2003. – Vol. 136, N 3. – P. 453–478.
75. Deacon, C. F. What do we know about the secretion and degradation of incretin hormones? / C. F. Deacon // *Regul. Pept.* – 2005. – Vol. 128, N 2. – P. 117–124.
76. Detel, D. The influence of age on intestinal dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26), disaccharidases and alkaline phosphatase enzyme activity in C57BL/6 mice / D. Detel, L. Baticic, J. Varljen // *Exp. Aging. Res.* – 2008. – Vol. 34, N 1. – P. 49–62.
77. Developmental pattern of water and electrolyte transport in rat superficial nephron / M. Lelievre-Pegorier, C. Merlet-Bénichou, N. Roinel [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1983. – Vol. 245, N 1. – P. F15–F21.
78. Developmental patterns of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide and peptide-YY in rat pancreas and gut / B. Kreyman, M. A. Ghati, J. Domin [et al.] // *Endocrinology*. – 1991. – Vol. 129, N 2. – P. 1001–1005.
79. Dhanvantari, S. Role of prohormone convertases in the tissue-specific processing of proglucagon / S. Dhanvantari, N. G. Seidah, P. L. Brubaker // *Mol. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 10, N 4. – P. 342–355.
80. Different domains in the third intracellular loop of the GLP-1 receptor are responsible for Galpha(s) and Galpha(i)/Galpha(o) activation / M. Hallbrink, T. Holmqvist, M. Olsson [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2001. – Vol. 1546, N 1. – P. 79–86.

81. Differentiating effects of the glucagon-like peptide-1 analogue exendin-4 in a human neuronal cell model / P. Luciani, C. Deledda, S. Benvenuti [et al.] // *Cell Mol. Life Sci.* – 2010. – Vol. 67, N 21. – P. 3711–3723.
82. Diffuse nesidioblastosis as a cause of hyperinsulinemic hypoglycemia in adults: a diagnostic and therapeutic challenge / A. Raffel, M. M. Krausch, M. Anlauf // *Surgery.* – 2007. – Vol. 141, N 2. – P. 179–184.
83. Dipeptidylpeptidase IV from bench to bedside / A. M. Lambeir, C. Durinx, S. Scharpe [et al.] // *Crit. Rev. Clin. Lab. Med.* – 2003. – Vol. 40, N 3. – P. 209–294.
84. Distinct effects of glucosedependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 on insulin secretion and gut motility / T. Miki, K. Minami, H. Shinozaki [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54, N 4. – P. 1056–1063.
85. Distribution and immunocytochemical colocalization of peptide YY and enteroglucagon in endocrine cells of the rabbit colon / O. Nilson, A. J. Bilchik, J. R. Goldenring [et al.] // *Endocrinology.* – 1991. – Vol. 129, N 1. – P. 139–148.
86. Do infants fed directly from the breast have improved appetite regulation and slower growth during early childhood compared with infants fed from a bottle? / K. I. Di Santis, B. N. Collins, J. O. Fisher [et al.] // *Int. J. Behav. Nutr. Phy.* – 2011. – Vol. 8. – P. 89.
87. Do intestinal hyperpermeability and the related food antigens play a role in the progression of IgA nephropathy? I. Study of intestinal permeability / T. Kovacs, L. Kun, M. Schmelczler [et al.] // *Am. J. Nephrol.* – 1996. – Vol. 16, N 6. – P. 500–505.
88. Doyle, M. E. Glucagon-like peptide-1 / M. E. Doyle, J.M. Egan // *Recent. Prog. Horm. Res.* – 2001. – Vol. 56. – P. 377–399.
89. Doyle, M. E. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancreas / M. E. Doyle, J.M. Egan // *Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 113, N 3. – P. 546–593.
90. Drucker, D. J. Glucagon gene expression in vertebrate brain / D. J. Drucker, S. Asa // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol. 263, N 27. – P. 13475–13478.
91. Drucker, D. J. Proglucagon gene expression is regulated by a cyclic AMP-dependent pathway in rat intestine / D. J. Drucker, P. L. Brubaker // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – Vol. 86, N 11. – P. 3953–3957.
92. Drucker, D. J. The biology of incretin hormones / D. J. Drucker // *Cell Metab.* – 2006. – Vol. 3, N 3. – P. 153–165.
93. Effect of nutrient ingestion on glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) secretion in human type 1 and type 2 diabetes / R. Lugari, C. dell'Anna, D. Ugolotti [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2000. – Vol. 32, N 10. – P. 424–428.
94. Effects of acute water load, hypertonic saline infusion, and furosemide administration on atrial

- natriuretic peptide and vasopressin release in humans / T. Kimura, K. Abe, K. Ota [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1986. – Vol. 62, N 5. – P. 1003–1010.
95. Effects of exenatide and liraglutide on heart rate, blood pressure and body weight: systematic review and meta-analysis / L. E. Robinson, T. A. Holt, K. Rees [et al.] // *BMJ Open.* – 2013. – Vol. 3, N 1. – P. e001986.
 96. Effects of fasting, refeeding, and intraluminal triglyceride on proglucagon expression in jejunum and ileum / E. C. Hoyt, P. K. Lund, D. E. Winesett [et al.] // *Diabetes.* – 1996. – Vol. 45, N 4. – P. 434–439.
 97. Effects of glucagon and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide on C cells from rat thyroid and medullary thyroid carcinoma CA-77 cell line / A. Crespel, F. de Boisvilliers, L. Gros [et al.] // *Endocrinology.* – 1996. – Vol. 137, N 9. – P. 3674–3680.
 98. Elevated basal and post-feed glucagon-like peptide 1 (GLP-1) concentrations in the neonatal period / R. Padidela, M. Patterson, N. Sharief [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 160, N 1. – P. 53–58.
 99. Endogenous GLP-1 acts on paraventricular nucleus to suppress feeding: projection from nucleus tractus solitarius and activation of corticotropin-releasing hormone, nesfatin-1 and oxytocin neurons / K. Katsurada, Y. Maejima, M. Nakata [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2014. – Vol. 451, N 2. – P. 276–281.
 100. Enhancing the GLP-1 receptor signaling pathway leads to proliferation and neuroprotection in human neuroblastoma cells / Y. Li, D. Tweedie, M. P. Mattson [et al.] // *J. Neurochem.* – 2010. – Vol. 113, N 6. – P. 1621–1631.
 101. Entero-insular axis in children with anorexia nervosa / P. J. Tomasik, K. Sztefko, J. Starzyk [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2005. – Vol. 30, N 4. – P. 364–372.
 102. Epithelial-to-mesenchymal transition generates proliferative human islet precursor cells / M. C. Gershengorn, A. A. Hardikar, C. Wei [et al.] // *Science.* – 2004. – Vol. 306, N 5705. – P. 2261–2264.
 103. Erythromycin antagonizes the deceleration of gastric emptying by glucagon-like peptide 1 and unmasks its insulinotropic effect in healthy subjects / J. J. Meier, G. Kemmeries, J. J. Holst [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54, N 7. – P. 2212–2218.
 104. Evidence of GLP-1-mediated neuroprotection in an animal model of pyridoxine-induced peripheral sensory neuropathy / T. Perry, H. W. Holloway, A. Weerasuriya [et al.] // *Exp. Neurol.* – 2007. – Vol. 203, N 2. – P. 293–301.
 105. Exenatide (exendin-4) improves insulin sensitivity and β -cell mass in insulin-resistant obese fa/fa Zucker rats independent of glycemia and body weight / B. R. Gedin, S. E. Nikoulina, P. A. Smith [et al.] // *Endocrinology.* – 2005. – Vol. 146, N 4. – P. 2069–2076.

106. Exenatide alters myocardial glucose transport and uptake depending on insulin resistance and increases myocardial blood flow in patients with type 2 diabetes / M. Gejl, H. M. Søndergaard, C. Stecher [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, N 7. – P. E1165–E1169.
107. Exenatide stimulated solute-free water excretion by human kidney / E. I. Shakhmatova, Zh. V. Shutskaia, M. E. Vladimirova [et al.] // *Russ. Fiziol. Zh. Im. I. M. Sechenova.* – 2012. – Vol. 98, N 8. – P. 1021–1029.
108. Exendin-4 ameliorates motor neuron degeneration in cellular and animal models of amyotrophic lateral sclerosis / Y. Li, S. Chigurupati, H.W. Holloway [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 2. – P. e32008.
109. Exendin-4 differentiation of a human pancreatic duct cell line into endocrine cells: involvement of PDX-1 and HNF3beta transcription factors / J. Zhou, M. A. Pineyro, X. Wang [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2002. – Vol. 192, N 3. – P. 304–314.
110. Exendin-4 improves glycemic control, ameliorates brain and pancreatic pathologies, and extends survival in a mouse model of Huntington's disease / B. Martin, E. Golden, O. D. Carlson [et al.] // *Diabetes.* – 2009. – Vol. 58, N 2. – P. 318–328.
111. Exendin-4 induction of cyclin D1 expression in INS-1 beta-cells: involvement of cAMP-responsive element / M. J. Kim, J. H. Kang, Y. G. Park [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 188, N 3. – P. 623–633.
112. Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin- (9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7- 36)-amide receptor of insulin-secreting beta-cells / R. Goke, H. C. Fehmann, T. Linn [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268, N 26. – P. 19650–19655.
113. Exendin-4 restores glucolipototoxicity-induced gene expression in human coronary artery endothelial cells / O. Erdogan, L. Eriksson, T. Nyström [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 419, N 4. – P. 790–795.
114. Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats / G. Xu, D.A. Stoffers, J.F. Habener [et al.] // *Diabetes.* – 1999. – Vol. 48, N 12. – P. 2270–2276.
115. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, provides neuroprotection in mice transient focal cerebral ischemia / S. Teramoto, N. Miyamoto, K. Yatomi [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2011. – Vol. 31, N 8. – P. 1696–1705.
116. Expenditures for medicaid patients treated with exenatide compared with other diabetes management regimens / J. H. Best, J. A. Romley, D. P. Goldman [et al.] // *Am. J. Manag. Care.* – 2012. – Vol. 18, Suppl. 8. – P. s191–s202.
117. Expression and function of pancreatic beta-cell delayed rectifier K⁺ channels. Role in stimulus-secretion coupling / M. W. Roe, J. F. Worley 3rd, A. A. Mittal [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1996. –

- Vol. 271, N 50. – P. 32241–32246.
118. Expression and functional activity of glucagon, glucagon-like peptide I, and glucose-dependent insulinotropic peptide receptors in rat pancreatic islet cells / K. Moens, H. Heimberg, D. Flamez [et al.] // *Diabetes*. – 1996. – Vol. 45, N 2. – P. 257–261.
 119. Fehmann, H. C. At the cutting edge: glucagonlike peptide 1 (7-37)/(7-36)amide is a new incretin hormone / H. C. Fehmann, R. Goke, B. Goke // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1992. – Vol. 85, N 1–2. – P. C39–C44.
 120. Fehmann, H. C. Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulin releasing polypeptide / H. C. Fehmann, R. Göke, B. Göke // *Endocr. Rev.* – 1995. – Vol. 16, N 3. – P. 390–410.
 121. Fehmann, H. C. Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) on a somatostatin secreting cell line / H. C. Fehmann, J. F. Habener // *FEBS Lett.* – 1991. – Vol. 279, N 2. – P. 335–340.
 122. Fehmann, H. C. Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells / H. C. Fehmann, J. F. Habener // *Endocrinology*. – 1992. – Vol. 130, N 1. – P. 159–166.
 123. Functional ontogeny of the proglucagon-derived peptide axis in the premature human neonate / H. Amin, J. J. Holst, B. Hartmann [et al.] // *Pediatrics*. – 2008. – Vol. 121, N 1. – e180–e186.
 124. Funder, J. W. Aldosterone action / J. W. Funder // *Annu. Rev. Physiol.* – 1993. – Vol. 55. – P. 115–130.
 125. Galanin is a potent inhibitor of glucagon-like peptide-1 secretion from rat ileum / C. Herrmann-Rinke, D. Horsch, G. P. McGregor [et al.] // *Peptides*. – 1996. – Vol. 17, N 4. – P. 571–576.
 126. Gastric lipase secretion in children with gastritis / P. J. Tomasik, A. Wedrychowicz, I. Rogatko [et al.] // *Nutrients*. – 2013. – Vol. 5, N 8. – P. 2924–2932.
 127. Gastrointestinal satiety signals / O. B. Chaudhri, V. Salem, K. G. Murphy [et al.] // *Annu. Rev. Physiol.* – 2008. – Vol. 70. – P. 239–255.
 128. Generation of human islets through expansion and differentiation of non-islet pancreatic cells discarded (pancreatic discard) after islet isolation / I. Todorov, K. Omori, M. Pascual [et al.] // *Pancreas*. – 2006. – Vol. 32, N 2. – P. 130–138.
 129. Gentili, C. Implication of Gbetagamma proteins and c-SRC tyrosine kinase in parathyroid hormone-induced signal transduction in rat enterocytes / C. Gentili, R. Boland, A. Russo de Boland // *J. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 188, N 1. – P. 69–78.
 130. Girardi, A. C. Deciphering the mechanisms of the Na⁺/H⁺ exchanger-3 regulation in organ dysfunction / A. C. Girardi, F. Di Sole // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2012. – Vol. 302, N 11. – P. C1569–C1587.

131. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine / K. Mortensen, L. L. Christensen, J. J. Holst [et al.] // Regul. Pept. – 2003. – Vol. 114, N 2–3. – P. 189–196.
132. GLP-1 and related peptides cause concentration-dependent relaxation of rat aorta through a pathway involving KATP and cAMP / B. D. Green, K. V. Hand, J. E. Dougan [et al.] // Arch. Biochem. Biophys. – 2008. – Vol. 478, N 2. – P. 136–142.
133. GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure / M. Kim, M. J. Platt, T. Shibasaki [et al.] // Nat. Med. – 2013. – Vol. 19, N 5. – P. 567–575.
134. GLP-1 receptor expression in human tumors and human normal tissues: potential for *in vivo* targeting / M. Korner, M. Stöckli, B. Waser [et al.] // J. Nucl. Med. – 2007. – Vol. 48, N 5. – P. 736–743.
135. GLP-1 receptor is expressed in human stomach mucosa: analysis of its cellular association and distribution within gastric glands / E. Broide, O. Bloch, G. Ben-Yehudah [et al.] // J. Histochem. Cytochem. – 2013. – Vol. 61, N 9. – P. 649–658.
136. GLP-1 receptor stimulation preserves primary cortical and dopaminergic neurons in cellular and rodent models of stroke and Parkinsonism / Y. Li, T. Perry, M. S. Kindy [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106, N 4. – P. 1285–1290.
137. Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic beta-cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor / J. Buteau, S. Foisy, E. Joly [et al.] // Diabetes. – 2003. – Vol. 52, N 1. – P. 124–132.
138. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans / A. Flint, A. Raben, A. Astrup [et al.] // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 101, N 3. – P. 515–520.
139. Glucagon-like peptide 1 receptor expression in primary porcine proximal tubular cells / P. Schlatter, C. Beglinger, J. Drewe [et al.] // Regul. Pept. – 2007. – Vol. 141, N 1–3. – P. 120–128.
140. Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig / C. F. Deacon, L. Pridal, L. Klarskov [et al.] // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 271, N 3, Pt 1. – P. E458–E464.
141. Glucagon-like peptide I receptors in the subfornical organ and the area postrema are accessible to circulating glucagon-like peptide I / C. Orskov, S. S. Poulsen, M. Moller [et al.] // Diabetes. – 1996. – Vol. 45, N 6. – P. 832–835.
142. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line / D. J. Drucker, J. Philippe, S. Mojsov [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1987. – Vol. 84, N 10. – P. 3434–3438.
143. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide stimulates surfactant secretion in human type II

- pneumocytes / E. Vara, J. Arias-Diaz, C. Garcia [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163, N 4. – P. 840–846.
144. Glucagon-like peptide-1 (7–36)amide and glucose-dependent insulintropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute postprandial and 24-h secretion patterns / R. M. Elliott, L. M. Morgan, J. A. Tredger [et al.] // *J Endocrinol.* – 1993. – Vol.138, N 1. – P. 159–166.
145. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) attenuates post-resuscitation myocardial microcirculatory dysfunction / B. B. Dokken, W. R. Hilwig, M. K. Teachey [et al.] // *Resuscitation.* – 2010. – Vol. 81, N 6. – P. 755–760.
146. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1): effect on kidney hemodynamics and renin-angiotensin-aldosterone system in healthy men / J. Skov, A. Dejgaard, J. Frøkiær // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, N 4. – P. E664–E671.
147. Glucagon-like peptide-1 affects gene transcription and messenger ribonucleic acid stability of components of the insulin secretory system in RIN 1046-38 cells / Y. Wang, J. M. Egan, M. Raygada [et al.] // *Endocrinology.* – 1995. – Vol. 136, N 11. – P. 4910–4917.
148. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients / C. Herrmann, R. Goke, G. Richter [et al.] // *Digestion.* – 1995. – Vol. 56, N 2. – P. 117–126.
149. Glucagon-like peptide-1 causes pancreatic duodenal homeobox-1 protein translocation from the cytoplasm to the nucleus of pancreatic beta-cells by a cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A-dependent mechanism / X. Wang, J. Zhou, M. E. Doyle [et al.] // *Endocrinology.* – 2001. – Vol. 142, N 5. – P. 1820–1827.
150. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells / J. Buteau, R. Roudit, S. Susini [et al.] // *Diabetologia.* – 1999. – Vol. 42, N 7. – P. 856–864.
151. Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons / H. Yamamoto, C. E. Lee, J. N. Marcus [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 110, N 1. – P. 43–52.
152. Glucagon-like peptide-1 relaxes rat conduit arteries via an endothelium-independent mechanism / T. Nystrom, A. T. Gonon, A. Sjöholm [et al.] // *Regul. Pept.* – 2005. – Vol. 125, N 1–3. – P. 173–177.
153. Glucagon-like peptide-1 stimulates human insulin promoter activity in part through cAMP-responsive elements that lie upstream and downstream of the transcription start site / C. W. Hay, E. M. Sinclair, G. Bermano [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 186, N 2. – P. 353–365.

154. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine / L. Hansen, C. F. Deacon, C. Orskov [et al.] // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140, N 11. – P. 5356–5363.
155. Glucagon-like peptide-1, peptide YY, hunger, and satiety after gastric bypass surgery in morbidly obese subjects / R. Morinigo, V. Moize, M. Musri [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91, N 5. – P. 1735–1740.
156. Glucagon-like peptide-1-responsive catecholamine neurons in the area postrema link peripheral glucagon-like peptide-1 with central autonomic control sites / H. Yamamoto, T. Kishi, C. E. Lee [et al.] // *J. Neurosci.* – 2003. – Vol. 23, N 7. – P. 2939–2946.
157. Glucose stimulates the activation domain potential of the PDX-1 homeodomain transcription factor / H. V. Petersen, M. Peshavaria, A. A. Pedersen [et al.] // *FEBS Lett.* – 1998. – Vol. 431, N 3. – P. 362–366.
158. Glucose-stimulated preproinsulin gene expression and nuclear trans-location of pancreatic duodenum homeobox-1 require activation of phosphatidylinositol 3-kinase but not p38 MAPK/SAPK2 / I. Rafiq, G. da Silva Xavier, S. Hooper [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275, N 21. – P. 15977–15984.
159. Gomez, E. cAMP-dependent protein kinase and Ca²⁺ influx through L-type voltage-gated calcium channels mediate Raf-independent activation of extracellular regulated kinase in response to glucagon-like peptide-1 in pancreatic beta-cells / E. Gomez, C. Pritchard, T. P. Herbert // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, N 50. – P. 48146–48151.
160. Grossman, M. I. Gastrointestinal hormones / M. I. Grossman // *Physiol. Rev.* – 1950. – Vol. 30. – P. 33–90.
161. Gut hormone profiles in preterm and term infants during the first 2 months of life / R. Kawamata, Y. Suzuki, Y. Yada [et al.] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 27, N 7–8. – P. 717–723.
162. Gut microbiome in chronic kidney disease / R. G. Armani, A. Ramezani, A. Yasir [et al.] // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2017. – Vol. 19, N 4. – P. 29.
163. Gutzwiller, J.-P. Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men / J.-P. Gutzwiller, S. Tschopp, A. Bock [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89, N 6. – P. 3055–3061.
164. Gutzwiller, J.-P. Glucagon-like peptide-1 is involved in sodium and water homeostasis in humans / J. P. Gutzwiller, P. Hruz, A. R. Huber [et al.] // *Digestion*. – 2006. – Vol. 73, N 2–3. – P. 142–150.
165. Hansen, L. The effects of duodenal peptides on glucagon-like peptide-1 secretion from the

- ileum. A duodeno-ileal loop? / L. Hansen, J. J. Holst // *Regul. Pept.* – 2002. – Vol. 110, N 1. – P. 39–45.
166. Heinrich, G. Glucagon gene sequence: four of six exons encode separate functional domains of rat preproglucagon / G. Heinrich, P. Gros, J. F. Habener // *J. Biol. Chem.* – 1984. – Vol. 259, N 22. – P. 14082–14087.
167. Heller, H. Über das insulotrope Hormon der Darmschleimhaut (Duodenin) / H. Heller // *Arch. Exp. Pharmacol.* – 1935. – Vol. 177. – S. 127–133.
168. Henquin, J. C. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose / J. C. Henquin // *Diabetes.* – 2000. – Vol. 49, N 11. – P. 1751–1760.
169. Henry, J. P. Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow / J. P. Henry, O. H. Gauer, J. L. Reeves // *Circ. Res.* – 1956. – Vol. 4, N 1. – P. 85–90.
170. Holst, J. J. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1): an intestinal hormone signalling nutritional abundance, with an unusual therapeutic potential / J. J. Holst // *Trends. Endocrinol. Metab.* – 1999. – Vol. 10, N 6. – P. 229–234.
171. Holst, J. J. The Physiology of glucagon-like peptide 1 / J. J. Holst // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, N 4. – P. 1409–1439.
172. Holz, G. G. Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37) / G. G. Holz, W. M. Kuhlreiber, J. F. Habener // *Nature.* – 1993. – Vol. 361, N 6410. – P. 362–365.
173. Holz, G.G. Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagonlike peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell / G.G. Holz // *Diabetes.* – 2004. – Vol. 53, N 1. – P. 5–13.
174. Human duodenal enteroendocrine cells: source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP / M. J. Theodorakis, O. Carlson, S. Michopoulos [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 2006. – Vol. 290, N 3. – P. E550–E559.
175. Human glucagon-like peptide- 1 receptor gene: localization to chromosome band 6p21 by fluorescence in situ hybridization and linkage of a highly polymorphic simple tandem repeat DNA polymorphism to other markers on chromosome 6 / M. Stoffel, R. Espinosa III, M. M. le Beau [et al.] // *Diabetes.* – 1993. – Vol. 42, N 8. – P. 1215–1218.
176. Hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery is not accompanied by islet hyperplasia or increased beta-cell turnover / J. J. Meier, A. E. Butler, R. Galasso [et al.] // *Diabetes Care.* – 2006. – Vol. 29, N 7. – P. 1554–1559.
177. Hyponatremia and antidiuresis syndrome / M. C. Vantyghem, A. S. Balavoine, J. L. Wemeau [et al.] // *Ann. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 72, N 6. – P. 500-512.
178. Identical mRNA for preproglucagon in pancreas and gut / U. Novak, A. Wilks, G. Buell [et al.] //

- Eur. J. Biochem. – 1987. – Vol. 164, N 3. – P. 553–558.
179. Identification of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in rat brain / S. Yoshimoto, M. Hirota, C. Ohboshi [et al.] // Ann. Clin. Biochem. – 1989. – Vol. 26, Pt. 2. – P. 169–171.
180. Ikeda, M. Regulation of aquaporins by vasopressin in the kidney / M. Ikeda, T. Matsuzaki // Vitam. Horm. – 2015. – Vol. 98. – P. 307–337.
181. Ileal function in patients with untreated adult coeliac disease / D. B. Silk, P. J. Kumar, J. P. Webb [et al.] // Gut. – 1975. – Vol. 16, N 4. – P. 261–267.
182. Immunohistochemical localization of dipeptidyl aminopeptidase IV in rat kidney, liver, and salivary glands / K. M. Fukasawa, K. Fukasawa, N. Sahara [et al.] // J. Histochem. Cytochem. – 1981. – Vol. 29, N 3. – P. 337–343.
183. Impact of incretin hormones on beta-cell function in subjects with normal or impaired glucose tolerance / E. Muscelli, A. Mari, A. Natali [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 291, N 6. – P. E1144–E1150.
184. Impaired glucose-stimulated insulin secretion, enhanced intraperitoneal insulin tolerance, and increased beta-cell mass in mice lacking the p110gamma isoform of phosphoinositide 3-kinase / P. E. MacDonald, J. W. Joseph, D. Yau [et al.] // Endocrinology. – 2004. – Vol. 145, N 9. – P. 4078–4083.
185. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses / M. A. Nauck, E. Homberger, E. G. Siegel [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1986. – Vol. 63, N 2. – P. 492–494.
186. Incretins, amylin and other gut-brain axis hormones in children with coeliac disease / M. Papastamatakis, I. Papassotiriou, A. Bartzeliotou [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 44, N 1. – P. 74–82.
187. Influence of glucagon on GFR and on urea and electrolyte excretion: direct and indirect effects / M. Ahloulay, M. Dechaux, K. Laborde [et al.] // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 269, N 2. – P. F225–F235.
188. Inhibition of carbohydrate-mediated glucagon-like peptide-1 (7-36) amide secretion by circulating non-esterified fatty acids / L. Ranganath, F. Norris, L. Morgan [et al.] // Clin. Sci. Colch. – 1999. – Vol. 96, N 4. – P. 335–342.
189. Insulinotropic glucagons-like peptide 1 agonists stimulate expression of homeodomain protein IDX-1 and increase islet size in mouse pancreas / D. A. Stoffers, T. J. Keiffer, M. A. Hussain [et al.] // Diabetes. – 2000. – Vol. 49, N 5. – P. 741–748.
190. Interaction of GLP-I and leptin at rat pancreatic B-cells: effects on insulin secretion and signal transduction / H. C. Fehmann, H. P. Bode, T. Ebert [et al.] // Horm. Metab. Res. – 1997. – Vol. 29, N 11. – P. 572–576.

191. International Union of Pharmacology. XXXV. The glucagon receptor family / K. E. Mayo, L. J. Miller, D. Bataille [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55, N 1. – P. 167–194.
192. Intestinal growth is associated with elevated levels of glucagon-like peptide-2 in diabetic rats / K. D. Fischer, S. Dhanvantari, D. J. Drucker [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 273, N 4. – P. E815–E820.
193. Intracoronary glucagon-like peptide 1 preferentially augments glucose uptake in ischemic myocardium independent of changes in coronary flow / S. P. Moberly, Z. C. Berwick, M. Kohr [et al.] // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2012. – Vol. 237, N 3. – P. 334–342.
194. Intrameal hepatic portal and intraperitoneal infusions of glucagon-like peptide-1 reduce spontaneous meal size in the rat via different mechanisms / E. B. Ruettimann, M. Arnold, J. J. Hillebrand [et al.] // *Endocrinology.* – 2009. – Vol. 150, N 3. – P. 1174–1181.
195. Irwin, D. M. Molecular evolution of proglucagon / D. M. Irwin // *Regul. Pept.* – 2001. – Vol. 98, N 1–2. – P. 1–12.
196. Irwin, D. M. Trout and chicken proglucagon: Alternative splicing generates mRNA transcripts encoding glucagon-like peptide 2 / D. M. Irwin, J. Wong // *Mol. Endocrinol.* – 1995. – Vol. 9, N 3. – P. 267–277.
197. Ischemia-induced changes in glucagon-like peptide-1 receptor and neuroprotective effect of its agonist, exendin-4, in experimental transient cerebral ischemia / C. H. Lee, B. Yan, K. Y. Yoo [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2011. – Vol. 89, N 7. – P. 1103–1113.
198. Isolation of glucagon-37 (bioactive enteroglucagon/oxyntomodulin) from porcine jejunum-ileum / D. Bataille, A. M. Coudray, M. Carlquist [et al.] // *FEBS Lett.* – 1982. – Vol. 146, N 1. – P. 73–78.
199. Kieffer, T. J. Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide-1 *in vitro* and *in vivo* by dipeptidyl peptidase IV / T. J. Kieffer, C. H. S. McIntosh, R. A. Pederson // *Endocrinology.* – 1995. – Vol. 136, N 8. – P. 3585–3596.
200. Knudsen, L. B. Glucagon-like peptide-1-(9-36) amide is a major metabolite of glucagon-like peptide-1-(7-36)amide after *in vivo* administration to dogs and it acts as an antagonist on the pancreatic receptor / L. B. Knudsen, L. Pridal // *Eur. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 318, N 2–3. – P. 429–435.
201. Koehler, J. A. Activation of glucagon-like peptide-1 receptor signaling does not modify the growth or apoptosis of human pancreatic cancer cells / J. A. Koehler, D. J. Drucker // *Diabetes.* – 2006. – Vol. 55, N 5. – P. 1369–1379.
202. Koomans, H. A. Evaluation of lithium clearance as a marker of proximal tubule sodium handling / H. A. Koomans, W. H. Boer, E. J. Dorhout Mees // *Kidney Int.* – 1989. – Vol. 36, N 1. – P. 2–12.

203. Kutina, A. V. A novel natriuretic factor in hypervolemia / A. V. Kutina, A. S. Marina, Y. V. Natochin // *Dokl. Biol. Sci.* – 2011. – Vol. 441, N 1. – P. 360–362.
204. Kutina, A. V. Natriuretic effect of exenatide: high efficacy and site of action / A. V. Kutina, A. S. Marina, Iu. V. Natochin // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 2012. – Vol. 75, N 2. – P. 22–25.
205. La Barre, J. Sur les possibilites d'un traitement du diabete par l'incetine / J. la Barre // *Bull. Acad. R. Med. Belg.* – 1932. – Vol. 12. – P. 620–634.
206. Lankat-Buttgereit, B. Cloning and characterization of the 5' flanking sequences (promoter region) of the human GLP-1 receptor gene / B. Lankat-Buttgereit, B. Göke // *Peptides.* – 1997. – Vol. 18, N 5. – P. 617–624.
207. Le Lay, J. Involvement of PDX-1 in activation of human insulin gene transcription / J. le Lay, R. Stein // *J. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 188, N 2. – P. 287–294.
208. Li, X. Gut microbiota dysbiosis drives and implies novel therapeutic strategies for diabetes mellitus and related metabolic diseases / X. Li, K. Watanabe, I. Kimura // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1882.
209. Loew, E. R. Is a duodenal hormone involved in carbohydrate metabolism? / E. R. Loew, J. S. Gray, A. C. Ivy // *Am. J. Physiol.* – 1940. – Vol. 129. – P. 659–663.
210. MacDonald, P. E. Glucagon-like peptide-1 receptor activation antagonizes voltage-dependent repolarizing $K^{(+)}$ currents in beta-cells: a possible glucose-dependent insulinotropic mechanism / P. E. MacDonald, A. M. Salapatek, M. B. Wheeler // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51, Suppl. 3. – P. S443–S447.
211. Marchetti, C. Hippocampal synaptic plasticity in Alzheimer's disease: what have we learned so far from transgenic models? / C. Marchetti, H. Marie // *Rev. Neurosci.* – 2011. – Vol. 22, N 4. – P. 373–402.
212. Marina, A. S. Exenatide stimulates solute-free water clearance by the rat kidney in hyperhydration / A. S. Marina, A. V. Kutina, Y. V. Natochin // *Dokl. Biol. Sci.* – 2011. – Vol. 437, N 4. – P. 85–87.
213. Marini, A. M. Metabolic effects of 1-methyl-4-phenylpyridinium ($MPP^{(+)}$) in primary neuron cultures / A. M. Marini, T. S. Nowak Jr // *J. Neurosci. Res.* – 2000. – Vol. 62, N 6. – P. 814–820.
214. Marre, M. GLP-1 receptor agonists today / M. Marre, A. Penforis // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2011. – Vol. 93, N 3. – P. 317–327.
215. Matschinsky, F. M. Regulation of pancreatic beta-cell glucokinase: from basics to therapeutics / F. M. Matschinsky // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51, Suppl 3. – P. S394–S404.
216. McKinnon, C. M. FoxO1 is required for the regulation of preproglucagon gene expression by insulin in pancreatic alpha -(TC1-9) cells / C. M. McKinnon, M. A. Ravier, G. A. Rutter // *J.*

- Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281, N 51. – P. 39358–39369.
217. Mentlein, R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides / R. Mentlein // Regul. Pept. – 1999. – Vol. 85, N 1. – P. 9–24.
218. Merchenthaler, I. Distribution of pre-proglucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system / I. Merchenthaler, M. Lane, P. Shughrue // J. Comp. Neurology. – 1999. – Vol. 403, N 2. – P. 261–280.
219. Mojsov, S. Both amidated and nonamidated forms of glucagon-like peptide I are synthesized in the rat intestine and the pancreas / S. Mojsov, M. G. Kocpczynski, J. F. Habener // J. Biol. Chem. – 1990. – Vol. 265, N 14. – P. 8001–8008.
220. Moreno, C. Renal effects of glucagon-like peptide in rats / C. Moreno, M. Mistry, R. J. Roman // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 434, N 3. – P. 163–167.
221. Murphy, K.G. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis / K.G. Murphy, S.R. Bloom // Nature. – 2006. – Vol. 444, N 7121. – P. 854–859.
222. Mutated recombinant human glucagon-like peptide-1 protects SH-SY5Y cells from apoptosis induced by amyloid-beta peptide (1-42) / Z. Qin, Z. Sun, J. Huang [et al.] // Neurosci. Lett. – 2008. – Vol. 444, N 3. – P. 217–221.
223. Nadkarni, P. Regulation of glucose homeostasis by GLP-1 / P. Nadkarni, O. G. Chepurny, G. G. Holz // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. – 2014. – Vol. 121. – P. 23–65.
224. Neuroprotective and neurotrophic actions of glucagon-like peptide-1: an emerging opportunity to treat neurodegenerative and cerebrovascular disorders / I. Salcedo, D. Tweedie, Y. Li [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2012. – Vol. 166, N 5. – P. 1586–1599.
225. Nonoguchi, H. Effects of atrial natriuretic peptide and vasopressin on chloride transport in long- and short-looped medullary thick ascending limbs / H. Nonoguchi, K. Tomita, F. Marumo // J. Clin. Invest. – 1992. – Vol. 90, N 2. – P. 349–357.
226. Normal secretion and action of the gut incretin hormones glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide in young men with low birth weight / J. H. Schou, K. Pilgaard, T. Vilsboll [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, N 8. – P. 4912–4919.
227. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes / J. J. Meier, B. Gallwitz, S. Salmen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 88, N 6. – P. 2719–2725.
228. Novel GLP-1 mimetics developed to treat type 2 diabetes promote progenitor cell proliferation in the brain / A. Hamilton, S. Patterson, D. Porter [et al.] // J. Neurosci. Res. – 2011. – Vol. 89, N 4. – P. 481–489.

229. Nutrient-independent increases in proglucagon and ornithine decarboxylase messenger RNAs after jejunoileal resection / D. B. Rountree, M. H. Ulshen, S. Selub [et al.] // *Gastroenterology*. – 1992. – Vol. 103, N 2. – P. 462–468.
230. O'Brien, R. J. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease / R. J. O'Brien, P. C. Wong // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2011. – Vol. 34. – P. 185–204.
231. Organ distribution of aminopeptidase A and dipeptidyl peptidase IV in normal mice / S. Mentzel, H. B. Dijkman, J. P. van Son [et al.] // *J. Histochem. Cytochem.* – 1996. – Vol. 44, N 5. – P. 445–461.
232. Orskov, C. All products of proglucagon are elevated in plasma from uremic patients / C. Orskov, J. Andreasen, J. J. Holst // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1992. – Vol. 74, N 2. P. 379–384.
233. Orskov, C. Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the enteroinsular axis / C. Orskov // *Diabetologia*. – 1992. – Vol. 35, N 8. – P. 701–711.
234. Orskov, C. Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day / C. Orskov, A. Wettergren, J. J. Hoist // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1996. – Vol. 31, N 7. – P. 665–670.
235. Oxyntomodulin and glucagon-like peptide-1 differentially regulate murine food intake and energy expenditure / L. L. Baggio, Q. Huang, T. J. Brown [et al.] // *Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 127, N 2. – P. 546–558.
236. Pancreatic glucagon-like peptide-1 receptor couples to multiple G proteins and activates mitogen-activated protein kinase pathways in Chinese hamster ovary cells / C. Montrose-Rafizadeh, P. Avdonin, M. J. Garant [et al.] // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140, N 3. – P. 1132–1140.
237. Pancreatic preproglucagon cDNA contains two glucagon-related coding sequences arranged in tandem / P. K. Lund, R. H. Goodman, P.C. Dee [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1982. – Vol. 79, N 2. – P. 345–349.
238. Park, E. M. Enhanced ERK dependent CREB activation reduces apoptosis in staurosporine-treated human neuroblastoma SK-N-BE(2)C cells / E. M. Park, S. Cho // *Neurosci. Lett.* – 2006. – Vol. 402, N 1–2. – P. 190–194.
239. Pasinelli, P. Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: insights from genetics / P. Pasinelli, R. H. Brown // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2006. – Vol. 7, N 9. – P. 710–723.
240. Patients with inflammatory bowel disease have increased risk of autoimmune and inflammatory diseases / M. L. Halling, J. Kjeldsen, T. Knudsen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, N 33. – P. 6137–6146.
241. Perley, M. J. Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects / M. J. Perley, D. M. Kipnis // *J. Clin. Invest.* – 1967. – Vol. 46, N 12. – P.

- 1954–1962.
242. Pezeshki, A. Short communication: expression of peptide YY, proglucagon, neuropeptide Y receptor Y2, and glucagon-like peptide-1 receptor in bovine peripheral tissues / A. Pezeshki, G. P. Muench, P. K. Chelikani // *J. Dairy. Sci.* – 2012. – Vol. 95, N 9. – P. 5089–5094.
243. Phillips, L. K. Update on incretin hormones / L. K. Phillips, J. B. Prins // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2011. – Vol. 1243. – P. 1–20.
244. Physiological mechanisms for the increase in renal solute-free water clearance by a glucagon-like peptide-1 mimetic / A. V. Kutina, A. S. Marina, E. I. Shakhmatova [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2013. – Vol. 40, N 8. – P. 510–517.
245. Plasma concentrations of glucagon-like peptide-2 in adult patients with treated and untreated coeliac disease / G. R. Caddy, J. E. Ardill, D. Fillmore [et al.] // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 18, N 2. – P. 195–202.
246. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration / H. Elrick, L. Stimmler, C. J. Hlad Jr [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1964. – Vol. 24. – P. 1076–1082.
247. Possible involvement of GLP-1(9-36) in the regional haemodynamic effects of GLP-1(7-36) in conscious rats / S. M. Gardiner, J. E. March, P.A. Kemp [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 161, N 1. – P. 92–102.
248. Preproglucagon gene expression in pancreas and intestine diversifies at the level of post-translational processing / S. Mojsov, G. Heinrich, I. B. Wilson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1986. – Vol. 261, N 25. – P. 11880–11889.
249. Preproglucagon messenger ribonucleic acid: nucleotide and encoded amino acid sequences of the rat pancreatic complementary deoxyribonucleic acid / G. Heinrich, P. Gros, P. K. Lund [et al.] // *Endocrinology.* – 1984. – Vol. 115, N 6. – P. 2176–2181.
250. Presence and characterization of glucagon-like peptide-1(7-36) amide receptors in solubilized membranes of rat adipose tissue / I. Valverde, E. Mérida, E. Delgado [et al.] // *Endocrinology.* – 1993. – Vol. 132, N 1. – P. 75–79.
251. Presence and dynamics of leptin, GLP-1, and PYY in human breast milk at early postpartum / J. Schueler, B. Alexander, A. M. Hart [et al.] // *Obesity (Silver Spring).* – 2013. – Vol. 21, N 7. – P. 1451–1458.
252. Proglucagon processing in porcine and human pancreas / J. J. Holst, M. Bersani, A. H. Johnson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269, N 29. – P. 18827–18833.
253. Protein kinase A mediates glucagon-like peptide 1-induced nitric oxide production and muscle microvascular recruitment / Z. Dong, W. Chai, W. Wang [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 304, N 2. – P. E222–E228.
254. Protein kinase B is expressed in pancreatic beta cells and activated upon stimulation with

- insulin-like growth factor I / L. S. Holst, H. Mulder, V. Manganiello [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – Vol. 250, N 1. – P. 181–186.
255. Protein kinase Czeta activation mediates glucagon-like peptide-1-induced pancreatic beta-cell proliferation / J. Buteau, S. Foisy, C. J. Rhodes [et al.] // *Diabetes.* – 2001. – Vol. 50, N 10. – P. 2237–2243.
256. Rapid oscillations in plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors / H. J. Balks, J. J. Holst, A. von zur Muhlen [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 82, N 3. – P. 786–790.
257. Rat parietal cell receptors for GLP-1-(7-36) amide: northern blot, cross-linking, and radioligand binding / J. Schmidtler, K. Dehne, H. D. Allescher [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 267, N 3, Pt 1. – P. G423–G432.
258. Reduced GLP-1 and insulin responses and glucose intolerance after gastric glucose in GRP receptor-deleted mice / K. Persson, R. L. Gingerich, S. Nayak [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 2000. – Vol. 279, N 5. – P. E956–E962.
259. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? / F. K. Knop, T. Vilsboll, P. V. Hojberg [et al.] // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56, N 8. – P. 1951–1959.
260. Regulation of glucagon-like peptide-1-(7–36) amide, peptide YY, and neurotensin secretion by neurotransmitters and gut hormones in the isolated vascularly perfused rat ileum / V. Dumoulin, T. Dakka, P. Plaisancie [et al.] // *Endocrinology.* – 1995. – Vol. 136, N 11. – P. 5182–5188.
261. Regulation of pancreatic beta-cell growth and survival by the serine/threonine protein kinase Akt1/PKBalpha / R. L. Tuttle, N. S. Gill, W. Pugh [et al.] // *Nat. Med.* – 2001. – Vol. 7, N 10. – P. 1133–1137.
262. Regulation of the synthesis and secretion of vasopressin / D. Murphy, S. Waller, K. Fairhall [et al.] // *Prog. Brain. Res.* – 1998. – Vol. 119. – P. 137–143.
263. Reimer, R. A. Dietary fiber modulates intestinal proglucagon messenger ribonucleic acid and postprandial secretion of glucagon-like peptide-1 and insulin in rats / R. A. Reimer, M. I. McBurney // *Endocrinology.* – 1996. – Vol. 137, N 9. – P. 3948–3956.
264. Renal catabolism of truncated glucagon-like peptide 1 / C. Ruiz-Grande, C. Alarcon, A. Alcantara [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 1993. – Vol. 25, N 12. – P. 612–616.
265. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated *in vitro* from pancreatic stem cells / V. K. Ramiya, M. Maraist, K. E. Arfors [et al.] // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6, N 3. – P. 278–282.
266. Rinaman, L. A functional role for central glucagon-like peptide-1 receptors in lithium chloride-induced anorexia / L. Rinaman // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277, N 5. – P. R1537–R1540.
267. Roberge, J. N. Gastrin-releasing peptide is a novel mediator of proximal nutrient-induced proglucagon-derived peptide secretion from the distal gut / J. N. Roberge, K. A. Gronau, P. L.

- Brubaker // *Endocrinology*. – 1996. – Vol. 137, N 6. – P. 2383–2388.
268. Roberge, J. N. Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop / J. N. Roberge, P. L. Brubaker // *Endocrinology*. – 1993. – Vol. 133, N 1. – P. 233–240.
269. Rocca, A. S. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion / A. S. Rocca, P. L. Brubaker // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140, N 4. – P. 1687–1694.
270. Role of phosphatidylinositol 3-kinase γ in the beta-cell: interactions with glucagon-like peptide-1 / L. X. Li, P. E. MacDonald, D. S. Ahn [et al.] // *Endocrinology*. – 2006. – Vol. 147, N 7. – P. 3318–3325.
271. Rorsman, P. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells / P. Rorsman, E. Renström // *Diabetologia*. – 2003. – Vol. 46, N 8. – P. 1029–1045.
272. Saarela, T. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation / T. Saarela, J. Kokkonen, M. Koivisto [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2005. – Vol. 94, N 9. – P. 1176–1181.
273. Schmidt, W. E. Glucagon-like peptide-1 but not glucagonlike peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets / W. E. Schmidt, E. G. Siegel, W. Creutzfeldt // *Diabetologia*. – 1985. – Vol. 28, N 9. – P. 704–707.
274. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects / J. J. Meier, M. A. Nauck, D. Kranz [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53, N 3. – P. 654–662.
275. Segre, G. V. Receptors for secretin, calcitonin, parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide, vasoactive intestinal peptide, glucagonlike peptide 1, growth hormone-releasing hormone, and glucagon belong to a newly discovered G-protein-linked receptor family / G. V. Segre, S. R. Goldring // *Trends Endocrinol. Metab.* – 1993. – Vol. 4, N 10. – P. 309–314.
276. Severe acute malnutrition in childhood: hormonal and metabolic status at presentation, response to treatment, and predictors of mortality / S. Bartz, A. Mody, C. Hornik // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99, N 6. – P. 2128–2137.
277. Sherwood, N. M. The origin and function of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)/glucagon superfamily / N. M. Sherwood, S. L. Krueckl, J. E. McRory // *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. 21, N 6. – P. 619–670.
278. Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition alters intestinal structure, glucose transporter 2 (GLUT2) mRNA and protein, and proglucagon mRNA abundance in normal rats / K. A. Tappenden, L. A. Drozdowski, A. B. Thomson [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1998. – Vol. 68, N 1. – P. 118–125.

279. Signaling elements involved in the metabolic regulation of mTOR by nutrients, incretins, and growth factors in islets / G. Kwon, C. A. Marshall, K. L. Pappan [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53, Suppl. 3. – P. S225–S232.
280. Skoglund, G. Glucagon-like peptide 1 stimulates insulin gene promoter activity by protein kinase A-independent activation of the rat insulin I gene cAMP response element / G. Skoglund, M. A. Hussain, G. G. Holz // *Diabetes*. – 2000. – Vol. 49, N 7. – P. 1156–1164.
281. Small, C. J. Gut hormones and the control of appetite / C. J. Small, S. R. Bloom // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 15, N 6. – P. 259–263.
282. Smith, H. W. *The physiology of the kidney* / H. W. Smith. – Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1937. – 233 p.
283. Smith, H.W. *The kidney: structure and function in health and disease* / H.W. Smith. – New York: Oxford Univ. Press, 1951. – 1049 p.
284. Solubilization of active GLP-1 (7-36)amide receptors from RINm5F plasma membranes / R. Goke, B. Oltmer, S. P. Sheikh [et al.] // *FEBS Lett.* – 1992. – Vol. 300, N 3. – P. 232–236.
285. Solute transporters and aquaporins are impaired in celiac disease / U. Laforenza, E. Miceli, G. Gastaldi [et al.] // *Biol. Cell.* – 2010. – Vol. 102, N 8. – P. 457–467.
286. Stacha, W. Severe hypocalcemia and hypomagnesemia in a 14-year-old boy-difficulties in treatment related to silent coeliac disease / W. Stacha, M. Niedziela // *Endokrynol. Diabetol. Chor. Przemiany Materii. Wiekowi Rozw.* – 2005. – Vol. 11, N 3. – P. 191–194.
287. Stimulation of glucagon-like peptide-1 secretion by muscarinic agonist in a murine intestinal endocrine cell line / J. Abello, F. Ye, A. Bosshard [et al.] // *Endocrinology*. – 1994. – Vol. 134, N 5. – P. 2011–2017.
288. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man / J. Dupre, S. A. Ross, D. Watson [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1973. – Vol. 37, N 5. – P. 826–828.
289. Stimulation of pancreatic beta-cell replication by incretins involves transcriptional induction of cyclin D1 via multiple signalling pathways / B. N. Friedrichsen, N. Neubauer, Y. C. Lee [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 188, N 3. – P. 481–492.
290. Stimulation of truncated glucagon-like peptide-1 release from the isolated perfused canine ileum by glucose absorption / K. Sugiyama, H. Manaka, T. Kato [et al.] // *Digestion*. – 1994. – Vol. 55, N 1. – P. 24–28.
291. Stoffers, D. A. Homeodomain protein IDX-1: a master regulator of pancreas development and insulin gene expression / D. A. Stoffers, M. K. Thomas, J. F. Habener // *Trends Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 8, N 4. – P. 145–151.
292. Stoffers, D. A. The development of beta-cell mass: recent progress and potential role of GLP-1 / D. A. Stoffers // *Horm. Metab. Res.* – 2004. – Vol. 36, N 11–12. – P. 811–821.

293. Stokoe, D. The phosphoinositide 3-kinase pathway and cancer / D. Stokoe // *Expert. Rev. Mol. Med.* – 2005. – Vol. 7, N 10. – P. 1–22.
294. Sustained beta cell apoptosis in patients with long-standing type 1 diabetes: indirect evidence for islet regeneration? / J. J. Meier, A. Bhushan, A. E. Butler [et al.] // *Diabetologia.* – 2005. – Vol. 48, N 11. – P. 2221–2228.
295. Synergistic endocrine induction by GLP-1 and TGF-beta in the developing pancreas / E. Tei, S. Mehta, S. S. Tulachan [et al.] // *Pancreas.* – 2005. – Vol. 31, N 2. – P. 138–141.
296. Tanaka, T. The role of incretins in salt-sensitive hypertension: the potential use of dipeptidyl peptidase-IV inhibitors / T. Tanaka, M. Nangaku, A. Nishiyama // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2011. – Vol. 20, N 5. – P. 476–481.
297. The cardioprotective and inotropic components of the postconditioning effects of GLP-1 and GLP-1(9-36)a in an isolated rat heart / A. Osson, U. van Deurs, T. Engstrøm [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2009. – Vol. 60, N 5. – P. 411–417.
298. The defined combination of growth factors controls generation of long-term-replicating islet progenitor-like cells from cultures of adult mouse pancreas / M. Ta, Y. Choi, F. Atouf [et al.] // *Stem. Cells.* – 2006. – Vol. 24, N 7. – P. 1738–1749.
299. The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease / P. L. McClean, V. Parthasarathy, E. Faivre [et al.] // *J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 31, N 17. – P. 6587–6594.
300. The effect of exogenous GLP-1 on food intake is lost in male truncally vagotomized subjects with pyloroplasty / A. Plamboeck, S. Veedfald, C. F. Deacon [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2013. – Vol. 304, N 12. – P. G1117–G1127.
301. The effects of glucagon-like peptide-I (GLP-I) on hormone secretion from isolated human pancreatic islets / H. C. Fehmann, B. J. Hering, M. J. Wolf [et al.] // *Pancreas.* – 1995. – Vol. 11, N 2. – P. 196–200.
302. The glucagon-like peptide 1 receptor agonist exendin-4 improves reference memory performance and decreases immobility in the forced swim test / R. Isacson, E. Nielsen, K. Dannaeus [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 650, N 1. – P. 249–255.
303. The physiological role of glucagon-like peptide-1 in the regulation of renal function / L. X. Farah, V. Valentini, T. D. Pessoa [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2016. – Vol. 310, N 2. – P. F123–F127.
304. Thim, L. The primary structure of porcine glicentin (proglucagon) / L. Thim, A. J. Moody // *Regul. Pept.* – 1981. – Vol. 2, N 2. – P. 139–150.
305. Thompson, C. J. Osmotic and non-osmotic regulation of thirst and vasopressin secretion in patients with compulsive water drinking / C. J. Thompson, C. R. Edwards, P. H. Baylis // *Clin.*

- Endocrinol. (Oxf). – 1991. – Vol. 35, N 3. – P. 221–228.
306. Thomsen, K. Lithium clearance: a new method for determining proximal and distal tubular reabsorption of sodium and water / K. Thomsen // *Nephron*. – 1984. – Vol. 37, N 4. – P. 217–223.
307. Thomson, S. C. Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases GFR and suppresses proximal reabsorption in the rat / S. C. Thomson, A. Kashkouli, P. Singh // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2013. – Vol. 304, N 2. – P. F137–F144.
308. Thorens, B. Signal transduction and desensitization of the glucagon-like peptide-1 receptor / B. Thorens, C. Widmann // *Acta Physiol. Scand.* – 1996. – Vol. 157, N 3. – P. 317–319.
309. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans / C. Orskov, L. Rabenhøj, A. Wettergren [et al.] // *Diabetes*. – 1994. – Vol. 43, N 4. – P. 535–539.
310. Tomasik, P. J. GLP-1 as a satiety factor in children with eating disorders / P. J. Tomasik, K. Sztefko, A. Malek // *Horm. Metab. Res.* – 2002. – Vol. 34, N 2. – P. 77–80.
311. Tonutti, E. Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity / E. Tonutti, N. Bizzaro // *Autoimmun. Rev.* – 2014. – Vol. 13, N 4–5. – P. 472–476.
312. Tucker J. D. Proglucagon processing in islet and intestinal cell lines / J. D. Tucker, S. Dhanvantari, P. L. Brubaker // *Regul. Pept.* – 1996. – Vol. 62, N 1. – P. 29–35.
313. Unger, R. H. Entero-insular-axis / R. H. Unger, A. M. Eisentraut // *Arch. Intern. Med.* – 1969. – Vol. 123, N 3. – P. 261–266.
314. Vagally mediated effects of glucagon-like peptide 1: *in vitro* and *in vivo* gastric actions / G. M. Holmes, K. N. Browning, M. Tong [et al.] // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, Pt 19. – P. 4749–4759.
315. Val(8)GLP-1 rescues synaptic plasticity and reduces dense core plaques in APP/PS1 mice / S. Gengler, P. L. McClean, R. McCurtin [et al.] // *Neurobiol. Aging*. – 2012. – Vol. 33, N 2. – P. 265–276.
316. Vasorelaxant effect of glucagon-like peptide-(7-36)amide and amylin on the pulmonary circulation of the rat / H. A. Golpon, A. Puechner, T. Welte [et al.] // *Regul. Pept.* – 2001. – Vol. 102, N 2–3. – P. 81–86.
317. Verney, E. B. Absorption and excretion of water; the antidiuretic hormone / E. B. Verney // *Lancet*. – 1946. – Vol. 2, N 6431. – P. 739; 781.
318. Wang, Q. Glucagon-like peptide-1 treatment delays the onset of diabetes in 8 week-old db/db mice / Q. Wang, P. L. Brubaker // *Diabetologia*. – 2002. – Vol. 45, N 9. – P. 1263–1273.
319. Wei, Y. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagonlike peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences / Y. Wei, S. Mojssov // *FEBS*

- Lett. – 1995. – Vol. 358, N 3. – P. 219–224.
320. Werner, U. Effects of the GLP-1 receptor agonist lixisenatide on postprandial glucose and gastric emptying – preclinical evidence / U. Werner // *J. Diabetes Complications*. – 2014. – Vol. 28, N 1. – P. 110–114.
321. White, J. W. Structure of the human glucagon gene / J. W. White, G. F. Saunders // *Nucl. Acids Res.* – 1986. – Vol. 14, N 12. – P. 4719–4730.
322. White, M. F. Insulin signaling in health and disease / M. F. White // *Science*. – 2003. – Vol. 302, N 5651. – P. 1710–1711.
323. Widmann, C. Desensitization and phosphorylation of the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor by GLP-1 and 4-phorbol 12-myristate 13-acetate / C. Widmann, W. Dolci, B. Thorens // *Mol. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 10, N 1. – P. 62–75.
324. Yamagishi, S. Pleiotropic effects of glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-based therapies on vascular complications in diabetes / S. Yamagishi, T. Matsui // *Curr. Pharm. Des.* – 2011. – Vol. 17, N 38. – P. 4379–4385.
325. Zhang, X. Y. Nuclear receptor regulation of aquaporin-2 in the kidney / X. Y. Zhang, B. Wang, Y. F. Guan // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, N 7. – P. 1105.