

## Ανασκόπηση

### Αμωλίνη (Πολυπεπτίδιο αμυλοειδούς των νησιδίων): Βιολογικές ιδιότητες και ο πιθανός ρόλος στην παθογένεση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

#### Περίληψη

Φ.Κ. Χαρσούλης

Η αμυλοείδωση των νησιδίων του παγκρέατος είναι η κύρια ιστοπαθολογική βλάβη σε διαβητικούς τύπου 2. Η αποσαφήνιση της παθογένεσης αυτής της μορφής της αμυλοείδωσης ενδεχομένως είναι ουσιώδης για την κατανόηση της ανάπτυξης και εξέλιξης του διαβήτη τύπου 2. Η αμωλίνη είναι πολυπεπτίδιο το οποίο ανακαλύφθηκε πρόσφατα ότι αποτελεί το κύριο συστατικό του αμυλοειδούς των νησιδίων. Παράγεται από τα β-κύτταρα και ευρίσκεται αποθηκευμένη στα ίδια εκκριτικά κοκκία με την ινσουλίνη. Τα β-κύτταρα παρουσιάζουν ετερογένεια στην περιεκτικότητα σε ινσουλίνη και αμωλίνη. Ως εκ τούτου αν και η αμωλίνη συσχετίζεται με την ινσουλίνη σε απάντηση ποικίλων ερεθισμάτων, η μοριακή σχέση αυτών των δύο πεπτιδίων που εκκρίνονται από τα νησίδια, ποικίλλει ανάλογα με την πυκνότητα της γλυκόζης και το επικρατούν μεταβολικό milieu. Η αμωλίνη ανταγωνίζεται τη δράση της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς και αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης από το πάγκρεας. Το μόριο της αμωλίνης παρουσιάζει ομοιότητα κατά 45% με το πεπτίδιο που συνδέεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης. Κωδικοποιείται από ένα γονίδιο, στο χρωμόσωμα 12, και αρχικά συντίθεται ως προπροαμωλίνη με 89 αμινοξέα. Η περιοχή 20-29 του μορίου είναι η πιο σημαντική για την τάση της αμωλίνης να σχηματίζει αμυλοειδές. Ο ρόλος της αμωλίνης και του αμυλοειδούς των νησιδίων στην παθογένεση του διαβήτη τύπου 2 περιλαμβάνει τους εξής μηχανισμούς: 1) άμεση φυσική/χημική βλάβη των β-κυττάρων που καταλήγει σε νέκρωση και απώλεια λειτουργούντος ιστού των νησιδίων, 2) βιολογικές δράσεις της αμωλίνης που ανταγωνίζονται την ινσουλίνη ή καταστέλλουν την έκκριση ινσουλίνης και 3) παρεμπόδιση από τις εναποθέσεις αμυλοειδούς της μετακίνησης ινσουλίνης έξω από τα κύτταρα και/ή της εισόδου μέσα στα νησίδια. Επιπλέον, η φυσιολογική σημασία της ανεπάρκειας αμωλίνης και στις δύο μορφές διαβήτη είναι επί του παρόντος άγνωστη.

Ενδοκρινολόγος, Αναπληρωτής  
Καθηγητής Παθολογίας,  
Ιπποκράτειο Νοσοκομείο,  
ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 χαρακτηρίζεται από περιφερική αντίσταση στην ινσουλίνη και ελαττωμένη παραγωγή ινσουλίνης από τα β-κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος. Παρά τις σημαντικές προόδους των τελευταίων ετών, ο ακριβής

παθογενετικός μηχανισμός της νόσου παραμένει εισέτι αδιευκρίνιστος ενώ η θεραπευτική αντιμετώπιση είναι ατελής και δεν προσφέρει ίαση της νόσου. Η πρόσφατη ανακάλυψη ενός πεπτιδίου, της αμυλίνης, που έχει ανταγωνιστική δράση προς την ινσουλίνη, προσέφερε καινούργιες δυνατότητες για την κατανόηση της παθογένεσης του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2<sup>1</sup>. Η αμυλίνη αποτελεί την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς που εναποτίθεται στα νησίδια του παγκρέατος σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

Το αμυλοειδές δεν είναι μια μόνο ουσία και η αμυλοειδωση δεν είναι μια νόσος. Οι διάφορες μορφές του αμυλοειδούς ταξινομούνται βιοχημικά αναλόγως των προδρόμων πρωτεϊνών από τις οποίες προέρχονται τα νησίδια του αμυλοειδούς. Σήμερα έχουν αναγνωρισθεί 15 διαφορετικές πρόδρομες πρωτεΐνες του αμυλοειδούς<sup>2</sup>. Κάθε τύπος αμυλοειδούς συνδέεται με μια ειδική πάθηση ή παθήσεις και με ένα τύπο εναποθέσεως που μπορεί να ταξινομηθεί σε συστηματική ή εντοπισμένη<sup>3</sup>. Στις συστηματικές μορφές αμυλοειδώσεως η εναπόθεση του αμυλοειδούς παρατηρείται σε πολλούς ιστούς. Το αμυλοειδές που εντοπίζεται στα παγκρεατικά νησίδια ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 υπάγεται στις εντοπισμένες μορφές αμυλοειδώσεως.

Χαρακτηριστικά του αμυλοειδούς των νησιδίων. Στις αρχές του αιώνα μας ο Ορίε περιέγραψε, για πρώτη φορά, την κυρία ιστοπαθολογική βλάβη των νησιδίων του παγκρέατος διαβητικών ασθενών η οποία χαρακτηρίστηκε ως υαλίνωση. Τα τελευταία χρόνια με την εξέλιξη των ιστοχημικών τεχνικών (χρώση με ερυθρό του Κογκό, εξέταση με πεπολωμένο φως στο μικροσκόπιο, ηλεκτρονικό μικροσκόπιο) αποδείχθηκε ότι η υαλίνη αυτή ουσία συνιστά εντοπισμένη μορφή αμυλοειδώσεως<sup>4</sup>. Το αμυλοειδές των νησιδίων του παγκρέατος των διαβητικών ασθενών τύπου 2 διαφέρει από το αμυλοειδές των συστηματικών μορφών αμυλοειδώσεως. Ιστοχημικώς και σπεκτροφωτομετρικώς το αμυλοειδές των νησιδίων έχει χαμηλά ποσά τυροσίνης, καθόλου τρυκτοφάνη και δεν αντιδρά με αντιορούς στρεφόμενους κατά των πρωτεϊνικών υπομονάδων προερχομένων από τις συστηματικές μορφές αμυλοειδούς. Οι ιδιότητες αυτές οδήγησαν στην άποψη ότι πρόκειται για μοναδική μορφή αμυλοειδούς, το οποίο προέρχεται από ένα τοπικό προϊόν εκκρίσεως των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος<sup>5</sup>. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι εναποθέσεις του αμυλοειδούς περιορίζονται στα νησίδια του

παγκρέατος διαβητικών τύπου 2 ενώ δεν παρατηρούνται οι διαβητικούς τύπου 1, στους οποίους τα β-κύτταρα έχουν νεκρωθεί. Εξάλλου μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι το αμυλοειδές ευρίσκεται σε στενή τοπογραφική σχέση με τα β-κύτταρα. Καταρχήν εξετάσθηκε το ενδεχόμενο μήπως η πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς είναι η ινσουλίνη. Αποδείχθηκε όμως ότι η σύνθεση των αμινοξέων του αμυλοειδούς διαφέρει από τη δομή της ινσουλίνης γεγονός που έκανε πολύ πιθανή την προέλευσή του από μια άλλη ουσία.

Δομή της αμυλίνης: Η αρχική απομόνωση της αμυλίνης έγινε για πρώτη φορά το 1987 από ανθρώπινο ινσουλίνωμα και επιβεβαιώθηκε και από άλλες μελέτες<sup>6</sup>. Η ανάλυση της αλληλουχίας των αμινοξέων από κκαθαρισμένες πρωτεΐνες του αμυλοειδούς αποκάλυψε ένα καινούργιο πολυπεπτιδίο, που ονομάσθηκε αμυλίνη ή πολυπεπτιδίο αμυλοειδούς των νησιδίων (Islet Amyloid Polypeptide, IAPP). Το μόριο της αμυλίνης αποτελείται από 37 αμινοξέα, με δύο δισουλφιδικούς δεσμούς κυστεΐνης στις θέσεις 2 και 7 και μοριακό βάρος 3850 daltons<sup>7</sup>. Παρά τη μοναδική της δομή η αμυλίνη παρουσιάζει ομοιότητα κατά 45% με το πεπτιδίο που συνδέεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (Calcitonin Gene Related Peptide, CGRP), το μόριο του οποίου αποτελείται επίσης από 37 αμινοξέα με δισουλφιδικούς δεσμούς στις θέσεις 2 και 7. Η ομοιότητα των μορίων ευρίσκεται στο αμινικό και καρβοξυλικό άκρο ενώ η περιοχή των αμινοξέων 20-29 παρουσιάζει διαφορές και θεωρείται ειδική του μορίου<sup>8</sup>.

Η αμυλίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα ως ακέραιο μόριο σε αναλογία 31%, ενώ το υπόλοιπο ποσόν αποτελείται από καρβοξυλικά κλάσματα, η βιολογική δραστηριότητα των οποίων είναι άγνωστη.

Ιστική εντόπιση - Γονιδιακή έκφραση: Όλες οι ενδείξεις συνηγορούν ότι η αμυλίνη παράγεται από τα νησίδια του παγκρέατος, τα οποία είναι το μοναδικό σημείο όπου η αμυλίνη πολυμερίζεται σε αμυλοειδές<sup>9</sup>. Εντούτοις η έκφραση της αμυλίνης δεν περιορίζεται στα β-κύτταρα. Σε καλλιέργειες νησιδιακών κυττάρων επιμύων, η αμυλίνη εκφράζεται επίσης σε κύτταρα τα οποία παράγουν γλουκαγόνο ή σωματοστατίνη. Η ανοσοϊστοχημική όμως ανίχνευση της ινσουλίνης στα β-κύτταρα εμφανίζεται σταθερή από κύτταρο σε κύτταρο, ενώ η αμυλίνη εμφανίζεται να ποικίλλει. Υπάρχουν διάκριτοι υποπληθυσμοί β-κυττάρων τα οποία εκκρίνουν διαφορετικές αναλογίες

ινσουλίνης και αμυλίνης<sup>4</sup>. Η αμυλίνη ατιχνεύεται σε εκκριτικά κοκκία, στο κυτταρόπλασμα των β-κυττάρων, γεγονός που συνηγορεί ότι η αμυλίνη συνεκκρίνεται με την ινσουλίνη. Διάσπαρτα ενδοκρινικά κύτταρα με ανοσοδραστικότητα αμυλίνης έχουν ανευρεθεί στο βλεννογόνο του στομάχου, του δωδεκαδακτύλου και του ορθού.

Η αμυλίνη κωδικοποιείται σε μονήρες γονίδιο που ευρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 12, που περιγράφεται ως 12 p 12-13 και/ή 12q 13-14. Το γονίδιο της CGRP εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11, το οποίο θεωρείται ως εξελικτικό ομόλογο του χρωμοσώματος 12. Η εντόπιση αυτή είναι συμβατή με την πιθανότητα ότι τα δύο γονίδια είναι κατιόντες ενός κοινού προγονικού γονιδίου. Η δομή του γονιδίου έχει καθορισθεί με ακρίβεια<sup>10</sup>.

Η αμυλίνη στον άνθρωπο εκφράζεται ως προπροπολυπεπτιδιο με 89 αμινοξέα, το οποίο υφίσταται ενδοκυττάρια πρωτεόλυση πριν να εξέλθει από το β-κύτταρο.

Έκκριση αμυλίνης: Πειραματικές μελέτες σε καλλιέργειες απομονωμένων νησιδίων έδειξαν ότι η ινσουλίνη και η αμυλίνη εκκρίνονται συγχρόνως, κατόπιν διεγέρσεως με γλυκόζη, αργινίνη, β-υδροξυβουτυρικό και γλικλαζίδη<sup>11,12</sup>. Η έκκριση της αμυλίνης είναι ανάλογη της ινσουλίνης: υπάρχει μια οξεία φάση διάρκειας 5 λεπτών, η οποία ακολουθείται από μια δεύτερη φάση έκκρισης η οποία διαρκεί έως 30 λεπτά, εφόσον η διέγερση με γλυκόζη συνεχίζεται. Στον άνθρωπο οι συγκεντρώσεις αμυλίνης αυξάνουν στο περιφερικό αίμα μετά τη λήψη γεύματος ή μετά ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης. Τα επίπεδα αμυλίνης στο πλάσμα ευρίσκονται μεταξύ 2 και 12 pM και μετά τη λήψη γλυκόζης αυξάνουν κατά 2 ή 3 φορές. Παρά το γεγονός ότι η ινσουλίνη και η αμυλίνη εκκρίνονται συγχρόνως, εντούτοις η ρύθμιση έκφρασης αυτών των δύο πρωτεϊνών είναι ανεξάρτητη και η αναλογία έκκρισης τους καθορίζεται από το μεταβολικό περιβάλλον. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι σε νηστεία η σχέση αμυλίνης/ινσουλίνης που εκκρίνεται από τα νησιδία ελαττώνεται, ενώ αντίθετα σε υπεργλυκαιμία αυξάνει. Η σχέση αμυλίνης προς ινσουλίνη μεταβάλλεται με το χρόνο, κατά τη διάρκεια της εκκριτικής απάντησης, δείχνοντας ότι υπάρχουν διαφορετικές εφεδρείες ινσουλίνης/αμυλίνης στα εκκριτικά κοκκία των β-κυττάρων οι οποίες επιστρατεύονται σε διαφορετικά στάδια της έκκρισης<sup>13</sup>. Μια άλλη άποψη είναι ότι υπάρχουν υποπληθυσμοί β-κυττάρων τα οποία περιέχουν δια-

φορετικές αναλογίες αμυλίνης και ινσουλίνης οι οποίες εκκρίνονται σε διαφορετικές πυκνότητες γλυκόζης. Κύτταρα με σχετικώς μεγαλύτερη αναλογία αμυλίνης/ινσουλίνης τείνουν να εκκρίνουν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης από ότι κύτταρα με μικρότερη αναλογία<sup>13</sup>.

Η αμυλίνη παράγεται στο πάγκρεας σε πολύ μικρότερη ποσότητα από την ινσουλίνη και το γλουκαγόνο. Τα ποσά των τριών ορμονών, που προέρχονται ανά γραμμάριο ιστού παγκρέατος είναι τα εξής: ινσουλίνη 10-30 nMol/g ιστού, γλουκαγόνο 4,8 ± 0,8 nMol/g ιστού, αμυλίνη 51 ± 11 pMol/g ιστού. Η αναλογία αμυλίνης/ινσουλίνη νηστείας στο πλάσμα είναι 0,003-0,39 και μετά έγχυση γλυκόζης 0,02-0,037<sup>8</sup>.

### Μεταβολικές επιδράσεις

Η δομική ομοιότητα της αμυλίνης με το CGRP υποδηλώνει ότι τα δύο πεπτιδία ασκούν τη δράση τους διαμέσου κοινών υποδοχέων και ενδεχομένως έχουν κοινές βιολογικές ιδιότητες. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι ο εγκέφαλος, οι σκελετικοί μύες και το ύπαρ διαθέτουν δύο τάξεις υποδοχέων, υψηλής και χαμηλής συγγένειας<sup>14</sup>. Οι δύο ορμόνες ανταγωνίζονται για την κατάληψη των υποδοχέων αλλά χρειάζονται μεγαλύτερες πυκνότητες αμυλίνης απ' ότι CGRP για να επιτευχθεί ένας δεδομένος βαθμός κατάληψης των υποδοχέων. Αμφισβητείται ως εκ τούτου αν η αμυλίνη ασκεί όλες τις βιολογικές δράσεις της μέσω των υποδοχέων CGRP<sup>15</sup>. Προσπάθειες να εντοπισθούν ειδικοί υποδοχείς αμυλίνης σε ιστούς ή κυτταρικές μεμβράνες με τη χρήση ραδιοσημασμένης αμυλίνης κατέληξαν σε αποτυχία<sup>14</sup>. Η αποτυχία αυτή αποδίδεται στη μέθοδο της ιωδίσωσης της αμυλίνης με ραδιενεργό ιώδιο-131, κατά την οποία πρέπει να ενσωματωθεί ιώδιο στο μόριο της τυροσίνης. Στο μόριο της αμυλίνης η τυροσίνη ευρίσκεται στη θέση 37, η οποία είναι απαραίτητη για τη βιολογική δράση του πεπτιδίου. Είναι ενδεχόμενο η ιωδίσωση του μορίου να προκαλεί αλλοίωση του, η οποία τροποποιεί την ικανότητα δέσμευσης με τον υποδοχέα.

Σημαντικός αριθμός πειραματικών μελετών έδειξαν ότι η αμυλίνη αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης, σε συγκεντρώσεις πολύ μεγαλύτερες απ' αυτές που παρατηρούνται στο πλάσμα<sup>16</sup>. Είναι ενδεχόμενο όμως η αμυλίνη να επιτυγχάνει αυτές τις πυκνότητες στο τοπικό περιβάλλον του παγκρεατικού νησιδίου. Δεδομένου

ότι η φυσιολογική έκκριση της ινσουλίνης επιτελείται κατά ώσεις, η συνεκρινόμενη αμυλίνη μπορεί να δρα σαν «φρένο» που συμβάλλει στη διαμόρφωση αυτών των ώσεων<sup>17,18</sup>.

Στους σκελετικούς μύες η αμυλίνη αναστέλλει τη σύνθεση του γλυκογόνου, τόσο υπό βασικές συνθήκες όσο και μετά διέγερση με ινσουλίνη, και αυξάνει την έκκριση του γαλακτικού οξέος. Η δράση αυτή της αμυλίνης στους σκελετικούς μύες δε μπορεί να υπερνικηθεί από οιαδήποτε πυκνότητα ινσουλίνης<sup>19</sup>. Σημειώνεται ότι δεν υπάρχει καμμία ένδειξη ότι η αμυλίνη παρεμβαίνει στη δέσμευση της ινσουλίνης από τους υποδοχείς της ούτε στην επακόλουθη ενεργοποίηση της κινάσης της τυροσίνης του υποδοχέως της ινσουλίνης<sup>20</sup>.

Η πιο εντυπωσιακή επίδραση της παρεντερικής χορήγησης αμυλίνης σε πειραματόζωα είναι η ταχεία αύξηση του γαλακτικού οξέος η οποία ακολουθείται από αύξηση της γλυκόζης του πλάσματος<sup>21</sup>. Το γαλακτικό οξύ προέρχεται από τους σκελετικούς μύες και η αυξημένη γλυκόζη από την αυξημένη παραγωγή από το ήπαρ. Το γαλακτικό οξύ παρέχει το υπόστρωμα για την παραγωγή γλυκόζης, και η δράση αυτή της αμυλίνης φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από μεταβολές της ινσουλίνης ή του γλουκαγόну. Οι μεταβολικές δράσεις της αμυλίνης μπορούν να θεωρηθούν ότι προάγουν το «σκέλος επιστροφής» του κύκλου Cori. Υπενθυμίζεται ότι το προσαγωγό σκέλος του κύκλου ρυθμίζεται από την ινσουλίνη, η οποία προάγει την πρόσληψη γλυκόζης και την παραγωγή γλυκογόνου από τους μύες. Αντίθετα η αμυλίνη διασπά το γλυκογόνο σε γαλακτικό οξύ το οποίο παρέχει το υπόστρωμα για τη γλυκονογένεση στο ήπαρ, την παραγωγή γλυκογόνου και πιθανώς τη σύνθεση λίπους. Στα λιπώδη κύτταρα η αμυλίνη δεν παρουσιάζει εμφανείς επιδράσεις. Σε φυσιολογικές συνθήκες η δράση της ινσουλίνης στους μύες και στο ήπαρ ρυθμίζεται από την αμυλίνη, ενώ η δράση της ινσουλίνης στο λιπώδη ιστό παραμένει ανεμπόδιστη. Σε άτομα καλής θρέψης με υπερπλήρεις τους μύες και το ήπαρ σε γλυκογόνο, η συνδυασμένη μεταγευματική αύξηση της ινσουλίνης και αμυλίνης επιτείνει την αποθήκευση του λίπους στο λιπώδη ιστό.

Σε καταστάσεις περίσσειας, ο μηχανισμός αυτός μπορεί να οδηγήσει σε παθολογική αντίσταση στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες και σε υπερβολική εναπόθεση λίπους. Η αντίσταση στην ινσουλίνη θα μπορούσε να είναι μέρος του μηχανισμού αύξησης της αποθήκευσης λί-

πους ή θα μπορούσε να θεωρηθεί η αιτία του<sup>21</sup>.

## Μη μεταβολικές επιδράσεις αμυλίνης

Η αμυλίνη όπως και το CGRP, είναι ισχυρή αγγειοδιασταλτική ουσία και προκαλεί συστηματική υπόταση και ταχυκαρδία όταν χορηγείται ενδοφλεβίως. Η αμυλίνη είναι 100 φορές λιγότερο δραστική σε μοριακή βάση. Η δράση αυτή εμφανίζεται όταν χορηγείται ενδοφλεβίως, ενώ κατά την υποδόρια χορήγηση δεν παρατηρείται επίδραση στην αρτηριακή πίεση<sup>22</sup>.

Η πειραματική χορήγηση 2 μg αμυλίνης μέσα σε υποθαλάμους επιμύων προκαλεί ανορεξία διάρκειας 8 ωρών, η επίδραση δε αυτή είναι πιο ισχυρή από της CGRP<sup>23</sup>.

Η αμυλίνη ασκεί σημαντικές επιδράσεις στο μεταβολισμό του ασβεστίου<sup>24</sup>. Η ενδοφλέβια χορήγηση αμυλίνης σε νεαρούς επίμους και κόνικλους προκαλεί έκδηλη υπασβεστιαμία. Η ελάττωση του ασβεστίου του πλάσματος οφείλεται στην σημαντική ελάττωση της οστικής απορρόφησης από τους οστεοκλάστες. Η αμυλίνη αναστέλλει άμεσα την απορροφητική δραστηριότητα των οστεοκλαστών κατά τρόπο ανάλογο της καλσιτονίνης<sup>25</sup>. Η δράση αυτή ελαττώνει τη ροή του Ca<sup>2+</sup> από το οστόν στο αίμα προκαλώντας υπασβεστιαμία. Ανάλογη υπασβεστιαμία παρατηρείται όταν η αμυλίνη χορηγείται σε στάγδην έγχυση σε εθελοντές ασθενείς με νόσο του Paget η οποία παρουσιάζει αυξημένο οστικό turnover<sup>26</sup>. Η υπασβεστιαμική και αντιαπορροφητική δράση της αμυλίνης οφείλονται στο γεγονός ότι η αμυλίνη όπως και η καλσιτονίνη και το CGRP παρουσιάζουν ομοιότητες στην αλληλουχία των αμινοξέων αλλά και στη δράση τους στους οστεοκλάστες. Τα πεπτίδια παρουσιάζουν την εξής σειρά βιολογικής ισχύος: καλσιτονίνη ≳ αμυλίνη > CGRP. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η αμυλίνη παράγεται και εκκρίνεται από μια κυτταρική σειρά οστεοβλαστών, γεγονός που δηλώνει ότι έχει ένα δυνητικό παρακρινικό ρυθμιστικό ρόλο της λειτουργίας των οστεοβλαστών<sup>26</sup>.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα πιθανολογείται ότι η σύγχρονη μεταγευματική έκκριση της ινσουλίνης και της αμυλίνης ασκεί προστατευτικό ρόλο στην ομοιόσταση του σκελετού κατά τρεις τρόπους<sup>27</sup>. Πρώτον, η αμυλίνη αναστέλλει την οστική απορρόφηση ενώ η ινσουλίνη προάγει τη σύνθεση του κολλαγόνου των οστών. Δεύτερο, η 1,25 διυδροξυχοληκαλσιφερόλη (καλσιτριόλη) διεγείρει την έκκριση της αμυλίνης και

της ινσουλίνης, δρώντας σε ειδικούς υποδοχείς των β-κυττάρων. Η αμυλίνη ανταγωνίζεται την έμμεση διέγερση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας της καλσιτριόλης. Τρίτον, η αμυλίνη προάγει την αύξηση των οστεοβλαστών<sup>25</sup>. Με βάση τις παραπάνω απόψεις η έλλειψη της αμυλίνης θα μπορούσε να παίζει κάποιο ρόλο στην οστεοπόρωση του διαβήτη τύπου 1<sup>28</sup>. Η συνδυασμένη ανεπάρκεια ινσουλίνης και αμυλίνης θα προκαλούσε αναπόφευκτα απώλεια οστού.

### Παθογένεση της αμυλοειδωσης των νησιδίων σε διαβήτη τύπου 2

Το αμυλοειδές των νησιδίων παρατηρείται μόνο σε ορισμένα είδη του ζωικού βασιλείου, όπως στον άνθρωπο, τις γάτες και τους πιθήκους μακάκους, συνήθως σε συνδυασμό με το γήρας<sup>1</sup>. Η παρατήρηση αυτή έδωσε ώθηση στη σύγκριση της δομής του μορίου της αμυλίνης στα διάφορα είδη, προκειμένου να καθοριστεί αν πρωτοπαθείς ή δευτεροπαθείς δομικές διαφορές ενέχονται στη δημιουργία του αμυλοειδούς. Μελέτες της γονιδιακής θέσεως που κωδικοποιεί το μόριο της αμυλίνης έδειξαν ότι δεν υπάρχει μετάλλαξη που θα έδινε γένεση σε παθολογικό μόριο επιρρεπές στη γένεση αμυλοειδούς<sup>29</sup>. Σύγκριση των μορίων της αμυλίνης σε διάφορα είδη αποκάλυψε ότι το καρβοξυλικό (30-37 θέσεις) και αμινικό (1-19 θέσεις) άκρο του μορίου διατηρείται σταθερό, ενώ υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην αλληλουχία των αμινοξέων 20-29. Ιδιαίτερα η περιοχή του μορίου 25-28 (αμινοξέα: αλανίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, σερίνη) φαίνεται ότι είναι η πιο αμυλοειδογενής αλληλουχία. Υποκατάσταση ενός αμινοξέος της περιοχής 25-28 στη συνθετική αμυλίνη 20-29 ελαττώνει σημαντικά ή απομακρύνει την τάση για αμυλοειδωση αυτού του πεπτιδίου<sup>30</sup>. Πέραν όμως της ειδικής αυτής δομής στην παθογένεση της αμυλοειδωσης υπεισέρχονται ανωμαλίες σύνθεσης, εξεργασίας, έκκρισης ή αποικοδόμησης της αμυλίνης από τα β-κύτταρα. Η άποψη αυτή ενισχύεται από πειραματικές παρατηρήσεις ότι τα β-κύτταρα γατιών με παθολογική ανοχή γλυκόζης, έχουν αυξημένη ανοσοδραστικότητα αμυλίνης, που δηλώνει ότι υπάρχει ανισορροπία μεταξύ παραγωγής και έκκρισης αμυλίνης.

Ένας άλλος ουσιώδης παράγων που συμβάλλει στην κατανόηση του σχηματισμού του αμυλοειδούς των νησιδίων είναι η εντόπιση, εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια, των εναποθέσεων του αμυλοειδούς. Επί σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 η

εντόπιση του αμυλοειδούς είναι εξωκυττάρια· εντούτοις λεπτομερείς μελέτες έδειξαν ότι ο σχηματισμός του αμυλοειδούς γίνεται ενδοκυττάρια και όχι από εξωκυττάρια φαγοκυττάρωση του αμυλοειδούς<sup>6</sup>.

### Ρόλος του αμυλοειδούς των νησιδίων και της αμυλίνης στην παθογένεση του διαβήτη τύπου 2

Η παθογένεση του διαβήτη τύπου 2 δεν είναι απολύτως γνωστή παρά το γεγονός ότι έχουν γίνει σημαντικές προόδους στην κατανόηση των δύο κύριων μηχανισμών, της περιφερικής αντίστασης στην ινσουλίνη και της προοδευτικής επιδείνωσης της έκκρισης της ινσουλίνης. Δεδομένου ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη αναγνωρίζεται πριν από την διαταραχή της έκκρισης της ινσουλίνης σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2, η αντίσταση στην ινσουλίνη θεωρήθηκε το πρωταρχικό αίτιο<sup>31</sup>. Εντούτοις η άποψη αυτή δεν ερμηνεύει το γεγονός ότι μόνο 20% των ασθενών με έκδηλη παχυσαρκία, σύνδρομο Cushing και μεγαλακρία θα αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, ενώ οι υπόλοιποι 80% θα αντιρροπούν την κατάσταση με υπερπλασία των νησιδίων και αυξημένη έκκριση ινσουλίνης<sup>1</sup>. Είναι προφανές ότι απαιτείται μια γενετική διαταραχή της έκκρισης της ινσουλίνης προς ανάπτυξη της νόσου. Είναι γνωστό βέβαια από μακρού ότι υπάρχει διαταραχή της έκκρισης αλλά παραμένει άγνωστη ακόμη ποιά είναι η πρωταρχική βλάβη των νησιδίων.

Ιστοπαθολογικές μελέτες των παγκρεατικών νησιδίων σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 έδειξαν ότι υπάρχει εναπόθεση αμυλοειδούς στα νησιδία, η συνύπαρξη δε του διαβήτη, της αμυλοειδωσης και της νέκρωσης περίπου 50% των β-κυττάρων είναι αδιαφιλονίκητα τεκμηριωμένη<sup>32</sup>. Ως εκ τούτου οιαδήποτε θεωρία προσπαθήσει να εξηγήσει την παθογένεια του διαβήτη τύπου 2 θα πρέπει να ερμηνεύσει το σχηματισμό του αμυλοειδούς και την καταστροφή των β-κυττάρων. Η άποψη ότι η πρωταρχική βλάβη είναι η διαταραγμένη έκκριση των β-κυττάρων οδηγεί στην υπόθεση ότι σε συνθήκες χρόνιας διέγερσης (λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη) επέρχεται ρήξη της ισορροπίας στα β-κύτταρα μεταξύ σύνθεσης και έκκρισης. Ως εκ τούτου η ικανότης μεγίστης σύνθεσης της αμυλίνης υπερβαίνει το ρυθμό έκκρισης (η οποία υστερεί). Τα πρώτα β-κύτταρα τα οποία προσβάλλονται είναι αυτά τα οποία

απαντούν στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις της γλυκόζης, τα οποία έχουν και τη μεγαλύτερη αναλογία αμυλίνης: ινσουλίνης<sup>33</sup>. Οι συνθήκες της αυξημένης σύνθεσης, διαταραγμένης έκκρισης και μεγάλης περιεκτικότητας του κυττάρου σε αμυλίνη προδιαθέτουν σε ενδοκυττάρια ανάπτυξη αμυλοειδούς. Το ενδοκυττάριο αμυλοειδές προκαλεί βλάβη των β-κυττάρων με αποτέλεσμα τη νέκρωση και απελευθέρωση του αμυλοειδούς στον εξωκυττάριο χώρο.

Η θεωρία αυτή παρά το γεγονός ότι στηρίζεται σε πειραματικά δεδομένα στο σύνολό της δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως, παρουσιάζει όμως ορισμένα συγκεκριμένα πλεονεκτήματα. Εξηγεί καταρχήν γιατί ορισμένα μόνο άτομα με αντίσταση στην ινσουλίνη αναπτύσσουν διαβήτη τύπου 2. Προσφέρει ερμηνεία για τον σχηματισμό του αμυλοειδούς στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 καθώς και για την απώλεια ορισμένων (όχι όλων) των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος. Τέλος ερμηνεύει την εκλεκτική απώλεια των β-κυττάρων που απαντούν στα χαμηλά επίπεδα γλυκόζης, γεγονός που συμβαδίζει με την προοδευτική αύξηση της γλυκόζης αίματος νηστείας, που παρατηρείται στο διαβήτη τύπου 2. Εντούτοις χρειάζονται περισσότερα πειραματικά δεδομένα για να επιβεβαιώσουν την ορθότητα αυτής της υπόθεσης.

Εκτός από τα παραπάνω, άλλοι πιθανοί μηχανισμοί που μπορεί να υπεισέρχονται στην παθογένεση του διαβήτη τύπου 2 είναι οι παρακάτω: 1) Η αυξημένη έκκριση της αμυλίνης ανταγωνίζεται άμεσα την ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες και το ήπαρ. 2) Φυσική παρεμπόδιση από τις εναποθέσεις του αμυλοειδούς της μεταφοράς γλυκόζης μέσα στα β-κύτταρα και της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα μέσα στα τριχοειδή των νησιδίων. 3) Άμεση φυσική/χημική βλάβη των β-κυττάρων από το σχηματισμό των εξωκυτταρίων εναποθέσεων αμυλοειδούς των νησιδίων.

Τα αυξημένα επίπεδα αμυλίνης, πλάσματος σε παχυσάρκους δείχνουν ότι οι αντιινσουλινικές επιδράσεις της αμυλίνης ενδεχομένως παίζουν παθογενετικό ρόλο στην πρόκληση διαβήτη τύπου 2. Εντούτοις τα αποτελέσματα μετρήσεων αμυλίνης στο πλάσμα διαβητικών δείχνουν ότι τα επίπεδα είναι φυσιολογικά ή ελαττωμένα και ότι ο διαβήτης τύπου 2 είναι κατάσταση έλλειψης αμυλίνης παρά περισσείας<sup>11,17,18</sup>. Η φυσιολογική σημασία αυτής της ανεπαρκείας δεν είναι γνωστή αλλά είναι ενδεχόμενο ότι θεραπευτικά σχήματα που θα περιέχουν μίγματα ινσουλίνης και

αμυλίνης, να επιτρέπουν καλύτερη ρύθμιση της γλυκόζης αίματος σε ινσουλινοεξαρτώμενους και μη διαβητικούς ασθενείς. Στην περίπτωση αυτή η αμυλίνη θα προλάμβανε την υπογλυκαιμία, θα τροποποιούσε τη δράση της ινσουλίνης στους σκελετικούς μύες, θα επηρέαζε τη δεξαμενή του γλυκογόνου των σκελετικών μυών και θα αύξανε τις αποθήκες γλυκογόνου στο ήπαρ<sup>4,8</sup>. Πειραματικά δεδομένα από τη χορήγηση ενός συνθετικού αναλόγου της αμυλίνης, του AC-137, σε επίμυες έδειξαν ότι αποφεύχθηκε η υπογλυκαιμία που θα επροκαλείτο από τη χορήγηση ινσουλίνης, αναμένονται δε κλινικές μελέτες για τον καθορισμό των ενδείξεων.

## Summary

*Harsoulis F. Amylin (Islet Amyloid Polypeptide). Biology and potential role in the pathogenesis of diabetes mellitus. Hellen Diabetol Chron 1994; 2: 85-92.*

Islet amyloidosis (IA) is the principal lesion in the endocrine pancreas of human beings with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). The delineation of the pathogenesis of this form of amyloidosis may be crucial to the understanding of the development and progression of NIDDM. Amylin is a recently discovered polypeptide that is the principal constituent of IA in humans. It is produced by the pancreatic b-cells and is co-packaged with insulin in the b-cell secretory vesicles. Immunohistochemical and physiologic evidence supports the notion that the b-cells are heterogenous with respect to their relative contents of insulin and amylin. Therefore, although is co-secreted with insulin in response to a variety of insulin secretagogues, the molar ratio of these two peptides may vary, depending upon the glucose concentration and prevailing metabolic milieu. Amylin has about 45% homology to another neuropeptide, calcitonin gene-related peptide. It is encoded by a single-copy gene located on chromosome 12. Is is expressed as 89 aminocacid prepropeptide that is processed enzymatically. The 20-29 region of the amylin molecule is most important in the ability of amylin to form amyloid fibrils. The role of amylin and IA in the pathogenesis of NIDDM may involve several possible mechanisms, including: 1) direct physical/chemical damage to b-cells, resulting in necrosis os islets, 2)

biologic activities that oppose those of insulin or abnormally suppress insulin secretion and 3) interference by IA deposits of passage of insulin out of  $\beta$ -cells and/or entrance of glucose into the islet. The physiological significance of the amylin deficiency in both forms of diabetes is currently unknown.

## Βιβλιογραφία

- Bretherton-Watt D, Bloom SR. Islet Amyloid Polypeptide. The cause of type-2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 1991; 2: 203-206.
- Husby G, Asaki S, Benditt EP, et al. The 1990 guidelines for nomenclature. In: *Amyloid and amyloidosis 1990*, ed Natvig GB, Forre O, Husby G, Husebekk A, Skogen B, Sletten K, and Westermark P. pp. 7-11, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands 1991.
- Glenner GG. Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$ -fibrilloses. *N Engl J Med* 1980; 302: 1283-92, 1333-43.
- O'Brien TD, Butler PG, Westermark P, Johnson KH. Islet amyloid polypeptide. A review of its biology and potential roles in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Vet Pathol*, 1993; 30: 317-32.
- Cornwell GG, Natvig JB, Westermark P, Husby G. Senile cardiac amyloid: demonstration of a unique fibril protein in tissue sections. *J Immunol* 1978; 120: 1385-8.
- O'Brien TD, Butler AE, Roche PC, et al. Islet amyloid polypeptide in human insulinomas. *Diabetes*; 1994; 43: 329-36.
- Roberts AN, Leighton B, Todd JA, et al. Molecular and functional characterization of amylin, a peptide associated with type 2 diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 9662-6.
- Cooper GJS. Amylin compared with calcitonin gene-related peptide: Structure, Biology, and Relevance to Metabolic Disease. *Endocrine Reviews*, 1994; 15: 163-201.
- Lukinius A, Wilander E, Westermark GT, et al. Colocalization of islet amyloid polypeptide and insulin in the  $\beta$ -cell secretory granules of the human pancreatic islets. *Diabetologia* 1989; 32: 240-44.
- Nishi M, Sanke T, Shimou S, et al. Human islet amyloid polypeptide gene: complete nucleotide sequence, chromosomal localization and evolutionary history. *Mol Endocrinol* 1989; 3: 1775-81.
- Butler PC, Chou J, Carter WB, et al. Effects of a meal ingestion of plasma amylin concentration in NIDDM and nondiabetic humans. *Diabetes* 1990; 39: 752-56.
- Kahn SE, D'Alessio DA, Schwartz W, et al. Evidence of cosecretion of islet amyloid polypeptide and insulin by  $\beta$ -cells. *Diabetes* 1990; 39: 634-8.
- O'Brien TD, Westermark P, Johnson KH. Islet amyloid polypeptide (IAPP) does not inhibit glucose-stimulated insulin secretion from isolated perfused rat pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 1223-8.
- Galeazza MT, O'Brien TD, Johnson KH, Seybold VS. Islet amyloid polypeptide (IAPP) competes for two binding sites of CGRP. *Peptides* 1991; 12: 589-91.
- Mitsukawa T, Takemura J, Asai J, et al. Islet amyloid polypeptide response to glucose, insulin and somatostatin analogue administration. *Diabetes* 1990; 39: 639-42.
- Ar'Pajab A, Ahren B. Effects of amidated rat islet amyloid polypeptide on glucose-stimulated insulin secretion in vivo and in vitro in rats. *Eur J Pharmacol* 1991; 192: 443-5.
- Hartert E, Svoboda T, Ludvik B, et al. Basal and stimulated plasma levels of pancreatic amylin indicate its cosecretion with insulin in humans. *Diabetologia* 1991; 34: 52-54.
- Sanke T, Hanabusa T, Nakano Y, et al. Plasma islet amyloid polypeptide (amylin) levels and their responses to oral glucose in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1991; 34: 129-132.
- Young DA, Deems RD, Deacon RW, et al. Effects of amylin on glucose metabolism and glycogenolysis in vivo and in vitro. *Am J Physiol* 1990; 259: E457-E461.
- Koopmans SJ, van Mansfets ADM, Jansz HS, et al. Amylin-induced in vivo insulin resistance in conscious rats: the liver is more sensitive to amylin than peripheral tissues. *Diabetologia* 1989; 86: 3127-30.
- Rink TJ, Beaumont K, Kola J, Young A. Structure and biology of amylin. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 113-8.
- Brain SD, Wimalawansa S, MacIntyre J, Williams TJ. The demonstration of vasodilator activity of pancreatic amylin amide in the rabbit. *Am J Pathol* 1990; 136: 487-90.
- Chance WT, Balasubramanian A, Zhang FS, et al. Anorexia following the intrahypothalamic administration of amylin. *Brain Res* 1991; 139: 352-54.
- Zaidi M, Shankar VS, Huang CL-H, Pazianas M, Bloom SR. Amylin in bone conservation. Current evidence and hypothetical considerations. *Trends Endocrinol Metab* 1993; 4: 255-9.
- Datta HK, Zaidi M, Wimalawansa SJ, et al. In vivo and in vitro effects of amylin and amylin-amide on calcium metabolism in the rat and rabbit. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162: 876-81.
- Gilbey SG, Ghatei MA, Bretherton, Watt D, et al. Islet amyloid polypeptide (IAPP) production by osteoblast cell line and possible role as a paracrine regulator of osteoclast function in man. *Clin Sci* 1991; 81: 803-8.
- MacIntyre I, Moonga BS, Zaidi M. Amylin: a new calcium-regulating hormone from the pancreas? (abst 78P) *J Physiol (Lond)* 434.
- Hui SL, Epstein S, Johnston CC Jr. A prospective study of bone mass in patients with type I diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 74-80.

29. Nishi M, Bell GI, Steiner DF. Islet amyloid polypeptide (amylin): no evidence of an abnormal precursor sequence in 25 type II (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1990; 33: 628-30.
30. Westermark P, Engstrom U, Johnson KH, et al. Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5036-40.
31. Eriksson J, Franssila-Kallunki A, Ekstrand A, et al. Early metabolic defects in persons at increased risk for noninsulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1989; 321: 337-43.
32. Maloy AL, Longnecker DS, Greenberg I.R. The relation of islet amyloid to the clinical type of diabetes. *Hum Pathol* 1981; 21: 917-22.
33. O'Brien TD, Westermark P, Johnson KH. Islet amyloid polypeptide (IAPP) and insulin secretion from isolated perfused pancreas of fed, fasted, glucose-treated and dexamethasone-treated rats. *Diabetes* 1991; 40: 1701-6.