

AMILINA – ROLUL METABOLIC ȘI NOI PERSPECTIVE DE UTILIZARE CLINICĂ

Igor Usturoi, Leonid Lîsîi, Svetlana Protopop

Catedra Biochimie și Biochimie Clinică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Amylin – metabolic role and new perspectives in clinical use

Amylin – a 37-amino acid polypeptide hormone identified in 1987, is the product of a gene located on chromosome 12.1. Amylin is synthesized by the pancreatic β -cells and is co-secreted with insulin in response to enteral nutrient intake with a secretory and plasma concentration profile similar to that of insulin. Amylin and its analogues have similar effects and mechanisms of action in that they suppress postprandial glucagon's secretion, regulate the rate of gastric emptying, reduce food intake and increase satiety. They also influence calcium homeostasis and have an anabolical action to the bone. Amylin seems to be an attractive candidate for diabetes mellitus and osteoporosis diagnosis and/or therapy.

Rezumat

Amilina – hormon polipeptidic compus din 37 de aminoacizi, identificat în anul 1987, reprezintă produsul unei gene localizate pe cromozomul 12.1. Este sintetizată de celulele β pancreatice și secretată împreună cu insulina ca răspuns la ingestia alimentelor. De altfel prezintă un profil secretoriu și al concentrației plasmatică similare insulinei. Amilina și analogii săi au aceleași efecte și mecanisme de acțiune, care conduc la supresia secreției postprandiale de glucagon, reglarea evacuării gastrice, reducerea consumului alimentar și creșterea sațietății. De asemenea, influențează homeostazia calciului și posedă un efect anabolizant asupra sistemului osos. Amilina pare să fie un candidat atractiv în diagnosticul și/sau terapia diabetului zaharat și a osteoporozei.

Actualitatea

Amilina a fost menționată pentru prima dată de cercetătorii din Universitatea Oxford în anul 1987 [7]. Studii ulterioare au demonstrat că în mod normal amilina este prezentă în sânge și că ea posedă funcții fiziologice importante pentru organism. În primul rând, amilina este un hormon glucoreglator, fiind un partener al insulinei în menținerea homeostaziei glucidice. Concomitent, amilina este implicată în reglarea metabolismului sistemului osos, protecția mucoasei gastrice de acțiunea factorilor ulcerigeni, influențează sistemul circulator, inhibă secreția peptidei natriuretice atriale etc. Cercetările ce vizează rolul amilinei în dezvoltarea diabetului zaharat și a bolii Alzheimer, cât și posibilitatea utilizării hormonului și a analogilor săi în tratamentul acestor maladii, prezintă un interes științific deosebit.

Particularități structurale și receptorii amilinei

Amilina reprezintă un hormon de natură proteică alcătuit din 37 de aminoacizi. Posedă analogie structurală cu calcitonina, adrenomedulina și CGRP (calcitonin gene-related peptide), toate aceste peptide fiind clasate în familia calcitoninei. Tirozina de la capătul C-terminal al amilinei este amidată. Resturile de cisteină din pozițiile 2 și 7 sunt legate printr-o punte disulfidică, ceea ce conferă structură circulară capătului N-terminal al amilinei. Se consideră că anume aceste particularități structurale sunt decisive pentru acțiunea biologică a peptidelor din familia calcitoninei [21].

Încercările de a utiliza amilina pentru tratamentul diabetului zaharat nu s-au încununat de succes din cauza solubilității scăzute și tendinței de a se agrega. Acest fapt a orientat cercetătorii spre căutarea analogilor sintetici ai amilinei. Pramlintida, compus sintetic, diferă după componența aminoacidică de hormonul uman doar prin trei aminoacizi – alanina din poziția 25 și serina din pozițiile 27 și 28 sunt substituie cu prolină. Modificările structurale nu afectează

acțiunea biologică a hormonului, dar îmbunătățesc proprietățile fizico-chimice, ceea ce permite utilizarea pramlintidei ca remediu farmaceutic [25].

Cercetătorii care au încercat să determine receptorii amilinei au întâlnit dificultăți dat fiind faptul că se identificau receptorii pentru calcitonină (RC), față de care amilina posedă afinitate scăzută. Ulterior s-a constatat că amilina într-adevăr acționează prin acești receptori, dar printr-un mecanism distinct de cel mediat de proteinele G. Spre deosebire de receptorii cuplați cu proteinele G, afinitatea receptorului calcitoninei pentru amilina poate fi modificată semnificativ în funcție de circumstanțe. Mărirea afinității receptorilor este determinată de legarea cu proteinele transmembranare RAMP (receptor activity-modifying proteins). La momentul actual se cunosc trei tipuri de RAMP – RAMP1, RAMP2 și RAMP3. Asocierea proteinelor RAMP cu receptorii corespunzători are loc în reticulul endoplasmatic, complexe obținute fiind translocate în membrana plasmatică, unde funcționează ca receptori pentru amilina, adrenomedulină și CGRP. Prin combinarea celor trei RAMP cu izoformele receptorilor calcitoninei ($RC_{(a)}$ și $RC_{(b)}$) se obțin șase tipuri de receptori amilnici – $AMY_{1(a)}$, $AMY_{2(a)}$, $AMY_{3(a)}$, $AMY_{1(b)}$, $AMY_{2(b)}$ și $AMY_{3(b)}$. Afinitatea lor față de amilina și celelalte peptide din familia calcitoninei diferă de la un receptor la altul [5].

Ținând cont de faptul că natura chimică a receptorilor amilinei a fost stabilită recent, e și firesc că sunt foarte puține date referitoare la semnalizarea intracelulară. Considerând că principalul component este receptorul calcitoninei, proprietățile lui pot fi extrapolate și asupra receptorului amilinei. Se presupune că receptorii amilinei formați de $RC_{(a)}$ ar acționa prin proteinele G_s și G_q , iar cei formați de $RC_{(b)}$ ar avea capacitate de semnalizare și internalizare redusă [17].

Cercetări efectuate pe animale au confirmat că amilina este un hormon neuroendocrin care acționează prin fixarea la receptorii localizați în creier. Studii preclinice au demonstrat că densitatea receptorilor amilinei este cea mai înaltă în *nucleus accumbens*, *dorsal raphe* și *area postrema* [4].

Amilina și homeostazia glucidică

Homeostazia glucozei reprezintă un proces complex dependent de absorbția glucozei din intestin și de viteza cu care glucoza este transportată și utilizată în țesuturi. Transportul glucozei din intestin în sânge este influențat de tipul și de cantitatea alimentelor consumate, de rata de evacuare gastrică din stomac și de acțiunea reciprocă a mai multor hormoni. Micșorarea concentrației de glucoză din sânge este determinată în cea mai mare măsură de insulină. La reglarea glicemiei participă și alți hormoni de natură peptidică – glucagonul, amilina, GLP-1 (glucagon-like peptide-1), GIP (gastric inhibitory polypeptide).

La persoanele adulte sănătoase concentrația glucozei bazale este < 100 mg/dL, iar ficatul este furnizorul principal de glucoză. Ingestia alimentelor cu conținut înalt de hidrocarburi conduce la o creștere semnificativă a glicemiei. Mărirea bruscă a concentrației de glucoză exogenă stimulează secreția insulinei și a amilinei de celulele β -pancreatice. Ambii hormoni sunt secretați în sistemul portal, iar ulterior în circulația sistemică [14]. Insulina și amilina, prin efectele lor complementare, mențin homeostazia glucidică, reglând echilibrul dintre absorbția intestinală de glucoză și epurarea ei din sânge.

Insulina participă la reglarea postprandială a concentrației de glucoză prin două mecanisme principale. În primul rând, insulina facilitează transportul glucozei din sânge în țesuturile sensibile la insulină [12]. În al doilea rând, insulina micșorează producerea hepatică de glucoză prin efecte directe și indirecte, inclusiv și prin inhibarea secreției de glucagon de către celulele α pancreatice (efect paracrin). Amilina completează efectele insulinei în ceea ce privește controlul glicemiei, reglează evacuarea gastrică, suprimă consumul de alimente [11].

La persoanele sănătoase, concentrația amilinei variază între 4 pmol/L (a jeun) și 25 pmol/L (postprandial) [23].

Mecanisme de acțiune

Studii recente au evidențiat cel puțin trei efecte ale amilinei ce completează insulina în reglarea homeostaziei postprandiale a glucozei:

1) *Reducerea secreției postprandiale de glucagon și, în așa mod, producerea endogenă de glucoză în ficat.* Mecanismul prin intermediul căruia amilina suprimă secreția de glucagon nu este elucidat complet, dar rezultatele unor studii preclinice sugerează acțiunea ei la nivelul sistemului nervos central. Cercetări recente indică că hipoglicemia atenuează supresia secreției de glucagon de către amilina. Amilina exogenă inhibă secreția de glucagon indusă de arginină, dar n-o influențează pe cea indusă de hipoglicemie. Deoarece amilina nu are efecte directe asupra secreției de glucagon se presupune că acțiunea ei este extrapancreatică și, posibil, este mediată prin mecanisme centrale [19].

2) *Reglarea evacuării gastrice (mediată central) și, implicit, a ratei de absorbție a glucozei exogene din intestin în sânge.* Un studiu efectuat pe șobolani a comparat acțiunea amilinei asupra evacuării gastrice cu efectele GLP-1, colecistokininei-8, GIP, glucagonului și ale polipeptidei pancreatice. A fost stabilit că amilina a scăzut esențial rata de evacuare gastrică (de 15 ori mai puternic decât GLP-1 și de 20 de ori mai puternic decât colecistokinina-8). Celelalte peptide investigate nu au influențat esențial evacuarea gastrică [24]. Administrarea intracerebroventriculară a amilinei șobolanilor cu vagotomie a evidențiat o atenuare esențială a evacuării gastrice, ceea ce indică că efectul este mediat prin nervul vag [13].

3) *Micșorarea consumului de alimente și, corespunzător, reducerea transportului de glucoză exogenă din intestin în circulație.* Injectarea intraperitoneală a amilinei, colecistokininei și a GLP-1 șobolanilor a evidențiat o reducere de 55% pentru amilina și de 70% pentru colecistokinina a consumului alimentar [1]. Acest efect pare să fie mediat prin receptorii amilinei, localizați în *area postrema*. După o injecție întrahipotalamică de amilina s-a stabilit că concentrația dopaminei și a serotoninei, a tirozinei și a triptofanului (precursori ai neuromediatorilor respectivi), a 3,4-dihidroxifenilacetatului, a acidului homovanilic și a 5-hidroxiindolilacetatului (metaboliți ai mediatorilor) a fost semnificativ mărită [3]. Acest fapt indică că efectele amilinei asupra apetitului sunt mediate prin dopamină și serotonină.

Tabelul 1

Efectele peptidelor glucoreglatoare

Efectele	Insulina	Amilina	Glucagon	GLP-1	GIP
Activează sinteza glicogenului	▲				
Stimulează glicoliza	▲				
Stimulează secreția de insulină				▲	▲
Stimulează evacuarea gastrică		▲		▲	
Reglează secreția de glucagon		▲		▲	
Diminuează consumul alimentar		▲		▲	
Stimulează glicogenoliza			▲		
Promovează gluconeogeneza			▲		
Inhibă secreția sucului gastric				▲	▲

Notă: GLP-1 – glucagon-like peptide-1, GIP – gastric inhibitory polipeptide.

Efectele „extragluclidice” ale amilinei

Pe lângă reglarea homeostaziei glucidice, amilina posedă următoarele efecte:

1) *Influențează funcția mucoasei gastrice, protejând-o de factorii ulcerigeni* [18]. Acest efect se manifestă nu numai la concentrații terapeutice, dar și la valori plasmatiche apropiate de cele fiziologice. Amilina inhibă secreția de pepsină, mărește secreția de bicarbonați, dilată vasele sangvine gastrice, amplificând astfel circulația sangvină prin ele. Studii efectuate pe șoareci au demonstrat că amilina inhibă secreția de acid clorhidric și de histamină de către mucoasa gastrică și stimulează secreția de somatostatina [26].

2) *Efectele amilinei asupra țesutului osos sunt foarte promițătoare.* Rolul amilinei în metabolismul osului este determinat de faptul că amilina posedă analogie structurală cu

calcitonina (20%) și cu CGRP (44%) [2]. Amilina stimulează proliferarea osteoblastelor și inhibă resorbția osoasă, mărește densitatea și masa osoasă [9]. Este dovedit că la pacienții cu osteoporoză concentrația de amilina este mai joasă, comparativ cu persoanele sănătoase, ceea ce poate conduce la progresarea bolii. Este posibil ca pe viitor amilina să fie utilizată ca marker al eficacității tratamentului și al dinamicii osteoporozei. Studii în domeniu indică că amilina, adrenomodulina și IGF-1 reprezintă elemente integrale ale aceluiași sistem care stimulează proliferarea osteoblastelor [8]. Inactivarea amilinei determină reducerea masei osoase cauzată de creșterea resorbției osului [10].

3) *Amilina acționează asupra sistemului circulator, inhibând secreția peptidei natriuretice atriale.* Se consideră că acest efect este mediat prin intermediul CGRP1 și al receptorilor calcitoninei [16]. Amilina cauzează vasodilatarea prin acțiunea asupra celulelor musculare netede ale vaselor sangvine; acest efect nu implică producerea de oxid nitric de către endoteliul vascular [15].

Amilina și depozitele de amiloid

O problemă importantă a medicinei este descoperirea mecanismului formării depozitelor toxice de amiloid care distrug membranele celulare și conduc la dezvoltarea multor maladii. Ca exemplu, capacitatea amilinei umane de a forma depozite de amiloid și de a distruge membranele celulare stă la baza mecanismelor patologice ale diabetului zaharat de tipul 2 [6].

Se consideră că secreția fiziologică de amilina nu cauzează acumularea depozitelor de amiloid în insulele pancreatice. Cu toate acestea, amilina umană are tendința de a se agrega și de a forma fibrile, precursori potențiali ai depozitelor de amiloid. În etapele timpurii ale diabetului zaharat de tipul 2 (stare de hipersecreție a amilinei) în insulele pancreatice se depistează depozite de amiloid. Cercetătorii presupun că acest proces patologic ar contribui la disfuncția și distrugerea celulelor β pancreatice. Este cazul de menționat că depozitele de proteine din alte țesuturi au primit denumirea generală de „depozite de amilod”, cu toate că acestea diferă în funcție de țesut și organ. Ca exemplu, plăcile Alzheimer constau din proteine ce diferă de amilina, și anume din peptide de beta-amiloid [20, 22].

Concluzii

La momentul actual amilina este recunoscută ca partener al insulinei în ceea ce privește homeostazia glucozei. Amilina reglează preponderent rata de absorbție a glucozei din intestin în circulație, completând acțiunea hipoglicemiantă a insulinei. Combinația de efecte fiziologice determinate de suprimarea postprandială a secreției de glucagon, reglarea ratei de evacuare gastrică și reducerea consumului alimentar atestă importanța rolului glucoreglator al amilinei. În plus, amilina posedă efecte semnificative antiulcerigene. Pe viitor amilina poate deveni marker al eficacității tratamentului și progresării osteoporozei.

Bibliografie

1. Bhavsar S., Watkins J., Young A., Synergy between amylin and cholecystokinin for inhibition of food in mice. *Physiol. Behav.*, 1998, no. 64, p. 557-561.
2. Bronsky J., Prusa R. Amylin fasting plasma levels are decreased in patients with osteoporosis. *Osteoporos. Int.*, 2004, no. 3, p. 243-247.
3. Chance W.T., Balasubramaniam A., Zhang F.S. Anorexia following the intrahypothalamic administration of amylin. *Brain Res.*, 1991, no. 539, p. 352-354.
4. Christopoulos G., Paxinos G., Huang X.F., et al. Comparative distribution of receptors for amylin and the related peptides calcitonin gene related peptide and calcitonin in rat and monkey brain. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1995, no. 73, p.1037-1041.
5. Christopoulos G., Perry K.J., Morfis M., et al. Multiple amylin receptors arise from receptor activity-modifying protein interaction with the calcitonin gene product. *Mol. Pharmacol.* 1999, no. 56, p. 235-242.

6. Clark A., Wells C.A., Buley I.D., et al. Islet amyloid, increased A-cells, reduced B-cells and exocrine fibrosis: quantitative changes in the pancreas in type 2 diabetes. *Diabetes Res.* 1988, no. 9, p. 151-159.
7. Cooper GJ, Willis AC, Clark A, et al. Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1987, no. 84., p. 8628-8632.
8. Cornish J., Grey A., Callon K.E., et al. Shared pathways of osteoblast mitogenesis induced by amylin, adrenomedullin, and IGF-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, no. 318, p. 240-246.
9. Cornish J., Naot D. Amylin and adrenomedullin: novel regulators of bone growth. *Curr. Pharm. Des.* 2002, no.23, p. 2009-2021.
10. Dacquin R., Davey R.A., Laplace C., et al. Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation in vivo. *J.Cell. Biol.* 2004, no. 4, p, 509-514.
11. Gedulin B.R., Rink T.J., Young A.A. Dose-response for glucagonostatic effect of amylin in rats. *Metabolism*, 1997, no. 46, p. 67-70.
12. Gerich J.E. Control of glycemia. *Baillieres Best Pract. Res. Clin., Endocrinol. Metab.*, 1993, no. 7, p. 551-586.
13. Jodka C., Green D., Young A., Gedulin B. Amylin modulations of gastric emptying in rats depends upon intact vagus nerve. *Diabetes.* 1996, no. 45(suppl.1), p. 235A.
14. Kruger D.F., Gatcomb P.M., Owen S.K. Clinical implications of amylin and amylin deficiency. *Diabetes Educator.*, 1999, no. 25, p. 389-398.
15. Lukyantseva G.V., Sergeev I.Y., Kopylova G.N., et al. Effect of amylin on the tone of rat aorta ring preparation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2001, no. 4, p. 932-934.
16. Piao F.L., Cao C., Han J.H., et al. Amylin-induced suppression of ANP secretion through receptors CGRP1 and salmon calcitonin. *Regul. Pept.* 2004, no.117, p. 159-166.
17. Purdue B.W., Tilakaratne N., Sexton P.M. Molecular pharmacology of calcitonin receptor. *Recept. Channels.* 2002, no. 8(3-4), p. 245-255.
18. Samonina G.E., Kopylova G.N., Lukjanzeva G.V., et al. Antiulcer effects of amylin: a review. *Pathophysiology*, 2004, no.1, p. 1-6.
19. Silvestre R.A., Rodriguez-Gallardo J., Jodka C., et al. Selective amylin inhibition of the glucagon response to arginine is extrinsic to the pancreas. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001, no. 280, p. E443-E449.
20. Westermark P., Wernstedt C., Wilander E., et al. Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1987, no. 84, p. 3881-3885.
21. Wimalawansa S.J. Amilin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin and adrenomedullin: a peptide superfamily. *Critical Reviews in Neurobiology.* 1997, no. 84, p. 8628-8632.
22. Yang D.S., Serpell L.C., Yip C.M., et al. Assembly of Alzheimer's amyloid-beta fibrils and approaches for therapeutic intervention. *Amyloid: J. Protein Folding Disord.* 2001, no. 8 (suppl 1), p. 10-19.
23. Young A. Amylin's physiology and its role in diabetes. *Curr. Opin. Endocrinol. Diab.*, 1997, no. 4, p. 282-290.
24. Young A.A., Gedulin B., Vine W., et al. Gastric emptying is accelerated in diabetic BB rats and is slowed by subcutaneous injections of amylin. *Diabetologia*, 1995, no.38, p. 642-648.
25. Young A.A., Vine W., Gedulin B.R., et al. Preclinical pharmacology of pramlintide in the rat: comparisons with human and rat amylin. *Drug Develop. Res.* 1996, no.37, p. 231-248.
26. Zaki M., Koduru S., McCuen R., et al., Amylin, released from the gastric fundus, stimulates somatostatin and thus inhibits histamine and acid secretion in mice. *Gastroenterology*, 2002, no. 1, p. 247-255.