Βιοσύνθεση και ορμονική ρύθμιση της έκκρισης της ινσουλίνης

05

ΕΥΑ ΚΑΣΣΗ

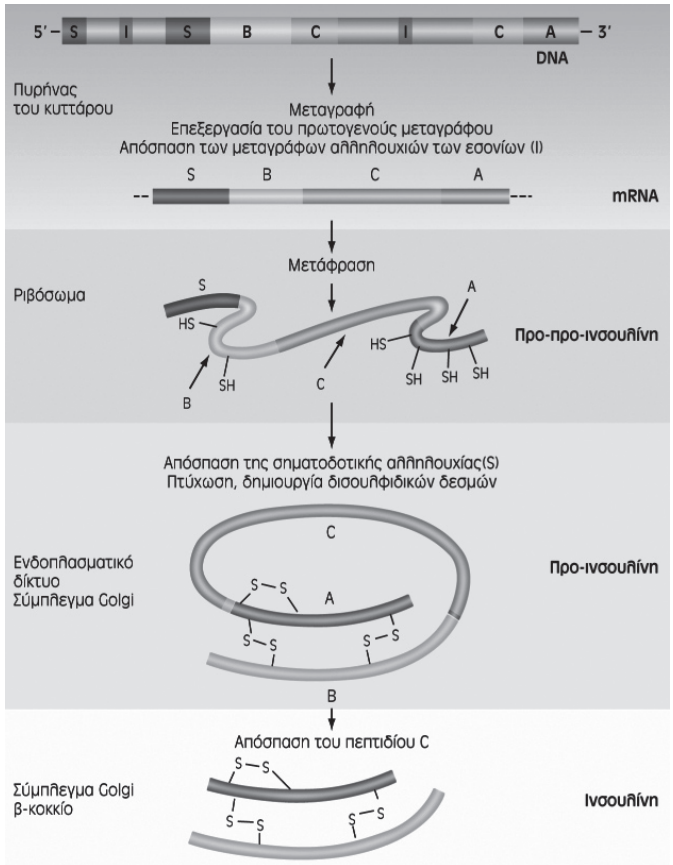
Ενδοκρινολόγος
Λέκτορας Κλιν. Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Η ινσουλίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη (ΜΒ 58,000) που αποτελείται από 51 αμινοξέα, τα οποία σχηματίζουν δύο αλυσίδες την Α (21 αμινοξέα) και τη Β (30 αμινοξέα). Οι αλυσίδες αυτές συνδέονται μεταξύ τους με δύο δισουλφιδικούς δεσμούς. Η δομή της Α αλυσίδας σταθεροποιείται από έναν επιπλέον δισουλφιδικό δεσμό.

Το γονίδιο της ινσουλίνης εδράζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 11. Η σύνθεση και αποθήκευση της ινσουλίνης γίνονται στα β-κύτταρα των νησιδίων του Langerhans του παγκρέατος ως εξής (Σχήμα 1):

Πρώτα συντίθεται το πρόδρομο μόριο προ-προινσουλίνη (preproinsulin). Το γονίδιο της προ-προινσουλίνης περιέχει δύο εσώνια και τρία εξώνια. Το αντίστοιχο mRNA κωδικοποιεί την αλληλουχία αμινοξέων της προ-προ-ινσουλίνης.



Σχήμα 1. Βιοσύνθεση ινσουλίνης

Το πρωτεινικό μόριο της προ-προινσουλίνης φέρει ένα αμινοτελικό και ένα καρβοξυτελικό άκρο. Στο αμινοτελικό άκρο (-NH2) βρίσκεται μια σηματοδοτική αλληλουχία (signal peptide) την οποία ακολουθούν τα τριάντα αμινοξέα της Β αλυσίδας. Τα τελευταία 21 αμινοξέα που βρίσκονται στο καρβοξυτελικό άκρο σχηματίζουν την αλληλουχία της Α αλυσίδας.

Ανάμεσα στις δύο αλυσίδες παρεμβάλλονται 26-31 (ανάλογα με το είδος) αμινοξέα που αποτελούν το C πεπτίδιο (connecting peptide: συνδετικό πεπτίδιο).

Η τριτοταγής δομή της προ-προινσουλίνης εξασφαλίζει την εγγύτητα των καταλοίπων κυστείνης, ώστε να είναι εύκολη η οξείδωσή τους και ο σχηματισμός των δισουλφιδικών δεσμών.

Το μόριο της προ-προινσουλίνης σχηματίζεται στα ριβοσώματα και με τη βοήθεια της σηματοδοτικής αλληλουχίας (οδηγό πεπτίδιο) οδηγείται στο Ενδοπλα-

σματικό Δίκτυο (ΕΔ). Στο ΕΔ πρωτεολυτικά ένζυμα αποκόπτουν το οδηγό πεπτίδιο οδηγώντας στο σχηματισμό του μορίου της προινσουλίνης (κατά βάση αδρανής προορμόνη). Η προινσουλίνη περνά από το ΕΔ στη συσκευή Golgi και από κεί στα χαρακτηριστικά εκκριτικά κοκκία των β-κυττάρων, τα οποία καλούνται β-κοκκία. Τα εκκριτικά κοκκία εκτός από την αδρανή προορμόνη περιέχουν και ένζυμα (trypsin-like) που θα "κόψουν" την προορμόνη σε δραστική ινσουλίνη και C πεπτίδιο.

Μελέτες έχουν δείξει ότι κάθε μεμονομένο β-κύτταρο περιέχει περισσότερα από 10000 εκκριτικά κοκκία.

ΓΛΥΚΟΖΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΕΚΚΡΙΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Η έκκριση της ινσουλίνης γίνεται μέσω εξωκύττωσης των β-κοκκίων. Η εξωκύττωση αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση μαζί με την ινσουλίνη και ισομοριακών ποσοτήτων C πεπτιδίου. Εκτός από την απελευθέρωση ινσουλίνης και C πεπτιδίου φαίνεται ότι απελευθερώνεται στην αιματική κυκλοφορία και προινσουλίνη. Πράγματι έχει δειχθεί ότι η προινσουλίνη αποτελεί το 6% της ολικής ανοσοδραστικής ινσουλίνης που απελευθερώνεται στην πυλαία φλέβα ενός φυσιολογικού ανθρώπου ενώ το ποσοστό αυτό με τη χρήση πιο ευαίσθητων τεχνικών ανέρχεται στο 10% στην περιφέρεια. Η προινσουλίνη έχει μικρότερο ρυθμό μεταβολικής κάθαρσης και μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από την ινσουλίνη. Όσον αφορά τη δραστικότητά της η προισουλίνη 1) έχει μεγαλύτερη δραστικότητα στην αναστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης (5-12% της ινσουλίνης) σε σχέση με τη διέγερση της περιφερικής πρόσληψης της γλυκόζης (3-8% της ινσουλίνης) 2) έχει διαφορετική δράση στο μεταβολισμό του γαλακτικού οξέος σε σχέση με την ινσουλίνη και 3) σε μικρές συγκεντρώσεις αδυνατεί να αναστείλει τη λιπόλυση και την κετογένεση.

Η ινσουλίνη είναι η μόνη ορμόνη που μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Κύριο ερέθισμα για την έκκριση της ινσουλίνης αποτελεί ως γνωστόν η γλυκόζη.

Κατά συνέπεια κύρια λειτουργία των β-κυττάρων είναι η επιτυχής σύζευξη των αλλαγών στην εξωκυττάρια συγκέντρωση γλυκόζης και της απελευθέρωσης ινσουλίνης.

Η πρώτη παρατήρηση ότι η αποπόλωση της μεμβράνης των β-κυττάρων συνδέεται με απελευθέρωση ινσουλίνης έγινε από τους Dean και Mattews το 1968. Μεταγενέστερη ερευνητική δουλειά του P. Rosman και συν. έδειξε ότι η έκκριση ινσουλίνης που ακολουθεί την αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης συνδέεται με την είσοδο Ca^{++} από τον εξωκυττάριο χώρο μέσα στο κύτταρο.

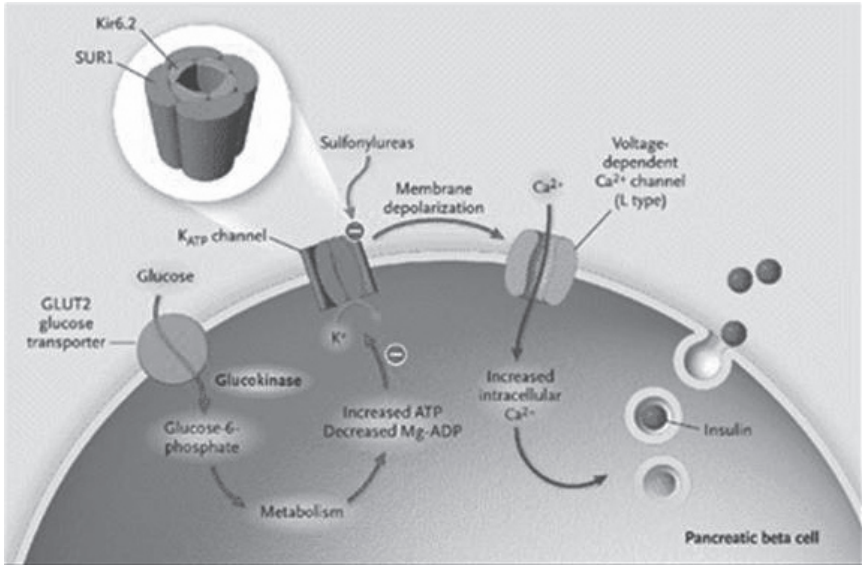
Σήμερα γνωρίζουμε ότι το δυναμικό ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης είναι περίπου –60mV και διατηρείται με τη βοήθεια διαύλων K+ μέσω των οποίων αποβάλλονται ιόντα K+ στον εξωκυττάριο χώρο. Στα β-κύτταρα ο κύριος τύπος διαύλων K+ είναι ο Kir6.2. Το χαρακτηριστικό αυτού του τύπου διαύλων είναι ότι είναι συζευγμένος με μια ρυθμιστική πρωτείνη, γνωστή σαν SUR1 (πρωτείνη που αποτε-

λεί υποδοχέα με τον οποίο συνδέονται οι σουλφονυλουρίες). Το σύμπλεγμα Kir6.2-SUR1 είναι γνωστό σαν KATP δίαυλος (διαύλοι $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενοι}$). Πρόκειται στην πραγματικότητα για ένα σύμπλεγμα-οκταμερές αποτελούμενο από τέσσερις υπομονάδες Kir6.2 περιβαλλόμενες από τέσσερις υπομονάδες SUR1(Σχήμα 2). Το σύμπλεγμα SUR1 συνδεόμενο με ATP αλλά και με σουλφονυλουρίες δρα σαν ρυθμιστής των διαύλων K+. Τόσο το ATP όσο και οι σολυφονυλουρίες δρουν «κλείνοντας» τους διαύλους K+ κι έτσι εμποδίζοντας την εκροή K+ εκτός κυττάρου. Αυτό οδηγεί σε αποπόλωση (αύξηση του διαμεμβρανικού δυναμικού) της κυτταρικής μεμβράνης. Μόλις το διαμεμβρανικό δυναμικό ανέβει άνω του –40mV τότε «ανοίγουν» οι δίαυλοι Ca^{++} L-type (τασεο-ελεγχόμενοι δίαυλοι Ca^{++}), με αποτέλεσμα εισροή Ca^{++} στον ενδοκυττάριο χώρο, αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{++} και εξωκύττωση των κοκκίων ινσουλίνης. Αντίθετα, η διαζοξίδη συνδεόμενη με τους $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενους}$ διαύλους τους «ανοίγει» εμποδίζοντας την εξωκύττωση των β-κοκκίων.

Πώς αυτή η διαδικασία της εξωκύττωσης των β-κοκκίων συνδέεται με την αύξηση των επιπέδων γλυκόζης? Όταν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα αυξηθούν πάνω από 5mmol/L τότε η γλυκόζη μέσω των γλυκομεταφορέων–2 (Glut-2) εισέρχεται στο β-κύτταρο, φωσφορυλιώνεται με τη δράση της γλυκοκινάσης και οδηγείται σε αερόβια γλυκόλυση με αποτέλεσμα αύξηση της συγκέντρωσης του ATP και ταυτόχρονη μείωση του ADP. Η αύξηση του λόγου ATP/ADP προκαλεί το κλείσιμο των $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενων}$ διαύλων και όλη την αλληλουχία των γεγονότων που προαναφέρθηκε και που καταλήγει στην εξωκύττωση της ινσουλίνης (Σχήμα 2).

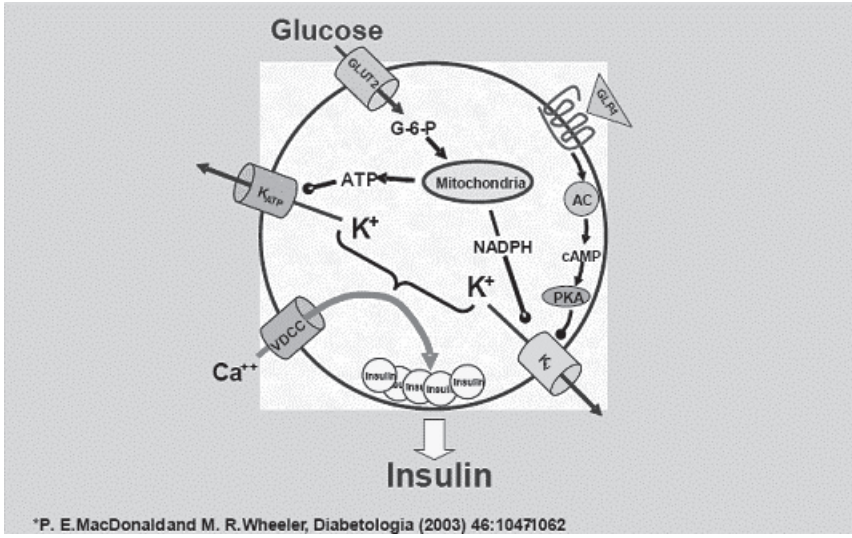
Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η αλληλουχία αυτών των γεγονότων αποτελεί το μονοπάτι της άμεσης απάντησης στην αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης (triggering pathway). Υπάρχει όμως και ένα άλλο μονοπάτι ενίσχυσης του σήματος (amplifying pathway), το οποίο επίσης επάγεται από τη γλυκόζη, είναι ανεξάρτητο από τους $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενους}$ διαύλους, και ενισχύει την εκκριτική απάντηση των β-κοκκίων χωρίς να αυξάνει περαιτέρω την ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων Ca^{++}. Το ενισχυτικό αυτό μονοπάτι δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί αλλά είναι πολύ σημαντικό στην τελική εκκριτική απάντηση του β-κυττάρου στο ερέθισμα της γλυκόζης.

Μεταλλάξεις στον Kir6.2 έχουν περιγραφεί σε περιπτώσεις νεογνικού διαβήτη που φαίνεται να αντιμετωπίζονται επιτυχώς με τη χορήγηση σουλφονυλουριών.



Σχήμα 2. Η γλυκόζη εισερχόμενη στο β-κύτταρο και μέσω του μεταβολισμού της διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης

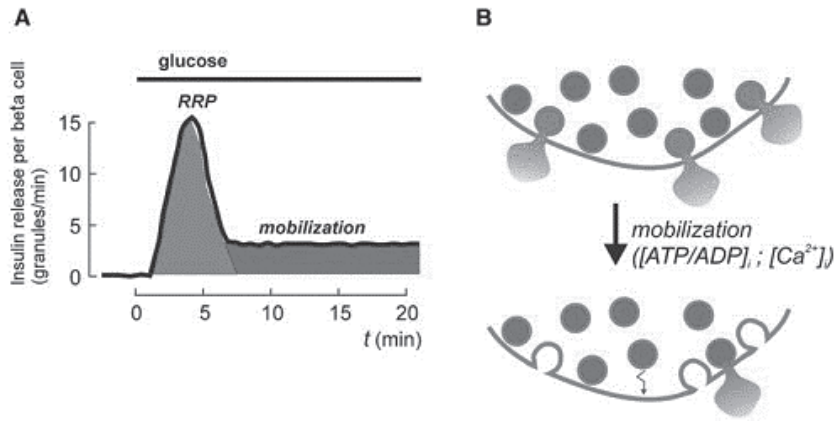
Αξίζει να αναφερθεί εδώ ότι εκτός των $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενων}$ διαύλων υπάρχουν και άλλοι δίαυλοι K+, με αποτέλεσμα η ενδοκυττάρια συγκέντρωση K+ κάθε φορά να είναι το άθροισμα της λειτουργίας όλων των ανωτέρω διαύλων. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον το έχουν οι τασεο-ελεγχόμενοι δίαυλοι K+ (Kv) οι οποίοι ανοίγουν όταν συμβαίνει αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, κατά αντιστοιχία με τους τασεο-ελεγχόμενους διαύλους Ca^{++}. Ενώ λοιπόν το κλείσιμο των $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενων}$ διαύλων οδηγεί σε αποπόλωση της μεμβράνης, η αποπόλωση αυτή οδηγεί σε άνοιγμα των Kv διαύλων, με αποτέλεσμα ανά πάσα στιγμή η ενδοκυττάρια συγκέντρωση K+ και κατά συνέπεια το δυναμικό της μεμβράνης και η έκκριση της ινσουλίνης να είναι αποτέλεσμα της συνολικής δράσης και των δύο αυτών διαφορετικών τύπων διαύλων K+. Η ενεργότητα αυτών των διαύλων Kv επηρεάζεται από ορμόνες που δρούν μέσω G-coupled υποδοχέων (υποδοχέων συζευγμένων με G πρωτείνες) και διαμεσολαβούν ενδοκυττάρια μηνύματα μέσω αδενυλκυκλάσης-cAMP-πρωτεινικής κινάσης A (PKA) (Σχήμα 3).



Σχήμα 3. Εκτός των $_{\text{KATP-ελεγχόμενων}}$ διαύλων, οι Kv$_{\text{τασεο-ελεγχόμενοι δίαυλοι}}$ ρυθμίζουν την έκκριση της ινσουλίνης στο β-κύτταρο. Η ενεργότητα αυτών των διαύλων Kv επηρεάζεται από ορμόνες που δρούν μέσω G-coupled υποδοχέων (πχ. GLP-1).

Φωσφορυλίωση των Kv διαύλων από την PKA τους οδηγεί σε κλείσιμο με επακόλουθη αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης. Πρόσφατα όμως έχει δειχθεί ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του cAMP εκτός από PKA-εξαρτώμενο οδηγεί σε PKA-ανεξάρτητο μηχανισμό διέγερσης της έκκρισης της ινσουλίνης που εμπλέκει ενεργοποίηση πρωτεινών-υποδοχέων του cAMP [cAMP-regulated guanine nucleotide exchange factor II (cAMP-GEFII) ή Epac2] (Σχήμα 5). Οι πρωτείνες αυτές ενεργοποιούμενες φαίνεται να συμμετέχουν στην απελευθέρωση Ca^{++} και αύξηση της συγκέντρωσής του από τις ενδοκυττάριες αποθήκες (ενδοπλασματικό δύκτιο).

Η ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης ακολουθείται, ως γνωστό, από διφασική έκκριση ινσουλίνης. Μια πολύ ταχεία και απότομη αύξηση στην έκκριση της ινσουλίνης παρατηρείται μέσα στα πρώτα δύο λεπτά από την χορήγηση της ινσουλίνης. Ακολουθεί μια απότομη μείωση, και στη συνέχεια διατήρηση της έκκρισης σε χαμηλότερα επίπεδα, που διαρκεί όμως περισσότερο (Σχήμα 4Α).



Σχήμα 4. Α. Διφασική έκκριση ινσουλίνης από το β-κύτταρο σαν απάντηση στο ερέθισμα της γλυκόζης. Με πράσινο χρώμα σημειώνεται η πρώτη φάση και με κόκκινο η δεύτερη φάση. Β. Με πράσινο χρώμα σημειώνονται τα κοκκία της «έτοιμης προς απελευθέρωση» δεξαμενής, με κόκκινο τα κοκκία της «αποθηκευμένης» δεξαμενής.

Η πρώτη φάση προκύπτει από την εξωκύττωση των β-κοκκίων που αποτελούν την «έτοιμη προς απελευθέρωση» δεξαμενή (readily released pool) και που αποτελεί το 5-10% της αποθηκευμένης στα β-κύτταρα ινσουλίνης. Πρόκειται για κοκκία που είναι σε ετοιμότητα, ήδη «αγκυροβολημένα» στην κυτταρική μεμβράνη και ενεργοποιημένα. Η συνεχόμενη έκκριση της δεύτερης φάσης προκύπτει από την εξωκύττωση των κοκκίων που αποτελούν την «αποθηκευμένη» δεξαμενή (reserve pool). Πρόκειται για κοκκία που βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου και τα οποία μεταπίπτουν ενεργοποιούμενα (με κατανάλωση ATP) σταδιακά στην «έτοιμη προς απελευθέρωση» δεξαμενή που «αγκυροβολείται» στην κυτταρική μεμβράνη (Σχήμα 4Β).

Εκτός από την γλυκόζη, τρία αμινοξέα μπορούν επίσης να διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης από το β-κύτταρο. Αυτό το επιτυγχάνουν αυξάνοντας τα επίπεδα του ενδοκυττάριου Ca^{++} χωρίς όμως να εμπλέκονται οι $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενοι}$ διαύλοι.. Η αλανίνη και η γλυκίνη μοιράζονται ένα μεταφορέα που συμμεταφέρει και Na+ μέσα στο β-κύτταρο. Η εισροή του Na+ είναι αρκετή για να προκαλέσει αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και να «ανοίξει» τους διαύλους Ca^{++}. Η αργινίνη διαθέτει δικό της μεταφορέα ο οποίος βρίσκεται στην μεμβράνη του β-κυττάρου. Η αργινίνη είναι ένα κατιόν που εισερχόμενο στο β-κύτταρο μπορεί να προκαλέσει αποπόλωση της μεμβράνης και «άνοιγμα» των διαύλων Ca ++.

ΚΕΦΑΛΙΚΗ ΦΑΣΗ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Η γλυκόζη όμως εκτός από την απ' ευθείας δράση της στο β-κύτταρο όσον αφορά την έκκριση ινσουλίνης, φαίνεται να επιδρά και έμμεσα.

Τα νησίδια του παγκρέατος διαθέτουν πλούσια νεύρωση από συμπαθητικές, παρασυμπαθητικές και αισθητικές νευρικές ίνες, με ποικιλία νευροδιαβιβαστών και νευροπεπτιδίων αποθηκευμένων στις απολήξεις τους. Η γλυκόζη μέσα στη στοματική κοιλότητα, μέσω υποδοχέων γεύσης και των προσαγωγών ινών τους διεγείρει νευρικά αντανακλαστικά που άγονται μέσω εγκεφαλικού στελέχους, πυρήνα της μονήρους δεσμίδας, δικτυωτού σχηματισμού, παραβραγχιακού πυρήνα και ραχιαίου κινητικού πυρήνα του πνευμονογαστρικού (παρασυμπαθητικό). Διέγερση του παρασυμπαθητικού επάγει την έκκριση ινσουλίνης, και αυτή η διέγερση είναι πολύ σημαντική για την λεγόμενη κεφαλική φάση της έκκρισης ινσουλίνης, που συμβαίνει πριν ακόμη αυξηθούν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Οι τέσσερις κύριοι νευροδιαβιβαστές που εκκρίνονται στις νευρικές απολήξεις του παρασυμπαθητικού είναι η ακετυλοχολίνη, και τρια νευροπεπτίδια: το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP: vasoactive intestinal polypeptide), το υποφυσιακό πολυπεπτίδιο που διεγείρει την αδενυλκυκλάση (PACAP: pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) και το πεπτίδιο που διεγείρει την έκκριση της γαστρίνης (GRP:gastrin-releasing peptide). Όλα τα παραπάνω δρουν μέσω G-coupled protein υποδοχέων και διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης.

Διέγερση των συμπαθητικών νευρικών απολήξεων, μέσω απελευθέρωσης νοραδρεναλίνης, γαλανίνης και νευροπεπτιδίου Υ (NPY) αναστέλλει τόσο την βασική όσο και την γλυκοζοεξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης. Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι η νοραδρεναλίνη μπορεί τόσο να αναστείλει την έκκριση της ινσουλίνης (μέσω α2-αδρενεργικών υποδοχέων), αλλά και να διεγείρει την έκκρισή της (μέσω β2-αδρενεργικών υποδοχέων).

Οι αισθητικές νευρικές απολήξεις απελευθερώνουν calcitonin gene-related peptide (CGRP). Ο ρόλος των αισθητικών νεύρων στα νησίδια δεν είναι αποσαφηνισμένος, αν και μελέτες αποδεικνύουν ότι το CGRP αναστέλλει την γλυκοζοεξαρτώμενη έκκριση της ινσουλίνης.

Η χολοκυστοκινίνη (CCK) είναι άλλο ένα νευροπεπτίδιο που απομονώθηκε από νευρικές απολήξεις των νησιδίων. Φαίνεται ότι δρώντας μέσω υποδοχέων της CCK (Gq –coupled υποδοχείς που ενεργοποιούν τη φωσφολιπάση C) ασκεί ινσουλινοτρόπο δράση. Συγκεκριμένα, από τους δύο υποτύπους, τον CCKA και τον CCKB υποδοχέα, στα β-κύτταρα έχει εντοπιστεί ο CCKA υποδοχέας, μέσω του οποίου και επάγεται η έκκριση της ινσουλίνης.

Νευροπεπτίδια

PACAP και VIP

Τα πεπτίδια PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) και VIP (vasoactive intestinal polypeptide) έχουν πολλές ομοιότητες μεταξύ τους τόσο δομικές όσο και λειτουργικές. Ανήκουν στην υπεροικογένεια των πεπτιδίων της γλυκαγόνης (glucagon superfamily of peptides), κατανέμονται ευρύτατα τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα και φαίνεται να δρούν σαν νευροπεπτίδια. Το PACAP υπάρχει σε δύο ισομορφές την PACAP38 και την PACAP27 ισοδύναμες μεταξύ τους. Το PACAP εμφανίζει κατά 68% δομική ομολογία με το VIP. Οι δράσεις τους διαμεσολαβούνται μέσω τριών υποδοχέων που ανήκουν στην οικογένεια των συζευγμένων με G πρωτείνες υποδοχέων (PACAP/VIP receptors): τον PAC1-R που έχει συγγένεια με το PACAP, και των VPAC1-R και VPAC2-R που εμφανίζουν την ίδια συγγένεια τόσο για το PACAP όσο και για το VIP. Οι PACAP/VIP υποδοχείς κατανέμονται ευρύτατα σε όλο το σώμα, γαστρεντερικό, αναπνευστικό, νευρικό σύστημα.

Το PACAP έχει εντοπισθεί και στο πάγκρεας, τόσο στα ενδοπαγκρεατικά νευρικά γάγγλια όσο και σε νεύρα που καταλήγουν στο εξωκρινές παρέγχυμα, γύρω από τα αγγεία και στα νησίδια του παγκρέατος. Πειράματα των Filipsson και συνεργατών έδειξαν ότι 1) το ανθρώπινο πάγκρεας εκφράζει τόσο το PACAP27 όσο και το PACAP38 (το δεύτερο μάλιστα σε συγκέντρωση ίδια με το VIP) 2) οι υποδοχείς PACAP/VIP που βρίσκονται στο πάγκρεας έχουν την ίδια συγγένεια και για τις δύο ισομορφές και 3) το PACAP και το VIP αυξάνουν τόσο την βασική όσο και την γλυκοζοεξαρτώμενη έκκριση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα, μέσω αύξησης του cAMP (Gs-coupled).

NPY

ΤΟ νευροπεπτίδιο Y, βρίσκεται στις απολήξεις των συμπαθητικών νευρικών ινών των νησιδίων του παγκρέατος. Αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης δρώντας μέσω των Y1 υποδοχέων του που έχουν εντοπιστεί στο β-κύτταρο. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι πειράματα απαλειφής του γονιδίου του υποδοχέα Y1 του NPY σε επίμυες έδειξαν ότι έχουν φυσιολογική γλυκοζο-εξαρτώμενη ινσουλινική έκκριση, που σημαίνει ότι δεν παρεμβαίνει στην γλυκοζοεξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης. Πρόκειται για Gi coupled υποδοχείς που αναστέλλουν την αδενυλκυκλάση.

ΓΑΣΤΡΟ-ΕΝΤΕΡΟ-ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟΣ ΑΞΟΝΑΣ –ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΙΝΚΡΕΤΙΝΩΝ

GLP-1 και GIP

Είναι γνωστό ότι η μεταγευματική γλυκοζο-εξαρτώμενη έκκριση της ινσουλίνης

είναι μεγαλύτερη από την παρατηρούμενη μετά από ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης που οδηγεί σε ίδια επίπεδα γλυκόζης ορού. Το φαινόμενο αυτό πρωτοπεριγράφηκε το 1964 και ονομάστηκε φαινόμενο ινκρετινών. Σήμερα γνωρίζουμε ότι πάνω από το 60% της μεταγευματικής εκκρινόμενης ινσουλίνης οφεόλεται στο φαινόμενο των ινκρετινών.

Δύο μόρια έχουν απομονωθεί που είναι κυρίως υπεύθυνα για αυτό το φαινόμενο. Το προσομοιάζον με τη γλυκαγόνη πεπτίδιο-1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) αποσχίζεται από το μόριο της προγλυκαγόνης με τη δράση ειδικών μετατρεπτικών ενζύμων που βρίσκονται στο ΓΕΣ. Δύο μορφές του GLP-1 εκκρίνονται, το GLP-1(7-37) και το GLP-1 (7-36) που δρούν μέσω του ίδιου υποδοχέα και μοιράζονται τις ίδιες δράσεις. Το GLP-1 που κυκλοφορεί, είναι στην πλειονότητά του το GLP-1(7-36). Πρόκειται για πεπτίδιο που συντίθεται και εκκρίνεται από τα L-κύτταρα του εντέρου (ειλεός και παχύ έντερο). Το εξαρτώμενο από τη γλυκόζη πολυπεπτίδιο απελευθέρωσης ινσουλίνης (glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GIP) εκκρίνεται από τα K κύτταρα του εντέρου (δωδεκαδάκτυλο, εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου).

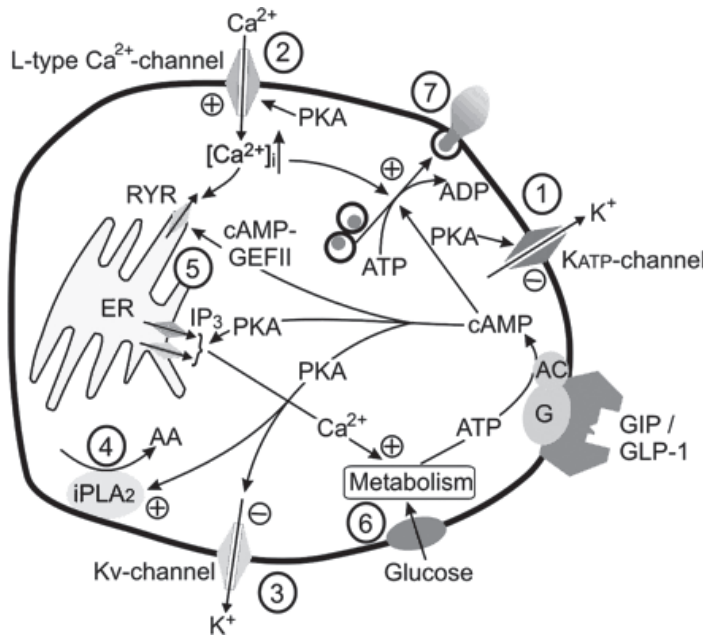
Το κύριο ερέθισμα για την έκκριση των ινκρετινών (GLP-1 και GIP) αποτελούν οι τροφές που έρχονται σε άμεση επαφή με τα L και K κύτταρα, αντίστοιχα, του εντερικού βλεννογόνου. Μάλιστα τροφές πλούσιες σε υδατάνθρακες και λιπίδια επάγουν περισσότερο την έκκριση του GLP-1 (6-8 φορές) σε σχέση με τορφές πλούσιες σε πρωτείνες.

Η έκκριση όμως των ινκρετινών μπορεί να ρυθμιστεί όχι μόνο άμεσα (μέσω αλληλεπίδρασης της τροφής με τα L και K κύτταρα του στομάχου) αλλά και έμμεσα, μέσω νευροενδοκρινικών παραγόντων που εκκρίνονται με την είσοδο της τροφής στο πεπτικό, με αποτέλεσμα η πρώτη φάση έκκρισης του GLP-1 να αρχίζει αμέσως μετά την πρόσληψη τροφής. Πράγματι, η έκκρισή τους ρυθμίζεται θετικά, μέσω χολινεργικών, β-αδρενεργικών και πεπτιδεργικών (gastrin-releasing peptide, GRP) ινών, ενώ αρνητικά ρυθμίζεται μέσω α-αδρενεργικών νευρικών ινών. Επιπλέον το GIP που εκκρίνεται από το εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου διεγείρει την έκκριση του GLP-1.

Αξίζει να αναφερθεί ότι το GLP-1 εκτός από ορμόνη που παράγεται από το πεπτικό, αποτελεί και νευροπεπτίδιο που εκκρίνεται από το ΚΝΣ (brain GLP-1) κυρίως από κύτταρα της μονήρους δεσμίδας και επάγει επίσης την έκκριση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα. Σήμα για την έκκριση του brain GLP-1 αποτελεί η γλυκόζη που γίνεται αντιληπτή μέσω αισθητήρων γλυκόζης που βρίσκονται στο εντερικό τοίχωμα και μεταφέρουν το μήνυμά τους μέσω του ΑΝΣ (χολινεργικών νευρώνων που βρίσκονται στο υποβλεννογόνιο και μυεντερικό πλέγμα που στον εγκέφαλο). Μάλιστα μερικοί εντερικοί νευρώνες εκφράζουν $K_{ATP\text{-}ελεγχόμενους}$ διαύλους, γεγονός που σημαίνει ότι αντιλαμβάνονται τη γλυκόζη με ένα μηχανισμό παρόμοια με αυτόν των β-κυττάρων.

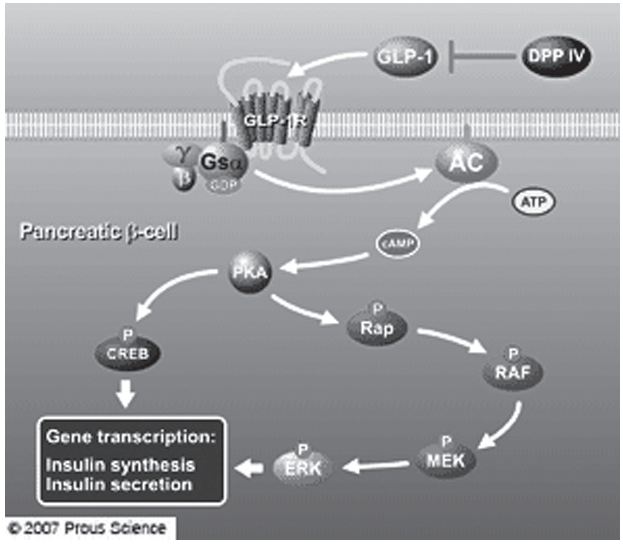
Πολύ γρήγορα μετά την έκκρισή τους τόσο το GIP όσο και το GLP-1 υφίστανται ταχύτατη αποδόμηση. Το ένζυμο που επιτελεί αυτή την αποδόμηση είναι η διπεπτιδυλ-πεπτιδάση IV (DPP IV) που αποκόπτει τα δύο τελευταία αμινοτελικά αμινοξέα, οδηγώντας σε αδρανή πεπτίδια.

Πρόσφατη μελέτη των Elahi D και συνεργατών (2008), έδειξε ότι το μέχρι πρόσφατα θεωρούμενο αδρανές GLP-1(9-36) ασκεί ασθενή ινσουλινοτρόπο δράση.



Σχήμα 5. Στο σχήμα φαίνονται συνοπτικά οι ενδοκυττάριες δράσεις των GIP και GLP-1 που οδηγούν στην διέγερση της έκκρισης της ινσουλίνης. Σύνδεσή τους με τον υποδοχέα τους (Gs-coupled) οδηγεί σε ενεργοποίηση της αδενυλκυκλάσης, αύξηση του cAMP και ενεργοποίηση της πρωτεινικής κινάσης A και πρωτεινών-υποδοχέων του cAMP [cAMP-regulated guanine nucleotide exchange factor II (cAMP-GEFII) ή Epac2]. Αυτές οι δύο πρωτείνες φαίνεται να διαμεσολαβούν τις μοριακές δράσεις που οδηγούν σε ενίσχυση της εξωκύττωσης των β-κοκκίων.

Έχει δειχθεί ότι τόσο το GLP-1 όσο και το GIP αυξάνουν την γλυκοζο-εξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης μέσω σύνδεσής τους με Gs – coupled υποδοχείς (του GLP-1R και του GIP-R αντίστοιχα), ενεργοποίησης της αδενυλκυκλάσης και αύξησης του cAMP (Σχήμα 5). Επιπλέον, in vitro πειράματα έδειξαν ότι 1) επάγουν την έκφραση του γονιδίου της προ-προινσουλίνης, αυξάνοντας τη βιοσύνθεση της ινσουλίνης 2) αυξάνουν την έκφραση του γονιδίου της εξοκινάσης (mRNA εξοκινάσης) με το GLP-1 να ασκεί πιο ισχυρή δράση από το GIP και 3) αυξάνουν την έκφραση του γονιδίου του GLUT2 (mRNA γλυκομεταφορέα 2) (Σχήμα 6).



Σχήμα 6. Το GLP-1 μέσω διέγερσης του μονοπατιού των MAPK- κινασών αλλά και του CREB μεταγραφικού παράγοντα διεγείρει τόσο την σύνθεση και την έκκριση της ινσουλίνης.

Θα πρέπει να προστεθεί ότι εκτός της δράσης του στην γλυκοζοεξαρτώμενη ινσουλίνη, έχει βρεθεί ότι το GLP-1 ελέγχει τη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων που ευθύνονται για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των β-κυττάρων του παγκρέατος, ενώ εμποδίζουν την απόπτωσή τους.

Η οξυντομοντουλίνη (Oxyntomodulin,OXM), παλαιότερα γνωστή σαν εντερογλυκαγόνη, ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 37 αμινοξέα, προέρχεται επίσης από το γονίδιο της προγλυκαγόνης (όπως και το GLP-1) και συνδέεται με τον υποδοχέα του GLP-1, διεγείροντας το σχηματισμό του cAMP και κατά συνέπεια τη σύνθεση και την έκκριση της γλυκοζοεξαρτώμενης ινσουλίνης.

Γκρελίνη

Η γκρελίνη, μια πεπτιδική ορμόνη 28 αμινοξέων που παράγεται κυρίως από κύτταρα του στομάχου ανακαλύφθηκε πρόσφατα ότι προσδένεται στον ορφανό υποδοχέα GHS-R (orphan growth hormone GH secretagogue-receptor). Τόσο η γκρελίνη όσο και ο υποδοχέας της GHS-R απομονώθηκαν σε παγκρεατικά νησίδια. Τα επίπεδα γκρελίνης στο πλάσμα αντανακλούν την κατάσταση του ενεργειακού ισοζυγίου. Έτσι, αυξάνονται όταν υπάρχει αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο (νηστεία, ανορεξία) και ελαττώνονται όταν υπάρχει θετικό ισοζύγιο (παχυσαρκία).

Ποιοί παράγοντες ρυθμίζουν την έκκριση της γκρελίνης? Φαίνεται ότι η έκκρισή

της βρίσκεται υπό τον έλεγχο του παρασυμπαθητικού με κύριο ρυθμιστή την ακετυλοχολίνη.

Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι η γλυκαγόνη ρυθμίζει απ' ευθείας την έκκριση γκρελίνης. Αυτό σημαίνει ότι κατά τη νηστεία, τα υψηλά επίπεδα γλυκαγόνης, επάγουν την έκκριση γκρελίνης, η οποία με τη σειρά της αναστέλλει την έκκριση ινσουλίνης.

Αντιστρόφως, χαμηλά επίπεδα γκρελίνης συνοδεύονται από υψηλά επίπεδα ινσουλίνης νηστείας και ινσουλινοαντίσταση στον άνθρωπο. Επιπλέον, επίμυες με απαλειφή του γονιδίου της γκρελίνης [ghrelin-knockout (Ghr-KO)] εμφάνισαν αυξημένη γλυκοζο-εξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης από απομονωμένα νησίδια παγκρέατος, χωρίς ταυτόχρονα να παρατηρηθεί καμία μεταβολή στην πυκνότητα, στο μέγεθος, στο περιεχόμενο σε ινσουλίνη και στα επίπεδα mRNA ινσουλίνης των β-κυττάρων, καταδεικνύοντας έτσι μια αυξημένη εκκριτική και μόνο επίδραση.

Πρόσφατες μελέτες με στόχο να αποσαφηνίσουν τον τρόπο δράσης της γκρελίνης στα β-κύτταρα, κατέληξαν ότι η μείωση στην έκκριση της ινσουλίνης που προκαλεί δεν διαμεσολαβείται μέσω ενεργοποίησης του μονοπατιού της φωσφολιπάσης C (τρόπος με τον οποίο η γκρελίνη επάγει την έκκριση της GH από τα υποφυσιακά σωματοτρόφα κύτταρα). Αντιθέτως, η γκρελίνη είτε ενδογενώς παραγόμενη, είτε εξωγενώς χορηγούμενη ελαττώνει την γλυκοζο-εξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης μέσω Gai2-διαμεσολαβούμενης ενεργοποίησης διαύλων K (των τασεοευαίσθητων και όχι των ATPευαίσθητων) που οδηγούν σε γρήγορη επαναπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, κλείσιμο των τασεοευαίσθητων διαύλων Ca^{++} και αναστολή έτσι της αύξησης της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου Ca^{++} που θα προκαλέσει την εξωκύττωση των β-κοκκίων.

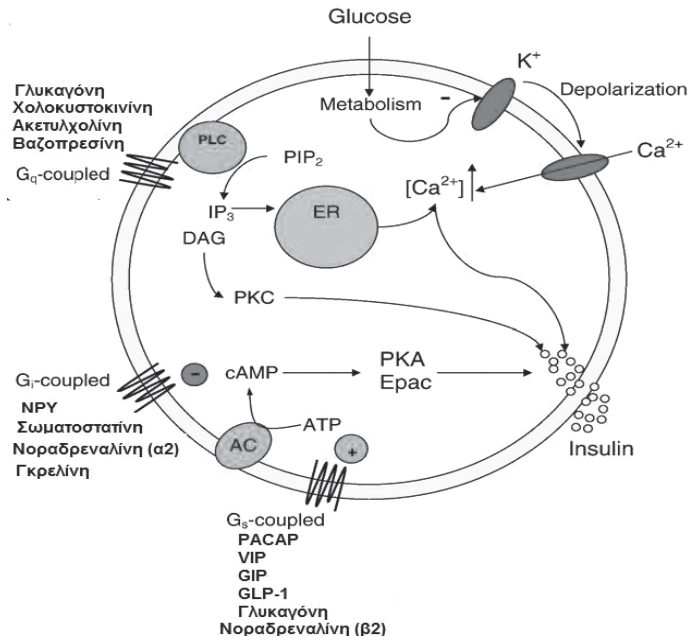
Σωματοστατίνη

Η σωματοστατίνη εκκρίνεται από τα δ-κύτταρα του παγκρέατος και δρα μέσω των υποδοχεών της sstr (5 υποτύποι) που ανήκουν επίσης στην κατηγορία των G-coupled protein υποδοχέων. Παρ΄ότι όλοι οι υπότυποι εκφράζονται στα β-κύτταρα, πειράματα απέδειξαν ότι ο υπότυπος-2 (sstr2) είναι αυτός που διαμεσολαβεί την αναστολή της έκκρισης της ινσουλίνης από τη σωματοστατίνη. Αυτός ο υπότυπος συζεύγνυται με Gi/Go πρωτείνες που αναστέλουν την αδενυλκυκλάση και μειώνουν τα επίπεδα του cAMP. Η δράση αυτή της σωματοστατίνης βρίσκει κλινική εφαρμογή στην αντιμετώπιση ινσουλινώματος ή/και συγγενούς υπερινσουλιναιμίας που μπορεί να χορηγηθεί θεραπευτικά ανάλογο της σωματοστατίνης (οκτρεοτίδη).

Γλυκαγόνη

Η γλυκαγόνη ως γνωστόν παίζει ένα πολύ σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των επι-

πέδων της γλυκόζης διεγείρωντας την ηπατική παραγωγή της, φαίνεται όμως ότι ασκεί και απ' ευθείας δράση στη έκκριση ινσουλίνη. Υποδοχείς γλυκαγόνης εκφράζονται στα β-κύτταρα. Σύνδεση της γλυκαγόνης με τον υποδοχέα της (G-coupled receptor) οδηγεί σε ενεργοποίηση Gq και Gs πρωτεινών με αποτέλεσμα διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης.
Παρά την ανωτέρω δράση της στην έκκριση της ινσουλίνης, η υπεγλυκαγοναιμία οδηγεί τελικά σε υπεργλυκαιμία (λόγω των περιφερικών –εκτός παγκρέατος- δράσεων της γλυκαγόνης) και η αναστολή της έκκρισή της αποτελεί θεραπευτικό στόχο στον ΣΔ τύπου ΙΙ.



Σχήμα 7. Σχηματική αναπαράσταση των G-coupled υποδοχέων του β-κυττάρου και των ορμονών και νευροπεπτιδίων που δρουν μέσω αυτών επάγοντας (μέσω Gs και Gq) ή αναστέλλοντας (μέσω Gi) την έκκριση της ινσουλίνης.

Στο Σχήμα 7 φαίνεται ο μοριακός τρόπος δράσης των ορμονών και των νευροπεπτιδίων που αναφέρονται στο κείμενο όσον αφορά την έκκριση της ινσουλίνης.

ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ ΚΑΙ ΟΣΤΑ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Πολύ ενδιαφέρουσες πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει μια συνομιλία μεταξύ β-κυττάρου και λιπώδους ιστού. Πράγματι η λεπτίνη –κυτοκίνη που εκκρί-

νεται από τα λιπώδη κύτταρα- ασκεί μέσω του υποδοχέα της απ' ευθείας δράση στο β-κύτταρο του παγκρέατος, ρυθμίζοντας την έκκριση ινσουλίνης. In vitro και in vivo (σε πειραματόζωα) πειράματα έχουν δείξει ότι η λεπτίνη αναστέλλει τόσο την έκφραση του γονιδίου της ινσουλίνης όσο και την έκκριση της ινσουλίνης.

Πρόσφατη εργασία των Hinoi E και συνεργατών (2008), σε επίμυες, έδειξε ότι η λεπτίνη αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης και μέσω μείωσης της δραστικότητας της οστεοκαλσίνης. Η οστεοκαλσίνη, πρωτείνη που παράγεται και εκκρίνεται από τους οστεοβλάστες, πιθανώς να αποτελεί και για τον άνθρωπο ένα επιπλέον εκκριταγωγό της ινσουλίνης, αποδεικνύοντας την συμμετοχή –εκτός του λιπώδους ιστού– και του σκελετού στην ρύθμιση της ομοιοστασίας της γλυκόζης.

Η αντιπονεκτίνη, άλλη μία κυτοκίνη που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, όπως φαίνεται από in vitro και in vivo πειράματα σε επίμυες, επάγει την έκκριση της ινσουλίνης με μηχανισμό που δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Deacon CF. What do we know about the secretion and degradation of incretin hormones? Regulatory Peptides 2005; 128:117-124

Dezaki K, Kakei M, Yada T. Ghrelin uses Galphai2 and activates voltage-dependent K+ channels to attenuate glucose-induced Ca2+ signaling and insulin release in islet beta-cells: novel signal transduction of ghrelin. Diabetes. 2007 ;56:2319-27

Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet β-cell: Augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. Endocrinology 2003, 144:5145–5148

Elahi D, Egan J, Shannon R,. Meneilly G, et al. GLP-1 (9–36) Amide, Cleavage Product of GLP-1 (7–36) Amide, Is a Glucoregulatory Peptide. Obesity 2008;16:1501–1509

Fehmann HC, Goke R, Goke B. Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide 1 and glucose dependent insulin releasing polypeptide. Endocr Rev 1995; 16:390–410

Filipsson K, Tornoe K, Ahren B Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Stimulates Insulin and Glucagon Secretion in Humans J Clin Endocrinol Metab1997; 82:3093-3098

Fukaya M, MizunoA, Arai H, Muto K et al. Mechanism of rapid-phase insulin response to elevation of portal glucose concentration. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007; 293: 515-522

Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, Proks P, Bruining GJ et al.Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes N Engl J Med. 2004; 350:1838-49

Henquin JC. Triggering and Amplifying Pathways of Regulation of Insulin Secretion by Glucose. Diabetes 2000;49:1751–1760

Hinoi E, Gao N, Jung DY, Yadav V, Yoshizawa T et al. The sympathetic tone mediates leptin's inhibition of insulin secretion by modulating osteocalcin bioactivity. J Cell Biol. 2008;183:1235-42

Holst JJ and Gromada J Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. Am J Physiol Endocrinol Metab 2004;287: 199-206

Horwitz DL, Starr JI, Mako ME, Blackard WG, Rubenstein AH. Proinsulin, insulin and C-peptide concentrations in human portal and peripheral blood. J Clin Invest 1975; 55:1278-1283

Kassi E, Papavassiliou AG A possible role of osteocalcin in the regulation of insulin secretion:

human in vivo evidence? J Endocrinol. 2008;199:151-3

Knauf C, Cani PD, Perrin C, Iglesias MA, Maury JF, et al. Brain glucagon-like peptide–1 increases insulin secretion and muscle insulin resistance to favor hepatic glycogen storage J Clin Invest. 2005 ; 115: 3554–3563

MacDonald P and Wheeler M. Voltage-dependent K+ channels in pancreatic beta cells: Role, regulation and potential as therapeutic targets, Diabetologia 2003;48: 1046

Maida A, Lovshin JA, Baggio LL, Drucker DJ.The glucagon-like peptide-1 receptor agonist oxyntomodulin enhances beta-cell function but does not inhibit gastric emptying in mice. Endocrinology. 2008;149:5670-8.

Marty N, Dallaporta M and Thorens B. Brain Glucose Sensing, Counterregulation, and Energy Homeostasis. Physiology, 2007; 22: 241-251

Morioka T, Asilmaz E, Hu J,Dishinger JF et al. Disruption of leptin receptor expression in the pancreas directly affects β cell growth and function in mice. J Clin Invest. 2007 ; 117: 2860–2868

Nenquin M, Szollosi A, Aguilar-Bryan L, Bryan J, Henquin JC. Both triggering and amplifying pathways contribute to fuel-induced insulin secretion in the absence of sulfonylurea receptor-1 in pancreatic beta-cells. J Biol Chem. 2004;279:32316-24

Nolan C and Prentki M. The islet β-cell: fuel responsive and vulnerable Trends in Endocrinology & Metabolism 2008;19: 285-291

Okamoto M, Ohara-Imaizumi M, Kubota N, Hashimoto S, Eto K, et al.Adiponectin induces insulin secretion in vitro and in vivo at a low glucose concentration. Diabetologia. 2008;51:827-35

Orskov C, Wetter gren A, Holst JJ.Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day. Scand J Gastroenterol 1996; 31:665– 670

Revers RR, Henry R, Schmeiser L, et al. The effects of biosynthetic human proinsulin on carbohydrate metabolism. Diabetes 1984; 33: 762-770

Rorsman P, Renstrom E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. Diabetologia 2003; 46:1029–1045

Soule S, Pemberton C, Hunt P, Cole D et al. Prandial Regulation of Ghrelin Secretion in Humans: Does Glucagon Contribute to the Preprandial Increase in Circulating Ghrelin? Clin Endocrinol. 2005;63:412-417

Wang Y, Perfetti R, Greig NH, Holloway HW et al Glucagon-like Peptide-1 Can Reverse the Age-related Decline in Glucose Tolerance in Rats The Journal of Clinical Investigation 1997; 99: 2883–2889

Winzell MS, Ahrén B G-protein-coupled receptors and islet function—Implications for treatment of type 2 diabetes, Pharmacology & Therapeutics 2007; 116: 437–448