

## AMYLINA. NOWE MECHANIZMY REGULACYJNE FIBRYLUJĄCEGO HORMONU TRZUSTKI – WYBRANE ASPEKTY

AMYLIN. NEW REGULATORY MECHANISMS OF FIBRILATING  
PANCREATIC HORMONE – SEVERAL ASPECTS

Małgorzata MARSZAŁEK

Zakład Biofizyki Medycznej, Instytut Biofizyki,  
Katedra Biofizyki Ogólnej, Uniwersytet Łódzki

**Streszczenie:** Amylina jest amyloidogennym polipeptydem wchodzącym w skład patologicznych depozytów odkładanych, w obrębie wysp Langerhansa trzustki, u ludzi i zwierząt w przebiegu cukrzycy typu 2 (ang. *Diabetes Mellitus type 2*, DM2; *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*, NIDDM) oraz w rozwoju guza insulinowego trzustki. Jednocześnie ten fibrylujący polipeptyd, należący do rodziny białek kalcytoniny, produkowany przez komórki  $\beta$  trzustki, w formie natywnej, odpowiada za regulację wielu procesów fizjologicznych w organizmie. Co więcej, lokalizacja jego receptorów, a być może i ekspresja samego polipeptydu w mózgu, wskazują, że może on pełnić nierozpoznane jeszcze funkcje jako neurohormon. Być może odgrywa też rolę w procesach poznania, uczenia się i pamięci. W pracy przedstawiono neurohormonalną aktywność amyliny z podkreśleniem roli mózgowych receptorów tego polipeptydu w transdukcji sygnałów nerwowych w obrębie centralnego układu nerwowego.

**Słowa kluczowe:** amyлина, amyloid trzustkowy, cukrzyca typu 2, receptory amyliny

**Summary:** Amylin is an amyloidogenic polypeptide that constitutes pancreatic pathological deposits accumulated in pancreatic islet of Langerhans in course of diabetes mellitus type 2 (DM2, non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) or pancreatic tumor disease e.g., insulinoma. On the other hand this fibrillating pancreas-derived polypeptide, that is calcitonine proteins family member, and in its native form fulfils many important physiological roles in organism. Brain localization of its receptors and brain expression of amylin suggest that there are some unknown physiological aspects of its neurohormonal activity, i.e. cognition, learning and memory. The article presents some neurohormonal amylin activities and highlights some aspects of the role of neural network in the central nervous system.

**Key words:** amylin, pancreatic amyloide, diabetes mellitus type 2, amylin receptors

## WSTĘP

Coraz więcej wiadomo o fizjologicznej roli amyliny, jako hormonu trzustkowego, współodpowiadającego za regulację metabolizmu glukozy w organizmie, modułującego ten metabolizm w mięśniach szkieletowych i wpływającego na wywołanie stanu insulinooporności komórek mięśni i wątroby, jako hormonu wpływającego na funkcjonowanie komórek kości i stan kalcemii, pracę nerek czy mięśni szkieletowych, oraz za słabe efekty wazodylatacyjne. Coraz więcej danych wskazuje też na istnienie nowych, nierozpoznanych funkcjonalnych aspektów związanych z obecnością receptorów amyliny, jak i samego polipeptydu, w komórkach nerwowych, w tym w komórkach mózgu. Wiele wskazuje na rolę i udział amyliny w procesach poznania, uczenia się i pamięci [1, 94]. Dlatego też, w piśmiennictwie, coraz częściej przypisywana jest temu polipeptydowi funkcja neurohormonu. W mózgu ujawniono także kolokalizację tego amyloidogennego polipeptydu ze złogami peptydu A $\beta$  [52].

Amylina wywiera swe efekty fizjologiczne za pośrednictwem receptorów znajdujących się nie tylko w błonie komórkowej komórek  $\beta$  wysp trzustki, ale także w błonie komórkowej komórek innych narządów. Receptory amyliny, zlokalizowane na komórkach  $\beta$ , uruchamiają zarówno zwrotną inhibicję własnej sekrecji polipeptydu, jaki i hamują uwalnianie insuliny. Jednak wysoce selektywnie działające receptory amyliny ujawniono głównie w pewnych obszarach mózgu, w korze nerek i w mięśniach [28, 43, 44].

Niezwykle interesujące jest to, że receptory amyliny zlokalizowano nie tylko w obrębie obszaru, gdzie funkcjonuje bariera krew-mózg, ale i w obszarach mózgu pozostających poza tą strefą tj., w tzw. narządach okołokomorowych (ang. *Cicumventricular Organs*, CO), zwanych też regionami przykomorowymi. Obecnie wiadomo, że centralnie sterowane uczucie sytości jest jednym z mechanizmów działania amyliny, a zahamowanie motoryki żołądka i zwolnienie jego opróżniania wiąże się, prawdopodobnie, z anorektycznym działaniem tego neurohormonu [38, 39]. W miarę postępu badań powoli rysuje się szlak mózgowych sygnałów generowanych przez amylinę. Niniejsza praca stanowi próbę zaprezentowania tego zagadnienia.

## AMYLINA FIBRYLOTWÓRCZYM SKŁADNIKIEM AMYLOIDU TRZUSTKOWEGO

W 1869 r. Paul Langerhans, w swej dysertacji doktorskiej, opisał drobne skupiska komórek charakterystyczne dla pewnych obszarów trzustki. Jednak dopiero w 1893 r. Eduard Laguesse przypisał tym nowym strukturom charakter endokryny, a chcąc podkreślić wagę dokonanego przez Langerhansa odkrycia, nazwał

je jego nazwiskiem. Wiadomo już wówczas było, że uszkodzenie lub całkowite usunięcie trzustki psa, prowadzi do zaburzeń w metabolizmie cukrów. Jednocześnie wyniki badań histologicznych trzustki osób cierpiących z powodu cukrzycy, wykonane *post mortem*, wykazały, że występowanie patomorfologicznych zmian towarzyszących cukrzycy ograniczało się wyłącznie do pewnych, charakterystycznych obszarów trzustki. To właśnie u pacjentów chorych na cukrzycę, w obrębie wysp Langerhansa zaobserwowano nieregularne, rozproszone, ale homogenne, nierozpuszczalne i szkliste depozyty, nazwane początkowo hyaliną (*hyaline* z greki – szklisty), których obecność traktowano jako wyraz degeneracyjnych, patologicznych zmian wysp trzustki. Podobne złoże, odnajdywano także w trzustce zwierząt w przebiegu cukrzycy spontanicznej, np. u kota, u wielu małych wąskonosych – makaków i u człowieka [45]. Dopiero w 1986 r. Westermarck [88, 89] i w 1987 r. Cooper [13, 14] wykazali, że w amyloidzie odnajdywanym u ludzi w obrębie guzów typu insulinoma (guz insulinowy trzustki wywodzący się z komórek beta), u osób chorych na DM2, i u kota, także chorego na cukrzycę, białkową część depozytu stanowi 37. aminokwasowy monomer o masie około 3905 Da, zawierający na swym N-końcu wewnątrzłańcuchowy mostek dwusiarczkowy, utworzony pomiędzy 2 a 7 aminokwasem. Sukces tego odkrycia sprowadzał się m.in., do rozpuszczenia wyjątkowo trudno rozpuszczalnego białkowego składnika amyloidu, któremu nadano wówczas nazwę peptyd towarzyszący cukrzycy (ang. *Diabetes Associated Peptide*, DAP), którą z czasem zmieniono na polipeptyd amyloidu trzustkowego (ang. *Islet Amyloid Polypeptide*, IAPP). Ta ostatnia nazwa wraz z terminem „amylina” funkcjonuje obecnie w piśmiennictwie. Jednocześnie udowodniono, że immunoreaktywność przeciwciał skierowanych wobec amyliny ujawniana jest zarówno w obrębie amyloidu trzustki, jak i w komórkach  $\beta$  wysp Langerhansa człowieka, a także w komórkach guzów insulinoma u człowieka i w amyloidzie u kotów [45].

Mechanizm odpowiadający za obserwowaną w przebiegu cukrzycy samodestrukcję wysp trzustkowych nie jest poznany, ale wiadomo, że głównym jej sprawcą wydaje się być ten stosunkowo mały polipeptyd, który należy do peptydów amyloidogennych. Proces fibrylacji amyliny, a zwłaszcza formowanie na wczesnych etapach amyloidozy tzw. intermediatów helikalnych, jako form prekursorowych fibryli, wydaje się mieć związek z uszkodzeniem komórek wysp Langerhansa i z rozwojem DM2 [46]. Ostatnio, u pacjentów chorych na DM2, wykazano odwrotną korelację pomiędzy masą złogów amyloidowych a rozmiarami obszarów czynnych komórek  $\beta$  wysp trzustki. Nagromadzeniu amyloidu towarzyszyło nasilenie apoptozy komórek  $\beta$  i postępująca ich degradacja [30]. Jednak rola amyliny w rozwoju DM2 pozostaje nadal enigmatyczna i sprawą otwartą nadal pozostaje pytanie czy złoże amyloidu to przyczyna dysfunkcji komórek  $\beta$ , czy to jedynie swoisty marker toczącej się choroby [51, 59, 90]. Na szczególnie podkreślenie zasługuje fakt, iż mimo że w komórce, w stanie prawidłowym, stężenie amyliny jest znacząco wyższe w porównaniu ze stężeniem w warunkach eksperymentalnych *in vitro*, to polipeptyd jest chroniony

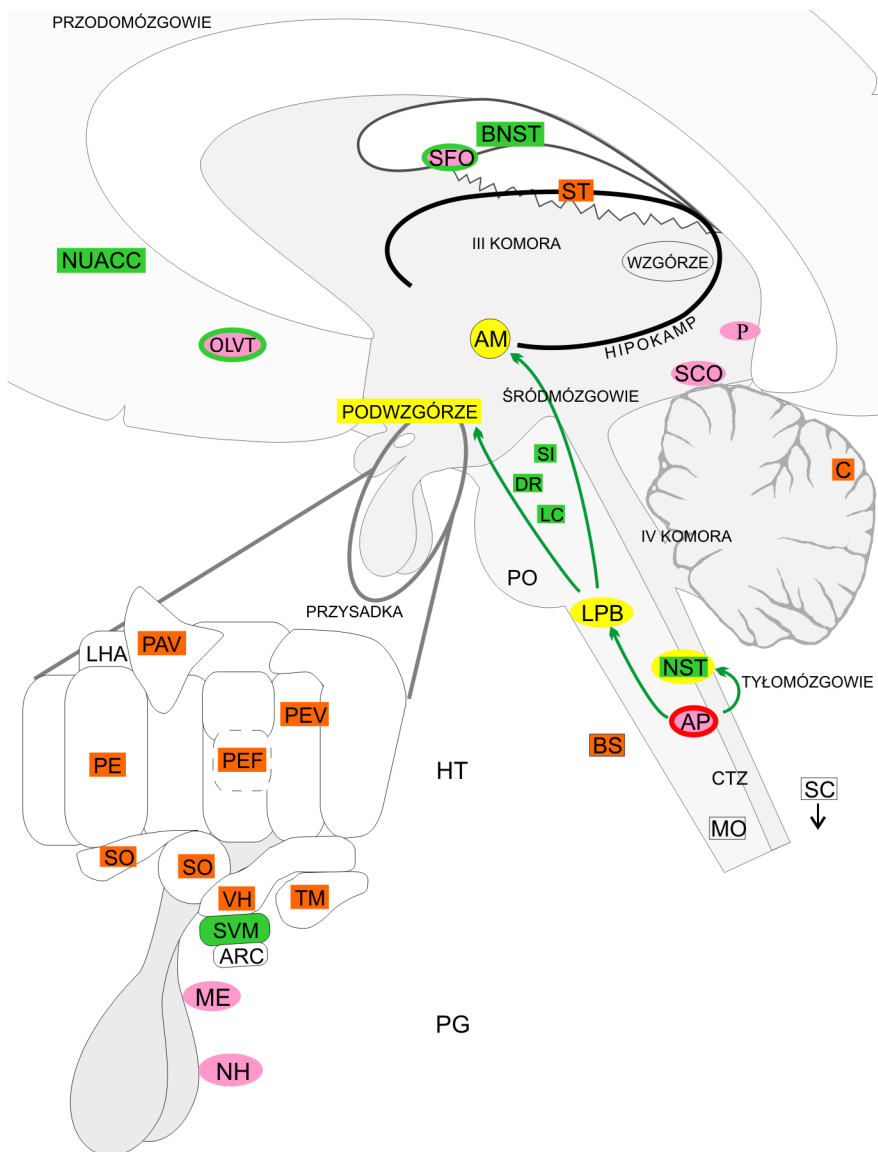
i nie fibryluje. W warunkach eksperymentalnych amyлина w niskim stężeniu, poniżej 1 μM, jest wysoce toksyczna, jednak obecna w komórce w stężeniu rzędu 0,8-4 mM, nie prowadzi do uszkodzenia komórek trzustki osób zdrowych [10, 44].

## AMYLINA W ORGANIZMIE

Pierwsze badania ekspresji amyliny wskazywały na wyłącznie trzustkową lokalizację peptydu, który jest produkowany i wydzielany głównie z komórek β trzustki. Jego obecność wykazano w jasnej, przejrzystej, peryferyjnej strefie pęcherzyków komórek β, zawierającej składniki rozpuszczalne, a nie w części rdzeniowej (granularnej) zawierającej kryształki insuliny, choć nie wyklucza się też obecności amyliny na granicy obu stref pęcherzyków sekrecyjnych. W komórkach β wykazano także kolokalizację amyliny i insuliny, choć wydaje się, że obydwa polipeptydy przechowywane są w odrębnych miejscach pęcherzyków sekrecyjnych. W tych samych pęcherzykach sekrecyjnych znaleziono także m.in. proinsulinę, C-polipeptyd i dwuwartościowe kationy  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  [10, 44].

Dopiero z czasem ujawniono pozatrzustkową ekspresję polipeptydu. mRNA amyliny zlokalizowano także: w przewodzie pokarmowym w komórkach G produkujących gastrynę (ang. *gastrin cells*, *G-cells*, *G-type cells producing gastrin*), w komórkach D produkujących somatostatynę (ang. *D cell*), w komórkach płuc, a także w komórkach obwodowego i centralnego układu nerwowego. Amylinę zlokalizowano w komórkach pnia mózgu (ang. *Brainstem*, BS), w obrębie podwzgórza (ang. *Hypothalamus*, HY) w jądrach: nadwzrokowym (ang. *Supraoptic*, SO), przykomorowym (ang. *Paraventricular*, PAV), okołosklepieniowym (ang. *Perifornical*, PEF), okołokomorowym (ang. *Periventricular*, PEV), guzowo-suteczkatowym (ang. *Tuberomammillary*, TM) i brzuszno-przyśrodkowym (ang. *Ventromedial*, VM), a także w mózdzku (ang. *Cerebellum*, C), choć tu jest jej nieco mniej niż w obrębie wymienionych struktur mózgu [22, 44]. mRNA amyliny ujawniono także w neuronach obszaru blaszki czworaczej (ang. *medial Preoptic area*, PE) w podwzgórzu, a także w obrębie prążka krańcowego (ang. *Stria Terminali*, ST) w istocie białej półkul mózgowych czyli w rejonach, które ze względu na istniejącą barierę krew-mózg powinny być trudno dostępnymi dla polipeptydu (ryc. 1). Obserwacje te poczyniono u karmiących samic szczura, co może wskazywać na wysoce specyficzną rolę amyliny w ośrodkowej regulacji procesów związanych z macierzyństwem, gdy zapotrzebowanie organizmu na substancje odżywcze, w tym glukozę, jest znacząco podwyższone. Zniszczenie obszarów mózgu, w których wykryto mRNA amyliny, powoduje nieujawnianie zachowań typowych dla macierzyństwa, a odstawienie od karmiących samic szczurów ich potomstwa, powoduje przywrócenie w mózgu badanych zwierząt początkowego, zaledwie ujawnianego, poziomu ekspresji amyliny. Ukazało się także doniesienie,

że amylinę wykryto również w mózgu człowieka. Obecność amyliny w mózgu może otworzyć nowy rozdział w poznaniu i w rozumieniu fizjologicznej roli tego polipeptydu już jako neurohormonu [16, 17, 70, 80, 90].



**RYCINA.1** Miejsca istotne dla działania amyliny w obrębie centralnego układu nerwowego. Szczegółowy opis w pracy

**FIGURE.1** Important sites in central nervous system for amylin activity. Detailed information in main text

Objaśnienia stosowanych na rycinie skrótów i kolorów (List of abbreviations and colours):

HY – podwzgórze (ang. *Hypothalamus*)

PG – przysadka (ang. *Pituitary Gland*)

P – most pnia mózgu (ang. *Pons*)

BS – pień mózgu (ang. *Brain Stem*)

MO – rdzeń przedłużony (ang. *Medulla Oblongata*)

SC – rdzeń kręgowy (ang. *Spinal Cord*)

LHA – boczna część podwzgórza (ang. *Lateral Hypothalamic Area*)

ARC – jądro łukowate (ang. *Arcuate nucleus*)

CTZ – chemoreceptorowa strefa wyzwalająca (ang. *Chemoreceptor Trigger Zone*)

■ Miejsca w mózgu gdzie wykryto amylinę (Amylin expression in brain structures):

HY – podwzgórze (ang. *Hypothalamus*)

SO – jądro nadwzrokowe (ang. *Supraoptic nuclei*)

PAV – jądro przykomorowe (ang. *Paraventricular nuclei*)

PEF – jądro okołosklepieniowe (ang. *Perifornical nuclei*)

PEV – jądro okołokomorowe (ang. *Periventricular nuclei*)

TM – jądro guzowo-suteczkwate (ang. *Tuberomammillary nuclei*)

VM – jądro brzuszno-przyśrodkowe (ang. *Ventromedial nuclei*)

C – mózdzek (ang. *Cerebellum*)

BS – pień mózgu (ang. *Brainstem*)

PE – obszar blaszki czworaczej podwzgórza (ang. *medial Preoptic area*)

■ Narządy okołokomorowe (ang. *circumventricular organs*) – obszary mózgu pozostające poza barierą krew-mózg (Circumventricular organs – brain structures outside blood-brain barrier):

– ME – wyniosłość pośrodkowa podwzgórza (ang. *Median Eminence of the hypothalamus*)

– NH – obszar przysadki nerwowej (płat tylny), sąsiadujący z przednim płatem przysadki mózgowej (ang. *adjacent Neurohypophysis of the pituitary gland*)

– SCO – narząd podspoidłowy (ang. *Subcommissural organ*)

– P – szyszynka (ang. *Pineal gland*)

■ Obszary mózgu pozostające poza barierą krew-mózg w których wykryto receptory amyliny i miejsca jej wiązania do receptora (Circumventricular organs – brain structures outside blood-brain barrier and amylin receptor expression):

– SFO – narząd podsklepieniowy (ang. *Subfornical Organ*)

– OLVLT – narząd naczyniowy blaszki czworaczej, (ang. *Organum Vasculosum of the Lamina Terminalis*)

■ Obszary w których wykryto receptory amyliny i miejsca wiązania polipeptydu do receptora (Brain structures and amylin receptor expression):

– NU ACC – jądro półleżące w obrębie jądra podstawnego (ang. *Nucleus Accumbens*)

– DR – jądro grzbietowe szwu (ang. *Dorsal Raphne*)

– LC – jądro miejsca sinawego (ang. *Locus Coeruleus*)

– NST – pasmo samotne rdzenia (ang. *Nucleus of the Solitary Tract*)

– BNST – jądro łożyskowego prążka krańcowego (ang. *Bed Nucleus of the Stria Terminalis*)

– SI – istota bezimienna (ang. *Substantia Inominata*)

– SVM – podjądro brzuszno-boczne w obrębie jądra brzuszno-przyśrodkowego podwzgórza (ang. *ventrolateral Subnucleus of the Ventromedial hypothalamic nucleus*)

– LPB – jądro przykomorowe (ang. *Lateral Parabrachial nucleus, PANU*)

– AM – ciało migdałowe (ang. *Amygdala*)

■ AP – pole najdalsze rdzenia przedłużonego (ang. *Aerea Postrema*) – obszar mózgu pozostający poza barierą krew-mózg bezpośrednio aktywowany amyliną (AP – brain structure outside blood-brain barrier directly activated by amylin)

■ Strzałkami zaznaczono hipotetyczną sieć funkcjonujących zależności różnych obszarów mózgu (Arrows indicate hypothetical amylin-dependent network of neuronal activation)

## AMYLINA, RECEPTORY AMYLINY I ICH AGONIŚCI I ANTAGONIŚCI

Amylina należy do białek z rodziny kalcytoniny, do której zalicza się stosunkowo krótkie hormony peptydowe: kalcytoninę (CT), liczącą 32 aminokwasy, peptyd związany z genem kalcytoniny (ang. *Calcitonin Gene Related Peptide*, CGRP), występujący w dwóch formach tj. białko  $\alpha$ CGRP i  $\beta$ CGRP, liczący, podobnie do amyliny, 37 aminokwasów, rodzinę adrenomedulliny: adrenomedullinę (AM) i adrenomedullinę 2 (intermedin), adrenomedullinę 5; peptydy zbudowane odpowiednio z 52, 47 i 50 aminokwasów, oraz peptyd stymulujący receptor kalcytoniny (ang. *CT Receptor-Stimulating Peptide*, CRSP) w trzech formach CRSP 1,2,3, liczący zależnie od formy, 37-38 aminokwasów [9, 33, 82, 87]. Cechuje je wyższe podobieństwo strukturalne niż podobieństwo budowy aminokwasowej, co sugeruje pewne cechy wspólne ich aktywności biologicznej i podobne mechanizmy działania w oparciu o podobne receptory [7, 26, 31, 84, 85, 86]. Ich wspólnym elementem strukturalnym jest obecność na N-końcu dwóch konserwatywnych reszt cysteiny połączonych mostkiem dwusiarczkowym, nadającym temu fragmentowi łańcucha formę pierścieniową, która jest wymagana do aktywności biologicznej polipeptydów. Brak tej pierścieniowej struktury cechuje peptydy działające antagonistycznie wobec białek natywnych. Ostatni C-końcowy aminokwas, którym jest tyrozyna, niezależnie od gatunku, jest amidowany i występuje w formie amidotyrozyny. Podobnie jak mostek dwusiarczkowy, tak i ta modyfikacja posttranslacyjna polipeptydu jest niezwykle ważna dla jego funkcji fizjologicznych w organizmie [72, 86, 91].

Homologia aminokwasowa polipeptydów obejmuje głównie obszar pierwszych siedmiu aminokwasów N-końca i, w nieco mniejszym stopniu, także odcinek C-terminalny. Znaczące różnice budowy dotyczą części centralnej polipeptydu, tj. regionu pomiędzy 20 a 29 aminokwasem [86]. Zaskakująco wysoki jest stopień homologii amyliny i kalcytoniny łososia (ang. *Salmon Calcitonin*, sCT) bo wynosi on aż 33%. sCT o masie 3431,9 Da zbudowana jest z 32 aminokwasów, z których w pozycji 1 i 7 znajdują się dwie reszty seryny formujące mostek dwusiarczkowy, a w pozycji 32 amidowana reszta proliny. Od kalcytoniny ludzkiej różni się 16 aminokwasami [2, 35, 91].

Amylina wywiera swe efekty fizjologiczne za pośrednictwem receptorów znajdujących się nie tylko w błonie komórkowej komórek  $\beta$  wysp trzustki, ale także receptorów zlokalizowanych w błonie komórkowej komórek w obrębie centralnego układu nerwowego (CUN). Miejsca wiązania amyliny do receptora wykazano także w różnych tkankach, w licznych, miejscach organizmu, jednak wysoce selektywnie działające receptory amyliny ujawniono głównie w pewnych obszarach mózgu, w korze nerek i w mięśniach [19, 32, 69].

Podobnie do amyliny, także i jej receptory mają związek z kalcytoniną, gdyż należą do grupy tzw. receptorów białek rodziny kalcytoniny, wchodzącej w skład rodziny receptorów związanych z białkiem G (ang. *G Protein-Coupled Receptor*,

GPCR), których pobudzenie prowadzi do aktywacji cykazy adenylowej bądź fosfolipazy C. Receptory te są heterodimerami, stanowiąc kombinację dwóch elementów. Pierwszym jest receptor białek związanych z białkiem G, którym może być: receptor kalcytoniny (ang. *Calcitonin Receptor*; CTR), występujący u człowieka w formach wariantywnych CTRa i CTRb, bądź receptor podobny do receptora kalcytoniny (ang. *Calcitonin Receptor-Like Receptor*; CLR), a drugim jedno z trzech, jak dotąd, odkrytych, białko RAMP (ang. *Receptor Activity Modifying Protein*, RAMP), modyfikujące aktywność receptora i warunkujące transport receptora w pobliże błony komórkowej [7, 9, 26, 52, 72, 84, 85, 86]. Białka RAMP o masie szacowanej na około 14000-17000, są stosunkowo niewielkimi polipeptydami liczącymi w przypadku formy ludzkiej: RAMP 1 i RAMP 3 po 148 aminokwasów, a RAMP 2 175 aminokwasów [64]. Cechuje je zaledwie 30% homologia aminokwasowa, ale wszystkie mają podobny plan budowy, tj. charakteryzuje je obecność trzech domen. Są nimi: duża, licząca około 100 aminokwasów, zewnątrzkomórkowa N-końcowa domena zawierająca 4 reszty cysteiny, pojedyncza domena transmembranowa i stosunkowo krótka, bo licząca około 10 aminokwasów C-końcowa, wewnątrzkomórkowa domena cytoplazmatyczna. Domena N-końcowa odpowiada za specyficzne wiązanie liganda, natomiast N-koniec warunkuje bezpośrednie oddziaływanie z białkiem G i odpowiada za charakter przekazywanych sygnałów komórkowych [31, 86].

Receptory CTR i CLR cechuje 50% podobieństwo budowy aminokwasowej, i o ile białko CTR może działać samodzielnie jako specyficzny receptor kalcytoniny, to w przypadku białka CLR o jego specyficzności wobec liganda decyduje heterodimeryzacja z jednym z trzech białek RAMP. Białka RAMP mogą dimeryzować nie tylko z wymienionymi CTR i CLR, ale także z innymi białkami, należącymi do II klasy receptorów związanych z białkiem G. Kombinacja białka CLR z RAMP1 tworzy receptor, którego ligandem jest CGRP. Połączenie CLR i RAMP2 lub RAMP3 prowadzi do uformowania odpowiednio receptora ADM1 lub ADM2, którego ligandem jest adrenomedullina lub adrenomedullina 2. Z kolei białko CTRa i CTRb może działać samodzielnie, jako receptor kalcytoniny, bądź – wchodząc w interakcję z każdym z trzech białek RAMP – może formować warianty a i b każdego z trzech receptorów amyliny: AMY1, AMY2 i AMY3 (np. AMY1<sub>a</sub>, AMY1<sub>b</sub>, itd.). Receptor CTRb, chętniej niż CTRa wiąże białko RAMP2 i tworzy receptor amyliny AMY2 [20, 21, 26, 31, 63, 64, 85, 86].

Wszystkie receptory amyliny charakteryzuje podobny wzór wiązania ligandów, choć obserwuje się pewne drobne różnice. Receptor AMY1 cechuje najwyższe powinowactwo do sCT, amyliny i CGRP, a nieco mniejsze do kalcytoniny ssaków. Z kolei AMY2 wiąże nieco słabiej CGRP, a w przypadku dimeryzacji z RAMP3, powstający receptor cechuje najwyższe powinowactwo do amyliny w porównaniu z innymi ligandami. Typ funkcjonalnego receptora amyliny zależy od rodzaju komórki co, najprawdopodobniej, ma znaczenie fizjologiczne [3, 52, 69, 86].



Miejsca wiążące CT oraz inne białka rodziny CGRP rozpoznano w mózgu szczura zanim wykryto amylinę. Ciekawą obserwacją był fakt, że oprócz tych wyżej opisanych regionów, w mózgu szczura, ujawniono jeszcze inne obszary specyficznie wiążące sCT, ale niewiążące kalcytoniny szczura. Początkowo określono je jako miejsca wiążące C3 (ang. *C3 binding sites*). Miejsca takie ujawniono także w nerkach i w mięśniach [32]. Z czasem, gdy wykryto już amylinę, okazało się, że miejsca wiązania sCT pokrywają się z miejscami gdzie wykazano szczególnie wysokie powinowactwo amyliny, a lokowano je w obszarze jądra podstawnego (ang. *Basal Ganglia*, BG), w części zwanej jądrem półleżącym (ang. *Nucleus Accumbens*, NUACC). Jednocześnie miejsca o wysokim powinowactwie do amyliny cechowało słabsze wiązanie białek CGRP. Wykazano też, że amylinę szczura i sCT łączy wysoki stopień homologii, wyższy niż dla kalcytoniny człowieka i łososia, który wynosi około 50% [32, 35, 86].

Analiza dystrybucji receptorów polipeptydu w mózgu szczura i naczelnych tj. makaków, wykonana techniką autoradiograficzną z amyliną znakowaną izotopem I125, ujawniła inne miejsca o szczególnie silnym powinowactwie polipeptydu. Generalnie wzór wiązania amyliny w różnych regionach mózgu badanych zwierząt był podobny, a zaobserwowane różnice gatunkowe dotyczyły lokalizacji obszarów mózgu o większej gęstości miejsc wiążących amylinę [32, 55]. Receptory amyliny zlokalizowano w obszarze gdzie funkcjonuje bariera krew-mózg, tj. w obrębie jądra podstawnego – w części ogoniastej jądra półleżącego (ang. *mid-caudal nucleus accumbens*) i w rejonie jądra grzbietowego szwu (ang. *Dorsal Raphe*, DR), gdzie wiązanie amyliny do receptora jest wysoce specyficzne. Ponadto receptory amyliny zlokalizowano w: obrębie jądra miejsca sinawego (ang. *Locus Coeruleus*, LC), położonego w grzbietowo-głowej (rostralnej) części mostu pnia mózgu, w części ogoniastej jądra pasma samotnego (ang. *caudal parts of the Nucleus of the Solitary Tract*, NST), w strefie dna prążkowania (ang. *fundus striati of basal ganglia*), w obrębie istoty białej – w obszarze jądra łożyskowego prążka krańcowego (ang. *Bed Nucleus of the Stria Terminalis*, BNST), i w obrębie istoty bezimiennej (ang. *Substantia Inominata*, SI), a także w regionie blaszki czworaczej, części grzbietowo-przyśrodkowej (ang. *dorsomedial*), oraz w części guzowej (ang. *tuberal*) w podjądrze brzuszno-bocznym w obrębie jądra brzuszno-przyśrodkowego podwzgórza (ang. *ventrolateral Subnucleus of the Ventromedial hypothalamic nucleus*, SVM). Niezwykle istotna jest lokalizacja receptorów amyliny w miejscach pozostających poza barierą krew mózg, tj. w narządach okołokomorowych gdzie, ze względu na specyficzną budowę naczyń krwionośnych, swobodnie docierają białkowe substancje wielkocząsteczkowe. Do obszarów tych zalicza się: wyniosłość pośrodkową podwzgórza (ang. *Median Eminence of the hypothalamus*, ME), obszar przysadki nerwowej (płat tylny), sąsiadujący z przednim płatem przysadki mózgowej (ang. *adjacent Neurohypophysis of the pituitary gland*, NH), narząd podspoidłowy (ang. *Subcomissural Organ*, SCO) ulokowany w ścianie III komory mózgu, szyszynkę

(ang. *Pineal gland*, P) i obszary, gdzie zlokalizowano receptory amyliny, tj. narząd podsklepieniowy (ang. *Subfornical Organ*, SFO) w brzusznej powierzchni sklepienia (ang. *fornix*), narząd naczyniowy blaszki czworaczej (ang. *Organum Vasculosum of the Lamina Terminalis*, OLVT) oraz region należący do tyłomózgowia tzw. pole najdalsze rdzenia przedłużonego (ang. *Area Postrema*, AP). Jest on ulokowany w dnie czwartej komory mózgu, zwanej także częścią ogonową (ang. *caudal end of the fourth ventricle*) [18, 19, 24, 47, 50, 69, 76].

Wydaje się, że receptory amyliny charakteryzuje miejscowo specyficzna ekspresja, zwłaszcza wyraźna w obrębie mózgu. Przykładowo-receptory typu AMY1 zlokalizowane są w obszarze jądra podstawnego i w narządzie podsklepieniowym, natomiast receptor AMY3 w obszarze pola najdalszego. Lokalizacja receptorów w AP jest niezwykle istotna, gdyż ten właśnie region jest łatwo dostępny dla docierającej z wysp Langerhansa i krążącej we krwi amyliny. Tutaj też receptory amyliny są rozmieszczone szczególnie gęsto [8, 32, 92]. Stwierdzono, że podanie, bezpośrednio do AP mózgu szczura, czynnika blokującego receptor amyliny, tj., antagonistycznie działającego związku (acetylo- [Asn30, Tyr32] sCT(8-37) o symbolu AC187, znosi szereg efektów fizjologicznych, które przypisuje się amylinie. Po blokadzie receptora amyliny obserwuje się: wzmożenie łaknienia i zniesienie efektu anorektycznego, nasilenie opróżniania żołądka, podniesienie poziomu glukagonu i wzrost poziomu cukru we krwi badanych zwierząt. Wiele podobnych efektów obserwuje się także po zniszczeniu tej części mózgu szczura. Wydaje się, że tą drogą, jako szlakiem „pierwszego rzędu” mogą zostać przekazane sygnały z obwodu organizmu do obszaru mózgu, który jest istotny dla regulacji procesów pobierania pokarmu. W tej części mózgu aż 90% komórek, oprócz receptorów amyliny, posiada także receptory glukozy [67, 69].

Wyniki kolejnych badań coraz dobitniej sugerowały także, że mózgowy receptor AMY3 jest szczególnie ważny, gdyż najprawdopodobniej jest on wspólnym ogniwem łączącym amylinę i peptyd A $\beta$ . Obydwa peptydy są wysoce neurotoksyczne i obydwa odnajdywane są w mózgu chorych na chorobę Alzheimera i w trzustce chorych na DM2. Amylina pełni w organizmie swoje pozytywne, regulatorowe funkcje w zależności od stężenia. Przekroczenie fizjologicznych, pikomolarnych wartości stężenia amyliny, może prowadzić do zaobserwowanych zaburzeń procesów elektrofizjologicznych na poziomie neuronów. Zaburzenie plastyczności synaptycznej wywołane przez fibrylującą amylinę ludzką i toksyczny peptyd A $\beta$  może mieć związek z deficytami pamięci, obserwowanymi u chorych na chorobę Alzheimera, jak i u chorych na DM2. Zniesienie tego niekorzystnego efektu przez związki działające antagonistycznie wobec receptora amyliny ma ogromne znaczenie w terapii obu tych chorób. Receptor AMY3 wpisano na czołową pozycję na liście najpoważniejszych kandydatów dla nierozpoznanego, jak dotąd, receptora dla peptydu A $\beta$ . Czy stanie się on ogniwem łączącym DM2 i chorobę Alzheimera? Wiele danych na to wskazuje, choć z pewnością nie będzie to, choć

istotny, to jedyny wspólny mianownik tych jednostek chorobowych [20, 22, 28, 34, 43]. Kolejny znak zapytania przynoszą bowiem wyniki ostatnich badań. Wiadomo było, że aktywacja receptorów amyliny, zwłaszcza receptora AMY3, prowadzi do wzrostu cAMP. Odpowiada za to mechanizm transdukcji sygnałów przez GPCRs, do których należą i receptory amyliny, w którym bierze udział serynowo-treoninowa kinaza białkowa typu A (ang. *Protein Kinase A*, PKA). W przekazaniu sygnału, w następstwie aktywacji cykazy adenylowej, bierze także udział białko Gs (ang. *Gs  $\alpha$ -guanine nucleotide-binding signal transduction protein*) i cAMP, który jest aktywatorem PKA. Na holoenzym PKA składają się dwie podjednostki katalityczne C i 2 podjednostki regulatorowe R. W zależności od tego, która z dwóch podjednostek RI czy RII łączy się z podjednostką C formowana jest jedna z dwóch głównych form kinaz tj. PKAI bądź PKAII. Wyniki badań wskazywały, że istotną rolę w aktywacji receptora AMY 3 przez amylinę i peptyd A $\beta$  odgrywa kinaza PKA RII [22].

Ostatnio stwierdzono jednak, że związanie peptydu A $\beta$ <sub>1-42</sub> do każdego z trzech receptorów amyliny nie wywołuje efektu obserwowanego po związaniu z tymi receptorami amyliny ludzkiej, amyliny szczura czy kalcytoniny ludzkiej a także analogu amyliny, tj. pramlintydu. Efektem tym jest wzrost stężenia cAMP obserwowany, w różnym nasileniu, w ludzkich komórkach embrjonalnych nerki (ang. *Human Embryonic Kidney cells*, HEK293S) czy w komórkach przypominających fibroblasty z nerek małp afrykańskich (ang. *fibroblast-like cells from African Green Monkey*, *Cercopithecus aethiops*, Cos7) transfekowanych wektorami DNA dla analizowanych receptorów. Do badań wybrano komórki, które nie wykazują endogennej ekspresji białkowych składników receptorów amyliny tj. białek CLR, CTR czy RAMP. Wykluczono, aby brak aktywacji przez peptyd A $\beta$ <sub>1-42</sub> drogi prowadzącej do wzrostu stężenia cAMP był spowodowany toksycznym działaniem peptydu na badane komórki. Przytoczone badania stawiają kolejne pytania: czy peptyd A $\beta$ <sub>1-42</sub> może aktywować inne, alternatywne wobec cAMP, szlaki sygnałowe, co może zależeć od warunków eksperymentalnych [25, 62].

## SZCZEGÓLNY CHARAKTER I ROLA REGIONU AP MÓZGU W DZIAŁANIU AMYLINY

Za ilość przyjmowanego przez organizm pokarmu odpowiadają ośrodki regulujące odczucia głodu bądź sytości ulokowane w obrębie struktur ośrodkowego układu nerwowego. Są nimi dwa antagonistyczne ośrodki w obrębie podwzgórza tj., jądro brzuszno-przyśrodkowe (VM), jako aktywny czasowo ośrodek sytości, oraz aktywny cały czas ośrodek głodu w bocznych częściach podwzgórza (ang. *Lateral Hypothalamic Area*, LHA). Ponadto kluczowymi dla regulacji przyjmowania pokarmu są: jądro łukowate (ang. *Arcuate nucleus*, ARC), integrujące płynące

sygnały, jądro przykomorowe (PAV), oraz jądro pasma samotnego (NST), przewodzące sygnały obwodowe do ośrodków centralnych. Za pośrednictwem licznych neuroprzekazników układu nerwowego (neuropeptyd Y, oreksyny, peptyd CART, białko Agouti (AgRP), proopiomelanokortyna (POMC) i hormonów układu pokarmowego (ghrelina, cholecystokina, peptyd YY, glukagonopodobny peptyd typu 1, oksyntomodulina, polipeptyd trzustkowy, enterostatyna) czy leptyny, wydzielanej nie tylko przez adipocyty, ale i komórki błony śluzowej żołądka, następuje regulacja wzmagania bądź hamowania odczucia łaknienia i następnie regulacja ilości przyjmowanego pokarmu [53, 78, 81].

Szczególna rola przypada amylinie. Choć odgrywa ona rolę w kontroli regulacji ilości przyjmowanego pokarmu i wykazuje działanie hypofagiczne, tj. ogranicza jego spożycie, to nie stwierdzono jednak aby działała bezpośrednio na ośrodek głodu, czyli obszar LHA. Sugeruje to pośredniczącą rolę neuronów w przekazywaniu sygnałów ze struktur zlokalizowanych w innych rejonach mózgu. Wykazano, że amylin podana dootrzewnowo oddziałuje na liczne miejsca w układzie nerwowym, regulujące proces pobierania pokarmu. Pobudza obszary: pola najdalszego, jądra pasma samotnego i bocznego jądro przyramiennego (ang. *Lateral Parabrachial nucleus*, LPB lub PANU). Uszkodzenie wyżej wymienionych struktur hamuje hypofagiczne efekty działania amyliny [3, 11, 57, 58, 59, 60, 61].

Obszar LPB typowany jest jako odpowiedzialny za hamowanie apetytu lub za ograniczanie przyjmowania pokarmu w sytuacji złej kondycji organizmu np. choroby czy złego samopoczucia. Wiadomo, że w uruchamianym mechanizmie odpowiedzi bierze udział anorektyczna amylin i cholecystokina, choć nie scharakteryzowano, jak dotąd, odpowiednich neuronów. Przypuszczalnie mogą to być neurony z ekspresją białka CGRP, dające projekcję do struktur ciała migdałowatego (ang. *Amygdala*, AM) [11, 15].

Neurochemiczne własności neuronów odpowiedzialnych za aktywację amyliną są przedmiotem licznych badań, a szczególne zainteresowanie budzi AP. Komórki AP, w porównaniu do komórek innych obszarów pozostających poza barierą krew-mózg np. neuronów obszaru podsklepieniowego, cechuje znacząco większa (15 razy) wrażliwość na stymulację krążącą we krwi amyliną, mimo iż mają podobny dostęp do krążącego we krwi hormonu. Wrażliwe na amylinę komórki AP, są miejscem działania licznych substancji odżywczych, są na przykład koaktywowane glukozą [65]. AP posiada prawdopodobnie połączenia z nerwem błędnym i aparatem przedsionkowym. Docierające tutaj substancje emetogenne, pobudzają wymioty [75].

Neurony AP odpowiadają za czynności regulacyjne szeregu autonomicznych funkcji takich jak przyjmowanie pokarmu, za homeostazę płynów ustrojowych, za czynności układu krążenia oraz za odczuwanie mdłości/nudności czy za nasilone odruchy wymiotne u tych zwierząt, u których takie odruchy występują. W toku ewolucji odruch wymiotny najlepiej rozwinął się u naczelnych, łasicowatych, psów,

kotów oraz świń. Choć u szczurów odruch wymiotny nie występuje, to jednak u zwierząt tych komórki AP odpowiadają za awersję pokarmowa indukowaną lekami i za odczuwanie mdłości [24]. Odruchy wymiotne to rytmiczne, spazmatyczne ruchy przepony i mięśni brzucha, które pojawiają się obok nudności. Polegają na gwałtownym wyrzuceniu zawartości żołądka przez usta, a przy znacznej objętości również przez nos i stanowią złożony proces odruchów, który obejmuje skoordynowane działanie przewodu pokarmowego, przepony i mięśni brzucha. Odruch ten ma głównie na celu ochronę organizmu przed toksynami przedostającymi się drogą pokarmową, choć może być objawem towarzyszącym wielu chorobom. Z kolei nudności to nieprzyjemne uczucie potrzeby zwymiotowania z towarzyszącymi objawami ze strony autonomicznego układu nerwowego takimi jak: bladeść powłok skórnych, zimny pot, ślinotok i tachykardia. Sugeruje się, że istotnym czynnikiem odpowiadającym za odczuwanie mdłości jest, w większym stopniu niż amyлина, glukagonopodobny peptyd typu 1 (GLP-1), który podobnie do amyliny, odpowiada za redukcję wielkości spożywanego pokarmu. AP obfituje w mRNA receptora GLP-1 i tutaj też, podany obwodowo znakowany izotopowo peptyd, najchętniej wiąże się ze swym receptorem. Wydaje się jednak, że stymulowane amyliną i GLP-1 neurony stanowią odmienne subpopulacje AP [95]. Ośrodek wymiotny stanowi centrum, które otrzymując i integrując bodźce z różnych źródeł koordynuje i wywołuje proces wymiotów. Opisany jest jako złożony z licznych jąder zlokalizowanych w obrębie rdzenia przedłużonego (ang. *medulla oblongata*) położonych w pobliżu AP. Obszar AP traktowany jest jako tzw. chemoreceptorowa strefa wyzwalająca (ang. *Chemoreceptor Trigger Zone, CTZ*), a chemowrażliwość jego komórek wzbudza ogromne zainteresowanie [68, 75].

Neurony AP stanowią zróżnicowaną populację komórek np. pod względem cech elektrofizjologicznych i m.in., ekspresji receptorów amyliny, a co a tym idzie także ich funkcjonalności. W zależności od lokalizacji neuronów w AP zmienia się ich podatność na stymulację amyliną. W części ogonowej AP neuronów odbierających sygnał amyliny jest najwięcej [66]. Wykazano, że liczne neurony AP należą do grupy neuronów noradrenergicznych. Noradrenalina jest jednym z neurotransmiterów mózgu, syntetyzowanym w komórkach w mózgu, w zazwojowych włóknach współczulnych oraz w komórkach chromochłonnych rdzenia nadnerczy. Głównym skupiskiem neuronów noradrenergicznych jest wspomniane już jądro miejsca sinawego, położone w grzbietowo-głowej (rostralnej) części mostu, choć generalnie w ośrodkowym układzie nerwowym neuronów tych jest stosunkowo mało. Neurony noradrenergiczne oddają cienkie i bogato rozgałęziające się aksony, a neurotransmitter uwalniany jest daleko od receptora. Działając przez bogato rozgałęzioną sieć daje efekt rozpylenia sygnału w obrębie układu nerwowego, tzw. transmisję objętościową sygnału. Około 50% neuronów aktywowanych amyliną należy do neuronów noradrenergicznych, a ich uszkodzenie czynnikami chemicznymi hamuje efekty aktywności amyliny [40, 41, 60, 61].

Około 62% badanych neuronów AP u szczura wykazuje obecność prądów aktywowanych hiperpolaryzacją błony komórkowej (ang. *hyperpolarization-activating cation current*,  $I_h$ ). Prądy takie wykryto po raz pierwszy w 1976 r. w komórkach węzła zatokowo-przedsionkowego serca (ang. *sino-atrial node cells*), a następnie w 1982 r. ujawniono w neuronach np., komórkach piramidowych hipokampa mózgu (ang. *hippocampal pyramidal neurons*), w komórkach wrokowych pręcikonosnych (ang. *rod photoreceptors*) i w innych komórkach centralnego i obwodowego układu nerwowego [27]. W latach dziewięćdziesiątych XX w. ujawniono molekularne podłoże obserwowanego zjawiska tj., wykryto kanały jonowe HCN (ang. *Hyperpolarization activated Cyclic Nucleotide-gated cation-nonselective channels*, HCN) określane jako kanały aktywowane hiperpolaryzacją i bramkowane cyklicznymi nukleotydami. Farmakologiczne zablokowanie tych kanałów ma ogromne znaczenie terapeutyczne w kardiologii [8, 23, 24, 83]. Kanały HCN to nieselektywne kanały jonowe (ang. *Non-Selective Cation Channels*, NSCC), z rodziny kanałów potasowych bramkowanych napięciem lub napięciowo zależnych (ang. *voltage-gated potassium ion channels*), należących do nadrodziny kanałów zawierających w swej strukturze por kanału z hydrofilową pętlą wodną do transportu jonów (ang. *pore-loop cation channels*). Generują one tzw. „noisy cationic current” co można określić jako kationowy prąd szumowy lub zakłóceniuowy, gdyż występuje w sytuacji, w której nie powinien być prądem preferowanym w błonie komórki. Aktywacja kanału HCN pozostaje pod kontrolą dwóch niezależnych czynników: potencjału błony komórkowej i cyklicznego AMP (cAMP) [27]. Wiadomo, że odgrywa on także rolę w modulacji neuronalnej przez oreksyny w AP [12].

Fizykochemiczne podstawy tego zjawiska są bardzo ciekawe. Na etapie przywracania stanu pierwotnej wartości potencjału spoczynkowego, w fazie repolaryzacji komórki, różnica generowanych potencjałów jest jeszcze w stanie nierównowagi tj. następuje przekroczenie tej wartości poniżej spoczynkowego potencjału wyjściowego, który wynosi około -60 mV do -70 mV. Stan ten zwany jest hiperpolaryzacją błony, co oznacza jeszcze większy, bo do wartości około -100 mV -110 mV, ładunek ujemny wnętrza komórki aniżeli w stanie spoczynku, tj., poniżej wartości potencjału spoczynkowego. Komórkę można wówczas pobudzić, ale dużo większym bodźcem niż bodziec wymagany w stanie spoczynku. Okazało się, że w pewnych komórkach, w stanie ich hiperpolaryzacji, a nie jak zazwyczaj podczas depolaryzacji błony komórkowej, gdy potencjał wewnętrzny komórki staje się mniej ujemny, może nastąpić zjawisko generowania dodatkowych jonowych prądów dokomórkowych.

Z powodu odmiennych cech biofizycznych prądów dokomórkowych od cech znanych już prądów komórkowych ten nowy wykryty prąd, aktywowany hiperpolaryzacją, określano także jako: prąd śmieszny (ang. *funny*,  $I_f$ ), lub prąd dziwny (ang. *gueer*,  $I_q$ ) lub  $I_{ar}$  (ang. *anomalous rectifier*), bądź  $I_r$  (ang. *inward rectifier*). Poprawnie należałoby stosować nazwę deaktywacja prądu przy potencjale hiperpolaryzacji, lecz przyjęło się mówić, że prąd,  $I_h$  jest prądem aktywowanym hiperpolaryzacją [54].

Odmienne od innych prądów, prąd  $I_h$  jest aktywowany w zakresie od -100 mV-110 mV do -50 mV -60 mV tzn. zarówno w stanie hiperpolaryzacji wnętrza komórki jak i poniżej wartości potencjału spoczynkowego komórki. Jako dokomórkowy prąd o typie mieszanym, prowadzi do przemieszczenia zarówno jonów  $Na^+$  jak i jonów  $K^+$  jako równoprawnych nośników ładunków elektrycznych. Choć przepuszczalność jonów potasu jest większa niż jonów sodu i stosunek  $Na^+$  i  $K^+$  wynosi 1:3-1:5, to jednak w warunkach fizjologicznych więcej jonów sodu przenoszonych jest do wnętrza komórki. Wartość potencjału odwrócenia w warunkach fizjologicznej siły jonowej mieści się w granicach -10 mV do -20 mV, co ma kluczowe znaczenie dla indukowania prądów  $I_h$ . Wartość ta leży powyżej potencjału spoczynkowego komórki (około -60 mV), powodując, że niejako automatycznie generowana jest faza depolaryzacji błony komórkowej. Przy wartościach potencjału spoczynkowego napływ jonów sodowych do komórki przewyższa ucieczkę jonów potasowych na zewnątrz komórki. Utrzymanie stężenia jonów potasu na zewnątrz komórki na odpowiednim poziomie, tzn. bliskim wartościom fizjologicznym (2-4 mM), ma ogromne znaczenie, gdyż warunkuje odpowiednie działanie prądu  $I_h$ . Napływ do komórki jonów, głównie sodowych, niweluje nadmiarowy ładunek ujemny hiperpolaryzacji, i powoduje powolną depolaryzację błony komórkowej do wartości bliskich wartości progowej potencjału spoczynkowego i czynnościowego -40 mV do -50 mV, co umożliwi automatyczne wywołanie kolejnych salw potencjałów w komórce do momentu kiedy następuje jego inaktywacja. Depolaryzacja powoduje wygaszanie prądu  $I_h$ . Cechą wyróżniającą prąd  $I_h$  jest to, że jest on prądem aktywowanym bezpośrednio przez cAMP, niezależnie od procesu fosforylacji kinazy A. Prąd ten jest modulowany przez czynność układu autonomicznego.

Obecność prądu  $I_h$  wiązano początkowo z działaniem stymulującym rytmiczną pracę komórki serca (pacemaker). W chwili obecnej wiadomo, że odgrywa on także ogromną rolę funkcjonując nie tylko jako stymulator automatycznej, rytmicznej aktywności komórek serca, ale także w niektórych komórkach nerwowych odpowiada za procesy automatycznego, spontanicznego pobudzenia komórkowego. W licznych komórkach układu nerwowego odgrywa istotną rolę w utrzymaniu odpowiednich wartości potencjału spoczynkowego, a kontrolując i stabilizując go, odpowiada za funkcjonowanie synaps i warunkuje wiele procesów fizjologicznych niezwiązanych z rytmiczną pracą komórki np. procesów związanych z uczeniem się i zapamiętywaniem. Jego obecność i działanie ujawniane jest w wielu komórkach organizmu. Wykryto go m.in. w komórkach  $\beta$ , gdzie, jak się wydaje, odgrywa rolę w uwalnianiu insuliny, zwłaszcza w sytuacji niedoboru jonów potasu (hypokalemii), który towarzyszy rozwijającej się cukrzycy. Wykazano, że w ślad za obniżeniem zewnątrzkomórkowego stężenia potasu postępująca supresja kanałów prądu  $I_h$  powoduje znaczące obniżenie uwalniania insuliny [8, 54, 73, 74, 93].

Wykazano, że w neurony AP wykazujące prąd  $I_h$  są związane z indukowaniem uczucia mdłości i wymiotów, nie podlegają jednak modulacji amyliną. Działa ona

na jeszcze inne neurony regionu AP, to jest te w których nie obserwuje się prądu  $I_h$  [8, 23, 24]. Sugeruje się zatem, że neurony tego regionu stanowią odrębne subpopulacje, odpowiadające za problem wzmaganie odczucia mdłości i wymiotów, bądź problem kontroli ilości przyjmowanego pokarmu i zwolnionego tempa opróżniania żołądka. Obserwacje te mają ogromne znaczenie w znalezieniu odpowiedzi na pytanie dotyczące anorektycznego mechanizmu działania amyliny i dominującej roli indukowanych nudności/wymiotów czy raczej zwolnionego tempa opróżniania żołądka i redukcji ilości przyjmowanego pokarmu [15, 37, 38, 39, 40, 42, 57]. Wyniki ostatnich badań wskazują na istotną, regulacyjną rolę przyjmowanych wraz z pokarmem aminokwasów. Anorektyczny efekt wywierają zwłaszcza 3 aminokwasy: L-arginina, L-lizyna mające hamujący wpływ na neurony obszaru AP, a także kwas glutaminowy oddziałujący na neurony pasma samotnego rdzenia [29].

Badania elektrofizjologiczne neuronów pobranych z AP pnia mózgu szczura pozwoliły na przybliżenie presynaptycznego, modułującego mechanizmu działania amyliny na komórki nerwowe. Zastosowano tzw. technikę łątkową (ang. *patch-clamp recording technique*), która pozwala mierzyć bardzo małe, pikoamperowe prądy jonowe przepływające przez pojedyncze kanały jonowe obecne w małym, o wielkości zaledwie kilku  $\mu\text{m}^2$ , fragmencie błony, zwanym „łątką”, oderwanym od komórki nerwowej. Oderwana „łątką” przylega ściśle do powierzchni szklanej mikroelektrody co pozwala na pomiar prądów przepływających przez oderwany fragment błony. Generowane prądy są wyrazem odpowiedniej polaryzacji potencjałów spoczynkowych komórki, warunkującej z kolei generowanie odpowiednich potencjałów czynnościowych. Amylina powodowała wzrost częstotliwości i amplitudy generowanych pobudzających prądów postsynaptycznych (ang. *miniature Excitatory Postsynaptic Currents*, mEPSCs) jedynie w komórkach w których nie zaobserwowano prądów aktywowanych hiperpolaryzacją błony. W komórkach wykazujących prąd aktywowany hiperpolaryzacją ( $I_h$ ), amyliny nie wywoływała żadnych zmian parametrów prądów EPSCs. Potwierdza to istnienie dwóch rodzajów neuronów w obrębie AP. Komórki ujawniające prąd  $I_h$  łączy się z indukcją odczucia mdłości i wymiotów, a komórki niewykazujące tego prądu z kontrolą ilości przyjmowania pokarmu. Do wyjaśnienia pozostaje jednak problem projekcji sygnałów z komórek niewykazujących prądów  $I_h$  do rejonów podwzgórza i kwestia mechanizmu obserwowanego efektu anorektycznego amyliny.

Wiele wskazuje, że miejscem lokalizacji receptorów amyliny w AP są odcinki presynaptyczne neuronów glutaminergicznych. Amylina umożliwia uwalnianie glutaminy za pośrednictwem receptorów presynaptycznych. Zastosowanie antagonistów receptorów glutaminowych hamowało aktywność amyliny gdyż nie obserwowano generowania prądów EPSCs w badanych komórkach. Układ glutaminergiczny to jeden z najważniejszych neurotransmisyjnych układów pobudzających kory mózgu. Większość neuronów AP to właśnie neurony glutaminergiczne [57, 58]. Zaburzenie funkcji tego układu ma istotną rolę w rozwoju wielu chorób układu nerwowego w tym choroby Alzheimera, w chorobie Parkinsona, Huntingtona czy w padaczce.



## PROPONOWANY SZLAK MÓZGOWYCH SYGNAŁÓW GENEROWANYCH PRZEZ AMYLINĘ

Wyniki badań pozwalają na zarysowanie w przybliżeniu szlaku sygnałów generowanych przez amylinę po związaniu ze swym receptorem i przekazywanych do innych części mózgu i organizmu (ryc. 1). W odpowiedzi na stymulację przez podaną obwodowo, krążącą we krwi amylinę receptorów zlokalizowanych w AP następuje przekazanie sygnałów do innych obszarów mózgu, tj. kresomózgowia: jądra pasma samotnego rdzenia i bocznego jądra przyramiennego. W efekcie wzajemnej reakcji stymulacyjnej tych struktur zostają włączone kolejne receptory zlokalizowane w obrębie ciała migdałowatego w układzie limbicznym i następuje odpowiedź organizmu. Tak w zarysie można przedstawić szlak krążących w mózgu sygnałów wyzwalanych przez amylinę, która wiąże się ze swymi receptorami zlokalizowanymi w obszarze dostępnym dla krążącego we krwi polipeptydu trzustkowego [69]. Dla pełnego poznania funkcji fizjologicznych amyliny pozostaje wyjaśnienie roli i mechanizmów transdukcji sygnałów za pośrednictwem receptorów amyliny zlokalizowanych w obszarach mózgu wewnątrz bariery krew-mózg. Obecność receptorów w regionach wewnątrz bariery krew-mózg jest intrygująca, bowiem wiadomo, że są one włączone w mechanizmy regulujące typ przyjmowanego pokarmu, promujące pokarm wysokokaloryczny i w tzw. odpowiedź hedonistyczną wobec pokarmu. Stosunkowo mała cząsteczka tegouropeptydu może łatwo pokonywać tę barierę. Wykazały to badania z użyciem radioaktywnie znakowanej amyliny, choć mechanizm transportu nie jest, jak dotąd, poznany [4, 5, 6]. Także wykrycie mRNA amyliny w mózgu karmiących szczurów i ostatnie doniesienia o wykryciu amyliny w mózgu ludzi [16, 17, 90] wskazują na istnienie nierozpoznanych jeszcze mechanizmów działania tegouropeptydu.

Ostatnio wykazano, że w obrębie tzw. układu mezolimbicznego, odpowiedzialnego za wzmocnienie pozytywne, nagradzanie (reward system), ekspresji ulegają wszystkie składowe receptora amyliny. W części śródmózgowia zwanej obszarem pola brzuszno nakrywki (ang. *Ventral Tegmental Area*, VTA) wykryto mRNA receptora amyliny. Aktywacja tych regionów mózgu szczura amyliną obniżała ilość przyjmowanego pokarmu bez ubocznych efektów w postaci nudności czy złego samopoczucia. Odkrycie innych niż AP regionów mózgu, odpowiedzialnych za ilość przyjmowanego pokarmu, ma ogromne znaczenie kliniczne, zwłaszcza, że VTA aktywowany jest również pochodnymi analogami amyliny. Dalsze badania w tym kierunku istotne są w leczeniu otyłości. Wyjaśnienia wymaga charakter neuronów VTA, w którym zlokalizowane są wszystkie trzy typy receptorów amyliny. W innych regionach mózgu gdzie działa amyliną odnajduwany jest tylko jeden typ receptora amyliny.

Wiadomo, że w tym miejscu biorą swój początek m.in. dopaminoergiczne neurony układu mezokortykolimbicznego, których aksony dają projekcję do miejsc docelowych tj., struktur układu limbicznego m.in. do jądra półleżącego, a zwłaszcza do jego skorupy (ang. *Shell of Nucleus Accumbens*, NUACCSH), brzuszno przedniej

części jądra ogoniastego, jądra migdałowego, czy pól korowych guzłka węchowego (część mezolimbiczna). Neurony dopaminergiczne są związane z kontrolą wielu zachowań instynktownych, z modulacją funkcji poznawczych oraz z przewidywaniem zmian w sytuacji w sensie zmian w natężeniu sygnału nagradzającego oraz są odpowiedzialne za zjawiska motywacyjne (zachęty) kierowane nagrodami [48, 49, 56, 71, 79].

Sugeruje się, że poza AP, dla działania amyliny w kontroli przyjmowania pokarmu, istotne mogą być także inne struktury w obrębie CUN np. obszar bocznego podwzgórza (LHA). Nie stwierdzono, aby amylin działała bezpośrednio na obszar podwzgórza, gdyż nie ujawniono wiązania amyliny z receptorami w tym regionie mózgu. Przypuszcza się, że stymulowana podażą pokarmu amylin pośrednio wpływa hamująco na neurony LHA, a okres głodzenia aktywuje te neurony. Działanie amyliny może zatem odbywać się na drodze pośredniej, z aktywacją neuronów innych obszarów tj., podwzgórza czy z zaangażowaniem innych czynników, np. leptyny. Amylin wpływa zatem modulująco na te istotne struktury w obrębie CUN [67].

Podwzgórze jest centrum regulującym homeostazę energetyczną i odpowiada za procesy energetyczne organizmu, za przyjmowanie pokarmu. Aktywnie uczestniczy w tych procesach jako element szlaku mózgowych sygnałów równowagi energetycznej organizmu. Niezwykle istotne wydaje się, że w rozwoju ontogenetycznym mózgu ssaków i w pierwszych tygodniach po urodzeniu m.in. podwzgórze jest miejscem lokalizacji populacji wczesnych komórek macierzystych tzw. neuroprogenitorowych (ang. *Neuroprogenitor Cells*, NPCs) odpowiedzialnych za proces neurogenezy. Stwierdzono, że u osobników dorosłych także w tym regionie są nisze środowiskową znajdują komórki NPCs mózgu, które biorą udział w przebiegających w mózgu procesach neurogenezy. Do miejsc w mózgu osobników dorosłych, w których stwierdzono już, że powolny i o niewielkim natężeniu obrotu komórkowego (ang. *turnover*) proces neurogenezy jednak następuje należą: obszar podkomorowy komory bocznej (ang. *Subventricular Zone of the lateral Ventricles*, SVZ) i strefa subgranularna hippocampa (ang. *Subgranular Zone of the hippocampus*, SGZ). Podwzgórze wydaje się być kolejnym miejscem, w którym u osobników dorosłych, może następować modulacja łaknienia pokarmu i odczucia sytości, które to procesy mogą być uwarunkowane na wczesnych etapach rozwoju populacji komórek NPCs. Jednak plastyczność tych komórek może ułatwiać modulujący wpływ amyliny na gospodarkę i homeostazę energetyczną organizmu [77].

## PODSUMOWANIE

Liczne badania zarówno struktury samego polipeptydu, jak i jego fibryli, a także badania funkcji amyliny jako neurohormonu przynoszą nowe, ciekawe odkrycia przybliżające nam obraz tego białka. Jednocześnie wyniki tych prac stawiają kolej-

ne wyzwania badawcze. Znalezienie odpowiedzi na nowe pytania, być może, będzie pomocne w rozpracowaniu mózgowych sygnałów i efektów fizjologicznych za które odpowiada amyлина, a także w rozwikłaniu zagadki fibrylujących białek i, być może, w leczeniu DM2 i choroby Alzheimera.

## PODZIĘKOWANIA

Rysunek do pracy wykonała Pani dr Dominika Wróbel. Składam wyrazy szczerzej wdzięczności mojej koleżance Dominice

## LITERATURA

- [1] ADLER BL, YARCHOAN M, HWANG HM, LOUNOVA N, BLAIR JA, PALM R, SMITH MA, LEE HG, ARNOLD SE, CASADESUS G. Neuroprotective effects of the amylin analogue pramlintide on Alzheimer's disease pathogenesis and cognition. *Neurobiol Aging* 2014; **35**: 793-801.
- [2] ANDREASSEN KV, HJULER ST, FURNESS SG, SEXTON PM, CHRISTOPOULOS A, NOSJEAN O, KARSDAL MA, HENRIKSEN K. Prolonged Calcitonin Receptor Signaling by Salmon, but Not Human Calcitonin, Reveals Ligand Bias. *PLOS On* 2014; **9**: e92042.
- [3] BAILEY RJ, WALKER CS, FERNER AH, LOOMES KM, PRIJIC G, HALIM A, WHITING L, PHILIPS ARJ, HAY DL. Pharmacological characterization of rat amylin receptors: implications for the identification of amylin receptor subtypes. *Brit J Pharm* 2012; **166**: 151-167.
- [4] BANKS WA, OWEN JB, ERICKSON MA. Insulin in the brain: There and back again. *Pharmacol Ther* 2012; **136**: 82-93.
- [5] BANKS WA. Characteristics of compounds that cross the blood-brain barrier. *BMC Neurol* 2009; **9** Suppl 1: 1-5.
- [6] BANKS WA. Gut-Brain Communications: Not the Same at All Ages. *Endocrinol* 2010; **151**: 852-854.
- [7] BARWELL J, WOOTTEN D, SIMMS J, HAY DL. RAMPs and CGRP receptors. *Adv Exp Med. Biol* 2012; **744**: 13-24.
- [8] BIEL M, WAHL-SCHOTT C, MICHALAKIS S, ZONG X. Hyperpolarization-Activated Cation Channels: From Genes to Function. *Physiol Rev* 2009; **89**: 847-885.
- [9] BORN W, FISCHER JA. The Calcitonin Peptide Family: What Can We Learn from Receptor Knock Out and Transgenic Mice. Hay DL Dickerson IM eds. *The Calcitonin Gene-related Peptide Family: Form, Function and Future Perspectives*: Springer Science+Business Media B.V 2010; 75-86.
- [10] BRENDER R, LEE EL, HARTMAN K, WONG PT, RAMAMOORTHY A, STELL DG, GAFNI A. Biphasic effects of insulin on Islet Amyloid Polypeptide membrane disruption. *Biophys J* 2011; **100**: 685-692.
- [11] CARTER ME, SODEN ME, ZWEIFEL LS, PALMITER RD. Genetic identification of a neural circuit that suppresses appetite. *Nature* 2013; **503**: 111-114.
- [12] CHROBOK Ł, PALUS K, LEWANDOWSKI MH. Oreszynowy mechanizm komórkowej aktywności neuronalnej w ośrodkowym układzie nerwowym ssaków. *Postępy Biol Kom* 2013; **40**: 493-508.
- [13] COOPER GJS, WILLIS AC, REID KBM, CLARK A, BAKER CA, TUNER RC, LEWIS CE, MORRIS JF, HOWLAND K, ROTHBARD JB. Diabetes-associated peptide. *Lancet* 1987; **2**: 966.
- [14] COOPER GJS, WILLIS AC, CLARK A, TUNER RC, SIM RB, REID KBM. Purification and characterisation of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 8628-8632.
- [15] CRESPO CS, CACHEROL AP, JIMENEZ LP, BARRIOS V, FERREIROL EA. Peptides and food intake. *Front Endocrinol* 2014; **5**: 1-13.

- [16] DOBOLYI A. Central amylin expression and its induction in rat dams. *J Neurochem* 2009; **111**: 1490-1500.
- [17] DOBOLYI A. Novel potential regulators of maternal adaptations during lactation: Tuberoinfundibular Peptide 39 and Amylin. *J Neuroendocrinol* 2011; **23**: 1002-1008.
- [18] FERGUSON AV. Circumventricular Organs: Critical autonomic control centers at the blood-brain interface. Llewlyn-Smith IL, Verbene AJM eds. *Central Regulation of Autonomic Functions*. New York: Oxford University Press Inc, 2011.
- [19] FERGUSON AV. Circumventricular Organs: Integrators of Circulating Signals Controlling Hydration, Energy Balance, and Immune Function. *Neurobiology of Body Fluid Homeostasis: Transduction and Integration*. De Luca LA, Menani JV, Johnson AK eds. *Neurobiology of Body Fluid Homeostasis: Transduction and Integration*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2014.
- [20] FU W, JHAMANDAS JH. Role of Amylin and its Receptors in Neurodegeneration. *Current Protein and Peptide Science*, 2013; **14**: 338-345.
- [21] FU W, PATEL A, JHAMANDAS JH. Amylin receptor: a common pathophysiological target in Alzheimer's disease and diabetes mellitus. *Front Aging Neurosci* 2013; **5**: 1-4.
- [22] FU W, RUMANGKITTISAKUL A, MAC TAVISH D, SHI JY, BALLANYI K, JHAMANDAS JH. Amyloid  $\beta$  (A- $\beta$ ) Peptide Directly Activates Amylin-3 Receptor Subtype by Triggering Multiple Intracellular Signaling Pathways. *J Biol Chem* 2012; **287**: 18820-18830.
- [23] FUKUDA T, HIRAI Y, MAEZAWA H, KITAGAWA Y, FUNAHASHI M. Electrophysiologically identified presynaptic mechanisms underlying amylinergic modulation of area postrema neuronal excitability in rat brain slices. *Brain Res* 2013; **1494**: 9-16.
- [24] FUNAHASHI M, MITOH Y, KOHJITANI A, MATSUI R. Role of the hyperpolarization-activated cation current (h) in pacemaker activity in area postrema neurons of rat brain slices *J Physiol* 2003; **552**: 135-148.
- [25] GINGELL JJ, BURNS ER, HAY DL. Activity of Pramlintide, Rat and Human Amylin but not A $\beta$  1-42 at human amylin receptors. *Endocrinology* 2014; **155**: 21-26.
- [26] HAY DL, WALKER CS, POYNER DR. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in endocrine-related cancers: opportunities and challenges. *Endocr Relat Cancer* 2011; **18**: 1-14.
- [27] HE C, CHEN F, LI B, HU Z. Neurophysiology of HCN channels: From cellular functions to multiple regulations. *Prog Neurobiol* 2014; **112**: 1-23.
- [28] JACKSON K, BARISONE GA, DIAZ E, JIN L-W, DECARLI CH, DESPA F. Amylin Deposition in the Brain: A Second Amyloid in Alzheimer Disease? *Ann Neurol* 2013; **74**: 517-526.
- [29] JORDI J, HERZOG B, CAMARGO SMR, BOYLE CN, LUTZ TA, VERREY F. Specific amino acids inhibit food intake via the area postrema or vagal afferents. *J Physiol* 2013; **15**: 5611-5621.
- [30] JURGENS CA, TOUKATLY MN, FLINGER CL, UDAYASANKAR J, SUBRAMANIAN SL, ZRAIKA S, ASTON-MOURNEY K, CARR DB, WESTERMARK P, WESTERMARK GT, KAHN SE, HULL RL. Cell Loss and -Cell Apoptosis in Human Type 2 Diabetes Are Related to Islet Amyloid Deposition. *Am J Pathol* 2011; **178**: 2632-2640.
- [31] JUST R, SIMMS J, FURNESS SGB, CHRISTOPOULOS A, SEXTON PM. Understanding Amylin Receptors. Chapter 3. Hay DL Dickerson IM eds. *The Calcitonin Gene-related Peptide Family: Form, Function and Future Perspectives*: Springer Science+Business Media B.V 2010; 75-86.
- [32] JUST R, SIMMS J, FURNESS SGB, CHRISTOPOULOS A, SEXTON PM. Understanding Amylin Receptors. *Adv Exp Med Biol* 2012; **744**: 41-57.
- [33] KATAFUCHI T, YASUE H, OSAKI T, MINAMINO N. Calcitonin receptor-stimulating peptide: Its evolutionary and functional relationship with calcitonin/calcitonin gene-related peptide based on gene structure. *Peptides* 2009; **30**: 1753-1762.
- [34] KIMURA R, TAVISH DM, YANG J, WSTAWAY D, JHAMANDAS JH. Beta Amyloid-Induced Depression of Hippocampal Long-Term Potentiation Is Mediated through the Amylin Receptor. *J Neurosci* 2012; **32**: 17401-17406.
- [35] LEE SL, YU LX, CAI B, JOHNSONS GR, ROSENBERG AS, CHERNEY BW, GUO W, RAW AS. Scientific Considerations for Generic Synthetic Salmon Calcitonin Nasal Spray Products. *AAPS J* 2011; **13**: 14-19.
- [36] LEWICKI J. Maropitant – nowy lek przeciwwymiotny z grupy antagonistów receptora neurokininowego typu-1. Część I. Mechanizmy działania, efekty farmakologiczne i farmakokinetyka. *Życie Weterynaryjne* 2008; **83**: 486-494.

- [37] LUTZ TA. Control of food intake and energy expenditure by amylin-therapeutic implications. *Int J Obes* 2009; **33**: 24-27.
- [38] LUTZ TA. Roles of Amylin in Satiating, Adiposity and Brain Development. *Forum Nutr.* 2010; **63**: 64-74.
- [39] LUTZ TA. The role of amylin in the control of energy homeostasis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; **298**: 1475-1484.
- [40] LUTZ TA. Control of energy homeostasis by amylin. *Cell Mol Life Sci* 2012; **69**: 1947-1965.
- [41] LUTZ TA. Effects of amylin on eating and adiposity. *Handbook of Experimental Pharmacol* 2012; **209**: 231-250.
- [42] LUTZ TA. The interaction of amylin with other hormones in the control of eating. *Diabetes Obes Metab* 2013; **15**: 99-111.
- [43] MARSZALEK M. Cukrzyca typu 2 a choroba Alzheimer'a – jedna czy dwie choroby? *Mechanizmy asocjacji. Postępy Hig Med Dośw* 2013; **67**: 653-671.
- [44] MARSZALEK M. Amylina w badaniach eksperymentalnych. Fibrylotwórczy polipeptydowy hormon trzustki. *Postępy Hig Med Dośw* 2014; **68**: 29-41.
- [45] MARSZALEK M. Amylina w badaniach eksperymentalnych fibrylotwórczy polipeptyd amyloidu trzustkowego. *Postępy Hig Med Dośw praca przyjęta do druku*
- [46] MARSZALEK M. Amylina w badaniach eksperymentalnych. Fibrylacja – cytotoksyczna agregacja polipeptydu trzustki. *Postępy Hig Med Dośw praca przyjęta do druku*
- [47] MEDEIROS N, DAI L, FERGUSON AV. Glucose-responsive neurons in the subfornical organ of the rat – a novel site for direct CNS monitoring of circulating glucose. *Neuroscience* 2012; **201**: 157-165.
- [48] MIETLICKI-BAASE EG, HAYES MR. Amylin activates distributed CNS nuclei to control energy balance. *Physiol Behavior* 2014; praca dostępna online
- [49] MIETLICKI-BAASE EG, RUPPRECHT LE, OLIVOS DR, ZIMMER DJ, ALTER MD, PIERCE RC, HEATH D, SCHMIDT M, HAYES R. Amylin receptor signaling in the ventral tegmental area is physiologically relevant for the control of food intake. *Neuropsychopharmacol* 2013; **38**: 1685-1697.
- [50] MIMEE A, SMITH PM, FERGUSON AV. Circumventricular organs: Targets for integration of circulating fluid and energy balance signals? *Physiol Behav* 2013; **121**: 96-102.
- [51] MONTANE J, KLIMEK-ABERCROMBIE A, POTTER KJ, WESTWELL-ROPER C, VERCHERE CB. Metabolic stress, IAPP and islet amyloid. *Diabetes Obes Metab* 2012; **14**: 68-77.
- [52] NAOI D, CORNISH J. Cytokines and hormones that contribute to the positive association between fat and bone. *Front Endocrinol* 2014; **5**: 1-9.
- [53] NYLEC M, OLSZANECKA-GLINIANOWICZ M. Mało znane nowe ogniwa regulacji poboru pokarmu *Postępy Hig Med Dośw* 2010; **64**: 291-295.
- [54] PAPE HCH. Queer current and pacemaker: The Hyperpolarization –Activated Cation Current in Neurons. *Annu Rev Physiol* 1996; **58**: 299-327.
- [55] PAXINOS G, CHAI SY, CHRISTOPOULOS G, HUANG X-F, TOGA AW, WANG HQ, SEXTON PM. In vitro autoradiographic localization of calcitonin and amylin binding sites in monkey brain. *J Chem Neuroanat* 2004; **27**: 217-236.
- [56] PIETRZAK B, DUNAJ A, PIĄTKOWSKA K. Rola układu kannabinoidowego w patogenezie oraz poszukiwaniu nowych możliwości farmakoterapii zespołu zależności alkoholowej. *Post Hig Med. Dośw* 2011; **65**: 606-615.
- [57] POTES CS, LUTZ TA. Brainstem mechanisms of amylin induced anorexia. *Physiol Behav* 2010; **100**: 511-518.
- [58] POTES CS, LUTZ TA, RIEDIGER T. Identification of central projections from amylin-activated neurons to the lateral hypothalamus. *Brain Res* 2010; **1334**: 31-44.
- [59] POTES C, RIEDIGER T, LUTZ TA. Amylin induces ERK 1/2 phosphorylation in structures of the AP/NTS-LPB-Ce-BSTL axis. *Appetite* 2010; **54**: 670-670.
- [60] POTES C, TUREK V, COLE R, VU C, ROLAND B, ROTH J, RIEDIGER T, LUTZ TA. Noradrenergic neurons of the area postrema mediate amylin's hypophagic action. *Am J Physiol* 2010; **299**: R623-R631.
- [61] POTES CS, BOYLE NC, WOOKEY PJ, RIEDIGER T, LUTZ TA. Involvement of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway in amylin's eating inhibitory effect. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; **302**: 340-351.

- [62] QI T, DONG M, WATKINS HA, WOOTTEN D, MILLER LJ, HAY DL. Receptor activity-modifying protein-dependent impairment of calcitonin receptor splice variant  $\_(-1-47)hCT((a))$  function. *Br J Pharmacol* 2013; **168**: 644-657.
- [63] QI T, HAY DL. Structure-function relationships of the N-terminus of receptor activity-modifying proteins. *Brit J Pharm* 2010; **159**: 1059-1068.
- [64] QI T, LYA K, POYNER DR, CHRISTOPOULOS G, SEXTON PM, HAY DL. Structure-function analysis of amino acid 74 of human RAMP1 and RAMP3 and its role in peptide interactions with adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors. *Peptides* 2011; **32**: 1060-1067.
- [65] RIEDIGER T, RAUCH M, SCHMID HA. Actions of amylin on subfornical organ neurons and on drinking behavior in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1999; **276**: R514-R521.
- [66] RIEDIGER T, SCHMID HA, LUTZ T, SIMON E. Amylin potently activates AP neurons possibly via formation of the excitatory second messenger cGMP. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; **281**: R1833-R1843.
- [67] RIEDIGER T, ZUEND D, BECKEI C, LUTZ TA. The anorectic hormone amylin contributes to feeding-related changes of neuronal activity in key structures of the gut-brain axis. *Am J Physiol Regul Integr Comp. Physiol* 2004; **286**: R114-R122.
- [68] RIEDIGER T. The receptive function of hypothalamic and brainstem centres to hormonal and nutrient signals affecting energy balance. 70th Anniversary Conference on 'Body weight regulation – food, gut and brain signalling' Symposium I: Food – gut interactions. *Proc Nutr Soc* 2012; **71**: 463-477.
- [69] ROTH JD, MAIER H, CHEN S, ROLAND BL. Implications of amylin receptor agonism. *Arch Neurol* 2009; **66**: 306-310.
- [70] RYAN G, BRISCOE TA, JOBE L. Review of pramlintide as adjunctive therapy in treatment of type 1 and type 2 diabetes. *Drug Des Dev Ther* 2008; **2**: 203-214.
- [71] RZEWUSKA M. Układ dopaminergiczny i leki przeciwpsychotyczne. *Psychiatria w Praktyce Klinicznej* 2009; **2**: 115-123.
- [72] SEXTON PM, POYNER DR, SIMMS J, CHRISTOPOULOS A, HAY DL. RAMPs as drug targets. *Adv Exp Med Biol* 2012; **744**: 61-74.
- [73] SHAH MM, HAMMOND RS, HOFFMAN DA. Dendritic ion channel trafficking and plasticity. *Trends Neurosci* 2010; **33**: 307-316.
- [74] SHAH MM. Cortical HCN channels: function, trafficking and plasticity. *J Physiol* 2014; **1**: 1-9.
- [75] SHINPO K, HIRAI Y, MAEZAWA H, TOTSUKA Y, FUNAHASHI M. The role of area postrema neurons expressing H-channels in the induction mechanism of nausea and vomiting. *Physiol Behav* 2012; **107**: 98-103.
- [76] SMITH PM, FERGUSON AV. Circulating signals as critical regulators of autonomic state – central roles for the subfornical organ. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; **299**: 405-415.
- [77] SOUSA-FERREIRA L, PEREIRA DE, ALMEIDA L, CAVADAS C. Role of hypothalamic neurogenesis in feeding regulation. *Trends Endocrinol Metab* 2014; **25**: 80-88.
- [78] STRZĄŁKA M, BRZOZOWSKI T, KONTUREK SJ. Oś mózgowo-jelitowa w w regulacji apetytu. *Kosmos* 2010; **59**: 291-296.
- [79] SUCHANECKA A. Rola dopaminy w procesach motywacyjnych i powstawaniu uzależnień. *Neurokognitywistyka w patologii i zdrowiu. Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie*. 2011-2013: 158-161.
- [80] SZABO ER, CSERVENAK M, DOBOLYI A. Amylin is a novel neuropeptide with potential maternal functions in the rat. *FASEB J* 2012; **26**: 272-281.
- [81] TACHE Y. Brainstem Neuropeptides and Vagal Protection of the Gastric Mucosal Against Injury: Role of Prostaglandins, Nitric Oxide and Calcitonin-Related Peptide in Capsaicin Afferents. *Curr Med Chem* 2012; **19**: 35-42.
- [82] TAKEI Y. Molecular and functional evolution of the AM family in vertebrates. Hay DL Dickerson IM eds. *The Calcitonin Gene-related Peptide Family: Form, Function and Future Perspectives*: Springer Science+Business Media B.V 2010; 1-20.
- [83] WAHL-SCOTT C, BIEL M. HCN channels: Structure, cellular regulation and physiological function. *Cell Mol Life Sci* 2009; **66**: 470-494.

- [84] WALKER CS, CONNER AC, POYNER DR, HAY DL. Regulation of signal transduction by calcitonin gene-related peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; 31: 476-483.
- [85] WALKER CS, HAY DL. CGRP in the trigeminovascular system: a role for CGRP, adrenomedullin and amylin receptors? *Br J Pharmacol* 2013; **170**: 1293-1307.
- [86] WATKINS HA, RATHBONE DL, BARWELL J, HAY DL, POYNER DR. Structure-activity relationships for a calcitonin gene-related peptide. *Br J Pharmacol* 2013; **170**: 1308-1322.
- [87] WATKINS HA, WALKER CS, LY KN, BAILEY RJ, BARWELL J, POYNER DR, HAY DL. Receptor activity-modifying protein-dependent effects of mutations in the calcitonin receptor-like receptor: implications for adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide pharmacology. *Br J Pharmacol* 2014; **171**: 772-788.
- [88] WESTERMARK P, WERNSTEDT C, WILANDER E, SLETTEN K. A novel peptide in the calcitonin gene related peptide family as an amyloid fibril protein in the endocrine pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; **140**: 827-831.
- [89] WESTERMARK P, WERNSTEDT C, WILANDER E, HAYDEN DW, O'BRIEN TD, JOHNSON KH. 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 USA* 1987; **84**: 3881-3885.
- [90] WESTERMARK P, ANDERSSON A, WESTERMARK GT. Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. *Physiol Rev* 2011; **91**: 795-826.
- [91] YANAGI K, ASHIZAKI M, YAGI H, SAKURAI K, LEE YH, GOTO Y. Hexafluoroisopropanol induces amyloid fibrils of islet amyloid polypeptide by enhancing both hydrophobic and electrostatic interactions. *J Biol Chem* 2011; **286**: 23959-23966
- [92] YOUNG AA. Brainstem sensing of meal-related signals in energy homeostasis. *Neuropharmacol* 2012; **63**: 31-45.
- [93] ZHANG Y, LIU Y, QU J, HARDY A, ZHANG N, DIAO J, STRIJBOS PJ, TSUSHIMA R, ROBINSON RB, GAISANO HY, WANG Q, WHEELER MB. Functional characterization of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels in rat pancreatic beta cells. *J Endocrinol* 2009; **203**: 45-53.
- [94] ZHU H, WANG X, WALLACK M, LI H, CARRERAS I, DEDEOGLU A, HUR J-Y, ZHENG H, LI H, FINE R, MWAMBURI M, SUN X, KOWALL N, STERN RA, QIU WQ. Intraperitoneal injection of the pancreatic peptide amylin potentially reduces behavioral impairment and brain amyloid pathology in murine models of Alzheimer's disease. *Mol Psych* 2014, 1-8.
- [95] ZÜGER D, FORSTER K, LUTZ TA, RIEDIGER T. Amylin and GLP-1 target different populations of area postrema neurons that are both modulated by nutrient stimuli. *Physiol Behav* 2013; 112-113: 61-69.

*Redaktor prowadzący –*

*Otrzymano: 18.08.14*

*Przyjęto: 12.10.14*

*Małgorzata Marszałek*

*Zakład Biofizyki Medycznej*

*Instytut Biofizyki, Katedra Biofizyki Ogólnej*

*Uniwersytet Łódzki*

*ul. Pomorska 143, Łódź*

*tel.: 42-635-41-44*

*e-mail: mtmarsz@wp.pl*

