

Received: 2012.09.10
Accepted: 2013.05.15
Published: 2013.07.23

Cukrzyca typu 2 a choroba Alzheimerera – jedna czy dwie choroby? Mechanizmy asocjacji

Diabetes type 2 and Alzheimer disease – one or two diseases? Mechanisms of association

Małgorzata Marszałek

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

Streszczenie

Zarówno wynik badań epidemiologicznych, jak i wyniki licznych prac z zakresu patofizjologii wskazują na podobieństwo i na związek dwóch amyloidoz – cukrzycy typu 2 (diabetes mellitus type 2 – DM2, non-insulin dependent diabetes mellitus – NIDDM) i choroby Alzheimerera (Alzheimer's disease – AD). Insulinooporność, postępująca neurodegeneracja i rozwój zespołów otępiennych oraz to, że w przebiegu obu chorób, w trzustce i w mózgu, obserwuje się gromadzenie depozytów fibrylujących białek w postaci złogów amyloidowych nie wyczerpują listy cech wspólnych dla tych chorób. Wydaje się, że w przebiegu cukrzycy i choroby Alzheimerera podobny jest także mechanizm cytotoksyczności fibrylujących białek. W obu narządach dotkniętych procesem chorobowym, uszkodzenie komórek obserwowane jest zanim pojawią się depozyty w postaci fibryli. Wskazuje to na patogenetyczną rolę podobnych, cytotoksycznych form prefibrylarnych, tzw. intermediatów helikalnych w przypadku obu chorób. Wyniki kolejnych prac wskazują na podobieństwo licznych szlaków regulujących i zaangażowanych w ten proces. Odnaleziono także wspólny dla obu peptydów receptor AMY3. Coraz częściej pojawia się zatem pytanie o to: czy cukrzyca to choroba Alzheimerera trzustki, a choroba Alzheimerera to insulinooporna postać cukrzycy, rozwijająca się w obrębie mózgu. W pracy podjęto próbę przedstawienia aktualnego stanu badań w tym obszarze.

Słowa kluczowe:

cukrzyca typu 2 • choroba Alzheimerera • amyлина • peptyd Aβ • fibrylacja • amyloidozy

Summary

Some epidemiological data and pathophysiological evidence suggest similarities and connection of two amyloidoses: diabetes mellitus type 2, (DM2) (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) and Alzheimer's disease (AD). What they have in common is insulin resistance, neurodegeneration, development and progression of dementia, and the fact that in the course of both diseases fibrillar aggregates of specific proteins are accumulated in affected organs. What is more, experimental evidence also supports the hypothesis that small prefibrillar aggregates that emerge prior to the appearance of mature fibrils are responsible for a key step in development and cytotoxicity of both diseases. They also have similar pathogenic effects. Both peptides possess the common receptor AMY3. More and more evidence is accumulating that key cell regulation processes are similar for both diseases as well. The question is raised: can Alzheimer be a new form of diabetes disease?

Keywords:

diabetes mellitus type 2 • Alzheimer disease • amylin • Aβ peptide • fibrillation • amyloidoses

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1059549>

Word count: 9303

Tables: –

Figures: –

References: 173

Adres autorki: dr Małgorzata Marszałek Instytut Biofizyki, Katedra Biofizyki Ogólnej, Zakład Biofizyki Medycznej, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 143, Łódź; e-mail: mtmarsz@wp.pl

Wykaz skrótów: **AD** – choroba Alzheimerera, **ADDL** – oligomery peptydu A β , **AFM** – technika mikroskopii sił atomowych, **AGEs** – końcowe produkty wzmożonej glikacji, **AIF** – białko aktywujące apoptozę, **AM** – adreno-medullina, **AMPK** – kinaza białkowa aktywowana przez AMP, **AMY1**, **AMY2** i **AMY3** – trzy receptory amyliny, **AP** – pole najdalsze rdzenia przedłużonego, **APF** – pierścieniowe protofibryle, **APH1** – białka APH1, **Apo E** – apolipoproteina E, **Apo E ϵ 4** – allel epsilon 4 apolipoproteiny E, **APP** – białko prekursora β -amyloidu, **AS** – α – synukleina, **A β** – β -amyloid, produkty degradacji polipeptydu APP, **BACE** – sekretaza β , **CGRP** – neuropeptyd związany z genem kalcytoniny, **CLR** – receptor podobny do receptora kalcytoniny, **CRMP-2** – białko kolapsyna, **CRSP** – peptyd stymulujący receptor kalcytoniny, **CT** – kalcytonina, **CTR** – receptor kalcytoniny, **DAP** – peptyd towarzyszący cukrzyca (amylina), **DM2** – cukrzyca typu 2, **EM** – technika mikroskopii elektronicznej, **ERK 1/2** – białka ERK 1/2, **FAD** – postać rodzinna choroby Alzheimerera, **GAG** – glikozoaminoglikan, **GS** – syntaza glikogenu, **GSK3 β** – serynowo-treoninowa 3 kinaza syntazy glikogenowej, kinaza syntazy glikogenu 3 β , **IAP** – peptyd amyloidowy guza insulinoma (amylina), **IAPP** – polipeptyd amyloidowy wysp trzustki (amylina), **IDE** – enzym degradujący insulinę, insulizyna, **IGF** – czynnik wzrostu insuliny, **IGF1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1, **IR** – receptor insuliny, **MAP** – kinaza serynowo-treoninowa aktywowana przez miogeny, **MAP-tau** – białko tau, **NEP** – neprylizyna, **NFT** – splotki bądź sploty neurofibrilarne, **NU ACC** – obszar jądra połączonego jądra podstawnego, **OLVT** – narząd naczyniowy blaszki czworaczej, **PC2** – proproteinowa konwertaza, **PD** – choroba Parkinsona, **PHF** – podwójne, helikalne filamenty, **PNS** – obwodowy system nerwowy, **PrD** – choroby prionowe, **PRNP** – gen kodujący białko prionowe, **PrPc** – prawidłowe białko prionowe, **PrPSc** – patologiczne białko prionowe, **PS** – presenilin, **RAGE** – receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji, **RAMP** – białka modyfikujące aktywność receptora kalcytoniny, **ROS** – reaktywne formy tlenu, **SAA** – białko A surowicy, **SAD** – choroba Alzheimerera typu późnego, **SAP** – białko P surowicy, **SFO** – narząd podsklepieniowy, **ThS** – tioflawina S, **ThT** – tioflawina T.

WSTĘP

Wyniki ostatnich badań potwierdzają sugerowany wcześniej związek dwóch amyloidoz – cukrzyca typu 2 (diabetes mellitus type 2 – DM2, non-insulin dependent diabetes mellitus – NIDDM) i choroby Alzheimerera (Alzheimer's disease – AD). Coraz częściej pojawia się też pytanie: czy cukrzyca to choroba Alzheimerera trzustki, a choroba Alzheimerera to stan insulinooporności mózgu, insulinooporna postać cukrzyca, rozwijająca się w obrębie mózgu? Wyszukiwano nawet sugestie, że choroba Alzheimerera to cukrzyca typu 3, rozwijająca się w mózgu, a łącząca cechy cukrzyca typu 1 i 2 [3,34,116].

Szacuje się, że osoby chore na cukrzycę typu 2 mają około 2,5-krotnie zwiększone ryzyko rozwoju choroby Alzheimerera. Wydaje się więc, że cukrzyca typu 2 jest istotnym czynnikiem rozwoju choroby Alzheimerera [1,20,59,116].

Ze względu na skalę zjawiska, obydwie choroby stanowią poważny problem współczesnej medycyny i problem społeczny. Dynamika wzrostu liczby zachorowań na cukrzycę jest ogromna. W 1995 r. chorych było około 135 mln, w 2000 r. około 171 mln, a w 2010 r. już około 285 mln ludzi na świecie. Szacuje się, że w 2030 r. dotknie ona prawie

366 mln ludzi. Z tej liczby 85-95% to chorzy na cukrzycę typu 2 utożsamianą z cukrzycą wieku późnego (adult diabetes). W Polsce liczba chorych to 2,5 mln osób. Liczba osób chorych na chorobę Alzheimerera szacowana jest na świecie na około 12 mln [48,60,145,161,162,167,175].

Podobieństwo czynników rozwoju obu chorób, i co ważniejsze, podobieństwo ich patofizjologii i biochemii, podobieństwo wielu szlaków przekazywania informacji komórkowej, a także – jak wykazano ostatnio – związek na poziomie molekularnym oraz wspólny receptor mózgowy dla różnych białek istotnych dla rozwoju obu chorób, może sugerować ten związek [4,5]. Ponadto, także wyniki badań epidemiologicznych wydają się potwierdzać te przypuszczenia, gdyż choroby te łączy podobny profil demograficzny [155]. W pracy przedstawiono najnowsze wyniki badań konfrontujących dwie amyloidozy, tj. cukrzycę typu 2 i chorobę Alzheimerera. Co łączy te dwie choroby rozwijające się w topograficznie odległych narządach, tj. w trzustce i w mózgu?

CZNNIKI RYZYKA ROZWOJU CUKRZYCY TYPU 2 I CHOROBY ALZHEIMERA

Cukrzyca typu 2, zwana także cukrzycą dorosłych, postrzegana jest zazwyczaj jako choroba metaboliczna zwią-

zana z wiekiem. Szacuje się, że 25-30% osób po 65 roku życia choruje na cukrzycę. W Polsce cukrzyca typu 2 dotyczy 12-15% osób po 40 roku życia. Ostatnio zwraca jednak uwagę coraz większy odsetek osób w młodym wieku lub wręcz dzieci obciążonych tą chorobą. Z młodym wiekiem chorych kojarzona była dotychczas cukrzyca typu 1. Przyczyn tej zmieniającej się tendencji w przypadku cukrzycy typu 2, paradoksalnie, upatruje się w globalizacji, industrializacji i w zmieniającym się na mniej aktywny styl życia. W wielu regionach, gdzie 50 lat temu cukrzyca typu 2 była chorobą nieznaną, obecnie choruje na nią znaczny odsetek społeczeństwa. Groźny z punktu widzenia neurodegeneracji wydaje się już stan prediabetyczny, któremu towarzyszą zmiany w obrębie mózgu [42,48,86,132,171].

Choroba Alzheimerera typu późnego (late onset) w tzw. postaci sporadycznej (sporadic Alzheimer's disease – SAD) dotyka około 10% osób poniżej 65 roku życia i ponad połowę osób po 80 roku życia. Niewielki odsetek przypadków (około 1%) stanowią osoby poniżej 65 roku życia, czasami w wieku 30 lat, u których rozwój dziedzicznej, autosomalnej postaci wczesnej (early onset), tzw. postaci rodzinnej tej choroby (familial Alzheimer disease – FAD) wydaje się uwarunkowany mutacjami w genach białek związanych z chorobą Alzheimerera. Ich obecność prowadzi do akumulacji amyloidu w mózgu chorych, jednak nie tłumaczy przyczyn ogromnej skali zjawiska [3,46,145,147].

Ryzyko rozwoju choroby Alzheimerera i cukrzycy typu 2 związane jest z postępującym wiekiem chorych. Rzutuje to na inne, wspólne czynniki ryzyka rozwoju obu chorób, za które uważa się m.in.: wspomniany już mało aktywny tryb życia, zwiększoną konsumpcję – zwłaszcza tłuszczów i otyłość związaną z insulinoopornością, choć sama otyłość jest prawdopodobnie czynnikiem istotnym, ale niewystarczającym do rozwoju choroby Alzheimerera. Coraz częściej jako czynnik rozwoju choroby Alzheimerera wymienia się także cholesterol, choć prawdopodobnie jest to czynnik drugoplanowy. Ryzyko rozwoju obu chorób wzrasta także w grupie nosicieli allelu apolipoproteiny E epsilon-4 (Apo E ε4) [132]. ApoE obecna jest także w amyloidzie chorych na cukrzycę i wydaje się, że nie jest ona składnikiem swoistym dla choroby Alzheimerera, ale jest czynnikiem promującym fibrylację [19].

To insulinooporność wydaje się mieć – pośrednio – związek z obserwowaną u chorych na obydwie choroby postępującą neurodegeneracją, z dysfunkcją synaps i ostatecznie z zaburzeniami poznawczymi. Choć w przebiegu cukrzycy typu 2 dotknięte chorobą wydają się głównie komórki β wysp Langerhansa, to jednak coraz częściej porusza się także problem współlistniejącej w przebiegu tej choroby neurodegeneracji. Wyrazem tego może być obserwowany, w przypadku obu chorób, rozwój zespołów otępiennych. Demencja, u podłoża której leży insulinooporność, może być cechą wspólną nie tylko tych dwóch chorób, ale także i innych chorób neurodegeneracyjnych np. choroby Parkinsona, w przebiegu której także obserwuje się pojawianie złogów fibrylującego, toksycznego białka: α-synukleiny (AS). Istotne w rozwoju wszystkich

tych chorób wydają się także czynniki genetyczne. Przypuszcza się, że powyższe fakty mogą odzwierciedlać podobne procesy patologiczne, leżące u podstaw ich rozwoju [17,22,33,34,124,131,132,135,152].

Aż 50% diagnozowanych przypadków zespołów otępiennych związanych jest z chorobą Alzheimerera. Także u osób starszych choroba Alzheimerera jest najczęstszą przyczyną występowania zespołów otępiennych. W przypadku osób chorych na cukrzycę typu 2 aż 82,5-91% przypadków demencji stanowi choroba Alzheimerera [3,132,138]. Także w przypadku cukrzycy typu 2, w miarę postępu choroby, pojawiają się zaburzenia poznawcze i rozwija się demencja – otępienie. Podobne objawy obserwuje się także w cukrzycy typu 1, choć patofizjologia w tym przypadku jest odmienna. Cukrzyca typu 1 towarzyszy absolutny brak insuliny z powodu zniszczenia komórek beta wysp trzustki, natomiast cukrzyca typu 2, z powodu insulinooporności tkanek, charakteryzuje się względnym niedoborem insuliny. Rozwijająca się w przebiegu cukrzycy typu 2 hiperglikemia ma związek z toksycznością glukozy wobec komórek mózgu. Chorobie towarzyszą także poważne zaburzenia naczyniowe (vascular syndrome), które dotyczą również naczyń mózgowych. Także i one mają swe podłoże m.in. w hiperglikemii i są niezwykle istotne w przebiegu cukrzycy typu 2 [11,12,132,145].

CUKRZYCA I CHOROBA ALZHEIMERA JAKO AMYLOIDOZY

W przypadku obu chorób, w trzustce i w mózgu, czyli w narządach, których te choroby dotyczą, obserwuje się gromadzenie depozytów fibrylujących białek w postaci złogów amyloidowych. Różne białka łączy jednak wspólna cecha, którą jest zdolność do formowania wysoce uporządkowanych fibrylarnych struktur. Tworzone w miarę postępu choroby depozyty łączy wręcz identyczność cech morfologicznych i własności fizyko-chemicznych, dających podstawy do nadania im wspólnej nazwy – amyloid. Cechą szczególną depozytów fibrylarnych, pozwalającą na odróżnienie ich od agregatów amorficznych, jest ich wyjątkowa stabilność termodynamiczna i trwałość, wynikająca ze stopnia uporządkowania tych struktur [53,91]. Obydwa białka formują wyjątkowo trudno rozpuszczalne fibrylarne depozyty, co znacząco utrudnia ich badanie [168].

Wyniki ostatnich prac wskazują, że fibrylujące białka są tylko do pewnego stopnia narządowo i chorobowo swoiste. Depozyty uznawane, jak dotąd, za swoiste dla choroby Alzheimerera odnajdywane są jednak także w innych narządach, w tym i w trzustce osób chorych na cukrzycę [107]. Wiele wskazuje, że kapitalnej rewizji wymaga rozumienie biologii obu tych chorób, a także postrzeganie roli fibrylujących białek, związanych z tymi chorobami.

W obu przypadkach proces formowania fibryli, prowadzi początkowo do tworzenia form oligomerycznych agregujących peptydów. To one stają się cytotoksyczne i uszkadzają komórki budujące chore narządy, tj. mózg i trzustkę. Oba schorzenia w początkowym okresie za-

burzając fizjologię i funkcję komórek prowadząc następnie do ich śmierci, a w konsekwencji do ich utraty i do zastąpienia masy narządu przez amyloid. Oddziaływanie toksycznych oligomerów ze składnikami błony komórkowej jest także wspólnym dla amyliny i peptydu A β (A β peptide) mechanizmem działania prowadzącym do rozwoju obu chorób. W obu przypadkach obserwuje się także odpowiedź typu zapalnego w chorych narządach [7,13,99,116,134,140,141,163].

Obydwie choroby należą do amyloidoz. Amyloid trzustki i mózgu to złogi zbudowane z białek, które łączy zaledwie 38% podobieństwo budowy aminokwasowej, 25% podobieństwo sekwencyjne i 50% identyczność. W chorobie Alzheimera składnikiem amyloidu mózgu jest m.in. fibrylujący peptyd A β , a w cukrzycy typu 2 w trzustce jest nim amylina. Mimo niewielkiego podobieństwa struktury obydwu peptydy wchodzi jednak na taki sam szlak formowania uporządkowanych struktur wyższego rzędu o cechach wspólnych, spełniających kryteria wymagane do uznania tych struktur za fibryle amyloidowe [4,151].

PODOBIENSTWO STRUKTURALNE FIBRYLI AMYLOIDOWYCH FORMOWANYCH W PRZEBIEGU RÓŻNYCH CHORÓB

Aby formowane w różnych warunkach eksperymentalnych depozyty zostały uznane za klasyczne fibryle powinny dawać pozytywną reakcję z amyloidofilnymi barwnikami: tioflawiną S (Thioflavin S – ThS) i czerwienią Kongo (Kongo red), a w badaniu techniką dyfrakcji promieni X uzyskane dyfraktogramy badanego materiału powinny ujawnić specyficzny obraz struktury fibrylarniej, tzw. struktury cross-beta (struktury poprzecznej, zwanej także krzyżem beta). Obraz struktury cross-beta powstaje, gdy w badanym materiale obecna jest jednostka rdzeniowa fibryli, za którą uznaje się tzw. strukturę β -sheet. Jedynie w ten sposób może zostać potwierdzona wysoce swoista, uporządkowana struktura formowanych fibryli i periodyczność ich struktury [53,153].

Dodatkowym kryterium może być analiza postępującego procesu fibrylacji monitorowanego techniką fluorometryczną z zastosowaniem innego amyloidofilnego barwnika, np. tioflawiny T (Thioflavin T – ThT). Jest to barwnik, należący do grupy barwników benzotiazolowych (4-(3,6-dimethyl-1,3-benzothiazol-3-ium-2-yl)-N,N-dimethylaniline chloride, ThT), który w przeciwieństwie do tioflawiny S, nosi ładunek pozytywny. Tioflawina T ujawnia wiązanie się do struktur fibrylarnych przesunięciem batachromowym w widmach absorpcji i emisji. Barwnik wolny w wodzie cechuje maksimum absorpcji przy długości fali 410 nm i maksimum fluorescencji przy długości fali 430 nm dla światła wzbudzającego o długości 342 nm. Postać związana z fibrylami wykazuje maksimum absorpcji przy długości 450 nm, a parametry widma fluorescencyjnego ulegają znaczącej zmianie, gdyż maksimum obserwowane jest przy długości 485 nm, jako zielono-niebieskawa fluorescencja, dla wzbudzenia światłem o długości 450 nm. Po inkorporacji do fibryli intensywność fluoryzującego barwnika wzrasta około 1000-krotnie

[51,83,95,104]. Stosując tioflawinę T, postępujący proces formowania fibryli można monitorować dopiero od chwili utworzenia pierwszych struktur fibrylarnych. Nieuchwytnie pozostają wstępne etapy tego procesu. Jednak test z ThT nie jest wysoce swoistym i dlatego nie jest testem rozstrzygającym o typie formowanego depozytu [115].

Fibrylarną postać depozytów ujawniają także badania przeprowadzone techniką mikroskopii elektronowej (electron microscopy – EM) i techniką mikroskopii sił atomowych (atomic force microscopy – AFM), które dostarczają informacji na temat cech morfologicznych fibryli, tj. ich wielkości, długości, szerokości, kształtu i typu skrętu, który odzwierciedla typ procesu fibrylacji. Uwidocznione także mogą być powtarzające się jednostki strukturalne fibryli.

Czerwień Kongo (sól disodowa kwasu 4-amino-3-[4-(1-amino-4-sulfonatonaftalen-2-yl)diazenylofenylo]fenylo]diazenylo-naftaleno-1-sulfonowego) należy do grupy barwników azowych, o których wiadomo, że silnie wiąże się z włóknami celulozy, włóknami amyloidu i, jak ostatnio stwierdzono, z niektórymi białkami. Efekty dwójtłumności i dichroizmu, obserwowane po zastosowaniu czerwieni Kongo, pozwalają na wykrycie złogów, którym przypisywana jest natura amyloidowa. Uwidoczniane są one po poddaniu badanej próbki działaniu światła spolaryzowanego, w którym jawią się jako złogi zielono-żółte lub przypominające kolor zielonego jabłka (apple-green). Czerwień Kongo w stanie wolnym, niezwiązanym z amyloidem, cechuje widmo absorpcji z maksimum przy $\lambda = 498$ nm. Maksimum to, w wyniku związania barwnika z włóknem fibryli, ulega przesunięciu do $\lambda = 541$ nm, dając w mikroskopie świetlnym wrażenie barwy czerwonej. Z kolei tioflawina S stanowi homogenną mieszaninę heterogennych związków z grupy barwników benzotiazolowych i w zakresie pH 5-9 funkcjonuje w postaci anionu. Silna fluorescencja własna cząsteczki eliminuje ten związek z badań kinetycznych procesu fibrylacji. Może on być jednak wykorzystywany w patomorfologii i w badaniach podstawowych depozytów amyloidu. W postaci metylowanej barwnik funkcjonuje pod nazwą prymulina (primuline) i cechują go następujące własności spektralne i fluorescencyjne: w roztworze wodnym, jako związek wolny, niezwiązany z amyloidem, wykazuje fluorescencję z maksimum 455 nm przy wzbudzeniu falą o długości 360 nm, a po związaniu do fibryli amyloidu, następuje przesunięcie hiperchromowe o około 45 nm i związek wykazuje silną niebieską fluorescencję. Mechanizm działania czerwieni Kongo i tioflawiny S nie jest do końca poznany [21,51,67,83,95].

Technikę dyfrakcji promieni X (promieni Roentgena) zastosowano do badań amyloidu po raz pierwszy w 1968 r. [39]. Badania te sprowadzają się do analizy dyfraktogramów, obrazujących system plamek interferencyjnych, rozmieszczonych mniej lub bardziej symetrycznie, względem środka pola, które jest śladem padania wiązki promieni nieugiętych. Powstawanie plamek to wynik działania na film lub kliszę fotograficzną, interferujących promieni Roentgena, ugiętych na uporządkowanej strukturze fibry-

li. Na dyfraktogramie pojawiają się dwa koliste refleksy świetlne o różnej intensywności. Pierwszy, intensywny, zwany refleksem południkowym, wskazuje na periodyczność badanej struktury, ułożonej prostopadle względem długiej osi fibryli w odległościach co 0,47nm (4,7 Å). Refleks ten obrazuje odległości w jakiej rozmieszczone są struktury, zwane odcinkami lub nićmi beta (β -strands), formowane przez aminokwasy z udziałem wiązań wodorowych. Są one ułożone równolegle względem siebie i to one budują struktury β -sheets. Drugi, mniej intensywny, zwany refleksem równoleżnikowym, może być na tyle słaby, że sprawia wrażenie jedynie rozmytych plam. Obrazuje on uporządkowane jednostki β -sheets, ułożone równolegle do długiej osi włókna, a rozmieszczone w odległościach ok. 0,98 nm (9,8 Å).

Takie wzajemne ułożenie wymienionych struktur daje wrażenie ich przestrzennego krzyżowania się i dlatego określone zostało terminem cross-beta. Uzyskany charakterystyczny obraz dyfrakcyjny potwierdził uporządkowaną strukturę badanego materiału, przypisaną fibrylom amyloidowym [53,91]. Stosując technikę dyfrakcji promieni X przeprowadzono analizę fibryli amyliny i amyloidu A β . W przypadku obu peptydów wykazano typową dla amyloidu strukturę cross-beta [41,84,101].

DEPOZYTY AMYLOIDOWE FORMOWANE W PRZEBIEGU CUKRZYCY TYPU 2

W przebiegu cukrzycy typu 2, obserwowaną degenerację komórek beta wysp trzustki, utratę ich liczby i w konsekwencji postępujące zaburzenia w funkcjonowaniu narządu wiązano z pojawianiem się i wypełnianiem utraconej masy trzustki przez złogi zewnątrzkomórkowego amyloidowego depozytu. Choć korelacja między destrukcją narządu a obecnością amyloidu nie zawsze występowała, to jednak nie można było pominąć faktu, że częścią składową pojawiającego się, bez wątplenia patologicznego depozytu była nierozpuszczalna, fibrylarna postać polipeptydowego hormonu wytwarzanego właśnie przez niszczone przezeń komórki beta trzustki.

W 1986 r. Westermarck i wsp [159,160], a w 1987 r. Cooper i wsp. [24,25] wykazali, że w amyloidzie odnajdywanym u ludzi w obrębie guzów typu insulinoma (guz insulinowy trzustki wywodzący się z komórek beta), u osób chorych na cukrzycę typu 2 i u kota chorego na cukrzycę, białkową część depozytu stanowi 37-aminokwasowy monomer o masie około 3905 Da, zawierający na swym N-końcu wewnątrzcząsteczkowy mostek dwusiarczkowy, utworzony między 2 a 7 aminokwasem [23,24]. Od 1986 r. w piśmiennictwie funkcjonowała nazwa tego nowego polipeptydu: insulinoma amyloid peptide (IAP), którą zmieniono na islet amyloid peptide, a następnie na: islet amyloid polypeptide (IAPP). Odkrytemu polipeptydowi nadano także nazwę diabetes associated peptide (DAP), którą także zmieniono na amylinę. Termin amylina i skrót IAPP funkcjonują w literaturze przedmiotu wymiennie.

Obecnie wiadomo, że w skład amyloidu trzustki, oprócz zasadniczego fibrylującego polipeptydu, jakim jest amy-

lina i jej proforma, wchodzi także inne białka, określane terminem „patologiczne chaperony” (chaperony lub chaperony; chaperones). Są nimi: białko A (serum amyloid A – SAA), białko P surowicy (serum amyloid component P – SAP), któremu przypisywana jest rola ochronna przed degradacją i usuwaniem amyloidu z komórki, apolipoproteina E (Apo E) i glikozaaminoglikan (GAG) – proteoglikan – siarczan heparanu zwany Perlecanem, którego reszty cukrowe odpowiadają za reakcję amyloidu z jodem [18,55]. Na amyloid składają się także jony Ca²⁺ obecne w postaci nierozpuszczalnych agregatów, które być może, mają znaczenie dla stabilizacji struktury amyloidu. Złogi amyloidu odnajdywane są głównie pozakomórkowo, choć zaobserwowano także wewnątrzkomórkowe formowanie depozytów, np. u myszy z ekspresją amyliny ludzkiej, a także w ludzkich komórkach wysp trzustki transplantowanych myszom [31,126].

Amylina należy do białek z rodziny kalcytoniny (calcitonin – CT), do której zalicza się także hormony peptydowe: kalcytoninę, neuropeptyd związany z genem kalcytoniny CGRP (calcitonine gene related peptide – CGRP), występujący w dwóch postaciach, tj. białko α CGRP i β CGRP, ponadto rodzinę adrenomedulliny: adrenomedullinę (AM) i adrenomedullinę 2 (intermedin), adrenomedullinę 5 oraz peptyd stymulujący receptor kalcytoniny (CT receptor-stimulating peptides, CRSP) w trzech postaciach CRSP 1, 2 i 3 [15,16,79,146,164].

Rola fizjologiczna amyliny nie jest w pełni poznana. Obecnie wiadomo, że centralnie sterowane uczucie sytości jest jednym z mechanizmów działania tego neurohormonu, który odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy glukozy w organizmie. Rola amyliny polega na ograniczeniu dopływu do krwi glukozy zarówno ze źródeł egzogennych (pokarm), jak i endogennych, którymi są procesy glikogenolizy i glukoneogenezy. Ograniczenie dostępu glukozy do krwi przez amylinę odbywa się m.in. za pośrednictwem hamowania sekrecji glukagonu. Poposiłkowa sekrecja glukagonu jest hamowana przez amylinę również w wyniku mechanizmu angażującego ośrodkowy układ nerwowy. Podobnie ograniczenie egzogennych źródeł glukozy w okresie poposiłkowym także angażuje ośrodkowy układ nerwowy i zlokalizowane tu receptory amyliny. Za pośrednictwem nerwu błędnego następuje ograniczenie motoryki żołądka, spowolnienie jego opróżniania i redukcja ilości przyjmowanego pokarmu. Zmniejsza to ilość dostępnego cukru i jego napływ do krwiobiegu. Hamowanie przez amylinę uczucia sytości sprawia, że określa się ją jako hormon anorektyczny. Amylina jest także modulatorem metabolizmu glukozy w mięśniach szkieletowych i wpływa na wywołanie stanu insulinoporności komórek mięśni i wątroby. Wpływa również na procesy zachodzące w tkance kostnej: hamuje resorpcję kości, gdyż obniża aktywność osteoklastów. Przejawia także działanie naczyniorozkurczowe, zmniejszając opór obwodowych naczyń krwionośnych. Jej wazodylatacyjna aktywność jest stosunkowo słaba w porównaniu z efektami innych białek należących do rodziny białek związanych z kalcytoniną, np. z CGRP [157].

Gen amyliny człowieka jest umiejscowiony na krótkim ramieniu chromosomu 12 [120]. Wykazuje homologię z genem 1 i 2 białka CGRP, ułożonym na 11 chromosomie, co sugeruje wspólne pochodzenie i przynależność obu peptydów do tej samej rodziny. U człowieka polipeptyd kodowany jest przez trzy eksony i dwa introny, a transkrybowany w postaci prekursorowej, jako 89-aminokwasowy prepolipeptyd (preproIAPP), którego masę obliczono na 9808 Da [109,118,119,120].

Podobnie jak w przypadku postaci prekursorowych insuliny, 89-aminokwasowy pre-pro-IAPP człowieka, powstający w aparacie Golgiego, jest przemieszczany do granul sekrecyjnych. Jednak zanim nastąpi sekrecja polipeptydu w postaci czynnej, czyli hormonu, ten pierwotny prekursor ulega wewnątrzkomórkowemu trawieniu, najpierw do 67-aminokwasowego produktu ProIAPP, który w granulach sekrecyjnych jest następnie konwertowany do 37-aminokwasowej postaci ostatecznej. Trawienie odbywa się na obu C- i N-końcach cząsteczki przez proproteinową konwertazę PC2, w miejscu występowania aminokwasów zasadowych. Wydaje się, że na tym etapie białko jest amidowane na C-końcu [6,103,118].

Amylinę zidentyfikowano u wielu gatunków zwierząt w tym i u człowieka. Jednak dla ludzi i niektórych zwierząt, np. małych wężów, kota czy świni konsekwencje obecności tego polipeptydu w komórce, poza pożądanymi dla organizmu funkcjami fizjologicznymi jakie ten hormon pełni, mogą być bardzo niekorzystne czy wręcz zgubne. Amylina u tych gatunków wykazuje zdolność do formowania fibryli, a następnie wchodzi w skład trzustkowych depozytów amyloidowych [24,61,62,63,65,75,76,77,123,158,159]. Wykazano, że amyлина świni, w porównaniu z amyliną ludzką, ma mniejszą zdolność do formowania fibryli, co może mieć istotne znaczenie w transplontologii, przy przeszczepie trzustki świni [170]. Okazało się także, że ten sam polipeptyd, wytwarzany przez komórki trzustki innych przebadanych zwierząt, np. przez psa (*Canis familiaris*) czy szopa (*Procyon lotor*), a także przez gatunki gryzoni: świnkę morską (*Cavia porcellus*), chomika syryjskiego (*Mesocricetus auratus*), mysz (*Mus musculus*) czy szczura (*Rattus*), nie formuje fibrylarnych złogów odkładanych w organizmie jako amyloidu [77]. Wykazano jednak, że substytucja pewnych aminokwasów w amylinie szczura może prowadzić do fibrylacji niefibrylującego w warunkach *in vivo* polipeptydu [50].

W zależności od gatunku zwierzęcia, z którego amyлина pochodzi obserwuje się różnice w budowie aminokwasowej, co determinuje cechy i zachowanie polipeptydu, tj. głównie jego zdolność do fibrylacji. Choć pozornie wydają się one niewielkie, to jednak w rzeczywistości są niezwykle istotne zarówno dla całego polipeptydu, jak i własności poszczególnych domen budujących amylinę [10]. Na 37-aminokwasową cząsteczkę amyliny (full length amylin) składają się domeny, wyodrębnione głównie na podstawie ich funkcjonalnego znaczenia dla polipeptydu, a także ich zdolności do formowania fibryli amyloidowych. Amylina składa się z dwóch domen terminalnych

w obrębie N- i C-końca i domeny środkowej uznawanej za tzw. fragment rdzeniowy. Za klasyczną, modelową fibrylującą cząsteczkę uznaje się amylinę ludzką, a za niefibrylującą cząsteczkę przyjęto uważać polipeptyd szczura i myszy, identyczny z polipeptydem szczura. Polipeptydy te różnią się jedynie sześcioma aminokwasami, co przekłada się jednak na diametralnie odmienne ich własności. Region 20-29 uznawany jest za główny region amyloidogenny cząsteczki amyliny ludzkiej, choć jej część C-końcowa, między 30 a 37 aminokwasem, także uczestniczy w procesie fibrylacji. Jako odcinek wysoce hydrofobowy albo proces fibrylacji wspomaga albo też sam w procesie uczestniczy.

W obrębie cząsteczki amyliny człowieka znajduje się aż 10 aminokwasów hydrofobowych. To one powodują, że amyлина jest polipeptydem wyjątkowo trudno rozpuszczalnym, i to im przypisywana jest główna rola sprawcza w procesie fibrylacji. Hydrofobowość postrzegana jest jako jedna z najważniejszych, a może najważniejsza cecha białek fibrylujących [23]. Polipeptyd szczura, mimo że wykazuje aż 84% homologii sekwencji aminokwasowej z izoformą ludzką, to jednak zachowuje się całkowicie odmiennie, gdyż nie tworzy fibryli. Polipeptydy te różni tylko 6 aminokwasów, z których 5 jest umiejscowionych w obrębie domeny centralnej 20-29, a trzy z nich to reszty proliny. Nie bez znaczenia jest też i to, że wszystkie proliny sąsiadują ze sobą nadając sztywność cząsteczce amyliny [2].

Amylina jest wydzielana wraz z insuliną głównie z komórek beta wysp trzustki. Kolokalizację amyliny i insuliny wykazano w krystalicznej części rdzeniowej (granularnej) pęcherzyków sekrecyjnych [78,100]. Początkowo wydawało się, że amyлина jest eksprymowana wyłącznie w komórkach wysp Langerhansa. Z czasem ujawniono także pozatrzustkową ekspresję polipeptydu i mRNA amyliny zlokalizowano również w innych obszarach organizmu np.: w przewodzie pokarmowym na odcinku od żołądka do jelita, w komórkach G wytwarzających gastrynę (gastrin cells, G-cells, G-type cells producing gastrin), w komórkach D wytwarzających somatostatynę (D cell), z największą ich liczbą w części odzwiernikowej. Poza tym mRNA amyliny uwidoczniło także w komórkach płuc, a następnie w komórkach układu nerwowego w tym i w komórkach mózgu zwierząt [27,28,36,37,111,112,113,143], a ostatnio ukazało się także doniesienie, że amylinę wykryto także w mózgu człowieka [157].

Przypuszcza się, że uszkodzenie błony komórkowej, spowodowane przez fibrylującą amylinę, jest jednym z podstawowych mechanizmów prowadzących do niszczenia i śmierci komórki. Mechanizm ten nadal pozostaje nierozpoznany, choć rolę sprawcy zniszczeń przypisuje się tzw. intermediom helikalnym, czyli małym postaciom pośrednim amyliny, formowanym na wstępnych etapach fibrylacji. Ich tworzenie poprzedza pojawianie się większych, dostrzegalnych, rozpoznawalnych dostępnymi technikami detekcji, dostatecznie dużych lub dojrzałych, ostatecznie uformowanych fibryli. Pierwsze etapy fibry-

lacji nadal pozostają nieuchwytnie w badaniach konwencjonalnymi technikami i stanowią wyzwanie metodyczne. Przełomem w badaniach była obserwacja, że u transgenicznych myszy z ekspresją ludzkiego genu amyliny, destrukcja komórek trzustki i rozwój choroby następuje zanim pojawiają się fibryle amyliny [13,69]. W piśmiennictwie funkcjonuje teoria, której podstawą jest hipoteza działania toksycznych oligomerów, jako sprawców uszkodzeń komórek beta. Pod terminem tym kryje się skupisko czy połączenie pewnej dostatecznie dużej, ale nie nadmiernie licznej grupy monomerów, w oligomeryczny twór, reprezentujący jedną z morfologicznych postaci etapu prefibrylarnego. W świetle uzyskanych wyników, coraz wyraźniej rysuje się model interakcji cząsteczki amyliny nie tylko z powierzchnią struktur modelowych, ale i z powierzchnią i składnikami błony komórki. Istotną rolę w tym procesie wydają się odgrywać postaci amyliny, pojawiające się na wstępnym etapie fibrylacji intermedyaty helikalne. Istnieją liczne dowody wskazujące na istotną rolę w procesie niszczenia komórek beta tych stosunkowo małych, bo rzędu 20-40 monomerów, oligomerów amyliny i/lub protofibryli [82,98,106]. Nie można wykluczyć, że oddziaływanie ze zmienioną błoną komórki osób chorych na cukrzycę typu 2 wymusza obserwowane zmiany struktury amyliny. Wiadomo, że anionowy skład błony komórek trzustki u osób chorych ulega zmianie.

Choć toksyczna aktywność wydaje się przypisana oligomerycznym formom amyliny a nie jej fibrylom, to należy jednak pamiętać, że wszelkie lokalne zaburzenia funkcji poszczególnych komórek czy cytoarchitektoniki wysp mają niekorzystny wpływ na pracę tego mikronarządu, całej trzustki a w konsekwencji całego organizmu. Pierwsze, nieuchwytnie etapy fibrylacji amyliny prowadzą początkowo do dysfunkcji komórek beta z powodu ich stopniowego uszkodzenia. Z czasem, postępujący proces fibrylacji objawia się odkładaniem rosnących fibryli w postaci złogów amyloidu. Zaburzają one pracę także innych komórek wysp trzustki [13,26,57].

DEPOZYTY AMYLOIDOWE ODNAJDYWANE W PRZEBIEGU CHOROBY ALZHEIMERA

W chorobie Alzheimer neurodegeneracja objawia się pojawianiem w pewnych rejonach mózgu: zewnątrzkomórkowych, tzw. płytek starczych (senile plaques, amyloid plaque), a także zwyrodnieniem neurofibrilarnym (neurofibrilarnym) Alzheimer, tj. odkładaniem wewnątrzkomórkowych, bo w cytoplazmie neuronów – patologicznych agregatów hiperfosforylowanego i poliubikwitynylowanego białka MAP-tau (microtubule-associated proteins – MAP-tau). W formie około 10 nm fibryli występuje ono w postaci tzw. splątków bądź splotów neurofibrilarnych (neurofibrillary tangles – NFTs). Po rozpadzie uszkodzonego neuronu lokują się także poza obrębem komórki. Ponadto obserwuje się: cienie obumarłych neuronów (ghost cells), dystroficzne neuryty (dystrophic neurites), którymi są rozdęte wypustki neuronów, tworzące wieńiec blaszki neuryticznej, nitki neuropilowe (neuropil threads, curly fibers), zwyrodnienie ziarnisto-

-włókienkowe (granulovacuolar degeneration), pod postacią wakuoli w dużych neuronach piramidowych hipokampa oraz tzw. ciała Hirano, którymi są parakrystaliczne, eozynofilne filamenty zbudowane m.in. z aktyny, tropomiozyny, winkuliny, tubuliny, a także białka amyloidu. W skład płytek starczych, oprócz β -amyloidowego rdzenia, wchodzi także: dystroficzne neuryty oraz komórki aktywowanego astro- i mikrogleju. Mikroglej towarzyszy także splątkom NFT, które z kolei wzbogacone być mogą w prawo- lub lewoskrętne, podwójne helikalne filamenty określane skrótem PHF (paired helical filaments – PHF), na które składają się: ubikwityna, triady białek neurofilamentów i peptydy β -amyloidowe. Obie formy depozytów są wzbogacone także w szkodliwe końcowe produkty wzmoczonej glikacji (advanced glycation end products – AGEs) [34,41,66,87,88,89,110,116,138,144,153].

Postacią prekursorową peptydów typu $A\beta$ jest białko amyloidu APP (amyloid precursor protein – APP), które jest transmembranową proteiną o masie 120 kDa o nierozpoznanej jeszcze do końca funkcji. Zawiera ono domenę wiążącą metal, np. jony miedzi, a jego aktywność ferooksydacyjna przypomina funkcję jaką pełni ceruloplazmina w transporcie jonów miedzi. Przypuszcza się, że białko to transportuje jony żelaza na zewnątrz neuronu. Jeszcze inne koncepcje sugerują funkcje adhezyjne tego białka, rolę APP jako inhibitora proteaz serynowych, a ostatnio sugeruje się udział APP w procesach regulujących proliferację komórek progenitorowych mózgu. Rozpoznano trzy izoformy APP różniące się liczbą aminokwasów: APP770, APP751 i najczęściej spotykaną w neuronach, APP695. Pozostałe wymienione postaci białka APP występują w innych, poza neuronami, komórkach mózgu np. komórkach mikrogleju i astrocytach oraz w komórkach innych tkanek [35,153].

Produktami trawienia tego białka są 38-43-aminokwasowe peptydy o masie około 4 kDa. Szlak degradacji APP może przebiegać dwójako: prowadząc do uformowania odcinków amyloidogennych $A\beta_{42}$ i $A\beta_{40}$, związanych z rozwojem choroby bądź do utworzenia krótszych, nieamyloidogennych peptydów. Część białka APP, zakotwiczone w błonie, odpowiada sekwencjom fibrylującego peptydu, powstającego w procesie cięcia białka. Za degradację APP, w zależności od szlaku, odpowiadają enzymy: sekretaza- α i γ -odpowiedzialne za nieamyloidogenną degradację oraz sekretarza- β i γ -odpowiedzialne za formowanie amyloidogennych peptydów typu $A\beta$.

Nieamyloidogenne produkty trawienia APP przez sekretazę- α to: duży rozpuszczalny polipeptyd sAAP α i krótszy 83-aminokwasowy odcinek zachowywany w obrębie błony komórkowej. Ten ostatni podlega dalszemu trawieniu przez sekretazę- γ do jeszcze krótszego peptydu p3 [153]. Sekretaza- γ do swej aktywności wymaga obecności wielu białek: tzw. presenilin (PS), tj. PS1 i PS2, nikastryny, białek wzmacniających preseniliny (presenilin enhancer-2) i białka APH1 (anterior pharynx – defective-1). Jego aktywność jest podobna do aktywności sekretazy. Nikastryna odpowiada za regulację kolejnego białka,

zależnej od cynku metaloproteazy zwanej neprylizyną (neprilysin – NEP) [56,108].

Z grupy produktów trawienia białka APP przez sekretazę- β , określaną także skrótem BACE (β -amyloid cleaving enzyme 1), fragment A β 42 jest peptydem najbardziej hydrofobowym. Reszty hydrofobowe ulokowane są na C-końcu, a N-końiec ma charakter hydrofilowy. Przypomina pod tym względem amylinę, której hydrofobowość, do pewnego stopnia, determinuje jej zdolność do fibrylacji. Peptyd A β 42 ulega też szybciej niż inne fragmenty APP samoasocjacji, prowadząc do powstawania, znacznie mniejszych od fibryli, oligomerów. W przeciwieństwie do fibryli, oligomery są postacią rozpuszczalną i to one są uznane za postać toksyczną dla neuronów [35,90,92,138,153,154].

Fragment A β 42 jest glikozylowany najpierw w retikulum endoplazmatycznym, a następnie w aparacie Golgiego, gdzie zachodzi także modyfikacja tyrozyny, polegająca na sprzęganiu z resztą kwasu siarkowego (sulfation) siarczanem. Fragment A β 42 w postaci rozpuszczalnej występuje w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, a w postaci nierozpuszczalnej we wnętrzu komórki neuronalnej. Wprowadzona na szlak fibrylacji postać natywna tego peptydu, tj. struktura kłębką, ulega zmianom konformacyjnym typowym dla tego procesu. Najpierw pojawiają się struktury α -helikalne, a następnie struktura β -sheet. Fibryle amyloidowe formowane w przebiegu choroby Alzheimera to w 75% peptyd A β , a w 25% to, ściśle z nimi związane, glikoproteiny i glikolipidy, nadające fibrylom cechę nierozpuszczalnych w wodzie i opornych na proteolityczne trawienie [156]. Ostateczna, fibrylna postać jest wysoce polimorficzna, co uwarunkowane jest czynnikami środowiska. Polimorfizm odnosi się także do innych peptydów, np. do peptydu A β 40 [35,116,124].

Oprócz klasycznych postaci fibrylnych, fragmenty białka APP, mogą występować w postaci tzw. prefibrylnych oligomerów, tj. dimerów, trimerów bądź wspomnianych już oligomerów w postaci globulomerów (dodekamerów o masie około 56 kDa; A β *56) i wyższych oligomerów. Stanowią one połączenia form monomerycznych w postaci: trimerów-heksamerów, aż do 24-merów, obserwowanych *in vitro* w roztworach wodnych. Temperatura fizjologiczna promuje tworzenie 12-merów. Oligomery w postaci tzw. ADDL (A β -derived diffusible ligands – ADDLs), są uznawane za najbardziej neurotoksyczną postać fibrylującego peptydu. Zwłaszcza dimery i/lub trimery A β wydają się istotnym elementem rozpoczynającym proces fibrylacji peptydu [30,90]. Jeszcze inną, również toksyczną postacią, przedstawiają protofibryle A β . Z niefibrylnych oligomerów A β formowane są postaci kolisty, zamknięte, tzw. fibrylarne oligomery. Tworzą tzw. pierścieniowe protofibryle (annular protofibrils – APF) o masie ponad 90 kDa [92,137,154].

Interesujące wyniki przyniosły badania mutantów białka prekursorowego APP u chorych na Alzheimera. Stwierdzono, że mutacja typu delekcji E693 Δ w genie białka APP

prowadzi do powstawania postaci wariantywnej peptydu A β bez glutaminianu w pozycji 22, która nie formuje fibryli, a jedynie postaci oligomeryczne. Stąd też u osób chorych, mimo toczącej się choroby, nie identyfikuje się jednak obfitych złogów amyloidu. Obserwacje te sugerują udział i rolę w patogenezie choroby Alzheimera wcześniejszych, oligomerycznych postaci peptydów A β [150].

Ponadto należy także wspomnieć o odnajdywanych w mózgach chorych na chorobę Alzheimera depozytach, tzw. „preamyloidowych”, tj. formach amorficznych, niedających z powodu niewielkiej liczby form β -sheet w swej strukturze, pozytywnych reakcji barwnych typowych dla form fibrylnych, np. reakcji z czerwienią Kongo. Wydaje się, że formy te mogą być formą prekursorową tworzących następnie fibryli [64].

Z kolei białko MAP-tau, należy do tzw. białek towarzyszących mikrotubulom; inicjuje proces asocjacji, a następnie stabilizacji tych struktur. Przebiegające wzdłuż aksonu prawidłowo ukształtowane mikrotubule zapewniają transport substancji odżywczych do ciała komórki i do synaps. W komórce prawidłowej, sąsiadujące z proliną reszty seryny (Ser 202, Ser 404) i treoniny (Thr 205, Thr 231) białka tau są zwykle fosforylowane z udziałem różnych kinaz. Jednak obserwowana w stanach patologicznych hiperfosforylacja tego białka sprawia, że nie wiąże się ono z mikrotubulami, co prowadzi do jego labilności i destabilizacji. Konsekwencją jest postępująca destrukcja struktur cytoszkieletu neuronów, zaburzenie procesów transportu w komórce i ostatecznie obumieranie neuronów. W miarę postępu choroby, w obrębie komórki, gromadzą się splątki NFTs. Stosując modele zwierzęce wykazano, że zahamowanie aktywności kinaz fosforylujących ludzkie białko tau prowadziło do obniżenia jego fosforylacji, a w konsekwencji do złagodzenia objawów neurodegeneracji u badanych myszy [102].

Wydaje się, że jednym z czynników indukujących proces nieprawidłowej fosforylacji białka tau są peptydy A β [102,149]. Jednak, podobnie jak w przypadku amyliny i peptydów A β , także i w odniesieniu do białka tau, zaobserwowano, że objawy uszkodzenia połączeń synaptycznych komórek następują zanim pojawiają się depozyty komórkowe, czy to fibryle czy splątki NFTs. Zaburzoną fosforylację białka tau zaobserwowano także u transgenicznym myszy (APP693 Δ -Tgmice), mimo braku możliwości formowania fibryli przez zmutowaną postać peptydu A β . Także i w tym przypadku sugeruje się, że wstępne etapy agregacji białka tau generują jego oligomeryczne, mniejsze, ale toksyczne postaci, które uszkadzają neurony [29,30,102,149,156].

Wydaje się, że mutacje w genach kodujących APP i Preseniliny 1 i 2 odpowiadają za rozwój postaci rodzinnej choroby Alzheimera (FAD). Mutacje w obrębie genu APP prowadzą do nadekspresji A β bądź podwyższają amyloidogenność peptydu, natomiast mutacje w genach presenilin zaburzają procesy trawienia APP wywołując zmiany wzajemnego stosunku peptydów A β 42/A β 40. W postaci

FAD choroby dominują peptydy A β 42. Jej rozwój tłumaczy się lokalnym, mózgowym nagromadzeniem fibrylującego peptydu A β 42. Z kolei postać SAD choroby związana jest, jak się wydaje, z licznymi czynnikami środowiskowymi, takimi jak genotyp apolipoproteiny E, metabolizm cholesterolu, przewlekły stres, zaburzenia naczyniowe i wszystkie pozostałe czynniki wymienione na wstępie [38,56,145].

SWOISTOŚĆ DEPOZYTÓW AMYLOIDOWYCH ODNAJDYWANYCH W PRZEBIEGU CUKRZYCY I CHOROBY ALZHEIMERA

Czy odnajdywane depozyty amyloidowe są tkankowo i chorobowo swoiste? Wyniki ostatnich prac wskazują, że amyloidowe depozyty A β i agregaty białka tau nie są, jak przypuszczano, narządowo i chorobowo swoiste. W modelach choroby Alzheimerera u transgenicznych myszy, u których następuje wzrost poziomu białka A β , amyloidowe złogi tego peptydu stwierdza się nie tylko w mózgu chorych zwierząt, ale także w nerkach i – szczególnie obfite depozyty – w trzustce [81]. Ilość depozytów wzrasta z wiekiem. Brak korelacji między wzrostem poziomu odkładanego w obrębie wysp, białka A β a poziomem jego mRNA wskazuje na specyficzne uwrażliwienie komórek wysp na ten peptyd [116]. Także u osób z chorobą Alzheimerera zaobserwowano obecność drugiego typu depozytów charakterystycznych dla tej choroby, tj. splątków białka tau w innych, poza mózgiem, narządach w tym i w trzustce [116].

Z kolei u chorych na cukrzycę typu 2 również zaobserwowano depozyty fibrylujących peptydów mózgowych typu A β , w innych pozamózgowych obszarach organizmu. W obrębie ludzkich wysp Langerhansa, pobranych jako materiał autopsyjny od osób chorych na cukrzycę typu 2, wykazano gromadzenie złogów amyloidowych, na które składały się składniki podobne jak w złogach amyloidu mózgowego, tj. peptyd A β , ubikwityna i ApoE oraz typowa dla amyloidu trzustki – amyлина. Ciekawym odkryciem było ujawnienie w badanych komórkach kolokalizacji peptydu A β i amyliny. Także i w tym przypadku wykazano obecność hiperfosforylowanego białka tau w formie skrętków w obszarach poza mózgiem, tj. w komórkach wysp trzustki [107].

Istotne wydaje się również to, że na fibrylację peptydu A β 42 ma wpływ fibrylująca amyлина ludzka, a także jej modyfikowane, metylowane formy [96,129]. Wskazuje to na związek obydwóch białek na poziomie molekularnym. Heteroasocjacja amyliny ludzkiej i peptydu A β 42 hamuje cytotoksyczną samoasocjację i amyloidogenezę obydwóch peptydów. Wykazano także, że wspomniane wyżej podwójnie metylowane analogi amyliny ludzkiej są nieamyloidogenne i nietoksyczne, a jednocześnie także wiążą peptyd A β 42 hamując jego samoasocjację i formowanie fibryli. Hamujące efekty są znacznie bardziej nasilone dla form modyfikowanych w porównaniu do efektów wywieranych przez formy niemodyfikowane. Niefibrylujące i nietoksyczne postaci zarówno amyliny, jak i peptydu A β także mogą się łączyć, wiązać, ale formują rozpuszczalne

i nietoksyczne heterooligomery. Takie niefibrylujące postaci obydwóch peptydów są obecne w podobnych stężeniach we krwi i w płynie mózgowo-rdzeniowym badanych zwierząt. Molekularna determinacja obserwowanego hamującego efektu interakcji obu peptydów nie jest jeszcze rozpoznana. Zidentyfikowano jednak 5 regionów tzw. „hot-spot”, tj. minimalnych sekwencji w obrębie amyliny i peptydu A β 42 zaangażowanych w ten proces. Badania prowadzone nad inhibicją procesu fibrylacji mają ogromne znaczenie medyczne [4,5].

W przebiegu omawianych chorób, uznawanych za odmienne, w różnych organach u osób chorych, odnajdywane są jednak podobne depozyty amyloidowe. Sugeruje się więc podobieństwo zarówno czynników, jak i mechanizmów prowadzących do fibrylacji różnych peptydów. Istotny jest także związek obydwóch peptydów na poziomie molekularnym. Czy podobieństwo odnajdywanych depozytów jest dowodem na tożsamość dwóch omawianych schorzeń?

CZYNNIKI REGULACYJNE WPŁYWAJĄCE NA FORMOWANIE DEPOZYTÓW AMYLOIDOWYCH W PRZEBIEGU CUKRZYCY TYPU 2 I CHOROBY ALZHEIMERA

Istotną rolę regulacyjną w metabolizmie białkowych komponentów amyloidu mózgu, tj. peptydu A β i białka tau oraz amyloidu trzustki, tj. amyliny, odgrywa insulina działająca jednak w oparciu o mechanizmy niezależne od jej glukoregulacyjnej funkcji. W przypadku białka tau, regulacja dotyczy procesu jego fosforylacji, a odpowiada za ten etap, oprócz insuliny, także insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor – IGF) [34]. Elementem łączącym fosforylację białka tau, trawienie białka APP i formowanie peptydu A β jest serynowo-treoninowa 3 kinaza syntazy glikogenowej (glycogen synthase kinase – GSK3). GSK3 odpowiada za fosforylację wielu białek, w tym białka tau. Występuje w wielu miejscach w organizmie w dwóch izoformach GSK3 α oraz GSK3 β , choć ta ostatnia jest szczególnie reprezentowana w komórkach ośrodkowego układu nerwowego, zwłaszcza w neuronach.

Enzym ten, pełniąc liczne funkcje, jest związany z patogenezą wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego, w tym z patogenezą choroby Alzheimerera, z rozwojem insulinoooporności i cukrzycy typu 2. Jego nadekspresja lub hiperaktywność wywołują wiele objawów patologicznych, które są cechą wspólną cukrzycy i AD. Aktywna postać GSK3 β w mózгах chorych na chorobę Alzheimerera odpowiada za hiperfosforylację białka tau i białka APP, a w konsekwencji za formowanie depozytów. Formowany depozyt amyloidowy także aktywuje GSK3 β .

Insulina, hamując aktywność kinazy GSK3 β , indukuje jednocześnie proces syntezy białek oraz glikogenu. Ufosforylowana postać GSK3 β , jako nieaktywna, warunkuje utrzymanie syntazy glikogenu (glycogen synthase – GS) w nieufosforylowanej, aktywnej postaci i tym samym utrzymanie syntezy glikogenu. GSK3 β fosforyluje syn-

tażę glikogenu inaktywuje ten enzym i w ten sposób odpowiada za regulację metabolizmu. Inhibicja aktywności kinazy GSK3 β zapobiega jednak agregacji peptydów A β i hamuje hiperfosforylację białka tau. Jednak w mózgu myszy z neuronalnym brakiem receptora insuliny (insulin receptor – IR) i obniżoną fosforylacją białka GSK3 β zaobserwowano hiperfosforylację białka tau. Zwiększone stężenie GSK3 β występuje u myszy w modelach cukrzycy i otyłości [45,49,121,145].

W przypadku peptydu A β i amyliny regulacyjna funkcja insuliny dotyczy także etapu eliminacji z komórki nieprawidłowo zwiniętych peptydów. Wydaje się, że zależność od insuliny odnosi się zwłaszcza do etapu degradacji tych peptydów. W degradację A β 40 i A β 42 włączony jest bowiem enzym odpowiedzialny również za degradację insuliny zwany insulizyną (E.C. 3.4.24.56) (insulin degrading enzyme – IDE). Dla enzymu substratem jest także amyлина. Enzym obecny jest w neuronach mózgu i w cytoplazmie komórek ścian naczyń krwionośnych, tj. w komórkach endotelialnych, w pericytach i w komórkach mięśni gładkich. Jest głównym enzymem degradującym peptydy A β . W warunkach *in vivo*, w stanie prawidłowym, kompetycja trzech wymienionych substratów o enzym jest zrównoważona, prawidłowa. W ten sposób IDE pełni funkcję inhibitora formowania amyloidu w mózgu. Wszelkie zaburzenia homeostazy prowadzą do nierównowagi i do rozwoju stanów patologicznych, w tym choroby Alzheimera lub cukrzycy. W przypadku hiperinsulinemii, która towarzyszy insulinooporności, występuje zjawisko kompetycji insuliny i A β o degradujące je enzymy. W tych warunkach insulina staje się czynnikiem promującym odkładanie A β i formowanie amyloidu. Podobną rolę spełnia także enzym IDE w komórkach wysp trzustki, chroniąc je przed formowaniem amyloidu [8,49,116,139]. Wzrost aktywności IDE u myszy transgenicznych koreluje z obniżeniem poziomu A β . Chorobie Alzheimera towarzyszy jednak spadek aktywności tych enzymów, a mutacje genów IDE prowadzą do symptomów przypominających cukrzycę typu 2 [49].

Nieprawidłowa aktywność enzymów zaangażowanych w degradację białka APP: sekretaz, presenilin i neprylizyny może mieć związek z rozwojem zarówno choroby Alzheimera, jak i cukrzycy typu 2. Sekretazy obecne są w komórkach wysp trzustki. Podobnie, obydwie preseniliny, obecne w mózgu i związane z wczesnym etapem choroby Alzheimera, obecne są także w komórkach wysp trzustki. Neprylizyna jest wysoce konserwatywną metaloproteiną zależną od cynku. Jest związana z powierzchnią błony komórkowej i odpowiada za procesy trawienia białek zewnątrzkomórkowych. W komórkach NEP mózgu ulega ekspresji na stosunkowo niskim poziomie w błonie środkowej naczyń mózgowych i w neuronach piramidowych. Jej ilość zmniejsza się z wiekiem. Jak wykazano, zaangażowana jest w proces trawienia białek beta amyloidowych w mózgu, a jej poziom w komórkach pozostaje w odwrotnej korelacji z gromadzonymi złoгами amyloidu. W mózgu osób chorych na postać SAD a nie FAD odnajduje się skupiska NEP-pozytywnych dystroficznych neurytów umiejscowionych w obrębie płytek starczych.

Odmienny jest także profil IDE-pozytywnych płytek starczych w przypadku postaci SAD i FAD choroby. Jest ich dwukrotnie więcej w postaci SAD [38,52,56,58,108,116].

Proces degradacji fibrylującej amyliny ludzkiej budzi wiele emocji. Jak dotąd, ujawniono, że amylinę szczura i ludzką mogą trawić jedynie enzymy ID, choć amylinę cechuje mniejsze od insuliny powinowactwo do tego enzymu. Zahamowanie aktywności IDE bacitracyną, która jest nieswoistym inhibitorem IDE (ale nie jest toksyczna dla komórek insulinoma), prowadzi do fibrylacji amyliny i do gromadzenia amyloidu w obrębie badanych komórek [7,8]. Ostatnie doniesienia wskazują także na udział w procesie degradacji amyliny kolejnego enzymu związanego ze szlakiem degradacji APP, tj. wspomnianej już neprylizyny. Jak wykazano enzym ten obecny jest w komórkach wysp trzustki myszy i człowieka. Początkowo sugerowano, że neprylizyna hamuje proces fibrylacji amyliny. Niedawno wykazano, że hamuje ona fibrylację amyliny ludzkiej także w wyniku trawienia tego białka i działa protekcyjnie hamując apoptozę komórek wywołaną amyliną ludzką. Sugeruje się także wykorzystanie neprylizyny w badaniach nad leczeniem cukrzycy typu 2 [52,172,173].

Wydaje się, że zaburzony proces autofagalnego usuwania fibrylujących peptydów i dysfunkcyjnych organelli komórkowych obserwuje się zarówno w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, jak i w cukrzycy typu 2. Krytycznym etapem inicjującym autofagię jest fosforylacja białka – kinazy ULK1/2. Fosforylacja ta zależy z kolei od aktywności głównego enzymu, którym jest AMPK, czyli kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMP-activated protein kinase – AMPK). Ten właśnie etap fosforylacji jest zaburzony u chorych na chorobę Alzheimera. Z kolei choroby na cukrzycę typu 2, mają obniżoną aktywność AMPK, co prowadzi do zaburzenia procesu formowania autofagosomów i ostatecznie do obserwowanej akumulacji złożeń amyloidu. Przytoczone obserwacje pozwalają na wysunięcie tezy, że być może, brakującym ogniwem łączącym Alzheimera i cukrzycę typu 2 jest także kinaza AMP. Ten heterotrimeryczny enzym, zbudowany z trzech podjednostek $\alpha\beta\gamma$ występuje w większości komórek zwierzęcych. Stanowi swego rodzaju sensor energetyczny organizmu, gdyż utrzymuje homeostazę metaboliczną komórki, narządu i organizmu. Uczestnicząc w regulacji wielu ważnych dla komórki procesów, takich jak: synteza białek, metabolizm lipidów, uczestnicząc w regulacji transkrypcji odpowiednich genów, a tym samym uczestnicząc w biogenezie istotnych dla metabolizmu komórki organelli np. mitochondriów, zasłużył sobie na miano centralnego enzymu regulującego metabolizm komórki. Aktywność tego enzymu zależy od poziomu wewnątrzkomórkowego AMP (stąd jego nazwa). Obecnie wiadomo także, że aktywatorami AMPK są również inne nukleotydy, kinazy, kwasy tłuszczowe, cytokiny, hormony, np. insulina, czynniki stresu – fizjologiczne bądź środowiskowe w tym niski poziom dostarczanych substancji odżywczych. Zaangażowanie AMPK w biogenezę mitochondriów pozwala rozszerzyć liczbę chorób, dla których może być on brakującym ogniwem łączącym z chorobą Parkinsona [85].

Wiele wskazuje na to, że kolejnym wspólnym mechanizmem w obu chorobach jest także deregulacja funkcji wielu białek komórkowych i postępujące uszkodzenie organelli komórkowych. Fibrylujący peptyd A β 42 i fibrylująca amylna ludzka prowadzą m.in. do dysfunkcji mitochondriów. Odpowiadają za obniżone zużycie tlenu przez mitochondria, za uszkodzenie wielu białek związanych z metabolizmem komórki. Jednak najwięcej, bo aż 25% tej liczby stanowią białka łańcucha oddechowego, należące głównie do tzw. IV kompleksu białek mitochondrialnych. Wydaje się, że cechą swoistą obu badanych peptydów jest obniżenie aktywności enzymów właśnie kompleksu IV. Peptyd A β 42 nie obniża aktywności białek mitochondrialnych kompleksu I [97]. Wykazano, że uszkodzenie może być wywołane przez oba fibrylujące peptydy ludzkie, przy braku takiego efektu w przypadku niefibrylującej amyliny szczura.

Czynniki protekcyjne białek, do których należą białka opiekuńcze – czaperony, chroniące proteiny w ich postaci natywnej, także wykazują wiele podobieństw w przypadku obu omawianych chorób. W stanie fizjologicznym wykazują podobieństwo działania, a w przypadku stanu chorobowego także ulegają podobnym defektom. W warunkach prawidłowych czaperony zapewniają poprawny przebieg procesów składania peptydów lub białek, a wszelkie nieprawidłowo ukształtowane formy usuwają, angażując komórkowy system proteasomów. Zarówno choroba Alzheimera, jak i cukrzyca typu 2 prowadzą do szeroko rozumianego stresu komórkowego, w tym i stresu oksydacyjnego. Nieprawidłowe działanie czaperonów, czy to uwarunkowane genetycznie (chaperonopatie), czy następujące na skutek zmienionego środowiska komórki, jest istotnym czynnikiem sprzyjającym odkładaniu nieprawidłowo ukształtowanych białek. Dzieje się tak w przebiegu obydwu schorzeń. W cukrzycy, wraz ze wzrostem syntezy hormonów w komórkach beta, wzrasta zapotrzebowanie na system naprawczy tych białek, w tym na czaperony. Także w chorobie Alzheimera kalretikulina, białko wiążące jony wapnia w siateczce śródplazmatycznej, działając opiekuńczo, odpowiada za ograniczenie neurotoksyczności peptydów A β [105,116].

Wydaje się, że w przypadku obu chorób wspólnym patomechanizmem jest m.in. stres oksydacyjny w obrębie neuronów i zaburzenie homeostazy gospodarki wolnych jonów Ca²⁺. Wykazano wpływ zwiększonego poziomu białek A β i amyliny na liczbę wolnych jonów wapnia w komórkach. Wzrost ten prowadzi ostatecznie do uszkodzenia i śmierci komórek mózgu. Podobny mechanizm zaobserwowano także w przypadku innych białek odpowiedzialnych za neurodegenerację np. PrP106-126 [80,105,116]. Zarówno A β 42, jak i amylna powodują wzrost poziomu powstających w komórkach reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species – ROS). Stres oksydacyjny prowadzi w komórce do licznych działań niepożądanych. Są nimi m.in. pojawiające się w komórce produkty degradacji i metabolizmu białek, które dłużej pozostają w organizmie niż białka w warunkach prawidłowych. Produkty takie, po przekształceniach oksydacyjnych, dehydratacji,

kondensacji z grupami aminowymi (reakcja Maillarda) ulegają dalszej modyfikacji, tj. glikacji. Wspomniane na wstępie końcowe produkty glikacji (AGEs), odnajdywane w patologicznych depozytach, mogą ulegać dalszej modyfikacji do tzw. reaktywnych form końcowych produktów zaawansowanej glikacji, które generują kolejne uszkodzenia oksydacyjne komórki [66,97].

Wiele przemawia za tym, że czynniki regulujące proces formowania, degradacji i odkładania fibrylujących depozytów w przypadku dwóch omawianych amyloidoz są niezwykle podobne. Nasuwa się zatem kolejne pytanie – czy podobieństwa te mogą wynikać z podobieństwa dwóch odmiennych typów komórek – komórek nerwowych i komórek trzustki?

KOMÓRKI TRZUSTKI A KOMÓRKI UKŁADU NERWOWEGO

Wykazano, że komórki trzustki i komórki nerwowe łączy wiele podobieństw, w tym podobieństwo szlaków sygnałowych [97]. Niezwykle istotnym czynnikiem i wspólnym elementem wydaje się insulina, która może pokonać barierę krew-mózg, ale też może być wytwarzana przez komórki pewnych obszarów w mózgu [1].

Na wczesnych etapach rozwoju trzustki i mózgu ekspresji ulegają podobne czynniki transkrypcyjne, takie jak: Nkx2.2, Nkx6.1, NeuroD, neurogenina 3, Pax6. Trzustka jest narządem bogato unerwionym przez nerwy współczulne i przywspółczulne układu autonomicznego. Komórki wysp trzustki zawierają też liczne białka neuronalne [117]. Liczne neuroprzekazniki, uwalniane w obrębie wysp, wzajemnie wspomagają regulację sekrecji wszystkich obecnych tu komórek. Wydaje się jednak, że za reinerwację przeszczepionych ektopowo wysp trzustki odpowiadają jedynie komórki β . Ich brak w obrębie przeszczepianych wysp powoduje, że reinerwacji nie obserwuje się. Sugeruje się, że istotnym czynnikiem w tym procesie jest m.in. insulina [116].

Neurodegeneracja jest prawdopodobnie także wspólna dla obu omawianych schorzeń [152]. W chorobie Alzheimera uszkodzenia dotyczą głównie neuronów, tzw. kory nowej, neopallialnej (neokortex) i obszarów układu limbicznego. Kora nowa to część mózgu, która uznawana jest za dorobek ewolucyjny ssaków, u ludzi jest szczególnie rozwinięta. Tu zachodzą wszystkie czynności umysłowe wyższego stopnia, w tym: myślenie abstrakcyjne, kojarzenie, planowanie itp. Termin układ limbiczny jest pojęciem fizjologicznym, które określa obszary kontrolujące zachowania emocjonalne, w tym zachowania opiekuńcze. Słabnie także przewodnictwo synaptyczne [68,107].

O ile neurodegeneracja w chorobie Alzheimera jest szczególnie wyrazistym jej przejawem, to o neurodegeneracji w obrębie wysp trzustki w przypadku cukrzycy typu 2 niewiele jeszcze wiadomo. Jej zasięg w postaci neuropatii obejmuje neurony unerwiające część peryferyczną wysp, neurony autonomicznego układu nerwowego, także unerwiające wyspy. Z cukrzycą typu 2 związane są jednak

także inne choroby neurodegeneracyjne, którym również towarzyszy odkładanie amyloidu, np. choroba Huntingtona, choroba Wernera. Trudno obecnie stwierdzić, czy neurodegeneracja prowadzi do patologii także i komórek neuralnych w obrębie wysp trzustki, a to z kolei znajduje swój wyraz pod postacią rozwoju cukrzycy typu 2 [116].

Wiadomo, że w obrębie wysp trzustki insulina jest czynnikiem neurotroficznym. Istnieją jednak także i inne istotne czynniki, które również uczestniczą w procesie neuroregeneracji, a które odnajdywane są w komórkach trzustki i w komórkach nerwowych u chorych na chorobę Alzheimera. Przykładem może być białko kolapsyna CRMP-2 (collapsing response mediator protein – CRMP-2). Do niedawna sądzono, że ta cytosolowa fosfoproteina, jest ekspresowana wyłącznie w komórkach nerwowych i – przekazując sygnały komórkowe innym białkom – semaforynom, współuczestniczy w procesie różnicowania i wzrostu neuronów. Nie wiadomo jak dotąd jaką rolę pełni kolapsyna, zidentyfikowana także w komórkach endokrynych trzustki [116,117].

WSPÓLNY DLA AMYLINY I PEPTYDU A β MÓZGOWY RECEPTOR AMY3

Neurotoksyczny profil działania peptydu A β 42 i amyliny także łączy wiele podobieństw. Wyniki ostatnich badań wskazują, że głównym, bo wspólnym elementem, jest receptor amyliny AMY3 [43]. Amylina działa fizjologicznie za pośrednictwem receptorów zlokalizowanych m.in. na komórkach beta wysp trzustki oraz receptorów na komórkach w obrębie centralnego układu nerwowego. Miejsca wiązania amyliny do receptora wykazano także w różnych tkankach w licznych peryferycznie położonych miejscach organizmu, jednak wysoce selektywnie działające receptory amyliny ujawniono głównie w pewnych obszarach mózgu, w korze nerek i w mięśniach [128,133,148,169].

Podobnie do polipeptydu, także receptory amyliny mają związek z kalcytoniną, gdyż należą do grupy tzw. receptorów białek rodziny kalcytoniny, wchodzącej w skład rodziny receptorów związanych z białkiem G. Ich pobudzenie prowadzi do aktywacji cykazy adenylowej bądź fosfolipazy C. Receptory te są heterodimerami, stanowiąc kombinację dwóch elementów: siedmiotransmembranowej domeny receptora białek związanych z białkiem G i białka modyfikującego aktywność receptora (receptor activity modifying protein – RAMP). Obecność białka RAMP jest wymagana do transportu przyłączonego receptora w pobliże błony komórkowej i wpływa modulująco na odbierane i przekazywane sygnały. Wymagane partnerstwo białka RAMP do nadania receptorowi jego funkcji sprawiło, że receptory amyliny długo pozostawały nieuchwytnie, bo niemożliwe do identyfikacji [14,54,122].

Do receptorów białek związanych z białkiem G należą: receptor kalcytoniny (calcitonin receptor – CTR) i receptor podobny do receptora kalcytoniny (calcitonin receptor-like receptor – CLR), natomiast białkiem modyfikującym jego aktywność może być jedno z trzech, jak dotąd

odkrytych białek RAMP. Białka RAMP cechuje zaledwie 30% homologia aminokwasowa, ale wszystkie mają podobny plan budowy, tj. charakteryzuje je obecność trzech domen. Są nimi: duża zewnątrzkomórkowa N-końcowa domena zawierająca 4 reszty cysteiny, pojedyncza domena transmembranowa i stosunkowo krótka, C-końcowa, wewnątrzkomórkowa domena cytoplazmatyczna. Białko CTR może działać samodzielnie, jako receptor kalcytoniny bądź – wchodząc w interakcję z każdym z białek RAMP – może formować trzy receptory amyliny: AMY1, AMY2 i AMY3. W przypadku dimeryzacji z RAMP3 wiązanie amyliny cechuje najwyższe powinowactwo do powstającego receptora w porównaniu z innymi ligandami [6,114,136,169].

Szczególne znaczenie ma to, że receptory amyliny zlokalizowano w obszarach mózgu pozostających poza strefą, gdzie funkcjonuje bariera krew-mózg, tj. w tzw. narządach okołokomorowych. Są to stosunkowo niewielkie obszary, ulokowane w ścianach układu komorowego, gdzie budowa ścian naczyń krwionośnych umożliwia swobodny dopływ związków wielkocząsteczkowych, w tym peptydów lub białek. Do obszarów, gdzie zlokalizowano receptory amyliny należą: narząd podsklepieniowy (subfornical organ – SFO), narząd naczyniowy blaszki czworaczej (organum vasculosum of the lamina terminalis – OLVT) oraz region należący do tyłomózgowia, ulokowany w dnie komory czwartej mózgu, tzw. pole najdalsze rdzenia przedłużonego (area postrema – AP) [44,127,133]. Lokalizacja receptorów w obszarze AP jest niezwykle istotna, gdyż ten właśnie region jest łatwo dostępny dla krążącej we krwi amyliny, docierającej z wysp Langerhansa. Tutaj też receptory amyliny rozmieszczone są szczególnie gęsto. Receptory amyliny zlokalizowano także w obrębie obszaru, gdzie funkcjonuje bariera krew-mózg. W tych miejscach wiązanie amyliny do receptora jest wysoce swoiste. Receptory amyliny charakteryzuje miejscowo swoista ekspresja, zwłaszcza wyraźna w obrębie mózgu. Przykładowo – receptory typu AMY1 zlokalizowane są w obszarze jądra półleżącego jądra podstawnego (nucleus accumbens, – NU ACC) i w narządzie podsklepieniowym (SFO), natomiast receptor AMY3 w obszarze pola najdalszego (AP) [94,129,136,169].

Licznym białkom receptorowym przypisywano funkcję receptora dla peptydu A β czy jego rozpuszczalnych oligomerów. W patogenezie choroby Alzheimera rozważano udział takich białek jak: receptory cholinergiczne acetylocholin, glutaminergiczne, receptory insuliny i czynnika wzrostu insuliny (insulin growth factor – IGF), receptory końcowych produktów glikacji (receptors for advanced glycation end products, – RAGE) i receptor amyliny AMY3 [125].

Wyniki kolejnych badań coraz dobitniej sugerowały, że mózgowy receptor amyliny AMY3 jest wspólnym ogniwem łączącym amylinę i peptyd A β . Stwierdzono, że podanie bezpośrednio do rejonu AP mózgu szczura, czynnika blokującego receptor amyliny, tj. antagonistycznie

działającego związku (acetylo-[Asn30, Tyr32] sCT(8-37) o symbolu AC187, znosi wiele efektów fizjologicznych, które przypisuje się amylinie [74,130,133].

Tę samą technikę badawczą, tj. blokery receptora amyliny, zastosowano do poszukiwań niezidentyfikowanego jak dotąd mózgowego receptora peptydu $A\beta$ 1-42. Wykorzystano wspomniany wyżej związek o symbolu AC 187 i kolejny, podobny do niego i kalcytoniny – oznaczony symbolem AC 253 (LGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY). Zaobserwowano, że toksyczne działanie oligomerów peptydu $A\beta$ 42 na komórki neuronalne szczura nie występuje, gdy uprzednio zastosowano w eksperymencie czynnik blokujący receptor amyliny AC 253 lub AC 187 [70,74]. Podobne wyniki uzyskano, gdy do badań zastosowano ludzkie neurony płodowe poddane kolejno działaniu: czynników blokujących receptor amyliny RAM3, a następnie działaniu amyliny bądź peptydu $A\beta$ 42. Czynnikiem blokującym aktywność receptora był: AC 253 lub siRNA, korespondujący z sekwencją genu białek budujących ten receptor, tj. CTR i RAMP3. W obu przypadkach zaobserwowano wzrost przeżywalności badanych komórek w porównaniu do przeżywalności komórek w układzie, gdy blokerów nie stosowano. Obserwacje poczynione na ludzkich komórkach nerwowych były niezwykle istotne, gdyż u gryzoni (szczur, mysz, chomik) rozwój choroby Alzheimera nie następuje, a liczne badania neurotoksyczności peptydów $A\beta$ zazwyczaj prowadzone są na komórkach pochodzących od tych właśnie zwierząt [72,73].

Model myszy transgenicznych, które mają podniesiony poziom ekspresji białka prekursorowego dla amyloidogennych peptydów, tj. APP okazał się niezwykle istotny w analizie ekspresji dwóch elementów składowych receptora amyliny. Wykazano, że podniesiony poziom ekspresji białek CTR i RAMP3 był wysoce swoisty i występował w tych regionach mózgu badanych zwierząt, gdzie następowało gromadzenie amyloidu, tj. w rejonie kory mózgowej hipokampa i przodomózgowia (cortex, hippocampus, basal forebrain). Wiele wskazywało na rolę białka RAM3 w transdukcji sygnałów komórkowych indukowanych obecnością nie tylko amyliny, ale i peptydu $A\beta$ 42. Zaobserwowano, że szkodliwe efekty elektrofizjologiczne (osłabienie całkowitego prądu komórki), indukowane w komórce nerwowej obecnością peptydu $A\beta$ 42 bądź amyliny, ulegają znacznemu złagodzeniu pod wpływem czynników blokujących receptor amyliny [72].

Blokowanie receptora amyliny za pomocą jego antagonistów np. w komórkach nerwowych, ma znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania kanałów jonowych, np. dla jonów potasu. Badania elektrofizjologiczne neuronów cholinergicznego mózgu szczura, poddanych działaniu peptydu $A\beta$ 42 lub amyliny ludzkiej, ujawniły modulujący wpływ tych peptydów na czynność badanych kanałów. I te efekty znosiło uprzednie zastosowanie blokerów receptora amyliny [71,72].

Także apoptotyczny mechanizm śmierci komórek, obserwowany w przypadku peptydu $A\beta$ 42 i amyliny, wydaje się

mieć wspólny mianownik, którym jest białko receptorowe amyliny RAM3 [72,74]. Apoptotyczna śmierć komórek może następować w oparciu o mechanizm zależny od szlaku proteinaż cysteinowych, tj. kaspaz jak i od kaspaz niezależnie, tj. z zaangażowaniem aktywacji mitochondriów i translokacji do jądra komórkowego mitochondrialnego białka aktywującego apoptozę (apoptosis inducig factor – AIF) bądź na skutek stresu oksydacyjnego. Jak wykazano, peptyd $A\beta$ 42 i amylin indukują mechanizm apoptozy przebiegającej zarówno w oparciu o szlak zależny od kaspaz, jak i szlak mitochondrialny od kaspaz niezależny. Zastosowanie blokerów receptora amyliny wpływa neuroprotekccyjnie na badane komórki nerwowe, gdyż prowadzi do osłabienia toksycznych efektów indukowanych przez oba peptydy zarówno zależnie od kaspaz, jak i niezależnie. Pozytywne efekty zastosowania antagonisty receptora amyliny potwierdzono także z zastosowaniem komórek nerwiaka płodowego współczulnego (neuroblastoma) [72,151].

Analiza ekspresji genów pro- i antyapoptotycznych indukowanych w ludzkich neuronach płodowych pod wpływem fibrylotwórczej amyliny ludzkiej i oligomerów peptydu $A\beta$ 42 wykazała liczne podobieństwa w profilu indukowanych genów. Efektów takich nie zaobserwowano w przypadku amyliny szczura czy peptydu A- β o odwrotnej sekwencji 42-1. Osłabienie ekspresji genów wykazano, gdy zastosowano blokery receptora amyliny przed zastosowaniem badanych peptydów. Choć zaobserwowano pewne różnice w mechanizmach działania peptydu $A\beta$ 42 i amyliny na szlaku apoptozy, nie podważa to jednak ogólnej koncepcji uruchamiania podobnych mechanizmów przez oba peptydy [73].

Wydaje się, że do listy receptorów peptydu $A\beta$ 42 wpisano poważnego kandydata, którym jest receptor amyliny – AMY3. Wyniki ostatnich prac z zastosowaniem embryonalnych komórek nerek ze stabilną ekspresją receptora amyliny AMY3 (HEK293) potwierdzają słuszność tej koncepcji. Jedynie w tym modelu wykazano, zależną od czasu i stężenia, toksyczność zarówno amyliny ludzkiej jak i peptydu $A\beta$ 42 wobec badanych komórek. Gdy badaniu poddano komórki nerek z ekspresją innych receptorów amyliny np. AMY1 i AMY2 bądź z ekspresją elementów receptora AMY3, tj. białek CTR lub RAMP3, nie obserwowano zmian w ich przeżywalności pod wpływem badanych peptydów.

Zarówno amylin ludzka, jak i peptyd $A\beta$ 42 prowadzą, w komórkach z ekspresją receptora AMY3, do wzrostu poziomu cAMP i jonów wapnia, aktywują w komórkach liczne, wspólne szlaki transdukcji sygnałów w oparciu o szlak fosforylacji kinaz, np.: zależną cAMP kinazę białkową A, z grupy kinaz serynowo-treoninowych aktywowanych przez mitogeny (mitogen activated protein kinases – MAP) białka ERK 1/2 (extracellular signal regulated kinase), kinazę białkową B (Akt). Podwyższają one także poziom czynnika transkrypcyjnego cFos i prowadzą do deregulacji funkcji retikulum endoplazmatycznego i mitochondriów [43].

Jak wykazano obydwa fibrylujące peptydy amylin i $A\beta$ są neurotoksyczne i łączy je podobieństwo uruchamianych

szlaków sygnałowych w komórkach nerwowych. W obserwowaną neurotoksyczność są zaangażowane podobne receptorowe glikoproteiny adhezyjne – integryny. Integryny wobec składników macierzy zewnątrzkomórkowej pełnią rolę białek receptorowych, a ponadto – jako białka adhezyjne – wykorzystywane są przez komórkę do utrzymania kontaktu macierzy zewnątrzkomórkowej i cytoszkieletu komórki. W mechanizm neurotoksyczności obu peptydów zaangażowane są: integryna $\alpha 2\beta 1$ i $\alpha V\beta 1$, które ułatwiają odkładanie depozytów peptydowych uczestnicząc w postępującej neurodegeneracji [151,165,166].

PODSUMOWANIE

Wiele wyników badań wskazuje na istniejący związek między chorobą Alzheimera i stanem hiperglikemii, a tym samym sugeruje na współzależność rozwoju dwóch chorób: Alzheimera i cukrzycy – zwłaszcza cukrzycy typu 2. Liczne czynniki podwyższające ryzyko rozwoju obu chorób nadal pozostają nieuchwytnie. Jeszcze inne, np. czynnik genetyczny, czy w przypadku cukrzycy typu 2 przynależność do pewnych grup etnicznych, są w ogóle niemożliwe do wyeliminowania.

Podwyższony poziom glukozy we krwi, rozwijająca się insulinooporność tkanek obwodowych i zaburzona dostępność glukozy do komórek, postępujące uszkodzenie komórek naczyń krwionośnych i rozwijający się proces zapalny dotyczą także komórek mózgu. Taki stan patologiczny jest niekorzystny dla całego organizmu, jednak w przypadku komórek mózgu stanowi szczególnie poważne zagrożenie. Na tym tle ryzyko rozwoju choroby Alzheimera jest znacząco podwyższone. Obniżony poziom insuliny w mózgu pacjentów z chorobą Alzheimera wydaje się potwierdzać taki związek [89]. Na podstawie badań *post mortem* mózgu osób chorych wykryto związek tej choroby z zaburzeniem szlaków przekazywania sygnałów komórkowych insuliny. W 2005 r. pojawił się w piśmiennictwie nowy termin, wprowadzony przez neuropatologów: cukrzyca typu 3, obejmujący elementy charakterystyczne dla cukrzycy typu 1 i 2. Były nimi: obniżony poziom glukozy i współistniejąca insulinooporność, czyli oporność receptorów insuliny wynikająca z mniejszej ich liczby i zmniejszonego powinowactwa receptora do insuliny, a także obniżony poziom, zależny od insuliny białka tau [32,33,89].

Podjęcie próby zapobieżenia rozwojowi cukrzycy nie wyeliminuje całkowicie ryzyka rozwoju choroby Alzheimera. Wydaje się jednak, że działanie takie może się przynajmniej przyczynić do zminimalizowania dynamiki i tempa jej rozwoju, a także do złagodzenia negatywnych skutków, zwłaszcza w postaci postępującej demencji. Obserwacja, że insulinooporność jest jednym z wcześniejszych objawów choroby Alzheimera i to, że zastosowanie leków normalizujących działanie szlaków sygnalizacji za pośrednictwem insuliny poprawia czynności poznawcze i sprawność mózgu budzą nadzieję. Wczesne wykrycie stanu hiperglikemii może mieć ogromne znaczenie kliniczne i służyć także profilaktyce chorób neurologicznych.

Obserwowane zjawisko współistnienia cukrzycy i innej neurodegeneracyjnej choroby, tj. choroby Parkinsona, także związanej z odkładaniem fibrylującego białka – synukleiny, wydaje się potwierdzać sugerowany związek pozornie odległych chorób. Badania epidemiologiczne przeprowadzone na Tajwanie ujawniły, że cukrzyca stanowi czynnik rozwoju choroby Parkinsona. Jednocześnie zauważono, że u osób chorych na cukrzycę takie czynniki jak płeć (kobiety) i wiek (osoby w młodym wieku) mają znaczenie, gdyż predysponują do rozwoju choroby Parkinsona. Także i w przypadku rozwoju tej choroby rysują się pewne wspólne dla cukrzycy i choroby neurodegeneracyjnej mechanizmy, którymi są stres oksydacyjny związany z toczącym się procesem zapalnym, a także zaburzenia szlaków insuliny [142]. Odkrycie wspólnego dla peptydu A β 42 i amyliny receptora AMY3, otwiera nowe możliwości w poszukiwaniu czynników terapeutycznych nie tylko choroby Alzheimera, ale być może i cukrzycy typu 2. Badania interakcji obu peptydów i odkryte efekty hamujące proces fibrylacji także są niezwykle obiecujące.

Liczne dowody wskazują, że komórki odległych topograficznie narządów, tj. komórki trzustki i mózgu łączą nie tylko wspomniane wyżej mechanizmy związane z zaburzonym metabolizmem glukozy, ale wiele innych, wspólnych szlaków regulacyjnych szeroko rozumianego metabolizmu komórek. Wiele z nich nadal pozostaje jednak nierozpoznanych. Niemniej odkrywane podobieństwa pozwalają na postawienie coraz śmieiej pytania: czy choroba Alzheimera to cukrzyca mózgu, a cukrzyca postrzegana jako choroba trzustki, to choroba Alzheimera tego narządu? Obecnie nie jest znana ostateczna odpowiedź na to pytanie.

PIŚMIENNICTWO

[1] Abdul-Rahman O., Sasvari-Szekely M., Ver A., Rosta K., Szasz B.K., Kereszturi E., Keszler G.: Altered gene expression profiles in the hippocampus and prefrontal cortex of type 2 diabetic rats. *BMC Genomics*, 2012; 13: 81

[2] Abedini A., Raleigh D.P.: Destabilization of human IAPP amyloid fibrils by proline mutations outside of the putative amyloidogenic domain: is there a critical amyloidogenic domain in human IAPP? *J. Mol. Biol.*, 2006; 355: 274-281

[3] Accardi G., Caruso C., Colonna-Romano G., Camarda C., Monastero R., Candore G.: Can Alzheimer disease be a form of type 3 diabetes? *Rejuvenation Res.*; 2012; 15: 217-221

[4] Andreetto E., Yan L.M., Caporale A., Kapurniotu A.: Dissecting the role of single regions of an IAPP mimic and IAPP in inhibition of A β 40 amyloid formation and cytotoxicity. *Chembiochem.*, 2011; 12: 1313-1322

[5] Andreetto E., Yan L.M., Tatarek-Nossol M., Velkova A., Frank R., Kapurniotu A.: Identification of hot regions of the A β -IAPP inte-

- reaction interface as high-affinity binding sites in both cross – and self-association. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2010; 49: 3081-3085
- [6] Badman M.K., Shennan K.I., Jermamy J.L., Docherty K., Clark A.: Processing of pro-islet amyloid polypeptide (proIAPP) by the pro-hormone convertase PC2. *FEBS Lett.*, 1996; 378: 227-231
- [7] Baglioni S., Casamenti F., Bucciantini M., Luheshi L.M., Taddei N., Chiti F., Dobson C.M., Stefani M.: Prefibrillar amyloid aggregates could be generic toxins in higher organisms. *J. Neurosci.*, 2006; 26: 8160-8167
- [8] Bennett R.G., Duckworth W.C., Hamel F.G.: Degradation of amylin by insulin-degrading enzyme. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 36621-36625
- [9] Bennett R.G., Hamel F.G., Duckworth W.C.: An insulin-degrading enzyme inhibitor decreases amylin degradation, increases amylin-induced cytotoxicity, and increases amyloid formation in insulinoma cell cultures. *Diabetes*, 2003; 52: 2315-2320
- [10] Betsholtz C., Christmanson L., Engström U., Rorsman F., Svensson V., Johnson K.H., Westermark P.: Sequence divergence in a specific region of islet amyloid polypeptide (IAPP) explains differences in islet amyloid formation between species. *FEBS Lett.*, 1989; 251: 261-264
- [11] Biessels G.J., Kappelle L.J., Utrecht Diabetic Encephalopathy Study Group: Increased risk of Alzheimer's disease in Type II diabetes: insulin resistance of the brain or insulin-induced amyloid pathology? *Biochem. Soc. Trans.*, 2005; 33: 1041-1044
- [12] Biessels G.J., Staekenborg S., Brunner E., Brayne C., Scheltens P.: Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol.*, 2006; 5: 64-74
- [13] Bonner-Weir S., O'Brien T.D.: Islets in type 2 diabetes: in honor of Dr. Robert C. Turner. *Diabetes*, 2008; 57: 2899-2904
- [14] Born W., Fischer J.A.: The calcitonin peptide family: what can we learn from receptor knock out and transgenic mice. W: The Calcitonin Gene-related Peptide Family: Form, Function and Future Perspectives, red.: D.L. Hay, I.M. Dickerson. Springer Science+Business Media B.V 2010, 75-86
- [15] Born W., Fischer J.A., Muff R.: Receptors for calcitonin gene-related peptide, adrenomedullin, and amylin: the contributions of novel receptor-activity-modifying proteins. *Receptors Channels*, 2002; 8: 201-209
- [16] Born W., Muff R., Fischer J.A.: Functional interaction of G protein-coupled receptors the adrenomedullin peptide family with accessory receptor-activity-modifying proteins (RAMP). *Microsc. Res. Tech.*, 2002; 57: 14-22
- [17] Bosco D., Plastino M., Cristiano D., Colica C., Ermio C., De Bartolo M., Mungari P., Fonte G., Consoli D., Consoli A., Fava A.: Dementia is associated with insulin resistance in patients with Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci.*, 2012; 315: 39-43
- [18] Castillo G.M., Cummings J.A., Yang W., Judge M.E., Sheardown M.J., Rimvall K., Hansen J.B., Snow A.D.: Sulfate content and specific glycosaminoglycan backbone of perlecan are critical for perlecan's enhancement of islet amyloid polypeptide (amylin) fibril formation. *Diabetes*, 1998; 47: 612-620
- [19] Chargé S.B., Esiri M.M., Bethune C.A., Hansen B.C., Clark A.: Apolipoprotein E is associated with islet amyloid and other amyloidoses: implications for Alzheimer's disease. *J. Pathol.*, 1996; 179: 443-447
- [20] Cheng D., Noble J., Tang M.X., Schupf N., Mayeux R., Luchsinger J.A.: Type 2 diabetes and late-onset Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, 2011; 31: 424-430
- [21] Clark A., Saad M.F., Nezzet T., Uren C., Knowler W.C., Bennett P.H., Turner R.C.: Islet amyloid polypeptide in diabetic and non-diabetic Pima Indians. *Diabetologia*, 1990; 33: 285-289
- [22] Cookson M.R.: α -Synuclein and neuronal cell death. *Mol. Neurodegener.*, 2009; 4: 9
- [23] Cooper G.J.: Amylin compared with calcitonin gene-related peptide: structure, biology, and relevance to metabolic disease. *Endocr. Rev.*, 1994; 15: 163-201
- [24] Cooper G.J., Willis A.C., Clark A., Turner R.C., Sim R.B., Reid K.B.: Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 8628-8632
- [25] Cooper G.J., Willis A.C., Reid K.B., Clark A., Baker C.A., Turner R.C., Lewis C.E., Morris J.F., Howland K., Rothbard J.B.: Diabetes-associated peptide. *Lancet*, 1987; 2: 966
- [26] Czakó L., Hegyi P., Rakonczay Z.Jr., Wittmann T., Otsuki M.: Interactions between the endocrine and exocrine pancreas and their clinical relevance. *Pancreatol.*, 2009; 9: 351-359
- [27] D'Este L., Casini A., Wimalawansa S.J., Renda T.G.: Immunohistochemical localization of amylin in rat brainstem. *Peptides*, 2000; 21: 1743-1749
- [28] D'Este L., Wimalawansa S.J., Renda T.G.: Distribution of amylin-immunoreactive neurons in the monkey hypothalamus and their relationships with the histaminergic system. *Arch. Histol. Cytol.*, 2001; 64: 295-303
- [29] Dahlgren K.N., Manelli A.M., Stine W.B.Jr., Baker L.K., Krafft G.A., LaDu M.J.: Oligomeric and fibrillar species of amyloid- β peptides differentially affect neuronal viability. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 32046-32053
- [30] De Felice F.G., Wu D., Lambert M.P., Fernandez S.J., Velasco P.T., Lacor P.N., Bigio E.H., Jerecic J., Acton P.J., Shughrue P.J., Chen-Dodson E., Kinney G.G., Klein W.J.: Alzheimer's disease-type neuronal tau hyperphosphorylation induced by A β oligomers. *Neurobiol. Aging*, 2008; 29: 1334-1347
- [31] de Koning E.J., Morris E.R., Hofhuis F.M., Posthuma G., Höppener J.W., Morris J.F., Capel P.J., Clark A., Verbeek J.S.: Intra- and extracellular amyloid fibrils are formed in cultured pancreatic islets of transgenic mice expressing human islet amyloid polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 8467-8471
- [32] de la Monte S.M.: Brain insulin resistance and deficiency as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.*, 2012; 9: 35-66
- [33] de la Monte S.M.: Contributions of brain insulin resistance and deficiency in amyloid-related neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Drugs*, 2012; 72: 49-66
- [34] de la Monte S.M., Wands J.R.: Alzheimer's disease is type 3 diabetes – evidence reviewed. *J. Diabetes Sci. Technol.*, 2008; 2: 1101-1113
- [35] DeToma A.S., Salamekh S., Ramamoorthy A., Lim M.H.: Misfolded proteins in Alzheimer's disease and type II diabetes. *Chem. Soc. Rev.*, 2012; 41: 608-621
- [36] Dobolyi A.: Central amylin expression and its induction in rat dams. *J. Neurochem.*, 2009; 111: 1490-1500
- [37] Dobolyi A.: Novel potential regulators of maternal adaptations during lactation: tuberoinfundibular peptide 39 and amylin. *J. Neuroendocrinol.*, 2011; 23: 1002-1008
- [38] Dorfman V.B., Pasquini L., Riudavets J., López-Costa J.J., Villegas A., Troncoso J.C., Lopera F., Castano E.M., Morelli L.: Differential cerebral deposition of IDE and NEP in sporadic and familial Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, 2010; 31: 1743-1757
- [39] Eanes E.D., Glenner G.G.: X-ray diffraction studies on amyloid filaments. *J. Histochem. Cytochem.*, 1968; 16: 673-677
- [40] Fändrich M., Meinhardt J., Grigorieff N.: Structural polymorphism of Alzheimer A β and other amyloid fibrils. *Prion*, 2009; 3: 89-93
- [41] Fändrich M., Schmidt M., Grigorieff N.: Recent progress in understanding Alzheimer's β -amyloid structures. *Trends Biochem. Sci.*, 2011; 36: 338-345

- [42] Filipek B.: Postępy w farmakoterapii cukrzycy typu 2 i chorób układu sercowo-naczyniowego w cukrzycy. *Terapia i leki*, 2009; 65: 425-438
- [43] Fu W., Ruangkittisakul A., MacTavish D., Shi J.Y., Ballanyi K., Jhamandas J.H.: Amyloid β (A β) peptide directly activates amylin-3 receptor subtype by triggering multiple intracellular signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 18820-18830
- [44] Ganong W.F.: Circumventricular organs: definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2000; 27: 422-427
- [45] Gao C., Hölscher C., Liu Y., Li L.: GSK3: a key target for the development of novel treatments for type 2 diabetes mellitus and Alzheimer disease. *Rev. Neurosci.*, 2011; 23: 1-11
- [46] Ghiso J.A., Holton J., Miravalle L., Calero M., Lashley T., Vidal R., Houlden H., Wood N., Neubert T.A., Rostagno A., Plant G., Revesz T., Frangione B.: Systemic amyloid deposits in familial British dementia. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 43909-43914
- [47] Goldsbury C., Goldie K., Pellaud J., Seelig J., Frey P., Müller S.A., Kistler J., Cooper G.J., Aebi U.: Amyloid fibril formation from full-length and fragments of amylin. *J. Struct. Biol.*, 2000; 130: 352-362
- [48] Górska-Ciebiada M., Ciebiada M., Barylski M., Loba J.: Cukrzyca u osób w wieku podeszłym w świetle nowych wytycznych Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Geriatrics*, 2009; 3: 228-233
- [49] Götz J., Ittner L.M., Lim Y.A.: Common features between diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 1321-1325
- [50] Green J., Goldsbury C., Mini T., Sunderji S., Frey P., Kistler J., Cooper G., Aebi U.: Full-length rat amylin forms fibrils following substitution of single residues from human amylin. *J. Mol. Biol.*, 2003; 326: 1147-1156
- [51] Groenning M.: Binding mode of thioflavin T and other molecular probes in the context of amyloid fibrils – current status. *J. Chem. Biol.*, 2010; 3: 1-18
- [52] Guan H., Chow K.M., Shah R., Rhodes C.J., Hersh L.B.: Degradation of islet amyloid polypeptide by neprilysin. *Diabetologia*, 2012; 55: 2989-2998
- [53] Harrison R.S., Sharpe P.C., Singh Y., Fairlie D.P.: Amyloid peptides and proteins in review. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 2007; 159: 1-77
- [54] Hay D.L., Christopoulos G., Christopoulos A., Sexton P.M.: Amylin receptors: molecular composition and pharmacology. *Biochem. Soc. Trans.*, 2004; 32: 865-867
- [55] Hayden M.R., Tyagi S.C.: "A" is for amylin and amyloid in type 2 diabetes mellitus. *JOP*, 2001; 2: 124-139
- [56] Helisalmi S., Hiltunen M., Vepsäläinen S., Iivonen S., Mannermaa A., Lehtovirta M., Koivisto A.M., Alafuzoff I., Soininen H.: Polymorphisms in neprilysin gene affect the risk of Alzheimer's disease in Finnish patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2004; 75: 1746-1748
- [57] Heller R.S., Jenny M., Collombat P., Mansouri A., Tomasetto C., Madsen O.D., Mellitzer G., Gradwohl G., Serup P.: Genetic determinants of pancreatic ϵ -cell development. *Dev. Biol.*, 2005; 286: 217-224
- [58] Hersh L.B., Rodgers D.W.: Neprilysin and amyloid beta peptide degradation. *Curr. Alzheimer Res.*, 2008; 5: 225-231
- [59] Hölscher C.: Diabetes as a risk factor for Alzheimer's disease: insulin signalling impairment in the brain as an alternative model of Alzheimer's disease. *Biochem. Soc. Trans.*, 2011; 39: 891-897
- [60] Hossain P., Kavar B., El Nahas M.: Obesity and diabetes in the developing world – a growing challenge. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 356: 213-215
- [61] Howard C.F.Jr.: Diabetes in *Macaca nigra*: metabolic and histologic changes. *Diabetologia*, 1974; 10 (Suppl. 1): 671-677
- [62] Howard C.F.Jr.: Insular amyloidosis and diabetes mellitus in *Macaca nigra*. *Diabetes*, 1978; 27: 357-364
- [63] Howard C.F.Jr., Van Bueren A.: Changes in islet cell composition during development of diabetes in *Macaca nigra*. *Diabetes*, 1986; 35: 165-171
- [64] Howlett D.R.: Neurotoxicity of the Alzheimer's β -amyloid peptide. Spectroscopic and microscopic studies, bioimaging in neurodegeneration. *Handbook of Environmental Engineering*, 2005; 2: 61-74
- [65] Hubbard J.A., Martin S.R., Chaplin L.C., Bose C., Kelly S.M., Price N.C.: Solution structures of calcitonin-gene-related-peptide analogues of calcitonin-gene-related peptide and amylin. *Biochem. J.*, 1991; 275: 785-788
- [66] Jabłońska-Trypuć A., Czerpak R.: Rola nieenzymatycznej glikozylacji białek w procesach starzenia organizmu i patogenezie chorób wieku podeszłego. *Post. Biol. Kom.*, 2007; 34: 683-693
- [67] Jaikaran E.T., Higham C.E., Serpell L.C., Zurdo J., Gross M., Clark A., Fraser P.E.: Identification of a novel human islet amyloid polypeptide β -sheet domain and factors influencing fibrillogenesis. *J. Mol. Biol.*, 2001; 308: 515-525
- [68] Janson J., Laedtke T., Parisi J.E., O'Brien P., Petersen R.C., Butler P.C.: Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes*, 2004; 53: 474-481
- [69] Janson J., Soeller W.C., Roche P.C., Nelson R.T., Torchia A.J., Kreutter D.K., Butler P.C.: Spontaneous diabetes mellitus in transgenic mice expressing human islet amyloid polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 7283-7288
- [70] Jhamandas J.H., Cho C., Jassar B., Harris K., MacTavish D., Easaw J.: Cellular mechanisms for amyloid β -protein activation of rat cholinergic basal forebrain neurons. *J. Neurophysiol.*, 2001; 86: 1312-1320
- [71] Jhamandas J.H., Harris K.H., Cho C., Fu W., MacTavish D.: Human amylin actions on rat cholinergic basal forebrain neurons: antagonism of beta-amyloid effects. *J. Neurophysiol.*, 2003; 89: 2923-2930
- [72] Jhamandas J.H., Li Z., Westaway D., Yang J., Jassar S., MacTavish D.: Actions of β -amyloid protein on human neurons are expressed through the amylin receptor. *Am. J. Pathol.*, 2011; 178: 140-149
- [73] Jhamandas J.H., MacTavish D.: β -Amyloid protein (A β) and human amylin regulation of apoptotic genes occurs through the amylin receptor. *Apoptosis*, 2012; 17: 37-47
- [74] Jhamandas J.H., MacTavish D.: Antagonist of the amylin receptor blocks β -amyloid toxicity in rat cholinergic basal forebrain neurons. *J. Neurosci.*, 2004; 24: 5579-5584
- [75] Johnson K.H., Hayden D.W., O'Brien T.D., Westermark P.: Spontaneous diabetes mellitus-islet amyloid complex in adult cats. *Am. J. Pathol.*, 1986; 125: 416-419
- [76] Johnson K.H., Stevens J.B.: Light and electron microscopic studies of islet amyloid in diabetic cats. *Diabetes*, 1973; 22: 81-90
- [77] Johnson K.H., Wernstedt C., O'Brien T.D., Westermark P.: Amyloid in the pancreatic islets of the cougar (*Felis concolor*) is derived from islet amyloid polypeptide (IAPP). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 1991; 98: 115-119
- [78] Kahn S.E., D'Alessio D.A., Schwartz M.W., Fujimoto W.Y., Ensinck J.W., Taborsky G.Jr., Porte D.Jr.: Evidence of cosecretion of islet amyloid polypeptide and insulin by beta-cells. *Diabetes*, 1990; 39: 634-638
- [79] 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
- [80] Kawahara M., Kuroda Y., Arispe N., Rojas E.: Alzheimer's β -amyloid, human islet amylin, and prion protein fragment evoke intracellular free calcium elevations by a common mechanism in a hypothalamic GnRH neuronal cell line. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 14077-14083

- [81] Kawarabayashi T., Shoji M., Sato M., Sasaki A., Ho L., Eckman C.B., Prada C.M., Younkin S.G., Kobayashi T., Tada N., Matsubara E., Iizuka T., Harigaya Y., Kasai K., Hirai S.: Accumulation of β -amyloid fibrils in pancreas of transgenic mice. *Neurobiol. Aging*, 1996; 17: 215-222
- [82] Kaye R., Head E., Thompson J.L., McIntire T.M., Milton S.C., Cotman C.W., Glabe C.G.: Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science*, 2003; 300: 486-489
- [83] Kelényi S.G.: On the histochemistry of azo group-free thiazole dyes. *J. Histochem. Cytochem.*, 1967; 15: 172-180
- [84] Kirschner D.A., Abraham C., Selkoe D.J.: X-ray diffraction from intraneuronal paired helical filaments and extraneuronal amyloid fibers in Alzheimer disease indicates cross-beta conformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 503-507
- [85] Kodiha M., Stochaj U.: AMP kinase: the missing link between type 2 diabetes and neurodegenerative diseases? *Trends Mol. Med.*, 2011; 17: 613-614
- [86] Korzeniowska K., Jabłeczka A.: Cukrzyca (Część I). *Farmacja Współczesna*, 2008; 1: 231-235
- [87] Kowalska A.: Hipoteza kaskady β -amyloidu – sekwencja wydarzeń prowadzących do neurodegeneracji w chorobie Alzheimer. *Neurol. Neurochir. Pol.*, 2004; 38: 405-411
- [88] Kowalska A.: Genetyka zespołów otępiennych. Część 2: Biologia choroby Alzheimer. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 287-295
- [89] Kroner Z.: The relationship between Alzheimer's disease and diabetes: type 3 diabetes. *Altern. Med. Rev.*, 2009; 14: 373-379
- [90] Lambert M.P., Barlow A.K., Chromy B.A., Edwards C., Freed R., Liosatos M., Morgan T.E., Rozovsky I., Trommer B., Viola K.L., Wals P., Zhang C., Finch C.E., Krafft G.A., Klein W.L.: Diffusible, nonfibrillar ligands derived from $A\beta$ 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 6448-6453
- [91] Langkilde A.E., Vestergaard B.: Methods for structural characterization of prefibrillar intermediates and amyloid fibrils. *FEBS Lett.*, 2009; 583: 2600-2609
- [92] Larson M.E., Lesné S.E.: Soluble $A\beta$ oligomer production and toxicity. *J. Neurochem.*, 2012; 120 (Suppl. 1): 125-139
- [93] Leathers C.W., Schedewie H.K.: Diabetes mellitus in a pig-tailed macaque (*Macaca nemestrina*). *J. Med. Primatol.*, 1980; 9: 95-100
- [94] Leckström A., Björklund K., Permert J., Larsson R., Westermark P.: Renal elimination of islet amyloid polypeptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997; 239: 265-268
- [95] LeVine H.3rd.: Quantification of β -sheet amyloid fibril structures with thioflavin T. *Methods Enzymol.*, 1999; 309: 274-284
- [96] Lim Y.A., Ittner L.M., Lim Y.L., Gotz J.: Human but not rat amylin shares neurotoxic properties with $A\beta$ 42 in long-term hippocampal and cortical cultures. *FEBS Lett.*, 2008; 582: 2188-2194
- [97] Lim Y.A., Rhein V., Baysang G., Meier F., Poljak A., Raftery M.J., Guilhaus M., Ittner L.M., Eckert A., Götz J.: $A\beta$ and human amylin share a common toxicity pathway via mitochondrial dysfunction. *Proteomics*, 2010; 10: 1621-1633
- [98] Lin C.Y., Gurlo T., Kaye R., Butler A.E., Haataja L., Glabe C.G., Butler P.C.: Toxic human islet amyloid polypeptide (h-IAPP) oligomers are intracellular, and vaccination to induce anti-toxic oligomer antibodies does not prevent h-IAPP-induced β -cell apoptosis in h-IAPP transgenic mice. *Diabetes*, 2007; 56: 1324-1332
- [99] Lorenzo A., Yankner B.A.: Amyloid fibril toxicity in Alzheimer's disease and diabetes. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1996; 777: 89-95
- [100] Lukinius A., Wilander E., Westermark G.T., Engström U., Westermark P.: Co-localization of islet amyloid polypeptide and insulin in the B cell secretory granules of the human pancreatic islets. *Diabetologia*, 1989; 32: 240-244
- [101] Makin O.S., Serpell L.C.: Structural characterisation of islet amyloid polypeptide fibrils. *J. Mol. Biol.*, 2004; 335: 1279-1288
- [102] Marx J.: Alzheimer's disease. A new take on tau. *Science*, 2007; 316: 1416-1417
- [103] Marzban L., Soukhatcheva G., Verchere C.B.: Role of carboxypeptidase E in processing of pro-islet amyloid polypeptide in β -cells. *Endocrinology*, 2005; 146: 1808-1817
- [104] Maskevich A.A., Stsiapura V.I., Kuzmitsky V.A., Kuznetsova I.M., Povarova O.I., Uversky V.N., Turoverov K.K.: Spectral properties of thioflavin T in solvents with different dielectric properties and in a fibril-incorporated form. *J. Proteome Res.*, 2007; 6: 1392-1401
- [105] Mattson M.P., Goodman Y.: Different amyloidogenic peptides share a similar mechanism of neurotoxicity involving reactive oxygen species and calcium. *Brain Res.*, 1995; 676: 219-224
- [106] Meier J.J., Kaye R., Lin C.Y., Gurlo T., Haataja L., Jayasinghe S., Langen R., Glabe C.G., Butler P.C.: Inhibition of human IAPP fibril formation does not prevent β -cell death: evidence for distinct actions of oligomers and fibrils of human IAPP. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 291: E1317-E1324
- [107] Miklossy J., Qing H., Radenovic A., Kis A., Vileno B., Laszló F., Miller L., Martins R.N., Waeber G., Mooser V., Bosman F., Khalili K., Darbinian N., McGeer P.L.: Beta amyloid and hyperphosphorylated tau deposits in the pancreas in type 2 diabetes. *Neurobiol. Aging*, 2010; 31: 1503-1515
- [108] Miners J.S., Baig S., Tayler H., Kehoe P.G., Love S.: Neprilysin and insulin-degrading enzyme levels are increased in Alzheimer disease in relation to disease severity. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2009; 68: 902-914
- [109] Mosselman S., Hoppener J.W., Lips C.J., Jansz H.S.: The complete islet amyloid polypeptide precursor is encoded by two exons. *FEBS Lett.*, 1989; 247: 154-158
- [110] Mrak R.E.: Microglia in Alzheimer brain: a neuropathological perspective. *Int. J. Alzheimers Dis.*, 2012; 2012: 165021
- [111] Mulder H.: Expression of islet amyloid polypeptide. Localization and regulation in the pancreatic islets, gastrointestinal tract and sensory nervous system. PhD thesis, University of Lund, Sweden, 1997
- [112] Mulder H., Ahren B., Sundler F.: Applications of in situ hybridization and immunocytochemistry for localization and quantification of peptide gene expression – a lesson from islet amyloid polypeptide. W: Theory, applications and protocols. Analytical morphology: theory, applications, and protocols. red.: J. Gu. Birkhäuser 1997: 113-138
- [113] Mulder H., Leckström A., Uddman R., Ekblad E., Westermark P., Sundler F.: Islet amyloid polypeptide (amylin) is expressed in sensory neurons. *J. Neurosci.*, 1995; 15: 7625-7632
- [114] Naot D., Cornish J.: The role of peptides and receptors of the calcitonin family in the regulation of bone metabolism. *Bone*, 2008; 43: 813-818
- [115] Nelson R., Sawaya M.R., Balbirnie M., Madsen A.Ø., Riekel C., Grothe R., Eisenberg D.: Structure of the cross- β spine of amyloid-like fibrils. *Nature*, 2005; 435: 773-778
- [116] Nicolls M.R.: The clinical and biological relationship between Type II diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.*, 2004; 1: 47-54
- [117] Nicolls M.R., D'Antonio J.M., Hutton J.C., Gill R.G., Czernog J.L., Duncan M.W.: Proteomics as a tool for discovery: proteins implicated in Alzheimer's disease are highly expressed in normal pancreatic islets. *J. Proteome Res.*, 2003; 2: 199-205
- [118] Nishi M., Chan S.J., Nagamatsu S., Bell G.I., Steiner D.F.: Conservation of the sequence of islet amyloid polypeptide in five mammals is consistent with its putative role as an islet hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 5738-5742

- [119] Nishi M., Sanke T., Nagamatsu S., Bell G.I., Steiner D.F.: Islet amyloid polypeptide. A new β cell secretory product related to islet amyloid deposits. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 4173-4176
- [120] Nishi M., Sanke T., Seino S., Eddy R.L., Fan Y.S., Byers M.G., Shows T.B., Bell G.I., Steiner D.F.: Human islet amyloid polypeptide gene: complete nucleotide sequence, chromosomal localization, and evolutionary history. *Mol. Endocrinol.*, 1989; 3: 1775-1781
- [121] Nowak J.K.: Rola kinazy syntazy glikogenu $\beta 3$ w chorobach órodkowego układu nerwowego. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia*, 2011; 6: 25-35
- [122] Ogoshi M., Inoue K., Naruse K., Takei Y.: Evolutionary history of the calcitonin gene-related peptide family in vertebrates revealed by comparative genomic analyses. *Peptides*, 2006; 27: 3154-3164
- [123] Ohagi S., Nishi M., Bell G.I., Ensink J.W., Steiner D.F.: Sequences of islet amyloid polypeptide precursor of an Old World monkey, the pig-tailed macaque (*Macaca nemestrina*) and the dog (*Canis familiaris*). *Diabetologia*, 1991; 34: 555-558
- [124] Paravastu A.K., Leapman R.D., Yau W.M., Tycko R.: Molecular structural basis for polymorphism in Alzheimer's β -amyloid fibrils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 18349-18354
- [125] Patel A.N., Jhamandas J.H.: Neuronal receptors as targets for the action of amyloid-beta protein ($A\beta$) in the brain. *Expert Rev. Mol. Med.*, 2012; 14: e2
- [126] Paulsson J.F., Andersson A., Westermark P., Westermark G.T.: Intracellular amyloid-like deposits contain unprocessed pro-islet amyloid polypeptide (proIAPP) in beta cells of transgenic mice overexpressing the gene for human IAPP and transplanted human islets. *Diabetologia*, 2006; 49: 1237-1246
- [127] Pérez-Figuerá J.M., Jiménez A.J., Rodríguez E.M.: Subcommissural organ, cerebrospinal fluid circulation, and hydrocephalus. *Microsc. Res. Tech.*, 2001; 52: 591-607
- [128] Price C.J., Hoyda T.D., Ferguson A.V.: The area postrema: a brain monitor and integrator of systemic autonomic state. *Neuroscientist*, 2008; 14: 182-194
- [129] Rezaei-Ghaleh N., Andreetto E., Yan L.M., Kapurniotu A., Zweckstetter M.: Interaction between amyloid beta peptide and an aggregation blocker peptide mimicking islet amyloid polypeptide. *PLoS One*, 2011; 6: e20289
- [130] Riediger T., Zuend D., Becskei C., Lutz T.A.: 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
- [131] Rönnema E., Zethelius B., Sundelöf J., Sundström J., Degerman-Gunnarsson M., Berne C., Lannfelt L., Kilander L.: Impaired insulin secretion increases the risk of Alzheimer disease. *Neurology*, 2008; 71: 1065-1071
- [132] Roriz-Filho J.S., Sá-Roriz T.M., Rosset I., Camozzato A.L., Santos A.C., Chaves M.L., Moriguti J.C., Roriz-Cruz M.: (Pre)diabetes, brain aging, and cognition. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1792: 432-443
- [133] Roth J.D., Maier H., Chen S., Roland B.L.: Implications of amylin receptor agonism: integrated neurohormonal mechanisms and therapeutic applications. *Arch. Neurol.*, 2009; 66: 306-310
- [134] Seeliger J., Evers F., Jeworrek Ch., Kapoor S., Weise K., Andreetto E., Tolan M., Kapurniotu A., Winter R.: Cross-amyloid interaction of $A\beta$ and IAPP at lipid membranes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012; 51: 679-683
- [135] Serafin A., Molin J., Márquez M., Blasco E., Vidal E., Foradada L., Anor S., Rabanal R., Fondevila D., Bosch T., Pumarola M.: Diabetic neuropathy: electrophysiological and morphological study of peripheral nerve degeneration and regeneration in transgenic mice that express IFN β in β cells. *Muscle Nerve*, 2010; 41: 630-641
- [136] Sexton P.M., Albiston A., Morfis M., Tilakaratne N.: Receptor activity modifying proteins. *Cell. Signal.*, 2001; 13: 73-83
- [137] Shekhawat G.S., Lambert M.P., Sharma S., Velasco P.T., Viola K.L., Klein W.L., Dravid V.P.: Soluble state high resolution atomic force microscopy study of Alzheimer's - β -amyloid oligomers. *Appl. Phys. Lett.*, 2009; 95: 183701
- [138] Sobów T., Nagata K., Sikorska B., Magierski R., Bratosiewicz-Wąsik B., Jaskólski M., Liberski P.: Choroba Alzheimerera. *Aktualności Neurologiczne*, 2003; 3: 89-120
- [139] Song E.S., Juliano M.A., Juliano L., Hersh L.B.: Substrate activation of insulin-degrading enzyme (insulysin). A potential target for drug development. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 49789-49794
- [140] Stefani M.: Protein aggregation diseases: toxicity of soluble prefibrillar aggregates and their clinical significance. *Methods Mol. Biol.*, 2010; 648: 25-41
- [141] Stefani M.: Structural features and cytotoxicity of amyloid oligomers: implications in Alzheimer's disease and other diseases with amyloid deposits. *Prog. Neurobiol.*, 2012; 99: 226-245
- [142] Sun Y., Chang Y.H., Chen H.F., Su Y.H., Su H.F., Li C.Y.: Risk of Parkinson disease onset in patients with diabetes: a 9-year population-based cohort study with age and sex stratifications. *Diabetes Care*, 2012; 35: 1047-1049
- [143] Szabó E.R., Cservenák M., Dobolyi A.: Amylin is a novel neuropeptide with potential maternal functions in the rat. *FASEB J.*, 2012; 26: 272-281
- [144] Szwed A., Miłowska K.: Rola białek w chorobach neurodegeneracyjnych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 187-195
- [145] Takeda S., Sato N., Rakugi H., Morishita R.: Molecular mechanisms linking diabetes mellitus and Alzheimer disease: beta-amyloid peptide, insulin signaling, and neuronal function. *Mol. Biosyst.*, 2011; 7: 1822-1827
- [146] Takei Y., Ogoshi M., Wong M.K., Nobata S.: Molecular and functional evolution of the adrenomedullin family in vertebrates: what do fish studies tell us? *W: The Calcitonin Gene-related Peptide Family: Form, Function and Future Perspectives.* red.: D.L. Hay, I.M. Dickerson. Springer Science+Business Media B.V 2010, 1-20
- [147] Thies W., Bleiler L.: 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.*, 2011; 7: 208-244
- [148] Tilakaratne N., Christopoulos G., Zumpo E.T., Foord S.M., Sexton P.M.: Amylin receptor phenotypes derived from human calcitonin receptor/RAMP coexpression exhibit pharmacological differences dependent on receptor isoform and host cell environment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2000; 294: 61-72
- [149] Tomiyama T., Matsuyama S., Iso H., Umeda T., Takuma H., Ohnishi K., Ishibashi K., Teraoka R., Sakama N., Yamashita T., Nishitsuji K., Ito K., Shimada H., Lambert M.P., Klein W.L., Mori H.: A mouse model of amyloid β oligomers: their contribution to synaptic alteration, abnormal Tau phosphorylation, glial activation, and neuronal loss in vivo. *J. Neurosci.*, 2010; 30: 4845-4856
- [150] Tomiyama T., Nagata T., Shimada H., Teraoka R., Fukushima A., Kanemitsu H., Takuma H., Kuwano R., Imagawa M., Ataka S., Wada Y., Yoshioka E., Nishizaki T., Watanabe Y., Mori H.: A new amyloid β variant favoring oligomerization in Alzheimer's-type dementia. *Ann. Neurol.*, 2008; 63: 377-387
- [151] Tucker H.M., Rydel R.E., Wright S., Estus S.: Human amylin induces "apoptotic" pattern of gene expression concomitant with cortical neuronal apoptosis. *J. Neurochem.*, 1998; 71: 506-516
- [152] Umegaki H.: Neurodegeneration in diabetes mellitus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012; 724: 258-265
- [153] Vergara L., Abid K., Soto C.: Protein misfolding, a Common mechanism in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Handbo-*

ok of Neurochemistry and Molecular Neurobiology, Springer Science+Business Media, LLC; 2008; 285-304

[154] Viola K.L., Velasco P.T., Klein W.L.: Why Alzheimer's is a disease of memory: the attack on synapses by A beta oligomers (ADDLs). *J. Nutr. Health Aging*, 2008; 12: 51S-57S

[155] Wang K.C., Woung L.C., Tsai M.T., Liu C.C., Su Y.H., Li C.Y.: Risk of Alzheimer's disease in relation to diabetes: a population-based cohort study. *Neuroepidemiology*, 2012; 38: 237-244

[156] Watson D., Castano E., Kokjohn T.A., Kuo Y.M., Lyubchenko Y., Pinsky D., Connolly E.S.Jr., Esh C., Luehrs D.C., Stine W.B., Rowse L.M., Emmerling M.R., Roher A.E.: Physicochemical characteristics of soluble oligomeric A beta and their pathologic role in Alzheimer's disease. *Neurol. Res.*, 2005; 27: 869-881

[157] Westermark P., Andersson A., Westermark G.T.: Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. *Physiol. Rev.*, 2011; 91: 795-826

[158] Westermark P., Engström U., Johnson K.H., Westermark G.T., Betsholtz C.: Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 5036-5040

[159] Westermark P., Wernstedt C., Wilander E., Hayden D.W., O'Brien T.D., Johnson K.H.: Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuro peptide-like protein also present in normal islet cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 3881-3885

[160] 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

[161] WHO. Diabetes. Fact Sheet 312. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en (20.05.2013)

[162] Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H.: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 2004; 27: 1047-1053

[163] Williams T.L., Serpell L.C.: Membrane and surface interactions of Alzheimer's A beta peptide - insights into the mechanism of cytotoxicity. *FEBS J.*, 2011; 278: 3905-3917

[164] Wimalawansa S.J.: Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin, and adrenomedullin: a peptide superfamily. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 1997; 11: 167-239

[165] Wogulis M., Wright S., Cunningham D., Chilcote T., Powell K., Rydel R.E.: Nucleation-dependent polymerization is an essential component of amyloid-mediated neuronal cell death. *J. Neurosci.*, 2005; 25: 1071-1080

[166] Wright S., Malinin N.L., Powell K.A., Yednock T., Rydel R.E., Griswold-Prenner I.: $\alpha 2\beta 1$ and $\alpha V\beta 1$ integrin signaling pathways mediate amyloid- β -induced neurotoxicity. *Neurobiol. Aging*, 2007; 28: 226-237

[167] Wróbel M.: *Epidemiologia cukrzycy*, W: Strojek K. (red.), Diabetologia, Wydawnictwa Medyczne Termedia, Poznań 2008; 7-18

[168] Yanagi K., Ashizaki M., Yagi H., Sakurai K., Lee Y.H., Goto Y.: Hexafluoroisopropanol induces amyloid fibrils of islet amyloid polypeptide by enhancing both hydrophobic and electrostatic interactions. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 23959-23966

[169] Young A.: Receptor pharmacology. *Adv. Pharmacol.*, 2005; 52: 47-65

[170] Zhang X., Cheng B., Gong H., Li C., Chen H., Zheng L., Huang K.: Porcine islet amyloid polypeptide fragments are refractory to amyloid formation. *FEBS Lett.*, 2011; 585: 71-77

[171] Zimmet P., Alberti K.G., Shaw J.: Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 2001; 414: 782-787

[172] Zraika S., Aston-Mourney K., Marek P., Hull R.L., Green P.S., Udayasankar J., Subramanian S.L., Raleigh D.P., Kahn S.E.: Neprilysin impedes islet amyloid formation by inhibition of fibril formation rather than peptide degradation. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 8177-8183

[173] Zraika S., Hull R.L., Udayasankar J., Clark A., Utzschneider K.M., Tong J., Gerchman F., Kahn S.E.: Identification of the amyloid-degrading enzyme neprilysin in mouse islets and potential role in islet amyloidogenesis. *Diabetes*, 2007; 56: 304-310

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.