



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

مستويات الأميلين البلازمية
عند المرضى السكريين من النمط الثاني

**Plasma amylin Levels
in diabetic Patients Type 2**

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير
في الكيمياء الحيوية السريرية

إعداد: رؤى السمان

إشراف: أ.م.د سحر الشماح

مشاركة: أ.د يونس قبلان

1435 هـ - 2014 م

قائمة المحتويات

الدراسة النظرية

12	1- السكري Diabetes
12	1-1: تعريف
12	2-1: تصنيف السكري
15	3-1: مرحلة ما قبل السكري
16	2- زيادة الوزن والبدانة Overweight and Obesity
18	3- استتباب الجلوكوز Glucose homeostasis
18	1-3: تعريف
18	2-3: بعض الهرمونات المنظمة للجلوكوز في الدوران
20	1-2-3: الأنسولين Insulin
24	2-2-3: الجلوكاغون Glucagon
24	3-2-3: هرمونات الإنكريتين المعوية Incretin Hormones GLP-1 and GIP
25	4: الأميلين Amylin
25	1-4: البنية والاصطناع
28	2-4: مستقبلات الأميلين
30	3-4: تأثيرات الأميلين
30	1-3-4: تأثير الأميلين على إفراز الجلوكاغون بعد تناول الوجبة
31	2-3-4: تأثير الأميلين على الإفراغ المعدي
33	3-3-4: تأثير الأميلين على الشهية
34	4-4: دور الأميلين في بعض الحالات المرضية
35	1-4-4: فرضيات أسباب تشكل الرسابات النشوانية
36	2-4-4: الآلية السامة لعمل النشواني في خلايا β
38	3-4-4: تأثير رسابات الأميلين في بعض المضاعفات المرافقة للسكري نمط 2 والبدانة
39	4-4-4: تأثير رسابات الأميلين في رفض زرع جزر البنكرياس
40	5-4: بعض التطبيقات العلاجية الحالية والمستقبلية للأميلين
40	1-5-4: معالجة السكري
42	2-5-4: معالجة زيادة الوزن لدى البدينين
45	3-5-4: معالجة العظام
46	الدراسة العملية
47	1- هدف الدراسة Aim of study
47	2- مجموعات الدراسة Study groups
48	3- الاعتيان Sampling
49	1-3: استمارة البحث
50	4- المواد والطرق المستخدمة Materials and methods
50	1-4: تعيين منسب كتلة الجسم BMI
50	2-4: مقايصة الأميلين بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)
53	3-4: مقايصة الأنسولين بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)
55	4-4: مقايصة الجلوكوز
55	5-4: مقايصة الهيموغلوبين السكري HbA1c
56	6-4: مقايصة ثلاثيات الغليسيريد (Triglycerides)

57.....	7-4	مقايسة الكوليستيرول (Cholesterol)
58.....	8-4	مقايسة الكوليستيرول المنخفض الكثافة (LDL- Cholesterol)
58.....	9-4	مقايسة الكوليستيرول المرتفع الكثافة (HDL- Cholesterol)
58.....	5	الدراسة الإحصائية Statistical study
58.....	6	النتائج Results
59.....	1-6	تعيين قيم منسب كتلة الجسم (BMI) لدى مجموعات الدراسة
60.....	2-6	تعيين قيم الأميلين لدى مجموعات الدراسة
61.....	3-6	مقارنة مستويات الأميلين بين مرضى السكري من النمط الثاني تبعاً لفترة تشخيص المرض
62.....	4-6	تعيين قيم الأنسولين لدى مجموعات الدراسة
63.....	5-6	تعيين قيم مقاومة الأنسولين لدى مجموعات الدراسة
64.....	6-6	تعيين قيم الغلوكوز لدى مجموعات الدراسة
65.....	7-6	تعيين قيم الهيموغلوبين السكري HbA1c لدى مجموعات الدراسة
66.....	8-6	تعيين قيم ثلاثيات الغليسريد لدى مجموعات الدراسة
67.....	9-6	تعيين قيم الكوليستيرول لدى مجموعات الدراسة
68.....	10-6	تعيين قيم ال HDL لدى مجموعات الدراسة
69.....	11-6	تعيين قيم ال LDL لدى مجموعات الدراسة
70.....	6-12	دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وباقي المتثابتات المدروسة لدى مرضى السكري من النمط الثاني
76.....	7	المناقشة Discussion
81.....	8	الاستنتاجات Conclusions
81.....	9	التوصيات و المقترحات Suggestions and recommendations
81.....		الملخص باللغة العربية
82.....		Summary
83.....		المراجع References
92.....		الملحق Appendix

قائمة الجداول :List of Tables

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
14	عوامل الاختطار للإصابة ب السكري	1
16	مجمل اختبارات تشخيص السكري وسوء تحمل الغلوكوز	2
19	وظائف بعض الهرمونات المنظمة للغلوكوز في الدم	3
27	مقارنة بين الأميلين والأنسولين	4
51	تحضير العياريات لمقايسة الأميلين	5

قائمة الأشكال :List of Figures

رقم الشكل	العنوان	رقم الصفحة
1	مجموعة العوامل المسببة للسكري من النمط 2.	13
2	العواقب المرضية للبدانة.	17
3	استتباب الغلوكوز في حالتي الصيام والشبع.	19
4	بنية الأنسولين.	20
5	اصطناع الأنسولين.	21
6	إفراز الأنسولين.	21
7	العوامل المؤثرة في تفعيل الإنزيم $IKK\beta$.	23
8	صيغة الأميلين.	25
9	مراحل اصطناع الأميلين.	27
10	الجينات المرزمة لعائلة الكالسيتونين.	29
11	مقطع دماغي يُظهر المواقع الغنية بمستقبلات الأميلين.	30
12	تأثير الأميلين على إفراز الغلوكاغون عند الجرذان بحالتي تركيز غلوكوز دم طبيعي وتركيز غلوكوز دم منخفض مقارنةً بتأثير محلول ملحي (دراسة Silvestre وزملائه).	31
13	مقارنة بين تأثير الأميلين و CCK-8 و GLP-1 على معدل الإفراغ المعدي لدى الجرذان (دراسة Young وزملائه).	32
14	التأزر بين الأنسولين والأميلين لخفض تركيز الغلوكوز في الدم بعد الطعام.	33
15	تطور نشوء الألياف النشوانية.	34
16	تخريب الألياف النشوانية لغلاف الخلية.	36
17	بعض آليات استماتة الخلايا β لدى مرضى السكري.	38
18	تأثير ارتفاع الأميلين على خلايا العضلة القلبية.	39
19	ملخص وظائف الأميلين وآليته السامة.	40
20	مقارنة بين تسلسل الحموض الأمينية للأميلين لدى البشر والجرذان ومقلد الأميلين.	41
21	توزيع مجموعات الدراسة.	48
22	استمارة البحث.	49

53	المنحني المعياري الناتج عن معايرة الأميلين.	23
54	المنحني المعياري الناتج عن معايرة الأنسولين.	24
60	متوسط قيم ال BMI لدى مجموعات الدراسة.	25
61	متوسط تركيز الأميلين لدى مجموعات الدراسة.	26
62	متوسط تركيز الأميلين لدى فئتي مرضى السكري.	27
63	متوسط تركيز الأنسولين لدى مجموعات الدراسة.	28
64	متوسط قيم مقاومة الأنسولين لدى مجموعات الدراسة.	29
65	متوسط تركيز الجلوكوز لدى مجموعات الدراسة.	30
66	متوسط قيم الهيموغلوبين السكري لدى مجموعات الدراسة.	31
67	متوسط تركيز ثلاثيات الغليسريد لدى مجموعات الدراسة.	32
68	متوسط تركيز الكوليستيرول لدى مجموعات الدراسة.	33
69	متوسط تركيز HDL لدى مجموعات الدراسة.	34
70	متوسط تركيز LDL لدى مجموعات الدراسة.	35
71	العلاقة بين مستويات الأميلين و BMI لدى مرضى السكري.	36
71	العلاقة بين مستويات الأميلين والأنسولين لدى مرضى السكري.	37
72	العلاقة بين مستويات الأميلين ومقاومة الأنسولين لدى مرضى السكري.	38
73	العلاقة بين مستويات الأميلين والجلوكوز لدى مرضى السكري.	39
73	العلاقة بين مستويات الأميلين و الهيموغلوبين السكري لدى مرضى السكري.	40
74	العلاقة بين مستويات الأميلين وثلاثيات الغليسريد لدى مرضى السكري.	41
75	العلاقة بين مستويات الأميلين والكوليستيرول لدى مرضى السكري.	42
75	العلاقة بين مستويات الأميلين و HDL لدى مرضى السكري.	43
76	العلاقة بين مستويات الأميلين و LDL لدى مرضى السكري.	44

List of Abbreviation	
ADA	American Diabetes Association
anti GAD	Glutamic acid decarboxylase antibodies
apo E	apolipoprotein E
BMI	Body mass Index
CPE	Carboxypeptidase E
CT	Calcitonin
CALC	Calcitonin gene
CGRP	Calcitonin Gene Related peptide
CCK	Cholecystokinin
EDTA	Ethelyndiethylamine
ELISA	Enzyme Linked Immunoassay
ER	Endoplasmic Reticulum
ERAD	Endoplasmic Reticulum Associated Protein Degradation
ERK	Extracellular signal regulated kinase
FPG	Fasting Plasma Glucose
GIP	Gastric Inhibitory peptide
GLP	Glucagon Like Peptide
GLUT	Glucose transporter
HOMA	Homeostatic model assessment
HDL	High density Lipoprotein
HSPG	heparan sulfate proteoglycan
Il-6	Interleukine-6
IFG	Impaired Fasting Glucose
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IR	Insulin receptor
IRS	Insulin Receptor Substrate

Ikk β	I-kappa-B kinase- β
IAPP	Islet Amyloid Polypeptide
JNK	c- JUN N-terminal kinase
LDL	Low density Lipoprotein
NF-kB	Nuclear factor-kappa B
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
POS	Polycystic ovary syndrome
PKB	Protein Kinase B
PC	Proprotein convertase
PI3K	Phosphatidylinositol-3 kinase
ROS	Reactive Oxygen Species
Ra	Rate of Glucose Appearance
Rd	Rate of Glucose Disappearance
RAMP	Receptor Activity Modifying Proteins
STAT	Signal transducer and activator of transcription
TG	Triglyceride
TC	Total Cholesterol
UPR	Unfolded Protein Response
WHO	World Health Organization

قائمة المصطلحات

English	عربي
Amylin	الأميلين
amyloid	نشواني، أميلويد
Area postrema	الباحة المنخفضة
Apoptosis	استماتة
Autophagy	البلعمة الذاتية
anabolic	ابتنائي
Diabetes	السكري
Downregulation	تنظيم راجع
Dorsal raphe nucleus	النواة الحافية الظهرية
Diabetic nephropathy	اعتلال الكلية السكري
Euglycemia	غلوكوز دم طبيعي
Endoplasmic Reticulum stress	إجهاد الشبكة الهيولية الباطنية
Enhancer	معزاز
Gestational diabetes mellitus	السكري الحلمي
Glucose homeostasis	استتباب الغلوكوز
Glycogenolysis	تحلل الغليكوجين
Gluconeogenesis	استحداث الغلوكوز
Glycolysis	تحلل الغلوكوز
Hyperglycemia	ارتفاع غلوكوز الدم
Hypoglycemia	انخفاض غلوكوز الدم
Hyperglucagonemia	ارتفاع غلوكاغون الدم

Hyperamylinemia	ارتفاع أميلين الدم
heart failure	فشل القلب
islet autoantibodies	أضداد الجزر الذاتية
Insulin	الأنسولين
Inflammatory pathway	السبيل الالتهابي
ketoacidosis	الحماض الكيتوني
Negative Feedback	تلقيم راجع سلبي
Nucleus accumbens	النواة المتكئة
Obesity	البدانة
Overweight	زيادة الوزن
oxidative stress	الشدة التأكسدية
osteoblast	بانيات العظم
osteoclast	ناقضات العظم
polyuria	بول
polydipsia	عطاش
proinsulin	طليعة الأنسولين
Posttranslation modifications	تعديلات ما بعد الترجمة
Rate of Gastric emptying	معدل الإفراغ المعدي
synergistic	تآزري
transcriptional regulatory elements	عناصر منظمة للانتساخ

الدراسة النظرية

1- السكري Diabetes

1-1: تعريف

تعرف الجمعية الأميركية السكري (ADA) American Diabetes Association بأنه مجموعة من الاضطرابات الاستقلابية تتميز بفرط غلوكوز الدم Hyperglycemia نتيجة نقص في إفراز الأنسولين أو مقاومة عمله أو كليهما معاً، ويؤدي الارتفاع المزمن للغلوكوز إلى اضطراب وظيفي في عدد من الأعضاء خاصة العينين والكليتين والأعصاب والقلب والأوعية الدموية⁽¹⁾. وبحسب إحصائيات منظمة الصحة العالمية (WHO) World Health Organization فقد بلغ عدد المصابين ب السكري حول العالم عام 2011 قرابة 347 مليون مصاب. بينما بلغ عدد المصابين في الجمهورية العربية السورية عام 2000 قرابة 627 ألف مصاب، وسيصل عام 2030 إلى 2313000 مصاب⁽²⁾.

2-1 : تصنيف السكري

1-2-1 : النمط الأول Type 1

يتسم هذا النمط بنقص شديد في إفراز الأنسولين نتيجة مرض مناعي ذاتي يخرّب خلايا β البنكرياسية. ورغم أن هذا النمط شائع لدى الأطفال بسبب سرعة تخرّب خلايا β لديهم، إلا أنه يمكن أن يصيب الفرد في أي عمر. وبعد الحمض الكيتوني ketoacidosis من المظاهر الأولى للمرض لدى الأطفال، بينما قد تحمي الوظيفة المتبقية للخلايا β البالغين من الحمض الكيتوني لعدة سنوات⁽³⁾.

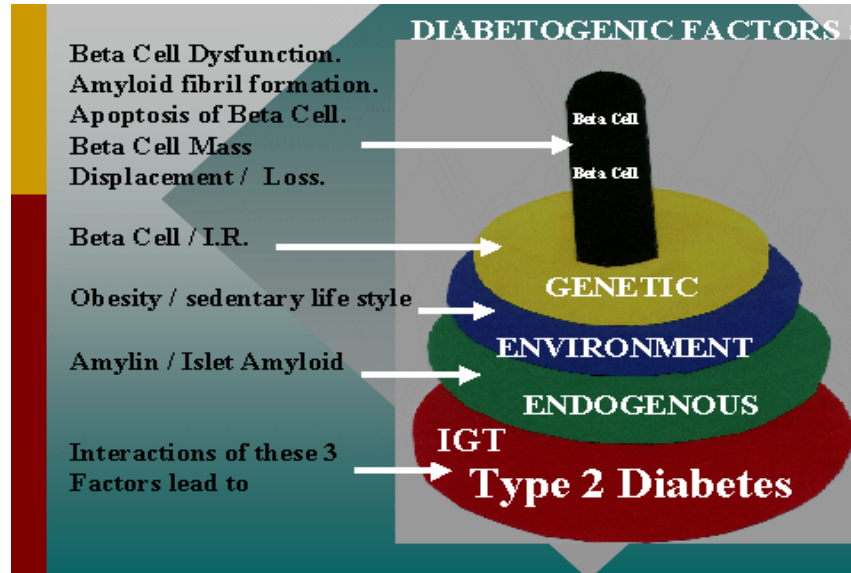
وهناك العديد من الأضداد المناعية الذاتية التي تساهم في تشخيص المرض، منها أضداد خلايا الجزر (anti-islet)، أضداد ذاتية لنازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك (anti GAD) وهي الأكثر شيوعاً، أضداد ذاتية للأنسولين (anti insulin). وبناءً على تواجد هذه الأضداد يقسم السكري من النمط الأول إلى نوعين:

Type1 A: عندما يتوفر أحد تلك المعالم في دم المريض.

Type1 B: عندما لا تتوفر أي من تلك المعالم، ولا يزال مجهول السبب⁽⁴⁾.

2-2-1: النمط الثاني Type 2

يشكل 90% من حالات السكري حول العالم. (2) ويشمل الأفراد ذوي نقص فعالية الأنسولين مع ازدياد مقاومته في الخلايا. وينتج عن تضافر عدد من العوامل الجينية (مثل طفرة وراثية تسبب خلل في مستقبل الأنسولين)، والبيئية (كالبدانة)، وعوامل داخلية (كتراكم الأميلويد في خلايا البنكرياس) (الشكل 1). وبعكس النمط الأول لا يحدث تخرب مناعي لخلايا β ولا يحتاج المرضى للعلاج بالأنسولين إلا في المراحل المتقدمة من المرض مع نقصان كتلة خلايا β . (4,5)



الشكل 1 : مجموعة العوامل المسببة للسكري من النمط 2. (5)

ويلاحظ إصابة أغلب مرضى النمط الثاني بالبدانة التي تسبب أيضاً زيادة المقاومة للأنسولين، وإذا لم يكن المريض بدينياً فهو يعاني غالباً من نسبة عالية من الشحوم تتركز في منطقة البطن. ومع انتشار البدانة لدى الأطفال لم يعد هذا النمط محصوراً بالبالغين بل أصبح يُشخص بشكل أكبر لدى الفئات العمرية الصغيرة. (4)

ويُظهر الجدول (1) عوامل الاختطار للإصابة بالسكري.

الجدول 1 : عوامل الاختطار للإصابة بالسكري. (3)

عوامل الاختطار	نمط السكري
يُوضح قياس أضداد الجزر الذاتية islet autoantibodies الأفراد ذوي الاختطار للإصابة بهذا النمط، يمكن قياس هذه الأضداد لدى الأفراد الذين يعانون من ارتفاع غلوكوز عابر أو ممن لديهم أقارب مصابين بالنمط الأول.	النمط الأول
<p>1- يجب إجراء فحوصات الغلوكوز لدى كل البالغين الذين يعانون من زيادة وزن ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$) ولديهم عوامل الاختطار الإضافية الآتية:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● إصابة بأحد الأمراض القلبية الوعائية. ● قصة عائلية بإصابة ب السكري. ● متلازمة المبيض متعدد الكبيسات (POS). ● $HDL \leq 35 \text{ mg/dl}$ or $triglyceride \geq 250 \text{ mg/dl}$. ● إصابة سابقة بالسكري الحلمي. ● متوسط ضغط الدم $\leq 140/90 \text{ mmHg}$. ● حالة عدم تحمل الغلوكوز. ● الهيموغلوبين السكري $\leq 5.7\%$. <p>2- يبدأ التحري عن السكري في حال غياب عوامل الاختطار السابقة بعمر 45 سنة.</p> <p>3- إذا كانت النتائج سوية، تُعاد الاختبارات كل 3 سنوات أو أكثر حسب الضرورة.</p>	النمط الثاني

وضعت الجمعية الأميركية للسكري منذ عام 1997 المعايير الآتية المعتمدة حتى الآن والتي تحدد إصابة الفرد بالسكري، وهي :

- 1- وجود أعراض للسكري مثل البوال (polyuria)، عطاش (polydipsia) ، فقدان وزن غير مُفسّر، مع قياس غلوكوز عشوائي أعلى من 200 ملغ/ دل.
- 2- تركيز الغلوكوز الصيامي (FPG) أعلى من 126 ملغ/ دل.
- 3- يُظهر اختبار تحمل الغلوكوز الفموي (OGTT) Oral Glucose Tolerance Test مستوى غلوكوز أعلى من 200 ملغ/ دل بعد ساعتين من إعطاء 75 غ منه.

4- في بداية عام 2010 أضافت ADA معياراً تشخيصياً آخر هو ارتفاع مستويات الهيموغلوبين السكري HbA1c عن 6.5 % (4,3)

3-2-1: السكري الحلمي Gestational diabetes mellitus

يُعرّف بأنه أي درجة من عدم تحمّل السكر تصيب النساء أول مرة خلال فترة الحمل. وغالباً ما تختفي الحالة بعد الولادة. (4,1) وتشير الدراسات الأميركية إلى أن 70% من النساء المصابات بالسكري الحلمي أصبن مع تقدّم العمر بالسكري من النمط الثاني، مما يوحي بأن الإصابة في فترة الحمل هي مؤشر مبكر لاحتمال الإصابة المستقبلية بالسكري من النمط الثاني. (6)

4-2-1: أنماط أخرى من السكري

تحدث بعض هذه الأنماط نتيجة تخرب غير مناعي لخلايا β البنكرياسية مما يؤدي لنقص إفراز الأنسولين. كما في حالة التهاب البنكرياس الحاد والمزمن، أو بسبب خلل في إفراز الغلوكاغون نتيجة تخرب خلايا α ، كما يمكن أن تحدث الإصابة بسبب إفراز كميات كبيرة من الهرمونات التي تعاكس تأثير الأنسولين نتيجة متلازمات وراثية معينة كما في حالة إفراز الكورتيزول في متلازمة كوشينغ. (4,3)

3-1: مرحلة ما قبل السكري

يُطلق مصطلح اضطراب الغلوكوز الصيامي Impaired Fasting Glucose (IFG) على حالة مجموعة الأفراد الذين تكون لديهم مستويات الغلوكوز الصيامية بين 100-125 ملغ/دل. ويُستخدم مصطلح سوء تحمل الغلوكوز Impaired Glucose Tolerance (IGT) في حال كانت نتيجة اختبار تحمل الغلوكوز لديهم بين 140-199 ملغ/دل (الجدول 2). يكون هؤلاء الأفراد سويين ظاهرياً وقيم HbA1c لديهم بين 5.7 و6.4 %، لكنهم عُرضة للإصابة بسكري صريح في المستقبل. يمكن تخفيف هذه الاخطار بتغيير نمط الحياة أو ببعض المعالجة الدوائية المُستخدمة في النمط الثاني. (4,3)

ويُظهر الجدول (2) مجمل اختبارات تشخيص السكري وسوء تحمل الغلوكوز

الجدول 2: اختبارات تشخيص سوء تحمل الغلوكوز و السكري (3)

المرحلة	HbA1c	غلوكوز البلازما الصيامي (FPG)	غلوكوز البلازما العشوائي	اختبار تحمل الغلوكوز الصيامي 75g (OGTT)
السكري	A1c \geq 6.5%	FPG \geq 126 mg/dl	Random plasma glucose \geq 200 mg/dl مع وجود أعراض السكري	تركيز الغلوكوز بعد ساعتين \leq 200 mg/dl
زيادة اختطار الإصابة بالسكري	A1c 5.7-6.4%	FPG: 100 – 125 mg/dl		سوء تحمل غلوكوز حيث يكون تركيزه بعد ساعتين 140-199 mg/dl
السوي	A1c $<$ 5.7 %	FPG $<$ 100 mg/dl		التركيز بعد ساعتين $>$ 140 mg/dl

2- زيادة الوزن والبدانة Overweight and Obesity

1-2: تعريف

عرفت منظمة الصحة العالمية هذين المصطلحين بأنهما زيادة في تراكم الشحوم في الجسم تؤدي لاختطار على الصحة (الشكل 2). ويتم التمييز بينهما حسب مشعر كتلة الجسم Body Mass Index (BMI) كالاتي:

وزن سوي Normal weight: BMI = 18.5 – 24.9 kg/m² .

زيادة وزن Over weight: BMI = 25 – 29.9 kg/m² .

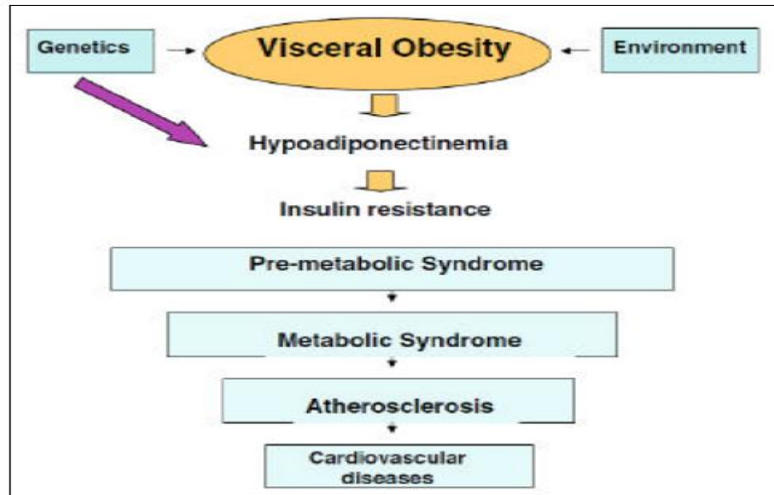
بدانة Obesity: BMI \geq 30 kg/m²

وبحسب إحصائيات المنظمة فقد تم توثيق مايلي:

- في عام 2008 عانى 1.4 مليار شخص حول العالم من زيادة الوزن، منهم 200 مليون رجل و 300 مليون امرأة أصيبوا بالبدانة.
- في عام 2011 عانى أكثر من 40 مليون طفل تحت عمر الخمس سنوات من زيادة الوزن.
- البدانة وزيادة الوزن هما خامس أخطر مسبب للوفاة في العالم. (7)

2-2: تشخيص البدانة

- منسب كتلة الجسم (BMI) : هو أكثر الطرق استخداماً و يُحسب بتقسيم الوزن (كغ) على مربع الطول (م²).
- قياس ثخانة التنية الجلدية skin fold thickness.
- المقاومة الكهربائية.
- التصوير بالرنين المغناطيسي (Magnetic Resonance Imaging (MRI)، والتصوير المقطعي المحوسب (Computed Tomography (CT)، وهما أكثر الطرق دقةً إلا أنهما مكلفتين.
- نسبة محيط الخصر إلى الورك waist to hip ratio: إذا كانت هذه النسبة أعلى من 0.9 لدى النساء وأعلى من 1 لدى الرجال تُعتبر مؤشر بدانة. (8)



الشكل 2: العواقب المرضية للبدانة (9)

3- استتباب الغلوكوز Glucose homeostasis

1-3: تعريف

في أي لحظة زمنية يُعبّر تركيز الغلوكوز في الدوران على التوازن بين معدّل ظهور الغلوكوز في الدم (Rate of Glucose Appearance (Ra) ومعدّل اختفائه منه (Rate of Glucose Disappearance (Rd). ويكون معدل الغلوكوز الصيامي لدى البالغين الأصحاء ضمن مجال من 70 – 110 ملغ/دل لأن Ra تُعبّر ضمن الشروط الصيامية عن الغلوكوز الكبدي (داخلي المنشأ) ناتج عن تحلل الغليكوجين Glycogenolysis واستحداث الغلوكوز Gluconeogenesis من مركبات غير سكرية كاللاكتات والحموض الأمينية والبيروفات خلال الصيام)، بينما تُعبّر Rd عن الغلوكوز المُمتص من الأنسجة المحيطة أي تكون $Ra=Rd$. (10، 11)

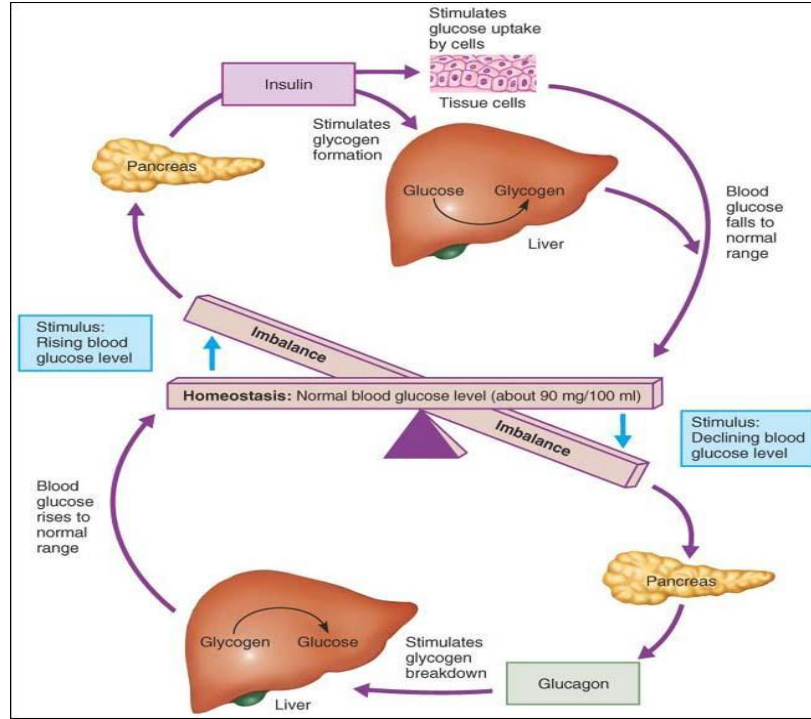
يعد تحلل الغليكوجين الآلية الأولية التي تحدث لتوفير الغلوكوز في الدم، وبعد مرور فترة أطول على الصيام يتم استحداث الغلوكوز. والغلوكاغون هو المسؤول عن تحفيز هاتين العمليتين خلال 8-12 ساعة من الصيام. (12)

بعد تناول وجبة غنية بالكربوهيدرات تزداد Ra لأن الطريق المعدي المعوي يصبح مصدر ثاني للغلوكوز (خارجي المنشأ) الذي يدخل الدوران (العامل المحدد لسرعة ظهور الغلوكوز في الدوران هو معدل الإفراغ المعدي (Rate of Gastric emptying). يُحفّز هذا الارتفاع المفاجئ في الغلوكوز الحبيبات الإفرازية في خلايا β البنكرياسية لإفراز هرمونين منظمين للسكر هما الأنسولين والأميلين، اللذان يتحرران ضمن الوريد البابي ويظهران بالتدرج ضمن الدوران الجهازى حتى يصبح تركيزهما مرتفعاً في الدم. وتشير الأبحاث إلى أن هذين الهرمونين يعملان معاً لضبط تركيز الغلوكوز في الدوران واستخدامه من قبل أنسجة الجسم مما يمنع الارتفاع غير السوي له في الدم. (13) (الشكل 3)

2-3: بعض الهرمونات المنظمة للغلوكوز في الدوران

تسهم العديد من الهرمونات في تنظيم غلوكوز الدوران، منها هرمونات خلايا β البنكرياسية (الأنسولين والأميلين)، الغلوكاغون، هرمونات الإنكريتين (كالبيبتيد المثبط المعدي Gastric Inhibitory peptide (GIP) و البيبتيد الشبيه بالغلوكاغون (Glucagon Like Peptide (GLP)،

بالإضافة لبعض الهرمونات الأخرى التي تلعب دوراً في رفع غلوكوز الدم كالأدرينالين و الكورتيزول وهرمون النمو و التيروكسين و السوماتوستاتين. (11) (الجدول 3).



الشكل 3: استتباب الغلوكوز في حالتي الصيام والشبع. (14)

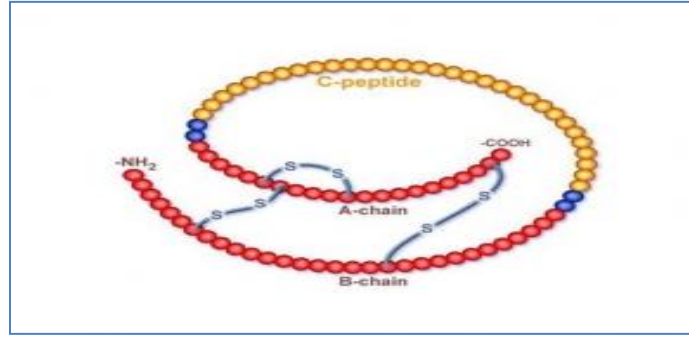
الجدول 3: وظائف بعض الهرمونات المنظمة للغلوكوز في الدم. (12)

الوظائف	الهرمون
<ul style="list-style-type: none"> • يحفز تحلل الغليكوجين الكبدي. • يحفز استحداث الغلوكوز الكبدي. • يحفز استحداث الأجسام الكيتونية في الكبد Hepatic ketogenesis. 	الغلوكاغون
<ul style="list-style-type: none"> • يحفز قبط الغلوكوز من الخلايا. • يثبط إفراز الغلوكاغون بعد تناول الطعام. • يحفز اصطناع البروتينات والدهون. 	الأنسولين

<ul style="list-style-type: none"> • يثبط إفراز الغلوكاغون بعد تناول الطعام. • ينقص معدل الإفراغ المعدي. • ينقص الشهية والوزن. 	الأميلين
<ul style="list-style-type: none"> • يحسن إفراز الأنسولين المعتمد على الغلوكوز. • يثبط إفراز الغلوكاغون بعد تناول الطعام. • ينقص معدل الإفراغ المعدي. • ينقص الشهية والوزن. 	GLP-1

1-2-3: الأنسولين Insulin

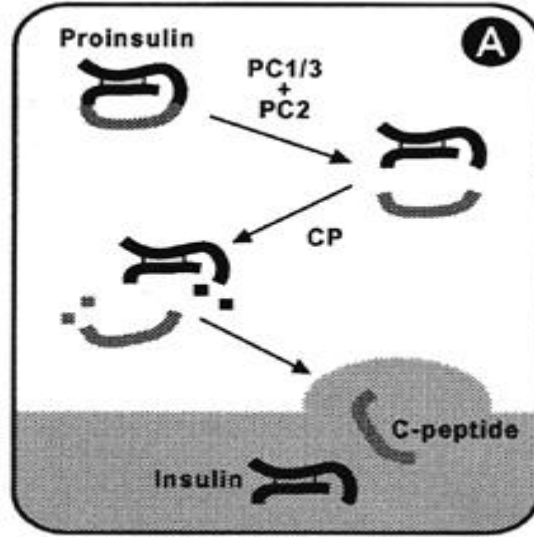
هرمون يُفرز من خلايا β البنكرياسية. وهو بروتين صغير مؤلف من سلسلتي عديد بيتيد تحوي 51 حمضاً أمينياً (السلسلة A المكونة من 21 حمضاً أمينياً والسلسلة B المكونة من 30 حمضاً أمينياً مرتبطين بجسرين ثنائيي الكبريت). (12) (الشكل 4).



الشكل 4: بنية الأنسولين (15)

يُصطنع الأنسولين في البداية بشكل سلف طليعة الأنسولين proinsulin المكون من 100 حمض أميني، ثم يتم قطع السلسلة المؤشرة المكونة من 29 حمضاً أمينياً وتبقى طليعة الأنسولين proinsulin التي تتكون من السلسلتين A و B والبيتيد C الذي يربط بينهما، ثم يتعرض الجزيء لعملية شطر إنزيمي تفصل البيبتيد C عن السلسلتين بواسطة إنزيمي بروتياز هما Proprotein Convertase 1,2 (PC1,PC2)، حيث يقوم الإنزيم PC1 (يُعرف أيضاً باسم PC3) بشكل أفضل بالقطع في منطقة تقاطع السلسلة B والبيتيد C لتشكيل مركب وسط، ثم يأتي الإنزيم PC2 ليقطع

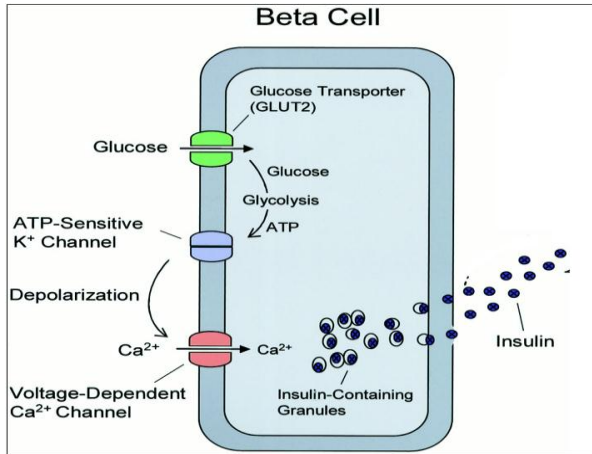
لدى منطقة التقاطع بين الببتيد C والسلسلة A. ويقوم الإنزيم E Carboxypeptidase (CPE) بإزالة الثمالات المتبقية لتشكيل الأنسولين الناضج و الببتيد C. (الشكل 5) (16، 17)



الشكل 5: اصطناع الأنسولين (16)

يُفرز الأنسولين استجابةً لارتفاع غلوكوز الدم و الحموض الأمينية و الحموض الدسمة بعد هضم

الوجبة الغذائية. حيث يدخل الغلوكوز إلى خلايا β البنكرياسية عبر ناقل الغلوكوز (GLUT-2) وتتم فسفرته بإنزيم غلوكوكيناز مما يؤدي لتوليد ATP بعملية تحلل الغلوكوز Glycolysis. ومع ازدياد ATP تنتبذ قنوات البوتاسيوم الحساسة لل ATP فيزول استقطاب غشاء الخلايا β وتتدفق شوارد الكالسيوم عبر قنوات الكالسيوم الحساسة لل فولتاج فيتحفز إفراز الأنسولين. (الشكل 6، 18).



الشكل 6: إفراز الأنسولين (18)

يتم إفراز الأنسولين على طورين:

طور أول سريع وكثيف يتحرر فيه الأنسولين المُخزن مسبقاً في الخلايا يعقبه طور أبطأ وأقل كثافة يتم فيه إنتاج أنسولين جديد. (19)

3-2-1-1: التأثيرات الاستقلابية للأنسولين

يرتبط الأنسولين إلى مستقبلات نوعية عالية الألفة في أغشية خلايا معظم الأنسجة Insulin receptors (IR) تعد جزءاً من عائلة مستقبلات التيروسين كيناز Tyrosine kinas. ويحفز هذا الارتباط فسفرة عدد من ثمالات التيروسين لركازات بروتينية ضمن الخلية تدعى Insulin Receptor Substrate (IRS) تمثل الخطوة الأولى في سلسلة تفاعلات تؤدي لتفعيل فسفاتيديل اينوزيتول-3 كيناز Phosphatidylinositol-3 kinase (PI₃K) و بروتين كيناز B (PKB) و تقود بالنهاية لانتقال البروتين الناقل للجلوكوز (GLUT) Glucose transporter من داخل الخلية نحو السطح مما يسمح بدخول الجلوكوز إلى الخلية. (20،21)

يضبط الأنسولين الجلوكوز ما بعد الوجبة بالتأثير على 3 أنسجة هي الكبد والعضلات والنسيج الشحمي كما يلي:

- 1- يرسل إشارات لخلايا النسيج الشحمي الحساسة للأنسولين والعضلات الهيكلية لزيادة قبط الجلوكوز.
- 2- يرسل إشارة للكبد لإيقاف إنتاج الجلوكوز بعملية تحلل الغليكوجين و استحداث الجلوكوز.
- 3- يحفز الكبد والعضلات على اصطناع الغليكوجين.

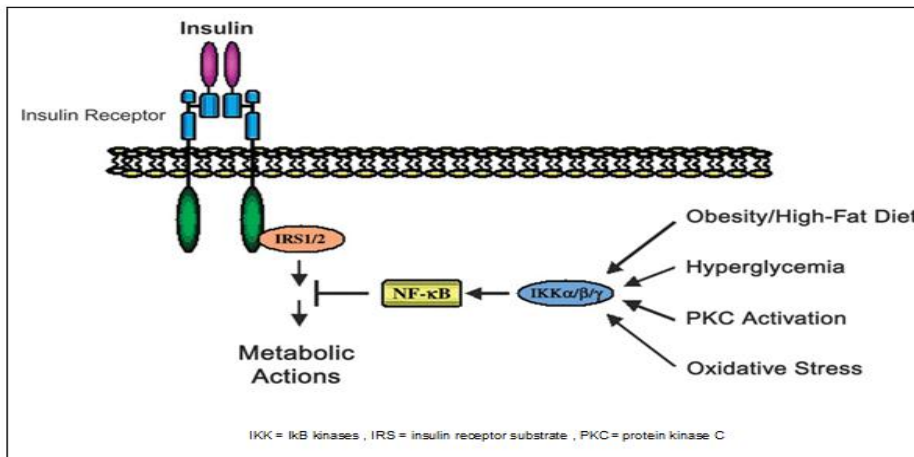
تتضمن التأثيرات الأخرى للأنسولين تحفيز اصطناع الشحوم وتخزين ثلاثيات الغليسريد في الخلايا الشحمية، وتحفيز دخول الحموض الأمينية إلى الخلايا وبالتالي زيادة اصطناع البروتين. (12)

3-2-1-2: مقاومة الأنسولين Insulin resistance

تحدث حالة مقاومة الأنسولين عندما تنخفض قدرة الخلايا على الاستجابة لتأثيرات الأنسولين الطبيعية. وتؤدي هذه المقاومة في الخلايا الشحمية والعضلية إلى نقص قبط الجلوكوز، ونقص قبط الدسم الدوارة في الدم من قبل النسيج الشحمي وزيادة تحلل ثلاثيات الغليسريد المخزنة. بينما تؤدي في الخلايا الكبدية إلى نقص اصطناع الغليكوجين وتخزينه، وفشل في تثبيط إنتاج الجلوكوز وتحرره للدوران. مما يؤدي في النهاية لارتفاع تركيز الحموض الدسمة الحرة والجلوكوز

والأنسولين في الدم (22). تتأثر هذه المقاومة بالعديد من العوامل كالعامل الوراثي والبدانة والإنتانات والالتهابات المزمنة وذلك عبر عدد من الآليات منها:

- الأنسولين ذاته : حيث يقوم بآلية تلقيم راجع سلبي Negative Feedback بإنقاص عدد المستقبلات الخلوية بآلية تنظيم راجع للمستقبلات Receptor Downregulation مما يؤدي لنقص إنتاج نواقل الجلوكوز GLUT-4. (21*8)
- تحرر العديد من العوامل الإلتهابية من الخلايا الشحمية للبدنين كالسيتوكينات (IL-6 , TNF ، الأديبوكينات) التي لها القدرة على تعديل فعل الأنسولين عبر تفعيل الإنزيم I-kappa-B ، kinase-β(Ikkβ) الذي يفعل بدوره السبيل الالتهابي Nuclear factor-kappa B inflammatory pathway (NF-κB) الذي ينتهي بتنشيط فسفرة ثمالة التيروسين في ركازة مستقبل الأنسولين (IRS) Insulin Receptor Substrate مما يثبط نقل إشارة الأنسولين. (23*21) (الشكل 7).
- طفرات تؤثر على سبيل نقل إشارة الأنسولين، فقد لوحظ وجود طفرات في جين مستقبل الأنسولين وطفرات في جين بروتين كيناز B في العائلات المصابة بمقاومة الأنسولين (21).
- من العوامل الأخرى التي تفعل سبيل NF-κB : الحموض الدسمة الحرة، ارتفاع الجلوكوز، بروتين كيناز C (PKC) ، الشدة التأكسدية oxidative stress (24*22)



الشكل 7 : العوامل المؤثرة في تفعيل الإنزيم IKKβ (22)

من الملاحظ أنه لا يُشترط أن يُصاب كل البدينين بـ السكري، مما يدل على أن الإصابة تتطلب تفاعلاً ما بين ازدياد مقاومة الأنسولين المُحرّضة بالبدانة وعوامل أخرى مرتبطة بـ السكري مثل التغيرات التي تطرأ على البنكرياس كاضطراب إفراز الأنسولين نتيجة استماتة خلايا β . (25·8)

2-2-3: الغلوكاغون Glucagon

وهو هرمون تقويضي مكون من 29 حمضاً أمينياً . يُفرز من خلايا α البنكرياسية ويُعرف بأنه الهرمون ذو التأثيرات المعاكسة للأنسولين. يلعب الغلوكاغون دوراً رئيسياً في المحافظة على مستويات الغلوكوز الطبيعية خلال الصيام وذلك بتحفيز إنتاج الغلوكوز الكبدي. ويحدث تثبيط فوري لإفراز الغلوكاغون بعد تناول الطعام بتأثير الأنسولين وهرمونات أخرى مما يؤدي لإيقاف ضخ الغلوكوز الكبدي، أما في حالة السكري فلا يحدث تثبيط كافٍ للغلوكاغون بعد الوجبة مما يؤدي لارتفاع غلوكاغون الدم Hyperglucagonemia واستمرار إنتاج الغلوكوز الكبدي. (12)

3-2-3: هرمونات الإنكريتين المعوية Incretin Hormones GLP-1 and GIP

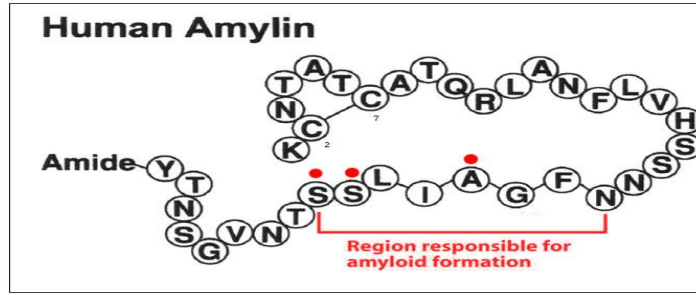
تبين أن هناك إشارات مهمة تصدر من الأمعاء تساهم في التنظيم الهرموني لخفض الغلوكوز بعد الطعام، وتم التعرف على العديد من الببتيدات المعوية المسؤولة عن هذا التأثير الذي دُعي بتأثير الإنكريتين Incretin effect. ومن أشهر هذه الهرمونات المهيمنة على استتباب الغلوكوز GLP-1 و GIP التي تُفرز بعد هضم وجبة غنية بالسكريات والدهون. (12)

يُفرز GIP من خلايا k في الاثني عشرية والأمعاء الدقيقة فيحفز إفراز الأنسولين وتنظيم استقلاب الدهون لكنه لا يثبط إفراز الغلوكاغون أو الإفراغ المعدي ، وتكون مستوياته طبيعية أو مرتفعة قليلاً لدى مرضى السكري من النمط الثاني. (26) بينما يُفرز GLP-1 من خلايا L في القولون وهو يحفّز أيضاً إفراز الأنسولين لندما تكون تراكيز الغلوكوز مرتفعة في الدم. وبعكس GIP يقوم GLP-1 بتثبيط إفراز الغلوكاغون وبيطئ الإفراغ المعدي. يملك GLP-1 عمراً نصفياً حوالي الدقيقتين ويتم شطره بواسطة إنزيم يُدعى (DPP-4) Dipeptidyl peptedase-4. (27)

4: الأميلين Amylin

4-1: البنية والاصطناع

هو عديد ببتيد مكون من 37 حمضاً أمينياً ، يُطلق عليه أيضاً اسم Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) لأنه عُزل من الرسوبات النشوانية amyloid deposits البنكرياسية في جزر لانغرهانس. ونُشرت عنه معلومات للمرة الأولى عام 1987 من قبل العالمين Garth Cooper و Per westermark (الشكل 8). يتم تصنيع الأميلين ضمن جهاز غولجي في خلايا β البنكرياسية، ويُعتبر الأخ التوأم للأنسولين لأنه يُفرز معه استجابةً لارتفاع الغلوكوز. (28،29،30)

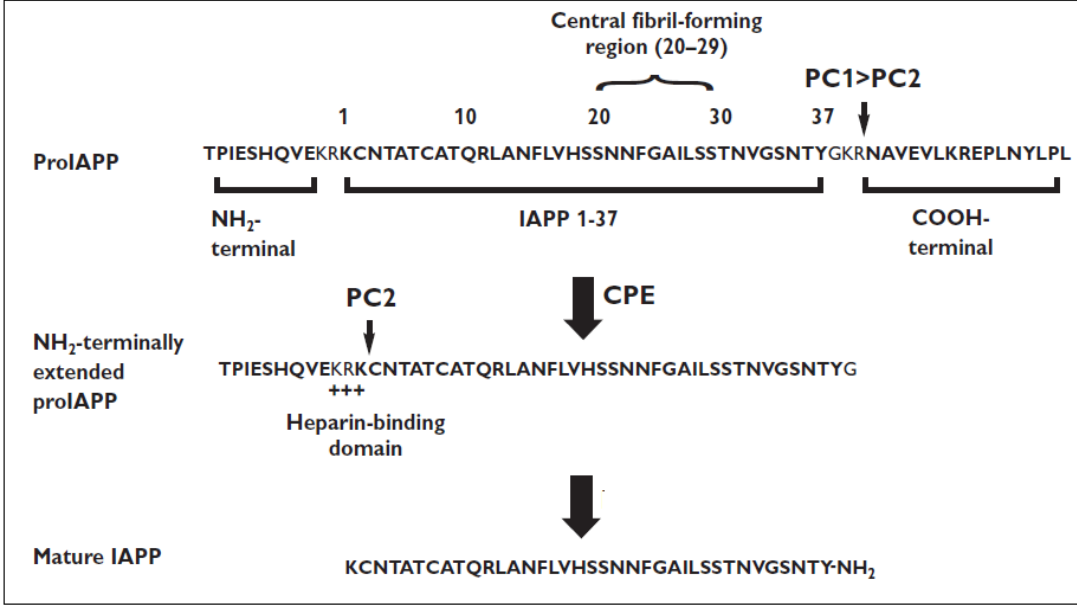


الشكل 8: صيغة الأميلين (5)

يتوضع جين الأميلين على الذراع القصير للصبغي 12. ويبدو أن هناك معززات صغيرة (mini enhancers) في جينات الأميلين والأنسولين تعمل كعناصر منظمة للانتساخ (transcriptional regulatory elements). تتنافس هذه العناصر للارتباط بالعوامل النووية نفسها (nuclear factors) (31)، ومنها عامل الانتساخ PDX1 الذي يقوم بتنظيم تأثير الغلوكوز على جينات الأميلين والأنسولين و يساهم في الإنتاج المشترك لكلا الهرمونين. كما يحفز الأنسولين والغلوكاكون أيضاً تعبير جين الأميلين (32). يُنتسخ الأميلين في البداية إلى سلف طليعة الهرمون وهو عديد ببتيد مكون من 89 حمضاً أمينياً، يخضع لعمليات شطر ليعطي طليعة هرمون مكونة من 67 حمضاً أمينياً، تخضع بدورها لتعديلات ما بعد الترجمة Posttranslation modifications ضمن جهاز غولجي على النهايتين الأمينية والكربوكسيلية بواسطة إنزيمي PC1 و PC2، وهما نفس الإنزيمين اللذين يتواسطان معالجة طليعة الأنسولين وتحويلها إلى الشكل الفعال. (33) (34) (35)

وتشير دراسة Wang J وزملائه عام 2001 إلى أن معالجة طليعة الأميلين تتوقف نهائياً لدى النهاية الأمينية في بنكرياس الفئران التي لا تملك PC2، وتتشكل بذلك نواتج وسطية من الأميلين نصف المعالج، مما يدل على أهمية هذا الإنزيم في معالجة النهايات الأمينية لدى الكائنات الحية.⁽³⁶⁾ ومن جهة أخرى أظهرت دراسة Marzban L عام 2004 أن نقص إنزيم PC1 لدى الفئران أدى إلى تراجع معالجة النهاية الكربوكسيلية، مما يشير إلى تخصصه بمواقع القطع في الجهة الكربوكسيلية، وبالرغم من ذلك بقي هناك إنتاج لكمية من الأميلين الفعال لدى هذه الفئران. مما يشير إلى أنه بغياب PC1 يمكن للإنزيم PC2 معالجة طليعة الأميلين لدى كلا نهايتيها الأمينية والكربوكسيلية وإنتاج أميلين فعال، بينما لا يمكن لإنزيم PC1 إلا القطع في المواقع المخصصة له لدى النهاية الكربوكسيلية⁽³⁵⁾

وبناءً على هذه النتائج يكون تسلسل صنع الأميلين على الشكل التالي:
يبدأ الإنتاج بقطع طليعة الأميلين لدى النهاية الكربوكسيلية بشكل مفضل بواسطة إنزيم PC1 مما يؤدي إلى تشكل مركب وسط نهايته الأمينية غير معالجة، بعد ذلك يقوم الإنزيم PC2 بالقطع لدى مواقع معينة من النهاية الأمينية لتشكيل الأميلين النهائي. ويبدو أن هذه المرحلة تحدث متأخراً في طور الإفراز، ثم يتم إزالة الثمالات المتبقية بواسطة إنزيم كربوكسيل ببتيداز (CPE) ، ويتشكل رباط ثنائي الكبريت بين ثمالي السيستئين في الموقعين 2 و 7 وتُضاف مجموعة أميد على النهاية الكربوكسيلية ليعطي بذلك الشكل النهائي للأميلين الفيزيولوجي الفعال المكون من 37 حمضاً أمينياً الذي يخزن في حويصلات الأنسولين الإفرازية ويتحرر معه.⁽³⁷⁾ (الشكل 9).



الشكل 9: مراحل اصطناع الأميلين (37)

ويبدو أن هناك تشابهاً بين معالجة طليعة الأميلين و طليعة الأنسولين. أما الاختلاف الرئيسي بين عمليتي الاصطناع فيكمن في قدرة كلٍّ من PC1 أو PC2 على تشكيل الأنسولين النهائي ، بينما يستطيع الإنزيم PC2 فقط في حال غياب PC1 معالجة طليعة الأميلين بشكل كامل وهو الإنزيم الرئيسي في اصطناع الأميلين (37) (الجدول 4).

الجدول 4: مقارنة بين الأميلين والأنسولين (38)

بعض الاختلافات الرئيسية بين الهرمونين	
الأميلين	الأنسولين
جزء مكون من 37 حمضاً أمينياً و يملك شكل خطي ويمكن أن يتبلر بشكل ألياف.	جزء مكون من 51 حمضاً أمينياً و يملك شكل كروي
يملك مستقبلات دماغية تُعتبر جزءاً من مستقبلات الكالسيتونين	يملك مستقبلات محيطية تتوسط تأثيراته الفيزيولوجية.
تركيز الأنسولين في الحويصلات الإفرازية وفي الدوران المحيطي أعلى من الأميلين (تصل النسبة إلى 1:100)	

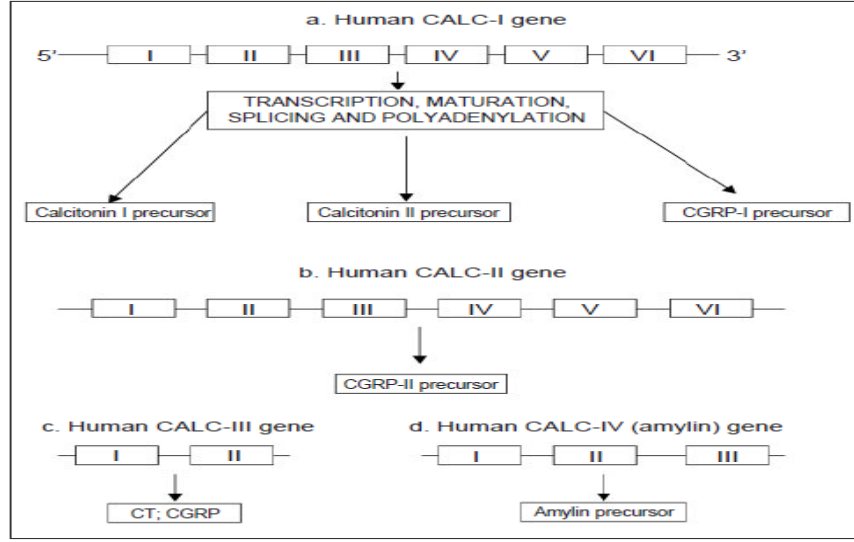
بعض الخواص المشتركة
يُصنع كلاهما بشكل ماقبل طليعة الهرمون التي تتعرض لإزالة جزء من الببتيد وتُنقل للشبكة الهيولية الباطنية.
تتعرض طليعة الهرمون لتعديلات ما بعد الترجمة بواسطة نفس الإنزيمات (PC1, PC2, CPE) ضمن الشبكة الهيولية الباطنية ولاحقاً ضمن الحويصلات الإفرازية الناشئة عن حويصلات غولجي.
يُعتبر الفائض من كلا طليعتي الهرمون عوامل داخلية مولدة للسكري.

2-4: مستقبلات الأميلين

لا تزال مستقبلات الأميلين ومواقعها وآلية عملها قيد الدراسة. و يبدو أن هناك تشابهاً بين بنية الأميلين والكالسيتونين (CT) والببتيد المرتبط بمورثة الكالسيتونين Calcitonin Gene Related peptide (CGRP) و الأدرينوميدولين Adrenomedullin. حيث تضم كل من هذه الببتيدات حلقة من 6 حموض أمينية لدى النهاية الأمينية تتشكل بواسطة رباط ثنائي الكبريت، كما أن النهاية الكربوكسيلية تضم مجموعة أميد. (40:39)

تتكون عائلة الجينات المرزمة للكالسيتونين (الشكل 10) من أربع جينات معروفة هي:

- 1- CALC-I: مسؤول عن إنتاج CT و CGRP-I
- 2- CALC-II: مسؤولة عن إنتاج CGRP-II.
- 3- CALC-III: مسؤول عن إنتاج CT و CGRP.
- 4- CALC-IV: مسؤول عن إنتاج الأميلين. (41)



الشكل 10: الجينات المرزمة لعائلة الكالسيتونين. (41)

أثبتت الدراسات حتى الآن تواجد 6 معقدات من المستقبلات من نمط G-protein coupled receptors ترتبط بإلفة عالية بالأميلين، وتتكون هذه المستقبلات من مستقبل كالسيتونين في المركز (CT_(a) أو CT_(b)) مرتبباً بأحد ثلاث أنواع من البروتينات المعدلة لفعالية المستقبل Receptor Activity Modifying Proteins (RAMP) لتعطي مستقبلات الأميلين الآتية:

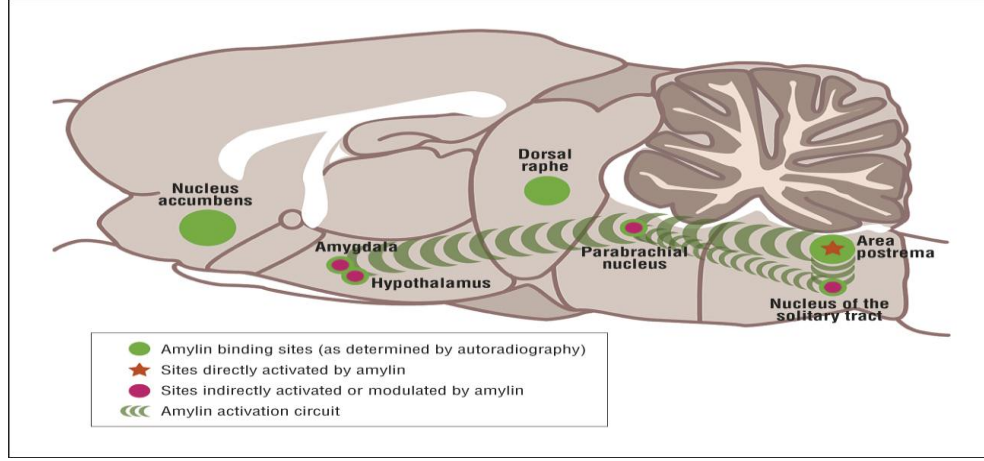
المستقبل AMY1_(a or b): عبارة عن معقد مستقبل كالسيتونين + RAMP1.

المستقبل AMY2_(a or b): عبارة عن معقد مستقبل كالسيتونين + RAMP2.

المستقبل AMY3_(a or b): عبارة عن معقد مستقبل كالسيتونين + RAMP3. (42)

ولقد أظهرت دراسات الارتباط بالمستقبل Receptor binding studies باستخدام الأميلين الموسوم باليود المشع ¹³⁵I لدى الجرذان أن للأميلين إلفة عالية لمواقع معينة من الدماغ (الشكل 11) تفسر التأثيرات العصبية المنظمة للغلوكوز الخاصة بالأميلين هي:

النواة المتكئة Nucleus accumbens (هي جزء من مركز المتعة في الدماغ تلعب دوراً هاماً في حالات الإدمان والمتعة والخوف)، النواة الحافية الظهرية Dorsal raphe nucleus (تقع على الخط المتوسط من الدماغ غنية بمستقبلات السيروتونين)، الباحة المنخفضة Area postrema (جزء من الدماغ تكتشف السموم في الدم وتحفز الإقياء) (43)



الشكل 11: مقطع دماغي يُظهر المواقع الغنية بمستقبلات الأميلين. (43)

و أشارت دراسات الارتباط بالمستقبل ، والدراسات الكيميائية المناعية النسيجية و Immunohistochemical ، والتجارب السلوكية Behavioural experiments لجرذان تعاني من آفات في منطقة الباحة المنخفضة من الدماغ أو في خلايا عصبية محددة ضمنها، أن هذه المنطقة هي المنطقة الأولية الضرورية لظهور تأثيرات الأميلين في الجسم، وهي حساسة لتغير مستويات الأميلين في الدوران وغنية بمستقبلاته. (45،44)

3-4: تأثيرات الأميلين

أظهرت التجارب على الحيوانات والبشر أن الأميلين يتمتع بثلاث وظائف رئيسية تؤثر جميعها على معدل ظهور الغلوكوز في الدم Ra بعد تناول الوجبة وهي:

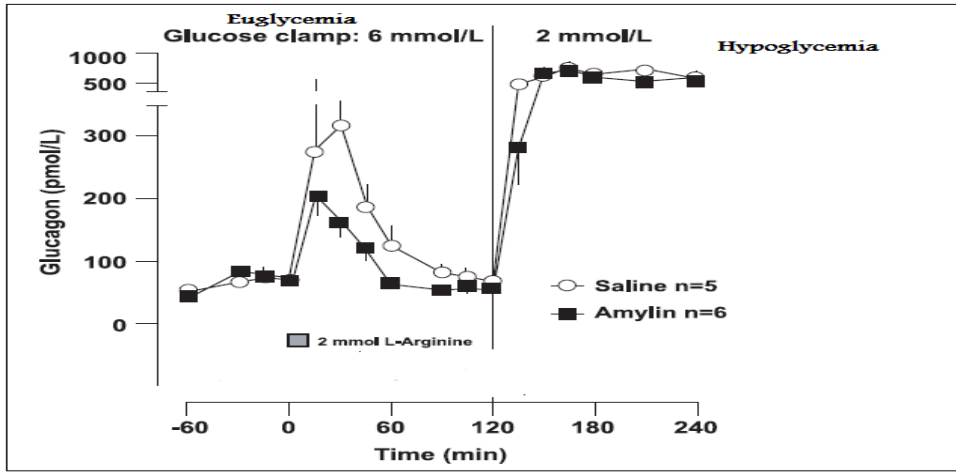
1-3-4: تأثير الأميلين على إفراز الغلوكاغون بعد تناول الوجبة

لقد تبين بدراسة Silvestre وزملائه عام 2001 على جرذان تملك تركيز غلوكوز دم طبيعي Euglycemia، أن تسريب الأميلين بعد تحريض غذائي بواسطة الأرجينين (الذي يعرف بأنه يرفع تركيز الغلوكاغون في الدم) أدى لتثبيط إفراز الغلوكاغون اعتماداً على الجرعة، ولم يظهر هذا التأثير لدى الجرذان المصابة بانخفاض غلوكوز الدم Hypoglycemia (الشكل 12). (46)

كما أظهرت دراسة Fineman وزملائه عام 2002 على مجموعة من مرضى السكري من النمط الثاني المعالجين بالأنسولين والذين يعانون من نقص في الأميلين، أنه وبعد تناول وجبة طعام بقيت تراكيز الغلوكاغون مرتفعة إلى حدٍ ما لدى المرضى الذين تم تسريب مصل فيزيولوجي لهم

مقارنةً بالزمرة التي أعطيت أميلين.⁽⁴⁷⁾ وبينت دراسة Gedulin وزملائه عام 1997 على الجردان أن إعطاء حاجب لمستقبل الأميلين أدى لارتفاع تركيز الغلوكاغون مقارنةً بمجموعة شاهدة، وتم الحصول على نفس النتائج لدى إعطاء أصداد للأميلين مقارنةً بالشواهد.⁽⁴⁸⁾

تؤكد كل الدراسات السابقة أن للأميلين دوراً في انخفاض مستويات الغلوكاغون في الدم بعد تناول الطعام مما يوقف استحداث الغلوكوز في الكبد وينقص تركيزه في الدوران.^(50,49,12)



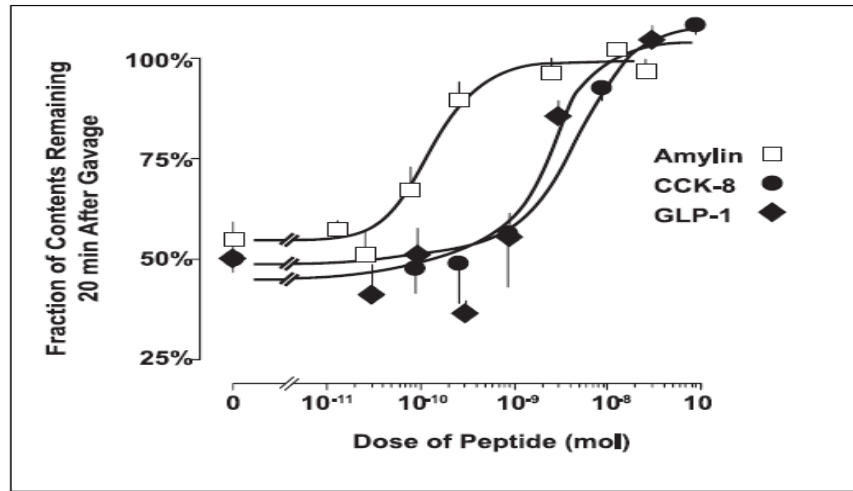
الشكل 12: تأثير الأميلين على إفراز الغلوكاغون عند الجردان بحالتي تركيز غلوكوز دم طبيعي وتركيز غلوكوز دم منخفض مقارنةً بتأثير محلول ملحي (دراسة Silvestre وزملائه).⁽⁴⁶⁾

2-3-4: تأثير الأميلين على الإفراغ المعدي

يعد معدل الإفراغ المعدي من المعدة إلى الأمعاء الدقيقة المحدد الأولي لارتفاع غلوكوز الدم بعد تناول الطعام. و يترافق نقص تأثير الأنسولين على قبط الغلوكوز من قبل الأنسجة المحيطية لدى مرضى السكري بعد تناول الطعام مع تسارع في الإفراغ المعدي، الذي يُعتبر آلية فيزيولوجية طبيعية للوقاية من انخفاض غلوكوز الدم. وبالتالي فإن ضبط معدل الإفراغ المعدي هو تحدٍ لمرضى السكري لتنظيم معدل غلوكوز الدم.⁽⁵¹⁾

أوضحت مجموعة من الدراسات تأثير الأميلين على الإفراغ المعدي، فقد بينت دراسة Gedulin وزملائه عام 1994 أن حقن مجموعة من الجردان بحاجب لمستقبل الأميلين AC 187 وإعطائها وجبة غذائية يؤدي لارتفاع تراكيز الغلوكوز بشكل أسرع بمعدل الضعفين في الدوران مقارنةً

بالمجموعة الشاهدة مما يوحي بأن معدل الإفراغ المعدي كان لديهم أسرع.⁽⁵²⁾ كما أظهرت دراسة Young AA وزملائه عام 1995 على جرذان مصابة بالسكري وتعاني من تسارع الإفراغ المعدي، أن إعطاء الأنسولين وحده للجرذان أبقى لديها تسارع في الإفراغ المعدي مقارنةً بمجموعة شاهدة، بينما أدى تسريب أميلين وريدي لدى كلا المجموعتين إلى نقص في معدل الإفراغ المعدي لديهما.⁽⁵¹⁾ وكذلك قام Young وزملائه عام 1996 بإجراء دراسة على الجرذان للمقارنة بين 6 ببتيدات داخلية يُعتقد بأنها تؤثر على معدل الإفراغ المعدي هي الأميلين، GLP-1، Cholecystinin Octapeptide (CCK-8)، GIP، الغلوكاغون، عديد الببتيد البنكرياسي Pancreatic polypeptide، فتمكن كلٌّ من الأميلين و GLP-1 و CCK-8 من إبطاء معدل الإفراغ المعدي اعتماداً على الجرعة، وكان تأثير الأميلين أقوى ب 15 مرة من GLP-1، وب 20 مرة مقارنةً مع CCK-8، بينما لم يُظهر أي من الغلوكاغون أو GIP أو عديد الببتيد البنكرياسي تأثيراً على معدل الإفراغ المعدي حتى بالجرعات العالية (الشكل 13).⁽⁵³⁾ تبين بنتيجةً هذه الدراسات أن الأميلين يبطئ من معدل الإفراغ المعدي ويُسهّم بذلك في خفض تركيز غلوكوز الدم.^(50,49,12)

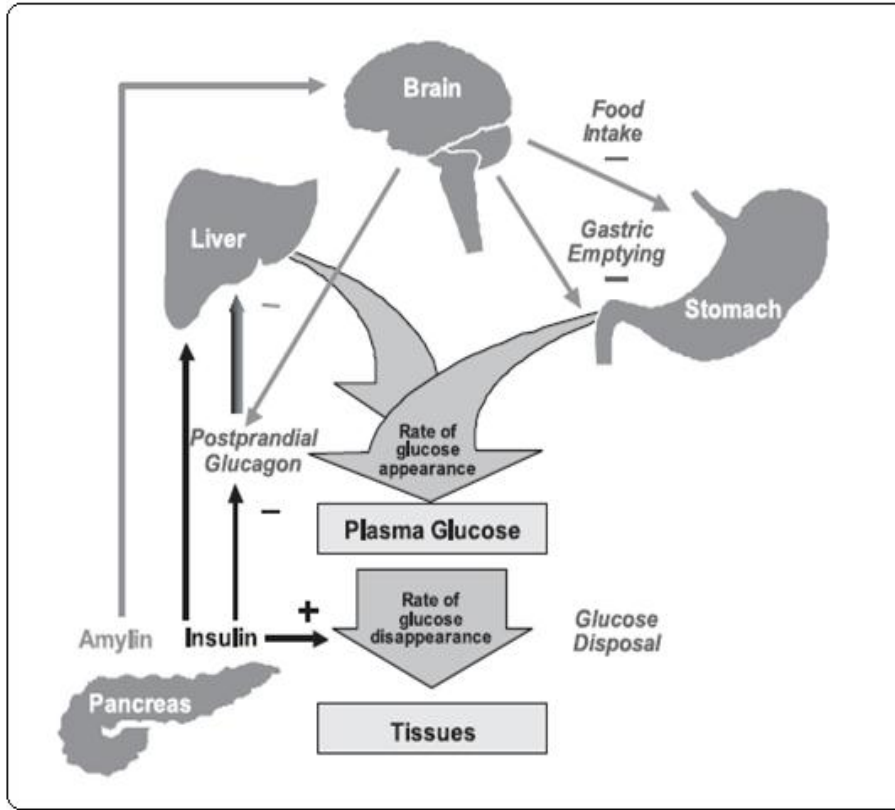


الشكل 13: مقارنة بين تأثير الأميلين و CCK-8 و GLP-1 على معدل الإفراغ المعدي لدى الجرذان (دراسة Young وزملائه).⁽⁵³⁾

3-3-4: تأثير الأميلين على الشهية

بين Chance وزملائه عام 1991 أن حقن الجرذان بالأميلين ضمن الوطاء يؤدي لإنقاص الشهية ويؤثر على استقلاب النواقل العصبية في الوطاء. (54) وتبين في دراسة Brunetti وزملائه عام 2002 أن الأميلين يثبط تحرر الدوبامين بدون أن يؤثر على السيروتونين والنورأدرينالين. (55) كما قارن Bhavsar وزملاؤه عام 1995 تأثير الأميلين على الشهية لدى مجموعة من الفئران في حالة الصيام مع CCK-8 (هرمون من الجهاز الهضمي مسؤول عن إفراز الإنزيمات الهاضمة والصفراء من البنكرياس والمرارة) عبر حقنة وحيدة ضمن البريتوان Intraperitoneally بجرعات متعددة، فتبين أن الأميلين يثبط الشهية بنسبة 55% بينما يثبط CCK-8 الشهية بنسبة 70% لمدة 18-20 ساعة. (56)

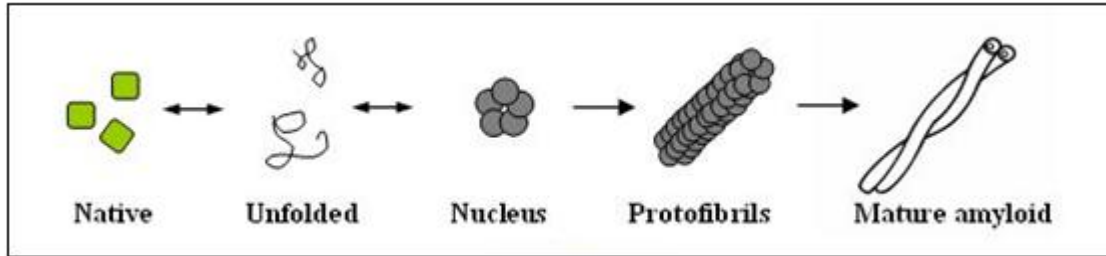
يُظهر الشكل 14 مجمل وظائف الأميلين والأنسولين لضبط مستويات الجلوكوز بعد تناول الطعام.



الشكل 14: التآزر بين الأنسولين والأميلين لخفض تركيز الجلوكوز في الدم بعد الطعام. (12)

4-4: دور الأميلين في بعض الحالات المرضية

يتصف الأميلين بقدرته على تشكيل ألياف نشوانية amyloid fibrils تظهر بشكل رسابات في بنكرياس 90% من مرضى السكري من النمط الثاني، وتتشابه في بنيتها مع الرسابات الموجودة في مناطق معينة من دماغ مرضى الزهايمر. ويبدو أن هذا الشكل الليفي يملك خاصية سامة لخلايا β وللخلايا الأخرى التي يترسب فيها مما يؤدي لخسارة في كتلتها ووظائفها.⁽³⁷⁾ ولا تزال آلية اصطناع هذه الألياف غير معروفة تماماً، ويُعتقد أن تشكلها يبدأ لدى مرضى السكري من النمط الثاني بترسب جزيئات من الأميلين المنحل وتجمعها مع بعضها لتشكيل وحدات صغيرة (تُدعى الألياف البدئية Protofibrils)، لا تلبث أن تتجمع هذه الوحدات لتشكيل مجموعات أكبر من الألياف بقطر 2-4 نانومتر هي أساس تشكل الرسابات النشوانية (الشكل 15).^(58,57,37)



الشكل 15: تطور نشوء الألياف النشوانية.⁽⁵⁸⁾

تتركب الرسابات النشوانية بالإضافة للأميلين من البروتين الشحمي apolipoprotein E (apo E) وبروتين سكري يُدعى perlecan (HSPG) heparan sulfate proteoglycan (أحد مكونات الأغشية القاعدية) ومواد أخرى. وتتشابه هذه المكونات مع تلك الموجودة في الرسابات النشوانية لدى مرضى الزهايمر مما يدل على وجود آلية مشتركة لتشكيل الألياف في السكري والزهايمر.⁽⁵⁹⁾

1-4-4: فرضيات أسباب تشكل الرسابات النشوانية

- **زيادة إنتاج الأميلين:** مع ازدياد مقاومة تأثير الأنسولين في النسيج المحيطية لمرضى السكري يزداد المتطلب منه. فيزداد إنتاجه وإفرازه من خلايا β يرافقه في ذلك زيادة إنتاج الأميلين بسبب الإفراز المشترك لهما. قد يصبح هذا الإنتاج بمعدل أكبر من قدرة إنزيمات PC على معالجة الطلائع لتحويلها لشكلها الفعال، مما يؤدي لتراكم موضعي للأميلين غير المعالج وتجمعه بشكل ألياف⁽³⁷⁾ ولكن لا تزال هنالك دراسات تعارض هذه الفرضية، فالفئران المحورة وراثياً لإنتاج كميات كبيرة من الأميلين البشري لم تنتج بالمقابل كميات كبيرة من الرسابات النشوانية، كما أنه لا تتشكل رسابات نشوانية لدى كل البشر البدينين غير السكريين الذين يعانون من مقاومة الأنسولين، وبالتالي فقد لا تكون هذه الفرضية وحدها كافية لتفسير تشكل الرسابات⁽⁶⁰⁾.
- **خلل المعالجة الإنزيمية لطليعة الأميلين:** يؤثر ارتفاع السكر والشحوم وزيادة الشدة التأكسدية لدى مرضى السكري على وظيفة الخلايا β . فقد تبين أن تعرض خلايا β الطويل للغلوكوز والحموض الدسمة الحرة يؤدي لنقص فعالية كلٍ من الإنزيمين PC2 و PC3، مما يؤدي لخلل معالجة طليعة الأميلين لدى النهاية الأمينية، وتشكل مركب وسط يميل للتراكم والتجمع أكثر من الأميلين النهائي. وقد تبين أن هذا المركب الوسط يحوي مجالاً لدى النهاية الأمينية ذو إلفة عالية لمادة غلكوزامين غليكان Glycosaminoglycan (GAG) في مركب heparan sulfate proteoglycan perlecan (أحد المكونات الرئيسية للرسابات النشوانية)، ويحدث ارتباط هذين المركبين لدى الغشاء القاعدي لخلايا β تغيرات شكلية في طليعة الأميلين مما يؤدي لترسبه. يعتمد اختبار صحة هذه الفرضية على توافر مقاييس حساسة لكشف طليعة الأميلين في البلازما والأشكال الوسط الناتجة عن سوء معالجته⁽⁶¹⁾.
- **يملك الأميلين البشري شحنة موجبة في ال pH البيولوجية وبالتالي فهو يتأثر مع الشحنة السلبية للأغشية الخلوية.** وقد أظهرت الدراسات في الزجاج أنه يمكن للأغشية سالبة الشحنة أن تحفز تشكل الأميلويد من الأميلين⁽⁶²⁾ ولكن يصعب استخدام هذه النظرية لتفسير ما يحدث ضمن العضوية الحية، لأن الأغشية المستخدمة في الدراسات تحوي نسبة عالية من الشحوم سالبة الشحنة وأكبر من تلك الموجودة حقيقةً في أغشية الخلايا β ، كما أنها تفنقر

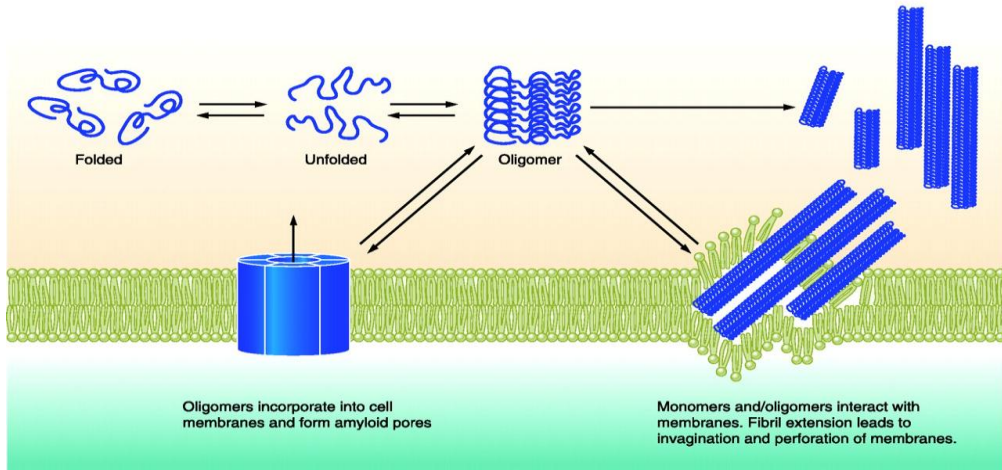
للكوليستيرول، وبالتالي تبقى الآلية التي توضح كيفية تشكل الأميلويد من تفاعل الأميلين مع الأغشية غير واضحة تماماً⁽⁶³⁾.

- **يمكك الأميلين منطقة بين الموقعين 20 و 29 من تسلسل الحموض الأمينية** مسؤولة عن تحويله من الشكل الذواب إلى الشكل القابل للتراص وبالتالي تشكيل الألياف النشوانية، لاحتوائها مجموعة من الحموض الأمينية الكارهة للماء مثل (Ala-Ile-Leu-Ser).⁽⁶⁴⁾
- **يمكك الأميلين البشري 6 ثمالات أسبارجين (Asn)** قد تخضع لإزالة أميد فيتشكل حمض الأسبارتيك Asp. وبالتالي سيحل محل مجموعة الأميد المعتدلة مجموعة كربوكسيل تخفض شحنة الأميلين في الPH البيولوجية وتقلل من ذوبانيته.⁽⁶⁵⁾

2-4-4: الآلية السامة لعمل النشواني في خلايا β

يحفز الأميلويد استماتة الخلايا عبر مجموعة من الآليات منها:

- **النفوذ عبر الغشاء أو تخريبه:** أظهرت الألياف النشوانية في الزجاج قدرةً على صناعة ثقوب في الغشاء الخلوي لخلايا β ، تسمح للكالسيوم خارج الخلوي بالدخول وتحفيز استماتة الخلايا عبر تفعيل عدد من السبل الضارة بالخلية كزيادة إنتاج أنماط الأكسجين التفاعلية Reactive Oxygen species (ROS). أي تسمح هذه الألياف بتشكيل قنوات لنفاذ الشوارد ضمن الغشاء الفسفوليبيدي ثنائي الطبقة للخلايا. (الشكل 16)
- كما يمكن أن ينفذ الأميلويد نفسه عبر غشاء الخلية أو الميتاكوندريا، فيزداد إنتاج ROS ويتحرر السيتوكروم C مما يؤدي للاستماتة.^(67,66)



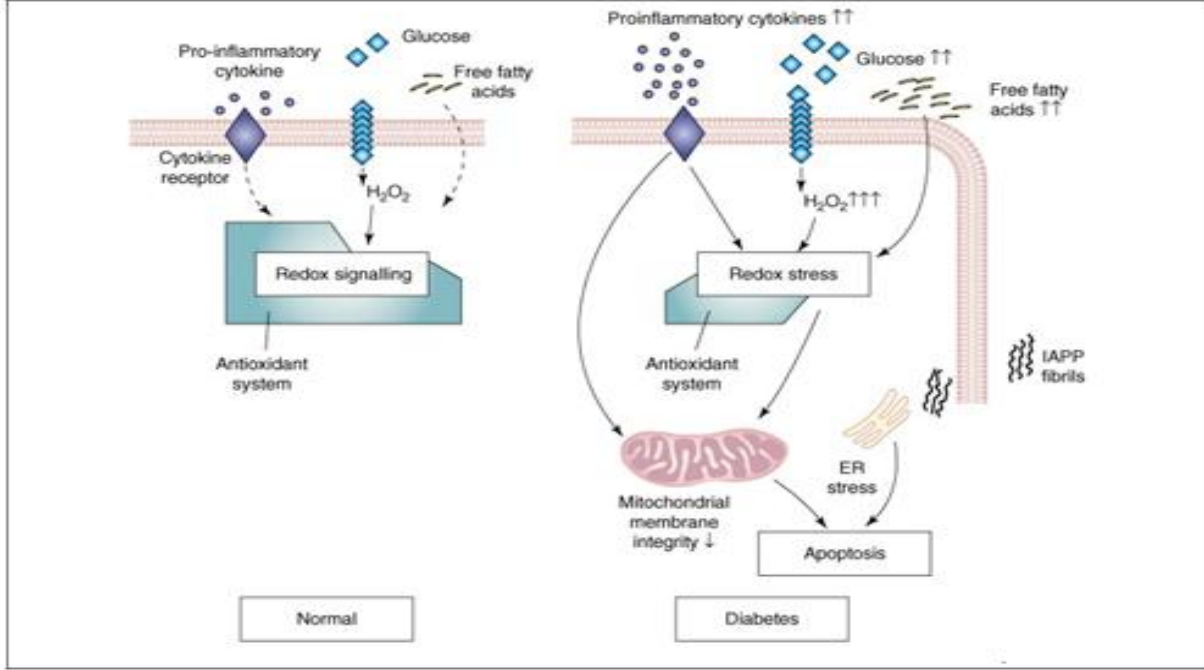
الشكل 16: تخريب الألياف النشوانية لغلاف الخلية.⁽⁶⁸⁾

- الآلية الالتهابية للجزر **Islet inflammation** : تملك ألياف الأميلين قدرة على تفعيل الجسيمات الالتهابية Inflammasomes، وهي عبارة عن معقدات متعددة البروتين مفعلة للكاسباز. تحفز هذه الجسيمات الالتهابية عدد من شلالات الإشارة التي تؤدي لتشكيل السيتوكينات الالتهابية مثل IL-1 β (interleukin-1 β) والجذور الحرة التأكسدية ROS مما يؤدي الخلية ويؤدي لاستماتتها. (70-69)
- **ضعف في البلعمة الذاتية Autophagy**: وهي الآلية التي تحمي الخلية من تراكم المكونات ذات السوء الوظيفي أو البنيوي، وقد تبين أن زيادة التعبير عن الأميلين في خلايا البنكرياس لدى مرضى السكري من النمط الثاني يؤدي لعطل في عملية البلعمة الذاتية مما يؤدي لاستماتة الخلية. (71)
- **إجهاد الشبكة الهيولية الباطنية (ER stress) Endoplasmic Reticulum stress** : عند تراكم ألياف الأميلين الناتجة عن خطأ في تعديلات ما بعد الترجمة، تقوم الشبكة الهيولية الباطنية في الخلية برد فعل لإصلاح الخطأ عن طريق تحطيم البروتين المعطوب Endoplasmic Reticulum Associated Protein Degradation (ERAD) وآلية Unfolded Protein Response (UPR)، ولكن مع الإنتاج المتزايد لألياف الأميلين السامة لدى مرضى السكري تعجز عمليات الإصلاح السابقة عن القيام بدورها بفعالية مما يؤدي لتفعيل عملية استماتة الخلية. (73-72)
- **يمكن أن يحدث تفعيل لطريق الاستماتة الخارجية** بواسطة زيادة التعبير عن المستقبل (FAS (CD95) الذي يُعرف باسم مستقبل الموت Death receptor على سطح الخلية. (74)

تقاوم الخلية في البداية تأثيرات ألياف الأميلين السامة عبر زيادة مستويات mRNA للبروتين P53 (بروتين كابح للورم Tumor suppressor)، الذي يرتبط بدوره ب DNA الخلية ويحفز التعبير عن العديد من الجينات مثل WAF1/CIP1 المرمزة لبروتين P21 ، الذي يقوم بدوره بإيقاف دورة حياة الخلية لدى المرحلة G1/S بهدف الإصلاح. ومع مرور الوقت وازدياد تراكم ألياف الأميلويد السامة تعجز البروتينات السابقة عن الإصلاح، ويتحفز لديها سبل الاستماتة مثل c JUN N-

terminal kinase (JNK) وتفعيل شلال الكاسباز (cysteine proteases) انتهاءً ب caspase 3 وبالتالي استماتة الخلية.⁽⁷⁵⁾

ويُظهر الشكل 17 بعض الآليات تاتي تؤدي لاستماتة الخلايا β لدى مرضى السكري.

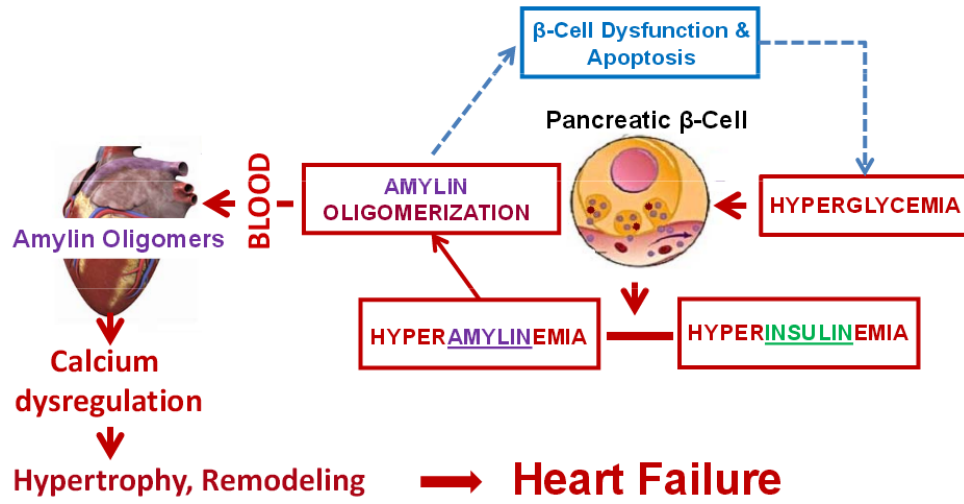


الشكل 17: بعض آليات استماتة الخلايا β لدى مرضى السكري.⁽⁷⁶⁾

3-4-4: تأثير رسابات الأميلين في بعض المضاعفات المرافقة للسكري نمط 2 والبدانة

أشارت بعض الدراسات إلى أن ارتفاع أميلين الدم لدى مرضى السكري من النمط الثاني والبدنين يؤثر في المضاعفات الوعائية والقلبية المرافقة. فقد أظهرت دراسة Depsa وزملائه عام 2012 على مرضى السكري والبدنين وجود رسابات لألياف الأميلين ضمن خلايا العضلة القلبية لمرضى فشل القلب heart failure من السكريين والبدنين، ويبدو أن هذه الألياف ترتبط بغمد الليف العضلي و تؤثر على حركة شوارد الكالسيوم مما يؤدي لتعديلات مرضية على وظيفة القلب. كما أظهرت الدراسة وجود تراكم لمتماثرات صغيرة من الأميلين في خلايا العضلة القلبية للبدنين غير المصابين بفشل قلب مما يوحي بأنها مرحلة مبكرة لتراكم الألياف وربما مؤشر للإصابة بحالة فشل قلبي (الشكل 18).⁽⁷⁷⁾ بينما أوضح Jackson وزملاؤه عام 2013 في دراسة على مرضى سكري مصابين بالزهايمر ومرضى زهايمر غير سكريين أن الاضطرابات الاستقلابية المرافقة

للشيخوخة تحفز تراكم ألياف الأميلين في الأوعية الدماغية والمادة الرمادية من الدماغ إلى جانب الأميلويد β ، ويبدو أن هذه الألياف تعطل قدرة الخلايا على التخلص من الأميلويد β ، مما يساهم في إمرضية الزهايمر. (78) كذلك قام Gong W وزملاؤه عام 2007 بالمقارنة بين مرضى مصابين باعتلال الكلية السكري Diabetic nephropathy و مجموعة شاهدة مكونة من أشخاص مصابين بأمراض كلية غير مرتبطة بالسكري، فنتبين وجود رواسب الأميلين في النسيج الكلوي لمرضى السكري و خاصة في المسراق الكبيبي و الاوعية الدموية، و كانت كثافة الرسابات مرتبطة بشدة المرض. (79)



الشكل 18: تأثير ارتفاع الأميلين على خلايا العضلة القلبية. (77)

4-4-4: تأثير رسابات الأميلين في رفض زرع جزر البنكرياس

تعد زراعة الجزر علاجاً واعداً للسكري، يعيها حالات خسارة الزرع (graft lose) بسبب سرعة تراكم الألياف النشوانية في الخلايا المزروعة مما يؤدي لاستماتةها. فقد أدى زرع خلايا بشرية في فئران مصابة بالسكري مثبطة المناعة إلى تشكل الألياف خلال شهر بعد الزرع وزادت كثافتها خلال شهرين، بينما لم يلاحظ تشكل هذه الألياف لدى زراعة خلايا خنزيرية. يختلف أميلين الخنزير عن الأميلين البشري في 10 مواقع للحموض الأمينية قد تكون السبب في نقص قدرته على تشكيل الألياف. (80)

ويُظهر الشكل 19 ملخص وظائف الأميلين وآليته السامة لخلايا β .



الشكل 19: ملخص وظائف الأميلين وآليته السامة. (81)

5-4: بعض التطبيقات العلاجية الحالية والمستقبلية للأميلين

1-5-4: معالجة السكري

1-1-5-4: استخدام أميلين خارجي

- يعاني مرضى السكري من صعوبة ضبط غلوكوز الدم بواسطة الأنسولين للأسباب التالية:
- آلية تأثير الأنسولين الخارجي لا تطابق بشكل كامل آلية تأثير الأنسولين الداخلي المُفرز.
 - ففي الحالة الفيزيولوجية الطبيعية يتعرض الكبد لارتفاع في تراكيز الأنسولين في الدوران

البابي بمقدار الضعفين حتى الأربع أضعاف مقارنةً بالدوران المحيطي، بينما لا يقترب تركيز الأنسولين الناتج عن الحقن المحيطي من هذه النسبة، مما يؤدي إلى عدم تثبيط كافٍ للغلوكوز الكبدي. (83-82)

- تصبح قدرة الأنسولين الطبيعي لدى مرضى السكري على تثبيط الغلوكاغون محدودة. ولا يحصل المريض على تعويض كافٍ لهذه القدرة من خلال الحقن المحيطي للأنسولين. وبدل أن تنخفض تراكيز الغلوكاغون بعد تناول الوجبة ويُصنع مخزون من الغلوكوز، يحدث العكس ويبقى تركيز الغلوكاغون مرتفعاً وتُستنفذ مخازن الغليكوجين. (84)
- لا يمكن زيادة جرعة حقن الأنسولين في محاولة لعكس الأسباب السابقة، لأنها تعرض المريض لنوبة انخفاض سكر دم بأعراضها السلبية من رعشة وفقدان وعي وضرر في الدماغ والوفاة في الحالات المتقدمة. (85)

لذلك كان هناك اهتمام بخصائص الأميلين في ضبط الغلوكوز للاستفادة منها في العلاج. وكان العائق الأساسي لتوليد الأميلين الطبيعي للألياف النشوانية السامة للخلايا. فجرى البحث عن طريقة لمنع هذه الخاصة السلبية، وتبين أن الأميلين الجرذي لا يملك التسلسل المولد للألياف النشوانية. لذلك جرى استبدال عدد من الحموض الأمينية في الأميلين البشري وهي (Ala 25, Ser 28, Ser 29) بحمض البرولين، ليصبح التسلسل مشابهاً لتسلسل حموض الأميلين الجرذي (الشكل 20)، وبذلك تم الحصول على شكل دوائي أُطلق عليه اسم Pramlintide (الاسم التجاري Symlin) وهو مقادٍ للأميلين لوحظ لدى استعماله انخفاض الهيموغلوبين السكري لدى السكريين من النمط الثاني المعالجين بالأنسولين، وله نفس فعالية الأميلين في إبطاء الإفراغ المعدي والتأثير على الشهية عبر مستقبلات الدماغ وتثبيط إفراز الغلوكاغون بعد تناول الوجبة، ولقد وافقت ال FDA على استخدامه بشكل حقن تحت الجلد لدى مرضى السكري من النمط الأول والثاني المُعالجين بالأنسولين الذين لا يحققون قيم A1C الهدفية. (86)

Pramlintide:	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFG <u>P</u> IL <u>PP</u> TNVGSNTY- (NH ₂)
Amylin:	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFG <u>A</u> IL <u>SS</u> TNVGSNTY- (NH ₂)
Rat amylin:	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNFG <u>P</u> VL <u>PP</u> TNVGSNTY- (NH ₂)

الشكل 20: مقارنة بين تسلسل الحموض الأمينية للأميلين لدى البشر والجرذان ومقلد الأميلين. (87)

4-5-1-2: تثبيط إنتاج الأميلين الداخلي

بما أن الإنتاج الكبير للأميلين في السكري يؤثر سلباً على خلايا β البنكرياسية ويساهم في تطور المرض،⁽³⁷⁾ فمن الممكن أن يحسن تثبيط إنتاج الأميلين الداخلي المولد للألياف النشوانية ضبط السكر عبر مايلي:

- تثبيط مباشر: يصعب إيجاد أدوية تثبط التعبير عن الأميلين دون التأثير على الأنسولين بسبب امتلاك جينات الأميلين والأنسولين عناصر مشتركة منظمة للمعزاز Regulatory promoter elements تساهم في الإنتاج المشترك لكلا الهرمونين.⁽³¹⁾ يمكن منع إنتاج الأميلين وحده باصطناع antisense complementary DNA مقابل IAPP mRNA، وقد نجحت هذه الطريقة في الزجاج في كبح التعبير عن الأميلين وزيادة إنتاج الأنسولين في الخلايا.⁽⁸⁸⁾
- تثبيط غير مباشر: يساعد خفض الحاجة المستمرة لإنتاج الأنسولين في نقص إنتاج الأميلين، يمكن الحصول على هذه النتيجة من خلال خفض الوزن و بدء معالجة مبكرة بالأنسولين في حالة السكري من النمط 2.⁽⁸⁹⁾
- تثبيط تشكل ألياف الأميلويد: يحتوي الأميلويد عناصر تحميه من التفكك مثل سيروم أميلويد P والبيرليكان، يمكن أن يؤدي منع ارتباطهم بالأميلين عبر أضداد تستهدف أجزاء البروتين المولدة للأميلويد في إبطاء تطور السكري.⁽⁵⁹⁾

4-5-2: معالجة زيادة الوزن لدى البدنين

مع تعدد الإشارات التي تتدخل في النظام المعقد لاستتباب الطاقة في الجسم فإنه من غير المستغرب أن تتداخل هذه الإشارات مع بعضها البعض. وقد حازت دراسات تفاعلات الأميلين مع الهرمونات الأخرى التي تؤثر على الشهية لدى الكائنات على اهتمام الباحثين في معالجة البدانة، ومن هذه الدراسات:

1- التفاعل مع CCK

يقلل كل من الأميلين و CCK الشهية. ويبدو أن الأميلين يتشارك مع CCK في تفعيل (فسفرة) سبيل الإشارة (ERK) Extracellular signal regulated kinase في الخلايا العصبية لأن استخدام مثبط لفسفرة ERK (U0126) أدى إلى إضعاف تأثير كل من CCK والأمينين على الشهية.⁽⁹⁰⁾ وقد بينت دراسة ل Bhavsar وزملائه عام 1998 أن إعطاء الأميلين مع CCK يؤدي لتثبيط قوي للشهية، وبأن هذا التأثير تآزري synergistic، لأن مزج جرعات غير فعالة من الأميلين و CCK أدى لظهور تأثير قوي على تثبيط الشهية.⁽⁹¹⁾ بينما أشارت دراسة Lutz وزملائه عام 2000 إلى احتمال أن تكون تأثيرات CCK المثبطة للشهية متواسطة بالأمينين وذلك لأن إعطاء مثبط الأميلين (AC 253) مع CCK أضعف من تأثيراته المثبطة للشهية مقارنة بتطبيق CCK وحده، بينما لم يؤد إعطاء مثبطات CCK مع الأميلين إلى إضعاف تأثير الأخير.⁽⁹²⁾ وربما يكون التفسير أن CCK يزيد من مستويات الأميلين في الدوران، ولا يوجد حتى الآن دليل على هذا التفسير.⁽⁹³⁾

2- التفاعل مع GLP-1

يحفز GLP-1 إفراز الأنسولين المتواسط بالغلوكوز. وبما أن اصطناع وإفراز الأميلين يتم مع الأنسولين فإنه من المحتمل أن يمارس GLP-1 تأثيراته على الشهية عبر الأميلين.⁽⁹⁴⁾ وبينت دراسة Bello وزملائه عام 2010 على القرود أن المشاركة بين الأميلين و مضاهي GLP-1 (Exendin) تعطي نقصاناً أقوى في الشهية مقارنة بكل منهما لوحده.⁽⁹⁵⁾

3- التفاعل مع اللبتين

بعد اكتشاف اللبتين عام 1994 ودوره المضاد للبدانة، تبين أن أحد أسباب البدانة يعود لمقاومة اللبتين الداخلي.⁽⁹⁶⁾ مما دفع Roth وزملائه عام 2008 لدراسة تأثير اللبتين والأمينين المسربان محيطياً على الجرذان البدنية المقاومة للبتين لمدة أسبوعين فكانت نتائج الدراسة على الشكل التالي :

- كان تأثير اللبتين وحده معدوماً على الجرذان البدنية مقارنةً بالشواهد، ولم يكن له تأثير على الشهية أو الوزن.

- كان تأثير الأميلين وحده فعالاً على الشهية والوزن لدى الفئران البدنية.
- أدى التسريب المشترك لكلا الهرمونين إلى تأثير قوي على الوزن والشهية أفضل من الأميلين وحده، مما يوحي بتأثير الأميلين على زيادة الحساسية للبتين.⁽⁹⁷⁾
- ويبدو أن هذه الميزة خاصة بالأميلين ففي دراسة ل Reidelberg وزملائه عام 2012 لم يتحسن تأثير اللبتين لدى الجرذان البدنية لدى مشاركته مع مضاهئ GLP-1 (Exendin-4).⁽⁹⁸⁾
- وقد شجعت هذه النتائج الإيجابية على بدء دراسات سريرية لمزيج الأميلين واللبتين على البشر، فقد قام Ravussin وزملاؤه عام 2009 بدراسة تأثير العلاج المشترك بال Pramlintide و Metreleptin (مضاهئ للبتين) على وزن الجسم لدى البدينين وكانت النتائج كما يلي:
- حصلت خسارة وزن بمعدل 5% خلال شهر من المعالجة بال pramlintide وحده.
- حصلت خسارة وزن بمعدل 8% لدى المعالجة المستمرة لمدة 5 أشهر بال pramlintide وحده أو ال metreleptin وحده.
- أدى المزج بين المركبين إلى خسارة وزن بمعدل 12% خلال 5 شهور.⁽⁹⁹⁾

ويعتقد أن التأثير الإيجابي للأميلين على حساسية الخلايا للبتين يعود إلى قدرة الأميلين على تحسين نقل إشارة اللبتين في الوطاء، إذ تظهر إشارة اللبتين عبر فسفرة STAT3 (Signal transducer and activator of transcription). وقد أثبتت الدراسات التي أجراها Moon وزملاؤه عامي 2011 و 2012 في الزجاج على خلايا وطاءية مزروعة وجود تأثيرات إضافية على فسفرة STAT3 لدى مشاركة الأميلين واللبتين.⁽¹⁰⁰⁻¹⁰¹⁾ وقد تكون زيادة فاعلية STAT3 الوطاء مرتبطة بقدرة الأميلين على زيادة التعبير عن مستقبلات اللبتين في الوطاء.⁽¹⁰²⁾

4- التفاعل بين الأميلين واللبتين مع الهستامين:

إضافةً لدور الهستامين المعروف في تحفيز الاستجابة الالتهابية في الجسم ، يتفاعل الهستامين مع مستقبلاته H1 في الوطاء مما يؤدي لفقدان الشهية.⁽¹⁰³⁾ مما دفع Boyle وزملاؤه عام 2011 لإجراء تجارب على فئران تعاني من عدم وجود مستقبلات للهستامين H1 (H1 rko mice)، فكان من الجدير بالاهتمام أن تسريب كلاً من الأميلين واللبتين لهذه الفئران لم يؤد لنقصان في

الشهية، أي حدث غياب لتأثير كلا الهرمونين علماً بأنه تم قياس تفعيل سبل نقل الإشارة لكلا الهرمونين في الدماغ فكانت النتائج كالآتي:

- أظهرت فئران H1 rko أنماط التفعيل المتوقع لسبيل الإشارة c-Fos الذي يعبر عن فعالية الأميلين في منطقة الباحة المنخفضة، وسبيل pSTAT3 الذي يعبر عن فعالية اللبتين في منطقة النواة المقوسة الوطائية hypothalamic accurate nucleus.
- ينقص مزيج الأميلين مع اللبتين الشهية لدى أنماط الفئران البرية المستخدمة في التجارب ولكن ليس لدى فئران H1 rko. (104)

وكانت نتائج الدراسة السابقة مشابهة لنتيجة دراسة Mollet وزملائه عام 2003 التي بينت أن حقن مادة chlorpheniramine (مثبط لمستقبلات H1) ضمن الوطاء أدى لزوال تأثير الأميلين المطبق خارجياً على الشهية. (105)

وبناءً على هذه النتائج قد يكون تفسير قدرة كل من الأميلين واللبتين على تثبيط الشهية مرتبطاً بإشارات الهيستامين، وبأن تفعيل الأميلين للخلايا العصبية في منطقة الباحة المنخفضة ربما يؤدي لزيادة تحرر الهيستامين الوطائي الذي يعمل بدوره على مستقبلات H1 ويؤدي لنقصان الشهية. (93)

3-5-4: معالجة لهشاشة العظام

أدى الحقن الجهازى والموضعي للأميلين تحت الجلد في جمجمة الفئران لزيادة تشكل العظم ونقصان ارتشافه. ويبدو أن الأميلين يؤثر على امتصاص الكالسيوم من قبل العظام، ويحفز زيادة تكاثر خلايا بانيات العظم (osteoblast)، ويثبط حرائك ناقضات العظم (osteoclast). وبالتالي يمكن اعتبار الأميلين ومثابهاته معالجات مرشحة لهشاشة العظام باعتباره معالجة ابتنائية anabolic therapy. (40)

الدراسة العملية

1-هدف الدراسة Aim of study

أدى الانتشار الواسع للسكري إلى تزايد الدراسات العالمية عليه باعتباره مسؤولاً عن العديد من الاضطرابات والمضاعفات التي تؤدي لتردي حالة المريض الصحية والاجتماعية والاقتصادية. لذلك كان لا بد من البحث المستمر عن معالم جديدة تفيد في فهم أعمق للآليات المشاركة في تطور هذا ، ومحاولة الاستفادة منها في التقصي والمعالجة مما يساهم في تحسن الحالة الصحية للمريض. فكان اكتشاف هرمون الأميلين الذي تبين دوره الحيوي في استتباب الغلوكوز، ودوره المرضي في تخرب خلايا بيتا البنكرياسية، ومشاركته في المعالجة الدوائية لمرضى السكري.

لذلك هدف بحثنا إلى دراسة مستويات هرمون الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني والبدنيين وذلك من خلال:

- مقايسة المستويات البلازمية الصيامية لهرمون الأميلين بطريقة الـ ELISA لدى مرضى السكري من النمط الثاني ومقارنتها بمجموعة الأصحاء والبدنيين.
- مقارنة مستويات الأميلين البلازمية بين مرضى السكري من النمط الثاني تبعاً لفترة الإصابة بالمرض.
- دراسة العلاقة بين الأميلين ومجموعة من المعالم الكيمائية الحيوية لدى مرضى السكري هي: منسب كتلة الجسم، الأنسولين، مقاومة الأنسولين، الغلوكوز، الهيموغلوبين السكري، الكوليستيرول الكلي، ثلاثيات الغليسيريد، البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة، البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة.

2-مجموعات الدراسة Study groups

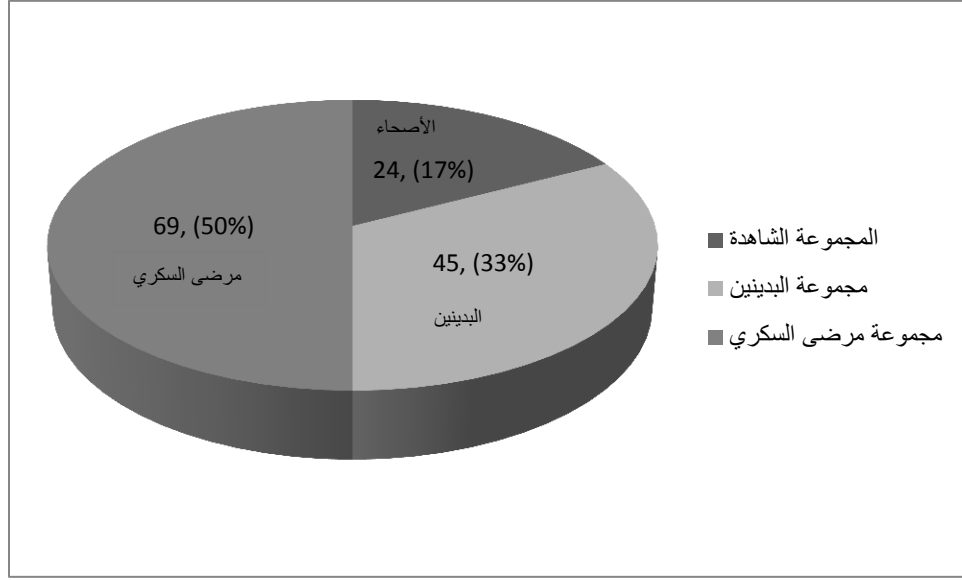
شملت دراستنا 138 فرداً بعد استبعاد الأشخاص المصابين باضطرابات في الغدد الصم، موزعين ضمن المجموعات التالية:

- 1- مجموعة مرضى السكري من النمط الثاني: شملت 69 مريضاً (42 إناث، 27 ذكور)، يتناولون أحد مركبات السلفونيل يوريا مع الميتفورمين ولا يأخذون الأنسولين، متوسط أعمارهم 54 ± 9 أعوام.

2- مجموعة الأفراد البدينين: شملت 45 فرداً (30 إناث، 15 ذكور)، لم يشخص لديهم سكري، متوسط أعمارهم 46 ± 10 أعوام.

3- المجموعة الشاهدة: شملت 24 فرداً (14 إناث، 10 ذكور)، أصحاب ظاهرياً لا يعانون من السكري أو البدانة ولا يتناولون أية أدوية، متوسط أعمارهم 45 ± 10 أعوام.

ويمثل الشكل (21) مخطط لمجموعات الدراسة



الشكل 21: توزيع مجموعات الدراسة

3- الاعتيان sampling

جُمعت عينات مرضى السكري من النمط الثاني في الفترة ما بين 2011/7/6 و2012/1/25 من مراجعي مركز العيادات الشاملة التابع لوزارة الصحة والجمعية السورية لرعاية السكريين. وُجمعت عينات البدينين من مراجعي مركز للتحيف. بينما جُمعت معظم عينات المجموعة الشاهدة من متطوعين أصحاب لا يراجعون أي مركز طبي.

أُخذت عينات الدم (5 مل دم وريدي وُزعت على أنبوب جاف وأنبوب يحوي مضاد تخثر EDTA) على الريق بعد صيام ليلة كاملة. أُستخدم جزء من أنبوب الـ EDTA لمقايسة الهيموغلوبين السكري حيث حفظ في البراد بدرجة $+8^{\circ}\text{C}$ مدة من 2-7 أيام حتى وقت إجراء المقايسة. وُنَبذَ الأنبوب الجاف والجزء المتبقي من أنبوب EDTA مباشرة (5000 دورة في الدقيقة

مدة 5 دقائق) ووزع المصل الناتج على ثلاثة أنابيب إيبندورف بينما استخدمت البلازما لمعايرة الأميلين ، حُفظت العينات لدى الدرجة -80°م إلى وقت إجراء المقاييسات، أي حوالي سبعة أشهر كحد أقصى. استُخدمت القسيمة الأولى من المصل لمقاييسة الأنسولين والقسيمة الثانية لمقاييسة المنتبئات الكيميائية الحيوية والقسيمة الثالثة بقيت قسيمة احتياطية.

1-3 : استمارة البحث

سجلت بيانات أفراد الدراسة في بطاقات استبيان موضحة في الشكل 22.

وزارة التعليم العالي
جامعة دمشق – كلية الصيدلة

دراسة مستويات الأميلين البلازمية عند المرضى السكريين من النمط الثاني
إعداد الصيدلانية: رؤى السمان

إشراف: أ.د سحر الشماع
مشاركة: أ.د يونس قبان

اسم المريض: _____
رقم المريض: _____
العمر: _____
الجنس: _____
عنوان المريض: _____
العادات: التدخين: _____
تاريخ الإصابة بالسكري: _____
القصة السكرية العائلية: _____
الطول: _____
الوزن: _____
مضب كتلة الجسم: _____

الإدوية المستخدمة: _____
المعالم المدروسة: _____

	Glucose (mg/dl)		TC (mg/dl)
	HbA1c %		TG (mg/dl)
	insulin		HDL (mg/dl)
	amylin		LDL (mg/dl)

الشكل 22 : استمارة البحث.

4- المواد والطرق المستخدمة Material and methods

1-4: تعيين منسب كتلة الجسم BMI

عُين منسب كتلة الجسم لكل فرد من أفراد الدراسة بتقسيم وزن الجسم مقدراً بـ(كغ) على مربع الطول مقدراً بالمتر .

$$BMI = \frac{\text{الوزن (كغ)}}{\text{مربع الطول (م)}}$$

2-4: مقايسة الأميلين بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)

تمت المقايسة باستخدام عتيدة (Amylin (human) ELISA kit) لشركة Phoenix Pharmaceuticals الألمانية وهي مصممة لقياس تركيز الأميلين البشري في المصل و البلازما.

1-2-4 : مبدأ المعايرة

الصفحة الملحقة بالعتيدة مغطاة بأضداد ثانوية ترتبط ب rabbit anti amylin IgG التي بدورها تتنافس على الارتباط مع biotinylated peptide والأميلين في العينة المدروسة. يتفاعل biotinylated peptide مع streptavidin horseradish peroxidase (SA-HRP) فيتشكل لون أصفر تتناسب كثافته مع كمية المعقد السابق وعكساً مع تركيز الأميلين في العينة المدروسة. يُرسم منحنى بياني وفقاً لتركيز المعياريات ويحدد من خلاله تركيز الأميلين في العينات.

2-2-4 : الكواشف والمواد الموجودة ضمن العتيدة

- دائرة مركزة.
- صفحة تحوي 96 بئر.
- أضداد أولية (rabbit anti amylin IgG).
- أميلين معياري.

- Biotinylated peptide.
- ستربتافيدين بيروكسيداز فجل الخيل (SA-HRP).
- شاهد إيجابي.
- محلول الركازة (TMB (Tetramethylbenzidine).
- محلول الإيقاف حمض الكلوريدريك 2N

3-2-4 : تحضير الكواشف

- محلول الغسل 1x: يمدد الوقاء المركز ب 950 مل ماء مقطر ، ويستخدم هذا المحلول لتمديد الكواشف والعينات.
- يثقل ويمدد الأميلين العياري ب 1 مل من محلول 1x، فيكون تركيز المحلول الناتج 1000 ng/ml، يترك المحلول لمدة 10 دقائق في حرارة الغرفة ويستخدم لتحضير العياريات وفق الجدول (5):

الجدول 5: تحضير العياريات لمقايسة الأميلين

Prepare peptide standard solutions as follows:

Standard No.	Std. volume	1x Assay Buffer	Concentrations
Stock	1000µl	----	1,000ng/ml
#1	100µl of stock	900µl	100ng/ml
#2	100µl of #1	900µl	10ng/ml
#3	100µl of #2	900µl	1ng/ml
#4	100µl of #3	900µl	0.1ng/ml
#5	100µl of #4	900µl	0.01ng/ml

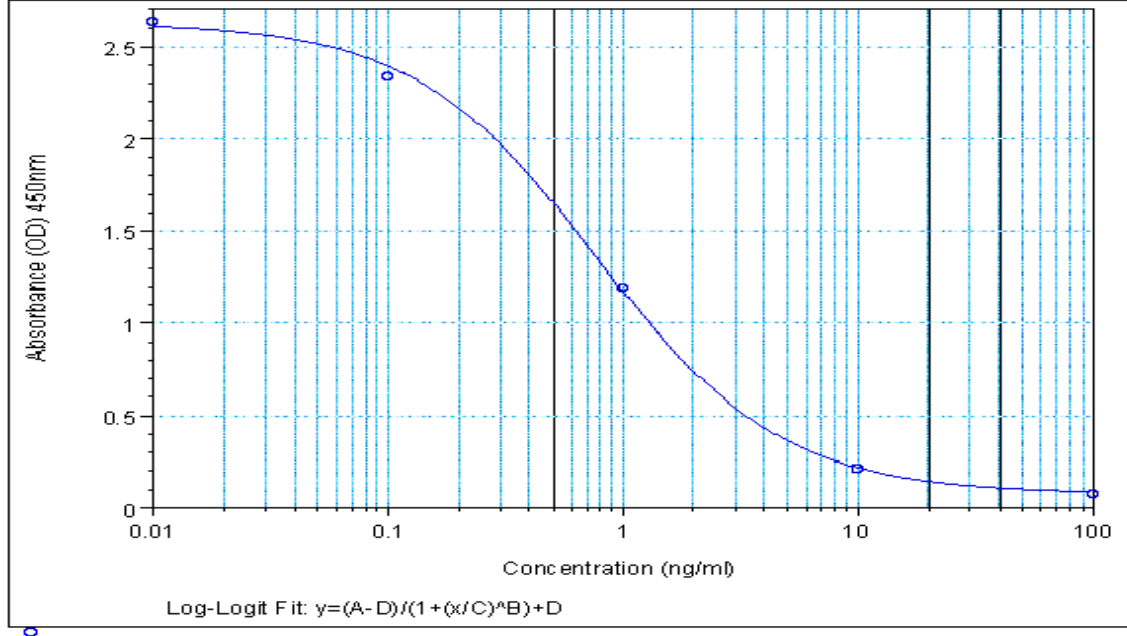
- إماهة الأضداد الأولية ب 5 مل من محلول 1x.
- إماهة ال biotinylated peptide ب 5 مل من محلول 1x.
- إماهة وتنقيل الشاهد الإيجابي ب 200 مكل من محلول 1x

4-2-4: خطوات المعايرة

- يضاف 50 مكل/بئر من العياري أو العينة أو الشاهد الإيجابي + 25 مكل أزداد أولية + 25 مكل biotinylated peptide.
- يجري الحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين.
- يغسل كل بئر ب 350 مكل من محلول الغسل 4 مرات.
- يضاف في كل بئر 100 مكل من محلول SA-HRP.
- يتم الحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة.
- يغسل كل بئر ب 350 مكل من محلول الغسل 4 مرات.
- يضاف في كل بئر 100 مكل من محلول ركازة TMB.
- يتم الحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة.
- يضاف في كل بئر 100 مكل من محلول الإيقاف.
- يقرأ الامتصاص بطول موجة 450 نانومتر وتحسب النتائج.

4-2-5 : حساب النتائج

يرسم المنحني المعياري على ورق نصف لوغاريتمي وتوضع تراكيز العياريات على محور السينات اللوغاريتمي ويقابلها الامتصاص على محور العينات الخطي، يظهر المنحني العلاقة العكسية بين تركيز الأميلين وشدة الامتصاص (الشكل 23).



الشكل 23: المنحني المعياري الناتج عن معايرة الأميلين

3-4: مقايصة الأنسولين بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)

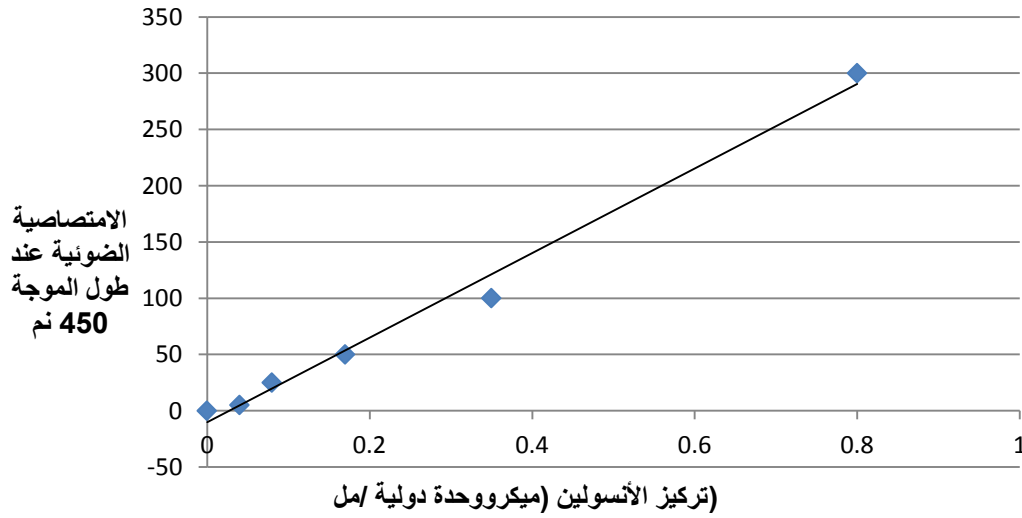
تمت المقايصة باستخدام عتيدة Insulin ELISA لشركة Novatec الألمانية، وهي مصممة للتحديد الكمي لتراكيز الأنسولين البشري في المصل والبلازما، ومعدة للاستخدام في الدراسات التي تجرى في الزجاج لأغراض تشخيصية.

1-3-4 مبدأ المعايرة

يعتمد هذا التفاعل على الربط المتزامن للأنسولين البشري مع نوعين من الأضداد وحيدة النسيلة. أحدهما مثبت على شرائح صغرية والآخر مقترن مع البيروكسيداز horseradish peroxidase (HRP). يجري بعد الحضان فصل الأضداد المرتبطة عن الحرة من خلال عملية غسل simple solid-phase washing، ثم يضاف محلول الركازة (TMP) tetramethylbenzidine. ثم يوقف التفاعل اللوني بعد 15 دقيقة ويقاس الامتصاص. إن تراكيز الأنسولين في العينة تقاس استناداً إلى سلسلة من المعاريات، وتتناسب شدة اللون مع تركيز الأنسولين بالعينة.

2-3-4 خطوات المعايرة

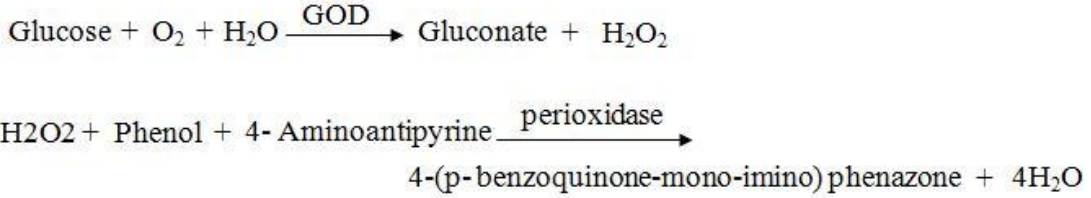
- إضافة 50 مكرو لتر من العينات والعياريات إلى آبارهم الخاصة.
- إضافة 100 مكرو لتر من محلول القرينة إلى كل بئر. ندع البئر A1 من أجل ناصع الركازة. نغطي الآبار بالرقاقة المرفقة مع العتيدة، ثم نحضن لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة (22...28 م°)
- تفرغ محتويات الآبار لدى انتهاء الحضن، ويغسل كل بئر 3 مرات بـ 300 مكرو لتر من محلول الغسل الممدد.
- إضافة 100 مكرو لتر من محلول ركازة TMP في كل الآبار، ثم نحضن لمدة 15 دقيقة في الظلام بدرجة حرارة 25 م°.
- إضافة 100 مكرو لتر من محلول الايقاف لكل الآبار بنفس ترتيب ومعدل إضافة محلول ركازة TMP. ويقاس الامتصاص للعينات لدى 450 نم. ويبين الشكل (24) الخط البياني الذي حصلنا عليه .



الشكل 24: المنحني البياني الناتج عن معايرة الأنسولين

4-4 : مقايسة الغلوكوز

استخدمنا الطريقة الإنزيمية (Glucose Oxidase Peroxidase) باستخدام عتيدة لشركة Roche البريطانية، حيث يتم تحديد مستويات الغلوكوز في المصل بطريقة إنزيمية لونية وفقاً للمعادلات التالية :



حيث يؤكسد الغلوكوز بإنزيم الغلوكوز أوكسيداز إلى غلوكونات وماء أوكسجيني، وبوجود البيروكسيداز يتفاعل الفول مع أمينو أنتي بيرين 4-AAP وذلك بوجود الماء الأوكسجيني لتشكيل مركب ملون Quinoneimine ، تقاس شدة اللون الناتج بطول موجة 500 نانومتر ، تتناسب شدة اللون الناتج مع تركيز الغلوكوز بالعينة .

5-4 : مقايسة الهيموغلوبين السكري HbA1c

تمت المعايرة باستخدام عتيدة لشركة Human الألمانية.

1-5-4 : مبدأ الاختبار

بعد تحضير الحلالة الدموية وذلك بمزج الدم مع الكاشف الحال يتم فصل الهيموغلوبين السكري HbA1C عن باقي أشكال الهيموغلوبين الأخرى بواسطة راتين مبادل للشوارد ، وتحدد النسبة المئوية للهيموغلوبين السكري من الهيموغلوبين الكلي بقياس امتصاص الهيموغلوبين السكري والهيموغلوبين الكلي لدى موجة طولها 415 نانومتر.

2-5-4 : الكواشف والعينات

- الأنبوب RGT (الراتين المبادل للشوارد): جاهز للاستعمال يخزن بدرجة حرارة الغرفة.
- الكاشف LYSE (لتحضير الحلالة): جاهز للاستعمال، يضاف منه 0.5 مل في أنابيب المعايرة.

- يحل المعياري ب 1 مل ماء مقطر وينتظر لمدة نصف ساعة مع التحريك من فترة لأخرى

3-5-4 : خطوات العمل

أ – تحضير الحلالة الدموية: يضاف 100 مكل عينة أو عياري إلى الأنبوب الحاوي على محلول LYSE، يمزج جيداً ويحضن فترة 5 دقائق بحرارة الغرفة.

ب – فصل ومعايرة الهيموغلوبين السكري: يضاف إلى أنبوب RGT 100 مكل حلالة ثم يتم إدخال فاصل الراتين ضمن الأنبوب ليصل لارتفاع 1 سم فوق سطح معلق الراتين، يمزج الأنبوب ل 5 دقائق ثم يُدفع الفاصل نحو الأسفل حتى يتجمع الراتين بقوة، يؤخذ المحلول الذي يتجمع فوق الفاصل ويوضع في محفد ويقرأ امتصاصه الضوئي.

ج – معايرة الهيموغلوبين الكلي: يوضع ضمن أنبوب زجاجي 20 مكل حلالة دموية ويضاف لها 5 مل ماء مقطر ثم تمزج جيداً ويقرأ الامتصاص الضوئي.

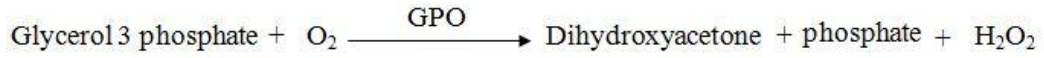
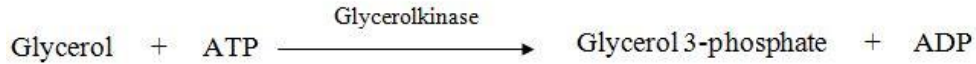
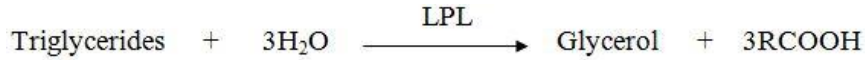
د – حساب الهيموغلوبين السكري: يتم حسابه وفق المعادلة

$$\text{النسبة المئوية للهيموغلوبين السكري} = \frac{\text{امتصاص الهيموغلوبين السكري في العينة}}{\text{امتصاص الهيموغلوبين الكلي في العينة}} \times F$$

$$\text{حيث } F = \frac{\text{امتصاص الهيموغلوبين الكلي للمعياري}}{\text{امتصاص الهيموغلوبين السكري للمعياري}} \times \text{النسبة المئوية للهيموغلوبين السكري في العياري}$$

6-4 مقايسة ثلاثيات الغليسريد

استخدمنا الطريقة الإنزيمية (Triglycerides GPO/PAP) باستخدام عتيدة من شركة Roche لمعايرة مستويات ثلاثيات الغليسريد في المصل، حيث تم تحديد مستوياتها بطريقة إنزيمية لونية (Enzymatic colorimetric method) وفق التفاعلات المتسلسلة التالية:



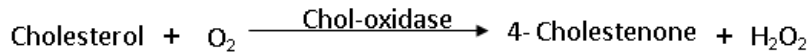
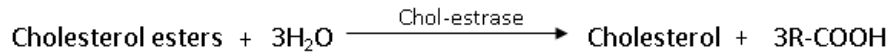
(ADPS = N-Ethyle-N-(3-sulfoproyl)-3-menthoxyaniline)

(Dye = 4- (p_ benzoquinone- monoimino)- phenazone)

حيث تتحلله ثلاثيات الغليسيريد إلى غليسرول وأحماض دسمة حرة بإنزيم الليبوبروتين ليباز. يتحول الغليسرول بوجود الغليسرول كيناز (GK) إلى غليسرول 3- فسفات والذي يتأكسد بوساطة إنزيم Glycerol Phosphate Oxidase (GPO) ليعطي الماء الأكسجيني. إن التكاثف التأكسدي لـ ADPS و 4-أمينوفينازون بوجود البيروكسيداز والماء الأكسجيني يعطي صبغاً وردي اللون يقاس في موجة طولها 550 نم. تتناسب شدة اللون الناتج مباشرة مع تركيز ثلاثيات الغليسيريد في العينة.

7-4 مقايصة الكولسترول

استخدمنا طريقة إنزيمية لونية (Cholesterol CHOD/PAP) باستخدام عتيدة من شركة Roche وفق التفاعلات المتسلسلة التالية:



dye = 4- (p- benzoquinone- monoimino) – phenazone

حيث تتم حلمة إسترات الكوليستيرول إلى كوليستيرول وأحماض دسمة حرة بوساطة إنزيم esterase، وبوجود الأكسجين وإنزيم oxidase يتحول الكوليستيرول إلى 4-Cholestenone والماء الأكسجيني. إن التكاثف التأكسدي لـ ADPS مع H₂O₂ بوجود إنزيم

البيروكسيداز POD يؤدي إلى تشكل صبغ وردي، يقاس في موجة طولها 550 نم. تتناسب شدة اللون مباشرة مع تركيز الكوليستيرول في العينة.

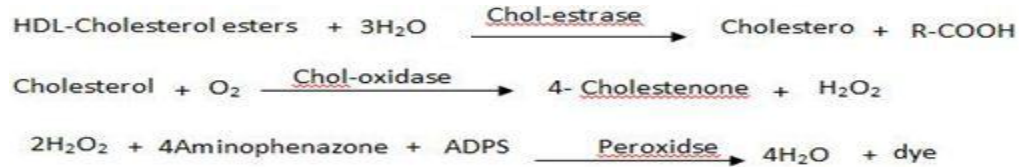
8-4 مقايصة الكوليستيرول المنخفض الكثافة

استخدمنا الطريقة الترسيبية، حيث يترسب الـLDL بتأثير الفعل الترسيبي لكاشف الهيبارين على المصل. وتحوي الرشاحة بعد فصل الراسب على VLDL و HDL اللذان يحددان باستخدام كاشف الكوليستيرول الكلي بطريقة CHOD/PAP. تركيز الكوليستيرول في الـLDL يساوي الفرق بين الكوليستيرول الكلي والكوليستيرول في الرشاحة. أي:

$$\text{LDL-Cholesterol} = \text{Total cholesterol} - \text{cholesterol concentration in the supernatant}$$

9-4 مقايصة الكوليستيرول المرتفع الكثافة

استخدمنا الطريقة الترسيبية (Precipitation Method)، حيث تترسب حبيبات الكيلوميكرون Chylomicrons و VLDL و LDL بشكل كمي بإضافة حمض الفسفوتنغستي وشوارد المغنيزيوم إلى العينة ويطفو HDL. بعد التثليل يقاس تركيز الكوليستيرول في البروتين الشحمي المرتفع الكثافة HDL باستخدام طريقة (Cholesterol CHOD/PAP).



dye = 4-(p- benzoquinone- monoimino)- phenazone

5 - الدراسة الإحصائية Statistical study

تم التعبير عن القيم المختلفة بحساب المتوسط الحسابي X و الانحراف المعياري SD، حسب العلاقات الإحصائية التالية:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} (X_1 + X_2 + \dots + X_n)$$

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (x_i - \bar{x})^2}$$

اعتمد اختبار T student لتحديد فيما إذا كان الفارق بين المتوسطات ناجماً عن الحظ و المصادفة أم أنه فارق جوهري ذو دلالة إحصائية. وتم حساب قيمة T حسب العلاقة التالية:

$$\mu_1 - \mu_2 = |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \pm T_{\alpha/2} \sqrt{S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2}$$

اعتمد معامل ارتباط Pearson لدراسة قوة علاقة الارتباط، حيث تكون العلاقة قوية كلما اقتربت قيمة r من الواحد، تم حساب قيمة r حسب العلاقة:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n \cdot S_x \cdot S_y}$$

اعتمدت قيمة $P < 0.05$ كقيمة يعتد بها إحصائياً.

المصطلحات:

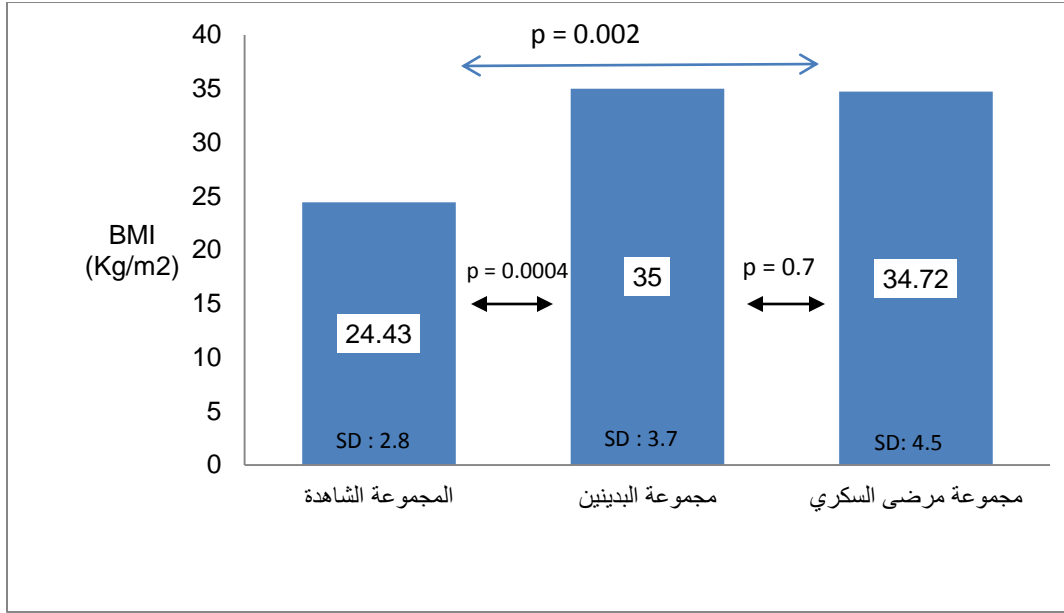
قيمة معامل الارتباط r | الانحراف المعياري للعينة s | متوسط العينة x | متوسط المجتمع μ | الجذر التربيعي v | حجم العينة n

استخدم برنامج Microsoft office Excel 2007 ، و برنامج SPSS لمعالجة البيانات و تحليلها و رسم المنحنيات البيانية.

6- النتائج Results

1-6 : تعيين قيم منسب كتلة الجسم (BMI) لدى مجموعات الدراسة

بلغ متوسط منسب كتلة الجسم لدى المجموعة الشاهدة 24.43 كغ / م² والانحراف المعياري 2.8 (24.43 كغ / م² ± 2.8). بينما بلغ متوسط منسب كتلة الجسم لدى مجموعة البدنيين 35 كغ/م² والانحراف المعياري 3.7 (35 كغ/م² ± 3.7). أما متوسط منسب كتلة الجسم لدى مجموعة مرضى السكري فقد بلغت 34.72 كغ/م² والانحراف المعياري 4.5 (34.72 كغ/م² ± 4.5) (الشكل 25).

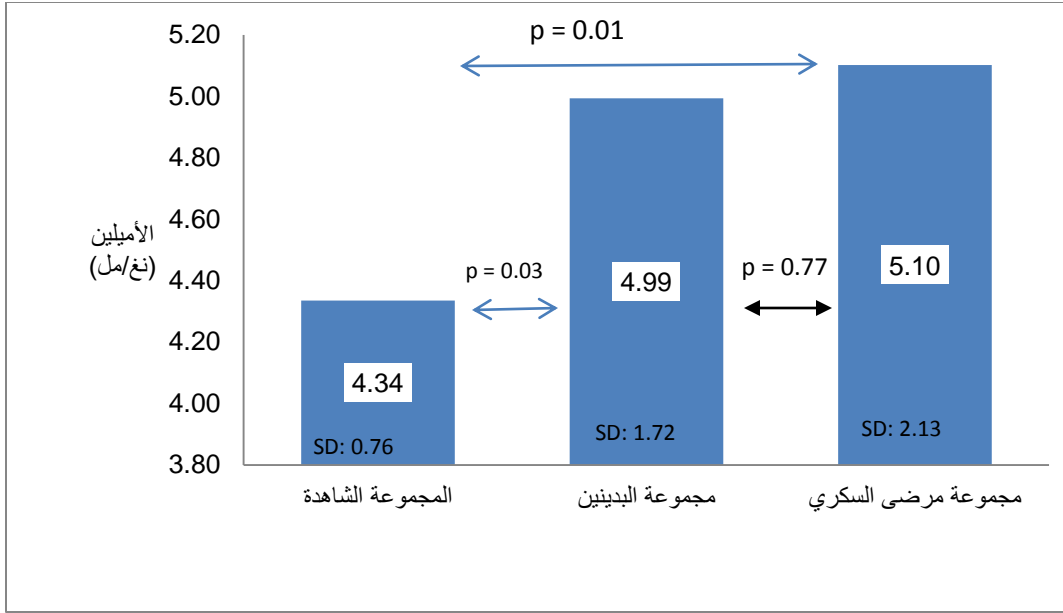


الشكل 25: متوسط قيم ال BMI لدى مجموعات الدراسة.

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($p=0.0004$) بين متوسط BMI لدى المجموعة الشاهدة ومتوسط BMI لدى مجموعة البدنيين، كما لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.002$) بين متوسط BMI لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولم يلاحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.7$) بين متوسط BMI لدى مجموعة البدنيين ومتوسط BMI لدى مجموعة مرضى السكري.

2-6 : تعيين قيم الأميلين لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 2.87 - 5.97 نغ/مل (المتوسط الحسابي 4.34 نغ/مل والانحراف المعياري 0.76). ولدى مجموعة البدنيين بين 2.73 - 10.75 نغ/مل (المتوسط الحسابي 4.99 نغ/مل والانحراف المعياري 1.72). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 0.47 - 14.8 نغ/مل (المتوسط الحسابي 5.1 نغ/مل والانحراف المعياري 2.13)(الشكل 26).



الشكل 26: متوسط تركيز الأميلين لدى مجموعات الدراسة

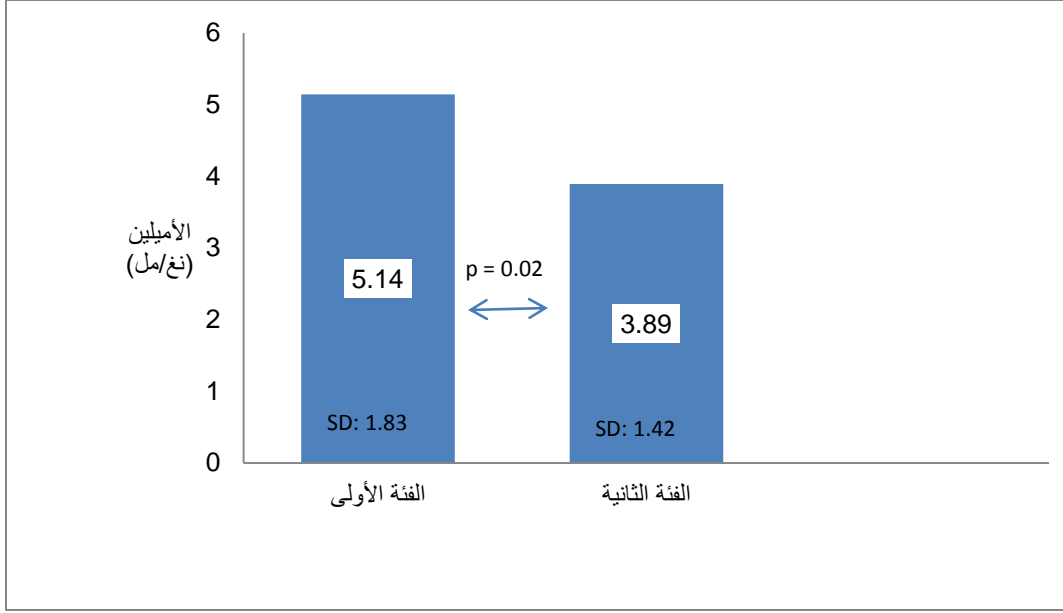
وعند تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($p = 0.03$) بين متوسط الأميلين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدينين، كما لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.01$) بين متوسط الأميلين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولم يلاحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.77$) بين متوسط الأميلين لدى مجموعة البدينين ومجموعة مرضى السكري.

3-6: مقارنة مستويات الأميلين بين مرضى السكري من النمط الثاني تبعاً لفترة تشخيص المرض

جرى تقسيم مجموعة مرضى السكري إلى فئتين بعد استبعاد المرضى الذين لم يُعرف تاريخ تشخيص المرض لديهم وفق ما يلي:

- الفئة الأولى: بلغ عدد أفرادها 43 شخصاً، وهم الأفراد الذين تم تشخيص المرض لديهم منذ فترة أقل من 10 سنوات.
- الفئة الثانية: بلغ عدد أفرادها 13 شخصاً، وهم الأفراد الذين تم تشخيص المرض لديهم منذ فترة 10 سنوات وأكثر.

بلغ متوسط تركيز الأميلين لدى الفئة الأولى 5.14 نغ/مل والانحراف المعياري 1.83 (5.14 ± 1.83). بينما بلغ متوسط تركيز الأميلين لدى الفئة الثانية 3.89 نغ/مل والانحراف المعياري 1.42 (3.89 ± 1.42) (الشكل 27).

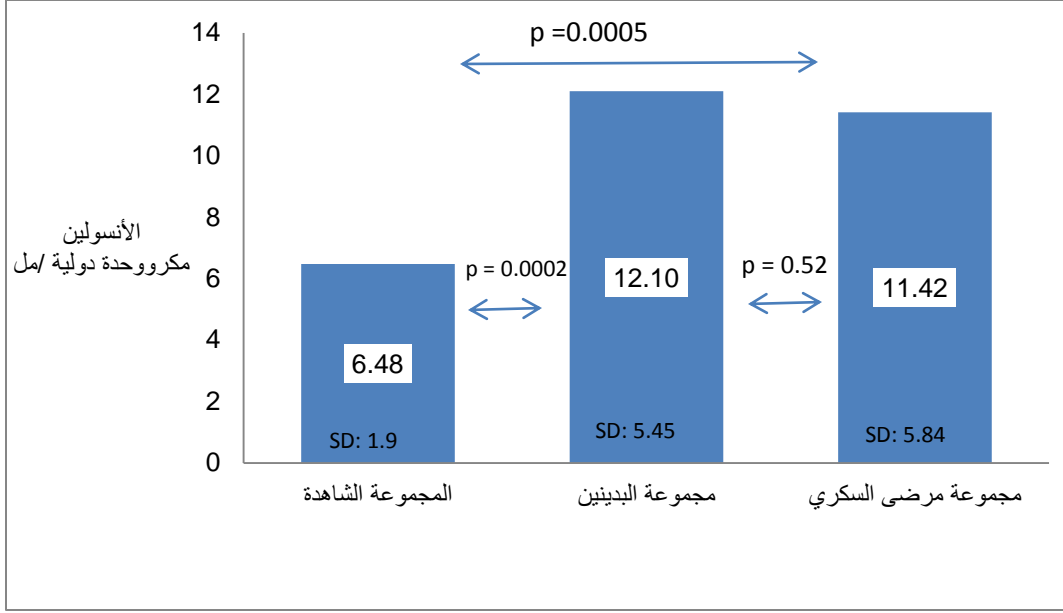


الشكل 27: متوسط تركيز الأميلين لدى فئتي مرضى السكري

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعدد به إحصائياً ($P=0.02$) بين متوسط الأميلين لدى الفئة الأولى والثانية.

4-6 : تعيين قيم الأنسولين لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 2.43 – 8.92 ميكرو وحدة دولية/مل (المتوسط الحسابي 6.48 ميكرو وحدة دولية/مل والانحراف المعياري 1.9). ولدى مجموعة البدينين بين 3.11 – 25.17 ميكرو وحدة دولية/مل (المتوسط الحسابي 12.1 ميكرو وحدة دولية/مل والانحراف المعياري 5.45). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 3 – 25.64 ميكرو وحدة دولية/مل (المتوسط الحسابي 11.42 ميكرو وحدة دولية/مل والانحراف المعياري 5.84) (الشكل 28).



الشكل 28: متوسط تركيز الأنسولين لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($p < 0.0002$) بين متوسط الأنسولين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدنيين، كما لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.0005$) بين متوسط الأنسولين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولم يلاحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.52$) بين متوسط الأنسولين لدى مجموعة البدنيين ومجموعة مرضى السكري.

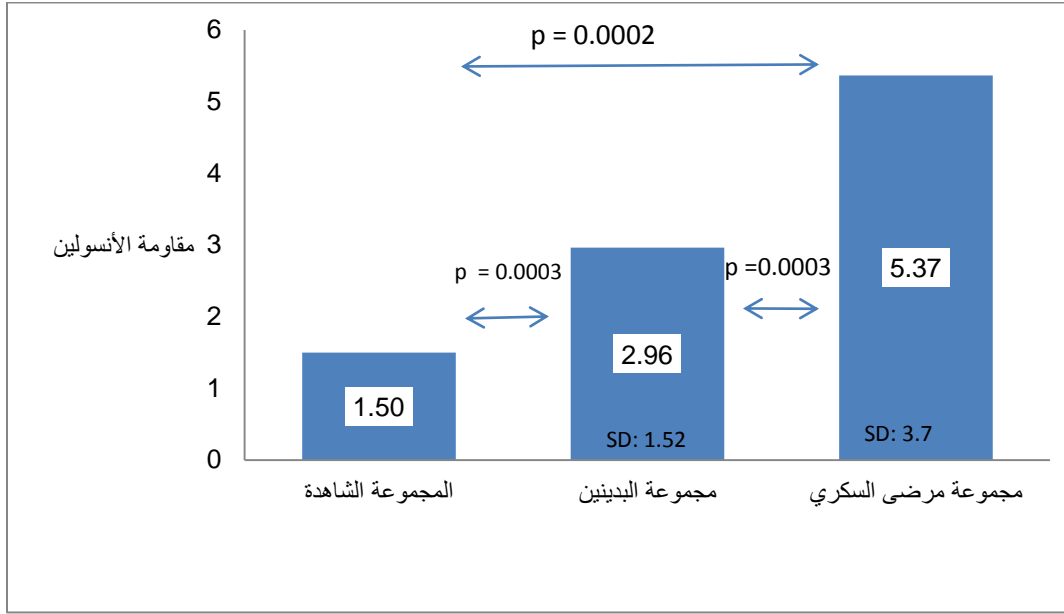
5-6 : تعيين قيم مقاومة الأنسولين لدى مجموعات الدراسة

تم حساب قيم المقاومة على الأنسولين homeostasis model assessment index (HOMA-IR) باستخدام العلاقة :

$$HOMA - IR = \frac{Glucose(mg /dl) \times Insulin (\mu IU/ml)}{405}$$

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 0.64 – 2.4 (المتوسط الحسابي 1.5 والانحراف المعياري 0.49). ولدى مجموعة البدنيين بين 0.81 - 7.92 (المتوسط الحسابي 2.96

والانحراف المعياري 1.52). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 0.9 – 17.71 (المتوسط الحسابي 5.37 والانحراف المعياري 3.7)(الشكل 29).

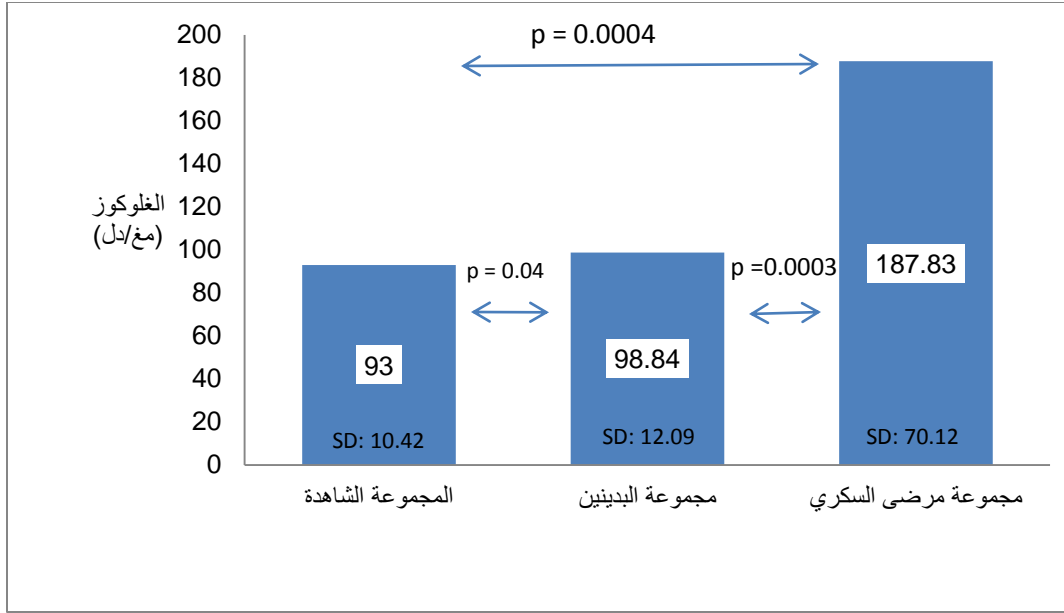


الشكل 29: متوسط قيم مقاومة الأنسولين لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($p = 0.0003$) بين متوسط قيم مقاومة الأنسولين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدنين، كما لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.0002$) بين متوسط قيم مقاومة الأنسولين لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.0003$) بين متوسط قيم مقاومة الأنسولين لدى مجموعة البدنين ومجموعة مرضى السكري.

6-6 : تعيين قيم الغلوكوز لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 76 - 113 مغ/دل (المتوسط الحسابي 93 مغ/دل والانحراف المعياري 10.42). ولدى مجموعة البدنين بين 75 - 133 مغ/دل (المتوسط الحسابي 98.84 مغ/دل والانحراف المعياري 12.09). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 82 - 386 مغ/دل (المتوسط الحسابي 187.8 مغ/دل والانحراف المعياري 70.12)(الشكل 30).

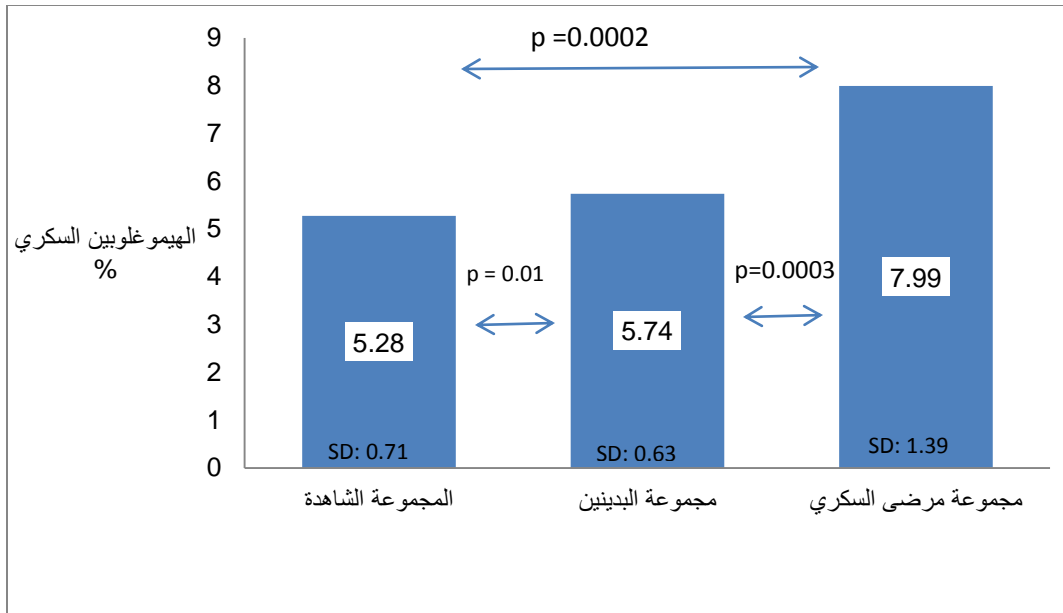


الشكل 30: متوسط تركيز الغلوكوز لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($p = 0.04$) بين متوسط تركيز الغلوكوز لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدينين، كما لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.0004$) بين متوسط تركيز الغلوكوز لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P=0.0003$) بين متوسط تركيز الغلوكوز لدى مجموعة البدينين ومجموعة مرضى السكري.

7-6 : تعيين قيم الهيموغلوبين السكري HbA1c لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 3.9 – 6.4 % (المتوسط الحسابي 5.28 % والانحراف المعياري 0.71). ولدى مجموعة البدينين بين 4.5 - 7 % (المتوسط الحسابي 5.74 % والانحراف المعياري 0.63). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 4.7 - 13 % (المتوسط الحسابي 7.99 % والانحراف المعياري 1.39) (الشكل 31).

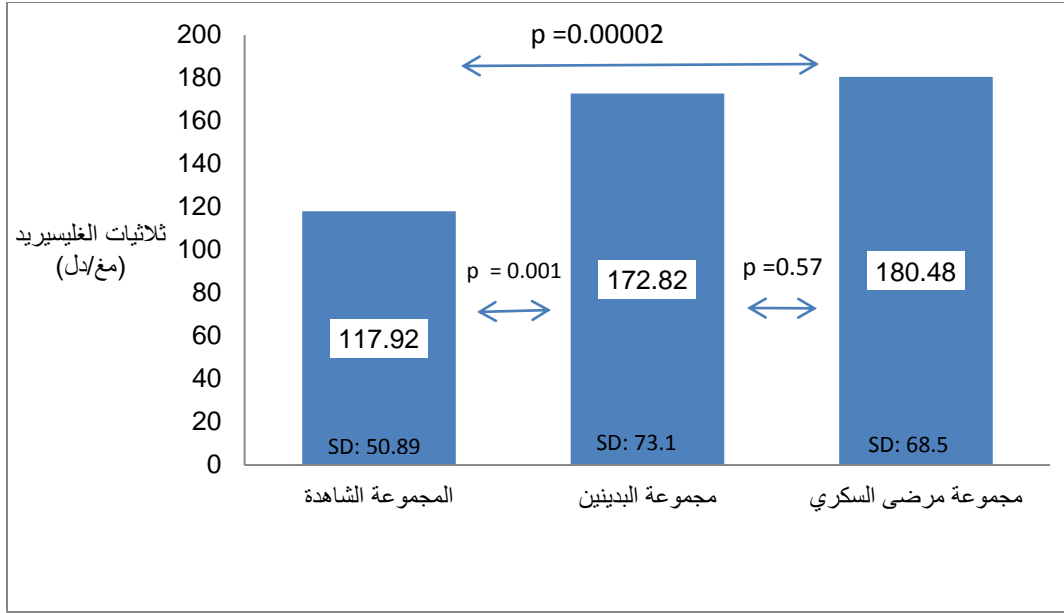


الشكل 31: متوسط قيم الهيموغلوبين السكري لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($p=0.01$) بين متوسط الهيموغلوبين السكري لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدنيين، كما لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.0002$) بين متوسط الهيموغلوبين السكري لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، ولوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.0003$) بين متوسط الهيموغلوبين السكري لدى مجموعة البدنيين ومجموعة مرضى السكري.

8-6 : تعيين قيم ثلاثيات الغليسيريد لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 63 - 244 مغ/دل (المتوسط الحسابي 117.92 مغ/دل والانحراف المعياري 50.89). ولدى مجموعة البدنيين بين 110 - 377 مغ/دل (المتوسط الحسابي 172.82 مغ/دل والانحراف المعياري 73.1). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 100 - 365 مغ/دل (المتوسط الحسابي 180.48 مغ/دل والانحراف المعياري 68.5) (الشكل 32).

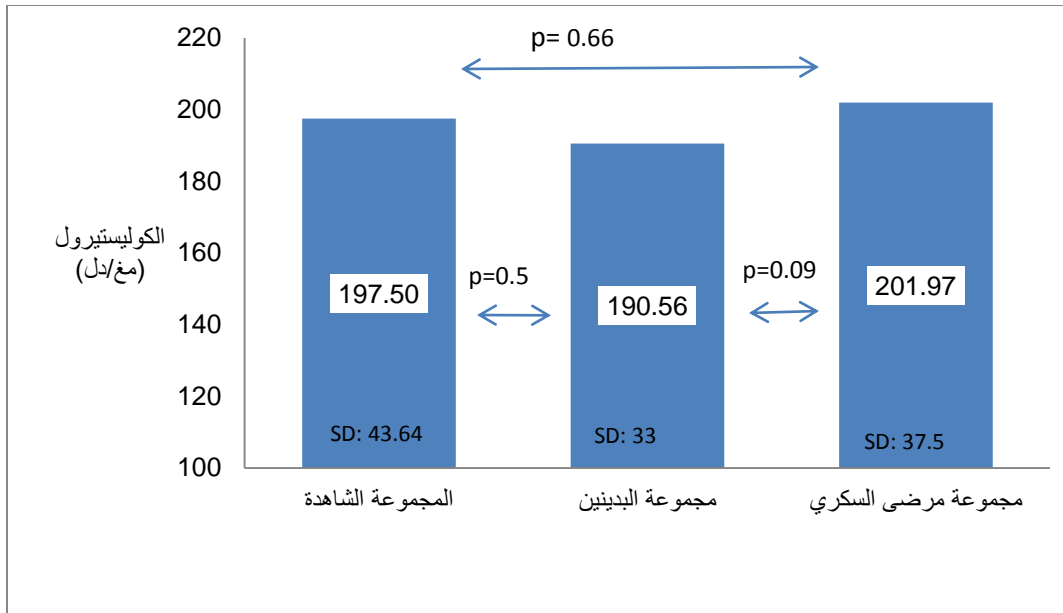


الشكل 32: متوسط تركيز ثلاثيات الغليسيريد لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($p= 0.001$) بين متوسط مستويات ثلاثيات الغليسيريد لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدينين، كما لوحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.00002$) بين متوسط مستويات ثلاثيات الغليسيريد لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، إلا أنه لم يلاحظ فارق يعد به إحصائياً ($P=0.57$) بين متوسط مستويات ثلاثيات الغليسيريد لدى مجموعة البدينين ومجموعة مرضى السكري.

9-6 : تعيين قيم الكوليستيرول لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 118 - 280 مغ/دل (المتوسط الحسابي 197.5 مغ/دل والانحراف المعياري 43.64). ولدى مجموعة البدينين بين 122 - 270 مغ/دل (المتوسط الحسابي 190.56 مغ/دل والانحراف المعياري 33). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 115 - 282 مغ/دل (المتوسط الحسابي 201.97 مغ/دل والانحراف المعياري 37.5)(الشكل 33).

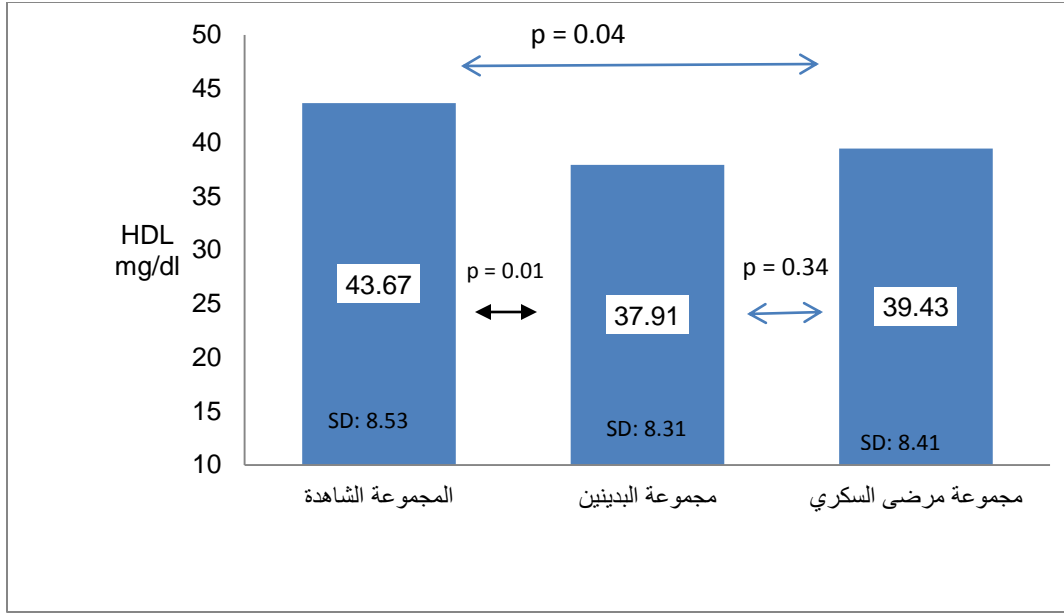


الشكل 33: متوسط تركيز الكوليستيرول لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لم يلاحظ فرق يعتد به إحصائياً ($p=0.5$) بين متوسط مستويات الكوليستيرول لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدينين، كما لم يلاحظ فرق يعتد به إحصائياً ($P=0.66$) بين متوسط مستويات الكوليستيرول لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، و لم يلاحظ فرق يعتد به إحصائياً ($P=0.09$) بين متوسط مستويات الكوليستيرول لدى مجموعة البدينين ومجموعة مرضى السكري.

10-6 : تعيين قيم HDL لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 25 - 60 مغ/دل (المتوسط الحسابي 43.76 مغ/دل والانحراف المعياري 8.53). ولدى مجموعة البدينين بين 15 - 55 مغ/دل (المتوسط الحسابي 37.91 مغ/دل والانحراف المعياري 8.31). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 20 - 59 مغ/دل (المتوسط الحسابي 39.43 مغ/دل والانحراف المعياري 8.41). (الشكل 34).

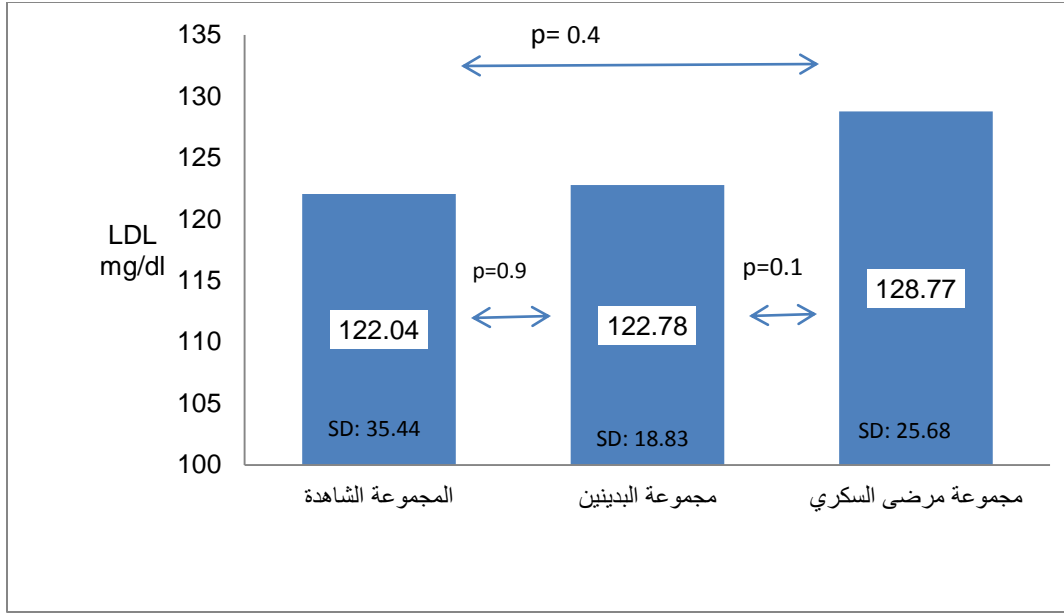


الشكل 34: متوسط تركيز HDL لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($p = 0.01$) بين متوسط مستويات ال HDL لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدنيين، كما لوحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P = 0.04$) بين متوسط مستويات ال HDL لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، و لم يلاحظ فارق يعتد به إحصائياً ($P = 0.34$) بين متوسط مستويات ال HDL لدى مجموعة البدنيين ومجموعة مرضى السكري.

11-6 : تعيين قيم LDL لدى مجموعات الدراسة

تراوحت القيم لدى المجموعة الشاهدة بين 80 - 192 مغ/دل (المتوسط الحسابي 122.04 مغ/دل والانحراف المعياري 35.44). ولدى مجموعة البدنيين بين 95 - 188 مغ/دل (المتوسط الحسابي 122.78 مغ/دل والانحراف المعياري 18.83). بينما تراوحت القيم لدى مجموعة مرضى السكري بين 90 - 185 مغ/دل (المتوسط الحسابي 128.77 مغ/دل والانحراف المعياري 25.68) (الشكل 35).



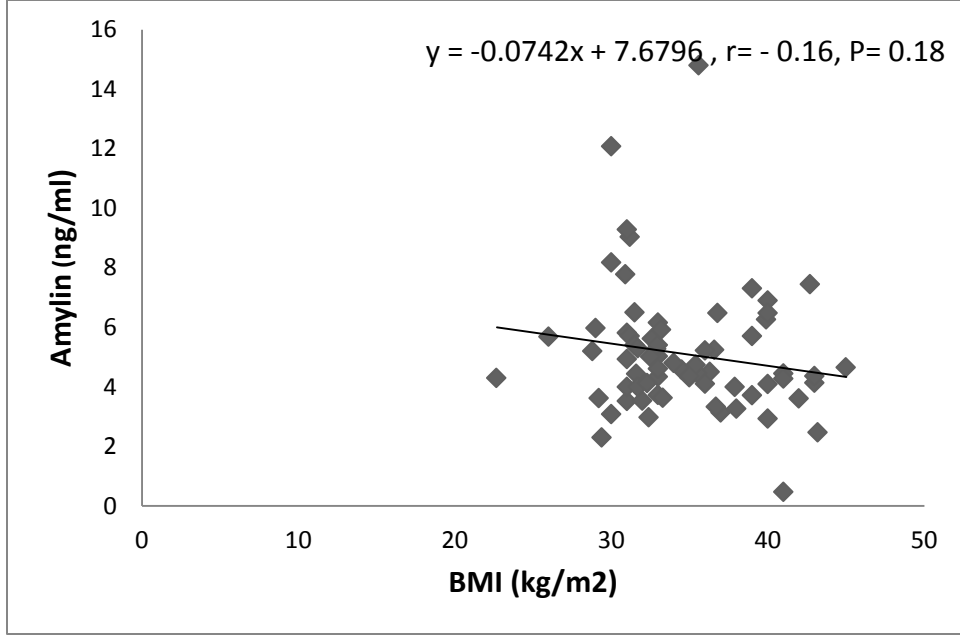
الشكل 35: متوسط تركيز LDL لدى مجموعات الدراسة

ولدى تطبيق اختبار T student لم يلاحظ فرق يعتد به إحصائياً ($p = 0.9$) بين متوسط مستويات الـ LDL لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة البدينين، كما لم يلاحظ فرق يعتد به إحصائياً ($P=0.4$) بين متوسط مستويات الـ LDL لدى المجموعة الشاهدة ومجموعة مرضى السكري، و لم يلاحظ أيضاً فرق يعتد به إحصائياً ($P=0.1$) بين متوسط مستويات الـ LDL لدى مجموعة البدينين ومجموعة مرضى السكري.

6-12: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وباقي المتثابتات المدروسة لدى مرضى السكري من النمط الثاني

6-12-1 : دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين و الـ BMI

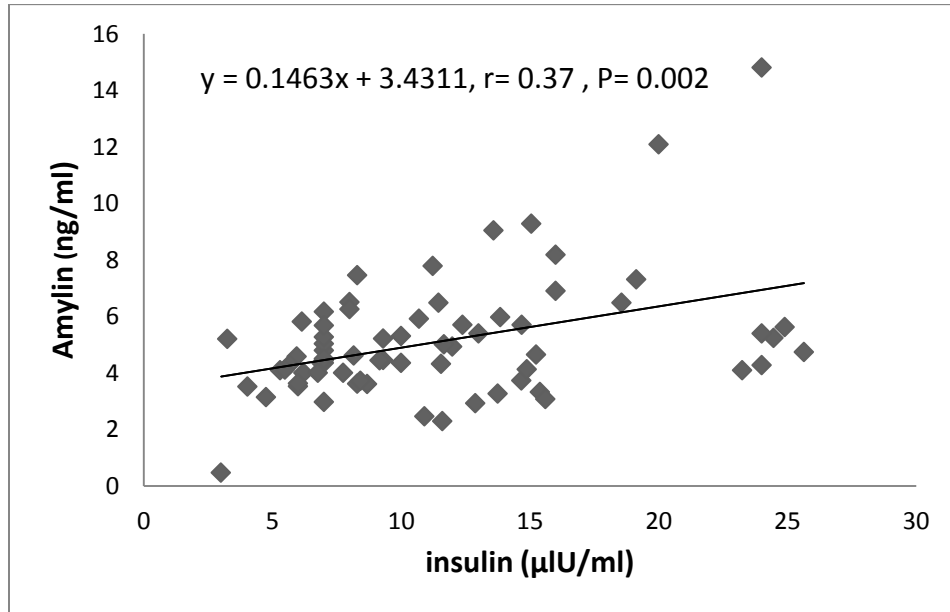
لاحظنا بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين ومنسب كتلة الجسم لدى مرضى السكري وجود علاقة ارتباط عكسية ولكن لا يعتد بها إحصائياً ($r = - 0.16$ ، $P=0.18$) (الشكل 36).



الشكل 36: العلاقة بين مستويات الأميلين و BMI لدى مرضى السكري

2-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين و الأنسولين

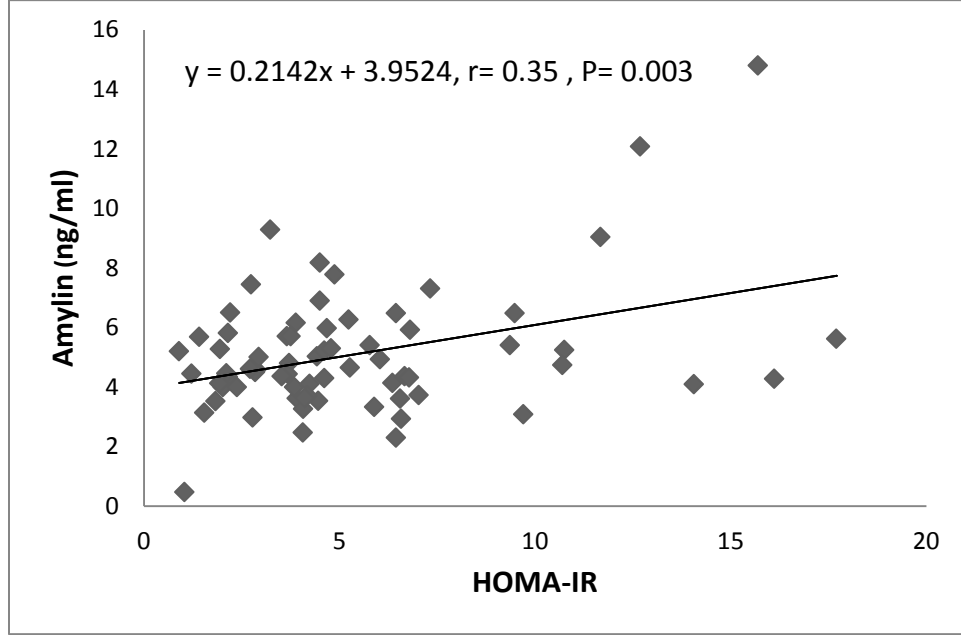
لاحظنا بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين و الأنسولين لدى مرضى السكري وجود علاقة ارتباط إيجابية يعتد بها إحصائياً ($r = 0.37$, $P = 0.002$) (الشكل 37).



الشكل 37: العلاقة بين مستويات الأميلين و الأنسولين لدى مرضى السكري

3-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين ومقاومة الأنسولين

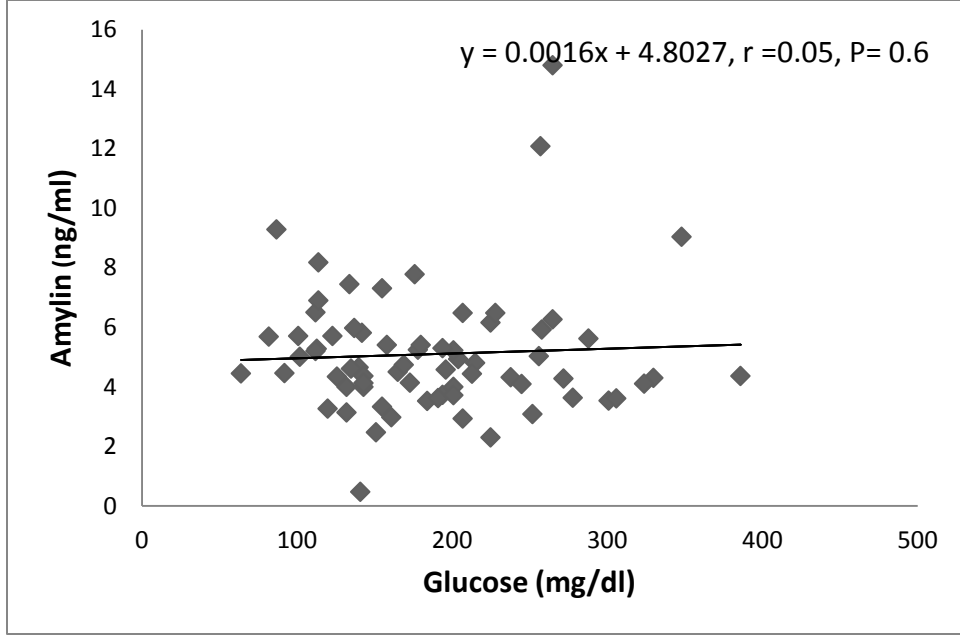
لدى دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين ومقاومة الأنسولين لدى مرضى السكري لاحظنا وجود علاقة ارتباط إيجابية يعتد بها إحصائياً ($r = 0.35$, $P = 0.003$) (الشكل 38).



الشكل 38: العلاقة بين مستويات الأميلين ومقاومة الأنسولين لدى مرضى السكري

4-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والغلوكوز

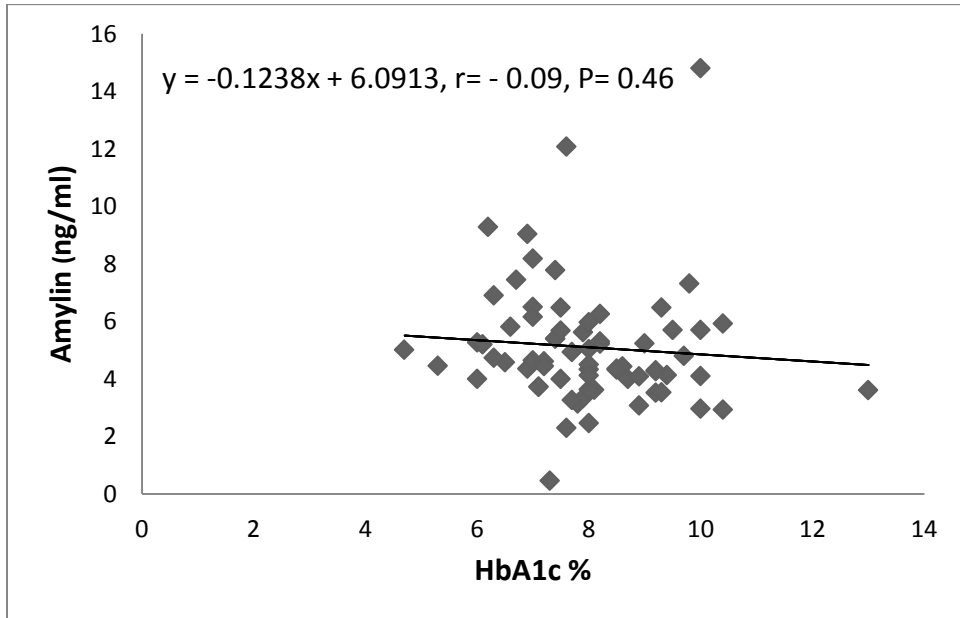
بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والغلوكوز لدى مرضى السكري لاحظنا وجود علاقة ارتباط إيجابية لا يعتد بها إحصائياً ($r = 0.05$, $P = 0.6$) (الشكل 39).



الشكل 39: العلاقة بين مستويات الأميلين والغلوكوز لدى مرضى السكري

5-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والهيموغلوبين السكري

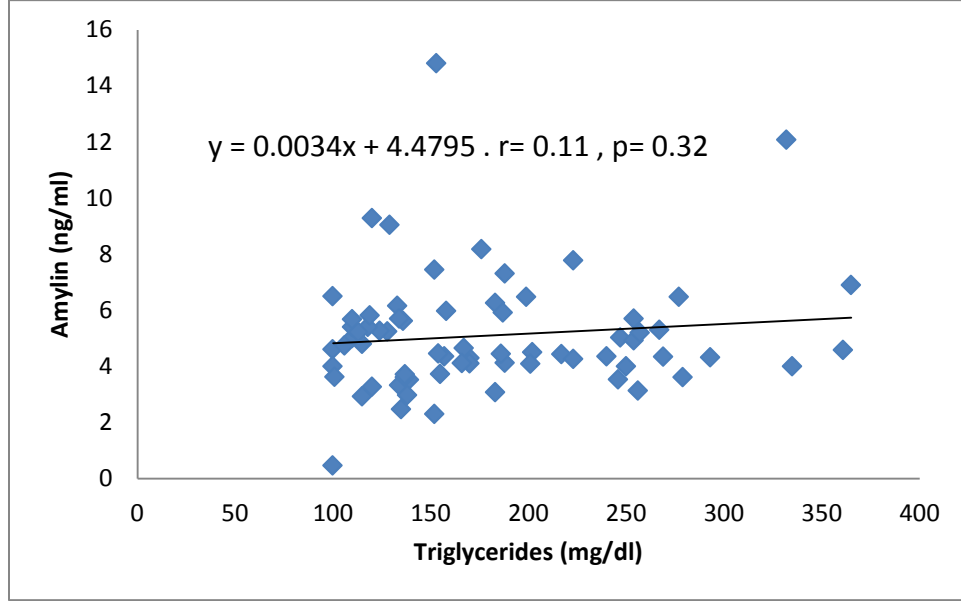
لاحظنا لدى دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والهيموغلوبين السكري لدى مرضى السكري وجود علاقة ارتباط عكسية لا يعتد بها إحصائياً ($r = -0.09$, $P = 0.46$) (الشكل 40).



الشكل 40: العلاقة بين مستويات الأميلين والهيموغلوبين السكري لدى مرضى السكري

6-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وثلاثيات الغليسريد

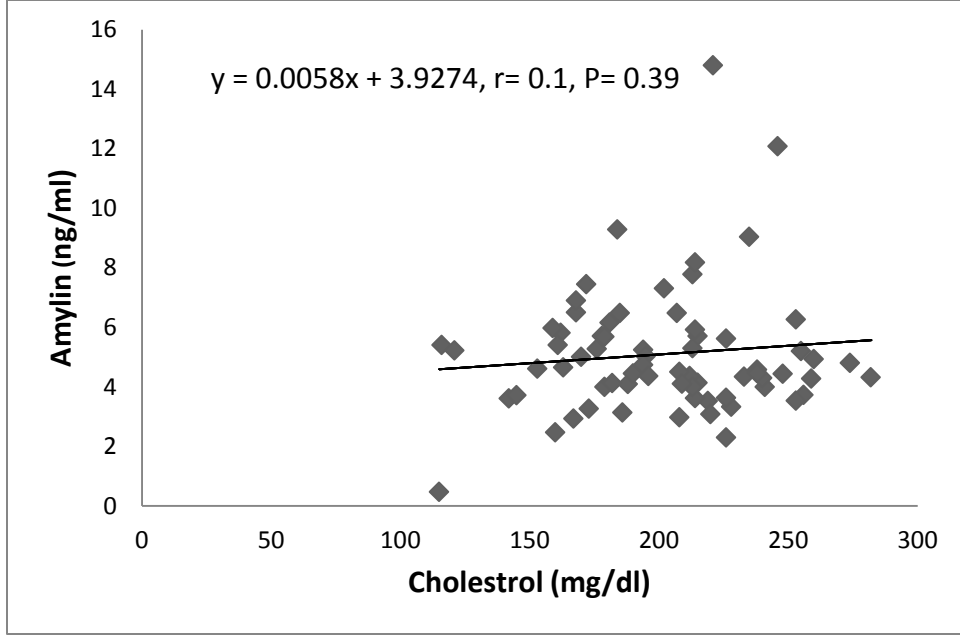
بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وثلاثيات الغليسريد لدى مرضى السكري لاحظنا وجود علاقة ارتباط إيجابية لا يعتد بها إحصائياً ($r = 0.11$, $P = 0.32$) (الشكل 41).



الشكل 41: العلاقة بين مستويات الأميلين وثلاثيات الغليسريد لدى مرضى السكري

7-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والكوليستيرول

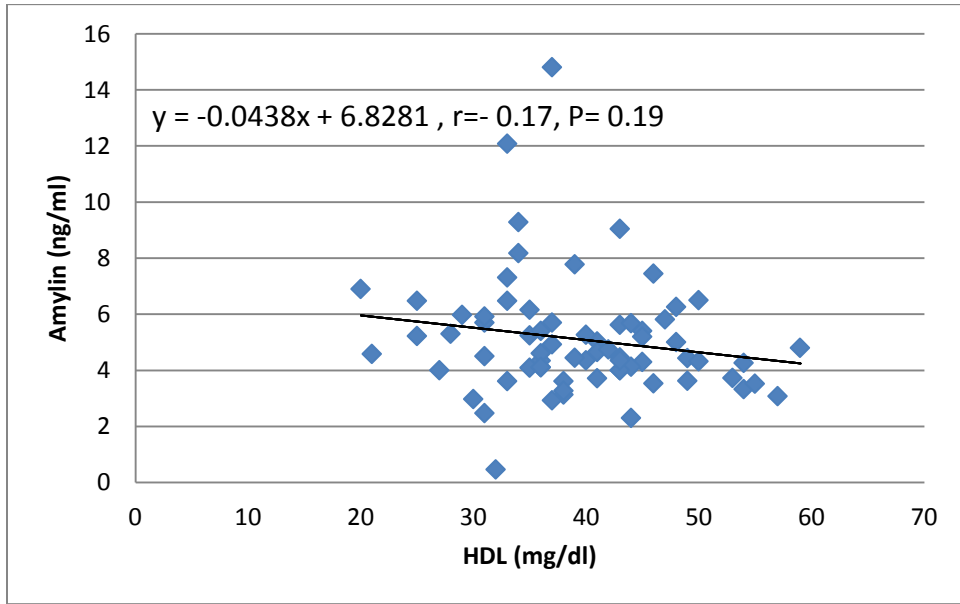
لدى دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين والكوليستيرول لدى مرضى السكري لاحظنا وجود علاقة ارتباط إيجابية لا يعتد بها إحصائياً ($r = 0.1$, $P = 0.39$) (الشكل 42).



الشكل 42: العلاقة بين مستويات الأميلين والكوليستيرول لدى مرضى السكري

8-12-6: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وال HDL

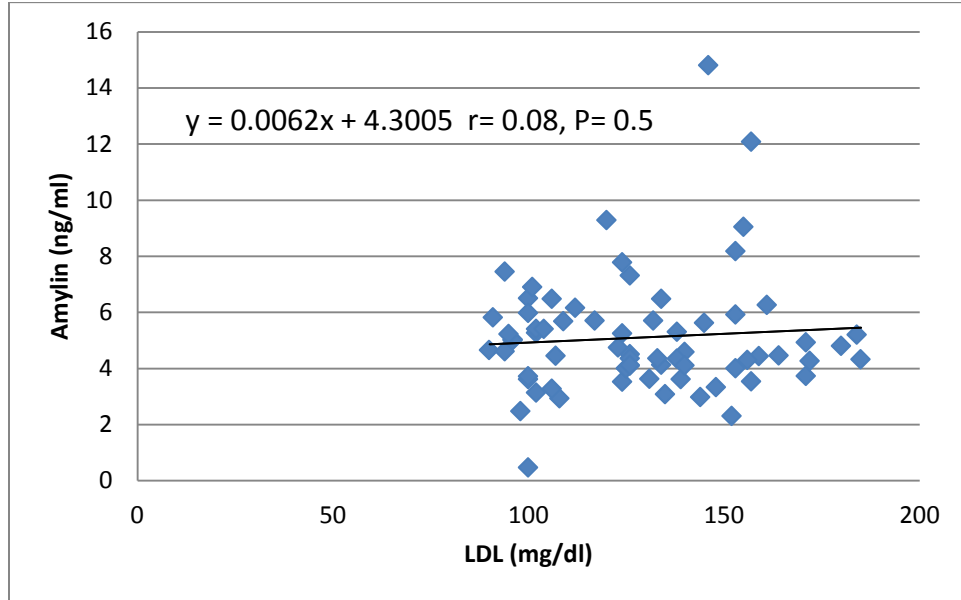
لاحظنا بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين و HDL لدى مرضى السكري وجود علاقة ارتباط عكسية لا يعتد بها إحصائياً ($r = -0.17$, $P = 0.19$) (الشكل 43).



الشكل 43: العلاقة بين مستويات الأميلين و HDL لدى مرضى السكري

6-12-9: دراسة العلاقة بين مستويات الأميلين وال LDL

بدراسة العلاقة بين مستويات الأميلين LDL لدى مرضى السكري لاحظنا وجود علاقة ارتباط إيجابية ضعيفة لا يعتد بها إحصائياً ($r = 0.08, P = 0.5$) (الشكل 44).



الشكل 44: العلاقة بين مستويات الأميلين و LDL لدى مرضى السكري

7- المناقشة Discussion

1-7: الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني والبدنيين

أظهرت دراستنا ارتفاعاً يعتد به إحصائياً في مستويات الأميلين لدى مجموعتي البدنيين ومرضى السكري من النمط الثاني مقارنةً بالمجموعة الشاهدة. إذ بلغ متوسط تركيز الأميلين لدى السكريين 2.13 ± 5.1 نغ/مل ($P = 0.01$)، ولدى البدنيين 1.72 ± 4.99 نغ/مل ($P = 0.03$)، بينما بلغ التركيز لدى المجموعة الشاهدة 0.76 ± 4.34 نغ/مل، إلا أننا لم نجد فرقاً يعتد به إحصائياً بين مجموعتي السكريين والبدنيين ($P = 0.77$).

يعاني أفراد مجموعتي مرضى السكري والبدنيين من ارتفاع قيم منسب كتلة الجسم ($BMI > 30$ kg/m²) مما أدى إلى تطور حالة مقاومة الأنسولين أظهرتها دراستنا لدى كلا المجموعتين ($HOMA IR > 2.5$).

تستجيب خلايا β بشكل طبيعي لهذه المقاومة لدى البدينين ومرضى السكري من النمط الثاني غير زيادة ضخ الأنسولين لتأمين متطلبات الأنسجة،⁽¹⁰⁶⁾ كما تلعب خافضات السكر الفموية دوراً إضافياً في زيادة إفراز الأنسولين لدى مرضى السكري، إذ بلغ تركيزه لدى مرضى السكري (11.42 ميكرووحدة دولية/مل)، ولدى البدينين (12.1 ميكرووحدة دولية/مل) مقارنةً بالمجموعة الشاهدة (6.48 ميكرووحدة دولية/مل). ونظراً لوجود عناصر مشتركة بين الأميلين والأنسولين تنظم عمل المعزاز و تفعل إنتاج كلا الهرمونين،⁽³¹⁾ إضافةً لدور الأنسولين نفسه في تحفيز التعبير عن جين الأميلين،⁽³²⁾ والاصطناع المشترك لكلا الهرمونين من خلايا بيتا البنكرياسية بواسطة نفس الإنزيمات (PC1, PC2,CPE)، وتوضعهما في الحويصلات الإفرازية نفسها،⁽³³⁻³⁵⁾ فإن زيادة إفراز الأنسولين تعني زيادة إفراز الأميلين. وبناءً عليه لم نجد فرقاً ذو أهمية إحصائية بين مستويات الأميلين لدى البدينين والسكريين بسبب زيادة إفراز الأنسولين لدى كلا المجموعتين.

توافقت هذه النتائج مع مجموعة من الدراسات العالمية والتي أظهرت ارتفاع مستويات الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني البدينين الذين يتناولون خافضات السكر الفموية والبدينين غير السكريين ومنها:

- دراسة Hartter E وزملائه عام 1991 والتي أجريت في النمسا على 16 مريضاً سكرياً من النمط 2.⁽¹⁰⁷⁾
- دراسة Snake T وزملائه في اليابان عام 1991 التي أجريت على 8 مرضى سكري نمط ثاني.⁽¹⁰⁸⁾
- دراسة Reinehr T وزملائه عام 2007 على 37 طفلاً بدينياً، وكانت مستويات الأميلين في الدراسة غير مرتبطة بالعمر.⁽¹⁰⁹⁾
- دراسة Zheng X وزملائه عام 2010 والتي أجريت في الصين على 32 مريضاً ب السكري نمط 2.⁽¹¹⁰⁾
- دراسة Hou X وزملائه عام 2011 والتي أجريت في الصين على 527 فرداً مصاباً بالمتلازمة الاستقلابية.⁽¹¹¹⁾
- دراسة Choi M وزملائه عام 2012 والتي أجريت في كوريا على 24 بدينياً.⁽¹¹²⁾

كما بينت دراستنا ارتفاع مستويات الأميلين لدى مجموعة مرضى السكري التي تم تشخيص المرض لديها خلال فترة أقل من عشر سنوات مقارنة بالمجموعة التي شخص لديها المرض منذ أكثر من عشر سنوات وبفارق إحصائي $P=0.02$. إذ بلغ متوسط تركيز الأميلين لدى المجموعة الأولى 5.14 نغ/مل، بينما بلغ لدى المجموعة الثانية 3.89 نغ/مل.

حيث يمكن القول بأنه يحدث عوز في إفراز الأنسولين في المراحل المتقدمة من السكري من النمط الثاني، نتيجةً للسمية السكرية (Glucotoxicity) التي تؤدي لاستنزاف حويصلات الأنسولين الإفرازية من خلايا β نتيجةً لارتفاع الغلوكوز المزمن، والسمية الشحمية (Lipototoxicity) التي تنتج عن الارتفاع المزمن في مستويات الحموض الدسمة وارتشاح الشحوم Fatty infiltration ضمن خلايا الجزر مما يؤثر سلباً على وظيفتها، إضافةً لعوامل أخرى داخلية تؤثر على وظيفة البنكرياس كتراكم الأميلويد، قد تساهم جميعها في تناقص إفراز الأميلين. (106)

2-7: دراسة الارتباط بين الأميلين المتثابتات الكيميائية المدروسة لدى مرضى السكري من النمط الثاني

1-2-7: دراسة العلاقة بين الأميلين ومنسب كتلة الجسم BMI

أظهرت دراستنا وجود علاقة ارتباط عكسية لا يعتد بها إحصائياً مع منسب كتلة الجسم BMI $(P=0.18, r = -0.16)$.

ليس هناك دليل على وجود علاقة مباشرة بين الأميلين والنسيج الشحمي. إذ يبدو أن مستويات الأميلين لا ترتبط مباشرةً بالبدانة، وإنما بعواقب البدانة على إفراز الأنسولين من خلال حالة مقاومة الأنسولين في الخلايا. كما تتأثر مستويات الأميلين بوظيفة البنكرياس لدى مرضى السكري مما يجعل من الصعب تحديد علاقة مباشرة بين الأميلين وال BMI.

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Reinehr T وزملائه عام 2007 التي بينت أن الأميلين غير مرتبط بال BMI لدى البدنيين. (109) ودراسة Zheng X وزملائه عام 2010 والتي بينت أن ال BMI عامل مستقل عن الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني. (110)

2-2-7: دراسة العلاقة بين الأميلين والمقاومة على الأنسولين

بينت دراستنا وجود علاقة ارتباط إيجابية يعتد بها إحصائياً مع كل من الأنسولين ($P=0.002$, $r=0.37$) ومقاومة الأنسولين ($P=0.003$, $r=0.35$)، مما يشير إلى تأثير عوامل التنظيم المشترك لهرموني الأنسولين والأميلين على إفرازهما في حالة الصيام، وإلى تأثير مستويات الأميلين بحالة مقاومة الأنسولين.

توافقت هذه النتائج مع دراسة Hartter E وزملائه عام 1991،⁽¹⁰⁷⁾ ودراسة Young J وزملائه عام 2006،⁽¹¹³⁾ ودراسة Zheng X وزملائه عام 2010.⁽¹¹⁰⁾

3-2-7: دراسة العلاقة بين الأميلين والهيوموغلوبين السكري

بينت دراستنا وجود علاقة ارتباط إيجابي مع الغلوكوز لا يعتد بها إحصائياً ($r=0.05$, $P=0.6$) ووجود علاقة ارتباط عكسية مع الهيوموغلوبين السكري لا يعتد بها إحصائياً ($r=-0.09$, $P=0.46$)

يعرف الهيوموغلوبين السكري بأنه شكل من أشكال الهيوموغلوبين يقاس بهدف معرفة معدل تراكيز الغلوكوز خلال فترة 3-4 أشهر. وهو يتشكل بطريقة لا إنزيمية نتيجة تعرض الهيوموغلوبين إلى تراكيز مرتفعة من الغلوكوز. لذا يؤدي ارتفاع تراكيز الغلوكوز المستمر لمرضى السكري لارتفاع قيم الهيوموغلوبين السكري لديهم.

يمكن تفسير هذه العلاقة الضعيفة مع الأميلين بدراسة أجراها Novials وزملاؤه في الزجاج عام 1993 على خلايا بنكرياسية بشرية تبين فيها أن تعرض الخلايا المزمن لارتفاع الغلوكوز يؤدي لزيادة إنتاج الأميلين دون أن يقابلها زيادة مطردة في الإفراز،⁽¹¹⁴⁾ قد يعود ذلك إلى أن زيادة إنتاج الأميلين المترافقة مع ارتفاع الغلوكوز تسمح بتشكل رواسب الأميلويد ضمن الخلية مما يؤثر على الوظيفة الإفرازية لخلايا بيتا واستماتتها، ولا يوجد دراسات عالمية على عينات دم لمرضى سكري في حالة الصيام لمقارنة النتائج.

4-2-7: دراسة العلاقة بين الأميلين والشحوم الدموية (TG,TC, LDL, HDL)

أظهرت دراستنا:

- وجود علاقة ارتباط ايجابية لا يعتد بها إحصائياً مع الكوليستيرول الكلي TC حيث كان معامل الارتباط ($r=0.1$ ، $P=0.39$).
- وجود علاقة ارتباط ايجابية لا يعتد بها إحصائياً مع البروتين الشحمي LDL حيث كان معامل الارتباط ($r = 0.08$, $P= 0.5$).
- وجود علاقة ارتباط ايجابية لا يعتد بها إحصائياً مع ثلاثيات الغليسريد TG حيث كان معامل الارتباط ($r = 0.11$, $P= 0.32$).
- وجود علاقة ارتباط عكسية لا يعتد بها إحصائياً مع البروتين الشحمي HDL حيث كان معامل الارتباط ($r =-0.17$ ، $P= 0.19$).

يترافق السكري والبدانة مع اضطراب في شحوم الدم dyslipidemia نتيجة حالة المقاومة على الأنسولين في النسيج الشحمي والكبد ، ومن غير المعروف حتى الآن ما إذا كان لارتفاع الأميلين لدى مرضى السكري دور مباشر في اضطراب الشحوم، حيث تشير دراسة Smith D وزملائه على الجرذان أن تسريب الأميلين يؤدي لرفع مستويات ثلاثيات الغليسريد في البلازما ويقلل تصفية الليبوبروتينات الغنية بثلاثيات الغليسريد،⁽¹¹⁵⁾ كما تشير دراسة Ye J وزملائه على الجرذان أن تسريب الأميلين يؤدي لزيادة مستويات الحموض الدسمة والغليسول في الدوران مما يوحي بأن له دور حال للدسم،⁽¹¹⁶⁾ لكن لم يثبت أن لإعطاء pramlintide لدى البشر دور في رفع الشحوم لدى مرضى السكري المعالجين به.⁽¹¹⁷⁾

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Hou X وزملائه الذي وجد علاقة ارتباط إيجابية للأميلين مع مستويات ثلاثيات الغليسريد و LDL والكوليستيرول وعلاقة ارتباط عكسية مع HDL لدى البدينين المصابين بالمتلازمة الاستقلابية بفارق يُعتد به إحصائياً إذ بلغت حجم العينة لديه 527 شخصاً.⁽¹¹¹⁾

8- الاستنتاجات Conclusions

- ارتفاع مستويات الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني والبدنين مع ارتفاع مستويات الأنسولين مما يشكل رابطاً بين البدانة والإصابة ب السكري من النمط الثاني.
- تتبدل مستويات الأميلين خلال التطور الزمني للسكري إذ تكون مرتفعة في بداية التشخيص بينما تكون مستوياته منخفضة في الحالات المتقدمة من المرض.
- ترتبط مستويات الأميلين إيجابياً بمستويات الأنسولين في الدم وبحالة مقاومة الأنسولين.
- وجود علاقة ارتباط إيجابية للأميلين مع الجلوكوز وعكسية مع الهيموغلوبين السكري لا يُعدت بها إحصائياً.
- وجود علاقة ارتباط إيجابية للأميلين مع كل من (الكوليستيرول و ثلاثيات الغليسريد و LDL) وعكسية مع HDL لكن لا يُعدت به إحصائياً.

9- التوصيات و المقترحات Suggestions and recommendations

سمح لنا هذا البحث بفهم أعمق للآلية المشاركة في استتباب الجلوكوز، و تطور السكري، وعواقب حالة مقاومة الأنسولين، وبناءً عليه نوصي بما يلي:

- يحدث تناقص في إفراز الأميلين مع تقدم الإصابة ب السكري من النمط الثاني لذلك نوصي بإدخال مضاهي الأميلين (pramlintide) في النظام العلاجي لمرضى السكري من النمط الثاني، مما يسمح بمواجهة حالة ارتفاع الجلوكاغون وتسارع الإفراغ المعدي و زيادة الوزن التي تصيب المرضى.
- المحافظة على وزن طبيعي مما يساهم بضبط مستويات الأنسولين والأميلين.
- دراسة مستويات الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الأول لفهم دوره في إمرضيته.
- دراسة تأثير خافضات السكر الفموية بأنواعها المختلفة على مستويات الأميلين في الدم لدى مرضى السكري من النمط الثاني.
- يوصى مستقبلاً بمراقبة مستويات الأميلين الدموية ومرافقتها بالدراسة النسيجية لبعض الأعضاء الحيوية للكشف عن وجود الرواسب النشوانية لدى مرضى السكري من النمط المعرضين لاختطار الإصابة بأمراض القلب واعتلال الكلية السكري والزهايمر وهشاشة العظام.

الملخص باللغة العربية:

مقدمة: يعد الداء السكري من النمط الثاني مرضاً شائعاً يصيب حوالي 170 مليون شخص حول العالم. لذلك كان لا بد من البحث المستمر عن معالم جديدة تفيد في فهم أعمق للآليات المشاركة في تطور هذا المرض ، ومحاولة الاستفادة منها في التقصي والمعالجة مما يساهم في تحسن الحالة الصحية للمريض. فكان اكتشاف هرمون الأميلين الذي تبيّن دوره الحيوي في استتباب الجلوكوز، ودوره المرضي في تخرب خلايا بيتا البنكرياسية، ومشاركته في المعالجة الدوائية لمرضى السكري.

هدف البحث: دراسة مستويات هرمون الأميلين لدى مرضى السكري من النمط الثاني ومقارنتها بمجموعة البدنيين والأصحاء، ودراسة العلاقة بين الأميلين ومجموعة من المعالم الكيميائية الحيوية لدى مرضى السكري.

المواد وطرق البحث: أجريت مقياسة الأميلين باستخدام عتيبة Amylin (human) ELISA kit لشركة Phoenix Pharmaceuticals الألمانية. وأجريت مقياسة الأنسولين باستخدام عتيبة Insulin ELISA kit لشركة Novatec الألمانية. بينما تم قياس المتثابتات الكيميائية باستخدام عتائد لشركة Roche البريطانية.

النتائج: أظهرت النتائج وجود ارتباط يُعتد به بين الأميلين وكلّ من الأنسولين ومقاومة الأنسولين. بينما لم يوجد ارتباط يُعتد به بين الأميلين وباقي المتثابتات المدروسة. أظهرت هذه الدراسة أن الأميلين قد يشكل رابطاً بين البدانة والداء السكري من النمط الثاني لكن تركيزه المرتفع غير مرتبط باضطراب المتثابتات الشحمية الدموية لدى المرضى السكريين من النمط الثاني البدنيين.

العنوان المختصر: مستويات الأميلين البلازمية عند المرضى السكريين من النمط الثاني.

الكلمات المفتاحية: السكري، البدانة، الأميلين، مقاومة الأنسولين.

Summary:

Introduction: Type 2 Diabetes Mellitus is a widespread disease affects about 170 million people around world. So it is important to search for new markers useful in a deeper understanding of the mechanisms involved in the evolution of this disease, and to try to take advantage for diabetic patients in the investigation and treatment, which contributes to the improvement of the health status of them. Amylin hormone is a new discovery, which shows its vital role in the glucose homeostasis, its role in the pathological damage of pancreatic beta cells, and participation in drug treatment for patients with diabetes.

Aim of study: Study of amylin levels in patients with diabetes type 2 and compare it with a group of obese and healthy people, And the study of the relationship between amylin and a range of biochemical parameters in diabetic patients.

Materials and methods: Amylin levels were determined by using Amylin (human) ELISA kit for the German company Phoenix Pharmaceuticals. Insulin levels were determined by using Insulin ELISA kit for the German company Novatec. While chemical parameters were measured using kits for the British company Roche.

Results: The results showed a significant correlation between amylin and all of the insulin and insulin resistance. While there was no significant correlation between amylin and the rest of parameters studied. This study showed that amylin may links obesity to diabetes type 2, but its high concentration doesn't correlate with dyslipidemia in obese diabetic patients.

Running title: Plasma amylin levels in type 2 diabetic patients.

Key words: Diabetes, obesity, amylin, insulin resistance.

References المراجع

- 1- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2010; 33:s62-s69.
- 2- World health organization. *Diabetes fact sheet*, WHO 2014
- 3- American Diabetes Association clinical practice recommendation. Standards of medical care for patients with DM. *Diabetes Ed*, 2012; 35: s11-s63.
- 4- Michael J. Fowler. Diagnosis, classification and lifestyle treatment of diabetes. *Clinical diabetes*, 2010; 28: 79-81.
- 5- Hayden MR, Tyagi SC. "A" is for amylin and amyloid in type 2 diabetes mellitus. *JOP*, 2001; 2(4): 124-139.
- 6- Kim C, Newton KM. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2002; 25:1862–1868.
- 7- World health organization. *Obesity and overweight fact sheet*, WHO 2014
- 8- Flier JS, Flier EM. Biology of obesity. *Harrison's principle of internal medicine*, 2008; 17:600-609.
- 9- Hussain A, Hydrie M, Claussen B, asghar S. Type 2 diabetes and obesity. *Journal of diabetology*, 2010; 2:1-7
- 10- DeFronzo R, Ferrannini E. Regulation of Hepatic Glucose Metabolism in Humans. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 1987; 3(2): 415-459.
- 11- Gerich JE. Control of glycaemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 1993; 7:551-586
- 12- Aronoff SL, Berkowitz K, Shreiner B, Want L. Glucose metabolism and regulation beyond insulin and glucagon. *Diabetes spectrum*, 2004; 17:183-190.
- 13- Kruger DF, Gatcomb PM, Owen SK. Clinical implication of amylin and amylin deficiency. *Diabetes Educator*, 1999; 25:389-398.
- 14- Marieb EN , Hoehn K. *Human Anatomy & Physiology Seventh Edition*, Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, USA 2005.
- 15- Gale E. Insulin secretion and sensitivity. *Diapedia*, 2014; 31.
- 16- Cheung A, Kiffer T. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text. *Lippincott*, 2004; 3: 748-760
- 17- Ohagi S, Sakaguchi H, Sanke T, Tatsuta H. Human prohormone convertase 3 gene. *Diabetes*, 1996; 45: 897-901.
- 18- Notkins AL. Immunologic and genetic factors in type1 diabetes. *JBC*, 2002; 277: 43545-43548

- 19- Lee SH, Pervaiz S. Apoptosis in the Pathophysiology of diabetes mellitus. *IJBCB*, 2007; 39: 497-504.
- 20- Alan R, KAHN C .Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 2001; 414:799-806.
- 21- Stanáková A. Pathophysiology and Genetics of Impaired Insulin Secretion and Insulin Resistance. *Publications of the University of Eastern Finland. Dissertations in Health Sciences* , 2010; 8:7-12.
- 22- King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J periodontal*, 2008; 79:1527:1534.
- 23- Shah PK. Innate Immune Pathway Links Obesity to Insulin Resistance. *Circulation research*, 2007; 100:1531-1533.
- 24- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*, 2006; 116:1793-1801.
- 25- Butler A, Jang J, Gurlo T. Diabetes due to a progressive defect in β cell mass in rats transgenic for human islet amyloid polypeptide. *Diabetes*, 2004; 53: 1509-1516.
- 26- Yip RG, Wolfe MM. GIP biology and fat metabolism. *Life Sci*, 2000; 66:91–103.
- 27- Perfetti R, Merkel P. Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic beta-cell function. *Eur J Endocrinol*, 2000; 143:717–725.
- 28- Cooper CJS, Willis AC, Clark A, Turner RD, Sim RB, Reid KB. Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreas of type 2 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987; 84:8628–8632.
- 29- Moore CX, Cooper GJS. Co-secretion of amylin and insulin from cultured islet beta-cells: modulation by nutrient secretagogues, islet hormones and hypoglycaemic agents. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; 179:1–9.
- 30- Koda JE, Fineman M, Rink TJ, Dailey GE, Muchmore DB, Linarelli LG. Amylin concentrations and glucose control. *Lancet*, 1992; 339:1179–1180.
- 31- German M.S , Moss L.G, Wang J, Rutter W.j. The insulin and islet amyloid polypeptide genes contain similar cell-specific promoter elements that bind identical beta-cell nuclear complexes. *Mol Cell Biol*, 1992; 12:1777-88.
- 32- Macfarlane W, Campbell S, Elrick L, Oates V, Bermano G, Lindley K, Greenll A, Dunne M, James R, Docherty K. Glucose Regulates Islet Amyloid Polypeptide Gene Transcription in a PDX1- and Calcium-dependent Manner. *JBC*, 2000; 275: 15330-15335.
- 33- Badman MK, Shennan KI, Jermayn JL, et al. Processing of proislet amyloid polypeptide (proIAPP) by the prohormone convertase PC2. *FEBS Lett*, 1996; 378:227-231.

- 34- Higham CE, Hull RL, Lawrie L, et al. Processing of synthetic pro-islet amyloid polypeptide (proIAPP) 'amylin' by recombinant prohormone convertase enzymes, PC2 and PC3, in vitro. *Eur J Biochem*, 2000; 267:4998-5004.
- 35- Marzban L, Trigo-Gonzalez G, Zhu X *et al*. Role of beta cell prohormone convertase (PC) 1/3 in processing of pro-islet amyloid polypeptide. *Diabetes*, 2004; 53:141–148.
- 36- Wang J, Xu J, Finnerty J, et al. The prohormone convertase enzyme 2 (PC2) is essential for processing pro-islet amyloid polypeptide at the NH₂-terminal cleavage site. *Diabetes*, 2001;50:534-549.
- 37- Marzban L, Verchere CB. The Role of Islet Amyloid Polypeptide in Type 2 Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, 2004; 28:39-47.
- 38- Tirgoviste CI, Guja C. Proinsulin, Proamylin and The Beta cell endoplasmic reticulum: the key for the pathogenesis of different diabetes phenotypes. *Proc Rom Acad*, 2007; 2:113-139.
- 39- Cooper CJS. Amylin compared with calcitonin gene related peptide: structure, biology, and relevance to metabolic disease. *Endocr Rev*, 1994; 15:163-200.
- 40- Cornish J, Reid I.R. Effects of amylin and adrenomedullin on the skeleton. *J Musculoskel Neuron Interact*, 2001; 2(1):15-24.
- 41- Becker L, Nylèn ES, Choen R, Silva OL, Snider RH. Calcitonin gene family of peptides. In "Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism". *Lippincott 2nd ed*, 1995; 474-483.
- 42- Qi T, Ly K, Poyner DR. Structure-function analysis of amino acid 74 of human RAMP1 and RAMP3 and its role in peptide interactions with adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors. *Peptides*, 2011; 32:1060–1067.
- 43- Beaumont K, Kenney MA, Young AA, Rink TJ. High affinity amylin binding sites in rat brain. *Mol Pharmacol*, 1993; 44:493–497.
- 44- Sexton PM, Paxinos G, Kenney MA, et al. In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. *Neuroscience*, 1994; 62:553–567.
- 45- Roth JD. Amylin and the regulation of appetite and adiposity: recent advances in receptor signaling, neurobiology and pharmacology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2013; 20:8–13.
- 46- Silvestre RA, Rodriguez-Gallardo J, Jodka C, Parkes DG, Pittner RA, Young AA, Marco J. Selective amylin inhibition of the glucagon response to arginine is extrinsic to the pancreas. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001; 280:E443-E449.

- 47- Fineman MS, Weyer C, Maggs DG, Strobel S, Kolterman OG. The human amylin analog, pramlintide, reduces postprandial hyperglucagonemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Horm Metab Res*, 2002; 34:504-508.
- 48- Gedulin B, Percy A, Jodka C, Young A. Studies using neutralizing antibody and the antagonist AC187 reveal that endogenous amylin inhibits glucagon secretion. *Diabetologia*, 1997; 40:A300 .
- 49- Kurkimilis k. The Role of Amylin in Type 2 Diabetes. *Senior Honors Theses*, 2013; paper326: 1-37.
- 50- Roberson S. The Islet Amyloid Polypeptide hormone Amylin:Its function, effects and uses in medicine. Undergraduate Library Research Award, 2013; paper1:1-18.
- 51- Young AA, Gedulin B, Vine W, Percy A, Rink TJ. Gastric emptying is accelerated in diabetic BB rats and is slowed by subcutaneous injections of amylin. *Diabetologia*, 1995; 28:642-648.
- 52- Gedulin B, Jodka C, Green D, Young A. Effect of amylin receptor antagonist, AC187, on labelled glucose absorption and oral glucose tolerance in corpulent LA/N rats. *American Diabetes Association 29th Research Symposium*,1994; 40: 25-27.
- 53- Young AA, Gedulin BR, Rink TJ. Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagonlike peptide (7-36)NH₂, amylin, cholecystokinin, and other possible regulators of nutrient uptake. *Metabolism*, 1996; 45:1-3.
- 54- Chance WT, Balasubramaniam A, Zhang FS, Wimalawansa SJ, Fischer JE. Anorexia following the intrahypothalamic administration of amylin. *Brain Res*, 1991; 539:352-354.
- 55- Brunetti L, Recinella L, Orlando G, Michelotto B, Di Nisio C, Vacca M. Effects of ghrelin and amylin on dopamine, norepinephrine and serotonin release in the hypothalamus. *Eur J Pharmacol*, 2002;454(2-3):189-92.
- 56- Bhavsar SP, Gedulin BR, Beaumont K, Rink TJ, Young AA. Inhibition of gastric emptying and of food intake appear to be independently controlled in rodents. *Proc Neurosci Abstr*, 1995; 21:460.
- 57- Clark A, Nilsson MR. Islet amyloid: a complication of islet dysfunction or an aetiological factor in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2004;47:157-169.
- 58- Jansen R, Dzwolak W, Winter R. Amyloidogenic self-assembly of insulin aggregates probed by high resolution atomic force microscopy. *Biophys.J*, 2005; 88: 1344-1353.
- 59- Kahn SE, Andrikopoulos S, Verchere CB. Islet amyloid: a long-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes. *Diabetes*, 1999;48:241-253

- 60- Verchere CB, D'Alessio DA, Wang S, et al. Transgenic overproduction of islet amyloid polypeptide (amylin) is not sufficient for islet amyloid formation. *Horm Metab Res*, 1997; 29:311-316.
- 61- Park K, Verchere CB. Identification of a heparin binding domain in the N-terminal cleavage site of pro-islet amyloid polypeptide. Implications for islet amyloid formation. *J Biol Chem*, 2001;276:16611-16616.
- 62- Hebda JA, Miranker AD. The interplay of catalysis and toxicity by amyloid intermediates on lipid bilayers: insights from type II diabetes. *Annu Rev Biophys*, 2009; 38:125-152.
- 63- Seeliger J, Weise K, Opitz N, Winter R. The effect of abeta on IAPP aggregation in the presence of an isolated beta-cell membrane. *J Mol Biol*, 2012; 421:348-363.
- 64- Westermark P, Engstrom U, Johnson KH, et al. Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87:5036-5040
- 65- Dunkelberger E.B, Buchanan L.E, Marek P, Cao P, Raleigh D.P, Zanni M.T. Deamidation accelerates amyloid formation and alters amylin fiber structure. *J Am Chem Soc*, 2012; 134: 12658–12667.
- 66- Schubert D, Behl C, Lesley R, Brack A, Dargusch R, Sagara Y. Amyloid peptides are toxic via a common oxidative mechanism. *Proc Natl Acad Sci*, 1995; 92:1989–1993.
- 67- Abramov AY, Canevari L, Duchon,MR. Calcium signals induced by amyloid-peptide and their consequences in neurons and astrocytes in culture. *Biochim Biophys Acta*, 2004; 1742: 81–87.
- 68- Westermark P, Andersson A, Westermark G. Islet Amyloid Polypeptide, Islet Amyloid, and Diabetes Mellitus. *Physiological Reviews*, 2011;91: 795:826.
- 69- Masters SL, Dunne A, Hull RL. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes. *Nat Immunol*, 2010; 11: 897–904.
- 70- Westwell RC, Dai DL, Soukhatcheva G, Potter KJ, Van Rooijen N, Ehses JA, Verchere CB. IL-1 blockade attenuates islet amyloid polypeptide-induced proinflammatory cytokine release and pancreatic islet graft dysfunction. *J Immunol*, 2011; 187: 2755–2765.
- 71- Morita S, Sakagashira S, Shimajiri Y, Eberhardt NL, Kondo T, Sanke T. Autophagy protects against human islet amyloid polypeptide-associated apoptosis. *J Diab Invest*, 2011; 2: 48–55.
- 72- Huang CJ, Lin CY, Haataja L, Gurlo T, Butler AE, Rizza RA, Butler PC. High expression rates of human islet amyloid polypeptide induce endoplasmic reticulum stress mediated beta-cell apoptosis a characteristic

- of humans with type 2 but not type 1 diabetes. *Diabetes*, 2007; 56: 2016–2027.
- 73- Costes S, Huang CJ, Gurlo T, Daval M, Matveyenko AV, Rizza RA, Butler AE, Butler PC. Beta-cell dysfunctional ERAD/ubiquitin/ proteasome system in type 2 diabetes mediated by islet amyloid polypeptide-induced UCH-L1 deficiency. *Diabetes*, 2011; 60: 227–238.
- 74- Park YJ, Lee S, Kieffer TJ, Warnock GL, Safikhani N, Speck M, Hao Z, Woo M, Marzban L. Deletion of Fas protects islet beta cells from cytotoxic effects of human islet amyloid polypeptide. *Diabetologia*, 2012; 55: 1035–1047.
- 75- Subramanian SL, Hull RL, Zraika S, Aston-Mourney K, Udayasankar J, Kahn SE. c-Jun N-terminal kinase (JNK) activation mediates islet amyloid-induced beta cell apoptosis in cultured human islet amyloid polypeptide transgenic mouse islets. *Diabetologia*, 2012; 55: 166–174.
- 76- De Koning E, Bonner S, Rabelink T. Preservation of β -cell function by targeting β -cell mass. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2008; 29: 218–227.
- 77- Depsa S, Margulies K, Chen L, Knowlton A, Havel P, Bers D. Hyperamylinemia Contributes to Cardiac Dysfunction in Obesity and Diabetes. *Circulation research*, 2012; 110: 598- 608.
- 78- Jackson K, Barisone GA, Diaz E, Jin LW, Decarli C, Depsa F. Amylin deposition in the brain: A second amyloid in Alzheimer disease. *Ann Neurol*, 2013; 74(4):517-526.
- 79- Gong W, Liu ZH, Zeng CH, Peng A, Chen HP, Zhou H, Li LS. Amylin deposition in the kidney of patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 2007; 72(2):213-8.
- 80- Pottera K, Abedinib A, Marekc P, Klimeka A, Butterworthd S, Driscollc M, Bakere R, Nilssonf M et al. Islet amyloid deposition limits the viability of human islet grafts but not porcine islet grafts. *PNAS*, 2009; 107(9): 4305–4310.
- 81- Abedini A, Schmidt AM. Mechanisms of islet amyloidosis toxicity in type 2 diabetes. *FEBS Lett*, 2013; 5.
- 82- Heinemann L, Heise T, Wahl LC, Trautmann ME, Ampudia J, Starke AA, Berger M. Prandial glycaemia after a carbohydrate-rich meal in type I diabetic patients: using the rapid acting insulin analogue. *Diabet Med*, 1996; 13:625–629.
- 83- Jacobs MA, Keulen ET, Kanc K, Casteleijn S, Scheffer P, Deville W, Heine RJ. Metabolic efficacy of preprandial administration of Lys(B28), Pro(B29) human insulin analog in IDDM patients: a comparison with

- human regular insulin during a three-meal test period. *Diabetes Care*, 1997; 20:1279–1286
- 84- Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003; 284:E671–E678.
- 85- DCCT Research Group. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*, 1997; 46:271–286.
- 86- Edelman SV, Darsow T, Frias JP. Pramlintide in the treatment of diabetes. *Int J Clin Pract*, 2006; 60(12): 1647-53.
- 87- Green J, Goldsbury C, Mini T. Full-length Rat Amylin Forms Fibrils Following Substitution of Single Residues from Human Amylin. *Molecular Biology*, 2003; 4: 1147-1156.
- 88- Novials A, Jimenez-Chillaron JC, Franco C, Casamitjana R, Gomis R, Gomez-Foix AM. Reduction of islet amyloid expression and basal secretion by adenovirus-mediated delivery of amylin antisense cDNA. *Pancreas*, 1998; 17:182-186.
- 89- Lindstrom T, Leckstrom A, Westermark P, Arnqvist HJ. Effect of insulin treatment on circulating islet amyloid polypeptide in patients with NIDDM. *Diabet Med*, 1997; 14:472-476
- 90- Potes CS, Riediger T, Lutz TA. Amylin induced ERK1/2 phosphorylation may contribute to its eating inhibitory effect. *Appetite*, 2011; 57: S34.
- 91- Bhavsar S, Watkins J, Young A. Synergy between amylin and cholecystokinin for inhibition of food intake in mice. *Physiol Behav*, 1998; 64: 557–561.
- 92- Lutz TA, Tschudy S, Rushing PA, Scharrer E. Attenuation of the anorectic effects of cholecystokinin and bombesin by the specific amylin antagonist AC 253. *Physiol Behav*, 2000; 70: 533–536.
- 93- Lutz TA. The interaction of amylin with other hormones in the control of eating. *Diabetes Obesity and Metabolism*, 2013; 15: 99–111.
- 94- Asmar M, Bache M, Knop FK, Madsbad S, Holst JJ. Do the actions of glucagon-like peptide-1 on gastric emptying, appetite, and food intake involve release of amylin in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; 95: 2367–2375.
- 95- Bello NT, Kemm MH, Ofeldt EM, Moran TH. Dose combinations of exendin- 4 and salmon calcitonin produce additive and synergistic reductions in food intake in nonhuman primates. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010; 299: R945–952
- 96- Leibel RL. The role of leptin in the control of body weight. *Nutr Rev*, 2002; 60: S15–19.

- 97- Roth JD, Roland BL, Cole RL et al. Leptin responsiveness restored by amylin agonism in diet-induced obesity: evidence from nonclinical and clinical studies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008; 105: 7257–7262.
- 98- Reidelberger R, Haver A, Chelikani PK. Effects of leptin replacement alone and with exendin-4 on food intake and weight regain in weightreduced diet-induced obese rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012; 302: E1576–1585
- 99- Ravussin E, Smith SR, Mitchell JA et al. Enhanced weight loss with pramlintide/metreleptin: an integrated neurohormonal approach to obesity pharmacotherapy. *Obesity* , 2009; 17: 1736–1743.
- 100- Moon HS, Chamberland JP, Diakopoulos KN et al. Leptin and amylin act in an additive manner to activate overlapping signaling pathways in peripheral tissues; in vitro and ex vivo studies in humans. *Diabetes Care*, 2011; 34: 132–138.
- 101- Moon HS, Chamberland JP, Mantzoros CS. Amylin and leptin activate overlapping signalling pathways in an additive manner in mouse GT1-7 hypothalamic, CC muscle and AML12 liver cell lines. *Diabetologia*, 2012; 55: 215–225
- 102- Turek VF, Trevaskis JL, Levin BE et al. Mechanisms of amylin/leptin synergy in rodent models. *Endocrinology*, 2010; 151: 143–152.
- 103- Mercer LP, Kelley DS, Humphries LL, Dunn JD. Manipulation of central nervous system histamine or histaminergic receptors (H1) affects food intake in rats. *J Nutr* ,1994; 124: 1029–1036.
- 104- Boyle CN, Stocker D, Lutz TA. Involvement of the histaminergic system in amylin and leptin action. *Appetite* ,2011; 57S: S7.
- 105- Mollet A, Meier S, Riediger T, Lutz TA. Histamine H1 receptors in the ventromedial hypothalamus mediate the anorectic action of the pancreatic hormone amylin. *Peptides* ,2003; 24: 155–158.
- 106- Fonseca V. Defining and Characterizing the Progression of Type 2 Diabetes. *Diabetes care*,2009; 32:s151-s156.
- 107- Hartter E, Svoboda T, Ludvik B, Schuller M, Lell B, Kuenburg M, Woloszczuk W, Prager R. Basal and stimulated plasma levels of pancreatic amylin indicate its co-secretion with insulin in humans. *Diabetologia*, 1991;34:52-54
- 108- Sanke T, Hanabusa T, Nakano Y, Oki C, Okai K. Plasma islet amyloid polypeptide (Amylin) levels and their responses to oral glucose in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*,1991; 34: 129–132
- 109- Reinehr T, de Sousa G, Niklowitz P, Roth CL. Amylin and its relation to insulin and lipids in obese children before and after weight loss. *Obesity*, 2007; 15:2006-2011.

- 110- Zheng X, Ren W, Zhang S, Liu J, Li S, Yang P, He J, Su S, Li P. Serum levels of proamylin and amylin in normal subjects and patients with impaired glucose regulation and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetologica*,2010;47:265-270.
- 111- Hou X, Sun L, Li Z, Mou H, Yu Z. Associations of Amylin with Inflammatory Markers and Metabolic Syndrome in Apparently Healthy Chinese. *Plos One*, 2011;6:e24815
- 112- Choi M, Jee S, Kim E, Moon k. Leptin, Neuropeptide Y and Islet Amyloid Polypeptide Levels in obese children. *PGHN*, 2012;15;166-174.
- 113- Young J. Correlation between Serum Levels of Adiponectin, Amylin and Islets β -Cell Function, Differentiation of Symptoms and Signs for Classification of Syndrome in T2DM. *China Papers*, 2006
- 114- Novials A, Sarri Y, Casamitjana R, Rivera F, Gomis R. Regulation of Islet Amyloid Polypeptide in Human Pancreatic Islets. *Diabetes*, 1993; 42: 1514-1519.
- 115- Smith D, Mamo JC .Islet amyloid polypeptide (amylin) modulates chylomicron metabolism in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000; 27: 345–351.
- 116- Ye JM, Lim-Fraser M, Cooney GJ, Cooper GJ, Iglesias MA.Evidence that amylin stimulates lipolysis in vivo: a possible mediator of induced insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001;280: E562–569
- 117- Levetan C, Want LL, Weyer C, Strobel SA, Crean J, Wang Y, Maggs DG, Kolterman OG, Chandran M, Mudaliar SR, Henry RR. Impact of pramlintide on glucose fluctuations and postprandial glucose, glucagon, and triglyceride excursions among patients with type 1 diabetes intensively treated with insulin pumps. *Diabetes care*, 2003; 26(1): 1-8.