

Insulinoscillationer – en kliniskt betydelsefull rytmik

Diabetesläkemedel bör öka den pulsatila komponenten av insulinfrisättningen

BO HELLMAN, professor
bo.hellman@mcb.uu.se
ERIK GYLFE, professor
EVA GRAPENGISSER, docent
HELÉNE DANSK, forsknings-
ingenjör; samtliga vid
institutionen för medicinsk

cellbiologi, Uppsala
universitet, Uppsala
ALBERT SALEHI, docent,
institutionen för kliniska
vetenskaper, Universitets-
sjukhuset MAS, Malmö, Lunds
universitet



Det har sedan länge varit känt att plasmanivåerna för insulin varierar rytmiskt och att denna periodicitet avspeglar pulserande frisättning av hormonet från pankreas. I en översiktsartikel i Läkartidningen från 1991 kunde vi rapportera experimentella och kliniska iakttagelser som visar att de cykliska variationerna av insulin är väsentliga för att förhindra uppkomsten av diabetes [1]. De senaste årens forskning har inte bara betonat betydelsen av insulinoscillationer utan också bidragit till att förklara mekanismerna för deras uppkomst. Vi har därför funnit det angeläget att ge en aktuell översikt av framstegen inom forskningsområdet.

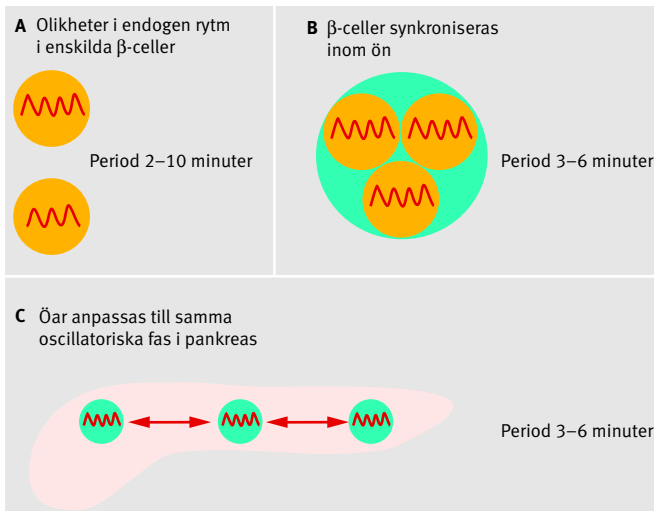
Cykliska variationer av cirkulerande insulin

I likhet med ett antal andra hormoner kommer insulin i blodet att följa dygnsrytmen. Det finns också en insulinperiodicitet (30–120 minuter) som beror på cykliska förändringar av glukosnivån [2]. Vi kommer emellertid enbart att diskutera oscillationer av cirkulerande insulin som beror på β -cellernas endogena rytm. Ursprungligen uppgavs att denna periodicitet var 12–14 minuter, dvs betydligt längre än de insulinpulser som produceras i isolerade langerhanska öar från human pankreas [3]. Efter förbättringar av analystekniken har det visats att pankreas frisätter insulin med periodiciteten 3–6 minuter [2, 4, 5].

β -cellens endogena rytm

β -cellen är elektriskt retbar och depolariserar rytmiskt av glukos. Härvid öppnas potentialberoende kanaler, vilket ger periodiskt inflöde av Ca^{2+} och därmed den ökning av cytoplasmiskt Ca^{2+} som stimulerar insulinsekretionen. Det är svårt att direkt studera hur enskilda β -celler frisätter insulin. Mätningar av cytoplasmiskt Ca^{2+} i levande β -celler har därför i hög grad bidragit till förståelsen av sekretionens dynamik. Sålunda kunde vi redan 1988 rapportera att glukos orsakar oscillatorisk ökning av cytoplasmiskt Ca^{2+} med 2–10 minuter långa cykler [6]. Isolerade β -celler kan beskrivas som biologiska oscillatorer med olikheter i sin endogena rytm (Figur 1A). Pulsatil frisättning av insulin är en komplex process, som utöver nivån av Ca^{2+} också påverkas av andra periodiska variationer i β -celler-

»Det har sedan länge varit känt att plasmanivåerna för insulin varierar rytmiskt och att denna periodicitet avspeglar pulserande frisättning av hormonet från pankreas.«



Figur 1. β -cellernas endogena rytm och hur denna förändras till synkrona 3–6 minuters oscillationer inom och mellan öarna i pankreas.

nas cytoplasma, exempelvis cykliskt AMP (adenosinmonofosfat) och ATP (adenosintrifosfat).

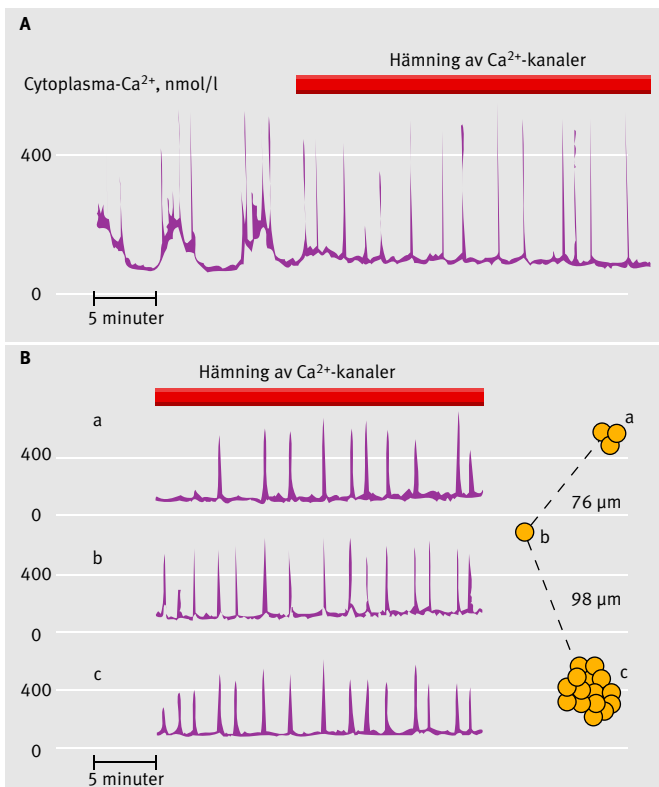
Ca^{2+} -oscillationerna påverkas av överlagrade spikar

Studier av isolerade β -celler visar att de glukosinducerade Ca^{2+} -oscillationerna ibland är överlagrade med snabba spikar (Figur 2A). Dessa spikar beror inte på inflöde av Ca^{2+} utan på mobilisering av intracellulärt Ca^{2+} . Spikarna har ofta en hyperpolariserande effekt (ökning av K^{+} -permeabiliteten), vilket temporärt avbryter inflödet av Ca^{2+} genom de potentialberoende jonkanalerna. Om Ca^{2+} -kanalerna blockeras med antagonister som metoxiverapamil kan spikarna studeras oberoende

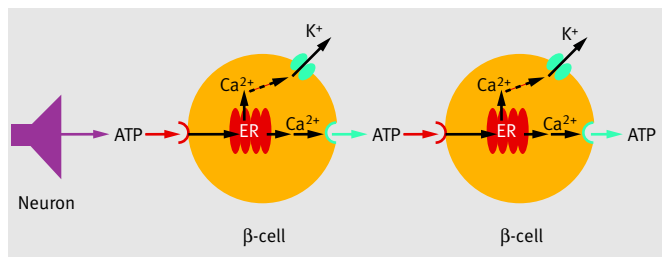
SAMMANFATTAT

Pankreas frisätter insulin i 3–6 minuters pulser som en följd av periodisk depolarisering med inflöde av Ca^{2+} i de langerhanska öarnas β -celler. Inom öarna samordnas cellernas inneboende rytmik såväl genom cellkontakt som via extracellulära budbärare, företrädesvis ATP. Anpassningen av de olika öarna i pankreas till samma oscillatoriska fas sker via nervimpulser från autonoma ganglier.
Oscillationerna av insulin motverkar nedreglering av målcellernas receptorer och ökar leverns förmåga att

extrahera insulin från blodet. Som en följd av rytmiken kommer cellerna att exponeras för mest insulin då glukagonkoncentrationen är som lägst.
Läkemedel som stimulerar insulinfrisättningen bör öka den pulsatila men inte den basala komponenten. Vid behandling av diabetes är det väsentligt att återställa normala fysiologiska variationer av insulin i levern. Förutom stimulering av befintliga β -celler kan detta ske genom rytmisk tillförsel av insulin till portaven eller transplantation av öar till levern.



Figur 2. Glukosinducerade Ca^{2+} -spikar i β -celler. A. Spikarna är normalt överlagrade oscillationerna men kommer efter hämning av Ca^{2+} -kanalerna (50 μ mol/l metoxiverapamil) att utlösas från basalnivån. B. Synkronisering av Ca^{2+} -spikar i de enskilda β -celler/aggregat (a, b, c) som visas till höger i figuren.

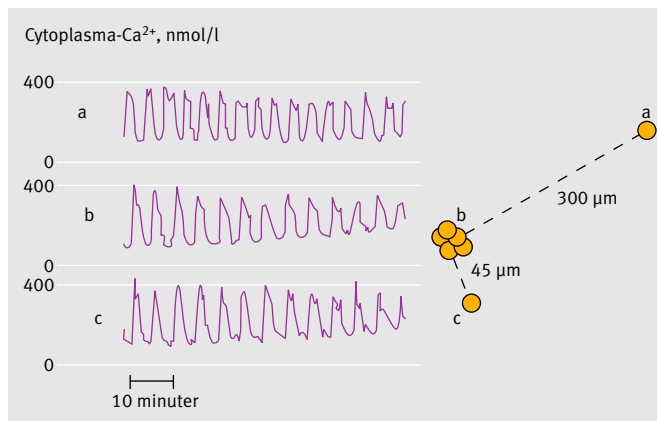


Figur 3. Modell för synkronisering av Ca^{2+} -spikar genom bindning av ATP till purinerga receptorer på β -cellernas yta. β -cellerna är inte bara mottagare av en ATP-signal (från nerver etc) som ger spikar genom att mobilisera Ca^{2+} från det endoplasmatiska retiklet (ER), utan kan också vidarebefordra signalen genom att ATP frisätts via exocytos. Ca^{2+} -spikarna aktiverar ofta hyperpolariserande K^+ -kanaler och kan därmed temporärt avbryta den elektriska aktiviteten.

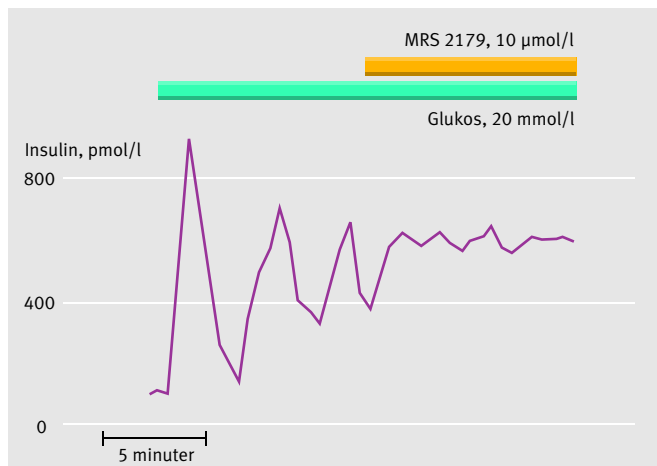
av Ca^{2+} -oscillationerna (Figur 2). Försöksmodellen visar att Ca^{2+} -spikarna är synkroniserade i närbelägna celler både i när- och frånvaro av direkt cellkontakt (Figur 2B). Detta kan förklaras med att β -cellerna kommunicerar med signalmolekyler. Vi vet nu att extracellulärt ATP synkroniserar β -cellernas Ca^{2+} -spikar [7]. Figur 3 presenterar en modell för hur β -celler via purinerga receptorer tar emot ett ATP-budskap. Härigenom genereras Ca^{2+} -spikar, vilka stimulerar frisättningen av ATP från β -cellernas sekretoriska granula. Processen initierar en kedjereaktion genom att frisatt ATP påverkar närbelägna β -celler.

Synkronisering av β -cellerna inom en ö

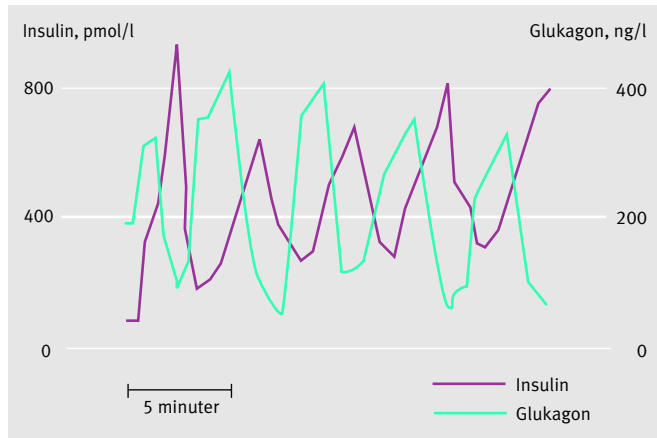
I de langerhanska öarna finns grupper av nästan perfekt syn-



Figur 4. Synkronisering av Ca^{2+} -oscillationer i närbelägna celler/aggregat studerade under betingelser avsedda att gynna uppkomsten av spikar (syns inte beroende på låg tidsupplösning). Närbelägna celler (b och c) har i motsats till översta cellen (a) väl synkroniserade Ca^{2+} -oscillationer (korrelation = 0,90).



Figur 5. Betydelsen av purinerga receptorer ($P2Y_1$) för pulserande frisättning av insulin från pankreas. Pulsatiliteten försvinner då receptorerna hämmas med MRS 2179.



Figur 6. Pulserande frisättning av insulin och glukagon vid perfusion av pankreas med 20 mmol/l glukos. Analyser av 30 sekunders fraktioner av perfusat visar att insulinpulserna är antisynkrona jämfört med glukagon. Data från råta [19].

kroniserade β -celler [8, 9], som är elektriskt kopplade via gap junctions [10]. Ca^{2+} -rytmiken är också väl synkroniserad i hela ön, vilket ger upphov till 3–6 minuter långa insulinpulser (Fi-

gur 1B). Förutom den elektriska kopplingen sker samordning-
en via diffusibla faktorer, företrädesvis ATP. ATP-utlösta Ca^{2+} -
spikar har sålunda en synkroniserande effekt på oscillatio-
nerna i närbelägna β -celler/aggregat (Figur 4). Studier av olika
fysikaliska system, som urladdning av kondensatorer, har visat
att oscillatorer kan fås att samverka via utifrån kommande sti-
muli [11]. I det aktuella fallet kommer spikarna via hyperpolari-
sering att ge den förändring av membranpotentialen som får
öarnas β -celler att samverka också då de saknar direkt kontakt.

Anpassningen av öarna till samma oscillatoriska fas

Pulserande frisättning av insulin i portavenen förutsätter att
 β -cellernas aktivitet samordnas såväl inom den langerhanska
ön som mellan öarna i pankreas. Som ovan nämnts är varje ö en
funktionell enhet, vilken i isolerat tillstånd frisätter insulin
med en periodicitet liknande den i andra öar. För att få en mil-
jon öar i pankreas att samverka i en gemensam insulinpuls är
det nödvändigt att låsa deras Ca^{2+} -oscillationer i samma fas
(Figur 1C). Detta sker via nervösa impulser (Figur 3) från ett
nätverk av intrapankreatiska ganglier liknande de som finns i
tarmen. Ganglierna är autonoma och har en synkroniserande
effekt även i frånvaro av centralnervöst inflytande. Nervernas
betydelse illustreras av att frisättningen av insulin från en le-
ver med transplanterade öar blir pulserande först efter re-
innervering [12].

I likhet med enstaka β -celler (se ovan) är öarna i pankreas
kopplade oscillatorer som synkroniseras via plötsliga föränd-
ringar av membranpotentialen. Härav följer att signalen från
ganglierna har en samordnande effekt utan att dess periodi-
citet behöver motsvara den som finns i öarna. Huvudscenariot
är att ATP, som frisätts från nerver, via purinerga receptorer
ger en hyperpolariserande Ca^{2+} -spik, vilken vidarebefordras
till närbelägna β -celler inom ön (Figur 3). Andra transmittorer
med samordnande effekt är gaserna NO (kvävemonoxid) och
CO (kolmonoxid) [13].

Möjligheter att påverka insulinrytmiken i cirkulerande blod

En ökning av blodets glukoskoncentration ger insulinoscilla-
tioner med större amplitud men har obetydlig inverkan på
frekvensen [2]. På liknande sätt kommer sulfonylurea och glu-
kagonlik peptid 1 (GLP-1) att förstärka oscillationerna medan
inhibitorer av sekretionen, såsom somatostatatin, har motsatt
effekt. Störningar av insulinfrisättningens rytmik uppträder
redan i förstadierna till diabetes [2]. Man kan med farmaka av-
lägsna oscillationerna utan att minska mängden cirkulerande
insulin [14]. Ett intressant exempel är att inhibering av en re-
ceptor för ATP på cellytan ger kontinuerlig förhöjning av insu-
lin i portavenen (Figur 5). Iakttagelsen understryker bety-
delsen av ATP som samordnare av pulserande insulinfrisätt-
ning inom och mellan öarna i pankreas.

Betydelsen av insulinoscillationer

Störningar av insulinfrisättningens pulsilitet, och därmed
oscillationerna i blodet, kan användas som en markör för att
identifiera förstadier till diabetes [2]. Vid kontinuerlig expone-
ring för insulin försvinner dess receptorer från målcellernas
yta genom internalisering. Oscillationerna motverkar denna
nedreglering och minskar sålunda behovet av insulin [1].

»Störningar av insulinfrisättningens pulsilitet,
och därmed oscillationerna i blodet, kan använ-
das som en markör för att identifiera förstadier
till diabetes...«

»Aktuella forskningsresultat motiverar att man
inom kliniken ägnar ökad uppmärksamhet åt in-
sulinrytmiken.«

Inom öarna har såväl glukagonproducerande α -celler som β -
cellerna själva receptorer för insulin. Det finns därför anled-
ning att anta att såväl den autokrina regleringen av β -cellerna
som dessa cellers parakrina effekt på α -cellerna förstärks av att
insulinfrisättningen är rytmisk. Ett annat målorgan för insulin
är exokrina pankreas. För snart 60 år sedan framfördes hypo-
tesen att uppdelningen av endokrin pankreas i en miljon lang-
erhanska öar garanterar att den exokrina delen exponeras för
höga lokala koncentrationer av insulin [15]. Det är därför värt
att notera att förtunnade partier av kapillärväggen (fenestra-
tioner), som gör det lätt för insulinet att passera, förekommer
också utanför öarna i pankreas. Exokrina celler runt öarna för-
eter olika tecken på förhöjd aktivitet [16]. Ett annat uttryck för
betydelsen av insulin är att de exokrina pankreascellernas
funktion ofta är nedsatt vid diabetes [17]. Insulinets akuta ef-
fekter på exokrina pankreas tycks huvudsakligen bestå i poten-
tiering av klassiska stimuli somolecystokinin [18].

Ett viktigt målorgan för insulin är levern, vars sinusoider
innehåller talrika fenestrationer. Det har övertygande visats
att oscillationer av insulin ger mer uttalad hämning av lever-
cellernas glukosproduktion än när motsvarande mängd tillförs
kontinuerligt [2]. Av särskilt intresse är att oscillationerna av
insulin i portavenblod är fasförskjutna 180° jämfört med oscil-
lationerna av glukagon (Figur 6). Som en följd av denna anti-
synkroni kommer levercellerna att exponeras för mest insulin
när koncentrationen av blodsockerhöjande glukagon är som
lägst [19].

Nästan 80 procent av det insulin som frisätts från pankreas
tas upp under sin första passage genom levern [4]. Leverns för-
måga att extrahera insulin från blodbanan är särskilt uttalad
vid höga koncentrationer av hormonet. Härigenom kommer
amplituden av insulinoscillationerna i perifert blod att påtag-
ligt reduceras. Trots denna minskning förbättras det perifera
upptaget av glukos vid närvaro av insulinpulser, men effekten
visar sig först efter 6–7 timmar [2]. Det är möjligt att denna för-
bättring är en indirekt effekt, medierad av levern, eftersom ka-
pillärerna i fett- och muskelceller saknar fenestrationer.

Insulinoscillationer och behandling av diabetes

Aktuella forskningsresultat motiverar att man inom kliniken
ägnar ökad uppmärksamhet åt insulinrytmiken. Som ovan
nämnts är denna rytmik väsentlig för att öka levercellernas
extraktion av insulin från blodet, motverka nedreglering av
dess insulinreceptorer och medverka till att målcellerna expo-
neras för insulin växelvis med glukagon. Vid behandling av dia-
betes bör man därför eftersträva att återställa normala fysiolo-
giska variationer av insulin i levern. Detta kan ske genom sti-
mulering av den pulsatila komponenten i hormonfrisättning-
en från befintliga β -celler, rytmisk tillförsel av insulin till
portavenen och transplantation av pankreas eller isolerade
langerhanska öar. Det har rapporterats att den vanligen använ-
da tekniken för att transplantera humana öar till levern efter
en tid ger oscillationer av cirkulerande insulin [5].

Diabetesläkemedel bör öka den pulsatila och inte den basala
komponenten av insulinfrisättning. Det har rapporterats att

»Diabetesläkemedel bör öka den pulsatila och
inte den basala komponenten av insulinfrisätt-
ningen.«

vissa sulfonylureasubstanter, liksom stimulering av GLP-1-receptorerna, har denna effekt [2, 20]. Det är tillsvidare oklart om GLP-1, utöver att öka amplituden av insulinpulserna genom en direkt effekt på β -cellerna (förhöjt cykliskt AMP), också förbättrar synkroniseringen genom att stimulera de nerver som anpassar öarna till samma oscillatoriska fas.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Erik Gylfe är aktieägare i Cyclocrine AB, som utvecklar utrustning för pulserande hormontillförsel.*

REFERENSER

- Hellman B, Gylfe E, Grapengiesser E, Lund PE. Cykliska variationer av insulin – en kliniskt betydelsefull mekanism. *Läkartidningen*. 1991; 88(18):1700-2.
- Pørksen N. The in vivo regulation of pulsatile insulin secretion. *Diabetologia*. 2002;45(1):3-20.
- Hellman B, Gylfe E, Bergsten P, Grapengiesser E, Lund PE, Berts A, et al. Glucose induces oscillatory Ca^{2+} signalling and insulin release in human pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 1994;37 Suppl 2:S11-20.
- Meier JJ, Veldhuis JD, Butler PC. Pulsatile insulin secretion dictates systemic insulin delivery by regulating hepatic insulin extraction in humans. *Diabetes*. 2005;54(6):1649-56.
- Meier JJ, Hong-McAtee I, Galasso R, Veldhuis JD, Moran A, Hering B, et al. Intrahepatic transplanted islets in humans secrete insulin in a coordinate pulsatile manner directly into the liver. *Diabetes*. 2006;55(8):2324-32.
- Grapengiesser E, Gylfe E, Hellman B. Glucose-induced oscillations of cytoplasmic Ca^{2+} in the pancreatic β -cell. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;151(3):1299-304.
- Hellman B, Dansk H, Grapengiesser E. Pancreatic β -cells communicate via intermittent release of ATP. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;286(5):E759-65.
- Gylfe E, Grapengiesser E, Hellman B. Propagation of cytoplasmic Ca^{2+} oscillations in clusters of pancreatic β -cells exposed to glucose. *Cell Calcium*. 1991;12(2-3):229-40.
- MacDonald PE, Rorsman P. Oscillations, intercellular coupling, and insulin secretion in pancreatic β -cells. *PLoS Biol* 2006;4(2):167-71.
- Ravier MA, Guldenagel M, Charollais A, Gjinovci A, Caille D, Sohl G, et al. Loss of connexin36 channels alters β -cell coupling, islet synchronization of glucose-induced Ca^{2+} and insulin oscillations, and basal insulin release. *Diabetes*. 2005;54(6):1798-807.
- Strogatz SH. Exploring complex networks. *Nature*. 2001; 410(6825):268-76.
- Pørksen N, Munn S, Ferguson D, O'Brien T, Veldhuis JD, Butler P. Coordinate pulsatile insulin secretion by chronic intraportally transplanted islets in the isolated perfused rat liver. *J Clin Invest*. 1994; 94(1):219-27.
- Lundquist I, Alm P, Salehi A, Henningsson R, Grapengiesser E, Hellman B. Carbon monoxide stimulates insulin release and propagates Ca^{2+} signals between pancreatic β -cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(5):E1055-63.
- Salehi A, Qader SS, Grapengiesser E, Hellman B. Inhibition of purinoceptors amplifies glucose-stimulated insulin release with removal of its pulsatility. *Diabetes*. 2005; 54(7):2126-31.
- Ferner H. Dissemination of testicular interstitial cells and of the islets of Langerhans as a functional principle for the seminiferous tubules and the exocrine pancreas. *Z Mikrosk Anat Forsch*. 1957;63(1):35-52.
- Hellman B, Wallgren A, Peterson B. Cytological characteristics of the exocrine pancreatic cells with regard to their position in relation to the islets of Langerhans. A study in normal and obese-hyperglycaemic mice. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1962;39:465-73.
- Hardt P, Krauss A, Bretz L, Porsch-Ozcurumez M, Schnell-Kretschmer H, Mäser E, et al. Pancreatic exocrine function in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2000;37(3):105-10.
- Patel R, Shervington A, Pariente JA, Martinez-Burgos MA, Salido GM, Adeghate E, et al. Mechanism of exocrine pancreatic insufficiency in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1084:71-88.
- Grapengiesser E, Salehi A, Qader SS, Hellman B. Glucose induces glucagon release pulses antisynchronous with insulin and sensitive to purinoceptor inhibition. *Endocrinology*. 2006;147(7):3472-7.
- Meneilly G, Veldhuis JD, Elahi D. Deconvolution analysis of rapid insulin pulses before and after six weeks of continuous subcutaneous administration of glucagon-like peptide-1 in elderly patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(11):6251-6.

Det finns fler än 30 000 artiklar i Läkartidningens artikelarkiv.

Som medlem i Sveriges läkarförbund når du arkivet via vår webbplats www.lakartidningen.se



Utmanande
saklig

Läkartidningen