

## Κυτταροκίνες και σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)

### Περίληψη

Γ. Σκαραγκάς

Τα δέκα τελευταία χρόνια την έρευνα για τον ΣΔ έχει προσελκύσει η σχέση των κυτταροκινών με τον διαβήτη. Ήταν επόμενο το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών να εστιασθεί στο θέμα αυτό, με αποτέλεσμα την δημοσίευση χιλιάδων εργασιών. Οι κυτταροκίνες θεωρούνται ανοσοδραστικά μόρια που εμπλέκονται σε μία διαδικασία καταστροφής των β-κυττάρων, με συνέπεια την εμφάνιση του ινσουλινοεξαρτώμενου ΣΔ. Ιδιαίτερα η IL-1β μία κυτταροκίνη που παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα και απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια του προκλινικού σταδίου του ΣΔ τύπου 1 μπορεί να προσφέρει στη διαδικασία καταστροφής του β-κυττάρου. *In vitro* και *in vivo* μελέτες δείχνουν ότι η κυτταροκίνη αυτή μόνη ή σε συνδυασμό με άλλες κυτταροκίνες επηρεάζει πολλές από τις λειτουργίες του β-κυττάρου. Η έρευνα έχει επίσης επεκταθεί και στη δράση άλλων κυτταροκινών όπως της IL-2, IL-10 και των ιντερφερονών. Παράλληλα έχουμε τις ενδείξεις μιας πιθανής εμπλοκής των κυτταροκινών στον ΣΔ τύπου 2 ιδιαίτερα του TNFα (Tumor necrosis factor).

Αν και ο ΣΔ είναι γνωστός εδώ και 3.500 χρόνια και αν και έχουν περάσει περισσότερα από 100 χρόνια που ο Oscar Minkowski συνέδεσε την αιτιολογία του ΣΔ με το παγκρεατικό νησίδιο, οι μοριακοί μηχανισμοί που οδηγούν στην καταστροφή του β-κυττάρου και στην εμφάνιση του IDDM (ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης) δεν είναι ακόμη κατανοητοί.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι σε άτομα γενετικά ευαίσθητα, ιογενείς λοιμώξεις ή χημικά δηλητήρια των β-κυττάρων, πυροδοτούν μία αυτοάνοσο αντίδραση η οποία προοδευτικά τα καταστρέφει<sup>1</sup>.

Το ανοσολογικό σύστημα διαθέτει τρεις βασικούς μηχανισμούς καταστροφής κυττάρων: 1) τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα, 2) την σύνδεση αντισωμάτων με το συμπλήρωμα στην επιφάνεια του κυττάρου και 3) αντιγονικούς μη ειδικούς κυτταροτοξικούς μηχανισμούς. Η τελευταία κατηγορία περιλαμβάνει μηχανισμούς, που εξαρτώνται σημαντικά από διαλυτούς μεσολαβητές (ελεύθερες ρίζες, κυτταροκίνες, ένζυμα) και παράγονται από φλεγμονώδη κύτταρα ιδίως της μονοκυτταρικής σειράς μακροφάγα, NK κύτταρα (Natural Killer). Για τα Τ-κυτταροτο-

ξικά λεμφοκύτταρα υπάρχει μία συνεχώς αυξανόμενη βεβαιότητα ότι ούτε επαρκή ούτε αναγκαία είναι για την δημιουργία IDDM σε πειραματόζωα.

Πριν από 10-15 χρόνια πίστευαν με πάθος ότι η προσκόλληση των αντισωμάτων στα κύτταρα των νησιδίων ήταν υπεύθυνη για την καταστροφή των β-κυττάρων που οδηγούσε στον διαβήτη τύπου I. Παρατηρήσεις που έγιναν αργότερα έδειξαν, ότι μάλλον αμφισβητείται ο παθογενετικός ρόλος αυτών των αντισωμάτων. Από τον μεγάλο κατάλογο των αυτοαντισωμάτων που βρέθηκαν στον ορό των διαβητικών τύπου I έναντι των αντιγόνων που ενοχοποιήθηκαν για τον IDDM ακόμη και για τα πιο σημαντικά [ICA (Islet cell antibodies), GAD (Glutamic acid decarboxylase), IAA (insulin autoantibodies)], αμφισβητήθηκε ο κύριος παθογενετικός ρόλος. Αυτό μάλλον σημαίνει ότι τα β-κύτταρα δεν καταστρέφονται επειδή οι νησιδιακές πρωτεΐνες είναι αντιγόνα στην φυσική τους μορφή αλλά ότι αυτές γίνονται αντιγόνα όταν και επειδή τα β-κύτταρα καταστρέφονται. Δηλαδή τα αυτοαντισώματα έρχονται σε δεύτερη μοίρα από άποψη ενδιαφέροντος και χρόνου<sup>2</sup>.

Για να εξακριβωθεί και να αξιολογηθεί ο ρόλος των αντιγονικών μη ειδικών μηχανισμών πριν από 10 χρόνια περίπου θεωρήθηκε, ότι οι διαλυτοί μεσολαβητές που παράγονται από τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα παίζουν ρόλο ανοσοδραστικών μορίων που καταστρέφουν τα β-κύτταρα<sup>3</sup>.

Το 1985 διαπιστώθηκε ότι προϊόν ενεργοποιημένων μονοκυττάρων ανέστειλε την έκκριση της ινσουλίνης και προκαλούσε καταστροφή των β-κυττάρων. Το 1986 αναγνωρίστηκε ότι η υπεύθυνη για τις δράσεις αυτές ουσίας ήταν η IL-1. Το 1987 αποδείχθη ότι η IL-1 μπορούσε να ασκήσει μία εκλεκτική τοξική δράση στο β-κύτταρο δοσο- και χρονοεξαρτώμενη. Αργότερα βρέθηκε ότι και άλλες κυτταροκίνες ενισχύουν την δράση της IL-1. Ο TNF $\alpha$  ενισχύει στο 10πλάσιο την δράση της IL-1 και παρόμοιες ενισχυτικές δράσεις έχει και ο TNF $\beta$  και η IFN $\gamma$  (Interferon  $\gamma$ ). Επιπλέον οι κυτταροκίνες φαίνεται ότι εμπλέκονται στην επαγωγή του αντιγόνου μέσω του MHC (μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας) στην επιφάνεια του β-κυττάρου εισάγοντας έτσι έναν ακόμη πιθανό μηχανισμό στην καταστροφή του β-κυττάρου.

Η καταστροφή του β-κυττάρου δηλαδή η παθογένεια του IDDM περιλαμβάνει δύο φάσεις.

Μία αρχική φάση ανεξάρτητη το λεμφοκυττάρου και μία δεύτερη φάση κατά την οποία η καταστροφή του β-κυττάρου εξαρτάται από την παρουσία του λεμφοκυττάρου<sup>4,5</sup>.

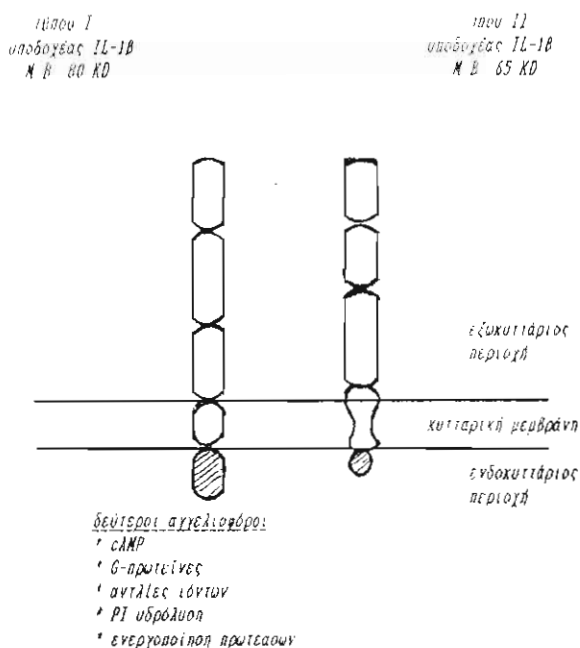
Οι κυτταροκίνες είναι πεπτιδία που παράγονται από διάφορα κύτταρα, δρουν και επηρεάζουν την λειτουργία άλλων κυττάρων και ιστών στόχων, όπως επίσης διεγείρουν ή αναστέλλουν την δραστηριότητα γόνων που είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή διαφόρων πρωτεϊνών. Από τις κυτταροκίνες αυτή που πιο πολύ έχει συσχετισθεί με την παθογένεια του IDDM είναι η IL-1 και μάλιστα η IL-1 $\beta$ .

### Η δομή της IL-1 $\beta$ και του υποδοχέα της

Η IL-1 παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα (η μέγιστη πηγή) αλλά και από ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, κερατινοκύτταρα και λείες μυϊκές ίνες<sup>6</sup>. Οι γόνι της IL-1 εντοπίζονται στο μακρύ σκέλος του χρωματοσώματος 2. Αρχικά συντίθεται μία πρόδρομη μορφή 33KD, το δραστικό όμως μόριο που προέρχεται από την διάσπαση της πρόδρομης μορφής με τη δράση πρωτεϊνών, είναι ένα πολυπεπτίδιο 17,5 KD.

Ένας αριθμός ουσιών επάγει την παραγωγή της IL-1 από τα μονοπύρρηνα μακροφάγα in vitro, περιλαμβανομένων μικροοργανισμών (ιοί, βακτηρίδια, ζυμομύκητες), μικροβιακών προϊόντων (ενδοτοξίνες, εξωτοξίνες, πολυσακχαρίτες ζυμομυκήτων), φλεγμονωδών παραγόντων και φυτικών λεκτινών. Παράλληλα με τον κεντρικό της ρόλο στην ανοσορύθμιση του ξενιστή (ενεργοποίηση και επαγωγή στον πολλαπλασιασμό από T-λεμφοκύτταρα), η IL-1 επηρεάζει κύτταρα στόχους πλην των λευκοκυττάρων και εμφανίζεται να είναι μερικώς υπεύθυνη για τον πυρετό και την ηπατική αντίδραση οξείας φάσεως<sup>7</sup>.

Υπάρχουν τουλάχιστον δύο μορφές IL-1 που έχουν απομονωθεί και κλωνοποιηθεί, οι  $\alpha$  και  $\beta$  που εμφανίζουν μόνο μία κατά 26% περίπου ομολογία αμινοξέων. Οι περισσότερες μελέτες για την IL-1 και την λειτουργία του β-κυττάρου έγιναν με την IL-1 $\beta$ . Και οι δύο μορφές δεσμεύουν τους ίδιους κυτταρικούς υποδοχείς<sup>8</sup>. Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τύποι υποδοχέων (Σχ. 1). Ο τύπος I, που είναι μία γλυκοπρωτεΐνη 80 KD η οποία ανήκει στην οικογένεια των Ig υποδοχέων, αποτελείται από τρεις περιοχές, μία εξωκυττάρια (319 αμινοξέα), μία υδρόφοβο διαμεμβρανική (21 αμινοξέα) και μία κυτταροπλασματική (217 αμινοξέα). Ο τύπος II του υποδοχέα της IL-1 είναι επίσης μία γλυκοπρωτεΐνη 65 KD που εμφανίζει



Σχ. 1. Υποδοχείς της IL-1β.

επίσης μία εξωκυττάρια, μία διαμεμβρανική και μία κυτταροπλασματική περιοχή η οποία είναι μικρότερη κατά 29 αμινοξέα από την αντιστοιχη του τύπου I. Οι υποδοχείς της IL-1 εμφανίζουν χαμηλή ή υψηλή χημική συγγένεια διαφορές που οφείλονται προφανώς σε ποικιλίες των θέσεων γλυκοζυλίωσης. Έχουν βρεθεί και διαλυτοί υποδοχείς της IL-1 με μικρή όμως συγγένεια και ο ρόλος τους δεν είναι ακόμη διευκρινισμένος.

Πολύ λίγα είναι ακόμη γνωστά για τον ενδοκυττάρια μηχανισμό μετάδοσης του μηνύματος για το σύμπλεγμα IL-1/υποδοχέας IL-1 στα κύτταρα στόχους και ειδικά στα β-κύτταρα του παγκρέατος. Πολλοί δευτεροί ενδοκυττάρια αγγελιοφόροι έχουν προταθεί ότι εμπλέκονται στη μετάφραση του μηνύματος όπως το cAMP, G-πρωτεΐνες, φωσφοϊνοσιτιδική υδρόλυση, αντλίες ιόντων και ενεργοποίηση πρωτεασών.

Έχουν απομονωθεί φυσικοί αναστολείς των υποδοχέων της IL-1 με Μ.Β., 23-25 ΚΔ, οι οποίοι παράγονται από τα ίδια κύτταρα που παράγουν IL-1 και συνδέονται μόνο με τους κυτταρικούς υποδοχείς της IL-1<sup>9</sup>. Το ίδιο πετυχαίνουν και οι διαλυτοί υποδοχείς της IL-1 οι οποίοι συνδέονται με την IL-1 πριν αυτή συνδεθεί με τους ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς της. Έτσι τόσο οι αναστολείς των υποδοχέων της IL-1 όσο και οι διαλυτοί υποδοχείς είναι ειδικοί αναστολείς παράγοντες δηλαδή που προστατεύουν τον ξενιστή

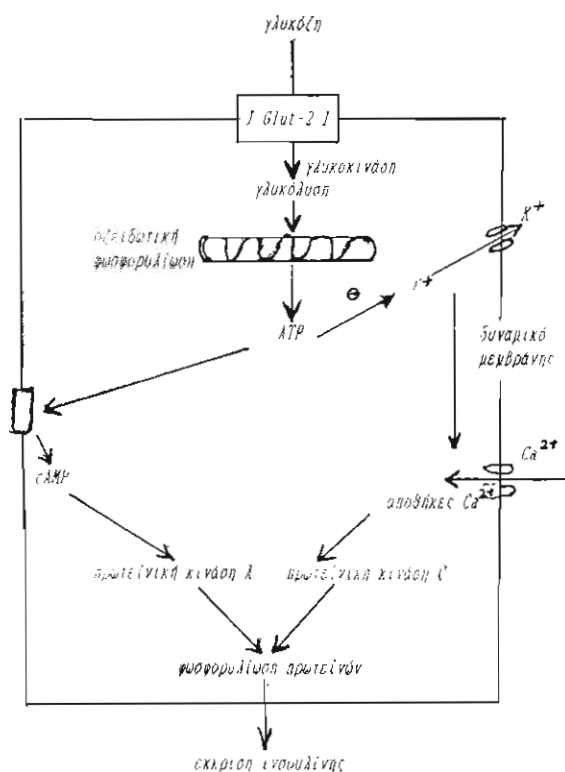
από την IL-1.

### Δράσεις της IL-1β στη λειτουργία του β-κυττάρου

Οι δράσεις της IL-1β στα β-κύτταρα είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης της κυτταροκίνης, του χρόνου της έκθεσης και της συγκέντρωσης της γλυκόζης<sup>10</sup>.

Μία βραχύχρονη (μίας ώρας) επώαση β-κυττάρων με IL-1β, διεγείρει την απελευθέρωση ινσουλίνης, ενώ μία μακρόχρονη (24-48 ωρών) επώαση αναστέλλει αξιοσημείωτα και την βιοσύνθεση και την απελευθέρωση της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη. Μία παρατεταμένη επώαση (6-8 ημερών) με IL-1β μόνο ή σε συνδυασμό και με άλλες κυτταροκίνες σχετίζεται με κυτταροτοξική δράση<sup>11</sup>. Φαίνεται ότι η ευαισθησία του β-κυττάρου στην IL-1β είναι ειδική του είδους.

Όπως φαίνεται στο σχήμα 2 κάτω από φυσιολογικές καταστάσεις η γλυκόζη είναι ο κύριος ρυθμιστής της απελευθέρωσης της ινσουλίνης. Παράλληλα με την ισχυρή δράση της στην έκκριση της ινσουλίνης η γλυκόζη στην κατάλληλη συγκέντρωση είναι αναγκαία στο να επιτρέψει μία φυσιολογική εκκριτική ανταπόκριση του β-κυττάρου σε μία ποικιλία άλλων διεγερτών της έκκρι-



Σχ. 2. Σχηματική παράσταση μηχανισμού έκκρισης ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη στο β-κύτταρο.

σης της ινσουλίνης όπως αμινοξέων, ορμονών, νευρομεταβιβαστών και σουλφονυλουριών. Για να διεγερθεί η έκκριση της ινσουλίνης άμεσα ή για να ισχυροποιηθεί η δράση των άλλων διεγερτών της έκκρισης, πρέπει πρώτα η γλυκόζη να μεταβολισθεί από τα β-κύτταρα και μετά να ακολουθήσει μία σειρά βιοχημικών γεγονότων που περιλαμβάνουν μεταβολές στην ροή των ιόντων και σε αρκετούς ενδοκυττάρους αγγελιοφόρους με τελικό αποτέλεσμα την έκκριση της ορμόνης. Το σύνολο των πολύπλοκων αυτών γεγονότων θα μπορούσαμε να το ταξινομήσουμε στους εξής τρεις άξονες:

**1. Η αντίληψη και ο μεταβολισμός της γλυκόζης:** η συγκέντρωση γλυκόζης στο β-κύτταρο εξισοροπείται γρήγορα από ένα σύστημα διευκόλυνσης μεταφοράς της γλυκόζης μέσω ενός μεταφορέα της γλυκόζης του Glut-2 που έχει την μοναδική ιδιότητα της χαμηλής συγγένειας με την γλυκόζη ( $K_m$ -17mM) επιτρέποντας έτσι μία γραμμική ανταπόκριση μεταφοράς για τον βαθμό συγκέντρωσης της γλυκόζης στα 3-25 mM. Η γλυκόζη μετά μέσα στο κύτταρο μεταβολίζεται. Ένας ρόλος κλειδί στο μεταβολισμό της γλυκόζης είναι η γλυκοκινάση, ένα ειδικό για την γλυκόζη ένζυμο, υψηλής  $K_m$  (σταθερά Michaelis) που σε συγκεντρώσεις γλυκόζης πάνω από 5,5 mM περιορίζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης και επομένως την απελευθέρωση της ινσουλίνης. Ο μεμβρανικός μεταφορέας Glut-2 και η γλυκοκινάση είναι σημαντικοί παράγοντες του μηχανισμού αίσθησης της γλυκόζης στα β-κύτταρα του παγκρέατος, ένα σύστημα χαμηλής συγγένειας και υψηλής χωρητικότητας το οποίο επιτρέπει πρόσληψη γλυκόζης από το κύτταρο και φωσφορυλίωση ανάλογη με ένα ευρύ φάσμα τιμών εξωκυττάριας γλυκόζης και ως εκ τούτου καθορίζει την χωρητικότητα του β-κυττάρου να ανταποκρίνεται σε ένα μεγάλο εύρος μεταβολών γλυκόζης<sup>13</sup>. Καθώς αυξάνεται η εξωκυττάρια συγκέντρωση της γλυκόζης ο βαθμός οξειδωσης της γλυκόζης στα μιτοχόνδρια αυξάνεται. Συνεπώς τα επίπεδα του ενδοκυττάρου ATP αυξάνονται και αυτή η δράση ή η μεταβολή στο λόγο ADP/ATP θεωρείται ότι πυροδοτεί το δεύτερο μέρος του μηχανισμού διέγερσης.

**2. Η μεταβολή στην ανταλλαγή των ιόντων:** μεταβολή στη συγκέντρωση του ATP πιστεύεται ότι επηρεάζει την ροή των ιόντων  $K^+$  μέσω της πλασματικής μεμβράνης του β-κυττάρου προκαλώντας κλείσιμο των διαύλων  $K^+$  που είναι ευαίσθητοι στην ATP (δεν επιτρέπεται η είσοδος πα-

ρά μόνο η έξοδος  $K^+$ ). Η μείωση της ροής  $K^+$  μεταβάλλει το δυναμικό της πλασματικής μεμβράνης προκαλώντας την εκπόλωση της με συνέπεια την αύξηση της ροής των ιόντων  $Ca^{2+}$  μέσω διαύλων, που εξαρτώνται από το δυναμικό της μεμβράνης. Στην αύξηση αυτή συνεισφέρει και η υδρόλυση της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης σε 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3). Η αύξηση του  $Ca^{2+}$  του κυττάρου θεωρείται ένα γεγονός κλειδί στον καταρράκτη των αντιδράσεων που οδηγεί στην απελευθέρωση της ινσουλίνης<sup>13</sup>.

**3. Ο καταρράκτης των αντιδράσεων φωσφορυλίωσης:** στα β-κύτταρα έχουν αναγνωρισθεί διαφορετικά συστήματα που παρεμβαίνουν στην φωσφορυλίωση ειδικών υποστρωμάτων κυτταρικών πρωτεϊνών που συνδέονται με την έκκριση της ινσουλίνης: α) οι πρωτεϊνικές κινάσες που εξαρτώνται από την καλμοδουλίνη (Ca-ευαίσθητη) και β) η πρωτεϊνική για την πρωτεϊνική κινάση A που εξαρτάται από το cAMP. Το αποτέλεσμα της φωσφορυλίωσης μιας σειράς πρωτεϊνών ακόμη πιο πολύπλοκων και μη διευκρινισμένων έχει ως αποτέλεσμα την ανταπόκριση της έκκρισης. Στον καταρράκτη αυτό της φωσφορυλίωσης ο πιο σημαντικός ρόλος διαφυλάσσεται για το cAMP και την υδρόλυση της φωσφοϊνοσιτιδης, με την ενίσχυση της δραστηριότητας των πρωτεϊνικών κινάσων που ενεργοποιούνται από το  $Ca^{2+}$ <sup>14</sup>.

### Δράσεις της IL-1β στην αντίληψη και το μεταβολισμό της γλυκόζης

Η χρόνια έκθεση σε IL-1β αναστέλλει την απελευθέρωση της ινσουλίνης. Αφού η φωσφορυλίωση της γλυκόζης σε 6-P-γλυκόζη γίνεται με τη μεσολάβηση της γλυκοκινάσης, υποτίθεται ότι είναι βήμα περιοσμένου βαθμού για τον μεταβολισμό της γλυκόζης και κατά συνέπεια για την απελευθέρωση της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη. Μία πιθανή κύρια δράση της IL-1β στον μεταβολισμό της γλυκόζης και στην έκκριση της ινσουλίνης προτείνεται στο επίπεδο της φωσφορυλίωσης της γλυκόζης. Υπάρχουν όμως αντικρουόμενες μελέτες για την δράση της IL-1β στην χρησιμοποίηση της γλυκόζης που κυρίως αφορούν στην κυτταροπλασματική γλυκόλυση η οποία παραμένει ανεπηρέαστη. Αντίθετα όμως η οξειδωση της γλυκόζης που είναι ένα καθαρά μιτοχονδριακό γεγονός μειώνεται όταν τα νησίδα εκτεθούν στη δράση της IL-1β. Παράλληλη μείωση εμφανίζεται και στην δραστηριότητα του μιτοχονδριακού ενζύμου ακονιτάση (ενζύμου του

κύκλου του Crebs) μετά από έκθεση σε IL-1β<sup>15</sup>. Η μείωση της μιτοχονδριακής οξειδωσης της γλυκόζης έχει ως αποτέλεσμα μείωση του ATP, μείωση του λόγου ATP/ADP και μείωση ισοδυνάμων όπως του NAD(P)H. Απόδειξη αυτού του πιθανού μηχανισμού αποτελεί η παρατήρηση ότι όταν κύτταρα νησιδίων εκτεθούν στη δράση της IL-1β το κυτταρικό ATP μειώνεται στο 45%. Η μείωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας θα επηρεάσει όχι μόνο την απελευθέρωση της ινσουλίνης, αλλά και ένα σύνολο λειτουργιών του β-κυττάρου όπως τις δραστηριότητες της πρωτεϊνικής κινάσης και την σύνθεση της ινσουλίνης. Είναι ενδιαφέρον ότι αντίστοιχη δυσλειτουργία των β-κυττάρων έχει παρατηρηθεί και μετά από έκθεση των νησιδίων στην αλλοξάνη ή την στρεπτοζοτοκίνη συνεπώς διαφορετικές τοξικές ουσίες μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στον μεταβολισμό της γλυκόζης σε επίπεδο μιτοχονδρίου στο β-κύτταρο. Επομένως είναι ξεκάθαρα τα γεγονότα της ανασταλτικής δράσης σε χρόνια έκθεση και της διεγερτικής σε βραχεία έκθεση IL-1β στην έκκριση της ινσουλίνης που είναι αποτέλεσμα αντίστοιχης δράσης της κυτταροκίνης στο επίπεδο της οξειδωσης της γλυκόζης στο μιτοχόνδριο<sup>16</sup>. Συνεπώς διευκρινίζεται ένας κύριος στόχος της δράσης της IL-1β.

#### Δράσεις της IL-1β στην ανταλλαγή των ιόντων

Στον καταρράκτη των ενδοκυττάρων γεγονότων που οδηγούν στην διέγερση των κοκκίων της ινσουλίνης και στην απελευθέρωσή της από β-κύτταρο, ο αποκλεισμός των ATP-K ευαίσθητων διαύλων είναι ένα καθοριστικό βήμα-κλειδί για την εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και κατά συνέπεια της ροής των ιόντων Ca<sup>2+</sup>, του πυροδοτικού μηχανισμού για την έκκριση της ινσουλίνης. Πρόσφατα βρέθηκε ότι απομονωμένα νησιδία όταν εκτεθούν για 24 ώρες σε IL-1β, εμφανίζουν διαταραχή στην λειτουργία των διαύλων K<sup>+</sup><sup>17</sup>. Υπάρχει μείωση μέχρι αναστολή της εξόδου του K<sup>+</sup> (με τη χρήση Rb<sup>+</sup>), παράλληλα με μειωμένη είσοδο K<sup>+</sup> (Na-K-ATPάση ευαίσθητη στην ουαβαΐνη). Αυτές οι δράσεις της IL-1β μπορεί να είναι είτε άμεσες είτε συνέπεια της δράσης της στον μεταβολισμό της γλυκόζης στο β-κύτταρο και στη παραγωγή ενέργειας (ATP). Συνέπεια της αναστολής των διαύλων K<sup>+</sup> από την IL-1β, η γλυκόζη γίνεται ανίκανη να προκαλέσει είσοδο ιόντων Ca<sup>2+</sup> και επομένως απελευθέρωση ινσουλίνης. Αυτό συμφωνεί με προηγούμενη μελέτη που έδειξε ότι η πρόσληψη Ca<sup>2+</sup> από την

γλυκόζη αναστέλλεται από την IL-1β<sup>18</sup>. Φαίνεται λοιπόν ότι η IL-1β επηρεάζει αξιοσημείωτα την ανταλλαγή ιόντων τα οποία στο επίπεδο της πλασματικής μεμβράνης του παγκρεατικού νησιδίου συνδέουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης με την διαδικασία απελευθέρωσης ινσουλίνης.

Η IL-1β εκτός από την επίδραση στη ροή των ιόντων K<sup>+</sup> και Ca<sup>2+</sup> ενεργοποιεί τον φραγμό Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> της πλασματικής μεμβράνης προκαλώντας συσσώρευση Na<sup>+</sup> στο κυτταρόπλασμα και αλκαλοποίηση ενδοκυτταρίως<sup>19</sup>. Αυτή η δράση προλαμβάνεται με αμιλοριδία, έναν αναστολέα του φραγμού Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> ο οποίος είναι ικανός να εμποδίσει την ανασταλτική δράση της IL-1β στην απελευθέρωση της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη. Στην ενδοκυττάρια συσσώρευση του Na<sup>+</sup> συμβάλλει και η μειωμένη δραστηριότητα της Na-K-ATPάσης. Ο μηχανισμός με τον οποίο το αυξημένο ενδοκυττάρια Na<sup>+</sup> μειώνει την έκκριση της ινσουλίνης δεν είναι γνωστός. Η δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου και η επίδραση στο δυναμικό της μεμβράνης, αναφέρονται ως πιθανοί μηχανισμοί<sup>19</sup>.

#### Δράσεις της IL-1β στη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών και στο cAMP

Η αύξηση της συγκέντρωσης του κυτταροπλασματικού Ca<sup>2+</sup> αποτελεί κριτικό βήμα στο μηχανισμό της απελευθέρωσης της ινσουλίνης. Απαιτείται όμως η παρουσία και άλλων κρίσιμων ενδοκυττάρια αγγελιοφόρων, όπως τα φωσφολιπίδια της ινσιτόλης και το cAMP, τα οποία παρεμβαίνουν στην δραστηριότητα διαφόρων πρωτεϊνικών κινάσεων. Έχει δείχθει ότι η προσθήκη εξωγενούς cAMP ή γλουκαγόνου αυξάνει την απελευθέρωση της ινσουλίνης.

Τα επίπεδα του cAMP μειώνονται στα παγκρεατικά νησιδία σε συνάρτηση με το χρόνο έκθεσης στην IL-1β<sup>20</sup>. Η θεοφυλλίνη ή η ισοβουτυλική μεθυλοξανθίνη (IBMX), αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης, είναι ικανοί να αυξήσουν τα επίπεδα του cAMP στα β-κύτταρα και να ξεπεράσουν την ανασταλτική δράση της IL-1β στην έκκριση της ινσουλίνης<sup>21</sup>. Όσον αφορά την υδρόλυση της φωσφοϊνοσιτιδής παρόλο που της αναγνωρίζεται αναμφισβήτητος ρόλος στην έκκριση ή την αναστολή της ινσουλίνης από την βραχεία ή μακρόχρονη δράση της IL-1β ο ρόλος αυτός δεν είναι ξεκάθαρος.

Συνέπεια αυτών των μεταβολών στα επίπεδα του cAMP και στην υδρόλυση της φωσφοϊνοσιτιδής, είναι η φωσφορυλίωση μιας σειράς πρωτεϊ-

νών (ακόμη μη αναγνωρισμένων) που συνδέουν τις ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις με την εκκριτική ανταπόκριση.

### Δράσεις της IL-1β μέσω βιοχημικών μηχανισμών

Ο μηχανισμός των δράσεων της IL-1β στα β-κύτταρα είναι ακόμη θέμα αντιπαράθεσης και πολλοί γνωστοί δεύτεροι αγγελιοφόροι έχουν προταθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο<sup>7</sup>. Τα αρχικά γεγονότα που ακολουθούν την σύνδεση της IL-1β με τον υποδοχέα της είναι ακόμη άγνωστα.

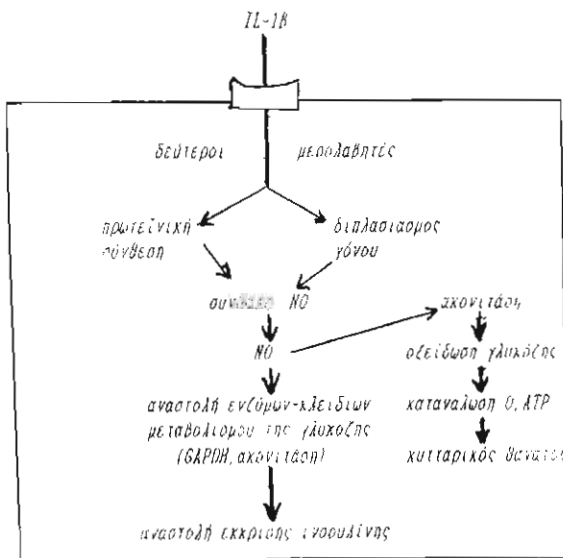
Πρόσφατα έχει προταθεί ότι οι ελεύθερες ριζες NO παίζουν ένα σημαντικό ρόλο ως μόρια διεγέρτες που συμμετέχουν στην αναστολή της έκκρισης της ινσουλίνης από την IL-1β<sup>22</sup> (Σχ. 3). Το NO σχηματίζεται κατά την διάρκεια της οξειδωσης της L-αργινίνης σε L-κιτρουλλίνη με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων των συνθασών του NO. Έχει περιγραφεί η σύνθεση τριών ισομορφών συνθάσης NO σε πολλά κύτταρα όπως και στα β-κύτταρα. Δύο συνθετικές ισομορφές (cNOS) Ca<sup>2+</sup>-εξαρτώμενες που παράγονται σε μικρές ποσότητες και για μικρό χρονικό διάστημα και μία επαγωγική ισομορφή (iNOS) ανεξάρτητη από το Ca<sup>2+</sup> που παράγεται σε μεγάλες ποσότητες και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα<sup>23</sup>. Το NO φαίνεται να λειτουργεί είτε ως μόριο σήματος, είτε ως μόριο-διεγέρτης εξαρτώμενο από την ισομορφή της συνθάσης του NO. Οι cNOS ισομορφές αυ-

ξάνουν τα επίπεδα του cGMP και φαίνεται να λειτουργούν κυρίως ως μόρια σήματος, ενώ η iNOS ισομορφή πιστεύεται ότι δρα περισσότερο ως διεγέρτης (π.χ. μεσολαβεί στην κυτταροτοξική δράση των μακροφάγων στα κύτταρα στόχους).

Στα παγκρεατικά νησίδια που περιέχουν ενδοκρινή και μη κύτταρα όπως μακροφάγα και ενδοθηλιακά κύτταρα η IL-1β μπορεί να προκαλέσει μαζική παραγωγή NO από τα ενδοθηλιακά μακροφάγα και με τον μηχανισμό αυτό να προκαλέσει κυτταρική λύση. Επίσης το NO φαίνεται να μετέχει στην αναστολή της απελευθέρωσης της ινσουλίνης που προκαλείται από την IL-1β<sup>24</sup>. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από την παρατήρηση ότι η μεταγραφή του γόνου και η σύνθεση πρωτεΐνης είναι αναγκαία για την δράση της IL-1β και ότι η IL-1β αυξάνει την έκφραση στα β-κύτταρα της iNOS ισομορφής στον ποντικό. Στα ανθρώπινα β-κύτταρα υπήρξε η ίδια δράση από τον συνδυασμό της IL-1β, του TNF και της IFNγ. Ενδοκυττάριοι στόχοι του NO είναι ο δισθενής σίδηρος των ομάδων της αιμης και ένζυμα που περιέχουν δραστικές ομάδες FeS<sup>26</sup>. Η ακονιτάση είναι ένα ένζυμο του κύκλου του Krebs που περιέχει τέτοια δραστική ομάδα και αναστέλλεται όταν χάνει ένα άτομο σιδήρου και μετατρέπεται από 4Fe-4S σε 3Fe-4S από την παρουσία της IL-1β σε νησίδια και η αναστολή αυτή φαίνεται να είναι ειδική, αφού άλλα μιτοχονδριακά ένζυμα είναι ανεπηρέαστα από την έκθεση στην IL-1β.

Εκτός από τις πρωτεΐνες αυτές του NO μπορεί να επηρεάσει ένζυμο που παίζουν κάποιο ρόλο στο μεταβολισμό της γλυκόζης όπως η δεϋδρογενάση της 3-P-γλυκεραλδεϋδης. Η νικοτιναμίδη (βιταμίνη B3) ένας γνωστός αναστολέας αυτής της δράσης είναι ικανός να αναστέλλει τη δράση του NO στα παγκρεατικά νησίδια<sup>27</sup>. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η νικοτιναμίδη αναστέλλει τη δράση της IL-1β στην απελευθέρωση της ινσουλίνης με δόσοεξαρτώμενο τρόπο.

Τόσο η βραχεία διεγερτική δράση της IL-1β όσο και η μακρόχρονη δράση στα παγκρεατικά νησίδια μπορεί να εμποδισθούν από έναν αναστολέα της τρυψίνης (Na-p-tosyl-L-lysine-chloromethyl ketone, TLCK)<sup>28,29</sup>. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η ενεργοποίηση της πρωτεάσης μπορεί να είναι ένα αρχικό γεγονός στην δράση της IL-1β, αν και παραμένει να διευκρινισθεί αν αυτό συνυπάρχει με τις μεταβολές της μεταγραφής του γόνου ή αν δρα ως δεύτερος ενδοκυτταρικός αγγελιοφόρος.



Σχ. 3. Σχηματική παράσταση του ρόλου του NO στην αναστολή της έκκρισης της ινσουλίνης.

## Ειδικότητα των δράσεων της IL-1β

Αρκετά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η δράση της IL-1β είναι ειδική για την έκκριση της ορμόνης μετά από διέγερση με γλυκόζη, όπως και μετά από διεγέρτες που απαιτούν παρουσία γλυκόζης όπως η λευκίνη και η χολοκυστοκίνη<sup>30</sup>. Αντίθετα όταν διεγέρτες είναι σουλφονουλιδίες (glyburide) και ουσίες που αυξάνουν τα επίπεδα του cAMP (θεοφυλλίνη ή IMBX) τότε η έκκριση της ινσουλίνης δεν επηρεάζεται από την IL-1β<sup>21</sup>.

Η *in vitro* παρατήρηση για την εκλεκτική δράση της IL-1β αυξάνει την πιθανότητα ότι η έκπτωση της ανταπόκρισης της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη που παρατηρείται σε ασθενείς με διαβήτη τύπου I κατά την διάρκεια του αρχικού σταδίου μπορεί να αντανάκλα μια μειονεκτική απαντητικότητα στη γλυκόζη και όχι κατ' ανάγκη μία μη αναστρέψιμη βλάβη της μάζας των β-κυττάρων<sup>31</sup>. Σε άτομα με κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου I η απαντητικότητα της ινσουλίνης στην ενδοφλέβια δοκιμασία ανοχής γλυκόζης έχει προταθεί ως δείκτης για έλεγχο μεταβολών στη μάζα των β-κυττάρων κατά την διάρκεια του χρόνου της διαδικασίας της νόσου<sup>32</sup>. Χρειάζονται όμως πιο ειδικές προγνωστικές μελέτες.

Είναι σημαντικό το ερώτημα κατά πόσο η δράση της IL-1β αφορά μόνο στα β-κύτταρα των νησιδίων ή και στα υπόλοιπα κύτταρα. Έχουν αποκτηθεί αρκετά δεδομένα *in vitro* που συμφωνούν για την έναντι των β-κυττάρων ειδικότητα και από δεδομένα που αποκτήθηκαν από ασθενείς τύπου I.

Παράλληλα με αυτό είναι ενδιαφέρον να γίνει η διάκριση μεταξύ της λειτουργικής καταστολής και της κυτταροτοξικής δράσης. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η λειτουργική καταστολή είναι ειδική για τα β-κύτταρα και απουσιάζει από τα α-κύτταρα<sup>33</sup>. Αντίθετα δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί η ειδικότητα της κυτταροτοξικής δράσης της IL-1β έναντι των β-κυττάρων παρά το πλήθος των εργασιών που υπάρχουν και ως εκ τούτου θα απαιτηθεί περαιτέρω έρευνα.

Παρά την τεράστια πρόοδο που έχει επιτευχθεί για το ρόλο της IL-1β και άλλων κυτταροκινών στην λειτουργική έκπτωση των β-κυττάρων στον διαβήτη τύπου I, παραμένουν ενδιαφέροντα ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν. Ο ακριβής μηχανισμός της δράσης της IL-1β παραμένει αδιευκρίνιστος αν και οι πρόσφατες παρατηρήσεις για τον ρόλο του NO κυτταρικού σήματος

έχει ανοίξει νέες και πολλά υποσχόμενες προοπτικές. Ειδικά η πιθανότητα της διακοπής της σύνθεσης του NO και της δράσης της IL-1β με κορτικοειδή<sup>26</sup> και η πρόληψη των μεταβολών από την IL-1β με αμινογουανιδίνη<sup>34</sup>, υποδηλώνουν έναν ισχυρό ρόλο αυτών των ουσιών. Αυτή είναι και μία περιοχή εντατικής έρευνας αφού η κατανοήση του μοριακού μηχανισμού που οδηγεί στη δράση της IL-1β θα επιτρέψει την ανάπτυξη εκλεκτικών στρατηγικών στην αναστολή της δράσης της στα β-κύτταρα και θα επιτρέψει θεραπευτικά πλάνα στον διαβήτη τύπου I<sup>35</sup>.

## Ο ρόλος των άλλων κυτταροκινών

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο συνδυασμός κυτταροκινών, άλλων ιντερλευκινών και TNF θα μπορούσε να αυξήσει τις δράσεις της IL-1β στο β-κύτταρο.

Έχει εξετασθεί ο ρόλος της IL-10<sup>36</sup> στην έκκριση της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη. Η ιντερλευκίνη αυτή εμφανίζει ένα σημαντικό ενδιαφέρον αφού μπορεί να καταστέλλει την δραστηριότητα των μακροφάγων παρεμβαίνοντας στη δημιουργία του NO. Σε καλλιέργειες νησιδίων φαίνεται ότι η κυτταροκίνη δραστηριοποιεί την έκκριση της ινσουλίνης και δεν φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με τον μεταβολισμό της γλυκόζης ή την σύνθεση της ορμόνης. Από την άλλη πλευρά η IL-10 δεν μπόρεσε να διακόψει την ανασταλτική δράση της IL-1β.

Η IL-1 διεγείρει τα β-κύτταρα με αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης της ινσουλίνης, γεγονός που σημαίνει ότι μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ή καταστολή της νησιτίδας<sup>37</sup>.

Το σύστημα της IL-2 παίζει σπουδαίο ρόλο στον πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση του T-λεμφοκυττάρου. Βρέθηκε ότι η σύνθεση της IL-2 είναι μειωμένη στον IDDM<sup>38,39</sup>. Φαίνεται δε ότι στον πειραματικό διαβήτη η χορήγηση της IL-2 καταστέλλει την ανάπτυξη του<sup>40</sup>.

Μία άλλη ομάδα κυτταροκινών με ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι οι ιντερφερόνες σχετικά με την εμφάνιση του IDDM. Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι σε πειραματόζωα η INFα προκαλεί διαβήτη τύπου I με έκφραση INFα στο β-κύτταρο ένα γεγονός ιδιαίτερης σημασίας αφού παρόμοια έκφραση INFα βρέθηκε και στα β-κύτταρα ανθρώπων με διαβήτη τύπου I<sup>41</sup>. Παρόμοια ευρήματα υπήρξαν και για την INFγ, όχι όμως για την IL-2 και TNF<sup>42-44</sup>. Φαίνεται ότι η ιογενής δράση

στη μετάφραση του γόνου ίσως είναι ο παράγων που στοχεύει μία αυτοάνοσος απάντηση ικανή να καταστρέψει τα β-κύτταρα προκαλώντας διαβήτη τύπου I.

Αντίθετα στον NIDDM φαίνεται ότι TNF προκαλεί μία κατάσταση αντίστασης των περιφερικών ιστών στην ινσουλίνη. Αυτό βρέθηκε σε παθολογικές καταστάσεις, καταστάσεις με αυξημένη παραγωγή TNF όπως η ενδοτοξιναιμία, ο καρκίνος και το τραύμα. Με βάση αυτό το σκεπτικό η κλινική εντύπωση είναι ότι η δόση της ινσουλίνης στους διαβητικούς θα πρέπει να αυξάνεται όταν υπάρχει λοίμωξη γεγονός που υποδηλώνει μία επιπρόσθετη έκπτωση στην αντίσταση της ινσουλίνης<sup>45</sup>. Είναι καλά γνωστό ότι κατά την διάρκεια της φλεγμονής υπάρχει διέγερση των μακροφάγων για παραγωγή TNF είτε από την απελευθέρωση λιποπολυσακχαριτών είτε άλλων ενδοτοξινών από τον παράγοντα της λοίμωξης. Χρόνια χορήγηση TNF σε ποντίκια αυξάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη<sup>46</sup>.

In vitro μελέτες έδειξαν ότι όταν τα κύτταρα εκτίθενται σε TNF γίνονται ινσουλινοάντοχα ως συνέπεια της χαμηλής ρύθμισης στην έκφραση του GLUT-4, μεταφορέα της γλυκόζης που διευγείρεται από την ινσουλίνη<sup>47</sup>. Επίσης απεδείχθη ότι TNF καταστέλλει την φωσφορυλίωση της τυροσίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης<sup>48</sup>.

Έχει αποδειχθεί ότι η έκφραση του γόνου του TNF είναι αυξημένη στον λιπώδη ιστό σε διάφορα ζωικά πρότυπα παχυσαρκίας που εμφανίζουν αντίσταση στην ινσουλίνη<sup>48</sup>. Τα επίπεδα του κυκλοφορούμενου TNF είναι υψηλότερα στα παχύσαρκα ζώα. Μακρόχρονη επώαση λιποκυττάρων με TNF έδειξε χαμηλή ρύθμιση του mRNA του GLUT-4<sup>49</sup>. Έτσι αναδεικνύεται ένας ρόλος κλειδιού για την κυτταροκίνη για τη μη φυσιολογική έκφραση του γόνου στα σύνδρομα του παχύσαρκου διαβήτη που επηρεάζει την ομοιόσταση της γλυκόζης. Όταν χορηγήθηκε διαλυτός υποδοχέας TNF στον άνθρωπο υπέστρεψε την αντίσταση στην πρόσληψη της γλυκόζης μετά από χορήγηση ινσουλίνης υποδηλώνοντας έτσι, ότι ο TNF θα μπορούσε να είναι ένας μεσολαβητής της αντίστασης στην ινσουλίνη<sup>50</sup>.

### Προστατευτικοί μηχανισμοί από τη δράση της IL-1β στο β-κύτταρο

Η νικοτιναμίδη αποτελεί ένα καθαριστή ελεύθερων ριζών και μπορεί να βελτιώσει την λειτουργία του β-κυττάρου, προλαβαίνοντας τον διαβήτη που προκαλείται από την στρεπτοζοτοκί-

νη, αναστέλλοντας την απόριψη των νησιδιακών κυττάρων σε NOD (Nonobese diabetes) που ποντικούς και επιβραδύνοντας ή αναστέλλοντας τον διαβήτη που συνοδεύεται με νησιτίτιδα<sup>51,52</sup>. Απεδείχθη ότι η νικοτιναμίδη είναι ικανή να προλάβει επιμέρους τη δράση της IL-1β στην έκκριση της ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη ή αργινίνη. Η νικοτιναμίδη δρα ως αναστολέας της poly (ADP-ριβοζο) συνθετάσης ενός ενζύμου που εμπλέκεται στην διόρθωση του DNA και του οποίου η δραστηριότητα είναι αυξημένη από την δράση της IL-1β στον πυρήνα<sup>53</sup>.

Τα γλυκοκορτικοειδή μπορεί να έχουν προστατευτικό ρόλο έναντι των δράσεων της κυτταροκίνης, αφού η επινεφριδιοεκτομή αυξάνει την ευαισθησία του παγκρεατικού νησιδίου στην κυτταροκίνη<sup>54</sup>. Επίσης η μείωση των επιπέδων της ινσουλίνης από τη δράση της IL-1β ενισχύεται στα επινεφριδιοεκτομηθέντα ποντίκια, όπως και η ανασταλτική δράση των κορτικοειδών στην παραγωγή του mRNA της IL-1.

Μία άλλη ενδιαφέρουσα άποψη σχετικά με τους διορθωτικούς μηχανισμούς στην λειτουργία του β-κυττάρου είναι η σύνθεση των πρωτεϊνών του stress ή πρωτεϊνών του θερμικής καταπληξίας (hsp, heat shock proteins). Η σύνθεση των πρωτεϊνών αυτών προάγεται από φυσικές και χημικές βλάβες του κυττάρου όπως η στρεπτοζοτοκίνη και η υπερθερμία. Ο ρόλος αυτών των πρωτεϊνών φαίνεται να είναι η σταθεροποίηση των μετουσιωμένων πρωτεϊνών η προστασία δηλαδή πρωτεϊνών κάτω από συνθήκες κυτταρικού stress<sup>55</sup>. Όταν χορηγήθηκε hsp 70 με τη μορφή λιποϊσοσωμάτων σε νησιδιακά κύτταρα που είχαν εκτεθεί σε IL-1β παρατηρήθηκε μία προστατευτική δράση έναντι των τοξικών δράσεων της κυτταροκίνης<sup>56</sup>.

Η δεσμουτάση του υπεροξειδίου ένα ένζυμο των μιτοχονδρίων που περιέχει μαγγάνιο, παίζει έναν ενδιαφέροντα ρόλο στην προστασία των νησιδίων έναντι των τοξικών ελευθέρων ριζών του οξυγόνου. Οι ρίζες αυτές παράγονται από τα μακροφάγα κατά την διάρκεια της φλεγμονής όπως επίσης κατά την διαδικασία ανάπτυξης όγκου. Ένας τέτοιος μηχανισμός παραγωγής ελευθέρων ριζών αναπτύσσεται κατά την διάρκεια της νησιτίτιδας από τα μακροφάγα που διηθούν τα νησιδια. Μετά από την έκθεση των νησιδίων σε IL-1 φαίνεται ότι και η έκφραση και η δραστηριότητα της δεσμουτάσης αυξάνεται υποδηλώνοντας έναν πιθανό ρόλο προστατευτικού μηχανισμού από το ένζυμο προς το β-κύτταρο<sup>57</sup>.



## Συμπεράσματα

Από τα παραπάνω δεδομένα φαίνεται ότι οι κυταροκίνες ιδιαίτερα η IL-1 και ο TNF συμμετέχουν σε βασικά γεγονότα που παίρνουν μέρος στην εμφάνιση του διαβήτη. Είναι και οι δύο από μόνες τους ή σε συνδυασμό κυταροτοξικές για τα ανθρώπινα νησίδια με αποτέλεσμα την εμφάνιση του διαβήτη τύπου I. Από την άλλη μεριά η εμπλοκή του TNF στην εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη χαρακτηριστικό του διαβήτη τύπου II είναι διευκρινισμένη και παρατηρήθηκε και σε άλλες καταστάσεις όπως ο καρκίνος, η λοίμωξη, η ενδοτοξαιμία και το τραύμα.

Η έρευνα του μέλλοντος αναμφίβολα θα έχει στόχο την έκφραση του γόνου του TNF και εκείνων που σχετίζονται με την δράση της ινσουλίνης και στον λιπώδη ιστό και στους σκελετικούς μύες σε ασθενείς με διαβήτη τύπου II. Αυτό τα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας θα δώσει καινούργιες θεραπευτικές στρατηγικές για την θεραπεία του διαβήτη.

## Summary

**Skaragas G. Cytokines and diabetes mellitus.** *Hellen Diabetol Chron* 1995; 2: 115-125.

The relationship between cytokines and diabetes mellitus has attracted the attention of many research scientists. Cytokines have been implicated as immunological effector molecules involved in a destruction of pancreatic  $\beta$ -cells that leads to IDDM. The research has focused on signal transduction pathways related to IL-1 $\beta$  action. Research has also devoted to the involvement of other cytokines such as interleukin-2, interleukin-10 and the interferons. Thus the role of cytokines in the pathogenesis of diabetes mellitus has become increasingly important and there is evidence of a possible involvement of cytokines in NIDDM TNF $\alpha$  in particular.

## Βιβλιογραφία

1. *Cambell IL, Harrison LC.* Viruses and cytokines: evidence for multiple role in pancreatic beta-cell destruction in type I insulin-dependent diabetes mellitus. *J Cell Biochem* 1989; 40: 57-66.
2. *Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helqvists S, et al.* On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 1994; 37 (Suppl): 82-89.
3. (News). The role of interleukin-1 in the pathogenesis of

- insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1994; 37: 42-43.
4. *Mundrup-Poulsen T.* On the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *Dan Med Bull* 1988; 35: 438-460.
5. *Molvig JA.* A model of the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *Dan Med Bull* 1992; 39: 509-541.
6. *Dinarello CA.* Interleukin 1. *Rev Infect* 1984; 6: 51-95.
7. *Argiles JM, Lopez-Soriano J, Ortiz MA, et al.* Interleukin-1 and  $\beta$ -cell function: more than one second messenger? *Endocrine Reviews* 1992; 13: 66-75.
8. *Dower SK, Urda IDL.* The interleukin-1 receptor. *Immunol Today*. 1987; 8: 46-51.
9. *Arend WP.* Interleukin 1 receptor antagonist: a new member of the interleukin 1 family. *J Clin Invest* 1991; 88: 1445-1451.
10. *Sandler S, Andersson A, Hellestrom C.* Inhibitory effects of interleukin 1 on insulin secretion, insulin biosynthesis and oxidative metabolism of isolated rat pancreatic islets. *Endocrinology* 1987; 121: 1424-1431.
11. *Rabinowitch A, Sumoski W, Rajotte RV, Warnock GL.* Cytotoxic effects of cytokines on human pancreatic islet cells in monolayer culture. *Endocrinology* 1990; 71: 152-156.
12. *Meglsson MD, Matschinsky FM.* Pancreatic islet glucose metabolism and regulation of insulin secretion. *Diabetes Metab Rev* 1986; 2: 163-214.
13. *Rasmussen H, Zawulich KC, Genesan S, et al.* Physiology and pathophysiology of insulin secretion. *Diabetes Care* 1990; 13: 656-666.
14. *Prentki M, Matschinsky FM.* Ca, cAMP and phospholipid-derived messengers in coupling mechanisms of insulin secretion. *Physiol Rev* 1987; 67: 1185-1248.
15. *Corbett JA, Wang JL, Sweetland MA, et al.* Interleukin-1 $\beta$  induces the formation of nitric oxide beta-cells purified from rodent islets of Langerhans. Evidence for beta-cells as a source and site of action of nitric oxide. *J Clin Invest* 1992; 90: 2384-2391.
16. *Sandel S, Bendtzen K, Borg LAH, et al.* Studies on the mechanisms causing inhibition of insulin secretion in rat pancreatic islets exposed to human interleukin 1 $\beta$  indicate a perturbation in the mitochondrial function. *Endocrinology* 1989; 124: 149-201-501.
17. *Buscema M, Rabuazzo AM, Vinci C, et al.* Different effects of glucose and glyburide on insulin secretion in rat pancreatic islets pre-exposed to interleukin 1 $\beta$ . Possible involvement of K and Ca channels. *Diabetologia* 1993; 16.
18. *Wolf BA, Hughes JH, Florhomens J, et al.* Interleukin-1 inhibits glucose-induced Ca uptake by islets of Langerhans *FEBS Lett* 1989; 248: 35-38.
19. *Helqvist S, Bouchelonch PN, Johannessen J, Nerup J.* Interleukin 1 $\beta$  increases the cytosolic free sodium concentration in isolated rat islets of Langerhans. *Scand J Immunol* 1990; 32: 53-58.
20. *Green IC, Delaney CA, Cunningham JM, et al.* Interleukin 1 $\beta$  effects on cyclic GMP and cyclic AMP in cul-

- tured rat islets of Langerhans-arginine-dependence and relationship to insulin secretion, *Diabetologia* 1993; 36: 9-11.
21. *Eizerk DL, Svandell E, Bendtzen K, Sandler S.* Functional characteristics of rat pancreatic islets maintained in culture following exposure to human interleukin 1. *Diabetes* 1988; 37: 916-919.
  22. *McDaniel ML, Corbett JA.* Does nitric oxide mediate autoimmune destruction on  $\beta$ -cells; Possible therapeutic intervention in IDDM *Diabetes* 1992; 41: 897-903.
  23. *Marletta MA.* Nitric oxide synthase structure and mechanisms. *J Biol Chem* 1993; 268: 12231-12234.
  24. *Corbet JA, Wang JL, Hughea SH, et al.* Nitric oxide and cyclic GMP formation induced by interleukin 1 beta in islets of Langerhans. Evidence for an effector role of nitric oxide in islet dysfunction. *Biochem J* 1992; 287: 229-235.
  25. *Corbett JA, Kwon G, Misko T.* Immunoprecipitation of iNOS from FACS purified  $\beta$ -cells: Effects of nitric oxide production on human islet function. *Diabetes (Abst)* 1993: 463.
  26. *Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Rev* 1991; 43: 109-142.
  27. *Kallman B, Burkart U, Kranck KD, et al.* Toxicity of chemical gene rated nitric oxide towards pancreatic islet cells can be prevented by nicotinamide. *Life Sci* 1992; 51: 671-678.
  28. *Eizerk DL, Bendtzen K, Sandlar S.* Short exposure of rat pancreatic islets to interleukin-1 $\beta$  induces a sustained but reversible impairment in  $\beta$ -cell function influence of protease activation, gene transcription and protein synthesis. *Endocrinology* 1991; 128: 1611-1616.
  29. *Welsh N, Bendtzen K, Sandler S.* Influence of protease on inhibitory and stimulatory effects of interleukin 1 $\beta$  on  $\beta$ -cell function. *Diabetes* 1991; 40: 290-294.
  30. *Zawalich WS, Diaz VA.* Interleukin 1 inhibits insulin secretion from isolated perfused rat islets *Diabetes* 1986; 35: 1119-1123.
  31. *Ganda OP, Srikantha S, Brink SJ.* Differential sensitivity to  $\beta$ -cell secretagogues in "early" type 1 diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33: 516-521.
  32. *Bleich D, Jakson RA, Seldner JS, Eisenbarth CS.* Analysis of metabolic progression type 1 diabetes in ICA+ relatives of patients with diabetes. *Diabetes Care* 1990; 13: 111-118.
  33. *Ling Z, In't Veld, Pipeless DG.* Interaction of interleukin-1 with islet  $\beta$ -cells. Distribution between indirect a specific cytotoxicity and direct, specific functional suppression. *Diabetes* 1993; 42: 56-65.
  34. *Corbet JA, Tilton RG, Chang LK, et al.* Aminoguanidine a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes* 1992; 41: 552-556.
  35. *Purello F, Buscema M.* Effects of interleukin-1 $\beta$  on insulin secretion by pancreatic beta-cells. *Diab Nutr Metab* 1993; 195: 859-865.
  36. *Sandler S, Welsh N.* Interleukin-10 stimulates rat pancreatic islets in vivo, but fails to protect against interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195: 859-865.
  37. *Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T.* Biology of much functional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF) *FASEB J* 1990; 4: 2860-2867.
  38. *Zier KS, Leo MM, Spielman RS, Baker L.* Decreased synthesis of interleukin-2 (IL-2) in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33: 552-555.
  39. *Kaye WA, Adri MNS, Soeldner JSI, et al.* Acquired defect in interleukin-2 production in patients with type 1 diabetes mellitus *N Engl J Med* 1986; 315: 920-924.
  40. *Zielasek J, Burkart U, Naylor P, et al.* Interleukin-2 dependent control of disease development in spontaneously diabetic BB rats *Immunology* 1990; 69: 209-214.
  41. *Stewart TA, Hultgren B, Huang Y, et al.* Induction of type I diabetes by interferon- $\alpha$  in transgenic mice. *Science* 1993; 260: 1942-1946.
  42. *Sarvetnick N, Liggitt D, Pitts SL, et al.* Insulin-dependent diabetes-mellitus induced in transgenic mice by ectopic expression of class II and interferon- $\gamma$ . *Cell* 1988; 52: 773-782.
  43. *Higuchi Y, Herrera P, Muniesa P.* Expression of a tumor necrosis factor- $\alpha$  transgene in murine pancreatic  $\beta$ -cells results in severe and permanent insulinitis without evolution towards diabetes. *J Exp Med* 1992; 176: 1719-1731.
  44. *Picarella DE, Kratz A, Lic B, et al.* Insulinitis in transgenic mice expressing tumor necrosis factor-B (lymphotoxin) in the pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10036-10040.
  45. *Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT, et al.* Infection and diabetes the case for glucose control. *Am J Med* 1982; 72: 439-450.
  46. *Lang CH, Dobrescu C, Bagby GJ.* Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology* 1992; 130: 43-52.
  47. *Stephens JM, Pekala PH.* Transcriptional repression of the GLUT-4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Biol Chem* 1991; 266: 21839-21845.
  48. *Pekala P, Kawakami W, Angus CW, et al.* Selective inhibition of the synthesis for the novo fatty acid biosynthesis by an endotoxin-induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 2743-2747.
  49. *Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM.* Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91.
  50. *Spiegelman BM, Hotamisligil ES.* Through thick and thin: wasting, obesity and TNF- $\alpha$ . *Cell* 1993; 73: 625-627.
  51. *Stanfacher W, Burr I, Gutzeit A, Beaven D, et al.* Streptozotokine diabetes: time course at irreversible  $\beta$ -cell damage. Further observation on prevention by nicoti-