

Sladkorna bolezen in avtoimunost

Diabetes and Autoimmunity

Borut Božič

POVZETEK: Sladkorna bolezen je heterogena skupina motenj z značilno hiperglikemijo. Imunsko pogojene oblike sladkorne bolezni poskušamo razlagati z vpletenostjo citokinov, naravnih celic ubijalk, izgubo lastne tolerance, apoptozo, molekulske mimikrije in delovanjem superantigenov. Med okoljskimi vplivi so najpomembnejše infekcije (tveganje) in dojenje (zaščita). Geni poglavitnega tkivnoskladnostnega kompleksa nosijo 60 % genskega vpliva na razvoj bolezni, 40 % pa drugi geni. Antigenska in epitopska razširitev avtoprotitelesnega odziva je eden izmed pomembnih označevalcev prihajajočega razvoja bolezni, vendar interpretacija analiznih rezultatov ni brez pasti. Celovito razumevanje nastanka imunsko pogojene sladkorne bolezni bo mogoče doseči z upoštevanjem kompleksnih interakcij različnih dogajanj, ne pa z analizami posamičnega vzročnega faktorja.

Ključne besede: sladkorna bolezen, diabetes tipa 1, avtoimunost

ABSTRACT: Diabetes mellitus is a heterogeneous group of disorders, all characterized by hyperglycemia. Cytokines, natural killer T cells, loss of self tolerance, apoptosis, molecular mimicry, and superantigens are used to explain immune dependent diabetes. Infections (as risk) and breast feeding (as preventing) are the most important environmental factors. 60 % of the genetic susceptibility is conferred by HLA, 40 % by other genes' transcripts. Antigenic and epitope spreading of the autoantibody responses is one of the important markers of imminent progression, but the interpretation of the analytical results is not without troubles. A complete understanding of immune dependant diabetes's genesis would be derived from the comprehension of the complex interaction amongst different events and not from the analysis of single causative factor.

Key words: diabetes melitus, diabetes type 1, autoimmunity

1 Diagnostična in klasifikacijska merila

Sladkorna bolezen je heterogena skupina motenj – nekateri avtorji pišejo kar o družini bolezni. Za vse je značilna hiperglikemija in motnja v glukoznem metabolizmu (1). Strokovnjaki priporočajo dve skupini kriterijev: eno za diagnosticiranje bolezni, ki omogoča varno in optimalno obravnavo bolnika, in drugo za podporo raziskovalnemu delu, zato da bi razumeli etiologijo in patogenezo sladkorne bolezni (2, 3).

Osnova diagnostičnim merilom je povišana plazemska koncentracija glukoze, po etiološki klasifikaciji pa ločimo (4):

1. sladkorna bolezen tipa 1 z destrukcijo celic β Langerhansovih otočkov z dvema podskupinama:
 - za tip 1a je značilna avtoimunska destrukcija celic;
 - za tip 1b je značilna idiopatska destrukcija celic β ;
2. sladkorna bolezen tipa 2 z neznano etiologijo, ki obsega 90 % vseh sladkornih bolnikov;
3. druge specifične tipe sladkorne bolezni, ki vključujejo:
 - neobičajne oblike imunsko pogojene sladkorne bolezni;
 - genetske pomanjkljivosti inzulinskega delovanja ali okvare delovanja celic β ;
 - bolezni eksokrinega pankreasa;
 - z zdravili povzročeno sladkorno bolezen.

4. nosečnostno sladkorno bolezen, ki jo ima okoli 4 % nosečnic. Običajno je asimptomatična in bolnic ne ogroža. Ločiti jo moramo od prikrite sladkorne bolezni, ki se v nosečnosti izrazi s polno klinično sliko.

Izrazi, kakor so inzulinsko odvisni diabetes mellitus, inzulinsko neodvisni diabetes mellitus, juvenilni in starostni diabetes mellitus, niso ustrezni, ker ne odražajo resničnega stanja in se zato opuščajo.

Pomemben praktični vidik v zdravstvu je ločitev bolnikov s sladkorno boleznijo tipa 1, pri katerih gre za imunsko pogojeno bolezen od bolnikov z boleznijo tipa 2, pri katerih avtoimunost ni poglavitni vzrok bolezni. Obstajajo pa tudi bolniki, ki razvijejo blažjo obliko bolezni tipa 1 z značilnimi protitelesi, toda s kliničnimi znaki bolezni tipa 2. Ta oblika bolezni se včasih žargonsko označi kot tip 1,5 (5). V članku obravnavamo predvsem imunsko pogojeno sladkorno bolezen v povezavi z avtoimunostjo.

2 Avtoimunost

Avtoimunost je reakcija imunskega sistema na tkiva lastnega telesa. Da bi razumeli, kako se avtoimunska reakcija sploh razvije, moramo poznati mehanizme, s katerimi je mogoča lastna prepoznavna, in mehanizme, s katerimi je normalno vzdrževana lastna toleranca. To vključuje:

1. zaprtje avtoantigenov na nedostopna mesta;
2. odstranitev avtoreaktivnih limfocitov T med razvojem v priželjcu;
3. procesiranje in predstavitev posameznih lastnih molekul;
4. indukcijo anergije ali neodzivnosti avtoreaktivnih limfocitov T;
5. delovanje supresorskih celic in hormonov.

Napaka v katerem koli od navedenih procesov lahko povzroči avtoimunske reakcije. Avtoimunska bolezen nastopi, ko avtoimunska reakcija povzroči patološko okvaro tkiva.

3 Modeli razlage imunske pogojene sladkorne bolezni

Za razlago imunske pogojene bolezni uporabljamo šest imunskih modelov, ki so verjetni in podprti z dokazi. Ti vključujejo citokine, naravne celice ubijalke, izgubo lastne tolerance, apoptozo, molekularno mimikrijo in superantigene.

Citokini so pomembni pri nadzoru in razvoju imunskega odziva, saj vplivajo na aktivacijo limfocitov in fagocitov. Celice pomagalke T ločimo v dve podskupini: Celice pomagalke T tipa 1 izločajo interferon α in interleukin 2, ki spodbujata celično imunost. Celice pomagalke T tipa 2 izločajo pretežno interleukina 4 in 10, ki zavirajoče vplivata na celice pomagalke T tipa 1 in sta vpletena pretežno v humoralno imunost. Celice tipa 1 bi lahko spodbujale avtoimunske bolezni, medtem ko bi celice tipa 2 lahko delovale protektivno (6). Toda dokazali so obstoj patogenih celic tipa 1, ki so bile diabetogene tudi po preklopu v tip 2 (7).

Celice naravne ubijalke so sposobne hitro proizvesti velike količine citokinov, predvsem interleukina 4, ki zavira delovanje celic pomagalke T tipa 1. Sposobne so prepoznati molekule celične diferenciacije CD1. Molekule CD1 so antigen predstavljene molekule in ne pripadajo poglavitnemu tkivnoskladnostnemu kompleksu (MHC *major histocompatibility complex*). Zgodnja okvara celic naravnih ubijalk T bi lahko privedla do avtoimunske motnje (8).

Izguba lastne tolerance omogoči avtoreaktivnim elementom izogniti se negativni selekciji v timusu. Vsak zdrav imunski sistem vsebuje tudi potencialne avtoagresivne citotoksične celice T CD4+ in vprašanje je, v katerih stanjih se avtoreaktivnost sprevrže v avtoagresivnost (9). Virusne infekcije so zagotovo eno izmed takih stanj.

Apoptotične celice so vpletene tudi v imunske procese. Lahko prikažejo avtoreaktivne antigene na površini svojih brstov, lahko aktivirajo dendritične celice in lahko sprožijo nastanek avtoprotiteles. Za sladkorno bolezen pa je posebno pomemben neonatalni val apoptoze celic β (10).

O molekularni mimikriji govorimo, kadar obstaja strukturna podobnost med molekulami patogena in lastnega proteina gostitelja. Avtoimunost se lahko pojavi, če reaktivnost celic T proti infekcijskemu agensu povzroči aktivacijo in razmnožitev križno reaktivnih celic T proti biološko pomembnemu epitopu avtoantigena. Direktna mimikrija z virusi je pri razvoju diabetesa verjetna zaradi aminokislinske podobnosti med virusnimi proteini in proteini celic β . Ugotovljena je bila sekvenca šestih aminokislilin, ki je enaka pri glutamatni dekarboksilazi

otoških celic in proteinu replikacije kokseki virusa (CVB4). Ta sekvenca sestavlja glavni epitop pri četrtini novo diagnosticiranih bolnikov s sladkorno (11). Humani protein IA-2 (islet antigen, antigen otoških celic) deli aminokislinsko podobnost z rotavirusi, citomegalovirusi, rinovirusi, hantavirusi, flavivirusi, virusom hepatitisa B, herpesvirusi in drugimi (12). Obstajajo pa tudi nasprotna mnenja, ki zavračajo morebitno povezavo med infekcijami in diabetesom prek mimikrije (13).

Z infekcijami so povezani tudi superantigeni. Vsak superantigen je sposoben aktivirati do 30 % krožečih limfocitov T, kar je nekaj tisočkrat več kakor običajni antigeni. Med aktiviranimi celicami T so tako tudi avtoreaktivne celice, ki lahko povzročijo avtoimunske bolezni – tudi diabetes (14).

4 Dovzetnost za razvoj bolezni

Na našo dovzetnost za razvoj avtoimunske sladkorne bolezni vplivajo genetski in okoljski dejavniki (15). Infekcije so najpomembnejši okoljski dejavniki. Z infekcijami v zelo zgodnjem otroštvu povezujejo tudi dejstvo, da dojeni otroci redkeje zbolijo za imunske pogojene sladkorne bolezni kakor otroci, ki niso bili dojeni, ali pa dojeni le kratek čas. Nekateri strokovnjaki menijo, da je znižanje incidence infekcijskih bolezni odgovorno za rast sladkorne bolezni v "zahodni" civilizaciji s "prečistim" okoljem ("hygiene hypothesis") (16).

Kadar koli je govor o lastni prepoznavi, so v dogajanje vpleteni geni MHC s svojimi proizvodi – proteini HLA. Genomska regija MHC vsebuje imunske odzivne gene, ki so pomembni za učenje celic T in za predstavitev antigenov z molekulami MHC 1. in 2. razreda. Predel HLA 2. razreda, imenovan tudi regija 1 imunske pogojene bolezni (17), obsega alele DR in DQ. Ta predel ima vlogo pri antigenski predstavitvi in sproženju imunskega odziva. Analiza podtipa DRB1*04 je še posebno zanimiva: tveganje za razvoj imunske pogojene diabetesa, ki je povezano z omenjenim podtipom, je zelo odvisno od preiskovane populacije. Različni aleli so navedeni kot povečano tveganje za imunske pogojene sladkorne bolezni pri Norvežanih, Francozih, Špancih in Avstralcih. Isti podtip, torej DRB1*04, pa predstavlja z nekaterimi aleli tudi zaščito pred nastankom imunske pogojene sladkorne bolezni (18). Tudi tu velja, da so vpleteni pri različnih populacijah različni aleli. Okoli 60 % genske nagnjenosti za pojav imunske pogojene sladkorne bolezni prispevajo geni HLA, 40 % pa drugi geni s svojimi prepisi. (19, 20).

Z navedenimi mehanizmi ter genetskimi in okoljskimi vplivi poskušamo razlagati patogenezo imunske pogojene sladkorne bolezni. Limfociti T igrajo osrednjo vlogo. Imunske pogojene sladkorne bolezni je posledica celično posredovanega avtoimunskega napada na Langerhansove otočke, ki proizvajajo inzulin, kar povzroča specifičen razpad pankreasnih celic β , pri čemer je regeneracija tkiva nezadostna (21). Med klinično izraženo boleznijo je več kakor tri četrtine celic β že uničenih, po nekaterih podatkih celo več kakor 95 % (18, 22).

5 Značilnosti avtoprotiteles pri sladkorni bolezni

Dolgo preden je mogoče ugotoviti sliko diabetesa, lahko določimo protitelesa proti celicam β in njihovim antigenom. Ta protitelesa so

Pregledni članki - Review Articles

bistvena za razlikovanje med sladkorno boleznijo tipa 2 in tako imenovanim tipom 1,5. Spekter protiteles, njihova avidnost in afiniteta razlikujeta posameznike, ki bodo zboleli za sladkorno boleznijo, in tistimi, ki ne bodo. Antigenska in epitopska razširitev avtoprotitelesnega odziva je eden od pomembnih označevalcev morebitnega razvoja bolezni: pri posameznikih s protitelesi proti več antigenom je potek najpogosteje hiter, medtem ko protitelesa proti enemu samemu antigenu najpogosteje ne napovedujejo bolezni (23, 24, 25).

Ob vrednotenju rezultatov laboratorijskih preiskav (diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost) ne smemo zanemariti vrednotenja laboratorijskih metod (analizna specifičnost in analizna občutljivost). Zaradi konformacijsko odvisnih epitopov je kazalo, da imajo radioimunske tehnike določeno prednost pred encimskoimunskimi, katerih uporaba je vse pogostejša zaradi navidezne preprostosti in navidezne nezahtevnosti. Delovna skupina Combinatorial Islet Autoantibody Workshop se že skoraj dvajset let ukvarja s standardizacijo določanja klinično pomembnih protiteles pri diabetesu. Vendar težava ni samo v medlaboratorijskih odstopanjih, ampak tudi v heterogenosti protiteles. Določanje količine, koncentracije in oziroma ali vezavnih lastnosti (avidnosti) protiteles poliklonskega odziva vsebuje tudi teoretične pasti. Slednje se nanašajo na izbiro metode (afinitetno ali kapacitetno odvisna) in izbiro vzorcev za medlaboratorijsko testiranje oziroma za umerjanje metode (problem zadostnega volumna vzorcev za razpošiljanje) (26). Seveda pa se moramo pri tem zavedati tudi druge plati: pri biokemijskih označevalcih, ki se pojavijo več let pred klinično sliko bolezni, je težko določiti, ali pripadajo podskupini zdravih ljudi ali so resnični označevalci razvijajoče se bolezni (21, 27).

6 Zgodnje faze v razvoju bolezni

Predstavitev za celice β specifičnih avtoantigenov limfocitov pomagalkam (Th CD4+) v povezavi z molekulami MHC 2. razreda se šteje za prvi korak k sprožitvi sladkorne bolezni (14, 28). Limfociti B verjetno bolj vplivajo na nastanek bolezni s predstavitvijo avtoantigenov celicam CD4+ kakor pa s proizvodnjo in izločanjem avtoprotiteles. Za razpad celic β sta namreč pomembni obe podskupini limfocitov T: CD4+ in CD8+. Citotoksični limfociti T (CD8+) povzročijo razpad celic β po prepoznavanju specifičnih avtoantigenov na celicah β v povezavi z molekulami MHC 1. razreda (zunanjimi antigeni) s sproščanjem perforinov in grancimov ter z apoptozo, pogojeno z ligandom Fas.

Neustrezna predstavitev lastnih peptidov MHC 1. razreda bi lahko bila posledica napačne translacije ali transkripcije proteazne podenote proteosoma z imenom LMP2. Izkazalo se je namreč, da neustrezno izražanje moti proteolitično procesiranje transkripcijskega faktorja NF- κ B, ki igra osrednjo vlogo pri učinkovitem limfocitnem zorenju, normalni regulaciji citokinske produkcije v limfocitih T in zaščiti limfocitov T pred apoptozo (25). Poročajo pa tudi o neustreznem izražanju in delovanju kaspaze 3 v limfocitih bolnikov s sladkorno boleznijo, kar naj bi vplivalo na neustrezno periferno toleranco (30).

7 Zaključek

Pri diabetičnih bolnikih torej odkrijemo neustrezno predstavitev antigenov, neustrezno in vitro proteosomsko obdelovanje in moten prikaz lastnih peptidov MHC 1. razreda z revno selekcijo limfocitov T, kar daje predloženi razlagi patogeneze ustrezno težo.

Število ljudi, ki so prizadeti zaradi imunsko pogojene sladkorne bolezni, narašča izjemno hitro. Za to ne morejo biti vzrok niti samo genetski niti samo okoljski vplivi. Celovito razumevanje nastanka imunsko pogojenega diabetesa bo mogoče doseči z upoštevanjem kompleksnih interakcij različnih dogajanj, ne pa samo z analizami posamičnega vzročnega faktorja.

8 Literatura

1. Medvešček M. Sladkorna bolezen - Uvod. V: Kocijančič A, Mrevlje F (ur) Interna medicina. DZS - EW, Ljubljana 1998, str. 545-548.
2. WHO Study group. Diabetes mellitus. WHO technical report series, 1985: 727.
3. The National Diabetes Data Group. National Institute of Health (NIH). Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose tolerance. Diabetes 1979; 1039-1057.
4. The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997; 20: 1183-1197.
5. Kobayashi T, Nakanishi K, Murase T et al. Small doses of subcutaneous insulin as a strategy for preventing slowly progressive beta-cell failure in islet cell antibody-positive patients with clinical features of NIDDM. Diabetes 1996; 45: 622-626.
6. Katz J, Wang B, Haskins K et al. Following a diabetogenic T cells from genesis through pathogenesis. Cell 1993; 74: 1089-1100.
7. Haskins K, Wegmann. Diabetogenic T-cell clones. Diabetes 1996; 45: 1299-1305.
8. Lee PT, Putnam A, Benlagha K et al. A. Testing the NKT cell hypothesis of human IDDM pathogenesis. J Clin Invest 2002; 110: 793-800.
9. Parry SL, Hall FC, Olson J et al. Autoreactivity versus autoaggression: a different perspective on human autoantigens. Current Opinion in Immunology 1998; 10: 663-668.
10. Trudea JD, Dutz JP, Agrany E et al. Neonatal β -cell apoptosis. A trigger for autoimmune diabetes? Diabetes 2000; 49: 1-7.
11. Tian J, Lehmann PV, Kaufman DL. T cell cross-reactivity between coxsackievirus and glutamate decarboxylase is associated with a murine diabetes susceptibility allele. J Exp Med 1994; 180: 1979-1984.
12. Maclaren NK, Atkinson MA. Insulin-dependent diabetes mellitus: the hypothesis of molecular mimicry between islet cell antigens and microorganisms. Mol Med Today 1997; 3: 76-83.
13. Tuverno T, Dahlquist F, Frisk G et al. The Swedish childhood diabetes study III: IgM against coxsackie B viruses in newly diagnosed type 1 (insulin dependent) diabetic children - no evidence of increased antibody frequency. Diabetologia 1989; 32: 745-747.
14. Conrad B, Weidmann E, Trucco G et al. Evidence for superantigen involvement in insulin-dependent diabetes mellitus etiology. Nature 1994; 371: 351-355.
15. Gianani R, Eisenbarth GS. The stages of type 1A diabetes: 2005. Immunol Rev 2005; 204: 232-249.
16. Kukreja A, Maclaren NK. NKT cells and type-1 diabetes and the "hygiene hypothesis" to explain the rising incidence rates. Diabetes Technol Ther 2002; 4: 323-333.
17. She JX. Susceptibility to type 1 diabetes: HLA-DQ and DR revisited. Immunol Today 1996; 17: 323-329.
18. Kukreja A, Maclaren NK. Autoimmunity and diabetes. J Clin Endocrinol Metabol 1999; 84: 4371-4378.
19. Lucassen AM, Sreaton GR, Julier C et al. Regulation of gene expression by the IDDM-associated, insulin locus haplotype. Hum Mol Gen 1995; 4: 501-506.
20. Marron MP, Raffel LJ, Garchon H-J et al. Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA-4 polymorphisms in multiple ethnic groups. Hum Mol Gen 1997; 8: 1275-1282.
21. Bïason-Lauber A, Boehm B, Lang-Muritano M et al. Association of childhood type 1 diabetes mellitus with a variant of PAX4: possible link to beta cell regenerative capacity. Diabetologia 2005; 48: 900-905.
22. Delovitch T, Sing B. The non-obese diabetic mouse as a model of autoimmune diabetes: immune dysregulation gets the NOD. Immunity 1997; 7: 727-738.
23. Pietropaolo M, Peakman M, Pietropaolo SL et al. Combined analysis of GAD 65 and ICA512 (IA-2) autoantibodies in organ and non-organ specific autoimmune diseases confers high specificity for insulin-dependent diabetes mellitus. J Autoimmun 1998; 11: 1-10.
24. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E et al. Number of autoantibodies (against insulin, GAD or ICA512/IA2) rather than particular autoantibody specificities determine risk of Type 1 diabetes. J Autoimmun 1996; 9: 379-383.
25. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJK et al. Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combinations of autoantibody markers. Diabetes 1997; 46: 1701-1710.
26. Potter KN, Wilkin TJ. The molecular specificity of insulin autoantibodies. Diabetes Metab Res Rev 2000; 16: 338-353.
27. Falorni A, Brozzetti A. Diabetes-related antibodies in adult diabetic patients. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2005; 19: 119-133.
28. Rajasalu T, Barth C, Spyrtantis A et al. Experimental autoimmune diabetes: a new tool to study mechanisms and consequences of insulin-specific autoimmunity. Ann N Y Acad Sci 2004; 1037: 208-215.
29. Hayashi T, Faustman D. The role of the proteasome in autoimmunity. Diabetes Metab Res Rev 2000; 16: 325-337.
30. Vendrame F, Santangelo C, Misasi R, et al. Defective lymphocyte caspase-3 expression in type 1 diabetes mellitus. Eur J Endocrinol. 2005; 152(1): 119-125.