

Οξειδωτικό στρες και σακχαρώδης διαβήτης

Μ. Μπουγουλιά

Περίληψη

Οι επιπλοκές του ΣΔ είναι αποτέλεσμα της χρόνιας υπεργλυκαιμίας και πιθανώς των αυξημένων ελεύθερων λιπαρών οξέων (ΕΛΟ). Το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη των διαβητικών επιπλοκών, αφ' ενός μέσω των αυξημένων ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ΕΡΟ) και αφ' ετέρου λόγω της μειωμένης αποδόμησης τους από τον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό του κυττάρου. Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της υπεργλυκαιμίας, της παραγωγής των μιτοχονδριακών ΕΡΟ, του οξειδωτικού στρες και της ανάπτυξης των διαβητικών επιπλοκών. Στον ΣΔ 2, η ενεργοποίηση, των οδών του πυρηνικού παράγοντα NF-κΒ, των οδών των p38 MAPK και JNK/SAPK κινάσων από τις ΕΡΟ, σε συνδυασμό με την εκτροπή του μεταβολισμού της γλυκόζης κατά τη γλυκόλυση (παραγωγή τελικών παραγόντων μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (ΑΓΕς), ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης (PKC), της οδού της εξοζαμίνης και της σορβιτόλης), από την υπεργλυκαιμία και πιθανώς από τα ΕΛΟ, συμβάλλουν αφ' ενός στην ανάπτυξη της ισουλινοαντίστασης και στη διαταραχή της έκκρισης της ινσουλίνης και αφ' ετέρου στην απ'ευθείας καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων και των β-κυττάρων του παγκρέατος.

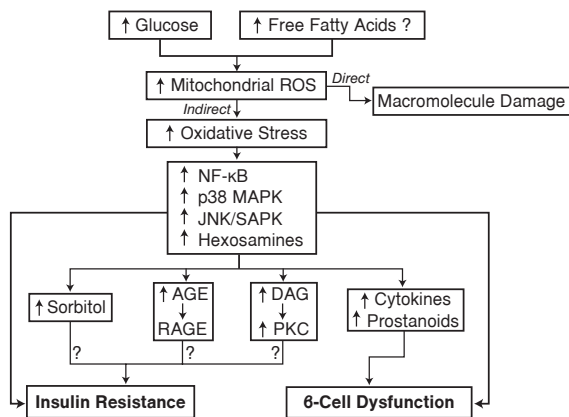
Εισαγωγή

Είναι γνωστό ότι η ανάπτυξη των μικρο- και μακροαγγειακών επιπλοκών στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 (ΣΔ1 και ΣΔ2) προέρχονται από την χρόνια αυξημένη γλυκόζη και πιθανώς από τα αυξημένα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων (ΕΛΟ)¹. Προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι ο μακροχρόνιος γλυκαιμικός έλεγχος είναι σπουδαίος προγνωστικός παράγοντας για τις μικρο- και μακροαγγειακές επιπλοκές του διαβήτη²⁻⁴. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων είναι στόχος καταστροφής από την υπεργλυκαιμία, αλλά ο μηχανισμός μέσω του οποίου διαδραματίζεται το γεγονός αυτό δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί. Αναφέρεται ότι το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στις μικρο- και μακροαγγειακές επιπλοκές⁵. Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται η διαφορά μεταξύ της αυξημένης παραγωγής και της μειωμένης αποδόμησης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ΕΡΟ), εκ των οποίων οι σπουδαιότερες είναι **το ανιόν του σουπεροξειδίου (O₂⁻), η υδροϋπεροξειδική ρίζα (HO₂) το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂ O₂), η υδροξυλική ρίζα (OH), τα υπεροξειδία των λιπιδίων [η λιπούπεροξεική ρίζα (LOO⁻)] και το ανιόν του περοξυ-**

Κλινική Ενδοκρινολογίας,
Μεταβολισμού και διαβήτη
Β' Νοσοκομείο ΙΚΑ «Παναγία»,
Θεσσαλονίκη

νιτρίτη (peroxynitrite), οι οποίες παράγονται κατά τις διάφορες μεταβολικές διεργασίες. Η υπεργλυκαιμία και ίσως τα ΕΛΟ φαίνεται ότι προκαλούν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (EPO), οι οποίες έχουν τη δυνατότητα αφ' ενός να προκαλούν απ'ευθείας καταστροφή των μακρομορίων, αφ'ετέρου να ενεργοποιούν οδούς ευαίσθητους στο στρες, προκαλώντας κυτταρική καταστροφή και ανάπτυξη των επιπλοκών του διαβήτη. Πρώιμος δείκτης της ιστικής καταστροφής, είναι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Στον ΣΔ 2, η υπεργλυκαιμία και πιθανόν τα ΕΛΟ συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς καθώς επίσης και σε ελάττωση της έκκρισης της από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Η προτεινόμενη αλληλουχία αυτών των γεγονότων περιλαμβάνει, την ενεργοποίηση διάφορων οδών από τις EPO όπως, την οδό του πυρηνικού παράγοντα NF-κB, του p38 MAPK, του JNK/SAPK, της εξοζαμίνης, την αυξημένη παραγωγή τελικών παραγόντων μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (AGEs), της σορβιτόλης, τις κυτοκίνες, τα προστανοειδή μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης (PKC), και της διαγλυκερόλης (DAG) (Εικ. 1).

Φυσιολογικά, το μοριακό οξυγόνο στην ανα-

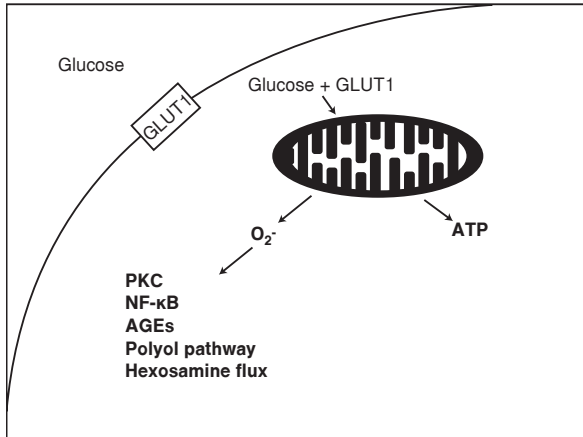


Εικ. 1. Η αυξημένη γλυκόζη και ίσως τα ΕΛΟ συμβάλλουν στην παθοφυσιολογία του διαβήτη μέσω της παραγωγής των EPO και την ακόλουθο ενεργοποίηση ενός αριθμού οδών ευαίσθητων στο στρες. Θεωρείται ότι υπάρχει σχέση μεταξύ υπεργλυκαιμίας, της παραγωγής των μιτοχονδριακών EPO, του οξειδωτικού στρες και της ανάπτυξης διαβητικών επιπλοκών. Επιπλέον στον ΣΔ 2, η ενεργοποίηση των οδών όπως NF-κB, p38 MAPK, JNK/SAPK και εξοζαμίνης, από την αύξηση της γλυκόζης και ίσως των ΕΛΟ οδηγούν στην αντίσταση στην ινσουλίνη και σε διαταραγμένη έκκριση ινσουλίνης.

πνευστική αλυσίδα, ενέχεται για τον πλήρη μεταβολισμό της γλυκόζης και άλλων υποστρωμάτων κατά την παραγωγή του ATP. Εντούτοις κατά την φυσιολογική οξειδωτική φωσφορυλίωση, το 0,4 έως το 4% του απορροφούμενου οξυγόνου μετατρέπεται σε σουπεροξειδίου του $\cdot\text{O}_2^-$, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε άλλες EPO. Το $\cdot\text{O}_2^-$ φυσιολογικά εξουδετερώνεται από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Οι ερευνητές για να αναλύσουν τη συμπεριφορά των αγγείων στην υπεργλυκαιμία, χρησιμοποίησαν τα ενδοθηλιακά κύτταρα επειδή η μεταφορά της γλυκόζης δεν είναι ινσουλινοεξαρτώμενη αλλά γίνεται μέσω των μεταφορέων GLUT1. Αποδείχθηκε ότι η υπεργλυκαιμία αυξάνει την παραγωγή των EPO και ειδικά του ανιόντος του σουπεροξειδίου του O_2^- . Οι Brownlee και συν.⁶ εντόπισαν σαν πηγή παραγωγής των EPO τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι οποίες παράγονται (όταν επωασθούν με αυξημένη γλυκόζη) κατά τη μεταφορά του πυρουβικού στα μιτοχόνδρια, στο επίπεδο του συμπλέγματος II (succinate:ubiquinone oxidoreductase). Το σύμπλεγμα αυτό είναι ένα από τα τέσσερα συμπλέγματα της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων που εμπλέκεται στην οξειδωτική φωσφορυλίωση. Κατά τον Brownlee, στην υπεργλυκαιμία η επακολουθούσα αυξημένη ενδοκυττάρια γλυκόλυση, έχει σαν αποτέλεσμα την τροφοδότηση με πυρουβικό οξύ του κύκλου του TRC (κύκλος του krebs). Στη συνέχεια ακολουθεί η υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με συνέπεια την υπερβολική παραγωγή EPO και κυρίως του ανιόντος του σουπεροξειδίου. Η αυξημένη παραγωγή των EPO, έχει ιδιαίτερα παθολογικές συνέπειες, διότι δραστηριοποιούνται όλοι οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της αθηρωματικής διαδικασίας. Επιπλέον η ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα (NF)-κB από την υπεργλυκαιμία οδηγεί στην έκφραση πολλών γονιδίων που έχουν σχέση με την παραγωγή ουσιών από τα αγγεία στο στρες⁷ (Εικ. 2).

Μηχανισμοί που εμπλέκονται στη δημιουργία EPO

Διάφοροι οδοί και μηχανισμοί εμπλέκονται στον σχηματισμό των EPO στα κύτταρα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ο σχηματισμός τους μέσω του ενζύμου NAD(P)H οξειδάσης, μέσω της αναπνευστικής αλυσού στα μιτοχόνδρια, της οξειδάσης της ξανθίνης, της οδού του αραχιδονικού οξέος (λιποξυγενάση και κυκλοξυγενάση), του NO και τα μικροσωματικά ένζυμα⁷.



Εικ. 2. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η γλυκόζη διαπερνά ελεύθερα την κυτταρική μεμβράνη μέσω των GLUT1 που δεν εξαρτώνται από την ινσουλίνη. Η ενδοκυττάρια υπεργλυκαιμία προκαλεί υπερπαραγωγή του υπεροξειδίου στα μιτοχόνδρια. Αυτή η υπερπαραγωγή είναι το πρώτο βήμα για την ενεργοποίηση οδών που εμπλέκονται στην παραγωγή των διαβητικών επιπλοκών.

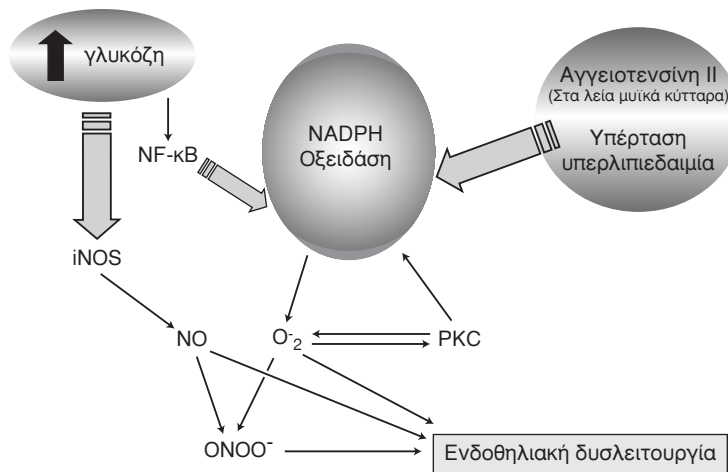
1. Νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτιδική φωσφορική οξειδάση (NAD(P)H οξειδάση)

Η νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτιδική φωσφορική οξειδάση (NAD(P)H), καταλύει την αναγωγή του O_2 μέσω της προσφοράς ενός ηλεκτρονίου από το φωσφορικό νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτιδίο (NADPH ή NADH) και παραγωγή O_2^- . Η NAD(P)H οξειδάση των αγγείων είναι η κύρια πηγή του αγγειακού υπεροξειδίου του οξυγόνου. Οι μελέτες δείχνουν ότι η εξαρτώμενη από την NAD(P)H οξειδάση παραγωγή του O_2^- προάγει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Η αγγειοτενσίνη II, είναι ένας γνω-

στός παράγοντας διέγερσης του υπεροξειδικού O_2 από τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων μέσω της αυξημένης δραστηριότητας της NAD(P)H οξειδάσης⁸. Η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C που οφείλεται στην υπερπαραγωγή του υπεροξειδίου, προάγει την σύνθεση του ενζύμου NAD(P). Η οξειδάση, που συνεισφέρει σημαντικά στην παραγωγή επιπλέον ανιόντων του σουπεροξειδίου του οξυγόνου. Η υπεργλυκαιμία επίσης μέσω της ενεργοποίησης του πυρηνικού παράγοντα NF-κB, αυξάνει την έκφραση της NAD(P)H και iNOS (συνθέτασης του NO), υπερπαραγωγή iNOS συνεπάγεται αύξηση παραγωγής NO (Εικ. 3).

2. Οξειδάση της ξανθίνης

Η Οξειδάση της ξανθίνης (XOD) καταλύει την αποδόμηση της υποξανθίνης σε ουρικό οξύ, συνοδευόμενη από υποπροϊόντα του οξειδωτικού στρες όπως, η υδροξυλική ρίζα (OH^-), το ανιόν του σουπεροξειδίου (O_2^-) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η οξειδάση της ξανθίνης όπως και η NAD(P)H οξειδάση, χρησιμοποιούν την NADH για την παραγωγή O_2^- , οπότε ο διαχωρισμός των δυο αυτών συστημάτων είναι δύσκολος. Στην υπερχοληστερολαιμία, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης προωθούν την απελευθέρωση της XOD στην κυκλοφορία που στη συνέχεια συνδέεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με επακόλουθο τη παραγωγή O_2^- . Μελέτες σε υπερχοληστεριναιμικούς και διαβητικούς ασθενείς με ΣΔ 2, η χορήγηση αλλοπουρινόλης βελτίωνε την ροή του αίματος στα αγγεία μέσω αναστολής της δράσης της XOD και της αγγειοδιαστολής⁹⁻¹¹.



Εικ. 3. Συμβολή της NADPH- EPO στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

3. Παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην κυτταρική μεμβράνη μέσω των ενζυματικών οδών του μεταβολισμού του αραχιδονικού/λινολεϊκού οξέος

Η παραγωγή των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι αποτέλεσμα του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος, της οξειδωσης των πρωτεϊνών που συνδέονται με την μεμβράνη και τέλος, της αυτοοξειδωσης των κυτοχρωμάτων που είναι συνδεδεμένα με τη μεμβράνη αυτή.

Η επίδραση των διαφόρων ΕΡΟ, πάνω στη λιπιδική διπλοστιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης, έχει σαν κύριο αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης Α που βρίσκεται στη μεμβράνη αυτή, με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται αραχιδονικό οξύ. Στη συνέχεια το αραχιδονικό οξύ μεταβολίζεται είτε μέσω του δρόμου της κυκλοξυγενάσης είτε μέσω της οδού της λιποξυγενάσης.

Κατά το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος μέσω της οδού της κυκλοξυγενάσης παράγεται υπεροξειδικό ανιόν στο στάδιο της μετατροπής της προσταγλανδίνης G₂ στην προσταγλανδίνη H₂. Το ανιόν του σουπεροξειδίου παράγεται επίσης και από το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος μέσω του δρόμου της λιποξυγενάσης. Και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται η παρουσία της NADH ή και της NADPH (νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτιδικής οξειδάσης).

3.α. Η οδός της κυκλοξυγενάσης

Η αρχική οξυγόνωση του αραχιδονικού οξέος οδηγεί στον σχηματισμό της θρομβοξάνης A₂ (TxA₂), της προστακυκλίνης (PGI₂), της προσταγλανδίνης E₂ (PGE₂), της PGF_{2α} και PGD₂ και καταλύεται από την κυκλοξυγενάση των λιπαρών οξέων. Παράγωγο της κυκλοξυγενάσης είναι ένα ασταθές προϊόν, η προσταγλανδίνη G (PGG). Ένα δεύτερο μοριακό οξυγόνο στη θέση C₁₅ οδηγεί στο σχηματισμό ενός 15-υδροξυυπεροξυενδουπεροξειδίου PGH και ελευθερώνει ελεύθερες ρίζες¹².

Η απελευθέρωση του αραχιδονικού μπορεί να επιτευχθεί μέσω πολλών μηχανισμών και οδηγεί στο σχηματισμό των εικοσανοειδών. Η διάσπαση του αραχιδονικού είτε από την φωσφατιδυλοχολίνη είτε από τη φωσφατιδυλοαθανολαμίνη διενεργείται μέσω της μετάθεσης της φωσφολιπάσης A₂ στη μεμβράνη (Εικ. 6). Φωσφορλίωση από την πρωτεϊνική κινάση C επιτρέπει την από το ασβέστιο εξαρτώμενη μετάθεσή της στην κυτταρική

μεμβράνη. Και άλλες όμως φωσφολιπάσες συμμετέχουν στην απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος. Η φωσφατιδυλινοσιτόλη υδρολύεται από την ειδική φωσφολιπάση C και οδηγεί σε σχηματισμό διαγλυκερόλης και φωσφορικής ινοσιτόλης. Η διαγλυκερόλη υδρολύεται περαιτέρω σε ελεύθερο αραχιδονικό οξύ και άλλα λιπαρά οξέα. Στη συνέχεια οξυγόνωση είτε από λιπαρά οξέα, κυκλοξυγενάσες, λιποξυγενάσες ή από το κυτόχρωμα P-450 δημιουργούνται βιολογικά ενεργείς ενώσεις. Το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του μπορεί να λειτουργήσουν σαν δεύτεροι ενδοκυτταριοί αγγελιοφόροι ιδίως στη ρύθμιση των καναλιών ιόντων και ίσως στην έκφραση πολλών γονιδίων.

3.β. Η οδός της λιποξυγενάσης

Το αραχιδονικό οξύ στα ουδετερόφιλα μετά την πρόσληψη, ενός μορίου οξυγόνου σε ένα από τους διπλούς δεσμούς του, σχηματίζει το 5-υδροξυπεροξυεικοσατετρα-ενοϊκό οξύ (5-HPETE). Αυτή η διακλάδωση μπορεί περαιτέρω να μεταβολισθεί είτε σε 5-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ (5-HETE) ή σε ένα ασταθές ενδιάμεσο παράγωγο την λευκοτριένη A₄ (LTA₄). Αυτός ο μεταβολίτης μπορεί να υδρολυθεί σε 5,12-διυδροξυεικοσατετραενοϊκά οξέα (5,12-DiHETE), ένα από τα οποία είναι η λευκοτριένη LTB₄. Το 12-HETE σχηματίζεται κυρίως στα αιμοπετάλια, το 5-HETE στα πολυμορφόφιλα, και το 5-HETE, το 11-HETE, και το 15-HETE στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το ένζυμο 5-λιποξυγενάση των ουδετερόφιλων, μεταφέρεται στην μεμβράνη για τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος. Ο σχηματισμός του 15-HETE φαίνεται ότι αυξάνει στα αθηρωματικά αγγεία. Μελέτες δείχνουν ότι στα λευκοκύτταρα, ενεργοποιείται η 12-λιποξυγενάση από αυξητικούς παράγοντες, από φλεγμονώδεις κυτοκίνες και την υπεργλυκαιμία¹². Αρκετά οξυγονωμένα προϊόντα αυτού του σπουδαίου ενζύμου είναι ικανά να ενεργοποιήσουν κινάσες ευαίσθητες στο στρες και οδούς που ενέχονται για την αγγειακή και νεφρική νόσο, περιλαμβάνοντας και την οδό της PKC, με αποτέλεσμα την υπερτροφία των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων. Το 12(R)-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ, προϊόν του ενζύμου 12-λιποξυγενάσης, είναι ένας ισχυρός αγγειογενετικός παράγοντας και ικανός να ενεργοποιεί τον πυρηνικό παράγοντα NF-κB και να αυξάνει την έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Η LTA₄ συνδέεται ενζυματικά με την γλουταθειόνη και σχηματίζει την LTC₄ η οποία μεταβολίζεται σε LTD₄ και σε LTE₄. Οι λευκοτριένες, οι οποίες πε-

ριέχουν κυστεΐνη είναι ισχυρά βρογχοσπαστικές και αγγειοσπαστικές ουσίες, διαστέλλουν τα μικρά αγγεία, αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα, αυξάνουν την δράση της ισταμίνης στα λεία μυϊκά κύτταρα των βρόγχων και διεγείρουν την έκκριση της βλέννης. Η LTB_4 διεγείρει την συγκόλληση, μετανάστευση και συσώρευση, την απελευθέρωση ενζύμων και την παραγωγή του ανιόντος του σουπεροξειδίου από τα πολυμορφόφιλα. Τα διηγερούμενα λευκοκύτταρα μετατρέπουν το 15-HPETE σε λιποξίνες. Οι κυριότερες λιποξίνες είναι η λιποξίνη Α και η λιποξίνη Β. Η λιποξίνη Α, είναι ένας ισχυρός διεγέρτης του ανιόντος του σουπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα.

4. Μονοξειδίο του Αζώτου

Η αύξηση του ανιόντος του σουπεροξειδίου από την υπεργλυκαιμία σηματοδοτεί την ενεργοποίηση άλλων οδών που εμπλέκονται στην παθογένεση των διαβητικών επιπλοκών. Είναι το πρώτο βήμα στη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία του διαβήτη^{6,7}.

Η παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου (NO) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, μέσω της αγγειοχάλασης των αγγείων, την αναστολή της συσώρευσης των λευκοκυττάρων στην κυτταρική μεμβράνη και πιθανώς μέσω εξουδετέρωσης του ανιόντος του σουπεροξειδίου⁷.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν NO από την L-αργινίνη, μέσω οξειδωσης του τελικού ατόμου του αζώτου της γουανιδιομάδος. Το μοριακό οξυγόνο και το φωσφορικό νικοτιναμίδιο αδενινουκλεοτίδιο (NADPH) αποτελούν συνυποστρώματα αυτής της χημικής αντίδρασης, η οποία καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS). Υπάρχουν 3 διαφορετικές ισομορφές της NOS, η ενδοθηλιακή (endothelial-eNOS), η νευρωνική (neuronal-nNOS), και η επαγωγίμη (inducible -iNOS). Το eNOS και το nNOS, βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα στο κυτταροπλάσμα και ενεργοποιούνται από το κυτταροπλασματικό ασβέστιο παρουσία της καλμοδουλίνης. Η είσοδος ασβεστίου μέσα σε αυτά τα κύτταρα, οδηγούν σε άμεση παραγωγή NO. Η υπερπαραγωγή του ανιόντος του σουπεροξειδίου, μειώνει την δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθετάσης (eNOS), αλλά δια μέσου της PKC και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, δραστηριοποιεί την NAD(P)H αυξάνοντας την έκφραση του iNOS, με τελικό αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή του

NO. Αυτή η κατάσταση ευνοεί τον σχηματισμό του ισχυρού οξειδωτικού ανιόντος περοξυνιτρίτη⁷. Το ανιόν του περοξυνιτρίτη, είναι κυτταροτοξικό επειδή οξειδώνει τις σουλφυδριλικές ομάδες στις πρωτεΐνες, συμβάλλοντας έτσι στην υπεροξείδωση των λιπιδίων και των αζωτούχων αμινοξέων, όπως η τυροσίνη, ευνοώντας την παραγωγή μιας ισχυρότατης οξειδωτικής ουσίας, της νιτροτυροσίνης που εμφανίζει άμεσα τοξική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων. Η πιθανότητα ότι ο διαβήτης συνδέεται με αυξημένο σχηματισμό νιτροτυροσίνης, φαίνεται από το γεγονός ότι βρέθηκαν αυξημένα επίπεδά της στο πλάσμα διαβητικών ασθενών¹³. Ο σχηματισμός της ακολουθείται από την ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας¹⁴. Το ανιόν του περοξυνιτρίτη, είναι ένας ισχυρός παράγοντας καταστροφής του DNA, η καταστροφή του οποίου αποτελεί ερέθισμα για την ενεργοποίηση του πυρηνικού ενζύμου poly(ADP-ribose) polymerase(PARP). Η καταστροφή του DNA φαίνεται από την αυξημένη παραγωγή της 8-υδροξυγουανίνης και 8-υδροξυδεοξυγουανισίνης (δείκτες καταστροφής του DNA)¹⁵. Η δραστηριοποίηση του PARP έχει ως συνέπεια τη μείωση του ενδοκυττάρου NAD⁺ (προκαλώντας μείωση του ρυθμού της γλυκόλυσης, της μεταφοράς ηλεκτρονίων και του σχηματισμού του ATP) και προάγει την ADP-ριβοζυλίωση του ενζύμου δευδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης (GAPDH)¹⁶. Η γλυκεραλδεΐδη (GAPDH) είναι από τα βασικά μεταβολικά προϊόντα του καταρράκτη της γλυκόλυσης. Η ριβοζυλίωση του ενζύμου αυτού, άρα η αναστολή του μεταβολισμού του, έχει σαν αποτέλεσμα τη συσώρευση των προηγούμενων από τη GAPDH μεταβολικών προϊόντων της γλυκόλυσης και εκτροπή του μεταβολισμού από τη σειρά της γλυκόλυσης σε άλλες παθοφυσιολογικές οδούς (εξοξαμίνης, PKC, πολυόλης).

Η υπεργλυκαιμία και οι οδοί που ενεργοποιούνται από το στρες

Σε in vivo μελέτες φαίνεται ότι το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία και ίσως από τα ΕΛΟ, ευθύνεται για τις επιπλοκές του διαβήτη πριν αυτές γίνουν κλινικά εμφανείς. Η υπεργλυκαιμία δραστηριοποιεί αρκετές σημαντικές οδούς που ευθύνονται για τις επιπλοκές του διαβήτη. Αυτοί οι οδοί περιλαμβάνουν τα τελικά παράγωγα της γλυκοζυλίωσης (AGEs) και τους υποδοχείς τους (RAGE), την οδό της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), και την οδό της πολυόλης¹⁷. Οι Wolff και Dean¹⁸ προτείνουν ότι η μη ενζυματική γλυκοζυλίω-

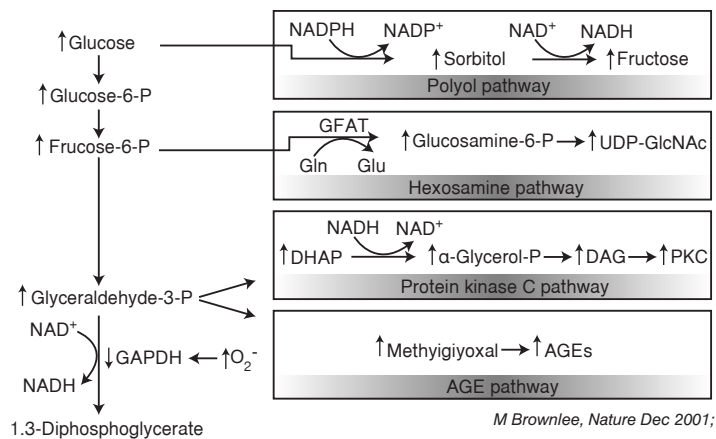
ση των πρωτεϊνών, είναι ένας μηχανισμός που θεωρείται ότι ευθύνεται για την γλυκοτοξικότητα και η παραγωγή τους επηρεάζεται από τις EPO.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η υπεργλυκαιμία εμπλέκεται στην ενεργοποίηση επιπλέον βιοχημικών οδών, που ενεργοποιούνται με το στρες και περιλαμβάνουν την οδό του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (NF-κΒ), τις οδούς των NH₂-terminal Jun kinases/stress activated protein kinases (JNK/SAPK) και p38 mitogen-activated protein (MAP) κινασών και την οδό της εξοζαμίνης. Τα δεδομένα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση αυτών των οδών ευθύνονται όχι μόνο για τις διαβητικές επιπλοκές αλλά και για την ινσουλινοαντίσταση καθώς και για την δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος.

α. Η οδός της πολυόλης

Υπάρχουν τρεις κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους η οδός της πολυόλης εμπλέκεται στο οξειδωτικό στρες και δύο είναι τα ένζυμα που συμμετέχουν στην οδό αυτή. Το πρώτο ένζυμο, η αναγωγή της αλδόζης (AP), παρουσιάζει χαμηλή συγγένεια προς τη γλυκόζη, με αποτέλεσμα σε χαμηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, ο μεταβολισμός της γλυκόζης στο κύκλο των πολυολών να αποτελεί μικρό ποσοστό στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Σε υπεργλυκαιμικό όμως περιβάλλον παρατηρείται ενεργοποίηση του ενζύμου αυτού και αυξημένη μετατροπή της γλυκόζης σε σορβιτόλη με συννοδό μείωση του NADPH. Το δεύτερο ένζυμο η δεϋδρογονάση της σορβιτόλης με τον συμπαραγοντα του NAD⁺, μετατρέπει την σορβιτόλη σε φρουκτόζη. Το οσμωτικό στρες από την συσσώρευση της σορβιτόλης ενοχοποιείται για τις διαβητικές επιπλοκές στους φακούς

και στα νεύρα. Σε μοντέλα ζώων η θεραπεία με αναστολείς της AP, φαίνεται να προλαμβάνει τις διάφορες επιπλοκές του διαβήτη όπως ο καταρράκτης, η νευροπάθεια και η νεφροπάθεια¹⁸. Όμως αυτός δεν είναι ο κυριότερος μηχανισμός για τις διαβητικές αλλοιώσεις. Θεραπεία διαβητικών αρουραίων με AP, μειώνει την γλουταθειόνη στους φακούς τους οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η δραστηριότητα του AP προκαλεί οξειδωτικό στρες. Όμως οι αναστολείς της AP μπορεί να έχουν και προστατευτική δράση από EPO. Η δραστηριότητα της AP εξαντλεί τον συμπαραγοντά του, την οξειδάση του NADPH, η οποία επίσης χρειάζεται για την παραγωγή της γλουταθειόνης (GSH) μέσω της αναγωγής της γλουταθειόνης. Σε καταστάσεις υπεργλυκαιμίας καθώς το 30% της γλυκόζης εισέρχεται στην οδό της πολυόλης προκαλείται σημαντική εξάντληση του NADPH, με επακόλουθο σημαντική μείωση των επιπέδων της GSH. Έτσι πρώτον, στην υπεργλυκαιμία η δραστηριότητα της AP ελαττώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου. Δεύτερον, η οξείδωση της σορβιτόλης σε φρουκτόζη από την δεϋδρογενάση της σορβιτόλης (SDH) προκαλεί οξειδωτικό στρες επειδή ο συμπαραγοντας του NAD⁺ μετατρέπεται σε NADH κατά την αντίδραση και το NADH, είναι το υπόστρωμα της οξειδάσης του NADH για την παραγωγή των EPO και τρίτον, στην οδό της πολυόλης γίνεται η μετατροπή της γλυκόζης σε φρουκτόζη, η οποία είναι ένας πιο ισχυρός μη ενζυματικός παράγοντας γλυκοξυλίωσης σε σχέση με την γλυκόζη. Η είσοδος λοιπόν της γλυκόζης στην οδό της πολυόλης, αυξάνει τον σχηματισμό των τελικών προϊόντων της γλυκοξυλίωσης (AGE), τα οποία συνδέονται με τους υποδοχείς τους και προκαλούν οξειδωτικό στρες¹⁷ (Εικ. 4).



Εικ. 4. Εκτροπή του μεταβολισμού της γλυκόζης σε παθοφυσιολογικές οδούς από τις EPO.

β. Γλυκοζυλίωση και προϊόντα τελικής γλυκοζυλίωσης (AGEs)

Ένας από τους πλέον ενδιαφέροντες μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την επιταχυνόμενη αθηρωμάτωση στον ΣΔ, είναι η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών ή και των λιποπρωτεϊνών¹⁸. Η γλυκοζυλίωση, είναι μία μη ενζυματική αντίδραση μεταξύ γλυκόζης και πρωτεϊνών ή και λιποπρωτεϊνών. Η γλυκόζη αντιδρά με τις αμινομάδες των πρωτεϊνών του πλάσματος ή του αγγειακού τοιχώματος και παράγονται χημικώς αναστρέψιμα γλυκοζυλιωμένα παράγωγα (βάσεις Schiff), τα οποία αργότερα μέσα σε λίγες εβδομάδες, σχηματίζουν πιο σταθερά προϊόντα (προϊόντα Amadori). Μερικά από τα πρώιμα γλυκοζυλιωμένα προϊόντα (πρωτεΐνες μεγάλου χρόνου ημίσειας ζωής) συνεχίζουν να υφίστανται διάφορες χημικές αλλαγές μέχρι του σχηματισμού των σταθερών μη αναστρέψιμων προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης (AGEs) (Εικ. 4). Τα παραγόμενα AGEs μπορούν να επιταχύνουν και να επηρεάσουν καθοριστικά την αθηρωματική διαδικασία με μηχανισμούς που δεν έχουν σχέση με τον κυτταρικό υποδοχέα των AGEs (RAGE) καθώς και με μηχανισμούς που διαμεσολαβούνται από τους RAGEs. Τα φωσφολιπίδια και η αποπρωτεΐνη Β της LDL γλυκοζυλιούνται με αποτέλεσμα, η LDL να υφίσταται ευκολότερα οξειδωτική μετατροπή και δυσκολότερα να αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα των LDL. Αυτό είναι ένα σημαντικό βήμα για την έναρξη (ρωγμή στο ενδοθήλιο από τη τοξική γλυκοζυλιωμένη LDL) και διαδικασία της αθηρωμάτωσης, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα και τις λείες μυϊκές ίνες. Η αλληλεπίδραση των AGEs με τους υποδοχείς τους (RAGEs) των ενδοθηλιακών κυττάρων δραστηριοποιεί το μεταγραφικό πυρηνικό παράγοντα NF-kb, με συνέπεια να επάγεται η παραγωγή EPO και το οξειδωτικό στρες. Έτσι λοιπόν η αλληλεπίδραση των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς RAGEs τροποποιεί την λειτουργία ενδοκυττάρων πρωτεϊνών και πρωτεϊνών του εξωκυττάρου συνδετικού ιστού, ενώ δραστηριοποιεί ειδικούς υποδοχείς των AGEs στη παραγωγή αυξητικών παραγόντων και EPO¹⁷.

γ. Δραστηριοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C

Μεταξύ των διάφορων πιθανολογούμενων μηχανισμών, είναι παραδεκτό ότι τα υψηλά επίπεδα της γλυκόζης ενεργοποιούν την οδό της διαγλυκερόλης-πρωτεϊνικής κινάσης C(PKC) στους ι-

στούς με μικρο-μακροαγγεία, σε διαβητικούς ασθενείς. Επειδή η PKC είναι ένα ενδοκυττάριο μόριο που σηματοδοτεί πολλές αγγειακές λειτουργίες, αναμένεται ότι η ενεργοποίηση της μπορεί να προκαλέσει αλλοιώσεις στις αγγειακές λειτουργίες στον διαβήτη Ένας μεγάλος αριθμός in vitro και in vivo εργασιών, οδηγούν στο ότι στον διαβήτη έχουμε αύξηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η οξειδάση του NAD(P)H, σαν τη πιο σπουδαία πηγή παραγωγής EPO στα αγγεία. Η ενεργοποίηση της NAD(P)H οξειδάσης από το σύστημα της PKC αποτελεί ένα ιδιαίτερο μηχανισμό που είναι υπεύθυνος για την αύξηση των EPO στα αγγεία των διαβητικών, λόγω της ικανότητας των να οξειδώνουν απευθείας και να καταστρέφουν το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια¹⁷. Η οικογένεια της PKC περιλαμβάνει 11 τουλάχιστον ισομορφές κινασών σερίνης και θρεονίνης. Οι β και δ-ισομορφές PKC δραστηριοποιούνται κυρίως στα αγγειακά κύτταρα ενώ οι υπόλοιπες 9 από τις ισομορφές της ενεργοποιούνται από τον ενδογενή συμπαράγοντα για την δραστηριοποίηση της PKC, τη διαγλυκερόλη (DAG). Αυξημένη DAG έχουμε από την αντίστοιχα αυξημένη ενδοκυττάρια παραγωγή των προϊόντων της γλυκόλυσης. Επιπλέον η υπεργλυκαιμία μπορεί να δραστηριοποιήσει έμμεσα την PKC με τη δραστηριοποίηση των υποδοχέων των AGEs, την αυξημένη δραστηριότητα της πολυόλης, και μέσω αυξημένων EPO. Η δραστηριοποίηση της PKC προκαλεί τις ακόλουθες μεταβολικές συνέπειες¹⁷ (Εικ. 4).

1. αναστολή της έκφρασης του mRNA για την ενδοθηλιακή συνθετάση του NO

2. αύξηση της δραστηριότητας της ενδοκυττάριας MAP-κινάσης με αποτέλεσμα αύξηση της ενδοθηλίνης-1, που έμφανίζει αυξημένη αγγειοσπαστική δράση

3. αυξημένη έκφραση του αγγειακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) παράγοντα που συντελεί στην αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας

4. αύξηση του αυξητικού παράγοντα μετατροπής (TGF-β), παράγοντα που συνδέεται με τη πάχυνση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών αγγείων

5. αύξηση του ενεργοποιητή του αναστολέα της ινωδολύσης PAI-1, του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα NF-kB (που ενεργοποιεί αυξητικούς και προφλεγμονώδεις παράγοντες) και των NAD(P)H οξειδασών των κυτταρικών μεμβρανών που ενοχοποιούνται για τη δημιουργία EPO.

δ. Η οδός της εξοξαμίνης

Πρόσφατα δεδομένα εμπλέκουν την ενεργοποίηση της οδού της εξοξαμίνης από την υπεργλυκαιμία, στο σχηματισμό των EPO¹⁷. Η είσοδος της γλυκόζης ή των ΕΛΟ μέσα στα κύτταρα έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της βιοσυνθετικής οδού της εξοξαμίνης¹⁸. Στην οδό αυτή, η 6-φωσφορική γλυκόζη, προϊόν της γλυκόλυσης, εκτρέπεται από τη γλυκόλυση, στη οδό της εξοξαμίνης. Το ένζυμο φωσφορική γλουταμινοφρουκτόζη-6 αμινοτρανσφεράση (GFAT) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη παραγωγή των νουκλεοτιδίων των εξοξαμινών και κυρίως της UDP-N-ακετυλ-γλυκοξαμίνης. Στους διαβητικούς ασθενείς φαίνεται ότι η δραστηριότητα αυτού του ενζύμου (GFAT) είναι αυξημένη και συσχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση και ανάπτυξη των διαβητικών επιπλοκών^{19,20}. Στα κύτταρα του μεσαγγείου, η υπερέκφραση του ενζύμου φωσφορική γλουταμινοφρουκτόζη-6 αμινοτρανσφεράση (GFAT-ένζυμο που τερματίζει την οδό της εξοξαμίνης), αυξάνει την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα NF-κB (Εικ. 4). Η οδός αυτή επίσης λειτουργεί σαν κυτταρικός αισθητήρας cellular “sensor” της διαθέσιμης ενέργειας και διαμεσολαβεί στα αποτελέσματα της γλυκόζης πάνω στην έκφραση αρκετών γονιδιακών παραγώγων, συμπεριλαμβανομένης και της λεπτίνης

ε. Η οδός του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα NF-κB

Είναι η πιο μελετημένη ενδοκυττάριος οδός, όπου επιδρά η υπεργλυκαιμία, οι EPO και το οξειδωτικό στρες^{20,21}. Ο NF-κB διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσία και στην απάντηση στα φλεγμονώδη φαινόμενα. Πολλά από τα γονίδια που ρυθμίζονται από τον NF-κB, με την σειρά τους τον ενεργοποιούν (π.χ VEGF, RAGE), καταταλίζοντας σε ένα φαύλο κύκλο (vicious circle). Η ενεργοποίησή του NF-κB συνεπάγεται την φωσφορυλίωση του μέσω της αποδόμησης των ανασταλτικών υπομονάδων, των ανασταλτικών πρωτεϊνών κB (IκB). Η υπομομάδα IκB φωσφορυλιώνεται από την κινάση της σερίνης, IκB κινάση β (IKK-β).

Πρόσφατη μελέτη σε ενδοθηλιακά κύτταρα βοός έδειξε, ότι η έκθεσή τους σε υπεργλυκαιμία αύξησε αρχικά τις ενδοκυττάρεις EPO και ακολούθησε η ενεργοποίηση του NF-κB. Ακολούθως αυξήθηκε η δραστηριότητα της πρωτεϊνικής κινά-

σης C (PKC) και αυξήθηκαν τα τελικά προϊόντα της γλυκοζυλίωσης και η σορβιτόλη²².

ζ. Η οδός των JNK/SAPK κινασών

Οι JNKs/SAPKs, ανήκουν στην οικογένεια των κινασών των πρωτεϊνών της MAP σερίνης/θρεονίνης. Αυτή η υπεροικογένεια περιλαμβάνει επίσης την p38 MAP κινάση (p38 MAPKs) και την εξωκυτταρική κινάση (ERKs)²³. Σε αντίθεση με την ERKs (που αναφέρεται και σαν MAPKs), η οποία ενεργοποιείται μόνο από μιτογόνους παράγοντες, οι JNK/SAPK και p38 MAPK είναι γνωστές σαν κινάσες που ενεργοποιούνται από το στρες και είναι υπεύθυνες για μια σωρεία εξωγενών και ενδογενών ερεθισμάτων που προάγουν το στρες, συμπεριλαμβανόμενων της υπεργλυκαιμίας, των EPO, το οξειδωτικό στρες, το οσμωτικό στρες, τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και την υπεριώδη ακτινοβολία. Η παραγωγή του H₂O₂, η δραστηριότητα του JNK/SAPK και η ακόλουθη απόπτωση που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία μπορούν να κατασταλούν από την βιτ. C²³.

η. Η οδός της p38 MAPK κινάσης

Η υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί και αυτή την οδό. Στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων η θεραπεία με ινσουλίνη και η υπεργλυκαιμία προκαλούν την ενεργοποίηση του p38 MAPK. Στα λεία μυϊκά κύτταρα του αρουραίου η υψηλή γλυκόζη αύξησε 4 φορές την p38 MAPK κινάση^{24,25}. Σε μια μελέτη σε σπειράματα αρουραίων που έγιναν διαβητικοί με στρεπτοζοτοκίνη, η δραστηριότητα της p38 MAPK αυξήθηκε σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αυτό οφείλεται στην αύξηση των EPO²⁴. Αυξημένα επίπεδα των JNK/SAPK και p38 MAPK κινασών, έχουν βρεθεί σε νευρικό ιστό ασθενών με ΣΔ²⁵.

Συμπερασματικά τα στοιχεία δείχνουν ότι ο NF-κB, οι κινάσες JNK/SAPK, p38 MAPK, και οι παθοφυσιολογικές οδοί της γλυκόλυσης, σηματοδοτούνται από το στρες και ενεργοποιούνται από την υπεργλυκαιμία και από τις EPO. Χρόνια ενεργοποίηση των οδών αυτών οδηγεί στις επιπλοκές του διαβήτη.

Το οξειδωτικό στρες και η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Η φωσφορυλίωση της σερίνης του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης

Οι EPO και το οξειδωτικό στρες οδηγούν σε ενεργοποίηση πολλών κινασών της σερίνης²¹. Η

οδός που ενεργοποιείται από την ινσουλίνη προσφέρει ένα μεγάλο αριθμό στόχων που δρουν αυτές οι ενεργοποιημένες κινάσες, συμπεριλαμβανομένων και αυτών του υποδοχέα της ινσουλίνης και την οικογένεια των πρωτεϊνών του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης τον IRS-1 και -2, με αύξηση της φωσφορυλίωσης της σερίνης και μείωση αυτής της τυροσίνης.

Διάφοροι παράγοντες όπως η υπεργλυκαιμία, τα αυξημένα επίπεδα των ΕΛΟ, οι κυτοκίνες και άλλοι, αυξάνουν την παραγωγή των ΕΡΟ και το οξειδωτικό στρες. Αυτό οδηγεί σε ενεργοποίηση των κινασών της σερίνης/θρεονίνης. Αφότου ενεργοποιηθούν αυτές οι κινάσες είναι ικανές να φωσφορυλιώσουν αρκετούς στόχους, όπως τις πρωτεΐνες του υποδοχέα (IR) και του υποστρώματος του (IRS) (περιλαμβάνοντας το IRS-1 και το IRS-2). Η αυξημένη φωσφορυλίωση των IR ή IRS πρωτεϊνών στις θέσεις της σερίνης ή θρεονίνης (pS/T) μειώνει την από την ινσουλίνη φωσφορυλίωση της τυροσίνης (pY)^{26,27}. Στη συνέχεια οι δραστηριότητες των μορίων όπως η φωσφατιδυλινοσιτόλη 3-κινάση [PI3K]) μειώνονται με αποτέλεσμα ελάττωση της δράσης της ινσουλίνης. Ενεργοποίηση της IKK-β, μια κινάση της σερίνης που ρυθμίζει την οδό του NF-κΒ, αναστέλλει την δράση της ινσουλίνης²⁷.

Παχυσαρκία, λιπαρά οξέα και ινσουλινοαντίσταση

Επειδή η ινσουλινοαντίσταση είναι προφανής πριν την εμφάνιση της υπεργλυκαιμίας, δεν εξηγείται το οξειδωτικό στρες μόνο από την υπεργλυκαιμία. Όμως η στενή σχέση μεταξύ παχυσαρκίας και ινσουλινοαντίστασης οδηγεί στην άποψη ότι υπάρχει ένας μεσολαβητής που προέρχεται από τα λιποκύτταρα και οδηγεί σε οξειδωτικό στρες μέσω της ινσουλινοαντίστασης.

Έτσι αρκετά μόρια έχουν ενοχοποιηθεί όπως ο ογκονεκρωτικός παράγοντας (TNF-α)²⁸, η λεπτίνη²⁹, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα³⁰, και πρόσφατα η ρεξιπίνη³¹. Ο ισχυρότερος παράγοντας είναι τα ΕΛΟ που συνδέουν την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση. Αρκετοί μηχανισμοί εξηγούν το πώς τα αυξημένα ΕΛΟ μειώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Randle hypothesis)³⁰. Τα ΕΛΟ όπως και πολλοί από τους μεταβολίτες τους, επιδρούν απευθείας με μεταγραφικούς παράγοντες και ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων κυρίως αυτών που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των λιπιδίων και των υδατανθράκων³².

Λιπαρά οξέα, η οξειδοαναγωγική ισορροπία και η ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ

Σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2, υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ΕΛΟ νηστείας και της σχέσης μεταξύ αναχθείσης / οξειδωμένης γλουταθειόνης (ένα σημαντικό ενδογενές αντιοξειδωτικό). Σε υγιείς η έγχυση ΕΛΟ προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού στρες όπως τεκμηριώνεται από τα αυξημένα επίπεδα της μαλονυαλδεΐδης, και πτώση στο πλάσμα του λόγου της αναχθείσης/οξειδωμένης γλουταθειόνης. Η μαλονυαλδεΐδη, ένα πολύ τοξικό παράγωγο, προέρχεται από την οξείδωση των λιπιδίων και των ΕΡΟ και είναι αυξημένη στο διαβήτη³³. In vitro στοιχεία δείχνουν ότι τα αυξημένα ΕΛΟ προκαλούν ανεπιθύμητες δράσεις στα μιτοχόνδρια και προάγουν τον σχηματισμό των ΕΡΟ. Τα ΕΛΟ από μόνα τους, δεν είναι ικανά να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες αλλά διαταράσσουν την ενδογενή αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού, ελαττώνοντας την ενδοκυττάρια γλουταθειόνη^{34,35}. Μελέτες in vitro αναφέρουν την ενεργοποίηση του NF-κΒ μέσω των ΕΛΟ, με αποτέλεσμα τα ΕΛΟ να αυξάνουν τις ΕΡΟ και να ελαττώνουν την γλουταθειόνη³⁶⁻³⁸. Αυτή η δράση συνδέεται με την ενεργοποίηση της PKC μέσω των ΕΛΟ, η οποία ενεργοποιεί τον NF-κΒ.

Οξειδωτικό στρες και δυσλειτουργία του β-κυττάρου του παγκρέατος

Ένας άλλος στόχος του οξειδωτικού στρες είναι το β-κύτταρο του παγκρέατος.

Πολλές μελέτες θεωρούν ότι η καταστροφή του β-κυττάρου, είναι το αποτέλεσμα της αυξημένης γλυκόζης και των ΕΛΟ ή και συνδυασμός αυτών. Υπάρχουν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα που αφορούν την άμεσο τοξικότητα της γλυκόζης στα β-κύτταρα. Πρόσφατα θεωρούν ότι ο συνδυασμός των αυξημένων ΕΛΟ και της γλυκόζης, δρα στη αύξηση της παραγωγής των ΕΡΟ, που είναι ιδιαίτερα τοξικές και ενεργοποιούν οδούς, που είναι ευαίσθητοι στο στρες.

Τα β-κύτταρα είναι ευαίσθητα στις ΕΡΟ, επειδή εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της καταλάσης, της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης³⁹.

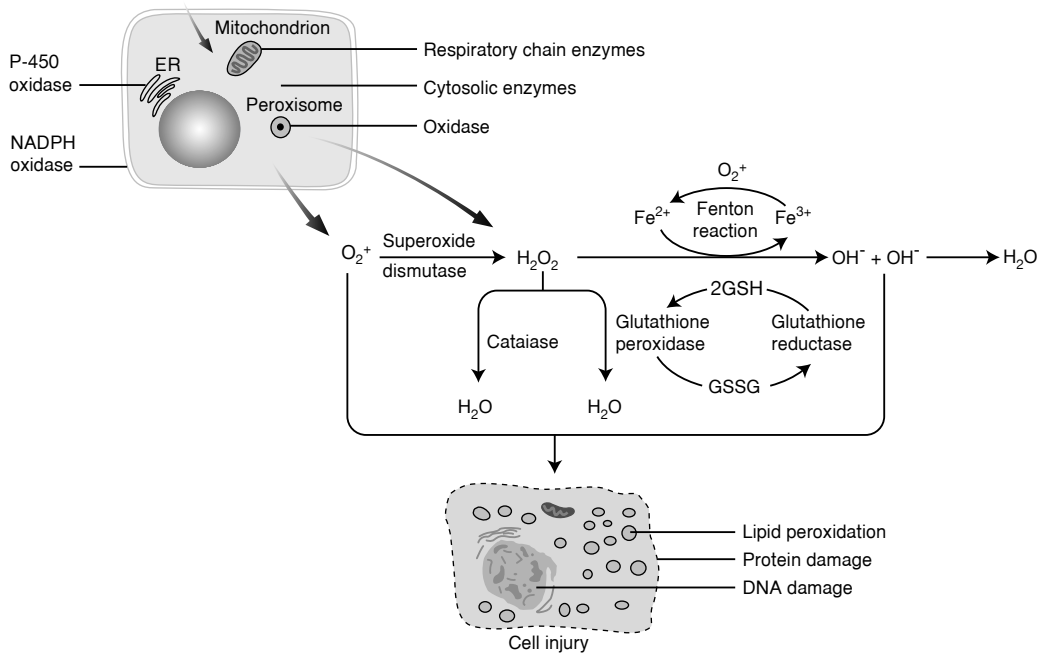
Αναστολή της έκκρισης της ινσουλίνης και της οξειδωσης της γλυκόζης συμβαίνει όταν τα νησίδια εκτίθενται σε προϊόντα από την υπεροξειδωση των λιπιδίων⁴⁰. Αντίθετα αντιοξειδωτικές ουσίες όπως *N*-acetyl-L-cysteine (NAC), αμινογουανιδίνη, ψευδάργυρος, μπορούν να προστατεύσουν τα β-κύτταρα από τη παραγωγή των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης και να αναστείλουν την ενεργοποίηση του NF-κB. Η ενεργοποίηση της οδού της εξοζαμίνης έχει σαν αποτέλεσμα τη σημαντική διαταραχή στην έκκριση της ινσουλίνης και την αύξηση του H₂O₂.

Αντιοξειδωτικός αμυντικός μηχανισμός του κυττάρου

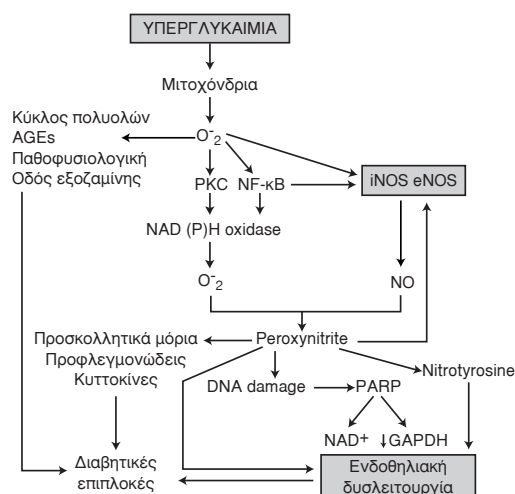
Ο οργανισμός διαθέτει τόσο ενζυμικούς (υπεροξειδική δισμουτάση, υπεροξειδάση της αναχθείσης γλουταθειόνης, καταλάση), όσο και μη ενζυμικούς (α-τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ, β-καροτένιο, ουρικό οξύ, σερουλοπλασμίνη) μηχανισμούς εκκαθάρισης των βλαπτικών EPO καθώς και μηχανισμούς επιδιόρθωσης των πρωτεϊνών, των νουκλεϊνικών οξέων και των λιπαρών οξέων, που έχουν υποστεί βλάβη από την δράση των EPO. Το ·O₂⁻ μέσα στα μιτοχόνδρια μετατρέπεται σε H₂O₂ από το μιτοχονδριακό ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση (SOD₂). Το H₂O₂ στη συνέχεια είτε μετατρέπεται σε H₂O και O₂ από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στα μιτοχόνδρια και τη δράση της

καταλάσης στα υπεροξεισώματα του κυτταροπλάσματος. Το ανιόν του σουπεροξειδίου όσο και το υπεροξειδιο του υδρογόνου, μπορεί να χρησιμοποιηθούν από τα ακέραια ουδετερόφιλα για την παραγωγή δραστικότερης υδροξυλικής ρίζας με τη βοήθεια ενός καταλύτη που φέρει ένα μέταλλο μετάπτωσης, συνήθως δισθενή σίδηρο ή χαλκό, στο ενεργό του κέντρο (αντίδραση Fenton). Το ενεργοποιημένο ουδετερόφιλο, σε φυσιολογικές καταστάσεις, ελευθερώνει ταυτόχρονα λακτοφερρίνη που δεσμεύει το σίδηρο και αποτρέπει τη παραγωγή των παραπάνω ριζών. Το σπουδαιότερο αντιοξειδωτικό ένζυμο στο κύτταρο, είναι η αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH), η οποία παράγεται συνεχώς από τη δραστηριότητα της αναγωγάσης της γλουταθειόνης από το NADPH (Εικ. 5). Στα θηλαστικά η γλουταθειόνη και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης αποτελούν τα κύρια αντιοξειδωτικά ένζυμα. Η αυξημένη παραγωγή EPO ή η μειωμένη εξουδετέρωσή τους από το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα είναι βλαπτικές καταστάσεις για τα κύτταρα και τους ιστούς και επιφέρουν το γήρας, νόσους ή και τον θάνατο^{41,42}.

Συμπερασματικά, οι EPO άμεσα οδηγούν σε απευθείας καταστροφή των κυττάρων με οξείδωση του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων αλλά και έμμεσα ενεργοποιώντας πολλούς οδούς ευαίσθητους στο στρες όπως η οδός του μεταγραφφι-



Εικ. 5. Η επίδραση των EPO στα κύτταρα και αντιοξειδωτικοί αμυντικοί μηχανισμοί στο κύτταρο.



Εικ. 6. Οξειδωτικό στρες και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

κού παράγοντα NF-κΒ, του p38 MAPK, JNK/SAPK, της εξοξαμίνης, της PKC, AGE/RAGE, της σορβιτόλης και άλλες. Η ενεργοποίηση αυτών των οδών έχουν σαν αποτέλεσμα αύξηση της έκφρασης πολλών γονιδιακών προϊόντων τα οποία προκαλούν επίσης κυτταρική καταστροφή και διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στις απώτερες επιπλοκές του διαβήτη (Εικ. 6).

Abstract

Bougoulia M. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Hellen Diabetol Chron* 2006; 1: 43-54.

In both type 1 and type 2 diabetes, the late diabetic complications arise from chronic elevations of glucose and possibly other metabolites including free fatty acids (FFA). Oxidative stress, plays a key role in causing late complications of diabetes, due to the increased production of ROS and to the reduced of a compensatory response from the endogenous antioxidant network (redox imbalance). Evidence implicates hyperglycemia or FFA-derived oxygen free radicals as mediators of diabetic complications. In type 2 diabetes, the overproduction of ROS, derived from hyperglycemia and FFA, seems to be the first and key event in the activation of the nuclear factor-κB, p38 MAPK, and NH2-terminal Jun kinases/stress-activated protein kinases stress pathways, along with the activation of the advanced glycosylation end-products/receptor for advanced glycosylation end-products, protein kinase C, hexosamine and sorbitol stress pathways, leads to both insulin resistance and impaired insulin secretion, as well as, to endothelial dysfunction and impairment of β-cell function.

Βιβλιογραφία

1. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular diseases: the Framingham Study. *JAMA* 1979; 241: 2035-2038.
2. UK Prospective Diabetes Study Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-853.
3. The Diabetes Control and Complications Trials (DCCT) Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
4. Laakso M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 937-942.
5. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257-267.
6. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
7. Ceriello A. New Insights on Oxidative Stress and Diabetic Complications May Lead to a "Causal" Antioxidant Therapy *Diabetes Care* 2003; 26: 1589-1596.
8. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1994; 74: 1141-1147.
9. Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, et al. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension* 2001; 37: 414-418.
10. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon III RO, et al. Xanthine oxidase inhibition with oxypurinol improves endothelial vasodilator function in hypercholesterolemic but not in hypertensive patients. *Hypertension* 1997; 30: 57-63.
11. Butler R, Morris AD, Belch JJ, et al. Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetics with mild hypertension. *Hypertension* 2000; 35: 746-51.
12. Halushka P. Prostaglandins and related compounds in Goldman: Cecil Textbook of Medicine, 21st ed., 2000 W. B. Saunders Company 1189-1194.
13. Ceriello A, Mercuri F, Quagliari L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia* 2001; 44: 834-838.
14. Ceriello A, Quagliari L, D'Amico M, Di Filippo C, Martella R, Nappo F, Berrino L, Rossi F, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat. *Diabetes* 2002; 51: 1076-1082.
15. Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK, Choi JY, Chung MH, Han B, Kim SY, Lee HK. Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 2001; 50: 2837-2841.
16. Kamoshima W, Kitamura Y, Nomura Y, Taniguchi T. Possible involvement of ADP-ribosylation of particular

- enzymes in cell death induced by nitric oxide-donors in human neuroblastoma cells. *Neurochem Int* 1997; 30: 305-311.
17. *Evans JL, Goldfine ID, Maddux B, Grodsky GM.* Are Oxidative Stress-Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction? *Diabetes* 2003; 52: 1-8.
 18. *Wolff SP, Dean RT.* Glucose autooxidation and protein modification: the potential role of 'autooxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J* 1987; 245: 243-250.
 19. *Marshall S, Garvey WT, Traxinger RR.* New insights into the metabolic regulation of insulin action and insulin resistance: role of glucose and amino acids. *FASEB J* 1991; 5: 3031-3036.
 19. *Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP.* The role of oxidative stress and NF- κ B activation in late diabetic complications. *Biofactors* 1999; 10: 157-167.
 20. *Barnes PJ, Karin M.* Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066-1071.
 21. *Kyriakis JM, Avruch J.* Sounding the alarm: protein kinase cascades activated by stress and inflammation. *J Biol Chem* 1996; 271: 24313-24316.
 22. *Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M.* Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000; 404: 787-790.
 23. *Ho FM, Liu SH, Liao CS, Huang PJ, Lin-Shiau SY.* High glucose-induced apoptosis in human endothelial cells is mediated by sequential activations of c-Jun NH(2)-terminal kinase and caspase-3. *Circulation* 2000; 101: 2618-2624.
 24. *Igarashi M, Wakasaki H, Takahara N, Ishii H, Jiang ZY, Yamauchi T, Kuboki K, Meier M, Rhodes CJ, King GL.* Glucose or diabetes activates p38 mitogen-activated protein kinase via different pathways. *J Clin Invest* 1999; 103: 185-195.
 25. *Purves T, Middlemas A, Agthong S, Jude EB, Boulton AJ, Fernyhough P, Tomlinson DR.* A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy. *FASEB J* 2001; 15: 2508-2514.
 26. *Paz K, Hemi R, LeRoith D, Karasik A, Elhanany E, Kanety H, Zick Y.* A molecular basis for insulin resistance: elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272: 29911-29918.
 27. *Bimbaum MJ.* Turning down insulin signaling. *J Clin Invest* 2001; 108: 655-659.
 28. *Hotamisligil GS, Spiegelman BM.* Tumor necrosis factor α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994; 43: 1271-1278.
 29. *Cohen B, Novick D, Rubinstein M.* Modulation of insulin activities by leptin. *Science* 1996; 274: 1185-1188.
 30. *Randle PJ, Kerbey AL, Espinal J.* Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. *Diabetes Metab Rev* 1988; 623: 638.
 31. *Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA.* The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312.
 32. *Duplus E, Glorian M, Forest C.* Fatty acid regulation of gene transcription. *J Biol Chem* 2000; 275: 30749-30752.
 33. *Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ.* The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000; 43: 550-557.
 34. *Bakker SJ, IJzerman RG, Teerlink T, Westerhoff HV, Gans RO, Heine RJ.* Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and beta-cell failure? *Atherosclerosis* 2000; 148: 17-21.
 35. *Toborek M, Hennig B.* Fatty acid-mediated effects on the glutathione redox cycle in cultured endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 60-65.
 36. *Hennig B, Meerarani P, Ramadass P, Watkins BA, Toborek M.* Fatty acid-mediated activation of vascular endothelial cells. *Metabolism* 2000; 49: 1006-1013.
 37. *Dichtl W, Nilsson L, Goncalves I, Ares MP, Banfi C, Calara F, Hamsten A, Eriksson P, Nilsson J.* Very low-density lipoprotein activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells. *Circ Res* 1999; 84: 1085-1094.
 38. *Hennig B, Meerarani P, Toborek M, McClain CJ.* Antioxidant-like properties of zinc in activated endothelial cells. *J Am Coll Nutr* 1999; 18: 152-158.
 39. *Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S.* Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes* 1997; 46: 1733-1742.
 40. *Miwa I, Ichimura N, Sugiura M, Hamada Y, Taniguchi S.* Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy-2-nonenal and other lipid peroxidation products. *Endocrinology* 2000; 141: 2767-2772.
 41. *Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, Nappo F, Lucarelli C, D'Onofrio F.* Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine: evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation* 1997; 95: 1783-1790.
 42. *Chung S.S.M.* Regulation of ROS Generation Contribution of Polyol Pathway to Diabetes-Induced Oxidative Stress. Reactive oxygen species and diabetic nephropathy: The fourth Hyonam kidney laboratory, Soon Chun Hyang University International Diabetes Symposium, Seoul, Korea, 2003.

Λέξεις κλειδιά:

Οξειδωτικό στρες
Σακχαρώδης διαβήτης

Key words:

Oxidative stress
Diabetes mellitus