

Diabetes Mellituslu Hastalarda İnterlökin-2 ve İnterlökin-2 Reseptör Düzeyleri

The Level of Interleukin-2 and Interleukin-2 Receptor in Patients With Diabetes Mellitus

A. ÇAVUŞOĞLU¹

S. BİLGİLİ¹

B. KARACA¹

G. BOZKAYA¹

E. ÖZEN²

G. SOP²

Özet

İnterlökin-2 (IL-2) mitojen veya antijenle uyarılmış T hücreleri tarafından sentezlenip salgılanan bir lenfokindir. T hücre aktivasyonunda merkezi bir rol oynar. Molekül ağırlığı 15400 Da olan ve 133 aminoasitten oluşan IL-2 , disülfid bağlarıyla bağlanmış dört α heliksten oluşan globüler bir yapıdadır. İki ayrı alt üniteden oluşan IL-2 reseptörünün (p55,p75) ancak ikisi bir arada iken IL-2 ye yüksek affinite gösterir. Sinyal aktarımından hücre uzantısı olan p75 sorumludur. IL-2 eksikliği bazı otoimmün hastalıkların patogenezinde sorumlu tutulmaktadır. Tip I Diabetes Mellitus da bu hastalıklardan biridir. Bu çalışmada Tip I ve Tip II Diabetes Mellitus tanısı konmuş hastaların IL-2 ve IL-2 reseptör düzeyleri, nondiyabetik kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Çalışmaya 16 kadın 7 erkek 23 tip I, 16 kadın 5 erkek 21 Tip II diabetli hasta ile 7 kadın 6 erkek 13 kişilik nondiyabetik kontrol grubu alındı. Tip I diabetli hastalardaki IL-2 düzeyleri nondiyabetik kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük bulundu (p<0.05). Tip II diabetli hastalarda ise anlamlı bir fark yoktu. (p>0.05). IL-2 reseptör seviyeleri Tip I diabetli hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksekti (p<0.05). Tip II diabetli hastalarda ise anlamlı bir fark yoktu. (p>0.05). Bu bulgular, düşük IL-2 ve yüksek IL-2 reseptör düzeyinin hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğini desteklemektedir.

Anahtar kelimeler : Diabetes Mellitus, İnterlökin-2, İnterlökin-2 reseptör

Abstract

Interleukin-2 (IL-2) is a lenfokine, that is synthesized

and secreted from activated T cell. In T cell activation it plays a central role. IL-2 has a globular structure, consisting of four α -helix, binded with disulfide bonds that has a molecular weight of 15400 Da and 133 amino acids. IL-2 receptor, which has two subunits (p55,p75) has a high affinity only when two of them are together. p75 is the intracellular extension which is responsible from some autoimmune diseases. Type I Diabetes Mellitus (DM) is one of them. In this study, IL-2 and IL-2 receptor levels were measured in Type I and Type II DM patients and in nondiabetic control group. In the study, 16 female 7 male 23 Type I, 16 female 5 male 21 Type II DM patients and in 7 female 6 male 13 nondiabetic control group were selected. In Type I DM, IL-2 levels were low (p<0.05), but in Type II DM there was no difference (p>0.05); in addition, IL-2 receptor levels were higher in Type I DM patients (p<0.05) but it was normal in Type II DM patients (p>0.05). In conclusion, these findings support that low IL-2 and high IL-2 receptor levels may play a role in the pathogenesis of Type I DM.

Keywords : Diabetes Mellitus, Interleukin-2, Interleukin-2 receptor.

GİRİŞ

Sitokinler hücreler arası mesajı alıp verici olarak iş gören peptid mediatörlerdir. Enfeksiyon hastalıklarında ve immün yanıtın oluşumunda hücreler arası etkileşimde bu çözünür maddelerin rolü vardır. Bu polipeptidler lenfositlerden salgılanıyorsa lenfokin adını alır(1). IL-2 mitojen ya da antijenle aktive edilmiş T hücrelerince üretilen T hücre ak-

1 SSK İzmir Eğitim Hastanesi Biyokimya Kliniği
2 SSK İzmir Eğitim Hastanesi Dahiliye Kliniği



tivasyonunda santral rol oynayan bir lenfokindir. Büyük çoğunlukla CD4 hücreleri tarafından, çok azı da CD8 hücreleri tarafından salgılanır(1,2). T hücre aktivasyonundan 12 saat sonra IL-2 salgısı doruk noktaya ulaşır, sonra düşer. IL-2 aktivitesi spesifik, yüksek affiniteli IL-2 bağlayan membran reseptörleri ile sağlanır (2,3). Bu reseptör iki yüzey proteininden oluşur (p55, p75). Bunlar tek başlarına IL-2 ye düşük ya da orta dereceli affiniteye sahiptir fakat ikisi bir araya geldiğinde yüksek affiniteli reseptörü oluştururlar. Reseptörü ile birleşen IL-2 immünolojik aktivite kazanır (1,2,3). IL-2 T lenfositlerin gelişmesinde en etkili sitokindir.T hücrelerin tümünde en güçlü gelişme faktörü ve aktivatörüdür. IL-2 ile aktif T hücreleri sitotoksik özelliklerini artırır. δ IFN, TNF β , TGF β , IL-3, IL-4, IL-5 i salgılayarak immünolojik reaksiyon zincirini başlatır. Natürel killer hücre gelişimine de etki eder (1,3,4). Tip I diabet patogenezinde humoral ve hücrel immün sistemlerin rol oynadığı, otoimmün komponentin yer aldığı düşünülmektedir (4,5,6,7). Pankreatik β hücrelerinin yıkımı ve Tip I diabete yol açan otoimmün yanıt genetik bir temele dayanır. Fakat çevresel faktörler bu genetik yatkınlıkta önemli olabilmektedir (5). Son zamanlarda yapılan hayvan çalışmaları bazı mikrobial ajanların (bazı virüsler, bakteri ekstraktları, bazı mantar ve mikobakteriler) diabet gelişiminde koruyucu olduğunu göstermiştir. Bu ajanların diabetteki koruyucu etkilerinin polipeptit yapısında olan sitokinlerin üretimi yoluyla olduğu düşünülmektedir(4,8,9,10). İlk olarak sistemik lupus critematozuslu farelerde düşük IL-2 düzeyleri bulunması IL-2 eksikliğinin bazı otoimmün sendromların patogenezinde sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (11). Daha sonraki çalışmalarda Tip I diabet patogenezinde sitokinlerin rolü üzerinde durulmuştur. Sitokinlerin adacık β hücrelerine, sitotoksik, inhibe edici ve yıkıcı etkilerinin mekanizmaları üzerinde çalışılmaktadır(4,10). IFN α , IFN λ gibi sitokinler β hücrelerine direkt olarak sitotoksik olabilir. Fakat yapılan hayvan çalışmalarında bazı sitokinlerin verilmesiyle diabet gelişiminin önlenildiği görülmüştür. Bunlar IL-2,IL-4,IL-10 dur(4,12).

Bu çalışmada Tip I ve Tip II diabet tanısı konmuş hasta gruplarının IL-2 ve IL-2 reseptör düzeylerinin non diabetik kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal-Metod

Çalışmaya SSK İzmir Eğitim Hastanesi Diabet polikliniğinde tanı alıp takip edilen yaş ortalaması 27.43 olan 16 kadın 7 erkek 23 Tip I, yaş ortalaması 55.80 olan 16 kadın 5 erkek 21 Tip II diabetli hasta, yaş ortalaması 31.07 olan 7 erkek 6 kadın 13 kişilik nondiabetik kontrol grubu alındı. Nondiabetik kontrol grubuna seçilen kişiler bilinen immunolojik anormalliğe sahip değildi.

Çalışmaya alınan kişilerin serumundan açlık kan glukozu, kolesterol, trigliserit düzeylerine bakıldı. Serum örnekleri test zamanına kadar -80°C de saklandı.Kullanımdan önce tüm örnekler oda sıcaklığına getirildi. IL-2 ve IL-2 reseptör düzeyleri sandviç enzim immunoassay prensibiyle ölçüldü. (Boehringer Mannheim) Standart ve örnekler çift olarak ölçüldü ve absorbans değer ortalamaları alındı. Önceden tespit edilmiş olan standart konsantrasyonları ile kalibrasyon eğrisi çizildi. Daha sonraki basamakta ise bilinmeyen konsantrasyonlar bu kalibrasyon eğrisinden okundu.

Sayısal değerlerin ortalamaları, standart sapmaları, yüzde varyasyonları hesaplandı. Hasta ve kontrol değerlerine ilişkin ortalama değerlerin karşılaştırılması ve farklarında Mann Whitney – U testi kullanıldı.

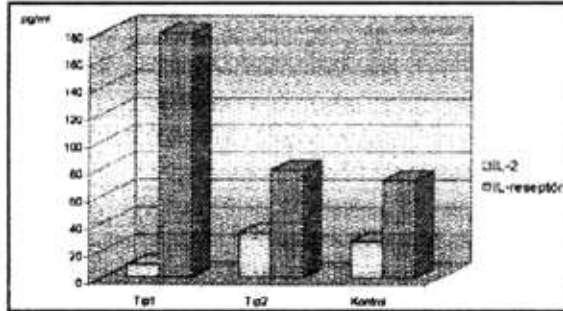
Sonuçlar

Kontrol ve hasta gruplarında yapılan çalışmalarda bulunan değerler ve bunların istatistik değerlendirme sonuçları tablo I,II ve III de verilmiştir. Tip I diabetli 23 hastadaki IL-2 reseptör düzeyleri 3 hastada, Tip II diabetli 21 hastadaki IL-2 düzeyleri 1 hastada ortalama değerden sapma gösterdiği için çalışmadan çıkarıldı.

IL-2 reseptör düzeyleri IL-2 düzeyleriyle ters orantı gösteriyordu. Tip I diabetli grupta IL-2 düzeyleri kontrol grubunun IL-2 düzeylerine göre anlamlı derecede düşüktü(p<0.05). Tip II diabetli grupta kontrol grubunun IL-2 düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Tip I ve Tip II diabetli grup arasındaki IL-2 düzeyleri arasındaki ilişki anlamlıydı (p<0.05).

IL-2 reseptör düzeyleri, TipI diabetli grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksekti.(p<0.05). Tip II diabetli gruptaki IL-2 reseptör düzeyleri ile kontrol grubunun IL-2 reseptör düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark yoktu.(p>0.05).

Tip I ve Tip II diabet grupları arasındaki ilişki anlamlıydı ($p < 0,05$) ve Tip I diabetli grupta IL-2 reseptör düzeyleri daha yüksek bulundu (Grafik I).



Grafik I. Gruplar arası IL-2 ve IL-2 reseptör düzeyleri

Tartışma

Çalışmanın sonuçları; Tip I diabetli hastalarda IL-2 seviyesinin Tip II diabetli hastalara ve kontrol grubuna göre önemli derecede düşük, IL-2 reseptör seviyesinin ise önemli derecede yüksek olduğunu göstermiştir.

Tip I diabetin patogenezinde humoral ve hücreli immün sistemlerin önemli olduğu, otoimmün komponentin rol aldığı gösterilmiştir (4,5).

Yapılan hayvan çalışmalarında bazı sitokinlerin verilmesiyle diabet gelişiminin önlendiği görülmüştür. Bunlar IL-2(13), IL-4(14), IL-10(15) dur. Endojen IL-1 (12), IL-2 (12,13), IL-4 (12,13), TNF α (13,14), TNF β (15) üretimlerinin azalması hayvansal deneylerde gösterilmiştir. Bu sitokinlerin devamlı verilmesiyle diabeti önleyici etki göstermeleri bu immunoregulator eksikliklerin düzeltilmesiyle gerçekleşmektedir(16,17).

Yapılan birçok çalışmada insülin sekresyonu yapan hücrelerin harabiyetinin beta sitotrofik virüsle enfeksiyonuna bağlı olduğu düşünülmüştür (8,9,12). Böylece Tip I diabet gelişen kişilerde intrinsik T hücre defekti olabilir, bu da az miktarda IL-2 yapımıyla sonuçlanabilir(18).

Diğer taraftan Tip I diabetin başlangıcında otoimmün yanıtın etkili olabileceği de düşünülmüştür (5). IL-2 normal immunoregülasyonda santral bir rol oynadığından IL-2 nin eksikliği bazı bilinmeyen yollarla immunolojik dengesizliğe katkıda bulunabilir ve böylece otoimmün reaksiyon gelişir.

IL-2 üretiminin azalması diğer otoimmün hastalıklarda da (sistemik lupus eritematozis, juvenil artrit vb.) görülmüştür (19).

Yapılan çalışmalarda IL-2 seviyesinin HLA DR 3 yada HLA DR 4 varlığıyla ilişkisi bulunamamıştır (20).

Düşük IL-2 seviyeleri anormal tüketim ile artmış solubl IL-2 reseptör seviyelerinin bulunuşu ile (21,22) yada IL-2 üretimi ile interferans gösteren bir serum faktörünün bulunuşu ile açıklanabilir (7,23,24).

IL-2 düşüklüğü kanda artan IL-2 reseptörü sonucu IL-2 tüketiminin artmasına bağlı olabilir. Bu reseptörler belli bir ölçüye kadar IL-2 bağlayabilir (4,19,21,22).

Azalmış IL-2, yükselmiş IL-2 reseptör seviyesi ve diğer sitokinlerin Tip I diabetes mellitus patogenezini üzerindeki etkileri halen araştırılma aşamasındadır. Bu konuda yapılacak çalışmalar Tip I diabet patogenezini anlamada ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasında yardımcı olacaktır.

Tablo I. Kontrol grubundaki istatistiksel veriler (n=13)

	Açlık Glukozu (mg/dl)	IL-2 (pg/ml)	IL-2 reseptör (pg/ml)
Ortalama değer	71,23	27,21	71,46
Minimum değer	60	10,5	58
Maksimum değer	100	45	86
Standart sapma	9,9	10,0	9,33
% CV	5,4	5,47	5,07

Tablo II. Tip I diabet grubundaki istatistiksel veriler

	Açlık Glukozu (mg/dl)	IL-2 (pg/ml)	IL-2 reseptör (pg/ml)
n	23	23	20
Ortalama değer	249,2	9,77	148,35
Minimum değer	94	7,1	66
Maksimum değer	475	22	251
Standart sapma	108,8	4,09	64,14
% CV	44,47	1,6	28,11

Tablo III. Tip II diabet grubundaki istatistiksel veriler

	Açlık Glukozu (mg/dl)	IL-2 (pg/ml)	IL-2 reseptör (pg/ml)
n	21	20	21
Ortalama değer	214,4	29,65	78,76
Minimum değer	65	7,8	58
Maksimum değer	325	50	144
Standart sapma	76,67	12,76	19,67
% CV	32,79	5,59	8,4

Kaynaklar

- 1- Gülmezoğlu, E., Ergüven, S. (1994) *İmmunoloji*. 147.
- 2- Robb, R.J. (1984) *Immunol.Today*. 5,203-209.
- 3- Stura, E.A. (1992) *Proteins Struct. Func.* 12,24-30.
- 4- Rabinovitch, A. (1994) Immunoregulatory and Cytokine Imbalances in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes*. 43,613-621.
- 5- Nerup, J., Lernmark, A. (1981) Autoimmunity in Insulin dependent Diabetes. *J.Med.* 70,135-141.
- 6- Drell, D.W., Notkins, A.L. (1987) Multiple immunological abnormalities in patients with Type I diabetes mellitus. *Diabetes*. 30,132.
- 7- Dauset, J., Hars, I. (1984) Immunogenetics of insulin dependent juvenile diabetes. *Diabetes*. 1,115-118.
- 8- Craighead, J.E. (1981) Viral diabetes in man and experimental animals. *Am.J.Med.* 70,127-134.
- 9- Jenson, A.B., Rosenbeg, H.S. (1980) Pancreatic islet cell damage in children with fatal viral infections. *Lancet*. 2,354-358.
- 10- Rabinovitch, A., Suarez-Pinzon, W.L. (1998) Cytokines and their roles in pancreatic islet beta-cell destruction and insulin dependent diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol. Ap* 15,55 (8),1139-49.
- 11- Karen, S.Z., Martha, M.L. (1984) Decreased Synthesis of Interleukin-2 in Insulin Dependent Diabetes Mellitus. 33,552-555.
- 12- Rabinovitch, A. (1993) Roles of cytokines in IDDM pathogenesis and islet (cell destruction. *Diabetes*. 1,215-240.
- 13- Serieze, D.V., Hamaguchi, K., Leiter, E.H. (1989) Immunostimulation circumvents diabetes in NOD /Li mice. *J.Autoimmuno*. 2,759-776.
- 14- Zielasek, J., Burkart, V., Naylor, P., Goldstein, A. (1990) Interleukin-2 dependent control of disease development in spontaneously diabetic BB rats. *Immunology*. 69,209-214.
- 15- Rapoport, M.J., Jaramillo, A., Zipris, D., Lazarus, A.H. (1993) IL-4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of diabetes in NOD mice. *J.Exp.Med.* 178,87-99.
- 16- Luger, A., Scheinhaner, G. (1985) Lymphokine production in insulin dependent diabetes mellitus. *Eur.J.Clin.Invest.* 15,A1.
- 17- Lepault, F., Gagnerault, M.C. (2000) Characterization of peripheral regulatory CD4 T cells prevent diabetes onset in nonobese diabetic mice. *J.Immunol. Jan* 1,164 (1), 240-7.
- 18- Rossini, A.A., Mordes, J.P., Pelletier, A. (1983) Transfusions of whole blood prevent spontaneous diabetes mellitus in the BB / W rat. *Science*. 219,975-977.
- 19- Martini, A., Ravelli, A. (1986) Depressed interleukin-2 production juvenile arthritis.13,598-603.
- 20- Lorini, P., Larizza, D., Livieri, C. : (1986) Autoimmunity in children with diabetes mellitus and their relatives. *Eur.J.Pediatr.* 145,182-184.
- 21- Eisenbart, G. (1986) Acquired interleukin-2 production defect in patients with Type I diabetes mellitus. *N.Eng.J.Med.* 315,920.
- 22- Giordino, C., Panto, F., Carusso, C. (1989) Interleukin-2 and soluble interleukin-2 receptor secretion defect in vitro in newly diagnosed Type I diabetic patients. *Diabetes*. 38,310.
- 23- Barron, K.S., Lewis, D.E., Brewer, E.J. (1984) Cytotoxic anti-T cell antibodies in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 27,1272-1280.
- 24- Zheng, X., Steele, A.W., Hancock, W.W. (1999) IL-2 receptor-targeted cytolytic IL-2/Fc fusion protein treatment blocks diabetogenic autoimmunity in non-obese diabetic mice *J.Immunol.* Oct 1,163(7) ,4041-8.