



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche

**ER STRESS E RUOLO NELLA PATOGENESI DEL DIABETE DI TIPO I**  
**ER STRESS AND DEVELOPMENT OF TYPE I DIABETES**

Tesi di Laurea di:  
Silvia Matricardi

Docente Referente:  
Ch.ma Prof.ssa Tiziana Bacchetti

# INTRODUZIONE

- Il diabete di tipo 1 (**T1D**) deriva dalla **distruzione autoimmune** delle **cellule  $\beta$**  pancreatiche, che determina
  - Perdita della produzione di insulina
  - Conseguente aumento dei livelli di glucosio nel sangue (iperglicemia)
- La causa principale è la **predisposizione genetica**, ma hanno un ruolo chiave anche i **fattori ambientali** (infezioni virali, stress ossidativo, sostanze chimiche, infiammazione cronica)
- Le **cellule  $\beta$**  sono cellule secretorie con un reticolo endoplasmatico (RE) articolato e ben sviluppato
- I **fattori ambientali legati al T1D** determinano lo stress del reticolo endoplasmatico (**ER stress**)
- Diversi studi collegano lo stress del RE al diabete di tipo 2 nei modelli murini e nei pazienti umani; tuttavia, il suo ruolo nel T1D rimane ancora da approfondire

# STRESS DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO E RISPOSTA ADATTATIVA DELL'UPR

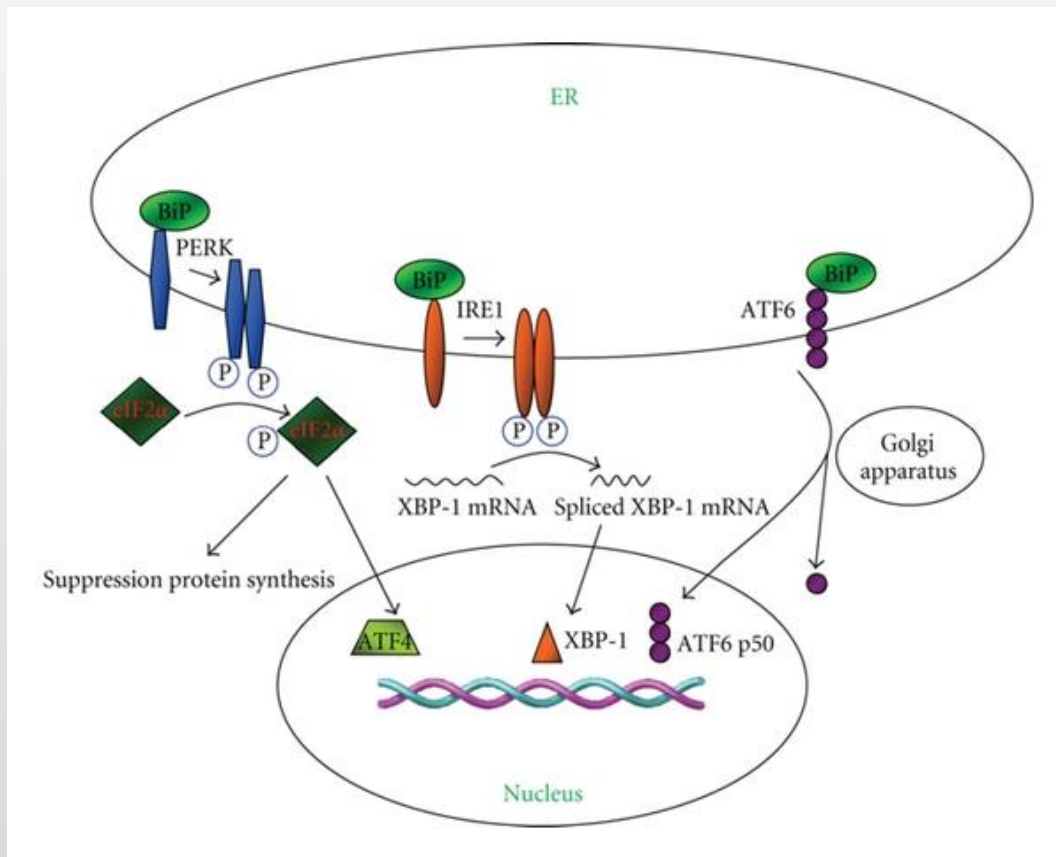


Figura 1: Pathway dell'Unfolded Protein Response (UPR)  
L'UPR è attivato dallo stress del RE e mediato da tre trasduttori (**PERK**, **IRE1** e **ATF6**) localizzati nella membrana del RE.

- Il **RE** è coinvolto in numerose funzioni, tra cui la sintesi dei **fosfolipidi**; la sintesi e maturazione di **proteine** di membrana, secretorie e delle proteine dirette ai lisosomi e all'apparato di Golgi; l'immagazzinamento e rilascio di **calcio**
- L'accumulo di proteine *unfolded* determina lo **stress del RE**
- La risposta adattativa dell'**UPR** (*Unfolded Protein Response*) ha lo scopo di ripristinare l'**omeostasi** cellulare mediante:
  - Arresto della sintesi proteica
  - Attivazione di chaperones molecolari: facilitano il corretto folding proteico o la degradazione delle proteine unfolded
- Se lo **stress** del RE è **cronico**, l'UPR passa da una via pro-adattativa alla **via pro-apoptotica**

# RISPOSTE AUTOIMMUNI E STRESS DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO

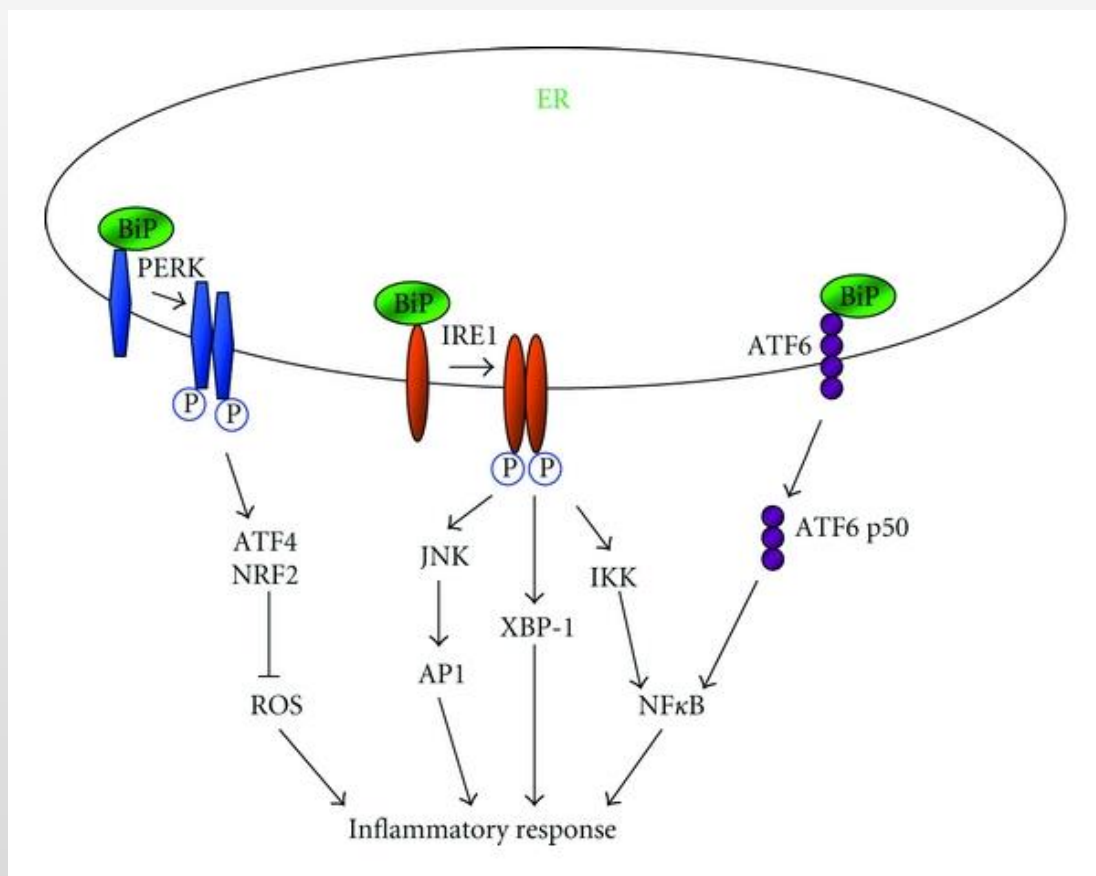


Figura 2: Relazione tra i meccanismi dell'UPR e la risposta infiammatoria. L'UPR è associato all'infiammazione mediante diversi meccanismi, che coinvolgono i **ROS**, **JNK** e **NFκB**.

- Nel T1D le **risposte autoimmuni** causano la produzione di **citochine** infiammatorie nelle isole pancreatiche: esse portano all'infiammazione cronica e allo stress del RE nelle cellule  $\beta$
- La perdita di PERK e il rilascio di citochine inducono l'accumulo di **ROS**, che provocano stress ossidativo nel RE
- **IL-1 $\beta$** , **TNF- $\alpha$**  e **IFN- $\gamma$**  determinano la produzione di **ossido nitrico (NO)**, il cui eccesso porta a:
  - Esaurimento del calcio nel RE e inibizione delle proteine chaperones del RE
  - Induzione della proteina CHOP, che determina apoptosi
- Lo stress cronico del RE, eleva l'infiammazione mediante l'attivazione della **via JNK-AP1** e **IKK-NFκB**, che inducono l'espressione di geni coinvolti nei **meccanismi infiammatori**

# RELAZIONE TRA UPR ALTERATO E DIABETE DI TIPO I

Lo stress del RE e l'UPR alterato possono contribuire alla disfunzione delle cellule  $\beta$  e allo sviluppo del T1D:

- Il **misfolding** dell'**insulina** causa stress del RE nelle cellule  $\beta$  sia nei modelli murini che umani
- Vi è una relazione tra progressione del **T1D** e **riduzione** dell'espressione di **sXBP1** e **ATF6** in pazienti umani e *NOD mice*
- **Mutazioni** in **geni** critici per la **funzione del RE** provocano la perdita delle cellule beta e l'insorgenza precoce del diabete

Mutazione genica	Specie	Commenti / Conclusione
PERK -/-	Topo	Topi con deficit del gene PERK mostrano anomalie permanenti subito dopo la nascita, come ipoinsulinemia, iperglicemia e disfunzione delle cellule $\beta$ pancreatiche
PERK -/-	Uomo	Il deficit del gene PERK nell'uomo causa la sindrome di Wolcott-Rallison, caratterizzata da diabete neonatale insulino-dipendente permanente
WSF1 -/-	Uomo	La mutazione autosomica recessiva in WSF1, che codifica per la proteina <i>wolframin</i> del RE, determina sviluppo del diabete insulino-dipendente ad esordio infantile
IRE1 -/-	Topo	Topi con deficit di IRE1 $\alpha$ mostrano ipoinsulinemia, iperglicemia oltre che infiammazione e stress ossidativo.
XBP1 -/-	Topo	Topi con deficit di XBP-1 mostrano iperglicemia e ipoinsulinemia

Tabella 1

# IL RETICOLO ENDOPLASMATICO COME TARGET TERAPEUTICO

- Il miglioramento della capacità funzionale del RE e la riduzione dell'ER stress rappresentano un obiettivo terapeutico
- Una strategia terapeutica efficace è l'utilizzo di **chaperones chimici esogeni**, tra cui l'acido tauroursodesossicolico (**TUDCA**) e l'acido 4-fenilbutirrico (**4-PBA**)
- E' stato somministrato **TUDCA** a due diversi **modelli murini** affetti da T1D nella **fase prediabetica** ed è stata rilevata una sorprendente **riduzione della patologia** (riduzione dell'insulite e dell'attacco autoimmune nelle isole pancreatiche)

Composti utilizzati nel miglioramento dello stress del RE	Target (componente dell'UPR)	Risultato
4-PBA	ATF6, eIF2 $\alpha$ , CHOP	Il trattamento con PBA ha migliorato la disfunzione delle cellule $\beta$ e ha ripristinato la secrezione dell'insulina stimolata dai livelli di glucosio
TUDCA	ATF3, JNK	Il pre-trattamento con TUDCA blocca la regolazione di ATF3, determinando un'attenuazione della via della chinasi JNK (c-Jun N-terminal kinase)

Tabella 2

# GLI EFFETTI DI TUDCA NELL' UPR GENETICAMENTE ALTERATO

- E' stato indotto il diabete in topi con **deficit di ATF6 $\alpha$**  specifico per cellule  $\beta$ , e in un **gruppo di controllo wild-type** incrociato con topi transgenici **RIP-LCMV-GP**, in presenza o assenza del trattamento con TUDCA
- Gli effetti protettivi di TUDCA sono stati persi nei topi con deficit di ATF6, dimostrando che l'effetto di TUDCA in T1D dipende dalla funzione intatta di ATF6 nelle cellule
- Questi dati suggeriscono che **ATF6** agisce nell'**UPR adattativo** e che **TUDCA** utilizza il ramo dell'ATF6 per ripristinare l'**omeostasi delle cellule  $\beta$**

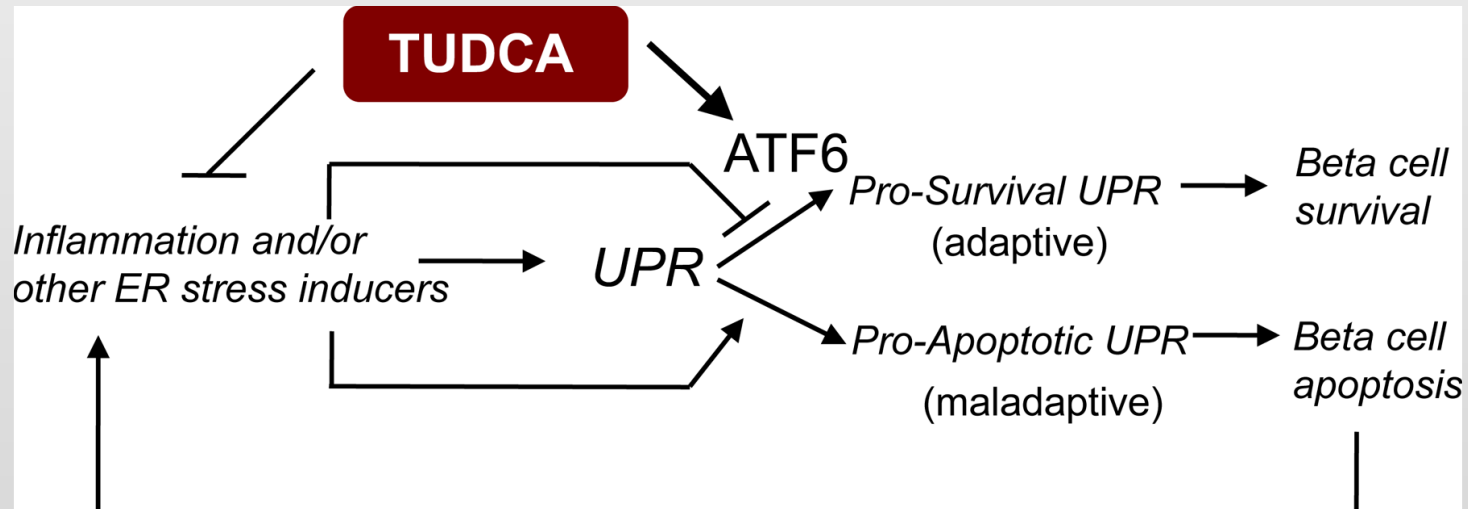


Figura 3: Effetti di TUDCA nel T1D. TUDCA, riducendo l'infiammazione e attivando l'UPR adattativo mediante ATF6, può determinare la sopravvivenza delle cellule beta

# TUDCA COME AGENTE TERAPEUTICO NEL DIABETE DI TIPO I

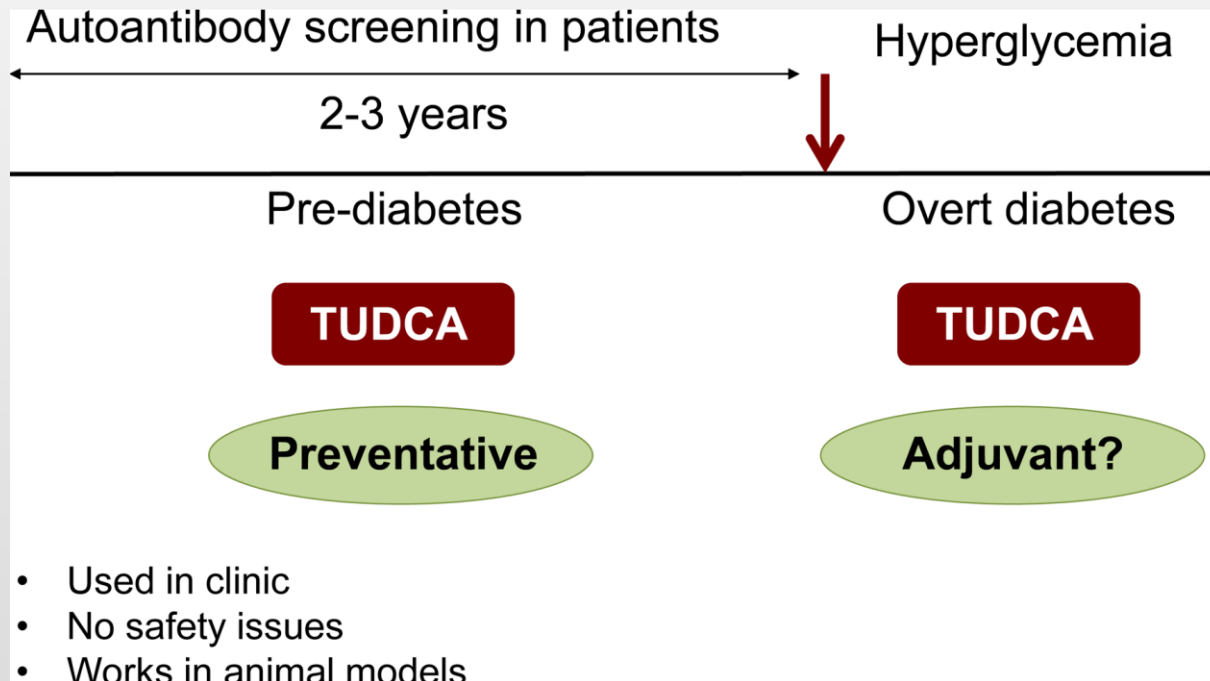


Figura 4: Applicazioni cliniche di TUDCA.

TUDCA o altri agenti in grado di migliorare la funzione del RE e ripristinare l'UPR potrebbero essere utilizzati come agenti terapeutici preventivi per il T1D.

- Sono stati dimostrati difetti simili nell'UPR di pazienti affetti da T1D
- Mediante lo screening di anticorpi è possibile rilevare le **persone ad alto rischio di T1D**, 2-3 anni prima dell'insorgenza della patologia. Questa può essere una finestra terapeutica ideale per l'applicazione di agenti modulanti del RE, come **TUDCA**
- Per quanto concerne la terapia **dopo l'insorgenza del diabete**, resta ancora da testare se TUDCA possa essere efficace in combinazione con altri agenti immunomodulanti



# RIASSUNTO E CONCLUSIONI

- Diabete di tipo 1 (**T1D**): patologia autoimmune caratterizzata dalla perdita delle cellule  $\beta$  del pancreas
- Stress del reticolo endoplasmatico (**ER stress**): innescato da fattori ambientali e coinvolto nella patogenesi del T1D
- *Unfolded Protein Response* (**UPR**): meccanismo protettivo attivato in condizioni di ER stress
- Stress cronico: passaggio dalla via di segnale pro-adattativa alla via di segnale pro-apoptica
- Strategie terapeutiche preventive: mitigazione dello stress ER, mediante l'utilizzo di chaperones esogeni (**TUDCA** e **PBA**)
- In conclusione, lo **stress del RE** e le **alterazioni** nei meccanismi dell'**UPR** sono strettamente correlati alla **distruzione** delle **cellule  $\beta$**  pancreatiche e al T1D
- Il **miglioramento** della **funzione** del **RE** e della **via adattativa** dell'**UPR** nelle cellule  $\beta$  possono costituire una nuova **strategia preventiva** applicabile a coloro che sono ad alto rischio di T1D

# BIBLIOGRAFIA

- Figure 1 e 2: Zhong J, Rao X, Xu JF, Yang P, Wang CY. The role of endoplasmic reticulum stress in autoimmune-mediated beta-cell destruction in type 1 diabetes. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:238980. doi:10.1155/2012/238980
- Figure 3 e 4: Engin F. ER stress and development of type 1 diabetes. *J Investig Med*. 2016;64(1):2-6. doi:10.1097/JIM.0000000000000229
- Tabelle 1 e 2: Cao ZH, Wu Z, Hu C, Zhang M, Wang WZ, Hu XB. Endoplasmic reticulum stress and destruction of pancreatic  $\beta$  cells in type 1 diabetes. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(1):68-73. doi:10.1097/CM9.0000000000000583
- Tabella 1: Harding HP, Zeng H, Zhang Y, Jungries R, Chung P, Plesken H, Sabatini DD, Ron D. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *perk*<sup>-/-</sup> mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell*. 2001 Jun;7(6):1153-63. doi: 10.1016/s1097-2765(01)00264-7. PMID: 11430819.
- Tabella 1: Fatani TH. EIF2AK3 novel mutation in a child with early-onset diabetes mellitus, a case report. *BMC Pediatr* 2019;19:85. doi: 10.1186/s12887-019-1432-8.
- Tabella 1: Rigoli L, Bramanti P, Di Bella C, De Luca F. Genetic and clinical aspects of Wolfram syndrome 1, a severe neurodegenerative disease. *Pediatr Res* 2018;83:921–929. doi: 10.1038/pr.2018.17.
- Tabella 2: Montane J, de Pablo S, Castaño C, Rodríguez-Comas J, Cadavez L, Obach M, et al. Amyloid-induced b-cell dysfunction and islet inflammation are ameliorated by 4-phenylbutyrate (PBA) treatment. *FASEB J* 2017;31:5296–5306. doi: 10.1096/fj.201700236R
- Tabella 2: Battson ML, Lee DM, Jarrell DK, Hou S, Ecton KE, Phan AB, et al. Tauroursodeoxycholic acid reduces arterial stiffness and improves endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *J Vasc Res* 2017;54:280–287. doi: 10.1159/000479967.