

Ενημερωτικά άρθρα

Ο μεταβολισμός των πρωτεϊνών στον σακχαρώδη διαβήτη

Περίληψη

Γ. Σκαραγκάς

Ο σακχαρώδης διαβήτης επηρεάζει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών και η ινσουλίνη αποτελεί κεντρικό, σε θέση κλειδιού ρυθμιστή στην παραγωγή πρωτεΐνης κατά την πρόσληψη τροφής. Η έλλειψη ινσουλίνης σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα της οξείδωσης και του turnover της λευκίνης γεγονός που δεν διορθώνεται πλήρως με τη χορήγηση ινσουλίνης. Φαίνεται λοιπόν ότι τα αμινοξέα του υποστρώματος ίσως να παίζουν σημαντικότερο ρόλο από αυτό της ινσουλίνης όσον αφορά στην πρωτεϊνοσύνθεση. Άλλες ουσίες όπως γλουκαγόνο, γλυκοκορτικοειδή και αμινοξέα με πλευρικές αλυσίδες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών, μεταβάλλονται κατά την διάρκεια της έλλειψης ινσουλίνης. Στο συνολικό επίπεδο του ανθρώπινου οργανισμού η ινσουλίνη δεν δρα από μόνη της αλλά σε συνεργασία και με άλλες ρυθμιστικές ουσίες πολλές από τις οποίες ανταγωνίζονται τη δράση της. Υπάρχει λοιπόν ανάγκη για in vivo μελέτες για να διευκρινισθούν πλήρως οι μεταβολικές διαταραχές με τις οποίες σχετίζεται ο διαβήτης.

Το ισοζύγιο των πρωτεϊνών καθορίζεται από μία ισορροπία ανάμεσα σε δύο αντίθετες διαδικασίες, την πρωτεϊνοσύνθεση και τον καταβολισμό της πρωτεΐνης. Η παρουσία του διαβήτη επηρεάζει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών.

Η απίσχναση και η φθορά ήταν δύο από τις αδυσώπητες συνέπειες της νόσου των γλυκών ούρων, γνωστές στον Susruta (Ινδία, Hindu) από το 600 π.χ.¹. Ο Αρεταίος (150 μ.Χ.) περιέγραψε την έντονη απώλεια πρωτεΐνης στους ανθρώπους αυτούς ως τήξη των σαρκών στα ούρα². Ο sir William Osler (Rochester, New York) σε εγχειρίδιο της Ιατρικής γραμμένο πριν από την ανακάλυψη της ινσουλίνης περιέγραψε την προοδευτική απίσχναση ως κύριο χαρακτηριστικό του διαβήτη και ανέφερε αυξημένη απώλεια με τα ούρα γλυκόζης και ουρίας³. Η ανακάλυψη της ινσουλίνης και η θεραπευτική της εφαρμογή μείωσε τη συχνότητα της απίσχνασης στους ασθενείς αυτούς⁴. Οι γρήγορες μεταβολές στην σύνθεση του σώματος των διαβητικών που ακολουθούσαν την θεραπεία με ινσουλίνη σκιαγραφούσαν την αναβολική δράση της ινσουλίνης στις πρωτεΐνες.

Η ινσουλίνη αποτελεί κλειδί που ρυθμίζει την ανταπόκριση στη πρόσληψη τροφής στη προσπάθεια του οργανισμού για τη

διατήρηση της πρωτεΐνης του, γεγονός που υποδηλώθηκε από την φυσική ιστορία του διαβήτη⁵.

Ο μηχανισμός σύνθεσης της πρωτεΐνης περιλαμβάνει τα ριβοσώματα, το mRNA, το tRNA και διάφορους καταλυτικούς παράγοντες. Για την εξέταση της δράσης της ινσουλίνης και άλλων παραγόντων ή καταστάσεων που διαταράσσουν το φυσιολογικό ισοζύγιο, οι ερευνητές ανέπτυξαν τεχνικές *in vitro* και *in vivo* για την εκτίμηση της πρωτεϊνοσύνθεσης ή της διάσπασης των πρωτεϊνών. Όπως είναι γνωστό η σύνθεση μιας καινούριας πρωτεΐνης γίνεται μέσω μιας πολύπλοκης διαδικασίας ειδικών αντιδράσεων. Με την ανακάλυψη ειδικών τεχνικών έγινε η αναγνώριση των σημείων εκείνων στα οποία συμβαίνουν ρυθμίσεις και έγινε πλέον ξεκάθαρο ότι η ικανότητα για πρωτεϊνοσύνθεση μπορεί να μεταβληθεί από την ινσουλίνη και ότι όλοι οι ιστοί δεν συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο παρουσία ή απουσία της. Υπάρχει πλέον μεγάλος αριθμός εργασιών που αποδεικνύουν την ικανότητα της ινσουλίνης να μεταβάλλει το βαθμό σύνθεσης ειδικών πρωτεϊνών δρώντας άμεσα στους γόνους είτε διεγείροντας είτε αναστέλλοντας το βαθμό της μεταγραφής (transcription).

Η μεταβολική οδός της σύνθεσης των πρωτεϊνών

Η σύνθεση μιας νέας πρωτεΐνης επιτυγχάνεται μέσω πολύπλοκων και δυσδιάκριτων αντιδράσεων που ξεκινούν από την ένωση ενός αμινοξέος στο tRNA και τελειώνουν με την απελευθέρωση μιας πεπτιδικής αλυσού. Στα εμπύρηννα κύτταρα όλη σχεδόν η πρωτεϊνική σύνθεση γίνεται στο κυτόπλασμα. Η πρωτεϊνική σύνθεση στο ήπαρ είναι συνδεδεμένη με το κλάσμα των μικροσωματίων. Απεδείχθη ότι είναι δυνατή η πρωτεϊνική σύνθεση όταν έχουμε διάλυμα μικροσωματίων *in vitro* μαζί με διαλυτό κλάσμα ή κυτοδιάλυμα, ATP, GTP και ραδιενεργά αμινοξέα. Έτσι αποδείχθηκε ότι η σύνθεση πρωτεϊνών δεν απαιτεί άθικτα κύτταρα και είναι γνωστή ως σύνθεση πρωτεϊνών σε σύστημα ελεύθερο κυττάρων (cell free system for protein synthesis). Τα ριβοσώματα από μόνα τους δεν μπορούν να συνθέσουν πρωτεΐνη. Διαθέτουν όμως τις κατάλληλες περιοχές για την σύνδεση και μετάφραση των mRNA. Το κεντρικό δόγμα που περιγράφει τη διεύθυνση ροής της γενετικής πληροφορίας για την σύνθεση μιας πρωτεΐνης φαίνεται στο σχήμα 1⁶.

Τα είδη του RNA είναι: 1) το αγγελιοφόρο ή

DNA - μεταγραφή → RNA - μετάφραση → Πρωτεΐνες

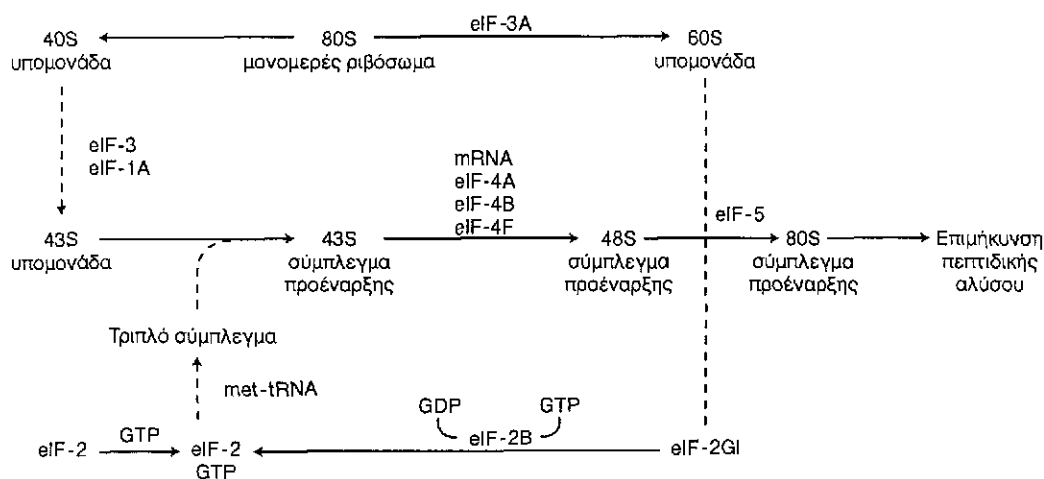
Σχήμα 1

mRNA (messenger RNA) το οποίο μεταφέρει γενετικές πληροφορίες ενός γονιδίου στη περιοχή της πρωτεϊνικής σύνθεσης, 2) το ριβοσωμικό ή rRNA (ribosomal RNA) και 3) το μεταφοράς ή tRNA (transfer RNA). Τα δύο τελευταία έχουν άμεση σχέση με την πρωτεϊνική σύνθεση.

Η όλη διαδικασία της πρωτεϊνικής σύνθεσης για λόγους κατανόησης συνηθίζεται να διαιρείται σε τρία μέρη: 1) στην έναρξη (initiation) κατά την οποία η αρχική μεθειονίνη συνδέεται με το mRNA το οποίο ακολούθως συνδέεται αρχικά με μια ριβοσωμική ομάδα 40S και ακολούθως με μια υποομάδα 60S σχηματίζοντας έτσι ένα ριβόσωμα ικανό για μετάφραση (translation), 2) στην επιμήκυνση (elongation) κατά την οποία το tRNA συνδέεται με αμινοξέα τα οποία ενσωματώνονται σε μια συνεχώς αυξανόμενη πεπτιδική αλυσού για να εξειδικευθεί από το mRNA με το οποίο συνδέεται το ριβόσωμα, 3) στον τερματισμό της σύνθεσης (termination), φάση κατά την οποία η συμπληρωμένη πεπτιδική αλυσού απελευθερώνεται από το ριβόσωμα. Κάθε μία από τις φάσεις αυτές απαιτεί παρεμβολή πρωτεϊνικών παραγόντων οι οποίοι στο σύνολό τους είναι γνωστοί ως παράγοντες eIF (eukaryotic initiation factors), ως παράγοντες eEF (eukaryotic elongation factors) και ως παράγοντες RF (releasing factors).

1. Φάση έναρξης της μετάφρασης

Η φάση αυτή αποτελείται από μια σειρά γεγονότων που έχουν ως αποτέλεσμα την συναρμογή κομμάτι-κομμάτι της μηχανής της μετάφρασης (Σχ. 2). Η τελική δομή συνίσταται από ένα ριβόσωμα συνδεδεμένο με ένα μόνο mRNA το οποίο έχει εκκινητή το methionyl-tRNA (met-tRNA_i), κατέχοντας το κωδόνιο AUG (αδενίνη, ουρακίλη, γουανίνη). Η έναρξη μπορεί να ιδωθεί ως διαδικασία που αρχίζει με τον σχηματισμό ενός τριπλού συμπλέγματος που συνίσταται από τον eIF-2 την GTP (τριφωσφορική γουανοσίνη) και το met-tRNA_i. Αυτό το τριπλό σύμπλεγμα συνδέεται μετά από μια μικρή ριβοσωμική υπομονάδα 40S με την οποία συνδέεται ο eIF-3 με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός εναρκτήριου συμπλέγματος 43S. Μια άλλη ομάδα παραγόντων της έναρξης (eIF-4A, eIF-4B, eIF-4F) παράλληλα με τη ριβοσωμική σύνδεση του eIF-3 και την



Σχήμα 2

υδρόλυση του ATP, βοηθούν στην αναγνώριση του 5'cap του mRNA, στη σύνδεση του 43S στο cap του mRNA και στο ζετύλιγμα της δευτεροταγούς δομής του mRNA στην περιοχή αυτή. Με κάποιο ακόμη άγνωστο τρόπο, ίσως με προσεκτική ανάγνωση κάτω από την 5' αμετάφραστη περιοχή του mRNA το σύμπλεγμα 43S βρίσκει το αρχικό κωδόνιο AUG με το οποίο συνδέεται το met-tRNA_i. Ακόμη ένας άλλος παράγων έναρξης ο eIF-5 προάγει την απελευθέρωση συνδεδεμένων παραγόντων συνοδευόμενος από υδρόλυση του GTP έτσι ώστε ο eIF-2 απελευθερώνεται ως διπλό σύμπλεγμα με την διφωσφορική γουανοσίνη. Ο eIF-5 απελευθερώνει το σύμπλεγμα 40SmRNA το οποίο συνδέεται με μια μεγαλύτερη ριβοσωμική υπομονάδα 60S σχηματίζοντας ένα ριβοσωμικό σύμπλεγμα έναρξης 80S έτοιμο να εισέλθει στη φάση της επιμήκυνσης. Ο eIF-2 απελευθερώνεται ως σύμπλεγμα με GDP. Για να χρησιμοποιηθεί ο eIF-2 σε επόμενο κύκλο έναρξης το GDP πρέπει να μετατραπεί σε GTP. Για τη διαδικασία αυτή πρέπει να παρεμβληθεί ο eIF-2B, ένας παράγων ανταλλαγής νουκλεοτιδικής γουανίνης.

2. Φάση της επιμήκυνσης

Ένα ριβόσωμα 80S διαθέτει δύο θέσεις σύνδεσης για το aminoacyl-tRNA, την θέση P (θέση δότη) και μια παρακείμενη θέση A (θέση δέκτη). Το met-tRNA_i είναι συνδεδεμένο με το κωδόνιο έναρξης AUG και ως εκ τούτου με ένα ριβόσωμα κατά την διάρκεια της έναρξης καταλαμβάνοντας τη θέση P. Η A θέση στην αρχή δεν είναι κατειλημμένη και περιέχει το κωδόνιο για το πρώτο εσωτερικό αμινοξύ. Αυτή η θέση ακολούθως πλη-

ρούται από το aminoacyl-tRNA εξειδικευμένο από το mRNA κωδόνιο μέσω της αλληλεπίδρασης κωδονίου-αντικωδονίου. Και η παρουσία του eEF-1 και η υδρόλυση του GTP είναι απαραίτητα για την ολοκλήρωση αυτής της φάσης. Μετά χωρίς την παρέμβαση πρωτεϊνικών παραγόντων ή νουκλεοτιδίων σχηματίζεται ένας πεπτιδικός σύνδεσμος μεταξύ της met-tRNA_i και του αμινοξέος που είναι συνδεδεμένο με το tRNA στην θέση A με αποτέλεσμα την αποακυλίωση του tRNA στη θέση P και του dipeptidyl-tRNA στη θέση A. Ακολουθεί το στάδιο της μετάθεσης (translocation) κατά το οποίο το mRNA και το ριβόσωμα στρέφονται το ένα σε σχέση με το άλλο κατά μήκος ενός κωδονίου. Αυτή η κίνηση καταλύεται από έναν δεύτερο παράγοντα επιμήκυνσης τον eEF-2 και απαιτεί υδρόλυση του GTP. Αυτό στρέφει το peptidyl-tRNA από τη θέση A στη θέση P, αφήνοντας τη θέση A ανοικτή να δεχθεί το αμινοξύ που είναι συνδεδεμένο με το tRNA, εξειδικευμένο από το κωδόνιο που τώρα καταλαμβάνει τη θέση A. Η φάση της επιμήκυνσης προχωρεί με επαναλαμβανόμενους κύκλους σύνδεσης aminoacyl-tRNA σχηματισμού πεπτιδικού δεσμού, μετάθεσης peptidyl-tRNA και απελευθέρωσης deacetylated-tRNA από τη θέση P.

3. Φάση της λήξης

Η επιμήκυνση της πεπτιδικής αλύσου προχωρεί μέχρις ότου διαπεράσει όλα τα κωδόνια που κωδικοποιούν αμινοξέα και ένα κωδόνιο τερματισμού (UAA, UAG ή UGA) εισέλθει στη θέση A μετά από μετάθεση του peptidyl-tRNA, μεταφέροντας την συμπληρωμένη πεπτιδική αλυσού.

Παρουσία GTP ο παράγων της λήξης RF συνδέεται με την θέση A και με υδρόλυση του GTP καταλύεται η τελική αντίδραση. Η συμπληρωματική πεπτιδική αλυσος απελευθερώνεται με υδρόλυση από τον εστερικό δεσμό του peptidyl-tRNA και το deacetylated tRNA και το ριβόσωμα αποχωρίζονται από το mRNA. Μετά από την απελευθέρωσή του από το mRNA, ένα μονομερές ριβόσωμα 80S διαχωρίζεται σε δύο υποομάδες 40S και 60S. Οι παράγοντες έναρξης eIF-3A και eIF-3 συνδέονται με τις υποομάδες 60S και 40S αντίστοιχα εμποδίζοντας την επανασύνδεσή τους. Έτσι αφήνονται οι υποομάδες ικανές για επανακύκλωση σε άλλο κύκλο μετάφρασης.

Μεταβολικοί οδοί της πρωτεϊνικής διάσπασης

Υπάρχουν τουλάχιστον τρεις διαφορετικοί οδοί πρωτεϊνικής διάσπασης, αλλά πολύ λίγα είναι γνωστά για τους μηχανισμούς που δρουν ή ρυθμίζουν την διάσπαση των πρωτεϊνών: 1) Η λυσοσωματική οδός η οποία ρυθμίζεται από φυσιολογικές καταστάσεις που προκαλούν μεταβολές στο πρωτεϊνικό turnover και το σχετικό τους ενδιαφέρον ποικίλλει από ιστό σε ιστό⁷⁻⁹. Τα λυσοσώματα περιέχουν πολλαπλά πρωτεολυτικά ένζυμα, υπεύθυνα για την διάσπαση των ενδοκυττωμένων και των περισσότερων μεμβρανικών πρωτεϊνών. Σε έλλειψη ινσουλίνης ο ρυθμός διάσπασης διπλασιάζεται ενώ η διαδικασία αυτή μπορεί να ανασταλεί από ουσίες που αναστέλλουν την οξίνωση των λυσοσωμικών πρωτεϊνών χωρίς να επηρεάζεται η ATP-εξαρτώμενη οδός (ασθενείς βάσεις, E-64, Leupeptin, 3-methyladenine).

2) Η οδός της ουμπικιτίνης (ubiquitin)^{8,10}. Το πολυπεπτιδίο ουμπικιτίνη παρουσία ATP καταλύει εκλεκτικά την διάσπαση έντονα ανώμαλων πρωτεϊνών και βραχύβιων ρυθμιστικών πρωτεϊνών^{11,12}. Επίσης η ίδια διαδικασία περιλαμβάνει την διάσπαση των περισσότερων πρωτεϊνών στα ωριμάζοντα δικτυοερυθροκύτταρα και στους αναπτυσσόμενους ινοβλάστες^{13,14}.

3) Η οδός των Ca-εξαρτώμενων πρωτεασών (calpains I και II)^{8,10,15}. Σε καταστάσεις αύξησης ενδοκυτταρίου Ca, αυξάνει η διάσπαση των πρωτεϊνών με την ενεργοποίηση των Ca-εξαρτώμενων πρωτεασών.

4) Μη λυσοσωμική οδός διάσπασης, ATP-ανεξάρτητης στα ερυθρά. Αυτό το σύστημα καταλύει την εκλεκτική διάσπαση των πρωτεϊνών που καταστρέφονται με οξειδωσις¹⁶⁻¹⁷.

5) Υπάρχουν και άλλοι ενδιαφέροντες μηχανισμοί που αφορούν στην ενδοκυττάρια πρωτεόλυση αλλά ελάχιστα έχουν περιγραφεί. Περιλαμβάνουν οδούς ATP-εξαρτώμενες στο κυτόπλασμα και οδούς που υπάρχουν σε ποικίλα κυτταρικά οργάνωλια.

6) Η αυτοφαγική οδός στο ήπαρ. Η αυτοφαγία είναι μια διαδικασία πρόσληψης όγκου υπεύθυνη για το turnover των περισσότερων μακρόβιων πρωτεϊνών, του RNA και άλλων μακρομοριακών συστατικών του κυτοπλάσματος. Είναι μια σύνθετη μεμβρανοσχετιζόμενη λειτουργία που εξυπηρετεί σε συμφωνία με κατάλληλες συνθετικές οδούς τη ρύθμιση της κυτοπλασματικής ανάπτυξης και προμηθεύει μια ενδογενή πηγή αμινοξέων για οξειδωτικές και βιοσυνθετικές αντιδράσεις, όταν υπάρχει έλλειψη εξωγενούς προμήθειας αμινοξέων όπως σε καταστάσεις πείνας¹⁸.

Η δράση του διαβήτη και της ινσουλίνης στο πρωτεϊνικό turnover σε πειραματόζωα

Η ινσουλίνη είναι μια αναβολική ορμόνη και η παρουσία της στο αίμα κατά τη διάρκεια της απορρόφησης των τροφών προάγει την αποθήκευση καυσίμων τα οποία βρίσκονται σε περίσσεια και τα χρησιμοποιούν όταν υπάρξει άμεση ανάγκη. Η γλυκόζη αποθηκεύεται ως γλυκογόνο στο ήπαρ και στους μύς, η γλυκόζη και τα λιπαρά οξέα αποθηκεύονται ως τριγλυκερίδια στο λιπώδη ιστό και τα αμινοξέα αποθηκεύονται ως πρωτεΐνες σε πολλούς ιστούς όπως στο μυϊκό, τον λιπώδη και το ήπαρ.

Η ινσουλίνη αυξάνει την πρόσληψη των αμινοξέων στους ιστούς αυτούς και επίσης διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση και αναστέλλει την διάσπαση των πρωτεϊνών με μηχανισμούς ανεξάρτητους της μεταφοράς αμινοξέων. Σε καταστάσεις με χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης (διαβήτης, πείνα) η σύνθεση των πρωτεϊνών διακόπτεται και οι αποθήκες πρωτεϊνών ειδικά των μυών ελαττώνονται. Κάτω από αυτές τις συνθήκες τα αμινοξέα που απελευθερώνονται στο αίμα χρησιμοποιούνται ως καύσιμα. Η αλανίνη και η γλουταμίνη που απελευθερώνονται γίνονται υπόστρωμα για γλυκονογένεση στο ήπαρ και στο νεφρό αντίστοιχα και αυξάνεται η οξειδωσις των άλλων αμινοξέων.

Η απώλεια της πρωτεΐνης που συνοδεύει τον αρρυθμισμό διαβήτη μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας συνολικής διάσπασης (διαταραχής του φυ-

σιολογικού ισοζυγίου μεταξύ σύνθεσης και διάσπασης προς όφελος της διάσπασης). Εν τούτοις η σύγκριση του πρωτεϊνικού περιεχομένου διαφόρων ιστών σε διαβητικά ζώα και controls έδειξε ότι οι επί μέρους ιστοί δεν ανταποκρίνονται ενιαία στον διαβήτη. Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο είναι αμετάβλητο^{19,20} ή αυξάνεται στο ήπαρ διαβητικών ζώων²¹, αυξημένο στο βλεννογόνο της νήστιδας και του νεφρού²⁰⁻²² και έντονα μειωμένο στους σκελετικούς μυς και τη καρδιά¹⁹.

1. Πρωτεϊνική σύνθεση

Φαίνεται ότι ο μυς είναι ο κύριος τόπος απώλειας πρωτεΐνης στον διαβήτη. Αυτό συνάγεται από την παρατήρηση ότι το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του μυός ελαττώνεται στον διαβήτη αλλά και από πειράματα σε ζώα²³.

In vitro και in vivo μελέτες έδειξαν ότι η ινσουλίνη μπορεί να διεγείρει την πρωτεϊνική σύνθεση στο μυ.

Η προσθήκη ινσουλίνης σε μια ποικιλία μυών από φυσιολογικά ζώα, διήγειρε την ενσωμάτωση σημασμένων αμινοξέων σε νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες²⁴⁻²⁶.

Η χορήγηση ινσουλίνης σε διαβητικά (είτε με αλλοξάνη, είτε με στρεπτοζοτοκίνη είτε με εκσπλάχνωση) ζώα έχει ως αποτέλεσμα την αναστροφή της αναστολής της πρωτεϊνοσύνθεσης, έτσι ώστε ο βαθμός της πρωτεϊνοσύνθεσης να προσεγγίζει ή να ταυτίζεται με εκείνον των controls^{27,28}. Η χορήγηση ινσουλίνης επίσης βελτιώνει μερικώς την αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης που παρατηρείται σε ποντίκια σε μεταγευματικό στάδιο όπου το επίπεδο της ινσουλίνης είναι χαμηλό²⁹.

Οι παρατηρήσεις λοιπόν σε πειραματόζωα έδειξαν ότι in vitro η ινσουλίνη διεγείρει την πρωτεϊνική σύνθεση στους μυς, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε in vivo για τους εξής πιθανούς λόγους: 1) σε σύγκριση με άθικτους ιστούς in situ η απομονωμένη καρδιά και παρασκευάσματα μυών βρίσκονται σε καταβολικό στάδιο με μειωμένους ρυθμούς σύνθεσης. 2) η υποαμινοξαιμία που επακολουθεί μετά τη χορήγηση της ινσουλίνης. Η υπερινσουλιναμία μειώνει την απελευθέρωση αμινοξέων από τους μυς στα πειραματόζωα και διεγείρει την είσοδο των αμινοξέων στα κύτταρα³⁰.

Ο διαβήτης και η ινσουλίνη επηρεάζουν την σύνθεση των πρωτεϊνών που εκκρίνονται από το ήπαρ καθώς και των ενδοκυττάρων πρωτεϊνών. Έτσι η έκκριση λευκωματινής μειούται σε ήπατα

διαβητικών ποντικών και ποντικών σε νηστεία³¹. Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα από ήπαρ διαβητικών ποντικών έδειξαν εκτεταμένη παραμόρφωση και διάσπαση στο τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο σε βαθμό ανάλογο με τη βαρύτητα του διαβήτη^{32,33}. Αυτές οι μεταβολές αναστρέφονται μετά από χορήγηση ινσουλίνης στα διαβητικά ζώα. Αφού οι πρωτεΐνες που προορίζονται για απέκκριση από το ήπαρ συντίθενται κυρίως στα ριβοσώματα του τραχέος ενδοπλασματικού δικτύου, η διάσπαση αυτών των οργανυλλίων από την απουσία της ινσουλίνης ερμηνεύει την μείωση της απέκκρισης λευκωματινής από το ήπαρ διαβητικών ποντικών και από ηπατοκύτταρα σε καλλιέργειες^{34,35}. Ηπατοκύτταρα σε καλλιέργειες έδειξαν ότι η πρωτεϊνοσύνθεση σε φυσιολογικά ποντίκια διεγείρεται από την προσθήκη ινσουλίνης και το αντίθετο^{35,36}.

2. Η διάσπαση των πρωτεϊνών

Η ινσουλίνη προάγει το θετικό ισοζύγιο του αζώτου στους ιστούς ως αποτέλεσμα της αύξησης της πρωτεϊνικής σύνθεσης και της αναστολής της πρωτεόλυσης. Η αντικαταβολική δράση της ινσουλίνης αποδείχθηκε in vitro σε πειράματα που χρησιμοποίησαν ποικιλία απομονωμένων μυών φυσιολογικών πειραματοζώων, όπου η συμμετοχή της ινσουλίνης στα διαλύματα έγχυσης είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της πρωτεϊνικής διάσπασης^{26,37-39}. Σε συστήματα κυτταρικών καλλιέργειών απαιτήθηκαν μεγάλες ποσότητες ινσουλίνης πέραν του φυσιολογικού, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ινσουλίνη μπορεί να μην είναι ο φυσικός ρυθμιστής της ανάπτυξης των μυών κατά την διάρκεια της εμβρυϊκής και νεογνικής περιόδου³⁹⁻⁴¹.

Στις περιόδους αυτές πιθανόν οι πιο ενδιαφέροντες ρυθμιστικοί παράγοντες να είναι οι IGF-1 και IGF-2 παράγοντες³⁹.

Αφού λοιπόν η ινσουλίνη απεδείχθη ότι έχει ανασταλτική δράση στη πρωτεόλυση, είναι λογικό σε καταστάσεις ινσουλινοπενίας (διαβήτης, νηστεία) να έχουμε μια επιταχυνόμενη πρωτεϊνική διάσπαση. Πράγματι βρέθηκε αυξημένη διάσπαση πρωτεϊνών in vitro και in vivo σε μυς διαβητικών και σε νηστεία ποντικών και σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 1^{26,41-44}. Η θεραπεία με ινσουλίνη ανέστειλε την πρωτεϊνική διάσπαση. Υπάρχουν όμως ελάχιστες in vivo μελέτες που μιλούν για μικρή ή ανύπαρκτη μείωση της πρωτεϊνικής διάσπασης^{45,46}.

Υπάρχουν αποδείξεις ότι όλες οι πρωτεΐνες

δεν επηρεάζονται το ίδιο από την αντιπρωτεολυτική δράση της ινσουλίνης. Σε διαβητικά (με στρεπτοζοτοκίνη) ποντίκια δύο ημερών, στον καρδιακό και στους σκελετικούς μύς η συνολική πρωτεΐνη ήταν μειωμένη σε σχέση με φυσιολογικά ποντίκια και η μείωση αυτή μπορεί να είναι αποτέλεσμα και μειωμένης σύνθεσης και μιας ήπιας αύξησης πρωτεϊνικής διάσπασης⁴². Παράλληλα βρέθηκε ότι υπήρχε μεγάλη μείωση στην ποσότητα της ριβοσωματικής πρωτεΐνης, η οποία οφείλετο στη μείωση της σύνθεσης της ριβοσωματικής πρωτεΐνης με αύξηση της διάσπασης της πρωτεΐνης αυτής. Η δράση λοιπόν του διαβήτη στη διάσπαση της ριβοσωματικής πρωτεΐνης διαφέρει από εκείνη της συνολικής ιστικής πρωτεΐνης. Ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα που αναφέρεται στους ίδιους μύς από ποντίκια σε νηστεία, δείχνει ότι μετά από χορήγηση ινσουλίνης η συνολική πρωτεϊνική διάσπαση μειώνεται, ενώ δεν επηρεάζεται καθόλου ο καταβολισμός των πρωτεϊνών των μυϊκών ινιδίων^{47,48}. Παρόμοια δράση με την ινσουλίνη σε απομονωμένους μύς ποντικών είχε και η γλουταμίνη η οποία ανέστειλε την πρωτεϊνική διάσπαση. Οι δράσεις της ινσουλίνης και της φαινυλαλανίνης στην πρωτεόλυση δεν είναι αθροιστικές, γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορεί να δρουν μέσω κοινής οδού. Αυτή η αναστολή στην πρωτεϊνική διάσπαση επηρεάζει τις διαλυτές σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες και όχι τις πρωτεΐνες των μυϊκών ινιδίων⁴⁹. Η ινσουλίνη ξεκάθαρα εμπλέκεται στη ρύθμιση της διάσπασης των πρωτεϊνών του ήπατος. Η μέγιστη αναστολή της πρωτεϊνικής διάσπαση επιτυγχάνεται όταν στα διαλύματα έγχυσης υπάρχει και παρουσία αμινοξέων σε υψηλά επίπεδα, ενώ η παρουσία της ινσουλίνης δεν μειώνει πλέον το βαθμό της πρωτεόλυσης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι υπάρχει κοινός μηχανισμός ρύθμισης από την ινσουλίνη και τα αμινοξέα^{50,51}.

Μια ενδιαφέρουσα άποψη αφορά στην παρουσία *in vivo* και άλλων ορμονών ειδικότερα των θυρεοειδικών και των κορτικοστεροειδών οι οποίες μπορούν να επηρεάζουν το πρωτεϊνικό *turnover* είτε μόνες τους είτε σε συνδυασμό με την ινσουλίνη⁵²⁻⁵³. Ενώ υπάρχουν διευκρινισμένες ενδιαφέρουσες αλληλεπιδράσεις, η δράση της κάθε μιας ορμόνης χωριστά θα πρέπει να εξαχθεί από μελέτες σε *in vitro* ή σε υπό έγχυση συστήματα.

Η δράση του διαβήτη και της ινσουλίνης στο *Turnover* των πρωτεϊνών του ανθρώπου

Η θεραπεία με ινσουλίνη σε διαβητικούς τύπου I αναστρέφει γρήγορα το αρνητικό ισοζύγιο αζώτου. Για τη μέτρηση του πρωτεϊνικού *turnover* στον άνθρωπο χρησιμοποιήθηκε η ραδιοσημασμένη λευκίνη. Η λευκίνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ και έτσι η πρωτεΐνη του σώματος είναι η μόνη πηγή λευκίνης στο μεταγευματικό στάδιο. Οι μεταβολές στο ρυθμό εμφάνισης της λευκίνης ή του μεταβολίτη της στο πλάσμα αντανακλούν μεταβολές στην απελευθέρωση της λευκίνης ή πρωτεόλυση.

Η συνολική σωματική πρωτεόλυση είναι σημαντικά αυξημένη σε διαβητικούς στο μεταγευματικό στάδιο μετά την απομάκρυνση της ινσουλίνης⁵⁴. Χορήγηση ινσουλίνης είτε σε *controls* είτε σε διαβητικούς μειώνει την συνολική πρωτεόλυση (μείωση της ροής της λευκίνης). Η αναστολή της διάσπασης των πρωτεϊνών ήταν μικρότερη στους διαβητικούς από ότι στην ομάδα ελέγχου⁵⁵⁻⁶⁰.

Μελέτη στην οποία μετρήθηκε η κινητική της ανταλλαγής των αμινοξέων στους μύς του αντιβραχίου υγιών ανδρών σε νηστεία έδειξε ότι η χορήγηση ινσουλίνης ανέστειλε την απελευθέρωση των αμινοξέων που συνέβαινε στη νηστεία⁶¹. Οποσδήποτε το θετικό ισοζύγιο είναι αποτέλεσμα μιας ισχυρής αναστολής στην απελευθέρωση των αμινοξέων παρουσία αμετάβλητης πρόσληψης, ένα εύρημα που υπαινίσσεται την αναβολική δράση της ινσουλίνης, που προκαλείται από αναστολή της πρωτεϊνικής διάσπασης μάλλον παρά από τη διέγερση της σύνθεσης. Η έγχυση ινσουλίνης σε διαβητικούς τύπου I σε νηστεία δεν διεγείρει την πρωτεϊνική σύνθεση στον μυ αλλά αναστέλλει έντονα την πρωτεόλυση. Έτσι φαίνεται ότι η ινσουλίνη δεν επηρεάζει την πρωτεϊνική σύνθεση είτε την ολοσωματική είτε του μυός. Προτάθηκε ότι αυτό μπορεί να αντανάκλα μια δυνατότητα του υποστρώματος αφού η συγκέντρωση στο πλάσμα κατά την διάρκεια έγχυσης της ινσουλίνης μειώνεται⁶². Οι μελέτες που έγιναν προς την κατεύθυνση αυτή σε διαβητικούς τύπου I υποδηλώνουν την αλληλεπίδραση μεταξύ ινσουλίνης και του υποστρώματος αμινοξέων. Έτσι η συνολική πρωτεϊνική σύνθεση μει-

ώνεται όταν έχουμε έγχυση μόνον ινσουλίνης, μένει αμετάβλητη όταν έχουμε έγχυση ινσουλίνης και γλυκόζης και αυξάνεται όταν υπάρχει συνδυασμός υπερινσουλιναιμίας και υπεραμινοξαιμίας⁶³⁻⁶⁷. Υπεραμινοξαιμία με βασικά επίπεδα ινσουλίνης επίσης διεγείρουν την συνολική πρωτεϊνοσύνθεση, ενώ αύξηση επιπλέον της ινσουλίνης δεν έχει επιπλέον διεγερτική δράση. Μια μελέτη που σύγκρινε τον συνολικό μεταβολισμό της λευκίνης σε ομάδα υγιών νέων και ηλικιωμένων έδειξε ότι και οι δύο ομάδες είχαν μια αύξηση της ενσωμάτωση της λευκίνης στην πρωτεΐνη που παρήχθη από την έγχυση μίγματος αμινοξέων και αυτή δεν αυξήθηκε περαιτέρω όταν δεκαπλασιάστηκε η συγκέντρωση της χορηγούμενης ινσουλίνης⁶⁵. Σε μια μόνο μελέτη η ινσουλίνη κατόρθωσε να διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση πέρα και πάνω από τη δράση των αυξημένων επιπέδων αμινοξέων⁶⁶. Φαίνεται λοιπόν ότι στον άνθρωπο η ικανότητα των αμινοξέων στη διατήρηση της πρωτεϊνοσύνθεσης είναι πιο ενδιαφέρουσα παράμετρος από αυτή της ινσουλίνης και ότι ο μεγαλύτερος ρόλος της ινσουλίνης *in vivo* είναι η αναστολή της πρωτεϊνικής διάσπασης^{65,67}.

Το περιεργό της ινσουλίνης στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών

Απώλεια καθαρής πρωτεΐνης συμβαίνει όταν η πρωτεϊνική διάσπαση υπερέχει της πρωτεϊνοσύνθεσης. Σε πολλές μελέτες για τη μέτρηση του πρωτεϊνικού *turnover* σε τύπου I διαβητικούς ασθενείς χρησιμοποιήθηκε η σημασμένη λευκίνη, η L-(1-C13) ως ανιχνευτής. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι τρεις παράμετροι: η ροή της λευκίνης, η οξειδωση της λευκίνης και η μη οξειδωμένη λευκίνη ήταν αυξημένες σε διαβητικούς τύπου I σε σύγκριση με φυσιολογικά άτομα. Οι παράμετροι αυτές μειώθηκαν μετά τη χορήγηση ινσουλίνης⁶⁸⁻⁷⁰.

Το εύρημα λοιπόν ότι η μη οξειδωμένη λευκίνη που αποτελεί δείκτη πρωτεϊνικής σύνθεσης ήταν αυξημένη, δημιουργούσε τεράστιο ενδιαφέρον. Ενδιαφέρουσα ήταν και η παρατήρηση ότι η χορήγηση ινσουλίνης μείωνε το κλάσμα αυτό. Αυτό σήμαινε ότι σε έλλειψη ινσουλίνης είχαμε αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση, ενώ η χορήγηση ινσουλίνης μείωνε την πρωτεϊνική σύνθεση. Με βάση τις μελέτες αυτές βγήκε το συμπέρασμα ότι στην οξεία έλλειψη της ινσουλίνης (διαβήτη τύπου I) υπάρχει και αυξημένη πρωτεϊνική διάσπαση και πρωτεϊνική σύνθεση. Η απώλεια καθαρής

πρωτεΐνης συνέβαινε επειδή υπερτερούσε της σύνθεσης η διάσπαση. Η χορήγηση ινσουλίνης ταχέως μείωνε την απώλεια της πρωτεΐνης επειδή ανέστειλε την πρωτεϊνική διάσπαση και η οποία υπερείχε της μείωσης στην πρωτεϊνική σύνθεση. Οι παρατηρήσεις αυτές για την αύξηση της μη οξειδωμένης λευκίνης, ενδεικτικού μιας αυξημένης πρωτεϊνικής σύνθεσης σε διαβητικούς τύπου I ήταν αντίθετες μιας λογικής βασισμένης σε *in vitro*⁷¹ και *in vivo* πειράματα σε ζώα (72-74). Που λοιπόν συνέβαινε αυτή η αυξημένη σύνθεση πρωτεΐνης;

Πρέπει να αναφερθεί ότι η συνολική πρωτεϊνική σύνθεση μπορεί να εκτιμηθεί κατά προσέγγιση από το μη οξειδωμένο κλάσμα της ροής της λευκίνης. Ο μυς αποτελεί >40% του σωματικού βάρους. Από αυτό 17% είναι πρωτεΐνη και το 8% της πρωτεΐνης είναι λευκίνη. Ο βαθμός της συνολικής πρωτεϊνικής σωματικής πρωτεϊνικής σύνθεσης είναι $132,1 \pm 9,8$ mg/Kg.h σε διαβητικούς τύπου I χωρίς ινσουλίνη και $116,1 \pm 8,9$ mg/kg.h μετά από θεραπεία με ινσουλίνη. Η συνολική πρωτεϊνική σύνθεση στους μυς είναι $40,0 \pm 3,8$ mg/Kg.h στους διαβητικούς και $38,8 \pm 3,6$ mg/Kg, h μετά από θεραπεία με ινσουλίνη. Το συμπέρασμα βασισμένο στα δεδομένα αυτά ήταν ότι ο βαθμός της αυξημένης πρωτεϊνοσύνθεσης κατά την διάρκεια έλλειψης της ινσουλίνης αφορούσε κυρίως μη μυϊκούς ιστούς.

Αποτέλεσμα μελετών έδειξαν ότι η αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση συμβαίνει στο έντερο γιατί εκεί είναι ανεξάρτητη της ινσουλίνης⁷²⁻⁷⁴. Πρόσφατες μελέτες σε ανθρώπους δείχνουν ότι η σύνθεση του ινωδογόνου δεν αυξάνεται από την ινσουλίνη⁷⁵. Είναι πιθανόν ότι ένας σημαντικός αριθμός πρωτεϊνών που περιελήφθησαν στην ολοσωματική πρωτεϊνική σύνθεση δεν είναι ευαίσθητες στην ινσουλίνη⁷². Η συνολική άποψη υποστηρίχθηκε και από πειράματα σε ποντίκια όπου βρέθηκε ότι υπάρχει αυξημένη πρωτεΐνη στο έντερο και μειωμένη στους μυς και στο ήπαρ⁷².

Προτάθηκε λοιπόν ότι αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση σε διαβητικούς τύπου I συμβαίνει κυρίως στο έντερο και άλλους ινσουλινοανεξάρτητους ιστούς και με τη χορήγηση ινσουλίνης μειώνεται ο αυξημένος ρυθμός σύνθεσης πρωτεΐνης στους ιστούς αυτούς. Η αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση είναι αποτέλεσμα της αυξημένης ροής αμινοξέων από τη διάσπαση των πρωτεϊνών εξ' αιτίας της έλλειψης ινσουλίνης, ενώ η αναστολή της διάσπασης από τη χορήγηση της ινσουλίνης

έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των προσφερόμενων αμινοξέων και ως εκ τούτου τη μείωση της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Οι πρωτεΐνες του εντέρου έχουν ένα γρήγορο turnover και προφανώς προσφέρονται ως παροδική δεξαμενή αμινοξέων εμποδίζοντας την ανεπανόρθωτη απώλεια αμινοξέων σε διαβητικούς ασθενείς κατά τη διάρκεια σχετικής ή απόλυτης έλλειψης ινσουλίνης.

Γιατί η ινσουλίνη δεν αυξάνει την πρωτεϊνοσύνθεση σε διαβητικούς τύπου 1 και σε υγιείς σε νηστεία;

1. Αμινοξέα

Προτάθηκε ότι η μειωμένη διάσπαση της πρωτεΐνης που προκαλείται από την ινσουλίνη μειώνει την προμήθεια αμινοξέων για την πρωτεϊνοσύνθεση. Μελέτες σε διαβητικούς έδειξαν ότι όταν χορηγηθούν εξωγενή αμινοξέα η συνολική σωματική πρωτεϊνική σύνθεση διεγείρεται από την ινσουλίνη⁷⁶. Η άμεση όμως μέτρηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης σε μυ απέτυχε να αποδείξει το εύρημα αυτό⁶⁷.

2. Κετόνες

Εγχύσεις β-υδροξυβουτυρικού οξέος έδειξαν να μειώνουν την απώλεια αζώτου από τα ούρα, χωρίς να αναστέλλεται η πρωτεϊνική διάσπαση. Πρόσφατα απεδείχθη ότι έγχυση β-υδροξυβουτυρικού οξέος αυξάνει το μη οξειδωτικό κλάσμα της λευκίνης γεγονός που υποδηλώνει αυξημένη σύνθεση⁶⁹.

Ταυτόχρονα αποδείχθηκε και αυξημένη ενσωμάτωση της λευκίνης τη μυϊκή πρωτεΐνη. Στον διαβήτη λοιπόν με έλλειψη ινσουλίνης τα αυξημένα επίπεδα β-υδροξυβουτυρικού οξέος που παρατηρούνται είναι μερικώς υπεύθυνα για την αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση.

3. Το γλουκαγόνο

Δεν είναι ξεκάθαρο αν οι μεταβολές στην οξείδωση της λευκίνης σχετίζονται μόνο από την παρουσία της ινσουλίνης ή εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες. Μελέτες σε υγιή άτομα έδειξαν ότι κατά τη διάρκεια έγχυσης σωματοστατίνης, χωρίς συνοδό αντικατάσταση της ινσουλίνης και του γλουκαγόνου η οξείδωση της λευκίνης ήταν αμετάβλητη, ενώ η ροή της λευκίνης ήταν αυξημένη⁷⁷. Επιλεκτική αντικατάσταση του γλουκαγόνου κατά 3 mg/kg.min αύξησε την οξείδωση της λευκίνης κατά 92%. Η έλλειψη ινσουλίνης από μόνη της δεν μπορεί να εξηγήσει την αυξη-

μένη οξείδωση της λευκίνης και η υπεργλουκαγοναιμία είναι σημαντική για την αυξημένη οξείδωση κατά τη διάρκεια της έλλειψης της ινσουλίνης.

Η οξείδωση των αμινοξέων με πλευρικές αλύσους ρυθμίζεται από το σύμπλεγμα α-κετοξ-εϊκής δεϋδρογενάσης το οποίο αυξάνεται μερικώς από το γλουκαγόνο. Αυτό αποτελεί ακόμη ένα παράγοντα για την ερμηνεία της αυξημένης οξείδωσης της λευκίνης ο οποίος όμως πρέπει να μελετηθεί περισσότερο.

4. Η αυξητική ορμόνη και ο IGF-1

Η αυξητική ορμόνη και ο IGF-1 συχνά μεταβάλλονται σε αρρυθμιστους διαβητικούς. Τυπικά οι συγκεντρώσεις είναι υψηλές για τον αυξητικό παράγοντα και μειωμένες για τον IGF-1, ανάλογα με την κατάσταση της κακής διατροφής. Αφού και οι δύο παράγοντες διεγείρουν την πρωτεϊνική σύνθεση, είναι επόμενο οι μεταβολές των επιπέδων τους που παρατηρούνται στον διαβήτη να συμμετέχουν στις διαταραχές του μεταβολισμού των πρωτεϊνών^{78,79}.

Μηχανισμοί δράσης της ινσουλίνης στη ρύθμιση του πρωτεϊνικού turnover

Υπάρχουν πολλά στάδια στον κύκλο της ζωής μιας πρωτεΐνης από την μεταγραφή του γόνου μέχρι την πρωτεολυτική της διάσπαση που αποτελούν στόχους δράσης της ινσουλίνης. Η συνολική πρωτεϊνοσύνθεση μπορεί να αυξηθεί από την αυξημένη δραστηριότητα της μετάφρασης ή από την αυξημένη ικανότητα για σύνθεση μέσω παραγωγής νέων ριβοσωμάτων, ενώ ο βαθμός σύνθεσης ανεξάρτητων πρωτεϊνών μπορεί να μεταβληθεί μέσω της αυξημένης ή μειωμένης μεταγραφής των γόνων τους ή από την επιλεκτική μετάφραση των ειδικών mRNA.

1. Ρύθμιση της μετάφρασης του mRNA

Η ινσουλίνη μπορεί να επηρεάσει έναν αριθμό σταδίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της μετάφρασης. Φαίνεται όμως ότι η φάση της έναρξης της σύνθεσης της πεπτιδικής αλύσου αποτελεί τον κύριο στόχο της. Οι φάσεις της επιμήκυνσης και του τερματισμού φαίνεται να επηρεάζονται σε έναν περιορισμένο αριθμό περιπτώσεων.

A. Φάση της έναρξης

Πειράματα που έγιναν σε καρδιές φυσιολογικών ποντικών με έγχυση φυσιολογικών συγκε-

ντρώσεων αμινοξέων και γλυκόζης μετά την πρώτη ώρα παρατηρήθηκε μια μείωση στο βαθμό της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Παράλληλα παρατηρήθηκε αύξηση στις ελεύθερες ριβοσωματικές υπομονάδες και μείωση των πολυσωμάτων, γεγονός που υποδηλώνουν ότι η αναστολή της σύνθεσης προκαλείται από τον αποκλεισμό κατά την έναρξη της πεπτιδικής αλύσου. Η προσθήκη ινσουλίνης στο διάλυμα έγχυσης διατηρεί τις ριβοσωματικές υπομονάδες και τα πολυσώματα σε φυσιολογικά επίπεδα³⁸. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν σε σκελετικούς μυς^{38,80}. Παρατηρήσεις με ακτινομυκίνη D σε καρδιακό και σκελετικό μυ έδειξαν ότι δεν αναστέλλεται η ικανότητα της ινσουλίνης να μεταβάλλει την έναρξη της πεπτιδικής αλύσου υποδηλώνοντας ότι η δράση της ορμόνης είναι ανεξάρτητη από τη σύνθεση του RNA⁸¹. Αν και είναι γνωστό για την ινσουλίνη ότι στα μυοκύτταρα διεγείρει την δίοδο αμινοξέων οι δράσεις της στον καρδιακό μυ φαίνεται ότι δεν οφείλονται απλώς σε μια αυξημένη εναπόθεση αμινοξέων ή σε μια αύξηση φωσφορικών υψηλής ενέργειας.

Έγχυση με έλλειψη ινσουλίνης και στον καρδιακό και στον σκελετικό μυ, προκαλεί αναστολή στην πρωτεϊνοσύνθεση και τη μη συσώρευση ριβοσωμάτων. Αυτό προδικάζει το τι αναμένουμε στα διαβητικά ζώα. Όντως διαβήτη δύο ημερών έχει ως αποτέλεσμα μειωμένους ρυθμούς πρωτεϊνοσύνθεσης με αποδείξεις μη δραστηκής φάσης έναρξης, λόγω μειωμένης μεταφραστικής δραστηριότητας⁸². Η συγχρόνηση ινσουλίνης αποκαθιστά την πρωτεϊνοσύνθεση σε φυσιολογικά επίπεδα.

Στον υποκνημίδιο μυ όπου η μείωση της πρωτεϊνοσύνθεσης οφείλεται σε μείωση της συγκέντρωσης του RNA και η οποία είναι μικρότερης έκτασης η χορήγηση ινσουλίνης δεν έχει διεγερτική δράση στην πρωτεϊνοσύνθεση. Η ερμηνεία αυτής της διαφοράς οφείλεται στη διαφορετική σύνθεση της μυϊκής μάζας στους δύο διαφορετικούς μυς. Οι μυς αποτελούνται από τρεις τύπους μυϊκών ινών. 1) ταχείας σύσπασης λευκές ίνες που έχουν υψηλή γλυκολυτική και χαμηλή οξειδωτική ικανότητα, 2) ταχείας σύσπασης ερυθρές ίνες που έχουν υψηλή γλυκολυτική και οξειδωτική ικανότητα και 3) βραδείας σύσπασης ερυθρές ίνες που έχουν χαμηλή γλυκολυτική και υψηλή οξειδωτική ικανότητα. Ο γαστροκνήμιος μυς περιέχει ταχείας σύσπασης ερυθρές ίνες, ενώ ο υποκνημίδιος βραδείας σύσπασης ερυθρές ίνες. Ο καρδιακός μυς είναι κυρίως οξειδωτικό και σε

συμφωνία με τις παρατηρήσεις στον υποκνημίδιο μυ ούτε πρωτεϊνική σύνθεση ούτε η συγκέντρωση των ριβοσωματικών υπομονάδων μεταβάλλεται στα διαβητικά ποντίκια³⁸. Φαίνεται ότι μύες με περισσότερες οξειδωτικές ίνες όπως ο καρδιακός και ο υποκνημίδιος είναι λιγότερο ευαίσθητοι στον αποκλεισμό της φάσης της έναρξης, που προκαλείται από την έλλειψη ινσουλίνης. Αυτή η διαφορετική ανταπόκριση των δύο ειδών μυών (κυρίως οξειδωτικών και κυρίως γλυκολυτικών) στον διαβήτη παρατηρήθηκε και σε *in vitro* και σε *in vivo* μελέτες^{73,74}.

Η αντίσταση του καρδιακού μυ στην ανασταλτική δράση του διαβήτη όσον αφορά στην πρωτεϊνική σύνθεση, αποδόθηκε σε μια προστατευτική δράση των υψηλών επιπέδων λιπαρών οξέων που υπάρχουν στην κυκλοφορία των διαβητικών ζώων. Είναι πάντως θέμα που πρέπει ακόμη να μελετηθεί. Αντίθετα τα λιπαρά οξέα δεν μεταβάλλουν τον ρυθμό πρωτεϊνοσύνθεσης στους σκελετικούς μυς^{38,84}.

Η φάση της έναρξης περιλαμβάνει ένα αριθμό διαδικασιών κάθε μία από τις οποίες θα μπορούσε να ευθύνεται για τον αποκλεισμό που παρατηρείται στους μυς των διαβητικών ζώων. Προσπάθειες για να κάνουν ορατό αυτό το γεγονός είχαν ως στόχο το σχηματισμό ενός συμπλέγματος 43S από την ενσωμάτωση ενός αρχικού met-RNA (ως μέρος του τριπλού συμπλέγματος eIF-2GTP) στις 40S υπομονάδες.

Παρόμοιες προσπάθειες με αυτές των μυών εφαρμόστηκαν και στα ηπατοκύτταρα για να αναγνωρισθεί η θέση δράσης της ινσουλίνης κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Η είσοδος αμινοξέων στο ήπαρ αυξάνεται με την ινσουλίνη³⁰. Πειράματα όμως έδειξαν ότι δεν αποτελεί την μέγιστη ρυθμιστική διαδικασία στην ηπατική πρωτεϊνοσύνθεση. Ευρήματα από εικόνες πολυσωμάτων από το ήπαρ διαβητικών ποντικών, υποδηλώνουν ότι η πρωτεϊνική σύνθεση είναι μειωμένη ως αποτέλεσμα του αποκλεισμού της έναρξης της πεπτιδικής αλύσου⁸⁵⁻⁸⁸. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν τον σημαντικό ρόλο των αμινοξέων μάλλον και όχι της ινσουλίνης στην ηπατική πρωτεϊνοσύνθεση.

Ηπατικά ριβοσώματα που απομονώθηκαν από διαβητικά ποντίκια έχουν μειωμένη ικανότητα πρωτεϊνοσύνθεσης σε συστήματα ελεύθερα κυττάρων σε σχέση με φυσιολογικά ζώα. Χορήγηση ινσουλίνης στα διαβητικά ποντίκια διεγείρει την ενσωμάτωση αμινοξέων στην πρωτεϊνική των ριβοσωμάτων και των μικροσωμάτων⁸⁸. Φαί-

νεται δε από παρόμοια πειράματα ότι η ινσουλίνη χρειάζεται άθικτα κύτταρα για να δράσει και αυτό είναι σύμφωνα με τη δράση της ινσουλίνης μέσω του υποδοχέα της. Άλλα πειράματα αποδεικνύουν ότι στον διαβήτη η διαταραχή από την έλλειψη ινσουλίνης εκδηλώνεται μόνο στη φάση της έναρξης και ότι δεν μεταβάλλει καθόλου την φάση επιμήκυνσης⁸⁹.

B. Φάση της επιμήκυνσης και τερματισμού

Ιστοί από πειραματόζωα με διαβήτη μικρής διάρκειας έδειξαν ότι η διαταραχή από την έλλειψη της ινσουλίνης αφορά στη φάση της έναρξης. Σε διαβήτη όμως από μακρού (10 ημέρες για τον καρδιακό μυ, 7 ημέρες για τους σκελετικούς μύες) έχουν διαταραχή και κατά τη φάση της επιμήκυνσης και κατά τη φάση του τερματισμού^{82,90}.

2. Ρύθμιση της πρωτεϊνικής διάσπασης

Η πιθανότητα ότι η αύξηση της πρωτεϊνικής διάσπασης στο ήπαρ γίνεται μέσω ενός λυσοσωμικού μηχανισμού, υποδηλώνεται από ένα σύνολο μεταβολών των λυσοσωμάτων που σχετίζονται με καταστάσεις που αυξάνουν την πρωτεόλυση και αναστρέφονται με την προσθήκη ινσουλίνης ή αμινοξέων στο διάλυμα έγχυσης. Οι μεταβολές στα λυσοσώματα περιλαμβάνουν αυξημένη ευαισθησία στο ωσμωτικό shock, αυξημένη πυκνότητα στην ισοπυκνωτική φυγοκέντρηση και διόγκωση^{50,91-93}. Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα ήπατος κάτω από αυτές τις συνθήκες δείχνουν μεγάλα κενοτόπια πολλά των οποίων περιέχουν οργανύλια (μιτοχόνδρια, τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο) και γλυκογόνο. Παρόμοια ευρήματα βρέθηκαν και στα διαβητικά ζώα. Και στις δύο περιπτώσεις *in vitro* και *in vivo* η προσθήκη ή η χορήγηση αμινοξέων ή ινσουλίνης είχε ως αποτέλεσμα την εξαφάνιση αυτών των διαταραχών. Τα αμινοξέα είναι ο κύριος ρυθμιστής της πρωτεϊνικής διάσπασης στο ήπαρ. Απουσία αμινοξέων η πρωτεόλυση γρήγορα φθάνει στον ύψιστο βαθμό, ενώ σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις η διάσπαση καταστέλλεται σε βασικά επίπεδα.

Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα από καρδιές με έγχυση διαλύματος χωρίς ινσουλίνη δείχνουν την παρουσία μεγάλων αυτοφαγικών κενοτοπιών μέσα στο κυτόπλασμα σε αντίθεση με εκείνα στα οποία το διάλυμα έγχυσης περιείχε ινσουλίνη^{38,94}. Η ευθραυστότητα των λυσοσωμάτων (μετρήθηκε ως η απώλεια της εξαφάνισης των λυσοσωματικών ενζύμων) αυξάνει καθώς αυξάνει ο όγκος τους. Η ινσουλίνη μειώνει και το βαθμό της πρω-

τεϊνικής διάσπασης και την ευθραυστότητα των λυσοσωμάτων στον καρδιακό και τους σκελετικούς μύς⁸⁰. Η διάσπαση των πρωτεϊνών των μυϊκών ινιδίων ούτε αναστέλλεται από την ινσουλίνη ούτε μειώνεται από ανασταλτές της διάσπασης των λυσοσωμάτων. Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις φαίνεται ότι η ινσουλίνη επηρεάζει το βαθμό της πρωτεϊνικής διάσπασης στο μυ μεταβάλλοντας τη λυσοσωματική λειτουργία όπως και στο ήπαρ αν και ο ειδικός μηχανισμός είναι ακόμη άγνωστος.

Ο διαβήτης και η νηστεία σχετίζονται με αυξημένη πρωτεϊνική διάσπαση, διαφέροντας θεμελιωδώς από τον φυσιολογικό πρωτεϊνικό καταβολισμό. Κατά κανόνα το *turnover* των μεγάλων πρωτεϊνών είναι πιο γρήγορο από αυτό των μικρών, οι όξινες πρωτεΐνες έχουν ταχύτερο από τις ουδέτερες ή βασικές πρωτεΐνες και οι γλυκοπρωτεΐνες έχουν ταχύτερο από τις μη γλυκοπρωτεΐνες. Αυτό το πρότυπο χάνεται η μειώνεται σε διαβητικά ή σε νηστεία ζώα, στους μύς και στο ήπαρ όπου όλοι οι τύποι πρωτεϊνών διασπώνται ισοδύναμα. Φαίνεται όμως ότι η διάσπαση είναι πιο ήπια όταν υπάρχει ήπιος διαβήτης. Η βαρύτητα λοιπόν του διαβήτη και το διατροφικό πρότυπο φαίνεται ότι μεταβάλλουν *in vivo* την διάσπαση της πρωτεΐνης στο ήπαρ.

3. Η ρύθμιση του turnover των ριβοσωμάτων

Τα ριβοσώματα είναι οι κεντρικές λειτουργικές μονάδες στις οποίες γίνεται η μετάφραση. Έτσι κάθε μεγάλη μεταβολή στο κυτταρικό περιεχόμενο συνοδεύεται από μια παράλληλη μεταβολή στην πρωτεϊνική σύνθεση. Αφού το rRNA αποτελεί >85% του ολικού κυτταρικού RNA μεταβολές στη σύνθεση του ολικού RNA θεωρούνται ως αντανάκλαση των μεταβολών στη σύνθεση του rRNA.

Ο σχηματισμός ριβοσωμάτων καθορίζεται από την ενσωμάτωση ραδιοσημασμένων αμινοξέων στις πρωτεΐνες του ριβοσωμικού κέντρου. Σε διαβητικά πειραματόζωα αναστέλλεται η σύνθεση της ριβοσωμικής πρωτεΐνης στον γαστροκνήμιο και στον καρδιακό μυ όχι όμως και στο ήπαρ. Η θεραπεία με ινσουλίνη των διαβητικών ζώων αυξάνει ταχέως τη σύνθεση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών με ρυθμό ταχύτερο από αυτό της συνολικής πρωτεΐνης^{49,27}. Το περιεχόμενό του μειούται με τη δημιουργία διαβήτη και ταχέως ανακάμπτει με τη χορήγηση ινσουλίνης.

Η ερμηνεία του μηχανισμού με τον οποίο η ινσουλίνη διεγείρει τον σχηματισμό ριβοσωμά-

των έρχεται από μελέτες σε μυοβλάστες ποντικού⁹⁵. Μελετήθηκαν τα mRNAs πολλών ριβοσωμικών πρωτεϊνών (S16,L18,L32). Αυτές πριν από τη χορήγηση της ινσουλίνης δεν είχαν την δυνατότητα να μεταφραστούν ενώ μεταφράστηκαν μετά από χορήγηση της ινσουλίνης αφού προηγουμένως αποκαταστάθηκαν στα πολυσώματα. Η ινσουλίνη επίσης αυξάνει την μεταγραφή του rRNA. Και οι δύο αυτές διαδικασίες διεγείρονται εντός 15' από τη χορήγηση της ινσουλίνης και δεν εξαρτώνται από τη δράση στη μεταγραφή του γόνου της ριβοσωμικής πρωτεΐνης ούτε από την σταθερότητα των mRNAs⁹⁵.

Πρέπει να υπάρχει μια συμμετοχή των προσταγλανδινών στη σύνθεση του PNA αφού η ινδομεθακίνη αναστέλλει την εκ της ινσουλίνης προκαλούμενη αύξηση στη σύνθεση του συνολικού RNA και στη συσσώρευση στους L6 μυοβλάστες. Οι αναστολές της κυκλοοξυγενάσης (ινδομεθακίνη, ιμبوπροφένη) αναστέλλουν τη συσσώρευση του συνολικού RNA L6 μυοβλαστών που προκαλείται από την ινσουλίνη καθώς και την ενσωμάτωση ραδιοσημασμένης κινιδίνης στο ριβοσωμικό RNA, με μικρή δράση στο βασικό ρυθμό σύνθεσης rRNA. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ο αραχιδονικός μεταβολίτης μπορεί να εμπλακεί στους μηχανισμούς σήματος μέσω των οποίων η ινσουλίνη διεγείρει την σύνθεση RNA στους μυοβλάστες^{96,97}.

Η διάσπαση των ριβοσωμάτων αυξάνεται στον διαβήτη και καταστέλλεται με την προσθήκη ινσουλίνης^{27,49}. Από τα λίγα που είναι γνωστά για τη διάσπαση των ριβοσωμάτων ή των συστατικών τους και του RNA φαίνεται ότι οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες και το tRNA έχουν τον ίδιο χρόνο ημίσειας ζωής υποδηλώνοντας ότι τα ριβοσώματα διασπώνται ως ενιαίες μονάδες στο ίδιο μακροαυτοφαγικό διαμέρισμα^{98,99}.

4. Ρύθμιση της έκφρασης γόνου

Ο διαβήτης αναστέλλει την πρωτεϊνοσύνθεση σε ποικίλους ιστούς με μείωση του αριθμού των ριβοσωμάτων και/ή της δραστηριότητάς τους. Αυτές οι μεταβολές θα ήταν λογικό να επηρεάσουν την σύνθεση όλων των πρωτεϊνών ισοδύναμα, ώστε οι σχετικοί ρυθμοί σύνθεσης ανεξάρτητων πρωτεϊνών να παραμένουν σταθερές παρά τη μειωμένη σύνθεση των ολικών πρωτεϊνών. Η θεραπεία με ινσουλίνη θα μπορούσε να αντιστρέψει αυτές τις δράσεις στη μεταφραστική

δραστηριότητα και ικανότητα να διεγείρουν την σύνθεση όλων των πρωτεϊνών ισοδύναμα. Εν τούτοις ο κατάλογος των πρωτεϊνών των οποίων η σύνθεση (είτε η διέγερση είτε η αναστολή) επηρεάζεται δυσανάλογα με την ινσουλίνη, αυξάνεται σταθερά και έχουν περιγραφεί πολλοί ινσουλινορρυθμιζόμενοι γόνου.

Μια από τις αρχές ενδείξεις δράσης της ινσουλίνης στη ρύθμιση μιας ειδικής πρωτεΐνης μέσω ρύθμισης της συγκέντρωσης του mRNA της προέρχεται από μελέτες σύνθεσης της λευκωματινής σε ήπαρ διαβητικών (με αλλοξάνη) ποντικών. Βρέθηκε λοιπόν ότι οι μεταβολές στο βαθμό σύνθεσης της λευκωματινής παρουσία ή απουσία ινσουλίνης, ήταν παράλληλες με τις μεταβολές στο mRNA της λευκωματινής.

Αυτή η μεταβολή στο επίπεδο του μυνήματος της λευκωματινής οφείλετο σε μια άμεση δράση της ινσουλίνης στη μεταγραφή του γόνου της λευκωματινής, ένα φαινόμενο που αποδείχθηκε και σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων^{100,101}.

Ένας αριθμός πρωτεϊνών για τις οποίες τα επίπεδα του mRNA ρυθμίζονται από την ινσουλίνη, έχουν μεταβολικές λειτουργίες που άμεσα συνδέονται με τις αναβολικές και καταβολικές δράσεις της ινσουλίνης. Για παράδειγμα η μεταγραφή των γόνων για τα γλυκολυτικά ένζυμα γλυκοκινάση και πυρουβική κινάση καθώς και για το λιπογενετικό ένζυμο συνθετάση του λιπαρού οξέος, διεγείρονται από την ινσουλίνη, ενώ το ένζυμο φωσφοενολπυρουβική καρβοξυκινάση (PEPCK) αναστέλλεται¹⁰²⁻¹⁰⁴. Ο ινσουλινορρυθμιζόμενος γλυκοζομεταφορέας GLUT-4 εκφράζεται αποκλειστικά στους μυς και τον λιπώδη ιστό, στις κύριες θέσεις πρόσληψης της γλυκόζης που είναι ινσουλινοεξαρτώμενες¹⁰⁵. Η θεραπεία των διαβητικών ποντικών με ινσουλίνη αντιστρέφει αυτό το φαινόμενο. Αυτή η δράση της ινσουλίνης είναι απόλυτα συμβατή με την αναβολική της δράση. Η ινσουλίνη δυνατόν να ρυθμίζει το mRNA ενός πλήθους πρωτεϊνών που μεταφέρουν τις λειτουργίες τους και εκφράζονται με μια ποικιλία ιστών. Τα επίπεδα mRNA π.χ. της λευκωματινής, της αμυλάσης, της αυξητικής ορμόνης και της α₂-σφαιρίνης ρυθμίζονται από την ινσουλίνη, όπως και της καζεΐνης και της λευκωματινής των αυγών που εμπλέκονται στην αναπαραγωγή και της δ-κρυσταλλίνης μιας δομικής πρωτεΐνης των φακών¹⁰⁶⁻¹¹³.

A. Μεταγραφή

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, οι ινσουλινοεξαρτώμενες μεταβολές στη σύνθεση αυτών των πρωτεϊνών αντανakλούν αντίστοιχες μεταβολές στη ποσότητα των mRNAs που κωδικοποιούν για τις πρωτεΐνες αυτές. Μεταβολές του ειδικού μυνήματος μπορεί να συμβούν κατά τη ρύθμιση ενός αριθμού σταδίων της οδού που οδηγεί από την μετάφραση του γόνου, στην εμφάνιση πλήρους μυνήματος στο κυτόπλασμα.

Το(α) σημείο(α) στα οποία παρεμβαίνει η ινσουλίνη είναι ακόμη άγνωστα αλλά για πολλούς γόνους η ρύθμιση φαίνεται να γίνεται στο επίπεδο της μεταγραφής^{114,115}. Οι στεροειδείς ορμόνες και το cAMP που αυξάνουν τη μεταγραφή του γόνου, το κάνουν με τη μεσολάβηση των πρωτεϊνών που δεσμεύουν το DNA του πυρήνα. Παρουσία και των τριών ρυθμιστικών ουσιών (ινσουλίνη, cAMP, γλυκοκορτικοειδή) η δράση της ινσουλίνης είναι η επικρατούσα. Ο ρόλος της ινσουλίνης έχει κλινικό ενδιαφέρον αφού η ινσουλίνη είναι ικανή να αναστείλει την γλυκονεογένεση σε καταστάσεις όπου η υπεργλυκαιμία σχετίζεται με το cAMP και η επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στο PEPCK μέσω της δράσης των ορμονών του stress¹¹⁶.

Η γλυκοκινάση η οποία παίζει κύριο ρόλο στη διατήρηση της γλυκόζης του αίματος εκφράζεται και στο ήπαρ (όπου η μεταγραφή διεγείρεται από την ινσουλίνη) και στο β-κύτταρο του παγκρέατος (όπου η δραστηκότητά του αυξάνεται από τη γλυκόζη). Ο γόνος της γλυκοκινάσης περιέχει δύο ξεχωριστές θέσεις ελέγχου. Μία που ρυθμίζει τη μεταγραφή του γόνου στο ήπαρ και μία στο β-κύτταρο. Το mRNA της γλυκοκινάσης στο β-κύτταρο είναι περίπου κατά 200 νουκλεοτίδια μακρύτερο από το αντίστοιχο του ήπατος. Αυτά τα mRNAs είναι όμοια με τη διαφορά στο 5' τελικό άκρο. Η ανομοιογένεια αυτή υποδηλώνει ότι μπορούν να αλληλεπιδρούν με διαφορετικούς παράγοντες μεταγραφής σε αντίστοιχους ιστούς¹¹⁷. Οι παράγοντες μεταγραφής στο ήπαρ μπορεί να είναι ινσουλινοεξαρτώμενοι.

B. Η σταθερότητα του mRNA

Η παρουσία συσσώρευσης των ειδικών mRNAs μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αυξημένης σταθερότητας του μεταγραφέντος mRNA. Η συγκέντρωση του mRNA του μαλικού ενζύμου είναι αυξημένη σε διαβητικά ποντίκια που θεραπεύονται με ινσουλίνη σε σχέση με μη θεραπευόμενα, αν και ο βαθμός μεταγραφής του γόνου εί-

ναι ο ίδιος και στις δύο καταστάσεις. Έτσι η συσσώρευση mRNA που ακολουθεί την θεραπεία με ινσουλίνη πρέπει να είναι αποτέλεσμα ενός μετα-μεταφραστικού σταδίου πιθανώς μέσω της αυξημένης σταθερότητας του mRNA¹¹⁸. Η ινσουλίνη και η γλυκόζη είναι και οι δύο απαραίτητες για την μεταγραφή του γόνου της L-τύπου πυροβικής κινάσης στα ηπατοκύτταρα ενήλικων ποντικών σε νηστεία και επίσης έχουν μια δραματική δράση στο χρόνο ημίσειας ζωής του mRNA αυτής της κινάσης αυξάνοντάς το σε 24 ώρες από μία ώρα, παρουσία γλυκογόνου το οποίο ανταγωνίζεται μερικώς τη δράση της ινσουλίνης¹¹⁹. Το αποτέλεσμα της σταθεροποίησης φαίνεται και σε κύτταρα ανθρώπινου νευροβλαστώματος σε καλλιέργεια όπου η ινσουλίνη, ενώ δεν μεταβάλλει τον ρυθμό μεταγραφής της α και β τουμπουλίνης έχουμε σχετική συσσώρευση αυτών. Η τουμπουλίνη είναι το κυριότερο συστατικό των μικροσωληναρίων και του κυτταρικού περιεχομένου και μπορεί να παίζει μεγάλο ρόλο στην αξονική και δενδριτική ανάπτυξη των νευρώνων¹²⁰.

Γ. Επιλεκτική μετάφραση των μεταγραφέντων στοιχείων

Όταν υπάρχει ινσουλίνη η ταχεία διέγερση της σύνθεσης πρωτεΐνης μπορεί να γίνει και με την επιστράτευση ανενεργών ριβοσωμικών υπομονάδων σε πολυσώματα δραστικά ως προς την μετάφραση^{121,122}.

Η διέγερση συμβαίνει στο επίπεδο της έναρξης της πεπτιδικής αλύσου και επιφέρει αύξηση στο ρυθμό της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Από πρόσφατες μελέτες φαίνεται ότι λιγότερο από 1% των πρωτεϊνών έχουν αυτή την ινσουλινοευσθησία στην ειδική μεταφραστική ρύθμιση. Ο μηχανισμός δράσης της ινσουλίνης στην επιλεκτική μετάφραση είναι άγνωστος, αλλά ίσως προσομοιάζεται με το σχήμα που περιγράφηκε για τη ρύθμιση της μετάφρασης του γόνου της φερριτίνης από τον σίδηρο, ο οποίος εμπλέκει την αλληλεπίδραση σιδηροανταποκρίσιμων πρωτεϊνών με διατηρημένες σειρές στις 5' αμετάφραστες περιοχές των βαρειών και ελαφρών αλύσεων του mRNA της φερριτίνης.

Υπάρχουν όμως αναφορές για πολλές ουσίες ότι η ινσουλίνη αυξάνει με τρόπο ανεξάρτητο της μεταγραφής την σύνθεση των ειδικών πρωτεϊνών με τρόπο όχι παράλληλο. Για παράδειγμα η ινσουλίνη διεγείρει την μετάφραση στα ηπατοκύτταρα του mRNA της συνθετάσης των λιπαρών οξέων χωρίς να επηρεάζει την συγκέντρωση του

mRNA των λιπαρών οξέων¹²³.

Ένα ακόμη παράδειγμα επιλεκτικής μετάφρασης έχουμε στους μυοβλάστες. Εκεί η ινσουλίνη ταχέως και επιλεκτικά αυξάνει την μετάφραση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών των mRNA με στρατολόγηση αδρανών ριβοσωμικών πρωτεϊνών σε δραστικά πολυσώματα⁹⁵.

Η σειρά των γεγονότων που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια μεταξύ της δέσμευσης του μορίου της ινσουλίνης από τον υποδοχέα της μέχρι την ανίχνευση έκφρασης δράσης της ινσουλίνης, δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινισθεί. Η β-υποομάδα του ινσουλινοειδούς υποδοχέα είναι μια πρωτεϊνική κινάση της τυροσίνης και μια άμεση δράση της σύνδεσης ινσουλίνης-υποδοχέα αποτελεί η ενεργοποίηση της κινάσης και η αυτοφωσφορυλίωση της β-υποομάδας. Η ενεργοποίηση της κινάσης της τυροσίνης φαίνεται ότι αποτελεί ένα επιτακτικό βήμα για τη μετάδοση του σήματος πολλών αν όχι όλων των φυσιολογικών δράσεων της ινσουλίνης. Επακόλουθα γεγονότα μπορεί να περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των κινάσων της σερίνης και/ή τη δημιουργία δευτέρου αγγελιοφόρου μορίου, ίσως μιας γλυκάνης της ινσοιτιλής.

Έχει δηλωθεί ότι η φωσφορυλίωση της S6 πρωτεΐνης που προκαλείται από την ινσουλίνη μπορεί να συμμετέχει στη διέγερση της πρωτεϊνικής σύνθεσης αν και η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης δεν διεγείρει πάντα παράλληλα ή δεν αναστέλλει την πρωτεϊνοσύνθεση^{124,125}. Οι προσταγλανδίνες PGF_{2a} και PGE₂ έχουν προταθεί ως πιθανοί ρυθμιστές της πρωτεϊνοσύνθεσης και της διάσπασης των πρωτεϊνών στους μυς αντίστοιχα^{126,128}, αν και δεν ήταν δραστικές σε καλλιέργειες μυοσωληναρίων¹²⁹. Η προτεινόμενη σύνδεση των προσταγλανδινών με την ινσουλίνη είναι μέσω μεταβολής στη δραστηριότητα της φωσφολιπάσης A₂ της πλασματικής μεμβράνης που απελευθερώνει αραχιδονικό οξύ, πρόδρομο των προσταγλανδινών από τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης. Μαζί με άλλες δράσεις της ινσουλίνης στη πλασματική μεμβράνη μπορεί να αδρανοποιεί και το ένζυμο αυτό.

Είναι γνωστό ότι τα κύτταρα εσωτερικοποιούν την ινσουλίνη. Έτσι η ινσουλίνη πιθανώς παίζει έναν άμεσο ρόλο στην ενδοκυττάριο ρύθμιση της πρωτεϊνοσύνθεσης. Υπάρχουν παραδείγματα ότι η ινσουλίνη συγκεντρώνεται σε διάφορους πυρήνες (3T3-L1 λιποκύτταρα, H35 ηπατοκύτταρα) και τοποθετείται στο τμήμα της πυρηνικής μεμβράνης¹³⁰. Το τμήμα αυτό φαίνεται

να εμπλέκεται σε έναν αριθμό πυρηνικών διεργασιών που περιλαμβάνουν την μεταγραφή του RNA¹³¹, και μία ποικιλία ρυθμιστών της έκφρασης του γόνου π.χ. οι υποδοχείς των στεροειδών ορμονών φαίνεται να σχετίζονται με το γεγονός αυτό. Με δεδομένα αυτά τα γεγονότα φαίνεται ότι η ινσουλίνη μπορεί από μόνη της να αλληλεπιδράσει άμεσα με κάποια συστατικά της μετάφρασης¹³¹.

Συμπεράσματα

Η ινσουλίνη έχει μια έντονη δράση στο πρωτεϊνικό turnover από όπου εξάγεται και ο ρόλος της ως διεγέρτου της πρωτεϊνοσύνθεσης και αναστατή της πρωτεϊνικής διάσπασης. Σε καταστάσεις όπου υπάρχει έλλειψη ινσουλίνης (IDDM) ή όταν η συγκέντρωση στο πλάσμα είναι μειωμένη (πείνα) η ολική σωματική πρωτεΐνη είναι μειωμένη με συνέπεια τη φθορά των μυών.

Το *in vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι η ινσουλίνη διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση και αναστέλλει την πρωτεόλυση. Οι δράσεις αυτές έχουν επιβεβαιωθεί σε ανθρώπους και ζώα με έλλειψη ινσουλίνης. Δεν διευκρινίστηκε πλήρως ο ρόλος της ινσουλίνης σε υγιείς ανθρώπους. Κάτω από αυτές τις συνθήκες σημαντικό ρόλο παίζει η ικανότητα του υποστρώματος (αμινοξέα) και ίσως αυτός ο ρόλος να είναι πιο ενδιαφέρων από αυτόν της ινσουλίνης στη ρύθμιση της πρωτεϊνοσύνθεσης. Η αντιπρωτεολυτική δράση της ινσουλίνης μπορεί να αποδειχθεί σε υγιείς ανθρώπους και ζώα και ως εκ τούτου φαίνεται ότι κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η ινσουλίνη ρυθμίζει το πρωτεϊνικό ισοζύγιο μέσω της δράσης της στο καταβολικό σκέλος της εξίσωσης.

Σε *in vitro* συστήματα μπορούμε να απομονώσουμε τη δράση της ινσουλίνης από την δράση άλλων ορμονών για την εξαγωγή συμπερασμάτων. Σε άθικτους όμως οργανισμούς η ινσουλίνη δεν δρα από μόνη της αλλά σε συνδυασμό με άλλες ρυθμιστικές ουσίες πολλές από τις οποίες ανταγωνίζονται τη δράση της ινσουλίνης. Η συγκέντρωση στο πλάσμα ενός αριθμού τέτοιων ουσιών όπως γλουκαγόνη, γλυκοκορτικοειδών, αμινοξέων με πλευρικές αλυσίδες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της έλλειψης ινσουλίνης. Όλα αυτά τα γεγονότα περιπλέκουν την ερμηνεία των μελετών στο επίπεδο του συνολικού οργανισμού. Παραμένουν λοιπόν πολλές ερωτήσεις που πρέπει να απαντηθούν οι οποίες θα καθορίσουν στο

μέλλον την κατεύθυνση της έρευνας και θα βοηθήσουν στην κατανόηση του μοριακού μηχανισμού δράσης της ινσουλίνης στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών με τελικό στόχο τη πλήρη διευκρίνιση των γεγονότων που συμβαίνουν κατά τον διαβήτη στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών¹³².

Εξ άλλου όσα αναφέρθηκαν αφορούν στον διαβήτη τύπου 1 όπου οι συνέπειες της έλλειψης ινσουλίνης στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών είναι και δραματικές και έχουν περιγραφεί με λεπτομέρειες. Για τον διαβήτη όμως τύπου 2 παρ' όλο που είναι πιο κοινός οι συνέπειές του στον συνολικό μεταβολισμό έχουν ελάχιστα μελετηθεί. Μια εικόνα που δημιουργείται από μια ποικιλία δεικτών του πρωτεϊνικού μεταβολισμού (σύνθεση σώματος, ισοζύγιο αζώτου, απέκκριση 3-methylhistidine, αζινοξέα κυκλοφορίας, κινητική αμινοξέων και αζώτου του συνολικού σώματος), αναπαριστούν μια λογική και σταθερή άποψη για τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών στον τύπο αυτό του διαβήτη¹³³. Η άποψη αυτή αντανακλά την έντονη διαφορά που υπάρχει μεταξύ των δύο τύπων του διαβήτη^{133,134} που εκφράζεται στον μεν τύπου 1 διαβήτη με την ταχεία πρωτεϊνική φθορά, στον δε τύπου 2 διαβήτη με τη μακρά επιβίωση παρουσία υπεργλυκαιμίας και σχετικής έλλειψης ινσουλίνης.

Summary

Skaragkas G. Protein metabolism in diabetes mellitus. *Hellen Diabetol Chron* 1999; 2: 109-126.

The presence of diabetes mellitus can affect protein metabolism and insulin is a key regulator of the response to nutrient intake in achieving net protein retention. This consequence of diabetes has been demonstrated using a number of different approaches. Insulin deprivation in type 1 diabetes is associated with elevated rates of leucine turnover and oxidation that are not completely corrected by conventional insulin therapy. The plasma concentration of amino acids may be more important than insulin as a regulator of protein synthesis. Substances as glucagon, glucocorticoids, branched-chain amino acids which affect protein metabolism are altered during the insulin deficient state, complicating the interpretation of studies of protein metabolism at the level of the whole organism. These underscore the critical need for in vivo human

studies to fully elucidate the metabolic alterations associated with diabetes mellitus.

Βιβλιογραφία

1. Frank LL. Diabetes mellitus in the text book of old Hindu medicine. *Am J Gastroenterol* 1957; 27: 76-95.
2. Reed JA. Aretaeus, the Cappadocian. *Diabetes* 1954; 3: 419-421.
3. Osler W. Practice of Medicine. New York: D. Appleton and Co 1895: 320-330.
4. Geyelin HR, et al. The use of insulin in juvenile diabetes. *J Metab Res* 1922; 11: 767-791.
5. Forker LL, Chaikoff IL, Enterman C, Tarver H. Formation of muscle protein in diabetic dogs. *J Biol Chem* 1961; 188: 37-48.
6. Τρακατέλης Α. Μεταγραφή του DNA στο Βιοχημία Εκδ. Κυριακίδη Θεσσαλονίκη 1988: 724-738.
7. Mortimore GE, Poso AL, Lardeux BR. Mechanism and regulation of protein degradation in liver. *Diabetes Metab Rev* 1989; 5: 49-70.
8. Dice JF. Molecular determinants of protein half-lives in eukaryotic cells. *FASEB J* 1987; 1: 349-357.
9. Glaumann H, Ericson JLE, Marzella L. Mechanisms of intralysosomal degradation with special reference to autophagocytosis and heterophagocytosis of cell organelles. *Int Rev Cytol* 1981; 73: 149-182.
10. Finley D, Varshavsky A. The Ubiquitin system: functions and mechanisms. *Trends Biochem Sci* 1985; 10: 343-347.
11. Herskko A. Ubiquitin-mediated protein degradation. *J Biol Chem* 1988; 263: 1523-1624.
12. Ciechanover A, Schwartz AL. How are substrates recognized by the ubiquitin-mediated proteolytic system? *Trends Biochem Sci* 1989; 14: 483-488.
13. Boches F, Goldberg AL. Role for ATP-dependent proteolytic pathway in reticulocyte maturation. *Science* 1982; 215: 978-980.
14. Gronostajski R, Pardee A, Goldberg AL. The ATP-dependence of the degradation of short and long-lived proteins in growing fibroblasts. *J Biol Chem* 1985; 260: 3344-3349.
15. Pontremoli S, Melloni E. Extralysosomal protein degradation. *Annu Rev Biochem* 1986; 55: 455-481.
16. Davies KJA, Goldberg AL. Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extract of red blood cells. 1997; 262: 8227-8234.
17. Mathews W, Driscoll J, Tanaka K, et al. Involvement of the proteasome in different degradative processes in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 2597-2601.
18. Mortimore KG, Kadowaki M, Heydrick SJ. The autophagic pathway in liver: its regulation on the role on macromolecular turnover. In Smith-Gordon: Protein metabolism in diabetes mellitus. K. Sreekumaran Nair(ED) 1992: 125-138.
19. Jefferson LS, Flaim KE, Peavy DE. Effect of insulin on

- protein turnover. In: Brownlee M, ed. Handbook of diabetes mellitus: biochemical pathology. Vol 4. New York: Garland Press 1981: 133-177.
20. Pain VM, McNurlan MA, Albertse EC, et al. Effect of streptozotocin diabetes on protein synthesis in the liver, kidney and intestinal mucosa of young rats (Abstract). Proc Nutr Soc 1978; 37(3): 104A.
 21. McNurlan MA, Garlick PJ. Protein synthesis in liver and small intestine deprivation and diabetes. Am J Physiol 1981; 241: E238-245.
 22. Ross J, Goldman JK. Effect of streptozotocin-induced diabetes on kidney weight and compensatory hypertrophy in the rat. Endocrinology 1971; 88: 1079-1081.
 23. Ingle DJ, Prestrud MC, Nezamis JE. The effect of insulin upon the liver of blood amino acids in the eviscerated rat as related to the level of blood glucose. Am J Physiol 1947; 150: 682-685.
 24. Hait G, Kypson J, Masich R. Amino acid incorporation into myocardium: effect of insulin, glucagon and dibutyryl 3', 5'-AMP. Am J Physiol 1972; 222: 404-408.
 25. Stirewalt WS, Low RB, Sleiby JM. Insulin sensitivity and responsiveness of epitrochlearis and soleus muscles from fed and starved rats: recognition of differential changes in insulin sensitivities of protein synthesis and glucose incorporation into glycogen. Biochem J 1985; 227: 355-362.
 26. Fulks RM, Li JB, Goldberg AL. Effects of insulin, glucose, and amino acids on protein turnover in rat diaphragm. J Biol Chem 1975; 260: 290-298.
 27. Ashford AJ, Pain VM. Insulin stimulation of growth in diabetic rats synthesis and degradation of ribosomes and total tissue protein in skeletal muscle and heart. J Biol Chem 1986; 261: 4066-70.
 28. Odedra BR, Dalal SS, Millward DJ. Muscle protein synthesis in the streptozotocin diabetic rat: a possible role for corticosterone in the insensitivity infusions in vivo. Biochem J 1982; 202: 363-368.
 29. Garlick PJ, Fern M, Preedy VR. The effect of insulin infusion and food intake on muscle protein synthesis in postabsorptive rats. Biochem J 1983; 210: 669-676.
 30. Guidotti GG, Borghetti AF, Gazzola GC. The regulation of amino acid transport in animal cells. Biochim Biophys Acta 1978; 515: 329-366.
 31. Marsh JB. Effects of fasting and alloxan diabetes on albumin synthesis by perfused rat liver. Am J Physiol 1961; 201: 55-57.
 32. Wagle SR, Sampson L. Studies on the differential response to insulin on the stimulation of amino acid incorporation into protein in isolated hepatocytes containing different levels of glycogen. Biochem Biophys Res Commun 1975; 64: 72-80.
 33. Pain VM, Lanoix J, Bergerson JJM, Clemens MJ. Effect of diabetes on the ultrastructure of the hepatocyte and on the distribution and activity of ribosomes in the free and membrane-bound population, Biochim Biophys Acta 1974; 353: 487-498.
 34. Jefferson LS, Liao MSL, Peavy DE, et al. Diabetes-induced alterations in liver protein synthesis: changes in the relative abundance of mRNAs for albumin and other plasma proteins. J Biol Chem 1983; 258: 1369-1375.
 35. Stanchfield JE, Yager JD, Jr. Insulin effects on protein synthesis and secretion in primary cultures of amphibian hepatocytes. J Cell Physiol 1979; 10: 279-289.
 36. Ingebretsen WR Jr, Moxley MA, Allen DO, Wagle SR. Studies on gluconeogenesis, protein synthesis and cyclic AMP levels in isolated parenchymal cells following insulin with drawal from alloxan diabetic rats. Biochem Biophys Res Commun 1972; 49: 601-607.
 37. Curfman GD, O'Hara DS, Hopkins BE, Smith TW. Suppression of myocardial protein degradation in the rat during fasting: effects of insulin, glucose and leucine. Circ Res 1980; 46: 581-589.
 38. Jefferson LS, Rannels DE, Munger BI, Morgan HE. Insulin in the regulation of protein turnover in heart and skeletal muscle. Fed Proc 1974; 33: 1098-1104.
 39. Gurve EA, Dice JF. Regulation of protein synthesis and degradation in L8 myotubes effects of serum, insulin and insulin-like growth factors. Biochem J 1989; 260: 377-387.
 40. Frelin C. The regulation of protein turnover in newborn rat heart cell cultures. J Biol Chem 1980; 255: 11149-11155.
 41. Ballard FJ, Francis GL. Effects of anabolic agents on protein breakdown in L6 myoblasts. Biochem J 1983; 210: 243-249.
 42. Ashford AJ, Pain VM. Effects of diabetes on the rates on synthesis and degradation of ribosomes in rat muscle and liver in vivo. J Biol Chem 1986; 261: 4059-65.
 43. Dice JF, Walker CD, Yrre B, Cardiel A. General characteristics of protein degradation in diabetes and starvation. Proc Natl Acad Sci USA 1978; 75: 2093-2097.
 44. Huszar G, Koivisto V, Davids E, Gelig P. Urinary 3-methyl-histidine excretion in juvenile-onset diabetics: evidence of increased protein catabolism in the absence of ketoacidosis. Metabolism 1982; 31: 188-191.
 45. Millward DJ, Garlick PJ, Nnanyelugo DO, Waterlow KC. The relative importance of muscle protein synthesis and breakdown in the regulation of muscle mass. Biochem J 1976; 156: 185-188.
 46. Abou-Mourad NN, Jefferson LS, Rannels SR, et al. Effects of acute insulin deficiency on leucine kinetics in conscious dogs (Abstract No 201). Diabetes 1980; 29(Suppl 2): 51A.
 47. Lowell BB, Ruderman NB, Goodman MN. Evidence that lysosomes are not involved in the degradation of myofibrillar proteins in rat skeletal muscle. Biochem J 1986; 234: 237-240.
 48. Smith DM, Sugden PH. Contrasting response of protein degradation to starvation and insulin as measured by release of N-methylhistidine or phenylalanine from the perfused rat heart. Biochem J 1986; 237: 391-395.
 49. Mac Lennan PA, Smith K, Weryk B, et al. Inhibition of protein breakdown by glutamine in perfused rat skeletal muscle. FEBS Lett 1988; 237: 133-136.

50. Neely AN, Cox JR, Fortney JA, et al. Alterations of lysosomal size and density during rat liver perfusion: suppression by insulin and amino acids. *J Biol Chem* 1977; 252: 6948-6954.
51. Mortimore GE, Poso AR, Kadowaki M, Wert JJ Jr. Multiphasic control of hepatic protein degradation by regulatory amino acids: general features and hormonal modulation. *J Biol Chem* 1987; 262: 16322-16327.
52. Millward DJ, Bates PC, Brown JG, et al. Role of thyroid, insulin and corticosteroid hormones in the physiological regulation of proteolysis in muscle. In: Khairallah EA, Bond JS, Bird JWC, eds. *Intracellular protein catabolism*. New York: Alan R Liss 1985: 531-542.
53. Tischler ME. Hormonal regulation of protein degradation in skeletal and cardiac muscle. *Life Sci* 1981; 28: 2569-2576.
54. Nair KS, Garrow JS, Ford C, et al. Effect of poor diabetic control and obesity on whole body protein metabolism in man. *Diabetologia* 1983; 25: 400-403.
55. Fukagawa NK, Minaker KL, Rowe JW, et al. Insulin-mediated reduction of whole body protein breakdown: dose-response effects on leucine metabolism in postabsorptive men. *J Clin Invest* 1985; 76: 2306-2311.
56. Tessari P, Nosadini R, Trevisan R, et al. Defective suppression by insulin of leucine-carbon appearance and oxidation in type 1, insulin resistance involving glucose and amino acid metabolism. *J Clin Invest* 1986; 77: 1797-1804.
57. Robert JJ, Beaufrere B, Koziet J, et al. Whole body de novo amino acid synthesis in type 1 (insulin-dependent) diabetes studied with stable isotope-labeled leucine alanine, and glycine. *Diabetes* 1985; 34: 67-73.
58. Umpleby AM, Boroujerdi MA, Brown PM, et al. The effect of metabolic control of leucine metabolism in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1986; 29: 131-141.
59. Tessari P, Trevisan R, Inchiostro S, et al. Dose-response curves of effects of insulin on leucine kinetics in humans. *Am J Physiol* 1986; 251: E334-342.
60. Nair KS, Ford GC, Halliday D. Effect of intravenous insulin treatment on in vivo whole body leucine kinetics and oxygen consumption in insulin-deprived type 1 diabetic patients. *Metabolism* 1987; 36: 491-495.
61. Gelfand RA, Barrett EJ. Effect of physiologic hypersulinemia on skeletal muscle protein synthesis and breakdown in man. *J Clin Invest* 1987; 80: 1-6.
62. Fukagawa NK, Minaker KL, Young VR, Rowe JW. Insulin dose-dependent reductions in plasma amino acids in man. *Am J Physiol* 1986; 250: E13-17.
63. Castellino P, Luzi L, Simonsin DC, et al. Effect of insulin and plasma amino acid concentrations on leucine metabolism in man: role of substrate availability on estimates of whole body protein synthesis. *J Clin Invest* 1987; 80: 1785-1793.
64. Tessari P, Inchiostro S, Biolo G, et al. Differential effects of hyperinsulinemia and hyperaminoacidemia on leucine carbon metabolism in vivo: evidence for distinct mechanisms in regulation of net amino acid deposition. *J Clin Invest* 1987; 79: 1062-1069.
65. Fukagawa NK, Minaker KL, Young VR, et al. Leucine metabolism in aging humans: Effect of insulin and substrate availability. *Am J Physiol* 1989; 256: E288-294.
66. Bennett WM, Connacher AA, Scringeur CM, et al. Euglycemic hyperinsulinemia augments amino acid uptake by human leg tissues during hyperaminoacidemia. *Am J Physiol* 1990; 259: E185-194.
67. Bennett WM, Connacher AA, Smith K, et al. Inability to stimulate skeletal muscle or whole body protein synthesis in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients by insulin-plus-glucose during amino acid infusion: studies of incorporation and turnover of tracer L-(1-13 C) leucine. *Diabetologia* 1990; 33: 43-51.
68. Nair KS, Read WWC, Ford GC, Halliday D. Insulin withdrawal does not reduce skeletal muscle protein synthesis in type 1 diabetic patients. *Diabetes* 1984; 33: 623A.
69. Nair KS. Hperglycagonemia increases resting metabolic rate in man during insulin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 896-901.
70. Pacy PJ, Nair KS, Ford C, Halliday D. Failure of insulin infusion to stimulate fractional muscle protein synthesis in type 1 diabetic patients. *Diabetes* 1989; 38: 618-624.
71. Jefferson LS. Role of insulin in the regulation of protein synthesis. *Diabetes* 1980; 29: 487-496.
72. McNurlan MA, Garlick PJ. Protein synthesis in liver and small intestine in protein deprivation and diabetes. *Am J Physiol* 1981; 241: E238-245.
73. Pain VM, Garlick PJ. Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on the rate of protein synthesis in tissues of the rat in vivo. *J Biol Chem* 1974; 249: 4510-4514.
74. Pain VM, Albertse EC, Garlick PJ. Protein metabolism in skeletal muscle, diaphragm and heart of diabetic rats. *Am J Physiol* 1985; 245: E604-610.
75. DeFeo P, Giasamo MG, Haymond MW. Differential effects of insulin deficiency on albumin and fibrinogen synthesis in humans. *J Clin Invest* 1991; 88: 883-840.
76. Luzi L, Casyellino P, Simonson DC, et al. Leucine metabolism in IDDM: role of insulin and substrate availability. *Diabetes* 1990; 39: 38-48.
77. Nair KS, Halliday D, Matthews DE, Welle SL. Hyperglycagonemia during insulin deficiency accelerates protein catabolism. *Am J Physiol* 1987; 252: E208-213.
78. Jacob R, Barrett E, Plewe G, et al. Acute effects of insulin-like growth factor 1 on glucose and amino acid metabolism in the awake fasted rat. *J Clin Invest* 1989; 83: 1717.
79. Kostyo JL, Reagan CR. The biology of growth hormone. *Pharmacol Ther Bull* 1976; 22: 591.
80. Jefferson LS, Li JB, Rannels SR. Regulation by insulin of amino acid release and protein turnover in the per-

- fused rat hemicorpus. *J Biol Chem* 1977; 252: 1476-1483.
81. Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan HE. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol* 1967; 212: 804-814.
 82. Flaim KE, Copenhaver ME, Jefferson LS. Effects of diabetes on protein synthesis in fast and slow-twitch rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1980; 239: E88-95.
 83. Rannels DE, Hjalmarson AC, Morgan HE. Effects of monosaccharide substrates on protein synthesis in muscle. *Am J Physiol* 1974; 226: 5280-5539.
 84. Jefferson LS, Koehler JO, Morgan HE. Effect of insulin on protein synthesis in skeletal muscle of an isolated perfused preparation of rat hemicorpus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 816-820.
 85. Jefferson LS, Robertson JW, Schworer CM. Effects of insulin and diabetes on hepatic protein turnover [Abstract] *Diabetes* 1973; 22 (Suppl 1): 321.
 86. Tragl KH, Reaven GM. Effect of insulin deficiency on hepatic ribosomal aggregation. *Diabetes* 1972; 21: 84-88.
 87. Pilkis SJ, Korner A. Effect of diabetes and insuline treatment on protein synthetic activity of rat liver ribosomes. *Biochem Biophys Acta* 1971; 247: 597-608.
 88. Wittman JS III, Lee K-L, Miller ON. Dietary and hormonal influences on rat liver polysome profiles: fat, glucose and insulin. *Biochim Biophys Acta* 1969; 174: 536-543.
 89. Pain VM. Protein synthesis in a postmitochondrial supernatant system from rat liver. An effect of diabetes at the level of peptide chain initiation. *FEBS Lett* 1973; 35: 169-172.
 90. Williams IH, Chua BH, Sahms RH, et al. Effects of diabetes on proteion turnover in cardiac muscle. *Am J Physiol* 1980; 239: E178-185.
 91. Neely AN, Nelson PB, Mortimore GE. Osmotic alterations of the lysosomal system during rat liver perfusion: reversible suppression by insulin and amino acids. *Biochim Biophys Acta* 1974; 338: 458-472.
 92. Ward WF, Cox JR, Mortimore FE. Lysosomal sequestration of intracellular protein as a regulatory step in hepatic proteolysis. *J Biol Chem* 1977; 252: 6955-6961.
 93. Mortimore GE, Schworer CM. Induction of autophagy by amino-acid deprivation in perfused rat liver. *Nature* 1977; 270: 174-176.
 94. Long WM, Chua BHL, Munger BL, Morgan HE. Effects of insulin on cardiac lysosomes and protein degradation. *Fed Proc* 1984; 43: 1295-1300.
 95. Hammond ML, Bowman LH. Insulin stimulates the translation of ribosomal proteins and the transcripton of rRNA in mouse myoblasts. *J Biol Chem* 1988; 263: 17785-17791.
 96. Palmer RM, Bain PA. Indomethacin inhibits the insulin-induced increases in RNA and protein synthesis in L6 skeletal muscle myoblasts. *Prostaglandins* 1989; 37: 193-203.
 97. Palmer RM, Campbel GP, Whitelaw PF, et al. The cyclo-oxygenase inhibitors indomethacin and ibuprofen inhibit the insulin-induced stimulation of ribosomal RNA synthesis in L6 Myoblasts. *Biochem J* 1989; 264: 101-106.
 98. Hirsch CA, Hiatt HH. Turnover of liver ribosomes in fed and in fasted rats. *J Biol Chem* 1966; 241: 5936-5940.
 99. Lardeyx BR, Mortimore GE. Amino acid and hormonal control of macromolecular turn over in perfused rat liver: evidence for selective autophagy. *J Biol Chem* 1987; 262: 14514-14519.
 100. Peavy DE, Taylor JM, Jefferson LS. Correlation of albumin production rates and albumin mRNA levels in livers of normal, diabetic and insulin-treated diabetic rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 5879-5883.
 101. Lloyd CE, Kalinyak JE, Hutson SM, Jefferson LS. Stimulation of albumin gene transcription by insulin in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1987; 252: C205-214.
 102. Noguchi T, Inoue H, Tanaka T. Transcriptional and post-transcriptional regulation of L-type pyruvate kinase in diabetic rat liver by insulin and dietary fructose. *J Biol Chem* 1985; 260: 14394-14397.
 103. Pry TA, Porter JW. Control of fatty acid synthetase mRNA levels in rat liver by insulin, glycagon, Dibutyl cyclic AMP. *Biochim Biophys Res Commun* 1981; 100: 1002-1009.
 104. Franner D, Andreone T, Sasaki K, Beale E. Inhibition of transcription of the phosphoenlpyruvate carboxykinase gene by insulin. *Nature* 1983; 305: 549-551.
 105. Garvey WT, Hueckstredt TP, Birnbaum MJ. Pretranslational suppression of an insulin-response glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science* 1989; 245: 60-63.
 106. Iynedjian PB, Gjinovei A, Renold AE. Stimulation by insulin of glucokinase gene transcription in liver of diabetes rats. *J Biol Chem* 1988; 262: 740-744.
 107. Plant PW, Deeley RG, Grieninger G. Selective block of albumine gene expression in chick embryo hepatocytes cultured without hormones and its partial reversal by insulin. *J Biol Chem* 1983; 258: 15355-15369.
 108. Korc M, Owarbach D, Quinto C, Rutter WJ. Pancreatic islet-acinar cell interaction: amylase messenger RNA levels are determind by insulin. *Science* 1981; 213: 351-353.
 109. Melmed S, Neilson L, Slanina S. Insulin suppresses rat growth hormone messenger ribonucleic acid levels in rat pituitary tumor cells. *Diabetes* 1985; 34: 409-412.
 110. Roy AK, Chatterjee B, Prasad MSK, Unakar NJ. Role of insulin in the regulation of the hepatic messenger RNA for $\alpha_2\mu$ -globulin in diabetic rats. *J Biol Chem* 1980; 255: 11614-11618.
 111. Evans MI, McKnight GS. Regulation of the ovalbumin gene: effects of insulin adenine 3',5'-monophosphate, estrogen. *Endocrinology* 1984; 115: 368-377.
 112. Chomczynski P, Oasba P, Topper YJ. Essential role of insulin in Transcription of rat 25,000 molecular

- weight casein gene. *Science* 1984; 226: 1326-1328.
113. *Milstone LM, Piatigorsky I.* k-Crystallin gene expression in embryonic chick lens epithelia cultured in the presence of insulin. *Exp Cell Res* 1977; 105: 9-14.
 114. *Meisler MH, Howard G.* Effects of insulin on gene transcription. *Annu Rev Physiol* 1989; 51: 701-714.
 115. *Dillman WH.* Diabetes mellitus-induced changes in the concentration of specific mRNAs and proteins. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 789-797.
 116. *Sasaki K, Kripe TP, Koch SR, et al.* Multihormonal regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene transcription: the dominant role of insulin. *J Biol Chem* 1984; 259: 15242-15251.
 117. *Magnuson MA.* Glucokinase gene structure: functional implication of molecular genetic studies. *Diabetes* 1990; 39: 523-7.
 118. *Davis BB, Magge S, Mucenski CG, Drake RL.* Insulin-mediated post-transcriptional regulation of hepatic malic enzyme and albumin mRNAs. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154: 1081-1087.
 119. *Decuax J-F, Antoine B, Kahn A.* Regulation of the L-type pyruvate kinase gene in adult rat hepatocytes in primary culture. *J Biol Chem* 1989; 264: 11584-11590.
 120. *Fernyhough P, Mill JF, Roberts JL, Ishii DN.* Stabilization of tubulin mRNAs by insulin and insulin-like growth factor 1 during neurite formation. *Brain Res Mol Brain Res* 1989; 6: 109-120.
 121. *Lyons RT, Nordeen SK, Young DA.* Effects of fasting and insulin administration on polyribosome formation in rat epididymal fat cells. *J Biol Chem* 1980; 255: 6330-6334.
 122. *Wooll G, Castles JJ, Leader DP, Fox A.* Insulin and the function of muscle ribosomes. In: Steiner DF, Freinkel N, eds. *Handbook of physiology, Section 7 Vol 1.* Endocrinology. Washington DC: American Physiological Society 1972: 385-394.
 123. *Wilson SB, Back DW, Morris SM, Jr et al.* Hormonal regulation of lipogenic enzymes in chick embryo hepatocytes in culture: expression of the fatty acid synthase gene is regulated at both translational steps. *J Biol Chem* 1986; 261: 15179-15182.
 124. *Gressner AM, Wool IG.* The stimulation of the phosphorylation of ribosomal protein S6 by cycloheximide and puromycin. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 60: 1482-1490.
 125. *Gressner AM, Wool IG.* Effect of experimental diabetes and insulin on phosphorylation of rat liver ribosomal protein S6. *Nature* 1976; 259: 148-150.
 126. *Reeds PJ, Palmer RM.* The possible involvement of prostaglandin E2a in the stimulation of muscle protein synthesis by insulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 116: 1084-1090.
 127. *Reeds PJ, Hay SM, Glennie RT, et al.* The effect of indomethacin on the stimulation of protein synthesis by insulin in goyng post-absorptive rats. *Biochem J* 1985; 227: 255-261.
 128. *Goldberg AL, Baracos V, Rodeman P, et al.* Control of protein degradation in muscle by prostaglandins, Ca²⁺, leukocytic pyrogen (interleukin 1). *Fed Proc* 1984; 43: 1301-1316.
 129. *Mc Elligott MA, Chuang L-Y, Baracos V, Gulve EA.* Prostaglandin production in myotube cultures: influence on protein turnover. *Biochem J* 1988; 253: 745-749.
 130. *Thompson KA, Peralta Soler A, Smith RM, Jarrett L.* Intranuclear localization of insulin in rat hepatoma cells: insulin/matrix association. *Eur J Biol* 1989; 50: 442-446.

Λέξεις κλειδιά:

Σακχαρώδης διαβήτης
μεταβολισμός πρωτεϊνών

Key words:

Diabetes mellitus
protein metabolism