

a cura di Giuseppe Defeudis

Policlinico Universitario Campus Bio-Medico di Roma

Fallimento β -cellulare nel diabete mellito di tipo 1 e di tipo 2: esistono meccanismi comuni? *B-cell jamming in type 1 and type 2 diabetes: are there common mechanisms?*

Nicola Marrano, Giuseppina Biondi, Francesco Giorgino, Annalisa Natalicchio

Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Università degli Studi di Bari Aldo Moro

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2202g>

ABSTRACT

Type 1 diabetes (T1D) and type 2 diabetes (T2D) are two distinct diseases, with different etiology and pathogenesis, but with a common outcome (hyperglycemia), caused by almost complete loss of or reduced β -cell functional mass, respectively. Although the causes that lead to β -cell failure are different (typically immune-mediated for T1D, while related to metabolic stress for T2D), the underlying molecular pathways are somewhat similar in both forms of diabetes. In this review we try to highlight common molecular mechanisms of β -cell damage in T1D and T2D, which could suggest new promising common therapeutic targets.

KEYWORDS

Pancreatic β -cell; type 1 diabetes; type 2 diabetes; β -cell dysfunction; β -cell functional mass.

INTRODUZIONE

Il Diabete Mellito di Tipo 1 (DMT1) e di Tipo 2 (DMT2) sono da sempre considerate due patologie distinte per eziologia e per patogenesi, ma accomunate da uno stesso fattore patogenetico che ne determina l'insorgenza e l'evoluzione: la progressiva perdita di massa e funzione delle β -cellule pancreatiche, che si verifica in seguito a processi di morte cellulare e difetti secretori, esitando nell'iperglicemia, outcome clinico comune. Se nel DMT1 questa perdita è mediata dal sistema immunitario ed è quasi totale, nel DMT2 essa è dovuta principalmente a uno stress di natura metabolica, di grado variabile e associata a insulino-resistenza periferica (1) (Fig. 1).

Il DMT1 è infatti una patologia autoimmune nella quale le cellule del sistema immunitario, riconoscendo come estranei antigeni presenti sulle β -cellule pancreatiche, si infiltrano nell'isola e secernono localmente citochine pro-infiammatorie, dando luogo ad un processo infiammatorio definito insulite, che inizia e sostiene la distruzione e la disfunzione delle β -cellule (2). Questi eventi si verificano in soggetti geneticamente predisposti e sono innescati o accelerati da agenti ambientali (ad esempio infezioni virali, dieta, tossine) (2-3). Nel DMT2, invece, il danno β -cellulare può essere determinato da diversi fattori metabolici, primi tra tutti l'infiammazione cronica sistemica di basso grado, l'iperglicemia e l'iperlipidemia che conseguono alle condizioni di obesità e insulino-resistenza (4-5). L'obesità, infatti, è caratterizzata dalla saturazione della normale capacità del tessuto adiposo di immagazzinare un eccesso di trigliceridi, colesterolo e acidi grassi liberi derivati dalla dieta. Questo determina un aumento dei livelli plasmatici di lipidi e il loro accumulo ectopico in diversi tessuti, compreso il pancreas (6). A seconda della diversa suscettibilità genetica esi-

stente tra gli individui, l'eccesso di grassi può portare all'accumulo di derivati metabolici tossici per le β -cellule (ad es. ceramidi, diacilglicerolo e acil-coA), una condizione definita lipotossicità (6). L'obesità è inoltre spesso caratterizzata da uno stato infiammatorio cronico di basso grado del tessuto adiposo, che favorisce l'insulino-resistenza e la produzione di citochine pro-infiammatorie (adipochine) che possono essere rilasciate in circolo e raggiungere il pancreas. D'altro canto, l'iperglicemia derivante dalla condizione di insulino-resistenza, legata o meno all'obesità, può essere a sua volta deleteria per le β -cellule pancreatiche (glucotossicità), in quanto in grado di alterare la produzione e la secrezione di insulina e causare perdita di massa β -cellulare (7-8). Glucotossicità e lipotossicità possono agire in maniera sinergica definendo il fenomeno della gluco-lipotossicità (9).

In questo articolo cercheremo di analizzare i diversi aspetti della disfunzione β -cellulare nel DMT1 e nel DMT2, cercando di individuare meccanismi comuni di danno che potrebbero suggerire nuovi promettenti target terapeutici comuni a entrambe le forme di diabete.

LA MASSA FUNZIONALE β -CELLULARE NEL DMT1 E NEL DMT2

Sezioni di pancreas provenienti da pazienti con DMT1 e analizzate in immunoistochimica mostrano isole pancreatiche caratterizzate da un numero ridotto di β -cellule, una importante riduzione dell'area β -cellulare totale e un aumento dei livelli di apoptosi (10). Le cellule insulino-positivo sono spesso disposte singolarmente o in piccoli gruppi all'interno del tessuto e non è raro osservare lobuli pancreatici che ne sono completamente privi (10). Analisi di *imaging* del pancreas in vivo, effettuate con l'uso di un agonista del recettore GLP-1 (*Glucagon-Like Peptide 1*) radiomarcato, confermano la presenza di una ridotta massa insulare in soggetti con DMT1 (11). Il tasso di perdita di massa β -cellulare nel DMT1 è variabile, con alcuni pazienti che sperimentano una perdita rapida (in particolare i neonati e i bambini), mentre in altri pazienti la perdita è relativamente lenta (principalmente negli adulti) (12-13). Sebbene esista una notevole eterogeneità, probabilmente dovuta al fatto che la perdita di β -cellule non è omogenea nel pancreas ma lobulo-dipendente, è stato stimato che la perdita di massa β -cellulare nel DMT1 non è sempre assoluta. In media, il 20% della massa è ancora presente nei pazienti di nuova diagnosi (10, 14-16), mentre esiste un ampio consenso sul fatto che l'85-95% della massa β -cellulare venga persa nel DMT1 di lunga durata (17-18), sebbene molti individui conservino un numero modesto di cellule insulino-positive residue per molti anni (15-16). A conferma di ciò, Campbell-Thompson et al. (18) hanno riportato la presenza di cellule insulino-positive nella totalità dei donatori con DMT1 e insulite (associata a recente insorgenza di DMT1) e nell'8% dei donatori con DMT1 senza insulite, quindi verosimilmente in uno stadio più avanzato della patologia. Parallelamente, una sistematica valutazione all'interno del *biorepository Network for Pancreatic Organ Donors with Diabetes* (nPOD) ha riportato che, sebbene in generale la massa β -cellulare sia ridotta di circa il 90% nelle isole di pazienti con DMT1 rispetto ai controlli, essa è ancora presente in quantità residue nel 64% di donatori con durata media del diabete di 8 anni (19).

Anche le isole pancreatiche dei pazienti con DMT2 mostrano un contenuto di insulina ridotto (20-21), sebbene esse non siano mai completamente prive di insulina, come invece si può osservare nel DMT1. Inoltre, i soggetti con DMT2 mostrano una riduzione del volume delle β -cellule pancreatiche e una maggiore frequenza di apoptosi β -cellulare rispetto ai soggetti non diabetici (22). Diversi gruppi di ricerca hanno riportato che la massa delle β -cellule è ridotta del 24-65% nei pazienti con DMT2 e che le isole di tali pazienti sono più piccole di circa il 50% rispetto ai controlli non diabetici (22-24).

Oltre alla ridotta massa, sia nel DMT1 che nel DMT2, le β -cellule pancreatiche sono caratterizzate anche da difetti di funzione, ossia ridotta capacità di produrre, immagazzinare e rilasciare insulina in concentrazioni sufficienti per garantire l'euglicemia (25). Un interessante lavoro pubblicato nella rivista *Diabetes* nel 2015 dimostra, ad esempio, che isole pancreatiche isolate da pazienti con DMT1 all'esordio sono caratterizzate da una ridotta capacità di secernere insulina in risposta al glucosio, rispetto a isole di soggetti non diabetici. È interessante sottolineare che le isole di alcuni pazienti con DMT1 possono recuperare la propria capacità secretoria se coltivate per alcuni giorni in vitro, al di fuori del *milieu* diabetico e quindi "libere" dall'infiltrazione del sistema immunitario (26).

Il calo della funzionalità β -cellulare e la conseguente secrezione anomala di insulina possono verificarsi molto prima della diagnosi di DMT1 (27-29) e possono essere già presenti in soggetti con normale tolleranza al glucosio orale (12, 30-33). Il declino della capacità secretoria β -cellulare è graduale: esso inizia almeno 2 anni prima della diagnosi, accelera in prossimità della stessa e nel primo periodo post-diagnostico e può continuare per anni dopo la diagnosi (33-36). Tuttavia, bassi livelli di insulina sono ancora rilevabili nella maggior parte dei pazienti anche dopo 30 anni di DMT1 (37). Analogamente, le isole di pazienti con DMT2 mostrano una alterata funzione secretoria, in particolare in risposta al glucosio, rispetto a isole di soggetti non diabetici (38). Tuttavia, diversamente dalle isole di soggetti con DMT1, le isole di pazienti con DMT2 sembrerebbero mantenere i difetti molecolari e funzionali anche quando rimosse dall'ambiente diabetogeno. La capacità funzionale delle β -cellule è già ridotta nei pazienti con intolleranza al glucosio (IGT) e ancor di più nei soggetti con DMT2 (39). Secondo lo studio *UK Prospective Diabetes Study* (40), la funzione delle β -cellule nei pazienti con DMT2 potrebbe essere ridotta del 50% alla diagnosi con un calo del 5% per ogni anno successivo, suggerendo che il deterioramento funzionale inizia diversi anni prima dell'insorgenza della malattia. Tuttavia, in specifici pazienti con DMT2, la progressione è inspiegabilmente più rapida, probabilmente a causa dell'eterogeneità genomica ed epigenomica tra gli individui, ad oggi non ancora ben definita.

PERDITA DELLA MASSA FUNZIONALE β -CELLULARE NEL DMT1 E NEL DMT2: QUALI SONO I FENOMENI BIOLOGICI ALLA BASE?

La massa β -cellulare è finemente regolata dall'equilibrio tra perdita di β -cellule e formazione di nuove β -cellule. Nella storia del fallimento β -cellulare, il deficit di massa è stato a lungo proposto come una conseguenza della morte delle β -cellule per apoptosi. Infatti, è stato dimostrato che l'apoptosi β -cellulare è aumentata nei pazienti con DMT1 (41-42) e nei pazienti con DMT2, mentre né la replicazione né la neogenesi delle β -cellule sono ridotte (22). Tuttavia, questo principio è stato recentemente messo in discussione da studi condotti principalmente su modelli animali, i quali suggeriscono che il deficit di massa potrebbe essere dovuto piuttosto al verificarsi di fenomeni di dedifferenziazione o transdifferenziazione delle β -cellule, come vie alternative per prevenire una perdita irreversibile di massa (43-44). Per dedifferenziazione si intende la regressione delle β -cellule ad uno stato meno maturo o addirittura simile a quello di precursore cellulare, che porta alla perdita di componenti chiave dei meccanismi molecolari responsabili della funzione ottimale delle β -cellule, in termini di secrezione di insulina (43). La dedifferenziazione è stata proposta come fattore di perdita di β -cellule funzionali sia nel DMT1 che nel DMT2 (45-48). Per transdifferenziazione si intende invece l'acquisizione, da parte delle β -cellule, delle caratteristiche fenotipiche di altri tipi di cellule endocrine del pancreas (principalmente β -cellule nell'uomo e β -cellule nei roditori) (43). Anche la transdifferenziazione è stata proposta come fattore di perdita di β -cellule funzionali sia nel DMT1 che nel DMT2 (46-47) e, in quest'ultimo caso, essa potrebbe spiegare l'aumento della massa delle α -cellule che di solito accompagna la diminuzione della massa β -cellulare. Non sono tuttavia noti l'entità con la quale tali eventi si verificano in ciascuna delle due condizioni patologiche e l'eventuale reversibilità degli stessi, con conseguente riacquisizione di funzione secretoria delle β -cellule pancreatiche. È stato stimato che la dedifferenziazione nel DMT2 possa essere responsabile di appena il 2% della perdita di β -cellule, mentre solo il 3-4% delle β -cellule transdifferenzia in α -cellule (47-49). Si tratta di una bassa percentuale rispetto a una riduzione della massa funzionale delle β -cellule di circa il 90% nel DMT1 e del 50-60% nel DMT2. Pertanto, resta da capire quanto siano cruciali questi processi nel fallimento β -cellulare durante il diabete. È verosimile che l'apoptosi contribuisca in modo preponderante alla perdita della restante percentuale di β -cellule. Tuttavia, l'apoptosi può essere difficile da rilevare in vivo poiché le cellule immunitarie vicine al sito di danno sono in grado di eliminare rapidamente le cellule apoptotiche, portando pertanto ad una sottostima dei livelli di apoptosi.

Un altro evento che porta alla compromissione della massa funzionale β -cellulare è la senescenza, ossia uno stato permanente di arresto del ciclo cellulare, che porta alla perdita dei marcatori specifici delle β -cellule e alla secrezione di citochine pro-infiammatorie (50). Sebbene marcatori di senescenza (come la β -galattosidasi e la proteina p16) siano stati osservati sia nelle isole di pazienti con DMT1 che con DMT2 (51-52), non è chiaro se essa contribuisca effettiva-

mente alla disfunzione delle β -cellule nel diabete (53-55). È tuttavia interessante notare che la clearance di β -cellule senescenti in modelli murini di DMT1 riduce l'incidenza di diabete (51).

Anche la perdita di funzione β -cellulare può dipendere da diversi fenomeni, quali l'alterata capacità delle β -cellule pancreatiche di produrre insulina, di immagazzinarla nei granuli secretori e/o di rilasciarla, in risposta a diversi secretagoghi (glucosio, incretine, amminoacidi) o, al contrario, l'alterata capacità di bloccare tali processi in risposta a stimoli inibitori (56-57). La compromissione di questi eventi potrebbe alterare la capacità delle β -cellule di funzionare in maniera armonica e di rilasciare in circolo insulina in concentrazioni adeguate al mantenimento dell'omeostasi glicemica.

PERDITA DI MASSA FUNZIONALE β -CELLULARE NEL DMT1 E NEL DMT2: DIFFERENZE E SOMIGLIANZE

Infiammazione

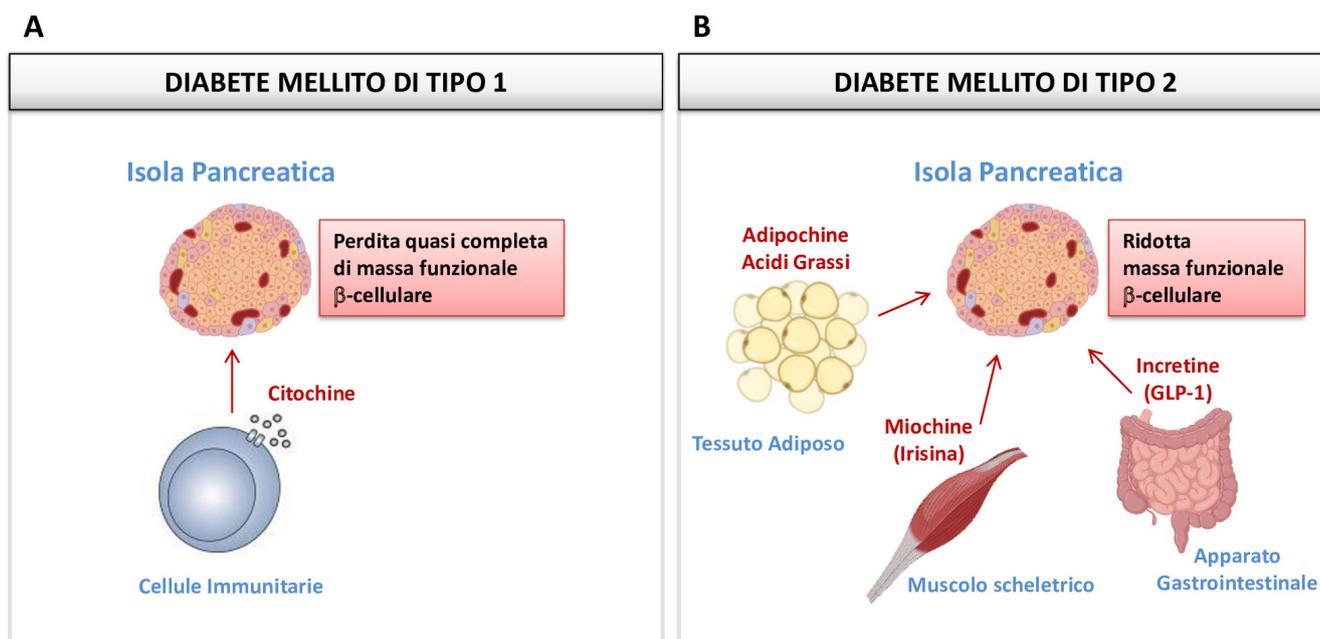
L'infiammazione è un meccanismo chiave nella patogenesi del danno β -cellulare che caratterizza il DMT1, essendo essa una patologia autoimmune, nella quale il sistema immunitario riconosce come estranei antigeni presenti sulla superficie delle β -cellule pancreatiche, e attiva sistemi di distruzione delle stesse cellule (Fig. 1).

Le isole di pazienti con DMT1 sono solitamente caratterizzate dalla presenza di insulite, un processo di infiltrazione di cellule immunitarie, soprattutto cellule T positive al CD8+ (*Cluster of Differentiation 8*), nell'isola pancreatica (58). Le cellule immunitarie che circondano le isole pancreatiche secernono citochine, come IL-1 β , IFN- γ e TNF- α , in prossimità delle β -cellule e vengono reclutate e trattenute principalmente in risposta a fattori prodotti dalle stesse β -cellule. Infatti, durante la fase di inizio del danno β -cellulare, le isole esprimono livelli elevati di chemochine, ad esempio il (*C-X-C motif*) *ligand* (CXCL)₁₀ (CXCL10), richiamando cellule immunitarie esprimenti il corrispondente recettore delle chemochine, come il (*C-X-C motif*) *Receptor 3* (CXCR3) (59). Inoltre, nel DMT1, le β -cellule iper-esprimono antigeni HLA di classe I, che contribuiscono ulteriormente all'attivazione del sistema immunitario (58, 60). È interessante notare che l'IFN- α , una citochina pro-infiammatoria espressa nelle isole umane di individui affetti da DMT1, induce un'espressione di lunga durata di antigeni HLA di classe I nelle β -cellule del pancreas umano (61-62), suggerendo che la produzione locale di citochine pro-infiammatorie possa iniziare e sostenere la distruzione immuno-mediata delle β -cellule. Anche nelle isole dei pazienti con DMT2 è stato osservato un aumento del numero di alcune cellule del sistema immunitario, in particolare di macrofagi, tuttavia siamo molto lontani dai livelli di insulite osservati nelle isole dei pazienti con DMT1 (63). A conferma di questo, un recente confronto tra trascrittomi di β -cellule ottenute da donatori con DMT1 o DMT2, rispetto a trascrittomi di isole umane esposte alle citochine pro-infiammatorie IL-1 β e IFN- γ , mostra una forte sovrapposizione tra il trascrittoma di isole esposte a citochine e isole di pazienti con DMT1, ma nessuna o una marginale sovrapposizione tra il trascrittoma di isole esposte a citochine e isole di pazienti con DMT2. Questi dati confermano che la componente infiammatoria è evidente nel DMT1, mentre è marginale nel DMT2 (49).

Una differenza sostanziale nel danno β -cellulare indotto da citochine pro-infiammatorie nel DMT1 e nel DMT2 potrebbe risiedere nella sede di produzione di tali citochine e nella dinamica della loro secrezione. Infatti, mentre la produzione di citochine pro-infiammatorie è localizzata principalmente a livello pancreatico nel DMT1, nel DMT2 esse possono derivare dalle stesse cellule insulari, da macrofagi e altre cellule immunitarie all'interno dell'isola, ma anche dal tessuto adiposo attraverso la circolazione sistemica (adipochine) (64). È il caso, ad esempio, della citochina pro-infiammatoria TNF- α , che nel DMT1 è prodotta localmente nell'ambito dell'insulite, mentre nel DMT2 viene secreta dal tessuto adiposo e raggiunge le β -cellule mediante il flusso ematico. Inoltre, mentre nel DMT1 questa e altre citochine sono localmente e continuamente espresse e secrete nei pressi delle β -cellule, dove possono accumularsi in grandi quantità, nel DMT2 le citochine pro-infiammatorie provenienti dal tessuto adiposo potrebbero non raggiungere concentrazioni elevate e significative per un adeguato periodo di tempo a livello delle isole pancreatiche o non essere circondate da un *milieu* infiammatorio tale da renderle realmente dannose (64-65).

Figura 1 ♦ **La perdita di massa funzionale β -cellulare rappresenta un evento necessario e precoce nella patogenesi del diabete mellito di tipo 1 e tipo 2. (A)**

Le citochine pro-infiammatorie e l'insulto immunitario sono i principali responsabili della disfunzione e della morte delle β -cellule pancreatiche nel diabete mellito di tipo 1 e determinano la perdita quasi completa della massa β -cellulare. (B) Nel diabete mellito di tipo 2, la perdita di massa funzionale β -cellulare è un evento al quale concorrono processi eziologici multipli e potrebbe essere il risultato di un'alterazione multi-organo. Specificatamente, la disfunzione del tessuto adiposo (eccessivo rilascio di acidi grassi in circolo e alterazione del pattern secretorio delle adipochine) e del muscolo scheletrico (alterata secrezione di miochine, tra cui l'irisina), insieme ai difetti dell'asse incretinico (alterata azione insulinotropica del GLP-1) concorrono al danno β -cellulare. In questo caso, la riduzione della massa funzionale β -cellulare è parziale e di grado variabile



Stress del reticolo endoplasmatico

Lo stress del reticolo endoplasmatico (RE) ricopre un ruolo centrale nella disfunzione delle β -cellule pancreatiche sia nel DMT1 che nel DMT2, in quanto è in grado di determinare sia deficit secretorio che apoptosi β -cellulare (66). Esso si verifica quando la necessità di produrre ed elaborare nuove proteine eccede la fisiologica capacità di sintesi del RE, portando all'accumulo di proteine *unfolded* o *misfolded* che innesca una risposta adattiva chiamata *Unfolded Protein Response* (UPR) o risposta allo stress del RE (67). Lo scopo dell'UPR è quello di ripristinare il normale funzionamento del RE, riducendo il tasso di traduzione proteica della cellula, aumentando le dimensioni del RE, incrementando la produzione di *chaperon* molecolari e promuovendo la degradazione delle proteine mal ripiegate (49). Per via del loro peculiare ruolo di cellule secernenti insulina, le β -cellule pancreatiche sono caratterizzate da un'elevata capacità biosintetica e sono estremamente dipendenti dal corretto funzionamento del loro RE, dove viene sintetizzata la proinsulina. Infatti, per garantire la normoglicemia, la sintesi della proinsulina deve costantemente far fronte al fabbisogno oscillatorio di insulina; quando la richiesta di insulina supera la capacità delle β -cellule di sintetizzare proinsulina (per esempio in condizioni di stress metabolico o iperglicemia cronica), esse diventano estremamente suscettibili allo stress del RE. Le vie di segnale che portano all'attivazione dello stress del RE nelle β -cellule pancreatiche sono differenti nel DMT1 e nel DMT2 [per un approfondimento, fare riferimento a (66)]. In primo luogo, esso è innescato da una cronica esposizione delle β -cellule pancreatiche ad alti livelli di citochine pro-infiammatorie nel DMT1, e da stimoli gluco-lipotossici nel DMT2 (49). Nel primo caso, lo stress del RE viene attivato dall'azione delle citochine sui recettori *Inositol-Requiring protein-1* (IRE-1), mentre, nel DMT2, viene principalmente attivata la via mediata dall'asse *Protein Kinase RNA (PKR)-like ER kinase* (PERK) - *eukaryotic translation initiation factor 2* (eIF2) α (49). Tuttavia, queste due diverse vie di segnalazione conver-

gono nell'attivazione di mediatori comuni e possono essere interscambiabili tra loro. In due differenti pubblicazioni (68-69), abbiamo dimostrato che la stress chinasi *c-Jun N-terminal Kinase* (JNK), generalmente considerata un mediatore dell'apoptosi indotta dall'attivazione di IRE-1 da parte delle citochine (70), è attivata in egual misura dal TNF- α (68) e dall'acido grasso saturo palmitato (69), e che l'inibizione dell'attivazione di JNK (ottenuta mediante l'uso dell'inibitore chimico SP600125) previene l'apoptosi β -cellulare indotta da entrambi gli stimoli stressogeni (68-69).

L'importanza dello stress del RE nella patogenesi del danno β -cellulare è confermata dal fatto che numerose forme di diabete monogenico derivano da mutazioni in geni che codificano per proteine coinvolte nello stress del RE e/o nell'UPR (per esempio, ATF6, DNAJC3, EIF2AK3, EIF2S3, HNF1 α , IER3IP1, PPP1R15B, WSF1/2, XBP1) (66). Inoltre, i markers dello stress del RE (dei quali la proteina *C/EBP homologous protein* [CHOP] è il principale rappresentante) risultano iper-espressi nelle isole pancreatiche di pazienti con DMT1 (71) e DMT2 (72).

Oltre alla proinsulina, le β -cellule producono e secernono anche elevate quantità di polipeptide amiloide (*Islet Amyloid PolyPeptide*, IAPP), una proteina con importanti funzioni regolatorie a livello pancreatico (inibizione della secrezione di insulina e glucagone) ed extra-pancreatico (azione essenzialmente anoressizzante) (73). Un'incrementata biosintesi di insulina è solitamente associata a un'iper-espressione di IAPP. Poiché l'IAPP è un polipeptide con una spiccata tendenza a formare aggregati (depositi di amiloide), il suo accumulo nel RE rappresenta una delle principali cause di stress del RE (73). L'accumulo di aggregati di amiloide è generalmente considerato come una caratteristica tipica delle isole pancreatiche dei pazienti con DMT2 (22), nelle quali induce l'apoptosi β -cellulare mediata dal RE (72). Tuttavia, recentemente, accumuli di amiloide sono stati riscontrati anche in isole pancreatiche di pazienti affetti da DMT1, sebbene esso venga indicato come un evento non frequente e i riferimenti in letteratura siano ancora scarsi (74-75).

L'evidenza che lo stress del RE ricopre un ruolo cruciale nella disfunzione e nell'apoptosi β -cellulare è confermata dal fatto che alcune nuove molecole o farmaci già in commercio, in grado di prevenirlo, si sono rivelate efficaci nel trattamento del diabete mellito (49). È il caso degli *chaperon* molecolari *taurine-conjugated ursodeoxycholic acid derivative* (TUDCA, già usato per il trattamento delle patologie epatiche) e *sodium phenylbutyrate*, per i quali è stata dimostrata la capacità di proteggere le β -cellule pancreatiche dal danno indotto dalle citochine pro-infiammatorie e dalla lipotossicità, rispettivamente (49, 66). Tuttavia, queste molecole sembrerebbero poter agire solo in uno stato di prediabete, senza possibilità di azione nel diabete conclamato.

Stress ossidativo

Le β -cellule pancreatiche sono tra le cellule metabolicamente più attive dell'organismo e sono particolarmente dipendenti dal metabolismo ossidativo per la sintesi di ATP, in particolare a elevate concentrazioni di glucosio (76). Inoltre, ad alti livelli di glucosio, un elevato consumo di ossigeno è fondamentale per la corretta stimolazione della secrezione insulinica (77). Nonostante l'elevata attività metabolica, che inevitabilmente porta alla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) come sottoprodotto della respirazione mitocondriale, nelle β -cellule gli enzimi coinvolti nella difesa antiossidante sono presenti a livelli insolitamente bassi (78). Questo squilibrio rende le β -cellule altamente suscettibili a danni indotti dallo stress ossidativo.

Lo stress ossidativo è un meccanismo di danno β -cellulare ampiamente documentato nel DMT2 (79). L'infiammazione cronica associata all'obesità, la gluco-lipotossicità, l'insulino-resistenza sono infatti tutti fattori che sovraccaricano di lavoro la β -cellula e pertanto promuovono e sostengono lo stress ossidativo (80). Tuttavia, lo stress ossidativo svolge un ruolo importante anche nella patogenesi del DMT1 (79). I radicali liberi e i ROS, secreti dalle cellule del sistema immunitario oppure prodotti direttamente dalle β -cellule in risposta all'esposizione alle citochine pro-infiammatorie, contribuiscono alla distruzione delle β -cellule nel DMT1 (81-82). Infatti, l'utilizzo di molecole antiossidanti o di *scavengers* preserva la massa funzionale β -cellulare in modelli murini di DMT1 (82-83). È interessante sottolineare che l'iper-espressione di geni antiossidanti in topi NOD impedisce la distruzione immuno-mediata delle β -cellule senza però ridurre l'infiltrazione delle isole pancreatiche da parte del sistema immunitario (84).

P66^{shc} è una proteina ampiamente coinvolta nella regolazione dello stress ossidativo, nell'apoptosi cellulare e nella regolazione della longevità (85). Il suo ruolo è stato studiato in diversi sistemi cellulari, in relazione a patologie correlate

allo stress ossidativo e all'età. La sua attivazione, ottenuta mediante la fosforilazione del residuo aminoacidico Ser³⁶, risulta determinante nella disfunzione cellulare indotta da vari stimoli, in diversi organi e tessuti (86-87), inclusi il pancreas endocrino e in particolare le β -cellule pancreatiche (88). In un nostro lavoro (88), abbiamo dimostrato che il palmitato determina un aumento dell'espressione genica e proteica di p66^{Shc}, mediata dall'attivazione del fattore di trascrizione p53, così come un aumento della fosforilazione di p66^{Shc} a livello della Ser³⁶, mediata dall'attivazione della proteina JNK, sia in isole pancreatiche umane e murine che in cellule insulino-secerenti di ratto INS-1E; l'incremento dell'espressione e dell'attivazione di p66^{Shc} indotta dagli acidi grassi saturi provoca un aumento dell'apoptosi β -cellulare, parzialmente mediata da un incremento della produzione dei ROS intracellulari. Allo stesso modo, in cellule INS-1E, livelli cronicamente elevati di glucosio aumentano l'espressione proteica di p66^{Shc} e la sua attivazione, determinando apoptosi β -cellulare. A conferma del ruolo pro-apoptotico di p66^{Shc} nelle β -cellule esposte ad acidi grassi, l'espressione genica di p66^{Shc} aumenta significativamente nelle isole pancreatiche di topi nutriti con una dieta ad alto contenuto di grassi, rispetto a topi nutriti con dieta standard, e in isole pancreatiche di pazienti obesi rispetto a soggetti magri. L'aumento dell'espressione di p66^{Shc} nelle isole di pazienti obesi correla con l'incrementata espressione dei principali marker di apoptosi (BAX, caspasi 3 e citocromo c) (88). Inoltre, abbiamo recentemente dimostrato che p66^{Shc} è in grado non solo di provocare danno di vitalità, ma anche danno di funzione β -cellulare: essa infatti media l'insulino-resistenza β -cellulare indotta dall'eccesso di acidi grassi saturi, con effetti sulla capacità dell'insulina di promuovere la propria biosintesi e secrezione (89).

Oltre che dalla gluco-lipotossicità, tipica del DMT2, diversi studi hanno dimostrato che l'attivazione di p66^{Shc} può essere mediata anche da altri stimoli stressogeni che concorrono alla patogenesi sia del DMT1 che del DMT2. Tra questi stimoli ritroviamo le citochine pro-infiammatorie, l'infiammazione (90-92) e l'accumulo di amiloide (93-94). Questi dati, sebbene da confermare in β -cellule pancreatiche in quanto ottenuti in sistemi cellulari diversi, suggerirebbero che l'attivazione di p66^{Shc} possa rappresentare un mediatore di disfunzione β -cellulare in entrambe le forme di diabete.

Incretino-resistenza

Il GLP-1 e il GIP (*Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide*) sono i principali ormoni incretinici secreti dalle cellule endocrine dell'intestino in risposta all'ingestione di nutrienti. Essi svolgono importanti ruoli fisiologici e in particolare esercitano un'azione diretta sulle β -cellule pancreatiche, determinando un potenziamento della secrezione insulinica glucosio-stimolata. In numerosi studi della letteratura è stato dimostrato che, nelle β -cellule pancreatiche, l'attivazione del recettore del GLP-1 determina una maggiore sensibilità al glucosio, attiva processi di neogenesi e proliferazione β -cellulare, promuove la trascrizione del gene della proinsulina, mentre riduce i livelli di apoptosi delle β -cellule (95). Diversi studi condotti ex vivo su isole pancreatiche umane esposte a diversi stimoli dannosi (lipotossicità, glucotossicità, citochine pro-infiammatorie) hanno confermato che il GLP-1 e i suoi analoghi sono in grado di ripristinare e preservare la massa funzionale delle β -cellule pancreatiche (95). Per esempio, in uno studio pubblicato nel 2013 (69), abbiamo dimostrato che l'analogo del GLP-1, *exendin-4*, è in grado di prevenire l'apoptosi indotta dall'esposizione a elevati livelli di palmitato, inibendo la capacità dell'acido grasso di attivare le stress chinasi JNK e p38 MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), attraverso una riduzione del recettore degli acidi grassi a media/lunga catena GPR40 (*G-Protein-coupled Receptor 40*).

Alla luce di questi dati, un meccanismo di danno β -cellulare tipico del DMT2 è rappresentato dall'incertino-resistenza indotta dall'esposizione cronica ad alti livelli di acidi grassi saturi e/o glucosio. I pazienti con obesità e/o DMT2 generalmente mostrano una azione incretinica alterata (96-98), sebbene la secrezione di GLP-1 e GIP non sempre sia significativamente ridotta (99, 100), suggerendo l'esistenza di alterazioni a livello di segnale intracellulare. Infatti, l'esposizione cronica di β -cellule ad alti livelli di acido grasso saturo palmitato è in grado di ridurre la capacità dell'*exendin-4* di promuovere la biosintesi e la secrezione di insulina attraverso una ridotta espressione del recettore del GLP-1 sulla superficie delle β -cellule pancreatiche (101).

Sebbene studi recenti suggeriscano la possibilità di utilizzare gli analoghi del GLP-1 come terapia adiuvante anche nel DMT1 (102), al meglio delle nostre conoscenze non esistono studi che individuino nella ridotta azione degli ormoni incretinici sulle β -cellule pancreatiche un possibile meccanismo di danno β -cellulare nel DMT1.

Irisina

L'irisina è una miochina di 112 aminoacidi (~12 KDa), derivante dal clivaggio della porzione extracellulare N-terminale della proteina di membrana *fibronectin type III domain containing protein 5* (FNDC5), secreta principalmente dal muscolo scheletrico in seguito ad attività fisica e in grado di favorire il *browning* del tessuto adiposo bianco e la termogenesi (103). Numerosi studi hanno esplorato le proprietà pleiotropiche dell'irisina, dimostrando il suo ruolo fondamentale nella regolazione del metabolismo energetico, agendo su diversi tessuti e intervenendo in numerose vie biochimiche (104). In particolare, l'irisina promuove l'assorbimento e l'utilizzo/immagazzinamento del glucosio nel muscolo scheletrico e nel tessuto adiposo, riduce la produzione epatica di glucosio, la glicogenolisi, la lipogenesi e l'adipogenesi, mentre promuove la lipolisi e l'ossidazione degli acidi grassi (104). Inoltre, l'irisina esercita effetti cardiovascolari benefici e favorisce il dimagrimento, probabilmente attraverso un'azione diretta sulla regolazione ipotalamica del *food intake* (104-105).

In un precedente lavoro, abbiamo dimostrato che l'irisina protegge le β -cellule pancreatiche e le isole pancreatiche murine e umane dall'apoptosi indotta dall'palmitato, attraverso un meccanismo che coinvolge la via di segnale anti-apoptotica AKT/Bcl-2 (*Protein Kinase B/B-cell lymphoma-2*) (106). Inoltre, l'irisina migliora la biosintesi e la secrezione dell'insulina, in modo PKA/CREB (*Protein Kinase A/cAMP Response Element-Binding protein*)-dipendente, e promuove la proliferazione delle β -cellule attraverso l'attivazione della via di ERK (*Extracellular signal-Regulated Kinase*)-1/2 (106). Quando somministrata in vivo, l'irisina migliora la secrezione di insulina stimolata dal glucosio e aumenta il contenuto di insulina, la massa β -cellulare e la proliferazione in topi sani (106). È importante sottolineare che l'irisina stimola la secrezione di insulina solo in condizioni di alto glucosio, riducendo al minimo il rischio di ipoglicemia (106). Allo stesso modo, Liu et al. hanno dimostrato che l'irisina aumenta significativamente la proliferazione delle cellule INS-1 tramite l'attivazione di ERK e p38 MAPK, protegge le cellule dall'apoptosi indotta da glucotossicità e migliora la funzione delle β -cellule pancreatiche in un modello di ratto di DMT2 (107). Inoltre, nelle cellule INS-1E e nelle isole isolate da topi C57BL/6 esposti a condizioni gluco-lipotossiche, l'irisina migliora l'espressione dei geni correlati alla sopravvivenza e alla funzione delle β -cellule, prevenendo così l'apoptosi indotta dalla gluco-lipotossicità e ripristinando la capacità secretoria dell'insulina (108). Questi effetti dipendono dall'attivazione dell'AMPK (*Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase*), dalla soppressione dell'espressione di geni lipogenici e dalla conseguente ridotta sintesi e accumulo intracellulare di acidi grassi/trigliceridi (108).

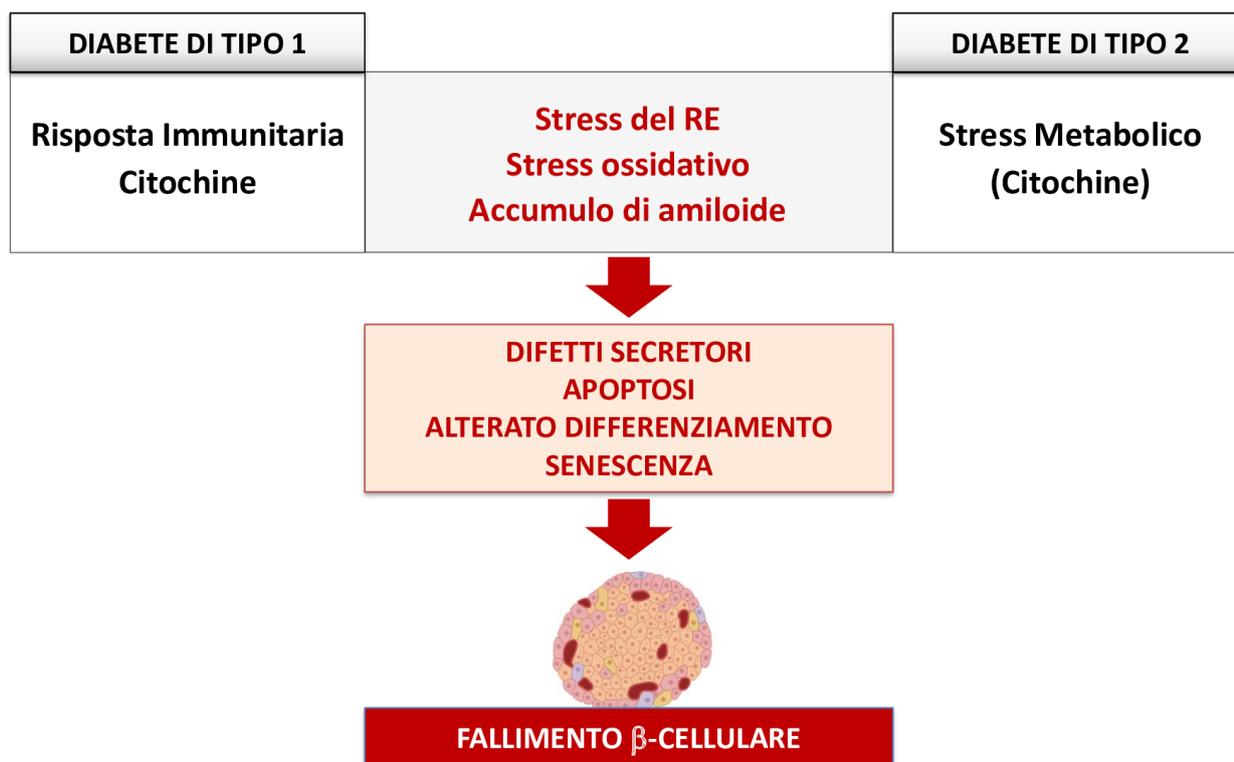
È importante sottolineare che i livelli di irisina sono più alti in corso di obesità (109-110) e correlano positivamente con i marker di adiposità (111-112), probabilmente riflettendo una un aumento compensatorio in risposta alle anomalie metaboliche e all'insulino-resistenza. Al contrario, numerosi studi, comprese diverse meta-analisi, hanno dimostrato che i livelli di irisina sono significativamente ridotti nei pazienti con DMT2 (110, 113-116), probabilmente a causa di una perdita della risposta compensatoria dovuta a una maggiore compromissione metabolica. D'altronde, la somministrazione esogena di irisina migliora la tolleranza al glucosio e la sensibilità all'insulina e aumenta il dispendio energetico sia nei topi obesi che in quelli diabetici (104).

Se la riduzione dei livelli circolanti di irisina può rappresentare un nuovo meccanismo di disfunzione β -cellulare nel DMT2, lo stesso non si può dire per il DMT1. A tal proposito, diversi lavori hanno dimostrato che i livelli di irisina possono essere aumentati nei pazienti con DMT1 (117-119). Sebbene non si conoscano i reali motivi di tale aumento, questi dati sembrano confermare che mentre la perdita della massa funzionale nel DMT2 è influenzata dall'azione di fattori provenienti da diversi organi e tessuti (Fig. 1), nel DMT1 i meccanismi di danno sembrerebbero essere circoscritti al microambiente insulare.

CONCLUSIONI

La perdita della massa funzionale β -cellulare rappresenta l'evento centrale nella patogenesi sia del DMT1 che del DMT2. Sebbene le cause che portano a questa disfunzione siano diverse nelle due forme di diabete (mediata dal sistema immunitario e dalle citochine pro-infiammatorie nel DMT1; prevalentemente associata allo stress metabolico, e in mi-

Figura 2 ♦ Sebbene le cause che portano al fallimento β -cellulare siano diverse (immuno- e citochine-mediate per il diabete mellito di tipo 1, legate allo stress metabolico, e in misura minore alle citochine pro-infiammatorie, per il diabete mellito di tipo 2), le vie che portano alla perdita di massa funzionale β -cellulare, tramite fenomeni di apoptosi, senescenza, alterata differenziazione e deficit secretori, sono simili in entrambe le forme di diabete e includono accumulo di amiloide, stress del reticolo endoplasmatico e stress ossidativo. RE, reticolo endoplasmatico



sura minore alle citochine pro-infiammatorie, nel DMT2), le risposte molecolari messe in atto dalla β -cellula possono essere molto simili e comprendono l'infiammazione, lo stress del RE, l'accumulo intra-insulare di amiloide e lo stress ossidativo. Questi eventi biologici portano a deficit secretorio e perdita di massa β -cellulare (apoptosi, trans e dedifferenziamento, senescenza) (Fig. 2). Altri meccanismi di danno, fra cui l'alterata azione di ormoni extra insulari sulla β -cellula pancreatica (ridotta azione degli ormoni incretinici e dell'irisina) sono tipici del DMT2 e, ad oggi, non riscontrati nel DMT1.

La presenza di meccanismi condivisi nel fallimento β -cellulare nel DMT1 e DMT2 suggerisce la possibilità di individuare nuovi target e nuove strategie farmacologiche comuni a entrambe le forme di diabete (come nel caso dei nuovi farmaci che mirano a inibire lo stress del RE).

In conclusione, la disfunzione β -cellulare nel DMT1 e nel DMT2 presenta sicuramente molte differenze, ma anche numerosi punti in comune (Fig. 2).

BIBLIOGRAFIA

1. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care* 45(Suppl 1): S17-S38, 2022.
2. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* (London, England) 358(9277): 221-29, 2001.
3. Gale EAM. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 51(12): 3353-61, 2002.

4. Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, Powers AC, Rhodes CJ, Sussel L, Weir GC. β -Cell failure in type 2 diabetes: Postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Diabetes Care* 37(6): 1751-58, 2014.
5. Poitout V, Robertson RP. Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes--a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology* 143(2): 339-42, 2002.
6. Ye R, Onodera T, Scherer PE. Lipotoxicity and β Cell Maintenance in Obesity and Type 2 Diabetes. *J Endocr Soc* 3(3): 617-31, 2019.
7. Solomon T, Knudsen S, Karstoft K, Winding K, Holst J, Pedersen B. Examining the effects of hyperglycemia on pancreatic endocrine function in humans: evidence for in vivo glucotoxicity. *J Clin Endocrinol Metab* 97(12): 4682-91, 2012.
8. Federici M, Hribal M, Perego L, Ranalli M, Caradonna Z, Perego C, Usellini L, Nano R, Bonini P, Bertuzzi F, Marlier LN, Davalli AM, Carandente O, Pontiroli AE, Melino G, Marchetti P, Lauro R, Sesti G, Folli F. High glucose causes apoptosis in cultured human pancreatic islets of Langerhans: a potential role for regulation of specific Bcl family genes toward an apoptotic cell death program. *Diabetes* 50(6): 1290-301, 2001.
9. Lytrivi M, Castell A-L, Poitout V, Cnop M. Recent Insights Into Mechanisms of β -Cell Lipo- and Glucolipotoxicity in Type 2 Diabetes. *J Mol Biol* 2019. doi: 10.1016/j.jmb.2019.09.016.
10. Butler AE, Galasso R, Meier JJ, Basu R, Rizza RA, Butler PC. Modestly increased beta cell apoptosis but no increased beta cell replication in recent-onset type 1 diabetic patients who died of diabetic ketoacidosis. *Diabetologia* 50(11): 2323-31, 2007.
11. Brom M, Woliner-Van Der Weg W, Joosten L, Frielink C, Bouckennooghe T, Rijken P, Andralojc K, Göke BJ, De Jong M, Eizirik DL, Béhé M, Lahoutte T, Oyen WJG, Tack CJ, Janssen M, Boerman OC, Gotthardt M. Non-invasive quantification of the beta cell mass by SPECT with ¹¹¹In-labelled exendin. *Diabetologia* 57(5): 950-9, 2014.
12. Bogun MM, Bundy BN, Goland RS, Greenbaum CJ. C-Peptide Levels in Subjects Followed Longitudinally Before and After Type 1 Diabetes Diagnosis in TrialNet. *Diabetes Care* 43(8): 1836-42, 2020.
13. Greenbaum CJ, Beam CA, Boulware D, Gitelman SE, Gottlieb PA, Herold KC, Lachin JM, McGee P, Palmer JP, Pescovitz MD, Krause-Steinrauf H, Skyler JS, Sosenko JM. Fall in C-peptide during first 2 years from diagnosis: evidence of at least two distinct phases from composite Type 1 Diabetes TrialNet data. *Diabetes* 61(8): 2066-73, 2012.
14. Rodriguez-Calvo T, Suwandi JS, Amirian N, Zapardiel-Gonzalo J, Anquetil F, Sabouri S, von Herrath MG. Heterogeneity and Lobularity of Pancreatic Pathology in Type 1 Diabetes during the Prediabetic Phase. *J. Histochem. Cytochem* 63(8): 626-36, 2015.
15. Yu MG, Keenan HA, Shah HS, Frodsham SG, Pober D, He Z, Wolfson EA, D'Eon S, Tinsley LJ, Bonner-Weir S, Pezzolesi MG, King GL. Residual β cell function and monogenic variants in long-duration type 1 diabetes patients. *J Clin Invest* 129(8): 3252-63, 2019.
16. Keenan HA, Sun JK, Levine J, Doria A, Aiello LP, Eisenbarth G, Bonner-Weir S, King GL. Residual insulin production and pancreatic β -cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin Medalist Study. *Diabetes* 59(11): 2846-53, 2010.
17. Oram RA, Sims EK, Evans-Molina C. Beta cells in type 1 diabetes: mass and function; sleeping or dead? *Diabetologia* 62(4): 567-77, 2019.
18. Campbell-Thompson M, Fu A, Kaddis JS, Wasserfall C, Schatz DA, Pugliese A, Atkinson MA. Insulinitis and β -Cell Mass in the Natural History of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 65(3): 719-31, 2016.
19. Lam CJ, Jacobson DR, Rankin MM, Cox AR, Kushner JA. β Cells Persist in T1D Pancreata Without Evidence of Ongoing β -Cell Turnover or Neogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 102(8): 2647-59, 2017.
20. Lyon J, Manning Fox JE, Spigelman AF, Kim R, Smith N, O'Gorman D, Kin T, Shapiro AMJ, Rajotte R V., MacDonald PE. Research-Focused Isolation of Human Islets From Donors With and Without Diabetes at the Alberta Diabetes Institute IsletCore. *Endocrinology* 157(2): 560-9, 2016.
21. Marchetti P, Suleiman M, De Luca C, Baronti W, Bosi E, Tesi M, Marselli L. A direct look at the dysfunction and pathology of the β cells in human type 2 diabetes. *Semin Cell Dev Biol* 103: 83-93, 2020.
22. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52(1): 102-10, 2003.

23. Christensen AA, Gannon M. The Beta Cell in Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep* 19(9), 2019. doi: 10.1007/s11892-019-1196-4.
24. Chen C, Cohrs CM, Stertmann J, Bozsak R, Speier S. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Mol Metab* 6(9): 943-57, 2017.
25. Hannon TS, Kahn SE, Utzschneider KM, Buchanan TA, Nadeau KJ, Zeitler PS, Ehrmann DA, Arslanian SA, Caprio S, Edelstein SL, Savage PJ, Mather KJ. Review of methods for measuring β -cell function: Design considerations from the Restoring Insulin Secretion (RISE) Consortium. *Diabetes. Obes Metab* 20(1): 14-24, 2018.
26. Krogvold L, Skog O, Sundström G, Edwin B, Buanes T, Hanssen KF, Ludvigsson J, Grabherr M, Korsgren O, Dahl-Jørgensen K. Function of Isolated Pancreatic Islets From Patients at Onset of Type 1 Diabetes: Insulin Secretion Can Be Restored After Some Days in a Nondiabetogenic Environment In Vitro: Results From the DiViD Study. *Diabetes* 64(7): 2506-12, 2015.
27. Vardi P, Crisa L, Jackson RA, Dumont Herskowitz R, Wolfsdorf JI, Einhorn D, Linarelli L, Dolinar R, Wentworth S, Brink SJ, Starkman H, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Predictive value of intravenous glucose tolerance test insulin secretion less than or greater than the first percentile in islet cell antibody positive relatives of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 34(2): 93-102, 1991.
28. Chase HP, Voss MA, Butler-Simon N, Hoops S, O'Brien D, Dobersen MJ. Diagnosis of pre-type I diabetes. *J Pediatr* 111(6 Pt 1): 807-812, 1987.
29. Galderisi A, Moran A, Evans-Molina C, Martino M, Santoro N, Caprio S, Cobelli C. Early Impairment of Insulin Sensitivity, β -Cell Responsiveness, and Insulin Clearance in Youth with Stage 1 Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 106(9): 2660-2669, 2021.
30. Keskinen P, Korhonen S, Kupila A, Veijola R, Erkkilä S, Savolainen H, Arvilommi P, Simell T, Ilonen J, Knip M, Simell O. First-phase insulin response in young healthy children at genetic and immunological risk for Type I diabetes. *Diabetologia* 45(12): 1639-48, 2002.
31. Evans-Molina C, Sims EK, DiMeglio LA, Ismail HM, Steck AK, Palmer JP, Krischer JP, Geyer S, Xu P, Sosenko JM. β Cell dysfunction exists more than 5 years before type 1 diabetes diagnosis. *JCI insight* 3(15), 2018. doi: 10.1172/JCI.INSIGHT.120877.
32. Ismail HM, Cleves MA, Xu P, Libman IM, Becker DJ, Marks JB, Skyler JS, Palmer JP, Sosenko JM. The Pathological Evolution of Glucose Response Curves During the Progression to Type 1 Diabetes in the TrialNet Pathway to Prevention Study. *Diabetes Care* 43(11): 2668-74, 2020.
33. Ferrannini E, Mari A, Nofrate V, Sosenko JM, Skyler JS. Progression to diabetes in relatives of type 1 diabetic patients: mechanisms and mode of onset. *Diabetes* 59(3): 679-85, 2010.
34. Sosenko JM, Skyler JS, Beam CA, Krischer JP, Greenbaum CJ, Mahon J, Rafkin LE, Matheson D, Herold KC, Palmer JP. Acceleration of the loss of the first-phase insulin response during the progression to type 1 diabetes in diabetes prevention trial-type 1 participants. *Diabetes* 62(12): 4179-83, 2013.
35. Sosenko JM, Palmer JP, Rafkin LE, Krischer JP, Cuthbertson D, Greenbaum CJ, Eisenbarth G, Skyler JS. Trends of earlier and later responses of C-peptide to oral glucose challenges with progression to type 1 diabetes in diabetes prevention trial-type 1 participants. *Diabetes Care* 33(3): 620-625, 2010.
36. Sosenko JM, Palmer JP, Rafkin-Mervis L, Krischer JP, Cuthbertson D, Matheson D, Skyler JS. Glucose and C-peptide changes in the perionset period of type 1 diabetes in the Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care* 31(11): 2188-92, 2008.
37. Oram RA, Jones AC, Besser REJ, Knight BA, Shields BM, Brown RJ, Hattersley AT, McDonald TJ. The majority of patients with long-duration type 1 diabetes are insulin microsecretors and have functioning beta cells. *Diabetologia* 57(1): 187-91, 2014.
38. Deng S, Vatamaniuk M, Huang X, Doliba N, Lian MM, Frank A, Velidedeoglu E, Desai NM, Koeberlein B, Wolf B, Barker CF, Naji A, Matschinsky FM, Markmann JF. Structural and functional abnormalities in the islets isolated from type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 53(3): 624-32, 2004.
39. DeFronzo RA, Eldor R, Abdul-Chani M. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 36(Suppl 2): S127-38, 2013.
40. U.K. prospective diabetes study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. U.K. Prospective Diabetes Study Group. *Diabetes* 44(11): 1249-58, 1995.

41. Kurrer MO, Pakala S V, Hanson HL, Katz JD. Beta cell apoptosis in T cell-mediated autoimmune diabetes. *Proc Natl Acad Sci. U S A* 94(1): 213-18, 1997.
42. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes* 54(Suppl 2), 2005. doi: 10.2337/DIABETES.54.SUPPL_2.S97.
43. Talchai C, Xuan S, Lin H V, Sussel L, Accili D. Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure. *Cell* 150(6): 1223-34, 2012.
44. Accili D, Talchai SC, Kim-Muller JY, Cinti F, Ishida E, Ordelheide AM, Kuo T, Fan J, Son J. When β -cells fail: lessons from dedifferentiation. *Diabetes. Obes Metab* 18(Suppl 1): 117-22, 2016.
45. Cinti F, Bouchi R, Kim-Muller J, Ohmura Y, Sandoval P, Masini M, Marselli L, Suleiman M, Ratner L, Marchetti P, Accili D. Evidence of β -Cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 101(3): 1044-54, 2016.
46. Hunter CS, Stein RW. Evidence for Loss in Identity, De-Differentiation, and Trans-Differentiation of Islet β -Cells in Type 2 Diabetes. *Front Genet* 8(MAR), 2017. doi: 10.3389/FGENE.2017.00035.
47. Moin ASM, Butler AE. Alterations in Beta Cell Identity in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep* 19(9), 2019. doi: 10.1007/S11892-019-1194-6.
48. Marselli L, Suleiman M, Masini M, Campani D, Bugliani M, Syed F, Martino L, Focosi D, Scatena F, Olimpico F, Filipponi F, Masiello P, Boggi U, Marchetti P. Are we overestimating the loss of beta cells in type 2 diabetes? *Diabetologia* 57(2): 362-65, 2014.
49. Eizirik DL, Pasquali L, Cnop M. Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nat Rev Endocrinol* 16(7): 349-62, 2020.
50. Aguayo-Mazzucato C, Andle J, Lee TB, Midha A, Talemal L, Chipashvili V, Hollister-Lock J, van Deursen J, Weir G, Bonner-Weir S. Acceleration of β Cell Aging Determines Diabetes and Senolysis Improves Disease Outcomes. *Cell Metab* 30(1): 129-142.e4, 2019.
51. Thompson PJ, Shah A, Ntranos V, Van Gool F, Atkinson M, Bhushan A. Targeted Elimination of Senescent Beta Cells Prevents Type 1 Diabetes. *Cell Metab* 29(5): 1045-1060.e10, 2019.
52. Sone H, Kagawa Y. Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia* 48(1): 58-67, 2005.
53. Imai J. β -Cell senescence in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J. Diabetes Investig* 11(2): 284-86, 2020.
54. Tian Y, Zhang Y, Fu X. β Cell Senescence as a Common Contributor to Type 1 and Type 2 Diabetes. *Trends Mol Med* 25(9): 735-37, 2019.
55. Murakami T, Inagaki N, Kondoh H. Cellular Senescence in Diabetes Mellitus: Distinct Senotherapeutic Strategies for Adipose Tissue and Pancreatic β Cells. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 13, 2022. doi: 10.3389/FENDO.2022.869414.
56. Holman RR, Clark A, Rorsman P. β -cell secretory dysfunction: a key cause of type 2 diabetes. *Lancet. Diabetes Endocrinol* 8(5): 370, 2020.
57. Rorsman P, Braun M. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. *Annu Rev Physiol* 75: 155-79, 2013.
58. Morgan NG, Richardson SJ. Fifty years of pancreatic islet pathology in human type 1 diabetes: insights gained and progress made. *Diabetologia* 61(12): 2499-506, 2018.
59. Roep BO, Kleijwegt FS, Van Halteren AGS, Bonato V, Boggi U, Vendrame F, Marchetti P, Dotta F. Islet inflammation and CXCL10 in recent-onset type 1 diabetes. *Clin. Exp. Immunol* 159(3): 338-43, 2010.
60. Richardson SJ, Rodriguez-Calvo T, Gerling IC, Mathews CE, Kaddis JS, Russell MA, Zeissler M, Leete P, Krogvold L, Dahl-Jørgensen K, von Herrath M, Pugliese A, Atkinson MA, Morgan NG. Islet cell hyperexpression of HLA class I antigens: a defining feature in type 1 diabetes. *Diabetologia* 59(11): 2448-58, 2016.
61. Coomans de Brachène A, Dos Santos RS, Marroqui L, Colli ML, Marselli L, Mirmira RC, Marchetti P, Eizirik DL. IFN- α induces a preferential long-lasting expression of MHC class I in human pancreatic beta cells. *Diabetologia* 61(3): 636-40, 2018.

62. Marroqui L, Dos Santos RS, Op de beeck A, Coomans de Brachène A, Marselli L, Marchetti P, Eizirik DL. Interferon- α mediates human beta cell HLA class I overexpression, endoplasmic reticulum stress and apoptosis, three hallmarks of early human type 1 diabetes. *Diabetologia* 60(4): 656-67, 2017.
63. Richardson SJ, Willcox A, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetologia* 52(8): 1686-88, 2009.
64. Biondi G, Marrano N, Borrelli A, Rella M, Palma G, Calderoni I, Siciliano E, Lops P, Giorgino F, Natalicchio A. Adipose Tissue Secretion Pattern Influences β -Cell Wellness in the Transition from Obesity to Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci* 23(10): 5522, 2022.
65. Nunemaker CS. Considerations for Defining Cytokine Dose, Duration, and Milieu That Are Appropriate for Modeling Chronic Low-Grade Inflammation in Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res* 2016. doi: 10.1155/2016/2846570.
66. Cnop M, Toivonen S, Igoillo-Esteve M, Salpea P. Endoplasmic reticulum stress and eIF2 α phosphorylation: The Achilles heel of pancreatic β cells. *Mol Metab* 6(9): 1024-39, 2017.
67. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(7): 519-29, 2007.
68. Natalicchio A, De Stefano F, Orlando MR, Melchiorre M, Leonardini A, Cignarelli A, Labarbuta R, Marchetti P, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Exendin-4 prevents c-Jun N-terminal protein kinase activation by Tumor Necrosis Factor- α (TNF α) and inhibits TNF α -induced apoptosis in insulin-secreting cells. *Endocrinology* 151(5): 2019-29, 2010.
69. Natalicchio A, Labarbuta R, Tortosa F, Biondi G, Marrano N, Peschechera A, Carchia E, Orlando MR, Leonardini A, Cignarelli A, Marchetti P, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Exendin-4 protects pancreatic beta cells from palmitate-induced apoptosis by interfering with GPR40 and the MKK4/7 stress kinase signalling pathway. *Diabetologia* 56(11), 2013. doi: 10.1007/s00125-013-3028-4.
70. Brozzi F, Eizirik DL. ER stress and the decline and fall of pancreatic beta cells in type 1 diabetes. *Ups. J Med Sci* 121(2): 133-39, 2016.
71. Marhfour I, Lopez XM, Lefkaditis D, Salmon I, Allagnat F, Richardson SJ, Morgan NG, Eizirik DL. Expression of endoplasmic reticulum stress markers in the islets of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 55(9): 2417-20, 2012.
72. Huang CJ, Lin CY, Haataja L, Gurlo T, Butler AE, Rizza RA, Butler PC. High expression rates of human islet amyloid polypeptide induce endoplasmic reticulum stress mediated beta-cell apoptosis, a characteristic of humans with type 2 but not type 1 diabetes. *Diabetes* 56(8): 2016-27, 2007.
73. Westermark P, Andersson A, Westermark GT. Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. *Physiol Rev* 91(3): 795-826, 2011.
74. Westermark GT, Krogvold L, Dahl-Jørgensen K, Ludvigsson J. Islet amyloid in recent-onset type 1 diabetes-the DiViD study. *Ups J Med Sci* 122(3): 201-3, 2017.
75. Beery ML, Jacobsen LM, Atkinson MA, Butler AE, Campbell-Thompson M. Islet amyloidosis in a child with type 1 diabetes. *Islets* 11(2): 44-9, 2019.
76. Gerber PA, Rutter GA. The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Antioxid. Redox Signal* 26(10): 501-18, 2017.
77. Rutter GA, Pullen TJ, Hodson DJ, Martinez-Sanchez A. Pancreatic β -cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *Biochem J* 466(2): 203-18, 2015.
78. Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic Biol Med* 20(3): 463-66, 1996.
79. Ikegami H, Babaya N, Noso S. β -Cell failure in diabetes: Common susceptibility and mechanisms shared between type 1 and type 2 diabetes. *J Diabetes Invest* 12(9): 1526-39, 2021.
80. Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxid. Med Cell Longev* 2020. doi: 10.1155/2020/8609213.
81. Mandrup-Poulsen T, Helqvist S, Wogensen LD, Molvig J, Pociot F, Johannesen J, Nerup J. Cytokine and free radicals as effector molecules in the destruction of pancreatic beta cells. *Curr Top Microbiol. Immunol* 164: 169-93, 1990.

82. Horio F, Fukuda M, Katoh H, Petruzzelli M, Yano N, Rittershaus C, Bonner-Weir S, Hattori M. Reactive oxygen intermediates in autoimmune islet cell destruction of the NOD mouse induced by peritoneal exudate cells (rich in macrophages) but not T cells. *Diabetologia* 37(1): 22-31, 1994.
83. Fukuda M, Ikegami H, Kawaguchi Y, Sano T, Ogihara T. Antioxidant, probucol, can inhibit the generation of hydrogen peroxide in islet cells induced by macrophages and prevent islet cell destruction in NOD mice. *Biochem. Biophys. Res Commun* 209(3): 953-58, 1995.
84. Hotta M, Tashiro F, Ikegami H, Niwa H, Ogihara T, Yodoi J, Miyazaki JI. Pancreatic beta cell-specific expression of thioredoxin, an antioxidative and antiapoptotic protein, prevents autoimmune and streptozotocin-induced diabetes. *J Exp Med* 188(8): 1445-51, 1998.
85. Migliaccio E, Goglio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, Lanfrancone L, Pelicci PG. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature* 402(6759): 309-13, 1999.
86. Natalicchio A, Tortosa F, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. p66Shc, a multifaceted protein linking Erk signalling, glucose metabolism, and oxidative stress. *Arch. Physiol. Biochem* 117(3): 116-24, 2011.
87. Natalicchio A, De Stefano F, Perrini S, Laviola L, Cignarelli A, Caccioppoli C, Quagliara A, Melchiorre M, Leonardini A, Conserva A, Giorgino F. Involvement of the p66Shc protein in glucose transport regulation in skeletal muscle myoblasts. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296(2), 2009. doi: 10.1152/AJPENDO.90347.2008.
88. Natalicchio A, Tortosa F, Labarbuta R, Biondi G, Marrano N, Carchia E, Leonardini A, Cignarelli A, Bugliani M, Marchetti P, Fadini GP, Giorgio M, Avogaro A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. The p66^{Shc} redox adaptor protein is induced by saturated fatty acids and mediates lipotoxicity-induced apoptosis in pancreatic beta cells. *Diabetologia* 58(6), 2015. doi: 10.1007/s00125-015-3563-2.
89. Biondi G, Marrano N, Dipaola L, Borrelli A, Rella M, D'Oria R, Genchi VA, Caccioppoli C, Porreca I, Cignarelli A, Perrini S, Marchetti P, Vincenti L, Laviola L, Giorgino F, Natalicchio A. The p66Shc Protein Mediates Insulin Resistance and Secretory Dysfunction in Pancreatic Beta-Cells Under Lipotoxic Conditions. *Diabetes*, 2022. doi: 10.2337/DB21-1066.
90. Cong XD, Ding MJ, Dai DZ, Wu Y, Zhang Y, Dai Y. ER stress, p66shc, and p-Akt/Akt mediate adjuvant-induced inflammation, which is blunted by argirein, a supermolecule and rhein in rats. *Inflammation* 35(3): 1031-40, 2012.
91. Cattaneo F, Patrussi L, Capitani N, Frezzato F, D'Elia MM, Trentin L, Semenzato G, Baldari CT. Expression of the p66Shc protein adaptor is regulated by the activator of transcription STAT4 in normal and chronic lymphocytic leukemia B cells. *Oncotarget* 7(35): 57086-98, 2016.
92. Yang J, Yu HM, Zhou XD, Huang HP, Han Z, Kolosov VP, Perelman JM. Cigarette smoke induces mucin hypersecretion and inflammatory response through the p66shc adaptor protein-mediated mechanism in human bronchial epithelial cells. *Mol Immunol* 69: 86-98, 2016.
93. Bashir M, Parray AA, Baba RA, Bhat HF, Bhat SS, Mushtaq U, Andrabi KI, Khanday FA. β -Amyloid-evoked apoptotic cell death is mediated through MKK6-p66shc pathway. *Neuromolecular Med* 16(1): 137-49, 2014.
94. Smith WW, Norton DD, Gorospe M, Jiang H, Nemoto S, Holbrook NJ, Finkel T, Kusiak JW. Phosphorylation of p66Shc and forkhead proteins mediates Abeta toxicity. *J Cell Biol* 169(2): 331-39, 2005.
95. Marrano N, Biondi G, Cignarelli A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F, Natalicchio A. Functional loss of pancreatic islets in type 2 diabetes: how can we halt it? *Metabolism* 2020: 154304.
96. Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 29(1): 46-52, 1986.
97. Tura A, Muscelli E, Gastaldelli A, Ferrannini E, Mari A. Altered pattern of the incretin effect as assessed by modelling in individuals with glucose tolerance ranging from normal to diabetic. *Diabetologia* 57(6): 1199-1203, 2014.
98. Muscelli E, Mari A, Casolaro A, Camastra S, Seghieri G, Gastaldelli A, Holst JJ, Ferrannini E. Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in normal subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes* 57(5): 1340-48, 2008.
99. Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down? *Diabetologia* 54(1): 10-18, 2011.

100. Lee S, Yabe D, Nohtomi K, Takada M, Morita R, Seino Y, Hirano T. Intact glucagon-like peptide-1 levels are not decreased in Japanese patients with type 2 diabetes. *Endocr J*; 57(2): 119-26, 2010.
101. Natalicchio A, Biondi G, Marrano N, Labarbuta R, Tortosa F, Spagnuolo R, D’Oria R, Carchia E, Leonardini A, Cignarelli A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Long-term exposure of pancreatic β -cells to palmitate results in SREBP-1C-dependent decreases in GLP-1 receptor signaling via CREB and AKT and insulin secretory response. *Endocrinology* 157(6), 2016. doi: 10.1210/en.2015-2003.
102. Lane K, Freeby M. Adjunctive therapies in type 1 diabetes mellitus. *Curr. Opin Endocrinol Diabetes Obes* 28(1): 8-13, 2021.
103. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481(7382): 463-68, 2012.
104. Marrano N, Biondi G, Borrelli A, Cignarelli A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F, Natalicchio A. Irisin and Incretin Hormones: Similarities, Differences, and Implications in Type 2 Diabetes and Obesity. *Biomolecules* 11(2): 286, 2021.
105. Natalicchio A, Marrano N, Biondi G, Dipaola L, Spagnuolo R, Cignarelli A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Irisin increases the expression of anorexigenic and neurotrophic genes in mouse brain. *Diabetes. Metab Res Rev*, 2019. doi: 10.1002/dmrr.3238.
106. Natalicchio A, Marrano N, Biondi G, Spagnuolo R, Labarbuta R, Porreca I, Cignarelli A, Bugliani M, Marchetti P, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. The myokine irisin is released in response to saturated fatty acids and promotes pancreatic β -cell survival and insulin secretion. *Diabetes* 66(11), 2017. doi: 10.2337/db17-0002.
107. Liu S, Du F, Li X, Wang M, Duan R, Zhang J, Wu Y, Zhang Q. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PLoS One* 12(4): e0175498, 2017.
108. Zhang D, Xie T, Leung PS. Irisin ameliorates glucolipotoxicity-associated β -cell dysfunction and apoptosis via AMPK signaling and anti-inflammatory actions. *Cell Physiol Biochem* 51(2): 924-37, 2018.
109. Cao RY, Zheng H, Redfearn D, Yang J. FNDC5: A novel player in metabolism and metabolic syndrome. *Biochimie* 158: 111-16, 2019.
110. Shoukry A, Shalaby SM, El-Arabi Bdeer S, Mahmoud AA, Mousa MM, Khalifa A. Circulating serum irisin levels in obesity and type 2 diabetes mellitus. *IUBMB Life* 68(7): 544-56, 2016.
111. Park KH, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin-Efe A, Joung KE, Tsoukas MA, Geladari E V., Huh JY, Dincer F, Davis CR, Crowell JA, Mantzoros CS. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 98(12): 4899-907, 2013.
112. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity--correlation with body mass index. *Peptides* 39(1): 125-30, 2013.
113. Liu JJ, Wong MDS, Toy WC, Tan CSH, Liu S, Ng XW, Tavintharan S, Sum CF, Lim SC. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications* 27(4): 365-69, 2013.
114. Du XL, Jiang WX, Lv ZT. Lower Circulating Irisin Level in Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Horm. Metab Res* 48(10): 644-52, 2016.
115. Zhang C, Ding Z, Lv G, Li J, Zhou P, Zhang J. Lower irisin level in patients with type 2 diabetes mellitus: A case-control study and meta-analysis. *J Diabetes* 8(1): 56-62, 2016.
116. Song R, Zhao X, Zhang D, Wang R, Feng Y. Lower levels of irisin in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2021: 108788.
117. Espes D, Lau J, Carlsson PO. Increased levels of irisin in people with long-standing Type 1 diabetes. *Diabet Med* 32(9): 1172-76, 2015.
118. Faienza MF, Brunetti G, Sanesi L, Colaianni G, Celi M, Piacente L, D’Amato G, Schipani E, Colucci S, Grano M. High irisin levels are associated with better glycemic control and bone health in children with Type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 141: 10-17, 2018.
119. Ates I, Arıkan MF, Erdogan K, Kaplan M, Yuksel M, Topcuoglu C, Yilmaz N, Guler S. Factors associated with increased irisin levels in the type 1 diabetes mellitus. *Endocr Regul* 51(1): 1-7, 2017.