



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

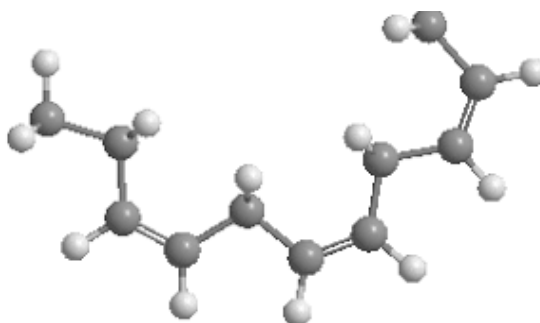


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Συγκέντρωση οξειδωμένων λιπιδίων στο αίμα διαβητικών ασθενών Τύπου II

POST GRADUATE THESIS

Concentration of oxidized fats in the blood of Type II diabetic patients



Θεοδώρα Μαυρογιάννη

Theodora Mavrogianni

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Μαρία Τράπαλη

Maria Trapali

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2022



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

Concentration of oxidized fats in the blood of Type II diabetic patients

Theodora Mavrogianni
DML20015
dml20015@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR
Maria Trapali

SECOND SUPERVISOR
Petros Karkalousos

THIRD SUPERVISOR
Anastasios Kriebardis

AIGALEO 2022

Επιτροπή εξέτασης

08/07/2022

Ονόματα εξεταστών

1^{ος} Εξεταστής Μαρία
Τράπαλη

2^{ος} Εξεταστής Πέτρος
Καρκαλούσος

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Θεοδώρα Μαυρογιάννη του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου DML20015 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Θεοδώρα Μαυρογιάννη

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, στο τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών κατά το έτος 2021-2022.

Οφείλω να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στους Καθηγητές μου για τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση των σπουδών μου και στα γνωστικά αντικείμενα που παρακολούθησα.

Η ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη υποστήριξη της Καθηγήτριας μου, Μαρίας Τράπαλη. Της εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ για όλη την βοήθεια που μου προσέφερε.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την κατανόηση και την υποστήριξή τους.

Αφιερώσεις

Η συγγραφή μίας διπλωματικής εργασίας είναι ένα δύσκολο έργο, κυρίως επειδή συνιστά μία επίσημη κατάθεση της δουλειάς ενός φοιτητή ή μίας φοιτήτριας, επομένως σηματοδοτεί την ολοκλήρωση ενός κύκλου σπουδών.

Στην επίπονη και χρονοβόρα αυτή διαδικασία, μία σειρά ανθρώπων στάθηκαν δίπλα μου και βοήθησαν άλλοι λίγο και άλλοι πολύ στην ολοκλήρωσή της.

Έτσι, η βοήθεια που έλαβα είχε καθοριστική σημασία στην επίτευξη του στόχου μου. Θέλω λοιπόν πρώτα απ' όλα, να ευχαριστήσω από καρδιάς την Καθηγήτριά μου Μαρία Τράπαλη για την υποστήριξή της.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω το σύνολο των καθηγητών μου για τις γνώσεις που μου προσέφεραν, κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου, που με στηρίζουν τόσο κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, όσο και στη ζωή μου.

Περίληψη

Εισαγωγή: Οι οξειδωτικοί παράγοντες έχουν την ικανότητα να αλλάζουν τη δομή των λιπιδίων, δημιουργώντας υπεροξειδία και σχηματισμό μαλονδιαλδεΐδης (μηλονική διαλδεΐδη, MDA), που είναι μια οργανική ουσία, η οποία ανακύπτει από την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Η μαλονδιαλδεΐδη είναι μια τοξική ουσία για τα κύτταρα, καθώς σχηματίζει ομοιοπολικούς δεσμούς με διάφορες κυτταρικές πρωτεΐνες και έχει επίδραση στο κυτταρικό DNA προκαλώντας μεταλλάξεις. Μετράται στο πλάσμα με τη μέθοδο TBA, και προσδιορίζεται μέσω της αντίδρασης της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ. (Borges et al., 2013).

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη, έχει ως σκοπό τη συσχέτιση των βιοχημικών παραμέτρων με τα επίπεδα οξειδωμένων λιπιδίων στο πλάσμα διαβητικών και φυσιολογικών ασθενών.

Μέθοδος: Έγιναν μετρήσεις σε πλάσμα διαβητικών και φυσιολογικών ασθενών με τη χρήση φωτόμετρου και τη μέθοδο T-bars, γλυκόζη, αιμοσφαιρίνη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL και ουρικό οξύ. Για τη μέτρηση της ινσουλίνης έγινε η μέθοδος ELISA. Ακολούθως, έγινε η στατιστική σύγκριση, με τη χρήση του SPSS, σε φυσιολογικούς και διαβητικούς ασθενείς όπου πραγματοποιήθηκαν και οι δύο έλεγχοι (παραμετρικό student's t-test και μη παραμετρικό Mann-Whitney U test).

Αποτελέσματα: Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα γλυκόζης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value $<0,001$). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value $<0,001$). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο χοληστερόλης ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,707). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value $<0,05$). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HDL συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value $<0,05$). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο LDL ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,365). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο ουρικού οξέος ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,487). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα πλάσμα-TBA $\mu\text{mol/L}$ συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value $<0,001$). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο αιμόλυμα-TBA ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,215). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα ινσουλίνης

συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών ($p\text{-value}<0,05$). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα ινσουλίνης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών ($p\text{-value}<0,05$).

Συμπεράσματα: Σύμφωνα με τα αποτελέσματα βιοχημικών παραμέτρων και οξειδωμένων λιπιδίων προκύπτει ότι υπάρχει συσχέτιση.

Λέξεις κλειδιά: οξειδωμένα λιπίδια, υπεροξείδωση λιπιδίων, διαβήτης, επιπλοκές διαβήτη.

Abstract

Introduction: Oxidizing agents have the ability to change the structure of lipids, creating peroxides and the formation of malondialdehyde (malonic dialdehyde, MDA), which is an organic substance, which arises from the peroxidation of lipids. Malondialdehyde is a toxic substance for cells, as it forms covalent bonds with various cellular proteins and has an effect on cellular DNA causing mutations. It is measured in plasma by the TBA method, and is determined by its reaction with thiobarbituric acid. (Borges et al., 2013).

Purpose: The purpose of this study was to correlate the biochemical parameters with the plasma levels of oxidized lipids in diabetic and normal patients.

Method: Plasma measurements were performed in diabetic and normal patients using a photometer and the T-bars method, glucose, hemoglobin, triglycerides, HDL, LDL and uric acid. The elisa method was used to measure insulin. Then, the statistical comparison was made, using SPSS, in normal and diabetic patients where both tests were performed (parametric student's t-test and non-parametric Mann-Whitney U test).

Results: The normal group has significantly lower glucose levels compared to the diabetic group (p-value <0.001). The normal group has significantly lower hemoglobin levels compared to the diabetic group (p-value <0.001). There is no difference in cholesterol level between the normal and diabetic groups (p-value = 0.707). The normal group has significantly lower triglyceride levels compared to the diabetic group (p-value <0.05). The normal group has significantly higher HDL levels compared to the diabetic group (p-value <0.05). There is no difference in LDL level between normal and diabetic groups (p-value = 0.365). There is no difference in uric acid level between the normal and diabetic groups (p-value = 0.487). The normal group has significantly lower plasma-TBA levels $\mu\text{mol} / \text{L}$ compared to the diabetic group (p-value <0.001). There is no difference in the level of TBA between the normal and diabetic groups (p-value = 0.215). The normal group has significantly lower insulin levels compared to the diabetic group (p-value <0.05). The normal group has significantly lower insulin levels compared to the diabetic group (p-value <0.05).

Conclusions: According to the results of biochemical parameters and oxidized lipids it appears that there is a correlation.

Key words: oxidized lipids, lipid peroxidation, diabetes, complications of diabetes.

Πίνακας περιεχομένων

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες.....	v
Αφιερώσεις.....	vi
Περίληψη.....	vii
Abstract	ix
Συνοτομογραφίες.....	xii
Πρόλογος.....	1
Θεωρητικό μέρος	2
1. Εισαγωγή	2
1.1 Σακχαρώδης Διαβήτης.....	2
1.2 Επιδημιολογία και παράγοντες κινδύνου	4
1.3 Αυτοάνοσος Διαβήτης	7
1.4 Παθογένεση αυτοάνοσου διαβήτη (Διαβήτης τύπου 1)	8
1.5 Διαβήτης τύπου 2	10
1.6 Μεταβολισμός λιποπρωτεϊνών	14
1.7 Χυλομικρά.....	15
1.8 VLDL και LDL.....	15
1.9 LDL.....	16
1.10 HDL.....	16
1.11 Πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων	17
2. Οξειδωτικό στρες.....	18
3. Μεθοδολογία εργασίας	22
3.1 Βάσεις δεδομένων ανεύρεσης άρθρων	22
3.2 Λέξεις ευρετηριασμού	22
4. Διαβήτης και Οξειδωτικό στρες	23
4.1 Επιπλοκές του Σακχαρώδη Διαβήτη.....	23
4.2 Υπεργλυκαμία και Οξειδωτικό στρες	24
4.3 Οξειδωμένα λιπίδια.....	26
4.4 Βιοδείκτες οξειδωτικού στρες	27
Πειραματικό μέρος.....	36
5. Σκοπός πειράματος	36
5.1 Το δείγμα του πειράματος	36

5.2 Μέθοδος πειράματος	36
6. Αποτελέσματα	38
7. Συζήτηση – Συμπεράσματα	40
Αναφορές.....	42

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
LADA	Latent ή Lateonset Autoimmune Diabetes of the Adults	Λανθάνων Αυτοάνοσος Διαβήτης Ενηλίκων
IAAP	Islet Amyloid Polypeptide	Πολυπεπτίδια αμυλοειδούς νησί-δας
ROS	Reactive Oxygen Species	Αντιδραστικά Είδη Οξυγόνου
MDA	Malondialdehyde	Μηλονοδιαλδεΐδη
F2-IsoPs	F2-Isoprostanes	F2- Ισοπροστάνες

Πρόλογος

Η παρούσα εργασία πραγματεύεται το θέμα οξειδωμένων λιπιδίων στο αίμα διαβητικών ασθενών, με την ανάλυση να γίνεται μέσω βιβλιογραφικής ανασκόπησης στη διεθνή βιβλιογραφία. Αρχικά παρουσιάζεται ο σακχαρώδης διαβήτης σαν παθολογική κατάσταση και παρουσιάζονται οι διαφορετικές μορφές με τις οποίες εμφανίζεται. Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζεται συνοπτικά ο μεταβολισμός των λιπιδίων στον φυσιολογικό οργανισμό, με σκοπό να γίνουν ευνόητοι οι τρόποι με τους οποίους οι ενώσεις αυτές παράγονται και χρησιμοποιούνται στον οργανισμό, ενώ παράλληλα επεξηγείται και ο τρόπος δημιουργίας των οξειδωμένων λιπιδίων και του ρόλου τους στην παθολογία του οργανισμού. Στο κεφάλαιο αυτό, αναφέρονται και οι στόχοι της εργασίας. Στο τρίτο κεφάλαιο γίνεται παρουσίαση της μεθοδολογίας που χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση των άρθρων που παρουσιάζονται στο τέταρτο κεφάλαιο και αφορούν την ύπαρξη των οξειδωμένων λιπιδίων στο αίμα ατόμων που πάσχουν από διαφορετικές μορφές διαβήτη. Στο κεφάλαιο πέντε, γίνεται μία συζήτηση των κυριότερων ευρημάτων, ενώ στο κεφάλαιο έξι, επιχειρείται μια σύνοψη των αποτελεσμάτων και συμπερασμάτων, μαζί με μία αναφορά στις μελλοντικές πιθανές κατευθύνσεις της έρευνας στο θέμα αυτό.

Θεωρητικό μέρος

1. Εισαγωγή

1.1 Σακχαρώδης Διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) αποτελεί διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των λιπών και των πρωτεϊνών, η οποία προέρχεται από την αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία) και οφείλεται σε μειωμένη έκκριση ή δράση της ινσουλίνης ή/και συνδυασμό των δύο, που έχει ως αποτέλεσμα ολοσχερή ή σχετική έλλειψη ινσουλίνης. Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) είναι ίσως μια από τις πιο παλιές ασθένειες στον άνθρωπο. Αναφέρθηκε για πρώτη φορά σε αιγυπτιακό χειρόγραφο 3000 χρόνια πριν, ενώ είναι γνωστή. Η ονομασία «διαβήτης» οφείλεται στον Αρεταίο, ο οποίος ήταν Έλληνας ιατρός της Καππαδοκίας κατά τον δεύτερο αιώνα μΧ. Χρησιμοποιώντας τον όρο «διαβαίνειν» αναφερόταν στην πολουουρία ως το κύριο σύμπτωμα της ασθένειας. Ως «diabetes» εμφανίστηκε για πρώτη φορά το έτος 1425 σε ιατρικό σύγγραμμα. Το 1675 προστέθηκε από τον Thomas Willis ο επιθετικός προσδιορισμός «σακχαρώδης» («mellitus» , προερχόμενη από την ελληνική λέξη «μέλι»), καθώς τα ούρα των πασχόντων είχαν γλυκιά γεύση.

Υπάρχουν δύο τύποι σακχαρώδη διαβήτη. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔ1, πρώην ινσουλινοεξαρτώμενος ή νεανικός διαβήτης) είναι μια μορφή του σακχαρώδη διαβήτη που προκύπτει από την αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος που παράγουν ινσουλίνη (αυτοάνοσος διαβήτης), με αποτέλεσμα να μην μπορεί να παραχθεί η ινσουλίνη, η οποία είναι απαραίτητη για τον οργανισμό, ώστε να χρησιμοποιήσει τη γλυκόζη. Η έλλειψη ινσουλίνης οδηγεί σε αύξηση της γλυκόζης στο αίμα και στα ούρα. Είναι ευρέως γνωστός και ως νεανικός διαβήτης, διότι οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν τη νόσο σε μικρή ηλικία. Σε αρκετές περιπτώσεις εμφανίζεται μετά τα 18 έτη, αλλά απαντάται σπάνια μετά τα 40 έτη. Η λειτουργία του οργανισμού των πασχόντων απαιτεί την τακτική και ορθή λήψη ινσουλίνης (Katsarou et al., 2017, Wild et al., 2004).

Το 1936, η διαφορά μεταξύ τύπου 1 και τύπου 2 ήταν ήδη σαφής (Olokoba et al., 2012). Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) περιγράφηκε αρχικά ως συστατικό του μεταβολικού συνδρόμου το 1988, ενώ ήταν πρότερα γνωστός σαν μη ινσουλινοεξαρτώμενος ΣΔ. Η μορφή αυτή συνιστά την πιο κοινή μορφή του διαβήτη, που χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία, αντίσταση στην ινσουλίνη και σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης (Olokoba et

al., 2012). Ο ΣΔ τύπου 2 προκύπτει από αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών, περιβαλλοντικών και συμπεριφορικών παραγόντων κινδύνου. Τα άτομα που ζουν με ΣΔ τύπου 2 είναι πιο ευάλωτα σε διάφορες μορφές επιπλοκών, οι οποίες συχνά έχουν ως αποτέλεσμα τον πρόωρο θάνατό τους. Η τάση αυξημένης νοσηρότητας και η θνησιμότητα παρατηρείται σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 (Olokoba et al., 2012).

Τα τελευταία έτη, έχει αναγνωριστεί μία διαφοροποίηση αυτού του αυτοάνοσου τύπου, ο οποίος προσβάλλει τους ενήλικες, ο λανθάνοντας αυτοάνοσος διαβήτης σε ενήλικες, που αναφέρεται με τα αρχικά LADA (Latent ή Lateonset Autoimmune Diabetes of the Adults). Η νόσος αυτή, είναι μια ετερογενής νόσος που χαρακτηρίζεται από μια λιγότερο εντατική αυτοάνοση διαδικασία και ένα ευρύ κλινικό φαινότυπο σε σύγκριση με τον κλασικό ΣΔ τύπου 1 (ΣΔ1), κοινά χαρακτηριστικά τόσο με τον ΣΔ τύπου 2 (ΣΔ2) όσο και με τον ΣΔ1. Δεδομένου ότι οι ασθενείς που επηρεάζονται από το LADA είναι αρχικά ανεξάρτητοι από την ινσουλίνη και αναγνωρίζονται μόνο μέσω δοκιμών για αυτοαντισώματα έναντι κυττάρων-νησίδων, η νόσος μπορεί να είναι δύσκολο να εντοπιστεί σε κλινικό πλαίσιο και έτσι εξακολουθεί να παραμένει υψηλό το ποσοστό λανθασμένης διάγνωσης μεταξύ των ασθενών με ΣΔ2. Ιδανικά, ο έλεγχος αυτοαντισωμάτων κυττάρων-νησίδων θα πρέπει να πραγματοποιείται σε άτομα με πρόσφατα διαγνωσμένο ΣΔ2, διασφαλίζοντας στενότερη παρακολούθηση αυτών που προέκυψαν θετικοί στο τεστ, αποφεύγοντας τη θεραπεία της υπεργλυκαιμίας που μπορεί να αυξήσει τον ρυθμό απώλειας β-κυττάρων. Έτσι, δεδομένου ότι η αυτοάνοση διαδικασία στο LADA φαίνεται να είναι πιο αργή από ό,τι στον κλασικό ΣΔ1, υπάρχει ένα ευρύτερο παράθυρο για νέες θεραπευτικές παρεμβάσεις που μπορεί να επιβραδύνουν την αποτυχία των β-κυττάρων (Pieralice and Pozzilli, 2018).

Ο διαβήτης ανήκει στις νόσους διαταραχής του μεταβολισμού. Μεταβολισμός καλείται ο μηχανισμός που χρησιμοποιεί τις τροφές, ώστε να δώσει ενέργεια στον οργανισμό μας. Οι περισσότερες τροφές διασπώνται κυρίως σε γλυκόζη. Η γλυκόζη είναι μια μορφή «ζάχαρης» στο αίμα μας, η οποία αποτελεί την κύρια πηγή «καυσίμου» για τον οργανισμό μας. Με την κατανάλωση τροφής, αυτή διασπάται σε επιμέρους συστατικά, μεταξύ των οποίων είναι και η γλυκόζη. Επομένως, η γλυκόζη προέρχεται από την τροφή, η οποία αυξάνεται έπειτα από κάθε γεύμα, ενώ όταν ο οργανισμός παραμένει νηστικός δημιουργείται ενδογενώς στο ήπαρ. Τα κύτταρα του οργανισμού μας μετατρέπουν τη γλυκόζη αυτή προκειμένου να παράγουν ενέργεια, για την λειτουργία και την ανάπτυξή τους. Ωστόσο, χωρίς την ύπαρξη μίας ουσίας που λειτουργεί και σαν μεταφορέας, της ουσίας ινσουλίνης,

η γλυκόζη δεν μπορεί να εισχωρήσει στα κύτταρα. Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που εκκρίνεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Με τη λήψη τροφής, το πάγκρεας απελευθερώνει αυτομάτως μια ικανή ποσότητα ινσουλίνης, έτσι ώστε να ωθήσει την γλυκόζη που υπάρχει ήδη στο αίμα προς τα κύτταρα. Η ώθηση αυτή, σηματοδοτεί και τη μείωση των επιπέδων σακχάρου (γλυκόζης) στο αίμα. Ο άνθρωπος που έχει διαγνωστεί με Σακχαρώδη Διαβήτη έχει αρκετά αυξημένη ποσότητα γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία). Αυτό συμβαίνει γιατί είτε το πάγκρεας δεν παράγει αρκετή ή ακόμη και καθόλου ινσουλίνη, ή γιατί τα κύτταρα δεν ανταποκρίνονται επαρκώς στην παραγόμενη από το πάγκρεας ινσουλίνη. Λόγω της αυξημένης κυκλοφορίας γλυκόζης που παρατηρείται στο αίμα, τα κύτταρα έχουν σαν αποτέλεσμα να μην μπορούν να την απορροφήσουν, ώστε να ικανοποιήσουν τις ανάγκες του σώματος, παράγοντας ενέργεια. Μέσω της ούρησης, ο οργανισμός μας αποβάλλει την παραπάνω ποσότητα γλυκόζης. Η περίσσεια γλυκόζη στο αίμα, προκαλεί αύξηση των κετονών τόσο στο αίμα όσο και στα ούρα. Κετόνες καλούνται τα υποπροϊόντα μίας ατελούς καύσης (μεταβολισμός) της γλυκόζης. Η αύξηση της γλυκόζης και η ακόλουθη αύξηση των κετονοσωμάτων, έχουν ως αποτέλεσμα βλάβη στα νεφρά και στα αγγεία, τόσο έντονη που προκαλεί κετοξέωση (DKA) και διαβητικό κώμα, μέσα σε λίγες μόνο ώρες. Για τον λόγο αυτό, ως θεραπεία είναι αναγκαία η χορήγηση ινσουλίνης. Επιπλέον, λόγω της έλλειψης ινσουλίνης, τα λιπαρά οξέα απελευθερώνονται από την περίσσεια λιποκυττάρων στο ήπαρ, όπου μετατρέπονται σε ακετοξεϊκό οξύ, σε β-οξυβουτυρικό και σε κετόνες, και απελευθερώνονται στην κυκλοφορία.

1.2 Επιδημιολογία και παράγοντες κινδύνου

Ο Σακχαρώδης διαβήτης ένα τόσο παλαιό πρόβλημα, που σήμερα έχει πάρει διαστάσεις επιδημίας. Η συχνότητα εμφάνισης του διαβήτη ποικίλλει σε κάθε περιοχή και αυτή η διαφορά οφείλεται σε φυλετικούς λόγους, συνθήκες εργασίας και διαβίωσης, διατροφή, οικονομικούς λόγους, παράγοντες που σχετίζονται με τη μέθοδο συχνότητας ελέγχου κ.λπ.

Υπολογίζεται πως 366 εκατομμύρια άνθρωποι είχαν ΣΔ το 2011 και ο αριθμός αυτός θα αυξηθεί στα 552 εκατομμύρια, έως το έτος 2030 (Whiting et al., 2011). Ο αριθμός των ατόμων με ΣΔ τύπου 2 αυξάνεται σε κάθε χώρα με ποσοστό 80% των ατόμων που έχουν ΣΔ να βρίσκεται σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος. Ο ΣΔ προκάλεσε 4,6 εκατομμύρια θανάτους το 2011 (Whiting et al., 2011) και υπολογίζεται πως 439 εκατομ-

μύρια άνθρωποι θα έχουν τον ΣΔ τύπου 2 έως το έτος 2030 (Wild et al., 2004). Έχει ενδιαφέρον πως η εξέταση των τάσεων των δεδομένων εντός της Αφρικής δείχνει στοιχεία για δραματική αύξηση του επιπολασμού τόσο σε αγροτικό όσο και στο αστικό περιβάλλον, και επηρεάζει εξίσου και τα δύο φύλα (Whiting et al., 2011).

Στην Ευρώπη, ο ΣΔ ανήκει στις κυριότερες αιτίες θανάτου και συνεχίζει να αυξάνεται σε επιπολασμό με διαβητικές μακρο- και μικροαγγειακές επιπλοκές που έχουν ως αποτέλεσμα αφενός την αυξημένη αναπηρία στους ασθενείς και το τεράστιο κόστος υγειονομικής περίθαλψης από την άλλη (Tamayo et al., 2014). Το 2013, ο αριθμός των ατόμων με διαβήτη υπολογίστηκε στα 56 εκατομμύρια άτομα στην Ευρώπη, με αντίστοιχο συνολικό εκτιμώμενο επιπολασμό 8,5%. Ωστόσο, οι εκτιμήσεις για τον επιπολασμό του διαβήτη το 2013 ποικίλλουν ευρέως στις Ευρωπαϊκές χώρες, από 2,4% στη Μολδαβία έως 14,9% στην Τουρκία (Tamayo et al., 2014). Οι τάσεις στον επιπολασμό του διαβήτη ποικίλουν επίσης μεταξύ εκείνων των χωρών που εμφάνιζαν σταθερό επιπολασμό από το 2002. Αρκετές εξ' αυτών των χωρών παρουσίασαν σταθερό επιπολασμό, αλλά η Τουρκία διπλασίασε τον επιπολασμό της νόσου στο διάστημα αυτό (2002-2013) (Tamayo et al., 2014). Για το 2035, προβλέπεται περαιτέρω αύξηση σχεδόν 10 εκατομμυρίων ατόμων με διαβήτη για την Ευρώπη, με μεγάλες διαφορές στην κατανομή των παραγόντων κινδύνου για διαβήτη σε επίπεδο πληθυσμού στην Ευρωπαϊκή ήπειρο, καθιστώντας την διαχείριση της κατάστασης ιδιαίτερα δύσκολη.

Γενικότερα, προβλέπεται ότι ο επιπολασμός του ΣΔ σε ενήλικες στους οποίους θα εκδηλωθεί ΣΔ τύπου 2, θα αυξηθεί τα επόμενα είκοσι έτη κι ένα μεγάλο μέρος της αύξησης θα προκύψει στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου η πλειοψηφία των ασθενών είναι ηλικίας μεταξύ 45-64 ετών. Με την πάροδο των ετών παρατηρείται αύξηση της επίπτωσης ΣΔ τύπου 1 σχεδόν σε όλες τις χώρες. Η αύξηση αυτή αφορά κυρίως τα παιδιά προσχολικής ηλικίας. Παιδιά και νεαροί ενήλικες, προσβάλλονται, χωρίς όμως να μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο εκδήλωσης της νόσου ανεξαρτήτως ηλικίας. Ο ΣΔ τύπου 1 αφορά το 15-20% των διαβητικών και έχει επιπολασμό που κυμαίνεται ευρέως μεταξύ χωρών. Παρατηρήθηκε πως όσο πιο βόρεια βρίσκεται μία χώρα στο χάρτη και όσο βορειότερα σε μία χώρα βρίσκεται η περιοχή που μελετάται, τόσο μεγαλύτερο επιπολασμό της νόσου εμφανίζει. Ο υψηλότερος επιπολασμός έχει καταγραφεί στις Σκανδιναβικές χώρες. Οι διαφορές μεταξύ των χωρών διερευνώνται ακόμα, με σκοπό την ανάδειξη των παραγόντων εκείνων

(γενετικών, περιβαλλοντικών ή άλλων) που πιθανώς ενέχονται στην αιτιολογία και την παθογένεια της νόσου, έτσι ώστε να σχεδιαστούν μελέτες για την πρόληψή της. Η εμφάνιση νέων περιπτώσεων της νόσου (επίπτωση, incidence) παρουσιάζει εποχιακή κατανομή, εξαιρώντας τους φθινοπωρινούς και χειμερινούς μήνες, που οι λοιμώξεις είναι συχνότερες. Το 2006 πρόσβαλλε 440 χιλιάδες παιδιά ηλικίας μικρότερης των 14 και ήταν η κύρια αίτια διαβήτη σε παιδιά κάτω των 10. Το ποσοστό των περιστατικών διαβήτη τύπου 1 αυξάνεται περίπου 3% ανά έτος. Οι τιμές διαφέρουν σε κάθε χώρα. Στη Φινλανδία, ο επιπολασμός είναι 35 στις 100.000 κάθε χρόνο, στην Ιαπωνία και την Κίνα είναι 1-3 στις 100.000 κάθε χρόνο και στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι 8-17 στις 100.000 κάθε χρόνο. Αντίστοιχα με την παγκόσμια κατάσταση, ο επιπολασμός του τύπου 1 έχει επίσης πληθύνει τα τελευταία 20 χρόνια στην Ευρώπη και υπολογίζεται πως υπήρχαν 129.350 περιστατικά σε παιδιά ηλικίας 0-14 ετών το 2013. Τα μητρώα παρέχουν έγκυρες πληροφορίες για τη συχνότητα του διαβήτη τύπου 1 με πληρέστερα διαθέσιμα δεδομένα για παιδιά από για ενήλικες (Tamayo et al., 2014).

Ειδικότερα ως προς τον μοντέρνο, δυτικό τρόπο ζωής, η παχυσαρκία (δείκτης μάζας σώματος [ΔΜΣ] $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) είναι ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου για ΣΔ2 (Carey et al., 1997) και σχετίζεται με μεταβολικές ανωμαλίες που καταλήγουν σε ανθεκτικότητα σε ινσουλίνη. Υπάρχει μια αντίστροφη γραμμική σχέση μεταξύ του ΔΜΣ και της ηλικίας κατά τη διάγνωση του ΣΔ2 (Hillier and Pedula, 2003). Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους η παχυσαρκία προκαλεί ΣΔ2 και ανθεκτικότητα σε ινσουλίνη μένει να διευκρινιστεί. Ωστόσο, πολλοί παράγοντες έχουν δείξει πως έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αυτής της παθολογικής διαδικασίας, η οποία περιλαμβάνει τόσο αυτόνομους μηχανισμούς κυττάρων όσο και ενδοοργανικές επικοινωνίες. Ένας άλλος παράγοντας κινδύνου για ΣΔ2, είναι και οι καθιστικός τρόπος ζωής, όπως φαίνεται από τη «Μελέτη για την Υγεία των Γυναικών και τη Μελέτη Παράγοντα Κινδύνου για Ισχαιμική Καρδιοπάθεια Kuiriio», η οποία παρουσίασε μείωση κατά 34% και 56% της ανάπτυξης ΣΔ2 σε συμμετέχοντες που περπατούσαν 2-3 ώρες την εβδομάδα ή τουλάχιστον 40 λεπτά την εβδομάδα, αντίστοιχα (Lynch et al., 1996, Weinstein et al., 2004). Υπάρχουν τρία κύρια οφέλη της σωματικής δραστηριότητας στην καθυστέρηση εμφάνισης ΣΔ2. Πρώτον, η σύσπαση των κυττάρων των σκελετικών μυών προξενεί αύξηση της ροής του αίματος στους μυς, εντείνοντας την πρόσληψη γλυκόζης από το πλάσμα (Venkatasamy et al., 2013). Δεύτερον, η σωματική δραστη-

ριότητα ελαττώνει το περιβόητο ενδοκοιλιακό λίπος, που είναι βασικός παράγοντας κινδύνου που ενισχύει την ανθεκτικότητα σε ινσουλίνη (Strasser, 2013). Τέλος, η μέτριας έντασης άσκηση έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την πρόσληψη γλυκόζης σε ποσοστό 40% (Ross, 2003). Η άσκηση βελτιώνει την πρόσληψη γλυκόζης και την ευαισθησία στην ινσουλίνη, αλλά μπορεί επίσης να βελτιώσει ή ακόμα και να αναστρέψει τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, που είναι παράγοντες οι οποίοι προδιαθέτουν για ΣΔ2 (Venkatasamy et al., 2013).

1.3 Αυτοάνοσος Διαβήτης

Ο ΣΔ1 χαρακτηρίζεται από την παρουσία κυκλοφορούντων αντισωμάτων έναντι αντιγόνων των νησίδων του παγκρέατος, τα β- κύτταρα των οποίων καταστρέφονται με αυτοάνοση διεργασία μεσολαβούμενη από τα T-κύτταρα. Ο αυξημένος αριθμός των Β-λεμφοκυττάρων σχετίζεται με την ανεύρεση αντινησιδιακών αντισωμάτων στην κυκλοφορία ασθενών με ΣΔ1. Η εκατοστιαία αναλογία των T-λεμφοκυττάρων έχει περιγραφεί ως φυσιολογική ή και μειωμένη. Οι διαταραχές των διαφόρων T-λεμφοκυττάρων υποπληθυσμών που έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με ΣΔ1 κατά την περίοδο της διάγνωσης της νόσου είναι πολυάριθμες. Κυριότερες θεωρούνται οι λειτουργικές – αλλά και ποσοτικές – διαταραχές των κατασταλτικών T-λεμφοκυττάρων, η αυξημένη δραστηριότητα των φυσικών κυτταροκτόνων και η αυξημένη κυκλοφορία ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων. Η σχέση T4/T8 έχει βρεθεί αυξημένη, ιδιαίτερα για τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα έχει αναφερθεί ότι είναι δυνατό να αποτελέσουν χρήσιμο δείκτη ενεργού βλάβης των β-κυττάρων κατά την προ διαβητική περίοδο χωρίς όμως να υπάρχει ομοφωνία, κυρίως έπειτα από πολύ πρόσφατες μελέτες με κυτταρομετρητή ροής.

Τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα, ρυθμίζονται από 6 παράγοντες: α) ινσουλίνη, β) γλυκαγόνη, γ) αυξητική ορμόνη, δ) παγκρεατικό πολυπεπτίδιο, ε) σωματοστατίνη, στ) παγκρεατοστατίνη. Η ινσουλίνη είναι ο μοναδικός γνωστός παράγοντας υπογλυκαιμίας. Είναι πολυπεπτίδιο αποτελούμενο από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες: την Α και τη Β, με 21 αμινοξέα και 30 αμινοξέα αντίστοιχα, που συνδέονται με δύο δισουλφιδικές γέφυρες και η διάσπασή τους αναστέλλει τη βιολογική δράση της ινσουλίνης. Η ποσότητά της αναφέρεται σε διεθνείς μονάδες (IU), έτσι 1 mg καθαρής ινσουλίνης είναι ισούται περίπου με 25 IU ή 1IU αντιστοιχεί με 40 μg = 7 nanomol (nmol). Στη βιοσύνθεσή της μέσα στα β-κύτ-

ταρα βρίσκεται σαν προΐνσουλίνη (όπου οι αλυσίδες A και B είναι ενωμένες με την παρεμβολή του C πεπτιδίου). Προ της εκκρίσεώς της αποσπάται το C πεπτίδιο από την προΐνσουλίνη. Ο χρόνος ημιζωής της ινσουλίνης μετά την έκκριση στο πλάσμα είναι μόνο λίγα λεπτά.

Η ινσουλίνη επιδρά στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των λιπών και των λευκωμάτων ως εξής: παράγοντας την είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα, τη σύνθεση γλυκόγνου στα ηπατικά και μυϊκά κύτταρα, τη λιπογένεση (μετατροπή της γλυκόζης σε λίπος) και τα λιπογονία (αύξηση αποθεμάτων λίπους με περιορισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα), τον αναβολισμό (είσοδος αμινοξέων στα κύτταρα και σύνθεση λευκώματος) περιορίζοντας παράλληλα τη νεογλυκογένεση (REF).

1.4 Παθογένεση αυτοάνοσου διαβήτη (Διαβήτης τύπου 1)

Παρ' όλο που τα κύτταρα παγκρεατικών νησιδίων A (παράγουν γλυκαγόνη), τα Δ-κύτταρα (παράγουν σωματοστατίνη), τα PP κύτταρα (παράγουν το παγκρεατικό πολυπεπτίδιο) είναι λειτουργικά παρόμοια με τα β-κύτταρα και εκφράζουν πολλές από τις πρωτεΐνες που εκφράζουν τα β-κύτταρα, διαφεύγουν της αυτοάνοσης διαδικασίας. Τα παγκρεατικά κύτταρα διηθούνται από λεμφοκύτταρα (μία διαδικασία γνωστή ως ινσουλίτιδα), αλλά και από μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα. Μόλις καταστραφούν τα β-κύτταρα, η φλεγμονώδης διαδικασία χαλαρώνει, τα νησίδια ατροφούν και οι περισσότεροι δείκτες εξαφανίζονται. Μελέτες αυτοάνοσων διεργασιών σε ανθρώπους και σε πειραματικά ζωικά μοντέλα διαβήτη τύπου 1 (NOD mouse, BB rat) έχουν δείξει ανωμαλίες στην χημική και κυτταρική λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος: 1) Αυτο-αντισώματα έναντι των νησιδιακών κυττάρων, 2) ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα στα νησίδια, στους περιπαγκρεατικούς λεμφαδένες και στην συστηματική κυκλοφορία 3) T-λεμφοκύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται και πολλαπλασιάζονται κατόπιν διέγερσης με νησιδιακές πρωτεΐνες και 4) απελευθέρωση κυτοκινών στην περιοχή της ινσουλίτιδας. Τα βήτα κύτταρα είναι ευαίσθητα στις τοξικές επιδράσεις ορισμένων κυτοκινών (TNF- α , IL-1, IFN-g), ενώ ο βαθμός και η ταχύτητα καταστροφής από την ινσουλίτιδα εξαρτάται από τον τύπο των εκκρινόμενων κυτοκινών (οι Th1 είναι πιο κυτοτοξικές ενώ οι Th2 ρυθμιστικές και περιοριστικές της καταστροφικής διαδικασίας).

Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί του θανάτου των β-κυττάρων είναι ακόμη άγνωστοι, φαίνεται να περιλαμβάνουν σχηματισμό μεταβολιτών του μονοξειδίου του αζώτου, απόπτωση και άμεση κυτταροτοξικότητα από CD8+ T-κύτταρα. Η καταστροφή των νησιδίων μεσολαβείται από T-λεμφοκύτταρα παρά από νησιδιακά αυτοαντισώματα, δεδομένου ότι τα αντισώματα αυτά δεν αντιδρούν γενικά με την κυτταρική επιφάνεια των νησιδιακών κυττάρων και δεν είναι ικανά να προκαλέσουν σακχαρώδη διαβήτη σε ζωικά μοντέλα. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι ορισμένοι κλώνοι T-κυττάρων μπορεί να διαδραματίζουν ρυθμιστικό, αλλά όχι καταστροφικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου και ανοίγουν νέες προοπτικές ανοσοθεραπείας. Εντούτοις, η καταστολή της αυτοάνοσης διαδικασίας (π.χ. κυκλοσπορίνη, αντισώματα έναντι T-λεμφοκυττάρων) κατά τη στιγμή της διάγνωσης του διαβήτη μειώνει το βαθμό καταστροφής των β-κυττάρων, αλλά αμφισβητείται η ασφάλεια τέτοιων παρεμβάσεων ακόμα.

Μόρια των παγκρεατικών νησιδίων έναντι των οποίων κατευθύνεται η αυτοάνοση διαδικασία είναι: η ινσουλίνη, η αποκαρβοξυλάση του γλουταμικού οξέος (GAD), το ICA-512/ICA-2 (εμφανίζει ομολογία με τις τυροσινικές φωσφατάσες) και η φογκρίνη (rhogrin, πρωτεΐνη των εκκριτικών κυστιδίων της ινσουλίνης) και αυτοαντισώματα έναντι ενός ή περισσότερων από αυτά είναι παρόντα στο 90% ατόμων με νέο-διαγνωσθέν διαβήτη τύπου 1A. Εκτός της ινσουλίνης κανένα από τα αυτοαντισώματα δεν είναι ειδικά για τα β-κύτταρα, κάτι που βέβαια γεννά την απορία του γιατί τα β-κύτταρα καταστρέφονται εκλεκτικά.

Οι σύγχρονες θεωρίες δείχνουν την έναρξη μιας αυτοάνοσης διαδικασίας που αρχικά κατευθύνεται έναντι ενός μορίου των β-κυττάρων (το οποίο μάλλον είναι η ινσουλίνη) και στη συνέχεια επεκτείνεται και σε άλλα νησιδιακά μόρια, καθώς η καταστροφή των β-κυττάρων δημιουργεί μία σειρά δευτερογενών αυτοαντιγόνων. Τα β-κύτταρα ατόμων τα οποία αναπτύσσουν τύπου 1 Διαβήτη δεν διαφέρουν από εκείνα υγιών ατόμων, καθώς νησίδια τα οποία μεταμοσχεύονται από έναν γενετικά όμοιο δίδυμο καταστρέφονται από μία επάνοδο της αυτοάνοσης διαδικασίας.

Η εμφάνιση αυτοαντισωμάτων που σχετίζονται με τον διαβήτη έχει αποδειχθεί ότι είναι σε θέση να προβλέψει την εμφάνιση του ΣΔ τύπου 1 πριν την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας. Τα κυριότερα από τα αυτοαντισώματα είναι: αντινησιδιακά αντισώματα, αυτοαντισώματα εναντίον ινσουλίνης, αυτοαντισώματα που στοχεύουν στην 65-kDa ισομορφή της αποκαρβοξυλάσης του γλουταμικού οξέος (GAD) και αυτοαντισώματα που στοχεύουν τη

φωσφατάση που σχετίζεται με το IA-2 μόριο. Εξ ορισμού, η διάγνωση του ΣΔ τύπου 1 μπορεί να γίνει αρχικά κατά την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων και/ή σημείων, αλλά η εμφάνιση των αυτοαντισωμάτων μπορεί να ονομαστεί «λανθάνων αυτοάνοσος διαβήτης». Δεν αναπτύσσουν όλα τα άτομα με αυτοαντισώματα διαβήτη τύπου 1, αλλά ο κίνδυνος αυξάνει με αύξηση του αριθμού αυτών των τύπων αντισωμάτων. Άτομα με τρεις έως τέσσερις τύπους αντισωμάτων έχουν αυξημένο κίνδυνο 60%-100% για εξέλιξη ΣΔ τύπου 1. Το χρονικό διάστημα από την εμφάνιση των αυτοαντισωμάτων μέχρι την εμφάνιση του τύπου 1 διαβήτη μπορεί να είναι λίγοι μήνες σε βρέφη και μικρά παιδιά, αλλά σε μερικά άτομα μπορεί να χρειαστούν χρόνια (σε ορισμένες περιπτώσεις περισσότερα από 10 χρόνια). Τα αντιησιδιακά αυτοαντισώματα ανιχνεύονται με συμβατικές τεχνικές ανοσοφθορισμού, ενώ τα υπόλοιπα μετρώνται με ειδικές ραδιενεργές δοκιμασίες πρόσδεσης.

1.5 Διαβήτης τύπου 2

Οι μηχανισμοί που οδηγούν σε ΣΔ2 και παθοφυσιολογία είναι η έκκριση ινσουλίνης που χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογικούς και δυσλειτουργικούς μηχανισμούς, αλλά και η κυτταρική φυσιολογία των β-κυττάρων. Για να υπάρχει η σωστή λειτουργία των β-κυττάρων, πρέπει να διασφαλιστεί η κυτταρική ακεραιότητα ενώ παράλληλα οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη φυσιολογία των β-κυττάρων απαιτείται να ρυθμιστούν αυστηρά (Cerf, 2013).

Τα β-κύτταρα είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ινσουλίνης, η οποία συντίθεται ως προ-προϊνσουλίνη. Η προ-προϊνσουλίνη στη διαδικασία της ορίμανσης, δέχεται μια διαμορφωτική τροποποίηση που πραγματοποιείται με τη βοήθεια πολλών πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο (EP) ώστε να γίνει η παραγωγή της (Bunney et al., 2017). Στη συνέχεια, η προϊνσουλίνη μεταφέρεται από το EP στη συσκευή Golgi (GA), εισχωρώντας σε ανώριμα εκκριτικά κυστίδια όπου διασπώνται σε C-πεπτίδιο και ινσουλίνη (Boland et al., 2017). Όταν ωριμάσει, αποθηκεύεται σε κόκκους μέχρι να ενεργοποιηθεί η απελευθέρωση της. Η απελευθέρωση ινσουλίνης πυροδοτείται κυρίως από μια απόκριση σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Και άλλοι παράγοντες μπορούν επίσης να προκαλέσουν απελευθέρωση ινσουλίνης, όπως αμινοξέα, λιπαρά οξέα και ορμόνες (Boland et al., 2017). Όταν τα επίπεδα γλυκόζης στην κυκλοφορία αυξάνονται, τα β-κύτταρα προσλαμβάνουν γλυκόζη κυρίως μέσω του μεταφορέα γλυκόζης 2 (GLUT2), μιας πρωτεΐνης φορέα διαλυμένης ουσίας που λειτουργεί ομοίως ως αισθητήρας γλυκόζης για τα β-κύτταρα. Μόλις

εισέλθει η γλυκόζη, ενεργοποιείται ο καταβολισμός της γλυκόζης, αυξάνοντας την ενδοκυτταρική αναλογία ATP/ADP, η οποία προκαλεί το κλείσιμο των διαύλων καλίου που εξαρτώνται από το ATP στην πλασματική μεμβράνη. Αυτό οδηγεί σε αποπόλωση της μεμβράνης και άνοιγμα των εξαρτώμενων από την τάση καναλιών Ca^{2+} , επιτρέποντας στο Ca^{2+} να εισέλθει στην κυψέλη. Η αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης Ca^{2+} πυροδοτεί την εκκίνηση και τη σύντηξη των εκκριτικών κόκκων που περιέχουν ινσουλίνη στην πλασματική μεμβράνη, με αποτέλεσμα την εξωκυττάρωση της ινσουλίνης (Boland et al., 2017). Επιπλέον, τα σήματα Ca^{2+} μπορούν να ενισχυθούν από τους υποδοχείς RY (RYR) και να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη σύζευξη ερεθίσματος-έκκρισης ινσουλίνης λόγω των στρατηγικών τους θέσεων εντός του κυττάρου και της ικανότητάς τους να μεσολαβούν στην επαγόμενη από το Ca^{2+} απελευθέρωση Ca^{2+} (CICR) (Islam, 2002). Ωστόσο, άλλα κυτταρικά σήματα μπορούν επίσης να βοηθήσουν ή να ενισχύσουν την απελευθέρωση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα. Μεταξύ αυτών, το cAMP μπορεί να είναι ο πιο σημαντικός αγγελιοφόρος που ενισχύει την απελευθέρωση ινσουλίνης. Τα συσσωρευμένα στοιχεία υποδηλώνουν ότι το cAMP προκαλεί κινητοποίηση εκκριτικών κυστιδίων που περιέχει ινσουλίνη εξαντλώντας τις ενδοκυτταρικές δεξαμενές Ca^{2+} , αυξάνοντας έτσι τις ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις Ca^{2+} . Υπάρχουν επίσης πειστικές ενδείξεις ότι το εξωκυτταρικό ATP είναι ένας άλλος σημαντικός ρυθμιστής της λειτουργίας των β-κυττάρων (Blachier and Malaisse, 1988).

Παράλληλα, διάφοροι μηχανισμοί οδηγούν σε δυσλειτουργία των β-κυττάρων, η οποία έχει συνδεθεί παραδοσιακά με τον θάνατο τους. Ωστόσο, πρόσφατα στοιχεία υποδηλώνουν ότι η δυσλειτουργία των β-κυττάρων στον ΣΔ2 μπορεί να οφείλεται σε ένα πιο περίπλοκο δίκτυο αλληλεπιδράσεων μεταξύ του περιβάλλοντος και των διαφορετικών μοριακών οδών που εμπλέκονται στην κυτταρική βιολογία. Σε υπερβολική διατροφική κατάσταση, παρόμοια με αυτή που παρατηρείται στην παχυσαρκία, συχνά υπάρχουν υπεργλυκαιμία και υπερλιπιδαιμία, ευνοώντας την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη χρόνια φλεγμονή. Υπό αυτές τις συνθήκες, τα β-κύτταρα, λόγω των διαφορών στη γενετική τους ευαισθησία, υπόκεινται σε τοξικές πιέσεις, όπως φλεγμονή, φλεγμονώδες στρες, στρες στο ER, μεταβολικό/οξειδωτικό στρες, στρες αμυλοειδούς, με τη δυνατότητα να οδηγήσουν τελικά σε απώλεια της ακεραιότητας των νησίδων (Christensen and Gannon, 2019).

Η περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων και η υπεργλυκαιμία οδηγούν σε δυσλειτουργία των β-κυττάρων επάγοντας στρες μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών

της αποπτωτικής απόκρισης πρωτεϊνών. Στην πραγματικότητα, η λιποτοξικότητα, η γλυκοτοξικότητα και η γλυκολοτοξικότητα που εμφανίζονται στην παχυσαρκία, επάγουν μεταβολικό και οξειδωτικό στρες που οδηγεί σε βλάβη των β-κυττάρων. Το στρες που προέρχεται από υψηλά επίπεδα κορεσμένων ελεύθερων λιπαρών οξέων μπορεί να ενεργοποιήσει την οδό αποπτωτικής απόκρισης πρωτεϊνών με διάφορους μηχανισμούς. Επιπλέον, τα διατηρούμενα υψηλά επίπεδα γλυκόζης αυξάνουν τη βιοσύνθεση της προϊνσουλίνης και τα πολυπεπτίδια αμυλοειδούς νησίδας (IAAP) στα β-κύτταρα, οδηγώντας στη συσσώρευση λανθασμένα διπλωμένης ινσουλίνης και IAAP και αυξάνοντας την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου που προκαλούνται από αναδίπλωση οξειδωτικής πρωτεΐνης (ROS) (Yamamoto et al., 2019). Αυτές οι επιδράσεις αλλάζουν τη φυσιολογική κινητοποίηση του Ca^{2+} και επάγουν συνολικά την απελευθέρωση ιντερλευκίνης (IL)-1 β που στρατολογεί τα μακροφάγα και ενισχύει την τοπική φλεγμονή των νησίδων.

Παράλληλα, θα πρέπει να υπάρξει ρύθμιση στην έκκριση ινσουλίνης για να υπάρξει κάλυψη με ακρίβεια τη μεταβολική ζήτηση. Για το λόγο αυτό, η σωστή ακεραιότητα των νησίδων πρέπει να διατηρηθεί προκειμένου να επιτραπεί στα β-κύτταρα να ανταποκριθούν στις μεταβολικές ανάγκες. Υπό παθογόνες συνθήκες, ο μηχανισμός που έγινε ανάλυση παραπάνω μπορεί τελικά να οδηγήσει σε διαταραχή της ακεραιότητας/οργάνωσης των νησίδων, μειώνοντας τη βέλτιστη επικοινωνία κυττάρου με κύτταρο εντός των παγκρεατικών νησίδων, συμβάλλοντας στην κακή ρύθμιση της απελευθέρωσης ινσουλίνης και γλυκαγόνης και τελικά επιδεινώνοντας την υπεργλυκαιμία. Ελαττώματα στη σύνθεση οποιωνδήποτε προδρόμων ουσιών ινσουλίνης, ή της ίδιας της ινσουλίνης, καθώς και διαταραχή του μηχανισμού έκκρισης, μπορεί να οδηγήσουν σε δυσλειτουργία της έκκρισης ινσουλίνης, τον κύριο οδηγό της ανεπάρκειας των β-κυττάρων και τη θεμελίωση του ΣΔ2, όπως για παράδειγμα, η μειωμένη έκφραση στον μεταφορέα γλυκόζης GLUT2 ή η αποτυχία στην αναδίπλωση της προϊνσουλίνης, ευρήματα που συνδέονται συνήθως με την ανεπαρκή παραγωγή ινσουλίνης και τον διαβήτη (Liu et al., 2018).

Πέρα από τους παράγοντες που συντελούν στην δημιουργία ΣΔ2, υπάρχουν και εκείνοι που συνιστούν καταστάσεις παθολογικές οι οποίες βοηθούν στην διατήρηση του ΣΔ2. Οι καταστάσεις αυτές, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στους προδιαθεσικούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης του ΣΔ2 είναι οι διατροφικοί παράγοντες, η έλλειψη σωματικής άσκησης, η δυσβίωση του εντέρου, η μεταβολική μνήμη και η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία.

Όσον αφορά τους διατροφικούς παράγοντες η σύγχρονη δυτικού τύπου δίαιτα με τη λήψη λιπών και υδατανθράκων που αυξάνουν το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα και των πολύ-χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL), αλλά και των χυλομικρών, βοηθά στην στην αύξηση του ενδοκυτταρικού στρες, την δημιουργία φλεγμονωδών μορίων και την ενεργοποίηση προ-φλεγμονωδών μονοπατιών που προκαλούν μακράς διάρκειας επιγενετικές αλλαγές που συντηρούν την έκφραση των προφλεγμονωδών μορίων ακόμη και μετά τη ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης, αλλά και την διαταραχή της φυσιολογικής μιτοχονδριακής λειτουργίας (Graciano et al., 2011).

Η περιορισμένη δραστηριότητα, καθώς και η καθιστική ζωή συνιστούν επιπλέον λόγους διατήρησης της ανθεκτικότητας σε ινσουλίνη και συνδέονται με αυξημένους δείκτες χρόνιας χαμηλού βαθμού συστημικής φλεγμονής, όπως είναι η ιντερλευκίνη 6, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ή η ιντερλευκίνη 1. Προκλινικά δεδομένα υποδεικνύουν πως η διακοπή της φλεγμονώδους κατάστασης αυτής μπορεί να προστατεύσει από την πρόκληση ΣΔ2 (Esser et al., 2014).

Η μικροχλωρίδα του εντέρου απαρτίζεται από αρκετά μικροβιακά είδη που επηρεάζουν την ανθρώπινη φυσιολογία και συμμετέχουν σε διαφορετικές βιολογικές διεργασίες (Lynch and Pedersen, 2016). Αυτά μπορούν να ρυθμίσουν το ανοσοποιητικό σύστημα και τη φλεγμονώδη απόκριση, να ρυθμίσουν την ακεραιότητα του φραγμού του εντέρου και τον ανθρώπινο μεταβολισμό, να συμμετάσχουν στη σύνθεση των μεταβολιτών. Οι μικροοργανισμοί που κατοικούν στο έντερο παράγουν πολλούς μεταβολίτες που συμβάλλουν στη φυσιολογία σε υγιή άτομα. Ωστόσο, αλλαγές που οφείλονται τόσο σε κληρονομικούς όσο και σε επίκτητους παράγοντες όπως η ηλικία, η διατροφή, ο τρόπος ζωής, η γενετική προδιάθεση ή οι υποκείμενες ασθένειες μπορούν να επηρεάσουν την αναλογία μεταβολιτών που παράγεται από τη μικροχλωρίδα του εντέρου οδηγώντας σε μεταβολικές διαταραχές που μπορεί να καταλήξουν σε ασθένεια. Η βέλτιστη αποτίμηση της μικροχλωρίδας του εντέρου έχει επαληθεύσει τον σημαντικό ρόλο της στην ανάπτυξη διαβήτη και πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι αλλαγές στη δυσβίωση μπορούν να προάγουν το IR και τον ΣΔ2. Μια δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά μπορεί να προκαλέσει έως και τριπλάσια παραγωγή λιποπολυσακχαριτών (από Gram-αρνητικά βακτήρια) σε μοντέλα ποντικών, συμβάλλοντας έτσι σε χαμηλού επιπέδου φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη (Li et al., 2017). Επιπλέον, η εντερική δυσβίωση μπορεί να μειώσει τη σύνθεση

λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας που προάγει την ακεραιότητα του φραγμού του εντέρου, τον πολλαπλασιασμό των β-κυττάρων του παγκρέατος και τη βιοσύνθεση ινσουλίνης. Ακόμη, η δυσβίωση μπορεί επίσης να θέσει σε κίνδυνο την παραγωγή άλλων μεταβολιτών, όπως τα διακλαδισμένα αμινοξέα και η τριμεθυλαμίνη, διαταράσσοντας έτσι την ομοιόσταση της γλυκόζης και πυροδοτώντας την ανάπτυξη ΣΔ2 (Neis et al., 2015). Το πεδίο της κατανόησης των κλινικών επιπτώσεων του μικροβιώματος του εντέρου είναι σχετικά νέο και απαιτεί περαιτέρω έρευνα για να αποσαφηνιστεί καλύτερα η σύνδεση μεταξύ της μικροχλωρίδας του εντέρου και του ΣΔ2.

Η μεταβολική μνήμη είναι η διατήρηση των επιπλοκών του ΣΔ2 ακόμη και αφού έχει ρυθμιστεί το επίπεδο γλυκόζης στον οργανισμό και αφορά τις επιγενετικές αλλαγές που έλαβαν χώρα κατά τη διάρκεια της απορύθμισης των επιπέδων γλυκόζης στον οργανισμό, αλλά και την υπάρχουσα χαμηλού επιπέδου φλεγμονή που δημιουργήθηκε την ίδια περίοδο.

Επιπλέον, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία συνιστά έναν ακόμη παράγοντα που μπορεί να σχετιστεί με την ανάπτυξη/διατήρηση του ΣΔ2 και την ανθεκτικότητα σε ινσουλίνη. Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία συνδέεται με μία ανισορροπία μεταξύ της πρόσληψης και της δαπάνης ενέργειας στα μιτοχόνδρια και συνιστά μία κατάσταση που χαρακτηρίζεται από μειωμένη αναλογία παραγωγής ενέργειας προς την αναπνοή, οδηγώντας την μειωμένη αποτελεσματικότητα της οξείδωσης των θρεπτικών συστατικών και την μειωμένη αναλογία σύνθεσης ATP/κατανάλωσης οξυγόνου και την αύξηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Shigenaga et al., 1994). Η συσσώρευση ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια σαν μηχανισμός που συνδέει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία με την ανθεκτικότητα σε ινσουλίνη επιβεβαιώθηκε σε μελέτες που έδειξαν μειωμένη οξειδωτική ικανότητα μιτοχονδρίων στους σκελετικούς μυς και μειωμένο μεταβολισμό λιπιδίων σε παχύσαρκα και ανθεκτικά στην ινσουλίνη άτομα σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (Kelley et al., 1999).

1.6 Μεταβολισμός λιποπρωτεϊνών

Οι λιποπρωτεΐνες, οι οποίες μεταφέρουν τη μη υδατοδιαλυτή χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα, είναι σφαιρικά «σωματίδια» που αποτελούνται από έναν κεντρικό πυρήνα μη πολικών λιπιδίων (εστέρες χοληστερόλης, τριγλυκερίδια) και μια επιφανειακή

μονοστιβάδα φωσφολιπιδίων, ελεύθερη χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνες. Οι λιποπρωτεΐνες ταξινομούνται γενικά ανάλογα με την πυκνότητά τους ως χυλομικρά, λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (Very Low Density Lipoproteins, VLDL), λιποπρωτεΐνες μέσης πυκνότητας (Intermediate Density Lipoproteins, IDL), λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoproteins, LDL) και λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoproteins, HDL).

1.7 Χυλομικρά

Τα χυλομικρά, τα μεγαλύτερα σωματίδια λιποπρωτεΐνης, είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά των διατροφικών τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης. Τα χυλομικρά αποτελούνται από τριγλυκερίδια (85-90%), εστέρες χοληστερόλης, φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνες (κυρίως apoB48 αλλά και apoA-I και apoA-IV). Εκκρίνονται χυλομικρά στη λεμφική κυκλοφορία πριν εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος. Στο πλάσμα, τα τριγλυκερίδια του τα χυλομικρά υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση οδηγώντας στο σχηματισμό μικρότερων, σωματιδίων, που είναι φτωχότερα σε τριγλυκερίδια γνωστά ως υπολείμματα χυλομικρών. Τα υπολείμματα χυλομικρών απομακρύνονται από το ήπαρ μέσω του υποδοχέα LDL B/E ή του υποδοχέα LRP (Mansbach and Siddiqi, 2010).

1.8 VLDL και LDL

Τα σωματίδια VLDL, τα οποία εκκρίνονται από το ήπαρ, αποτελούνται από ενδογενή τριγλυκερίδια (55% έως 65%), χοληστερόλη, φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνες (apoB100 καθώς και apoC_s και apoE). Στα ηπατοκύτταρα, ο σχηματισμός της VLDL συμβαίνει σε δύο κύρια στάδια. Στο πρώτο βήμα, το οποίο λαμβάνει χώρα στο τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, η apoB λιπιδοποιείται, δηλαδή της προστίθενται μόρια λιπών σε επίπεδο συν-μεταφραστικό και μετα-μεταφραστικό, από την μικροσωμική μεταφορική πρωτεΐνη (MTP, Microsomal Transfer Protein). Η MTP μεταφέρει λιπίδια (κυρίως τριγλυκερίδια αλλά και εστέρες χοληστερόλης και φωσφολιπίδια) στην apoB. Αυτό το πρώτο βήμα οδηγεί στο σχηματισμό προ-VLDL (Olofsson et al., 2000). Στο δεύτερο βήμα, η προ-VLDL μετατρέπεται σε VLDL στο διαμέρισμα της λείας μεμβράνης και το βήμα αυτό καθοδηγείται από τον ADP παράγοντα ριβοσυλίωσης-1 (ARF-1) και την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης D, που απαιτείται για τον σχηματισμό της VLDL από την προ-VLDL (Olofsson et al., 2000).

Στο πλάσμα, τα τριγλυκερίδια των VLDL υδρολύονται από το ένζυμο λιποπρωτεϊνική λιπάση. Ως VLDL εξαντλούνται προοδευτικά σε τριγλυκερίδια και ένα τμήμα της επιφάνειας που περιλαμβάνει τα φωσφολιπίδια και τις απολιποπρωτεΐνες C και E μεταφέρονται σε μόρια HDL. Αυτός ο μεταβολικός καταρράκτης οδηγεί στο σχηματισμό σωματιδίων IDL, τα οποία είτε καθαρίζονται μέσω του LDL B/E υποδοχέα από το ήπαρ ή περαιτέρω μεταβολίζονται για να σχηματιστεί LDL. Το ένζυμο ηπατική λιπάση, το οποίο έχει δραστηριότητες τόσο τριγλυκεριδικής λιπάσης όσο και φωσφολιπάσης, εμπλέκεται σε αυτή τη μεταβολική διαδικασία δημιουργώντας σωματίδια LDL από IDL.

1.9 LDL

Η LDL είναι το τελικό προϊόν του καταρράκτη VLDL-IDL-LDL. Η LDL είναι ο κύριος φορέας χοληστερόλης στο πλάσμα. Κάθε σωματίδιο LDL περιέχει ένα μόριο apoB100, το οποίο παίζει ένα σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό της LDL, ιδιαίτερα την αναγνώριση του αποκλειστικού υποδοχέα της, του LDL B/E. Η κάθαρση της LDL μεσολαβείται από τον υποδοχέα αυτό. Εβδομήντα τοις εκατό των υποδοχέων LDL B/E βρίσκονται στα ηπατικά κύτταρα και κατά 30% στα άλλα κύτταρα του σώματος.

1.10 HDL

Τα σωματίδια HDL εκκρίνονται από τα ηπατοκύτταρα ως μικρές λιποπρωτεΐνες φτωχές σε λιπίδια, που περιέχουν ως επί το πλείστον apoA-1 και οι οποίες λαμβάνουν, όταν βγουν στην κυκλοφορία, φωσφολιπίδια, apoCs και apoE από τα χυλομικρά και την VLDL. Οι φτωχές σε λιπίδια HDL λαμβάνονται από τα περιφερειακά κύτταρα μέσω του μεταφορέα ABCA1 (ATP Binding Cassette A1 μεταφορέας) και εκεί μεταφέρεται ελεύθερη χοληστερόλη και φωσφολιπίδια από το κυτταρόπλασμα στα σωματίδια HDL (που εμπλουτίζονται έτσι στα δύο αυτά μόρια, δηλαδή σε χοληστερόλη και φωσφολιπίδια) (Oram and Lawn, 2001). Εντός των σωματιδίων HDL, η χοληστερόλη στερεοποιείται με τη δράση της τρασφεράσης LCAT (Lecithin Cholesterol AcylTransferase) που οδηγεί στον σχηματισμό σωματιδίων HDL₃. Μία άλλη πρωτεΐνη, η PLTP (PhosphoLipid Transfer Protein), προωθεί την σύντηξη 2 σωματιδίων HDL₃ και οδηγεί στο σχηματισμό ενός μεγαλύτερου μεγέθους σωματιδίου HDL₂. Οι HDL₂ λιποπρωτεΐνες, πλούσιες σε εστέρα χοληστερόλης, αποικοδομούνται από την ηπατική λιπάση και την ενδοθηλιακή λιπάση, και οδηγούνται στο σχηματισμό

υπολειμμάτων HDL σωματιδίων που καθαρίζονται από το ήπαρ μετά από αναγνώριση από τον υποδοχέα SR-B1 (Scavenger Receptor class B type 1) (Jian et al., 1998).

1.11 Πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων

Ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων. Μεταξύ αυτών, δύο πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο: η CETP (Πρωτεΐνη Μεταφοράς Χοληστερυλεστέρα) και η PLTP (Πρωτεΐνη Μεταφοράς Φωσφολιπιδίων). Η μεν CETP διευκολύνει τη μεταφορά τριγλυκεριδίων από πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες (κυρίως VLDL) προς τις HDL και LDL και την αμοιβαία μεταφορά χοληστερυλεστέρων από τις HDL και LDL προς τις VLDL (Lagrost, 1994). Η πρωτεΐνη PLTP διευκολύνει την μεταφορά φωσφολιπιδίων και α-τοκοφερόλης μεταξύ λιποπρωτεϊνών, αλλά επίσης συμμετέχει και στο σχηματισμό λιποπρωτεϊνών HDL2 από σωματίδια HDL3 (Lagrost et al., 1998). Η τροποποίηση των δραστηριοτήτων των CETP ή PLTP είναι πιθανό να προκαλέσει σημαντικές ποιοτικές ανωμαλίες των λιποπρωτεϊνών.

2. Οξειδωτικό στρες

Η αερόβια ζωή χρησιμοποιεί οξυγόνο για την οξείδωση (μεταβολισμό) των υποστρωμάτων τροφίμων (πλούσια σε άνθρακα και υδρογόνο) για τη λήψη της θερμικής ενέργειας και χημικών απαραίτητων για τη ζωή. Όταν εμείς οξειδώνουμε τα μόρια με οξυγόνο, το μόριο οξυγόνου ανάγεται και σχηματίζει ενδιάμεσες μορφές. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, παράγονται πάντα ως συνέπεια του τακτικού φυσιολογικού μεταβολισμού, τα λεγόμενα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS). Αυτά τα ROS (προοξειδωτικά) και η παραγωγή τους εξισορροπούνται από τα κυτταρικά αντιοξειδωτικά και τους αντιοξειδωτικούς αμυντικούς μηχανισμούς στο φυσιολογικό περιβάλλον των κυττάρων. Οι ROS ορίζονται ως ποικίλες χημικές ουσίες που έχουν αντιδραστικές ιδιότητες και είναι ικανές να φιλοξενήσουν ή να δωρίσουν ηλεκτρόνια (e^-) στο ευρύ φάσμα των βιολογικών μορίων. Κανονικά, η παραγωγή και η εξουδετέρωση των ROS είναι σε ισορροπία με τα αντίστοιχα αντιοξειδωτικά σε ένα ζωντανό σύστημα και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να μην προκαλείται καμία οξειδωτική βλάβη και να καθορίζεται ως φυσιολογική κατάσταση. Η ανισορροπία μεταξύ αυτών των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών στον ζωντανό οργανισμό είναι αυτό που προσδιορίζει την κατάσταση οξειδωτικού στρες, φέρνει την κυτταρική διάσπαση και τη βλάβη. Το οξειδωτικό στρες προκαλείται από την περίσσεια αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS). Τα ROS περιλαμβάνουν το υπεροξείδιο, του οξυγόνου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, τις ρίζες υδροξυλίου. Παράλληλα υπάρχουν και τα αντιδρώντα είδη αζώτου RNS, που περιλαμβάνουν το νιτρικό οξύ, το διοξείδιο του αζώτου. Ο έλεγχος των ROS παρέχεται όχι μόνο μέσω της παραγωγής τους, αλλά και μέσω της απομάκρυνσης τους.

Η ελεύθερη ρίζα μπορεί να επιτεθεί στην οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε φυσιολογικά συστήματα και αυτό είναι γνωστό σαν υπεροξείδωση λιπιδίων. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων είναι μια αυτοκαταλυτική μεσολάβηση των ελεύθερων ριζών και μία καταστροφική διαδικασία κατά την οποία πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε κυτταρικές μεμβράνες υφίστανται αποικοδόμηση για να σχηματιστούν υδροϋπεροξείδια λιπιδίων. Παρα-προϊόντα της υπεροξείδωσης λιπιδίων όπως συζευγμένα διένια και μηλονοδιαλδεΰδη (MDA) είναι αυξημένα στους ασθενείς με παχυσαρκία, μεταβολική σύνδρομο και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2). Υδατάνθρακες, λιπίδια, πρωτεΐνες και το DNA είναι οι στόχοι για τροποποίηση από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από τα ROS.

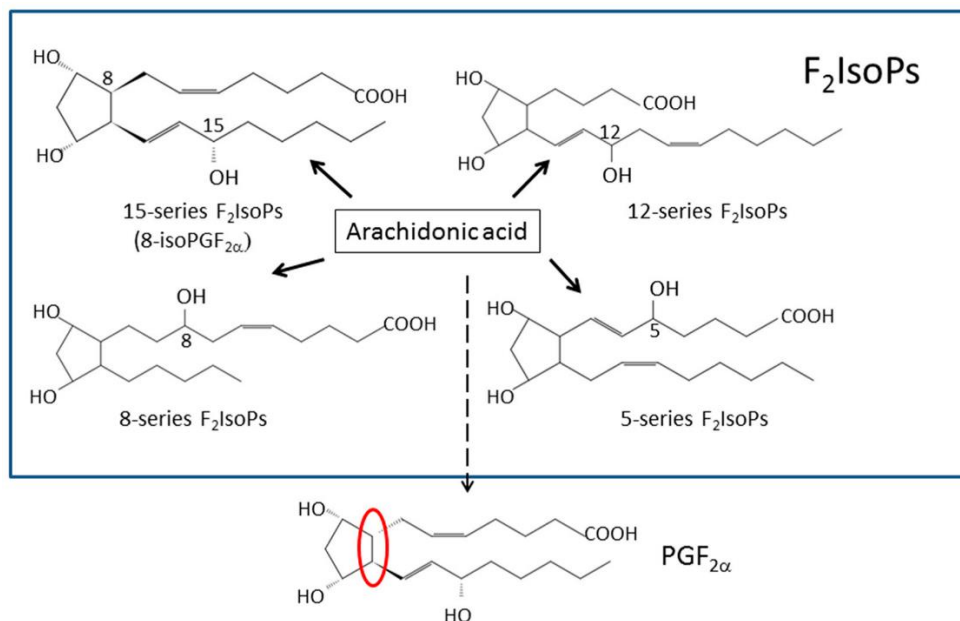
Η ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της εξάλειψης υπέρ της πρώτης, δηλαδή της παραγωγής, έχει ορισμένες συνέπειες για την κυτταρική φυσιολογία και έχει ονομαστεί «οξειδωτικό στρες» (Lushchak, 2014). Έτσι, το οξειδωτικό στρες είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να δηλώσει την ανισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων των ενεργών ειδών οξυγόνου και αζώτου και των αμυντικών μηχανισμών του σώματος. Αν και είναι γενικά αποδεκτό ότι μια τέτοια ανισορροπία παίζει καθοριστικό ρόλο σε πολλές παθολογίες, ο όρος «οξειδωτικό στρες» παραμένει ασαφής. Η συσσώρευση ειδών ενεργού οξυγόνου και αζώτου οδηγεί σε οξειδωτική βλάβη σχεδόν σε όλα τα μόρια. Αυτά τα αντιδρώντα είδη δεν είναι απαραίτητα απειλή για το σώμα υπό φυσιολογικές φυσιολογικές συνθήκες (Li et al., 2015), αλλά όταν το σώμα δεν τα απομακρύνει σε κάποιο βαθμό, το οξειδωτικό στρες διεγείρει τον σχηματισμό αθηροσκληρωτικών πλακών και αυξάνει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και αθηροσκλήρωση (Bonomini et al., 2008).

Η συσσώρευση ειδών ενεργού οξυγόνου και αζώτου οδηγεί σε οξειδωτική βλάβη σχεδόν σε όλα τα μόρια. Αυτά τα αντιδρώντα είδη δεν είναι απαραίτητα απειλή για το σώμα υπό φυσιολογικές φυσιολογικές συνθήκες.

Το αντιοξειδωτικό σύστημα του ζωντανού συστήματος, διαθέτει αντιοξειδωτικούς αμυντικούς μηχανισμούς που περιλαμβάνει ένζυμα και μη ενζυμικά μόρια όπως το ένζυμο SOD, την καταλάση (CAT) και τις υπεροξειδάσες γλουταθειόνης (GPx). Το ένζυμο SOD καταλύει τη μετατροπή του O_2 σε H_2O_2 , ενώ η CAT μετατρέπει το H_2O_2 σε H_2O και O_2 . Τα μόρια υπεροξειδίου χρησιμοποιούν μη ενζυματική γλουταθειόνη (GSH· ανηγμένες και οξειδωμένες μορφές), ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) και GPx και καταλύουν την παραγωγή οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) και νερού (Savaskan et al., 2007). Διάφορα ένζυμα παίζουν σημαντικούς συνδυαστικούς ρόλους σε μία σειρά αντιοξειδωτικών αμυντικών συστημάτων, όπως η αναγωγή της γλουταθειόνης, η S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης και η δισουλφίδα της γλουταθειόνης (GSSG).

Η παραγωγή ROS αναγνωρίζεται ως ενδογενής και εξωγενής. Η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία και οι ξеноβιοτικοί παράγοντες έχει αποδειχθεί ότι δημιουργούν ROS. Στην πραγματικότητα, όμως, είναι η διατροφή που δρα σαν την κύρια πηγή αυτών των οξειδωτικών ενώσεων, ειδικά το ζωικό λίπος ως πηγή υπεροξειδίων υψηλών λιπιδίων. Το ROS μπορεί επίσης να προέρχεται από τις γενικές βιοχημικές αντιδράσεις σε ζωντανούς οργανισμούς για τη δημιουργία ROS ως παραπροϊόντα ή τελικά προϊόντα.

Παρά τη συσσωρευμένη γνώση για τους ρόλους του οξειδωτικού στρες σε πολλές σοβαρές παθοφυσιολογικές διεργασίες, η μέτρηση των ROS είναι ακόμα δύσκολη. Ωστόσο, τα ROS δεν ζουν για πολλή ώρα και δεν συσσωρεύονται σε αρκετά υψηλά επίπεδα ώστε να καταστεί εύκολη η μέτρηση τους. Τα ROS οξειδώνουν διάφορα βιολογικά μακρομόρια, όπως τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και τα νουκλεϊκά οξέα, προκαλώντας έτσι δομικές και λειτουργικές αλλαγές στα μόρια αυτά. Η οξείδωση των λιπιδίων παράγει υδροϋπεροξείδια, τα οποία στη συνέχεια υφίστανται κατακερματισμό και παράγουν ένα ευρύ φάσμα αντιδραστικών ενδιάμεσων μορίων, όπως η προσταγλανδίνη F₂, ισομερείς F₂-ισοπροστάνες (F₂-IsoPs) και μηλονοδιαλδεΐδη (MDA). Επειδή τα λιπίδια στις βιολογικές μεμβράνες και στις λιποπρωτεΐνες είναι κύριοι στόχοι υπεροξείδωσης, οι δοκιμασίες μετρήσεις για την υπεροξείδωση των λιπιδίων χρησιμοποιούνται συνήθως για την εκτίμηση της οξειδωτικής κατάστασης (Catalá, 2009).



Εικόνα 1: Δημιουργία των τάξεων των F₂-IsoPs όπου φαίνονται και οι δομικές τους διαφορές (ο κόκκινος κύκλος συμβολίζει τις αλυσίδες που έχουν θέση trans ως προς το δαχτυλίδι του προστανίου) από (Ito et al., 2019).

Επομένως, αυτά τα τροποποιημένα βιομόρια ROS χρησιμοποιούνται ως δείκτες οξειδωτικού στρες τόσο in vivo όσο και σε in vitro μέτρηση. Πρόσφατη μελέτη σε ζωικά μοντέλα δείχνει ότι τα ROS μπορεί λειτουργούν ως ο μηχανικός σύνδεσμος της ευαίσθητης στο αλάτι υπέρτασης, υπερβολικής διατροφής και δίαιτας πλούσια σε λιπαρά, μεταβολικό

σύνδρομο και σε μοντέλο διαβήτη τύπου 2. Τα επίπεδα ROS είναι αυξημένα στην παχυσαρκία, ιδιαίτερα στην κοιλιακή παχυσαρκία που είναι η κύριο συστατικό του μεταβολικού συνδρόμου και μπορεί να είναι μειωμένο με απώλεια βάρους (Vincent and Taylor, 2006).

Πολλές μελέτες έδειξαν πως το αυξημένο οξειδωτικό στρες συνδέεται με την παθογένεια ανθεκτικότητας σε ινσουλίνη μέσω κακής ρύθμισης των αδιποκινών. Σε μελέτες ζώων, το οξειδωτικό στρες ενισχύει την αντίσταση στην ινσουλίνη. Στο μεγάλο γενικό πληθυσμό μελέτες έδειξαν ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι πολυπαραγοντική και εμπειρεύει και γενετική βάση (Dedoussis et al., 2007) και παρατηρείται πολλά χρόνια πριν από την εμφάνιση του ΣΔ2. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η συνέπεια της μείωσης του έκκρισης ινσουλίνης είναι η αρχή της παθογένεσης του ΣΔ2. Οι όψιμες επιπλοκές του διαβήτη έχουν συσχετιστεί ως προς την αιτιολογία τους με το οξειδωτικό στρες (Dedoussis et al., 2007).

Μια άλλη προσέγγιση για τη μέτρηση της οξειδωτικής βλάβης είναι οι τροποποιήσεις πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων. Οι συνήθεις δοκιμές για την αξιολόγηση τέτοιων τροποποιήσεων για πρωτεΐνες είναι η μέτρηση της νίτρωσης της πρωτεΐνης και ειδικά στα κατάλοιπα τυροσίνης και τις καρβονυλικές ομάδες των οξειδωμένων πρωτεϊνών. Για την αξιολόγηση της οξείδωσης, μετριέται η περιεκτικότητα σε 3-νιτροτυροσίνη με western blotting, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), αέρια χρωματογραφία μάζας, φασματομετρία (GC/MS) και ενζυμική ανοσοπροσοροφητική δοκιμασία (ELISA) (Khan et al., 1998). Μεταξύ αυτών των αναλυτικών τεχνικών, η ELISA χρησιμοποιείται πιο συχνά για τη μέτρηση της 3-νιτροτυροσίνης, επειδή είναι χαμηλού κόστους, απλή και βολική ανάλυση.

Παράλληλα, η 8-υδρόξυ-20-δεόξυγουανοσίνη (8-OHdG) και η 8-υδροξυγουανοσίνη (8-OHG) είναι βιοδείκτες οξειδωτικής βλάβης των νουκλεϊκών οξέων, οι οποίοι μπορούν επίσης να εκτιμηθούν με ELISA, όπως και με άμεσες μεθόδους όπως HPLC και GC/MS (Dotan et al., 2004).

Σε μια προσπάθεια να αξιολογηθεί η σχέση μεταξύ διαφόρων τεστ που μετρούν το οξειδωτικό στρες, αναλύθηκαν οι συσχετίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων που αναφέρονται σε εκείνες τις δημοσιεύσεις στις οποίες το «οξειδωτικό στρες» έχει προσδιοριστεί με τουλάχιστον δύο μεθόδους. Βρέθηκαν καλές συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων πολλών προϊόντων υπεροξειδωσίας, συμπεριλαμβανομένων της μηλονοδιαδεΰδης, των F2-

ισοπροστανών, των λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων, των συζευγμένων διενίων, της γλουταθειόνης και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, αλλά όχι με άλλα κριτήρια «ατομικής οξειδωτικής κατάστασης», όπως είναι η μέτρηση των αντιοξειδωτικών και άλλων προϊόντων που προκύπτουν μετά από τον κατακερματισμό του DNA. Οπότε, δεν είναι σωστό να θεωρούμε όλες τις μεθόδους το ίδιο αξιόπιστες. Μία κατάταξη των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση του «οξειδωτικού στρες» είναι εκείνη τις ταξινομεί σε τρεις κατηγορίες: (i) μέθοδοι που βασίζονται στη μέτρηση των συγκεντρώσεων προϊόντων οξείδωσης λιπιδίων, πρωτεϊνών και DNA, καθώς και των συγκεντρώσεων αντιοξειδωτικών, (ii) μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της οξειδωτικής και αναγωγικής ικανότητας βιολογικών υγρών και (iii) μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ex vivo ευαισθησίας των λιπιδίων στην οξείδωση κατά την έκθεσή τους σε πηγή ελεύθερων ριζών. Οπότε, το οξειδωτικό στρες δεν μπορεί να οριστεί με καθολικούς όρους και τα κοινά χρησιμοποιούμενα κριτήρια που βασίζονται στην υπεροξείδωση των λιπιδίων δεν μπορούν να θεωρηθούν ως γενική εκτίμηση της ατομικής «οξειδωτικής κατάστασης» και του στρες (Dotan et al., 2004).

3. Μεθοδολογία εργασίας

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζεται η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την εύρεση βιβλιογραφίας για την εργασία.

3.1 Βάσεις δεδομένων ανεύρεσης άρθρων

Αναζητήθηκαν άρθρα που αφορούν το θέμα της οξείδωσης και των οξειδωμένων λιπιδίων γενικά αλλά και ειδικά ως προς τους διαβητικούς ανθρώπους. Οι βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η βάση Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) αλλά έγινε και αναζήτηση μέσω Google για πιθανή εύρεση άρθρων που δεν είναι καταχωρισμένα στην Pubmed.

3.2 Λέξεις ευρετηριασμού

Χρησιμοποιήθηκαν οι λέξεις ευρετηριασμού «oxidized lipids and diabetes», «lipid oxidation and diabetes», «lipid oxidation and diabetic patients» για την εύρεση άρθρων σχετικών με το θέμα. Μόνο άρθρα στην Αγγλική γλώσσα χρησιμοποιήθηκαν. Δεν έγινε περιορισμός στην αναζήτηση ως προς την περίοδο δημοσίευσης των άρθρων, μα επιλέχθηκαν

πιο πρόσφατα άρθρα αντί παλαιότερων. Χρησιμοποιήθηκαν όμως και ορισμένα παλαιότερα άρθρα για να αποδοθεί η ιστορική εξέλιξη της έρευνας πάνω στο θέμα. Μία άλλη συνθήκη ήταν η χρήση του κριτηρίου να είναι τα άρθρα ελεύθερης πρόσβασης και να μην απαιτείται πληρωμή για πρόσβαση του κειμένου της δημοσίευσης.

4. Διαβήτης και Οξειδωτικό στρες

4.1 Επιπλοκές του Σακχαρώδη Διαβήτη

Ο ΣΔ όπως είδαμε, είναι μια διαταραχή μεταβολισμού της οποίας κύρια χαρακτηριστικά είναι τα υψηλά επίπεδα σακχάρου στο αίμα, η υπεργλυκαιμία, που προκύπτει από ελαττώματα στην έκκριση ή τη επίδραση της ινσουλίνης ή και στα δύο. Ο ΣΔ έντονα σχετίζεται τόσο με μικροαγγειακές επιπλοκές (διαβητική νεφροπάθεια, νευροπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια) όσο και με μακροαγγειακές επιπλοκές (στεφανιαία νόσο, περιφερική αρτηριακή νόσο και εγκεφαλικό επεισόδιο) (Cade, 2008).

Πριν από σαράντα χρόνια, η μελέτη Framingham ανέφερε ότι ο κίνδυνος ενός επεισοδίου στεφανιαίας νόσου ήταν 2-έως 3 φορές υψηλότερος στους ασθενείς με ΣΔ από τους μη διαβητικούς (Kannel and McGee, 1979). Μεταγενέστερες μελέτες επιβεβαίωσαν την σημασία του μακροχρόνιου γλυκαιμικού ελέγχου στην πρόβλεψη όχι μόνο της μικροαγγειακής νόσου αλλά και τις μακροαγγειακές επιπλοκές. Επιπλέον, η Μελέτη του Διαβητικού ελέγχου και των επιπλοκών του/ Επιδημιολογίας του Διαβήτη (Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications, DCCT/EDIC) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου για μια περίοδο 8 ετών σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 είχε σημαντική ευεργετική επίδραση στις μικροαγγειακές επιπλοκές και μείωσε τους κινδύνους μακροαγγειακών επιπλοκών (Nathan et al., 2005).

Παράλληλα, η Προοπτική Μελέτη Διαβήτη του Ηνωμένου Βασιλείου (UKPDS) έδειξε ότι ο εντατικός γλυκαιμικός έλεγχος μείωσε την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου καθώς και τη διαβητική μικροαγγειοπάθεια κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας παρακολούθησης ασθενών με διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) (Holman et al., 2008). Είναι ενδιαφέρον ότι η συμβολή των κινδύνων της υπεργλυκαιμίας για καρδιαγγειακή νόσο είναι πολύ μεγαλύτερος στον τύπο 1 από ό,τι στον τύπο 2 του ΣΔ, λόγω άλλων παραγόντων κινδύνου που υπάρχουν σε Ασθενείς με ΣΔ2 (Ceriello, 2009). Για παράδειγμα, μια αύξηση 1% στην HbA1c

σχετίζεται με >50% αύξηση του κινδύνου της καρδιαγγειακής νόσου ασθενών με διαβήτη τύπου 1 συγκριτικά με αύξηση 7,5% στους ασθενείς με ΣΔ2 (Stratton et al., 2000).

4.2 Υπεργλυκαιμία και Οξειδωτικό στρες

Πολλές συχνές επιπλοκές του ινσουλινο-εξαρτώμενου σακχαρώδη διαβήτη, συμπεριλαμβανομένης της αμφιβληστροειδοπάθειας και της νεφρικής ανεπάρκειας, έχουν συσχετιστεί με τον βαθμό στον οποίο η γλυκόζη του αίματος υπερβαίνει τα φυσιολογικά επίπεδα. Παρόλα αυτά, όμως, η εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων φαίνεται να συσχετίζεται λιγότερο καλά με την υπεργλυκαιμία αυτήν καθαυτή. Η καρδιαγγειακή νόσος είναι εξίσου συχνή και στα δύο φύλα. Η κύρια διαταραχή στον σακχαρώδη διαβήτη αφορά το μεταβολισμό των τριγλυκεριδίων και οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων τους ως συνέπεια της αύξησης των πλούσιων σε τριγλυκερίδια σωματιδίων όπως τα VLDL, τα χυλομικρά και τα κατάλοιπά τους. Τα κατάλοιπα αυτά συμπεριφέρονται με παρόμοιο τρόπο με τα σωματίδια LDL και, όπως εκείνα, εισέρχονται στο υπενδοθηλιακό χώρο των αγγείων, όπου και τροποποιούνται. Τα τροποποιημένα κατάλοιπα συμμετέχουν πια στη δημιουργία αθηρωματικών βλαβών. Ο διαβήτης σχετίζεται με διαταραγμένο προφίλ επιπέδων των λιπιδίων του αίματος, αλλά οι διαφορές στις συγκεντρώσεις τους παλιότερα δεν φάνηκε να εξηγεί πλήρως τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο της ασθένειας που παρατηρείται στο διαβήτη (Donahue and Orchard, 1992).

Όταν τα κατάλοιπα των VLDL και των χυλομικρών τροποποιηθούν, απελευθερώνουν ποικίλα φλεγμονώδη λιπώδη μόρια, κυρίως ελεύθερα λιπαρά οξέα και οξειδωμένα λιπίδια, τα οποία επηρεάζουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου και αυξάνουν την πρόσληψη των σωματιδίων LDL. Η αντίδραση αυτή μπορεί να αμβλύνεται (όταν έχουμε φυσιολογικά επίπεδα των μεταγευματικών ελεύθερων λιπαρών οξέων) λόγω των λευκωματινών της κυκλοφορίας. Σε καταστάσεις αυξημένων μεταγευματικών λιποπρωτεϊνών, πλούσιων σε τριγλυκερίδια (μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία – διαγιγνώσκεται με καμπύλη λίπους), δημιουργούνται αυξημένα επίπεδα ελευθέρων λιπαρών οξέων και η προστασία από τις λευκωματίνες της κυκλοφορίας παύει να υφίσταται. Τα αυξημένα μεταγευματικά επίπεδα των τριγλυκεριδίων φαίνεται να συμμετέχουν και αυτά στην αθηρογένεση.

Στη μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία παρατηρείται αντίσταση στην ινσουλίνη η οποία οδηγεί στην απελευθέρωση των σωματιδίων VLDL με αποτέλεσμα την αύξηση των

επιπέδων τους. Από την άλλη πλευρά, μετά από κατανάλωση τροφής με αυξημένη ποσότητα λίπους παρατηρείται αύξηση της σύνθεσης χυλομικρών. Τα αυξημένα σωματίδια VLDL και τα χυλομικρά οδηγούνται στον αυλό των αγγείων, όπου δεσμεύονται στη λιποπρωτεϊνική λιπάση, υπό την επίδραση της οποίας μετασχηματίζονται σε επίσης αυξημένης συγκέντρωσης κατάλοιπά τους. Οι πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες ανταλλάσσουν τα τριγλυκερίδιά τους με εστέρες χοληστερόλης, με τη συμμετοχή της πρωτεΐνης μεταφοράς των εστέρων χοληστερόλης, με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό σωματιδίων HDL και LDL πλούσιων σε τριγλυκερίδια, τα οποία στη συνέχεια μεταβολίζονται σε μικρά σωματίδια HDL και μικρά, πυκνά αθηρογόνα σωματίδια LDL.

Η υπεργλυκαιμία προκαλεί οξειδωτικό στρες κυρίως λόγω της ενισχυμένης παραγωγής μιτοχονδριακών δραστικών ειδών οξυγόνου ROS, την μη ενζυματική γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών αλλά και την αυτοοξειδωση γλυκόζης. Τα αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων μπορούν να συμβάλλουν στο οξειδωτικό στρες προάγοντας τη μιτοχονδριακή αποσύνδεση και -οξείδωση. Επί πλέον, το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα οδηγεί στην ενεργοποίηση οδών σηματοδότησης ευαίσθητων στο στρες, που επιδεινώνουν τόσο την έκκριση όσο και τη δράση της ινσουλίνης και προάγουν την ανάπτυξη εμφανούς ΣΔ2.

Σε ασθενείς με αντίσταση στην ινσουλίνη, μεταβολικό σύνδρομο και ΣΔ2, υπάρχει ένα τεκμηριωμένο περιβάλλον ενισχυμένου οξειδωτικού στρες μέσα στις νησίδες του παγκρέατος. Στην πραγματικότητα, οι νησίδες είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στη βλάβη που προκαλείται από τα ROS. Πολλαπλές τοξικότητες, συμπεριλαμβανομένης της αγγειοτενσίνης II (Ang II), προκεχωρημένα-τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης/φρουκτοζυλίωσης (AGEs), διαταραχή του αποθέματος αντιοξειδωτικών, αμυλίνης/αμυλοειδούς, γήρανση, ελεύθερων λιπαρών οξέων, ινσουλίνης, γλυκόζης, παρουσία υπέρτασης, τριγλυκεριδίων και ομοκυστεΐνης, συμβάλλουν σε αυξημένο οξειδοαναγωγικό στρες εντός των νησίδων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό επιβλαβών ROS.

Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν την παρουσία ενός τοπικού συστήματος ρε-νιναγγειοτασίνης-αλδοστερόνης που λειτουργεί εντός των νησίδων και παράγει περίσσεια Ang II. Αυτό το μονοπάτι θα μπορούσε να ενεργοποιείται από την ινσουλίνη ή την αμυλίνη και με τη σειρά της, η Ang II μπορεί να ενεργοποιεί σε σημαντικό βαθμό την δημιουργία υπεροξειδίου μέσω της ενεργοποίησης της αγγειακής οξειδάσης του NAD(P)H. Παρεμβολή στον μηχανισμό αυτό μέσω των ενζύμων που δρουν σαν αναστολείς της μετατροπής

της αγγειοτενσίνης μπορεί να εξηγήσει την μείωση που παρατηρήθηκε στην μελέτη HOPE στον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2 (Hope, 2000).

Τα AGEs παράγονται μέσω μίας μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης πρωτεΐνης λόγω της υπεργλυκαιμίας και μέσα στα νησίδια του παγκρέατος αυτό παίζει μεγάλο ρόλο για την προώθηση της δημιουργίας αμυλοειδούς. Ο υποδοχέας των AGEs ενεργοποιείται προς τα πάνω από την παρουσία τους κι επάγει το σύστημα του πυρηνικού παράγοντα B (NF- κ B) προκαλώντας χρόνια φλεγμονώδη κατάσταση. Μαζί με την αυξημένη παραγωγή των ROS, η μειωμένη δημιουργία ενδογενών αντιοξειδωτικών έχει αποδειχθεί στον ΣΔ2. Αυτή η μειωμένη παραγωγή αντιοξειδωτικών έχει συνδεθεί με γενετικούς πολυμορφισμούς (Miyamoto et al., 1998).

4.3 Οξειδωμένα λιπίδια

Η προσοχή έχει επικεντρωθεί στα οξειδωμένα λιπίδια, μεταβολίτες που έχουν εμπλακεί σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών. Αρχικά, αναφέρθηκε πως τα οξειδωμένα λιπίδια ήταν αυξημένα στο πλάσμα των διαβητικών ασθενών, αλλά η αύξηση που σημειώθηκε οφειλόταν αποκλειστικά σε ασθενείς με αγγειοπάθεια (Sato et al., 1979). Μία άλλη μελέτη υποστήριξε πως μόνο σε διαβητικούς ασθενείς με μικροαγγειακή νόσο ήταν αυξημένη η συγκέντρωση των κυκλοφορούντων συζευγμένων διενίων (Jennings et al., 1987). Ακόμη, μία τρίτη μελέτη ανέφερε ότι μετά τον διαχωρισμό των λιποπρωτεϊνών μόνο το κλάσμα των HDL ήταν σημαντικά αυξημένο στους διαβητικούς ασθενείς, ως προς την συγκέντρωση υπεροξειδίου (Nishigaki et al., 1981).

Παράλληλα, μία άλλη ερευνητική ομάδα προσδιόρισε το επίπεδο των υπεροξειδίων στο πλάσμα, σε μία ομάδα ανθρώπων και παρατήρησε πως οι συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου ήταν αυξημένες στα διαβητικά άτομα, σε περιπτώσεις ηπατικής νόσου, μετά από εγκαύματα και κατά την προεκλαμψία (Yagi, 1987). Υψηλά επίπεδα υπεροξειδίων σχετίζονται επίσης και με ισχαιμική καρδιοπάθεια και περιφερική αρτηριακή νόσο και εντοπίζονται στα παιδιά των γονέων που είχε υποστεί οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Αρκετές έρευνες σε ανθρώπους που περιλαμβάνουν συμπληρώματα διατροφής με αντιοξειδωτικά (βιταμίνες A, C και E και β -καροτίνη) αναφέρουν προστατευτική δράση έναντι της αθηροσκλήρωσης (Szamosi et al., 1987). Δύο μεγάλες μελέτες ανέφεραν πως τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες παρατηρήθηκε μία σημαντική μείωση στα καρδιαγγειακά συμβάματα σε εκείνα τα άτομα που ελάμβαναν συμπληρώματα βιταμίνης E. Παρόλα

αυτά, οι αναφορές ανάμεσα στη σχέση του διαβήτη και των οξειδωτικών είναι αντικρουόμενες. Αρκετές ερευνητικές εργασίες αναφέρουν μειώσεις στις βιταμίνες C και E, στη γλουταθειόνη και στην δισμουτάση, ενώ άλλες αναφέρουν αύξηση στην τρανσφερίνη και στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Υπάρχουν εναλλακτικές υποθέσεις που υποδεικνύουν πως η μείωση που παρατηρείται οφείλεται στην κατανάλωση των αντιοξειδωτικών κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού στρες, ενώ η μείωση οφείλεται σε έναν μηχανισμό εξισορρόπησης στην οξειδωτική πίεση. Η ακριβής σχέση όμως των αντιοξειδωτικών και του διαβήτη επιδέχεται περαιτέρω μελέτης.

Μελέτες σε ζώα έδειξαν πως τα οξειδωμένα λιπίδια αυξήθηκαν στο κλάσμα της VLDL και της LDL σε ζώα που έγιναν διαβητικά με χρήση στρεπτοζοσίνης. Επιπλέον, το επίπεδο οξείδωσης της VLDL και της LDL συσχετίστηκε με την *in vitro* τοξικότητα αυτών των λιποπρωτεϊνών σε αναπτυσσόμενους ινοβλάστες και η θεραπεία των επίμυων με χρήση βιταμίνης E μετά την πρόκληση του διαβήτη ανέστειλε τόσο την *in vivo* οξείδωση όσο και την *in vitro* τοξικότητα αλλά δεν ανέστειλε την υπεργλυκαιμία (Morel and Chisolm, 1989). Τα ενεργά συστατικά της οξειδωμένης LDL φαίνεται πως είναι μέσα στο λιπιδικό κλάσμα και μπορεί να περιέχουν λυσοφωσφατιδυλχολίνη και 9-υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ αλλά και οξειδωμένες στερόλες. Μελέτες *in vitro* υποδεικνύουν πως η λυσοφωσφατιδυλχολίνη είναι τόσο χημειοτακτικός όσο και κυτταροτοξικός παράγοντας, ενώ το 9-υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ είναι προϊόν της οξείδωσης του λινολεϊκού οξέος, που είναι το πλέον διαθέσιμο μη κορεσμένο λιπαρό οξύ στην LDL και η συγκέντρωσή του μπορεί να αυξάνει περαιτέρω λόγω των αυξημένων επιπέδων των λιπιδίων στο πλάσμα σε ασθενείς με διαβήτη. Το προϊόν αυτό έχει διεχθεί πως αυξάνει την έκκριση της ιντερλευκίνης 1A και ενεργοποιεί την ανάπτυξη των λείων μυών. Πολλά οξειδωμένα ανάλογα στερολών ανιχνεύονται στην οξειδωμένη LDL με την 7-κετοχοληστερόλη να είναι η πλέον διακριτή μορφή. Αυτές οι οξειδωμένες στερόλες έχουν ευρύ φάσμα επίδρασης στην λειτουργία των μεμβρανών και στον κυτταρικό μεταβολισμό.

4.4 Βιοδείκτες οξειδωτικού στρες

Η υπεργλυκαιμία σχετίζεται με μαζική παραγωγή ROS. Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τη σχέση μεταξύ βιοδεικτών οξειδωτικού στρες και ασθενών με ΣΔ κυρίως με διαβητικές αγγειοπάθειες.

Αρχικά, έχει βρεθεί πως οι ασθενείς με τύπο 1 ή τύπου 2 ΣΔ, έχουν υψηλά επίπεδα 8-isoPGF2 (Davì et al., 2003). Το κάθε μέτρο της υπεργλυκαιμίας που αξιολογεί τον έλεγχο της γλυκόζης θα πρέπει να αντανακλά το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα καθώς και την γλυκαιμική μεταβλητότητα. Διάφορες μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του επιπέδου γλυκόζης στο αίμα και της γλυκαιμικής μεταβλητότητας.

Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c), η γλυκοζυλιωμένη λευκωματίνη και η συγκέντρωση γλυκόζης του πλάσματος σε περίοδο νηστείας μπορούν να αντικατοπτρίζουν τον μέσο όρο επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, παράλληλα με την τυπική απόκλιση, το μέσο εύρος των τιμών που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της γλυκαιμικής μεταβλητότητας (Saisho, 2014). Ενώ η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) μετρά τη μέση γλυκαιμική έκθεση κατά τους προηγούμενους 2 έως 3 μήνες, δεν μπορεί να αντικατοπτρίζει τον βαθμό γλυκαιμικής μεταβλητότητας που μπορεί ένας ασθενής να έχει κατά τη διάρκεια μιας δεδομένης ημέρας. Ως εκ τούτου, η HbA1c δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προσδιοριστεί εάν μία κατάσταση με μη φυσιολογικά γλυκαιμικά επίπεδα οφείλονται κυρίως σε υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης γλυκόζης στο πλάσμα κατά τη φάση της νηστείας ή αλλιώς σε υψηλά επίπεδα γλυκόζης πλάσματος μετά το γεύμα.

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι η συγκέντρωση της γλυκόζης μετά το γεύμα συσχετίζεται περισσότερο με την καρδιαγγειακή νόσο, παρά με τα επίπεδα γλυκόζης σε φάση νηστείας (Kodani et al., 2013). Επομένως, η γλυκαιμική μεταβλητότητα έχει οριστεί σαν ένας παράγοντας κινδύνου για ασθενείς με ΣΔ2.

Μία μελέτη ασχολήθηκε με τη σχέση μεταξύ οξειδωτικού στρες και υπεργλυκαιμίας (Monnier et al., 2006). Στη μελέτη υπολογίστηκε η υπεργλυκαιμία υπολογίστηκε με καθορισμό της γλυκαιμικής μεταβλητότητας και με HbA1c, ενώ το οξειδωτικό στρες εκτιμήθηκε με το ρυθμό απέκκρισης κατά τη διάρκεια 24 ωρών του ελεύθερου 8-isoPGF2, με χρήση μίας μεθόδου ενζυμικής ανοσοδοκιμασίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενεργητική επίδραση στο οξειδωτικό στρες ήταν πιο συγκεκριμένη με την γλυκαιμική μεταβλητότητα κατά τη μεταγευματική περίοδο παρά κατά τη χρόνια παρατεταμένη υπεργλυκαιμία. Μια πιθανή εξήγηση αυτού του φαινομένου γλυκαιμικής μεταβλητότητας είναι πως οι μεγάλες GV είναι ότι οι αυξήσεις γλυκόζης κατά τις μεταγευματικές περιόδους προκαλούν τη δημιουργία περίσσειας ROS που υπερβαίνει την αντιοξειδωτική χωρητικότητα. Μια εναλλακτική εξήγηση είναι η ισχυρότερη συσχέτιση των επιπέδων του 8-isoPGF2 με

τα μέσα επίπεδα των αυξήσεων της γλυκόζης, σε σύγκριση με την HbA1c. Η HbA1c αντανακλά τον μακροχρόνιο έλεγχο της γλυκόζης στο αίμα, ενώ τα μέσα επίπεδα των αυξήσεων της γλυκόζης, αντανακλούν το μέσο επίπεδο γλυκόζης εντός της ημέρας. Πρακτικά αυτό σημαίνει πως τα επίπεδα του 8-isoPGF2 αντανακλούν πιο έντονα τις επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες.

Η υπογλυκαιμία είναι γεγονός της ζωής ασθενών με ΣΔ τύπου 1 και τύπου 2. Ο εντατικός έλεγχος διαβήτη είναι ευεργετικός για τους ασθενείς με διαβήτη, αλλά αυξάνει τον κίνδυνο υπογλυκαιμίας. Η υπογλυκαιμία προκαλεί παθοφυσιολογικές επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, όπως αυξήσεις στον καρδιακό ρυθμό, περιφερική αρτηριακή πίεση και μειώνει την κεντρική αρτηριακή πίεση (Yang et al., 2016). Η συνεχής παρακολούθηση των επιπέδων της γλυκόζης έχει μεγάλη αξία για μία ολοκληρωμένη προσέγγιση των καρδιακών αλλαγών στο επίπεδο της γλυκόζης στο αίμα, συμπεριλαμβανομένης της υπογλυκαιμίας.

Μία εργασία έδειξε πως η υπογλυκαιμία συσχετίστηκε στενά με την αύξηση της αρτηριακής πίεσης σε 12 διαβητικούς ασθενείς με υπογλυκαιμικά επεισόδια και έτσι πρότειναν πως το φαινόμενο της αύξησης της πίεσης στο αίμα που προκαλείται από την υπογλυκαιμία, ενισχύεται στα άτομα που έχουν συχνά και έντονα επεισόδια υπογλυκαιμίας. Έτσι, το οξειδωτικό στρες που διαμεσολαβείται από την υπέρταση μπορεί να είναι μία ακόμη απάντηση στην δυνατή συσχέτιση του 8-isoPGF2 με την αυξομείωση των επιπέδων γλυκόζης στη διάρκεια της μέρας (Feldman-Billard et al., 2010).

Μία διαφορετική μελέτη έδειξε πως η μείωση της HbA1c, από $9.96 \pm 6.3\%$ σε $7.5 \pm 1.0\%$, συσχετίστηκε με σημαντική μείωση των επιπέδων 8-isoPGF2 από 533 ± 276 σε 365 ± 226 pg/mg (Davi et al., 1999).

Μία άλλη έρευνα, ανέφερε πως η χορήγηση μιτιγλίνδης, ενός ταχείας δράσης, βραχείας διάρκειας, εκκριταγωγού ινσουλίνης, οδήγησε σε διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης και μείωση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας σε ασθενείς με ΣΔ2. Η μιτιγλίνδη επίσης μείωσε τα επίπεδα νιτροτυροσίνης, MDA και οξειδωμένης LDL στο πλάσμα. Έτσι, φαίνεται ότι οι θεραπείες που σταθεροποιούν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, μειώνουν επιπλέον και το οξειδωτικό στρες σε ασθενείς με ΣΔ2 (Assaloni et al., 2005).

Ωστόσο, μια άλλη ομάδα ανέφερε ότι η θεραπεία με μιτιγλίνδη ούτε βελτίωσε τα επίπεδα του 8-isoPGF2 στα ούρα, 8-OHdG, ούτε τα επίπεδα οξειδωμένης LDL πλάσματος,

αν και βελτίωσε τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία και την ημερήσια γλυκαιμική μεταβλητότητα (Kodani et al., 2013). Η ασυνέπεια των αποτελεσμάτων μπορεί να οφείλεται στον διαφορετικό χρόνο δειγματοληψίας στις δύο παραπάνω μελέτες. Στη μελέτη των Assaloni et al. που περιγράφηκε παραπάνω (Assaloni et al., 2005), η μιτιγλίνδη χορηγήθηκε στο χρόνο 0 και τα δείγματα αίματος ελήφθησαν μετά από πάροδο 120 λεπτών για τη μέτρηση των επιπέδων νιτροτυροσίνης, MDA και οξειδωμένης LDL, ενώ οι μετρήσεις αίματος και ούρων στην άλλη μελέτη έγιναν σε δείγματα που ελήφθησαν μετά από ολονύκτια νηστεία (Kodani et al., 2013).

Πολλές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει δείγματα πλάσματος ή/και ούρων για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες. Στους ανθρώπους, όταν ραδιενεργά σημασμένο 8-isoPGF2 εγχύθηκε σε φλέβα, το 75% της ραδιενέργειας ανακτήθηκε στα ούρα μετά από 4,5 ώρες. Η κύρια ένωση που προέκυψε ήταν ένας μεταβολίτης του 8-isoPGF2 που λαμβάνεται σε ανθρώπους και σε αρουραίους (Halliwell and Lee, 2010). Από την μελέτη αυτή φαίνεται πως ο μεταβολισμός του ελεύθερου 8-isoPGF2 στο αίμα είναι γρήγορος, ενώ φαίνεται πως γίνεται όχι μόνο μέσω μεταβολισμού (δηλαδή χρήσης του και για άλλες χημικές διεργασίες), αλλά και μέσω της απέκκρισης. Στη μελέτη αυτή, οι συγγραφείς συνέστησαν την παρακολούθηση των επιπέδων του 8-isoPGF2 κατά τη διάρκεια μίας χρονικής περιόδου τόσο στο πλάσμα όσο και στα ούρα, όταν μελετώνται τα αποτελέσματα των διατροφικών παρεμβάσεων (Halliwell and Lee, 2010).

Πράγματι, η αιτιολογική σχέση μεταξύ των επιπέδων γλυκόζης και του οξειδωτικού στρες είναι ορθό να διερευνηθεί χρησιμοποιώντας δείγματα πλάσματος που λαμβάνονται σε διαφορετικούς χρόνους καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, ή ομαδοποιημένων δειγμάτων ούρων. Αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει δείγματα πλάσματος ή/και ούρων για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες.

Το τεστ d-ROMs έχει χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης του οξειδωτικού στρες, επειδή είναι γρήγορο και οικονομικά αποδοτικό όταν χρησιμοποιείται σε κλινικό περιβάλλον. Μία μελέτη ανέφερε πως τα αποτελέσματα των μετρήσεων d-ROM έδειξαν σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα HbA1c ($r = 0,326$, $p = 0,007$) και μέσω των ημερήσιων AGE ($r = 0,565$, $p < 0,001$) και Μέσων Ημερήσιων Διαφορών (MODD) ($r = 0,488$, $p < 0,001$), αλλά δεν συσχετίστηκαν με το επίπεδο συγκέντρωσης γλυκόζης στο πλάσμα σε φάση νηστείας. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζεται το συμπέρασμα πως η μεταβλητότητα της

γλυκόζης σχετίζεται πιο στενά με το οξειδωτικό στρες από ό,τι σχετίζεται με τη χρόνια υπεργλυκαιμία (Ohara et al., 2016).

Τα επίπεδα της γλυκόζης στο πλάσμα αυξάνουν μετά από ένα γεύμα και επιστρέφουν στην βασική τους τιμή μετά. Οι αλλαγές στο οξειδωτικό στρες μπορούν να μετρηθούν μέσω περιοδικής μέτρησης των τιμών στο πλάσμα των ενώσεων μηλονοδιαλδεΐδης (MDA), 8-isoPGF2α, ή νιτροτυροσίνης, μετά από ένα γεύμα. Αυτοί οι δείκτες του οξειδωτικού στρες αυξάνουν και επιστρέφουν στην βασική τους τιμή με τρόπο αντίστοιχο με τις αλλαγές που έχουν τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα. Η 8-isoPGF2α σταδιακά εκκρίνεται στα ούρα. Οπότε ο ρυθμός έκκρισης είναι αναμενόμενο να αυξάνει και μετά να μειώνεται ενώ η συσσωρευμένη 8-isoPGF2α στα ούρα φτάνει τη μέγιστη τιμή της.

Η χρόνια υπεργλυκαιμία, τα αυξημένα επίπεδα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και η δυσλιπιδαιμία προκαλούν οξειδωτικό στρες πυροδοτώντας την παραγωγή ενεργών ειδών αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) και αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) (Kuroki et al., 2003). Αυτά τα αντιδρώντα είδη επιτίθενται στα λιπίδια που βρίσκονται στο πλάσμα καθώς και στις μεμβράνες των μιτοχονδρίων και του ενδοπλασματικού δικτύου. Το ίδιο είδος προκαλεί επίσης υπεροξειδωση (Vincent et al., 2004). Η επαγόμενη από ελεύθερες ρίζες υπεροξειδωση λιπιδίων των κυτταρικών δομών είναι μια αλυσιδωτή αντίδραση που παρέχει συνεχή παροχή ελεύθερων ριζών που ξεκινούν περαιτέρω υπεροξειδωση. Η αύξηση των αντιδραστικών ουσιών θειοβαρβιτουρικού οξέος (Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) στον ορό, σε διαβητικούς, αποδίδεται σε αυξημένο οξειδωτικό στρες και αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών (Nour Eldin et al., 2014). Μία μελέτη έδειξε πως η συγκέντρωση των TBARS ορού ήταν σημαντικά αυξημένη σε διαβητικούς ασθενείς (ανεξάρτητα από την ύπαρξη αμφιβληστροειδοπάθειας) σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (Ganjifrockwala et al., 2016). Το γεγονός είχε ενδιαφέρον, καθώς παλαιότερες μελέτες είχαν δείξει παρόμοια αποτελέσματα (Kundu et al., 2014, Gürlér et al., 2000, Hartnett et al., 2000).

Από όλους τους αναγνωρισμένους φλεγμονώδεις δείκτες, η λιποπρωτεΐνη που σχετίζεται με τη φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) είναι ένας νέος ειδικός βιοδείκτης αγγειακής φλεγμονής και αθηροσκλήρωσης που εκκρίνεται από μακροφάγα και συνδέεται με λιποπρωτεΐνες στην κυκλοφορία του αίματος (Huang et al., 2020). Σύμφωνα με τις οδηγίες του Adult Treatment Panel-III (ATP-III), η μέτρηση των επιπέδων Lp-PLA2 είναι χρήσιμη για την

ακριβέστερη διάγνωση του κινδύνου στεφανιαίας νόσου, ειδικά σε ασθενείς με λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) που είναι λιγότερη από 130 mg/dl (Tellis and Tselerpis, 2014). Ένα επίπεδο Lp-PLA2 υψηλότερο από 200 ng/ml αντιπροσωπεύει ότι ο ασθενής διατρέχει υψηλότερο κίνδυνο. Το Lp-PLA2 μπορεί να παίζει ρόλο στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης. Αυτό το ένζυμο διασπά τα φωσφολιπίδια σε οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (ox-LDL) σε δύο προφλεγμονώδη και προαθηρογόνα προϊόντα, τη λυσοφωσφατιδυλοχολίνη και τα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα και αυτοί οι φλεγμονώδεις παράγοντες προάγουν την αθηροσκλήρωση (Tellis and Tselerpis, 2014). Ως εκ τούτου, έχει προταθεί ότι το Lp-PLA2 μεσολαβεί στη φλεγμονή που προκαλείται από την ox-LDL και είναι προγνωστικός παράγοντας στεφανιαίων συμβάντων ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου (Tellis and Tselerpis, 2014). Ωστόσο, πρόσφατα, ένα φάρμακο, που δρα σαν αναστολέας του Lp-PLA2 που δοκιμάστηκε σε δύο κλινικές δοκιμές φάσης III σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο δεν είχε προστατευτικό ρόλο στην πρόληψη περαιτέρω μείζονος αγγειακής νόσου. Πράγματι, με βάση πολλές μελέτες συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα (GWAS), η αιτιώδης σχέση μεταξύ Lp-PLA2 και κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου παραμένει αμφιλεγόμενη. Ορισμένες μελέτες έχουν βρει ότι τα επίπεδα Lp-PLA2 και ox-LDL σε διαβητικούς ασθενείς είναι υψηλότερα από αυτά σε υγιή άτομα. Τα υψηλότερα επίπεδα αυτού του ενζύμου συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου στους διαβητικούς ασθενείς, επομένως το Lp-PLA2 θα μπορούσε να θεωρηθεί δυνητικός θεραπευτικός στόχος της μείωσης του αθηροσκληρωτικού κινδύνου και της ανάπτυξης καρδιομεταβολικών επιπλοκών (Nelson et al., 2012). Δεδομένου του προτεινόμενου ρόλου της ox-LDL στην παραγωγή Lp-PLA2, έχει προταθεί ότι η μείωση της μάζας της ox-Lp-PLA2 για μείωση της LDL μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου σε διαβητικούς ασθενείς (Baziar et al., 2020).

Από την άλλη πλευρά, έχει προταθεί ότι το Lp-PLA2 μπορεί να έχει τόσο προαθηρογόνα όσο και αντιαθηρογόνα χαρακτηριστικά ανάλογα με τον τύπο της λιποπρωτεΐνης που είναι αυτό το ένζυμο όριο. Περίπου 70% έως 80% του συνολικού Lp-PLA2 του ορού δεσμεύεται σε LDL, ενώ το 20% έως 30% σχετίζεται με υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL). Υποτίθεται ότι το Lp-PLA2 που σχετίζεται με την HDL έχει αντιφλεγμονώδη και αγγειοπροστατευτική δράση, ενώ το Lp-PLA2 που συνδέεται με λιποπρωτεΐνες αρσΒ είναι

προφλεγμονώδες και αθηρογόνο. Επομένως, η σχετική κατανομή του Lp-PLA2 θα μπορούσε να είναι χρήσιμη στην εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Παρατηρήθηκε μια αλλοιωμένη κατανομή του Lp-PLA2, με αναλογικά μικρότερη μάζα HDL αναφέρθηκε σε διαβητικούς ασθενείς (Sánchez-Quesada et al., 2012).

Το άλφα λιποϊκό οξύ (ALA), επίσης γνωστό ως θειοκτικό οξύ, εμπλέκεται ως ένας βασικός συμπαράγοντας των ενζύμων αφυδρογονάσης στον μεταβολισμό των μιτοχονδριακών μακροθρεπτικών συστατικών. Το ALA έχει αντιοξειδωτικά χαρακτηριστικά και σε αντίθεση με τα περισσότερα άλλα αντιοξειδωτικά, είναι τόσο υδατοδιαλυτό όσο και λιποδιαλυτό. Έτσι, μπορεί να φτάσει εύκολα στους ιστούς που αποτελούνται από λίπος, όπως το νευρικό σύστημα καθώς και αυτά κυρίως του νερού όπως το καρδιαγγειακό σύστημα, και για αυτό το λόγο θεωρείται «καθολικό αντιοξειδωτικό» (Skibaska and Goraca, 2015). Το ALA δείχνει να έχει άμεσες ιδιότητες δέσμευσης ελεύθερων ριζών και σε σχέση με χαμηλότερο δυναμικό οξειδοαναγωγής σε σύγκριση με πολλά αντιοξειδωτικά, όπως τα καρτενοειδή, η βιταμίνη E, η βιταμίνη C και η γλουταθειόνη, ενώ έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ισχύ και έτσι, είναι ικανό για την αναγέννηση αυτών των αντιοξειδωτικών. Το ALA έχει ευεργετική επίδραση στην πρόληψη ή την ανακούφιση των συμπτωμάτων ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες όπως ο διαβήτης και η καρδιαγγειακή ασθένεια. Μελέτες σε ζώα και *in vitro* έχουν προτείνει τις αντιαθηρογόνες ιδιότητες του ALA. ωστόσο, λίγες κλινικές μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με αυτό (Amom et al., 2008). Το ALA μπορεί να προστατεύσει από τις αθηροσκληρωτικές καρδιαγγειακές παθήσεις αδρανοποιώντας τα ROS και δρώντας σαν χηλικός παράγοντας απέναντι σε ιόντα μετάλλου, αποτρέποντας στη συνέχεια την οξείδωση της LDL και βελτίωση του μεταβολισμού των λιπιδίων (Baziar et al., 2020).

Το ALA συντίθεται *de novo* από λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας που ονομάζονται οκτανοϊκό οξύ και παράγεται σε μικρή ποσότητα στο σώμα. Το ALA βρίσκεται σε πηγές τροφίμων, όπως το κόκκινο κρέας, το συκώτι, την καρδιά και τα νεφρά και σε μικρότερο βαθμό στο σπανάκι, το μπρόκολο, τις ντομάτες, τα λαχανάκια Βρυξελλών, τις πατάτες, τον αρακά και το πίτουρο ρυζιού. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η πρόσληψη τροφής δεν φτάνει να καλύψει το αισθητό ποσό της ALA αλλά μάλλον μόνο από του στόματος διαιτητικά/διατροφικά συμπληρώματα μπορούν να είναι η κύρια πηγή ALA. Η ποσότητα του ALA που διατίθεται στα συμπληρώματα διατροφής είναι περίπου έως και 1000 φορές περισσότερη από την ποσότητα που θα μπορούσε κανείς να λάβει από την διατροφή. Έχει αποδειχθεί

ότι η βιοδιαθεσιμότητα του ALA από τα από του στόματος συμπληρώματα είναι περίπου 20-40%, ενώ η αποτελεσματικότητα απορρόφησης του ALA από τις πηγές τροφής, λόγω ανταγωνισμού με άλλα θρεπτικά συστατικά για πρωτεΐνες-φορείς είναι λιγότερη. Συμπερασματικά, συνιστάται η λήψη του ALA για 30 λεπτά πριν ή 2 ώρες μετά το γεύμα (Shay et al., 2009).

Το Lp-PLA2, που παλαιότερα ονομαζόταν παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), είναι ένας νέος ειδικός βιοδείκτης για τη φλεγμονή των αγγείων και είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διάγνωση και την εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου σε διαβητικούς και στον γενικό πληθυσμό. Αυτό το ένζυμο μπορεί να παίζει βιολογικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης καθώς το Lp-PLA2 καταλύει την υδρόλυση της ox-LDL στα τοιχώματα των αρτηριών και παράγει δύο φλεγμονώδεις μεσολαβητές, τη λυσοφωσφατιδυλοχολίνη και οξειδωμένα λιπαρά οξέα.

Σε μελέτες *in vitro*, επαγωγή οξειδωτικού στρες μέσω ox- H LDL και ROS έχει συσχετιστεί με αυξημένη γονιδιακή έκφραση Lp-PLA2 σε ανθρώπινα μονοκυτταρικά κύτταρα (THP-1). Η μελέτη στόχευε στην διερεύνηση της επίδρασης του ALA σαν αντιοξειδωτικού με δυνητικές καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες στην μάζα του Lp-PLA2 και στην κατανομή του στους διαβητικούς ασθενείς. Η μελέτη που ήταν διπλά-τυφλοποιημένη, τυχαιοποιημένη και ελεγχόμενη με χρήση placebo, έγινε σε εβδομήντα διαβητικούς ασθενείς που τυχαιοποιήθηκαν είτε σε χρήση ALA (1200 mg ALA δε δύο κάψουλες των 660 mg capsules/ημέρα) είτε στην ομάδα ελέγχου (δύο κάψουλες μαλτοδεξτρίνης την ημέρα). Μετρήθηκαν τα επίπεδα ορού της συνολικής μάζας Lp-PLA2, HDL-Lp-PLA2, των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (ox-LDL), της απολιποπρωτεΐνης A1 (apoA1), τα λιπιδικά προφίλ, το σάκχαρο αίματος νηστείας (FBS) και η ινσουλίνη καθώς και η Lp-PLA2 που σχετίζεται με την απολιποπρωτεΐνη B (apoB-) αλλά και ο δείκτης αξιολόγησης της ομοιόστασης (HOMA-IR). Τα επίπεδα όλων αυτών των στοιχείων μετρήθηκαν στην αρχή (baseline) και μετά από 8 εβδομάδες παρέμβασης. Βρέθηκε πως η ALA μείωσε σημαντικά το ox-LDL, τη συνολική μάζα Lp-PLA2, το Lp-PLA2 που σχετίζεται με apoB και το ποσοστό του Lp-PLA2 που σχετίζεται με apoB, αλλά και τα τριγλυκερίδια. Αντίθετα, αύξησε το ποσοστό της HDL-Lp-PLA2 σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου, αλλά δεν είχε σημαντική επίδραση στην ποσότητα της HDL-Lp-PLA2, της apo A1, στο προφίλ των λιπιδίων και τους γλυκαιμικούς δείκτες. Επιπλέον, καταγράφηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της μείωσης του επιπέδου της ox-LDL και της συνολικής ποσότητας της Lp-PLA2 στην ομάδα

ALA. Συμπερασματικά, το ALA μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου μειώνοντας την ποσότητα της LDL και της Lp-PLA2 και να οδηγήσει σε βελτίωση της κατανομής Lp-PLA2 μεταξύ των λιποπρωτεϊνών σε διαβητικούς ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (Baziar et al., 2020).

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί των επιδράσεων του ALA στην ποσότητα της Lp-PLA2 είναι ασαφείς. Έχει αποδειχθεί ότι η ox-LDL είναι ένας ισχυρός διεγέρτης της έκφρασης Lp-PLA2 ο οποίος δρα μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού της πρωτεΐνης κινάσης που ενεργοποιεί το μιτογόνο P38 (MAPK) (Wang et al., 2009). Είναι λοιπόν πιθανόν, τα ευεργετικά αποτελέσματα της χρήσης του ALA σαν συμπληρώματος διατροφής απέναντι στην ποσότητα του Lp-PLA2 που παρατηρήθηκαν, να είναι αποτέλεσμα των αναγωγικών επιδράσεων του στα επίπεδα ox-LDL ορού.

Από μία άλλη θεώρηση, και σύμφωνα με ορισμένες *in vitro* μελέτες, το ALA εξασθενεί την ενεργοποίηση P38 MAPK (Cavdar et al., 2020). Σε αυτήν την περίπτωση, μπορούμε να θεωρήσουμε και την πιθανότητα, η ALA να μειώνει έμμεσα την έκφραση του γονιδίου Lp-PLA2 με καταστολή της δράσης της P38 MAPK. Μία άλλη μελέτη, έδειξε επιπλέον πως *in vitro*, η ALA κατέστειλε την έκφραση του γονιδίου Lp-PLA2 σε μακροφάγα που ύστερα από την διέγερση αυτών των κυττάρων με χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου, προκειμένου να γίνει επαγωγή της γονιδιακής έκφρασης της Lp-PLA2 gene expression (Sun et al., 2017).

Η πλειοψηφία της Lp-PLA2 στο πλάσμα είναι προσδεσμένη σε λιποπρωτεΐνες που περιέχουν Apo-B, όπως είναι οι LDL, οι VLDL αλλά και η IDL, ενώ ένα μικρότερο τμήμα της είναι συνδεδεμένο με την HDL. Έτσι, η συνδεδεμένη με την apoB Lp-PLA2 είναι εκείνη που κύρια διαδραματίζει τον ρόλο του ρυθμιστή στο συνολικό επίπεδο της Lp-PLA2 στο πλάσμα.

Έχει αποδειχθεί ότι η Lp-PLA2 που βρίσκεται στην HDL έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιαθηρογόνες ιδιότητες, ενώ αντίθετα εκείνη που σχετίζεται με την apoB έχει προφλεγμονώδη δραστηριότητα. Μια Ελληνική τριετής προοπτική μελέτη παρακολούθησης σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο ανέφεραν ότι οι υψηλότερες τιμές HDL-Lp-PLA2 μαζί με χαμηλότερο λόγο μάζας Lp-PLA2 προς HDL Lp-PLA2 σχετίζονταν με χαμηλότερο κίνδυνο καρδιακής θνησιμότητας, ανεξάρτητα από άλλους συμβατικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (Rallidis et al., 2012). Στη μελέτη ελήφθησαν δεδομένα από 477 α-

σθeneίς, εκ των οποίων 123 (25.8%) παρουσίασαν καρδιαγγειακά περιστατικά (24 καρδιακοί θάνατοι, 47, οξεία σύνδρομα στεφανιαίας, 28 επανα-αγγειώσεις, 22 περιστατικά αρρυθμίας και 2 εγκεφαλικά επεισόδια). Μετρήθηκε η ολική μάζα και δραστηριότητα της Lp-PLA(2) σαν δείκτες του καρδιακού θανάτου και φάνηκε πως η συνδεδεμένη με HDL Lp-PLA(2) ήταν δείκτης χαμηλότερου κινδύνου για καρδιακό θάνατο, ανεξάρτητα από άλλους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου.

Σύμφωνα με αυτές τις εκτιμήσεις, έχει προταθεί ότι η σχετική κατανομή του Lp-PLA2 μπορεί να είναι α καλύτερος δείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου παρά το συνολικό επίπεδο Lp-PLA2 (Sánchez-Quesada et al., 2012).

Πειραματικό μέρος

5. Σκοπός πειράματος

Η παρούσα μελέτη, έχει ως σκοπό τη συσχέτιση των βιοχημικών παραμέτρων με τα επίπεδα οξειδωμένων λιπιδίων στο πλάσμα διαβητικών και φυσιολογικών ασθενών.

5.1 Το δείγμα του πειράματος

Το πείραμα αποτελείται από 33 δείγματα, εκ των οποίων τα 15 ανήκουν σε φυσιολογικούς ασθενείς και τα 18 σε διαβητικούς ασθενείς. Η λήψη των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους κανόνες που συστήνει και λειτουργεί η επιτροπή δεοντολογίας, με σκοπό την αξιοπιστία τόσο σε ηθικό, όσο και σε δεοντολογικό επίπεδο.

5.2 Μέθοδος πειράματος

Έγιναν μετρήσεις σε πλάσμα διαβητικών και φυσιολογικών ασθενών με τη χρήση φωτόμετρου και τη μέθοδο T-bars. Για τη μέτρηση της γλυκόζης, έγινε χρωματομετρική ανάλυση με προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών. Η γλυκόζη οξειδώνεται από την οξειδάση της γλυκόζης προς γλυκονολακτόνη, παρουσία του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Το σχηματιζόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου οξειδώνει την 4- αμινοφαιναζόνη και τη φαινόλη προς 4- φαιναζόνη, παρουσία υπεροξειδάσης. Ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης είναι η ένταση του χρώματος και μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά. Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη προέρχεται από τη χημική ένωσή της με τη γλυκόζη και είναι το πο-

σοστό της αιμοσφαιρίνης που έχει υποστεί γλυκοζυλίωση. Η LDL προσδιορίζεται υπολογιστικά από το σύνολο της χοληστερόλης, της HDL και των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιώντας τον τύπο Friedewald. Προσδιορίζεται από δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο η χοληστερόλη που περιέχεται στις HDL, VLDL και στα χυλομικρά διασπάται από το σύστημα των ενζύμων χοληστερόλο εστεράση (CE) και χοληστερόλο οξειδάση (CO) και το παραγόμενο H_2O_2 καταστρέφεται. Το κλάσμα των LDL προστατεύεται από ειδικούς διαβρέκτες και δεν είναι προσβάσιμο από τα ένζυμα. Σε δεύτερο στάδιο αποδεσμεύεται η χοληστερόλη των LDL, υφίσταται την επίδραση του ενζυμικού συστήματος CE/CO και το παραγόμενο H_2O_2 παρουσία υπεροξειδάσης αντιδρά με χρωστική προς το έγχρωμο προϊόν. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο κλάσμα των LDL στο δείγμα. Ο διαχωρισμός της HDL από το σύνολο των λιποπρωτεϊνών, πραγματοποιείται με καταβύθιση των LDL, των VLDL και των χυλομικρών, όπου παρουσία του φωσφοβολφωμικού οξέος και ιόντων μαγνησίου καθιζάνουν και απομακρύνονται με διήθηση. Η παρουσία του ενζύμου λιποπρωτεϊνο λιπάση καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων και η παραγόμενη γλυκερόλη φωσφορυλιώνεται, η 3- φωσφορική γλυκερόλη παρουσία του ενζύμου γλυκερόλο 3- φωσφορική οξειδάση οξειδώνεται με ταυτόχρονη παραγωγή H_2O_2 η αντίδραση του οποίου με φαινολικό παράγωγο και αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξησή της στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων στο δείγμα. Το ουρικό οξύ, παρουσία του ενζύμου ουρικάση οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η αντίδρασή του με φαινολικό παράγωγο και 4- αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στο δείγμα. Για τη μέτρηση της ινσουλίνης έγινε η μέθοδος ELISA. Ακολούθως, έγινε η στατιστική σύγκριση, με τη χρήση του SPSS, σε φυσιολογικούς και διαβητικούς ασθενείς.

6. Αποτελέσματα

Έγινε η στατιστική σύγκριση, με τη χρήση του SPSS, σε φυσιολογικούς και διαβητικούς ασθενείς όπου πραγματοποιήθηκαν και οι δύο έλεγχοι (παραμετρικό student's t-test και μη παραμετρικό Mann-Whitney U test).

Με έντονα γράμματα στον Πίνακα 1 αναφέρονται οι p τιμές (p-values, ακριβές επίπεδο σημαντικότητας) που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ελέγχων κανονικότητας των εξεταζομένων κατανομών (Πίνακας 2).

Συγκεντρωτικός Πίνακας Τιμών ανά Στοιχείο και Ομάδα Εξεταζομένου						
	Εξεταζόμενος					
	Φυσιολογικοί		Διαβητικοί		p-value (parametric)	p-value (Not parametric)
	Mean	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation		
ΓΛΥΚΟΖΗ	84,80	7,65	151,33	47,81	<0,001	<0,001
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	5,39	0,20	7,02	1,24	<0,001	<0,001
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ	186,33	31,64	181,25	32,20	0,707	0,677
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ	78,20	28,53	184,86	133,74	0,022	<0,001
HDL	57,40	8,96	40,57	10,08	<0,001	<0,001
LDL	115,33	27,55	100,54	41,81	0,365	0,393
ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ	5,64	1,53	6,10	1,50	0,487	0,697
ΠΛΑΣΜΑ-TBA μmol/L	0,023	0,029	0,112	0,072	<0,001	<0,001
ΑΙΜΟΛΥΜΑ-TBA	0,0165	0,005	0,0144	0,0059	0,291	0,215
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	13,523	6,873	23,136	12,275	0,024	0,053

μ U/ml

Πίνακας 1. Συγκεντρωτικός Συγκριτικός Πίνακας Φυσιολογικών - Διαβητικών

Τα αποτελέσματα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $\alpha=0,05$:

Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα γλυκόζης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p-value<0,001). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p-value<0,001). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο χοληστερόλης ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p-value=0,707). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p-value<0,05). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HDL συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p-value<0,05). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο LDL

ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,365). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο ουρικού οξέος ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,487). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα ΠΛΑΣΜΑ-TBA $\mu\text{mol/L}$ συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value<0,001). Δεν υπάρχει διαφορά στο επίπεδο αιμόλυμα-TBA ανάμεσα στις ομάδες φυσιολογικών και διαβητικών (p -value=0,215). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα ινσουλίνης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value<0,05). Η ομάδα των φυσιολογικών έχει σημαντικά μικρότερα επίπεδα ινσουλίνης συγκριτικά με την ομάδα των διαβητικών (p -value<0,05).

Tests of Normality

	Εξεταζόμενος	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ΓΛΥΚΟΖΗ	Φυσιολογικός	0,166	7	0,200	0,976	7	0,938
	Διαβητικός	0,286	12	0,008	0,693	12	0,001
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	Φυσιολογικός	0,189	7	0,200	0,949	7	0,722
	Διαβητικός	0,378	12	0,000	0,728	12	0,002
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ	Φυσιολογικός	0,200	7	0,200	0,917	7	0,444
	Διαβητικός	0,178	12	0,200	0,930	12	0,380
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ	Φυσιολογικός	0,141	7	0,200	0,967	7	0,876
	Διαβητικός	0,232	12	0,075	0,717	12	0,001
HDL	Φυσιολογικός	0,179	7	0,200	0,922	7	0,485
	Διαβητικός	0,198	12	0,200	0,920	12	0,288
LDL	Φυσιολογικός	0,258	7	0,175	0,876	7	0,211
	Διαβητικός	0,176	12	0,200	0,916	12	0,255
ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ	Φυσιολογικός	0,159	7	0,200	0,974	7	0,927
	Διαβητικός	0,167	12	0,200	0,964	12	0,834
ΠΛΑΣΜΑ-TBA $\mu\text{mol/L}$	Φυσιολογικός	0,284	7	0,093	0,787	7	0,030
	Διαβητικός	0,149	12	0,200	0,920	12	0,283
ΑΙΜΟΛΥΜΑ-TBA	Φυσιολογικός	0,254	7	0,192	0,829	7	0,078
	Διαβητικός	0,156	12	0,200	0,966	12	0,869
Ινσουλίνη $\mu\text{U/ml}$	Φυσιολογικός	0,204	12	0,182	0,936	12	0,454
	Διαβητικός	0,189	14	0,187	0,929	14	0,293

Πίνακας 2. Έλεγχοι κανονικότητας

7. Συζήτηση – Συμπεράσματα

Πολλά είναι σήμερα τα στοιχεία τόσο σε πειραματικές όσο και σε κλινικές μελέτες που υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και των δύο τύπων σακχαρώδους διαβήτη.

Σήμερα, η διαθεσιμότητα των αναλυτικών τεχνικών για την μέτρηση των F2-ισοπροστανών αλλά και διαφόρων επιπλέον βιοδεικτών, έχουν σημαντικά βελτιώσει την κατανόηση της οξείδωσης των λιπιδίων και της φλεγμονής. Κλινικά και πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα βιοδραστικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων και των F2-ισοπροστανών είναι σημαντικοί σηματοδότες των επιδράσεων των μεταβολικών και αιμοδυναμικών ανωμαλιών που εντέλει μεταφράζονται σε αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο για τους διαβητικούς. Η χρήση των F2-ισοπροστανών (της δημιουργίας τους και της έκκρισης τους) σαν δείκτες σε μελέτες καθορισμού των κατάλληλων δόσεων, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της επάρκειας των βιταμινών σε διαβητικούς ασθενείς. Πράγματι, η συμπλήρωση των επιπέδων των βιταμινών σαν μέθοδο για αποφυγή χρόνιων καταστάσεων δεν είναι καλά καθορισμένη αλλά είναι γενικά παρατηρητέο πως οι διαβητικοί άνθρωποι έχουν υποβέλτιστο επίπεδο βιταμινών στον Δυτικό κόσμο λόγω των υψηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες αλλά και του αυξημένου ρυθμού απώλειας αντιοξειδωτικών. Η αξιόπιστη εκτίμηση της δημιουργίας των F2-ισοπροστανών θα μπορούσε να γίνει σε επιλεγμένους ασθενείς που θα μπορούσαν να ωφεληθούν από παρεμβάσεις με χρήση αντιοξειδωτικών.

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 33 ασθενείς εκ των οποίων οι 18 ήταν διαβητικοί και οι 15 φυσιολογικοί ασθενείς με σκοπό τη συσχέτιση των βιοχημικών παραμέτρων με τα επίπεδα οξειδωμένων λιπιδίων στο πλάσμα. Από τα αποτελέσματα προκύπτει πως υπάρχουν πολύ ισχυρές θετικές συσχετίσεις στην αιμοσφαιρίνη με τη γλυκόζη, ισχυρές θετικές συσχετίσεις της LDL με τη χοληστερόλη, δυνατές θετικές συσχετίσεις των τριγλυκεριδίων με τη γλυκόζη και μέτριας έντασης θετικές συσχετίσεις των τριγλυκεριδίων με την αιμοσφαιρίνη, της LDL με την HDL, του ουρικού οξέος με τη χοληστερόλη, του πλάσματος-TBA μmol/L με τη γλυκόζη, του πλάσματος-TBA μmol/L με την αιμοσφαιρίνη, του πλάσματος-TBA μmol/L με τα τριγλυκερίδια. Τέλος, παρατηρείται πολύ δυνατή αρνητική συσχέτιση του πλάσματος-TBA μmol/L με την HDL, δυνατές αρνητικές συσχετίσεις της HDL

με τη γλυκόζη, της HDL με την αιμοσφαιρίνη, της HDL με τα τριγλυκερίδια, της LDL με τα τριγλυκερίδια. Το αιμόλυμα-TBA δεν σχετίζεται με κανένα.

Αναφορές

- Amom, Z., Zakaria, Z., Mohamed, J., Azlan, A., Bahari, H., Taufik Hidayat Baharuldin, M., Aris Moklas, M., Osman, K., Asmawi, Z. & Kamal Nik Hassan, M. 2008. Lipid lowering effect of antioxidant alpha-lipoic Acid in experimental atherosclerosis. *J Clin Biochem Nutr*, 43, 88-94.
- Assaloni, R., Da Ros, R., Quagliaro, L., Piconi, L., Maier, A., Zuodar, G., Motz, E. & Ceriello, A. 2005. Effects of S21403 (mitiglinide) on postprandial generation of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. *Diabetologia*, 48, 1919-24.
- Baziar, N., Nasli-Esfahani, E., Djafarian, K., Qorbani, M., Hedayati, M., Mishani, M. A., Faghfoori, Z., Ahmaripour, N. & Hosseini, S. 2020. The Beneficial Effects of Alpha Lipoic Acid Supplementation on Lp-PLA2 Mass and Its Distribution between HDL and apoB-Containing Lipoproteins in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 5850865.
- Blachier, F. & Malaisse, W. J. 1988. Effect of exogenous ATP upon inositol phosphate production, cationic fluxes and insulin release in pancreatic islet cells. *Biochim Biophys Acta*, 970, 222-9.
- Boland, B. B., Rhodes, C. J. & Grimsby, J. S. 2017. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. *Mol Metab*, 6, 958-973.
- Bonomini, F., Tengattini, S., Fabiano, A., Bianchi, R. & Rezzani, R. 2008. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*, 23, 381-90.
- Bunney, P. E., Zink, A. N., Holm, A. A., Billington, C. J. & Kotz, C. M. 2017. Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiol Behav*, 176, 139-148.
- Cade, W. T. 2008. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther*, 88, 1322-35.
- Carey, V. J., Walters, E. E., Colditz, G. A., Solomon, C. G., Willett, W. C., Rosner, B. A., Speizer, F. E. & Manson, J. E. 1997. Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol*, 145, 614-9.

- Catalá, A. 2009. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids*, 157, 1-11.
- Cavdar, Z., Oktan, M., Arici, A., Celik, A., Yilmaz, O., Sarioglu, S. & Cavdar, C. 2020. Renoprotective Effects of Alpha Lipoic Acid on Iron Overload-Induced Kidney Injury in Rats by Suppressing NADPH Oxidase 4 and p38 MAPK Signaling. *Biological Trace Element Research*, 193.
- Cerf, M. E. 2013. Beta cell dysfunction and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 4, 37.
- Ceriello, A. 2009. Postprandial hyperglycemia and cardiovascular disease: is the HEART2D study the answer? *Diabetes Care*, 32, 521-2.
- Christensen, A. A. & Gannon, M. 2019. The Beta Cell in Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep*, 19, 81.
- Davì, G., Chiarelli, F., Santilli, F., Pomilio, M., Vigneri, S., Falco, A., Basili, S., Ciabattoni, G. & Patrono, C. 2003. Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation*, 107, 3199-203.
- Davì, G., Ciabattoni, G., Consoli, A., Mezzetti, A., Falco, A., Santarone, S., Pennese, E., Vitacolonna, E., Bucciarelli, T., Costantini, F., Capani, F. & Patrono, C. 1999. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f₂alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation*, 99, 224-9.
- Dedoussis, G. V., Kaliora, A. C. & Panagiotakos, D. B. 2007. Genes, diet and type 2 diabetes mellitus: a review. *Rev Diabet Stud*, 4, 13-24.
- Donahue, R. P. & Orchard, T. J. 1992. Diabetes mellitus and macrovascular complications. An epidemiological perspective. *Diabetes Care*, 15, 1141-55.
- Dotan, Y., Lichtenberg, D. & Pinchuk, I. 2004. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res*, 43, 200-27.

- Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J. & Paquot, N. 2014. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 105, 141-50.
- Feldman-Billard, S., Massin, P., Meas, T., Guillausseau, P. J. & Héron, E. 2010. Hypoglycemia-induced blood pressure elevation in patients with diabetes. *Arch Intern Med*, 170, 829-31.
- Ganjifrockwala, F., Joseph, J. & George, G. 2016. Serum Oxidized LDL Levels in Type 2 Diabetic Patients with Retinopathy in Mthatha Region of the Eastern Cape Province of South Africa. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2063103.
- Graciano, M. F., Valle, M. M., Kowluru, A., Curi, R. & Carpinelli, A. R. 2011. Regulation of insulin secretion and reactive oxygen species production by free fatty acids in pancreatic islets. *Islets*, 3, 213-23.
- Gürler, B., Vural, H., Yilmaz, N., Oguz, H., Satici, A. & Aksoy, N. 2000. The role of oxidative stress in diabetic retinopathy. *Eye (Lond)*, 14 Pt 5, 730-5.
- Halliwell, B. & Lee, C. Y. 2010. Using isoprostanes as biomarkers of oxidative stress: some rarely considered issues. *Antioxid Redox Signal*, 13, 145-56.
- Hartnett, M. E., Stratton, R. D., Browne, R. W., Rosner, B. A., Lanham, R. J. & Armstrong, D. 2000. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, 23, 234-40.
- Hillier, T. A. & Pedula, K. L. 2003. Complications in young adults with early-onset type 2 diabetes: losing the relative protection of youth. *Diabetes Care*, 26, 2999-3005.
- Holman, R. R., Paul, S. K., Bethel, M. A., Matthews, D. R. & Neil, H. A. 2008. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 359, 1577-89.
- HOPE 2000. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Lancet* 355, 253–259.

- Huang, F., Wang, K. & Shen, J. 2020. Lipoprotein-associated phospholipase A2: The story continues. *Medicinal Research Reviews*, 40, 79-134.
- Islam, M. S. 2002. The ryanodine receptor calcium channel of beta-cells: molecular regulation and physiological significance. *Diabetes*, 51, 1299-309.
- Ito, F., Sono, Y. & Ito, T. 2019. Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants (Basel)*, 8.
- Jennings, P. E., Jones, A. F., Florkowski, C. M., Lunec, J. & Barnett, A. H. 1987. Increased diene conjugates in diabetic subjects with microangiopathy. *Diabet Med*, 4, 452-6.
- Jian, B., de la Llera-Moya, M., Ji, Y., Wang, N., Phillips, M. C., Swaney, J. B., Tall, A. R. & Rothblat, G. H. 1998. Scavenger receptor class B type I as a mediator of cellular cholesterol efflux to lipoproteins and phospholipid acceptors. *J Biol Chem*, 273, 5599-606.
- Kannel, W. B. & McGee, D. L. 1979. Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study. *Circulation*, 59, 8-13.
- Katsarou, A., Gudbjörnsdóttir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A. & Lernmark, Å. 2017. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17016.
- Kelley, D. E., Goodpaster, B., Wing, R. R. & Simoneau, J. A. 1999. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am J Physiol*, 277, E1130-41.
- Khan, J., Brennand, D. M., Bradley, N., Gao, B., Bruckdorfer, R. & Jacobs, M. 1998. 3-Nitrotyrosine in the proteins of human plasma determined by an ELISA method. *Biochem J*, 330 (Pt 2), 795-801.
- Kodani, N., Saisho, Y., Tanaka, K., Kawai, T. & Itoh, H. 2013. Effects of mitiglinide, a short-acting insulin secretagogue, on daily glycemic variability and oxidative stress markers in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Drug Investig*, 33, 563-70.

- Kundu, D., Mandal, T., Nandi, M., Osta, M., Bandyopadhyay, U. & Ray, D. 2014. Oxidative stress in diabetic patients with retinopathy. *Ann Afr Med*, 13, 41-6.
- Kuroki, T., Isshiki, K. & King, G. L. 2003. Oxidative stress: the lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. *J Am Soc Nephrol*, 14, S216-20.
- Lagrost, L. 1994. Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. *Biochim Biophys Acta*, 1215, 209-36.
- Lagrost, L., Desrumaux, C., Masson, D., Deckert, V. & Gambert, P. 1998. Structure and function of the plasma phospholipid transfer protein. *Curr Opin Lipidol*, 9, 203-9.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W. & Feng, Y. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci*, 16, 26087-124.
- Li, X., Watanabe, K. & Kimura, I. 2017. Gut Microbiota Dysbiosis Drives and Implies Novel Therapeutic Strategies for Diabetes Mellitus and Related Metabolic Diseases. *Front Immunol*, 8, 1882.
- Liu, M., Weiss, M. A., Arunagiri, A., Yong, J., Rege, N., Sun, J., Haataja, L., Kaufman, R. J. & Arvan, P. 2018. Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes Obes Metab*, 20 Suppl 2, 28-50.
- Lushchak, V. I. 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*, 224, 164-75.
- Lynch, J., Helmrich, S. P., Lakka, T. A., Kaplan, G. A., Cohen, R. D., Salonen, R. & Salonen, J. T. 1996. Moderately intense physical activities and high levels of cardiorespiratory fitness reduce the risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in middle-aged men. *Arch Intern Med*, 156, 1307-14.
- Lynch, S. V. & Pedersen, O. 2016. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med*, 375, 2369-2379.
- Mansbach, C. M. & Siddiqi, S. A. 2010. The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol*, 72, 315-33.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A. & Watkins, J. B., 3rd 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*, 17, 24-38.

- Miyamoto, Y., Saito, Y., Kajiyama, N., Yoshimura, M., Shimasaki, Y., Nakayama, M., Kamitani, S., Harada, M., Ishikawa, M., Kuwahara, K., Ogawa, E., Hamanaka, I., Takahashi, N., Kaneshige, T., Teraoka, H., Akamizu, T., Azuma, N., Yoshimasa, Y., Yoshimasa, T., Itoh, H., Masuda, I., Yasue, H. & Nakao, K. 1998. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension*, 32, 3-8.
- Monnier, L., Mas, E., Ginet, C., Michel, F., Villon, L., Cristol, J. P. & Colette, C. 2006. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *Jama*, 295, 1681-7.
- Morel, D. W. & Chisolm, G. M. 1989. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res*, 30, 1827-34.
- Nathan, D. M., Cleary, P. A., Backlund, J. Y., Genuth, S. M., Lachin, J. M., Orchard, T. J., Raskin, P. & Zinman, B. 2005. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*, 353, 2643-53.
- Neis, E. P., Dejong, C. H. & Rensen, S. S. 2015. The role of microbial amino acid metabolism in host metabolism. *Nutrients*, 7, 2930-46.
- Nelson, T. L., Biggs, M. L., Kizer, J. R., Cushman, M., Hokanson, J. E., Furberg, C. D. & Mukamal, K. J. 2012. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 (Lp-PLA2) and Future Risk of Type 2 Diabetes: Results from the Cardiovascular Health Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97, 1695-1701.
- Nishigaki, I., Hagihara, M., Tsunekawa, H., Maseki, M. & Yagi, K. 1981. Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patients. *Biochem Med*, 25, 373-8.
- Nour Eldin, E. E., Almarzouki, A., Assiri, A. M., Elsheikh, O. M., Mohamed, B. E. & Babakr, A. T. 2014. Oxidized low density lipoprotein and total antioxidant capacity in type-2 diabetic and impaired glucose tolerance Saudi men. *Diabetol Metab Syndr*, 6, 94.
- Ohara, M., Fukui, T., Ouchi, M., Watanabe, K., Suzuki, T., Yamamoto, S., Yamamoto, T., Hayashi, T., Oba, K. & Hirano, T. 2016. Relationship between daily and day-to-day glycemic variability and increased oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 122, 62-70.

- Olofsson, S. O., Stillemark-Billton, P. & Asp, L. 2000. Intracellular assembly of VLDL: two major steps in separate cell compartments. *Trends Cardiovasc Med*, 10, 338-45.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A. & Olokoba, L. B. 2012. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*, 27, 269-73.
- Oram, J. F. & Lawn, R. M. 2001. ABCA1. The gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *J Lipid Res*, 42, 1173-9.
- Pieralice, S. & Pozzilli, P. 2018. Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Review on Clinical Implications and Management. *Diabetes Metab J*, 42, 451-464.
- Rallidis, L. S., Tellis, C. C., Lekakis, J., Rizos, I., Varounis, C., Charalampopoulos, A., Zolindaki, M., Dargres, N., Anastasiou-Nana, M. & Tselepis, A. D. 2012. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) bound on high-density lipoprotein is associated with lower risk for cardiac death in stable coronary artery disease patients: a 3-year follow-up. *J Am Coll Cardiol*, 60, 2053-60.
- Ross, R. 2003. Does exercise without weight loss improve insulin sensitivity? *Diabetes Care*, 26, 944-5.
- Saisho, Y. 2014. Glycemic variability and oxidative stress: a link between diabetes and cardiovascular disease? *Int J Mol Sci*, 15, 18381-406.
- Sánchez-Quesada, J. L., Vinagre, I., de Juan-Franco, E., Sánchez-Hernández, J., Blanco-Vaca, F., Ordóñez-Llanos, J. & Pérez, A. 2012. Effect of improving glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus on low-density lipoprotein size, electronegative low-density lipoprotein and lipoprotein-associated phospholipase A2 distribution. *Am J Cardiol*, 110, 67-71.
- Sato, Y., Hotta, N., Sakamoto, N., Matsuoka, S., Ohishi, N. & Yagi, K. 1979. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem Med*, 21, 104-7.
- Savaskan, N. E., Ufer, C., Kühn, H. & Borchert, A. 2007. Molecular biology of glutathione peroxidase 4: from genomic structure to developmental expression and neural function. *Biol Chem*, 388, 1007-17.

- Shay, K. P., Moreau, R. F., Smith, E. J., Smith, A. R. & Hagen, T. M. 2009. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*, 1790, 1149-60.
- Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. & Ames, B. N. 1994. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, 10771-8.
- Skibska, B. & Goraca, A. 2015. The Protective Effect of Lipoic Acid on Selected Cardiovascular Diseases Caused by Age-Related Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 313021.
- Strasser, B. 2013. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 1281, 141-59.
- Stratton, I. M., Adler, A. I., Neil, H. A., Matthews, D. R., Manley, S. E., Cull, C. A., Hadden, D., Turner, R. C. & Holman, R. R. 2000. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Bmj*, 321, 405-12.
- Sun, S., Zhang, M., Yang, Q., Shen, Z., Chen, J., Yu, B., Wang, H., Qu, J., Pang, D., Ren, W., Ouyang, H. & Tang, X. 2017. Resveratrol suppresses lipoprotein-associated phospholipase A(2) expression by reducing oxidative stress in macrophages and animal models. *Mol Nutr Food Res*, 61.
- Szamosi, T., Gara, I., Venekei, I., Jávora, A., Ceskel, R. & Knoll, J. 1987. Serum lipids, lipid peroxides and the care of children with high risk atherosclerotic family history. *Atherosclerosis*, 68, 111-5.
- Tamayo, T., Rosenbauer, J., Wild, S. H., Spijkerman, A. M., Baan, C., Forouhi, N. G., Herder, C. & Rathmann, W. 2014. Diabetes in Europe: an update. *Diabetes Res Clin Pract*, 103, 206-17.
- Tellis, C. C. & Tselepis, A. D. 2014. Pathophysiological role and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) bound to LDL and HDL. *Curr Pharm Des*, 20, 6256-69.

- Tsai, E. C., Hirsch, I. B., Brunzell, J. D. & Chait, A. 1994. Reduced plasma peroxy radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes*, 43, 1010-4.
- Venkatasamy, V. V., Pericherla, S., Manthuruthil, S., Mishra, S. & Hanno, R. 2013. Effect of Physical activity on Insulin Resistance, Inflammation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *J Clin Diagn Res*, 7, 1764-6.
- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P. & Feldman, E. L. 2004. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*, 25, 612-28.
- Vincent, H. K. & Taylor, A. G. 2006. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)*, 30, 400-18.
- Wang, W., Zuo, P. & Wang, Y. 2009. OxLDL stimulates lipoprotein-associated phospholipase A2 expression in THP-1 monocytes via PI3K and p38 MAPK pathways. *Cardiovascular Research*, 85, 845-852.
- Weinstein, A. R., Sesso, H. D., Lee, I. M., Cook, N. R., Manson, J. E., Buring, J. E. & Gaziano, J. M. 2004. Relationship of physical activity vs body mass index with type 2 diabetes in women. *Jama*, 292, 1188-94.
- Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C. & Shaw, J. 2011. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 94, 311-21.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. & King, H. 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27, 1047-53.
- Willmore, W. G. & Storey, K. B. 1997. Antioxidant systems and anoxia tolerance in a freshwater turtle *Trachemys scripta elegans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 170, 177-185.
- Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids*, 45, 337-51.
- Yamamoto, W. R., Bone, R. N., Sohn, P., Syed, F., Reissaus, C. A., Mosley, A. L., Wijeratne, A. B., True, J. D., Tong, X., Kono, T. & Evans-Molina, C. 2019. Endoplasmic reticulum stress Amom, Z., Zakaria, Z., Mohamed, J., Azlan, A., Bahari, H., Taufik Hidayat Baharuldin, M., Aris Moklas, M., Osman, K., Asmawi, Z. & Kamal Nik

Hassan, M. 2008. Lipid lowering effect of antioxidant alpha-lipoic Acid in experimental atherosclerosis. *J Clin Biochem Nutr*, 43, 88-94.

Yang, S. W., Park, K. H. & Zhou, Y. J. 2016. The Impact of Hypoglycemia on the Cardiovascular System: Physiology and Pathophysiology. *Angiology*, 67, 802-9.