ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΚΙΝΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΖΩΗΣ
Τμήμα Νοσηλευτικής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΡΙΣΕΩΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη της σχέσης απόπτωσης- οξειδωτικού στρες-ενδοθηλιακής λειτουργίας κατά την διάρκεια της καμπύλης γλυκόζης (OGTT) σε παχύσαρκά παιδιά

ΚΑΤΣΑ ΜΑΡΙΑ ΕΥΘΥΜΙΑ

Νοσηλεύτρια ΠΕ

Οκτώβριος 2017

ΣΠΑΡΤΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΚΙΝΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΖΩΗΣ
Τμήμα Νοσηλευτικής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΡΙΣΕΩΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη της σχέσης απόπτωσης- οξειδωτικού στρες- ενδοθηλιακής λειτουργίας κατά την διάρκεια της καμπύλης γλυκόζης (OGTT) σε παχύσαρκά παιδιά

ΚΑΤΣΑ ΜΑΡΙΑ ΕΥΘΥΜΙΑ
Νοσηλεύτρια ΠΕ

Μέλη Συμβουλευτικής Επιτροπής
Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ρόχας Χιλ Ανδρέα Παόλα, Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογίας-Βιοχημείας
Μέλος: Τσιρώνη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας
Μέλος: Ζυγά Σοφία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βασικής Νοσηλευτικής

Οκτώβριος 2017

ΣΠΑΡΤΗ

Copyright© Κατσά Μαρία Ευθυμία, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των απαιτήσεων του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Ειδίκευσης «Διοίκηση Υπηρεσιών Υγείας και Διαχείριση Κρίσεων» του Τμήματος Νοσηλευτικής. Η έγκρισή της δεν υποδηλώνει απαραιτήτως και την αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου.

Βεβαιώνω ότι η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές που αναφέρω έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά και όπου απαιτείται έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή:

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Ρόχας Χιλ Ανδρέα Παόλα

Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογίας- Βιοχημείας

Μέλος

Τσιρώνη Μαρία

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας

Μέλος

Ζυγά Σοφία

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βασικής Νοσηλευτικής

1. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κ. Ρόχας Χιλ Ανδρέα Παόλα για την συνεχή βοήθεια, την υπομονή και την αμέριστη συνεργασία προς την εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας. Ευχαριστώ επίσης τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ. Τσιρώνη Μαρία και κ. Ζυγά Σοφία για τη σημαντική παρουσία τους.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών, κα Σπηλιώτη Βασιλική Γκρέκα χωρίς τη συμβολή της οποίας δεν θα είχε επιτευχθεί η παρούσα έρευνα.

Καθοριστικό ρόλο είχε για την υλοποίηση της μελέτης είχε ο Επίκουρος καθηγητής Βιοχημείας του τμήματος Επιστήμης Διατροφής- Διαιτολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κος Νομικός Τζώρτζης, Τον ευχαριστώ θερμά για όλη τη βοήθεια και συνεργασία αυτούς τους μήνες.

Για την άδεια διεξαγωγής μέρους των πειραματικών διαδικασιών στο εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας του ανθρώπου και των μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου ευχαριστώ την Καθηγήτρια Βιοχημείας του τμήματος Επιστήμης Διατροφής-Διαιτολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κα Αντωνοπούλου Σμαραγδή.

Για την πολύτιμη βοήθεια του ευχαριστώ τον Επίκουρο καθηγητή Μικροβιολογίας του τμήματος Νοσηλευτικής του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου κο Ιωαννίδη Αναστάσιο. Τον Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών κο Χατζηπαναγιώτου Στυλιανό και το εργαστήριο Μικροβιολογίας του Αιγινητείου Νοσοκομείου

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους αγαπημένους μου ανθρώπους των οποίων η πίστη στις δυνατότητές μου και η συνεχής ενθάρρυνση αποτελεί κινητήριο δύναμη για τη διεκδίκηση των στόχων μου.

2. ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ	
ΣΥΝΤΜΗΣΗ	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ
Acanthosis nigricans	Μελανίζουσα ακάνθωση
AGEs	Advanced glycation end products
ATP	5-τριφωσφορική αδενοσίνη
AUC	Area under the curve
BK	Bradykinin
BMI	Body Mass Index
CAMs	Cell adhesion molecules
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
EDHF	Endothelium - derived hyperpolarizing factor
eNOS	nitric oxide synthase
ET - 1	Endothelin
FFA	Free Fatty Acids
GH	Αυξητική ορμόνη
GPX	Υπεροξειδάσης γλουταθειόνης
GR	Αναγωγάση της γλουταθειόνης
GSH	Γλουταθειόνη
GSSG	Οξειδωμένη γλουταθειόνη
H_2O_2	Hydrogen superoxide
ICD	International Classification of Diseases

IFN-γ	ιντερφερόνη γ
Ils	Interleukins
Interleukin-1β	IL-1β
LPS	Λιποπολυσακχαρίτες
LT	Leukotriens
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Young
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
OGTT	Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη
PAF	Platelet activator factor
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PECAM-1	Platelet/endothelial cell adhesion molecule
PG	Prostaglandins
PGI2	Prostacyclins
PKC	Protein kinase
PTH	Παραθορμόνη
RAGEs	Υποδοχείς για τελικά προϊόντα Προχωρημένης γλυκοζυλίωσης
RCS	Αντιδραστικά είδη χλωρίου
RNS	Αντιδραστικά είδη αζώτου
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Υπεροξειδική δισμουτάση
TF	Tissue factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TGF	Transforming growth factor-β
TNFa	Tumor Necrosis factor a

tPA	Tissue plasminogen activator
TX	Thromboxanes
VCAM-1	Vascular CAM-1
VEGF	βVascular endothelial growth factor
vWF	Von Willebrand factor
W.H.O	World Health Organization
Angiotensin II	A – II
ΑΥ	Αρτηριακή υπέρταση
ΔΜΣ	Δείκτη Μάζας Σώματος
ΚΑΝ	Καρδιαγγειακά νοσήματα
NO	Nitric oxide
ΟΟΣΑ	Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης
Π.Ο.Υ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΠΓ	Περίμετρος γοφών
ΠΜ	Περίμετρος μέσης
ΣΔ	Σακχαρώδης διαβήτης

3. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη σχετίζεται με αγγειακή βλάβη και προοδευτική απώλεια των προστατευτικών λειτουργιών του ενδοθηλίου δυσχεραίνοντας το μικρο- και μακρο-αγγειακό περιβάλλον μέσω της αύξησης του οξειδωτικού στρες, της φλεγμονής και της απόπτωσης.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εκτιμηθεί η διαδικασία της απόπτωσης και δραστικότητας αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά τη διάρκεια δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη(OGTT), μεταξύ παχύσαρκων και μη παιδιών καθώς και παιδιών με φυσιολογική και μη OGTT.

Μεθοδολογία: Προοπτική μελέτη. Συμμετείχαν 30 παιδιά, 7-16 ετών. Πραγματοποιήθηκε καμπύλη γλυκόζης κατά την οποία μετρήθηκε η ινσουλίνη και το c-πεπτίδιο. Έγινε πλήρης βιοχημικός έλεγχος. Μετρήθηκαν οι δείκτες απόπτωσης Apo1fas και cck18 καθώς και η δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD και GPX3. Προηγήθηκε η έγγραφη συγκατάθεση από τους γονείς/κηδεμόνες των παιδιών για την εθελοντική συμμετοχή τους.

Αποτελέσματα: 70% των παιδιών είχε BMI%≥95 και 47% είχε διαταραγμένη γλυκόζη κατά τη δοκιμασία OGTT. Με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p \leq .05$ βρέθηκαν οι παρακάτω συσχετίσεις. Όσον αφορά τους αποπτωτικούς δείκτες, αρνητική ήταν συσχέτιση της Apo1fas και του cck18 με το BMI%, στα νορμοβαρή παιδιά και αυτά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT. Η Apo1fas σχετίστηκε ακόμη με αυξημένη ινσουλίνη στα παχύσαρκα παιδιά και με αυξημένα IGF και τριγλυκερίδια στα νορμοβαρή. Αναφορικά με το οξειδωτικό στρες θετική ήταν η συσχέτιση της GPX3 με την ινσουλίνη και αρνητική με το IGF-1. Θετική ήταν επίσης η συσχέτιση τόσο της SOD όσο και της GPX3 με την HgbA1c στις περισσότερες υποομάδες παιδιών. Τέλος η GPX3 συνδυάστηκε με αυξημένη T3 και FT4 στο σύνολο των υποομάδων. Από τη μέτρηση των αποπτωτικών και αντιοξειδωτικών δεικτών κατά την OGTT προέκυψε σημαντική και σταδιακή μεταβολή των συγκεντρώσεων τους, με σημείο κορύφωσης το t=60 και t=90. Από κει κι έπειτα οι δείκτες επανέρχονταν σε επίπεδα όμοια με το t=0.

Συμπεράσματα:

Η απόπτωση πιθανόν να έχει διαφορετικό στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες, με την παχυσαρκία και την ανοχή στη γλυκόζη να επηρεάζουν τη σχέση αυτή. Η αυξημένη συγκέντρωση ινσουλίνης και γλυκόζης σχετίζεται με αύξηση των συγκεντρώσεων των αντιοξειδωτικών δεικτών, ως απάντηση σε μια κατάσταση οξειδωτικού στρες. Η μεταβολή των συγκεντρώσεων των αποπτωτικών και αντιοξειδωτικών δεικτών μεταβάλλεται ταχέως στο μεταγευματικό στάδιο.

Λέξεις κλειδιά: παιδιά, παχυσαρκία, ανοχή στη γλυκόζη, απόπτωση, οξειδωτικό στρες

4. ABSTRACT

Background: Obesity and insulin resistance are associated with vascular damage and progressive loss of the endothelial protective functions. Additionally, they further complicate the micro- and macro-vascular environment through increasing oxidative stress and inflammation.

Aim: To evaluate the process of apoptosis and oxidative stress during a glucose tolerance test (OGTT), in different groups of children- obese and normal weight, children with disturbed and normal glucose tolerance.

Methodology: Prospective study. 30 children, aged 7-16, participated. During OGTT insulin and c-peptide were also measured. A complete biochemical test was performed. Apo1fas and cck18 were measured as apoptotic markers while SOD and GPX3 were measured as antioxidant enzymes. The voluntary participation of the children has been accompanied by the written consent of the parents/guardians.

Results: 70% of children had BMI% ≥95 and 47% had disturbed glucose tolerance. The following associations were found with a statistical significance $p \leq .05$. Regarding the apoptotic markers, Apo1fas and cck18 were negatively correlated with BMI%, in children with normal weight and normal glucose tolerance. Apo1fas was also associated with increased insulin level in obese children and with increased IGF and triglycerides levels in normal weight children. Regarding the oxidative stress, GPX3 was positively correlated with insulin and negatively with IGF-1. SOD and GPX3 were positively correlated with HgbA1c. GPX3 was associated with increased T3 and FT4. The measurement of the apoptotic and antioxidant markers concentration during the OGTT showed a significant and gradual change. The peak of their concentration was at t = 60 and t = 90. After t=90, the markers concentration returned to the t=0 levels.

Conclusions: The role of apoptosis may differ in children compared to adults. Obesity and glucose tolerance influence this relationship. Increased insulin and glucose levels are associated with increased concentration of antioxidant markers, as a response to a condition of oxidative stress. During a post-prandial stage, the apoptotic and antioxidant markers are changing rapidly.

Key words: children, obesity, insulin resistance, apoptosis, oxidative stress

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ 6

2. ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ 7

3. ΠΕΡΙΛΗΨΗ 10

4. ABSTRACT 11

5. ΕΙΣΑΓΩΓΗ 15

5.1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΊΑ 15

5.1.1 ΠΑΙΔΙΚΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ 15

5.1.2 ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ 16

5.1.3 ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ 17

5.1.4 ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ 18

5.1.5 ΑΙΤΙΑ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ 18

5.2 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ- ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ 22

5.2.1 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ ΩΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΕΣ ΟΡΓΑΝΟ 24

5.2.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ 25

5.3 ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ 26

5.3.1 ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ 26

5.3.2 ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2 (ΣΔ2) ΣΕ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ 27

5.3.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΟΧΗΣ ΣΤΗ ΓΛΥΚΟΖΗ (OGTT) 27

5.4 ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ 28

5.4.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ 29

5.4.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ 31

5.4.3 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ 31

5.4.4 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΔ 32

5.5 ΑΠΟΠΤΩΣΗ 32

5.5.1 ΑΠΟΠΤΩΣΗ-ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ-ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗ 33

5.5.2 ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΣΔ2 34

5.5.3 APO1 / Fas 35

5.5.4 ΚΑΣΠΑΣΕΣ 35

5.6 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ-ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....36

5.6.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....36

5.6.2 ROS.....37

5.6.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....37

5.6.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ.....38

5.6.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΔ.....38

5.6.6 SOD.....39

5.6.7 GPX.....39

6. ΣΚΟΠΟΣ.....41

7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....42

7.1 ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....42

7.2 ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....42

7.3 ΦΥΣΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....42

7.3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....43

7.4 OGTT.....43

7.5 ΤΕΧΝΙΚΗ ELISA.....44

7.5.1 ΓΙΑ ΤΗΝ APO-1/FAS.....44

7.5.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....44

7.5.3 ΓΙΑ ΤΗΝ M30 APOPTOSENSE.....45

7.5.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....46

7.5.5 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ELISA.....47

7.6 SOD.....47

7.6.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....48

7.7 GPX.....49

7.7.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....50

7.8 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....51

7.9 ΖΗΤΗΜΑΤΑ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ.....51

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....52

8.1 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....52

8.2 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ 52

8.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΟΡΤΙΣΗΣ ΜΕ ΓΛΥΚΟΖΗ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ, ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ OGTT 56

8.3.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΗΣ 56

8.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ 58

8.3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ 59

8.3.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ 61

8.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ 64

8.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΟΡΤΙΣΗΣ ΜΕ ΓΛΥΚΟΖΗ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ, ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ BMI% 66

8.4.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΗΣ 66

8.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ 68

8.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ 69

8.4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ 70

8.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ 73

8.5 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ 76

8.6 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ OGTT 78

8.6.1 ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ OGTT 78

8.6.2 ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΓΜΕΝΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ OGTT 80

8.7 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ BMI% 81

8.7.1 ΝΟΡΜΟΒΑΡΗ/ ΥΠΕΡΒΑΡΑ ΠΑΙΔΙΑ 81

8.7.2 ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ ΠΑΙΔΙΑ 83

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ 85

10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 91

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ 91

12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 91

13. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 103

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

5.1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΊΑ

Με τον όρο παχυσαρκία ορίζεται η υπερβολική αποταμίευση ενέργειας με τη μορφή λίπους - μέσω της τροφής που εισέρχεται στον οργανισμό. Η υπέρμετρη πρόσληψη ενέργειας σε συνδυασμό με τη μειωμένη κατανάλωση της δύναται να διαταράξει το μεταβολικό ισοζύγιο του οργανισμού και να οδηγήσει σε αύξηση του σωματικού βάρους [112, 2ου]. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας - Π.Ο.Υ. (World Health Organization – W.H.O.) η παχυσαρκία θεωρείται μια από τις πιο σοβαρές νόσους του 21ου αιώνα ήδη από το 1948. Ενώ σύμφωνα με την έκδοση της Διεθνούς Κατάταξης Παθήσεων (International Classification of Diseases – ICD) η παχυσαρκία σήμερα έχει τον κωδικό E66- (Overweight and obesity).

5.1.1 ΠΑΙΔΙΚΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

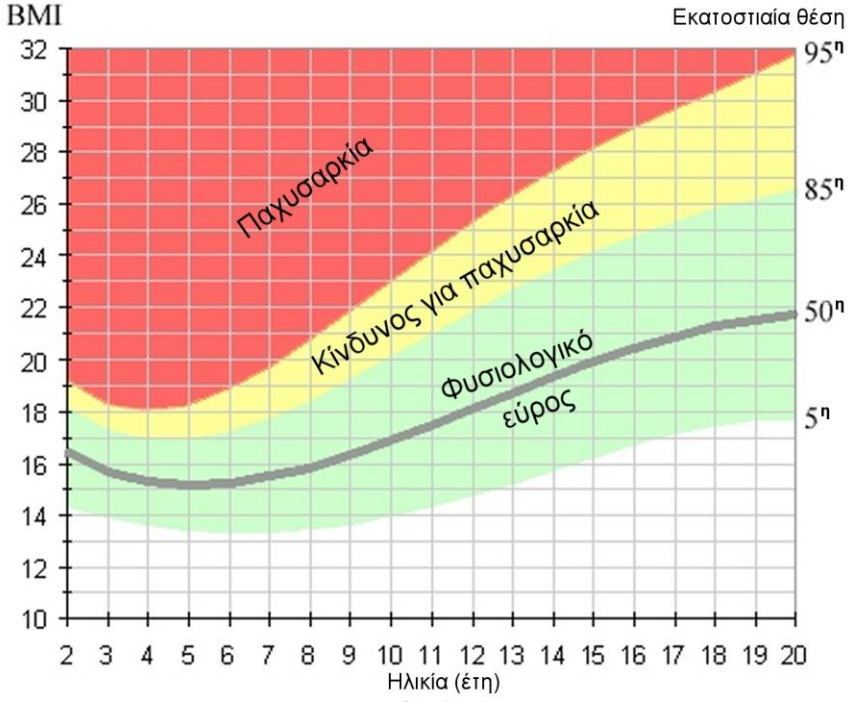
Η παιδική παχυσαρκία θεωρείται επιδημία με παγκόσμιες διαστάσεις που μαστίζει τις αναπτυγμένες χώρες [3]. Ιδιαίτερα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ), έχει παρατηρηθεί αύξηση του μέσου όρου του βάρους των παιδιών τουλάχιστον κατά πέντε κιλά τα τελευταία τριάντα χρόνια, ενώ παρόμοια τάση έχει παρατηρηθεί και σε χώρες μεσαίου εισοδήματος [4]. Στην Ευρώπη τα μεγαλύτερα ποσοστά παχυσαρκίας παρατηρούνται στις ανατολικές και νότιες χώρες και σε μεγαλύτερο βαθμό στους εφήβους συγκριτικά με τα μικρότερα παιδιά [5]. Τα παχύσαρκα παιδιά γίνονται συχνά παχύσαρκοι έφηβοι και στη συνέχεια παχύσαρκοι ενήλικες [6]. Η παχυσαρκία σχετίζεται με την ανάπτυξη σοβαρών επιπλοκών και την αύξηση της θνησιμότητας στα παιδιά και τους ενήλικες [7]. Ουσιαστικά χαρακτηρίζεται ως ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για χρόνια νοσήματα όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, ο Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ), η δυσλιπιδαιμία, η αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ), τα καρδιαγγειακά νοσήματα (ΚΑΝ) και ορισμένες μορφές καρκίνου [8].

Η ανάπτυξη της παχυσαρκίας χωρίζεται σε τρεις σημαντικές περιόδους: στην προγεννετική-βρεφική περίοδο κατά την οποία υπάρχει άμεση κι απόλυτη εξάρτηση από την μητέρα και ο ΔΜΣ αυξάνεται ταχύτατα, στην παιδική περίοδο- κατά την οποία ομαλοποιείται η ανάπτυξη της παχυσαρκίας λόγω αυξητικών παραγόντων (αυξητική ορμόνη και ινσουλίνη) και τέλος στην εφηβική περίοδος- στην οποία πλέον η ομαλοποίηση της ανάπτυξης παχυσαρκίας οφείλεται κυρίως στις ορμόνες του φύλου [9]. Οι τρεις αυτές περίοδοι, δε συνδέονται μόνο με την ηλικία, αλλά και με πλήθος συμπεριφοριστικών και αναπτυξιακών διαδικασιών [7].

Η παιδική παχυσαρκία χαρακτηρίζεται ως πρωτοπαθής ή ιδιοπαθής και ως δευτεροπαθής-σπανιότερη μορφή που οφείλεται σε κάποια γενετική διαταραχή, ενδοκρινολογική πάθηση, βλάβη του κεντρικού νευρικού συστήματος ή σε ιατρογενή αίτια. Για να γίνει ο διαχωρισμός σε αυτές τις δύο κατηγορίες συνίστανται: λήψη λεπτομερούς ιστορικού, φυσική εξέταση και εργαστηριακός έλεγχος [10].

5.1.2 ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

Η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από αυξημένη εναπόθεση σωματικού λίπους. Η άμεση μέτρηση του σωματικού λίπους είναι δύσκολη. Για το λόγο αυτό η παχυσαρκία προσδιορίζεται με το Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ, Body Mass Index- BMI) Υπολογίζεται: Σωματικό Βάρος (kg) διαιρούμενο με το ύψος υψωμένο στο τετράγωνο (m^2). Δύναται να χρησιμοποιηθεί σε ενήλικο αλλά και παιδιατρικό πληθυσμό, με το δεύτερο να χρειάζεται κάποιες τροποποιήσεις. Αυτό συμβαίνει διότι τα παιδιά βρίσκονται σε μια φάση διαρκούς ανάπτυξης, ο ρυθμός της οποίας επηρεάζεται από το φύλο. Για το λόγο αυτό η εκτίμηση της παχυσαρκίας για τα παιδιά και τους έφηβους υπολογίζεται με την χρήση των εκατοστημορίων του ΔΜΣ βάσει καμπυλών ανάπτυξης όπως ορίζονται από το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) [11]. Ουσιαστικά υπολογίζεται ο ΔΜΣ% με βάση την εκατοστιαία θέση στην οποία βρίσκεται το κάθε παιδί στα διαγράμματα ανάπτυξης. Η μέτρηση αυτή είναι εξατομικευμένη και αντιπροσωπεύει το ΔΜΣ του παιδιού ή του εφήβου συγκριτικά με το ΔΜΣ ατόμων της ίδιας ηλικίας, που είναι όμως ξεχωριστός για αγόρια και κορίτσια.



Εικόνα 1 : Υπολογισμός BMI %

Ο ΔΜΣ συσχετίζεται έντονα με τις μετρήσεις πυκνότητας της μάζας λίπους. Στο σημείο αυτό είναι όμως χρήσιμο να επισημανθεί ότι ο ΔΜΣ από μόνος του δεν αποτελεί διαγνωστικό εργαλείο. Ο κύριος περιορισμός είναι ότι δεν διακρίνει μάζα λίπους από την άλιπη μάζα. Για το λόγο αυτό καθοριστικό ρόλο παίζει η εκτίμηση του επαγγελματία υγείας σχετικά με την αξιολόγηση της διατροφής του ατόμου, τη σωματική του δραστηριότητα το οικογενειακό ιστορικό, ενώ ιδιαίτερης σημασίας είναι και η μέτρηση της δερματικής πτυχής (Μετριέται σε cm με ειδικές δαγκάνες (calipers) που μετρούν το υποδόριο λίπος. Μετρήσεις σε πολλές τοποθεσίες παρέχουν εγκυρότερα αποτελέσματα. Οι μετρήσεις μεταξύ των παρατηρητών είναι υποκειμενικές, καθώς δεν δίνεται καμία πληροφορία για το ενδοκοιλιακό και ενδομυϊκό λίπος). Επίσης πρέπει να μετράται η Περίμετρος Μέσης (ΠΜ) και Περίμετρος Γλουτών (ΠΓ), προκειμένου να αξιολογείται η κατανομή του σωματικού λίπους. Άλλωστε το φύλο παίζει ρόλο στη συσσώρευση λίπους με τις γυναίκες να συσσωρεύουν λίπος κυρίως στους μηρούς και τους γλουτούς. Αυτή η κατανομή λίπους είναι λιγότερο επικίνδυνη συγκριτικά με την εναπόθεση λίπους σπλαχνικά, η οποία σχετίζεται με σοβαρά προβλήματα υγείας (ΚΑΝ, δυσλιπιδαιμία, ΣΔ2, κ.ά.) και κατά κανόνα απαντάται στον ανδρικό πληθυσμό [12].

5.1.3 ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Η κεντρικού τύπου παχυσαρκία από την παιδική ηλικία επιβαρύνει το άτομο κατά την ανάπτυξη του έχοντας καίριες επιπτώσεις στην ενήλικο ζωή του. Συγκριμένα, έχει συσχετιστεί με τον κίνδυνο για απόκτηση ΚΑΝ, ΣΔ2 και ΑΥ, με μεγαλύτερη επίπτωση από την ολική παχυσαρκία [13,14,15]. Υπάρχουν διάφορες υποθέσεις σχετικά με το πώς η εναπόθεση λίπους στην κοιλιακή χώρα προδιαθέτει και δημιουργεί τις καταστάσεις αυτές. Σύμφωνα με την πρώτη θεωρία, η εναπόθεση αυτή του λίπους οδηγεί σε έκφραση ή έκκριση κάποιου παράγοντα που επηρεάζει το βασικό μεταβολισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα για την περίπτωση αυτή αποτελεί η λεπτίνη, η οποία εκφράζεται και εκκρίνεται περισσότερο από λιπώδη ιστό στην περίπτωση του κεντρικού τύπου παχυσαρκίας [16]. Η δεύτερη θεωρία σχετίζεται με τις επιδράσεις των ελεύθερων λιπαρών οξέων που απελευθερώνονται από το λιπώδη ιστό στην ηπατική πυλαία φλέβα, με άμεση έκθεση στο ήπαρ [17]. Η έκθεση αυτή οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής γλυκόζης και LDL χοληστερόλης. Αυτά με τη σειρά τους μπορεί να οδηγήσουν σε υπερινσουλιναιμία και υπερτριγλυκεριδαιμία [18].

Η ΠΜ έχει προταθεί ως δείκτης εκτίμησης του σωματικού λίπους με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα. Ωστόσο δεν υπάρχουν παγκόσμια αποδεκτές τιμές για την κατηγοριοποίηση του παιδικού πληθυσμού βάσει αυτών των τιμών [19-22]. Πέραν της εν λόγω χρήσης στη μέτρηση του λίπους, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την εκτίμηση ύπαρξης ή όχι υψηλού κινδύνου μεταβολικών δυσλειτουργιών σε παιδιά και εφήβους [23,24]. Η ΠΜ αξιολογεί την εναπόθεση λίπους αλλά παρά ταύτα δεν δίνει ακριβή αποτελέσματα για την εναπόθεση του λίπους σπλαχνικά. Σημείο που επίσης χρήζει ιδιαίτερης προσοχής είναι η διαφορά στον ρυθμό ανάπτυξης της ΠΜ μεταξύ των δύο φύλων, παιδιών και εφήβων [12, 25].

5.1.4 ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Αυξητική είναι η τάση της παιδικής παχυσαρκίας σε παγκόσμιο επίπεδο, με τις ευρωπαϊκές χώρες να ακολουθούν την τάση αυτή. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ) ο μέσος όρος των ποσοστών των υπέρβαρων και παχύσαρκων παιδιών αυξήθηκε μεταξύ 2001-2002 και 2009-2010 από 13% σε 15%. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στην Τσεχική Δημοκρατία, την Εσθονία, την Πολωνία και τη Σλοβενία. Αντίθετα μείωση του ποσοστού παιδικής παχυσαρκίας υπήρξε για τη Δανία και το Ηνωμένο Βασίλειο [26].

Τα ποσοστά παιδικής παχυσαρκίας έχουν τεκμηριωθεί σε πολλές ευρωπαϊκές ερευνητικές μελέτες. Συγκεκριμένα, ο επιπολασμός υπέρβαρων ή παχύσαρκων παιδιών στην Ιταλία ήταν 42,14%, στην Κύπρο 23,24%, στην Ισπανία 21,15%, στην Ουγγαρία 17,03% και στη Γερμανία 16,35% [27]. Σε μελέτη που διεξήχθη σε ελληνικό παιδιατρικό πληθυσμό το 2001, διαπιστώθηκε ότι το 30,9% των παιδιών και το 21,6% των εφήβων είναι υπέρβαρα ή παχύσαρκα [28]. Σε μία ακόμη πανελλήνια μελέτη που πραγματοποιήθηκε 10 χρόνια αργότερα με 3140 συμμετέχοντες διαπιστώθηκε ότι το 31.2% των αγοριών και 26.5% των κοριτσιών ήταν υπέρβαρα ή και παχύσαρκα [29]. Σε πρόσφατη μελέτη που διεξήχθη στο νομό Λακωνίας προέκυψε ότι το 28,7% των παιδιών είχε αυξημένο ΔΜΣ% για την ηλικία και το φύλο τους [30]. Συνολικά για τη χώρα μας έχει βρεθεί ότι το ποσοστό των παιδιών με αυξημένο ΔΜΣ αυξήθηκε κατά τη δεκαετία 1997-2007 από 20,1 ± 0,2% σε 26,7 ± 0,2% [31] και πιθανότατα τα ποσοστά αυτά για τη δεκαετία 2007-2017 να είναι περισσότερο αυξημένα. Η Ελλάδα ουσιαστικά φαίνεται να κατέχει κυρίαρχη θέση στην παιδική παχυσαρκία, αφού αφενός βρίσκεται μεταξύ των χωρών με τα μεγαλύτερα ποσοστά παχυσαρκίας παγκοσμίως κι αφετέρου εξακολουθεί να έχει σημαντική αυξητική τάση στο πέρασμα των χρόνων.

5.1.5 ΑΙΤΙΑ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Όπως προαναφέρθηκε ο επιπολασμός της παιδικής παχυσαρκίας αυξάνεται σημαντικά με το πέρασμα των χρόνων, με τη ρίζα της αιτίας του εν λόγω φαινομένου να παραμένει άγνωστη. Έχουν συσχετισθεί γενετικοί, ενδοκρινικοί, νευρολογικοί, ιατρογενείς, περιβαλλοντικοί, ψυχοκοινωνικοί και διαιτητικοί παράγοντες [3,10].

Γενετικοί παράγοντες

Οι πρώτες μελέτες που συσχέτισαν την παχυσαρκία με την κληρονομικότητα και τη συμβολή των γενετικών παραγόντων στην προδιάθεση για παχυσαρκία βασίστηκαν στο ρόλο του γονότυπου και του φαινότυπου μεταξύ συγγενών (οικογένειες, δίδυμα αδέλφια, υιοθετημένα αδέλφια) [32]. Στις μελέτες οικογενειών υπολογίζεται ο κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας στα μέλη της οικογένειας συγκριτικά με τον κίνδυνο στον γενικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι ο κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας είναι αυξημένος κατά 2-6 φορές στα άτομα με θετικό οικογενειακό ιστορικό συγκριτικά με τον γενικό

πληθυσμό, με το ποσοστό κινδύνου να αυξάνεται μεταξύ πρώτου βαθμού συγγενών και όταν και οι δυο γονείς είναι παχύσαρκοι. Επίσης, ο κληρονομικός χαρακτήρας της παχυσαρκίας φάνηκε να κατέχει σαφώς μεγαλύτερα ποσοστά (>50%) σε μελέτες διδύμων συγκριτικά με μελέτες που έγιναν σε παιδιά από υιοθεσία (<30%) [33-38].

Καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του σωματικού βάρους έχει λεπτίνη, συμμετέχοντας σε ένα κύκλωμα ορμονών και νευρομεταβιβαστών που ρυθμίζουν την όρεξη. Έχουν αναγνωριστεί αρκετά σύνδρομα παχυσαρκίας στα οποία εμπλέκεται το μονοπάτι της λεπτίνης–μελανοκορτίνης [7, 8]. Αναλυτικότερα, ομόζυγες μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά σχετίζονται με τον υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό στην ανεπάρκεια της λεπτίνης [7], τις κόκκινες τρίχες και την υποκορτιζολαιμία στην ανεπάρκεια της προοπιομελανοκορτίνης [39], φαινότυποι οι οποίοι αποκλείουν τα γονίδια αυτά ως υποψήφια αίτια για την κοινή παχυσαρκία. Οι φορείς ετερόζυγων μεταλλάξεων παρουσιάζουν ελάχιστες διαφοροποιήσεις στο φαινότυπο. Σημαντική παχυσαρκία προκαλούν οι ετερόζυγες μεταλλάξεις στον υποδοχέα της προοπιομελανοκορτίνης και δε σχετίζονται με έναν ιδιαίτερο φαινότυπο [40]. Η ινσουλίνη παίζει κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο της ινσουλίνης σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης νήστεως και με την παιδική παχυσαρκία [11]. Ο χάρτης των γονιδίων που σχετίζονται με την παχυσαρκία είναι ήδη μεγάλος και συνεχώς επεκτείνεται, καθώς πολλά γονίδια και χρωμοσωμικές περιοχές σχετίζονται με την παχυσαρκία [6].

Η παχυσαρκία είναι επίσης χαρακτηριστικό αρκετών σπάνιων συνδρόμων (Εικόνα 2) που έχουν έναν ιδιαίτερο φαινότυπο, όπως τα σύνδρομα Prader-Willi και Bardet-Biedl [6].

Σύνδρομο	Κλινική εικόνα	Γονίδιο	Γονιδιακός τόπος
Αυτοσωμική επικρατής διαταραχή			
Prader-Willi syndrome	Κοντό ανάστημα, υποτονία, υπογοναδισμός, ψυχολογικά ελλείμματα	Άγνωστο	15q11.2-q12
Albright's hereditary osteodystrophy	Κοντό ανάστημα, ανωμαλίες σκελετικής διάπλασης	*GNAS1*	20q13.2
Fragile X syndrome	Νοητική υστέρηση, προβλήματα συμπεριφοράς, ιδιόμορφο προσωπείο, μακροορχιδισμός	*FMR1*	Xq27.3
Αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή			
Bardet-Biedl syndrome	Ψυχολογικά ελλείμματα, νεφρική δυσλειτουργία, δυστροφία του αμφιβληστροειδούς, υπογοναδισμός	*BBS1* *BBS2* *BBS4* *BBS6*	11q13 16q21 15q22 20p12
Alstrŏm syndrome	Δυστροφία του αμφιβληστροειδούς, νευροαισθητική κώφωση, ΣΔ	*ALMS1*	2p13
Cohen syndrome	Προέχοντες κεντρικοί κοπτήρες, οφθαλμοπάθεια, μικροκεφαλία	-	8q22
Φυλογενετική διαταραχή			
Borjeson-Forssman-Lehmann syndrome	Ψυχολογικά ελλείμματα, μεγάλοι λοβοί, υπογοναδισμό	*PHF6*	Xq26
Simpson-Golabi-Behmel, Type 2	Σκελετικές και κοιλιακές ανωμαλίες	-	Xp22
Wilson-Turner syndrome	Ψυχολογικά ελλείμματα, επιμήκη δάκτυλα, γυναικομαστία	-	Xp21.2

Εικόνα 2 : Σύνδρομα που συνοδεύονται από τον φαινότυπο της παχυσαρκίας. Προσαρμογή από Rao KR *et al*. 2014 [41].

Ενδοκρινικοί παράγοντες

Κεντρικού τύπου παχυσαρκία συνδυαστικά με κοντό ανάστημα μπορεί να προκληθεί από ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης (GH), θυρεοειδικής ορμόνης αλλά και από υπερβολική έκκριση κορτιζόλης [42]. Η ινσουλίνη και η λεπτίνη παράγονται στην περιφέρεια, κυκλοφορούν σε επίπεδα ανάλογα με τη σύσταση του σώματος σε λίπος και εισέρχονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα σε αναλογία με τα επίπεδά της στο πλάσμα [43]. Ο υπερινσουλινισμός και η σχετική αντίσταση στην ινσουλίνη και σχετίζονται με την παιδική παχυσαρκία [44]. Άλλωστε τα παχύσαρκα άτομα στην πλειονότητα τους χαρακτηρίζονται από αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης και λεπτίνης και παρουσιάζοντας επίσης αντίσταση στις ορμόνες αυτές [10]. Μια ακόμη-σπάνια βέβαια- αιτία παιδικής παχυσαρκίας είναι ο ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμός. Χαρακτηριστικά του γνωρίσματα είναι: αντίσταση στην παραθορμόνη (PTH), υπασβεστιαιμία, υπερφωσφαταιμία, κοντό ανάστημα, στρογγυλό πρόσωπο, κοντά μετακάρπια, αποτιτανώσεις στα βασικά γάγγλια και καθυστέρηση ανάπτυξης [10].

Από τα άνωθεν είναι σαφής η ανάγκη πραγματοποίησης πλήρη εργαστηριακού έλεγχου στα παχύσαρκα παιδιά ο οποίος θα περιλαμβάνει τη θυρεοειδική λειτουργία, το λιπιδαιμικό προφίλ, πλήρη βιοχημικό και ηπατικό έλεγχο, τη γλυκόζη και ινσουλίνη νήστεως. Σε παιδιά ηλικίας άνω των 10 ετών που είναι σε κίνδυνο, π.χ. έχουν ιστορικό ΣΔ2 ή μεταβολικού συνδρόμου, η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (OGTT) θα αποκλείσει τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη ή το ΣΔ2. Ο προσδιορισμός της κορτιζόλης στον ορό και τα ούρα ενίοτε κρίνεται απαραίτητος προκειμένου να διαφοροδιαγνωσθεί η παρουσία του συνδρόμου Cushing στα παχύσαρκα παιδιά που έχουν ανάλογο ιστορικό και ευρήματα από τη φυσική εξέταση [10].

Νευρολογικοί παράγοντες

Η παχυσαρκία δύναται να αποτελέσει μια σοβαρή επιπλοκή για τον παιδιατρικό πληθυσμό που έχει υποστεί μια σοβαρή εγκεφαλική βλάβη, όγκο στον εγκέφαλο και / ή ακτινοβολία. Παρατηρείται σημαντική αύξηση του βάρους στην πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο και μειωμένη φυσική δραστηριότητα η οποία μπορεί να οφείλεται στην ορμονική υποκατάσταση και στη μειωμένη λειτουργία του συμπαθητικού νευρικού συστήματος [45].

Ιατρογενείς παράγοντες

Παχυσαρκία κι ιδίως κεντρικού τύπου μπορεί να προκληθεί από χρόνια χορήγηση γλυκοκορτικοειδών σε υψηλές δόσεις οδηγώντας έτσι σε όλους τις επιπλοκές της εναπόθεσης λίπους σπλαχνικά. Η κυπροεπταδίνη, το βαλπροϊκό και τα προγεσταγόνα είναι επίσης φαρμακευτικές ουσίες που μπορεί να οδηγήσουν σε παιδική παχυσαρκία [10]. Η αγωγή με ορισμένα αντιψυχωτικά φάρμακα μπορεί να οδηγήσει σε ραγδαία αύξηση του σωματικού βάρους. Η επίπτωση του ΣΔ και της υπερλιπιδαιμίας στα άτομα με σχιζοφρένεια και συναισθηματικές διαταραχές είναι 1,5-2 φορές μεγαλύτερη από ότι στο γενικό πληθυσμό [46].

Ψυχοκοινωνικοί παράγοντες

Επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι το χαμηλό εισόδημα αλλά και επίπεδο εκπαίδευσης σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα παχυσαρκίας. Πιθανή αιτιολογία είναι η λιγότερη γνώση αλλά και μικρότερη πρόσβαση στη φροντίδα υγείας τα υγιεινά τρόφιμα και τις υπηρεσίες υγείας. Η επίπτωση της παχυσαρκίας είναι επίσης υψηλότερη σε εθνικές μειονότητες, η οποία μπορεί να αποδοθεί και στην άσχημη οικονομική κατάσταση που χαρακτηρίζει αυτές τις ομάδες [47].

Το φύλο αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα για το βαθμό επίδρασης της κοινωνικοοικονομικής κατάστασης και της εθνικότητας. Οι γυναίκες με χαμηλό οικονομικό εισόδημα τείνουν να γίνονται

ευκολότερα παχύσαρκες συγκριτικά με τους άντρες. Το αντίθετο ισχύει για τις γυναίκες που βρίσκονται σε καλή οικονομική κατάσταση. Σε γενικές γραμμές όμως οι γυναίκες έχουν μεγαλύτερη ροπή προς την παχυσαρκία συγκριτικά με τους άντρες [47].

Τα παιδιά που ασχολούνται με κάποιο σπορ/άθλημα έχουν μικρότερη πιθανότητα να γίνουν παχύσαρκα στην παιδική και εφηβική ηλικία [48]. Η καθιστική ζωή και μέσω της ενασχόλησης με την τηλεόραση, τα video games και γενικά το internet συμβάλλουν στη λήψη πολλαπλών ενδιάμεσων γευμάτων, πολύ συχνά μη υγιεινών snack. Στα μεγαλύτερα δε παιδιά και τους εφήβους έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ ωρών που παρακολουθούν τηλεόραση και της αύξησης του σωματικού βάρους [49].

Διαιτητικοί παράγοντες

Η διατροφή έχει έναν από τους σημαντικότερους ρόλους τόσο στην απόκτηση όσο και την πρόληψη κι αντιμετώπιση της παχυσαρκίας. Με το πέρασμα των χρόνων οι διατροφικές επιλογές παιδιών και εφήβων αλλάζουν καθοριστικά [50]. Οι διαιτητικοί παράγοντες που θέτουν τα παιδιά σε κίνδυνο για παχυσαρκία είναι η αυξημένη πρόσληψη λίπους και περίσσειας θερμίδων. Τα παχύσαρκα παιδιά έχουν την τάση να μην καταναλώνουν πρωινό γεύμα και να τρώνε μεγάλες ποσότητες φαγητού στο δείπνο [51]. Τα αναψυκτικά είναι πλούσια σε υδατάνθρακες, αυξάνουν κατά πολύ τις προσλαμβανόμενες θερμίδες ενώ συχνά αντικαθιστούν το γάλα στη διατροφή των εφήβων μειώνοντας έτσι και την πρόσληψη ασβεστίου [52]. Τα παιδιά που τρώνε συχνά σε fast food καταναλώνουν περισσότερες θερμίδες, περισσότερο λίπος, υδατάνθρακες, ζάχαρη και λιγότερες φυτικές ίνες, γάλα (ασβέστιο), φρούτα και λαχανικά συγκριτικά με παιδιά που καταναλώνουν σπιτικό φαγητό [50,53].

Φαίνεται ότι η διατροφή κατά τη νεογνική και βρεφική ηλικία σχετίζεται με την παιδική και εφηβική παχυσαρκία. Ιδιαίτερα ο μητρικός θηλασμός έχει σημαντική προστατευτική δράση [54,55].

5.2 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ- ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ

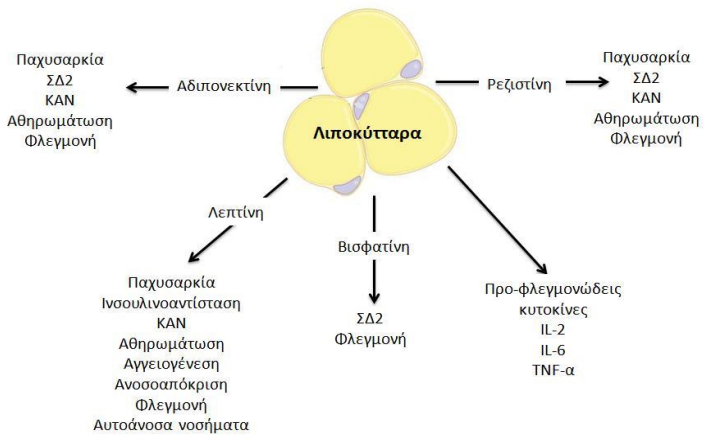
Υπάρχουν δύο είδη λιπώδους ιστού που χαρακτηρίζονται από τη δομή των κυττάρων τους. Ο μονόχωρος (λευκός) λιπώδης ιστός και ο πολύχωρος (ή φαιός) λιπώδης ιστός. Ο λευκός λιπώδης ιστός αποτελείται από κύτταρα τα οποία όταν είναι πλήρως ανεπτυγμένα περιέχουν στο κυτταρόπλασμά τους ένα μεγάλο, κεντρικό σταγονίδιο λίπους. Το χρώμα του μονόχωρου λιπώδους ιστού ποικίλλει από λευκό μέχρι βαθύ κίτρινο, ανάλογα με τη διατροφή του ατόμου και οφείλεται κυρίως στην παρουσία των καρωτενοειδών τα οποία είναι διαλυμένα μέσα στα σταγονίδια λίπους του κυττάρου. Ο άνθρωπος γεννιέται με φαιό λιπώδη ιστό κυρίως γύρω από το λαιμό και στα μεγάλα αγγεία του θώρακα και στη συνέχεια αντικαθίσταται από λευκό λιπώδη ιστό κατά την ενήλικη ζωή [56].

Ο λιπώδης ιστός λειτουργεί ως μονωτικό υλικό και αποθήκη ενέργειας. Το πλεόνασμα ενέργειας στην περίπτωση που υπάρχει αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη ή και μειωμένη δαπάνη ενέργειας, αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Όταν μειώνεται η πρόσληψη τροφής ή αυξάνεται η δαπάνη ενέργειας ελευθερώνονται τα αποθέματα λίπους [56].

Τα λιποκύτταρα μέσω των λιπασών διασπούν τα τριγλυκερίδια σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα. Αυτά μέσω του αίματος μεταφέρονται στο ήπαρ, τους μυς και το φαιό λιπώδη ιστό όπου γίνεται και η οξείδωσή τους. Η ρύθμιση των ελεύθερων λιπαρών οξέων γίνεται μέσω της επανεστεροποίησης των λιποκυττάρων. Επομένως, οι δυο βασικές λειτουργίες του λευκού λιπώδους ιστού είναι η αποθήκευση του πλεονάσματος ενέργειας με τη μορφή των τριγλυκεριδίων και η απελευθέρωσή της με τη μορφή των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Ο φαιός λιπώδης ιστός αποθηκεύει τα τριγλυκερίδια στα λιποκύτταρα και προσφέρει άμεσα ενέργεια για την παραγωγή θερμότητας [56]. Ο λιπώδης ιστός δρα και ως μεταβολικό όργανο μέσω της λιπογένεσης και της λιπόλυσης [57]. Ακριβέστερα οι διεργασίες αυτές ρυθμίζονται από ποικίλους παράγοντες σημαντικότεροι εκ των οποίων είναι η ινσουλίνη, η κορτιζόλη, οι κατεχολαμίνες, η τεστοστερόνη, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και οι κυτταροκίνες [58].

Τα λιποκύτταρα έχοντας τον πλήρη μηχανισμό πρόσληψης και αποδόμησης της γλυκόζης συμμετέχουν ενεργά και άμεσα στο μεταβολισμό αυτής. Δεδομένου ότι η απελευθέρωση των λιπαρών οξέων και η έκκριση των κυτταροκινών μπορεί να επηρεάσουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης από άλλους ιστούς, συμμετέχουν και έμμεσα στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι η βασικότερη ορμόνη που επηρεάζει την πρόσληψη της γλυκόζης από το λιποκύτταρο είναι η ινσουλίνη. Στην περίπτωση αυξημένων ελέυθερων λιπαρών οξέων προκαλείται υπεργλυκαιμία, ινσουλινοαντίσταση στους σκελετικούς μύες, με αποτέλεσμα την αύξηση της ινσουλίνης στην κυκλοφορία και υπερινσουλιναιμία στην περιφέρεια [59].

5.2.1 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ ΩΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΕΣ ΟΡΓΑΝΟ



Εικόνα 3 : Ρόλος λιποκυττάρων

Αποτελεί κοινή γνώση των τελευταίων χρόνων η παραδοχή ότι η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από μία κατάσταση χρόνιας υποκείμενης φλεγμονής [60]. Αυτή η θεωρία βασίζεται στα αυξημένα επίπεδα δεικτών φλεγμονής στο αίμα παχύσαρκων (όπως TNF-α, λεπτίνη, αδιπονεκτίνη, ρεζιστίνη, βισφατίνη, ιντερλευκίνες) (Εικόνα 3). Από τη μελέτη των ανωτέρω παραγόντων τόσο από γονιδιακής όσο και μοριακής άποψης, γίνεται ολοένα και πιο σαφές ότι η φλεγμονώδης κατάσταση αποτελεί μέρος των αιτίων για την ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και άλλων διαταραχών σχετιζόμενων με την παχυσαρκία, όπως η δυσλιπιδιαιμία και το μεταβολικό σύνδρομο [61,62]. Ανεξάρτητα, από την εργαστηριακή διερεύνηση της σχέσης παχυσαρκίας-φλεγμονής, το κεντρικό ερώτημα που παραμένει αφορά στη ρίζα του προβλήματος αυτού. Έτσι λοιπόν προέκυψαν τέσσερις θεωρίες: 1) παραγωγή-απελευθέρωση φλεγμονωδών μορίων από όργανα πέραν του λιπώδους ιστού (πχ. Ήπαρ, κύτταρα του ανοσοποιητικού), 2) έκκριση παραγόντων που διεγείρουν την παραγωγή φλεγμονωδών δεικτών από το λευκό λιπώδη ιστό 3) πηγή παραγωγής και έκκρισης των περισσοτέρων δεικτών φλεγμονής, των οποίων τα υψηλά επίπεδα υποδεικνύουν μαζική παραγωγή από τη μεγάλη σε έκταση μάζα λευκού λιπώδους ιστού, αποτελούν τα ίδια τα λιποκύτταρα 4) συνδυασμός των παραπάνω [63].

Ουσιαστικά οι ουσίες που παράγονται από τα λιποκύτταρα, ιδιαίτερα από το λευκό λιπώδη ιστό, δρουν σε πολλά βιολογικά συστήματα, στην ομοιόσταση, το ανοσοποιητικό σύστημα, την αναπαραγωγική λειτουργία, την αιμόσταση, την αρτηριακή πίεση και την αγγειογένεση. Μερικές από αυτές τις δράσεις υπογραμμίζουν το σύνδεσμο μεταξύ παχυσαρκίας και των σχετιζόμενων παθολογικών καταστάσεων, όπως αντίσταση στην ινσουλίνη, υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, ΣΔ2 και στεφανιαία νόσο.

Παράγοντες που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό
Μεταβολισμός λιπιδίων Λιποπρωτεϊνική λιπάση, ελεύθερα λιπαρά οξέα, γλυκερόλη, απολιποπρωτεΐνη Ε
Στεροειδικές ορμόνες Οιστρόνη, οιστραδιόλη, τεστοστερόνη
Αυξητικοί παράγοντες και κυτταροκίνες IGF-I, NGF (Nerve Growth Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), λεπτίνη, TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α), ιντερλευκίνη-1β, ιντερλευκίνη-6
Αγγειοδραστικοί παράγοντες Μονοβουτυρίνη, αγγειοτενσινογόνο, αγγειοτενσίνη ΙΙ, κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο
Εικοσανοειδή Προσταγλανδίνη Ε2, προσταγλανδίνη F2a, προστακυκλίνη
Συμπλήρωμα Παράγοντες B, C, C3, C1q, D
Δεσμευτικές πρωτεΐνες Δεσμευτική πρωτεΐνη ρετινόλης, IGF-BPs (Insulin-like Growth Factor-Binding Proteins), sTNFRs (soluble Tumor Necrosis Factor Receptors)
Πρωτεΐνες εξωκυττάριας ουσίας MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1)
Άλλοι Αδιπονεκτίνη, ρεζιστίνη, απτοσφαιρίνη, μεταλλοθειονίνη, apelin, omentin, visfatin / PBEF (Pre-B-cell colony-Enhancing Factor), PAI1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1), LPA (Lysophosphatidic Acid)

5.2.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Η αύξηση του μεγέθους των λιποκύτταρων (υπερτροφία) όπως και η αύξηση του αριθμού των λιποκύτταρων (υπερπλασία) οδηγεί σε αύξηση του λιπώδους ιστού.

Βιβλιογραφικά αναφέρεται τα λιποκύτταρα μπορεί να φτάσουν έναν ορισμένο όγκο, ο οποίος είναι γενετικά προσδιορισμένος και ειδικός για κάθε αποθήκη λιπώδους ιστού [64]. Η κατανομή του λιπώδους ιστού ανά ανατομική περιοχή, συμβάλλει στη νοσηρότητα που ακολουθεί την παχυσαρκία. Όπως προαναφέρθηκε η κεντρικού τύπου παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΣΔ2, ΑΥ, δυσλιπιδαιμίας και ΚΑΝ. Αντιθέτα, η μεγάλη αποθήκευση λίπους στην περιφέρεια φαίνεται να μην έχει σημαντικές μεταβολικές συνέπειες [61,65-66].

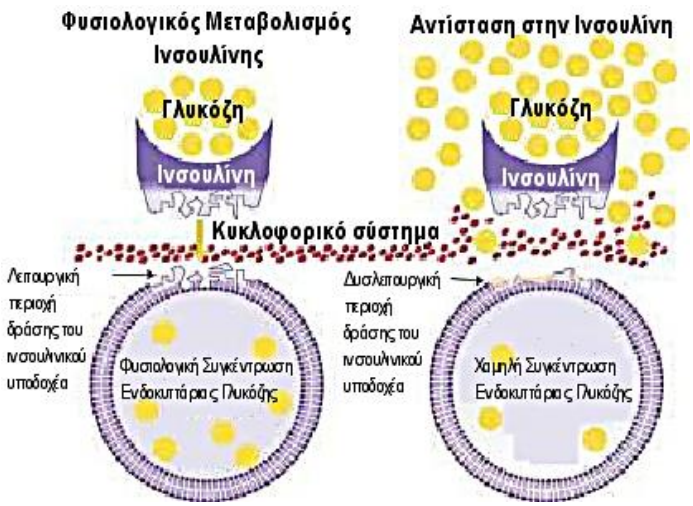
Στον παιδιατρικό πληθυσμό τα λιποκύτταρα, βαθμιαία, αυξάνουν τόσο σε αριθμό όσο και σε όγκο. Η εντατική εναπόθεση λίπους ιδιαίτερα πριν την ηλικία των έξι ετών οδηγεί σε υπερβολικό αριθμό λιποκυττάρων. Το γεγονός αυτό καλείται «πρώιμη εναπόθεση» και συνδέεται με τον κίνδυνο επιμονής της παχυσαρκίας έως και την ενήλικο ζωή [67].

5.3 ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η ινσουλίνη εκκρίνεται από τα β παγκρεατικά κύτταρα μέσα σε λίγα λεπτά από την αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα. Με την αύξηση της γλυκόζης υπάρχει και αύξηση της ινσουλίνης προκειμένου να γίνει η μεταφορά της γλυκόζης μέσα στο κύτταρο, εφόσον η γλυκόζη είναι η κύρια πηγή ενέργειας του οργανισμού. Η γλυκόζη θέλει αρκετό χρόνο να επανέλθει στα φυσιολογικά επίπεδα παρουσία της υπερινσουλιναιμίας. Αν και χρειάζεται 15 λεπτά για να παρατηρήσουμε τη μέγιστη συγκέντρωση της γλυκόζης, χρειαζόμαστε 45 λεπτά για να επιτευχθεί ευγλυκαιμία [68]. Η ινσουλίνη συνεχίζει να δρα για κάποιο χρόνο αφού η συγκέντρωση της γλυκόζης είναι στα φυσιολογικά επίπεδα [69].

5.3.1 ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι μια κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από τη μειωμένη ικανότητα αυτής, να προκαλεί τη χρήση γλυκόζης από τους μυς και το λιπώδη ιστό και να καταστέλει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης [70]. Επιπρόσθετα, παρουσιάζεται αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών και των λιπιδίων, τη λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και τη γονιδιακή έκφραση [71]. Η αντίσταση στην ινσουλίνη έχει σχετιστεί με ποικίλες πιθανές διαταραχές στον καταρράκτη μετάδοσης σήματος της ινσουλίνης. Αναλυτικότερα, μειωμένη σύνθεση ή αυξημένη αποικοδόμηση των στοιχείων του συστήματος, αυξημένη ανασταλτική φωσφορυλίωση της σερίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης ή των υποστρωμάτων της ινσουλίνης, αλληλεπίδραση των στοιχείων του συστήματος με ανασταλτικές πρωτεΐνες ή μεταβολή της αναλογίας των πρωτεϊνών του καταρράκτη των αντιδράσεων [70-73]. Έχουν αναφερθεί πάνω από 50 διαφορετικές μεταλλάξεις στον υποδοχέα της ινσουλίνης. Στην αιτιολογία της αντίστασης στην ινσουλίνη εμπλέκονται βέβαια τόσο γενετικοί και όσο περιβαλλοντικοί παράγοντες [70,73].



Εικόνα 4 : Μεταβολισμός ινσουλίνης

5.3.2 ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2 (ΣΔ2) ΣΕ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Η μέση ηλικία εμφάνισης του ΣΔ2 είναι τα 13 περίπου έτη [74, 75]. Ο παιδικός ΣΔ2 άρχισε να εμφανίζεται πιο έντονα από τα μέσα του 1990. Τα τελευταία ιδίως χρόνια η επίπτωση του ΣΔ2 έχει σημαντικά αποτελέσματα λόγω της επίσης αυξημένης επίπτωσης της παχυσαρκίας (το 25-45% των περιπτώσεων παιδικού είναι ΣΔ είναι τύπου 2) [75,76].

Στο ΣΔ2, η υπεργλυκαιμία είναι συνέπεια της αντίστασης στην ινσουλίνη και της β-κυτταρικής δυσλειτουργίας. Η περιφερική αντίσταση στην ινσουλίνη εμφανίζεται στα πρώτα στάδια της νόσου και αρχικά αντισταθμίζεται από την υπερινσουλιναιμία. Ωστόσο, η υπεργλυκαιμία έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη έκκριση ινσουλίνης. Ο ΣΔ2 έχει μια πολυπαραγοντική αιτιολογία: γενετικό υπόβαθρο, παχυσαρκία σχετιζόμενη με τον τρόπο ζωής, υπερθερμιδική διατροφή, μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Ο ΣΔ2 στα παιδιά χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη καθώς και λοιπά χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου (ΑΥ, υπερλιπιδαιμία, acanthosis nigricans, λιπώδης διήθησης ήπατος, πολυκυστικές ωθήκες) [77,78]. Γενικότερα, υποστηρίζεται ότι παιδιά με ΣΔ2 είναι πολύ πιθανό να έχουν σοβαρές επιπλοκές στην υγεία τους κατά την ενηλικίωση τους και μάλιστα από νωρίς, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο μείωσης του προσδόκιμου ζωής. Αξίζει βέβαια να επισημανθεί οι μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές ξεκινούν ήδη από την παιδική ήδη ηλικία [78].

5.3.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΟΧΗΣ ΣΤΗ ΓΛΥΚΟΖΗ (OGTT)

Κατά την OGTT χορηγείται στο άτομο 1,75 gr γλυκόζης/kg βάρος σώματος, με μέγιστη δόση 75 gr, στο χρόνο 0΄ και γίνεται αιμοληψία για τη μέτρηση της γλυκόζης αίματος στους χρόνους 0΄, 30΄ 60΄, 90΄, και 120΄.

Σύμφωνα με τις τελευταίες οδηγίες της Αμερικάνικης Διαβητολογικής Εταιρείας (American Diabetes Association) τα αποτελέσματα της OGTT διερμηνεύονται ως εξής [79].

1) Φυσιολογική απάντηση στην OGTT: όταν η γλυκόζη αίματος είναι
<100 mg/dl στο χρόνο 0΄ και <140 mg/dl στο χρόνο 120΄

2) Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη: όταν η γλυκόζη αίματος είναι 100- 125 mg/dl στο χρόνο 0΄ και 141 - 200 mg/dl στον χρόνο 120΄

3) ΣΔ2: όταν η γλυκόζη αίματος είναι >125 mg/dl στο χρόνο 0΄ και >200 mg/dl στο χρόνο 120΄

Η δοκιμασία OGTT είναι χρήσιμο να πραγματοποιείται στις κάτωθι περιπτώσεις [80]:

Ψηλό ανάστημα

Σε ένα ιδιαίτερα ψηλό, με ταχύ ρυθμό ανάπτυξης παιδί είναι καλό να πραγματοποιείται η OGTT ώστε να εκτιμηθεί η πιθανότητα υποφυσιακού γιγαντισμού. Σε μία τέτοια κατάσταση η έκκριση της αυξητικής ορμόνης είναι αυξημένη και δεν καταστέλλεται από τη φόρτιση με ρο γλυκόζη [81].

Υπογλυκαιμία

Το πάγκρεας παράγει την ινσουλίνη ως απάντηση στη γλυκόζη. Η υπογλυκαιμία είναι μια συνθήκη που δύναται να προκληθεί κατά τη μη φυσιολογική ρύθμιση της έκκρισης ινσουλίνης. Ουσιαστικά παρατηρείται υπερβολική έκκριση ινσουλίνης, ως απάντηση στη φόρτιση με γλυκόζη, και αδυναμία διακοπής έκκρισής της, παρά την επάνοδο της συγκέντρωσης της γλυκόζης στα φυσιολογικά επίπεδα επάγοντας έτσι την υπογλυκαιμία.

Αντίσταση στην ινσουλίνη

Υπάρχουν καταστάσεις κατά την παιδική ηλικία όπως παχυσαρκία, μελανίζουσα ακάνθωση (acanthosis nigricans), σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, ελαττωματικός υποδοχέας της ινσουλίνης, ΣΔ MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) στις οποίες είναι επίσης χρήσιμη η εκτίμηση της αντίστασης στην ινσουλίνη και συνεπώς η πραγματοποίηση OGTT.

5.4 ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι πολυλειτουργικά, πεπλατυσμένα επιθηλιακά κύτταρα με υψηλή εξειδίκευση, τα οποία έρχονται σε επαφή με το αίμα. Συγκεκριμένα, σχηματίζουν μια μονή απλή στοιβάδα (ενδοθήλιο) που καλύπτει ολόκληρο το αγγειακό σύστημα και διαχωρίζει τα στοιχεία του αίματος από τους υπόλοιπους αγγειακούς ιστούς. Στις λειτουργίες του βασίζονται τόσο η δομική ακεραιότητα όσο και η μεταβολική δραστηριότητα ολόκληρου του αγγειακού τοιχώματος, ενώ σπουδαίος

είναι και ο ρόλος του στη διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού. Πρόκειται για ένα μακρομοριακό φραγμό, όπου οι μεσοκυττάριες συνάψεις και τα στοιχεία των μεμβρανών των κυττάρων (πρωτεΐνες πρόσδεσης, ηλεκτρικό φορτίο) καθορίζουν την ακεραιότητα και διαπερατότητα του [82-85].

5.4.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται συνοπτικά οι λειτουργίες του ενδοθηλίου [85-93].

Αγγειακός τόνος	
Μονοξείδιο του αζώτου (NO)	Αγγειοδιαστολή
Εικοσανοειδή (PGI2, LT, TX)	Αγγειοδιαστολή
Ενδοθηλιακός υπερπολωτικός παράγοντας (EDHF)	Αγγειοδιαστολή
Ενδοθηλίνες (ET-1)	Αγγειοσύσπαση
Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης	Αγγειοσύσπαση Διέγερση του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων
Ανιόντα υπεροξειδίου	Αγγειοσύσπαση
Πήξη και ινωδόλυση	
Μονοξείδιο του αζώτου (NO)	Αναστολή της συσσώρευσης αιμοπεταλίων
Εικοσανοειδή (PG, PGI2, LT, TX)	Αναστολή της συσσώρευσης αιμοπεταλίων
Θρομβομοντουλίνη	Δέσμευση της θρομβίνης Ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C Αντιθρομβωτική δράση
Ιστικός παράγοντας (TF)	Θρομβωτική δράση
Αναστολέας του ιστικού παράγοντα (TFPI)	Αναστολή της δράσης του ιστικού παράγοντα
Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA)	Μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη Ινωδολυτική δράση
Παράγοντας Von Willebrand (vWF)	Συγκόλληση αιμοπεταλίων Θρομβωτική δράση
Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)	Αναστολή του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator-tPA)

	Αναστολή της ινωδόλυσης
Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)	Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων Θρομβωτική δράση
Ανοσοβιολογική αντίδραση/ απόκριση στη φλεγμονή	
Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS)	Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου
TNFa	Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου
Ιντερλευκίνες (ILs)	Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου
Δομή του ενδοθηλίου και διαπερατότητα	
Μονοξείδιο του αζώτου (NO)	Διέγερση του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων
Σελεκτίνες (P-Selectin, E-Selectin)	Μόρια προσκόλλησης Ενεργοποίηση λευκοκυττάρων Πρόσφυση και μετανάστευση στον υπενδοθηλιακό χώρο
Ενδοθηλίνες (ET-1)	Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
Αγγειοτενσίνη (A-II)	Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
Ιντερλευκίνη 1β (IL-1β)	Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
Πρωτεινική κινάση C (PKC)	Φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών σύνδεσης Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H2O2)	Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
Βραδυκινίνη (BK)	Αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου

Αναλυτικότερα, το NO είναι ο βασικότερος αγγειοδιασταλτικός παράγοντας καθώς σε αυτό οφείλεται η ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων [85]. Η ενεργοποίηση της σύνθεσης NO εξαρτάται από φυσικά ερεθίσματα όπως το stress αιματικής ροής (shear stress) [86]. Στη διαδικασία παραγωγής NO φαίνεται να συμβάλλει η φυσική δραστηριότητα, ορμόνες και παράγοντες όπως ακετυλοχολίνη, βασοπρεσίνη, οιστρογόνα, βραδυκινίνη, ισταμίνη, σεροτονίνη και θρομβίνη [65, 87,94]. Τον αντίθετο ρόλο φαίνεται πως κατέχει η καθιστική ζωή, το κάπνισμα, ο ΣΔ, η δυσλιπιδαιμία καθώς και παράγοντες φλεγμονής (κυτοκίνες, ILs, TNF) [87,88]. Πρακτικά οι διαταραχές σύνθεσης NO επηρεάζουν δύναται να οδηγήσουν σε αθηρωμάτωση, αρτηριακή ΑΥ, ισχαιμία [88,95].

Από τους αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες το βασικότερο ρόλο έχει η η ET-1, δηλαδή μια εκ των τριών δομικά συσχετιζόμενων πολυπεπτιδίων της οικογένειας των ενδοθηλιών [90]. Τα επίπεδα μάλιστα αυτής στο αίμα συσχετίζονται με το βαθμό της αθηροσκλήρυνσης [89].

Καθοριστικό ρόλο ρύθμισης της πητκικότητας και αναστολής δημιουργίας θρόμβων παίζει ο αναστολέας του ιστικού παράγοντα TFPI. Εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αναστέλλοντας τον παράγοντα Xa, ο οποίος φυσιολογικά καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Αυτό εξηγεί και την ικανότητα του ενδοθηλίου να αναστέλλει το σχηματισμό θρόμβων. Άλλοι αντιπηκτικοί μηχανισμοί αφορούν μόρια όπως οι πρωτεΐνες C και S, οι παράγοντες VIIIa και Va και η αντιθρομβίνη III [91].

Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί την έκφραση υποδοχέων στους οποίους οφείλεται είσοδος και κυκλοφορία λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, προκαλούν παράγοντες όπως ιντερφερόνη γ-IFN-γ, ILs, TNFa, λιποπολυσακχαρίτες-LPS, οι οποίοι ουσιαστικά εμπλέκονται στη διαδικασία της φλεγμονής [93]. Αυτοί οι υποδοχείς λέγονται μόρια προσκόλλησης (cell adhesion molecules-CAMs) και ανήκουν σε τρεις οικογένειες: τις σελεκτίνες, τις ιντεγκρίνες και τις ανοσοσφαιρίνες. Η είσοδος των λευκοκυττάρων στα σημεία της φλεγμονής γίνεται σταδιακά. Στάδιο I: οι σελεκτίνες διευκολύνουν την κυτταρική επαφή των λευκοκυττάρων με την επιφάνεια του ενδοθηλίου. (L-selectin εντοπίζεται στα περισσότερα είδη λευκοκυτάρων, E-selectin στα ενδοθηλιακά κύτταρα και P-selectin στο ενδοθήλιο και τα αιμοπετάλια). Στάδιο II: οι κυτοκίνες και ιντεγκρίνες λειτουργούν ως μόρια προσκόλλησης. Στάδιο III: πραγματοποιείται η διείσδυση των λευκοκυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο μέσω του μορίου προσκόλλησης αιμοπεταλίου/ενδοθηλίου (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1) [89,92]. Συνοπτικά φαίνεται ότι το ενδοθήλιο έχει ζωτικής σημασίας ρόλο και στη φλεγμονώδη απάντηση και κατ' επέκταση στη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας [92].

5.4.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία οφείλεται στην διαταραγμένη ισορροπία μεταξύ των λειτουργιών του ενδοθηλίου. Παράγοντες κινδύνου όπως η ΑΥ, ο ΣΔ και η δυσλιπιδαιμία μπορούν να προκαλέσουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, η οποία πολύ συχνά σχετίζεται με την αθηρωμάτωση. Η απώλεια των προστατευτικών λειτουργιών του ενδοθηλίου σχετίζεται θετικά με το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή. Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ο TNF-α απελευθερώνονται από το ενδοθήλιο και αυξάνουν επιπρόσθετα τον αγγειακό κίνδυνο.

5.4.3 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Ο λιπώδης ιστός εκτός από αποθήκη ενέργειας, έχει ουσιαστικό ρόλο και στη ρύθμιση του μεταβολισμού. Λόγω της ποικιλομορφίας των αδιποκυτοκινών, υπάρχουν: πρωτεΐνες σχετιζόμενες με το ανοσοποιητικό σύστημα (TNF-α, IL-6), με παράγοντες ανάπτυξης (transforming growth factor-β, TGF-β), άλλες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (αγγειοτενσινογόνο), της πήξης του αίματος (PAI-1), της ομοιόστασης της γλυκόζης (αδιπονεκτίνη, ρεζιστίνη, βισφατίνη, λεπτίνη) και της αγγειογένεσης (vascular endothelial growth factor - VEGF) [96-99]. Σημαντικός κι ο ρόλος της αδιπονεκτίνης αφού έχει αντιφλεγμονώδη δράση και συμβάλλει στη ρύθμιση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη[96, 100, 101]. Οι

παραπάνω παράγοντες συνδυαστικά καθιστούν το λιπώδη ιστό ως ένα όργανο που διαδραματίζει ενεργό ρόλο στην ενεργειακή ομοιόσταση του οργανισμού.

5.4.4 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΔ

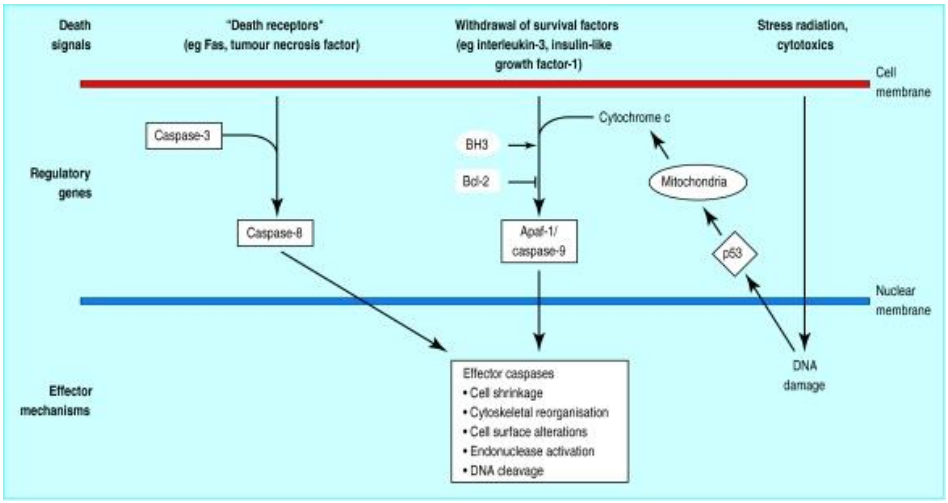
Τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced glycation end products - AGEs) αποτελούν αγγειακή επιπλοκή που οφείλεται στο ΣΔ. Η υπεργλυκαιμία δύναται να προκαλέσει μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των ενδο- και εξωκυτταρικών πρωτεϊνών με αποτέλεσμα τη βλάβη των ιστών [102]. Τα AGEs παράγονται ως αποτέλεσμα χρόνιας υπεργλυκαιμίας και ενισχυμένου οξειδωτικού στρες [103]. Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, διέγερση της κυτταρικής προσκόλλησης και μετανάστευση των μακροφάγων και των Τ-κυττάρων στον εσωτερικό χιτώνα των αγγείων μπορεί να προκληθεί από την πρόσδεση των AGEs στους υποδοχείς για τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης- RAGEs [104-106]. Τα AGEs οδηγούν στη μείωση του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με επακόλουθο τη μείωση της NO-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [107]. Αυτές οι βιολογικές επιδράσεις μεταφράζονται σε επιταχυνόμενο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας με επακόλουθες τις γνωστές δυσμενείς επιδράσεις στην καρδιακή λειτουργία [108].

5.5 ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, ο χρόνος επιβίωσής τους καθώς και ο θάνατός τους, καθορίζουν το μορφογενετικό πρότυπο κάθε οργανισμού. Ο αριθμός αυτός είναι σημαντικός για κάθε οργανισμό και γι' αυτό υπόκειται σε αυστηρούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Υπάρχουν δύο τρόποι με τους οποίους τα κύτταρα μπορούν να οδηγηθούν σε θάνατο: (α) είτε καταστρέφονται από επιβλαβείς ουσίες οπότε η διαδικασία αυτή ονομάζεται νέκρωση ή (β) οδηγούνται σε αυτοκτονία- τον προκαθορισμένο κυτταρικό θάνατο ή απόπτωση.

Με τον όρο απόπτωση γίνεται ουσιαστικά αναφορά στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο ο οποίος φαίνεται να ρυθμίζεται βάσει του γενετικού υποβάθρου. Τα στάδια της απόπτωσης μπορούν να θεωρηθούν: η έναρξη, η γενετική ρύθμιση και οι μηχανισμοί τελεστή. Οι εκκινητές της απόπτωσης περιλαμβάνουν αντικαρκινικά φάρμακα, ακτινοβολία γάμμα και υπεριώδη, μειωμένη ιντερλευκίνη-1 και διάφορες άλλες κυτοκίνες οι οποίες ενεργοποιούν τους "υποδοχείς θανάτου" όπως η Fas [110].

Η οικογένεια γονιδίων bcl-2 είναι η καλύτερα μελετημένη και περιλαμβάνει τουλάχιστον 20 μέλη. Μερικά είναι προ-αποπτωτικά ή "γονίδια θανάτου" και μερικά είναι αντι-αποπτωτικά ή "γονίδια επιβίωσης". Το γονίδιο καταστολής όγκου p53 είναι επίσης ένας αποπτωτικός παράγοντας (Εικόνα 5). Οι κύριοι τελεστές του είναι μια οικογένεια πρωτεασών που ονομάζονται κασπάσες [110].



Εικόνα 5 : Διαδικασία της απόπτωσης

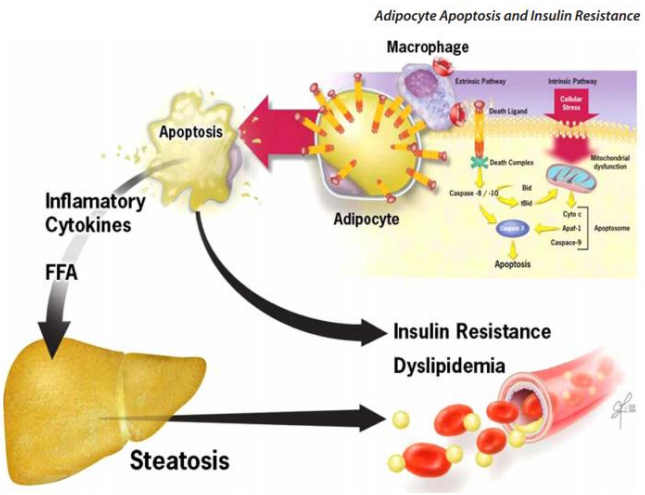
Η απόπτωση είναι μια φυσιολογική διαδικασία, αναγκαία για την ανάπτυξη των οργάνων, την ομοιόσταση των ιστών και την απομάκρυνση των ελαττωματικών ή πιθανά βλαβερών κυττάρων στους πολυκύτταρους οργανισμούς [109]. Η έννοια της απόπτωσης ξεκινά κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ανάπτυξης. Βοηθά στο σχηματισμό της μορφής του οργάνου και στην εξάλειψη των διχρωμικών ιστών των δακτύλων και των ποδιών. Οι αποπτωτικοί μηχανισμοί αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες σχετικά με την ύπαρξη ανωμαλιών στα έμβρυα. Τόσο το νευρικό όσο και το ανοσοποιητικό σύστημα προκύπτουν από την υπερπαραγωγή των κυττάρων εκείνων που δεν οδηγούνται σε αποπτωτικό θάνατο λόγω της μη δημιουργίας λειτουργικών συναπτικών συνδέσεων ή παραγωγικών αντιγονικών εξειδικεύσεων [110]. Η «αλτρουιστική» συμπεριφορά των κυττάρων δημιουργεί, στον οργανισμό, ένα αυστηρά ρυθμισμένο ομοιοστατικό σύστημα. Στην ενήλικη ζωή, περίπου 10 δισεκατομμύρια κύτταρα πεθαίνουν κάθε μέρα με σκοπό να διατηρήσουν την ισορροπία στον αριθμό των νέων κυττάρων που προέρχονται από τα βλαστοκύτταρα. Αυτό το ομοιοστατικό σύστημα δεν αποτελεί μια παθητική διαδικασία αλλά μια ενεργητική που ρυθμίζεται μέσω της απόπτωσης [110] .

Ποικίλες βέβαια είναι και οι ασθένειες που σχετίζονται με την αλλοιωμένη κυτταρική επιβίωση [138]. Συγκεκριμένα η διαδικασία της απόπτωσης είναι αυξημένη στις ακόλουθες καταστάσεις: AIDS, νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Alzheimer, Parkinson), ισχαιμική βλάβη μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Μειωμένη ή ανασταλτική απόπτωση είναι χαρακτηριστικό πολλών κακοηθειών, αυτοάνοσων διαταραχών (συστηματικός ερυθηματώδης λύκος) και ορισμένες ιογενείς λοιμώξεις [139].

5.5.1 ΑΠΟΠΤΩΣΗ-ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ-ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗ

Όπως προαναφέρθηκε βασική τομή παχυσαρκίας και μεταβολικής δυσλειτουργίας αποτελεί μια κατάσταση χαμηλού βαθμού χρόνιας φλεγμονής [63]. Ένας σημαντικός εκκινητής αυτής της

φλεγμονώδους απόκρισης είναι ο λιπώδης ιστός, εκκρίνοντας ενεργά κυτοκίνες, αδιποκίνες και λιπαρά οξέα. Τα μακροφάγα, που διεισδύουν στον λιπώδη ιστό των παχύσαρκων, αποτελούν μείζονα πηγή για ορισμένα από αυτά τα προϊόντα, ειδικά για προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως TNF- και IL-6. Τα μακροφάγα του λιπώδους ιστού έχουν προταθεί ως σύνδεσμος μεταξύ της παχυσαρκίας και της αντίστασης στην ινσουλίνη.



Εικόνα 6 : Απόπτωση και Διαβήτης

Η ανικανότητα να επεκταθεί κατάλληλα ο λιπώδης ιστός μπορεί να είναι ένας βασικός μηχανισμός υπεύθυνος για την ανάπτυξη της φλεγμονής και της αντίστασης στην ινσουλίνη [140]. Η αυξημένη παραγωγή και απελευθέρωση ορισμένων χημειοκινών από υπερτροφικά λιποκύτταρα πιθανώς ως αποτέλεσμα της τοπικής υποξίας σε μια αναπτυσσόμενη κοιλότητα λιπώδους ιστού παίζει επίσης ρόλο. Επιπρόσθετα, τα κύτταρα που πεθαίνουν ενδέχεται να εμφανίζουν σήματα έλξης για να προκαλέσουν τη μετανάστευση φαγοκυττάρων στη θέση του κυτταρικού θανάτου [141]. Πρόσφατες μελέτες έχουν αναφέρει την παρουσία δομών τύπου «στεφάνης» σε λιπώδη ιστό παχύσαρκων ποντικών και ανθρώπων που σχηματίζονται από συστάδες μακροφάγων που περιβάλλουν τα μορφολογικά εμφανιζόμενα ως «νεκρωτικά» λιποκύτταρα [142]. Ωστόσο, παραμένει ασαφές αν ο θάνατος των λιποκυττάρων είναι ένα καθυστερημένο γεγονός και μια συνέπεια της φλεγμονής ή μια διαδικασία που μπορεί πραγματικά να ξεκίνησε την πρόσληψη μακροφάγων στο λιπώδη ιστό. Ομοίως άγνωστα παραμένουν, τα μοριακά συμβάντα σηματοδότησης που οδήγούν στον θάνατο των λιποκυττάρων [143].

5.5.2 ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΣΔ2

Μέσω πειραματικών διαδικασιών έχει υποδειχθεί ότι ο όγκος των κυττάρων μειώνεται σε ασθενείς με ΣΔ2, ενώ από σύγκριση των παγκρεατικών ιστών διαβητικών ασθενών και μη φάνηκε ότι οι πρώτοι υπερτερούν σημαντικά στα ποσοστά απόπτωσης των διαβητικών νησίδων. Σε διαγονιδιακά μοντέλα διαβητικών ζώων που εκφράζουν νησίδες ποπυπεπτίδιου αμυλοειδούς παρατηρήθηκαν συνήθη τα χαρακτηριστικά της

απόπτωσης με ταυτόχρονη μείωση της μάζας των κυττάρων. Παρομοίως, αναφέρθηκε αυξημένη δραστικότητα των κασπασών-3 και -8 εντός των κυττάρων, ενισχύοντας έτσι τη σχέση μεταξύ απόπτωσης και απώλειας του κυττάρου στο ΣΔ2 [120].

Συνοπτικά για τη σχέση απόπτωσης και ΣΔ2 έχουν διαπιστωθεί τα κάτωθι: (i) η μάζα των κυττάρων μπορεί να αυξηθεί κατά τη διάρκεια της αντίστασης στην ινσουλίνη, δεδομένο που αποτελεί μια κατάσταση αντιστάθμισης, (ii) υπάρχει σαφέστατα απώλεια κυττάρων (iii) το έλλειμμα κυττάρων συσχετίζεται με το επίπεδο εξασθένησης της ανοχής στη γλυκόζη (40% περίπου στην κατάσταση δυσανεξίας στη γλυκόζη και 60% περίπου σε ασθενείς με ΣΔ2), (iv) Ο θάνατος των κυττάρων μπορεί να οδηγήσει άμεσα σε ανεπάρκεια ινσουλίνης. Φαίνεται ότι η απώλεια 60%- ή περισσότερο -κυττάρων προκαλεί εκδηλώσεις διαβήτη, ιδιαίτερα αν υπάρχει αντοχής στην ινσουλίνη [120].

5.5.3 APO1 / Fas

Η APO1/Fas (CD95) είναι μια γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη επιφανείας (48 kDa) κι ανήκει στην υπεροικογένεια του υποδοχέα TNF/NGF. Η APO1 εκφράζεται σε μια ποικιλία ανθρώπινων Β και Τ κυτταρικών σειρών, σε πολλά διαφορετικά ογκοκύτταρα και σε διάφορους φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς. Η πυροδότηση της APO1 με συνδέτη της ή με κάποιο από τα αντι-APO1 μονοκλωνικά αντισώματα οδηγεί σε ταχεία επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα με αυξημένη ευαισθησία. Στις αποπτωτικές επιδράσεις του ο υποδοχέας Fas (CD95) μπορεί να ενεργοποιήσει φλεγμονώδεις οδούς σε αρκετές κυτταρικές σειρές και ιστούς, αν και λίγα είναι γνωστά για την μεταβολική συνέπεια της ενεργοποίησης Fas στον λιπώδη ιστό. Ωστόσο, η έκφραση της Fas έχει φανεί ότι είναι αυξημένη στα λιποκύτταρα που απομονώνονται από τον λιπώδη ιστό των παχύσαρκων και διαβητικών ασθενών, ενώ έχει αποδειχτεί ακόμη ότι ενεργοποιεί μονοπάτια φλεγμονής σε διάφορους ιστούς και κυτταρικές σειρές [111,112].

Ο υποδοχέας TNF/NGF παίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου καθώς επίσης εμπλέκεται στην παθογένεση διαφόρων κακοηθειών και ασθενειών του ανοσοποιητικού συστήματος. Η αλληλεπίδραση του εν λόγω υποδοχέα με τον προσδέτη του οδηγεί στο σχηματισμό ενός συμπλέγματος σηματοδότησης που προκαλεί κυτταρικό θάνατο λόγω της δράσης της Fas (FADD) αλλά και της κασπάσης 8 και κασπάσης 10. Αυτός ο υποδοχέας ενεργοποιεί επίσης τα NF-kappaB, MAPK3 / ERK1 και MAPK8 / JNK ενώ εμπλέκεται και στη μεταγωγή των πολλαπλασιαστικών σημάτων στους ινοβλάστες και Τ κύτταρα [113].

5.5.4 ΚΑΣΠΑΣΕΣ

Οι κασπάσες είναι μια οικογένεια πρωτεασών κυστεΐνης που διασπούν τις πρωτεΐνες στόχους σε ασπαρτικά υπολείμματα. Οι ρόλοι των κασπασών στην απόπτωση έγιναν αρχικά εμφανείς όταν ένα γονίδιο που σχετίζεται με κυτταρικό θάνατο, το ced-3, το οποίο είναι απαραίτητο για την απόπτωση του Caenorhabditis elegans, βρέθηκε να είναι ομόλογο με τις κασπάσες των θηλαστικών [114]. Στα θηλαστικά λοιπόν οι κασπάσες μπορούν να υποδιαιρεθούν σε τρεις λειτουργικές ομάδες: κασπάσες ενάρξης (κασπάση 2, 8, 9

και 10), κασπάσες εκτελεστές (κασπάση 3, 6 και 7) και φλεγμονώδεις κασπάσες (κασπάση 1, 4, 5, 11 και 12). Οι κασπάσες εκκινητή δίνουν το σήμα για έναρξη της απόπτωσης ενώ οι κασπάσες εκτελεστές υλοποιούντην πρωτεόλυση που οδηγεί σε απόπτωση. Οι φλεγμονώδεις κασπάσες δεν λειτουργούν κατά τη διάρκεια της απόπτωσης, αλλά πιθανότατα εμπλέκονται στη σηματοδότηση της φλεγμονώδους κυτοκίνης αλλά και σε άλλους τύπους κυτταρικού θανάτου όπως η pyroptosis.

Αρχικά συντίθενται ως ανενεργές προ-κασπάσες. Εν συνεχεία διασπόνται και ενεργοποιούνται ταχέως ως απόκριση στο granzyme B, τους υποδοχείς θανάτου και τους διεγέρτες αποπτοσώματος. Ακολούθως οι κασπάσες διασπούν μια σειρά από υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένων των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, των πρωτεϊνών μεμβράνης πλάσματος και των πυρηνικών πρωτεϊνών, οδηγώντας τελικά σε κυτταρικό θάνατο [115].

5.6 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ-ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Το οξυγόνο έχει τόσο θετικά οφέλη όσο και δυνητικά επιβλαβείς παρενέργειες για τα βιολογικά συστήματα. Η αντιδραστικότητα επιτρέπει στο οξυγόνο να συμμετέχει σε μεταφορές ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας και επομένως υποστηρίζει τη δημιουργία μεγάλων ποσοτήτων 5-τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) μέσω οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αυτό είναι απαραίτητο τόσο για την εξέλιξη πολύπλοκων πολυκύτταρων οργανισμών όσο και την «επίθεση» σε οποιοδήποτε βιολογικό μόριο, είτε πρόκειται για πρωτεΐνη, λιπίδιο είτε DNA. Κατά συνέπεια, το σώμα μας είναι υπό μία κατάσταση σταθερής οξειδωτικής επίθεσης από ROS. Ένα σύνθετο σύστημα αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών έχει εξελιχθεί στον οργανισμό προκειμένου να διατηρείται μια ισορροπία. Αν οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του κυττάρου δεν μπορούν να ανταπεξέλθουν στο μεγάλο φορτίο ROS και ταυτόχρονα διαταραχθεί η κυτταρική οξειδοαναγωγική σηματοδότηση, τότε το κύτταρο βρίσκεται σε μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται ως οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες αναγνωρίζεται ότι παίζει κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία πολλών διαφορετικών διαταραχών [116].

5.6.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Οι ελεύθερες ρίζες ορίζονται ως είδη που περιέχουν ένα (ή και περισσότερα) μη συζευγμένο ηλεκτρόνιο, το οποίο του προσδίδει υψηλή δραστικότητα. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να δημιουργηθούν από πολλά στοιχεία στα βιολογικά συστήματα [117].

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν κατηγοριοποιηθούν σε τρείς κατηγορίες:

1. Αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS)
2. Αντιδραστικά είδη αζώτου (RNS)
3. Αντιδραστικά είδη χλωρίου (RCS)

Οι πιο σημαντικές είναι εκείνες που αφορούν το οξυγόνο.

5.6.2 ROS

Ο όρος ROS αφορά τόσο τις ελεύθερες ρίζες όσο και τις μη ριζικές ενδιάμεσες ενώσεις τους. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η συνηθέστερη ελεύθερη ρίζα οξυγόνου είναι το ανιόν υπεροξειδίου (O2•-) με τα μιτοχόνδρια να θεωρούνται η κύρια πηγή [118]. Η μεταφορά ηλεκτρονίων κατά μήκος των ενζύμων της αναπνευστικής αλυσίδας δεν είναι απόλυτα αποτελεσματική και η διαρροή ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο, ιδιαίτερα από τα σύμπλοκα I και III, έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό O2•-. Ο ρυθμός σχηματισμού προσδιορίζεται από τον αριθμό των ηλεκτρονίων που υπάρχουν στην αλυσίδα και αυξάνεται υπό συνθήκες υπεροξίας και αυξημένης γλυκόζης, όπως στον ΣΔ. Παραδόξως, αυξάνεται και σε συνθήκες υποξίας, όταν η μειωμένη διαθεσιμότητα οξυγόνου δρα ως ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων για το σύμπλοκο IV προκαλώντας συσσώρευση ηλεκτρονίων. Υπό κανονικές συνθήκες, το 2% του καταναλισκόμενου οξυγόνου μετατρέπεται σε O2•- στα μιτοχόνδρια αντί να μειώνεται σε νερό. Λόγω του φορτίου του, το O2•- είναι αδιαπέραστο από τη μεμβράνη και έτσι παραμένει μέσα στο μιτοχονδριακό πλέγμα. Το υπεροξείδιο μπορεί επίσης να παραχθεί μέσω διαρροής ηλεκτρονίων εντός του ενδοπλασματικού δικτύου. Άλλες πηγές υπεροξειδίου υπό φυσιολογικές συνθήκες περιλαμβάνουν τα ένζυμα adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH) το κυτοχρώμα P450 και άλλες οξειδοαναγωγάσες [119]. Κάτω από παθολογικές καταστάσεις, το ένζυμο xanthine dehydrogenase παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο. Αυτό το ένζυμο, υπό φυσιολογικές συνθήκες, αποικοδομεί τις πουρίνες, την ξανθίνη και την υποξανθίνη σε ουρικό οξύ χρησιμοποιώντας NAD+ ως δέκτη ηλεκτρονίων. Ωστόσο, κάτω από συνθήκες υποξίας, διασπάται πρωτεολυτικά σε μορφή οξειδάσης, η οποία δίνει ηλεκτρόνια στο μοριακό οξυγόνο.

Το υπεροξείδιο αποτοξινώνεται με ένζυμα υπεροξειδίου δισμουτάσης (SOD), τα οποία το μετατρέπουν σε H2O. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου δεν ανήκει στις ελεύθερες ρίζες και συνεπώς είναι λιγότερο δραστικό από το O2•-. Εντούτοις, εμπίπτει στην κατηγορία των ROS καθώς εμπλέκεται στενά με την παραγωγή και την αποτοξίνωση των ελεύθερων ριζών. Το H2O2 τώρα αποτοξινώνεται σε νερό από την καταλάση και την υπεροξειδάση γλουταθειόνης. Είναι σημαντική η δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων αφού μια πιθανή ανισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων O2 και υπεροξειδίου του υδρογόνου μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό του επικίνδυνου ιόντος υδροξυλίου (OH•) [116,121].

5.6.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι ενζυματικές και μη ενζυματικές άμυνες εμποδίζουν την οξειδωτική επίθεση. Ενζυματικές άμυνες: στον πυρήνα τους βρίσκεται ένα μεταβατικό μέταλλο ικανό να πάρει διαφορετικά σθένη όπως μεταφέρονται τα ηλεκτρόνια κατά τη διάρκεια της αποτοξίνωσης. Δύο ισομορφές SOD μετατρέπουν το $O_2•^-$ σε H2O2, τη μορφή μαγγανίου που περιορίζεται στα μιτοχόνδρια και τη μορφή χαλκού και ψευδαργύρου που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Το H2O2 στη συνέχεια διασπάται σε νερό με τις δράσεις της καταλάσης ή της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης (GPX), μιας τετραμερικής σεληνοπρωτεΐνης [121]. Η δραστικότητα της GPX εξαρτάται από την παρουσία μειωμένης γλουταθειόνης (GSH) ως δότη υδρογόνου. Η GSH είναι το

κυριότερο ρυθμιστικό διάλυμα κυτταρικής οξειδοαναγωγικής θειόλης στα κύτταρα και συντίθεται στο κυτοσόλιο από 1-γλουταμικό, 1-κυστεΐνη και γλυκίνη. Η GSH συμμετέχει σε μεγάλο αριθμό αντιδράσεων αποτοξίνωσης που σχηματίζουν δισουλφίδιο GSH, το οποίο μετατρέπεται ξανά σε GSH με τη δράση της αναγωγάσης GSH εις βάρος του NADPH [122]. Μη ενζυματικές άμυνες: περιλαμβάνουν τη βιταμίνη C και βιταμίνη E. Το ασκορβικό είναι απαραίτητο για την αναγέννηση της μειωμένης α-τοκοφερόλης. Επιπλέον, ενώσεις θειόλης, όπως η θειορεδοξίνη, είναι ικανές να αποτοξινώνουν το H2O2 [121].

5.6.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Η παχυσαρκία αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία σε οξειδωτική βλάβη λόγω των μειωμένων αντιοξειδωτικών πηγών συμπεριλαμβανομένης της SOD, της GPX, της καταλάσης, της βιταμίνης A, της βιταμίνης E, της βιταμίνης C και της β-καροτίνης [123]. Σε σύγκριση με άτομα φυσιολογικού βάρους η δραστηριότητα της SOD στους παχύσαρκους είναι σημαντικά μειωμένη [124].

Παρόλο που κατά τη διάρκεια της ενεργού ανάπτυξης οργανισμών αυξάνονται τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA), η υπερβολική συσσώρευση λίπους σε παχύσαρκους ασθενείς οδηγεί σε παθολογική αύξηση των επιπέδων FFA στον ορό, γεγονός που με τη σειρά του παρεμποδίζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης [125], ευνοεί την ηπατική, μυϊκή και λιπώδη συσσώρευση υποστρωμάτων ενέργειας (με τη μορφή λίπους και γλυκόζης) [126]και προάγει μιτοχονδριακή και υπεροξεισωματική οξείδωση. Η κατάσταση αυτή οδηγεί σε σύνθεση ελεύθερων ριζών, OS, βλάβη μιτοχονδριακού DNA, εξάντληση ATP [127]και λιποτοξικότητα [128].Η κυτταρική βλάβη οδηγεί σε υψηλή παραγωγή κυτοκινών όπως ο TNF-α, η οποία παράγει περαιτέρω ROS στους ιστούς και αυξάνει τον ρυθμό υπεροξείδωσης λιπιδίων [129].

Τρίτον, πρέπει να σημειωθεί ότι ο λιπώδης ιστός είναι μια πηγή βιοδραστικών αδιποκινών, που περιλαμβάνουν τη λεπτίνη, την αδιπονεκτίνη, την ιβφατίνη, την ρεστιστίνη, την αψίνη και τον αναστολέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου 1, που εμπλέκονται στην ομοιόσταση φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών που περιλαμβάνουν OS [130].

5.6.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΔ

Το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αγγειακών επιπλοκών στον ΣΔ, κι ιδιαίτερα στο ΣΔ2 [131]. Η αύξηση των ROS στο ΣΔ μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη καταστροφή ή/και αυξημένη παραγωγή τους από την καταλάση, την SOD και την GPX. Η μεταβολή στα επίπεδα των ενζύμων αυτών καθιστά τους ιστούς ευαίσθητους στο οξειδωτικό στρες και οδηγούν στην ανάπτυξη διαβητικών επιπλοκών [131].

Αναλυτικότερα, ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών στο ΣΔ λόγω μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών, οξείδωσης της γλυκόζης και αυξημένης υπεροξείδωσης των λιπιδίων οδηγεί σε βλάβη των ενζύμων, των κυτταρικών μηχανημάτων καθώς και σε αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη. Τα λιπίδια και ιδιαίτερα η απολιποπρωτεΐνη της LDL σχηματίζουν οξειδωτικά αδιάλυτα συσσωματώματα λόγω της επαγόμενης από υδροξύλιο σύνδεσης των μονομερών της apo-B. Στο ΣΔ, κύρια πηγή οξειδωτικού στρες

είναι τα μιτοχόνδρια. Κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού μεταβολισμού στα μιτοχόνδρια, ένα συστατικό του χρησιμοποιούμενου οξυγόνου μετατρέπεται σε νερό και το υπόλοιπο οξυγόνο μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα οξυγόνου (O) η οποία είναι σημαντική μορφή ROS και ακολούθως μετατρέπεται σε άλλα RS όπως ONOO-, OH και H2O2 [132].

5.6.6 SOD

Η SOD αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά ενδοκυττάρια ενζυμικά συστήματα και ρόλος της είναι να καταλύει τη μετατροπή ανιόντων υπεροξειδίου σε H2O2 [133]. Η SOD απαντά σε αρκετές ισομορφές, βάσει της φύσης του μετάλλου του ενεργού κέντρου, της σύνθεσης των αμινοξέων, καθώς και τον αριθμό των υπομονάδων, τους συμπαράγοντες και άλλα χαρακτηριστικά. Στον άνθρωπο απαντούν τρεις μορφές SOD, η κυτταροπλασματική CuZnSOD- βρισκεται επίσης στον πυρήνα και το διάμεσο χώρο μεταξύ των μιτοχονδρίων, φέρει στο ενεργό κέντρο ιόντα χαλκού και ψευδαργύρου και η ενζυμική της δραστικότητα είναι σχετικά ανεξάρτητη από το pH στο εύρος 5–9,5 -, η μιτοχονδριακή MnSOD- περιέχει από ένα άτομο μαγγανίου στο ενεργό κέντρο καθεμιάς από τις δύο ταυτόσημες υπομονάδες του και μετατρέπει το υπεροξείδιο που παράγεται από το μιτοχόνδριο σε H2O2- και η εξωκυττάρια SOD-παρούσα στη μεμβράνη του πλάσματος, φέρει χαλκό και ψευδάργυρο στο ενεργό κέντρο, η ρύθμισή της στους ιστούς διενεργείται από τις κυτταροκίνες και όχι από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Η SOD μέσω της διαδοχικής οξείδωσης και της αναγωγής του μετάλλου του ενεργού κέντρου καταστρέφει τις O2- με ιδιάτερα μεγάλη ταχύτητα [133]. Το υπόστρωμά της -η ρίζα υπεροξειδίου- είναι ιδιαίτερα ασταθής σε φυσιολογικές τιμές pH. Αντιδρά με το εαυτό της ταχύτατα ή υπόκειται σε οξειδοαναγωγή επίσης με μεγάλη ταχύτητα (O2· − + O2· − + 2H+ → O2 + H2O2) [134] . Το υπεροξείδιο, όμως, αντιδρά με την SOD περίπου 20.000 φορές πιο γρήγορα απ’ ότι αντιδρά με τον εαυτό του, γεγονός που δίνει στην SOD τη δυνατότητα να πραγματοποιεί περίπου 106 αντιδράσεις ανά δευτερόλεπτο [134].

Αξίζει να επισημανθεί ότι κάθε ισομορφή του ενζύμου προκειμένου να ασκήσει την οξειδοαναγωγική της δράση χρειάζεται ένα μέταλλο μετάπτωσης στο ενεργό του κέντρο. Για το λόγο αυτό η διατροφή μέσω των μικροθρεπτικών συστατικών της φαίνεται να σχετίζεται με την οξειδοαναγωγική δράση του ενζύμου. Βέβαια εκτός της διατροφής, το γενετικό υπόβαθρο φαίνεται επίσης να παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της αντιοξειδωτικής δράσης στους αερόβιους οργανισμούς [135].

5.6.7 GPX

Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο μορφές του ενζύμου GPX. Η μία μορφή είναι εξαρτώμενη από το σελήνιο ενώ η άλλη είναι ανεξάρτητη αυτού. Η διαφορά τους βρίσκεται στον αριθμό των υπομονάδων, τη φύση του δεσμού με το σελήνιο στο ενεργό κέντρο και τους μηχανισμούς κατάλυσης. Στα θηλαστικά έχουν βρεθεί τέσσερις διαφορετικές GPXs (GPxs1-4), οι οποίες φέρουν στην ενεργό θέση κυστεΐνη συνδεδεμένη με σελήνιο [133]. Η GPX1 πλεονεκτεί ποσοτικά έναντι των τριών άλλων ισοενζύμων και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα σχεδόν όλων των ιστών των θηλαστικών. Η GPX2 εντερικό και εξωκυτταρικό ένζυμο, η GPx3 είναι εξωκυτταρική και συναντάται κυρίως στο πλάσμα και τέλος η GPX4 βρίσκεται στα λιπιδικά υπεροξείδια. Οι GPXs καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου ή των υδροϋπεροξειδίων

των λιπιδίων, χρησιμοποιώντας ως αναγωγική ουσία τη γλουταθειόνη. Έτσι λειτουργεί ως προστατευτικός μηχανισμός έναντι στην οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων. Το ένζυμο χρησιμοποιεί τη γλουταθειόνη ως το μοναδικό δότη ηλεκτρονίων προκειμένου να αναγεννηθεί η ανηγμένη μορφή της σεληνοκυστείνης [133].

6. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εκτιμηθεί η μεταβολή των:

- βιοχημικών δεικτών που αφορούν το λιπιδαιμικό προφίλ
- δεικτών που σχετίζονται με την διαδικασία της απόπτωσης
- δραστικότητας αντιοξειδωτικών ενζύμων

κατά την δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (OGTT) (στους χρόνους δειγματοληψίας (0’, 30’, 60’,90’, 120’, 180’) σε παιδιά

Επιμέρους σκοπός είναι να συγκριθούν οι ανωτέρω λειτουργίες κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη μεταξύ παχύσαρκων και μη παιδιών καθώς και μεταξύ παιδιών με φυσιολογική και διαταραγμένη OGTT.

Β. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

7.1 ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η αναζήτηση βιβλιογραφίας έγινε σε βάσεις δεδομένων στο διαδίκτυο και συγκεκριμένα στο Pubmed και GoogleScholar. Αναζητήθηκαν όλα τα δημοσιευμένα άρθρα που είχαν σαν επίκεντρο την παιδική παχυσαρκία, την αντίσταση στην ινσουλίνη-καμπύλη γλυκόζης, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, την απόπτωση και το οξειδωτικό στρες. Οδηγό για τις λέξεις-κλειδιά αποτέλεσε το σύστημα κωδικοποίησης ασθενειών ICD 10. Προκειμένου να βρεθούν όλες οι διαθέσιμες μελέτες, χρησιμοποιήθηκαν συνώνυμες φράσεις και συνδυασμός λέξεων με τη χρήση των όρων όπως «και» (AND) και «ή» (OR).

Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ακόλουθες*: pediatrics, children, obesity, insulin resistance, oral glucose tolerance test, endothelial, endothelial dysfunction, apoptotic markers, molecular pathways, oxidative stress, antioxidant enzymes*.

7.2 ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη αυτή βασίστηκε σε υλικό που συλλέχθηκε στο ιατρείο της Καθηγήτριας Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών κας Σπηλιώτη Βασιλικής Γκρέκας στα πλαίσια διδακτορικής διατριβής της κας Νικολακοπούλου Νικολέτας, η οποία εκπονήθηκε στο τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών.

Η μελέτη μας αποτελεί συνέχεια της προαναφερθείσας διδακτορικής διατριβής. Συμμετείχαν 30 παιδιά-έφηβοι ηλικίας 7-16 ετών που κατοικούσαν στην Πάτρα. Τα άτομα που επιλέχθηκαν προέρχονταν από μια μεγαλύτερη ομάδα παιδιών τα οποία εξετάστηκαν λόγω του αναφερόμενου από τους γονείς/ κηδεμόνες αυξημένου βάρους τους. Η δειγματοληψία ήταν τυχαιοποιημένη. Η συμμετοχή στη μελέτη ήταν εθελοντική, τηρήθηκε ανωνυμία, υπογράφηκε έντυπο ενήμερης συγκατάθεσης από γονείς/ κηδεμόνες και τηρήθηκαν όλοι οι κανόνες δεοντολογίας.

7.3 ΦΥΣΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Πραγματοποιήθηκε στα παιδιά πλήρης φυσική εξέταση και βιοχημικός εργαστηριακός έλεγχος με λήψη περιφερικού αίματος. Το βάρος σώματος μετρήθηκε το πρωί, με ελαφρά ρούχα, χωρίς παπούτσια. Το ύψος μετρήθηκε με σταδιόμετρο τοίχου. Υπολογίστηκε το BMI, και στη συνέχεια βάσει του διαγράμματος ανάπτυξης (Εικόνα 1) υπολογίστηκε το BMI%.

7.3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Για την αιμοληψία χρησιμοποιήθηκε σωληνάριο διαχωρισμού του ορού και το δείγμα αφέθηκε να πήξει για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στα 3000 rpm. Ο ορός των δειγμάτων αποθηκεύτηκε στους -80°C για περεταίρω χρήση. Εδώ είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τηρήθηκε αυστηρό χρονοδιάγραμμα εργασιών ώστε να αποφευχθούν οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης-απόψυξης των δειγμάτων, και για κάθε πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε ξεχωριστό aliquot του δείγματος.

Έγιναν βιοχημικές εξετάσεις για τον προσδιορισμό του λιπιδαιμικού προφίλ (ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια) και έλεγχος της θυρεοειδικής λειτουργίας (T3, T4, TSH, FT4). Έγινε δοκιμασία OGTT, μέτρηση της σωματομεδίνης (IGF-I) στο χρόνο t=0', μέτρηση των αποπτωτικών δεικτών APO-1/Fas και ccK18 καθώς και της δραστικότητας των ενζύμων SOD και GPX (που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες) σε όλους τους χρόνους δειγματοληψίας κατά τη διάρκεια της OGTT.

Η χοληστερόλη, η LDL, η HDL, τα τριγλυκερίδια και η γλυκόζη μετρήθηκαν με χρωματογραφία με τη μέθοδο τελικού σημείου (Olympus Diagnostica, Hamburg, Γερμανία).

Η ινσουλίνη αίματος μετρήθηκε με ραδιοανοσολογική μέθοδο (Sorin Biomedica, Sallugia, Ιταλία).

Η σωματομεδίνη (IGF-I) αίματος μετρήθηκε με ραδιοανοσολογική μέθοδο (Immunotech, Czech Republic).

Η TSH αίματος μετρήθηκε με ραδιοανοσολογική μέθοδο (DiaSorin, Sallugia, Ιταλία).

Οι πειραματικές διαδικασίες για τη μέτρηση του δείκτη APO-1/Fas και της M30 Apoptosense έγιναν στο εργαστήριο «Βιολογίας Βιοχημείας» του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου, με την τεχνική Elisa. Η μέτρηση της δραστικότητας των ενζύμων SOD και GPX3 έγιναν σε συνεργασία με τον επίκουρο καθηγητή Βιοχημείας του τμήματος Επιστήμης Διατροφής- Διαιτολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κο Νομικό Τζώρτζη, στο εργαστήριο «Βιολογίας Βιοχημείας και Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών».

7.4 OGTT

Μετά από 12 ώρες νηστείας έγινε OGTT σε όλα τα παιδιά που συμμετείχαν στη μελέτη. Χορηγήθηκε γλυκόζη σε δόση 1,75 gr γλυκόζης / kg βάρους σώματος, με μέγιστη δόση τα 75 gr. Ελήφθησαν δείγματα αίματος κάθε 30 min για τρεις ώρες για τον προσδιορισμό της γλυκόζης και της ινσουλίνης. Χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια της Αμερικάνικης Διαβητολογικής Εταιρείας (American Diabetes

Association) για τον προσδιορισμό της φυσιολογικής ανοχής στη γλυκόζη, της διαταραχής στην ανοχή της γλυκόζης και του διαβήτη [137].

7.5 ΤΕΧΝΙΚΗ ELISA

Για την υλοποίηση της τεχνικής ELISA πρέπει πρώτα τα δείγματα να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και να παραμείνουν στη θερμοκρασία αυτή το πολύ για μισή ώρα προκειμένου να αποφευχθεί η αλλοίωση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης. Τα αντιδραστήρια, βάσει των πρωτοκόλλων που χρησιμοποιήθηκαν, έπρεπε επίσης να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν να χρησιμοποιηθούν.

7.5.1 ΓΙΑ ΤΗΝ APO-1/FAS

Η μέτρηση της APO-1/Fas πραγματοποιήθηκε με το Human Fas/TNFRSF6/CD95 ELISA Kit NBP1-91190 από τη Novus Biologicals.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

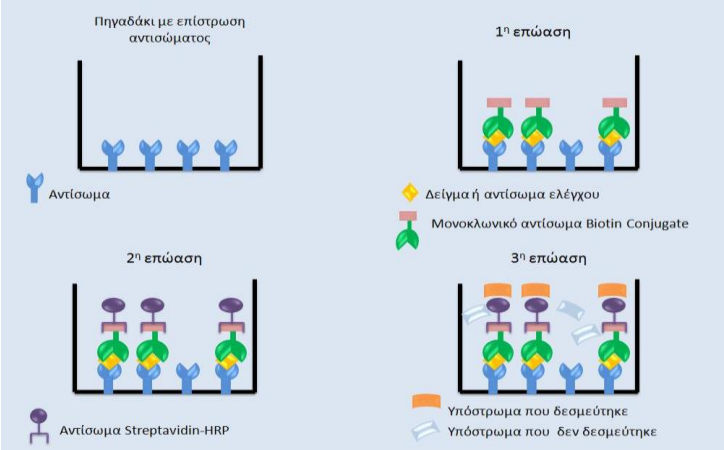
Αντιδραστήριο	**Διαλύτης**
Wash Buffer Concentrate (20x)	Distilled Water
50 ml	950 ml
Assay Buffer Concentrate (20x)	Distilled Water
5 ml	95 ml
Biotin-Conjugate	Assay Buffer (1x)
0.06 ml	5.94 ml
Streptavidin –HRP	Assay Buffer (1x)
0.050 ml	11.950 ml

7.5.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε βάσει πρωτοκόλλου περιγράφεται κάτωθι:

1. Η διαδικασία ξεκίνησε με πλύσιμο των κελιών δύο φορές με περίπου 400 μL Wash Buffer ανά πηγαδάκι και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πλήρης αναρρόφηση των περιεχομένων μεταξύ των πλύσεων.
2. Μετά το τελευταίο στάδιο πλύσης, χρησιμοποιήθηκε απορροφητικό χαρτί για να απομακρυνθεί η περίσσεια Wash Buffer.
3. Προστέθηκαν 100 μL διαλύτη δείγματος (Sample Diluent) στα πηγαδάκια με τα standards και ύστερα προστέθηκαν 100 μL του παρασκευασμένο προτύπου (standards).
4. Προστέθηκαν 100 μL διαλύτη δείγματος (Sample Diluent) στο μηδενικό δείγμα.

5. Προστέθηκαν 90 μL διαλύτη δείγματος (Sample Diluent) στα πηγαδάκι που θα δεχτούν το δείγμα, και ύστερα προστέθηκαν 10 μL από κάθε δείγμα.
6. Προστέθηκαν 50 μL βιοτίνης (Biotin-Conjugate) σε όλα τα πηγαδάκια.
7. Η πλάκα καλύφθηκε με κολλητική μεμβράνη και τα δείγματα επωάστηκαν στους 37°C για 1 ώρα. Ακολούθησε πλύση των κελιών 3 φορές.
8. Προστέθηκαν 100 μL αραιωμένης στρεπταβιδίνης (Streptavidin-HRP).
9. Η πλάκα καλύφθηκε με κολλητική μεμβράνη και τα δείγματα επωάστηκαν στους 37°C για 1 ώρα. Ακολούθησε πλύση των κελιών 3 φορές.
10. Προστέθηκαν 100 μL του διαλύματος υποστρώματος (TMB Substrate Solution).
11. Τα δείγματα επωάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (18°C-25°C) για περίπου 10 λεπτά. Αποφεύχθηκε η άμεση έκθεση σε έντονο φως.
12. Η ενζυμική αντίδραση διακόπηκε με 100 μL Stop solution.



Εικόνα 7 : Διαδικασία σύνδεσης των ειδικών αντισωμάτων για την ανίχνευση της APO1/Fas

7.5.3 ΓΙΑ ΤΗΝ M30 APOPTOSENSE

Η μέτρηση της M30 Apoptosense έγινε με το ELISA kit ***ALX-850-270-KI01*** από την Enzo Life Sciences, Peviva. Με τη μέθοδο αυτή γίνεται μέτρηση του ccK18 (caspase- cleaved Keratin 18), υποδεικνύοντας ουσιαστικά τη δράση της κασπάσης.

Τα Standards, τα Controls και τα δείγματα αντιδρούν με ένα στερεό αντίσωμα M5 που κατευθύνεται κατά της CK18 και του HRP- (Horseradish Peroxidase)-συζευγμένο με το M30 αντίσωμα- κατά του CK18Asp396 νεοπεπτιδίου. Το μη συζευγμένο συζυγές απομακρύνεται μέσω της διαδικασίας πλύσεων. Προστίθεται υπόστρωμα TMB. Η ανάπτυξη του χρώματος σταματά και διαβάζεται η απορρόφηση του.

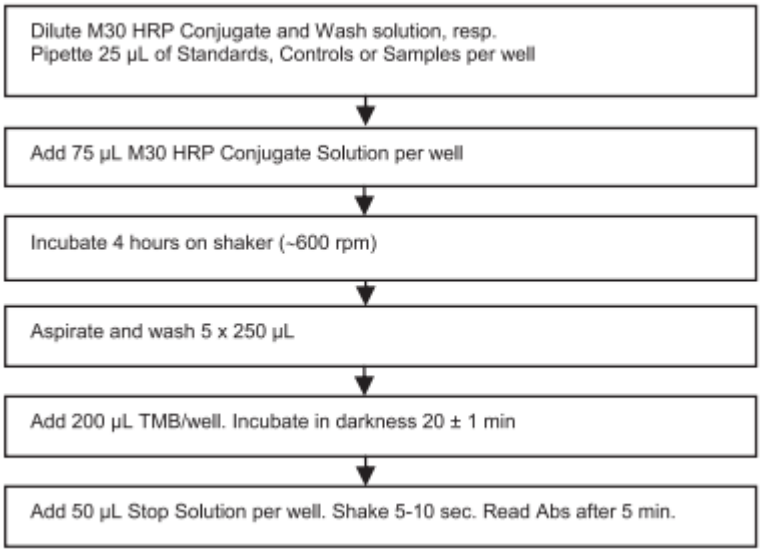
7.5.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Η διαδικασία ξεκίνησε με την αραίωση στο συζυγές M30 HRP με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως συζεύγματος M30.

M30 Coated Microstrips (No of strips)	M30 HRP Conjugate (mL)	M30 Conjugate Dilution Buffer (mL)
3	0.1	2.3
6	0.2	4.6
9	0.3	6.9
12	0.4*	9.2

*dilute directly in M30 HRP Conjugate bottle

2. Προστέθηκαν 25 μl από: M30 Standards (A-G), M30 Control Low, M30 Control High και από τα δείγματα στα πηγαδάκια.
3. Προστέθηκαν 75 μl M30 HRP Conjugate Solution σε κάθε πηγαδάκι.
4. Τα βήματα 2 και 3 έγιναν διαδοχικά σε διάρκεια 15 min.
5. Το kit καλύφθηκε με ταινία στεγανοποίησης.
6. Το kit παρέμεινε σε αναδευτήρα για επώαση, για διάρκεια 4 ωρών. Ο αναδευτήρας είχε ταχύτητα 600 rpm.
7. Έγιναν πλύσεις στα πηγαδάκια 5 φορές με 250 μl dilutedWash Solution.
8. Προστέθηκαν 200 μl υποστρώματος TMB σε κάθε πηγαδάκι.
9. Έγινε επώαση στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου για 20 ± 1 min.
10. Προστέθηκαν 50 μl Stop Solution σε κάθε πηγαδάκι, ανακινώντας με την πιπέτα κάθε φορά το διάλυμα στο πηγαδάκι για περίπου 5 sec.



7.5.5 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ELISA

Ο καθορισμός της οπτικής πυκνότητας (optical density-OD) του κάθε κελιού πρέπει να πραγματοποιείται εντός μισής ώρας. Προσδιορίστηκε η οπτική πυκνότητα (OD) κάθε κελιού χρησιμοποιώντας έναν αναγνώστη μικροπλακών (DSX Dynex, Dynex Technologies Inc., VA, USA).

- Για την APO1/Fas η OD του χρώματος μετρήθηκε σε μήκος κύματος 450 nm.
- Για την M30 Apoptosense η OD του χρώματος μετρήθηκε σε μήκος κύματος 450 nm.

Υπολογίζουμε το μέσο όρο από τις δύο τιμές της οπτικής απορρόφησης για κάθε standard και για κάθε δείγμα. Για τον υπολογισμό της τελικής τιμής οπτικής απορρόφησης χρησιμοποιούμε τον παρακάτω τύπο:

O.D. Standard ή δείγματος = Μέσος όρος OD – OD του μηδενικού δείγματος

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του μορίου στο δείγμα κατασκευάστηκε μια πρότυπη καμπύλη της οπτικής πυκνότητας των standards (άξονας y) με τη συγκέντρωση τους (άξονας χ). Γενικά, για να καθορίσουμε τη συγκέντρωση του μορίου στο δείγμα, πρώτα βρίσκουμε την τιμή απορρόφησης στον κάθετο άξονα και επεκτείνουμε μια οριζόντια γραμμή μέχρι την καμπύλη αναφοράς. Από το σημείο που ενώνονται οι γραμμές επεκτείνουμε μια κάθετη γραμμή μέχρι τον άξονα Χ και η τιμή που λαμβάνουμε αντιστοιχεί στη συγκέντρωση του μορίου στο δείγμα.

7.6 SOD

Η οξειδάση της ξανθίνης καταλύει την αντίδραση της ξανθίνης με το οξυγόνο, δίνοντας υπεροξείδιο με ρυθμό~1 μM/min. Αυτό αντιδρά με το ferricytochrome c και το ανάγει σε ferrocytochrome c, προκαλώντας αύξησης της απορρόφησης στα 550 nm, με αύξηση του συντελεστή μοριακής απορρόφησης κατά 20.000 cm-1 (από 9000 στα 29000 cm-1). Η παρουσία SOD στο μίγμα της αντίδρασης μειώνει την παραγωγή O2. και συνεπώς την αναγωγή του κυτοχρώματος c σε βαθμό τόσο μεγαλύτερο όσο και η δραστικότητα της SOD.

Διαλύματα
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8: Ζυγίζονται 3,40g KH2PO4 και διαλύονται σε 500ml απιονισμένο H2O. Η ρύθμιση του pH γίνεται με δ/μα KOH 1N.
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8/EDTA 0,1m : Ζυγίζονται 0,0093g EDTA και διαλύονται σε 250ml ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8. Η ρύθμιση του pH γίνεται με δ/μα KOH 1N.
Διάλυμα KOH 4N: Ζυγίζονται 11,222 g KOH (MW=56) σε 50mL 2

Stock διάλυμα κυτόχρωμα c 1mM: ζυγίζονται 250mg κυτοχρώματος c (MW~13000) σε 19,23 mL ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8. Φυλάσσεται στους - 20°C.
Διάλυμα ξανθίνης 1mM: ζυγίζονται 0,0174g και διαλύονται σε 100mL ρυθμιστικού δ/τος KH2PO4 0,05M, pH 7,8. Φυλάσσεται στους -20°C.
Stock δ/μα οξειδάσης της ξανθίνης 3 units/ml: Η αρχική συγκέντρωση του προϊόντος είναι 32 units/ ml. Αναδιάλυση σε όγκο 2,1 ml με ρυθμιστικό δ/μα PBS/EDTA. Φυλάσσεται στους -20°C. 41
Working δ/μα οξειδάσης της ξανθίνης 0,3 units/ml: αραίωσης 1:10 του stock δ/τος. • Στερεό sodium dithionate
SOD assay cocktail: Σε 141 ml ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8/EDTA 0,1 mM προστίθενται 7,5ml stock δ/τος ξανθίνης. Προστίθενται 1,5ml δ/μα κυτοχρώματος c. Ελέγχεται η συγκέντρωση του κυτοχρώματος c με προσθήκη μιας μικρής ποσότητας σε κυψελίδα οπτικής διαδρομής 1 cm και μετρώντας την απορρόφηση στα 550nm. Προστίθενται μερικοί κρύσταλλοι στερεού sodium dithionate, αναδεύεται και μετράται ξανά η απορρόφηση, η οποία πρέπει να αυξηθεί ακριβώς κατά 0,2.

7.6.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Το φωτόμετρο ρυθμίστηκε στα 550nm.
2. Εισαγάγαμε σε κυψελίδα, με τη σειρά, 1 ml SOD assay cocktail, 90μL φυσιολογικός ορός, και 10 μL διαλύματος οξειδάσης της ξανθίνης.
3. Μόλις το τελικό διάλυμα αναδευόταν, τοποθετούνταν στο φωτόμετρο και καταγραφόταν η απορρόφηση ανά λεπτό, με χρήση ψηφιακού χρονόμετρου, επί 5 λεπτά.
4. Η απορρόφηση έπρεπε να αυξάνεται περίπου κατά 0,02 A/min (μεταξύ 0,015 και 0,025 A/min). Στην περίπτωση που η ταχύτητα control ήταν μεγαλύτερη, ο όγκος της οξειδάσης της ξανθίνης ρυθμιζόταν έτσι ώστε να επιτευχθεί η συγκεκριμένη ταχύτητα.
5. Στη συνέχεια, σε 1 ml SOD assay cocktail, τοποθετούνταν 90μL δείγματος και 10μL διαλύματος οξειδάσης της ξανθίνης (ή μικρότερος όγκος, ανάλογα με τον όγκο της στο control) και καταγραφόταν ξανά η απορρόφηση, επί 5 λεπτά.
6. Γινόταν προσθήκη τέτοιας ποσότητας βιολογικού δείγματος, η οποία προκαλούσε μείωση του ρυθμού απορρόφησης του control κατά 40-60% εφόσον ήταν δυνατόν. Η % αναστολή υπολογιζόταν ως εξής: % inhibition = [(control – sample) / control] x 100.

7. Κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς της δραστικότητας της SOD, προκειμένου να υπολογιστεί η δραστικότητα της SOD (u/ml) που περιεχόταν στα δείγματα βάσει των παρακάτω τιμών:

U/ml	0,027	0,090	0,270	0,360	0,450	0,630	0,810
%Inh	7,30	13,00	36,00	48,00	54,70	60,00	75,50

7.7 GPX

Η δραστικότητα της GPX μετράται έμμεσα μέσω μιας συζευμένης αντίδρασης με την αναγωγάση της γλουταθειόνης (GR). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), που παράγεται ύστερα από την αναγωγή των υδρουπεροξειδίων από την GPX , μετατρέπεται ξανά στην ανηγμένη της μορφή από τη GR και το NAPDH (ανηγμένη μορφή του β-νικοτιναδο αδενινο φωσφορικού δινουκλεοτιδίου).

Στερεά Αντιδραστήρια/Διαλύτες

Sodium phosphate monobasic, Na_2PO4, H2O
EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, Tetrasodium Salt) (Sigm, E6511)
Sodium Azide (Sigma, S-2002)
B-Nicotinamide Adedine Dinucleotide Phosphate, Reduced Form (β-NADPH), Tetrasodium Salt (201-201), 1 vial
Glutathione Reductase (Sigma, G-3664)
GSH (Sigma, G-4251)
Dithiothreitoli (Sigma, D-0632)
H2O2 30% (Sigma, H-1009)

Τα διαλύματα που θα χρειαστούν είναι:

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50Mm με EDTA 0.4m, pH 7.0 (PBS/EDTA): 6900g NaH_2PO4 H2O (S5) και 0.1665g EDTA (E1) σε 1000ml απεσταγμένο νερό. Ρύθμιση pH με NaOH 1M.
- Sodium Azide 1mM σε PBS 50Mm/ EDTA 0.4mM/ pH 7.0 (PBS/ Sodium Azide): 0.0032 g NaN_3 σε 50 ml PBS/ EDTA.
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 10mM με DTT 1Mm, pH 7.0 (PBS/DTT): 0.1200g NaH_2PO_4 και 0.0154g DTT σε 100ml απεσταγμένο νερό. Ρύθμιση pH με NaOH 1M.
- Stock διάλυμα αναγωγάσης της γλουταθειόνης.
- Διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης 200mM (GSH): 0.0615g σε 1ml απεσταγμένο νερό.
- Διάλυμα H_2O_2 0.042% (H_2O_2): 1.4ml διαλύματος H_2O_2 και 999μl απεσταγμένο νερό.
- Διάλυμα H_2O_2 0.0105% (H_2O_2): 17.5% διαλύματος H_2O_2 30% σε 50μl απεσταγμένο νερό.
- Διάλυμα NAPDH: 1mg NAPDH σε 100μl PBS/EDTA.

7.7.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Παρασκευή μίγματος αντίδρασης και H_2O_2 λίγο πριν τις δοκιμασίες.
2. Παρασκευή μίγματος Falcon 50ml σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

PBS/Sodium azide	**9200μl**
GR	xμl (Τόσο ώστε η τελική συγκέντρωση GR να είναι 1u/ml στο μίγμα της αντίδρασης)
H2O	100-x
GSH	50μl
NADPH	100μl

3. Προσθήκη των διαλυμάτων στα πηγαδάκια των plates και διεξαγωγή του assay σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

	Blank	**Sample**
Μίγμα αντίδρασης	200μl	200μl
Διαλύτης διαλύματος GPX	30μl	-
Διάλυμα GPX	-	30μl
	Ανάμιξη με το tip και παραμονή για 1min σε θερμοκρασία δωματίου.	
Διάλυμα H_2O_2	20 μl	20 μl
	Μέτρηση Α στα 340nm για 5min ανά 1min.	

4. Το πλακίδιο μεταφέρεται σε ELISA reader για μέτρηση. Καταγράφεται η απορρόφηση στα 340nm για 6min ανά min.
5. Υπολογίζεται η δραστικότητα του ενζύμου με την παρακάτω εξίσωση

U/ml παρασκευάσματος= (Δα/min, sample-Δα/min, blank) x 2x 0.250x df / 4.60 x Vsample

Όπου:

2: Τα 2 μmoles της GSH που παράγεται από κάθε μmole NAPDH που οξειδώνεται.

0.250: ο τελικός όγκος του assay σε ml.

df: ο συντελεστής μοριακής απορροφητικότητας του NAPDH στα 340nm και για κάθε όγκο 0.250 ml (μήκος οπτικής διαδρομής: 0.9cm).

Vsample: ο όγκος του διαλύματος της GPX που χρησιμοποιείται στο assay.

7.8 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος ± SD (standard deviation, τυπική απόκλιση). Οι συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r. Για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου της παρέμβασης, καθώς και του είδους της παρέμβασης στις μεταβολές των μετρούμενων παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε η απλή συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Εξαιτίας των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni, προκειμένου να γίνει διόρθωση του σφάλματος τύπου I ώστε να προσεγγίζει το επίπεδο σημαντικότητας που έχει οριστεί για τους στατιστικούς ελέγχους αυτής της μελέτης. Το iAUC υπολογίσθηκε από το εμβαδόν που περικλείεται μεταξύ της καμπύλης μεταβολής μίας μετρούμενης παραμέτρου και της νοητής ευθείας παράλληλης στον άξονα χ, η οποία ξεκινά από την τιμή της παραμέτρου σε χρόνο 0. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 22.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.)

7.9 ΖΗΤΗΜΑΤΑ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ

Πιθανοί κίνδυνοι για τους συμμετέχοντες δεν υπήρχαν. Κατά τη διενέργεια της τηρήθηκαν όλες οι ηθικές επιταγές και οι κανόνες δεοντολογίας. Η συμμετοχή ήταν εθελοντική αφού πρώτα πραγματοποιήθηκε αναλυτική ενημέρωση των εμπλεκόμενων και ελήφθη ενυπόγραφη δήλωση των γονέων/κηδεμόνων ότι έχουν λάβει γνώση και συμφωνούν στη συμμετοχή των παιδιών τους στη μελέτη. Τηρήθηκαν οι αρχές της ανωνυμίας και της εμπιστευτικότητας των δεδομένων. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε από περιφερικό αίμα των εθελοντών και έγινε από νοσηλευτές κατέχοντες άδεια ασκήσεως επαγγέλματος και ιατρούς υπό την παρουσία της κας Σπηλιώτη Βασιλικής Γκρέκας, Καθηγήτριας Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται θα χρησιμοποιηθούν μόνο για τις ανάγκες και τους σκοπούς της συγκεκριμένης έρευνας.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 30 παιδιά, από τα οποία τα 18 (60%) ήταν αγόρια και τα 12 (40%) κορίτσια. Η μέση ηλικία των παιδιών ήταν τα 12 περίπου έτη.

Εικόνα 8 : Κατανομή δείγματος βάσει του φύλου

8.2 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Για την διεξαγωγή των αποτελεσμάτων ο πληθυσμός μελετήθηκε διαχωρίζοντας το βάσει της παχυσαρκίας και βάσει της διαταραγμένης γλυκόζης κατά τη δοκιμασία OGTT [137]. Αναλυτικότερα μελετήθηκαν σε δύο υποομάδες: βάσει του BMI% (α) παχύσαρκα και (β) νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά αλλά και βάσει της δοκιμασίας OGTT (α) παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT και (β) παιδιά με φυσιολογική. 21 παιδιά (70%) ήταν παχύσαρκα (BMI% >=95%) και 14 είχαν διαταραγμένη καμπύλη γλυκόζης (46,7%).

Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται η μέση τιμή των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών του υπό μελέτη πληθυσμού χωρισμένου βάσει της δοκιμασίας OGTT, σε παιδιά με διαταραγμένη γλυκόζη και μη. Όπως φαίνεται βρέθηκαν οι κάτωθι διαφορές στις δύο υποομάδες με στατιστική σημαντικότητα p-value<0.05: τα παιδιά με φυσιολογική OGTT είχαν μειωμένη τιμή ινσουλίνης, T3 και HgbA1c σε σχέση με τα παιδιά με διαταραγμένη.

	OGTT	N	Μέση τιμή ±Τυπική απόκλιση	p
Ηλικία (έτη)	Φυσιολογική OGTT	16	11,4 ± 2,1	.079
	Διαταραγμένη OGTT	14	12,8 ± 1,9	
BMI (kg/m^2)	Φυσιολογική OGTT	16	27± 4,4	.909
	Διαταραγμένη OGTT	14	27,3 ± 4,8	
BMI%	Φυσιολογική OGTT	16	92,8 ± 13,9	.670
	Διαταραγμένη OGTT	14	90,6 ±14,5	
Γλυκόζη t=0 (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	16	88,9 ± 8,0	.115
	Διαταραγμένη OGTT	14	96,6 ± 16,7	
Ινσουλίνη t=0 (mIU/L)	Φυσιολογική OGTT	16	15,7 ± 6,9	**.051**
	Διαταραγμένη OGTT	14	24,2 ± 14,9	
Χοληστερόλη (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	16	175,2 ± 26	.905
	Διαταραγμένη OGTT	14	176,4 ± 27,8	
Τριγκυκερίδια (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	16	70,8 ± 27,9	.238
	Διαταραγμένη OGTT	14	84,3 ± 33,3	
HDL (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	15	47,9 ± 8,5	.860
	Διαταραγμένη OGTT	14	48,6 ± 12,6	
LDL (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	15	116,2 ± 23,9	.407
	Διαταραγμένη OGTT	13	108,9 ± 21,7	
T3 (ng/ml)	Φυσιολογική OGTT	15	1,5 ± 0,3	**.021**
	Διαταραγμένη OGTT	12	1,8 ± 0,3	
T4 (mg/ml)	Φυσιολογική OGTT	15	8,7 ± 2,1	.322
	Διαταραγμένη OGTT	12	9,4 ± 1,2	

TSH (IU/ml)	Φυσιολογική OGTT	15	1,4 ± 0,7	.097
	Διαταραγμένη OGTT	12	2,2 ± 1,6	
FT4 (ng/ml)	Φυσιολογική OGTT	15	33,0 ± 121,7	.381
	Διαταραγμένη OGTT	12	1,6 ± 0,3	
HgbA1c (%)	Φυσιολογική OGTT	15	5± 0,6	**.058**
	Διαταραγμένη OGTT	13	5,5 ± 0,7	
Απολιποπρωτείνη a1 (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	13	138,3 ± 21	.198
	Διαταραγμένη OGTT	13	149,7 ± 22,8	
Απολιποπρωτείνη b (mg/dl)	Φυσιολογική OGTT	12	80,6 ± 15,7	.718
	Διαταραγμένη OGTT	12	78,2 ± 16,1	
Απολιποπρωτείνη b/Απολιποπρωτείνη a1	Φυσιολογική OGTT	12	0,6 ± ,1	.242
	Διαταραγμένη OGTT	12	0,5 ± 0,1	

Πίνακας 1. *Βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά παιδιών χωρισμένων βάσει της δοκιμασίας της OGTT.*

Στον πίνακα 2 παρουσιάζεται η μέση τιμή των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών του υπό μελέτη πληθυσμού χωρισμένου βάσει του BMI% σε παχύσαρκα και μη παιδιά. Όπως φαίνεται βρέθηκαν οι κάτωθι διαφορές στις δύο υποομάδες με στατιστική σημαντικότητα p-value<0.05: στα παχύσαρκα παιδιά ήταν αυξημένο το BMI%, τα τριγλυκερίδια και η απολιποπρωτείνη a1 ενώ μειωμένη ήταν η HDL.

	BMI%	**N**	**Μέση τιμή± Τυπική απόκλιση**	**p**
Ηλικία (έτη)	<95	9	12,3 ± 1,9	
	>=95	21	11,9 ± 2,2	.657

BMI (kg/m^2)	<95	9	21,7 ± 3,3	**<.001**
	>=95	21	29,5 ± 2,4	
BMI%	<95	9	77,4 ± 19,5	**<.001**
	>=95	21	97,9 ± 0,7	
Γλυκόζη t=0 (mg/dl)	<95	9	97,1 ± 20,5	.216
	>=95	21	90,5 ± 8,3	
Ινσουλίνη t=0 (mIU/L)	<95	9	15,7 ± 10,9	.239
	>=95	21	21,4 ± 12,2	
Χοληστερόλη (mg/dl)	<95	9	178,1 ± 19,9	.760
	>=95	21	174,8 ± 29,2	
Τριγκυκερίδια (mg/dl)	<95	9	55,4 ± 19,4	**.009**
	>=95	21	86,4 ± 30,3	
HDL (mg/dl)	<95	9	54,7 ± 13	**.025**
	>=95	20	45,4 ± 8	
LDL (mg/dl)	<95	9	113,2 ± 20,2	.950
	>=95	19	112,6 ± 24,4	
T3 (ng/ml)	<95	9	1,8 ± 0,4	.465
	>=95	18	1,6 ± 0,3	
T4 (mg/ml)	<95	9	9± 2,4	.994
	>=95	18	9± 1,5	
TSH (IU/ml)	<95	9	1,3 ± 0,8	.181
	>=95	18	2,0 ± 1,4	
FT4 (ng/ml)	<95	9	1,4±0,3	.485
	>=95	18	27,9±111	

HgbA1c (%)	<95	9	5,2 ± 0,9	.733
	>=95	19	5,2 ± 0,6	
Απολιποπρωτείνη a1 (mg/dl)	<95	9	156,8 ± 20,3	**.03**
	>=95	17	137,2 ± 20,7	
Απολιποπρωτείνη b (mg/dl)	<95	8	74,8 ± 9,9	.321
	>=95	16	81,7 ± 17,7	
Απολιποπρωτείνη b/Απολιποπρωτείνη a1	<95	8	0,5 ± 0,1	**.021**
	>=95	16	0,6 ± 0,1	

Πίνακας 2. *Βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά παιδιών χωρισμένων βάσει του BMI% (>=95% παχύσαρκα, <95 νορμοβαρή/ υπέρβαρα).*

8.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΟΡΤΙΣΗΣ ΜΕ ΓΛΥΚΟΖΗ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ, ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ OGTT

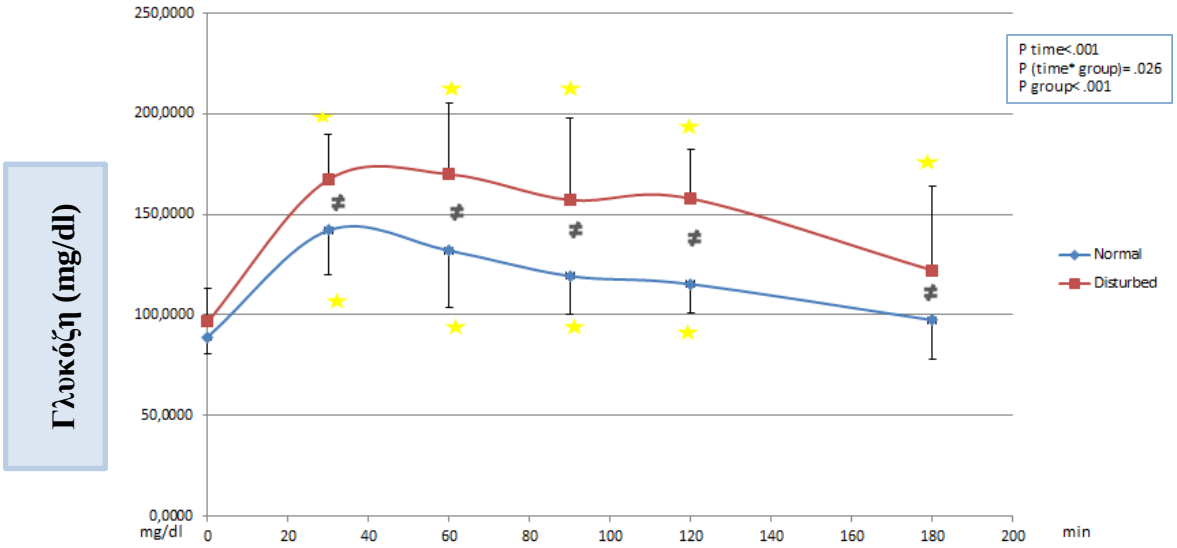
Για τους παρακάτω συμβολισμούς ισχύει:

☆ p≤.05. Διαφοροποίηση του υπό μελέτη παράγοντα σε σχέση με το t=0.

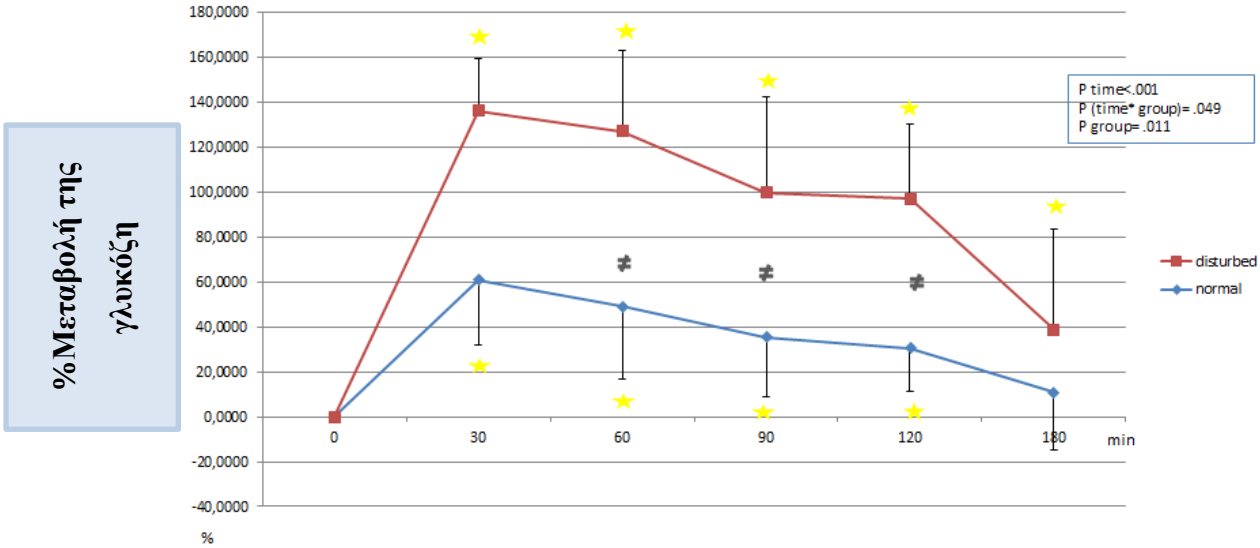
≠ p≤.05. Τα παιδιά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT διαφοροποιούνται στον υπό μελέτη παράγοντα σε σχέση με αυτά με διαταραγμένη OGTT για κάθε t.

8.3.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

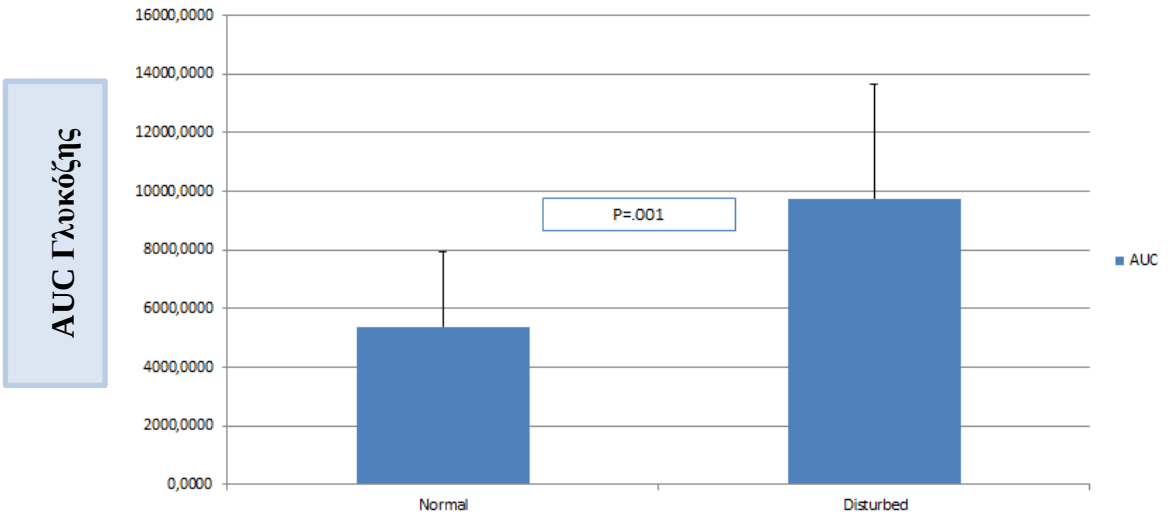
Η πρόσληψη 75gr γλυκόζης οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων υπεργλυκαιμίας, εκατοστιαίας μεταβολής της γλυκόζης και AUC γλυκόζης και στις 2 ομάδες παιδιών, με τα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT να έχουν υψηλότερες τιμές. Τα παιδιά αυτά παρουσίασαν υψηλότερο σημείο μέγιστης τιμής γλυκόζης κατά τη δοκιμασία και μετά την πάροδο 3 ωρών, η γλυκόζη τους δεν επανήλθε στα αρχικά της επίπεδα.



Σχήμα 1. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της γλυκόζης (mg/dl) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



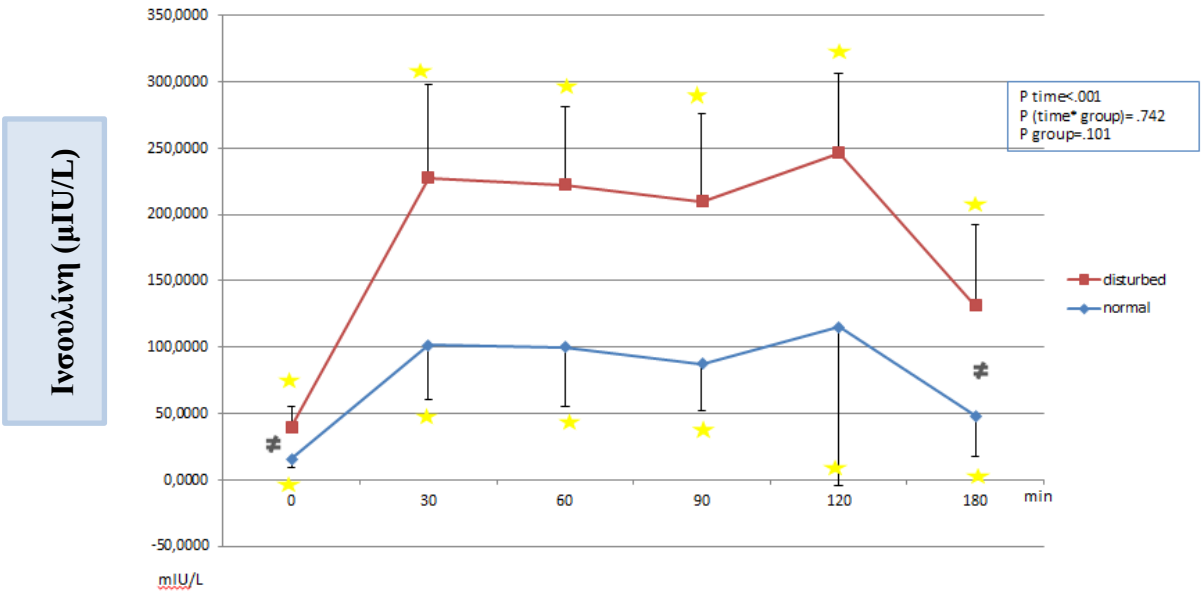
Σχήμα 2. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της γλυκόζης από την αρχική τιμή, σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



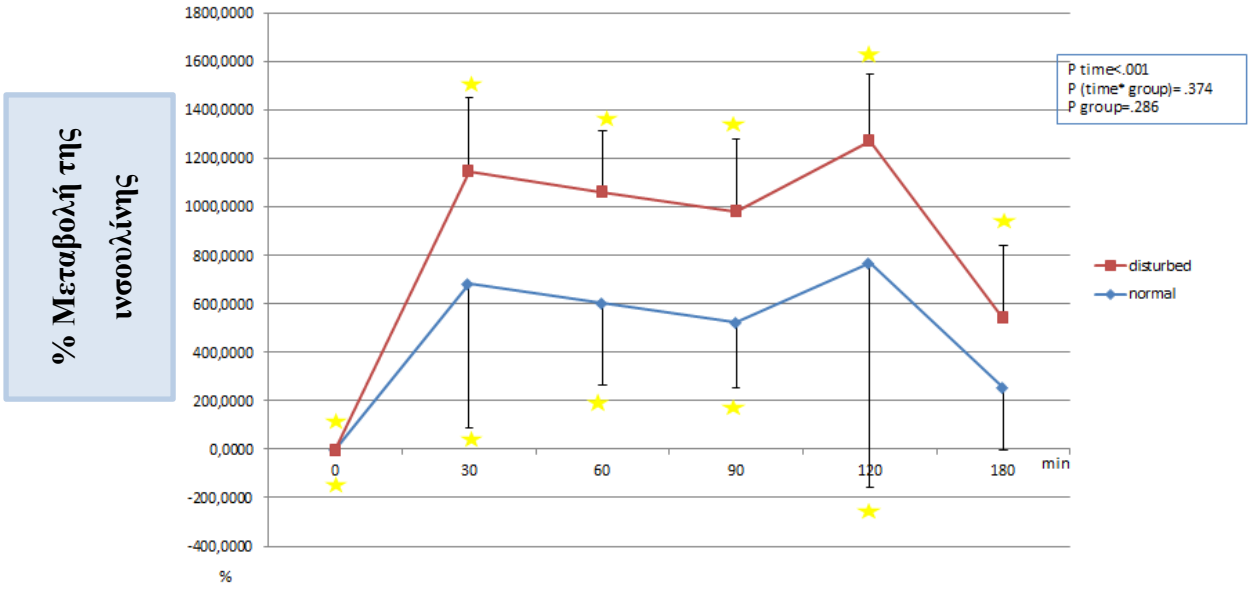
Σχήμα 3. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης της γλυκόζης.*

8.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

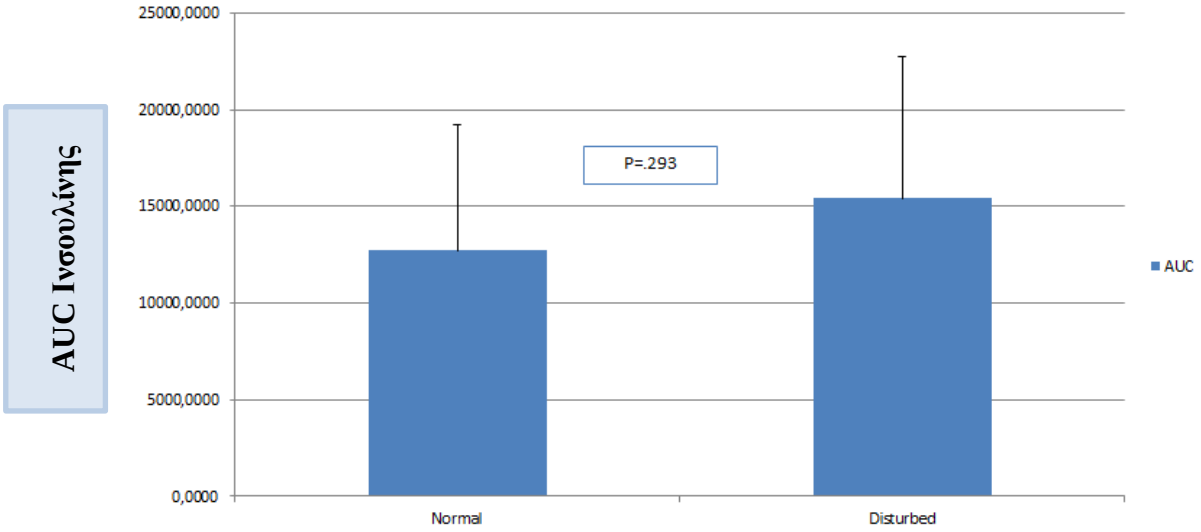
Η πρόσληψη αυξανόμενων ποσοτήτων γλυκόζης οδήγησε σε αύξηση των μετα-φορτισιακών επιπέδων της ινσουλίνης και της εκατοστιαίας μεταβολής της ινσουλίνης με τα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT να έχουν υψηλότερες τιμές.



Σχήμα 4. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση της ινσουλίνης (μIU/L) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



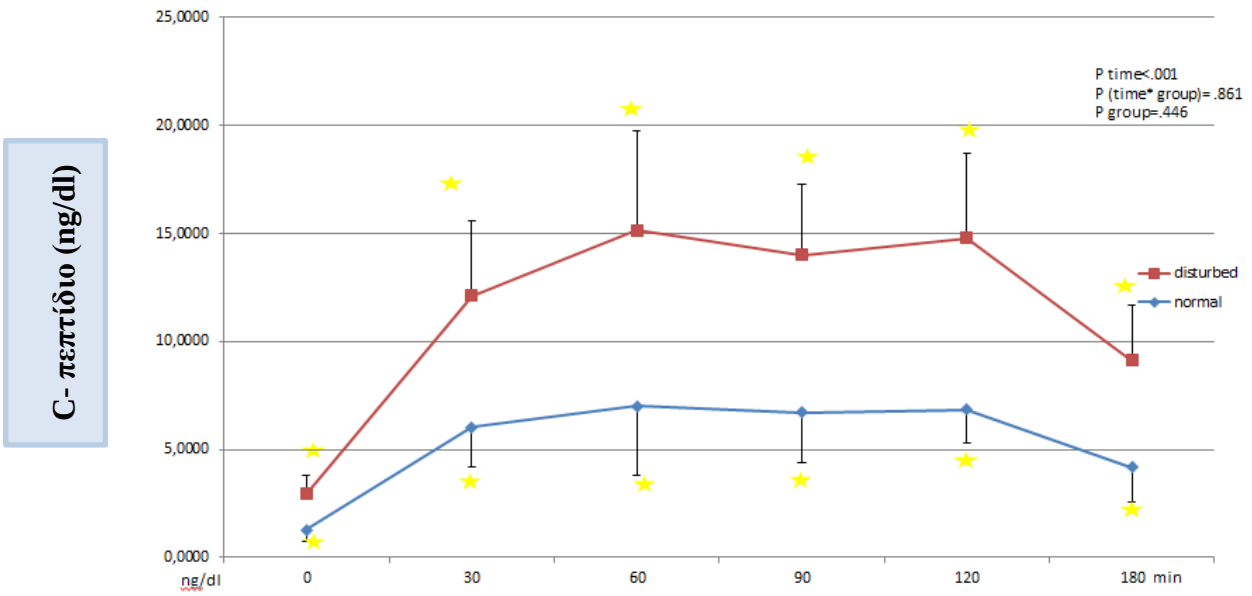
Σχήμα 5. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της ινσουλίνης από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



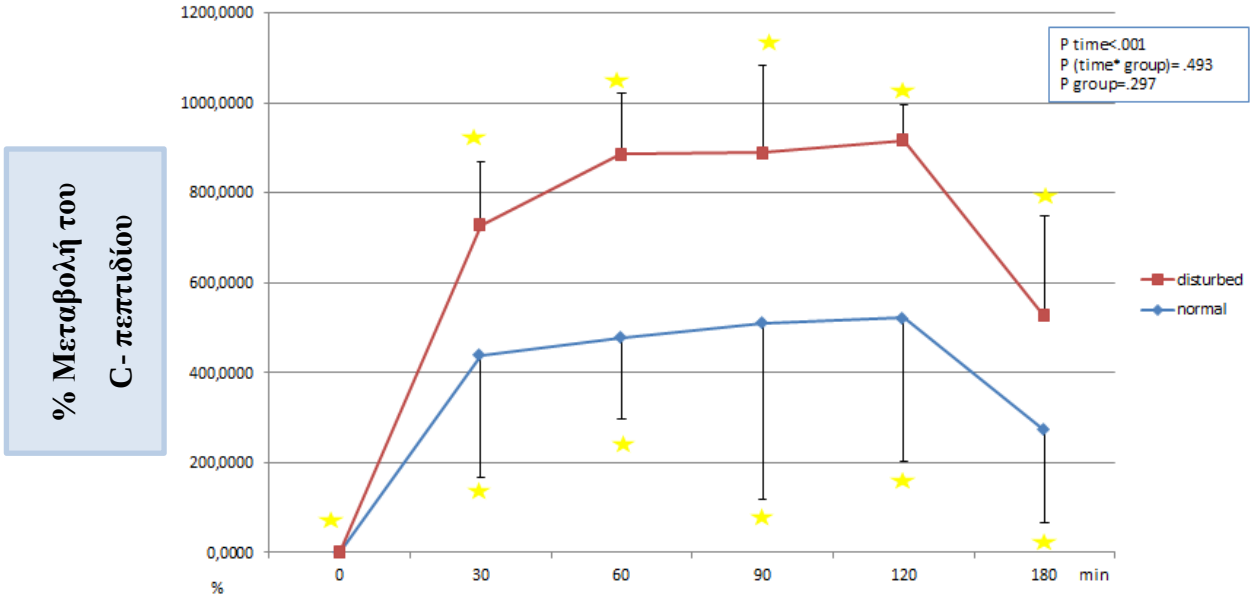
Σχήμα 6. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης της ινσουλίνης.*

8.3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ

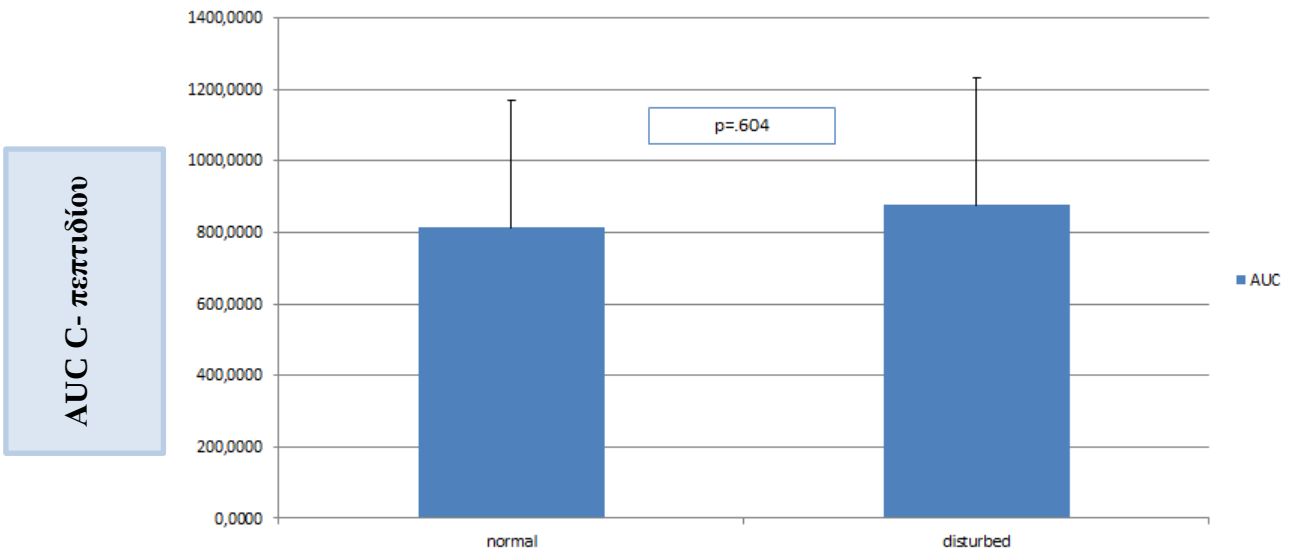
Αναφορικά με το c- πεπτίδιο, η επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη ήταν όμοια με αυτή της ινσουλίνης.



Σχήμα 7. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση του c-πεπτιδίου (ng/dl) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



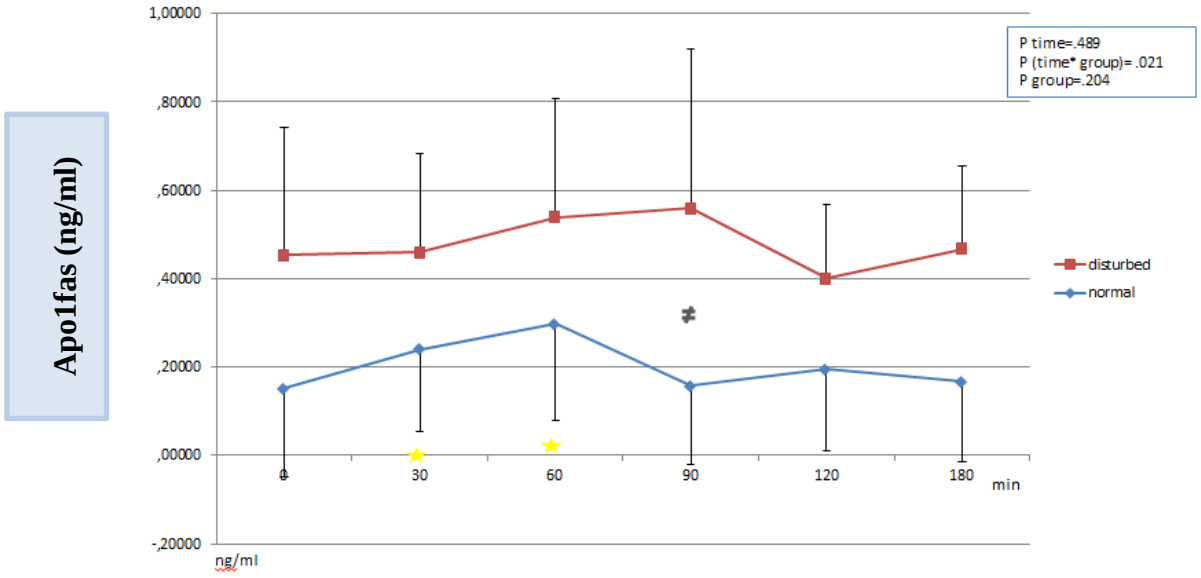
Σχήμα 8. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης του c-πεπτιδίου από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



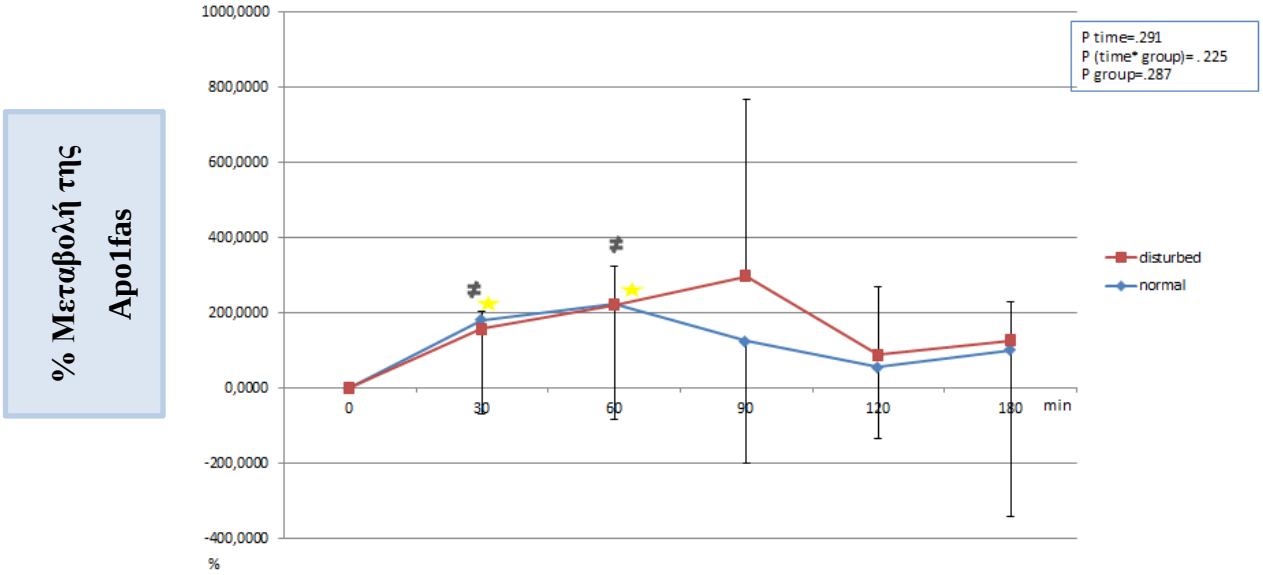
Σχήμα 9. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης του C- πεπτιδίου.*

8.3.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

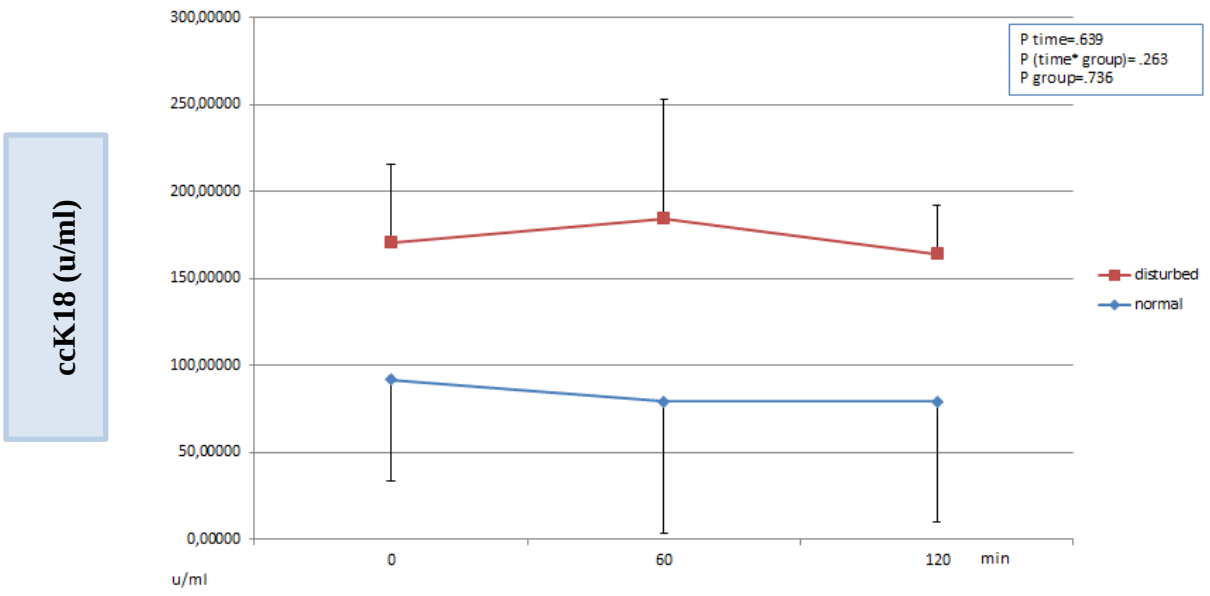
Η συγκέντρωση της Apo1fas στα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT φάνηκε να είναι υψηλότερη. Και στις 2 υποομάδες παιδιών η αρχική συγκέντρωση της Apo1fas ήταν σχεδόν ίδια με αυτή που προέκυψε μετά την πάροδο 3 ωρών. Ωστόσο διαφορετικός ήταν ο τρόπος με το οποίο μεταβάλλονταν οι συγκεντρώσεις στην πάροδο του χρόνου. Χαρακτηριστικότερο σημείο είναι το t=60: στα παιδιά με διαταραγμένη OGGT η μεταβολή στο t=60 είναι -2,24% ενώ στα παιδιά με φυσιολογική 221%. Στις υποομάδες που μελετήθηκαν δεν υπήρξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά για το ccK18. Ωστόσο ήταν στατιστικά σημαντικός ο διαφορετικός τρόπος με τον οποίο μεταβάλλονται οι καμπύλες εκατοστιαίας μεταβολής του ccK18. Για το t=60 η εκατοστιαία μεταβολή των παιδιών με διαταραγμένη OGTT ήταν 0,36% ενώ των παιδιών με φυσιολογική -0,24%.



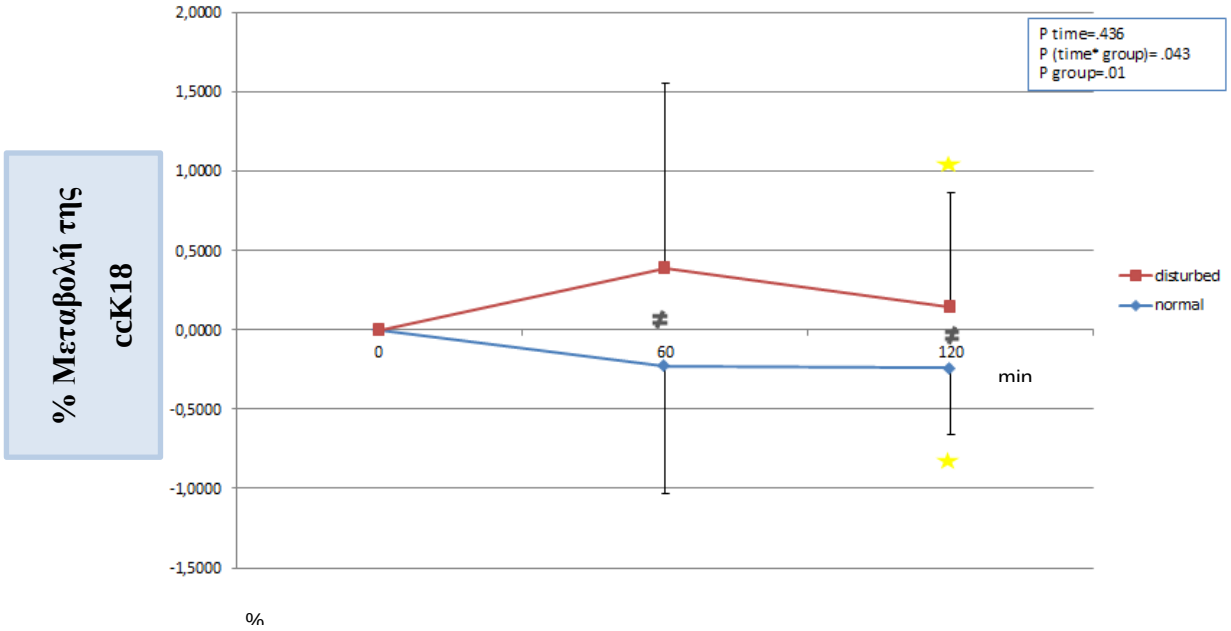
Σχήμα 10. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση της Apo1fas (ng/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 11. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της Apo1fas από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



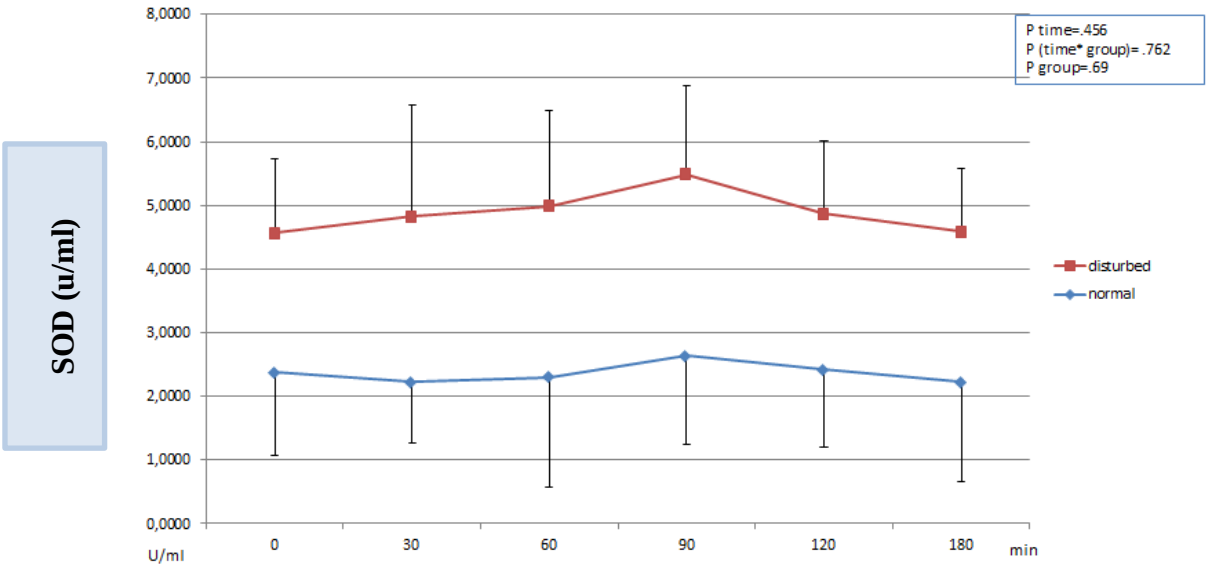
Σχήμα 12. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση της ccK18 (u/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



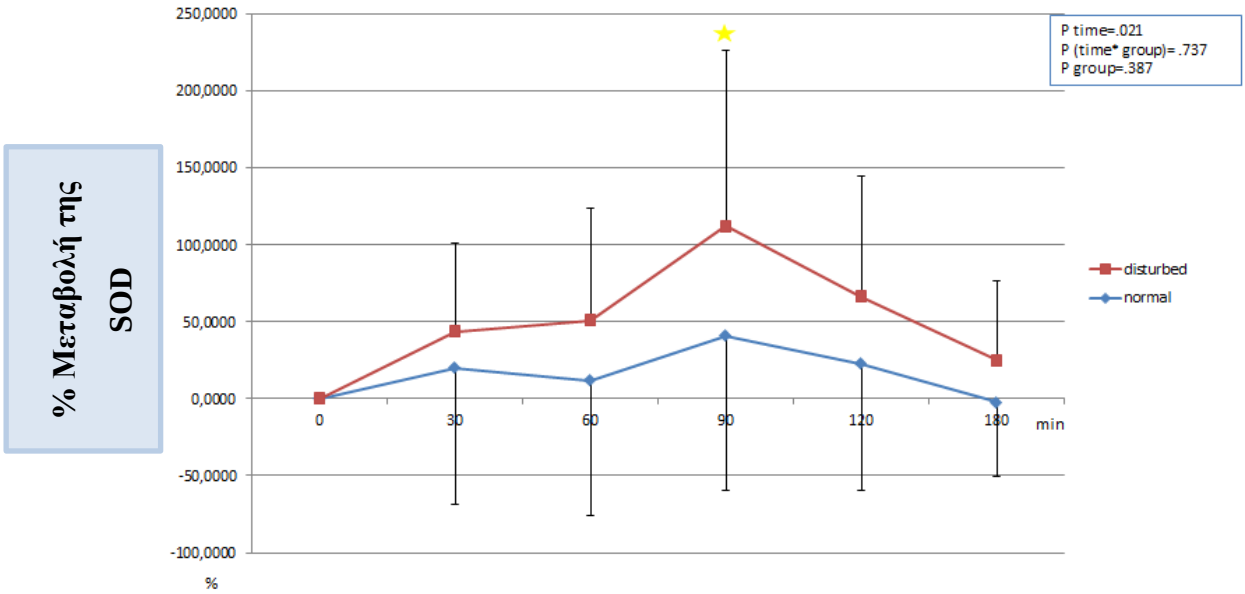
Σχήμα 13. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή συγκέντρωση της ccK18 σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*

8.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

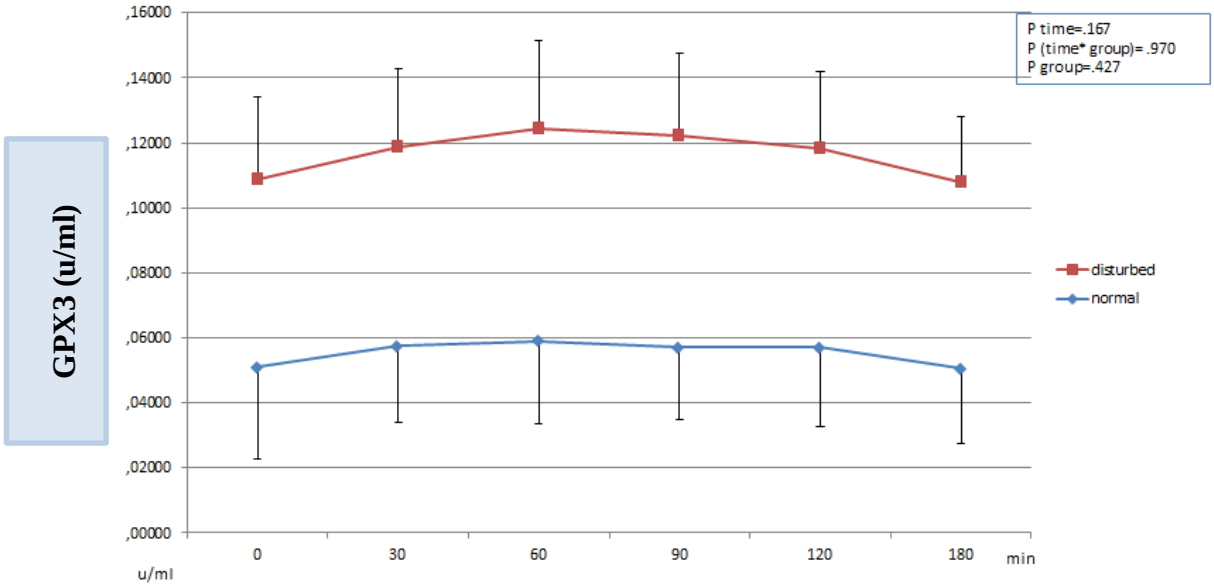
Η συγκέντρωση της SOD στα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT φάνηκε να είναι υψηλότερη χωρίς όμως να προκύπτει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Ομοίως και στη GPX3. Αντίθετα στις εκατοστιαίες μεταβολές υπήρξαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές: αναφορικά με την SOD στα παιδιά με διαταραγμένη γλυκόζη, 71% ήταν η εκατοστιαία μεταβολή σχέση με το t=0 ενώ στη GPX3 μεγαλύτερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα παιδιά με φυσιολογική γλυκόζη για το t=90 της τάξης του 27%.



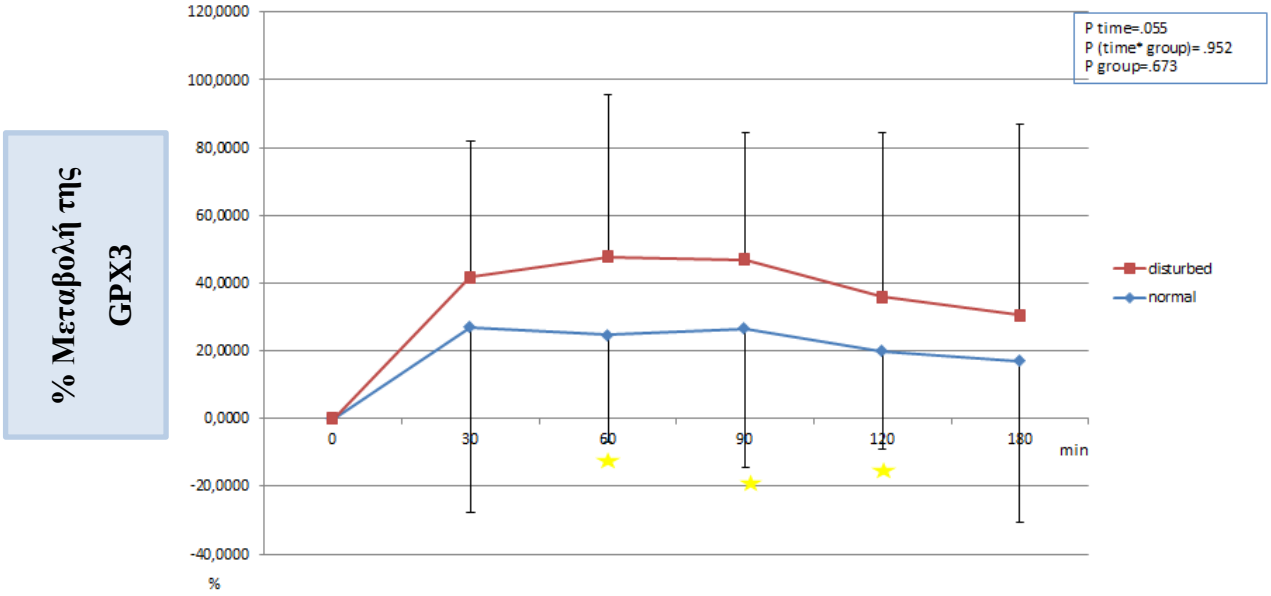
Σχήμα 14. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση της SOD (u/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 15. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της SOD από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 16. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην συγκέντρωση της GPX3 (u/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 17. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της GPX3 από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*

8.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΟΡΤΙΣΗΣ ΜΕ ΓΛΥΚΟΖΗ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ, ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ BMI%

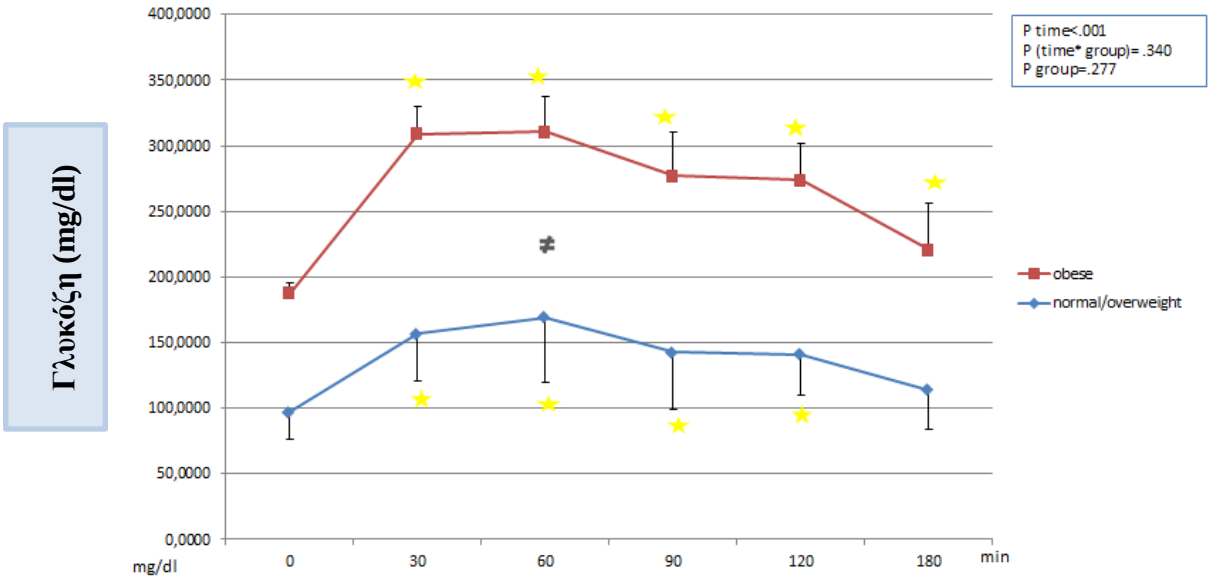
Για τους παρακάτω συμβολισμούς ισχύει:

★ p≤.05. Διαφοροποίηση του υπό μελέτη παράγοντα σε σχέση με το t=0.

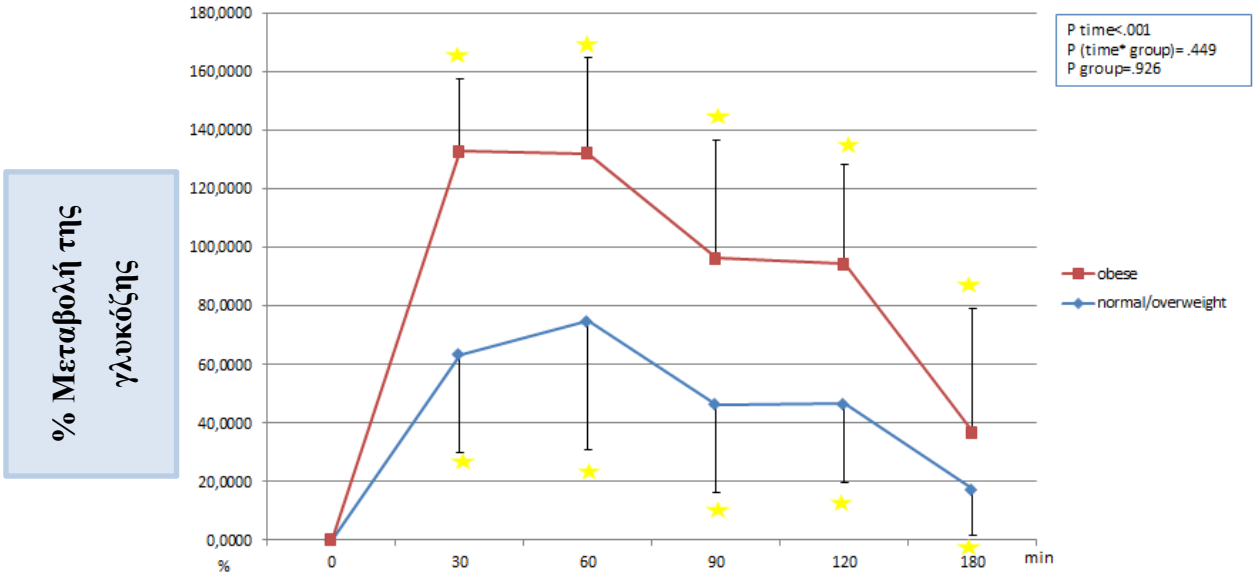
≠ p≤.05. Τα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά διαφοροποιούνται στον υπό μελέτη παράγοντα σε σχέση με τα παχύσαρκα για κάθε t.

8.4.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

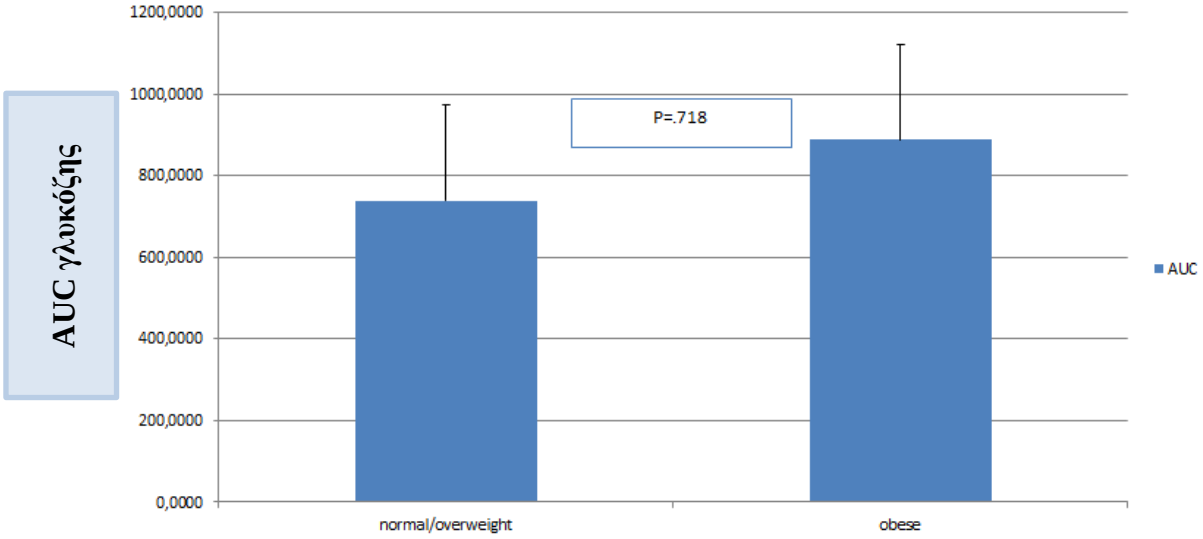
Η πρόσληψη 75gr γλυκόζης οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων υπεργλυκαιμίας και εκατοστιαίων μεταβολών και στις 2 ομάδες παιδιών, με τα παχύσαρκα παιδιά να έχουν υψηλότερες τιμές.



Σχήμα 18. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της γλυκόζης (mg/dl) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



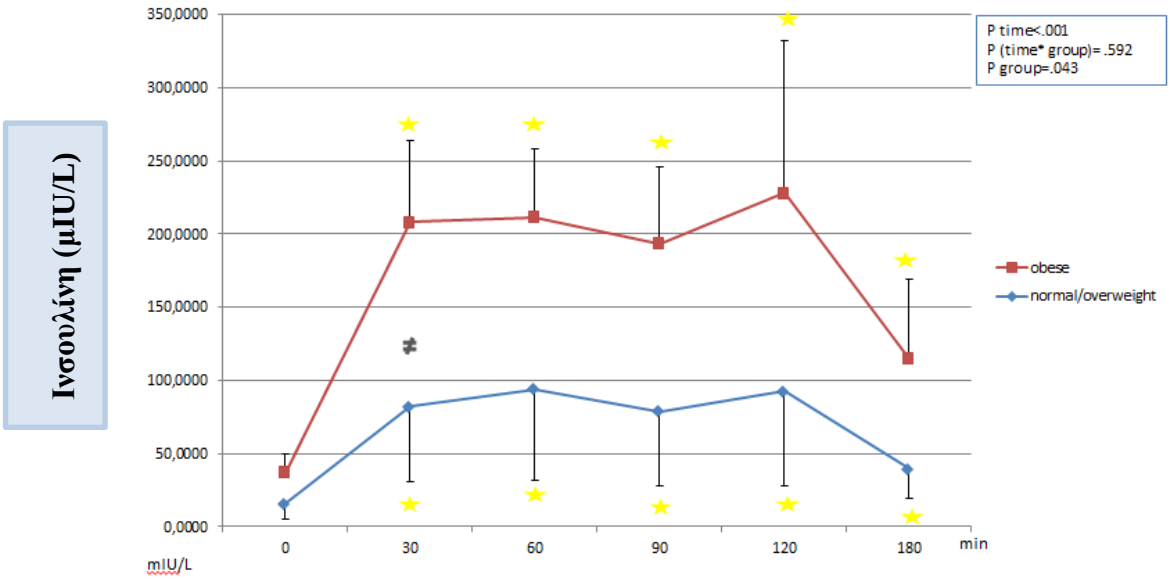
Σχήμα 19. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της γλυκόζης από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



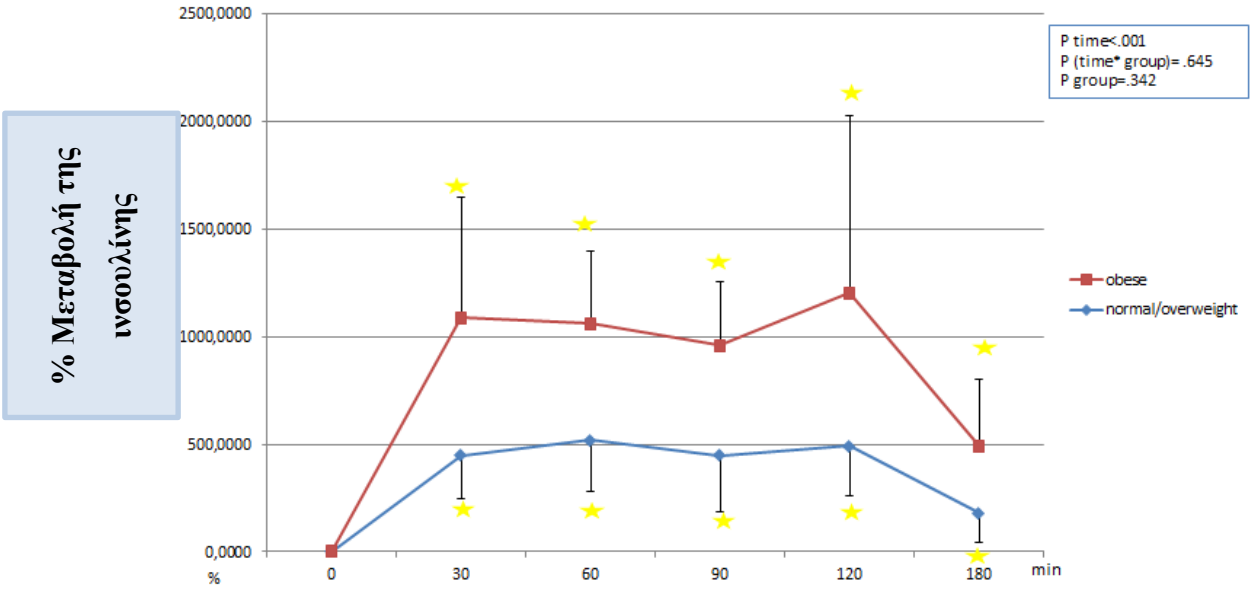
Σχήμα 20. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης της γλυκόζης.*

8.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

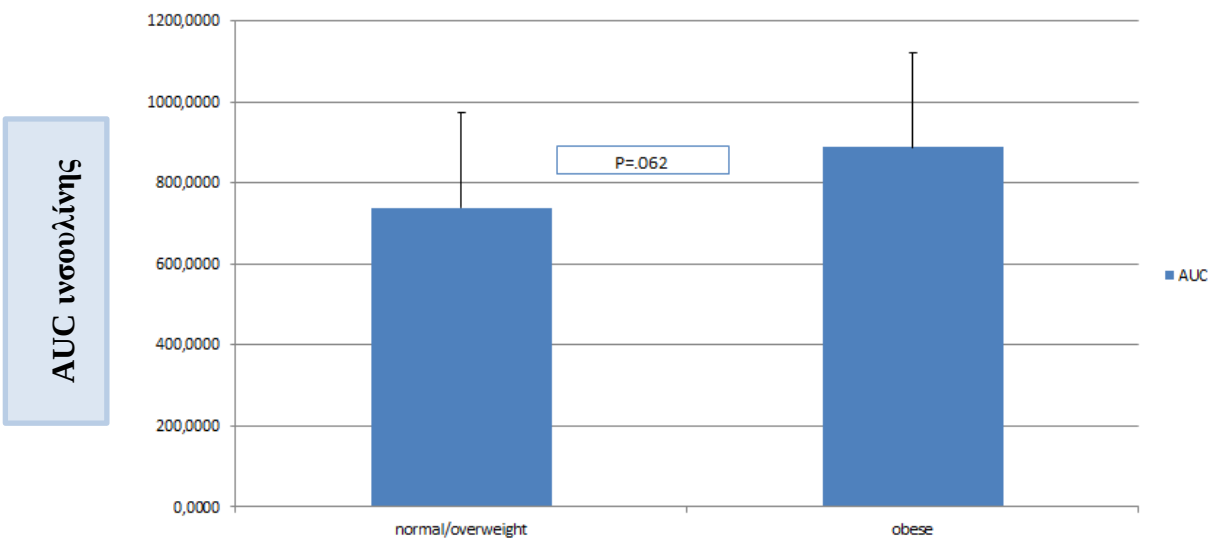
Η φόρτιση με γλυκόζη οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης και στις 2 ομάδες παιδιών, με τα παχύσαρκα παιδιά να έχουν υψηλότερες τιμές. Οι καμπύλες μεταβάλλονται με όμοιο τρόπο αλλά υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις των δύο υποομάδων.



Σχήμα 21. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της ινσουλίνης (mIU/L) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



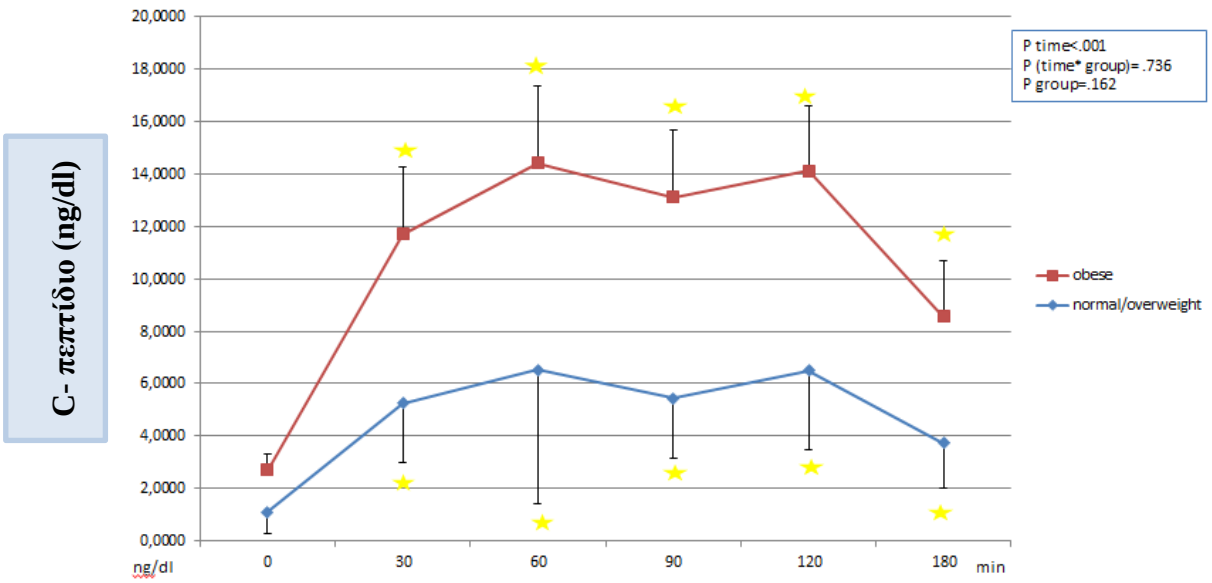
Σχήμα 22. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της ινσουλίνης από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



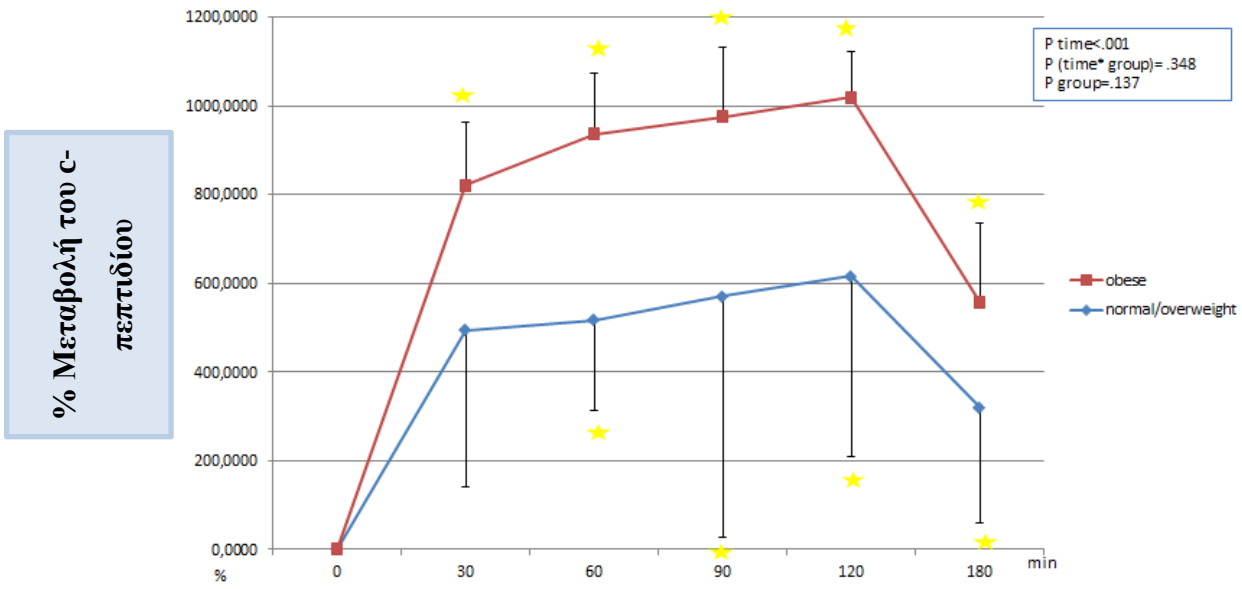
Σχήμα 23. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης της ινσουλίνης.*

8.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ

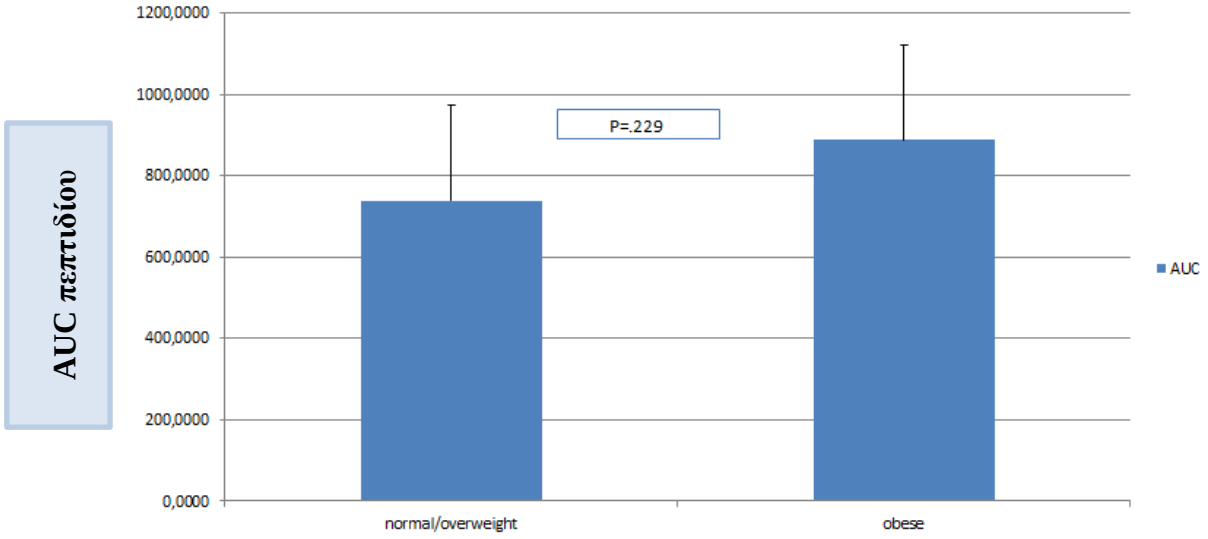
Αναφορικά με το c- πεπτίδιο, η επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη ήταν όμοια με αυτή της γλυκόζης.



Σχήμα 24. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση του c-πεπτιδίου (ng/dl) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



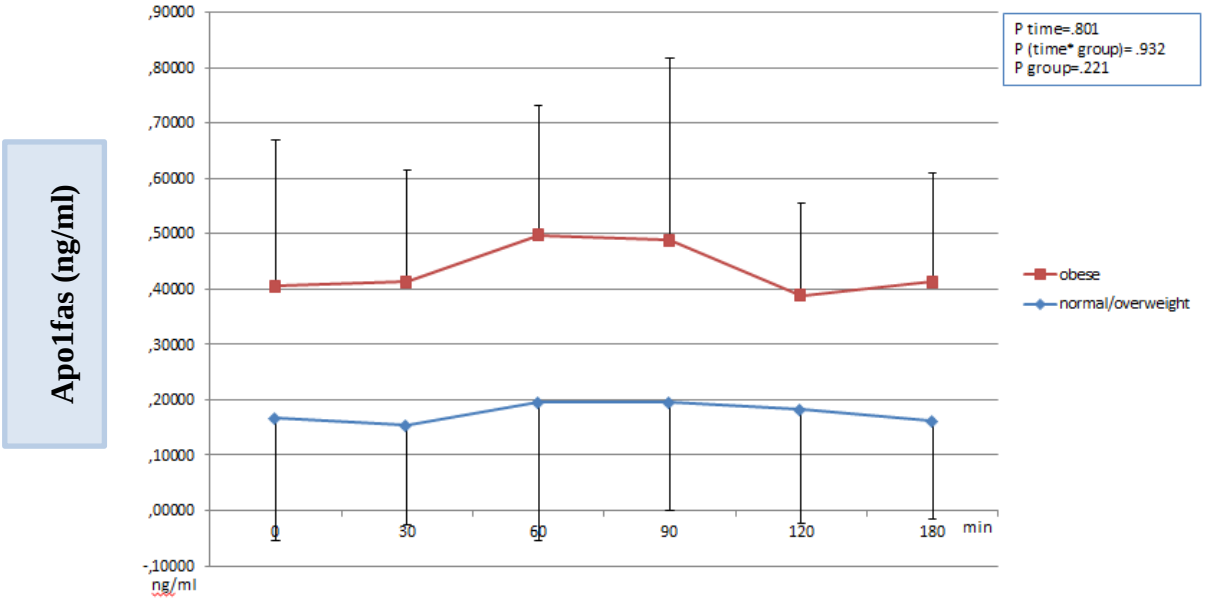
Σχήμα 25. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης του c- πεπτιδίου από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



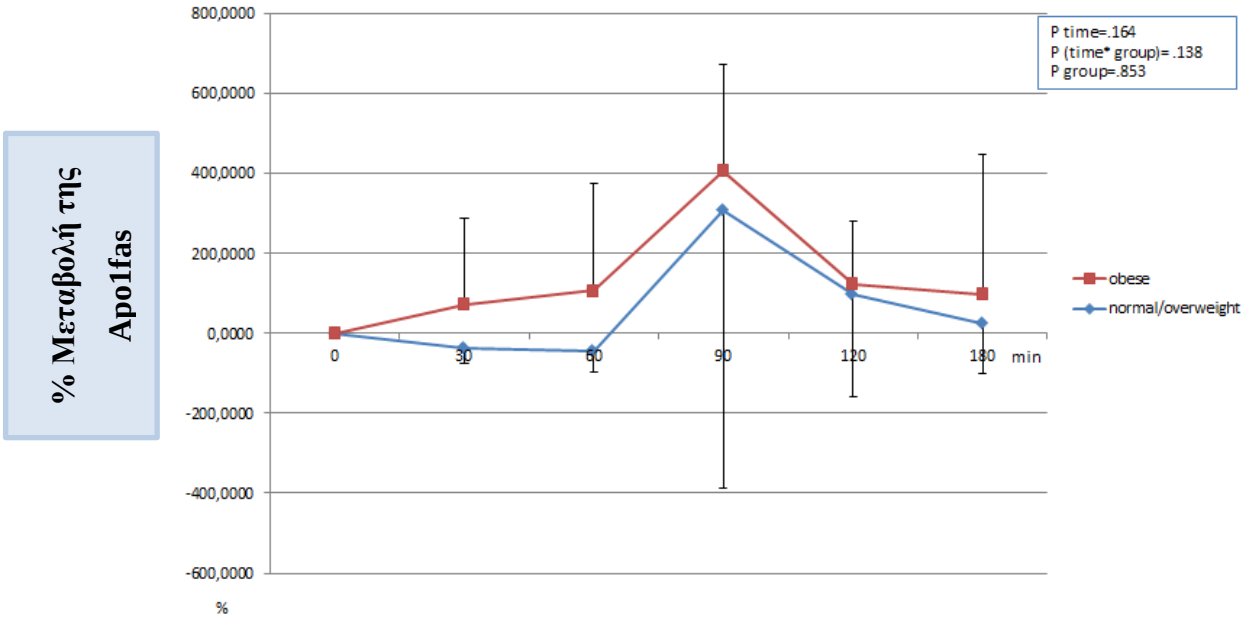
Σχήμα 26. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve) της συγκέντρωσης του c- πεπτιδίου.*

8.4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

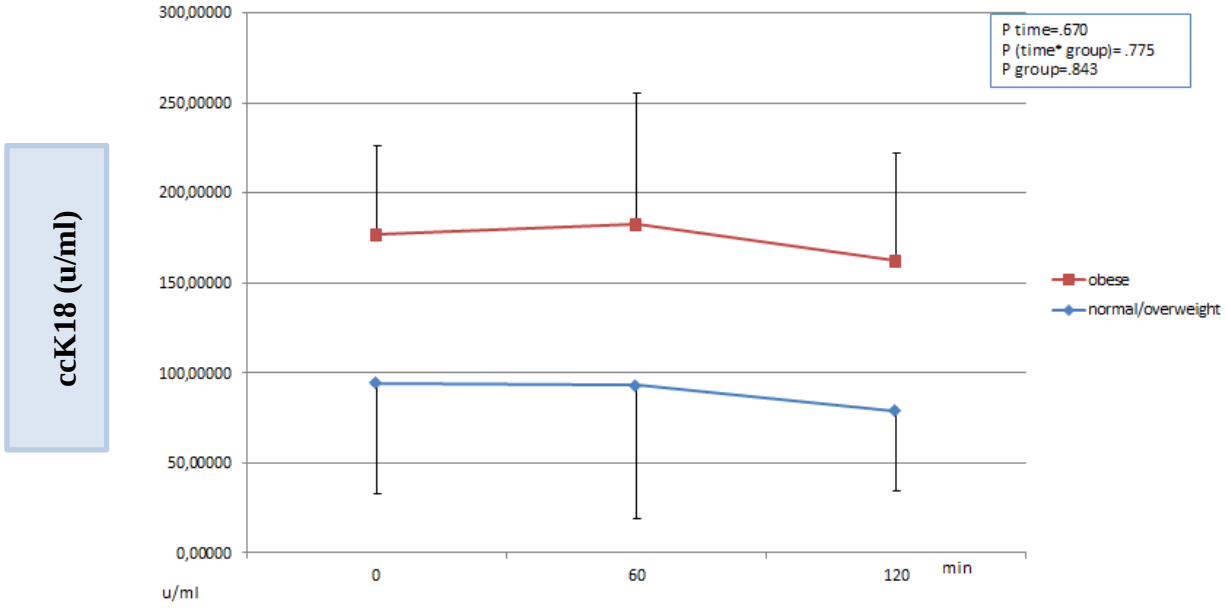
Δεν υπήρξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά για την Apo1fas και ccK18 μεταξύ παχύσαρκων και νορμοβαρών/ υπέρβαρων παιδιών.



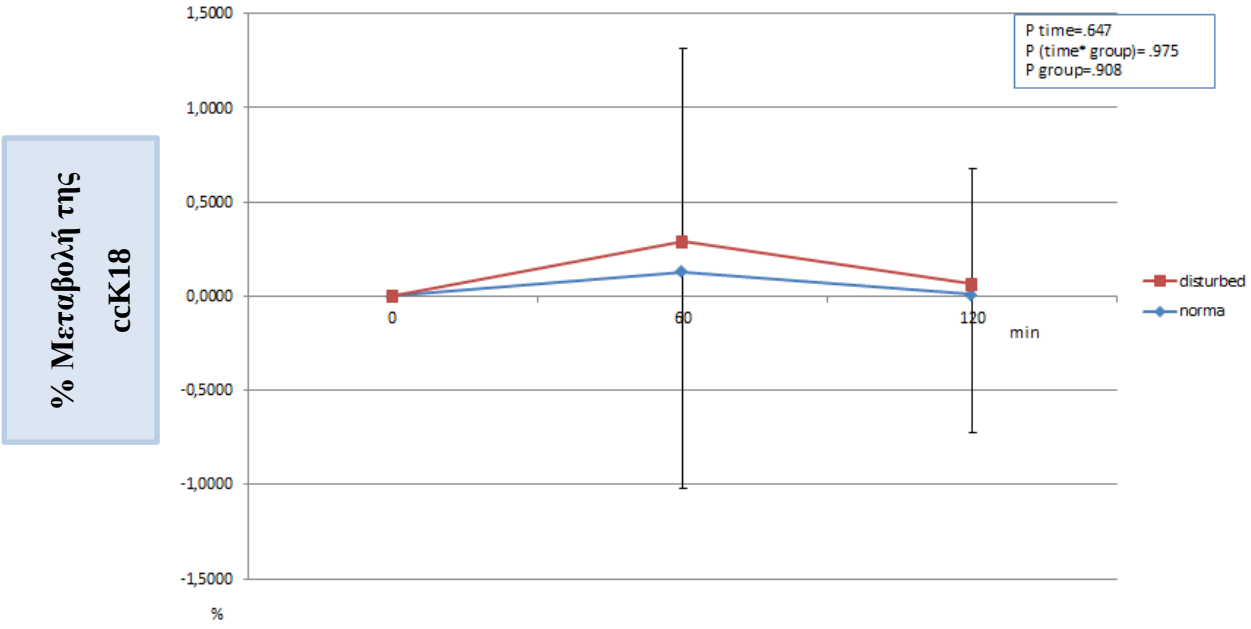
Σχήμα 27. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της Apo1fas (ng/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 28. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην ποσοστιαία μεταβολή της Apo1fas από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



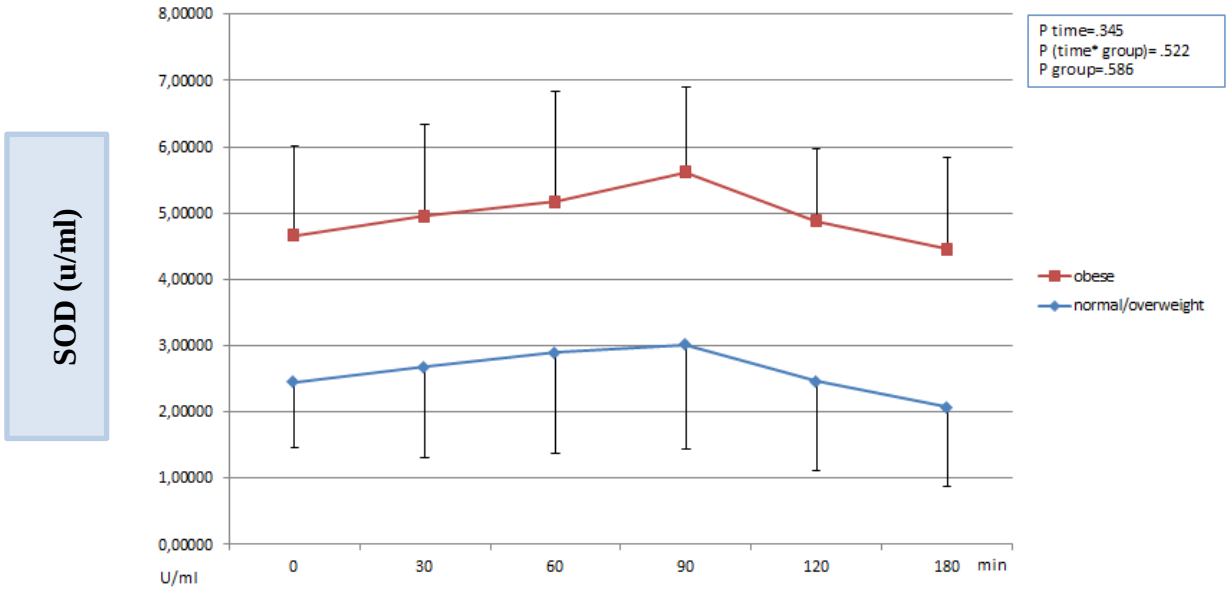
Σχήμα 29. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της ccK18 (U/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



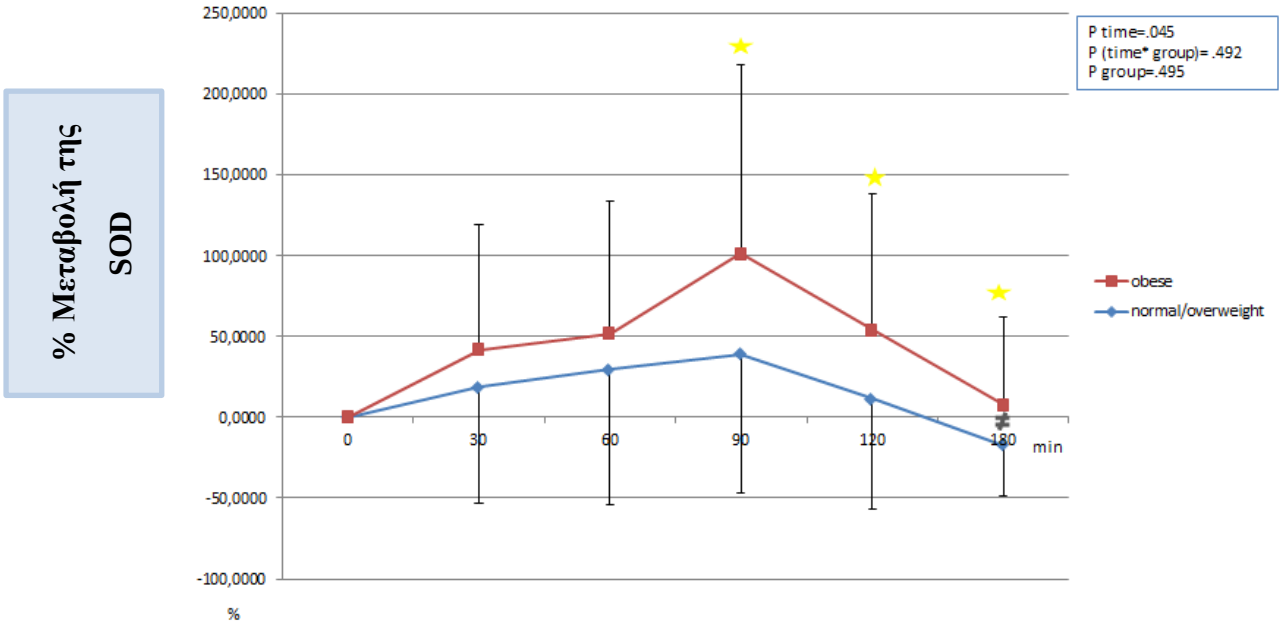
Σχήμα 30. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της ccK18 σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*

8.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

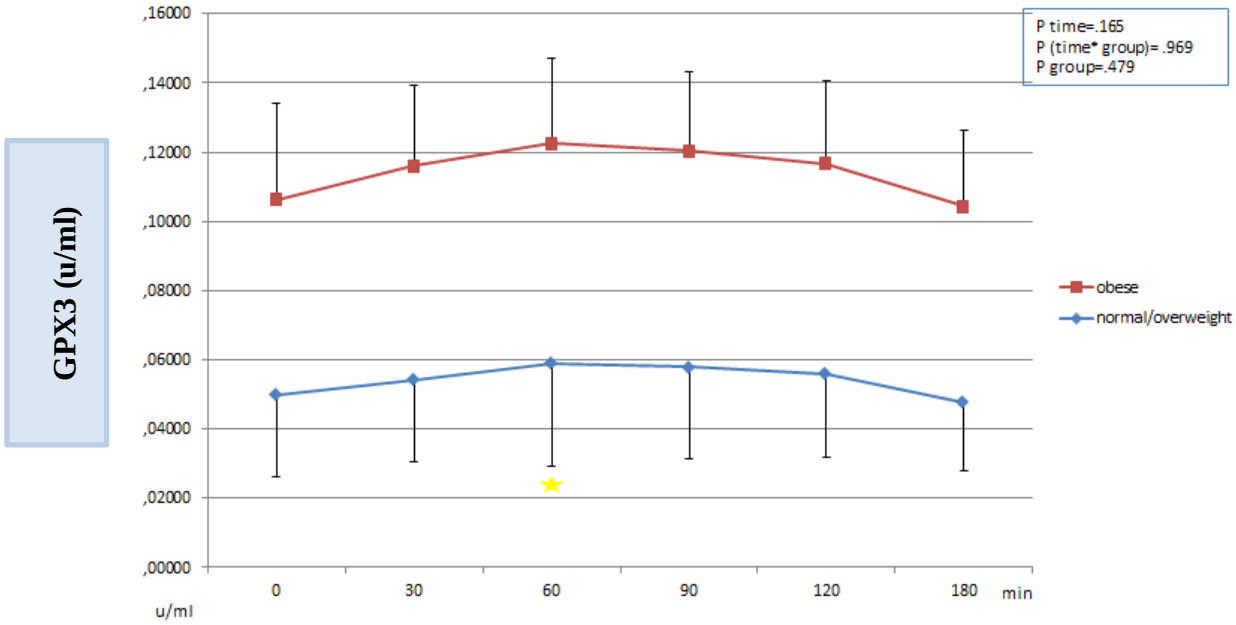
Η συγκέντρωση της SOD στα παχύσαρκα παιδιά φάνηκε να είναι υψηλότερη χωρίς όμως να προκύπτει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Ομοίως και στη GPX3. Αντίθετα στις εκατοστιαίες μεταβολές υπήρξαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές: αναφορικά με την SOD στα παχύσαρκα παιδιά, 62% ήταν η εκατοστιαία μεταβολή στο t=90 ενώ στη GPX3 μεγαλύτερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα παχύσαρκα παιδιά στο t=60 της τάξης του 27% και στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα επίσης στο t=60 της τάξης του 20%



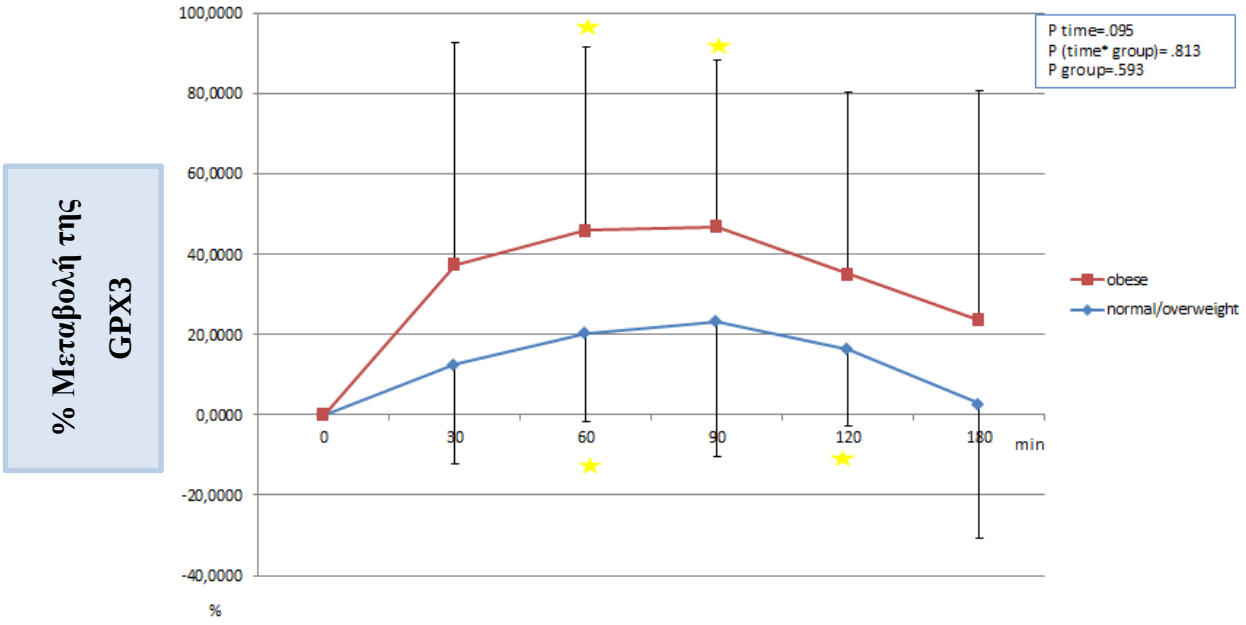
Σχήμα 31. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της SOD (U/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 32. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της SOD από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 33. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στη συγκέντρωση της GPX3 (U/ml) σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*



Σχήμα 34. *Επίδραση της φόρτισης με γλυκόζη (75gr) στην εκατοστιαία μεταβολή της GPX3 από την αρχική τιμή σε χρονικό διάστημα 3 ωρών.*

8.5 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ

Οι συσχετίσεις που αφορούν τη γλυκόζη, την ινσουλίνη, την HgbA1c, c- πεπτίδιο, και το IGF- 1 με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά και την ηλικία, στο χρόνο t=0, παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

	HDL	**Τριγλυκερίδια**	**Απολιποπρωτείνη α1**	**T3**	**HgbA1**	**C-πεπτίδιο**	**Ηλικία**
Γλυκόζη (N=30)	r= - .423 p= .022	NS	NS	NS	r= .659 p <.001	NS	NS
Ινσουλίνη (N=30)	r= -.377 p= .044	r= .404 p= .027	r= -.393 p= .047	NS	NS	r= .712 p <.001	NS
HgbA1c (N=28)	NS	NS	NS	r= .475 p =.012	-	NS	NS
C-πεπτίδιο	NS	NS	NS	NS	NS	-	r= .447 p= .042
IGF- 1 (N=26)	r= -.478 p=.016	NS	NS	NS	NS	r= .583 p= .009	r= .534 p= .042

Πίνακας 3. *Συσχετίσεις που αφορούν τη γλυκόζη στο σύνολο των παιδιών. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την απολιποπρωτείνη α1, απολιποπρωτείνη b και το λόγο απολιποπρωτείνη b/ απολιποπρωτείνη α1 με τα βασικά χαρακτηριστικά του λιπιδαιμικού προφίλ των παιδιών στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

	HDL	**LDL**	**Χοληστερόλη**	**Τριγλυκερίδια**
Απολιποπρωτείνη α1(N=26)	r= .820 p<. 001	NS	r= .557 p=. 003	NS

Απολιποπρωτείνη b (N=24)	NS	r= .828 p<. 001	r= .785 p<. 001	r= .475 p=. 019
Απολιποπρωτείνη b/ Απολιποπρωτείνη α1 (N=24)	r= -.670 p<. 001	r= .594 p=. 003	NS	r= .553 p=. 05

Πίνακας 4. *Συσχετίσεις που αφορούν τις απολιποπρωτείνες στο σύνολο των παιδιών. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την Apo1fas και το ccK18 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 5.

	BMI%	**HDL**
Apo1fas **(N=30)**	NS	r= -.355 p= .059
ccK18 **(N=29)**	r= -.484 p= .008	NS

Πίνακας 5. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες απόπτωσης στο σύνολο των παιδιών. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την SOD και τη GPX3 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 6.

	GPX3	**Ινσουλίνη**	**T3**	**FT4**	**IGF-1**	**Απολιποπρωτείνη α1**
SOD (N=28)	r= .366 p=. 055	NS	NS	NS	NS	NS
GPX3 (N=29)	-	r= .399 p=. 032	r= .528 p=. 006	r= .528 p=. 006	r= -.422 p=. 035	r= .579 p=. 002

Πίνακας 6. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες οξειδωτικού στρες στο σύνολο των παιδιών. (NS= non-significant correlation)*

8.6 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ OGTT

8.6.1 ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ OGTT

Οι συσχετίσεις που αφορούν την ινσουλίνη, το c- πεπτίδιο, και το IGF- 1 με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, στο χρόνο t=0, παρουσιάζονται στον πίνακα 7. Με την γλυκόζη και τη HgbA1c δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

	BMI%	**Ηλικία**	**HDL**	**T3**	**Απολιπο πρωτείνη α1**	**C- πεπτίδιο**	**IGF- 1**
Ινσουλίνη (N=16)	NS	NS	r= -.516 p=. 049	r= .537 p=. 039	r= -.576 p=. 039	r= .651 p=. 016	NS
C- πεπτίδιο (N=13)	r= .581 p=. 038	NS	NS	NS	NS	NS	r= .710 p=. 001
IGF- 1	NS	r= .547	NS	NS	NS	NS	NS

(N=14)		p=. 043					

Πίνακας 7. *Συσχετίσεις που αφορούν την ινσουλίνη στα παιδιά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την απολιποπρωτείνη α1, απολιποπρωτείνη b με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά των παιδιών στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

	IGF- 1	**Χοληστερόλη**
Απολιποπρωτείνη α1(N=13)	r= -.540 p=. 057	NS
Απολιποπρωτείνη b (N=12)	NS	r= .744 p=. 006

Πίνακας 8. *Συσχετίσεις που αφορούν τις απολιποπρωτείνες στα παιδιά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT.*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την Apo1fas και το ccK18 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 9.

	BMI%
Apo1fas **(N=16)**	r= -.571 p=. 021
ccK18 **(N=16)**	r= -.512 p=. 043

Πίνακας 9. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες απόπτωσης στα παιδιά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την GPX3 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 10. Αναφορικά με την SOD δεν υπήρξε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

	Ινσουλίνη	**FT4**	**HgbA1c**

GPX3 (N=15)	r= .575 p=. 025	r= .678 p=. 008	r= .663 p=. 01

Πίνακας 10. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες οξειδωτικού στρες στα παιδιά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT. (NS= non-significant correlation)*

8.6.2 ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΓΜΕΝΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ OGTT

Οι συσχετίσεις που αφορούν τη γλυκόζη, την ινσουλίνη, την HgbA1c και το c- πεπτίδιο, με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, στο χρόνο t=0, παρουσιάζονται στον πίνακα 11. Δεν παρουσιάστηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση σχετικά με το IGF- 1.

	BMI%	**ccK18**	**C- πεπτίδιο**	**Απολιποπρωτείνη α1**	**HgbA1c**
Γλυκόζη (N=14)	r= -.726 p=. 003	r= .550 p=. 052	NS	NS	r= .828 p<. 001
Ινσουλίνη (N=14)	NS	NS	r= .722 p=. 043	r= .878 p=. 021	NS
HgbA1c (N=13)	r= -.723 p=. 005	NS	NS	NS	NS

Πίνακας 11. *Συσχετίσεις που αφορά τη γλυκόζη στα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT. (NS= non-significant correlation)*

Σχετικά με τις απολιποπρωτείνες στην εν λόγω υποομάδα, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με εξαίρεση την: θετική συσχέτιση μεταξύ απολιποπρωτείνης b και τριγλυκεριδίων (r= . 645 και p=. 024).

Επίσης, δεν παρουσιάστηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση αναφορικά με την Apo1fas και το ccK18, πέραν αυτής που προαναφέρθηκε στον πίνακα 11.

Οι συσχετίσεις που αφορούν την SOD και τη GPX3 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 12.

	HgbA1c	**T3**	**IGF- 1**

SOD (N=13)	r= .622 p=. 031	NS	NS
GPX3 (N=14)	NS	r= .818 p=. 001	r= -.675 p=. 016

Πίνακας 12. *Συσχετίσεις που αφορά παράγοντες οξειδωτικού στρες στα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT. (NS= non-significant correlation*

8.7 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ BMI%

8.7.1 ΝΟΡΜΟΒΑΡΗ/ ΥΠΕΡΒΑΡΑ ΠΑΙΔΙΑ

Οι συσχετίσεις που αφορούν τη γλυκόζη, την ινσουλίνη, την HgbA1c, το c- πεπτίδιο, και το IGF- 1 με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, στο χρόνο t=0, παρουσιάζονται στον πίνακα 13.

	C-πεπτίδιο	**HgbA1c**	**HDL**	**Τριγλυκερίδια**	**Απολιποπρωτείνη α1**
Γλυκόζη (N=9)	NS	r= .840 p=. 005	r= .693 p=. 039	NS	NS
Ινσουλίνη (N=9)	r= .945 p=. 001	NS	NS	NS	NS
IGF-1 (N=9)	NS	NS	r= -.796 p=. 01	r= .774 p=. 014	r= - .727 p=. 027

Πίνακας 13. *Συσχετίσεις που αφορούν τη γλυκόζη στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ των απολιποπρωτείνων α1 και b καθώς και του λόγου απολιποπρωτείνη b/ απολιποπρωτείνη α1 με τα βασικά λιπιδαιμικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των παιδιών στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 14.

	Ηλικία	**HDL**	**LDL**
Απολιποπρωτείνη α1 (N=9)	r= -.762 p=. 017	r= .841 p=. 004	NS
Απολιποπρωτείνη b (N=8)	NS	NS	r= .860 p=. 006
Απολιποπρωτείνη b/ Απολιποπρωτείνη α1 (N=8)	NS	r= -.820 p=. 013	NS

Πίνακας 14. *Συσχετίσεις που αφορούν τις απολιποπρωτείνες στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την Apo1fas και το ccK18 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

	BMI%	**IGF-1**	**Τριγλυκερίδια**
Apo1fas (N=9)	NS	r= .671 p=. 048	r= .834 p=. 005
ccK18 (N=9)	r= -.855 p=. 003	NS	NS

Πίνακας 15. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες απόπτωσης στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που αφορούν την SOD και τη GPX3 στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 16.

	HgbA1c	**HDL**	**T3**	**Απολιποπρωτείνη b/**

				Απολιποπρωτείνη α1
SOD	r= .694 p=. 038	NS	NS	NS
GPX3	NS	r= .742 p=. 022	r= .654 p=. 056	r= -.734 p=. 038

Πίνακας 16. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες οξειδωτικού στρες στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

8.7.2 ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ ΠΑΙΔΙΑ

Οι συσχετίσεις που αφορούν την ινσουλίνη, την HgbA1c, το c- πεπτίδιο, και το IGF- 1 με βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά, στο χρόνο t=0, παρουσιάζονται στον πίνακα 17. Σχετικά με τη γλυκόζη δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

	Ηλικία	**C- πεπτίδιο**	**IGF-1**	**T3**
Ινσουλίνη (N=21)	NS	r= .515 p=. 059	NS	NS
C- πεπτίδιο (N=14)	NS	NS	r= .676 p=. 016	NS
IGF-1 (N=17)	r= .533 p=. 028	NS	NS	NS
HgbA1c (N=19)	NS	NS	NS	r= .558 p=. 016

Πίνακας 17. *Συσχετίσεις που αφορούν την ινσουλίνη στα παχύσαρκα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

Οι συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ των: απολιποπρωτείνων α1 και b καθώς και του λόγου απολιποπρωτείνη b/ απολιποπρωτείνη α1 με τα βασικά λιπιδαιμικά χαρακτηριστικά των παιδιών στο χρόνο t=0 παρουσιάζονται στον πίνακα 18.

	HDL	**Χοληστερόλη**
Απολιποπρωτείνη α1 (N=9)	r= .786 p<. 001	r= .621 p=. 008
Απολιποπρωτείνη b (N=8)	NS	r= .872 p<. 001
Απολιποπρωτείνη b/ Απολιποπρωτείνη α1 (N=8)	r= .699 p=. 004	r= .518 p=. 004

Πίνακας 18. *Συσχετίσεις που αφορούν τις απολιποπρωτείνες στα παχύσαρκα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

Αναφορικά με την Apo1fas και το ccK18 δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις, πέραν της θετικής συσχέτισης που παρουσιάστηκε μεταξύ Apo1fas και ινσουλίνης (r=. 533, p= .013.

Οι συσχετίσεις που αφορούν τη GPX3 και βιοχημικά χαρακτηριστικά παρουσιάζονται στον πίνακα 19. Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με την SOD.

	Ινσουλίνη	**T3**	**FT4**	**HgbA1c**
GPX3 (N=20)	r= .500 p=. 013	r= .499 p=. 041	r= .612 p=. 009	r= .620 p=. 006

Πίνακας 19. *Συσχετίσεις που αφορούν παράγοντες οξειδωτικού στρες στα παχύσαρκα παιδιά. (NS= non-significant correlation)*

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν συνολικά 30 παιδιά στα οποία πραγματοποιήθηκε καμπύλη γλυκόζης, κατά την οποία μετρήθηκε η ινσουλίνη, το c-πεπτιδίο, παράγοντες απόπτωσης και οξειδωτικού στρες. Στόχος του ερευνητικού εγχειρήματος ήταν, αφενός, να αξιολογηθούν οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων των μοριακών δεικτών που συνηγορούν για απόπτωση και οξειδωτικό στρες στον ορό αίματος, κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας OGTT κι αφετέρου να εξετασθεί η πιθανή επίδραση της παιδικής παχυσαρκίας και της διαταραγμένης ανοχής στη γλυκόζη στις διαδικασίες αυτές.

Παλαιότερα δεδομένα για 13 ευρωπαϊκές χώρες που αφορούν τη διετία 1997-1998, έδειξαν ότι η Ελλάδα βρίσκεται μεταξύ των τριών χωρών με τη μεγαλύτερη συχνότητα υπέρβαρων εφήβων ηλικίας 13-15 ετών [144]. Το 2003, μια ανασκόπηση που αφορούσε στα ποσοστά παχυσαρκίας σε 21 ευρωπαϊκές χώρες κατέταξε την Ελλάδα στην τέταρτη θέση για τις ηλικίες 7-11 ετών, βάσει των πρότυπων κριτηρίων οριοθέτησης της παχυσαρκίας όπως αυτά ορίζονται από τον Διεθνή Οργανισμό για την Αντιμετώπιση της Παχυσαρκίας [145].Ο επιπολασμός των υπέρβαρων ή παχύσαρκων παιδιών στην Ελλάδα παρουσιάζει συστηματική αύξηση με το πέρασμα των δεκαετιών [146]. Για το λόγο αυτό είναι ουσιαστικά σημαντικό να μελετηθεί αν η παχυσαρκία επηρεάζει σημαντικές λειτουργίες όπως την απόπτωση και το οξειδωτικό στρες από την παιδική ηλικία.

Η αυξανόμενη επίπτωση και η σοβαρότητα της παιδικής παχυσαρκίας συνοδεύονται από αύξηση της διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη και του ΣΔ2 στην παιδική και εφηβική ηλικία. Στην παρούσα μελέτη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη βρέθηκε συνολικά σε 15 παιδιά (10 παχύσαρκα και 5 φυσιολογικού βάρους). Βιβλιογραφικά έχει μελετηθεί η συχνότητα εμφάνισης διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη και ΣΔ2 σε πολυεθνική αμερικάνικη μελέτη με παχύσαρκα παιδιά και εφήβους και ήταν 22,1% [147]. Χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης διαταραγμένης ανοχής στη γλυκόζη και ΣΔ2 σε σχέση με την αμερικάνικη μελέτη έχουν αναφερθεί και σε άλλες μελέτες από άλλες ευρωπαϊκές χώρες. Σε δυο ιταλικές μελέτες [148, 149] το ποσοστό διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη ήταν 4,5% και 4%, αντίστοιχα, ενώ σε μια ισπανική μελέτη [150] το ποσοστό σε παχύσαρκα παιδιά ήταν 5%. Σε μια ομάδα παιδιών στη Βρετανία το ποσοστό ήταν 11% [151]. Στην παρούσα μελέτη το 46,7% των παιδιών είχε διαταραγμένη καμπύλη γλυκόζης. Συνεπώς κρίθηκε σημαντικό, όπως και με τη παχυσαρκία, να ελεγχθεί αν η διαταραγμένη δοκιμασία φόρτισης με γλυκόζη παίζει ρόλο στην απόπτωση και το οξειδωτικό στρες.

Σχετικά με την HgbA1c, είναι γνωστό ότι αποτελεί δείκτη ελέγχου του επιπέδου γλυκόζης για διάστημα 8-12 προηγούμενων εβδομάδων. Έχει διαπιστωθεί ισχυρή θετική συσχέτιση με τη γλυκόζη του πλάσματος [152]. Με την αντίσταση στην ινσουλίνη σχετίζεται ο υπερθυρεοειδισμός ο οποίος έχει συνδεθεί με: αυξημένη παραγωγή ηπατικής γλυκόζης, εντερική απορρόφηση γλυκόζης, συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, μεταγευματική ινσουλίνη και επίπεδα προϊνσουλίνης [153]. Στην παρούσα μελέτη θετική

ήταν η συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ γλυκόζης και HgbA1c, αλλά και μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων και της T3.

Αναφορικα με το C- πεπτίδιο αξίζει να επισημανθεί ότι η έκκριση του σχετίζεται με τη μετατροπή της προϊνσουλίνης σε ινσουλίνη στα βήτα-κύτταρα του παγκρέατος. Συγκεκριμένα ένα παραπροϊόν αυτής της μετατροπής είναι το C- πεπτίδιο, μια ανενεργή πολυπεπτιδική αλυσίδα 31 αμινοξέων. Σε μελέτη που αφορούσε τη σχέση του C- πεπτιδίου με τους παράγοντες που ορίζουν το μεταβολικό σύνδρομο, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση με το BMI αλλά και τους λοιπούς παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου, γι αυτό και προτάθηκε ως εργαλείο για την εκτίμηση τόσο αυτού όσο και της ινσουλινοαντίστασης [154]. Ομοίως και στη μελέτη μας θετική ήταν η σχέση του C- πεπτίδιου με το BMI%.

Άλλος ένας δείκτης που σχετίζεται με τη γλυκόζη, καθώς επηρεάζει το μεταβολισμό της είναι ο IGF-1. Χαρακτηρίζεται ως ένα μικρό πολυπεπτίδιο που παράγεται κυρίως στο ήπαρ, μεταφέρεται με το πλάσμα και βρίσκεται δεσμευμένο σε πρωτεΐνες φορείς. Δρώντας μέσω υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης, ο IGF-1 διεγείρει άμεσα την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών κυττάρων, επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και επομένως επηρεάζει την ανάπτυξη. Σύμφωνα με τους Gatenby & Kearney σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης ινσουλίνης, μέσα στα φυσιολογικά βέβαια όρια, διεγείρεται ο υποδοχέας ινσουλίνης. Σε συνθήκες όμως υψηλής συγκέντρωσης ινσουλίνης όπως στην παχυσαρκία ή την ινσουλινοαντίσταση διεγείρεται και ο υποδοχέας του IGF- 1. Σε υγιείς ενήλικες έχει επίσης καταδειχθεί ότι το χαμηλό IGF-1 στον ορό διπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Πρόσθετες ενδείξεις από ζωικά μοντέλα δείχνουν ότι ο IGF-1 θα μπορούσε να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης. Ο υποδοχέας του IGF-1 υπάρχει στα αγγειακά κύτταρα λείων μυών και παράγοντες που διεγείρουν την αθηροσκλήρωση όπως η αγγειοτενσίνη ΙΙ αυξάνουν την έκφραση του υποδοχέα IGF-1. Η έκφραση του υποδοχέα και κατ' επέκταση η έκφραση του ίδιου του IGF-1 είναι μικρότερη στις αθηρωματικές πλάκες με υψηλά επίπεδα απόπτωσης. Η αγγειακή βλάβη λόγω υπερχοληστερολαιμίας αυξάνει την σύνθεση IGF-1 και οδηγεί σε επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση [155]. Στη μελέτη μας αρνητική ήταν η σχέση του IGF- 1 με την HDL και την απολιποπρωτείνη α1 και θετική με τα τριγλυκερίδια στα νορμοβαρή παιδιά. Θετική ήταν επίσης και η συσχέτιση του IGF- 1 με το C- πεπτίδιο στα παχύσαρκα παιδιά. Είναι σαφής η ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης του ρόλου του IGF-1 στο λιπιδαιμικό προφίλ και της διαφοράς που μπορεί να έχει σε παχύσαρκα και παιδιά με διαταραγμένη καμπύλη γλυκόζης.

Η απολιποπρωτεϊνη α1 και η απολιποπρωτεϊνη b είναι οι κύριες απολιποπρωτεΐνες της HDL και της LDL, αντίστοιχα. Η απολιποπρωτεϊνη b συναρμολογεί το πρόδρομο της LDL, δηλαδή τη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας VLDL στο ήπαρ. Η συναρμολόγηση αρχίζει με το σχηματισμό ενός αρχέγονου σωματιδίου, το οποίο μετατρέπεται σε VLDL2. Το σωματίδιο VLDL2 στη συνέχεια μεταφέρεται στα σωμάτια Golgi και μπορεί είτε να εκκρίνεται είτε να μετατρέπεται σε VLDL1 πλούσιο σε τριγλυκερίδια. Η απολιποπρωτεϊνη b μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση του αριθμού των σωματιδίων LDL ή VLDL που υπάρχουν στο πλάσμα, καθώς υπάρχει ένα μόριο απολιποπρωτεϊνης b σε κάθε σωματίδιο. Έχει ακόμη

βρεθεί ότι η απολιποπρωτεϊνη α1 εκκρίνεται από το ήπαρ και το έντερο ως φτωχή σε λιπίδια απολιποπρωτεϊνη α1. Η λιπιδίωση της απολιποπρωτεϊνη α1 είναι μία περίπλοκη διαδικασία που δεν είναι κατανοητή με λεπτομέρεια, αλλά πιστεύεται ότι περιλαμβάνει αλληλεπίδραση μεταξύ της απολιποπρωτεΐνης και του μεταφορέα που είναι υπεύθυνος για την εξειδικευμένη πρόσδεση της, από την οποία και δημιουργείται η προ-β -HDL. Με τη διαδικασία αυτή ουσιαστικά σχηματίζεται και εκκρίνεται HDL. Όπως είναι κατανοητό οι απολιποπρωτείνες αυτές έχουν καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του λιπιδαιμικού προφίλ με ότι αυτό συνεπάγεται. Πρόσφατα, άρχισε βέβαια να υποστηρίζεται ότι ο λόγος απολιποπρωτεϊνη b/ απολιποπρωτεϊνη α1 έχει ακόμη μεγαλύτερη ισχύ ως προγνωστικός παράγοντας για την απόκτηση καρδιαγγεικών νοσημάτων [156]. Στην παρούσα έρευνα τα αποτελέσματα ήταν αντίστοιχα της βιβλιογραφίας, αφού για τις περισσότερες υποομάδες παιδιών βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της απολιποπρωτεϊνης α1 και της HDL. Θετική ήταν και η συσχέτιση της απολιποπρωτεϊνης b με την LDL, τη χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια ενώ ο υπό μελέτη λόγος σχετίστηκε αρνητικά με την HDL και θετικά με τη χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια. Ουσιαστικά φαίνεται ότι οι απολιποπρωτείνες έχουν καθοριστικό ρόλο από την παιδική ήδη ηλικία στη ρύθμιση των λιπιδίων και την πρόγνωση μεταβολικών διαταραχών.

Σημαντικός έχει χαρακτηριστεί και ο ρόλος της απολιποπρωτεϊνη α1 στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Αναλυτικότερα έχει διαπιστωθεί ότι η απολιποπρωτεϊνη α1 βελτιώνει τη λειτουργία των παγκρεατικών β-κυττάρων. Ο μηχανισμός που συνδέει τη χαμηλή απολιποπρωτεϊνη α1 με την αντίσταση στην ινσουλίνη δεν έχει εξηγηθεί πλήρως. Ωστόσο, υποστηρίζεται η υπόθεση ότι η απολιποπρωτεϊνη α1 έχει ευεργετική δράση στο αγγειακό ενδοθήλιο. Συγκεκριμένα αποτρέπει την ενδοθηλιακή απόπτωση που προκαλείται από την οξειδωμένη LDL και τον TNFα. Έχει επίσης αποδεδειχθεί και η αντιφλεγμονώδης δράση της, χάρη της οποίας δύναται να μειωθεί η αντίσταση στην ινσουλίνη [157]. Στη μελέτη μας αρνητική ήταν η σχέση της απολιποπρωτεϊνης α1 με την ινσουλίνη και το IGF-1 στα νορμοβαρή παιδιά και αυτά με φυσιολογική OGGT.

Καθοριστικός είναι ο ρόλος της απόπτωσης στη διατήρηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και ομοιόστασης. Για να μελετηθεί ο ρόλος της στον υπό μελέτη πληθυσμό παιδιών μετρήθηκαν δύο μοριακοί δείκτες: Apo1fas και cck18. Η Apo1fas επάγει το σήμα θανάτου που οδηγεί στην απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων εκφράζει την πρωτεΐνη Apo1fas. Ωστόσο, τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα θεωρούνται ανθεκτικά στην απόπτωση που προκαλείται από την Apo1fas [158]. Αυτή η κατάσταση μπορεί να αλλάξει κατά τη διάρκεια συγκεκριμένων ερεθισμάτων. Συγκεκριμένα τα ενδοθηλιακά κύτταρα δύνανται να γίνουν ιδιαίτερα ευαισθητοποιημένα στην απόπτωση, πιθανόν λόγω της Met (cMet) πρωτεϊνικής κινάσης τυροσίνης που εκφράζεται σε αυτά. Κάτω από μια μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, η έκφραση του cMet μειώνεται, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην ευαισθησία των ενδοθηλιακών κυττάρων στην Apo1fas [159].

Η αυξημένη έκφραση Apo1fas μπορεί να είναι ένας παράγοντας προδιάθεσης για τη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού. Η υπερτροφία του λιπώδους ιστού, κατάσταση που συσχετίζεται με την παχυσαρκία, μπορεί να προκαλέσει αύξηση της Apo1fas και να οδηγήσει σε απόπτωση και φλεγμονή. Υποστηρίζεται

ότι η αυξημένη Apo1fas στα υπερτροφικά λιποκύτταρα συμβάλλει επίσης στην ινσουλινοαντίσταση χωρίς να έχει ακόμη εξηγηθεί ο ακριβής μηχανισμός [160]. Σχετικά βέβαια με το ρόλο της απόπτωσης στην αντίσταση της ινσουλίνης έχει βρεθεί ότι ο TNF-a δύναται να καταστήσει τα κύτταρα ανθεκτικά στην ινσουλίνη ρυθμίζοντας τη σύνθεση του μεταφορέα της γλυκόζης ενώ επίσης εμπλέκεται στη σηματοδότηση της ινσουλίνης [161]. Η Apo1fas φαίνεται επίσης να σχετίζεται με το λιπιδαιμικό προφίλ. Σε μελέτη πραγματοποιημένη σε ενήλικο πληθυσμό βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της Apo1fas και των τριγλυκεριδίων και αρνητική συσχέτιση με την HDL χωρίς όμως να εξηγείται περαιτέρω ο μηχανισμός [162]. Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της Apo1fas και του BMI% στην υποομάδα παιδιών με φυσιολογική δοκιμασία OGTT. Βρέθηκε επίσης θετική συσχέτιση της Apo1fas με την ινσουλίνη στα παχύσαρκα παιδιά, η οποία ίσως και να είναι πρόδρομο σημάδι παθολογικής ανοχής στη γλυκόζη. Όμοια με την υπάρχουσα βιβλιογραφία ήταν τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης που αφορούν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και HDL των παιδιών.

Από τα σχήματα 10-11, 28-29 της μελέτης μας φαίνεται ότι τόσο στα παιδιά με διαταραγμένη δοκιμασία OGTT όσο και στα παχύσαρκα υψηλότερα ήταν τα επίπεδα της Apo1fas. Ωστόσο στα νορμοβαρή παιδιά κι αυτά με φυσιολογική δοκιμασία OGTT διαπιστώθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της Apo1fas και του BMI%. Ουσιαστικά βλέπουμε ότι ο ρόλος της Apo1fas στις δύο αυτές υποομάδες παιδιών είναι ευνοϊκότερος, τουλάχιστον σε σχέση με το BMI% -με ότι αυτό συνεπάγεται. Είναι λοιπόν σαφής η ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης του ρόλου της απόπτωσης κι ιδίως της Apo1fas στο μεταβολισμό παιδιών φυσιολογικού και μη: βάρους και ανοχής της γλυκόζης. Πιθανότητα οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί που διαθέτουν τα παιδιά να δρουν διαφορετικά στις δύο αυτές κατηγορίες. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον το αποτέλεσμα προηγούμενης μελέτης, πραγματοποιημένη σε υγιή παιδιά, η οποία έδειξε ότι η απόπτωση έχει προστατευτικό ρόλο ειδικά στα μικρότερης ηλικίας παιδιά. Ίσως αυτό να οφείλεται στους ομοιστατικούς τους μηχανισμός που οδηγούν στην επαγωγή της απόπτωσης των κυττάρων εκείνων που εμπλέκονται στην αθηροσκλήρωση καθώς στην προώθηση της μη φλεγμονώδους κάθαρσης των αποπτωτικών κυττάρων [175].

Αναφορικά με τον IGF- 1 έχει χαρακτηριστεί εκτός των προαναφερθέντων και για την αντι-αποπτωτική του δράση ενώ φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης, διαφοροποίησης και επιβίωσης. Ο IGF-1 δρα σε διαφορετικά σημεία ελέγχου της απόπτωσης, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών οικογένειας Bcl-2, των αναστολέων των κασπασών και της σηματοδότησης υποδοχέων που προκαλούν θάνατο. Το κύριο σημείο εστίασης του IGF-1 είναι η ρύθμιση των πρωτεϊνών οικογένειας Bcl-2. Αρκετές οδοί σηματοδότησης συγκλίνουν τόσο στη φωσφορυλίωση όσο και στη μεταγραφική ρύθμιση αυτών των πρωτεϊνών [163]. Σε μελέτη που αφορούσε τον αντι- αποπτωτικό ρόλο του IGF- 1 είχε αναφερθεί ότι καθυστερεί την απόπτωση των ουδετερόφιλων χωρίς να επηρεάζεται η έκκριση κυτοκινών από τα κύτταρα αυτά. Διαπιστώθηκε βέβαια ότι ο IGF- 1 δεν επηρέασε την έκφραση της Apo1fas ή την ενεργοποίηση της anti-Fas ή της κασπάσης-8 αλλά ανέστειλε την αποπόλωση της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Στην μελέτη μας θετική ήταν η συσχέτιση μεταξύ της Apo1fas με το IGF- 1 στα νορμοβαρή/ υπέρβαρα παιδιά. Η σχέση αυτή χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, καθώς οι υπάρχουσες μελέτες αφορούν

ενήλικο πληθυσμό. Στα παιδιά ο ρόλος της απόπτωσης και της σχέσης του με το IGF-1 πιθανότατα να διαφέρει, πόσο μάλλον αν ληφθεί υπ' όψιν το BMI%.

Ο δεύτερος αποπτωτικός δείκτης που μελετήθηκε ήταν η ccK18, δείκτης δραστικότητας της κασπάσης. Ποίκιλες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να διερευνηθεί η σχέση των κασπασών με το BMI. Σε ερευνητική μελέτη πραγματοποιημένη σε παιδιατρικό πληθυσμό με υποψία μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης ήπατος, μελετήθηκε η ccK18 σε παιδιά χωρισμένα σε κατηγορίες βάσει του BMI: control-νορμοβαρή και παχύσαρκα. Ενώ λοιπόν διαπιστώθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ ccK18 και μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος δεν υπήρξε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το BMI [164]. Σε μια ακόμη μελέτη πραγματοποιημένη σε παχύσαρκα παιδιά βρέθηκε ότι η κασπάση-12 σχετίζεται με μειωμένη φλεγμονή του λιπώδους ιστού. Ωστόσο, από μελέτες πραγματοποιημένες σε ποντίκια έχει βρεθεί ότι η απώλεια της κασπάσης-12 προδιαθέτει για ανάπτυξη παχυσαρκίας και ινσουλινοαντίστασης. Αντίθετα η κασπάση-11 δεν είχε κάποια επίδραση [165]. Σε άλλη μελέτη επίσης πραγματοποιημένη σε ποντίκια φάνηκε ότι η κασπάση-2 συνδέεται άμεσα με την απόπτωση των λιποκυττάρων, την παχυσαρκία και τις διαταραχές που σχετίζονται με το μεταβολικό σύνδρομο [166]. Στη μελέτη μας βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ccK18 και του BMI% στο σύνολο των παιδιών αλλά και στις υποομάδες νορμοβαρών και φυσιολογικής OGGT παιδιών. Αν το αποτέλεσμα αυτό συνδυαστεί με την επίσης αρνητική συσχέτιση της Apo1fas με το BMI% στις ίδιες υποομάδες παιδιών, φαίνεται ουσιαστικά ότι η απόπτωση στον υπό μελέτη πληθυσμό έχει προστατευτική δράση έναντι της παχυσαρκίας. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία η απόπτωση είναι μία φυσιολογική διαδικασία, αναγκαία για την ανάπτυξη των οργάνων, την ομοιόσταση των ιστών και την απομάκρυνση των ελαττωματικών ή πιθανά βλαβερών κυττάρων στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Άλλωστε η απόπτωση αποτελεί τμήμα της ανάπτυξης των αιμοφόρων αγγείων και της ομοιόστασης του ενδοθηλίου [109].

Από τα σχήματα 10, 12 και 27, 29 προκύπτει ότι η έκφραση των αποπτωτικών δεικτών που μελετήθηκαν διαφοροποιείται σταδιακά ήδη από τα πρώτα 30min της δοκιμασίας OGTT. Ενώ από τα σχήματα 11 και 13 φαίνεται ότι και για τους δύο δείκτες ο χρόνος t=60 χαρακτηρίζεται με τη μεγαλύτερη εκατοστιαία μεταβολή σε σχέση με το t=0. Είναι σημαντικό ότι στο σύνολο των υποομάδων που μελετήθηκαν η συγκέντρωση στο t=180 επανέρχεται σε επίπεδα πολύ κοντινά με t=0. Ουσιαστικά ο πιο «κρίσιμος» χρόνος πάνω στην καμπύλη γλυκόζης για τους παράγοντες που μελετήθηκαν είναι t=60 από κει κι έπειτα σταματά η αυξητική πορεία κι έρχεται η επαναφορά τους στα αρχικά επίπεδα.

Επόμενος δείκτης που μελετήθηκε είναι η δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αξίζει λοιπόν να σχολιαστεί η δράση των ενζύμων SOD και GPX3 στον μεταβολισμό της γλυκόζης. Στη βιβλιογραφία που αφορά παιδιατρικό πληθυσμό, έχει αναφερθεί ότι ο μη γλυκαιμικός έλεγχος οδηγεί σε μια αναλογική μείωση της δραστικότητας αντιοξιδωτικών ενζύμων [167]. Έχει επίσης φανεί ότι ο HOMA-IR σχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα των επιπέδων α-τοκοφερόλης και β-καροτίνης στο πλάσμα, και με τη δραστικότητα τη SOD και της καταλάσης στα ερυθροκύτταρα, υποδεικνύοντας την μειωμένη αντιοξειδωτική δράση του οργανισμού σε κατάσταση αντίστασης στην ινσουλίνη, τόσο σε παχύσαρκα όσο και σε φυσιολογικού

βάρους παιδιά [168]. Ομοίως και όσον αφορά τη δραστικότητα του ενζύμου GPX3 στους ενήλικες, έχει βρεθεί ότι μειώνεται όχι μόνο στην κατάσταση του ΣΔ2, αλλά και κατά την ανάπτυξη ευαισθησίας στην ινσουλίνη [169]. Άλλες μελέτες που αφορούν τη σχέση της HgbA1c και της δραστικότητας της SOD δε διαπίστωσαν κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση, είτε in vivo είτε in vitro. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στο μεγαλύτερο χρόνο ημίσιας ζωής της αιμοσφαιρίνης σε σύγκριση με την SOD [170]. Συνεπώς, η αξιολόγηση του γλυκαιμικού ελέγχου, μέσω της HgbA1c, δεν μπορεί με ακρίβεια να αντικατοπτρίσει την επίδραση του στην δραστηριότητα της SOD [171]. Επίσης, ο παράγοντας IGF-1 ίσως έχει αντιοξειδωτική δράση ανεξάρτητη από το eNOS. Ωστόσο δεν έχει διαπιστωθεί ακριβής μηχανισμός που να επιβεβαιώνει τη σχέση αυτή [172]. Παρά τα όσα προαναφέρθηκαν στη βιβλιογραφία σύμφωνα με την έρευνα των Koutroumani et al. κατά την παιδική ηλικία διατίθενται προστατευτικοί μηχανισμοί κατά της γλυκοζυλίωσης και του οξειδωτικού στρες με τους οποίους μειώνονται και οι επιπλοκές που σχετίζονται με το διαβήτη. Στα παιδιά λοιπόν παρατηρείται αύξηση τόσο των οξειδωτικών όσο και των αντιοξειδωτικών παραγόντων, ωστόσο η δράση των αντιοξειδωτικών είναι εξουδετερωτική, προστατεύοντας εν τέλει τα παιδιά [173]. Στη μελέτη μας τα αποτελέσματα έδειξαν θετική συσχέτιση της GPX3 με την ινσουλίνη και αρνητική με το IGF-1. Θετική ήταν η συσχέτιση τόσο της SOD όσο και της GPX3 με την HgbA1c στις περισσότερες υποομάδες παιδιών.

Εν συνεχεία, είναι ενδιαφέρον να επισημανθεί η σχέση θυρεοειδή αδένα και αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Ο θυρεοειδής αδένας έχει εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητα σεληνίου, ακόμη και κατά τη διάρκεια ανεπάρκειας σεληνίου. Αναφέρονται τουλάχιστον 11 σεληνοπρωτεΐνες, οι οποίες εμπλέκονται στην προστασία του αδένα από τις υψηλές ποσότητες H2O2 που παράγονται κατά τη διάρκεια της βιοσύνθεσης της θυρεοειδικής ορμόνης. Το mRNA της GPx3 εντοπίζεται στα θυρεοκύτταρα. Το ένζυμο εκκρίνεται στον θυλακοειδή αυλό και είναι χαλαρά προσαρτημένο στην κολλοειδή θυρεοσφαιρίνη. Αυτά τα ευρήματα συμβαδίζουν με τον ρόλο των σεληνοπρωτεϊνών στην προστασία του θυρεοειδούς από πιθανή βλάβη από το H2O2. Συγκεκριμένα, η GPx3 μπορεί να χρησιμοποιεί περίσσεια H2O2 και να καταλύει τον πολυμερισμό της θυρεοσφαιρίνης [174]. Στην παρούσα μελέτη θετική ήταν η συσχέτιση της GPX3 με τη T3 και την FT4, σε όλες τι υποομάδες των παιδιών.

Στα σχήματα 14, 16 και 31, 33 φαίνεται ότι η έκφραση των αντιοξειδωτικών δεικτών που μελετήθηκαν διαφοροποιούνται σταδιακά ήδη από τα πρώτα 30min της δοκιμασίας OGTT. Από τα σχήματα 15, 17 και 32, 34, μεγαλύτερη εκατοστιαία μεταβολή, παρατηρείται κυρίως στο t=90. Είναι σημαντικό ότι στο σύνολο των υποομάδων που μελετήθηκαν, τόσο η συγκέντρωση της SOD όσο και της GPX3 στο t=180 επανέρχεται σε επίπεδα πολύ κοντινά με t=0. Ουσιαστικά ο πιο «κρίσιμος» χρόνος πάνω στην καμπύλη γλυκόζης για τους παράγοντες που μελετήθηκαν είναι t=90, αφού από κει κι έπειτα σταματά η αυξητική πορεία κι έρχεται η επαναφορά τους στα αρχικά επίπεδα.

Τα ευρήματα αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά καθώς δείχνουν πόσο γρήγορα μπορεί να τροποποιηθούν οι αποπτωτικοί και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί στον οργανισμό των παιδιών μετά τη φόρτιση με γλυκόζη . Περαιτέρω διερεύνηση για τη βαθύτερη κατανόηση της αιτιολογίας αυτής είναι απαραίτητη.

10.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η απόπτωση πιθανόν να έχει διαφορετικό ρόλο μεταξύ ενηλίκων και υγιών παιδιών [175]. Στην παρούσα μελέτη, η Apo1fas και το cck18 φάνηκαν να έχουν θετική επίδραση στο BMI% στις κατηγορίες των νορμοβαρών παιδιών και παιδιών με φυσιολογική ανοχή στη γλυκόζη. Ωστόσο η Apo1fas σχετίστηκε θετικά με την ινσουλίνη και τα τριγλυκερίδια στα νορμοβαρή και παχύσαρκα παιδιά αντίστοιχα. Δε μπορεί λοιπόν να διευκρινιστεί με ακρίβεια αν ο ρόλος της απόπτωσης είναι ή όχι ευνοϊκός στα υπό μελέτη παιδιά. Σαφέστατα όμως η παχυσαρκία και η ανοχή στη γλυκόζη επηρεάζουν τη σχέση αυτή. Περαιτέρω μελέτη για το ρόλο της απόπτωσης, με σκοπό την κατανόηση της αιτιολογίας της, είναι απαραίτητη.

Αναφορικά με τους αντιοξειδωτικούς δείκτες, βρέθηκε θετική συσχέτιση των SOD και GPX3 με την HgbA1c, αλλά και της GPX3 με την ινσουλίνη. Πιθανόν η αύξηση των συγκεντρώσεων αντιοξειδωτικών δεικτών να είναι αποτέλεσμα των υψηλών συγκεντρώσεων ινσουλίνης και γλυκόζης, που στόχο έχει την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες και της υπερινσουλιναιμίας.

Η μεταβολή των συγκεντρώσεων των αποπτωτικών και αντιοξειδωτικών δεικτών φαίνεται ότι τροποποιείται μετά από τη φόρτιση με γλυκόζη. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι μεταβολές παρουσιάζονται σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, ήδη από τα 30 πρώτα min μετά τη φόρτιση, στοιχείο που δείχνει ότι οι δείκτες αυτοί χαρακτηρίζονται και από την μεταβλητότητα τους. Πρέπει επίσης να έχουμε υπ' όψιν μας ότι το μεγαλύτερο μέρος της ημέρας βρισκόμαστε σε μεταγευματικό στάδιο κι όχι σε στάδιο νήστεως, άρα οι πλέον αντιπροσωπευτικοί χρόνοι για τη συγκέντρωση των δεικτών μου μετρήθηκαν είναι από t=60 ως t=120.

Για τη βαθύτερη κατανόηση του μηχανισμού της εμπλοκής της απόπτωσης και του οξειδωτικού στρες στην ομοιόσταση των παιδιών, είναι απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση.

11.ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη διενέργεια της εν λόγω διπλωματικής εργασίας υπήρξαν κάποιοι περιορισμοί. Αρχικά ο πληθυσμός που μελετήθηκε αποτελούνταν από 30 παιδιά. Αφετέρου τα παιδιά αυτά ήταν κάτοικοι του νομού Αχαΐας και συγκεκριμένα της Πάτρας. Το μικρό λοιπόν δείγμα σε συνδυασμό με τη περιορισμένη γεωγραφική περιοχή που βασίστηκε η μελέτη δε μας επιτρέπει να γενικεύσουμε τα αποτελέσματα για τον παιδιατρικό πληθυσμό της χώρας.

12.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bray, G.A. Medical consequences of obesity. J Clin Endocrinol Metab, 2004. 89(6): 2583-9.

2. Woods, S.C., and R.J. Seeley, Understanding the physiology of obesity: review of recent developments in obesity research. Int J Obes Relat Metab Disord, 2002. 26(4): S8-S10.

3. Kimm, S.Y., and Obarzanek, E. Childhood obesity: a new pandemic of the new millennium. Pediatrics, 2002. 110(5): 1003-7.

4. Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Moodie, M.L., Hall, K. D., Gortmaker, S. L., et al. Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. Lancet, 2015. 385(9986): 2510-20.

5. Livingstone, B. Epidemiology of childhood obesity in Europe. Eur J Pediatr, 2000. 159(1): S14-S34.

6. Guo, S.S., Wu, W., Chumlea, W. C., Roche, A. F. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. Am J Clin Nutr, 2002. 76: 653-8.

7. Dietz, W.H. Critical periods in childhood for the development of obesity. Am J Clin Nutr, 1994. 59(5): 955-9.

8. Mamalakis, G. and Kafatos A. Prevalence of obesity in Greece. Int J Obes Relat Metab Disord, 1996. 20(5): 488-92.

9. Raman, R.P. Obesity and health risks. J Am Coll Nutr, 2002. 21(2): 134S-139S.

10. Speiser, P. W., Rudolf, M. C., Anhalt, H., Camacho-Hubner, C., Chiarelli, F., et al. Childhood obesity. J Clin Endocrinol Metab, 2005. 90:1871-87.

11. Must, A., G.E. Dallal, and W.H. Dietz. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht2) and triceps skinfold thickness. Am J Clin Nutr, 1991. 53(4): 839-46.

12. Fernandez, J.R., Redden, D. T., Pietrobelli, A., Allison, D. B. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. J Pediatr, 2004. 145(4): 439-44.

13. Goran, M. I., Gower, B. A. Relation between visceral fat and disease risk in children. Am J Clin Nutr. 1999, 70:149S–156S.

14. Gutin, B., Basch, C., Shea, S., Contento, I., DeLozier, M., et al. Blood pressure, fitness, and fatness in 5- and 6-year-old children. JAMA, 1990. 264:1123–1127.

15. Ravussin, E., Smith, S. R. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. Ann N Y Acad Sci, 2002. 967:363–378.

16. Montague, C. T., Prins, J. B., Sanders, L., Zhang, J., Sewter, C. P., et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. Diabetes, 1998. 47:1384–1391.

17. Frayn, K. N. Visceral fat and insulin resistance: causative or correlative?. Br J Nutr, 2000. 83:S71–S77.

18. Ferrannini, E., Barrett, E. J., Bevilacqua, S., DeFronzo, R. A. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. J Clin Invest, 1983. 72:1737–1747.

19. Taylor, R.W., Jones, I. E., Williams, S.M., Goulding, A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. Am J Clin Nutr, 2000. 72(2): 490-5.

20. McCarthy, H. D., Ellis S. M., and Cole T. J. Central overweight and obesity in British youth aged 11-16 years: cross sectional surveys of waist circumference. BMJ, 2003. 326(7390): 624.

21. McCarthy, H.D., Jarrett, K. V., Emmett, P. M., Rogers, I. Trends in waist circumferences in young British children: a comparative study. Int J Obes (Lond), 2005. 29(2): 157-62.

22. McCarthy, H.D. Body fat measurements in children as predictors for the metabolic syndrome: focus on waist circumference. Proc Nutr Soc, 2006. 65(4): 385-92.

23. Katzmarzyk, P.T., Srinivasan, S. R., Chen, W., Malina, R. M., Bouchard, C. Body mass index, waist circumference, and clustering of cardiovascular disease risk factors in a biracial sample of children and adolescents. Pediatrics, 2004. 114(2): e198-205.

24. Goran, M.I., Gower, B. A., Treuth, M., Nagy, T. R. Prediction of intra-abdominal and subcutaneous abdominal adipose tissue in healthy pre-pubertal children. Int J Obes Relat Metab Disord, 1998. 22(6): 549-58.

25. Eisenmann, J.C., Wrede J., and Heelan K.A. Associations between adiposity, family history of CHD and blood pressure in 3-8 year-old children. J Hum Hypertens, 2005. 19(9): 675-81.

26. OECD, Health at a Glance 2013: OECD Indicators, O. Publishing, Editor. 2013.

27. Ahrens, W., Pigeot, I., Pohlabeln, H., De Henauw, S., Lissner, L., et al. IDEFICS consortium. Prevalence of overweight and obesity in European children below the age of 10. Int J Obes (Lond), 2014. 38(2): 99-107.

28. Krassas, G. E., Tzotzas, T., Tsametis, C., Konstantinidis, T. Prevalence and trends in overweight and obesity among children and adolescents in Thessaloniki, Greece. J Pediatr Endocrinol Metab, 2001. 14(1): 1319-1326.

29. Tzotzas, T., Kapantais, E., Tziomalos, K., Ioannidis, I., Mortoglou, A., et al. Prevalence of overweight and abdominal obesity in Greek children 6-12 years old: Results from the National Epidemiological Survey. Hippokratia, 2011. 15(1): 48–53.

30. Katsa, M. E., Zyga, S., Tsironi, M., Ioannidis, A., Sachlas, A., Kolobos, P., Magana, M., Pistikou, A.M., Kougioumtzi Dimoliani D. E., Rojas Gil, A. P. Horm Res Paediatr. 2014, 82(1): 380. (congress abstract publication)

31. Tambalis, K. D., Panagiotakos, D. B., Kavouras, S. A., Kallistratos, A. A., Moraiti, I. P., et al. Eleven-year prevalence trends of obesity in Greek children: first evidence that prevalence of obesity is leveling off. Obesity (Silver Spring), 2010.18(1): 161-166.

32. Arslanian, S. A. Metabolic differences between Caucasian and African American children and the relationship to type 2 diabetes mellitus. J Pediatr Endocrinol Metab, 2002. 15(1): 509-517.

33. Gahagan, S., Silverstein, J., American Academy of Pediatrics Committee on Native American Child Health, American Academy of Pediatrics Section on Endocrinology. Prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in children, with special emphasis on American Indian and Alaska Native children. American Academy of Pediatrics Committee on Native American Child Health. Pediatrics, 2003. 112(4): e328.

34. Gungor, N., Saad, R., Janosky, J., Arslanian, S. Validation of surrogate estimates of insulin sensitivity and insulin secretion in children and adolescents. J Pediatr, 2004. 144(1): 47-55.

35. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report.

Circulation, 2002. 106: 3143-3421.

36. Genuth, S., Alberti, K. G., Bennett, P., Buse, J., Defronzo, R., et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2003. 26(11): 3160-7.

37. Cook, S., Weitzman, M., Auinger, P., Nguyen, M., Dietz, W. H. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. Arch Pediatr Adolesc Med, 2003. 157(8): 821-7.

38. Alberti, K. G., Zimmet, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med, 1998. 15(7): 539-53.

39. Whitaker, R.C., Wright, J. A., Pepe, M. S., Seidel, K. D., Dietz, W.H. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. N Engl J Med, 1997. 337(13): 869-73.

40. Κατσώρη, Α., Μ. Κουλεντιανού, Μ. Γκουβέρου, Παχυσαρκία και μέθοδοι μέτρησης σωματικού λίπους. Επιστημονικά Χρονικά, 2015. 20(2): 120-132.

41. Rao, K.R., N. Lal, and N.V. Giridharan, Genetic & epigenetic approach to human obesity. Indian J Med Res, 2014. 140(5): 589-603.

42. Rosenbaum, M., Gertner, J. M., Gidfar, N., Hirsch, J., Leibel, R. L. Effects of systemic growth hormone (GH) administration on regional adipose tissue in children with non-GH-deficient short stature. J Clin Endocrinol Metab, 1992. 75(1): 151-6.

43. Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D. Jr, Seeley, R. J., Baskin, D. G. Central nervous system control of food intake. Nature, 2000. 404(6778): 661-71.

44. Sinha, R., Fisch, G., Teague, B., Tamborlane, W. V., Banyas, B., et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. N Engl J Med, 2002. 346(11): 802-10.

45. Lustig, R. H., Post. S. R., Srivannaboon, K., Rose, S. R., Danish, R. K., et al. Risk factors for the development of obesity in children surviving brain tumors. J Clin Endocrinol Metab, 2003. 88(2): 611-6.

46. Marder, S. R., Essock, S. M., Miller, A. L., Buchanan, R. W., Casey, D. E., et al. Physical health monitoring of patients with schizophrenia. Am J Psychiatry, 2004. 161(8):1334-49.

47. Zhang, Q., Wang, Y. Socioeconomic inequality of obesity in the United States: do gender, age, and ethnicity matter? Soc Sci Med, 2004. 58(6): 1171-80.

48. Moore, L. L., Gao, D., Bradlee, M. L., Cupples, L.A., Sundarajan-Ramamurti, A., et al. Does early physical activity predict body fat change throughout childhood? Prev Med, 2003. 37(1): 10-7.

49. The Henry J. Kaiser Family Foundation. The role of media in childhood obesity. http://www.kff.org/entmedia/upload/32431_1.pdf. World Wide Web. 2004. 6-2-2004.

50. Bowman, S. A., Gortmaker, S. L., Ebbeling, C. B., Pereira, M. A., Ludwig, D. S. Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. Pediatrics, 2004. 113(1):112-8.

51. Bowman, S. A., Vinyard, B. T. Fast food consumption of U.S. adults: impact on energy and nutrient

intakes and overweight status. J Am Coll Nutr, 2004. 23(2): 163-8.

52. Ludwig, D. S., Peterson, K. E., Gortmaker, S. L. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. Lancet, 2001. 357(9255): 505-8.

53. French, S. A., Harnack, L., Jeffery, R. W. Fast food restaurant use among women in the Pound of Prevention study: dietary, behavioral and demographic correlates. Int J Obes Relat Metab Disord, 2000. 24(10): 1353-9.

54. Grummer-Strawn, L. M., Mei, Z., Centers for Disease Control and Prevention Pediatric Nutrition Surveillance System. Does breastfeeding protect against pediatric overweight? Analysis of longitudinal data from the Centers for Disease Control and Prevention Pediatric Nutrition Surveillance System. Pediatrics, 2004. 113(2): 81-6.

55. Victora, C. G., Barros, F., Lima, R. C., Horta, B. L., Wells, J. Anthropometry an body composition of 18 year old men according to duration of breast feeding: birth cohort study from Brazil. BMJ, 2003. 327(7420): 901.

56. Sethi, J. K., Vidal-Puig, J. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. J Lipid Res, 2007. 48: 1253-1262.

57. Sethi, J.K. and Vidal-Puig, A. J. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. J Lipid Res, 2007. 48(6): 1253-62.

58. Mead, J.R., Irvine, S.A., and Ramji, D. P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. J Mol Med (Berl), 2002. 80(12): 753-69.

59. Frederich, R.C., Löllmann, B., Hamann, A., Napolitano-Rosen, A., Kahn, B. et al. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. J Clin Invest, 1995. 96(3): 1658-63.

60. Festa, A., D'Agostino, R. Williams, K., Karter, A. J., Mayer-Davis, E. J., et al. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. Int J Obes Relat Metab Disord, 2001. 25(10): 1407-15.

61. Hotamisligil, G.S. Inflammatory pathways and insulin action. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. 27(3): S53-5.

62. Yudkin, J.S. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. 27(3): S25-8.

63. Yudkin, J.S., Kumari, M., Humphries, S. E., Mohamed-Ali, V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?. Atherosclerosis, 2000. 148(2): 209-14.

64. Cianflone, K., Xia, Z., Chen, L.Y. Critical review of acylation-stimulating protein physiology in humans and rodents. Biochim Biophys Acta, 2003. 1609(2): 127-43.

65. Yang, R.Z., et al., Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. 290(6): E1253-61.

66. Carey, V.J., Lee, M. J., Hu, H., Pray, J., Wu, H. B., et al. Body fat distribution and risk of non-

insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. Am J Epidemiol, 1997. 145(7): 614-9.

67. Poskitt, E.M. Defining childhood obesity: the relative body mass index (BMI). European Childhood Obesity group. Acta Paediatr, 1995. 84(8): 961-3.

68. Matthews, D. R. Physiological implications of pulsatile hormone secretion. Ann NY Acad Sci, 1991. 618:28-37.

69. Matthews, D. R. and Hinmarsh, P. C. Hormone pulsatility. Brook CGD & Hindmarsh PC ed. Clinical Pediatric Endocrinology. Λονδίνο: Blackwell Science, 2001. 17-26.

70. Matthaei, S., Stumvoll, M., Kellerer, M., Haring, H. U. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. Endocr Rev, 2000. 21(6): 585-618.

71. Bajaj, M., Defronzo, R. A. Metabolic and molecular basis of insulin resistance. J Nucl Cardiol, 2003. 10(3): 311-23.

72. Biddinger, S. B., Kahn, C. R. From mice to men: insights into the insulin resistance syndromes. Annu Rev Physiol, 2006. 68: 123-58.

73. Liu, L., Hironaka, K., Pihoker ,C. Type 2 diabetes in youth. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care, 2004. 34(7): 254-72.

74. Rosenbloom, A. L., Silverstein, J. H., Amemiya, S., Zeitler, P., Klingensmith, G., ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2007. Type 2 diabetes mellitus in the child and adolescent. Pediatr Diabetes, 2009. 9: 512–26.

75. American Diabetes Association Type 2 diabetes in children and adolescents. Diabetes Care, 2000. 23: 381–389.

76. Kaufman, F. Type 2 diabetes in youth: rates, antecedents, treatment, problems and prevention. Pediatr Diabetes, 2007. 8: 4–6.

77. Arslanian, S. A. Type 2 diabetes mellitus in children: pathophysiology and risk factors. J Pediatr Endocr Met, 2000. 13: 1385–94.

78. Pulgaron, E. and Delamater, A. Obesity and Type 2 Diabetes in Children: Epidemiology and Treatment. Curr Diab Rep, 2014. 14(8): 508.

79. Nathan, D. M., Davidson, B. M., DeFronzo, R. A., Haine, R. J., Henry, R. R., et al. American Diabetes Association: Impaired fasting glucose an impaired glucose tolerance: implication for care. Diab Care, 2007. 30:753-9.

80. Dattani, M. T. Tests in paediatric endocrinology and normal values. Brook CGD & Hindmarsh PC ed. Clinical Pediatric Endocrinology. Λονδίνο: Blackwell Science, 2001. 467-495.

81. Holl, R. W., Bucher, P., Sorgo, W., Heinze, E., Homoki, J., Debatin, K. M. Suppression of GH by oral glucose in the evaluation of tall stature. Horm Res, 1999. 51: 20-4.

82. Pomilio, M., Mohn, A., Verrotti, A., Chiarelli, F. Endothelial dysfunction in children with type 1 diabetes mellitus. J Pediatr Endocrinol Metab, 2002. 15(4): 343-61.

83. Toborek, M. and Kaiser, S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. Basic Res

Cardiol, 1999. 94(5): 295-314.

84. Cines, D. B., Pollak, E. S., Buck, C. A., Loscalzo, J., Zimmerman, G. A., et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood, 1998. 91(10): 3527-61.

85. Jaffe, E.A. Cell biology of endothelial cells. Hum Pathol, 1987. 18(3): 234-9.

86. Luscher, T. F., Seo, B.G., and Buhler, F. R. Potential role of endothelin in hypertension. Controversy on endothelin in hypertension. Hypertension, 1993. 21(6 Pt 1): 752-7.

87. Michel, T. and Vanhoutte, P. M. Cellular signaling and NO production. Pflugers Arch, 2010. 459(6): 807-16.

88. Li, H. and Forstermann, U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. J Pathol, 2000. 190(3): 244-54.

89. Michiels, C. Endothelial cell functions. J Cell Physiol, 2003. 196(3): 430-43.

90. Giannotti, G. and Landmesser, U. Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. Herz, 2007. 32(7): 568-72.

91. Minamiya, Y., Saito, S., Kalina, U., Saito, H., Terada, K., Ogawa, J. Antithrombin III diminishes production of oxygen radical in endotoxin-infused rat lung. Shock, 2004. 21(2): 139-43.

92. Behrendt, D. and Ganz, P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. Am J Cardiol, 2002. 90(10C): 40L-48L.

93. Russo, G., Leopold, J. A., and Loscalzo, J. Vasoactive substances: nitric oxide and endothelial dysfunction in atherosclerosis. Vascul Pharmacol, 2002. 38(5): 259-69.

94. Caulin-Glaser, T., García-Cardeña, G., Sarrel, P., Sessa, W. C., Bender, J. R. 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca2+ mobilization. Circ Res, 1997. 81(5): 885-92.

95. Cooke, J.P. and Dzau, V. J. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. Annu Rev Med, 1997. 48: 489-509.

96. Lago, F., Dieguez, C., Gómez-Reino, J., Gualillo, O. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. Nat Clin Pract Rheumatol, 2007. 3(12): 716-24.

97. Guerre-Millo, M. Adipose tissue hormones. J Endocrinol Invest, 2002. 25(10): 855-61.

98. Haluzik, M., Trachta, P., and Haluzikova, D. Adipose tissue hormones. Vnitr Lek, 2010. 56(10): 1028-34.

99. Fonseca-Alaniz, M. H., Takada, J., Alonso-Vale, M. I., Lima, F. B. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. J Pediatr (Rio J), 2007. 83(5 Suppl): S192-203.

100. Mohamed-Ali, V., Pinkney, J. H., and Coppack, S. W. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. Int J Obes Relat Metab Disord, 1998. 22(12): 1145-58.

101. Romacho, T., Elsen, M., Röhrborn, D., Eckel, J. Adipose tissue and its role in organ crosstalk. Acta Physiol (Oxf), 2014. 210(4): 733-53.

102. Bucala, R. and Cerami, A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. Adv Pharmacol, 1992. 23: 1-34.

103. Goldin, A., Beckman, J. A., Schmidt, A. M., Creager, M. A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. Circulation, 2006. 114(6): 597-605.

104. Wautier, J.L., Zoukourian, C., Chappey, O., Wautier, M. P., Guillausseau, P. J. Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy. Soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. J Clin Invest, 1996. 97(1): 238-43.

105. Baumgartner-Parzer, S. M. Glycemia and regulation of endothelial adhesion molecules. Horm Metab Res, 1997. 29(12): 636-8.

106. Yan, S. F., Yan, S. D., Herold, K., Ramsamy, R., Schmidt, A. M. Receptor for advanced glycation end products and the cardiovascular complications of diabetes and beyond: lessons from AGEing. Endocrinol Metab Clin North Am, 2006. 35(3): 511-24, viii.

107. Bucala, R., Tracey, K. J. and Cerami, A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. J Clin Invest, 1991. 87(2): 432-8.

108. Basta, G. Receptor for advanced glycation endproducts and atherosclerosis: From basic mechanisms to clinical implications. Atherosclerosis, 2008. 196(1): 9-21.

109. Norbury, C. J. and Hickson, I. D. Cellular responses to DNA damage. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2001. 41: 367-401.

110. Renehan, A., Booth, C., Potten, C. What is apoptosis, and why is it important? BMJ, 2001. 322(7301): 1536–1538.

111. Alkhouri, N., Gornicka, A., Berk, M. P., Thapaliya, S., Dixon, L. J., et al. Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. J Biol Chem, 2010. 285(5): 3428-38.

112. Bluher, M., Klöting, N., Wueest, S., Schoenle, E. J., Schön, M. R., et al. Fas and FasL expression in human adipose tissue is related to obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab, 2014. 99(1): 36-44.

113. FAS Fas cell surface death receptor [Homo sapiens (human)]. 2017 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/355

114. Yuan, J., Shaham, S., Ledoux, S., Ellis, H. M. and Horvitz, H. R. The C. elegans cell death gene ced-3 encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. Cell, 1993. 75: 641-652.

115. Wang, J., Lenardo, M. J. Roles of caspases in apoptosis, development, and cytokine maturation revealed by homozygous gene deficiencies. J Cell Sci, 2000. 113(5): 753-7.

116. Halliwell, B., Gutteridge, J. M.C. 3rd ed. Oxford Science Publications; Oxford: 1999. Free radicals in biology and medicine.

117. Graham, B., and Jauniaux, E. Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2011. 25(3): 287–299.

118. Cadenas, E., Davies, K. J. A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Rad Biol Med, 2000. 29: 222–230.

119. Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev, 2002. 82: 47–95.

120. Lee, S. C., Pervaiz, S. Apoptosis in the pathophysiology of diabetes mellitus. Int J Biochem Cell Biol, 2007. 39(3): 497-504.

121. Graham J. Burton, and Eric Jauniaux, Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2011. 25(3): 287–299.

122. Nicol, C. J., Zielenski, J., Tsui, L. An embryoprotective role for glucose-6-phosphate dehydrogenase in developmental oxidative stress and chemical teratogenesis. FASEB J, 2000. 14: 111–127.

123. Amirkhizi, F., Siassi, F., Minaie, S., Djalali, M., Rahimi, A., Chamari, M. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidación and oxidative stress in women. ARYA Atheroscler. J, 2007. 2:189–192.

124. Ozata, M., Mergen. M., Oktenli, C., Aydin, A., Sanisoglu, S. Y., et al. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. Clin. Biochem, 2002. 35: 627–631.

125. Rzheshevsky, A.V. Fatal "Triad": Lipotoxicity, oxidative stress, and phenoptosis. Biochemistry, 2013. 78: 991–1000.

126. Tereshin, E.V. A role of fatty acids in the development of oxidative stress in aging. A hypothesis. Adv. Gerontol, 2007. 20: 59–65.

127. Duvnjak, M., Lerotic, I., Barsic, N., Tomasic, V., Virovic Jukic, L., Velagic, V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. World J. Gastroenterol, 2007. 13: 4539–4550.

128. Goossens, G. H. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. Physiol. Behav, 2008. 94:206–218.

129. Khan, N., Naz, L., Yasmeen, G. Obesity: An independent risk factor systemic oxidative stress. Pak. J. Pharm. Sci, 2006. 19:62–69.

130. Marseglia, L.,, Manti, S., D'Angelo, G., Nicotera, A., Parisi, E., et al. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. Int J Mol Sci, 2015. 16(1): 378–400.

131. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy. Free radicals, antioxidants in disease an health IJBS, 2008. 4(2): 89-96.

132. Ullah, A., Khan, A., Khan, I. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. Saudi Pharmaceutical Journal, 2016, 24(5): 547-553.

133. Γιαννακοπούλου, Ε. Οξειδωτικό stress – αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί, Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, 2009. 26(1): 23-35.

134. McCord, J. M. Analysis of Superoxide Dismutase Activity. Current Protocols in Toxicology, 2001. Doi: 10.1002/0471140856.tx0703s00

135. Bresciani, G., da Cruz IBM, González-Gallego, J. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. Adv Clin Chem, 2015. 68: 87–130.

136. Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A., Van Remmen, H. Trends in oxidative aging theories, Free Radic Biol Med, 2007. 43(4):477-503.

137. The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2003. 26 (1): 5-20.

138. Thompson, C. B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science, 1995. 267: 1456-62.

139. Wyllie, A. H., Bellamy, C. O., Bubb, V. J., Clarke, A. R., Corbet, S., Curtis, L, et al. Apoptosis and carcinogenesis. Br J Cancer, 1999. 80(1):34-7.

140. Kim, J. Y., van de Wall, E., Laplante, M., Azzara, A., Trujillo, M. E., Hofmann, S. M., et al. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. J. Clin. Invest, 2007. 117: 2621–2637.

141. Lauber, K., Bohn, E., Kro¨ber, S. M., Xiao, Y. J., Blumenthal, S. G., Lindemann, R. K., et al. Apoptotic cells induce migration of phagocytes via caspase-3-mediated release of a lipid attraction signal. Cell, 2003. 113 (6): 717–730.

142. Murano, I., Barbatelli, G., Parisani, V., Latini, C., Muzzonigro, G., Castellucci, M., and Cinti, S. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. J. Lipid Res, 2008. 49: 1562–1568.

143. Kroemer, G., Galluzzi, L., Vandenabeele, P., Abrams, J., Alnemri, E. S., Baehrecke, E. H., et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009.Cell Death Differ, 2009. 16: 3–11.

144. Lissau, I., et al. Body mass index and overweight in adolescents in 13 European countries, Israel, and the United States. Arch Pediatr Adolesc Med, 2004. 158(1): 27-33.

145. Cole, T.J., et al. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. BMJ, 2000. 320(7244): 1240-3.

146. Tambalis, K.D., et al. Eleven-year prevalence trends of obesity in Greek children: first evidence that prevalence of obesity is leveling off. Obesity (Silver Spring), 2010. 18(1): 161-6.

147. Sinha, R., Fisch, G., Teague, B., Tamborlane, W. V., Banyas, B., et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. N Engl J Med, 2002. 346(11): 802-10.

148. Inviti, C., Guzzaloni, G., Gilardini, L., Morabito, F., Viberti, G. Prevalence and concomitants of glucose intolerance in European obese children and adolescents. Diabetes Care, 2003. 26: 118-124.

149. Valerio, G., Licenziati, M. R., Iannuzzi, A., Franzese, A., Siani, P., et al. Insulin resistance and impaired glucose tolerance in obese children and adolescents from Southern Italy. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. 16: 279-284.

150. Tresaco, B., Bueno, G., Moreno, L. A., Garagorri, J. M., Bueno, M. Insulin resistance and impaired glucose tolerance in obese children and adolescents. J Physiol Biochem, 2003. 59: 217-223.

151. Viner R, M., Segal, T. Y., Lichtarowicz-Krynska, E., Hindmarsh, P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. Arch Dis Child, 2005. 90: 10-14.

152. Bozkaya, G., Ozgu, E., Karaca, B. The association between estimated average glucose levels and fasting plasma glucose levels. Clinics (Sao Paulo), 2010. 65(11): 1077-80.

153. Wang, C. The Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus and Related Thyroid Diseases. J Diabetes Res, 2013. 2013:390534.

154. Banu, S., Jabir, N. R., Manjunath, C. N., Shakil, S., Kamal, M. A. C-peptide and its correlation to parameters of insulin resistance in the metabolic syndrome. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2011. 10(8): 921-7.

155. Gatenby, V. K., Kearney, M. T. The role of IGF-1 resistance in obesity and type 2 diabetes-mellitus-related insulin resistance and vascular disease. Expert Opin Ther Targets, 2010. 14(12): 1333-42.

156. Olofsson, S, O., Wiklund, O., Borén, J. Apolipoproteins A-I and B: biosynthesis, role in the development of atherosclerosis and targets for intervention against cardiovascular disease. Vasc Health Risk Manag, 2007. 3(4): 491-502.

157. Feng, X., Gao, X., Yao, Z., Xu, Y. Low apoA-I is associated with insulin resistance in patients with impaired glucose tolerance: a cross-sectional study. Lipids Health Dis, 2017. 16(1):69.

158. Aoudjit, F., Vuori, K. Matrix attachment regulates Fas-induced apoptosis in endothelial cells: a role for c-flip and implications for anoikis. J Cell Biol, 2001, 152(3): 633-43.

159. Smyth, L., Brady, H. cMet and Fas receptor interaction inhibits death-inducing signaling complex formation in endothelial cells. Hypertension, 2005. 46(1): 100-6.

160. Blüher ,M. , Klöting, N., Wueest, S., Schoenle, E. J., Schön, M. R., et al. Fas and FasL expression in human adipose tissue is related to obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab, 2014. 99(1): 36-44.

161. Qi, C. and Pekala, P. H. Tumor Necrosis Factor-α–Induced Insulin Resistance in Adipocytes. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 2000. 223: 128–135.

162. Choi, J. W., Kim, S. K. Relationships of soluble APO-1 (Fas/CD95) concentrations, obesity, and serum lipid parameters in healthy adults. Ann Clin Lab Sci., 2005. 35(3): 290-6.

163. Kooijman, R. Regulation of apoptosis by insulin-like growth factor (IGF)-I. Cytokine Growth Factor Rev, 2006. 17(4): 305-23.

164. Vos, M. B., Barve, S., Joshi-Barve, S., Carew, J. D., et al. Cytokeratin 18, a marker of cell death, is increased in children with suspected nonalcoholic fatty liver disease. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 2008. 47(4): 481-485.

165. Skeldon, A. M., Morizot, A., Douglas, T., Santoro, N., Kursawe, R., et al. Caspase-12, but Not Caspase-11, Inhibits Obesity and Insulin Resistance. J Immunol ,2016. 196(1): 437-47.

166. Machado, M. V., Michelotti, G. A., Jewell, M. L., et al. Caspase-2 promotes obesity, the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. Cell Death & Disease, 2016. 7(2): 2096.

167. Asayama, K., Uchida, N., Nakane, T., Hayashibe, H., Dobashi, K, et al. Antioxidants in the serum of children with insulin-dependent diabetes mellitus. Free Radic Biol Med, 1993. 15(6): 597-602.

168. Shin, M. J., Park, E. Contribution of insulin resistance to reduced antioxidant enzymes and vitamins in nonobese Korean children. Clin Chim Acta, 2006. 365(1-2): 200-5.

169. Baez-Duarte, B. G., Zamora-Ginez, I., Mendoza-Carrera, F., Ruiz-Vivanco, G., Torres-Rasgado, E., et al. Serum levels of glutathione peroxidase 3 in overweight and obese subjects from central Mexico. Arch Med Res, 2012.43(7): 541-7.

170. Oda, A., Bannai, C., Yamaoka ,T., Katori, T., Matsushima, T., et al. Inactivation of Cu,Zn-superoxide dismutase by in vitro glycosylation and in erythrocytes of diabetic patients. Horm Metab Res, 1994. 26(1): 1-4.

171. Jandrić-Balen, M., Božikov, V., Bozikov, J., Metelko, Ž. , Jandrić, I.,et al. Impact of glycemic control on antioxidant enzyme activity in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetologia Croatica,2004. 33: 131-5.

172. Higashi, Y., Sukhanov, S., Anwar, A., Shai, S.Y., Delafontaine, P. IGF-1, oxidative stress, and atheroprotection. Trends in endocrinology and metabolism: TEM, 2010. 21(4): 245-254.

173. Koutroumani, N., Partsalaki, I., Lamari, F., Dettoraki, A., Rojas Gi,l A. P., et al. Protective mechanisms against oxidative stress and angiopathy in young patients with diabetes type 1 (DM1). J Pediatr Endocrinol Metab, 2013. 26(3-4) :309-17.

174. Schmutzler, C., Mentrup, B., Schomburg, L., Hoang-Vu, C., Herzog, V., et al. Selenoproteins of the thyroid gland: expression, localization and possible function of glutathione peroxidase 3. Biol Chem, 2007. 388(10): 1053-9.

175. Maganna, M., Katsa, M.E, Ioannidis, A., ZygaM S., Tsironi, M., Sachlas, A., Routsi, K., Dolianiti, L & Rojas Gil. A. P. The Role of Apoptotic Marker Apo-1/Fas in the Metabolism and Endothelial Function of Healthy Children. Horm Res Paediatr. 2016, 82(1): 37. (congress abstract publication)

13.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Τμήμα Ιατρικής,

Πανεπιστήμιο Πατρών,

Μάρτιος, 2017

Άδεια πραγματοποίησης ερευνητικής μελέτης

Με την παρούσα επιστολή δίνω την άδεια στη φοιτήτρια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Διοίκηση Υπηρεσιών Υγείας και Διαχείριση Κρίσεων», του τμήματος Νοσηλευτικής του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου, κα Κατσά Μαρία Ευθυμία, στα πλαίσια μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας υπό την επίβλεψη της Επίκουρης καθηγήτριας Βιολογίας-Βιοχημείας κας Ρόχας Χιλ Ανδρέα Παόλα να χρησιμοποιήσει δείγματα αίματος από καμπύλη γλυκόζης παιδιών που παρακολουθούνται στο ιατρείο μου για να πραγματοποιήσει έλεγχο για παράγοντες αποπτωτικούς και αντιοξειδωτικούς. Η ερευνά αφορά την Μελέτη της σχέσης απόπτωσης- οξειδωτικού στρες- ενδοθηλιακής λειτουργίας κατά την διάρκεια της καμπύλης γλυκόζης (OGTT) σε παχύσαρκά παιδιά. Η παρούσα έρευνα, αποτελεί συνέχεια της διδακτορικής διατριβής της κας Νικολακοπούλου Νικολέτας η οποία εκπονήθηκε στο τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών. Αποτελεί συνεργασία μεταξύ του εργαστηρίου «Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη» του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών με υπεύθυνη την Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας κα Γκρέκα-Σπηλιώτη Βασιλική, του εργαστηρίου «Βιολογίας-Βιοχημείας» του τμήματος Νοσηλευτικής του Πανεπιστήμιου Πελοποννήσου με υπεύθυνη την Επίκουρη Καθηγήτρια κα Ρόχας Χίλ και του εργαστηρίου «Βιολογίας Βιοχημείας και Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών» του Τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής με υπεύθυνο τον Επίκουρο καθηγητή Βιοχημείας κο Νομικό Τζώρτζη.

Με εκτίμηση,

Βασιλική Γκρέκα Σπηλιώτη,

Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας

Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστήμιο Πατρών

Εικόνα 9: Άδεια πραγματοποίησης της διπλωματικής εργασίας.