ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

«ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ rs174550 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ FADS1 ΜΕ ΤΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ»

ΚΑΛΑΦΑΤΗ ΙΩΑΝΝΑ-ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ, ΑΜ:20606



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Γ. ΔΕΔΟΥΣΗΣ, Αναπληρωτής καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Γ. ΔΕΔΟΥΣΗΣ, Αναπληρωτής καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Λ. ΣΥΝΤΩΣΗΣ, Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Ρ. ΤΕΝΤΑ, Λέκτορας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

ΑΘΗΝΑ 2010

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Γεώργιο Δεδούση, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με την έρευνα στον τομέα της Διατροφογενωμικής.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα του τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστήμιου, Σταυρούλα Κανόνη, για τη βοήθειά της κατά τη συγγραφή αυτής της εργασίας.

Τέλος, οφείλω ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα του τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστήμιου, Μελίνα Δημητρίου, για την υπέροχη συνεργασία μας καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και για την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξή της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ***ΠΕΡΙΛΗΨΗ……..….....σελ.5***

2. ***ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ……..σελ.6***

3. ***ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ***

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ……..….σελ.7-8

3.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

3.2.1. ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ.……..…σελ.9-10

3.2.2. ΕΛΛΑΔΑ……..…σελ.11

3.3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ……..…σελ.12-15

3.4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ……..σελ.15-16

3.5. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ……..….σελ.16-18

3.6. ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ……..…σελ.18-22

3.7. ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ……..σελ.22-24

3.8. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΜΕ ΓΟΝΙΔΙΑ……..σελ.24-26

3.9. Η ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ FADS……..σελ.27-29

2.10. Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ rs174550 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ FADS1……..….σελ.30

4. ***ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ***

4.1. ΣΚΟΠΟΣ……..…σελ.31

4.2. ΔΕΙΓΜΑ……..…σελ.31

4.3. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΤΡΑΤΟΛΟΓΗΣΗΣ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ……..…σελ.31

4.4. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ……..….σελ.32

4.5. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΓΛΥΚΟΖΗΣ……..…σελ.32

4.6. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ……..σελ.32-33

4.7. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ……..…σελ.33-34

4.8. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ……..…σελ.35-36

4.9. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ……σελ.37

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ…….……..…….σελ.38-45

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ…….……..……σελ.46-47

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ……...……...σελ.48-55

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μέχρι το έτος 2030, ο αριθμός των ηλικιωμένων ατόμων που θα πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 υπολογίζεται ότι θα είναι 130 εκατομμύρια παγκοσμίως. Η ανάγκη, λοιπόν, για εύρεση νέων θεραπευτικών μεθόδων είναι επιτακτική.

Πολλά είναι εκείνα τα γονίδια που έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Στην παρούσα μελέτη, ερευνήθηκε ο ρόλος του πολυμορφισμού rs174550 (T>C) του γονιδίου FADS1 στα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος νηστείας, σε συνδυασμό με την πρόσληψη ψευδαργύρου σε 713 μη διαβητικά ηλικιωμένα άτομα της Αττικής. Οι παράγοντες που συνυπολογίστηκαν είναι το φύλο, η ηλικία, ο Δείκτης Μάζας Σώματος, η ημερήσια προσλαμβανόμενη ενέργεια.

Το Τ αλληλόμορφο φάνηκε να προκαλεί αύξηση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας (0,3848, p=0,2332), ενώ η πρόσληψη ψευδαργύρου βρέθηκε ότι επιδρά αρνητικά σε αυτά, αλλά όχι στατιστικά σημαντικά (- 0,6884, p=0,1472). Το Τ αλληλόμορφο όμως αλληλεπιδρά με τον ψευδάργυρο και η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί μείωση των επιπέδων γλυκόζης και συνεπώς καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο (-0,3243, p=0,01283). Βρέθηκε, επίσης, θετική συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης ψευδαργύρου και των επιπέδων γλυκόζης στα άτομα με γονότυπο CC (0,325, p=0,015), καθώς και μεταξύ του BMI και των επιπέδων γλυκόζης στους γονότυπους TT, TC (p=0,006 και p=0,002 αντίστοιχα). Στα άτομα με γονότυπο TT και TC δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση της πρόσληψης Zn στα επίπεδα γλυκόζης (-0,009, p=0,866).

Άτομα, λοιπόν, με γονότυπο CC δεν ωφελούνται από την πρόσληψη ψευδαργύρου όσον αφορά στα επίπεδα γλυκόζης. Προς το παρόν, δεν υπάρχουν έρευνες για τη συγκεκριμένη αλληλεπίδραση που θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως μέτρο σύγκρισης για τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής.

ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ

ALA *: α-λινολενικό οξύ*

AA *: Αραχιδονικό οξύ*

D5/6D *: Δέλτα -5/6- δεσατουράση*

DGLA *: Διομο-γ-λινολενικό οξύ*

EPA *: Εικοσαπεντανοϊκό οξύ*

FADS *: Γονίδια δεσατουράσης*

HDL *: Καλή χοληστερόλη*

LA *: Λινελαϊκό οξύ*

LDL *: Κακή χοληστερόλη*

MT *: Μεταλλοθειονίνες*

PUFAs *: Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα*

SNP *: Πολυμορφισμός*

TC *: Ολική χοληστερόλη*

TG *: Τριγλυκερίδια*

λ.ο *: Λιπαρό/ά οξύ/έα*

ΟΕΜ *: Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου*

ΣΔ2 *: Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2*

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) είναι ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας σε όλο τον κόσμο. Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα εξ' αιτίας του ΣΔ2 έχει αυξηθεί παγκοσμίως τα τελευταία χρόνια (1). Είναι γνωστό ότι ο ΣΔ2 είναι μία διαταραχή του μεταβολισμού, που χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία. Αυτή προκύπτει λόγω της ανεπαρκούς έκκρισης ινσουλίνης από τα β- κύτταρα των νησιδίων του Langerhans στο πάγκρεας, της ινσουλινοαντίστασης στα περιφερειακά κύτταρα και της ανεπαρκούς καταστολής της παραγωγής γλυκαγόνης. Η τελευταία οδηγεί σε ανεπαρκή πρόσληψη (από τα κύτταρα), αποθήκευση και διαθεσιμότητα γλυκόζης, τα οποία σε συνδυασμό με την αυξημένη παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ οδηγούν σε υπεργλυκαιμία (2). Ο ΣΔ2 εμφανίζεται κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας, τα οποία έχουν τη νόσο για πολλά χρόνια (4-7 χρόνια κατά μέσο όρο). Τα συμπτώματα της νόσου είναι η πολυδιψία, η πολυουρία, η απώλεια βάρους και λιγότερο συχνά παρουσιάζεται θόλωση στην όραση, κνησμός και λήθαργος. Η διάγνωση της ασθένειας βασίζεται σε συγκεκριμένα κριτήρια: τη γλυκόζη νηστείας πλάσματος, τη γλυκόζη πλάσματος 2 ώρες μετά από φόρτιση υδατανθράκων και μία τυχαία γλυκόζη πλάσματος. Στα κριτήρια αποκλεισμού του διαβήτη σε ασυμπτωματικά άτομα υψηλού κινδύνου συμπεριλαμβάνονται η ηλικία, η κληρονομικότητα, το σωματικό βάρος, το λιπιδαιμικό προφίλ κ.α. Ο ΣΔ2 ονομάζεται και μη ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης, ενώ η κληρονομικότητά του υπολογίζεται σε 60-90% (3).

Τα κριτήρια διάγνωσης του ΣΔ2 επανεξετάστηκαν το 2004 από την Επιτροπή Ειδικών για τη Διάγνωση και την Ταξινόμηση του ΣΔ (The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus) (4) και οι αλλαγές που προτάθηκαν είναι οι εξής:

- Το όριο μεταξύ φυσιολογικής και διαταραγμένης γλυκόζης πλάσματος νηστείας μειώθηκε από 110mg/dL σε 100mg/dL.
- Η μέτρηση γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης δε θεωρείται πλέον αξιόπιστη μέθοδος διάγνωσης της νόσου, καθώς μεταξύ των διαφόρων εργαστηρίων δεν υπάρχει μια συγκεκριμένη μεθοδολογία εξαγωγής των αποτελεσμάτων.
- Η μέτρηση γλυκόζης πλάσματος νηστείας και γλυκόζης πλάσματος 2 ώρες μετά από φόρτιση υδατανθράκων παραμένουν αξιόπιστες μέθοδοι, με προτιμότερη την πρώτη ως πιο οικονομική, με καλύτερη επαναληψιμότητα και πιο κατάλληλη μέθοδο.

Πίνακας 1:Κριτήρια διάγνωσης Σακχαρώδους Διαβήτη Τύπου 2

Γλυκόζη πλάσματος νηστείας	**<100mg/dL**	***Φυσιολογική***
Γλυκόζη πλάσματος νηστείας	≥100 και <126mg/dL	*Διαταραγμένη*
Γλυκόζη πλάσματος νηστείας	≥126mg/dL	*Σακχαρώδης διαβήτης*
Γλυκόζη πλάσματος 2 ώρες μετά 75γρ. γλυκόζης	<140mg/dL	*Φυσιολογική ανοχή στη γλυκόζη*
Γλυκόζη πλάσματος 2 ώρες μετά 75γρ. γλυκόζης	≥140 και <200mg/dL	*Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη*
Γλυκόζη πλάσματος 2 ώρες μετά 75γρ. γλυκόζης	≥200mg/dL	*Σακχαρώδης διαβήτης*

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ:

ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ:

Σύμφωνα με μια μελέτη των King et al. ο επιπολασμός του ΣΔ στις πιο αναπτυγμένες χώρες αυξάνεται συνεχώς και είναι μεγαλύτερος σε σύγκριση με αυτόν στις αναπτυσσόμενες χώρες. Στο χρονικό διάστημα 1995-2025 αναμένεται αύξηση του επιπολασμού κατά 35%, δηλαδή από 4,0% σε 5,4%. Ωστόσο, το ποσοστό της αύξησης θα είναι μεγαλύτερο στις αναπτυσσόμενες χώρες. Στις αναπτυγμένες χώρες ο επιπολασμός θα αυξηθεί κατά 27%, από 6,0% σε 7,6%. Στις αναπτυγμένες χώρες η αύξηση θα είναι 48%, από 3,3% σε 4,9%. Οι μεγαλύτερες αυξήσεις από το 1995 μέχρι το 2025 αναμένεται να σημειωθούν στην Κίνα(68%) και στην Ινδία(59%) (5).

Μία πιο πρόσφατη μελέτη που δημοσιεύθηκε στο ίδιο περιοδικό το Μάιο του 2004, είχε ως σκοπό να υπολογίσει τον αριθμό των ατόμων κάθε ηλικίας με ΣΔ για τα έτη 2000 και 2030. Εκτιμήθηκε λοιπόν ότι ο επιπολασμός του διαβήτη παγκοσμίως για το έτος 2000 θα ήταν 2,8% ή 171 εκατομμύρια άνθρωποι, ενώ για το 2030 θα φτάσει το ποσοστό του 4,4% ή 366 εκατομμύρια (6).

Όσον αφορά στους ηλικιωμένους ανθρώπους (>65 ετών), υπολογίζεται ότι μέχρι το έτος 2030 ο αριθμός των ατόμων αυτών που θα πάσχουν από ΣΔ θα είναι 82 εκατομμύρια στις αναπτυσσόμενες χώρες και 48 εκατομμύρια στις αναπτυγμένες (6).

Μεταξύ των 2 φύλων παρατηρήθηκαν επίσης διαφορές. Η εμφάνιση του διαβήτη είναι συχνότερη σε άνδρες < 60 χρόνων και σε γυναίκες >60 χρόνων. Ο επιπολασμός του διαβήτη στους άνδρες είναι μεγαλύτερος απ' ότι στις γυναίκες, τελικά όμως υπάρχουν περισσότερες γυναίκες με διαβήτη σε σχέση με άνδρες. Αυτό εξηγείται από το συνδυασμό του μεγαλύτερου επιπολασμού της ασθένειας σε ηλικιωμένες γυναίκες, της μεγάλης θνησιμότητας στους ηλικιωμένους άντρες και στο γεγονός ότι η εμφάνιση του διαβήτη στις μεγαλύτερες ηλικίες αυξάνεται (6).

<u>Θάνατοι</u>

Ο διαβήτης ήταν η έβδομη κύρια αιτία θανάτου στις ΗΠΑ το 2006. Σύμφωνα με τα πιστοποιητικά θανάτου που καταγράφηκαν, ο διαβήτης συνέβαλε συνολικά σε 233.619 θανάτους το 2005, τελευταίο έτος για το οποίο είναι διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τις αιτίες θανάτου (3).

Επιπλοκές

Καρδιακή νόσος και εγκεφαλικό επεισόδιο

• Το 2004, οι καρδιαγγειακές παθήσεις παρατηρήθηκαν στο 68% των θανάτων που σχετίζονται με το διαβήτη για τα άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω, ενώ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο στο 16% (3).

Υψηλή αρτηριακή πίεση

• Κατά την περίοδο 2003-2004, το 75% των ενηλίκων με αυτοαναφερόμενο διαβήτη είχαν αρτηριακή πίεση μεγαλύτερη ή ίση με 130/80 mmHg, ή χρησιμοποιούσαν αντιϋπερτασικά φάρμακα) (3).

Τύφλωση

- Ο διαβήτης είναι η κύρια αιτία των νέων περιπτώσεων τύφλωσης μεταξύ ενηλίκων ηλικίας 20-74 ετών.
- Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια προκαλεί 12.000 έως 24.000 νέες περιπτώσεις τύφλωσης κάθε χρόνο (3).

Νεφρική νόσος

• Ο διαβήτης είναι η κύρια αιτία νεφρικής ανεπάρκειας, που αντιπροσωπεύει το 44% των νέων υποθέσεων το 2005 (3).

Νευροπάθεια

• Περίπου το 60% έως 70% των ατόμων με διαβήτη έχουν ήπια έως σοβαρής μορφής ζημιά στο νευρικό τους σύστημα (3).

Ακρωτηριασμός

• Πάνω από το 60% των ακρωτηριασμών (που δεν οφείλονται σε τραυματισμό) κάτω άκρων συμβαίνουν σε άτομα με διαβήτη.

• Το 2004, περίπου 71.000 ακρωτηριασμό κάτω άκρων-πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους με διαβήτη (3).

Στην Ευρώπη, η θνησιμότητα λόγω του ΣΔ2 για το έτος 2010 αναμένεται να φτάσει τις 297.600 γυναίκες και τους 336.500 άνδρες (97).

ΕΛΛΑΔΑ

Η μελέτη με τίτλο «Global Burden of Diabetes, 1995–2025 Prevalence, numerical estimates, and projection» συγκέντρωσε αλλά και προέβλεψε στοιχεία, μεταξύ των άλλων χωρών, και για την Ελλάδα (5). Αυτά αναφέρονται σε 3 χρονικές στιγμές και παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

ΕΤΟΣ	ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ (000)	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)	ΑΝΔΡΕΣ (000)	ΓΥΝΑΙΚΕΣ (000)	20-44 (000)	45-64 (000)	65- (000)
1995	607	7,6	262	345	67	239	300
2000	650	7,8	276	374	70	238	342
2025	772	9,6	317	455	56	276	440

Ο επιπολασμός του σακχαρώδη διαβήτη στην Ελλάδα μελετήθηκε πιο διεξοδικά το 2002 από τους Γκίκας και συν. Στη μελέτη αυτών, ο επιπολασμός αξιολογήθηκε σε σχέση με τους πιο κοινούς παράγοντες κινδύνου όπως για παράδειγμα παχυσαρκία και κληρονομικότητα. Η συχνότητα εμφάνισης διαγνωσμένου διαβήτη υπολογίστηκε 8,7%, ενώ μετά την προσαρμογή ως προς την ηλικία το ποσοστό υπολογίστηκε 8,2% (7).

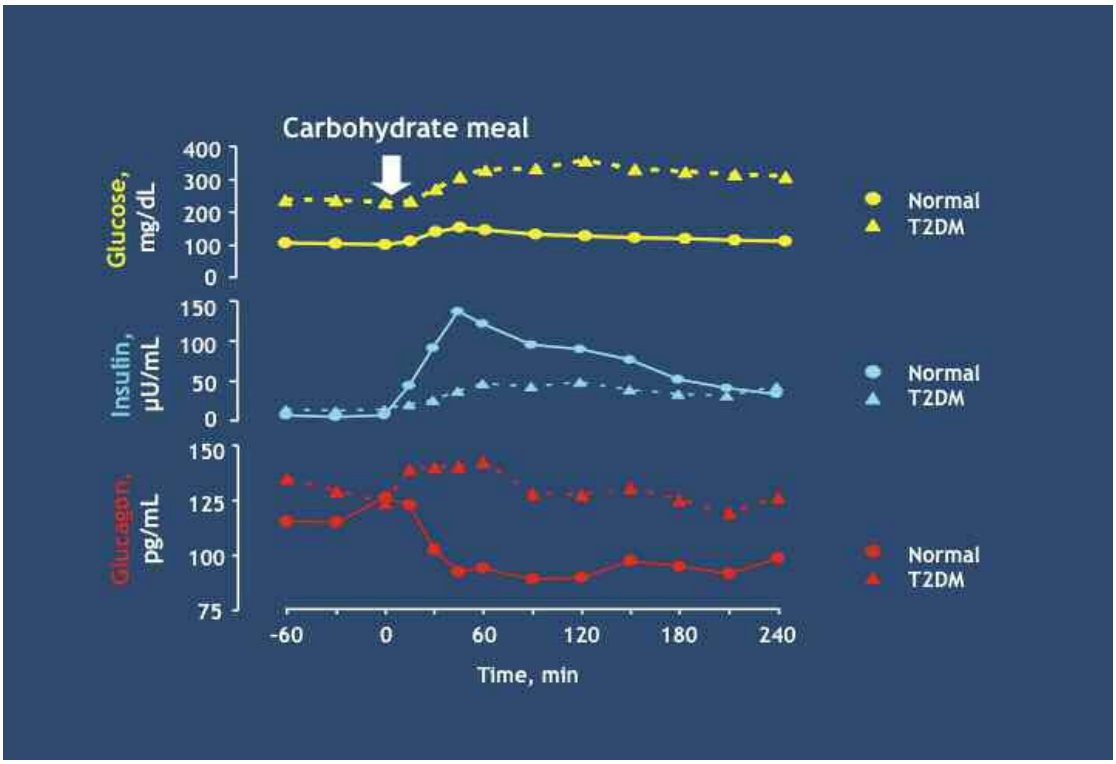
Όσον αφορά στο φύλο, στοιχεία από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ κατά την οποία μελετήθηκαν 1514 άνδρες και 1528 γυναίκες με σκοπό τον καθορισμό του επιπολασμού του διαβήτη μεταξύ ενήλικων Ελλήνων σε σχέση με τη φυσική δραστηριότητα και τις διαιτητικές συνήθειες, βρέθηκε ότι 7,6% των ανδρών και 5,9% των γυναικών έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη. Ωστόσο, το 24% των ανδρών και των 30% των γυναικών δεν ήταν ενήμεροι για την κατάστασή τους. Παρατηρήθηκε επίσης ότι και στον ελληνικό πληθυσμό, όπως και παγκόσμια, μεταξύ ατόμων ηλικίας 65-75, το ανδρικό φύλο είχε μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης της νόσου κατά 1,5 φορά σε σχέση με τις γυναίκες. Συγκεκριμένα, οι ηλικιωμένες άνω των 75 ετών έχουν 1,56 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη σε σχέση με τους άνδρες. Όσον αφορά στη διατροφή και στην άσκηση ως παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΣΔ2, άτομα με Μεσογειακό διατροφικό σκορ μεγαλύτερο κατά 10 μονάδες συσχετίστηκαν με 21% μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη, ενώ άτομα με ελαφριάς εντάσεως φυσική δραστηριότητα είχαν 35% μικρότερη πιθανότητα για εμφάνιση διαβήτη σε σχέση με εκείνους των οποίων η ζωή χαρακτηρίζεται ως καθιστική($P<0,05$) (8).

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 αποτελεί μια ετερογενή ομάδα μεταβολικών παθήσεων που χαρακτηρίζονται από χρόνια υπεργλυκαιμία και διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των λιπιδίων και των πρωτεϊνών. Αυτές οφείλονται σε διαταραχή της έκκρισης της ινσουλίνης , της δράσης της ή και των δύο. Για τις οξείες, βραχυπρόθεσμες και χρόνιες επιπλοκές αυτής της χρόνιας νόσου που προσβάλλει όλα τα όργανα και τα συστήματα του σώματος, ευθύνεται κυρίως η χρόνια υπεργλυκαιμία (3).

Τα νησίδια του Langerhans βρίσκονται στην ενδοκρινή μοίρα του παγκρέατος και αποτελούνται από 2 τύπους κυττάρων, τον α και το β. Τα β- κύτταρα παράγουν την αμυλίνη και την ινσουλίνη, με την τελευταία να εκκρίνεται σε καταστάσεις υψηλών επιπέδων γλυκόζης πλάσματος. Τα α-κύτταρα διεγείρονται όταν μειώνονται τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος και εκκρίνουν τη γλυκαγόνη. Οι δύο αυτές ορμόνες εμπλέκονται στην παθογένεια του ΣΔ (3).

Στους ασθενείς με διαβήτη, η μεταβολική απάντηση στη γλυκόζη της τροφής είναι διαφορετική σε σχέση με των υγειών ανθρώπων. Στους διαβητικούς, η δίοδος της γλυκόζης από το γαστρεντερικό σύστημα δεν προκαλεί την άμεση έκκριση ικανής ποσότητας ινσουλίνης αλλά και την άμεση μείωση της γλυκαγόνης όπως συμβαίνει στους υγιείς. Αυτό είναι ο λόγος που προκαλείται η αντίσταση στην ινσουλίνη και η κακή ρύθμιση της γλυκόζης (3).



Εικόνα 1: Γλυκόζη πλάσματος, ινσουλίνη και γλυκαγόνη κατά την πέψη ενός υδατανθρακικού γεύματος σε φυσιολογικούς και διαβητικούς ανθρώπους (98)

Ποιοι είναι όμως οι μηχανισμοί της παθογένειας;

Πρώτο στοιχείο που συμμετέχει στην παθογένεια της νόσου είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη των περιφερικών κυττάρων. Τα β- κύτταρα απελευθερώνουν όλο και περισσότερη ινσουλίνη, με σκοπό να ρυθμίσουν την υπεργλυκαιμία. Με την πάροδο του χρόνου όμως, τα κύτταρα δεν μπορούν να αντιρροπήσουν την προοδευτικά αυξανόμενη αντίσταση στην ινσουλίνη με αποτέλεσμα να εκδηλώνεται κλινικά ο ΣΔ (9). Μελέτη σχετικά με το ποσοστό της διαθέσιμης γλυκόζης αίματος μετά την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας, έδειξε ότι η είσοδος της γλυκόζης στα κύτταρα ήταν μειωμένη κατά 30% στα διαβητικά άτομα σε σχέση με εκείνα που ήταν υγιή($P<0,01$). Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι η ηπατική παραγωγή γλυκόζης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα των ασθενών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Έτσι φάνηκε ότι η εκκρινόμενη ινσουλίνη δεν επαρκεί για να ελέγξει την υπεργλυκαιμία σε ένα διαβητικό άτομο (10).

Δεύτερο βασικό στοιχείο είναι η δυσλειτουργία των κυττάρων β. Παρατηρείται απορρύθμιση στην έκκριση ινσουλίνης, ελλιπής ενίσχυση από τη γλυκόζη των παραγόντων που διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης(του εξαρτώμενου από τη γλυκόζη ινσουλινοτρόπου πολυπεπτιδίου GIP και του γλυκαγονοειδούς πεπτιδίου 1 GLP-1), αύξηση της έκκρισης γλυκαγόνης από τα κύτταρα α του παγκρέατος και τέλος γλυκοτοξικότητα. Ο όρος αυτός ορίζεται ως η μειωτική επίδραση της χρόνιας υπεργλυκαιμίας στην έκκριση της ινσουλίνης (9). Μελέτες στις οποίες πραγματοποιήθηκε αυτοψία σε 3 ομάδες παχύσαρκων ατόμων, μία με φυσιολογική ανοχή στη γλυκόζη, μία με δυσανοχή στη γλυκόζη και μία με ΣΔ, έδειξαν ότι η μάζα των κυττάρων β μειώνεται όσο αυξάνεται η ινσουλινοαντίσταση. Συγκεκριμένα, τα άτομα με δυσανοχή στη γλυκόζη είχαν 40% μείωση στον όγκο των β-κυττάρων ($P<0,05$), ενώ εκείνοι που έπασχαν από ΣΔ είχαν κυτταρική μάζα μειωμένη κατά 63% σε σχέση με τα φυσιολογικής ανοχής άτομα ($P<0,01$). Τα αποτελέσματα αυτά είναι πολύ σημαντικά καθώς ασθενείς με επίπεδα γλυκόζης 102-111mg/dL δεν εκφράζουν ιδιαίτερη ανησυχία για τη δυσανεξία αυτή, ενώ παράλληλα έχει προκληθεί έκπτωση της μάζας των β-κυττάρων κατά 40%. Μέχρι τη στιγμή της διάγνωσης του ΣΔ το άτομο έχει χάσει το 63% (11).

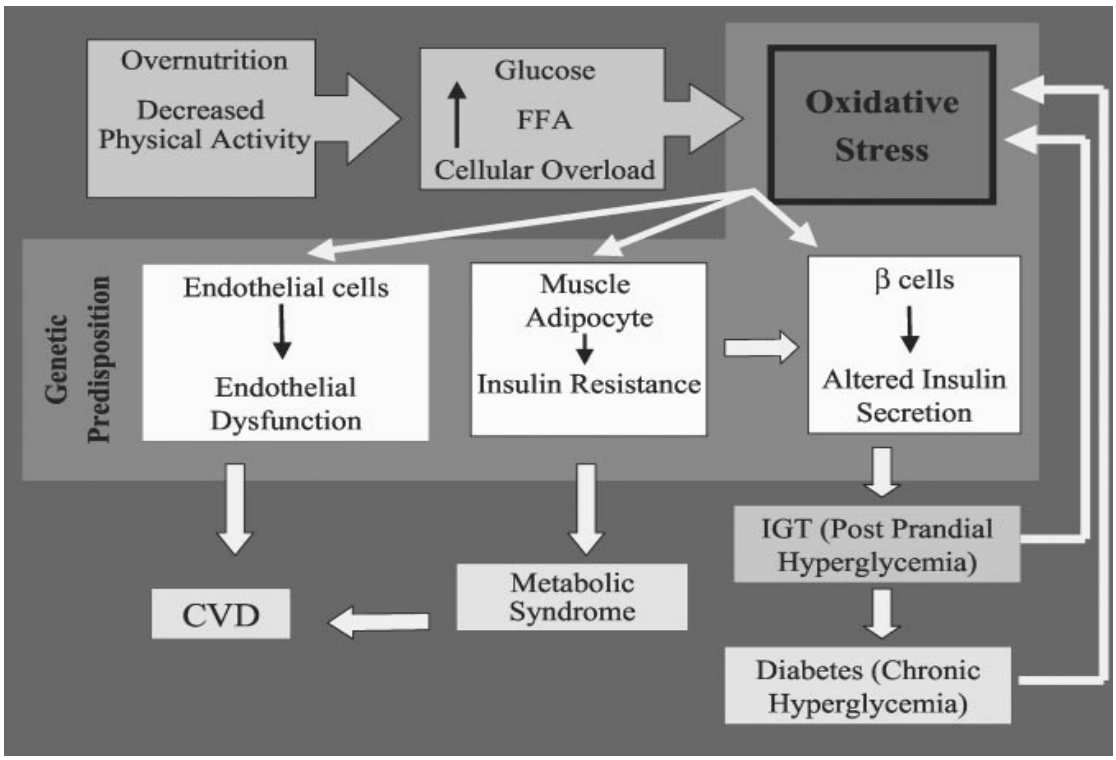
Τρίτο στοιχείο της παθογένειας του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 είναι η υπέρμετρη ηπατική παραγωγή γλυκόζης(25-50% μεγαλύτερη από την κανονική), η οποία είναι αποτέλεσμα της ανεπαρκούς καταστολής της ηπατικής γλυκονεογένεσης λόγω της αντίστασης του ήπατος στις ανασταλτικές επιδράσεις της ινσουλίνης. Παράλληλα μειώνεται η παραγωγή γλυκογόνου στο ήπαρ και αυξάνεται η σύνθεση λίπους (9).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης ο σακχαρώδης διαβήτης και για τους γενετιστές, οι οποίοι είναι πλέον σε θέση να αναγνωρίζουν 27 γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη του διαβήτη.

Μάλιστα, η πλειοψηφία των γονιδίων αυτών επιδρούν στα κύτταρα β του παγκρέατος, επιβεβαιώνοντας ότι η δυσλειτουργία αυτών είναι η κύρια αιτία για την οποία προκαλείται η ασθένεια. Η γενετική βάση του διαβήτη έχει ανοίξει νέα μονοπάτια για τη βαθύτερη κατανόηση της παθογένειας της νόσου αλλά και για την εύρεση νέων θεραπειών (2).

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 έχει συσχετιστεί επίσης με τη χρόνια φλεγμονή (12). Η CRP και η IL-6 έχει βρεθεί ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην πρόβλεψη για εμφάνιση ΣΔ (13) και πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι ίσως αυτοί οι δείκτες φλεγμονής παρεμβαίνουν στη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης (14). Επίσης, η παχυσαρκία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για το διαβήτη, με αποτέλεσμα οι υψηλές συγκεντρώσεις δεικτών φλεγμονής που παρατηρούνται στους παχύσαρκους ανθρώπους να δηλώνουν πιθανή μελλοντική εμφάνιση της νόσου του διαβήτη (15). Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν τη σημασία της φλεγμονής στην παθογένεια της ινουλινοαντίστασης και του ΣΔ τύπου 2.

Έχει προταθεί, τέλος, ότι το οξειδωτικό στρες είναι υπεύθυνο για το διαβήτη και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Μια μετα-ανάλυση του 2004 (16) μελέτησε την παραπάνω υπόθεση και κατέληξε στο γεγονός ότι υπάρχουν πολλά στοιχεία που δείχνουν ότι η υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να θεωρηθεί το κλειδί για την εμφάνιση ινσουλινοαντίστασης και διαβήτη, μέσω καταστροφής των β- κυττάρων. Ακόμη και αν η αλλαγή του τρόπου ζωής είναι μία σημαντική προληπτική και θεραπευτική προσέγγιση , πολλά αντιοξειδωτικά στοιχεία μπορούν να γίνουν εργαλεία με τα οποία θα αντιμετωπίσουμε την αυξανόμενη επιδημία του διαβήτη. Επιπλέον, η άποψη αυτή μπορεί να εξηγήσει το λόγο για τον οποίο θεραπείες για τα καρδιαγγειακά, όπως CCBs, αναστολείς ΜΕΑ, ανταγωνιστές των ΑΤ-1 υποδοχέων και στατίνες, μπορούν να αποτρέψουν το διαβήτη. Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνεται η πορεία με την οποία προκαλείται οξειδωτικό στρες και αυτό με τη σειρά του προκαλεί ασθένειες, όπως ο ΣΔ και τα καρδιαγγειακά:



ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Επίδραση του γενετικού υλικού στους γλυκαιμικούς δείκτες έχει παρατηρηθεί και σε εθελοντές οι οποίοι δεν πάσχουν από διαβήτη. Στην περίπτωση αυτή, οι αλλαγές στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στο αίμα προκαλούνται λόγω βλάβης στους αισθητήρες γλυκόζης στα β- κύτταρα.

Πιο συγκεκριμένα, μελέτη με 16.853 Δανούς εθελοντές έδειξε ότι πολυμορφισμός στο γονίδιο GCKR rs780094 στο A αλληλόμορφο είναι πιθανό να προκαλέσει αύξηση στη δραστικότητα της ρυθμιστικής πρωτεΐνης της γλυκοκινάσης (GCKR) και συνεπώς βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου σε βάρος της υπερτριγλυκεριδαιμίας και μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ (P= 0,01). Αντίθετα το G αλληλόμορφο αυξάνει σημαντικά την απελευθέρωση ινσουλίνης σε περίοδο νηστείας (17).

Ακόμη μία έρευνα που μελέτησε το γονίδιο της GCKR, κατέληξε στο ίδιο συμπέρασμα, παρατηρώντας ότι τα υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων και CRP στο αίμα συνοδεύονταν πάντα με χαμηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο πλάσμα (P= $3* 10^{-56}$). Τα αποτελέσματα ήταν ισχυρότερα για έναν κοινό πολυμορφισμό του γονιδίου, τον rs1260326 (19).

Το SNP rs560887 του γονιδίου G6CP2 (glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein) έχει επίσης βρεθεί να έχει επίδραση στη γλυκόζη νηστείας πλάσματος (συντελεστής β=-0,06mmol/L για το αλληλόμορφο A, P= $4*10^{-23}$) και στη λειτουργία των β παγκρεατικών κυττάρων(P= $3*10^{-13}$). Δε βρέθηκε συσχέτιση όμως με τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ2. Η αρνητική

επίδραση στα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος οφείλεται πιθανώς στη ρύθμιση της απέκκρισης γλυκόζης ως απάντηση στο ερέθισμα από την ινσουλίνη (18).

Μία μετα-ανάλυση 10 μελετών έδειξε ότι κάθε G αλληλόμορφο του rs10830963 πολυμορφισμού στο γονίδιο του υποδοχέα της μελατονίνης 1B (MTNP1B) φάνηκε να αυξάνει κατά 0,07mmol/L τη γλυκόζη νηστείας πλάσματος ($P=3,2*10^{-50}$) και να μειώνει τη λειτουργία των β παγκρεατικών κυττάρων ($P=1,1*10^{-15}$), όπως μετρήθηκε με το δείκτη HOMA (homeostasis model assessment). Το ίδιο αλληλόμορφο, σε μετα-ανάλυση 13 μελετών ασθενών-μαρτύρων, συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ2 (20,21).
Οι Dupuis και συν. σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 21 GWAS μελετών προσδιόρισαν 16 γενετικές θέσεις που συσχετίστηκαν με τη γλυκόζη νηστείας και τη λειτουργία των β-παγκρεατικών κυττάρων και 2 θέσεις που συσχετίστηκαν με την ινσουλίνη νηστείας και την ινσουλινοαντίσταση (59). Ενδεικτικά, με τη γλυκόζη νηστείας συσχετίστηκαν γενετικές θέσεις μέσα ή κοντά στα γονίδια ADCY5 (αδενυλική κυκλάση 5), MADD (MAP κινάση), ADRA2A (a_{2A} αδρενεργικός υποδοχέας), CRY2 (κρυπτόχρωμα 2), FADS1 (δεσατουράση λιπαρών οξέων 1), GLIS3 (ισομορφή του μεταγραφικο παράγοντα GLIS δακτύλου ψευδαργύρου 3), SLC2A2(μεταφορέας του GLUT2), PROX1 (prospero homeobox protein 1) και C2CD4B (NLF2), ενώ με την ινσουλίνη νηστείας και την ινσουλινοαντίσταση συσχετίστηκε μια γενετική θέση κοντά στο IGF1 γονίδιο (ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας 1). Τέλος, στην ίδια μετα-ανάλυση βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των γονιδίων ADCY5, PROX1, GCK, GCKR, και DGKB-TMEM195 (b isotype of the catalytic domain of diacylglycerol kinase) και του διαβήτη τύπου 2.

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Πέρα από το γενετικό υπόβαθρο, μεταβολές στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης μπορεί να προκαλέσει και η διατροφή. Παρακάτω θα αναφερθούν ορισμένα μικροθρεπτικά συστατικά των οποίων η επίδραση στους γλυκαιμικούς δείκτες έχει αποδειχθεί.

Σελήνιο:

Το 2007, στο περιοδικό Annals of Internal Medicine, δημοσιεύτηκε μία μελέτη σύμφωνα με την οποία πιθανώς η χορήγηση σεληνίου για μεγάλο χρονικό διάστημα αυξάνει τον κίνδυνο για εμφάνιση ΣΔ, παρά τις αντιοξειδωτικές της ικανότητες (22). Η μελέτη NHANES επιβεβαίωσε την πιθανότητα αυτή, δημοσιεύοντας τη συσχέτιση υψηλών επιπέδων σεληνίου πλάσματος με τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης νηστείας και με μεγαλύτερο επιπολασμό της νόσου του διαβήτη (23).

Βιταμίνες A+ E:

Όσον αφορά στις βιταμίνες Ε και Α, η συμπληρωματική χορήγησή τους σε άντρες και γυναίκες με φυσιολογικές διατροφικές συνήθειες δεν έδειξε κάποια επίδραση στη γλυκόζη νηστείας πλάσματος, ενώ το μόνο που φάνηκε να επιδρά θετικά στη συγκέντρωση της γλυκόζης ήταν το β-καροτένιο, ίσως επειδή αυτό αντιπροσωπεύει την πρόσληψη φρούτων και λαχανικών (24).

Βιταμίνη D:

Επιδημιολογικές έρευνες δείχνουν ότι η χαμηλή πρόσληψη βιταμίνης D σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ τύπου 2. Βασιζόμενοι σε αυτό το γεγονός, οι Alvarez et al. μελέτησαν την επίπτωση της χαμηλής πρόσληψης της βιταμίνης στην εμφάνιση διαβήτη σε γυναίκες Αφροαμερικανικής (ΑΑ) καταγωγής όπου ο επιπολασμός του διαβήτη είναι αυξημένος και σε γυναίκες με χαμηλότερο επιπολασμό της νόσου, Ευρωπαϊκής-Αμερικάνικης (ΕΑ) καταγωγής. Η μελέτη έδειξε ότι η βιταμίνη D συσχετίστηκε με ινσουλινοευαισθησία στις ΑΑ καταγωγής γυναίκες αλλά όχι στις ΕΑ καταγωγής. Το ίδιο βρέθηκε και για το ασβέστιο (25).

Βιταμίνη Κ:

Οι Yoshida et al. μελέτησαν τη συσχέτιση πρόσληψης βιταμίνης Κ με την ινσουλινοευαισθησία και το γλυκαιμικό έλεγχο σε άντρες και γυναίκες ηλικίας 26-81 ετών. Η πρόσληψη της βιταμίνης αναφέρεται είτε σε διαιτητική είτε σε συμπληρωματική χορήγησή της. Τα υψηλότερα ποσά πρόσληψης βιταμίνης Κ έδρασαν προστατευτικά, αυξάνοντας την ινσουλινοευαισθησία και βελτιώνοντας το γλυκαιμικό έλεγχο, ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία, τον τρόπο ζωής, την ποιότητα της διατροφής και την περιφέρεια μέσης (27). Οι ίδιοι ερευνητές πραγματοποίησαν μία μελέτη παρέμβασης, παρέχοντας σε μη διαβητικούς άνδρες και γυναίκες 60-80 ετών συμπληρωματικές δόσεις 500mg/day βιταμίνης Κ. Τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά για κάθε φύλο. Στους άνδρες που έλαβαν τα συμπληρώματα η αντίσταση στην ινσουλίνη μειώθηκε σημαντικά σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (P= 0,01) (28).

Μαγνήσιο:

Το μαγνήσιο φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 κατά 23% και 16% στους άντρες και στις γυναίκες αντίστοιχα (26). Το 2006 η framingham offspring cohort είχε δείξει ότι αυτή η μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ2 οφείλεται στην βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας που προκαλεί η πρόσληψη μαγνησίου (54). Τέλος, ο μεταβολισμός του μαγνησίου ίσως να εμπλέκεται στο μεταβολισμό της γλυκόζης, κυρίως σε άτομα με γλυκόζη νηστείας πλάσματος >126mgdL (55).

Πολυφαινόλες:

Οι πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούνται από τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα, τις προανθοκυανιδίνες και τη ρεσβερατρόλη, είναι μια μεγάλη και ετερογενής ομάδα που βρίσκεται

κυρίως στο τσάι, τον καφέ, το κρασί, το κακάο, τους σπόρους σιτηρών, τη σόγια, τα φρούτα και τα μούρα. Κυρίως σε έρευνες που έχουν γίνει σε ζώα αλλά και σε λίγες που έγιναν στον άνθρωπο, οι πολυφαινόλες μετριάζουν τη μεταγευματική γλυκόζη πλάσματος και την υπεργλυκαιμία κατά τη νηστεία Επίσης, βελτιώνουν την οξεία έκκριση ινσουλίνης αλλά και την ευαισθησία στην ινσουλίνη (29).

ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ

Ο ψευδάργυρος (Zn) είναι ένα απαραίτητο μέταλλο για τον οργανισμό, το οποίο περιέχεται στο ανθρώπινο σώμα σε ποσότητα 1,5-2,5 γραμμαρίων. Απαντάται σε όλα τα όργανα και τους ιστούς, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση να βρίσκεται στα οστά, το ήπαρ, τα νεφρά και το δέρμα. Η απορρόφησή του γίνεται στο εγγύς λεπτό έντερο, ενεργητικά σε περιπτώσεις χαμηλής διαιτητικής πρόσληψής του και παθητικά σε περιπτώσεις αυξημένης πρόσληψης (32). Όπως τα περισσότερα μέταλλα, ο ψευδάργυρος δεν είναι άμεσα διαθέσιμος στα κύτταρα. Οικογένειες μεμβρανικών μεταφορέων ψευδαργύρου, οι αισθητήρες του ψευδαργύρου και οι μεταλλοθειονίνες (MT) αποτελούν μέρη του κυτταρικού συστήματος ομοιόστασης του ψευδαργύρου με συγκεκριμένους βιολογικούς μηχανισμούς για τον εφοδιασμό χιλιάδων πρωτεϊνών με ψευδάργυρο (33). Είναι ζωτικής σημασίας, λοιπόν, για τη λειτουργία περισσότερων από 300 ενζύμων, τη δομή πρωτεϊνών και είναι σημαντικός για διάφορες κυτταρικές διεργασίες και τη γονιδιακή ρύθμιση [(αποτελεί συστατικό μεταγραφικών παραγόντων (zinc fingers)]. Ως εκ τούτου, η συγκέντρωση του ψευδαργύρου στο ανθρώπινο σώμα είναι αυστηρά ρυθμισμένη και διαταραχές της ομοιόστασης ψευδάργυρου έχουν συνδεθεί με διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του σακχαρώδη διαβήτη (53). Ο ψευδάργυρος, επίσης, ασκεί αντιοξειδωτική δράση μέσω των MT. Αυτές είναι πρωτεΐνες πλούσιες σε κυστεΐνη, οι οποίες δεσμεύουν 7 άτομα Zn και τα αποδίδουν όπου χρειάζεται. Το ερέθισμα για την αποδέσμευση Zn αποτελούν οι ελεύθερες ρίζες. Ο ψευδάργυρος που απελευθερώνεται ενεργοποιεί το μεταγραφικό παράγοντα MTF-1, αλλά και άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, οι οποίοι διαμορφώνουν τη γονιδιακή έκφραση για τη διόρθωση της γονιδιακής βλάβης. Με την πάροδο της ηλικίας, παρουσία μόνιμου οξειδωτικού στρες αυξάνεται η παραγωγή των MT και μειώνεται η απόδοση Zn. Μία άλλη δράση του ψευδαργύρου είναι αυτή στις ανοσολογικές αντιδράσεις, καθώς επιδρά στην παραγωγή και την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων. Επίσης, ελλείψει ψευδαργύρου τα περιφερικά Τ λεμφοκύτταρα είναι μειωμένα (92).

Συμπληρώματα ψευδαργύρου στα ζώα και στον άνθρωπο έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν το γλυκαιμικό έλεγχο σε τύπου 1 και τύπου 2 διαβήτη, αλλά ο υποκείμενος μοριακός μηχανισμός έχει διευκρινιστεί σε μικρό βαθμό. Ο ψευδάργυρος φαίνεται να έχει ινσουλινομιμητικά

αποτελέσματα, ενισχύοντας τη μεταγωγή του σήματος της ινσουλίνης και μειώνοντας την παραγωγή των κυτοκινών, οι οποίες οδηγούν στο θάνατο των β-κυττάρων κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους διαδικασίας στο πάγκρεας που εμφανίζεται στη νόσο του διαβήτη. Επιπλέον, γενετικοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο του μεταφορέα ψευδαργύρου 8 και στα γονίδια που κωδικοποιούν τις μεταλλοθειονίνες (MT) φαίνεται να συσχετίζονται με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (34).

Η συνιστώμενη πρόσληψη ψευδαργύρου για κάθε ηλικιακή ομάδα φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2: Συστάσεις διατροφικής πρόσληψης ψευδαργύρου (30)

Ηλικιακή Ομάδα	Συνιστώμενη πρόσληψη Ψευδαργύρου(mg/day)
Έμβρυα	
0-6 μηνών	2
7-12 μηνών	3
Παιδιά	
1-3 χρόνων	3
4-8 χρόνων	5
Άντρες	
9-13 χρόνων	8
14-18 χρόνων	11
19-30 χρόνων	11
31-50 χρόνων	11
51-70 χρόνων	11
>70 χρόνων	11
Γυναίκες	8
9-13 χρόνων	
14-18 χρόνων	9
19-30 χρόνων	8
31-50 χρόνων	8
51-70 χρόνων	8
>70 χρόνων	8
Εγκυμοσύνη	
≤18 χρόνων	13
19-30 χρόνων	11
31-50 χρόνων	11
Γαλουχία	
≤18 χρόνων	14
19-30 χρόνων	12
31-50 χρόνων	12

Η ανεπάρκεια ψευδαργύρου που προκαλείται από τον υποσιτισμό είναι ο 11ος μείζων παράγοντας κινδύνου της νόσου του σακχαρώδους διαβήτη και σχετίζεται με 1,8 εκατομμύρια θανάτους το χρόνο (35). Τα επίπεδα ψευδαργύρου ορού δεν αποτελούν αξιόπιστο μέτρο της κατάστασης του ψευδαργύρου και, ως εκ τούτου, δεν συνιστώνται για έλεγχο ρουτίνας. Μια προκαταρκτική διάγνωση της ανεπάρκειας ψευδαργύρου μπορεί να γίνει παρατηρώντας τα συμπτώματα υποσιτισμού (π.χ., χαμηλό βάρος, υποαλβομινουρία), ή τις υπόλοιπες συνθήκες που συνήθως συνδέονται με την ανεπάρκεια του ψευδαργύρου (πχ. καθυστερημένη ανάπτυξη,υπογοναδισμός, δερματίτιδα, διάρροιες και δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος) (35, 36, 37).

Η ήπια ανεπάρκεια ψευδάργυρου πιστεύεται ότι είναι ευρέως διαδεδομένη. Αν και δύσκολο να εντοπιστεί λόγω έλλειψης των κατάλληλων κλινικών εξετάσεων, η ήπια ανεπάρκεια ψευδάργυρου πιστεύεται ότι σχετίζεται με κλινικά σημαντικές λειτουργικές ελλείψεις. Υπάρχουν πολλά στοιχεία που συνδέουν την ανεπάρκεια ψευδάργυρου με διαταραγμένες νευροψυχολογικές επιδόσεις, με ανωμαλίες κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, καθώς και με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ανώτερου ουροποιητικού (38,39). Επίσης, μείωση των επιπέδων ψευδαργύρου στο πλάσμα προκαλείται από την ύπαρξη φλεγμονής (99) και ο λόγος χαλκός/ψευδάργυρος αποτελεί αξιόπιστο κλινικό δείκτη φλεγμονής και θρέψης, καθώς και δείκτη θνησιμότητας ηλικιωμένων ατόμων, από οποιαδήποτε αιτία (100).

Ο ψευδάργυρος επίσης φαίνεται να εμπλέκεται στην παθογένεση λόγω της τοξικότητας που προκαλεί η ενδοκυτταρική συγκέντρωση ιόντων ψευδαργύρου πάνω από ένα ορισμένο όριο. Στην περίπτωση αυτή, δεν είναι η έλλειψη του ψευδάργυρου, αλλά μάλλον η υπερβολική διαθεσιμότητά του που προκαλεί την κυτταρική βλάβη (40).

Τέλος, ο ψευδάργυρος ίσως συμμετέχει στον αποκορεσμό του λινελαϊκού οξέος. Γερμανοί ερευνητές χορήγησαν σε μία ομάδα ποντικιών άλιπη διατροφή επαρκή σε Zn και σε μια άλλη ομάδα άλιπη διατροφή ανεπαρκή σε Zn. Ύστερα από 6 ημέρες πρόσθεσαν 5% λίπος με τη μορφή ηλιελαίου. Το ηλιέλαιο και στις 2 ομάδες αύξησε τα επίπεδα πολυακόρεστων λ.ο., ενώ στην ομάδα με χαμηλά ποσοστά πρόσληψης Zn παρατηρήθηκε αύξηση του LA και του και μείωση των DGLA και EPA (93). Η έρευνα αυτή ανατρέπει προηγούμενες μελέτες, οι οποίες υποστήριζαν ότι η ανεπάρκεια Zn δεν επιδρά στη δράση της D5D και στον αποκορεσμό του λινελαϊκού και του α-λινολενικού οξέος (94).

Πίνακας 3: Ταξινόμηση συνήθων διαιτών ανάλογα με τη βιοδιαθεσιμότητα της περιεκτικότητάς τους σε ψευδάργυρο (31)

Βιοδιαθεσιμότητα	**Κύρια διατροφικά χαρακτηριστικά**
Υψηλή (50%)	Επεξεργασμένες δίαιτες χαμηλές σε φυτικές ίνες από δημητριακά, χαμηλή περιεκτικότητα σε φυτικό οξύ και με αναλογία φυτικού/ψευδαργύρου < 5. Επαρκής περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, κυρίως από μη-φυτικές πηγές, όπως τα κρέατα και τα ψάρια. Δίαιτες που βασίζονται στη ζωική πρωτεΐνη.
Μέτρια (30%)	Μικτές δίαιτες που περιέχουν ζωικές πρωτεΐνες ή ψάρια. Γαλακτο-αυγό χορτοφαγικές, αυγό-χορτοφαγικές ή αυστηρά χορτοφαγικές διατροφές που δε βασίζονται κυρίως στους ακατέργαστους σπόρους δημητριακών ή στα άλευρα. Ο μοριακός λόγος φυτικού οξέος/ψευδαργύρου της συνολικής διατροφής βρίσκεται εντός του εύρους 5-15 και δεν υπερβαίνει των 10, εάν πάνω από το 50% της προσλαμβανόμενης ενέργειας είναι από ανεπεξέργαστους σπόρους δημητριακών και αλεύρων και η διατροφή είναι εμπλουτισμένη με ασβέστιο και ανόργανα άλατα (> 1g Ca2 + / ημέρα). Η βιοδιαθεσιμότητα του ψευδαργύρου βελτιώνεται όταν η δίαιτα περιλαμβάνει πηγές ζωϊκών πρωτεϊνών (συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος).
Χαμηλή (15%)	Δίαιτες υψηλές σε ακατέργαστα δημητριακά, ειδικά όταν είναι εμπλουτισμένα με ανόργανα άλατα ασβεστίου και όταν η πρόσληψη των ζωικών πρωτεϊνών είναι αμελητέα. Μοριακός λόγος φυτικού/ψευδαργύρου της συνολικής διατροφής <15. Κύρια πηγή πρωτεΐνης είναι προϊόντα σόγιας υψηλά σε φυτικό οξύ. Δίαιτες στις οποίες περίπου το 50% της ενεργειακής πρόσληψης προέρχεται από μία από τις ακόλουθες τροφές υψηλές σε φυτικό οξύ: σιτάρι ανεπεξέργαστο σε ποσοστό ≥ 90%, ρύζι, αραβόσιτος, σιτηρά και άλευρα, πλιγούρι βρώμης, μπιζέλια, φασόλια. Υψηλές προσλήψεις των ανόργανων αλάτων ασβεστίου (> 1g / ημέρα), είτε ως συμπληρώματα ή ως τυχαίες προσμείξεις, ενισχύουν τις ανασταλτικές επιδράσεις, καθώς και η χαμηλή πρόσληψη ζωικής πρωτεΐνης.

ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Από το 1930, όταν ο ψευδάργυρος για πρώτη φορά αποδείχθηκε ότι αποτελεί αναπόσπαστο στοιχείο της κρυσταλλικής δομής της ινσουλίνης (41), πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να φωτίσουν τη σχέση μεταξύ του ψευδαργύρου και της δράσης της ινσουλίνης. Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι ο ψευδάργυρος είναι σε θέση όχι μόνο να σταθεροποιήσει τη δημιουργία των εξαμερών ινσουλίνης (42), μια μορφή αποθήκευσης της ινσουλίνης στα β-κύτταρα, αλλά και να βελτιώσει επίσης τη δέσμευση της ινσουλίνης στους υποδοχείς του ήπατος και να αναστείλει την αποδόμησή της (43). Σε μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν τρωκτικά, συμπληρωματική χορήγηση ψευδαργύρου εξασθένησε την υπεργλυκαιμία και την υπερινσουλιναιμία σε αυτά (44, 45). Είναι ενδιαφέρον ότι, η από του στόματος ή η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση ορισμένων συμπλόκων ψευδαργύρου είχαν ινσουλινομιμητικές επιπτώσεις στα μοντέλα με τα τρωκτικά, καθώς επίσης διέγερση της λιπογένεσης και μείωση της υπεργλυκαιμίας (46). Επιπλέον, ολοένα και αυξανόμενα στοιχεία εμφανίζονται για την υποστήριξη του ρόλου του ψευδαργύρου ως αντιοξειδωτικός παράγοντας που θα μπορούσε να προστατεύσει την ινσουλίνη και τα κύτταρα από τις ελεύθερες ρίζες (47,48).

Πολλές μελέτες, λοιπόν, επιχείρησαν να διαλευκάνουν την επίδραση της πρόσληψης ψευδαργύρου στην εμφάνιση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Μία τέτοια μελέτη, μετά από 24 μήνες παρακολούθησης 82297 γυναικών ηλικίας 33-60 ετών, βρήκε ότι μετά από προσαρμογή ως προς την ηλικία, το BMI το κάπνισμα και άλλων παραγόντων, τα υψηλότερα ποσοστά ολικής αλλά και διαιτητικής πρόσληψης ψευδαργύρου συσχετίζονται με 20% μικρότερο κίνδυνο για εμφάνιση ΣΔ2. Οι γυναίκες με τη μεγαλύτερη ολική πρόσληψη ψευδαργύρου (από τρόφιμα και συμπληρώματα) αλλά και τη μεγαλύτερη διαιτητική πρόσληψη φάνηκε να έχουν 10% (P=0,04) και 8% (P=0,009) αντίστοιχα μικρότερο κίνδυνο για εμφάνιση διαβήτη σε σχέση με τις γυναίκες που προσλαμβάνουν τις μικρότερες ποσότητες. Επίσης, η συμπληρωματική χορήγηση ψευδαργύρου φάνηκε ωφέλιμη μόνο για τις γυναίκες με τα χαμηλότερα ποσοστά πρόσληψης του ιχνοστοιχείου. Στην προοπτική αυτή μελέτη τα περιστατικά ΣΔ2 που προέκυψαν μετά από τα 2 χρόνια της παρακολούθησης ήταν 6030 (49).

Οι Sharon F. Simon και Carla G. Taylor πραγματοποίησαν μια μελέτη με σκοπό τη σύγκριση της επίδρασης μίας φτωχής σε ψευδάργυρο δίαιτας και μίας δίαιτας με συμπληρώματα του ιχνοστοιχείου αυτού στο γλυκαιμικό έλεγχο διαβητικών ποντικών. Στα ποντίκια δόθηκε δίαιτα ανεπαρκής σε ψευδάργυρο (3ppm) [ZD ποντίκια], δίαιτα επαρκής (30ppm) [ZA ποντίκια] και δίαιτα ενισχυμένη με συμπληρώματα σε ψευδάργυρο (300ppm) [ZS ποντίκια] για διάστημα 6 μηνών. Μετά το πέρας των 6 μηνών η γλυκόζη νηστείας πλάσματος ήταν σημαντικά μικρότερη

στα ZS ποντίκια σε σχέση με τα ZD (19.3 ± 2.9 και 27.9 ± 4.1 mM αντίστοιχα), ενώ τα ZA είχαν ενδιάμεσα αποτελέσματα. Επίσης, τα ZS ποντίκια είχαν υψηλότερα ποσά ινσουλίνης στο αίμα σε σχέση με τα ZA. Τέλος, το σωματικό βάρος των ZS ποντικών ήταν χαμηλότερο σε σχέση με τα ZA κατά 13%. Η κατάσταση αυτή μπορεί να είναι ανάλογη με τη χαμηλή, σε φυσιολογικά πλαίσια, πρόσληψη ψευδαργύρου σε ανθρώπους με διαβήτη (50). Μια ακόμη προσπάθεια της διαλεύκανσης της σχέσης ψευδαργύρου- σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, αυτή τη φορά σε ανθρώπους, αποτελεί η μελέτη των Hyun-Mee Oh and Jin-Sook Yoon. Εβδομήντα έξι διαβητικά άτομα και 72 υγιής ενήλικες συμμετείχαν σε αυτή τη μελέτη. Το δείγμα χωρίστηκε στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα στην οποία δόθηκαν συμπληρωματικές δόσεις ψευδαργύρου. Σαράντα τέσσερεις διαβητικοί ασθενείς και 34 φυσιολογικά άτομα κατανάλωναν συμπλήρωμα 50 mg ψευδαργύρου ημερησίως με τη μορφή γλυκονικού ψευδαργύρου για 4 εβδομάδες. Οι διαβητικοί χωρίστηκαν σε ομάδες, ανάλογα με τα επίπεδα HbA1c και τη διάρκεια ύπαρξης της νόσου. Οι αλλαγές στους δείκτες γλυκαιμικού ελέγχου συγκρίθηκαν μεταξύ των ομάδων αυτών. Στην έναρξη της μελέτης, η συχνότητα εμφάνισης ανεπάρκειας ψευδάργυρου στη διαβητική ομάδα ήταν σχεδόν διπλάσια σε σχέση με την ομάδα υγιών ενηλίκων. Οι αλλαγές στη συγκέντρωση HbA1c και στη γλυκόζη νηστείας αίματος μετά από τη χορήγηση συμπληρωμάτων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές στα διαβητικά άτομα. Στα φυσιολογικά άτομα, μια σημαντική μείωση της HbA1c σημειώθηκε μόνο στην ομάδα που έλαβε το συμπλήρωμα. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στην ινσουλίνη ορού και στο C-πεπτίδιο στους διαβητικούς, καθώς επίσης και φυσιολογικά άτομα. Ωστόσο, όταν οι αλλαγές συγκρίθηκαν με τα αρχικά επίπεδα της HbA1c, διαπιστώθηκε ότι οι διαβητικοί ασθενείς με HbA1c ≥ 7,5% παρουσίασαν σημαντική βελτίωση των επιπέδων της HbA1c και της γλυκόζης νηστείας μετά τη χορήγηση Zn. Αν και αυτή η βελτίωση της γλυκόζης νηστείας στο αίμα ήταν σημαντική για τους διαβητικούς με μικρότερη διάρκεια διαγνωσμένου διαβήτη, σημαντικά επίπεδα αύξησης της ινσουλίνης ορού και C-πεπτιδίου παρατηρήθηκαν στα άτομα με μεγαλύτερη διάρκεια ύπαρξης της νόσου τα οποία λάμβαναν συμπληρώματα. Η γλυκόζη νηστείας αίματος μειώθηκε σημαντικά, ενώ η ινσουλίνη ορού και το C-πεπτίδο αυξήθηκαν σε διαβητικούς με οριακά επίπεδα ψευδαργύρου (51). Μία ανασκόπηση του 2007, επεσήμανε επίσης την επίδραση των συμπληρωμάτων ψευδαργύρου στη μείωση του οξειδωτικού στρες και συνεπώς της εμφάνισης ΣΔ (52).

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΜΕ ΓΟΝΙΔΙΑ

Η διάρκεια ζωής του ανθρώπου εξαρτάται κατά 25% από τα κληρονομούμενα γονίδια, ενώ επηρεάζεται κατά 75% από περιβαλλοντολογικούς παράγοντες και από τον τρόπο ζωής του (81). Η διατροφή λοιπόν είναι ένας παράγοντας που έχει τη δύναμη να μεταβάλλει την

κληρονομική προδιάθεση του ανθρώπου και ένα θρεπτικό συστατικό που φαίνεται να σχετίζεται με τη γήρανση είναι ο ψευδάργυρος (82). Ο βασικός ρόλος που διαδραματίζει η αλληλεπίδραση του ψευδαργύρου με τα γονίδια είναι πλέον αναγνωρισμένος. Η αλληλεπίδραση αυτή επηρεάζει ορισμένες κυτοκίνες (IL-6 και TNF-α) και πρωτεΐνες του στρες (HSP70-2) και επιδρά στην επιτυχή γήρανση και στις ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία, όπως ο διαβήτης τύπου 2, η αθηροσκλήρωση και διάφορες λοιμώξεις. Ωστόσο, η ανοσοτροποποιητική δράση που ασκεί ο ψευδάργυρος μέσω της διαφοροποίησης των κυτταροκινών σηματοδότησης εξαρτάται από τη λειτουργία και την κατάσταση των Τ-κυττάρων (83). Οι πολυμορφισμοί των γονιδίων που κωδικοποιούν τις παραπάνω πρωτεΐνες, οι οποίες σχετίζονται με τη φλεγμονή, αφενός αποτελούν προγνωστικό κριτήριο για τη μακροβιότητα, από την άλλη συσχετίζονται και με την αθηροσκλήρυνση και με σοβαρές μολύνσεις. Η σύνδεση αυτών των πολυμορφισμών με την ανοσολογική απόκριση, τη βιοδιαθεσιμότητα ιόντων ψευδαργύρου και την ομοιόσταση των μεταλλοθειονινών (MT) είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για να αποκαλυφθεί ο ρόλος που διαδραματίζει η αλληλεπίδραση του ψευδαργύρου με τα γονίδια στη μακροζωία, κυρίως λόγω της αδυναμίας των MT για απελευθέρωση ψευδαργύρου κατά τη γήρανση και τη χρόνια φλεγμονή. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης, το τελευταίο αυτό γεγονός οδηγεί σε κατασταλμένη ανοσολογική απάντηση κατά την αντιμετώπιση ενός ξενιστή. Αντίθετα, σε πολύ μεγάλη ηλικία η φλεγμονή είναι μικρότερη, με επακόλουθη μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα ιόντων ψευδαργύρου, λιγότερη γονιδιακή έκφραση MT και ικανοποιητική λειτουργία της ανοσίας. Ως εκ τούτου, η αλληλεπίδραση ψευδαργύρου - γονιδίων (IL-6, TNF-α, Hsp70-2), μέσω της ομοιόστασης των MT, είναι ζωτικής σημασίας για την επίτευξη επιτυχούς γήρανσης .

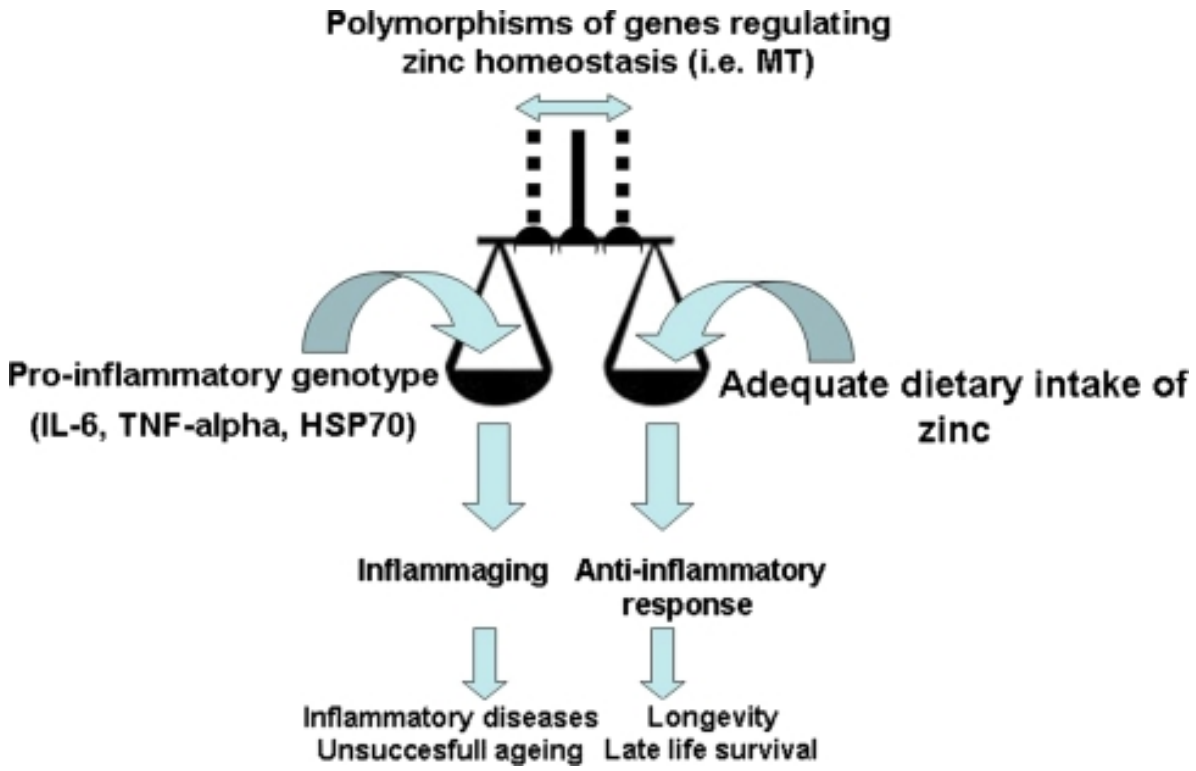
Αξιολογήθηκε, λοιπόν, η επίδραση των συμπληρωμάτων ασπαρτικού ψευδαργύρου στον κυκλοφορούντα ψευδάργυρο, στις συγκεντρώσεις IL-6 και MCP-1 στο πλάσμα και στη λυτική ικανότητα των NK κυττάρων σε έναν υγιή πληθυσμό ηλικιωμένων σε σχέση με ορισμένες παραλλαγές αλληλομόρφων. 39 υγιή άτομα (60-83 χρόνων), τα οποία προηγουμένως είχαν δακτυλογραφηθεί για τους πολυμορφισμούς +647 MT1a και -174 IL-6 εφοδιάστηκαν με ασπαρτικό ψευδάργυρο. Δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν υποβλήθηκαν σε βασικές εργαστηριακές εξετάσεις (κυκλοφορούντας ψευδάργυρος, λευκωματίνη και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) και ανοσολογικές μελέτες (πλάσμα IL-6 και MCP-1 και λυτική δραστηριότητα των NK). Τα συμπληρώματα ψευδαργύρου σε άτομα με χαμηλή ή οριακά φυσιολογική πρόσληψη ψευδαργύρου αύξησαν τη συγκέντρωση του ιόντος αυτού και μετέβαλαν την κυκλοφορία στο πλάσμα των IL-6 και MCP-1, όπως επίσης και τη λυτική δραστηριότητα των NK. Η διαδραστική επίδραση των αλληλομόρφων των γονιδίων των MT1a και IL-6 στον ψευδάργυρο, στις IL-6, MCP-1 και στη δραστικότητα των NK, τα οποία αποδείχθηκαν μετά την παροχή συμπληρωμάτων, ανέδειξε το γενετικό υπόβαθρο ως έναν από τους καθοριστικούς παράγοντες

για τον εντοπισμό ομάδων ασθενών που μπορούν να επωφεληθούν από κάποια θεραπευτική παρέμβαση (84).

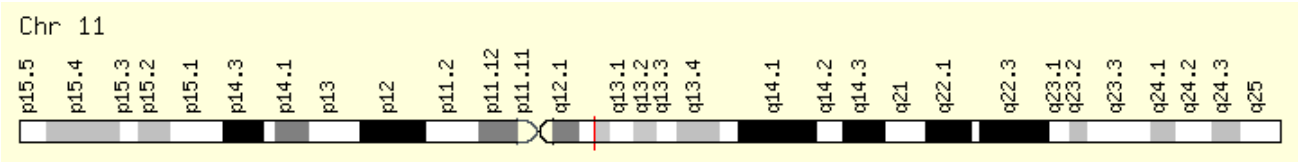
Στη μετα-ανάλυσή τους με τίτλο «Zinc–gene interaction related to inflammatory/immune response in ageing» , οι Eugenio Mocchegiani και Marco Malavolta παρατήρησαν ότι ο πολυμορφισμός της IL-6 στη θέση −174G/C μπορεί να λειτουργήσει ως πρόβλεψη για τη μακροζωία (85), αλλά ο ίδιος πολυμορφισμός σε συνδυασμό με τον πολυμορφισμό 1267 Hsp70-2 συσχετίζονται με καρδιαγγειακές ασθένειες (86). Επίσης, ο TNF-α-308G/A συσχετίστηκε περισσότερο με τον κίνδυνο για λοιμώξεις παρά με τη μακροζωία (87). Τέλος βρέθηκε ότι οι πολυμορφισμοί του IL-6 −174 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση των ατόμων που κινδυνεύουν να εμφανίσουν έλλειψη ψευδαργύρου (88,89).

Μία άλλη αλληλεπίδραση του ψευδαργύρου με γονίδιο που βρέθηκε από τους Pifl et al. αφορά στο γονίδιο των μεταφορέων της ντοπαμίνης (DAT). Η έκφραση των πρωτεϊνών αυτών μειωνόταν στα HEK293 κύτταρα (εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα) σε καταστάσεις χαμηλού ψευδαργύρου, αλλά αυξανόταν στα SK-N-MC κύτταρα (ανθρώπινα κύτταρα νευροβλαστώματος). Όταν όμως το χλώριο που χρησιμοποιούταν στα buffers μειώθηκε, τότε αντιστράφηκε η επίδραση του ψευδαργύρου στα SK-N-MC κύτταρα. Αντιστροφή της επίδρασης του ιχνοστοιχείου προκλήθηκε και μετά την εκπόλωση με υψηλά ποσά καλίου των HEK293 κυττάρων (90)**.**

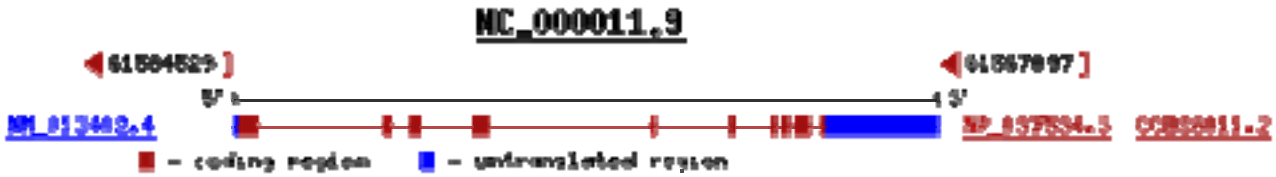
Γενικότερα, ο ψευδάργυρος ασκεί πλειοτροπικές αλλαγές στα επίπεδα mRNA/ πρωτεϊνών εκατοντάδων γονιδίων (91).



Η ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ FADS



Οι D6D (δέλτα-6-δεσατουράση) και οι D5D (δέλτα-5-δεσατουράση) είναι ένζυμα που προσδένονται στη μεμβράνη και καταλύουν τη σύνθεση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας (60,61). Αυτά τα 2 ένζυμα κωδικοποιούνται από τα γονίδια της FADS2 και της FADS1, αντίστοιχα. Τα γονίδια αυτά ανήκουν σε ένα σύμπλοκο 1,4 Mb, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11 του ανθρώπινου γονιδιώματος (11q12-q13.1) και η μεταξύ τους απόσταση είναι μια περιοχή 11 kb (60,62). Ένα τρίτο γονίδιο δεσατουράσης (FADS3), βρίσκεται επίσης στο παραπάνω σύμπλεγμα γονιδίων· ωστόσο η λειτουργία των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν, δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί. Και τα 3 FADS γονίδια έχουν 12 εξώνια, 11 εσώνια και βρίσκονται στην ίδια γονιδιακή θέση, γι' αυτό πιστεύεται ότι προέκυψαν κατά το διπλασιασμό του γενετικού υλικού και με το πέρας του χρόνου διαφοροποιήθηκαν (60).



Η διαδικασία παραγωγής των πολυακόρεστων λ.ο. έχει ως εξής: Η D6D καταλύει τη μετατροπή των απαραίτητων λ.ο., του α-λινολενικού οξέος (ALA, 18:3n-3) και του λινελαϊκού οξέος (LA, 18:2n-6), σε στεαριδονικό οξύ (STD, 18:4n-3) και γ-λινολενικό οξύ (GLA, 18:3n-6), αντίστοιχα (Εικόνα 2). Ακολουθεί το στάδιο της επιμήκυνσης και στη συνέχεια η D5D εισάγει ένα διπλό δεσμό στη θέση 5 σε ένα λιπαρό οξύ με αλυσίδα 20 ατόμων C. Η D5D καταλύει τη μετατροπή του εικοσατετρανοϊκό οξύ (ETA, 20:4n-3) και του διομο-γ-λινολενικού οξέος (DGLA, 20:3n-6) σε εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, 20:5n-3) και αραχιδονικό οξύ (AA, 20:4n-6) ,αντίστοιχα (60,61) (Εικόνα 2). Τα προαναφερθέντα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της μεμβρανικής ακεραιότητας και στη μετάδοση κυτταρικών σημάτων (79). Διαταραχές στην περιεκτικότητα της μεμβράνης σε λιπαρά οξέα έχουν συσχετιστεί με διάφορες ανθρώπινες ασθένειες, όπως τη νόσο του Alzheimer (63,64), αυτοάνοσα νοσήματα 77), καρκίνο (65) και καρδιαγγειακές νόσους (78,66,67). Επιπλέον, οι δράσεις των D6D και D5D έχουν συσχετιστεί με τη ρύθμιση των επιπέδων των προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών εικοσανοειδών παραγώγων των PUFAs. Τα προφλεγμονώδη εικοσανοειδή που παράγονται από τα AA (προσταγλανδίνες, λευκοτριένια, θρομβοξάνες) εμπλέκονται στην εμφάνιση αλλεργιών (77,68), καρδιαγγειακών (69,70) και καρκίνου (71). Παρά τις ευρείες επιπτώσεις των FADS στην ανάπτυξη ασθενειών λίγες είναι οι έρευνες εκείνες που μελέτησαν τον τρόπο όρασης των FADS στους ανθρώπινους ιστούς. Η πλειοψηφία των μελετών διεξήχθησαν σε τρωκτικά. Αυτές έχουν δείξει ότι η αναστολή των D5D και D6D μειώνει τα επίπεδα AA, με αποτέλεσμα να μειώνεται η φλεγμονώδης απάντηση που προκαλείται μέσω μονοπατιών που απαιτούν AA. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το οίδημα και η φλεγμονή γενικότερα να μειωθούν (72).

Το 2006, οι Schaeffer και συν. ανέλυσαν τη συσχέτιση μεταξύ των παραλλαγών στα γονίδια FADS1 και FADS2 και της σύνθεσης λ.ο. στα φωσφολιπίδια του ορού (68). Στη μελέτη έλαβαν μέρος 727 Γερμανοί ενήλικες από τους οποίους αναλύθηκαν 18 SNPs που βρίσκονται στο σύμπλεγμα FADS. Για τους περισσότερους από αυτούς τους πολυμορφισμούς βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση με αλλαγές στη φωσφολιπιδική σύνθεση λ.ο. Παρατηρήθηκε ότι τα άτομα με τα υπολειπόμενα αλληλόμορφα είχαν υψηλότερα επίπεδα LA και ALA και χαμηλότερα AA και EPA στα φωσφολιπίδια ορού. Αυτό ίσως σημαίνει προστασία των ατόμων αυτών από ασθένειες του ανοσοποιητικού.

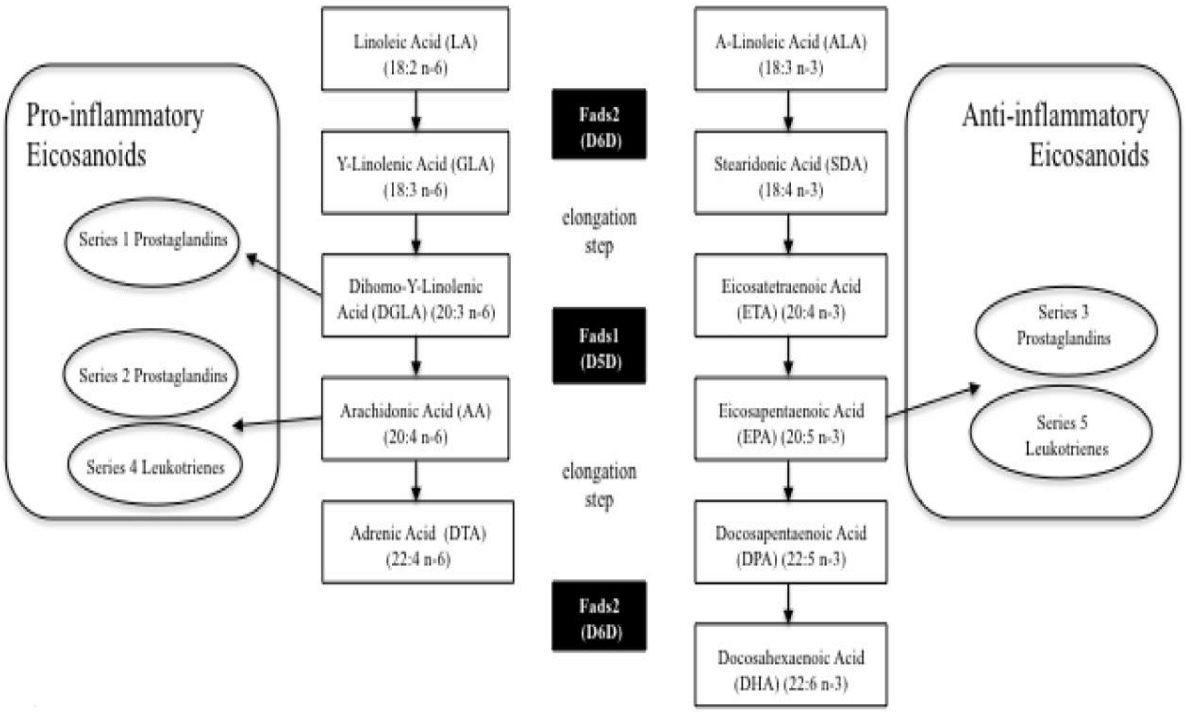
Αρκετές μελέτες εξερεύνησαν τη σχέση μεταξύ δίαιτας και FADS και την επίδραση της σχέσης

αυτής στο καρδιαγγειακό σύστημα και στην εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου. Πιο συγκεκριμένα, το 2007 οι Baylin και συν. μελέτησαν την επίδραση μιας διαγραφής στον υποκινητή του FADS2 (rs3834458) στη συγκέντρωση ALA στο λιπώδη ιστό και τον κίνδυνο εμφάνισης ΟΕΜ σε ανθρώπους που επέζησαν από ΟΕΜ. Το 48% του πληθυσμού ήταν ετερόζυγοι ως προς το μεταλλαγμένο υποκινητή του FADS2 , ο οποίος συνδέθηκε με μείωση των επιπέδων EPA, AA και GLA στον ορό. Παρόλαυτα, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της μειωμένης δραστηριότητας της D6D και της εμφάνισης ΟΕΜ (73). Τον ίδιο πολυμορφισμό μελέτησαν και οι Truong και συν., αυτή τη φορά όμως σε σχέση με την εμφάνιση ΜΣ (74). Στην έρευνα αυτή φάνηκε μια τάση για μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΜΣ, αλλά μόνο στα ετερόζυγα άτομα και στα ομόζυγα ως προς το κοινό Τ-αλληλόμορφο.

Σημαντική συσχέτιση μεταξύ ενός πολυμορφισμού στο FADS1 (rs174537) και των μειωμένων επιπέδων AA, EDA και EPA πλάσματος, καθώς και υψηλών επιπέδων LA και ALA πλάσματος βρέθηκε και από τους Tanaka και συν. μετά από διεξαγωγή μίας GWAS 1075 εθελοντών. Τα αποτελέσματα αυτά, καθώς και ένα καλύτερο λιπιδαιμικό προφίλ, φάνηκαν μόνο στα άτομα με το υπολειπόμενο αλληλόμορφο (75).

Το 2010 οι Illig και συν. σε μία άλλη μεγάλη GWAS βρήκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της εμφάνισης ΜΣ και καρδιαγγειακών νοσημάτων και των διάφορων γενετικών παραλλαγών. Συγκεκριμένα, ο πολυμορφισμός rs174547 του FADS1 γονιδίου φάνηκε να συσχετίζεται με το λόγο της διάκυλο-φωσφατιδυλοχολίνης C36:4 με το πρόδρομο λ.ο. της διάκυλο-φωσφατιδυλοχολίνηςC36:3(76).

Όλες αυτές οι έρευνες καθιερώνουν τη σημασία των FADS γονιδίων στη ρύθμιση των παραγόντων κινδύνου για διάφορες ασθένειες και συνεπώς επιδεικνύουν τις μελλοντικές ανάγκες για διερεύνηση της επίδρασης των πολυμορφισμών των FADS σε μοριακό επίπεδο αλλά και σε επίπεδο φυσιολογίας.

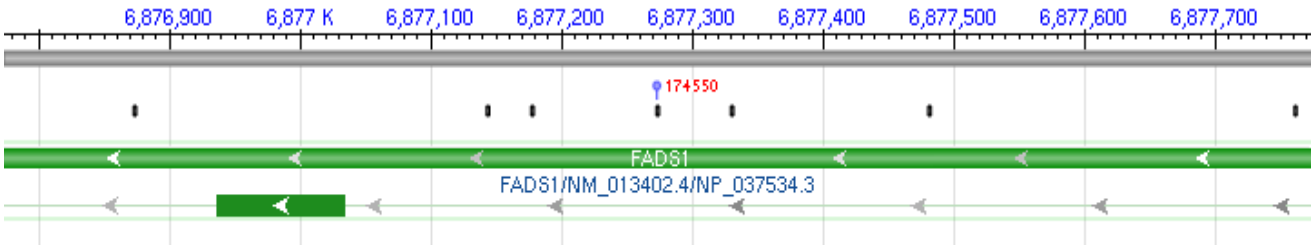


Εικόνα 2: Ο ρόλος των δεσατουρασών λ.ο. στη βιοσύνθεση πολυακόρεστων λ.ο. και εικοσανοειδών (80)

Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ rs 174550 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ FADS1

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι πληροφορίες σχετικά με τον πολυμορφισμό rs174550 σύμφωνα με το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογικών Πληροφοριών των ΗΠΑ (National Center for Biotechnology Information):

Οργανισμός	**Χρωμόσωμα**	**Θέση στο Χρωμόσωμα**	**Αλληλόμορφα**
Άνθρωπος	11	61328054	C/T



Ο παραπάνω πολυμορφισμός μελετήθηκε σε μια πρόσφατη μετα - ανάλυση 21 GWAS μελετών, στην οποία φάνηκε ότι ο πολυμορφισμός συσχετίζεται με τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, αλλά και με τη λειτουργία των β – παγκρεατικών κυττάρων ($p=1,7 * 10^{-15}$) (59). Βρέθηκε επίσης ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδα γλυκερο-φωσφολιπιδίων στον ορό ($p < 5,2*10^{-7}$), ακριβώς όπως και ο rs174548. Από τα πιο πρόσφατα δεδομένα φαίνεται ότι το σπάνιο αλληλόμορφο του rs174550 οδηγεί σε μειωμένη αποτελεσματικότητα της δράσης της D5D λ.ο. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το αλληλόμορφο του FADS1 με γλυκοζο-διεγερτικές ικανότητες συσχετίστηκε με αυξημένη TC ($p = 2,5*10^{-6}$), LDL ($p = 8,5*10^{-6}$) και HDL ($p = 2,9*10^{-5}$) αλλά χαμηλά επίπεδα TG ($p = 1,9*10^{-6}$) (59).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας γηριατρικής μελέτης (56) είναι η εκτίμηση της επίδρασης της αλληλεπίδρασης του ψευδαργύρου με τον πολυμορφισμό rs174550 του γονιδίου FADS1 στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, σε δείγμα ηλικιωμένων μη διαβητικών Ελλήνων.

ΔΕΙΓΜΑ

Το δείγμα αποτελούν 713 ηλικιωμένοι (≥ 60 ετών) από τους δήμους της Καλλιθέας, Νέας Σμύρνης και του Μοσχάτου. Η συμμετοχή των ηλικιωμένων στην μελέτη ήταν εθελοντική, έπειτα από ενυπόγραφη συναίνεσή τους. Η συλλογή του δείγματος πραγματοποιήθηκε στα Κέντρα Ανοιχτής Προστασίας Ηλικιωμένων (Κ.Α.Π.Η.) των παραπάνω δήμων, έπειτα από έγγραφη έγκριση των αντίστοιχων Δημοτικών Συμβουλίων. Ο σχεδιασμός της μελέτης είχε την έγκριση της Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΤΡΑΤΟΛΟΓΗΣΗΣ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ

Οι εθελοντές ήταν άνω των 60 ετών, μη τρόφιμοι ιδρύματος και δεν χρειάζονταν καθημερινή νοσοκομειακή φροντίδα. Παράλληλα, δεν λάμβαναν στεροειδή, αντικαταθλιπτικά, αντιβίωση και αντιμεταβολίτες. Από την έρευνα εξαιρέθηκαν οι ηλικιωμένοι που έπασχαν από: ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη, αυτοάνοσα νοσήματα, νευρογενή νοσήματα, λοιμώξεις, νόσο Crohn, εντεροπαθητική ακροδερματίτιδα, νεφροπάθεια, ηπατοπάθεια, δρεπανοκυτταρική αναιμία, χρόνιες δερματικές παθήσεις και καρκίνο.

Όσοι εθελοντές πληρούσαν τα παραπάνω κριτήρια χαρακτηρίστηκαν ως υγιείς, ενώ ως καρδιοπαθείς χαρακτηρίστηκαν οι εθελοντές που πληρούσαν τα παραπάνω κριτήρια και το ιατρικό ιστορικό τους περιελάμβανε κάποιες από τις ακόλουθες παθήσεις: στεφανιαία νόσο, καρδιακή ανεπάρκεια, καρωτιδική στένωση, στηθάγχη, καρδιακή αρρυθμία, έμφραγμα μυοκαρδίου, εγκεφαλικό, αθηροσκλήρυνση.

ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε ύστερα από 12ωρη νηστεία. Στα δείγματα αίματος πραγματοποιήθηκε απομόνωση ορού και πλάσματος, έπειτα από φυγοκέντριση (3000 rpm, 10 λεπτά, 4^{o}C). Τα δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν στους -80^{o}C.

Ποσότητα 5ml αίματος από κάθε εθελοντή χρησιμοποιήθηκε για απομόνωση DNA, με τη μέθοδο του χλωριούχου νατρίου (NaCl) (57). Συνοπτικά, η μέθοδος περιελάμβανε τη συλλογή της στοιβάδας λευκών κυττάρων ύστερα από φυγοκέντριση (3000 rpm, 10 λεπτά, 4^{o}C) του δείγματος αίματος και ανάμειξή της με 50ml διαλύματος Λύσης Ι με αραίωση 1x (διάλυμα Λύσης Ι 20x: 82,9g NH_4CL, 10,01g $KHCO_3$, 20ml EDTA 0,5M, απεσταγμένο νερό ως τα 500ml, pH=7,4). Ακολούθησε επώαση σε πάγο (20 λεπτά) και φυγοκέντριση (2000 rpm, 10 λεπτά, 4^{o}C). Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο, προστέθηκαν 25ml διαλύματος Λύσης Ι (αραίωση 1x) και ακολούθησε φυγοκέντριση (2500 rpm, 10 λεπτά, 4^{o}C). Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο και προστέθηκαν 3 ml διαλύματος Λύσης ΙΙ (0,61g TrisHCL, 11,69g NaCL, 2ml EDTA 0,5M, απεσταγμένο νερό ως τα 500ml, pH=8,4). Ύστερα από ανακίνηση, προστέθηκαν 50μl πρωτεϊνάσης Κ (20 mg/ml) και 150μl SDS 20% (Sodium Dodecyl Sulfate). Ακολούθησε ήπια ανάδευση και επώαση στους 56^{o}C για 8-12 ώρες. Στη συνέχεια, προστέθηκε 1ml NaCl (6M), ακολούθησε ισχυρή ανακίνηση και φυγοκέντριση (3000 rpm, 10 λεπτά, 4^{o}C). Αν το υπερκείμενο δεν ήταν αρκετά διαυγές, επαναλήφθηκε η ανακίνηση και η φυγοκέντριση. Το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε 10ml αιθανόλης (96%), όπου με ήπια κυκλική ανακίνηση έγινε ορατό το DNA. Το DNA απομακρύνθηκε με πιπέτα Pasteur, της οποίας το άκρο είχε κλείσει με θέρμανση και ξεπλύθηκε σε διάλυμα αιθανόλης 70%. Μετά την εξάτμιση της αιθανόλης, το DNA διαλυτοποιήθηκε σε 0,5ml διαλύματος ΤΕ (0,61g Tris Base, 1ml EDTA 0,5M, απεσταγμένο νερό ως τα 500ml, pH=7,4) και αποθηκεύτηκε στους -20^{o}C.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Στα δείγματα ορού του συνόλου των εθελοντών έγινε μέτρηση επιπέδων γλυκόζης νηστείας με ενζυματική χρωματομετρική μέθοδο σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή.

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ

Η καταγραφή των διατροφικών συνηθειών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, όπου καταγράφηκε η συχνότητα και η ποσότητα κατανάλωσης 53 τροφίμων από όλους τους εθελοντές. Τα τρόφιμα που περιλαμβάνονταν στο

ερωτηματολόγιο είναι αντιπροσωπευτικά των βασικών ομάδων τροφίμων (κόκκινο κρέας και πουλερικά, ψάρι και θαλασσινά, γαλακτοκομικά προϊόντα, επεξεργασμένα και μη επεξεργασμένα δημητριακά, ωμά και μαγειρεμένα λαχανικά, φρούτα, αυγά, γλυκά, αναψυκτικά, έλαια και προστιθέμενο λίπος). Παράλληλα, καταγράφηκε και η κατανάλωση αλκοόλ (συχνότητα, ποσότητα, είδος) και υπολογίστηκε η κατανάλωση αλκοόλ σε ml/ημέρα, περιεκτικότητας 12g αιθανόλης/100ml. Επίσης, έγινε λήψη τριών 24-ωρων ανακλήσεων διατροφικής κατανάλωσης από 200 εθελοντές. Τα διατροφικά δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση του βαθμού υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής, καθώς και της ημερήσιας πρόσληψης ψευδαργύρου.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

Τα δεδομένα από τα ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων κωδικοποιήθηκαν σε κατάλληλα σχεδιασμένη βάση και υπολογίστηκε η κατανάλωση, σε μερίδες/ημέρα, των τροφίμων. Στη συνέχεια, η ημερήσια διαιτητική πρόσληψη ψευδαργύρου (mg/ημέρα) εκτιμήθηκε με τη χρήση του πίνακα περιεκτικότητας ψευδαργύρου στα τρόφιμα από το USDA (**Πίνακας 4**).

Πίνακας 4: Περιεκτικότητα Zn/μερίδα τροφίμου (mg), που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης Zn, από το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων.

Τρόφιμο (μερίδα)	Zn/μερίδα (mg)	Τρόφιμο (μερίδα)	Zn/μερίδα (mg)
Στρείδια (90γρ.)	74,00	Αυγό (1 τεμάχιο)	0,50
Μοσχάρι (90γρ.)	5,50	Σάλτσα ντομάτας (0,5 φλιτζ.)	0,45
Συκώτι (90γρ.)	4,50	Πατάτα (1 φλιτζ.)	0,40
Οστρακοειδή (90γρ.)	4,00	Άλλο μαγειρεμένο λαχανικό (1 φλιτζ.)	0,40
Αρνί (90γρ.)	4,00	Ψάρι[3] (90γρ.)	0,40
Κρέας κονσέρβας (90γρ.)	3,00	Παγωτό (0,5 φλιτζ.)	0,40
Εντόσθια (90γρ.)	3,00	Ψωμί λευκό (1 φέτα)	0,20
Γαλοπούλα (90γρ.)	2,80	Ωμά λαχανικά (1 φλιτζ.)	0,20
Χοιρινό (90γρ.)	2,50	Σούπα λαχανικών (1 φλιτζ.)	0,20
Άλλο κρέας (90γρ.)	2,50	Χυμός φρούτων (1 φλιτζ.)	0,20
Γιαούρτι (1 φλιτζάνι)	2,00	Κέικ/Σνακ (1 κομμάτι)	0,13
Κοτόπουλο (90γρ.)	1,70	Φρούτο φρέσκο (1 μέτριο)	0,10
Όσπρια (0,5 φλιτζ.)	1,30	Φρούτο κονσέρβας (0,5 φλιτζ.)	0,10
Αρακάς (1 φλιτζ.)	1,10	Αποξηραμένο φρούτο (1 μέτριο)	0,10
Ψάρι κονσέρβας (90γρ.)	1,00	Σοκολάτα (0,5 πλάκα)	0,10
Γάλα[1] (1 φλιτζ.)	1,00	Αναψυκτικό τύπου cola (1 φλιτζ.)	0,05
Σκληρό τυρί (30γρ.)	0,90	Μπισκότο (1 τεμάχιο)	0,02
Πίτσα (1 κομμάτι)	0,80	Τσάι (1 φλιτζ.)	0,02
Τυρί[2] (30γρ.)	0,80	Βούτυρο (1 κουταλιά της σούπας)	0,01
Ζυμαρικά/Ρύζι (1 φλιτζ.)	0,70	Ζάχαρη/Μέλι (1 κουταλάκι του γλυκού)	0,00
Αλλαντικά (2 φέτες)	0,65	Λάδι[4] (1 κουταλιά της σούπας)	0,00
Ψωμί ολικής άλεσης (1 φέτα)	0,50		

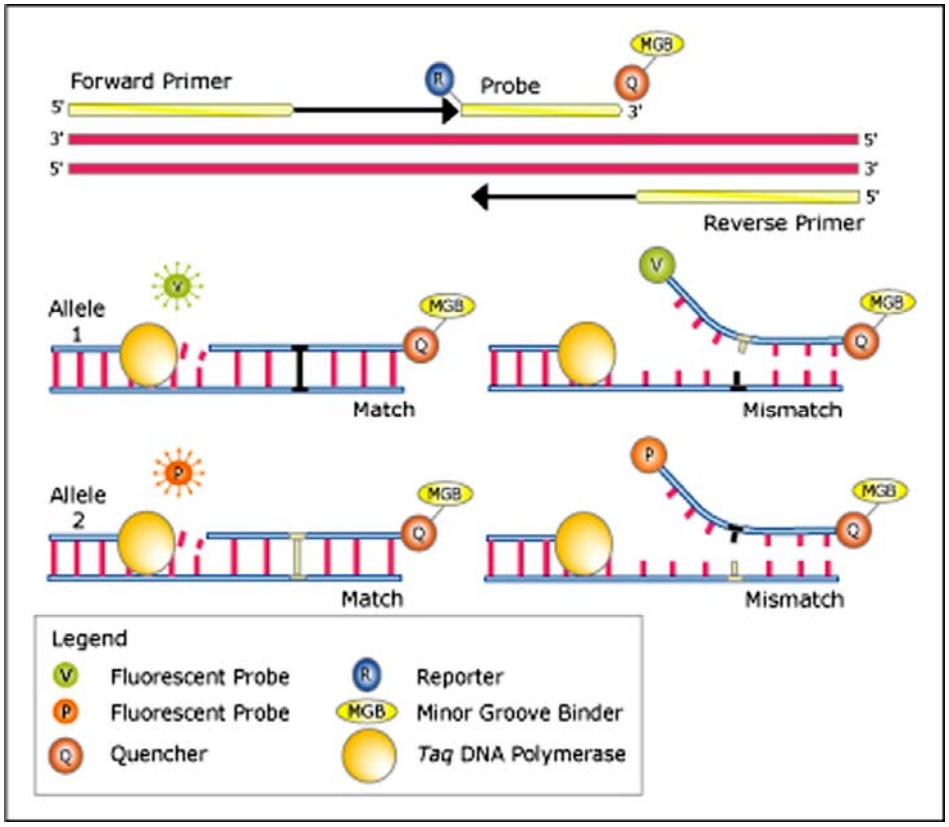
[1]Περιλαμβάνεται το άπαχο, ημίπαχο και πλήρες γάλα. [2]Περιλαμβάνεται το φρέσκο και ημίσκληρο τυρί.

[3]Περιλαβάνονται φρέσκα και κατεψυγμένα ψάρια. [4]Περιλαμβάνεται το ελαιόλαδο, το σπορέλαιο και η μαργαρίνη.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αληθινού χρόνου Taqman.

Η μέθοδος Taqman είναι μια ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο, που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό πολυμορφισμών σε συγκεκριμένη αλληλουχία του DNA. Η εφαρμογή της μεθόδου περιλαμβάνει έναν ανιχνευτή υβριδισμού (probe), που φέρει στο ένα άκρο του χρωστική φθορισμού αναφοράς (reporter) και στο άλλο άκρο χρωστική παρεμπόδισης φθορισμού (quencher). Οι χρωστικές φθορισμού που χρησιμοποιούνται είναι η 6-καρβόξυ φλουορεσκίνη (FAM) ή η χρωστική VIC ως "reporter", και η τετραμεθυλ-6-καρβοξυροδαμίνη TAMRA ως "quencher". Η μέθοδος Taqman περιλαμβάνει επίσης τους παράγοντες της κλασσικής PCR (εκκινητές, τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτιδία, ιόντα μαγνησίου και Taq πολυμεράση) και τα αντίστοιχα στάδια της αποδιάταξης, της σύνδεσης και επιμήκυνσης των εκκινητών. Ο ανιχνευτής υβριδισμού συνδέεται με τον ένα από τους δύο εκκινητές της αντίδρασης και υδρολύεται από την πολυμεράση στο στάδιο της επιμήκυνσης, με αποτέλεσμα να εκπέμπεται σήμα φθορισμού αναφοράς (FAM ή VIC). Σε κάθε κυκλική επανάληψη των σταδίων πολλαπλασιάζεται το σήμα του φθορισμού, το οποίο ανιχνεύεται και ποσοτικοποιείται με τη χρήση ακτινών λέιζερ. Η αρχή της μεθόδου παρουσιάζεται στην **Εικόνα 3** (58).



Εικόνα 3: Συνοπτική περιγραφή της μεθόδου Taqman

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τα στατιστικά προγράμματα PASW 18.0 (πρώην SPSS) και plink (95) για την εκτίμηση των συσχετίσεων μεταξύ πολυμορφισμών και διατροφικών παραγόντων. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσοι ± τυπική απόκλιση (mean±SD), ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτα και σχετικά ποσοστά. Η κανονική κατανομή των συνεχών μεταβλητών εκτιμήθηκε με το κριτήριο Kolmogorov-Sminorf, και όλες οι μεταβλητές ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Η συχνότητα των μελετώμενων πολυμορφισμών στο δείγμα συγκρίθηκε με την αναμενόμενη συχνότητα σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE). Για την ανάλυση συσχέτισης και αλληλεπίδρασης των πολυμορφισμών με συνεχείς μεταβλητές εφαρμόστηκαν μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας το προσθετικό (additive) γενετικό μοντέλο ανάλυσης και ελέγχοντας για πιθανούς συμπαράγοντες. Η στατιστική σημαντικότητα σε όλους τους ελέγχους εκτιμήθηκε σε επίπεδο p=0,05.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το δείγμα της έρευνας αποτελείται από 713 άτομα. Στον **πίνακα 5** φαίνονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος. Η μέση ηλικία των εθελοντών ήταν τα 71,7 (±7,5) έτη. Μόλις 190 (26,6%) ήταν οι άνδρες της μελέτης, ενώ τα υπόλοιπα 523 (73,4%) άτομα ήταν γυναίκες. Το BMI των ατόμων ήταν κατά μέσο όρο 29,7 (±4,6) kg/m^2, δηλαδή στα πλαίσια του υπέρβαρου. Η μέση ενεργειακή τους πρόσληψη ήταν 2141,6 (±653,7) kcal/day. Μέσω των ερωτηματολογίων συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν, υπολογίστηκε ότι η μέση πρόσληψη ψευδαργύρου ήταν 8,9 (±2,7) mg την ημέρα.

Πίνακας 5: Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος

Χαρακτηριστικά	**Δείγμα (N=713)**
Ηλικία(έτη)	71,7 ± 7,5
BMI(kg/m^2)	29,7 ± 4,6
Γλυκόζη νηστείας(mg/dL)	95,9 ± 11
Πρόσληψη Zn(mg/day)	8,9 ± 2,7
Ενεργειακή πρόσληψη(kcal/day)	2141,6 ± 653,7
Ανδρικό Φύλο(%)	26,6 (N=190)

Από τη γενετική ανάλυση προέκυψαν 3 γονότυποι για τον πολυμορφισμό rs174550 του γονιδίου FADS1: TT, TC και CC, με T>C. Σε 49 άτομα η γενετική ανάλυση απέτυχε, απομένουν λοιπόν 664 γονότυποι. Η συχνότητα του σπάνιου αλληλομόρφου στο δείγμα ήταν 0,2717.

Όπως φαίνεται στον **πίνακα 6**, το πιο συχνό ζευγάρι αλληλομόρφων ήταν το ομόζυγο ως προς το Τ αλληλόμορφο (49,1%), με συχνότητα στο ανδρικό φύλο 26,6%. Δεύτερος σε συχνότητα είναι ο TC (36,2%), ο οποίος όμως ήταν πιο συχνός στους άνδρες από τον TT (27,9%). Τέλος, ομόζυγοι ως προς το υπολειπόμενο C ήταν 56 άτομα (7,9%), από τα οποία οι 17 ήταν άνδρες.

Πίνακας 6: Η συχνότητα του πολυμορφισμού rs174550 στο δείγμα

Γονότυποι δείγματος	**Συχνότητα στο δείγμα (%)**	**Συχνότητα στο ανδρικό φύλο (%)**
TT	49,1(N=350)	26,6 (N=93)
TC	36,2 (N=258)	27,9 (N=72)
CC	7,9 (N=56)	30,4 (N=17)
Απώλειες	6,9 (N=49)	16,3 (N=8)

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται αναλυτικά τα χαρακτηριστικά των ατόμων για καθένα από τους 3 γονοτύπους. Οι μέσες τιμές της ηλικίας και του BMI ήταν σχεδόν ίσες και στις 3 ομάδες. Η γλυκόζη νηστείας στα άτομα με γονότυπο TT ήταν 96,6 (±11,3) mg/dL, με TC ήταν 94,6 (± 10,2) mg/dL και με CC (95,2 ± 11,8) mg/dL, ενώ η πρόσληψη ψευδαργύρου ήταν 8,9 (±2,9) mg/day, 9 (±2,7) mg/day και 8,6 (±2,4) mg/day αντίστοιχα. Όσον αφορά στη συνολική ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη των ατόμων με γονότυπο TT, αυτή υπολογίστηκε 2138 (±644,9) kcal/day, των ατόμων με γονότυπο TC υπολογίστηκε 2193 (±692,7) kcal/day και με γονότυπο CC ήταν 2044,2 (±567,4) kcal/day **(Πίνακας 7)**.

Πίνακας 7: Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος ανά γονότυπο

Περιγραφικά Χαρακτηριστικά	**TT (N=350)**	**TC (N=258)**	**CC (N=56)**
Ηλικία (έτη)	71,9 ± 7,3	71,8 ± 7,6	70,6 ± 8
BMI (kg/m^2)	29,8 ± 4,7	29,6 ± 5,2	29,4 ± 4,6
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	96,6 ± 11,3	94,6 ± 10,2	95,2 ± 11,8
Πρόσληψη Zn (mg/day)	8,9 ± 2,9	9 ± 2,7	8,6 ± 2,4
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal/day)	2138 ± 644,9	2193 ± 692,7	2044,2 ± 567,4

Όταν ερευνήθηκε η επίδραση κάθε αλληλομόρφου στα επίπεδα γλυκόζης, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση αυτών με την ύπαρξη ενός T αλληλομόρφου (0,08128 mg/dL, p=0,2332). Το ανδρικό φύλο συνδέθηκε αρνητικά με τα επίπεδα γλυκόζης (p=0,01134) κατά 0,093mg/dL. Μετά την προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς το BMI, η επίδραση του T αλληλομόρφου φάνηκε να παραμένει η ίδια, ενώ μεγαλύτερη ήταν η τάση για μείωση της γλυκόζης στον ορό λόγω του ανδρικού φύλου (-0,1172 mg/dL, p=0,001528). Κάθε αύξηση του BMI κατά 1 μονάδα φάνηκε να αυξάνει τα γλυκόζη ορού κατά 0,1463 mg/dL ($p=5,022*10^{-5}$) **(Πίνακας 8).**

Πίνακας 8: Επίδραση του rs174550 στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ορού (mg/dL) (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

	Πριν τη διόρθωση ως προς το BMI		**Μετά τη διόρθωση ως προς το BMI**	
	Συντελεστής-β	p-value	Συντελεστής-β	p-value
Για κάθε T αλληλόμορφο	,08128	**,02332**	,08122	**,02214**
Φύλο	-,09334	**,01134**	-,1172	**,001528**
Ηλικία	,03777	,3045	,04142	,2559
BMI	-	-	,1463	**$5,022 \times 10^{-5}$**

Στον **πίνακα 9** βρίσκονται συγκεντρωμένα τα αποτελέσματα από τη μελέτη της επίπτωσης της αλληλεπίδρασης του πολυμορφισμού με την πρόσληψη ψευδαργύρου στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας. Από τον πίνακα προκύπτει ότι ενώ η αρνητική επίδραση της πρόσληψης του ιχνοστοιχείου στα ποσοστά γλυκόζης δεν ήταν στατιστικά σημαντική, η αλληλεπίδραση αυτού με την ύπαρξη ενός T αλληλομόρφου μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης κατά 0,3243 mg/dL, με p=0,01283 και 0,3097 mg/dL μετά την προσαρμογή ως προς το BMI (p=0,01696).

Πίνακας 9: Επίδραση της αλληλεπίδρασης του rs174550 με την πρόσληψη ψευδαργύρου στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ορού (mg/dL) (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

	Πριν τη διόρθωση ως προς το BMI		**Μετά τη διόρθωση ως προς το BMI**	
	Συντελεστής-β	p-value	Συντελεστής-β	p-value
Για κάθε T αλληλόμορφο	,3848	**,002338**	,3696	**,003295**
Φύλο	-,1161	**,002201**	-,1367	**,0003436**
Ηλικία	,05413	,1493	,05901	,1142
BMI	-	-	,1211	**,001076**
Πρόσληψη Zn	-,06884	,1472	-,06882	,1455
Για κάθε T αλληλόμορφο * Πρόσληψη Zn	-,3243	**,01283**	-,3097	**,01696**

Στο γονότυπο CC η πρόσληψη ψευδαργύρου συσχετίστηκε θετικά με τα επίπεδα γλυκόζης (0,323 mg/day, p=0,018), ενώ στους γονοτύπους TT και TC δε βρέθηκε κάποια επίδραση. Σε αυτούς φάνηκε ότι το BMI αυξάνει τα επίπεδα γλυκόζης κατά 0,155 kg/m^2 (p=0,006) και 0,205 kg/m^2 (p=0,002) αντίστοιχα. Η επίδραση της πρόσληψης Zn στους γονοτύπους CC βρέθηκε και μετά τη διόρθωση ως προς το Δείκτη Μάζας Σώματος (p=0,015) (Πίνακες 10, 11, 12).

Πίνακας 10: Επίδραση της πρόσληψης ψευδαργύρου και των άλλων χαρακτηριστικών του δείγματος στα επίπεδα γλυκόζης για το γονότυπο TT

	TT (N=350)			
	Πριν τη διόρθωση ως προς το BMI		**Μετά τη διόρθωση ως προς το BMI**	
	Συντελεστής-β	p-value	Συντελεστής-β	p-value
Φύλο	-,028	,616	-,057	,318
Ηλικία (έτη)	,049	,380	,059	,293
BMI (kg/m^2)	-	-	,155	**,006**
Πρόσληψη Zn (mg/day)	-,012	,831	-,009	,866

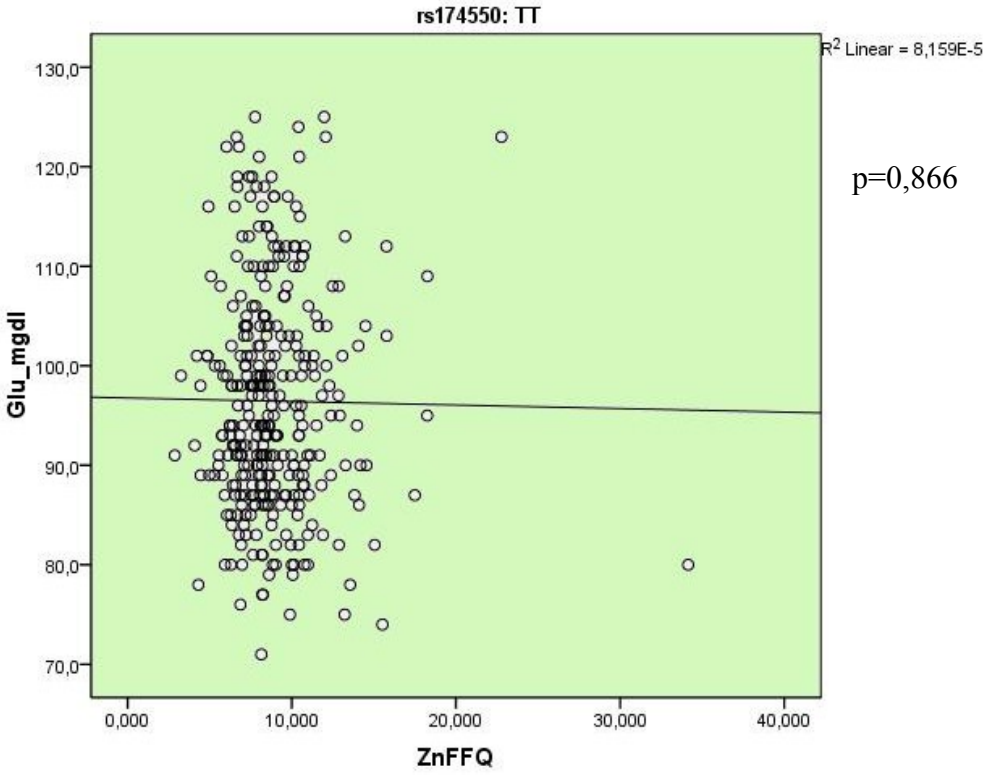
Πίνακας 11: Επίδραση της πρόσληψης ψευδαργύρου και των άλλων χαρακτηριστικών του δείγματος στα επίπεδα γλυκόζης για το γονότυπο TC

	TC (N=258)			
	Πριν τη διόρθωση ως προς το BMI		**Μετά τη διόρθωση ως προς το BMI**	
	Συντελεστής-β	p-value	Συντελεστής-β	p-value
Φύλο	-,026	,702	-,060	,365
Ηλικία (έτη)	,023	,733	,036	,582
BMI (kg/m^2)	-	-	,205	**,002**
Πρόσληψη Zn (mg/day)	,047	,470	,020	,758

Πίνακας 12: Επίδραση της πρόσληψης ψευδαργύρου και των άλλων χαρακτηριστικών του δείγματος στα επίπεδα γλυκόζης για το γονότυπο CC

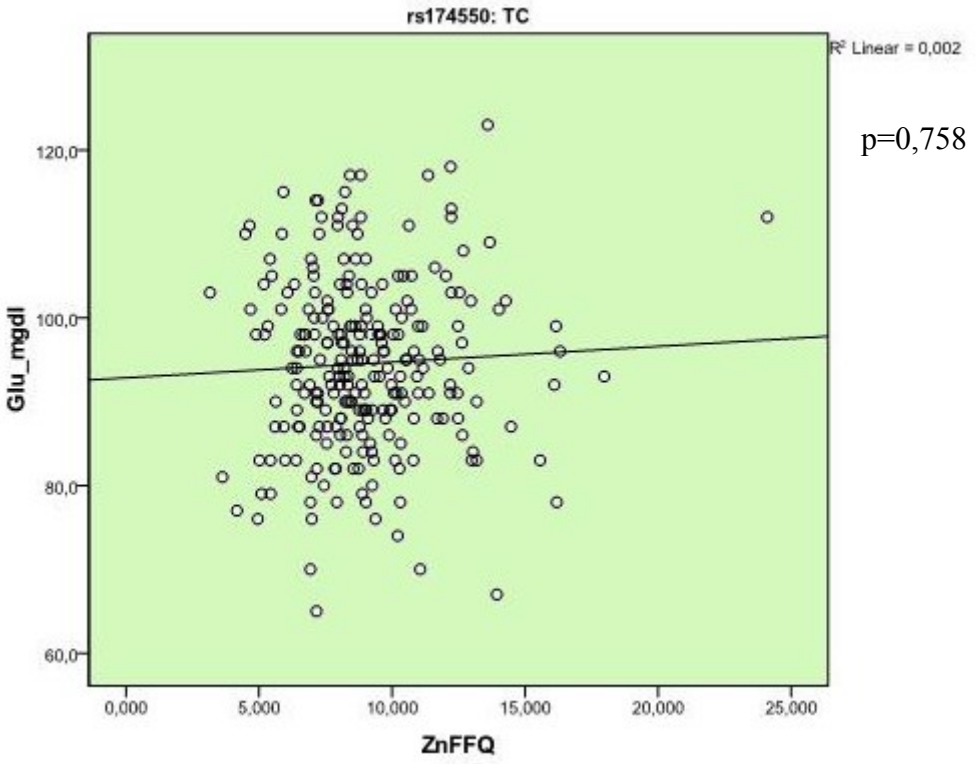
	CC (N=56)			
	Πριν τη διόρθωση ως προς το BMI		**Μετά τη διόρθωση ως προς το BMI**	
	Συντελεστής-β	p-value	Συντελεστής-β	p-value
Φύλο	,107	,436	,079	,560
Ηλικία (έτη)	,058	,671	,010	,942
BMI (kg/m^2)	-	-	,232	,085
Πρόσληψη Zn (mg/day)	,323	**,018**	,325	**,015**

Στα παρακάτω γραφήματα φαίνονται οι επιδράσεις της πρόσληψης Zn στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, ξεχωριστά για κάθε γονότυπο:

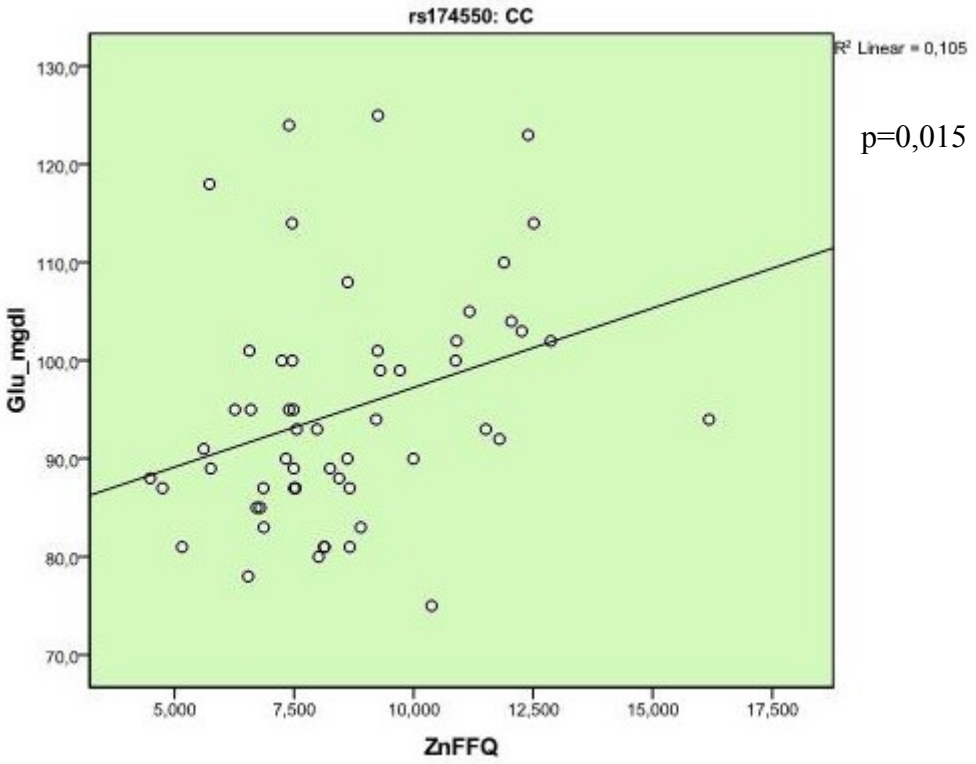


p=0,866

Εικόνα 4: Επίδραση της πρόσληψης Zn στα επίπεδα γλυκόζης ορού στο γονότυπο TT



Εικόνα 5: Επίδραση της πρόσληψης Zn στα επίπεδα γλυκόζης ορού στο γονότυπο TC



Εικόνα 6: Επίδραση της πρόσληψης Zn στα επίπεδα γλυκόζης ορού στο γονότυπο CC

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε ένα δείγμα 713 ηλικιωμένων ως προς την πρόσληψη ψευδαργύρου και την επίδραση αυτού και της αλληλεπίδρασης της πρόσληψής του με τον πολυμορφισμό rs174550 του γονιδίου FADS1.

Το 73,4% των ηλικιωμένων που έλαβαν μέρος στη μελέτη ήταν γυναίκες. Όλοι οι εθελοντές ήταν υγιείς ως προς τη νόσο του διαβήτη, αλλά και άλλες ασθένειες του ανοσοποιητικού συστήματος, του νευρικού συστήματος και φλεγμονώδεις παθήσεις του γαστρεντερικού σωλήνα. Η μέση ηλικία των ατόμων ήταν τα 71,7 (±7,5) έτη. Τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ορού ήταν κατά μέσο όρο 95,9 ± 11 mg/dL, ενώ ο μέσος όρος των ηλικιωμένων ήταν υπέρβαροι ως προς το σωματικό τους βάρος. Η μέση διαιτητική πρόσληψη ψευδαργύρου ήταν 8,9 (±2,7) mg την ημέρα, σχετικά κοντά δηλαδή στη συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη για ηλικιωμένους άντρες (11mg) και γυναίκες (8mg). Η γενικότερη μέση ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη υπολογίστηκε 2141,6 (±653,7) θερμίδες την ημέρα. Σαράντα εννέα τοις εκατό των ατόμων ήταν ομόζυγοι ως προς το συχνό αλληλόμορφο T, ενώ μόνο 7,9% του δείγματος ήταν ομόζυγοι ως προς το C. Ετερόζυγοι ήταν το 36,2% του δείγματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ανδρών είχαν γονότυπο CC (30,4%), ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των γυναικών είχαν γονότυπο TT (73,4%). Τα άτομα με γονότυπο TT, εμφάνισαν ελαφρώς υψηλότερο BMI (29,8±4,7) σε σχέση με τους γονοτύπους TC και CC(29,6±5,2 και 29,4±4,6 αντίστοιχα), αλλά και οι τιμές της γλυκόζης νηστείας ήταν υψηλότερες στους ηλικιωμένους με το γονότυπο αυτό (96,6±11,3 mg/dL). Η συνολική ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη φάνηκε να είναι υψηλότερη στα άτομα με γονότυπο TC (2193±692,7 θερμίδες/ημέρα) και μικρότερη στα άτομα με γονότυπο CC (2044,2±567,4 θερμίδες/ημέρα).

Τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας πλάσματος φάνηκε ότι αυξάνονται κατά 0,08122 mg/dL (p=0,02214) λόγω της ύπαρξης ενός T αλληλομόρφου, κατά 0,1463 mg/dL ($p=5,022*10^{-5}$) για κάθε αύξηση του BMI κατά 1 μονάδα, ενώ στο ανδρικό φύλο βρέθηκαν μειωμένα επίπεδα γλυκόζης κατά 0,1172 mg/dL (p=0,001528). Θετική επίδραση του T αλληλομόρφου στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας του πλάσματος έχει βρεθεί και στην έρευνα των Dupuis et al, με συντελεστή συσχέτισης 0,017 και $p=8,3*10^{-9}$ (59).

Στην παρούσα έρευνα η πρόσληψη ψευδαργύρου δε φάνηκε να επιδρά στα επίπεδα γλυκόζης (-0,06882, p=0,1455), αντίθετα με πολλές άλλες έρευνες (34,44). Από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης κάθε T αλληλομόρφου με την πρόσληψη ψευδαργύρου την ημέρα στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, βρέθηκε μείωση των επιπέδων αυτών, ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία και το BMI κατά 0,3097 mg/dL με p=0,01696. Αυτό οφείλεται στη συνεργιστική δράση των 2 παραπάνω παραγόντων και αποτελεί αξιοσημείωτο εύρημα.

Παρολαυτά, στα άτομα με γονοτύπους TT και TC, η πρόσληψη ψευδαργύρου δε φάνηκε να επιδρά στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας (-0,009, p=0,866 και 0,020, p=0,758 αντίστοιχα). Αντίθετα, στα άτομα με γονότυπο CC η πρόσληψη ψευδαργύρου αυξάνει τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ορού (0,325mg/day, p=0,015).

Έως σήμερα δεν έχει διεξαχθεί κάποια έρευνα που να μελετά την ίδια αλληλεπίδραση, ώστε να είναι εφικτή η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας με εκείνη. Διάφοροι πολυμορφισμοί του ίδιου γονιδίου έχουν μελετηθεί ως προς την επίδρασή τους στα επίπεδα γλυκόζης, καμία όμως έρευνα δε μελέτησε την πρόσληψη ψευδαργύρου και τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση. Δεν είμαστε, λοιπόν, σε θέση να εκφράσουμε τον ακριβή μηχανισμό αυτής της αλληλεπίδρασης, παρά μόνο να υποθέσουμε.

Άτομα , λοιπόν, με γονότυπο CC στο συγκεκριμένο πολυμορφισμό φαίνεται να μην ωφελούνται από την αυξημένη πρόσληψη Zn ως προς τη ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης τους. Το C αλληλόμορφο έχει συχνότητα 0,2717, είναι δηλαδή αρκετά συχνό. Έτσι, οι συστάσεις σχετικά με την παραπάνω αλληλεπίδραση θα βοηθήσουν αρκετούς ανθρώπους.

Είναι απαραίτητη, σαφώς , περαιτέρω έρευνα σχετικά με τον πολυμορφισμό rs174550 του γονιδίου FADS1 και την αλληλεπίδρασης αυτού με τον ψευδάργυρο. Φαίνεται ότι ο τελευταίος επηρεάζει κάποιο μονοπάτι της D5D ή ίσως η επίδραση να γίνεται σε προηγούμενο στάδιο, πχ της μεταγραφής του γονιδίου μέσω των δακτύλων ψευδαργύρου. Ένα ενδεχόμενο είναι η D5D που παράγεται από το C αλληλόμορφο να είναι όντως μειωμένης λειτουργίας [(όπως αναφέρεται σε πρόσφατη έρευνα των Dupuis et al (59)]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα των ανεπαρκή παραγωγή των αντιφλεγμονωδών εικοσανοειδών από τα ω-3 λ.ο. που υπάρχουν άφθονα στις τροφές όπου βρίσκεται ο ψευδάργυρος. Ένα σημείο το οποίο θα πρέπει να διαλευκανθεί σε παρόμοια έρευνα είναι η κατανάλωση τροφίμων εμπλουτισμένων με ψευδάργυρο, όπως κονσερβοποιημένα δημητριακά και σπαράγγια. Μία παρέμβαση με συμπληρώματα ψευδαργύρου στον πληθυσμό θα μπορούσε να διαλευκάνει το τοπίο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alvear-Galindo MG, Laurell AC. Analysis of the diabetes mellitus screening program in the Federal District, Mexico. Cad Saude Publica. 2010 Feb;26(2):299-310.
2. Spellman CW. Pathophysiology of Type 2 Diabetes: Targeting Islet Cell Dysfunction. J Am Osteopath Assoc. 2010;110 (3 suppl 2):S2-S7
3. American Diabetes Association: Clinical practice guidelines 2000. Diabetes Care 2000
4. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. Diabetes Care Nov 2003 vol. 26 no. 11 3160-3167
5. King H, Aubert RE, Herman HW. Global Burden of Diabetes, 1995–2025 Prevalence, numerical estimates and projections. Diabetes Care Sep 1998 vol. 21, no 9 1414-31
6. Wild S, Roglin G, Green A, et al. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care October 2004 27:1047–1053
7. Gikas A, Sotiropoulos A, Panagiotakos et al. Prevalence, and associated risk factors of self-reported diabetes mellitus in a sample of adult urban population in Greece: MEDICAL Exit Poll Research in Salamis (MEDICAL EXPRESS 2002). BMC Public Health Feb 2004 14;4:2
8. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C et al. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. Diabet Med. 2005 Nov;22(11):1581-8.
9. Carpenter CJ, Griggs RC, Loscalzo J. CECIL Βασική Παθολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας
10. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S et al. Glucose and free fatty acid metabolism in non–insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. J Clin Invest. 1989;84(1):205-213.
11. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S et al. Cell deficit and increased cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. Diabetes.2003;52(1):102-110.
12. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD et al. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. Diabetologia 1997 Nov;40(11):1286-92
13. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus.JAMA 2001 Nov 14;286(18):2233.

14. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-α- and obesity-induced insulin resistance. Science 1996;271:665-8

15. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA 2001;286:327-34

16. Ceriello A., Motz E. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypothesis Revisited. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24;816-823

17. Sparso T, Andersen G, Nielsen T et al. The GCKR rs780094 polymorphism is associated with elevated fasting serum triacylglycerol, reduced fasting and OGTT-related insulinaemia, and reduced risk of type 2 diabetes**.** Diabetologia. 2008 Feb;51(2):383.

18. Bouatia-Naji N, Rocheleau G, Van Lommel L et al. A polymorphism within the G6PC2 gene is associated with fasting plasma glucose levels. Science. 2008 May 23;320(5879):1085-8. Epub 2008 May 1

19. Orho-Melander M, Melander O, Guiducci C et al. Common missense variant in the glucokinase regulatory protein gene is associated with increased plasma triglyceride and C-reactive protein but lower fasting glucose concentrations. Diabetes 2008 Nov;57(11):3112-21

20. Prokopenko I, Langenberg C, Florez JC, et al. Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. Nat Genet. 2009 Jan;41(1):77-81. Epub 2008 Dec 7.

21. Bouatia- Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proença C et al. A variant in MTNR1B associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. Nat. Genet. 41, 89-94 (2009)

22. Stranges S, Marshall JR, Natarajan R et al. Effects of Long-Term Selenium Supplementation on the Incidence of Type 2 Diabetes A Randomized Trial. Ann Intern Med. 2007 Aug 21;147(4):217-23. Epub 2007 Jul 9

23. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S et al. Serum Selenium Concentrations and Diabetes in U.S. Adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2004. Atherosclerosis. 2010 Jun;210(2):643-8. Epub 2010 Jan 11

24. Czernichow S, Couthouis A, Bertrais C et al. Antioxidant supplementation does not affect fasting plasma glucose in the Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals (SU.VI.MAX) study in France: association with dietary intake and plasma concentrations. Am J Clin Nutr. 2006 Aug;84(2):395-9

25. Alvarez JA, Bush NC, Choquette SS et al. Vitamin D intake is associated with insulin sensitivity in African American, but not European American women. Nutr Metab (Lond). 2010 Apr 14;7:28

26. Hopping BN, Erber E, Grandinetti A et al. Dietary fiber, magnesium, and glycemic load alter risk of type 2 diabetes in a multiethnic cohort in Hawaii. J Nutr. 2010 Jan;140(1):68-74. Epub 2009 Nov 4

27. Yoshida M, Booth SL, Meigs JB et al. Phylloquinone intake, insulin sensitivity and glycemic status in men and women**.** Am J Clin Nutr. 2008 Jul;88(1):210-5

28. Yoshida M, Jacques PF, Meigs JB et al. Effect of vitamin K supplementation on insulin resistance in older men and women. Diabetes Care. 2008 Nov;31(11):2092-6. Epub 2008 Aug 12.

29. Hanhineva K, Törrönen R, Bondia-Pons I et al. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. Int J Mol Sci. 2010 Mar 31;11(4):1365-402

30. Journal of the American Dietetic Association. Dietary Reference Intakes Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. 2001, Volume 101, Issue 3, Pages 294-301

31. Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. Bangkok, Thailand, 21–30 Sep 1998

32. Groff JL and Gropper SS. Advanced nutrition and human metabolism, 3rd ed. Belmont: Wadsworth/Thomson Learning, 1999

33. Maret W and Krężel A. The feinstein institute for medical research cellular zinc and redox buffering capacity of metallothionein/thionein in health and disease. Mol Med. 2007 Jul–Aug; 13(7-8): 371–375

34. Jansen J, Karges W, Rink L. Zinc and diabetes--clinical links and molecular mechanisms. J Nutr Biochem. 2009 Jun;20(6):399-417

35. Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr.* 2000;130:1344S–9S

36. Saper B and Rash R, An Essential Micronutrient. Am Fam Physician. 2009 May 1;79(9):768-72.

37. Caulfield LE and Black RE. Zinc deficiency. WHO Geneva

38. Fong LYY, Jiang YB, Farber JL. Zinc deficiency potentiates induction and progression of lingual and esophageal tumors in p53-deficient mice. *Carcinogenesis.* 2006;27:1489–96.

39. Sandstead HH, Frederickson CJ, Penland JG. History of zinc related to brain function. *J Nutr.*2000;130:496S–502S**.**

40. Sensi SL, Jeng JM. Rethinking the excito-toxic ionic milieu: the emerging role of Zn^{2+} in ischemic neuronal injury. *Curr Mol Med.* 2004;4:87–111.

41. Scott DA. Crystalline insulin. Biochem J 28: 1592– 1602, 1934

42. Taylor CG. Zinc, the pancreas, and diabetes: insights from rodent studies and future directions. Biometals 18: 305– 312, 2005

43. Arquilla ER, Packer S, Tarmas W et al. The effect of zinc on insulin metabolism. Endocrinology103: 1440– 1449, 1978

44. Simon SF, Taylor CG. Dietary zinc supplementation attenuates hyperglycemia in db/db mice. Exp Biol Med (Maywood) 226: 43– 51, 2001

45. Begin-Heick N, Dalpe-Scott M, Rowe J et al. Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. Diabetes 34: 179– 184, 1985

46. Adachi Y, Yoshida J, Kodera Y et al. Oral administration of a zinc complex improves type 2 diabetes and metabolic syndromes. Biochem Biophys Res Commun 351: 165–170, 2006.,

47. Fugono J, Fujimoto K, Yasui H et al. Metallokinetic study of zinc in the blood of normal rats given insulinomimetic zinc(II) complexes and improvement of diabetes mellitus in type 2 diabetic GK rats by their oral administra*tion.* Drug Metab Pharmacokinet 17: 340–347, 2002

48. Faure P, Lafond JL, Coudray C et al. Zinc prevents the structural and functional properties of free radical treated-insulin. Biochim Biophys Acta 1209: 260– 264, 1994

49. Sun Q, Van Dam RM, Willett WC et al. Prospective Study of Zinc Intake and Risk of Type 2 Diabetes in Women. Diabetes Care. 2009 April; 32(4): 629–634

50. Simon SF and Taylor CG. Dietary Zinc Supplementation Attenuates Hyperglycemia in db/db Mice. Exp Biol Med (Maywood). 2001 Jan;226(1):43-51

51. Oh HM and Yoon JS. Glycemic control of type 2 diabetic patients after short-term zinc supplementation, Nutr Res Pract. 2008 Winter; 2(4): 283–288

52. Haase H, Overbeck S, Rink L. Mini Review: Zinc supplementation for the treatment or prevention of disease: Current status and future perspectives. Experimental Gerontology 43 (2008) 394–408

53. Mocchegiani E, Giacconi R, Malavolta M. Zinc signalling and subcellular distribution: emerging targets in type 2 diabetes. Trends Mol Med. 2008 Oct;14(10):419-28. Epub 2008 Sep 4.

54. Rumawas ME, McKeown NM, Rogers G et al. Magnesium intake is related to improved insulin homeostasis in the framingham offspring cohort. J Am Coll Nutr. 2006 Dec;25(6):486-92.

55. Montagnana M, Lippi G, Targher G et al. Relationship between hypomagnesemia and glucose homeostasis. 2008;54(5-6):169-72.

56. Kanoni S and Dedoussis GV. Design and descriptive characteristics of the GHRAS: the Greek Health Randomized Aging Study. Med Sci Monit 2008;14:CR204-12.

57. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988;16:1215

58. Watson DE and Li B. TaqMan applications in genetic and molecular toxicology. Int J Toxicol 2005;24:139-45.

59. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I et al., New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. Nat Genet. 2010 Feb;42(2):105-16. Epub 2010 Jan 17

60. Nakamura MT and Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. Annu Rev Nutr 2004, 24:345-376.

61. Antueno R, Knickle L, Smith H et al. Activity of human 5 and 6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. FEBS letters 2001, 509(1):77-80.

62. Marquardt A, Stohr H, White K et al. cDNA cloning, genomic structure and chromosomal localization of three members of the human fatty acid desaturase family. Genomics 2000, 66(2):175-183.

63. Nakada T, Kwee IL, Ellis WG Membrane fatty acid composition shows delta-6-desaturase abnormalities in Alzheimer's disease. Neuroreport 1990, 1(2):153-155.

64. Boudrault C, Bazinet RP, Ma DW. Experimental models and mechanisms underlying the protective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in Alzheimer's disease. J Nutr Biochem 2009, 20(1):1-10.

65. Yaqoob P and Shaikh SR. The nutritional and clinical significance of lipid rafts. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2010, 13(2):156-166.

66. Sepulveda JL, Tanhehco YC, Frey M et al. Variation in human erythrocyte membrane unsaturated Fatty acids: correlation with cardiovascular disease. Arch Pathol Lab Med 2010, 134(1):73-80.

67. Okuyama H, Fujii Y, Ikemoto A. n-6/n-3 Ratio of dietary fatty acids rather than hypercholesterolemia as the major risk factor for atherosclerosis and coronary heart disease. J Health Sci 2000, 46(3):157-177.
68. Schaeffer L, Gohlke H, Muller M et al. Common genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. Hum Mol Genet 2006, 15(11):1745-1756.
69. Dwyer J, Allayee H, Dwyer K et al. Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. N Engl J Med 2004, 350(1):29-37.
70. Martinelli N, Girelli D, Malerba G et al. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. Am J Clin Nutr 2008, 88(4):941-949.
71. Hansen-Petrik M, McEntee M, Johnson B et al. Selective inhibition of [Delta]-6 desaturase impedes intestinal tumorigenesis. Cancer Lett 2002, 175(2):157-163.
72. Obukowicz M, Welsch D, Salsgiver W et al. Novel, selective delta 6 or delta 5 fatty acid desaturase inhibitors as antiinflammatory agents in mice. J Pharmacol Exp Ther 1998, 287(1):157-166.
73. Baylin A, Ruiz-Narvaez E, Kraft P et al. {alpha}-Linolenic acid,{Delta} 6-desaturase gene polymorphism, and the risk of nonfatal myocardial infarction. Am J Clin Nutr 2007, 85(2):554-560.
74. Truong H, DiBello JR, Ruiz-Narvaez E et al. Does genetic variation in the {Delta}6-desaturase promoter modify the association between {alpha}-linolenic acid and the prevalence of metabolic syndrome? Am J Clin Nutr 2009, 89(3):920-925.
75. Tanaka T, Shen J, Abecasis GR et al. Genome-wide association study of plasma polyunsaturated fatty acids in the InCHIANTI Study. PLoS Genet 2009, 5(1):e1000338.
76. Illig T, Gieger C, Zhai G et al. A genome-wide perspective of genetic variation in human metabolism. Nat Genet 2010, 42(2):137-141.
77. Zamaria N. Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. Reprod Nutr Dev 2004, 44(3):273-282.
78. Wijendran V and Hayes KC. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annu Rev Nutr 2004, 24:597-615.
79. Ma DW. Lipid mediators in membrane rafts are important determinants of human health and disease. Appl Physiol Nutr Metab 2007, 32(3):341-350.
80. Merino DM, Ma DW, Mutch DM. Genetic variation in lipid desaturases and its impact on the development of human disease. Lipids Health Dis, 2010 Jun 18;9(1):63

81. Mitchell BD, Hsueh WC, King TM et al. Heritability of life span in the Old Order Amish. Am J Med Genet 2001 102:346–352

82. Mattson MP. Dietary factors, hormesis and health. Ageing Res Rev 2008 7:43–48

83. Varin A, Larbi A, Dedoussis GV et al. In vitro and in vivo effects of zinc on cytokine signalling in human T cells. Jr. Experimental Gerontology Volume 43, Issue 5, May 2008, Pages 472-482

84. Mariani E, Neri S, Cattini L et al. Effect of zinc supplementation on plasma IL-6 and MCP-1 production and NK cell function in healthy elderly: Interactive influence of +647 MT1a and _174 IL-6 polymorphic alleles. Experimental Gerontology 43 (2008) 462–471

85. Bonafe M, Olivieri F, Cavallone L et al. A gender—dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. Eur J Immunol 2001 31:2357–2361

86. Giacconi R, Cipriano C, Muti E et al. Involvement of -308 TNF-alpha and 1267 Hsp70–2 polymorphisms and zinc status in the susceptibility of coronary artery disease (CAD) in old patients. Biogerontology 2006 7:347–356

87. Lio D, Scola L, Crivello A et al. Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10–1082 promoter SNP and its interaction with TNF-alpha-308 promoter SNP. J Med Genet 2003 40:296–299

88. Mazzatti DJ, Malavolta M, White AJ et al. Effects of interleukin-6-174C/G and metallothionein 1A+647A/C single-nucleotide polymorphisms on zinc-regulated gene expression in ageing. Exp Gerontol 2008 43:423–432

89. Mocchegiani E, Giacconi R, Costarelli L et al. Zinc deficiency and IL-6–174G/C polymorphism in old people from different European countries: effect of zinc supplementation. ZINCAGE study. Exp Gerontol 2008 43:433–444

90. . Pifl C, Wolf A, Rebernik P et al. Zinc regulates the dopamine transporter in a membrane potential and chloride dependent manner 2009 Feb;56(2):531-40. Epub 2008 Oct 26

91. Daniel H and Dieck H. Nutrient-gene interactions: a single nutrient and hundreds of target genes. Biol Chem. 2004 Jul;385(7):571-83

92. Mocchegiani E, Giacconi R, Muzzioli M et al. Zinc, infections and immunosenescence. Mech Ageing Dev 2001 Mar;122(3):353.

93. Eder K and Kirchgessner M. Zinc deficiency and the desaturation of linoleic acid in rats force-fed fat-free diets. Biol Trace Elem Res. 1996 Aug;54(2):173-83.

94. Eder K and Kirchgessner M. Activities of liver microsomal fatty acid desaturases in zinc-deficient rats force-fed diets with a coconut oil/safflower oil mixture of linseed oil. Biol Trace Elem Res. 1995 Jun;48(3):215-29.

95. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. Am J Hum Genet 2007;81:559-75.

96. Dinarello CA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T. Role of IL-1beta in type 2 diabetes. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2010 Aug;17(4):314-21.

97. Diabetes Atlas. International Diabetes Federation.

98. Müller WA, Faloona GR, Aguilar-Parada E et al. Abnormal alpha-cell function in diabetes. Response to carbohydrate and protein ingestion. N Engl J Med. 1970 Jul 16;283(3):109-15

99. Mburu AS, Thurnham DI, Mwaniki DL et al. The influence of inflammation on plasma zinc concentration in apparently healthy, HIV+ Kenyan adults and zinc responses after a multi-micronutrient supplement. Eur J Clin Nutr. 2010 May;64(5):510-7. Epub 2010 Mar 10.

100. Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F et al. Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. Biogerontology 2010 Jun;11(3):309-19. Epub 2009 Oct 10.