

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Ερευνητική Μελέτη: Ενδομυϊκά Λιποειδή

Αθανάσιος Γ. Σταματελόπουλος MD, PhD

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών

Επιστημονικός Υπεύθυνος:

Σταύρος Κάβουρας, Λέκτορας

Εξεταστική Επιτροπή:

Σταύρος Κάβουρας, Λέκτορας

Λάμπρος Συντώσης, Αναπληρωτής Καθηγητής

Γιώργος Κρανίου, Επιστημονικός Συνεργάτης

Αθήνα 2006

Ερευνητική Ομάδα Νοσοκομείου Ευαγγελισμός:

Χρήστος Χαρίτος, Διευθυντής, Καρδιοχειρουργός

Παναγιώτης Δεδεηλίας, Επιμελητής Β', Καρδιοχειρουργός

Αντώνης Τσούκας, Επιμελητής Α', Καρδιοχειρουργός

Στέλιος Ζαράγκας, Ειδικευόμενος Καρδιοχειρουργός

Κώστας Βουτετάκης Καρδιοχειρουργός

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ 3
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	σελ 4
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ 4
2.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ	σελ 4
2.1.2 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ: ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	σελ 6
2.1.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ	σελ 8
2.1.3.1 Συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και σακχαρώδους 2.1.4 διαβήτη τύπου II	σελ 8
2.1.5 Ινσουλινοαντίσταση και στεφανιαία νόσος	σελ 8
2.1.6 Ινσουλινοαντίσταση και αρτηριακή υπέρταση	σελ 8
2.1.7 Ινσουλινοαντίσταση και δυσλιπιδιαμίες	σελ 9
2.1.8 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ	σελ 10
2.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ	
2.3 ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΜΥ	σελ 13
3. 3 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	σελ 23
4. 4 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	σελ 24

4.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	σελ 24
4.2 ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	σελ 24
4.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	σελ 29
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ

30

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επίπτωση το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου II και η συχνότητα μειωμένης απόκρισης των ιστών στην ινσουλίνη αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς, σε σημείο μάλιστα που να προσλαμβάνει διαστάσεις επιδημίας. Συσχετίζεται δε με την εμφάνιση καρδιαγγειακών και άλλων νοσημάτων τα οποία αποτελούν την πρώτη αιτία νοσηρότητας και θανάτου στο δυτικό κόσμο.

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την ερμηνεία των βιοχημικών και μοριακών μηχανισμών της ινσουλिनoαντίστασης και συγκεκριμένα στο επίπεδο ανταγωνισμού των ενεργειακών υποστρωμάτων (γλυκόζης και λιπαρών οξέων) στο μυϊκό ιστό, αλλά και η μεταφορά γλυκόζης στο μυϊκό ιστό.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξεταστεί η συγκέντρωση των τριών τάξεων λιποειδών σε τρεις διαφορετικές μυϊκές ομάδες ατόμων διαβητικών τύπου II και ατόμων μη διαβητικών. Οι υπό εξέταση μύες είναι: ο μείζων θωρακικός, ο μεσοπλεύριος μυς και το μυοκάρδιο. Πρόκειται για τρεις διαφορετικούς μυς με διαφορετική λειτουργία καθώς και διαφορετικό βαθμό ενεργοποίησης.

Στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν παρόμοια ερευνητικά δεδομένα που αφορούν τη σύγκριση της συγκέντρωσης των λιποειδών σε αυτούς τους μυς. Στην έρευνα έλαβαν μέρος νοσηλευόμενοι ασθενείς των καρδιοχειρουργικών κλινικών του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών “Ο Ευαγγελισμός” οι οποίοι υπεβλήθησαν σε επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ισάριθμες ομάδες, με βάση την ύπαρξη ή όχι κλινικά διαγνωσμένου Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου II. Κατά της διάρκεια της επέμβασης έγινε λήψη δείγματος από κάθε έναν από τους τρεις προαναφερθέντες μύες. Σε καθέναν από τους ασθενείς έγινε αιμοληψία νηστείας για την μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο μεταβολισμός των υδατανθράκων βρίσκεται σε άμεση συνάρτηση με το μεταβολισμό των τριγλυκεριδίων. Σε παθολογικές καταστάσεις (ενδοκρινικές-διατροφικές διαταραχές) η αλληλεπίδραση ανάμεσα στις μεταβολικές οδούς των υδατανθράκων και των τριγλυκεριδίων είναι ιδιαίτερα σημαντική και ως εκ τούτου προκύπτουν μεταβολές των επιπέδων, τόσο στον ορό του αίματος, όσο και σε επίπεδο περιφερικών μυών των τριγλυκεριδίων.

Παθολογικές καταστάσεις που επηρεάζουν το μεταβολισμό των υδατανθράκων είναι ιδιαίτερα συνήθεις. Τέτοιες καταστάσεις είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, η ινσουλινοαντίσταση, η νηστεία και η παχυσαρκία.

2.2 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ

Η ινσουλίνη παράγεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Η ινσουλίνη προέρχεται από μεγαλύτερα πρόδρομα μόρια που σχηματίζονται στα β-κύτταρα, την προϊνσουλίνη, και μετά από ενζυματική διάσπαση προκύπτει το μόριο της ινσουλίνης. Εκεί ένα ποσοστό 40-60% της παραχθείσας ινσουλίνης μεταβολίζεται και αδρανοποιείται, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό μπαίνει στη συστηματική κυκλοφορία για να φθάσει στα όργανα στόχους.

Η ινσουλίνη δρα τόσο στα κύτταρα του μυϊκού ιστού όσο και στα λιποκύτταρα. Στόχος της δράσης της είναι κυρίως η διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από τα κύτταρα. Άλλα κύτταρα-στόχοι της ινσουλίνης είναι τα ηπατοκύτταρα. Η ινσουλίνη δρα κατά τέτοιο τρόπο ώστε να πραγματοποιείται η αποθήκευση γλυκόζης με τη μορφή του γλυκογόνου στα ηπατοκύτταρα αλλά και στα μυϊκά κύτταρα. Παρενθετικά επιβάλλεται να επισημανθεί ότι στα ηπατοκύτταρα ο ρόλος της ινσουλίνης δεν είναι η πρόσληψη γλυκόζης αίματος από το κύτταρο η οποία πραγματοποιείται χωρίς την παρουσία της αλλά η αποθήκευση γλυκόζης και η περαιτέρω χρήση της σαν πηγή ενέργειας. Η προσλαμβανόμενη γλυκόζη χρησιμοποιείται εκτός από την σύνθεση γλυκογόνου και για την παραγωγή τριγλυκεριδίων. Η ινσουλίνη συμμετέχει στις παραπάνω διαδικασίες και στην

αποθήκευση τριγλυκεριδίων στα λιποκύτταρα. Η εστεροποίηση αυτών των ελεύθερων λιπαρών οξέων λαμβάνει χώρα τόσο στα ηπατοκύτταρα όσο και στα λιποκύτταρα. Αν και έχει προαναφερθεί είναι αναγκαίο να επισημανθεί ο ρόλος της ινσουλίνης στη χρήση της γλυκόζης για παραγωγή ενέργειας. Η ινσουλίνη είναι η απαραίτητη ορμόνη για την οξείδωση της γλυκόζης. Τέλος, η ινσουλίνη δρα κατά την μεταγραφή και μετάφραση του RNA και προάγει τη μετάφραση των πρωτεϊνών, ενώ παρουσιάζει και αυξητικές ιδιότητες, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Η ινσουλίνη δρα σε ειδικά κύτταρα-υποδοχείς της ορμόνης που βρίσκονται στις προαναφερθείσες ομάδες κυττάρων. Οι υποδοχείς της ινσουλίνης είναι πρωτεϊνικοί σχηματισμοί και εδράζονται στην κυτταρική μεμβράνη, όπου και συντίθενται, δρουν, καταστρέφονται και αναπαράγονται. Το turn-over των υποδοχέων ινσουλίνης πραγματοποιείται εξ' ολοκλήρου στη μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Το φαινόμενο της αυξημένης υπεργλυκαιμίας οφείλεται ακριβώς σε παθολογική ανισορροπία μεταξύ παραγωγής και διάθεσης της γλυκόζης. Και ακριβώς αυτή η υπεργλυκαιμία οδηγεί σε σακχαρώδη διαβήτη. Ο όρος αντίσταση στην ινσουλίνη χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη μειωμένη απόκριση των ιστών στη δράση της ορμόνης ινσουλίνης. Η μειωμένη απόκριση των κυττάρων-στόχων στην ινσουλίνη οδηγεί σε μειωμένη διάθεση γλυκόζης στα κύτταρα (μυικά και λιπώδη) και βέβαια σε αναστολή της ηπατικής παραγωγής τριγλυκεριδίων. (60,33)

Η αύξηση της γλυκόζης στο αίμα, όπως συμβαίνει μετά το γεύμα, γίνεται αντιληπτή από τα β-κύτταρα. Τότε τα β-κύτταρα απελευθερώνουν την αποθηκευμένη στο εσωτερικό τους ινσουλίνη (πρώτη φάση ινσουλινοέκκρισης). Στη συνέχεια η παρατεταμένη αύξηση της γλυκόζης αίματος οδηγεί σε περαιτέρω διέγερση του β-κυττάρου με αποτέλεσμα την περαιτέρω παραγωγή και άμεση απελευθέρωση στην κυκλοφορία ινσουλίνης (δεύτερη φάση ινσουλινοέκκρισης) με σκοπό τη διατήρηση της γλυκόζης αίματος σταθερής μεταξύ 60-110 mg/dl.

Αρχικά η ινσουλινοαντίσταση προκαλεί αυξημένη δραστηριότητα των β-κυττάρων οδηγώντας σε υπερινσουλιναιμία, δηλαδή αύξηση στη συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα. Με την αντιρροπιστική αυτή μέθοδο η γλυκόζη αίματος παραμένει στα προαναφερθέντα φυσιολογικά όρια. Με την πάροδο του χρόνου η ικανότητα των β-κυττάρων για παραγωγή ινσουλίνης μειώνεται. Υπολογίζεται ότι η απώλεια της ικανότητας των β-κυττάρων να παράγουν ινσουλίνη είναι 5% το χρόνο.

Όταν, όμως, η υπερινσουλιναίμία δεν μπορεί πλέον να διατηρήσει την ομοιόσταση της γλυκόζης, εξισορροπώντας την υπεργλυκαιμία, το αποτέλεσμα είναι αρχικά μια αύξηση στη μεταγευματική τιμή της γλυκόζης (διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης) και, αργότερα, σε αυξημένες τιμές γλυκόζης νηστείας σακχαρώδης διαβήτης τύπου II ^{47, 53,10,29,39}

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να πραγματοποιηθεί αναφορά στην υπόθεση του “thrifty phenotype” η οποία προτείνει ότι η υπερινσουλιναίμία σε συνδυασμό με την επιλεκτική αντίσταση στην ινσουλίνη, ευνοούν την αποθήκευση λίπους στους μυς 32, 22.

2.3 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ: ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.

Με βάση την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (Π.Ο.Υ.) από το 1997 τα διαγνωστικά κριτήρια για το σακχαρώδη διαβήτη τύπου II είναι:

- Συμπτώματα σακχαρώδη διαβήτη και τυχαία μέτρηση γλυκόζης πλάσματος μεγαλύτερη ή ίση προς 200mg/dl
- Γλυκόζη πλάσματος νηστείας μεγαλύτερη από ή ίση προς 126mg/dl
- Γλυκόζη πλάσματος 2 ώρες μετά από χορήγηση γλυκόζης μεγαλύτερη από ή ίση προς 200mg/dl

Η δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης συνήθως ζητείται όταν υπάρχουν ενδείξεις ότι κάποιος πάσχει από διαβήτη και τα δύο πρώτα κριτήρια δεν μπορούν να μας δώσουν τη διάγνωση καθώς και σε παχύσαρκα άτομα με συγγενείς πρώτου βαθμού διαβητικούς, σε γυναίκες που γέννησαν υπέρβαρα παιδιά, σε άτομα με πρόωρες ή/και έντονες εκδηλώσεις αθηροσκλήρωσης. Αν κατά τη δοκιμασία ανοχής γλυκόζης βρεθεί τιμή γλυκόζης νηστείας μικρότερη από 140mg/dl και στις δύο ώρες τιμή μεταξύ 140 και 199mg/dl, τότε ο εξεταζόμενος έχει παθολογική ανοχή της γλυκόζης. Η μέθοδος αναφοράς για τη μέτρηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη των ιστών στόχων είναι το ευγλυκαιμικό-υπερινσουλιναϊκό τεστ ³⁷.

Συνδυασμός αυτού του τεστ με σεσημασμένα ραδιοϊσότοπα γλυκόζης, είναι δυνατόν να συμβάλει στην ποσοτικοποίηση της σχετικής συμμετοχής των μυϊκών και ηπατικών κυττάρων στην ευαισθησία στη ινσουλίνη όλου του σώματος.³⁷

Το τεστ προκαλούμενης ευγλυκαιμίας με υπερινσουλιναμία είναι διαπιστωμένο από μελέτες ότι εκτιμά τη λειτουργία των β-κυττάρων και την ευαισθησία στην ινσουλίνη ³⁷. Για την πραγματοποίηση όμως του ευγλυκαιμικού-υπερινσουλιναμικού τεστ απαιτείται εξειδικευμένος μηχανισμός, γεγονός που καθιστά δύσκολη την ευρεία χρήση του πέραν των ερευνητικών εργαστηρίων.

Οι επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II είναι πολλές, τόσο βραχυπρόθεσμες όσο και μακροπρόθεσμες. Μακροπρόθεσμα ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II αποτελεί παράγοντα κινδύνου εμφάνισης: (α) διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (αμφιβληστροειδικού υποστρώματος και παραγωγή αμφιβληστροειδοπάθεια), (β) διαβητικής νεφροπάθειας (μικρολευκωματινουρία, λευκωματινουρία και στο τέλος τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια), (γ) διαβητικής νευροπάθειας (η συνηθέστερη μορφή νευροπάθειας είναι η χρόνια αισθητικο-κινητική νευροπάθεια και η αυτόνομη νευροπάθεια, η διαβητική μυατροφία και οι μονονευροπάθειες), (δ) στεφανιαίας νόσου, (ε) αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων και (στ) περιφερικής αρτηριοπάθειας (έλλειψη σφίξεων, διαλείπουσα χωλότητα, ακρωτηριασμοί). Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II λόγω των προαναφερθέντων επιπλοκών έχουν αυξημένη πιθανότητα να καταλήξουν ως αποτέλεσμα της νόσου. Για το λόγο αυτό και θεωρείται ότι οι μακροπρόθεσμες επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη αποτελούν κύρια αιτία αύξησης της θνησιμότητας παγκοσμίως. (4,60).

Ο ρόλος της υπεργλυκαιμίας και της υπερινσουλιναμίας στην πρόκληση μικροαγγειακών αλλά και μακροαγγειακών επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη αποτελεί αντικείμενο συνεχιζόμενης έρευνας. Η κύρια αιτιολογία της αυξημένης θνητότητας και νοσηρότητας από τις διάφορες εκδηλώσεις της μακροαγγειοπάθειας στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη παραμένει η επιταχυνόμενη αρτηριοσκλήρυνση.

Ο αυξημένος κίνδυνος μακροαγγειοπάθειας φαίνεται ότι υπάρχει από πολύ νωρίς και μάλιστα από τη φάση της παθολογικής ανοχής στη γλυκόζη. Αυτό κατά ένα μέρος οφείλεται σε συνυπάρχουσες ανωμαλίες που προαναφέρθηκαν και που προδιαθέτουν για καρδιαγγειακά νοσήματα. Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη έχουν 2 έως 3 φορές μεγαλύτερη θνητότητα μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου (ΕΜ) σε σχέση με τους μη διαβητικούς.

Τα επιδημιολογικά δεδομένα για το σακχαρώδη διαβήτη τύπου II δεν είναι ενθαρρυντικά. Ο επιπολασμός του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II αυξάνεται με

γεωμετρική πρόοδο τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις υπό ανάπτυξη χώρες. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) για το 2000 αναφέρει 176.525.312 νοσούντες. Υπολογίζεται ότι έως το 2030 ο αριθμός των νοσούντων θα έχει εκτιναχθεί στα 370.023.002. Στον ελληνικό πληθυσμό ο επιπολασμός της νόσου είναι 853.246 για το 2000 και προβλέπεται ότι το 2030 θα είναι 1.077.020.

2.4 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ

2.4.1 Συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II

Η σχέση της ινσουλινοαντίστασης με το σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και τη διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης είναι πλέον ερευνητικά και κλινικά τεκμηριωμένη.^{51,52} Επιπρόσθετα έχει αποδειχτεί ότι υγιείς συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II παρουσιάζουν αυξημένη ινσουλινοαντίσταση, σε σχέση με φυσιολογικά άτομα χωρίς οικογενειακό ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. ενώ παραμένουν νορμογλυκαιμικά λόγω της υπερινσουλιναϊμίας που εμφανίζουν³⁴ Σημαντικό ρόλο όμως διαδραματίζουν περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η διατροφή, η φυσική δραστηριότητα αλλά και η κληρονομικότητα ώστε το νορμογλυκαιμικό άτομο με υπερινσουλιναϊμία να καταστεί ασθενής με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II^{28,29, 9, 27, 29}.

2.4.2 Ινσουλινοαντίσταση και στεφανιαία νόσος

Ένα ουσιαστικό ερώτημα σε ότι αφορά τη συσχέτιση της ινσουλινοαντίστασης με τις επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II είναι κατά πόσο η ινσουλινοαντίσταση είναι η αιτιολογία του αυξημένου κινδύνου για καρδιαγγειακά σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Η συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς. Τα στατιστικά προβλήματα στις υπό εξέταση μεταβλητές καθώς και η απουσία κοινά αποδεκτού ορισμού της ινσουλινοαντίστασης καθιστούν δύσκολη την ερευνητική εργασία στον τομέα αυτό είτε *in vivo* είτε *in vitro*. Η πλειοψηφία των ερευνών που μελετούν τη συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και στεφανιαίας νόσου καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η υπερινσουλιναϊμία είναι παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο.^{32, 42, 49, 65}

Επιπρόσθετα η ινσουλινοαντίσταση εκτός από παράγοντας κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου είναι ένας διακριτός και σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης.⁵⁹

2.4.3 Ινσουλινοαντίσταση και αρτηριακή υπέρταση

Ο μηχανισμός συσχέτισης της υπερινσουλιναϊμίας με την αρτηριακή υπέρταση είναι σύνθετος. Αρχικά, αναστέλλοντας το συμπαθητικό νευρικό σύστημα

και προωθώντας την νεφρική κατακράτηση νατρίου επιδρά άμεσα στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Η ινσουλινοαντίσταση μπορεί επίσης έμμεσα να επιφέρει αύξηση της πίεσης του αίματος, με το να βλάπτει τους μοριακούς μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την αγγειακή χαλάρωση. Τέλος, η υπερέκφραση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης φαίνεται να συμβάλλει στη διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης στους σκελετικούς μύες και στο λιπώδη ιστό και στη μειωμένη χαλάρωση των αγγείων ⁵⁹. Η συσχέτιση αυτή επιβεβαιώνεται και επιδημιολογικά. ^{39,59,51,62,11,54}

2.4.4 Ινσουλινοαντίσταση και δυσλιπιδαιμίες

Τα ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη προωθεί την έκκριση VLDL και την αύξηση των τριγλυκεριδίων, οδηγώντας σε υπερτριγλυκεριδαιμία ⁵². Σε ότι αφορά τη συσχέτιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας και τη ινσουλινοαντίστασης έχει καταδειχτεί η σχέση αιτίου και αιτιατού από εργασίες που κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι παρεμβάσεις που βελτιώνουν την ινσουλινοαντίσταση μεταβάλλουν το ρυθμό έκκρισης VLDL και τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Μια τέτοια παρέμβαση με τα προαναφερθέντα αποτελέσματα είναι η απώλεια βάρους. ^{45, 52}.

Επιπλέον στοιχεία που τεκμηριώνουν τη συμβολή της ινσουλινοαντίστασης στην αύξηση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είναι ότι η υπερπαραγωγή VLDL και τριγλυκεριδίων από το ήπαρ φαίνεται να καθορίζει τη σχετική αναλογία των λιποπρωτεϊνών VLDL, HDL και LDL, καταλήγοντας σε αύξηση των μικρών και πυκνών LDL (γνωστού αθηρογόνου παράγοντα) και μείωση της HDL ^{3, 18, 47}.

Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II συχνά εμφανίζουν κεντρικού τύπου παχυσαρκία. Είναι πιθανό η υπερινσουλιναίμία που προκύπτει από την ινσουλινοαντίσταση να αποτελεί το μηχανισμό δημιουργίας κεντρικής παχυσαρκίας στους ασθενείς αυτούς αφού όπως έχει προαναφερθεί στις γενικές δράσεις της ινσουλίνης η ινσουλίνη είναι η υπεύθυνος ορμόνη για την αναστολή της λιπόλυσης και την προώθηση της λιπογένεσης. Εντούτοις τα ερευνητικά δεδομένα δεν είναι απόλυτα σύμφωνα στο σημείο αυτό καθώς έχει διατυπωθεί και η πρόταση ότι η υπερτριγλυκεριδαιμία οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ και

αυξημένη έκκριση ινσουλίνης. (Nature) Έτσι, για τη διερεύνηση αυτής της υπόθεσης ο Kabadι και συνεργάτες του ²⁶ μελέτησαν ινσουλινοεξαρτώμενα άτομα με διαβήτη τύπου Ι και φυσιολογικά άτομα χωρίς παχυσαρκία, οι συγκεκριμένοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα μετά από πολυετή παρακολούθηση του δείγματος ότι η θεραπεία με ινσουλίνη, προκαλεί παχυσαρκία και κεντρική κατανομή λίπους σε κάποια άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι. Με βάση τα παραπάνω ερευνητικά δεδομένα προκύπτει η ένδειξη ότι ίσως η μακρόχρονη θεραπεία με ινσουλίνη αποτελεί τον παράγοντα εκείνο που επιδεινώνει το φαινόμενο της αντίστασης στην ινσουλίνη που παρατηρείται σε επόμενα στάδια του σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι.

2.5 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι η ινσουλίνη δρα στα λιποκύτταρα, τα ηπατοκύτταρα και στα μυϊκά κύτταρα η ινσουλινοαντίσταση επιδρά στο σύνολο των ιστών –στόχων. Αρχίζοντας από τα λιποκύτταρα ο ρόλος της ινσουλίνης είναι η διευκόλυνση της εισόδου γλυκόζης στα κύτταρα, η διευκόλυνση της αποθήκευσης της γλυκόζης στα λιποκύτταρα και τέλος η αναστολή της διάσπασης των αποθηκών ενέργειας. Η ινσουλινοαντίσταση οδηγεί σε μείωση της αντι-λιπολυτικής δράσης της ορμόνης, με τον τρόπο αυτό μειώνεται η χρήση της γλυκόζης και αυξάνονται τα ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία εκλύονται στην κυκλοφορία του αίματος. Κατόπιν η αύξηση του αριθμού των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων σε συνδυασμό με την ινσουλινοαντίσταση αυτή καθ' εαυτή οδηγεί σε μείωση της χρήσης της γλυκόζης για παραγωγή ενέργειας καθώς και σε μείωση της σύνθεσης γλυκογόνου. Στα ηπατοκύτταρα η αύξηση του αριθμού των ελεύθερων λιπαρών οξέων οδηγεί σε αυξημένη νεογλυκογένεση. ⁴⁷.

Στο σημείο αυτό είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθεί μια παρένθεση αναφορικά με το πώς καθορίζεται η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα: τα ελεύθερα λιπαρά οξέα προέρχονται από την απελευθέρωση τους από τα λιποκύτταρα όπου βρίσκονται αποθηκευμένα με τη μορφή τριγλυκεριδίων και από τη διάσπαση των επίσης πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα απομακρύνονται από την κυκλοφορία του αίματος ώστε να χρησιμοποιηθούν για επανεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων που πραγματοποιείται στα ηπατοκύτταρα και στο λιπώδη ιστό, καθώς και στην οξείδωση των ελεύθερων

λιπαρών οξέων στα μυϊκά κύτταρα και στον μυοκάρδιο ³⁵. Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στη μεταπορροφητική φάση, η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων καθορίζεται κυρίως από το ρυθμό εισόδου τους στην κυκλοφορία, ενώ μεταγευματικά, καθορίζεται και από το ρυθμό χρησιμοποίησης, κυρίως από το λιπώδη ιστό.

Ο υγιής σκελετικός μυς διεγείρμενος από την ινσουλίνη, μεταγευματικά, καταστέλλει την οξείδωση λίπους ³⁰.

Ουσιαστικός τομέας προς διερεύνηση αποτελούν οι μηχανισμοί με βάση τους οποίους πραγματοποιείται η επιλογή του υποστρώματος ενέργειας (γλυκόζη ή λίπος) στο μυοκάρδιο και στους σκελετικούς μύες. Το 1963, ο Sir Philip Randle πραγματοποίησε την υπόθεση ότι καθοριστικός παράγοντας είναι η διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Τα πειράματα του Randle οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η αυξημένη διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων οδηγεί σε αύξηση του λόγου ακετυλο-συνενζύμου A / συνένζυμο A και NADH / NAD⁺ στα μυϊκά κύτταρα, κάτι που οδηγεί σε αναστολή της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και κατ' επέκταση και της φωσφο-φρουκτοκινάσης και της εξοκινάσης, η οποία είναι το πρώτο ένζυμο για την είσοδο της εξωγενούς γλυκόζης στη γλυκολυτική πορεία. Η θεωρία αυτή είναι γνωστή ως ο κύκλος γλυκόζης-ελεύθερων λιπαρών οξέων ή ο κύκλος του Randle ⁵⁰. Εάν και μεγάλο μέρος της επιστημονικής κοινότητας αποδέχεται τους προτεινόμενους από τον Randle μηχανισμούς επιλογής υποστρώματος (μεγαλύτερη ταύτιση απόψεων υπάρχει σε ότι αφορά τα μυϊκά κύτταρα) οι προτεινόμενοι από τον Randle μηχανισμοί δεν είναι καθολικά αποδεχτοί.

Ο Kelley και Mandarino, μεταγενέστερα κατέδειξαν ότι στο στάδιο υπεργλυκαιμικής νηστείας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη δεν πραγματοποιήθηκε χρήση ελεύθερων λιπαρών οξέων για οξείδωση ³⁰ αλλά αντίθετα αυξημένη οξείδωση της γλυκόζης στο σκελετικό υπό εξέταση μυ. Συνεχίζοντας το πείραμα τους οι δύο ερευνητές πραγματοποίησαν έγχυση ινσουλίνης για τη βελτίωση της υπεργλυκαιμίας και διαπίστωσαν μεταστροφή σε ότι αφορά την επιλογή υποστρώματος. Η θέση αυτή επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι οι μυς των υγιών ατόμων χρησιμοποιούν κυρίως λίπος, ως οξειδωτικό καύσιμο ³⁰.

Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνονται από τους Sidossis και συνεργάτες ⁵⁶, οι οποίοι προσθέτουν στην αντίστοιχη βιβλιογραφία ότι ο ακριβής

μηχανισμός μέσω του οποίου αναστέλλεται η οξείδωση του λίπους είναι η είσοδος των λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια. Επομένως η αυξημένη συγκέντρωση λιπιδίων στο σκελετικό μυ σε παχύσαρκα άτομα μπορεί μέσω του προαναφερθέντα μηχανισμού να ερμηνευθεί.

Η ινσουλινοαντίσταση οδηγεί σε αδυναμία ικανοποιητικής καταστολής της λιπόλυσης και της χρήσης για παραγωγή ενέργειας του λίπους. Εκτός από τα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη και τα παχύσαρκα άτομα εμφανίζουν μεταβολική ακαμψία και αδυναμία να μεταπίπτουν από το ένα ενεργειακό υπόστρωμα στο άλλο με βάση τη δράση της ινσουλίνης.

Στο σημείο αυτό καθίσταται αναγκαία η παρουσίαση του συνδρόμου της ινσουλινοαντίστασης ή αλλιώς σύνδρομο X ή μεταβολικό σύνδρομο όπου η ινσουλινοαντίσταση παρουσιάζεται συγχρόνως και με δύο ή περισσότερους παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, κεντρική παχυσαρκία)^{51, 5, 69}.

Επειδή το Μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί μια νέα διαγνωστική οντότητα δεν υπάρχει κοινά αποδεκτός ορισμός και κοινά διαγνωστικά κριτήρια. Πρόσφατα, δύο οργανισμοί, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO) και η επιτροπή για την αντιμετώπιση της υπερχοληστερολαιμίας στους ενήλικες των ΗΠΑ (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, NCEP ATP III) πρότειναν κριτήρια για τη διάγνωση του Μεταβολικού συνδρόμου⁴⁰. Τα διαγνωστικά κριτήρια που προτείνουν οι δύο αυτοί οργανισμοί παρατίθενται όμως όπως φαίνεται από τη σύγκριση των δύο στηλών του πίνακα οι δύο οργανισμοί δεν έχουν καταλήξει σε μία ενιαία αποδεκτή διάγνωση για το Μεταβολικό Σύνδρομο^{54, 10, 20, 40, 4}.

Κριτήρια κατά WHO	Κριτήρια κατά NCEP ATP III
IFG ή IGT ή IR συν δύο ή περισσότερα από τα ακόλουθα:	Τρία ή περισσότερα από τα ακόλουθα:
1. WHR > 0,85 (γυναίκες) ή > 0,9 (άντρες) ή $\Delta\text{ΜΣ} > 30\text{kg/m}^2$	1. Κοιλιακή παχυσαρκία: περιφέρεια καρπού > 88 cm (γυναίκες) ή 102 cm (άντρες)
2. TG > 1,7mmol ή HDL < 0,9 mmol (γυναίκες) ή < 1,0(άντρες)	2. TG > 1,7mmol
3. Πίεση αίματος >140/90 mmHg	3. Πίεση αίματος > 130/85 mmHg
4. Μικροαλβουμινουρία: αλβουμίνη/κρεατινίνη>30 mg/g	4. Γλυκόζη νηστείας πλάσματος > 6,1mmol
IFG: διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας, IGT: διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης, IR: ινσουλινοαντίσταση, WHR: λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων, TG: τριγλυκερίδια ορού	

Σε ότι αφορά τον κοινό αιτιολογικό παράγοντα από τον οποίο εκπορεύονται τα συμπτώματα του μεταβολικού συνδρόμου άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι είναι η ινσουλινοαντίσταση και άλλοι ότι είναι η παχυσαρκία^{20, 69, 41}.

2.6. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΜΥ

Ο σκελετικός μυ φαίνεται να είναι ο πρωταρχικός ιστός για την διεγερόμενη από την ινσουλίνη, διάθεση της γλυκόζης. Ο βασικός μεταφορέας γλυκόζης σε ινσουλινοευαίσθητους ιστούς, στο λιπώδη ιστό, στο σκελετικό και στο μυοκάρδιο είναι ο ινσουλινοευαίσθητος μεταφορέας γλυκόζης GLUT-4.

Η διέγερση από την ινσουλίνη προκαλεί ταχεία αύξηση του αριθμού των GLUT4 στη μεμβράνη των κυττάρων αυτών μέσω μετανάστευσης των κυστιδίων που περιέχουν τους μεταφορείς στην κυτταρική μεμβράνη όπου με το μηχανισμό της εξωκυττάρωσης ενώνονται με τη μεμβράνη και εκεί απελευθερώνουν το μεταφορέα και στην εξωτερική πλευρά της σαρκοπλασματικής μεμβράνης. Η διαδικασία αυτή εξασφαλίζει αυξημένη συγκέντρωση μεταφορέων γλυκόζης στη μεμβράνη του κυττάρου, και οδηγεί σε αύξηση της ικανότητας της μεταφοράς

γλυκόζης από το εξωκυττάριο υγρό στο εσωτερικό του κυττάρου ενώ μαζί με τη αύξηση της συγκέντρωσης των μεταφορέων παρατηρείται και αύξηση της V_{max} της πρόσληψης γλυκόζης. Λόγω του προαναφερθέντος μηχανισμού, η θέση του GLUT-4 και η ρύθμιση της συγκέντρωσης του αποτελούν σημαντικά κομμάτια της ομοιοστάσης της γλυκόζης και ο ρόλος του στη παθοφυσιολογία του σακχαρώδη διαβήτη έχει διερευνηθεί διεξοδικά και μάλιστα υπό συνθήκες διαφορετικών ερεθισμάτων, όπως η υποξία και η μυϊκή συστολή.

Το σύνολο των ερευνητικών εργασιών στο χώρο της επιλογής ενεργειακού υποστρώματος σε ασθενείς με ινσουλινοαντίσταση καταδεικνύει ότι οι ασθενείς αυτοί αδυνατούν αποτελεσματικά να μεταπίπτουν από την οξείδωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στην οξείδωση γλυκόζης ανταποκρινόμενοι στη δράση της ινσουλίνης. Αναλυτικά τόσο οι ασθενείς με ινσουλινοαντίσταση όσο βέβαια και οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη αδυνατούν να μεταπέσουν από την χρήση ως υπόστρωμα ενέργειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων στην αύξηση της χρήσης της γλυκόζης μεταγευματικά ενώ παράλληλα σε φάσεις νηστείας παρουσιάζουν μειωμένη οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε σχέση με φυσιολογικά άτομα¹⁴. Η μειωμένη οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε νηστεία των διαβητικών ασθενών επιβεβαιώνεται από εργασία στα ένζυμα που μετέχουν στο μεταβολισμό των λιποειδών (είσοδος λιπαρών οξέων σε μιτοχόνδρια, κύκλος Krebs, β-οξείδωση, οξειδωτική φωσφορυλίωση). Σε συνεργασία με αυτή τη μειωμένη δραστηριότητα των ενζύμων μεταβολισμού των λιποειδών παρατηρείται αυξημένη ενεργότητα των ενζύμων μεταβολισμού των μονοσακχαριτών και αύξηση του λόγου γλυκολυτικής προς οξειδωτικής ικανότητας.⁵⁸

Η καταστολή σε πολύ μεγάλο ποσοστό της οξείδωσης λιπαρών οξέων σε συνθήκες υπερινσουλιναμίας αποδόθηκε στην μείωση της εισόδου των λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια, πιθανότατα λόγω αναστολής της ακυλοτρανσφεράσης I της καρνιτίνης^{56,57}. Μια αξιοσημείωτη παρατήρηση των μελετών αυτών είναι ότι ακόμη και σε συνθήκες παρατεταμένης υπερινσουλιναμίας – υπεργλυκαιμίας, η οξείδωση των λιπαρών οξέων δεν αναστέλλεται πλήρως, κάτι που αποδόθηκε στην πιθανότητα κάποιοι ιστοί, και ιδίως η καρδιά και οι αναπνευστικού μύες, να εξακολουθούν να χρησιμοποιούν τα λιπαρά οξέα για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων.

Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός για την αντίσταση στην ινσουλίνη του σκελετικού μυός παραμένει αδιευκρίνιστος, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι οι διαταραχές στο μεταβολισμό του λίπους παίζουν βασικό ρόλο στη διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης ³¹. Τα τριγλυκερίδια των σκελετικών μυών ίσως είναι μια μεγάλη, εν δυνάμει πηγή ενέργειας για το μεταβολισμό των μυών. Τα ερευνητικά δεδομένα επί του αντικειμένου αυτού δίδονται. Το φαινόμενο αυτό έχει τεκμηριωθεί μόνο σε αθλητές αντοχής.

Όλες οι πηγές διάθεσης λιπιδίων μέσα στο σώμα, για παράδειγμα, το κοιλιακό, σπλαχνικό και υποδόριο λίπος καθώς και τα κυκλοφορούντα τριγλυκερίδια, είναι εν δυνάμει ικανά να επηρεάσουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη, εφοδιάζοντας τους ινσουλινोεξαρτώμενους ιστούς με λιπίδια. Επιπρόσθετα ο λιπώδης ιστός παράγει χημικούς παράγοντες (κυταροκίνες) οι οποίοι έχουν εμπλακεί και με την ινσουλινοευαισθησία. Η παχυσαρκία, και συγκεκριμένα η κεντρική παχυσαρκία, σχετίζεται άρρηκτα με την ινσουλिनoαντίσταση, αφού η αυξημένη διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα της ινσουλίνης. Η αύξηση αυτής της διαθεσιμότητας λιπαρών οξέων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των επιπέδων των ενδομυϊκών λιπιδίων. Η δε αύξηση των επιπέδων των ενδομυϊκών λιποειδών εκτός από την αυξημένη διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων μπορεί να οφείλεται και στη μειωμένη οξείδωση των λιπών. ³¹.

Διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν προσπαθήσει να συνδέσουν την ινσουλινoαντίσταση με τη διαθεσιμότητα λιπιδίων στο ανθρώπινο σώμα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η προσπάθεια ανεύρεσης συσχέτισης ανάμεσα στη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων πλάσματος, στη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων μυϊκών κυττάρων, στο λόγο ολικής προς κεντρικής λιπώδους μάζας (με βάση την απορροφησιομετρία ακτίνων Χ διπλής ενέργειας) και στη συγκέντρωση της λεπτίνης πλάσματος με την ινσουλινoαντίσταση (όπως αυτή μετράται μέσω της δοκιμασίας ευγλυκαιμικού-υπεργλυκαινικού πλατώ) των Kriketos και συνεργατών. ³¹ Το δείγμα ελέγχου περιελάμβανε 49 μη διαβητικούς άντρες με χαμηλή φυσική δραστηριότητα. Οι Kriketos και συνεργάτες κατέδειξαν ότι η ινσουλινoαντίσταση είναι αντιστρόφως ανάλογη του κοιλιακού λίπους αλλά και του ολικού λίπους καθώς και της συγκέντρωσης μυϊκών τριγλυκεριδίων και της λεπτίνης.

Εάν και εκτεταμένες εργασίες πραγματοποιούνται σε ασθενείς με ινσουλινοαντίσταση στον τομέα αυτό δεν έχει ακόμα πλήρως τεκμηριωθεί η συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και επιπέδων ενδομυϊκών λιποειδών. Είναι αξιοσημείωτο να επισημανθεί ότι μελέτες σε αθλητές με αυξημένο αερόβιο μεταβολισμό που εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη παρουσιάζουν και αυξημένη συγκέντρωση μυϊκών τριγλυκεριδίων¹⁵ Στη βάση αυτή στηρίχθηκε η παρέμβαση με αερόβια προπόνηση σε άτομα με αυξημένο ΔΜΣ και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II που είχε σαν αποτέλεσμα τη βελτίωση της ινσουλινοαντίστασης όχι όμως και των επιπέδων ενδομυϊκών λιποειδών¹³. Παρατήρηση που έρχεται να επιβεβαιώσει δεδομένα που καταδεικνύουν σαν αιτιολογικό παράγοντα της ινσουλινοαντίστασης όχι τα ενδομυϊκά λιποειδή με τη μορφή των τριγλυκεριδίων, αλλά συγκεκριμένα τα διγλυκερίδια και κηραμίδια του μυϊκού ιστού

Η μελέτη μεταβολισμού των ενδομυϊκών λιποειδών είναι ατελής εάν δεν περιλαμβάνει την ενεργότητα του ενζύμου πρωτεϊνική κινάση C.

Στο σημείο αυτό επιβάλλεται να πραγματοποιηθεί μια συνοπτική αναφορά στην πρωτεϊνική κινάση C. Τα ένζυμα που προσθέτουν τη φωσφορική ομάδα στη συνθάση είναι πολλά, καθώς και οι θέσεις στις οποίες μπορεί να φωσφορυλιωθεί το ένζυμο είναι πολλές (πάνω από 10 σημεία). Εκτός από την πρωτεϊνική κινάση A, φωσφορυλίωση της συνθάσης γίνεται και από την κινάση της φωσφορυλάσης, την πρωτεϊνική κινάση C. Το ένζυμο πρωτεϊνική κινάση C έχει διάφορες ισομορφές, ορισμένες από αυτές είναι μετατοπισμένες από το κυτόπλασμα στη μεμβράνη του πλάσματος σε απόκριση ορμονικής ρύθμισης. Η πρωτεϊνική κινάση C διεγείρεται από το συνδυασμό της διακυλγλυκερόλης με το ασβέστιο και στη συνέχεια μεσολαβεί για την μετατροπή πληθώρα εξωκυτταρικών ερεθισμάτων, όπως ορμονικών και αυξητικών παραγόντων και οδηγεί σε ρύθμιση κυτταρικών διεργασιών όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση. Η πρωτεϊνική κινάση C, φωσφορυλιώνοντας διάφορα υποστρώματα, προκαλεί μεγάλη ποικιλία βιολογικών αποτελεσμάτων. Η παρατεταμένη διέγερση της πρωτεϊνικής κινάσης C φαίνεται ότι μεσολαβεί για ορισμένες πολλαπλασιαστικές και διαφοροποιητικές απαντήσεις που παρατηρούνται σε ορισμένα κύτταρα.

Σε υγιή άτομα υπάρχουν διάφοροι πειραματικοί χειρισμοί πρόκλησης παροδικής ινσουλινοαντίστασης. Ο συνηθέστερα εφαρμοζόμενος είναι η πρόκληση παροδικής ινσουλινοαντίστασης με την πραγματοποίηση ενδοφλέβιας έγχυσης

λιπιδίων που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων διγλυκεριδίων στο μυϊκό ιστό, με ταυτόχρονη ενεργοποίηση του ενζύμου Πρωτεϊνική Κινάση C, η οποία με τη σειρά της προκαλεί μείωση της πρόσληψης γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα κατά τη χορήγηση ινσουλίνης (δηλαδή ινσουλινοαντίσταση)²³. Η πρωτεϊνική κινάση C ανταποκρινόμενη σε διέγερση από την ινσουλίνη σχετίζεται με μείωση της φωσφορυλίωσης του υποστρώματος I του ινσουλινικού υποδοχέα (IRS-1) σε κατάλοιπα τυροσίνης και με μείωση της ενεργοποίησης της κινάσης 3 της φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης από την ινσουλίνη, η οποία είναι ένα πρωτεύον συστατικό του μηχανισμού δράσης της ινσουλίνης στην πρόσληψη γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα και με τον παραπάνω μηχανισμό μετέχει στην κλινική εκδήλωση ινσουλινοαντίστασης⁶⁷. Τα εργαστηριακά δεδομένα που προκύπτουν από εργαστηριακή μελέτη καταλήγουν στο ότι η ενεργότητα της Πρωτεϊνικής Κινάσης C υπό την παρουσία ινσουλίνης σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη είναι υψηλότερη σε σύγκριση με τα μυϊκά κύτταρα υγιών ατόμων¹³. Σε ότι αφορά το δεύτερο σκέλος του ανωτέρου πειράματος στο οποίο πραγματοποιήθηκε έγχυση κορεσμένων λιπαρών οξέων σε μέρος του δείγματος και ακόρεστων λιπαρών οξέων στο υπόλοιπο μέρος του δείγματος ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη και υγιών ατόμων αποδείχτηκε ότι η έγχυση των κορεσμένων λιπαρών οξέων προκαλεί μεγαλύτερη συσσώρευση διγλυκεριδίων στην πρώτη ομάδα^{36, 43, 68}. Τα παραπάνω ερευνητικά δεδομένα συμπίπτουν με πειραματική εργασία σε ποντίκια όπου η προσθήκη ιχθυελαίων στη διατροφή τους οδήγησε σε μείωση των επιπέδων μυϊκών διγλυκεριδίων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, κάτι που δεν εμφανίστηκε με την προσθήκη φυτικών ελαίων.⁴⁴

Όπως προαναφέρθηκε η αυξημένη συγκέντρωση κηραμιδίων στο μυϊκό ιστό με βάση τα τρέχοντα ερευνητικά δεδομένα φαίνεται ότι μετέχει στην κλινική εκδήλωση ινσουλινοαντίστασης. Τα κηραμίδια υπάρχουν σε μικρές ποσότητες ελεύθερα στη φύση και αποτελούν μητρική ένωση όλων των σφιγγολιποειδών. Τα κηραμίδια αποτελούν την ένωση της αμινομάδας από τα σφιγγοσινούχα φωσφολιποειδή με αμιδικό δεσμό με ένα λιπαρό οξύ. Όταν συνδέονται στο ακραίο υδροξύλιο με β-γλυκοζιτικό δεσμό, ένα μόνο- ή ολισακχαρίτη μετατρέπονται σε σφιγγοσινούχα γλυκολιποειδή.

Τα κηραμίδια είναι δυνητικός αναστολέας της κυτταρικής ανάπτυξης καθώς και προάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση. Ο μεταβολίτης τους η σφιγγοσύνη είναι πιθανός αναστολέας της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και της πρόσφατα

ταυτοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης B (Akt) που δρα μέσω της αναστολής της ενεργότητας της διακυγλυκερόλης. Οι συγκεντρώσεις σφιγγοσίνης στα κύτταρα είναι στο μικρομοριακό επίπεδο, ίσως αρκετά υψηλές ώστε να αναστέλλουν την PKC και την Akt.

Συνοψίζοντας ο προτεινόμενος μηχανισμός δράσης σε ότι αφορά την κλινική εκδήλωση ινσουλινοαντίστασης των κηραμιδίων είναι η ικανότητα τους να παρεμποδίζουν την φωσφορυλίωση της Πρωτεϊνικής Κινάσης B από την ινσουλίνη. Ο μηχανισμός αυτός που συμβάλει στην μειωμένη ενεργότητα της πρωτεϊνικής κινάσης B οδηγεί σε ινσουλιναντίσταση. Η συγκεκριμένη δράση των κηραμιδίων έχει παρατηρηθεί τόσο σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη όσο και σε παχύσαρκα άτομα ^{5, 32}. Αντίστοιχο φαινόμενο (μέσω της αύξησης των κηραμιδίων) παρατηρείται σε σκελετικούς μύες υγιών ατόμων μετά από έγχυση λιποειδών. Η αυξημένη συσσώρευση κηραμιδίων σε μυϊκά κύτταρα παρατηρείται και κατόπιν έγχυσης κορεσμένων λιπαρών οξέων όχι όμως και μετά από έγχυση ακόρεστων λιπαρών οξέων ⁵³.

Σε αθλητές που πραγματοποιούν προπόνηση αντοχής η οξειδωτική ικανότητα των σκελετικών μυών είναι αυξημένη, εκτιμώμενη από την ενεργότητα ενζύμων του οξειδωτικού μεταβολισμού ⁴². Η προπόνηση αντοχής σε υγιή άτομα με δυσανοχή γλυκόζης έχει καταδειχτεί ότι έχει το ίδιο αποτέλεσμα.⁴² Από την άλλη μεριά, όπως προαναφέρθηκε, τα ενδομυϊκά τριγλυκερίδια είναι επίσης αυξημένα σε αεροβικά προπονημένα άτομα ¹⁵ Εντούτοις προπονήσεις αερόβιες σε ασθενείς με ινσουλινοαντίσταση δεν έχουν οδηγήσει σε μείωση των επιπέδων των ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων, παρά την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. ³⁶

Το ότι η συγκέντρωση κηραμιδίων αλληλεπιδρά με την ινσουλινοευαισθησία επιβεβαιώνουν εργασίες όπως αυτή των Dobrzyn et al 2004. Η ερευνητική ομάδα των Dobrzyn et al 2004 σε in vitro μελέτη σε ποντίκια κατέληξε ότι η άσκηση οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης σφιγγομυελινικών και κηραμιδικών λιπαρών οξέων, αυξάνει τη συγκέντρωση σφιγγοσίνης σε διάφορα μυϊκά κύτταρα. Επομένως οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι η άσκηση επηρεάζει τη μεταβολική οδό της σφιγγοσύνης στους σκελετικούς μύες. Η μείωση της συγκέντρωσης κηραμιδίων

ίσως ευθύνεται και για την αύξηση της πρόσληψης γλυκόζης από το μυϊκό ιστό που παρατηρείται μετά την άσκηση.

Η εργασία των Adams et al 2004 επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι αιτιολογικός παράγοντας της ινσουλινοαντίστασης (συγκεκριμένα σε παχύσαρκα άτομα) είναι η αύξηση της συγκέντρωσης των κηραμιδίων. Τα κηραμίδια δημιουργούνται είτε μέσω της ενεργοποίησης της σφιγγομυελινάσης ή μέσω de novo σύνθεσης τους, προκαλούν ινσουλινοαντίσταση σε κύτταρα *in vitro* μέσω της ανασταλτικής τους δράσης στη μετάδοση μηνυμάτων της ινσουλίνης. Στη μελέτη των Adams et al 2004 στόχος ήταν ο προσδιορισμός κατά πόσο τα κηραμίδια ή κάποια άλλα σφιγγολιποειδή είναι αυξημένα στο μυϊκό ιστό παχύσαρκων ινσουλινοεξαρτώμενων ατόμων και να εκτιμήσει κατά πόσο τα κηραμίδια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ινσουλινοαντίσταση μέσω Akt σε ανθρώπινο μυϊκό ιστό. Στην έρευνα αυτή με βιοψίες μετά από 30, 45 και 60 min μετά από έγχυση ινσουλίνης όλα τα κηραμίδια και μόνο αυτά από τα σφιγγολιποειδή αυξήθηκαν στα παχύσαρκα άτομα. Η ενεργοποίηση της φωσφορυλίωσης του ενζύμου Akt από την ινσουλίνη στα παχύσαρκα άτομα μειώθηκε μετά από την έγχυση ινσουλίνης και τέλος η συγκέντρωση μυϊκών κηραμιδίων ήταν ανάλογη των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα. Επομένως οι Adams et al καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με τη συγκέντρωση των ενδομυϊκών λιποειδών και ότι η αύξηση της συγκέντρωσης των κηραμιδίων σχετίζεται με τη μείωση της φωσφορυλίωσης του Akt κατόπιν έγχυσης ινσουλίνης και θα μπορούσε να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μειωμένη ικανότητα της ινσουλίνης να διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης από το μυϊκό κύτταρο σε παχύσαρκα άτομα.

Οι Chavez et al 2003 προχωρούν περισσότερο προσπαθώντας να επιβεβαιώσουν τη θέση των κηραμιδίων σαν συνδετικό κρίκο ελεύθερων λιπαρών οξέων και ινσουλινοευαισθησίας. Οι Chavez et al 2003 κατάληξαν ότι η έγχυση στο μυϊκό κύτταρο συγκεκριμένων κορεσμένων λιπαρών οξέων (όχι όμως μονοακόρεστων) αναστέλει τη διέγερση (από την ινσουλίνη) του ενζύμου Akt. Τα συγκεκριμένα κορεσμένα λιπαρά οξέα στη συνέχεια προκάλεσαν την αύξηση της συγκέντρωσης κηραμιδίων και διαγλυκερόλης, των δύο αυτών προϊόντων του λιπαρού ακυλ-CoA (που έχει ήδη καταδειχτεί ότι συγκεντρώνεται σε ιστούς ινσουλινοευαίσθητους και οδηγεί σε αναστολή των πρώτων βημάτων της δράσης

της ινσουλίνης σαν μεταφορέας μηνυμάτων. Η *de novo* αναστολή της σύνθεσης των κηραμιδίων οδήγησε σε αναστολή της ανταγωνιστικής δράσης των κορεσμένων λιπαρών οξέων στο ένζυμο Akt. Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν τα κηραμίδια σαν αναγκαίο και ικανό συνδετικό κρίκο σύνδεσης των ελεύθερων κορεσμένων λιπαρών οξέων με την ινσουλινοαντίσταση.

Στην προσπάθεια προσδιορισμού του είδους των ενδομυικών λιποειδών που επηρεάζουν την κυτταρική προσαρμογή και μεταβολισμό σε ότι αφορά την επιλογή ενεργειακού υποστρώματος συνέβαλλαν και οι Hedge et al 2004. Στόχος της εργασίας των Hedge et al 2004 ήταν η εξέταση των περιεχόμενων στο μυϊκό κύτταρο κηραμιδίων, των σφιγγομυελινικών λιπαρών οξέων και των ουδέτερων Mg²⁺ εξαρτώμενης σφιγγομυελίνης σε αθλητές και μη μετά πό παρατεταμένη άσκηση μέσω χρήσης βιοψιών και μέσω ανάλυσης του ληφθέντος δείγματος με αεριο-υγρή χρωματογραφία. Σε κατάσταση ηρεμίας οι ερευνητές εντόπισαν μεγαλύτερη συγκέντρωση σφιγγομυελινικών λιπαρών οξέων σε μη αθλητές σε σχέση με αθλητές και μετά την άσκηση παρατηρήθηκε αύξηση της συνολικής σφιγγομυελίνης στους αθλητές μόνο. Αντίθετα η αρχική συγκέντρωση κηραμιδίων και Mg²⁺ εξαρτώμενης σφιγγομυελίνης ήταν η ίδια και στις δύο ομάδες και η μεν πρώτη αυξήθηκε το ίδιο και μετά από την άσκηση η δε δεύτερη μειώθηκε το ίδιο μετά από την άσκηση. Επομένως οι ερευνητές κατέληξαν ότι παρατεταμένη άσκηση επηρεάζει το μεταβολισμό των κηραμιδίων σε αθλητές και μη και ίσως επηρεάζει την κυτταρική προσαρμογή και μεταβολισμό.

Οι Strackzowski et al 2004 προσπάθησαν με τη σειρά τους να προσδιορίσουν το είδος των κηραμιδίων των οποίων η συγκέντρωση επηρεάζει την ινσουλινοευαισθησία. Τα δεδομένα των Strackzowski et al 2004 κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η σφιγγομυελίνη στο μυϊκό κύτταρο μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας καθορισμού της δημιουργίας ινσουλινοαντίστασης στον άνθρωπο. Η εργασία τους σε 27 νορμογλυκαιμικά άτομα κατέληξε στον προσδιορισμό 13 κηραμιδίων και σφιγγομυελινών στο μυϊκό κύτταρο. Η ινσουλινοευαισθησία σχετίζεται με τη συγκέντρωση κηραμιδίων (και συγκεκριμένα παλμιτικού, παλμιτολειακού, μισηστικού και νερβονικού οξέως). Η υπερινσουλιναίμία δε βρέθηκε να σχετίζεται με τις καθορισμένες από τους ερευνητές μυϊκές παραμέτρους. Η προκαλούμενη από έγχυση ενδομυϊκής ηπαρίνης

μείωση της ινσουλινοευαισθησίας οδήγησε και σε αύξηση της συγκέντρωσης κηραμιδίων.

Τα ερωτήματα για τον ακριβή μηχανισμό συσχέτισης ινσουλινοευαισθησίας και των ελεύθερων λιπαρών οξέων προσπάθησαν να απαντήσουν οι Yu et al 2002. Η εργασία των Yu et al 2002 υποστηρίζει την υπόθεση ότι αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου λιπαρο ακυλο-Co, που συνεπάγεται την ενεργοποίηση της PKC, που προκαλεί αύξηση της φωσφορυλίωσης του IRS-Ser φωσφορυλίωση της τυροσίνης και μείωση της ενεργοποίησης της IRS-1 σχετιζόμενης δραστηριότητας της P13- κινάσης που οδηγεί σε μείωση της ινσουλινοδιεγερόμενης μεταφοράς γλυκόζης. Αντίστροφα με τους προηγούμενους ερευνητές οι Perdomo et al 2004 εξέτασαν την υπόθεση ότι η πειραματικά προκαλούμενη αύξηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στα μυϊκά κύτταρα θα προστάτευε έναντι της οφειλόμενης στα λιπαρά οξέα ινσουλινοαντίστασης μέσω του περιορισμού της συγκέντρωσης λιπιδίων⁷⁰, καταλήγωντας ότι η αύξηση της υπεροξείδωσης των μυϊκών κυττάρων οδήγησε σε αύξηση της ευαισθησίας στη γλυκόζη ανεξάρτητα από αλλαγές στο ενδοκυτταρικό περιεχόμενο των λιπιδίων.

Στους σκελετικούς μύες ο μεταβολισμός των λιποειδών έχει αρχίσει να μελετάται συστηματικά σε υγιή άτομα, σε παχύσαρκα άτομα και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Δε συμβαίνει το ίδιο και για τα μυοκάρδιο όπου λόγω των τεχνικών δυσκολιών λήψης ανθρώπινου ιστού τα ερευνητικά δεδομένα είναι περιορισμένα. Μεγαλύτερη βιβλιογραφία υπάρχει σε ιστούς μυοκαρδίου σε πειραματόζωα. Τα μέχρι τώρα δεδομένα σε πειραματόζωα καταδεικνύουν ότι ο σακχαρώδης διαβήτης οδηγεί σε μια αύξηση της χρησιμοποίησης των λιπαρών οξέων, υπό αντίστοιχη μείωση της οξείδωσης της γλυκόζης, μεταγευματικά και σε καταστάσεις νηστείας³⁸. Και στην περίπτωση του μυοκαρδίου ωστόσο, παρατηρείται μείωση της ικανότητας της ινσουλίνης να καταστέλλει την οξείδωση των λιπαρών οξέων, όταν οι συγκεντρώσεις αυτών στο θρεπτικό μέσο είναι αυξημένες. Τα περισσότερα ερευνητικά δεδομένα καταδεικνύουν ότι και το μυοκάρδιο υφίσταται μεταβολικές διαταραχές σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης, ωστόσο οι μεταβολικές αυτές διαταραχές δεν είναι όμοιες με αυτές που έχουν εντοπιστεί στο σκελετικό μυ και δεν

έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως ακόμα. Καμία μελέτη προς το παρόν δεν έχει εξετάσει τη σχετική οξειδωτική και γλυκολυτική ικανότητα του μυοκαρδίου.

Επιπρόσθετα επί του παρόντος δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να έχουν διερευνήσει το ρόλο του βαθμού ενεργοποίησης ενός μυ σε ότι αφορά άλλες τάξεις λιποειδών. Επίσης ανύπαρκτες είναι οι μελέτες οι οποίες να έχουν εξετάσει τα προαναφερθέντα μεταβολικά χαρακτηριστικά σε μύες με διαφορετικό βαθμό ενεργοποίησης ή/ και διαφορετική αρχιτεκτονική δομή, συμπεριλαμβανομένου και του καρδιακού μυός. Τέτοιου είδους μετρήσεις και οι συγκρίσεις ανάμεσα σε διαβητικά και μη διαβητικά άτομα είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, καθώς επιτρέπουν την εξαγωγή συμπερασμάτων για την παθοφυσιολογία του σακχαρώδη διαβήτη.

3. ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στόχος της μελέτης αυτής είναι να εξεταστεί ο βαθμός συσσώρευσης τριών τάξεων λιποειδών (τριγλυκεριδίων, διγλυκεριδίων και κηραμιδίων) στους μύες διαβητικών (Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II) και μη διαβητικών ατόμων και να συσχετιστεί με την ικανότητα ρύθμισης των επιπέδων γλυκόζης. Οι εξεταζόμενοι μύες είναι το μυοκάρδιο, μεσοπλεύριος μυς και ο μείζων θωρακικός, δηλαδή τρεις μύες οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό ενεργοποίησης.

4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Πρόκειται για μια διαπληθυσμιακή μελέτη, της οποίας οι εξεταζόμενοι είναι άτομα τα οποία εισέρχονται στο νοσοκομείο για εγχείρηση ανοιχτής καρδιάς. Οι εξεταζόμενοι διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες, ανάλογα με την παρουσία ή όχι κλινικά διαγνώσιμου σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Η λήψη των βιοψιών έγινε κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Ένα δείγμα αίματος νηστείας (περίπου 12 mL) θα λαμβάνεται επίσης στο άμεσο χρονικό διάστημα πριν την επέμβαση. Το σύνολο της μελέτης, σε ότι αφορά τη λήψη του αίματος και των ιστολογικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο Νοσοκομείο Ευαγγελισμός, με ευθύνη των μελών της χειρουργικής ομάδας που αποτελούν μόνιμο ιατρικό προσωπικό του νοσοκομείου. Ως εκ τούτου, η μελέτη κατατέθηκε προς έγκριση από το Επιστημονικό Συμβούλιο του νοσοκομείου, χωρίς να απαιτείται έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Ομοίως, υπεύθυνοι για την εθελοντική φύση της συμμετοχής των εξεταζόμενων ήταν οι ιατροί της χειρουργικής ομάδας. Το Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής που δόθηκε στον κάθε εξεταζόμενο παρέχεται στο Παράρτημα.

4.2 ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

Δείγμα Αίματος

Γλυκόζη, Ινσουλίνη,

Μοϊκές Βιοψίες

Ποιοτική και ποσοτική σύσταση των τριγλυκεριδίων από δείγμα μυός (μείζωνος θωρακικού ,μεσοπλεύριου, μυοκαρδίου) βάρους 40-70 mg.

Αναισθησιολογική παρέμβαση

Κάθε ασθενής προ της εισόδου του στη χειρουργική αίθουσα υποβάλλεται την προηγούμενη ημέρα της επεμβάσεως σε προεγχειρητική ανοσιολογική εκτίμηση, κατά την οποία θα δοθούν οδηγίες και προαναισθητική αγωγή.

Για τους ενήλικους υποψήφιους προς χειρουργείο ασθενείς, επιβάλλεται η προεγχειρητική αναστολή λήψης τροφής οκτώ – δώδεκα ώρες. Υγρά μπορούν να δοθούν μέχρι 5-6 ώρες προεγχειρητικά.

Για τους ινσουλινοεξαρτώμενους διαβητικούς ασθενείς γίνεται διακοπή της οιασδήποτε αγωγής και επιβάλλεται η έναρξη ενδοφλέβιας χορήγησης σακχαρώχου ορού με προσθήκη ανάλογης ποσότητας κρυσταλλικής ινσουλίνης, από το πρωί της επέμβασης.

Η προαναισθητική αγωγή, περιλαμβάνει την χορήγηση φαρμάκων μερικές ώρες πριν από την έναρξη της αναισθησίας, για την «καταστολή» του ασθενούς και την ομαλή εισαγωγή του στην αναισθησία.

Κάθε ασθενής μετά από κατάλληλο ευπρεπισμό και καθαριότητα σώματος, οδηγείται στο χειρουργικό τραπέζι, με σκοπό την εισαγωγή στην αναισθησία, δηλαδή στην έναρξη μιας κατάστασης, η οποία χαρακτηρίζεται από βαθύ ύπνο, αναλγησία και παράλυση απαραίτητη για την έναρξη της χειρουργικής επέμβασης.

Η εισαγωγή θα απαιτήσει ιδιαίτερο συνδυασμό φαρμάκων (αναισθητικών και μη) με γνώμονα την αιμοδυναμική κατάσταση του ασθενούς και τις ιδιότητες του κάθε φαρμάκου.

Η όλη διαδικασία γίνεται με συνεχή χορήγηση οξυγόνου υψηλής περιεκτικότητας και συνεχή παρακολούθηση (MONITORING) των ζωτικών λειτουργιών του ασθενούς. Ακολουθεί στη συνέχεια ενδοτραχειακή διασωλήνωση με σωλήνα απλού αυλού. Ο ασθενής συνδέεται στη συνέχεια στο μηχάνημα αυτόματου αερισμού με συγκεκριμένο αριθμό αναπνοών και συγκεκριμένο αναπνεόμενο όγκο.

Στους περισσότερους ασθενείς τοποθετείται κεντρική φλεβική γραμμή για τη χορήγηση διαλυμάτων και ενδεχομένως αίματος διεγχειρητικά, καθώς και αρτηριακού καθετήρα για τη μέτρηση της αρτηριακής πίεσης, καθώς και την κατά διαστήματα λήψη δείγματος για τον προσδιορισμό αερίων αίματος. Επί πλέον σε όλους τους ασθενείς μετά τη διασωλήνωση γίνεται καθετηριασμός της ουροδόχου

κύστης με καθετήρα FOLLEY για την καταμέτρηση των αποβαλλόμενων ούρων κατά τη διάρκεια της επέμβασης.

Χειρουργική παρέμβαση - δειγματοληψία

Μετά τη διασωλήνωση τον καθετηριασμό και τον ασθενή σε ύπτια θέση ακολουθεί ενδεδειγμένος αντισηπτικός καθαρισμός του χειρουργικού πεδίου (Θώρακος), τόσο μηχανικά με χρήση διαλύματος BETADIN SCRUB, όσο και χημικά BETADIN SOLUTION 5%.

Γίνεται απομόνωση του πεδίου με αποστειρωμένο ιματισμό με σύμφωνη γνώμη χειρουργού–αναισθησιολόγου και τεχνικού εξωσωματικής κυκλοφορίας, θα ξεκινήσει η επέμβαση. Όλοι οι ασθενείς θα υποβληθούν σε μέση στερνοτομή και επέμβαση ανοικτής καρδιάς. Τομή δέρματος και υποδορίου από το ύψος της εντομής του στέρνου, έως την ξιφοειδή του απόφαση. Διήνυσε και διάνοιξη των υποκείμενων ιστών κατά την ανατομική τους τάξη, έως το περίοστεο του στέρνου. Στο σημείο αυτό θα γίνει αποκάλυψη ένθεν και ένθεν της χειρουργικής τομής του μείζονος θωρακικού μυός. Με αιμοστατική λαβίδα σύλληψης θα γίνει λήψη δείγματος ιστοτεμαχίου από αυτόν τον μυ, ποσότητας 40-70 mg. Το δείγμα θα δοθεί για παρασκευή και φύλαξη σε υγρό άζωτο. Ακολουθεί διάνοιξη του στέρνου με χρήση αυτόματου ηλεκτρικού πριονιού κατά τη μεσότητά του, σε όλο του το μήκος.

Μετά από επιμελή αιμόσταση των διατατηθέντων τμημάτων ακολουθεί διάνοιξη τμήματος του υπεζωκοτικού πετάλου και είσοδος στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Κατάσταση του σύστοιχου πνευμονικού παρεγχύματος και αποκάλυψη των μεσοπλεύριων μειών με συλληπτική λαβίδα τύπου ALLIS θα γίνει λήψη δείγματος μεσοπλεύριου μυός ποσότητας 40-70 mg και αιμόσταση. Το δείγμα θα φυλαχθεί προσωρινά σε υγρό άζωτο μέχρις ότου υποστεί παραπάπέρα επεξεργασία και ανάλυση σύμφωνα με τις τεχνικές που αναφέρονται παρακάτω. Στη συνέχεια και μετά από διάνοιξη του περικαρδίου και κατάλληλη παρασκευή της καρδιάς και των μεγάλων της αγγείων, θα γίνει προετοιμασία του ασθενούς για την είσοδό του στην εξωσωματική κυκλοφορία, δηλαδή την παράκαμψη της λειτουργίας της καρδιάς και των πνευμόνων με την εφαρμογή ειδικής τεχνικής με την οποία επιτυγχάνεται η οξυγόνωση του αίματος, εκτός του σώματος. Το οξυγονωμένο αίμα επαναχορηγείται στη συνέχεια στο αρτηριακό σύστημα του ασθενή. Για την εξωσωματική κυκλοφορία, απαιτείται ειδική συσκευή: το μηχάνημα εξωσωματικής κυκλοφορίας. Μετά από διάνοιξη του περικαρδίου και την παρασκευή των

μεγάλων αγγείων της καρδιάς, χορηγείται ενδοφλέβια ηπαρίνη. Τοποθετούνται κυκλοτερείς ραφές στην ανιούσα αορτή και στο δεξιό κόλπο, δια μέσου των οποίων εισάγονται οι ειδικοί καθετήρες της εξωσωματικής κυκλοφορίας. Συγκεκριμένα κατά την εισαγωγή του φλεβικού καθετήρα διπλού επιπέδου στο δεξιό κόλπο και εντός του επιπέδου συρραφής της προηγηθείσας περίπτωσης, γίνεται λήψη δείγματος ιστού δεξιού κόλπου ποσότητας 40-70 mg. Το δείγμα αποστέλλεται για παρασκευή και φύλαξη σε υγρό άζωτο. Στο σημείο αυτό έχει ολοκληρωθεί η δειγματοληψία των ιστοτεμαχίων που αφορούν το ερευνητικό πρωτόκολλο. Η χειρουργική ομάδα θα συνεχίσει την επέμβαση μετά το πέρας της οποίας ο ασθενής θα οδηγηθεί για μετεγχειρητική παρακολούθηση στη μονάδα εντατικής θεραπείας.

Όλοι οι χειρισμοί για την λήψη των δειγμάτων έγιναν με τη δέουσα προσοχή, ακολουθώντας κατάλληλες τεχνικές, έτσι ώστε να διασφαλίζεται η ακεραιότητα του ασθενούς. Η όλη χειρουργική παρέμβαση και εφαρμογή του πρωτοκόλλου τελεί υπό την ευθύνη των ιατρών που συμμετέχουν σε αυτό καθώς και την έγκριση της ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ του Νοσοκομείου «ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» (Αριθ. πρωτ. 17/8.2.05). Η μελέτη έγινε in vivo μετά από ενημέρωση και συγκατάθεση των ασθενών των καρδιοχειρουργικών κλινικών του Νοσοκομείου «ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ».

Όλοι οι ασθενείς, και στις δύο ομάδες (φυσιολογικοί και διαβητικοί), υποβλήθηκαν σε επέμβαση ανοικτής καρδιάς, από την μυοκαρδιακή προστασία με εξωσωματική κυκλοφορία. Προ της επεμβάσεως όλοι οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε προεγχειρητικό έλεγχο ρουτίνας, ο οποίος περιλαμβάνει εκτός από την κλινική εξέταση (επισκόπια, ψηλαία, ακρόαση): α) Ηλεκτροκαρδιογράφημα – ΗΚΓ: για την εκτίμηση των ανατομικών και αιμοδυναμικών μεταβολών, καθώς και τη διάγνωση ενδεχομένων αρρυθμιών, β) ακτινογραφία θώρακος (Ro θώρακος) για τη συλλογή πληροφοριών που αφορούν την ανατομία και τη λειτουργικότητα της καρδιάς, καθώς και τον προσδιορισμό του καρδιοθωρακικού δείκτη. γ) Υπερηχοκαρδιογραφία (ECHO) : αποτελεί μια μοντέρνα αναίμακτη τεχνική με την οποία είναι δυνατή και με μεγάλη αξιοπιστία η μελέτη της συνολικής λειτουργικότητας του μυοκαρδίου, αλλά και των επί μέρους τμημάτων του, των καρδιακών βαλβίδων, του περικαρδίου, καθώς και της ανιούσας και κατιούσας θωρακικής αορτής δ) Σε δοκιμασία κόπωσης (STRESS TEST) αποτελεί μία από τις

πιο αξιόπιστες αναίμακτες μεθόδους για τη διάγνωση ισχαιμίας και εκτίμηση της στεφανιαίας νόσου, ε) Σε συνεχή 24/ωρη καταγραφή του ΗΚΓ (HOLTER MONITORING) Έχει τη δυνατότητα αυτόματης καταγραφής του ΗΚΓ, αλλά και των διαταραχών του ρυθμού για τη διάγνωση σιωπηλής ισχαιμίας σε ασθενείς με υποψία στεφανιαίας νόσου, στ) Ραδιο-ισοτοπικές τεχνικές, για την εκτίμηση διαφόρων παραμέτρων της καρδιακής λειτουργίας, με τρόπο ασφαλή και τραυματικό.

Όλοι οι ασθενείς -εθελοντές που συμπεριλήφθηκαν στο Πρωτόκολλο έρευνας, υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένο τακτικό χειρουργείο.

Στην κατηγορία των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, συμπεριλήφθηκαν οι ασθενείς οι οποίοι κατά την λήψη του ιατρικού ιστορικού το δήλωσαν, λάμβαναν φαρμακευτική αγωγή, και το τεκμηρίωσαν με προηγούμενες εργαστηριακές εξετάσεις.

Αναλύσεις αίματος

Οι αναλύσεις των υπό εξέταση παραμέτρων στο αίμα έγιναν με βιοχημικές – φωτομετρικές μεθόδους σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή.

Ιστολογικές αναλύσεις

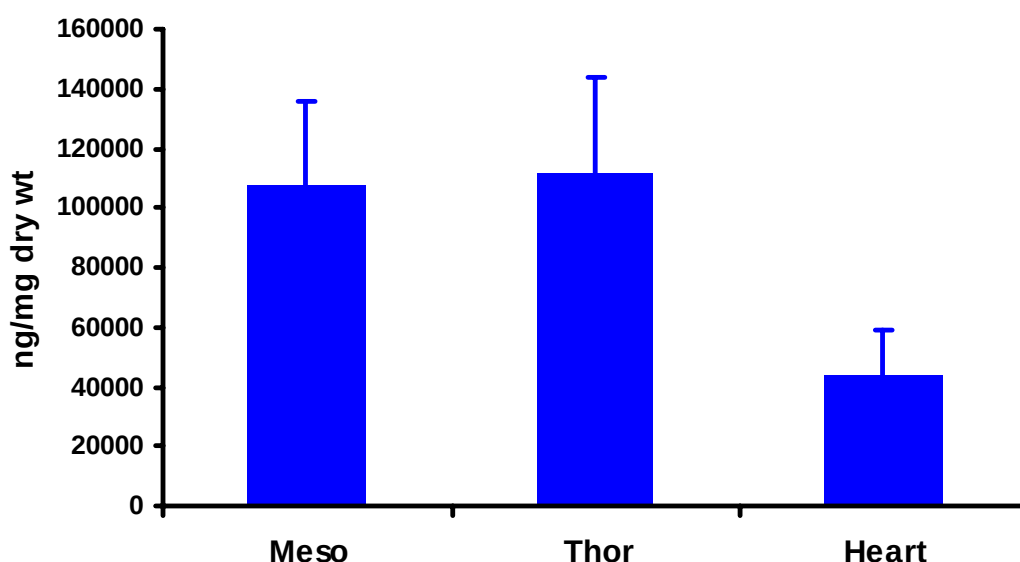
Η εκχύλιση των λιποειδών από μέρος των βιοψιών έγινε κατά Folch et al σε λυοφυλιοποιημένο μυ. Ο διαχωρισμός των διαφόρων τάξεων λιποειδών θα γίνει με εκχύλιση στερεής φάσης και ο ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός των υπό εξέταση λιποειδών με αέρια χρωματογραφία, μετά από την παραγωγιμοποίηση τους προς μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων.

4.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση στατιστικού πακέτου SPSS 10.0 FOR Windows. η σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των δύο ομάδων (διαβητικών και μη) καθώς και μεταξύ των διαφορετικών μυών έγινε με ανάλυση διακύμανσης.

Αποτελέσματα

Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκαν συνολικά δείγματα (μεσοπλεύριος, θωρακικός μυς και μυοκάρδιο) από 12 άτομα. Τα συνολικά επίπεδα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια παρουσιάζονται στο Γράφημα 1. Οι τιμές για τους τρεις τύπους μυών είναι αντίστοιχα 107402.7 ± 28499.1 , 111241.1 ± 32201.8 , και 43892.9 ± 14714.13 ng/mg ξηρού βάρους. Ο μεσοπλεύριος και ο θωρακικός μυς παρουσίαζαν παρόμοια επίπεδα τριγλυκεριδίων, ενώ το μυοκάρδιο παρουσίαζε συγκριτικά χαμηλότερα επίπεδα. Η σύγκριση των τριών μυών με τεστ Post Hoc (test Tukey) δεν ανέδειξε σημαντικές διαφοροποιήσεις ($p=0.096$ και $p=0.074$ για τη σύγκριση μεσοπλεύριου και θωρακικού με το μυοκάρδιο). Χαρακτηριστική είναι η μεγάλη διακύμανση που παρατηρήθηκε μεταξύ των εξεταζόμενων ατόμων.



Γράφημα 1: Επίπεδα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων προερχόμενων από τα ενδομυϊκά τριγλυκερίδια (Meso Μεσοπλεύριοι μύες, Thor μείζ. Θωρακικός, Heart μυοκάρδιο)

Με δεδομένο ότι τα άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν προχωρημένης ηλικίας και η διάκρισή τους σε διαβητικά και μη διαβητικά άτομα δεν ήταν σαφής αλλά και ούτε διαγνωσμένη με κλινικά κριτήρια, παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τεσσάρων ατόμων, στα οποία η παρουσία ή όχι σακχαρώδη διαβήτη τύπου II ήταν περισσότερο σαφής.

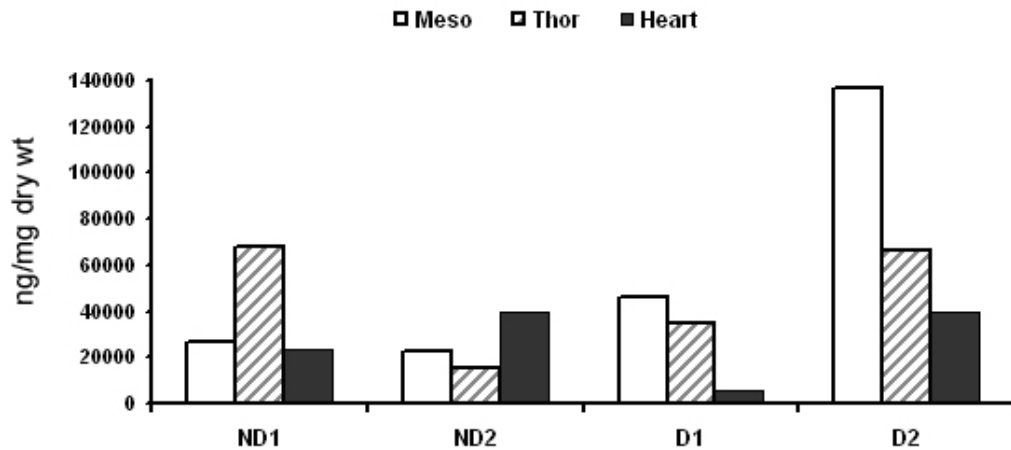
Τα χαρακτηριστικά των τεσσάρων αυτών ατόμων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Γλυκόζη νηστείας και γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη τεσσάρων από τα άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη(ND μη διαβητικά άτομα .D διαβητικά άτομα)

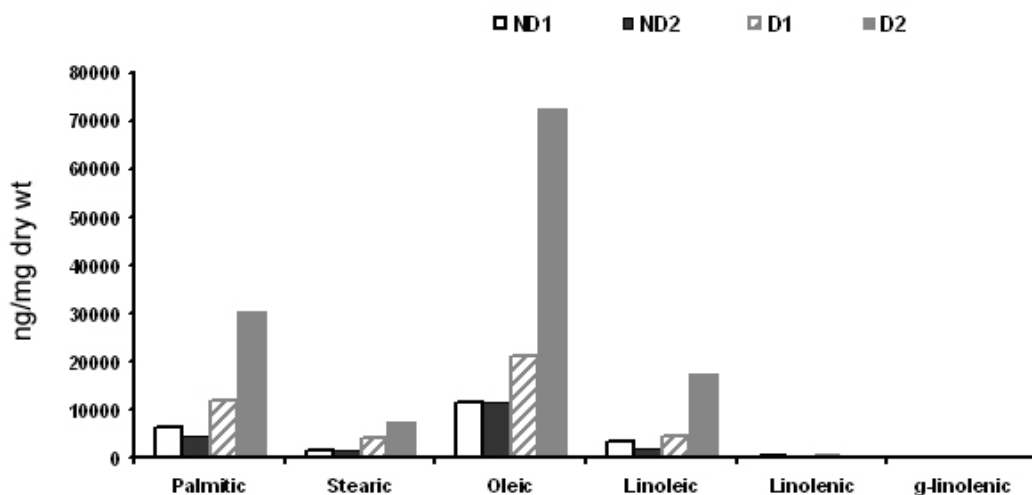
			Γλυκόζη Νηστείας, mg/dL	Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη, %
Μη διαβητικά άτομα	ND1		85	5.25
	ND2		102	5.86
Διαβητικά άτομα	D1		198	7.99
	D2		124	7.78

Τα επίπεδα τριγλυκερίδιων στους εξεταζόμενους μύες των παραπάνω ατόμων παρουσιάζονται στο Γράφημα 2. Σε ότι αφορά το μεσοπλεύριο μυ, τα διαβητικά άτομα παρουσίαζαν μια τάση να παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκερίδιων. Ωστόσο στους δύο άλλους μύες δεν υπήρχε κάποια σαφής διαφοροποίηση στα επίπεδα τριγλυκερίδιων μεταξύ διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων. Στα γραφήματα 3, 4 και 5 παρουσιάζεται μια ποιοτική ανάλυση των ενδομυϊκών τριγλυκερίδιων στους εξεταζόμενους μύες. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι το βασικό συστατικό των ενδομυϊκών λιποειδών ήταν το ελαϊκό οξύ,

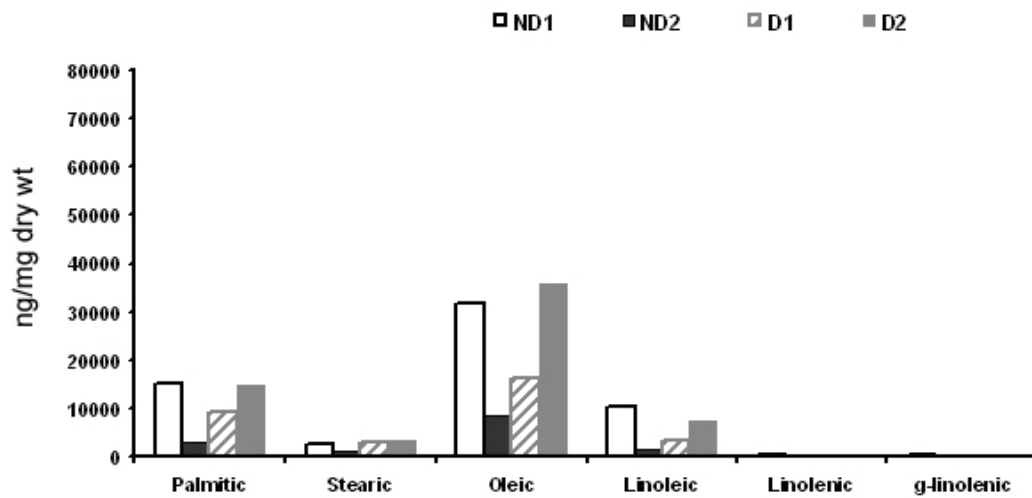
αντικατοπτρίζοντας προφανώς το ότι η διατροφή των εξεταζόμενων ήταν στηριγμένη στα μεσογειακά πρότυπα και στην κατανάλωση ελαιόλαδου. Όπως και με τα συνολικά επίπεδα τριγλυκεριδίων και στην περίπτωση αυτή δεν παρατηρήθηκαν κάποια σαφής διαφοροποίηση ανάμεσα στα διαβητικά και τα μη διαβητικά άτομα σε ότι αφορά την ποιοτική σύσταση των ενδομυϊκών λιποειδών.



Γράφημα 2: Επίπεδα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων προερχόμενων από τα ενδομυϊκά τριγλυκερίδια σε διαβητικά και μη διαβητικά άτομα (Meso Μεσοπλεύριοι μύες, Thor μείζ. Θωρακικός, Heart μυοκάρδιο και ND μη διαβητικά άτομα ,D διαβητικά άτομα)

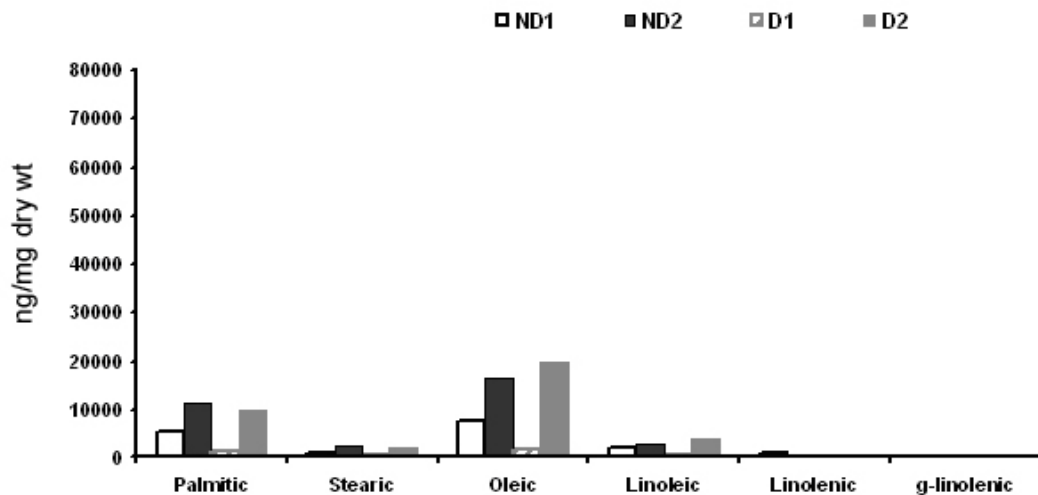


Γράφημα 3: Κύρια λιπαρά οξέα στα τριγλυκερίδια του μεσοπλεύριου μυός διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων (Meso Μεσοπλεύριοι μύες, Thor μείζ. Θωρακικός, Heart μυοκάρδιο και ND μη διαβητικά άτομα ,D διαβητικά άτομα)



Γράφημα 4: Κύρια λιπαρά οξέα στα τριγλυκερίδια του θωρακικού μυός διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων (Meso Μεσοπλεύριοι μύες, Thor μείζ. Θωρακικός, Heart μυοκάρδιο και ND μη διαβητικά άτομα ,D διαβητικά άτομα)

Επισημαίνεται ότι στα παραπάνω δεδομένα δεν εφαρμόστηκε κάποια στατιστική επεξεργασία, λόγω του μικρού αριθμού του δείγματος.



Γράφημα 5: Κύρια λιπαρά οξέα στα τριγλυκερίδια του μυοκαρδίου διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων (Meso Μεσοπλεύριοι μύες, Thor μείζ. Θωρακικός, Heart μυοκάρδιο και ND μη διαβητικά άτομα, D διαβητικά άτομα)

Συμπεράσματα

Στην έρευνα αυτή μελετήθηκε η περιεκτικότητα τριών μυών με διαφορετική λειτουργικότητα σε τριγλυκερίδια, τόσο σε ποσοτικό, όσο και σε ποιοτικό επίπεδο. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι ο μεσοπλεύριος μυς εμφανίζει τα ίδια επίπεδα τριγλυκεριδίων με τον θωρακικό μυ. Ο λόγος για τον οποίο μελετήθηκαν οι δύο αυτοί μύες είναι γιατί παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό ενεργοποίησης, καθώς ο μεσοπλεύριος μυς συσπάται συνεχώς για να υποστηρίξει τη λειτουργία της αναπνοής, ενώ η κινητοποίηση του θωρακικού μυός είναι κατά πολύ μικρότερη. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η αυξημένη δραστηριότητα του μυϊκού συστήματος, μέσω τακτικής άσκησης, βελτιώνει πολλούς από τους παράγοντες που σχετίζονται

με την ευαισθησία στην ινσουλίνη, αυξάνοντας ωστόσο και τα επίπεδα ενδομυϊκών λιποειδών. Τα ενδομυϊκά τριγλυκερίδια έχουν ενοχοποιηθεί από πολλές μελέτες για τη μείωση της ινσουλινο-αισθησίας και τα διαβητικά και παχύσαρκα άτομα παρουσιάζουν γενικά υψηλότερα επίπεδα μυϊκών τριγλυκεριδίων. Στην παρούσα μελέτη δύο μύες με διαφορετική κινητοποίηση, αλλά στο ίδιο γλυκαιμικό – συστηματικό περιβάλλον δεν παρουσίαζαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο μυοκάρδιο ήταν αρκετά χαμηλότερα σε σχέση με τους άλλους εξεταζόμενους μύες, κάτι που ενδεχομένως αντανάκλα τη συνεχή χρήση των λιπιδίων ως ενεργειακό υπόστρωμα από το μυοκάρδιο.

Η σύγκριση διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων δεν ανέδειξε καμία διαφοροποίηση στα επίπεδα των ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων ή έστω κάποια τάση διαφοροποίησης, με εξαίρεση το μεσοπλεύριο μυ. Αρκετοί είναι οι λόγοι για τους οποίους θα μπορούσε να συμβαίνει κάτι τέτοιο. Κατ' αρχάς θα πρέπει να τονιστεί ότι ο αριθμός των ατόμων που συγκρίθηκαν ήταν πολύ μικρός και κατά συνέπεια δεν μπορούν από την παρούσα μελέτη να βγουν ασφαλή συμπεράσματα. Τα άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν προχωρημένης ηλικίας και είναι γνωστό ότι η ηλικία είναι επίσης ένας παράγοντας που επηρεάζει τα επίπεδα των ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων. Επιπρόσθετα, τα εξεταζόμενα άτομα ήταν κλινικής ασθενείς, με πολύ χαμηλά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, και επομένως ο βαθμός κινητοποίησης του θωρακικού μυός θα πρέπει να ήταν πολύ μικρός. Είναι πιθανό ο συνδυασμός της προχωρημένης ηλικίας, σε συνδυασμό με την αδράνεια ενός μυός να επιφέρει αποτελέσματα τα οποία να είναι αντίστοιχα με αυτά που παρατηρούνται στο σακχαρώδη διαβήτη, με αποτέλεσμα να μην μπορούσε να διακριθεί μια σαφής διαφοροποίηση στα επίπεδα των ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων. Αντίθετα, στο μεσοπλεύριο μυ, του οποίου η δραστηριότητα είναι συνεχής, υπήρχε μια τάση να εμφανίζονται υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων στα διαβητικά άτομα που εξετάστηκαν.

Το βασικό σημείο της μελέτης αυτής είναι ότι εξετάστηκαν μύες με διαφορετική κινητοποίηση μέσα στον ίδιο οργανισμό. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα πλεονεκτικό, αφού το συστηματικό περιβάλλον των μυών αυτών είναι το ίδιο (η κυκλοφορία του αίματος). Ωστόσο η προσέγγιση αυτή έχει και αρκετούς περιορισμούς. Οι μύες που εξετάστηκαν έχουν όχι μόνο διαφορετική ενεργοποίηση, αλλά και διαφορετική λειτουργικότητα, και επομένως και διαφορετικά ιστολογικά,

αλλά και ιστολογικά χαρακτηριστικά. Οι διαφοροποιήσεις αυτές θα μπορούσαν να έχουν σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα της μελέτης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1.Adams JM, 2nd, Pratipanawatr T, Berria R, Wang E, DeFronzo RA, Sullards MC, and Mandarino LJ. Ceramide content is increased in skeletal muscle from obese insulin-resistant humans. *Diabetes* 53: 25-31, 2004.
- 2.Alberti, K. G. and P. Z. Zimmet. 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.* 15:539-553, 1998.
- 3.Berneis, K. K. and R. M. Krauss. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res.* 43:1363-1379, 2002.
- 4.Bray, G. A. and C. M. Champagne. Obesity and the Metabolic Syndrome: implications for dietetics practitioners. *J Am Diet Assoc.* 104:86-89, 2004
- 5.Brozinick JT, Jr., Roberts BR, and Dohm GL. Defective signaling through Akt-2 and -3 but not Akt-1 in insulin-resistant human skeletal muscle: potential role in insulin resistance. *Diabetes* 52: 935-941, 2003.
- 6.Cantin, B., J. P. Despres, B. Lamarche, S. Moorjani, P. J. Lupien, P. Bogaty, J Bergeron, and G. R. Dagenais. Association of fibrinogen and lipoprotein(a) as a coronary heart disease risk factor in men (The Quebec Cardiovascular Study). *Am J Cardiol.* 89:662-666, 2002.
- 7.Despres, J. P., B. Lamarche, P. Mauriege, B. Cantin, G. R. Dagenais, S. Moorjani, and P. J. Lupien. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 334:952-957, 1996.
- 8.Ducimetiere, P., E. Eschwege, L. Papoz, J. L. Richard, J. R. Claude, and G. Rosselin. Relationship of plasma insulin levels to the incidence of myocardiac infarction and coronary heart disease mortality in a middle-aged population. *Diabetologia.* 19:205-210, 1980.
- 9.Dunaif, A. and D. T. Finegood. Beta-cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 81:942 947, 1996.
- 10.Ferrannini, E. and B. Balkau. Insulin: in search of a syndrome. *Diabet Med.* 19:724 729, 2002.

11. Ferrannini, E., G. Buzzigoli, R. Bonadonna, M. A. Giorico, M. Oleggini, L. Graziadei, R. Pedrinelli, L. Brandi, and S. Bevilacqua. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med.* 317:350-357, 1987.
12. Fontbonne, A., M. A. Charles, N. Thibault, J. L. Richard, J. R. Claude, J. M. Warnet, G. E. Rosselin, and E. Eschwege. Hyperinsulinaemia as a predictor of coronary heart disease mortality in a healthy population: the Paris Prospective Study, 15-year follow-up. *Diabetologia.* 34:356-361, 1991.
13. Gan SK, Kriketos AD, Ellis BA, Thompson CH, Kraegen EW, and Chisholm DJ. Changes in Aerobic Capacity and Visceral Fat but not Myocyte Lipid Levels Predict Increased Insulin Action After Exercise in Overweight and Obese Men. *Diabetes Care* 26: 1706-1713, 2003.
14. Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A. Involvement of membrane-associated proteins in the acute regulation of cellular fatty acid uptake. *J Mol Neurosci.* 2001 Apr-Jun;16(2-3):123-32; discussion 151-7.
15. Goodpaster BH, He J, Watkins S, and Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5755-5761, 2001.
16. Guo Z. Triglyceride content in skeletal muscle: variability and the source. *Anal Biochem.* 2001 Sep 1;296(1):1-8.
17. Gutt, M., C. L. Davis, S. B. Spitzer, M. M. Llabre, M. Kumar, E. M. Czarnecki, N. Schneiderman, J. S. Skyler, and J. B. Marks. Validation of the insulin sensitivity index (ISI(0,120)): comparison with other measures. *Diabetes Res Clin Pract.* 47:177-184, 2000.
18. Haffner, S. M., S. Lehto, T. Ronnemaa, K. Pyorala, and M. Laakso. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med.* 339:229-234, 1998.
19. Haffner, S. M., M. P. Stern, H. P. Hazuda, B. D. Mitchell, and J. K. Patterson. Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *Jama.* 263:2893-2898, 1990.
20. Haffner, S. M., R. A. Valdez, H. P. Hazuda, B. D. Mitchell, P. A. Morales, and M. P. Stern. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes.* 41:715-722, 1992.

- 21.Hales, C. N. and D. J. Barker. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 35:595-601, 1992.
- 22.Hunter, S. J. and W. T. Garvey. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. *Am J Med*. 105:331-345, 1998.
- 23.Itani SI, Zhou Q, Pories WJ, MacDonald KG, and Dohm GL. Involvement of protein kinase C in human skeletal muscle insulin resistance and obesity. *Diabetes* 49: 1353-1358, 2000.
- 24.Juhan-Vague, I., M. C. Alessi, and P. Vague. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia*. 34:457-462, 1991.
- 25.Juhan-Vague, I., S. D. Pyke, M. C. Alessi, J. Jespersen, F. Haverkate, and S. G. Thompson. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation*. 94:2057-2063, 1996.
- 26.Kabadi, U. M., A. Vora, and M. Kabadi. Hyperinsulinemia and central adiposity: influence of chronic insulin therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 23:1024-1025, 2000.
- 27.Kahn, S. E. Regulation of β -cell function in vivo: from health to disease. *Diabetes Reviews*. 4:372-389, 1996.
- 28.Kahn, S. E. and D. Porte. Pathophysiology of type II diabetes mellitus. In: *Diabetes Mellitus* New York: Elsevier, 1996, pp. 487-512.
- 29.Kahn, S. E., R. L. Prigeon, R. S. Schwartz, W. Y. Fujimoto, R. H. Knopp, J. D. Brunzell, and D. Porte, Jr. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and Islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity. *J Nutr*. 131:354S-360S, 2001.
- 30.Kelley, D. E., B. Goodpaster, R. R. Wing, and J. A. Simoneau. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am J Physiol*. 277:E1130-1141, 1999.
- 31.Kriketos, A. D., S. M. Furler, S. K. Gan, A. M. Poynten, D. J. Chisholm, and L. V. Campbell. Multiple indexes of lipid availability are independently related to whole body insulin action in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 88:793-798, 2003.

- 32.Krook A, Roth RA, Jiang XJ, Zierath JR, and Wallberg-Henriksson H. Insulin-stimulated Akt kinase activity is reduced in skeletal muscle from NIDDM subjects. *Diabetes* 47: 1281-1286, 1998.
- 33.Laakso, M. Insulin resistance and cardiovascular disease. *British Journal of Diabetes and Vascular Disease*. 2S:9-11, 2002.
- 34.Laws, A., M. L. Stefanick, and G. M. Reaven. Insulin resistance and hypertriglyceridemia in nondiabetic relatives of patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 69:343-347, 1989.
- 35.Lewis, G. F., A. Carpentier, K. Adeli, and A. Giacca. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 23:201-229, 2002.
- 36.Lu X, Yang XY, Howard RL, and Walsh JP. Fatty acids modulate protein kinase C activation in porcine vascular smooth muscle cells independently of their effect on de novo diacylglycerol synthesis. *Diabetologia* 43: 1136-1144, 2000.
- 37.Matsuda, M. and R. A. DeFronzo. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 22:1462-1470, 1999.
- 38.Mazumder PK, O'Neill BT, Roberts MW, Buchanan J, Yun UJ, Cooksey RC, Boudina S, and Abel ED. Impaired cardiac efficiency and increased fatty acid oxidation in insulin-resistant ob/ob mouse hearts. *Diabetes* 53: 2366-2374, 2004.
- 39.McFarlane, S. I., M. Banerji, and J. R. Sowers. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 86:713-718, 2001.
- 40.Meigs, J. B. Epidemiology of the insulin resistance syndrome. *Curr Diab Rep*. 3:73-79, 2003.
- 41.Meigs, J. B., M. A. Mittleman, D. M. Nathan, G. H. Tofler, D. E. Singer, P. M. Murphy-Sheehy, I. Lipinska, R. B. D'Agostino, and P. W. Wilson. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. *Jama*. 283:221-228, 2000.
- 42.Mensink M, Blaak EE, Vidal H, De Bruin TW, Glatz JF, and Saris WH. Lifestyle changes and lipid metabolism gene expression and protein content in skeletal muscle of subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetologia* 46: 1082-1089, 2003.
- 43.Montell E, Turini M, Marotta M, Roberts M, Noe V, Ciudad CJ, Mace K, and Gomez-Foix AM. DAG accumulation from saturated fatty acids desensitizes insulin

stimulation of glucose uptake in muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E229-237, 2001.

44.Neschen S, Moore I, Regittnig W, Yu CL, Wang Y, Pypaert M, Petersen KF, and Shulman GI. Contrasting effects of fish oil and safflower oil on hepatic peroxisomal and tissue lipid content. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E395-401, 2002.

45.Olefsky, J., G. M. Reaven, and J. W. Farquhar. Effects of weight reduction on obesity. Studies of lipid and carbohydrate metabolism in normal and hyperlipoproteinemic subjects. *J Clin Invest.* 53:64-76, 1974.

46.Pan, D. A., S. Lillioja, A. D. Kriketos, M. R. Milner, L. A. Baur, C. Bogardus, A. B. Jenkins, and L. H. Storlien. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes.* 46:983-988, 1997.

47.Peter, P., S. L. Nuttall, and M. J. Kendall. Insulin resistance--the new goal! *J Clin Pharm Ther.* 28:167-174, 2003.

48.Phillips, G. B., T. Y. Jing, L. M. Resnick, M. Barbagallo, J. H. Laragh, and J. E. Sealey. Sex hormones and hemostatic risk factors for coronary heart disease in men with hypertension. *J Hypertens.* 11:699-702, 1993.

49.Pyörälä, K. Relationship of glucose tolerance and plasma insulin to the incidence of coronary heart disease: results from two population studies in Finland. *Diabetes Care.* 2:131-141, 1979.

50.Randle PJ, Garland PB, Hales CN, and Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1: 785-789, 1963.

51.Reaven, G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 37:1595-1607, 1988.

52.Reaven, G. M. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition. *Annu Rev Med.* 44:121-131, 1993.

53.Schmitz-Peiffer C, Craig DL, and Biden TJ. Ceramide generation is sufficient to account for the inhibition of the insulin-stimulated PKB pathway in C2C12 skeletal muscle cells pretreated with palmitate. *J Biol Chem* 274: 24202-24210, 1999.

54.Sechi, L. A., A. Melis, and R. Tedde. Insulin hypersecretion: a distinctive feature between essential and secondary hypertension. *Metabolism.* 41:1261-1266, 1992.

55.Shamiss, A., J. Carroll, and T. Rosenthal. Insulin resistance in secondary hypertension. *Am J Hypertens.* 5:26-28, 1992.

56. Sidossis, L. S., C. A. Stuart, G. I. Shulman, G. D. Lopaschuk, and R. R. Wolfe. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest.* 98:2244-2250, 1996.
57. Sidossis LS, Stuart CA, Shulman GI, Lopaschuk GD, and Wolfe RR. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest* 98: 2244-2250, 1996.
58. Sidossis LS and Wolfe RR. Glucose and insulin-induced inhibition of fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol* 270: E733-738, 1996.
59. Sowers, J. R. and E. D. Frohlich. Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease. *Med Clin North Am.* 88:63-82, 2004.
60. Stamler, J., O. Vaccaro, J. D. Neaton, and D. Wentworth. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care.* 16:434-444, 1993.
61. Suzuki, M., K. Shinozaki, A. Kanazawa, Y. Hara, Y. Hattori, M. Tsushima, and Y. Harano. Insulin resistance as an independent risk factor for carotid wall thickening. *Hypertension.* 28:593-598, 1996.
62. Swislocki, A. L., B. B. Hoffman, and G. M. Reaven. Insulin resistance, glucose intolerance and hyperinsulinemia in patients with hypertension. *Am J Hypertens.* 2:419-423, 1989.
63. Taittonen, L., M. Uhari, M. Nuutinen, J. Turtinen, T. Pokka, and H. K. Akerblom. Insulin and blood pressure among healthy children. Cardiovascular risk in young Finns. *Am J Hypertens.* 9:194-199, 1996.
64. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). VIII. Study design, progress and performance. *Diabetologia.* 34:877-890, 1991.
65. Welborn, T. A. and K. Wearne. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton with reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes Care.* 2:154-160, 1979.
66. WHO. Diabetes estimates and projections. World Health Organization October 2003, 2003
67. Yu C., Chen Y., Cline G.W., Zhang H., Zong H., Wang Y., Bergeron R., Kim J.K., Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 277: 50230-50236, 2002.

68. Yu HY, Inoguchi T, Kakimoto M, Nakashima N, Imamura M, Hashimoto T, Umeda F, and Nawata H. Saturated non-esterified fatty acids stimulate de novo diacylglycerol synthesis and protein kinase c activity in cultured aortic smooth muscle cells. *Diabetologia* 44: 614-620, 2001.
69. Zimmet, P. Z. Kelly West Lecture 1991. Challenges in diabetes epidemiology--from West to the rest. *Diabetes Care*. 15:232-252, 1992.
70. Perdomo G, Commerford SR, Richard AM, et al Increased B-oxidation in muscles cells enhances insulin stimulated glucose metabolism and protects against fatty acid induced insulin resistance despite intramyocellular lipid accumulation. *J. Biol Chem*. 2004 Jun 25; 279(26):27177-88
71. Folch J, Lee M, Sloane Stanley GH . A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol Chem*. 1957 May ; 226(1):497-509

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής

ΣΥΜΦΩΝΗΤΙΚΟ ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ**ΕΓΩ,****Ο****/Η**

.....

ΚΑΤΟΙΚΟΣ

.....

ΜΕ ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΕΓΓΡΑΦΟ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΩ ΚΑΙ ΠΙΣΤΟΠΟΙΩ ΤΑ ΑΚΟΛΟΥΘΑ:

Με το παρόν έγγραφο δηλώνω την εθελοντική συμμετοχή μου στην ερευνητική μελέτη με τίτλο «Ενδομυϊκά Λιποειδή στο Μυϊκό Ιστό Διαβητικών και Μη Διαβητικών Ατόμων», η οποία θα διεξαχθεί από το Νοσοκομείο Ευαγγελισμός, Α' & Β' Καρδιοχειρουργικές Κλινικές και το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής. Η απόφασή μου να συμμετάσχω στη μελέτη πάρθηκε μετά από προφορική επεξήγηση του σκοπού της μελέτης και των υποχρεώσεών μου.

ΔΗΛΩΝΩ ΟΤΙ ΚΑΤΑΝΟΩ ΚΑΙ ΑΠΟΔΕΧΟΜΑΙ ΤΑ ΑΚΟΛΟΥΘΑ:

1. Κατά την επέμβαση ανοιχτής καρδιάς στην οποία θα υποβληθώ, θα γίνει από τον αρμόδιο χειρουργό λήψη μιας μικρής ποσότητας από τον μείζονα θωρακικό, το μυοκάρδιο και από μεσοπλεύριους μύες. Η ποσότητα που θα ληφθεί από κάθε μυ δε θα ξεπερνάει το μισό (1/2) γραμμάριο. Επίσης στο άμεσο χρονικό διάστημα πριν την επέμβαση και κατά την παραμονή μου στο νοσοκομείο θα γίνει λήψη μιας μικρής ποσότητας αίματος (περίπου 12 mL).

2. Αναγνωρίζω ότι η λήψη των βιοψιών δε συνοδεύεται από πρόσθετους κινδύνους για την υγεία μου ή για την ομαλή έκβαση της χειρουργικής επέμβασης, πέραν αυτών που απορρέουν από την επέμβαση αυτή κάθε αυτή, τους οποίους έχω αποδεχτεί και τους θεωρώ ανεξάρτητους από τη συμμετοχή μου στη μελέτη.

3. Οποιαδήποτε πληροφορία που αφορά εμένα και αποτελέσματα εξετάσεών μου, τα οποία θα προκύψουν από τη μελέτη, θα παραμείνουν **απόρρητα** και δε θα δημοσιευθούν ονομαστικά σε οποιαδήποτε δημοσίευση προκύψει από τη συγκεκριμένη μελέτη.

Εγώ, ο υπογραφόμενος κατανοώ τις παραπάνω εξηγήσεις και δίνω τη συναίνεσή μου για την εθελοντική συμμετοχή μου στην προαναφερθείσα μελέτη.

Η ηλικία μου είναι

Η ημερομηνία γέννησής μου είναι:/...../19.....

Δηλώνω ότι υπογράφω αυτό το Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής με ελεύθερη βούληση.

Η σημερινή ημερομηνία είναι:/...../200...

Το παρόν υπογράφηκε από εμένα, υπό την παρουσία των ακολούθων:

Ο εθελοντής

(όνομα και υπογραφή)

Ο μάρτυρας

(όνομα και υπογραφή)

Ο ερευνητής

(όνομα και υπογραφή)