



**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ IN VIVO. ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ.

**Γεωργία Ντάλη, MSc.
Ιατρός Ενδοκρινολόγος**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2010

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Σκοπούλη Φωτεινή, Καθηγήτρια Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (επιβλέπουσα)

Καλτσάς Γρηγόριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Ε.Κ Πανεπιστημίου Αθηνών

Κελέκης Νικόλαος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Ε.Κ Πανεπιστημίου Αθηνών

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Καλτσάς Γρηγόριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Ε.Κ Πανεπιστημίου Αθηνών

Κελέκης Νικόλαος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Ε.Κ Πανεπιστημίου Αθηνών

Καραθάνος Βάιος, Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Κοντογιάννη Μερóπη, Λέκτορας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Σκοπούλη Φωτεινή, Καθηγήτρια Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Συντώσης Λάμπρος, Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Χατζής Γρηγόριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Ε.Κ Πανεπιστημίου Αθηνών

Ευχαριστίες

Είμαι ιδιαίτερα ευγνώμων απέναντι στο τμήμα Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και στο πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών που διοργανώνει, καθώς μου έδωσε τα ερεθίσματα και τη δυνατότητα σε ένα αρχικό στάδιο της σταδιοδρομίας μου ως ιατρού ενδοκρινολόγου να διανύσω τα πρώτα ερευνητικά μου βήματα στο πεδίο του ανθρώπινου μεταβολισμού. Στα πλαίσια αυτού του προγράμματος εκπόνησα τη μεταπτυχιακή μου διατριβή, η οποία αφορούσε στη μελέτη της ινσουλινικής αντίστασης και τη συσχέτισή της με δείκτες διαιτητικού λίπους σε γυναίκες απογόνους διαβητικών τύπου 2. Υλοποιήθηκε χάρη στη συνεργασία με το τμήμα Ανθρώπινης Διατροφής του Πανεπιστημίου της Γλασκώβης και τη συνεχή καθοδήγηση της τέως Επιστημονικού Συνεργάτου του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κας Κούτσαρη Χριστίνας.

Τα τελευταία χρόνια πολλές ερευνητικές ομάδες διερευνούν τους παθογενετικούς μηχανισμούς και τις συνέπειες της ινσουλινικής αντίστασης όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η παχυσαρκία, καταστάσεις που έχουν αποκτήσει επιδημικές διαστάσεις και κλυδωνίζουν οικονομικά τα εθνικά συστήματα υγείας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το τμήμα Διατροφής-Μεταβολισμού του Επιστημονικού Ινστιτούτου San Raffaele στο Μιλάνο της Ιταλίας για την ευκαιρία, που μου έδωσε να μελετήσω τον μεταβολισμό *in vivo* με τη χρήση του μαγνητικού εργαλείου της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον καθηγητή Livio Luzi, που με δέχτηκε στο εργαστήριό του και μου εμπιστεύτηκε την ανάθεση αυτών των μελετών, που αποτελούν το αντικείμενο της διδακτορικής μου διατριβής. Επιπλέον ευχαριστώ τον σπινθηροβόλο ερευνητή Gianluca Perseghin για τα ερεθίσματα και τις εποικοδομητικές συζητήσεις πάνω στον τομέα της ινσουλινικής αντίστασης.

Η διατριβή αυτή όμως δεν θα είχε, ούτε ξεκινήσει, ούτε ολοκληρωθεί χωρίς την επιμονή της επιβλέπουσας καθηγήτριας κας Σκοπούλη Φωτεινής. Την ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη και την υποστήριξη, που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια αρχικά ως μεταπτυχιακή φοιτήτρια και εν συνεχεία ως υποψήφιου διδάκτορα.

Η παρούσα διατριβή υλοποιήθηκε χάρη στην οικονομική ενίσχυση της ερευνητικής υποτροφίας Marie Curie Research Fellowship (επιχορήγηση HPMT-CT-2001-00329).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<u>Περίληψη</u>	8
<u>Summary</u>	12
<u>Συντομογραφίες</u>	15
<u>1)Ανασκόπηση βιβλιογραφίας</u>	
1.1 Παχυσαρκία.....	16
1.2 Ινσουλινική αντίσταση.....	20
1.3 Λιπώδης ιστός.....	29
1.4 Έκτοπη συσσώρευση λίπους.....	40
1.4.α Έκτοπη συσσώρευση λίπους στο σκελετικό μυ.....	42
1.4.β Έκτοπη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ (NAFLD).....	43
1.4.γ Κλινική σημασία του NAFLD.....	48
1.5 Καρδιακή στεάτωση.....	52
1.6 Μεταβολική ευελιξία.....	53
1.7 Ενεργειακός μεταβολισμός στην καρδιά.....	55
1.8 Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία.....	62
1.9 Αρχές λειτουργίας πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας.....	63
1.10 Χρήσεις της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας στη μελέτη του μεταβολισμού.....	71
1.11 Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία υδρογόνου σκελετικού μυός.....	72
1.12 Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία υδρογόνου ήπατος.....	73
1.13 Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου	78
<u>2)Μεθοδολογία</u>	
2.1Πρωτόκολλο πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων υδρογόνου ήπατος.....	83
2.2 Πρωτόκολλο καρδιακής μαγνητικής τομογραφίας απεικόνισης.....	83
2.3 Πρωτόκολλο πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας φωσφόρου στην καρδιά.....	84
2.4 Υπολογισμοί.....	86
2.5 Έμμεση θερμιδομετρία.....	88
2.6 Μέθοδος απορροφησιομετρίας ακτίνων X διπλής ενέργειας	90
2.7 Αναλυτικοί προσδιορισμοί.....	90

3)Ερευνητικές μελέτες

Μελέτη 1.....	93
Μελέτη 2.....	110
Μελέτη 3.....	118
Μελέτη 4.....	132
4)Συμπεράσματα.....	149
5) Μελλοντικές κατευθύνσεις έρευνας.....	152
6)Βιβλιογραφία.....	155
7)Δημοσιεύσεις.....	174

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει διπλασιαστεί τις τελευταίες δύο δεκαετίες παγκοσμίως. Η δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού και του λιποκυττάρου αποτελούν πρωτογενείς διαταραχές στην παχυσαρκία και υπόστρωμα για την ανάπτυξη διαταραχών όπως είναι η ινσουλινική αντίσταση, ο τύπου 2 σακχαρώδης διαβήτης, το λιπώδες ήπαρ, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η αθηρωμάτωση, οι αναπνευστικές διαταραχές και η ανάπτυξη νεοπλασιών. Η έκτοπη συγκέντρωση λίπους μπορεί να θεωρηθεί συνέπεια της δυσλειτουργίας του λιπώδους ιστού, η οποία χαρακτηρίζεται από αλλαγές στη σύσταση των κυττάρων, αυξημένη συσσώρευση λίπους και διαταραγμένη ινσουλινική ευαισθησία στα λιποκύτταρα καθώς και από έκκριση φλεγμονωδών, αθηρογόνων και διαβητογόνων λιποκινών.

Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία είναι μία μέθοδος, που επιτρέπει την εκτίμηση της βιοχημείας και του μεταβολισμού *in vivo*. Η μεθοδολογία αυτή βασίζεται στην ίδια αρχή που διέπει την μαγνητική τομογραφία απεικόνισης, δηλαδή την μεταφορά ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας (χρησιμοποιώντας ραδιοσυχνότητες) σε συγκεκριμένους πυρήνες ατόμων που ευρίσκονται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο, αλλά σε αντίθεση με τις τεχνικές της απεικόνισης, που δίνουν την δυνατότητα να δούμε τη μακροσκοπική δομή των ιστών, η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία δίνει τη δυνατότητα να παρακολουθήσουμε τη βιοχημεία σε επίπεδο μοριακό. Στις μελέτες που παρατίθενται χρησιμοποιήθηκαν η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων υδρογόνου προκειμένου να υπολογισθεί ποσοτικά η ενδοηπατική συσσώρευση τριγλυκεριδίων και η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου για τον υπολογισμό των φωσφορικών ενεργειακών υποστρωμάτων στην καρδιά.

Στους εφήβους όπως και στους ενήλικες η παχυσαρκία σχετίζεται με διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων και των λιπιδίων. Χρησιμοποιήσαμε την πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων (^1H -MRS) προκειμένου να προσεγγίσουμε ποσοτικά και μη επεμβατικά το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους σε παχύσαρκους εφήβους (Μελέτη 1). Μελετήσαμε 54 σοβαρά παχύσαρκους εφήβους με BMI >99η εκατοστιαία θέση για την ηλικία και το φύλο και βρήκαμε ότι 1) σε παχύσαρκους εφήβους το λιπώδες ήπαρ μη αλκοολικής αιτιολογίας (NAFLD) είναι συχνό χαρακτηριστικό και διαπιστώθηκε στο 30% του πληθυσμού μας, 2) η ύπαρξη NAFLD σχετίζεται με μία αναπροσαρμογή των διαθέσιμων προς οξείδωση

υποστρωμάτων και 3) ότι παχύσαρκοι έφηβοι με NAFLD παρουσιάζουν διαταραχή της ινσουλινικής ευαισθησίας και της ομοιοστασίας της γλυκόζης συγκριτικά με παχύσαρκους εφήβους, οι οποίοι έχουν φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.

Αρκετές μελέτες σε ζωικά μοντέλα προτείνουν, ότι η λιποκίνη ρεζιστίνη μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της ινσουλινικής αντίστασης κάτι που δεν έχει αποδειχθεί ακόμη ότι ισχύει και στους ανθρώπους. Οι μελέτες στους ανθρώπους υποστηρίζουν το ρόλο της ως πιθανό μεσολαβητή σε φλεγμονώδεις εξεργασίες.

Προκειμένου να διευκρινισθεί η σχέση του ηπατικού περιεχομένου λίπους (IHF) με τα κυκλοφορούντα επίπεδα ρεζιστίνης και η πιθανή συσχέτισή της ως μεσολαβητή ινσουλινικής αντίστασης, μελετήσαμε 28 άτομα με αυξημένο ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF) και 47 άτομα με παρόμοια ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά αλλά με φυσιολογικό IHF, που χρησίμευσαν ως ομάδα ελέγχου (Μελέτη 2). Η ενδοηπατική συγκέντρωση τριγλυκεριδίων υπολογίστηκε με την χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων ($^1\text{H-MRS}$). Με βάση την υπόθεση ότι η ρεζιστίνη εμπλέκεται στην ανάπτυξη της ινσουλινικής αντίστασης, θα περιμέναμε τα άτομα με ινσουλινική αντίσταση και NAFLD να έχουν αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης. Τα ευρήματά μας έρχονται σε αντίθεση με την υπόθεση αυτή. Τα επίπεδα ρεζιστίνης βρέθηκαν χαμηλότερα στα άτομα με NAFLD ($3,4 \pm 0,8$ έναντι $3,9 \pm 1,0$ ng/ml, $p < 0,02$) και η συγκέντρωση ρεζιστίνης στον ορό σχετιζόταν αντιστρόφως ανάλογα με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους ($r = -0,35$, $p < 0,003$). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δεν συμφωνούν με τα δεδομένα από μελέτες με βιοψίες ήπατος, που έδειξαν, ότι οι ασθενείς με NAFLD και NASH είχαν αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης και αυξημένη έκφραση ρεζιστίνης στον υποδόριο λιπώδη ιστό.

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η κύρια αιτία θανάτου σε ασθενείς με τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη. Η καρδιά είναι ένα ακόμα όργανο του οποίου ο μεταβολισμός μπορεί να επηρεαστεί από την αντίσταση στην ινσουλίνη. Έχει προταθεί ότι, η διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης στην καρδιά μπορεί να είναι τόσο το αίτιο όσο και το αποτέλεσμα της διαταραγμένης καρδιακής λειτουργίας και ότι η μεταβολική αναδιάταξη (remodeling) μπορεί να προηγείται, να προκαλεί και να ενισχύει το λειτουργικό και το δομικό/γεωμετρικό remodeling της καρδιάς. Έχει διαπιστωθεί διαταραχή του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού σε διαβητικούς τύπου 2 ακόμα και αν δεν αυτοί δεν παρουσιάζουν σημαντικές δομικές ή λειτουργικές διαταραχές.

Θελήσαμε να μελετήσουμε τον ενεργειακό μεταβολισμό και την καρδιακή λειτουργία σε άτομα που βρίσκονται με ινσουλινική αντίσταση και προδιαβητική κατάσταση (Μελέτη 3). Μελετήσαμε 81 υγιείς άνδρες με BMI μεταξύ 18-35 kg/m² χωρίς προηγούμενο ιστορικό διαβήτη, υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, στεφανιαίας, εγκεφαλικής ή περιφερικής αγγειακής νόσου, χωρίς ιστορικό διατατικής καρδιομυοπάθειας και παθολογικού κλάσματος εξώθησης ή ΗΚΓ δεικτών καρδιακής ισχαιμίας στην ηρεμία και χωρίς στοιχεία συμβατά με καρδιακή ανεπάρκεια σύμφωνα με την σταδιοποίηση NYHA (New York Heart Association). Χρησιμοποιήσαμε την πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου (31P MRS) για να μελετήσουμε τον ενεργειακό μεταβολισμό και να προσδιορίσουμε τα φωσφορικά ενεργειακά υποστρώματα στην καρδιά. Διαπιστώσαμε παρόμοια αλλαγή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας με αυτή που παρατηρείται στους διαβητικούς τύπου 2 και σε νέα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα τα οποία δεν έπασχαν από άλλα νοσήματα, δεν εμφάνιζαν υπεργλυκαιμία και δεν ελάμβαναν φάρμακα. Τα υπέρβαρα/παχύσαρκα άτομα είχαν χαμηλότερο λόγο PCr/ATP παρά το γεγονός, ότι δεν παρουσίαζαν βασικές δυσλειτουργίες της αριστεράς κοιλίας. Η ανάλυση συσχέτισης Pearson έδειξε ότι ο λόγος PCr/ATP σχετιζόταν με το BMI ($r = -0,26$, $p=0,022$), τη γλυκόζη πλάσματος νηστείας ($r = -0,32$, $p=0,01$), την ινσουλίνη ($r = -0,32$, $p=0,012$), τη λεπτίνη ($r = -0,28$, $p=0,039$), τα Adult Treatment Panel III κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου ($r = -0,29$, $p=0,012$), τους δείκτες HOMA2-S% ($r = 0,44$, $p=0,001$), HOMA2 ($r = 0,34$, $p = 0,007$) και το δείκτη φυσικής δραστηριότητας ($r = 0,27$, $p = 0,035$). Το εύρημα αυτό ενισχύει την υπόθεση ότι το μεταβολικό remodeling σε καταστάσεις ινσουλινικής αντίστασης προηγείται της έναρξης της έκδηλης υπεργλυκαιμίας και της λειτουργικής, δομικής και γεωμετρικής αναδιάταξης της καρδιάς και ότι η ινσουλινική αντίσταση μπορεί να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα για τη μείωση του λόγου PCr/ATP.

Λίγες είναι οι μελέτες, που αφορούν τον καρδιακό μεταβολισμό σε ασθενείς με NAFLD λόγω των δυσκολιών της in vivo μελέτης με μη επεμβατικό τρόπο του καρδιακού μεταβολισμού στους ανθρώπους. Στη μελέτη 4 διερευνήσαμε, αν υπάρχουν διαταραχές της α) μορφολογίας της αριστεράς κοιλίας και β) του ενδοπερικαρδιακού και εξωπερικαρδιακού λίπους, γ) των παραμέτρων της συστολικής και διαστολικής λειτουργίας της αριστεράς κοιλίας και δ) του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας σε συνθήκες ηρεμίας σε μία ομάδα νέων, μη διαβητικών ανδρών με NAFLD συγκριτικά με μία ομάδα ανδρών με συγκρίσιμα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και φυσιολογική συγκέντρωση ενδοηπατικού λίπους.

Ο λόγος PCr/ATP όπως υπολογίστηκε με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας φωσφόρου (^{31}P -MRS) βρέθηκε μειωμένος στους ασθενείς με NAFLD συγκριτικά με την ομάδα με φυσιολογικό ενδοηπατικό λίπος ($1,84 \pm 0,34$ έναντι $2,11 \pm 0,32$, $p = 0,016$), εύρημα που δείχνει διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού των φωσφορικών ενώσεων της αριστεράς κοιλίας στην ηρεμία στα άτομα με NAFLD. Η διαταραχή αυτή ανιχνεύθηκε παρά την φυσιολογική μορφολογία και τη φυσιολογική συστολική και διαστολική λειτουργία της αριστεράς κοιλίας, στηρίζοντας την υπόθεση ότι η μεταβολική διαταραχή μπορεί να αποτελεί πρώιμο εύρημα σε αυτά τα άτομα. Το ενδοπερικαρδιακό ($7,8 \pm 3,1$ έναντι $5,9 \pm 2,5 \text{ cm}^2$, $p < 0,05$) και εξωπερικαρδιακό ($11,7 \pm 6,1$ έναντι $7,8 \pm 3,2 \text{ cm}^2$, $p < 0,03$) λίπος ήταν αυξημένο στους άνδρες με NAFLD.

Φαίνεται λοιπόν ότι το μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση αλλά και με διαταραχή του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού. Πιθανολογείται ως ενδιάμεσος κρίκος η παραγωγή από το ήπαρ αθηρωματογόνων παραγόντων, φλεγμονωδών κυτοκινών και παραγόντων πήξεως. Οι παρατηρήσεις αυτές έχουν μεγάλη κλινική και επιδημιολογική σημασία καθώς η παχυσαρκία έχει λάβει επιδημικές διαστάσεις και ο επιπολασμός του NAFLD είναι 20-30% στο γενικό πληθυσμό και 70-80% στους διαβητικούς ασθενείς. Οι θεραπευτικοί στόχοι βελτίωσης των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου θα πρέπει να περιλαμβάνουν την πρόληψη και την θεραπεία του NAFLD. Για το σκοπό αυτό θα χρειαστούν καλά σχεδιασμένες, μακροχρόνιες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες παρέμβασης.

Summary

The prevalence of obesity has been doubled during the last decades. Fat cell dysfunction is a primary disorder in obesity and substrate for the development of metabolic disorders like insulin resistance, diabetes mellitus type 2, fatty liver disease, hypertension, dyslipidemia, atheromatosis, respiratory disorders and cancer. Ectopic fat accumulation may be considered as a result of fatty tissue disorder caused by alterations in cell composition, increased disposition of fat and insulin resistance at the level of fat cell together with increased release of proinflammatory and atherogenic adipokines.

Magnetic resonance spectroscopy techniques have been applied to study in vivo metabolic pathways in different organs and tissues. This technique uses the same principles of magnetic resonance imaging but gives the opportunity to study the biochemistry of the tissue in molecular level. In the following studies proton magnetic resonance spectroscopy is used in order to assess intrahepatic fat accumulation and phosphorus magnetic resonance spectroscopy is used in order to study energy metabolism at the level of the heart.

In adolescents as in adults, obesity is associated with abnormal glucose and lipid homeostasis. We used ¹H magnetic resonance spectroscopy in order to assess quantitatively and noninvasively intrahepatic fat content in obese adolescents (Study 1). We studied 54 severe obese adolescents with BMI >99TH percentile for age and sex and we found that in obese adolescents 1) NAFLD is a common feature affecting 30% of our population, 2) NAFLD is associated with a rearrangement of whole body substrate oxidative disposal, and 3) NAFLD is associated with an impairment of whole body insulin sensitivity and of glucose homeostasis when compared with obese adolescents with normal IHF content.

Animal model studies suggest that the adipokine hormone resistin may be involved in the pathogenesis of insulin resistance, but this theory is not yet proved to be a fact in humans. Human studies support the role of resistin as a potential mediator in inflammatory processes.

The second study was undertaken in order to clarify the relationship of the hepatic fat accumulation with the circulating resistin levels. We studied 28 individuals known to have

excessive hepatic fat content and 47 individuals comparable for the anthropometric features but with normal IHF content, served as control subjects. Hepatic fat accumulation was assessed by 1H-MRS. If resistin was involved in the development of insulin resistance, we would expect that insulin resistant subjects with ectopic fat accumulation would have increased resistin levels. Our findings are in contrast with that theory. Resistin concentrations were lower in the individuals with excessive IHF content ($3,4 \pm 0,8$ έναντι $3,9 \pm 1,0$ ng/ml, $p < 0,02$) and serum resistin had an inverse association with the IHF content ($r = -0,35$, $p < 0,003$). Our work is in contrast with liver biopsy derived data showing that patients with NAFLD and NASH have increased circulating resistin levels and increased expression in the sc adipose tissue.

Cardiovascular disease is the leading cause of death in patients with type 2 diabetes. Heart is another organ whose metabolism may be influenced by insulin resistance. It was proposed that altered metabolism and impaired insulin action in the heart might be cause and consequence of altered cardiac function and that metabolic remodeling in diabetes might precede, cause and sustain the functional and structural/geometrical remodeling of the heart. Cardiac energy metabolism was found to be abnormal in patients with type 2 diabetes despite the lack of major cardiac dysfunctions or the presence of diastolic dysfunction.

The study (study 3) was undertaken to assess whether obesity was associated with impaired cardiac structure/geometry, function and energy metabolism. We studied 81 apparently healthy men (BMI $18-35$ Kg/m²) with 31P MRS cardiac MRI and we found that the same alteration of the LV energy metabolism affecting type 2 diabetic patients was manifested in young overweight/obese individuals in the absence of established comorbid conditions. Overweight/obese individuals had lower PCr/ATP ratio in the absence of major LV dysfunctions. Pearson correlation analysis showed that PCr/ATP ratio was associated with BMI ($r = -0,26$, $p = 0,022$), fasting plasma glucose ($r = -0,32$, $p = 0,01$), insulin ($r = -0,32$, $p = 0,012$), leptin ($r = -0,28$, $p = 0,039$), Adult Treatment Panel III defined criteria of metabolic syndrome ($r = -0,29$, $p = 0,012$), HOMA-S% ($r = 0,44$, $p = 0,001$), HOMA2 ($r = 0,34$, $p = 0,007$) and physical activity index ($r = 0,27$, $p = 0,035$). This finding supports the hypothesis that metabolic remodeling in insulin resistant states precedes the onset of frank hyperglycemia and the development of major functional and structural/geometrical remodeling of heart in a way that insulin resistance may be a relevant factor to reduced PCr/ATP ratio.

Few insights are available about cardiac metabolism in patients with NAFLD because of the difficulties of studying noninvasively in vivo cardiac metabolism in humans. In the fourth study we tested whether abnormalities of 1) left ventricular morphology, 2) intrapericardial and extrapericardial mediastinal fat content, 3) LV systolic and diastolic functions and 4) resting LV energy metabolism may be detected in young, nondiabetic men with a newly finding of excessive IHF content when compared with individuals carefully matched for anthropometric features and with normal IHF content.

The PCr/ATP ratio assessed by means of ³¹P MRS was reduced in patients with excessive IHF content in comparison with normals ($1,84 \pm 0,34$ versus $2,11 \pm 0,32$, $p = 0,016$). This finding suggests that in the resting state the high energy phosphates' metabolism of the LV of patients with NAFLD is impaired. This alteration was detected despite normal morphology or systolic and diastolic function, supporting the hypothesis that the metabolic defect may be an early alteration in the LV of these individuals. The imaging data suggest that an associated alteration was a greater amount of epicardial fat as a feature of visceral adiposity. Intrapericardial fat ($7,8 \pm 3,1$ versus $5,9 \pm 2,5$ cm², $P < 0.05$) and extrapericardial fat ($11,7 \pm 6,1$ versus $7,8 \pm 3,2$ cm², $P < 0.03$) was increased in men with NAFLD.

NAFLD is associated with insulin resistance and alteration of cardiac energy metabolism. Possible mediators are several atherogenic factors, inflammatory cytokines, coagulation factors which are overproduced by the liver. As the prevalence of obesity is increasing and the prevalence of NAFLD is 20-30% in the general population and even higher among diabetics (70-80%) these observations are very important clinically. In order to improve the cardiovascular risk factors we should pay particular attention in the prevention and treatment of NAFLD. For that reason well-designed intervention studies, randomized clinical trials and long-term follow-up studies should be designed.

Συντομογραφίες

FFA, ΕΛΟ, ελεύθερα λιπαρά οξέα

NAFLD, μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ

NASH, μη αλκοολικής αιτιολογίας στεατοηπατίτιδα

ΣΔ2, Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

PAI ,δείκτης φυσικής δραστηριότητας

IHF, ενδοηπατικό περιεγόμενο λίπους

IMCL ,ενδομυοκυτταρική συγκέντρωση λίπους

WBISI, δείκτης ινσουλινικής ευαισθησίας όλου του σώματος

MRI, μαγνητική τομογραφία απεικόνισης

NMR, πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός

¹H MRS, πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων υδρογόνου

³¹P MRS, πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου

PCr/ATP ratio, αναλογία φωσφοκρεατίνης/τριφωσφορικής αδενοσίνης

REE, ενεργειακή κατανάλωση στην ηρεμία

RQ, αναπνευστικό πηλίκο

TG, τριγλυκερίδια

CRP, C -αντιδρώσα πρωτεΐνη

TNF, Παράγοντας νέκρωσης όγκων

PAI-1, Αναστολέας ενεργοποιητού πλασμινογόνου

HOMA, Homeostatic model Assessment, εκτίμηση του μοντέλου ομοιόστασης

HOMA S της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και HOMA B της εκκριτικής ικανότητας του β παγκρεατικού κυττάρου

BMI, δείκτης μάζας σώματος

ALT, αλανινική αμινοτρανσφεράση

AST, ασπαρτική αμινοτρανσφεράση

HDL χοληστερόλη, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

LDL, χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

VLDL, πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

OGTT, από του στόματος δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

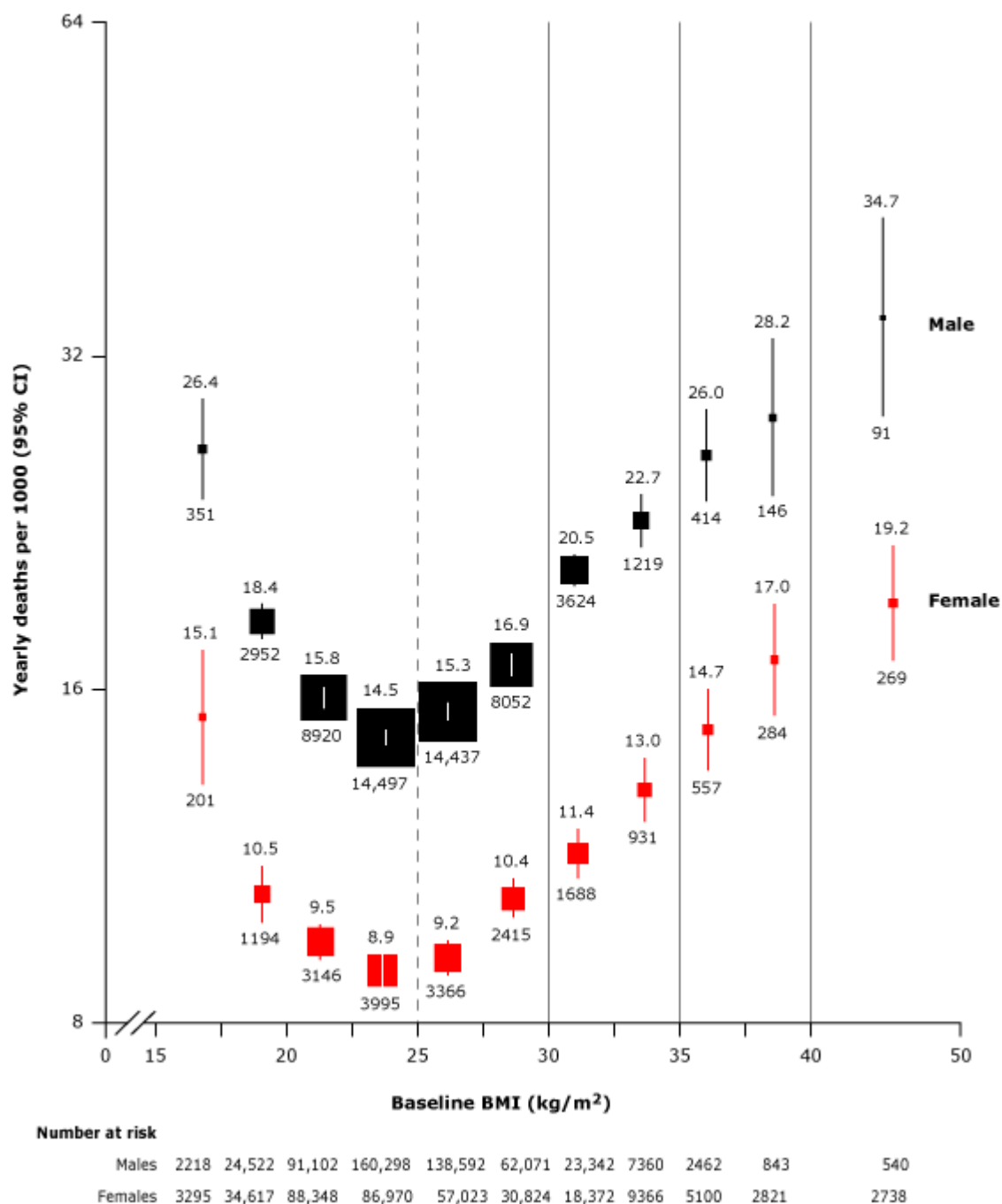
1.1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Επιδημιολογικά δεδομένα

Στις Η.Π.Α ο επιπολασμός της παχυσαρκίας διπλασιάστηκε τις τελευταίες δύο δεκαετίες με συνέπεια το 56% του ενήλικα πληθυσμού να είναι υπέρβαροι ή παχύσαρκοι. Τα παιδιά και οι έφηβοι αποτελούν μέρος της επιδημίας αυτής, αφού το 16% αυτών είναι υπέρβαρα. Στην Ευρώπη, η μελέτη MONICA (The Monitoring trends and determinants in Cardiovascular disease project) έδειξε ότι ο επιπολασμός της παχυσαρκίας αυξήθηκε την τελευταία δεκαετία και κυμαίνεται από 15-25% στους άνδρες και 10-35% στο γυναικείο πληθυσμό, με το μεγαλύτερο ποσοστό να αφορά άνδρες και γυναίκες της Ανατολικής Ευρώπης. Στην Ελλάδα σύμφωνα με την IASO (International Association for the Study of Obesity) το 2003 σε πληθυσμό 17,341 ατόμων ηλικίας 20-70 ετών, το 41,2% των ανδρών και το 29,9% των γυναικών είχαν BMI 25-29,9 Kg/m², ενώ BMI >30 Kg/m², είχαν το 26% και το 18,2 % αντίστοιχα. Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας ο αριθμός των υπέρβαρων και παχύσαρκων αναμένεται να φτάσει το 1,5 δισεκατομμύριο έως το 2015.

Θνητότητα λόγω παχυσαρκίας

Σχήμα 1.1 Σχέση θνητότητας (από όλα τα αίτια) με το BMI για κάθε φύλο στο εύρος 15-50 kg/m².



Από Whitlock, G, Lewington, S, Sherliker, P, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900,000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. Lancet 2009; 373:1083.

Η παχυσαρκία αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία και σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα (2-5). Είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για 4 από τις 8 κύριες αιτίες θανάτου στις ΗΠΑ, τη στεφανιαία νόσο, τις νεοπλασίες, τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, και το σακχ.διαβήτη τύπου 2. Το οικονομικό κόστος αντιμετώπισης της παχυσαρκίας και των επιπλοκών της είναι τεράστιο. Η δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού και του λιποκυττάρου αποτελούν πρωτογενή ελαττώματα στην παχυσαρκία και υπόστρωμα για την ανάπτυξη διαταραχών όπως η ινσουλινική αντίσταση, ο τύπου 2 σακχαρώδης διαβήτης, το λιπώδες ήπαρ, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η αθηρωμάτωση, οι αναπνευστικές διαταραχές και οι κακοήθειες. Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας στην παιδική ηλικία έχει διπλασιαστεί τα τελευταία 20 χρόνια στον Καναδά, τις ΗΠΑ, την Ευρώπη και την Αυστραλία (7). Εκτός από τις ψυχολογικές συνέπειες και άλλα σημαντικά προβλήματα υγείας, που σχετίζονται με την παχυσαρκία, συναντώνται στα υπέρβαρα και παχύσαρκα παιδιά όπως η υπέρταση, ο τύπου 2 σακχαρώδης διαβήτης, η υπνική άπνοια, οι αρθροπάθειες και η χρόνια νεφρική δυσλειτουργία, ενώ αποτελεί σημαντικό πρώιμο παράγοντα κινδύνου για αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα στην ενήλικη ζωή.

Η δραματική αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας και οι αλλαγές του τρόπου ζωής συνοδεύονται από σημαντική αύξηση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (8). Εκτιμάται, ότι παγκοσμίως ο συνολικός αριθμός των ενηλίκων με ΣΔ 2 το 2030 θα ανέλθει στα 366 εκατομμύρια. Το έτος 2000 ο σακχ.διαβήτης τύπου 2 ήταν η 6^η αιτία θανάτου στις ΗΠΑ (61). Η μελέτη ATTICA έδειξε ότι ο επιπολασμός του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 στον ελληνικό πληθυσμό είναι 7,6% στους άνδρες και 5,9% στις γυναίκες (9).

Πολλές από τις μεταβολικές και καρδιαγγειακές διαταραχές της παχυσαρκίας είναι ήδη παρούσες στην παιδική ηλικία και σχετίζονται στενά με την παρουσία ινσουλινικής αντίστασης /υπερινσουλιναιμίας, που είναι η πιο συχνή διαταραχή στην παχυσαρκία. Στους ενήλικες είναι γνωστό ότι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια πολλών ετών, όπου προηγείται η διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη, η οποία είναι το ενδιάμεσο στάδιο της φυσικής ιστορίας του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για την ανάπτυξη του και την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η μετάβαση από τη φυσιολογική στην διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και εν συνεχεία στο διαβήτη σχετίζεται με τη σημαντική αύξηση του σωματικού βάρους (27). Λίγα είναι γνωστά για την ανάλογη κατάσταση στην παιδική ηλικία. Η διαταραχή ανοχής της γλυκόζης είναι συχνή μεταβολική επιπλοκή στα παιδιά

και στους εφήβους με παχυσαρκία (12) και σχετίζεται με σοβαρή ινσουλινική αντίσταση, δυσλειτουργία του β-κυττάρου και αλλαγή στην κατανομή του κοιλιακού και μυϊκού λίπους (30). Η πρόωπη εμφάνιση του ΣΔ 2 σε νεαρή ηλικία δείχνει, ότι η μετάβαση από τη διαταραχή ανοχής της γλυκόζης στο σακχ.διαβήτη μπορεί να είναι επιταχυνόμενη διαδικασία στους νέους. Η στενή συσχέτιση του ΣΔ2 με τα καρδιαγγειακά νοσήματα οδήγησε στην υπόθεση, ότι και οι δύο καταστάσεις έχουν κοινό πρόγονο. Η θεωρία αυτή αφορά το μεταβολικό σύνδρομο, όπου σύμφωνα με το NCEP ATP III panel τα άτομα που συγκεντρώνουν τουλάχιστον 3 από τα επόμενα 5 κριτήρια θεωρείται, ότι πάσχουν από μεταβολικό σύνδρομο, 1) αυξημένη αρτηριακή πίεση, 2) αυξημένα τριγλυκερίδια, 3) χαμηλή HDL χοληστερόλη, 4) υψηλά επίπεδα γλυκόζης νηστείας, 5) κεντρική παχυσαρκία. Εξαιτίας της μεγάλης επίπτωσής του το μεταβολικό σύνδρομο έχει μεγάλη σημασία για την δημόσια υγεία, ακόμα και στα πρώιμα στάδιά του. Δεν υπάρχουν καθιερωμένα κριτήρια για τη διάγνωσή του στα παιδιά. Η αυξημένη επίπτωσή του σε νέους εφήβους είναι ιδιαίτερα ανησυχητική, γιατί μπορεί να οδηγήσει σε επιδημία πρόωρης καρδιαγγειακής νόσου στις μέλλουσες γενιές των νέων ενηλίκων.

Πίνακας 1.1 NCEP-ATP III κριτήρια για το Μεταβολικό Σύνδρομο. Απαιτείται η παρουσία 3 ή περισσότερων από τα ακόλουθα κριτήρια:

• Γλυκόζη πλάσματος νηστείας (>110 mg/dL)
• Κεντρικού τύπου παχυσαρκία, περίμετρος μέσης >102 εκ για τους άνδρες και >88 εκ για τις γυναίκες
• Αρτηριακή υπέρταση $\geq$ 130/85 mmHg
• Τριγλυκερίδια $\geq$150 mg/dl
• HDL < 40 mg/dL για άνδρες και < 50 mg/dL για γυναίκες

1.2 ΙΝΣΟΥΛΙΝΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ

Η παρακολούθηση γυναικών μέσης ηλικίας στην Nurses Health Study και ανδρών στην Health Professionals Follow up Study για 10 χρόνια έδειξε καθαρά, ότι ο κίνδυνος για την ανάπτυξη ΣΔ2 αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση του σωματικού βάρους (13-14). Ο χαμηλότερος κίνδυνος σχετιζόταν με $BMI < 22 \text{ kg/m}^2$. Σε $BMI > 35 \text{ kg/m}^2$ ο σχετικός κίνδυνος για την ανάπτυξη ΣΔ2 αυξανόταν σημαντικά και ήταν μεγαλύτερος, αν συνυπήρχε έλλειψη φυσικής δραστηριότητας. Συνδετικός κρίκος μεταξύ παχυσαρκίας και ΣΔ2 είναι το γεγονός, ότι η υπερβολική εναπόθεση λίπους προκαλεί ινσουλινική αντίσταση, δηλαδή μειωμένη δραστηριότητα της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς.

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η παχυσαρκία αυξάνει την ινσουλινική αντίσταση θεωρείται, ότι σχετίζεται με την αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων, την αλλαγή στα επίπεδα των λιποκινών, την αλλαγή στην κατανομή του λίπους ή συνδυασμό και των τριών αυτών παραγόντων. Η ινσουλινική αντίσταση στους ανθρώπους όμως δεν συνοδεύεται πάντα από παχυσαρκία, αφού σοβαρή ινσουλινική αντίσταση χαρακτηρίζει και τους ασθενείς, που δεν έχουν υποδόριο λίπος όπως αυτοί με HAART λιποδυστροφία (213).

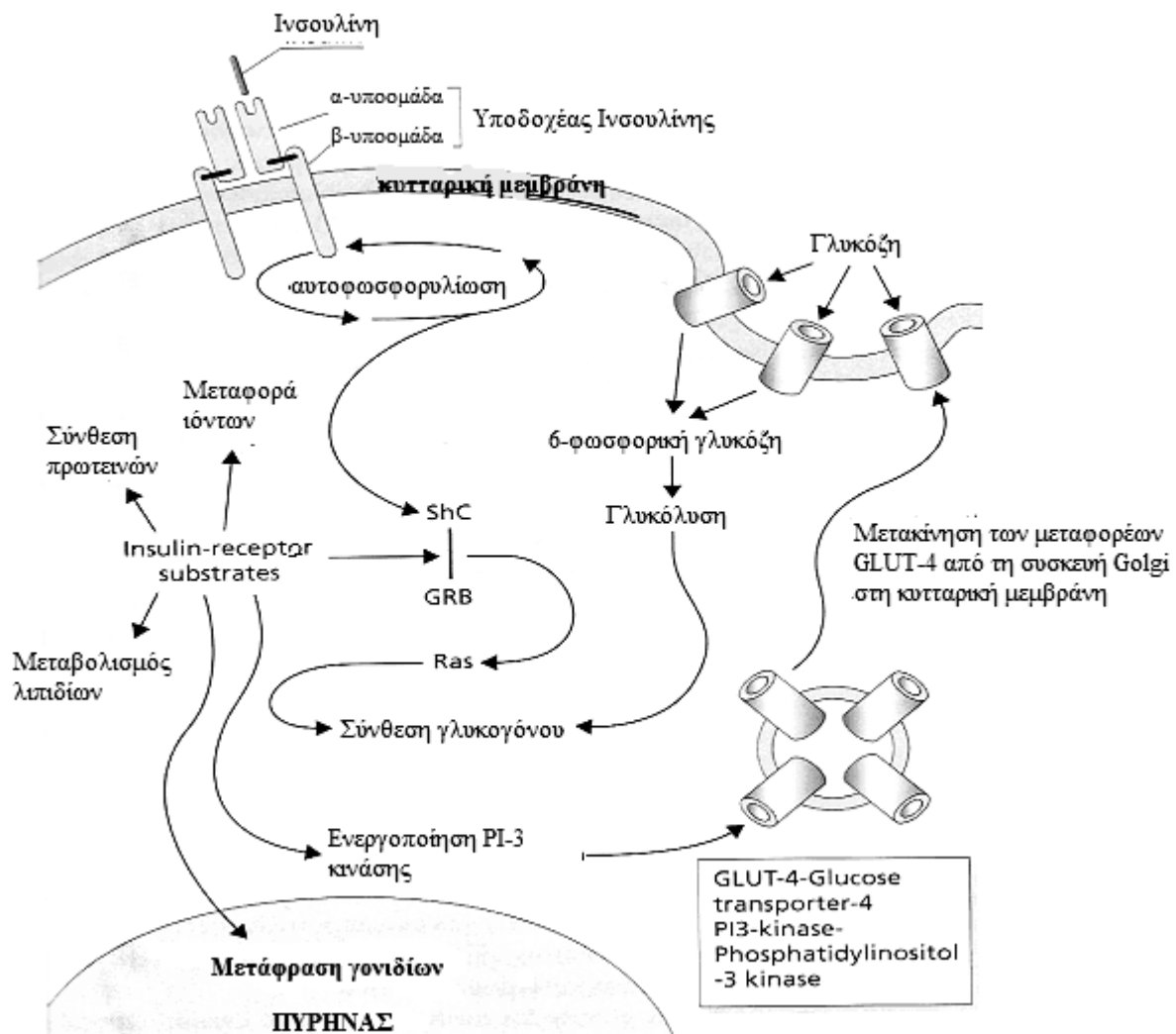
Δράση ινσουλίνης

Η ινσουλίνη παράγεται στα β κύτταρα του παγκρέατος. Προέρχεται από μεγαλύτερο πρόδρομο μόριο την προινσουλίνη, που σχηματίζεται στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο του β-κυττάρου από αμινοξέα. Αρχικώς συντίθεται ένα μεγάλο μόριο η προ-προινσουλίνη από το οποίο όμως γρήγορα αποσπάται μία πεπτιδική αλυσος και μένει η προινσουλίνη. Η προινσουλίνη αποτελείται από τις δύο πεπτιδικές αλυσους της ινσουλίνης, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με ένα συνδετικό πεπτίδιο (c-peptide). Η προινσουλίνη μέσα σε μικροφουσαλίδες φέρεται στην συσκευή του Golgi όπου και εγκλείεται στα εκκριτικά κοκκία. Μέσα στα εκκριτικά κοκκία η προινσουλίνη διασπάται ενζυμικώς και σχηματίζεται η ινσουλίνη. Τα εκκριτικά κοκκία κινούνται προς την κυτταρική μεμβράνη μέσα από ένα σύστημα συσταλτών μικροσωληναρίων. Όταν το β-κύτταρο διεγερθεί για να εκκρίνει ινσουλίνη, ένα μικροδίκτυο από συσταλτά ινίδια προωθεί την κίνηση των εκκριτικών κοκκίων, τη σύντηξή τους με την κυτταρική μεμβράνη και την έκχυση της ινσουλίνης στον εξωκυττάριο χώρο.

Το κύριο ερεθίσμα για την έκκριση ινσουλίνης είναι η γλυκόζη. Η είσοδος της γλυκόζης στο β-κύτταρο δεν απαιτεί την δράση της ινσουλίνης αλλά ακολουθεί την διαφορά πυκνοτήτων της μεταξύ του πλάσματος και του κυτταροπλάσματος και γίνεται μέσω του μεταφορέως γλυκόζης GLUT-2. Ακολουθεί η φωσφορυλίωσή της με τη δράση της γλυκοκινάσης και ο περαιτέρω μεταβολισμός της, ο οποίος συνεπάγεται την αύξηση του ενδοκυτταρίου ATP. Η αύξηση αυτή οδηγεί στο κλείσιμο των ευαίσθητων στο ATP διαύλων καλίου με αποτέλεσμα την αναστολή εξόδου ιόντων καλίου και την ως εκ τούτου ηλεκτρική εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των ευαίσθητων στο ηλεκτρικό δυναμικό διαύλων ασβεστίου και την είσοδο ασβεστίου στο β-κύτταρο, αύξηση της πυκνότητάς του στον ενδοκυττάριο χώρο και πυροδότηση του εκκριτικού μηχανισμού των εκκριτικών κοκκίων της ινσουλίνης.

Η έκκριση της ινσουλίνης από το β-κύτταρο κατά την νηστεία δεν είναι συνεχής αλλά κυμαινόμενη με ώσεις κατά 10-15 λεπτά. Η έκκριση μετά τη δράση του γλυκαιμικού ερεθίσματος είναι διφασική. Η αρχική φάση είναι μικρής διάρκειας (λίγων λεπτών) κατά την οποία εκκρίνεται μεγάλη ποσότητα αποθηκευμένης ινσουλίνης ακολουθείται δε από τη δεύτερη φάση, η οποία διαρκεί όσο και η δράση του ερεθίσματος κατά την οποία εκκρίνεται τόσο η αποθηκευμένη όσο και η νεοσυντιθέμενη ινσουλίνη. Η ινσουλίνη εκκρινόμενη από το β-κύτταρο φέρεται στην πυλαία φλέβα όπου η πυκνότητά της είναι 5-10 φορές μεγαλύτερη από ότι στις περιφερικές φλέβες. Εν συνεχεία φέρεται στο ήπαρ όπου κατακρατείται το 50%, το δε υπόλοιπο δια μέσου της ηπατικής φλέβας φθάνει στην συστηματική κυκλοφορία.

Η ινσουλίνη έχει πολύ βραχύ χρόνο ημισείας ζωής στην κυκλοφορία διότι αποδομείται μέσω ενζυμικών συστημάτων. Διέρχεται το τοίχωμα των τριχοειδών αφού συνδεθεί με υποδοχείς (διακυττάρωση) και φθάνει στον εξωκυττάριο χώρο, ώστε να έλθει σε επαφή με τα κύτταρα και να εκδηλώσει τη δράση της. Το πρώτο βήμα για να δράσει η ινσουλίνη στο κύτταρο-στόχο είναι η σύνδεσή της με ειδικό υποδοχέα που βρίσκεται στην έξω επιφάνεια της μεμβράνης του κυττάρου.



Σχήμα 1.2. Σύνδεση της ινσουλίνης στον υποδοχέα της και ενδοκυττάρια γεγονότα που ακολουθούν τη σύνδεση. Μετά τη σύνδεση στην α-υποομάδα του υποδοχέα, αυτός ενεργοποιείται με αυτοφωσφορυλίωση της β-υποομάδας και στη συνέχεια ενεργοποίηση του συστήματος των IRS1-4 (Insulin Receptor Substrates), που αποτελούν τον πρωταρχικό στόχο σήματος της ορμόνης. Οι ενεργοποιημένες IRS συμβάλλουν άμεσα στη πρωτεϊνοσύνθεση, στη μεταφορά ιόντων, στη μετάφραση γονιδίων και στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Ταυτόχρονα με τη φωσφορυλίωση του συστήματος Shc (src-homology-2 domain proteins) ενεργοποιούνται τα συστήματα GRB (Growth factor Receptor Binding protein) και Ras (rat sarcoma protein), που οδηγούν στην γλυκογονοσύνθεση. Η μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης μέσω του υποδοχέα κυρίως συμβάλλει στη είσοδο της γλυκόζης στο κύτταρο και το μεταβολισμό της. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ενεργοποίησης της PI3 κινάσης και τη μετακίνηση των GLUT4 μεταφορέων της γλυκόζης από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη. (A.J. Krentz, *Insulin Resistance*. Blackwell publ, 2002. p.7).

Ο υποδοχέας της ινσουλίνης είναι ένα τετραμερές, που αποτελείται από 2 α και 2 β υποομάδες. Οι β-υποομάδες είναι διαμεμβρανικές πρωτείνες με δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης. Λειτουργικά ο υποδοχέας ινσουλίνης συμπεριφέρεται σαν κλασσικό αλλοστερικό ένζυμο του οποίου η α-υπομονάδα αναστέλλει την ενδογενή δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης της β-υπομονάδας. Η πρόσδεση της ινσουλίνης στην εξωκυττάρια α-υπομονάδα καθώς και η ενζυμική ή γενετική απάλειψη της α-υπομονάδας αίρει την αναστολή και επιτρέπει την αλλαγή της στερεοδομής της β-υπομονάδας, η οποία αυτοφωσφορυλιώνεται σε τυροσίνες που υπάρχουν σε συγκεκριμένες θέσεις στην ενδοκυττάρια μοίρα και αποκτά ιδιότητες κινάσης της τυροσίνης. Εν συνεχεία πυροδοτείται ένας καταρράκτης αντιδράσεων, που περιλαμβάνουν την φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διάφορων ενδοκυττάρων μορίων καθένα από τα οποία σαν δεύτερος αγγελιοφόρος προάγει και διαφορετική δράση της ινσουλίνης όπως την μεταφορά της γλυκόζης και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Ανάμεσα σε αυτά τα ενεργοποιημένα ενδοκυττάρια μόρια είναι ο IRS-1 (σημαντικός για τη σύνθεση του γλυκογόνου στους μύες) και ο IRS-2 (μέσω του οποίου δρά η ινσουλίνη στον ηπατικό μεταβολισμό της γλυκόζης, τη γλυκονεογένεση και το σχηματισμό του γλυκογόνου). Η ενεργοποίηση της φωσφατιδυλο-ινοσιτολ-3 κινάσης (PI3-κινάσης) καταλήγει στη διέγερση της μεταφοράς της γλυκόζης και την ενεργοποίηση της συνθάσης του γλυκογόνου. Η ενεργοποίηση του IRS-1 ενεργοποιεί την μιτογόνο οδό της MAPK, η οποία προωθεί την κυτταρική αύξηση και τον πολλαπλασιασμό.

Η ινσουλίνη δρα τόσο στα κύτταρα του μυϊκού ιστού όσο και στα λιποκύτταρα. Στόχος της δράσης της είναι η διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από τα κύτταρα. Στο μυϊκό κύτταρο η γλυκόζη διέρχεται την μεμβράνη με τη βοήθεια της ινσουλίνης. Μέσα στο μυϊκό κύτταρο η γλυκόζη φωσφορυλιώνεται και μεταβολίζεται στον κύκλο του Krebs όπου παράγεται ενέργεια αναγκαία για τη λειτουργία των μυϊκών κυτάρων. Η περίσσεια της γλυκόζης θα γίνει γλυκογόνο -μέσω της διέγερσης του ενζύμου συνθετάσης του γλυκογόνου και της αναστολής της φωσφορυλάσης- το οποίο αποτελεί αποθήκη ενέργειας για το μυϊκό κύτταρο. Περίπου 500-600 γρ γλυκογόνου είναι αποθηκευμένα στο μυϊκό ιστό ενός άνδρα 70 ετών. Η ινσουλίνη στο μυϊκό ιστό αυξάνει τη μεταφορά των αμινοξέων και προωθεί την πρωτεϊνοσύνθεση στα ριβοσώματα.

Στο λιπώδη ιστό η ινσουλίνη αυξάνει την αποθήκευση των τριγλυκεριδίων με ένα πλήθος μηχανισμών: 1) προάγει την ενεργοποίηση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, που βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του λιπώδους ιστού και στα αγγεία και οδηγεί στην υδρόλυση των τριγλυκεριδίων από τις κυκλοφορούσες λιποπρωτείνες προς λιπαρά οξέα και γλυκερόλη, που

εισάγονται στο λιποκύτταρο και εστεροποιούνται σε τριγλυκερίδια 2) αυξάνει τη μεταφορά της γλυκόζης μέσα στα λιποκύτταρα και τη διαθεσιμότητα της α-φωσφορικής γλυκερόλης ουσίας, που χρησιμεύει στην εστεροποίηση των ΕΛΟ σε τριγλυκερίδια 3) τα τριγλυκερίδια διατηρούνται μέσα στο λιποκύτταρο με τη βοήθεια της ινσουλίνης, η οποία αναστέλλει την ενδοκυττάρια ορμονοευαίσθητη λιπάση με συνέπεια την καταστολή της λιπόλυσης και της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων. Η δράση της αυτή αποτελεί ρυθμιστικό σημείο και μειώνει την παροχή ελεύθερων λιπαρών οξέων προς το ήπαρ και κατά συνέπεια την ηπατική γλυκονεογένεση και κετογένεση. Στο λιποκύτταρο η γλυκόζη διέρχεται το τοίχωμα με τη βοήθεια της ινσουλίνης.

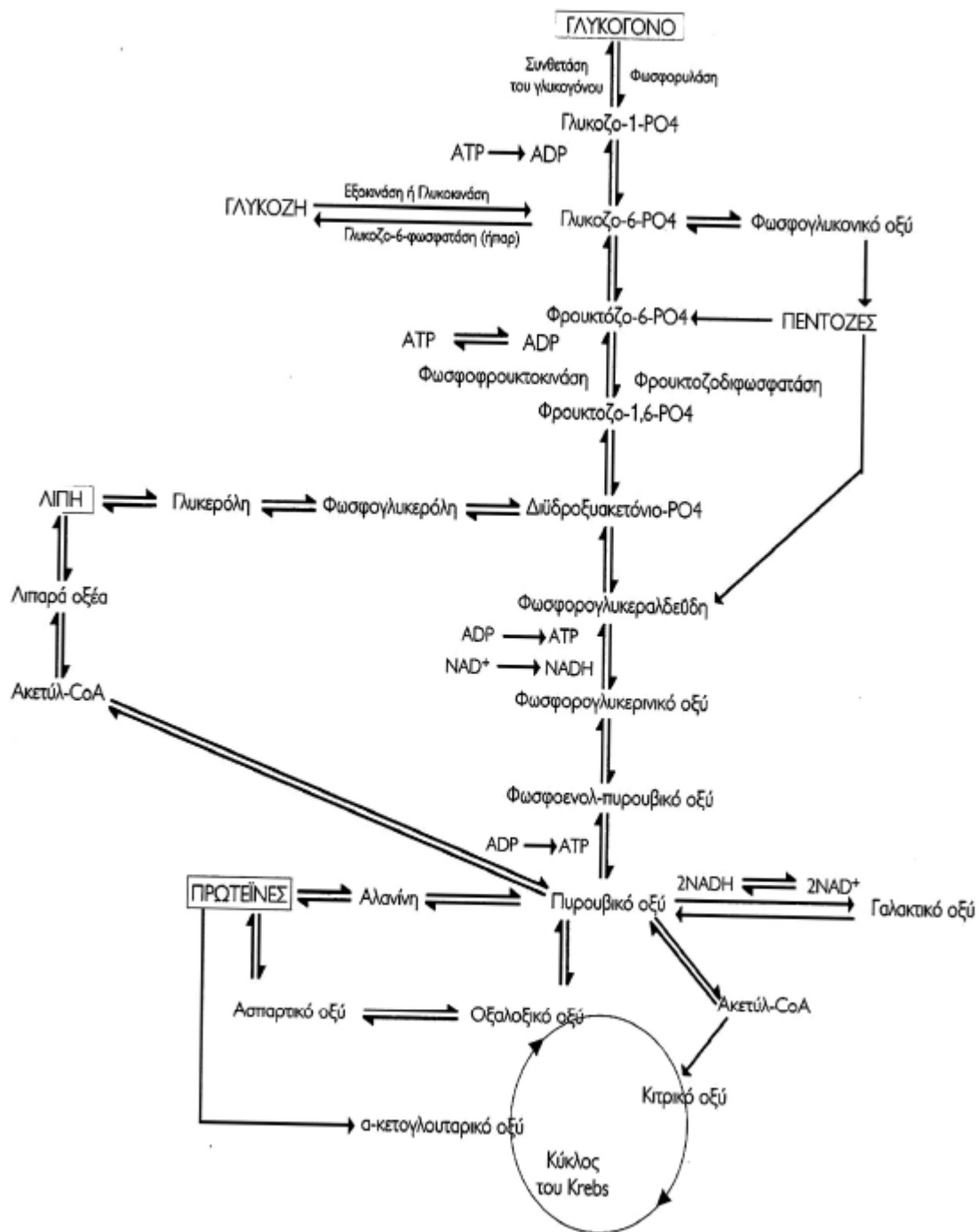
Άλλα κύτταρα στόχοι της ινσουλίνης είναι τα ηπατοκύτταρα. Το ήπαρ παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης, των λιπαρών οξέων και των αμινοξέων. Είναι κύρια πηγή γλυκονεογένεσης, εστεροποίησης και οξειδωσης των λιπαρών οξέων και μεταβολισμού των αμινοξέων. Στο ήπαρ γίνεται η αποδόμηση της ινσουλίνης. Εκεί η γλυκόζη και οι άλλες εξόζες διέρχονται ελεύθερα το τοίχωμα χωρίς να χρειάζονται τη βοήθεια της ινσουλίνης και φωσφορυλιώνονται με τη βοήθεια της γλυκοκινάσης και ανάλογων κινασών. Οι φωσφορυλιωμένες εξόζες μέσα στο ηπατικό κύτταρο μπορεί:

Α) Να μεταβολισθούν και μέσω του κύκλου του Krebs να παράγουν ενέργεια. Ο κύκλος του Krebs γίνεται στα μιτοχόνδρια των ηπατικών κυττάρων και προϋποθέτει την παρουσία οξυγόνου.

Β) Να συνθέσουν γλυκογόνο, όταν το ηπατικό κύτταρο έχει περίσσεια ενέργειας για τις λειτουργίες του (γλυκογονοσύνθεση). Για τη σύνθεση του γλυκογόνου είναι απαραίτητη η ινσουλίνη, η οποία ενεργοποιεί το ένζυμο συνθετάση του γλυκογόνου.

Γ) Να συνθέσουν λίπος, όταν το ηπατικό κύτταρο έχει κορεσθεί σε γλυκογόνο και ενέργεια.

Οι φωσφορυλιωμένες εξόζες, πριν διασπασθούν στον κύκλο του Krebs σχηματίζουν πυροσταφυλικό οξύ και όταν το ηπατικό κύτταρο έχει κορεσθεί σε ενέργεια δεν άγονται στον κύκλο του Krebs αλλά γίνονται ακετυλ συνένζυμο Α και μετά λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά οξέα συνδέονται με γλυκερόλη και σχηματίζουν μονο, δι και τριγλυκερίδια τα οποία εισάγονται στα λιποκύτταρα και συσσωρεύονται σε σταγόνες λιπιδίων. Τα τριγλυκερίδια συνδέονται με λευκώματα και σχηματίζουν λιποπρωτείνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και εξάγονται.



Σχήμα 1.3. Ο μεταβολισμός της γλυκόζης και η αλληλοσύνδεσή του με τον μεταβολισμό των λιπών και των πρωτεϊνών. (Δ. Καραμήτσος, Διαβητολογία. Εκδ. Σιώκης, 2000, σελ.5).

Ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων στο ήπαρ

Στη φυσιολογική κατάσταση τα επίπεδα σακχάρου του αίματος μεταβάλλονται σε μικρό βαθμό μέσα στα φυσιολογικά όρια τόσο στη μεταγευματική όσο και στη φάση νηστείας. Αυτός ο αυστηρός γλυκαιμικός έλεγχος είναι αποτέλεσμα της δυναμικής ισορροπίας μεταξύ της απορρόφησης γλυκόζης από το έντερο, της παραγωγής γλυκόζης από το ήπαρ και της πρόσληψης και μεταβολισμού γλυκόζης από τους περιφερικούς ιστούς.

Τα ηπατοκύτταρα εκφράζουν δεκάδες ενζύμων τα οποία ενεργοποιούνται ή αδρανοποιούνται ανάλογα με τα επίπεδα γλυκόζης αίματος. Σε φάση νηστείας αυξάνεται η ηπατική παραγωγή γλυκόζης, ώστε να διασφαλισθεί η σταθερή και επαρκής παροχή γλυκόζης στο κεντρικό νευρικό σύστημα και να διατηρηθούν φυσιολογικά τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Στη νηστεία η γλυκόζη στο αίμα είναι χαμηλή, αφού καταναλώνεται συνέχεια από τον εγκέφαλο. Η χαμηλή γλυκόζη παύει να είναι ερέθισμα για την έκκριση ινσουλίνης, ενώ ο συνδυασμός χαμηλής γλυκόζης και έλλειψης ινσουλίνης είναι ερεθίσματα για την έκκριση γλυκαγόνης από το α κύτταρο του παγκρέατος.

Στο ηπατικό κύτταρο η γλυκαγόνη και η έλλειψη ινσουλίνης ενεργοποιούν το ένζυμο φωσφορυλάση το οποίο καταλύει τη διάσπαση του αποθηκευμένου στο ηπατικό κύτταρο γλυκογόνου σε φωσφορυλιωμένες εξόζες (γλυκογονόλυση). Τα λιπαρά οξέα κατά ένα μέρος μέσω του ακετυλοCoA οξειδούνται και παράγεται ενέργεια, που δεν παράγεται πια στον κύκλο του Krebs, αφού η αερόβιος γλυκόλυση δεν λειτουργεί λόγω ελλείψεως ινσουλίνης. Κατά την οξείδωση των λιπαρών οξέων στα ηπατικά κύτταρα παράγονται οξυοξικό οξύ και β-υδροξυβουτυρικό οξύ (κετονικά σώματα).

Κατά τη μεταγευματική περίοδο η ηπατική παραγωγή γλυκόζης καταστέλλεται και το ήπαρ χρησιμοποιεί ένα ποσοστό των προσληφθέντων υδατανθράκων για να αποκαταστήσει τις αποθήκες γλυκογόνου. Όταν τα επίπεδα σακχάρου είναι υψηλά το ήπαρ έχει την ικανότητα να συνθέσει λιπίδια *de novo*. Μετά τα γεύματα η γλυκόζη και τα άλλα σάκχαρα που απελευθερώνονται ως μονοσακχαρίτες στο έντερο περνούν στα ηπατοκύτταρα μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας και του μεταφορέα γλυκόζης GLUT2, που υπάρχει στη μεμβράνη των ηπατικών κυττάρων. Αυτό επιτρέπει την είσοδο της γλυκόζης, όταν τα επίπεδά της είναι αυξημένα και την έξοδό της στις περιόδους νηστείας, όταν είναι χαμηλά. Μέσα στα ηπατοκύτταρα η γλυκόζη

μπαίνει στη διαδικασία της γλυκόλυσης και της παραγωγής ATP και της αποκατάστασης των αποθεμάτων γλυκογόνου. Όταν τα αποθέματα αυτά γεμίσουν η γλυκόζη στρέφεται προς τη σύνθεση λιπιδίων.

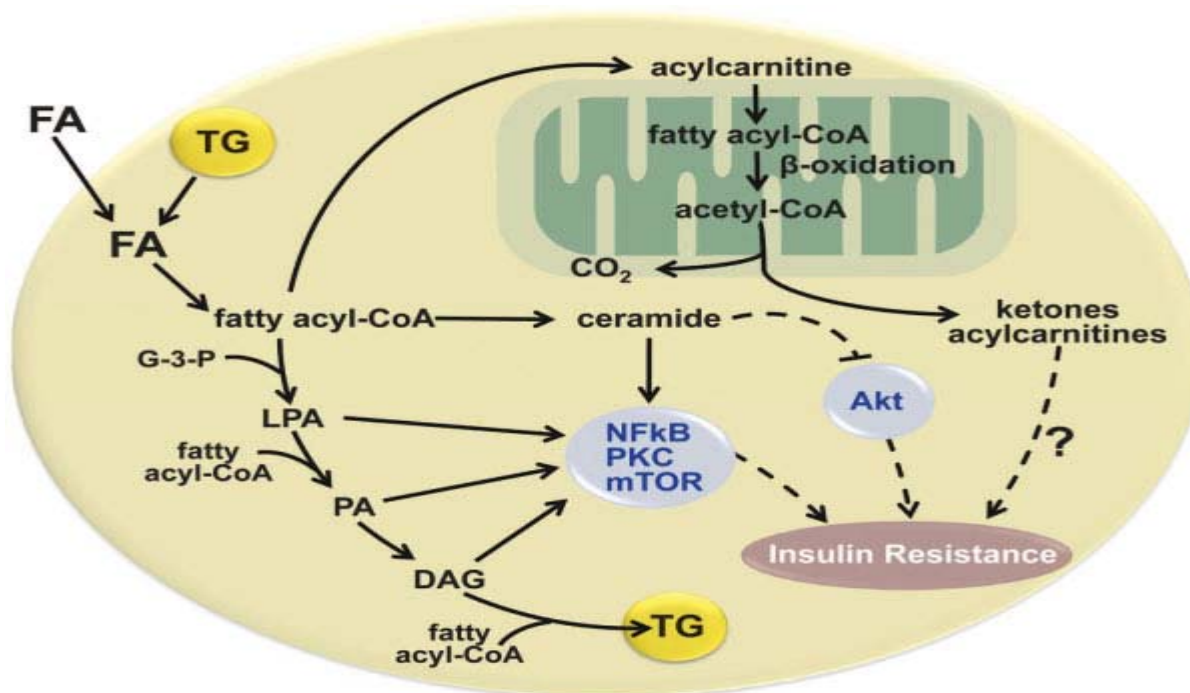
Τα ένζυμα τα οποία εμπλέκονται στις μεταβολικές αυτές οδούς ελέγχονται σε μεταγραφικό επίπεδο από την ινσουλίνη και τη γλυκαγόνη. Παράλληλα με την άμεση δράση στα ηπατοκύτταρα η ινσουλίνη αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τον μυϊκό και λιπώδη ιστό και προάγει την αποθήκευση υποστρώματος στους ιστούς αυτούς διεγείροντας τη λιπογένεση και την σύνθεση πρωτεϊνών και γλυκογόνου και αναστέλλοντας τη λιπόλυση, τη γλυκογονόλυση και τη διάσπαση πρωτεϊνών. Έτσι και έμμεσα μέσω των μεταβολών των επιπέδων αμινοξέων και γαλακτικού οξέος και κυρίως ΕΛΟ η ινσουλίνη επηρεάζει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης. Έλλειψη ινσουλίνης σχετική ή απόλυτη έχει σαν αποτέλεσμα σοβαρή δυσλειτουργία των μεταβολικών οδών και αύξηση των επιπέδων γλυκόζης και λιπιδίων αίματος τόσο νηστείας όσο και μεταγευματικά.

Η ιδέα της ινσουλινικής αντίστασης εισηγήθηκε από τον Himsworth πριν από 60 περίπου χρόνια. Ορίζεται ως η παθοφυσιολογική κατάσταση στην οποία η φυσιολογική συγκέντρωση ινσουλίνης δεν επαρκεί για να προκαλέσει φυσιολογική απάντηση ινσουλίνης σε ιστούς στόχους όπως είναι ο λιπώδης ιστός, ο μυϊκός και το ήπαρ. Κάτω από αυτές τις συνθήκες το παγκρεατικό β-κύτταρο εκκρίνει περισσότερη ινσουλίνη (υπερινσουλιναιμία) για να αντισταθμίσει την υπεργλυκαιμία σε αυτά τα άτομα. Με το πέρασμα του χρόνου η ανικανότητα του παγκρεατικού β-κυττάρου να παράγει ικανή ινσουλίνη, ώστε να διορθώσει την ιστική ινσουλινική αντίσταση οδηγεί στην εκδήλωση υπεργλυκαιμίας. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες συνδράμουν στην ανάπτυξή της. Πολλά γονίδια συμμετέχουν, ενώ περιβαλλοντικοί παράγοντες, που ενέχονται είναι η κοιλιακή παχυσαρκία, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, το κάπνισμα και το stress.

Το αίτιο της ινσουλινοαντίστασης θεωρητικά μπορεί να εντοπίζεται σε διάφορα σημεία κατά την διαδρομή μεταξύ της αναγνώρισεως του ερεθίσματος (καθήλωση στους υποδοχείς) και εκδηλώσεως της δράσεως (είσοδος της γλυκόζης στο κύτταρο) της ινσουλίνης. Πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την ανώμαλη παραγωγή ινσουλίνης, τη μείωση του αριθμού των υποδοχέων, τις μεταλλάξεις του υποδοχέα της ινσουλίνης και των υποστρωμάτων του, ανταγωνιστές ινσουλίνης, αλλά φαίνεται, ότι ανωμαλίες στην μετά τον υποδοχέα οδό σήμανσης

είναι τα κυριότερα αίτια ινσουλινικής αντίστασης στους ιστούς στόχους. Μειωμένη έκφραση και/ή μειωμένη φωσφορυλίωση των μορίων της οδού της ινσουλίνης έχουν παρατηρηθεί στους ιστούς στόχους της ινσουλίνης σε παχύσαρκους και τύπου 2 διαβητικούς. Κινάσες όπως η JNK και η PKC μπορούν να φωσφορυλιώσουν το IRS 1,2 σε ειδικές θέσεις σερίνης, θρεονίνης και να οδηγήσουν σε αναστολή της οδού σήμανσης της ινσουλίνης. Ανασταλτικοί παράγοντες όπως οι καταστολείς SOCS των κυτοκινών εμποδίζουν την μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης μέσω ανταγωνισμού με το IRS-1. Επίσης αυξημένη δραστηριότητα φωσφατασών όπως οι PTP1B και η PTEN, που αποφωσφορυλιώνουν ενδιάμεσα μόρια σηματοδότησης εμπλέκονται στην αναστολή της δράσης της ινσουλίνης. Ασχέτως μηχανισμού πρόκλησης η περιφερική ινσουλινοαντίσταση αυξάνει σημαντικά τις απαιτήσεις για έκκριση ινσουλίνης από το β-κύτταρο (υπερινσουλιναίμια), επηρεάζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης, των λιπιδίων, την αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία και την παραγωγή κυτοκινών και ορμονών.

Μελέτες σε ποντίκια knockout για τον υποδοχέα της ινσουλίνης στο μυϊκό ιστό μόνο έδειξαν μειωμένη ινσουλινοδιεγερόμενη πρόσληψη γλυκόζης αλλά φυσιολογική ομοιόσταση της γλυκόζης (22). Ποντίκια knock out για τον υποδοχέα της ινσουλίνης στο λιπώδη ιστό είχαν διαταραγμένη πρόσληψη γλυκόζης από το λιπώδη ιστό αλλά δεν παρουσίαζαν διαταραχή γλυκόζης, παχυσαρκία και δυλιπιδαιμία. Αντίθετα knockout ποντίκια για τον ινσουλινικό υποδοχέα στο ήπαρ κατέληξαν σε υπεργλυκαιμία νηστείας και μεταγευματική και την επακόλουθη ανάπτυξη περιφερικής ινσουλινικής αντίστασης. Πιθανά λοιπόν η ηπατική ινσουλινική αντίσταση να είναι το πρωτογενές γεγονός, που οδηγεί σε περιφερική ινσουλινική αντίσταση.



Σχήμα 1.4. Μηχανισμοί ηπατικής ινσουλινικής αντίστασης.

Από: Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008;118:2992-3002; and Nagle CA, Klett EL, Coleman RA. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *J Lipid Res* 2009;50(Suppl.):S74-S79.

Πιθανοί κυτταρικοί μηχανισμοί υπεύθυνοι για τη σχέση μεταξύ του μεταβολισμού των λιπαρών οξέων και της ινσουλινικής αντίστασης στο ήπαρ και το σκελετικό μυ.

Η αντίσταση στο αντιλιπολυτικό αποτέλεσμα της ινσουλίνης στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό οδηγεί σε υψηλά επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων (ΕΛΟ) στην πυλαία φλέβα. Η περίσσεια των ΕΛΟ στρέφεται σε βλαβερά μονοπάτια μη οξειδωτικού μεταβολισμού με αποτέλεσμα την ενδοκυττάρια συγκέντρωση τοξικών μεταβολιτών όπως μακράς αλύσου λιπαρών ακυλ-CoA, κεραμιδίων, λυσοφωσφατιδικού οξέος και διακυλγλυκερόλης. Αυτοί οι μεταβολίτες μπορούν να παρενοχλήσουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), του Mtor, NFkB, και της αναστολής της AKT (πρωτεϊνικής κινάσης B). Η ενεργοποίηση από την διακυλογλυκερόλη της PKC καταλήγει σε μειωμένη φωσφορυλίωση της τυροσίνης του IRS-2. Η αύξηση των ενδοκυττάρων μεταβολιτών των

λιπαρών οξέων (διακυλογλυκερόλη, ακυλοCoA) μπορεί να ενεργοποιήσει την οδό της κινάσης σερίνης – θρεονίνης και να οδηγήσει σε φωσφορυλίωση κριτικών σημείων σερίνης του υποστρώματος IRS-1. Οι φωσφορυλιωμένες μορφές του IRS 1 με σερίνη αποτυγχάνουν να ενεργοποιήσουν την PI3K και καταλήγουν στη μειωμένη μεταφορά γλυκόζης.

Η οξείδωση των ενδοκυττάρων λιπαρών οξέων αφορά στη μετατροπή των μακράς αλύσου λιπαρών ακυλ-CoA σε ακυλοκαρνιτίνες, οι οποίες μπαίνουν στα μιτοχόνδρια και προοδευτικά κονταίνουν με την οξείδωση, η οποία παράγει ακετυλ-CoA το οποίο μπορεί να μπει στον κύκλο των τρικαρβοξυλικών οξέων για την πλήρη οξείδωση. Η ατελής οξείδωση των λιπαρών ακυ-CoA αναγεννά κετονικά σώματα και ακυλκαρνιτίνες, οι οποίες επίσης έχουν αρνητικά αποτελέσματα στη δράση της ινσουλίνης. Τα ΕΛΟ και οι κυτοκίνες, ο TNF-α, η IL-1 και η IL-6 αναστέλλουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης στα ηπατικά κύτταρα μέσω και της ενεργοποίησης πρωτεϊνών SOCS και κινασών JNK, IKK-β, PKC.

1.3 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ

Ο ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ ΩΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΗΣ ΑΔΕΝΑΣ

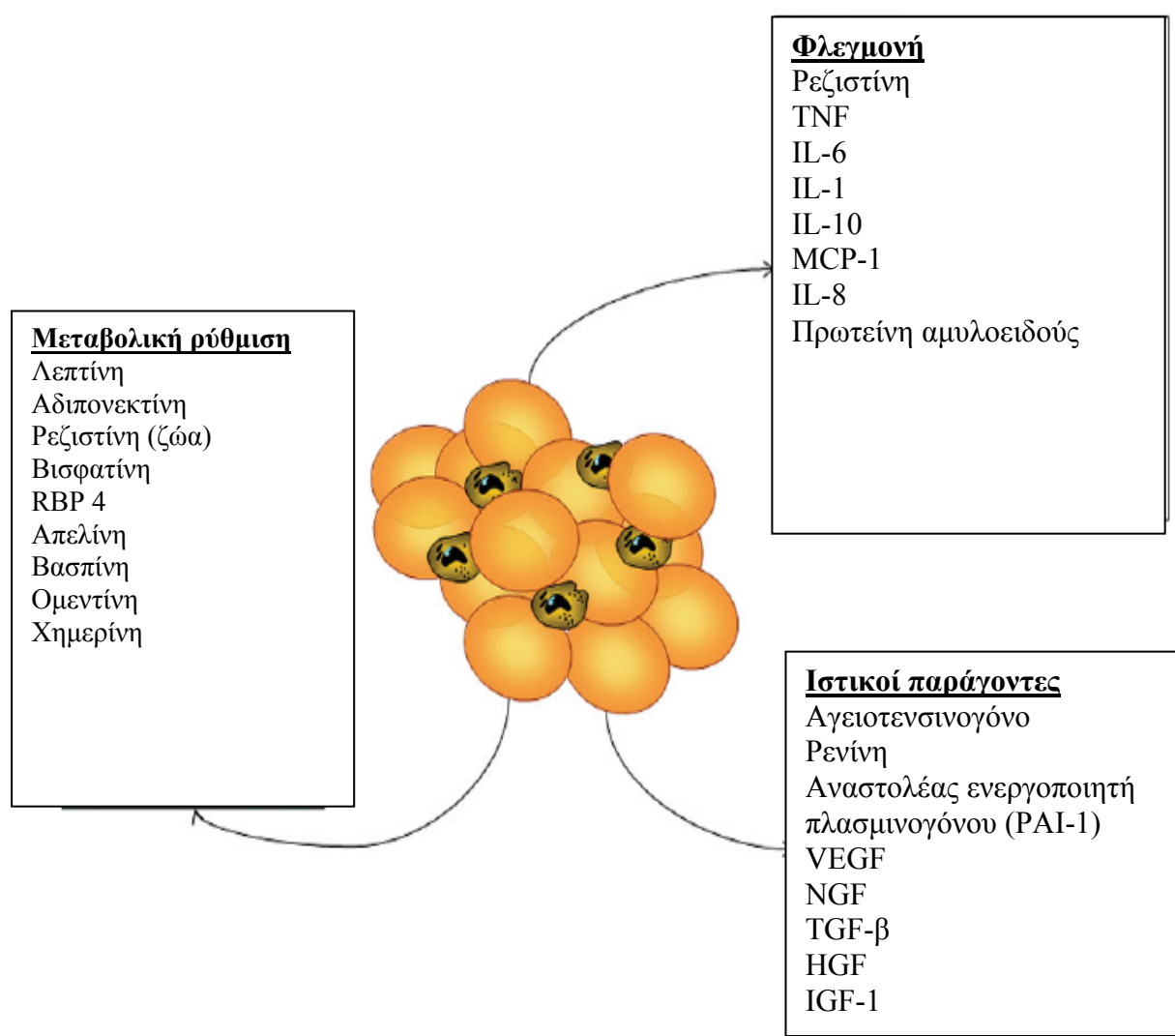
Ο λιπώδης ιστός δεν είναι απλά μία αποθήκη ενέργειας με τη μορφή των τριγλυκεριδίων, αλλά λειτουργεί ως ενδοκρινικό όργανο, που εκκρίνει πολλά πεπτίδια και κυτοκίνες τις λιποκίνες. Εκτός από τα λιποκύτταρα ο λιπώδης ιστός αποτελείται επιπλέον από κύτταρα στρώματος τα οποία περιλαμβάνουν τα μακροφάγα, τους ινοβλάστες και τα μονοκύτταρα. Όλα αυτά τα κύτταρα συνεισφέρουν στην παραγωγή λιποκινών. Κάποιες λιποκίνες εκφράζονται κατά προτίμηση στο σπλαχνικό και όχι στο υποδόριο λίπος.

<u>Υποδόριος λιπώδης ιστός</u>	<u>Σπλαχνικό λίπος</u>
Λεπτίνη	TNF α
Αδιπονεκτίνη	Βισφατίνη
Retinol binding protein 4	Ιντερλευκίνη 6
Acylation stimulating protein	Ιντερλευκίνη 8
	Αδипσίνη
	Αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1

Αγγειοτενσινογόνο

Ρεζιστίνη

Οι λιποκίνες έχουν πολλαπλές συστηματικές και τοπικές δράσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν την έναρξη απάντησης οξείας φάσης, αλλαγές στο μεταβολισμό λιποπρωτεϊνών, και την ενεργειακή ομοιοστασία, αλλαγές του εξωκυττάριου διαμερίσματος και αλλαγές στη λειτουργία του αγγειακού και ανοσοποιητικού συστήματος.



Σχήμα 1.5. Εκκριτικά προϊόντα του λιπώδους ιστού.

Σχήμα 1.6. Μεταβολικές δράσεις των λιποκινών

Λεπτίνη	Αναστολή της πρόσληψης τροφής Διέγερση της ενεργειακής κατανάλωσης Καταστολή της ηπατικής νεογλυκογένεσης Καταστολή της βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων (αναστολή της stearoyl coenzyme A desaturase) Διέγερση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στο ήπαρ και το σκελετικό μυ Διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από το σκελετικό μυ Διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης Διέγερση της έκφρασης αδιπονεκτίνης Διέγερση των προφλεγμονωδών κυτοκινών (IL6, TNFα) Καταστολή της έκφρασης ρεζιστίνης Καταστολή της έκφρασης RBP4
Αδιπονεκτίνη	Καταστολή της έκφρασης της ρεζιστίνης Καταστολή της RBP4 Καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης Καταστολή της ηπατικής λιπογένεσης Διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από το σκελετικό μυ Διέγερση της οξείδωσης λιπαρών οξέων στο ήπαρ και το σκελετικό μυ Διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης Ρύθμιση της πρόσληψης τροφής και της ενεργειακής δαπάνης Αναστολή των προφλεγμονωδών κυτοκινών (IL6, TNFα) Επαγωγή από τους PPAR-γ αγωνιστές (θειαζολινενδιόνες)
Ρεζιστίνη	Μείωση της περιφερικής ινσουλινικής ευαισθησίας Επάγει την ινσουλινική αντίσταση Διέγερση των προφλεγμονωδών κυτοκινών (IL6, TNFα)

Retinol binding protein 4	Διέγερση της ηπατικής γλυκονεογένεσης Διαταραχή της σήμανσης της ινσουλίνης στο σκελετικό μυ Επαγωγή ινσουλινικής αντίστασης
Βισφατίνη	Διέγερση της ινσουλινικής έκκρισης Διέγερση των προφλεγμονωδών κυτοκινών (IL6, TNFα) Σύνθεση του νικοτινικού αδενο νουκλεοτιδίου
Ομεντίνη	Αύξηση της ινσουλινοδιεγερόμενης μεταφοράς γλυκόζης στα λιποκύτταρα
Βασπίνη	Βελτίωση της ινσουλινικής ευαισθησίας Καταστολή της λεπτίνης, ρεζιστίνης, TNFα
Χημερίνη	Αύξηση της ινσουλινοδιεγερόμενης πρόσληψης γλυκόζης Διέγερση της αδιπονεκτίνης Αναστολή των προφλεγμονωδών κυτοκινών (IL6, TNFα)
Απελίνη	Ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και της ομοιοστασίας των υγρών Διέγερση από την ινσουλίνη ή τον TNF Ρύθμιση της πρόσληψης τροφής Αναστολή της προκαλούμενης από την γλυκόζη έκκρισης ινσουλίνης
TNFα	Πρόκληση ινσουλινικής αντίστασης Πρόκληση αντίστασης στη λεπτίνη
IL-6	Πρόκληση αντίστασης στην ινσουλίνη Πρόκληση αντίστασης στη λεπτίνη
Πρωτεΐνη χημειοπροσέλκυσης των μονοκυττάρων MCP-1	Πρόκληση ινσουλινικής αντίστασης

ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η αδιπονεκτίνη είναι μία λιποκίνη, η οποία συντίθεται στο λιπώδη ιστό (32-35). Η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι 5-30 μg/ml (36). Οι άνδρες έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα στο πλάσμα από ότι οι γυναίκες και αυτός ο σεξουαλικός διμορφισμός αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της εφηβικής ανάπτυξης και έχει σχέση με τα ανδρογόνα. Συνδέεται σε δύο διαφορετικούς υποδοχείς τον AdipoR1 και τον AdipoR2. Ο AdipoR1 εκφράζεται στο σκελετικό μυ και σε άλλους ιστούς ενώ ο AdipoR2 εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ. Ο AdipoR1 δρά μέσω της AMPK, ενώ ο AdipoR2 μέσω του PPAR-α. Η συγκέντρωση της αδιπονεκτίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη της λιπώδους μάζας και είναι μειωμένη στην παχυσαρκία, στο διαβήτη και στην καρδιαγγειακή νόσο. Η απώλεια βάρους οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης της αδιπονεκτίνης σε παχύσαρκα και διαβητικά άτομα (37-38) και σχετίζεται με βελτίωση της ινσουλινικής ευαισθησίας (39). Γενετικές μελέτες συσχετίζουν πολυμορφισμούς, που καταλήγουν σε υποαδιπονεκτιναιμία με την ινσουλινική αντίσταση, το σακχ.διαβήτη και την καρδιαγγειακή νόσο.

Έχει φανεί, ότι μπορεί να ρυθμίζει την δράση της ινσουλίνης και ότι διαθέτει αντιφλεγμονώδεις και αντιαθηρωματικές ιδιότητες. Πιστεύεται ότι αυξάνει την ινσουλινική ευαισθησία μέσω της αύξησης της πρόσληψης γλυκόζης από τους μύες και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων (36). Σε φυσιολογικά και ob/ob ποντίκια, η χορήγηση αδιπονεκτίνης οδήγησε στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης στον ορό (40) και βελτίωσε την προκαλούμενη από την παχυσαρκία ινσουλινική αντίσταση στα ob/ob ποντίκια (41). Η αδιπονεκτίνη καταστέλλει την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ανοσοποιητικού και την έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινών όπως ο TNFα. Επίσης μειώνει τα μόρια προσκόλλησης και το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων με τελικό αποτέλεσμα την αναστολή του σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας.

ΡΕΖΙΣΤΙΝΗ

Η ρεζιστίνη είναι ένα πεπτίδιο 108 α.α πλούσιο σε κυστείνες. Το πλούσιο σε κυστείνες περιεχόμενο είναι χαρακτηριστικό για μία ολόκληρη ομάδα πρωτεϊνών, που καλούνται resistin like molecules (RELMS). Στα ποντίκια εκφράζεται κυρίως στο λευκό λιπώδη ιστό, ενώ στον άνθρωπο έχει εντοπισθεί στο μυελό των οστών και στα περιφερικά μονοκύτταρα με μικρότερη έκφραση στον πλακούντα, τον πνεύμονα και τα παγκρεατικά β-κύτταρα. Σε ζωικά μοντέλα

παχυσαρκίας φαίνεται, ότι είναι αυξημένη και ότι σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση (42, 45-47).

Η σχέση μεταξύ ρεζιστίνης, BMI και ινσουλινικής αντίστασης στους ανθρώπους παραμένει αβέβαιη. Κάποιοι ερευνητές βρήκαν, ότι η ρεζιστίνη είναι αυξημένη στην παχυσαρκία και ότι σχετίζεται θετικά με το BMI ή το σωματικό λίπος (43-44), εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους (51). Στη μελέτη των Pagano et al (99) οι ασθενείς με NAFLD είχαν αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης τα οποία όμως δεν σχετίζονταν με την ινσουλινική αντίσταση ή το BMI, παρά μόνο με την ιστολογική βαρύτητα της νόσου. Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά είναι και τα αποτελέσματα των Bajaj et al (107) οι οποίοι έδειξαν ότι η ρεζιστίνη του ορού σχετιζόταν με το ενδοηπατικό λίπος αλλά όχι με την περιφερική ινσουλινική ευαισθησία όπως αυτή μετρήθηκε με τη χρήση ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής αντλίας σε τύπου 2 διαβητικούς.

Όργανα στόχοι για τη ρεζιστίνη είναι το ήπαρ, ο λιπώδης ιστός και ο σκελετικός μυς. Το ήπαρ αποτελεί βασικό όργανο στόχο για τη ρεζιστίνη και από μελέτες σε ζώα φαίνεται, ότι αυξάνει την γλυκονεογένεση και την ινσουλινική αντίσταση (53). Η χρόνια υπερρεζιστιναιμία η οποία δημιουργείται από την λοίμωξη με αδενοϊό μειώνει την φωσφορυλίωση του IRS-2, την AMPK πρωτεϊνική κινάση και την Akt στο ήπαρ ποντικών (42).

Η επίδραση στο ήπαρ γίνεται μέσω κεντρικού μηχανισμού, αφού η χορήγηση ρεζιστίνης στην 3^η εγκεφαλική κοιλία διεγείρει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης ανεξάρτητα από τις άλλες ορμόνες. Η ρεζιστίνη αυξάνει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης και μειώνει την πρόσληψη και το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων στο σκελετικό μυ (204). Παραμένει όμως άγνωστος ο ακριβής μηχανισμός δράσης της. Η μειωμένη ηπατική παραγωγή γλυκόζης επί απουσίας της ρεζιστίνης σχετίζεται με μεγαλύτερη ηπατική AMPK ενεργοποίηση.

Η υπόθεση όμως της σχέσης μεταξύ ρεζιστίνης και ινσουλινικής αντίστασης στους ανθρώπους χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Πιθανολογείται, ότι έχει προφλεγμονώδη δράση. Η έκφρασή της στα περιφερικά μονοκύτταρα του ανθρώπου αυξάνεται από τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες TNF-α και την IL-6. Στη μελέτη των Pagano et al δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ ρεζιστίνης και HS-CRP σε άτομα με NAFLD μην επιβεβαιώνοντας έτσι το ρόλο της συμμετοχής της στη φλεγμονή (99). Τα επίπεδα ρεζιστίνης φαίνεται να σχετίζονται με πολλούς δείκτες φλεγμονής όπως η CRP (114), ο TNF-α, η IL-6 και η φωσφολιπάση A2 (48) σε διάφορες παθοφυσιολογικές

καταστάσεις. Η ρεξιστίνη έχει φανεί, ότι σχετίζεται με τη δραστηριότητα της νόσου σε ασθενείς με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (49), με τη σοβαρότητα της νόσου στη βαρειά σήψη και το σηπτικό shock (50) και με τη στεφανιαία νόσο (48). Έτσι είναι πιθανόν να αποτελεί ένα συνδετικό κρίκο μεταξύ της φλεγμονής και του μεταβολισμού.

ΛΕΠΤΙΝΗ

Η λεπτίνη το προϊόν του ob γονιδίου είναι μία πρωτεΐνη 167 αμινοξέων, που παράγεται από τα λιποκύτταρα και έχει δομικές ομοιότητες με την οικογένεια των κυτοκινών. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι και άλλοι ιστοί όπως ο πλακούντας, οι ωθήκες, ο σκελετικός μυς, το στομάχι, η υπόφυση και το ήπαρ παράγουν λεπτίνη. Η έκκριση της λεπτίνης είναι ανάλογη της λιπώδους μάζας. Δρα δίνοντας σήμα κορεσμού, ρυθμίζει την όρεξη και το βάρος στους ανθρώπους και τα ζώα. Δρα μέσω υποθαλαμικών μονοπατιών και ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής, το συμπαθητικό τόνο και τη ενεργειακή δαπάνη. Παίζει βασικό ρόλο στον έλεγχο των αποθεμάτων λίπους στο σώμα μέσω της ρύθμισης του μεταβολισμού και του αυτόνομου νευρικού συστήματος και της ενεργειακής ισορροπίας. Συμμετέχει στη ρύθμιση της εφηβείας και της αναπαραγωγής επηρεάζει τις μητρικές, πλακουντιακές και εμβρυικές λειτουργίες και επηρεάζει την ινσουλινική ευαισθησία στο επίπεδο του μυός και του ήπατος, εμποδίζοντας την έκτοπη εναπόθεση λίπους (214).

,

Έχουν διαπιστωθεί 6 ισομορφές του υποδοχέα της λεπτίνης (Oba έως Obf), οι οποίοι εκφράζονται στο ΚΝΣ και σε μία ποικιλία περιφερικών ιστών συμπεριλαμβανομένου του ήπατος. Οι περισσότερες δράσεις της λεπτίνης γίνονται μέσω του ObRb και της ενεργοποίησης της κινάσης JAK-2 και της μεταγραφικής οδού STAT-3. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα της λεπτίνης οδηγεί σε καταστολή ορεξιογόνων οδών (όπως αυτές που εμπλέκουν τα πεπτίδια NPY και AgRP) και διέγερση ανορεξιογόνων οδών (όπως αυτές που εμπλέκουν την προπιομελανοκορτίνη POMC, την κοκαΐνη μέσω της κινάσης JAK και των ενεργοποιητών της μεταγραφικής οδού STAT και της οδού IRS/PI3K (108). Αν και η οδός JAK-STAT-υποδοχέας λεπτίνης είναι απαραίτητη για τη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής και του σωματικού βάρους, η οδός PI3K, που διεγείρεται από την λεπτίνη φαίνεται ότι είναι σημαντική για τη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης. Η λεπτίνη επίσης περιορίζει τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και το σκελετικό μυ μέσα από ένα συνδυασμό άμεσης ενεργοποίησης της AMPK και έμμεσων δράσεων μέσω κεντρικών μονοπατιών, που βελτιώνουν την ινσουλινική ευαισθησία. Ο

Ob Re είναι διαλυτός υποδοχέας, που σχηματίζει σύνθετα συμπλέγματα με τη λεπτίνη. Ο λόγος ελεύθερη/δεσμευμένη λεπτίνη ρυθμίζει τη δραστηριότητα της λεπτίνης και τα υψηλά επίπεδα OBRe σχετίζονται με μειωμένη δράση λεπτίνης. Η ινσουλίνη διεγείρει τόσο την βιοσύνθεση της λεπτίνης και την έκκρισή της από το λιπώδη ιστό μέσω του άξονα λιπώδους ιστός – πάγκρεας.

Ο όρος αντίσταση στην λεπτίνη εισήχθη για να χαρακτηρίσει καταστάσεις όπου έχουμε αυξημένη παραγωγή λεπτίνης σε παχύσαρκους ανθρώπους χωρίς την επαρκή τελική δράση της λεπτίνης (112), ενώ πλέον χρησιμοποιείται ο όρος υποθαλαμική ανεπάρκεια λεπτίνης, όταν ο φραγμός αίμα-εγκέφαλος εμποδίζει την είσοδο της λεπτίνης σε απάντηση στην υπερλεπτιναιμία και καταλήγει σε ανεπάρκεια λεπτίνης σε πολλαπλούς στόχους στον εγκέφαλο.

Τα ποντίκια με φαινότυπο ob/ob τα οποία δεν διαθέτουν τη λειτουργική λεπτίνη είναι παχύσαρκα και υπερφαγικά. Αντίθετα οι παχύσαρκοι ασθενείς έχουν αυξημένα τα επίπεδα της λεπτίνης υποδηλώνοντας ότι είναι ανθεκτικοί στη δράση αυτής της λιποκίνης. Οι μηχανισμοί της αντίστασης στην λεπτίνη είναι βασικά κεντρικοί και έχουν σχέση με τον ελαττωματικό μεταφορέα της λεπτίνης και την μετάδοση του σήματος ObRb συμπεριλαμβανομένου της υπερέκφρασης του καταστολέα SOCS3 ενός μορίου που αναστέλλει τη σήμανση της λεπτίνης.

Η εκσεσημασμένη στεάτωση, που παρατηρείται σε ob/ob ποντίκια με ανεπάρκεια λεπτίνης δείχνει, ότι η λεπτίνη προφυλάσσει από το λιπώδες ήπαρ τόσο έμμεσα μέσα κεντρικών νευρικών κυκλωμάτων όσο και άμεσα μέσω της ηπατικής ενεργοποίησης της ηπατικής AMPK κινάσης. Παρομοίως στη γενικευμένη λιποδυστροφία, η οποία είναι μία κατάσταση ανεπάρκειας της λεπτίνης η υποκατάσταση με λεπτίνη βελτιώνει το λιπώδες ήπαρ. Αντιθέτως η παρατήρηση ότι οι παχύσαρκοι έχουν λιπώδες ήπαρ παρά το ότι έχουν αυξημένα ποσά λεπτίνης υποστηρίζει την παρουσία ηπατικής αντίστασης στην λεπτίνη.

Η λεπτίνη είναι προφλεγμονώδης παράγοντας και συμμετέχει στην προστασία από μικροβιακές λοιμώξεις. Επίσης συμμετέχει στις διαδικασίες της ίνωσης μέσω της ενεργοποίησης των κυττάρων Kupffer, των μακροφάγων και των ενδοθηλιακών κυττάρων να εκκρίνουν τον παράγοντα TGF -b. Σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου μέσω της αυξημένης αγγειογένεσης που προκαλεί και σε παρουσία χρόνιας ηπατικής βλάβης ευνοεί την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.

Λιπώδης ιστός και υποκλινική φλεγμονή

Στο λιπώδη ιστό συντίθενται πολλές από τις πρωτεΐνες, που ενέχονται στη φλεγμονή όπως ο TNFα, οι ιντερλευκίνες (IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10), ο χημειοτακτικός παράγοντας των μονοκυττάρων (MCP-1), ο ανασταλτικός για την μετανάστευση των μακροφάγων παράγοντας (MIF), πρωτεΐνες οξείας φάσης όπως το αμυλοειδές Α, η απτογλοβίνη, ο PAI-1, η λεπτίνη, η ρεξιστίνη, ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF). Η φλεγμονή μπορεί να διαδραματίζει κύριο ρόλο στην ανάπτυξη της ινσουλινικής αντίστασης και του μεταβολικού συνδρόμου. Η συγκέντρωση των μακροφάγων και των προφλεγμονωδών κυτοκινών είναι μεγαλύτερη στους παχύσαρκους (54), ενώ ασθενείς με υπέρταση και καρδιαγγειακή νόσο έχουν αξιοσημείωτη αύξηση των CRP, ινωδογόνου, TNF-α και IL-6. Στην παχυσαρκία η ισορροπία μεταξύ των διαφόρων μορίων είναι διαταραγμένη, έτσι ώστε τα μεγάλα λιποκύτταρα παράγουν περισσότερες προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (TNF-α, IL6), και λιγότερα αντιφλεγμονώδη πεπτίδια όπως η αδιπονεκτίνη. Σε χρόνια έκθεση ο TNF-α και η IL6 προάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη και οδηγούν σε τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη, ενώ η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Η διήθηση μακροφάγων και η παραγωγή φλεγμονωδών παραγόντων στο λιπώδη ιστό ατόμων με NAFLD είναι μεγαλύτερη από ότι σε άτομα με παρόμοιο BMI και φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο (56).

Όλοι οι παχύσαρκοι δεν αναπτύσσουν μεταβολικές ή καρδιαγγειακές διαταραχές, πιθανά λόγω της διατήρησης φυσιολογικής της λειτουργίας και της αρχιτεκτονικής του λιπώδους ιστού. Ο ορισμός του υγιούς παχύσαρκου έναντι του παχύσαρκου σε κίνδυνο βασίζεται στην ύπαρξη μεταβολικών κριτηρίων όπως η ινσουλινική αντίσταση ή άλλων παραγόντων του μεταβολικού συνδρόμου όπως ο διαβήτης και η φλεγμονή. Οι υγιείς παχύσαρκοι έχουν μικρότερη περιφέρεια μέσης και χαμηλότερα ποσοστά κοιλιακού σπλαχνικού λίπους. Φαίνεται ότι, τα χαρακτηριστικά του λιπώδους ιστού όπως η κατανομή του, η μεταβολική του δραστηριότητα και τα ιστολογικά χαρακτηριστικά του παρά το συνολικό ποσό του λιπώδους ιστού, έχουν σημασία για το καρδιομεταβολικό προφίλ (215).

Ι) Χαρακτηριστικά παχύσαρκου με αυξημένο μεταβολικό κίνδυνο (obese at risk)

Αυξημένο ενδοκοιλιακό λίπος

Διαταραγμένη ισορροπία λιποκινών (↑ CRP, ↑ MCP-1, ↓ αδιπονεκτίνη)

Υπερτροφία στη μορφολογία του λιποκυττάρου

Αυξημένος αριθμός μακροφάγων στο ενδοκοιλιακό λίπος

II) Χαρακτηριστικά παχύσαρκου με μειωμένο μεταβολικό κίνδυνο (healthy obese)

Μειωμένο ενδοκοιλιακό λίπος

Φυσιολογική συγκέντρωση λιποκινών ορού

Μικρό μέγεθος λιποκυττάρου

Μικρός αριθμός μακροφάγων πέριξ των λιποκυττάρων

Υπερπλασία στην κατανομή του λιπώδους ιστού

Η κεντρικού τύπου παχυσαρκία σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση. Αντίθετα η παχυσαρκία, που σχετίζεται με εναπόθεση λίπους στην περιφέρεια σχετίζεται με φυσιολογική ινσουλινική ευαισθησία. Το σπλαχνικό λίπος που αποτελεί το 20% της λιπώδους μάζας προάγει την ινσουλινική αντίσταση. Μία υπόθεση για τη σχέση του σπλαχνικού λίπους με την ινσουλινική αντίσταση είναι ότι, όταν το σπλαχνικό λίπος δεν μπορεί να αποθηκεύσει λίπος αποτελεσματικά όπως τα περιφερικά λιποκύτταρα, γίνεται ανακατανομή του και εναπόθεσή του σε ενδοκυττάρια διαμερίσματα στο ήπαρ και τους μύες επιδεινώνοντας την ινσουλινική αντίσταση. Άτομα με γυναικοειδή παχυσαρκία αποθηκεύουν λίπος σε περιφερικά λιποκύτταρα κρατώντας το μακριά από τους μύες και το ήπαρ. Το κοιλιακό υποδόριο λίπος αποτελεί την πηγή των αυξημένων ΕΛΟ σε λεπτούς και παχύσαρκους. Πράγματι το πάνω μέρος του σώματος είναι λιπολυτικά πιο ενεργό συγκριτικά με το κάτω και συνεισφέρει στην πλειοψηφία των ΕΛΟ στο μεταπορροφητικό στάδιο. Τα αυξημένα ΕΛΟ αυξάνουν την παραγωγή γλυκόζης, εμποδίζουν την πρόσληψη γλυκόζης από τον σκελετικό μυ, την οξείδωσή της και την αποθήκευσή της. Τα ΕΛΟ και οι ενδοκυττάριοι μεταβολίτες τους όπως το μακράς αλυσού ακυλο CoA και η διακυλογλυκερόλη εμποδίζουν τη λειτουργία του β κυττάρου και την απελευθέρωση ινσουλίνης. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να εξηγήσει τα αρνητικά αποτελέσματα του αντρικού τύπου παχυσαρκίας συγκριτικά με το γυναικείο τύπο (216,217).

Η συνεισφορά του σπλαχνικού λίπους στην ινσουλινική αντίσταση μπορεί να οφείλεται και σε άλλα αίτια όπως η έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινών. Σε in vitro μελέτες το σπλαχνικό λίπος φαίνεται ότι εκκρίνει μεγαλύτερα ποσά φλεγμονωδών παραγόντων όπως CRP-1, IL-6, TNF-a, PAI-1 συγκριτικά με το υποδόριο λίπος. Ενήλικες με σπλαχνικό λίπος τείνουν να παρουσιάζουν μεγαλύτερο βαθμό ινσουλινικής αντίστασης, υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας και διαταραχή της

πηκτικότητας και να έχουν αυξημένους τους δείκτες φλεγμονής συγκριτικά με αυτούς που έχουν ίδιο βαθμό παχυσαρκίας αλλά λιγότερο σπλαχνικό λίπος.

1.4 ΕΚΤΟΠΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΛΙΠΟΥΣ

Η φυσιολογική ομοιοστασία λιπαρών οξέων στο κύτταρο αντανακλά μία ισορροπία μεταξύ της προσφοράς και της χρήσης τους. Όταν τα κύτταρα συγκεντρώνουν περισσότερα λιπαρά οξέα από αυτά που χρειάζονται για τις αναβολικές ή καταβολικές τους διαδικασίες, η περίσσεια του λίπους εστεροποιείται και συγκεντρώνεται με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Τα λιποκύτταρα έχουν μία μοναδική ικανότητα να αποθηκεύουν μεγάλα ποσά περίσσειας λιπαρών οξέων. Σε περιόδους θετικού ενεργειακού ισοζυγίου η αυξημένη συσσώρευση λιπαρών οξέων οδηγεί φυσιολογικά σε γέννηση νέων λειτουργικών λιποκυττάρων από πρόδρομα λιποκύτταρα. Το κλασσικό διαμέρισμα όπου αποθηκεύεται η περίσσεια ενέργειας είναι το υποδόριο λίπος. Όταν το υποδόριο λίπος δεν μπορεί να αποθηκεύσει άλλο, τα λιπίδια συσσωρεύονται σε λιγότερο πλεονεκτικά διαμερίσματα όπως το ενδοκοιλιακό (σπλαχνικό) διαμέρισμα, το ήπαρ, οι μύες και άλλα όργανα τα οποία είναι ευάλωτα στην εναπόθεση λίπους.

ΛΙΠΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Τα κύτταρα των διαφόρων ιστών έχουν περιορισμένη αποθηκευτική ικανότητα λίπους. Όταν αυτή η ικανότητα ξεπεραστεί επέρχεται η κυτταρική δυσλειτουργία και ο κυτταρικός θάνατος ένα φαινόμενο γνωστό ως λιποτοξικότητα. Η λιποτοξικότητα αφορά τις λειτουργικές διαταραχές, που προκύπτουν από την παρουσία υπερβολικών ποσών τριγλυκεριδίων στους ιστούς. Εκδηλώνεται με 2 τύπους. Ο ένας αφορά την απόπτωση και ο δεύτερος οδηγεί σε διαταραχή του σήματος της ινσουλίνης.

Όταν τα τριγλυκερίδια είναι αποθηκευμένα με τη μορφή σταγονιδίων μέσα στα κύτταρα είναι ακίνδυνα. Όμως τόσο η λιπόλυση όσο και η οδός της σύνθεσής τους μπορεί να παράγει λιπαρά οξέα και ενδιάμεσα προϊόντα με βλαβερές συνέπειες. Η λιπόλυση αυξάνει την διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία μπορούν να μπουν σε μονοπάτια υπεροξειδωσης και να αυξήσουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και το ενδοκυττάριο stress. Τα μη εστεροποιημένα κυτταρικά ΕΛΟ επίσης ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων και υποδοχέων, που έχουν σχέση με τον κυτταρικό θάνατο και την απόπτωση αλλά και μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο SREBP,

που μεταβάλλει την οδό μετάδοσης του σήματος της ινσουλίνης. Η οδός της σύνθεσης περιλαμβάνει πιθανά τοξικούς ενδιάμεσους μεταβολίτες λιπιδίων. Παρότι ο σχηματισμός των μακράς αλύσου ακυλ-CoA μπορεί να μειώσει το κυτταρικό περιεχόμενο των λιπαρών οξέων, οι ακυλ-CoA από μόνες τους επηρεάζουν την ινσουλινική ευαισθησία, αλλάζουν τα μονοπάτια σήμανσης και είναι πρόδρομα μόρια των κεραμιδίων και της διακυλογλυκερόλης.

Η περίσσεια τριγλυκεριδίων στα καρδιακά μυικά κύτταρα σχετίζεται με καρδιακή υπερτροφία, απόπτωση και πιθανά την εξέλιξη σε καρδιομυοπάθεια (151), ενώ στα παγκρεατικά νησίδια σχετίζεται με διαταραχή της έκκρισης ινσουλίνης και απώλεια των β-κυττάρων (218). Όταν τα τριγλυκερίδια συγκεντρώνονται στο ήπαρ και στον σκελετικό μυ το πρωτογενές γεγονός είναι η διαταραχή της μετάδοσης του σήματος της ινσουλίνης και όχι απαραίτητα η απόπτωση.

1.4.α.ΕΚΤΟΠΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΜΥ

Ο λόγος για τον οποίο η εναπόθεση ενδομυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων διαφέρει μεταξύ των ατόμων, που έχουν τον ίδιο βαθμό παχυσαρκίας και μοιράζονται τις ίδιες διαιτητικές συνήθειες και τρόπο ζωής αποτελεί αντικείμενο επίμονης έρευνας. Η τάση συσσώρευσης ενδομυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων μπορεί να είναι γενετικά προδιατεθειμένη, να επηρεάζεται από τη δίαιτα, τη φυσική δραστηριότητα, τη μειωμένη ποσότητα και τη διαταραγμένη λειτουργικότητα των μυοκυτταρικών μιτοχονδρίων. Η αυξημένη ενδομυοκυτταρική εναπόθεση λίπους σχετίζεται με την περιφερική ινσουλινική ευαισθησία (219). Η τάση για αυξημένα ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια, η οποία εν μέρει είναι γενετικά καθορισμένη προδιαθέτει τα άτομα σε μεγαλύτερη ινσουλινική αντίσταση, ενώ η παχυσαρκία με χαμηλά ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια φαίνεται ότι είναι μεταβολικά καλοήθης.

Μία πιθανή εξήγηση για την τάση συσσώρευσης λιπιδίων στο σκελετικό μυ μπορεί να είναι οι διαφορές στην ποσότητα και τη λειτουργικότητα των μιτοχονδρίων μέσα στο μυικό κύτταρο. Όταν ηλικιωμένα, αδύνατα, ινσουλινοάντοχα άτομα συγκρίθηκαν με νέους, δραστήριους άνδρες με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας ^{13}C και ^{31}P βρέθηκε να έχουν 40% μείωση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (220). Παρόμοια όταν οι συγγενείς α βαθμού διαβητικών τύπου 2 συγκρίθηκαν με ινσουλινοευαίσθητα άτομα αντίστοιχα σε ηλικία και δραστηριότητα διαπιστώθηκε, ότι είχαν 30% μείωση του ρυθμού παραγωγής ATP στα μιτοχόνδρια των σκελετικών μυών (150). Τα άτομα αυτά έχουν μικρότερο μιτοχονδριακό

περιεχόμενο στους σκελετικούς μύες και αυτό τους προδιαθέτει σε αυξημένη συσσώρευση λιπιδίων μέσα στο μυϊκό κύτταρο. Επιπλέον εμφανίζουν διαταραχή στην ινσουλινοεξαρτώμενη μεταφορά γλυκόζης στους μύες με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν σημαντική ινσουλινική αντίσταση στο επίπεδο του σκελετικού μυός νωρίτερα από την ανάπτυξη οποιασδήποτε κλινικής εκδήλωσης του διαταραγμένου μεταβολισμού της γλυκόζης (55).

Ένας δεύτερος παράγοντας που οδηγεί στην συσσώρευση ενδομυοκυτταρικού λίπους μπορεί να είναι το περιεχόμενο λίπους στη διαίτα. Δίαιτες υψηλού περιεχομένου σε λίπος διαφορετικής διάρκειας έχει φανεί ότι αυξάνουν το ενδομυοκυτταρικό περιεχόμενο λίπους κατά 36-90% ανάλογα με τη διάρκειά του (222).

Ένας τρίτος λόγος αυξημένων ενδομυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων είναι η αύξηση των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων, χαρακτηριστικό των παχύσαρκων ινσουλινοάντοχων ατόμων. Σε μη δραστήρια παχύσαρκα άτομα η συνεχής παροχή ελεύθερων λιπαρών οξέων και η μειωμένη οξειδωτική ικανότητα λίπους μπορεί να καταλήξει στην συσσώρευση λίπους ειδικά στο σκελετικό μύ (221).

Αλλαγές στην μεταφορά ΕΛΟ στους ιστούς μπορεί να ενέχονται στην παθογένεια της έκτοπης συσσώρευσης τριγλυκεριδίων. Η τρανσλοκάση των λιπαρών οξέων CD 36 ρυθμίζει την πρόσληψη των ΕΛΟ από τους ιστούς. Η έκφραση της CD36 μειώνεται στο λιπώδη ιστό αλλά αυξάνεται στο ήπαρ και το σκελετικό μυ των ινσουλινοάντοχων ζώων και των ανθρώπων, που έχουν αυξημένο ενδοηπατικό και ενδομυοκυτταρικό περιεχόμενο τριγλυκεριδίων.

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, που προέρχονται από τα συσσωρευμένα ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια προκαλούν διαταραχή στο μονοπάτι της μετάδοσης του σήματος της ινσουλίνης και τελικά οδηγούν σε μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης. Ενεργοποιούν μία πρωτεϊνική κινάση C-θ, η οποία με τη σειρά της εμποδίζει τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης του IRS-1 μέσω της οδού της κινάσης σερίνης-θρεονίνης. Η μείωση της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης του IRS- 1 οδηγεί σε μειωμένη ενεργοποίηση της PI3 κινάσης και μειωμένη μεταφορά GLUT-4 στις κυτταρικές μεμβράνες.

1.4.β ΕΚΤΟΠΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΟ ΗΠΑΡ- ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ (NAFLD)

Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Μελέτης Νοσημάτων του Ήπατος, ως Μη Αλκοολική Νόσος του Ήπατος (NAFLD) ορίζεται η συγκέντρωση λίπους στο ήπαρ, η οποία ξεπερνά το 5-10% του ηπατικού βάρους όπως ορίζεται από το ποσοστό των ηπατοκυττάρων με λίπος στο μικροσκόπιο.

Το μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ είναι μία κλινικοιστοπαθολογική οντότητα με ιστολογικά χαρακτηριστικά τα οποία προσομοιάζουν στην βλάβη, που προκαλεί το αλκοόλ, αλλά εξ ορισμού συμβαίνει σε ασθενείς, που δεν κάνουν χρήση αλκοόλ. Περιλαμβάνει ένα εύρος ιστολογικών καταστάσεων από τη συσσώρευση λίπους στα ηπατοκύτταρα χωρίς συνοδό φλεγμονή ή ίνωση (απλή ηπατική στεάτωση), έως την ηπατική στεάτωση με νεκροφλεγμονώδη στοιχεία (στεατοηπατίτιδα), η οποία μπορεί να συνοδεύεται ή όχι από ίνωση. Η τελευταία κατάσταση αναφέρεται ως μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH) και μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση σε ποσοστό έως 20% των ασθενών. Η διάγνωση της μη αλκοολικής νόσου του ήπατος γίνεται με τον αποκλεισμό άλλων αιτιών στεάτωσης, που περιλαμβάνουν την χρήση φαρμάκων (κορτικοστεροειδή, οιστρογόνα, ταμοξιφαίνη, μεθοτρεξάτη, αμιοδαρόνη, βαλπροϊκό οξύ, κοκκαΐνη κ.α), διατροφικά αίτια (υποθρεψία, ταχεία απώλεια βάρους, χειρουργικές επεμβάσεις παχυσαρκίας, παρεντερική διατροφή), μεταβολικά αίτια (υποβιταλινοπρωτεϊναιμία, νόσο Wilson), λοιμώξεις (ιογενή ηπατίτιδα Β και C, AIDS), την αυτοάνοση ηπατίτιδα και τη σημαντική κατανάλωση αλκοόλ >20 g/ημερησίως.

Η μη αλκοολική λιπώδης εκφύλιση του ήπατος ενοχοποιείται για περισσότερες από το 90% των περιπτώσεων χρόνιας ασυμπτωματικής τρανσαμινασαιμίας, εφόσον αποκλειστούν άλλα είδη ηπατοπάθειας. Η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η υπερλιπιδαιμία αποτελούν πρωτοπαθή αίτια μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος. Στις περισσότερες μελέτες το 69-100% των ασθενών με μη αλκοολική λιπώδη εκφύλιση του ήπατος είναι παχύσαρκοι. Το μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ αποτελεί την ηπατική έκφραση του μεταβολικού συνδρόμου και περίπου 90% των ασθενών με NAFLD συγκεντρώνουν παραπάνω από ένα από τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ περίπου 33% έχουν 3 ή περισσότερα κριτήρια (76).

Σχήμα 1.7 Επιδημιολογικά δεδομένα για το NAFLD

Σύγκριση του επιπολασμού του μη αλκοολικού λιπώδους ήπατος σε διάφορους πληθυσμούς		
	Μέγεθος πληθυσμού	% επιπολασμός
Taiwan (αγροτική περιοχή)	3245	11,5*
Hong Kong Chinese	1627	15,9*
Shanghai males	3175	20,8*
Korea	1613	16*
US Caucasians	731	33†
US Hispanics	400	45†
US African-Americans	1097	24†

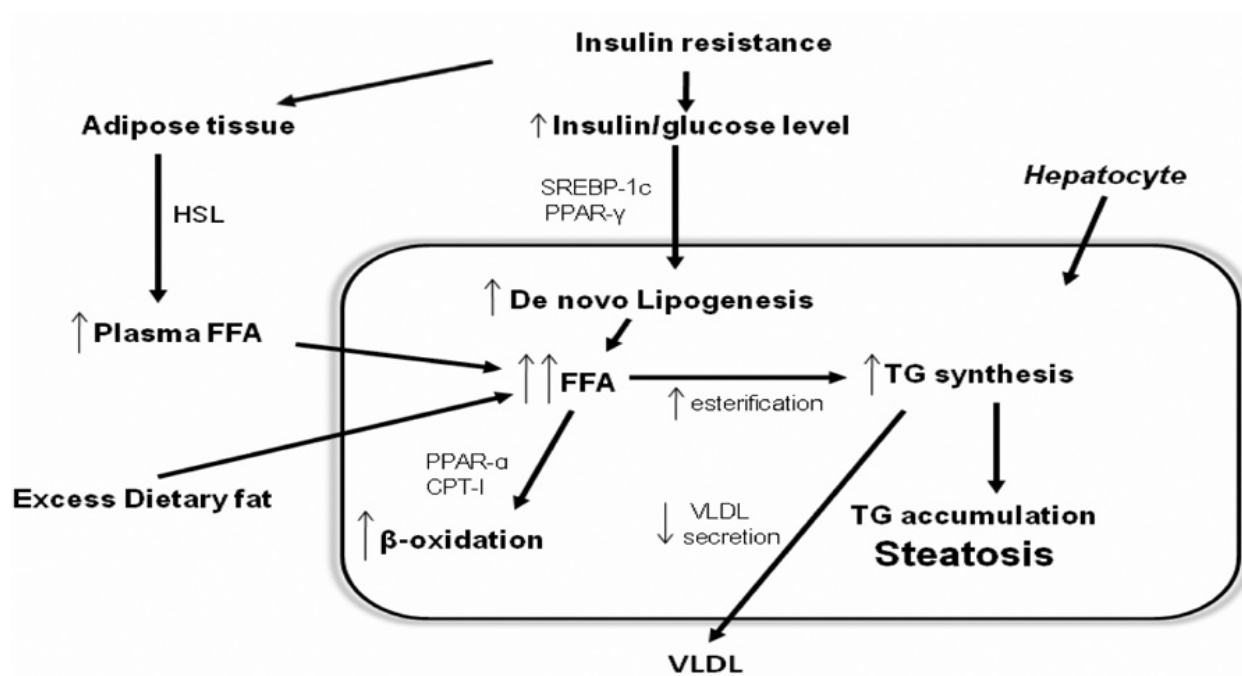
*Ενδείξεις για NAFLD βασισμένες σε US δεδομένα.

†Ενδείξεις για NAFLD βασισμένες σε δεδομένα από πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων.

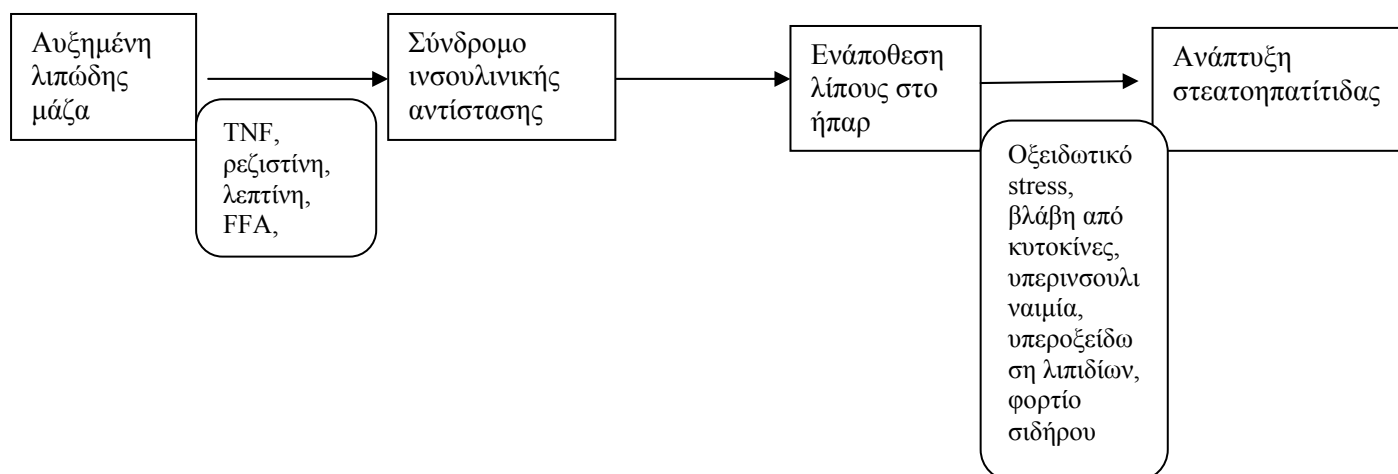
Υπολογίζεται, ότι η ηπατική στεάτωση αφορά περίπου το 20% του πληθυσμού (15-39%), ενώ η στεατοηπατίτιδα το 2-3% του γενικού πληθυσμού με υψηλότερη επίπτωση στις δυτικές κοινωνίες (7-9%) και χαμηλότερη στην Ιαπωνία (1,2%). Σε μία πρόσφατη πολυκεντρική ισπανική μελέτη (111) σε 766 άτομα μέσης ηλικίας 53 ± 14 έτη, NAFLD με υπερηχογραφικά κριτήρια παρουσίασε το 25,8%. (33,4% αυτών ήταν άνδρες και 20,3% γυναίκες, $p < 0,001$). Το ανδρικό φύλο, η ηλικία, το μεταβολικό σύνδρομο, η ινσουλινική αντίσταση και η αλανινοτρανσφεράση ήταν παράγοντες που σχετίζονταν με το NAFLD.

Αυτή η διαταραχή περιγράφηκε σε ενήλικες στα τέλη της δεκαετίας του 1970 και στα παιδιά στα μέσα του 1980. Τα παιδιά με NAFLD συχνά έχουν ευρήματα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου (μελανίζουσα ακάνθωση, υπερτριγλυκεριδαιμία, ινσουλινική αντίσταση), ενώ τα περισσότερα είναι υπέρβαρα ή παχύσαρκα. Παρά το ότι η συνήθης ηλικία της διάγνωσης είναι μεταξύ 11 και 14 ετών σοβαρή ηπατική νόσος μπορεί να συμβεί και σε παιδιά ηλικίας ακόμη και 2 ετών, ενώ η διαταραχή συναντάται κυρίως στα αγόρια. Η κατάσταση αυτή αποτελεί πλέον την

πιο συχνή ηπατική πάθηση μεταξύ παχύσαρκων εφήβων στη Βόρεια Αμερική. Οι μακροχρόνιες συνέπειες της κατάστασης αυτής στα παιδιά είναι άγνωστες.



Σχήμα 1.8. Παθογένεια λιπώδους ήπατος



Σχήμα 1.9. Υπόθεση 2 προσβολών στη δημιουργία στεατοηπατίτιδας.

Ο ρόλος της ινσουλινικής αντίστασης στην παθογένεια του λιπώδους ήπατος-θεωρία των 2 προσβολών (2 hit hypothesis) για τη δημιουργία στεατοηπατίτιδας.

Σύμφωνα με τη θεωρία των «2 προσβολών» το αρχικό βήμα είναι η συσσώρευση αυξημένης ποσότητας λίπους στο ηπατικό παρέγχυμα. Κεντρικό ρόλο σε αυτό διαδραματίζει η αντίσταση στην ινσουλίνη. Η ανάπτυξη όμως της ηπατοκυτταρικής βλάβης χρειάζεται την παρουσία τόσο της ινσουλινικής αντίστασης όσο και μίας δεύτερης βλάβης, η οποία οδηγεί στην αυξημένη συγκέντρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου.

Η διήθηση του λιπώδους ιστού από τα μακροφάγα, καταλήγει στην απελευθέρωση των κυτοκινών (TNF- α , IL-6, IL-1b), οι οποίες εμποδίζουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης. Παράγοντες, που καθορίζουν την ηπατοκυτταρική ευαισθησία στην ινσουλίνη είναι ο TNF- α , ο οποίος μειώνει την έκφραση του GLUT4, ενός ινσουλινοεξαρτώμενου μεταφορέα γλυκόζης και την φωσφορυλίωση του υποστρώματος του υποδοχέα ινσουλίνης 1 (IRS-1), το RAD (ras σχετιζόμενο με το διαβήτη), η PC-1 μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη, η λεπτίνη και τα λιπαρά οξέα. Η αντίσταση στην δράση της ινσουλίνης καταλήγει σε σημαντικές αλλαγές του μεταβολισμού των λιπιδίων. Αυξάνεται η περιφερική λιπόλυση και τα ΕΛΟ, η ηπατική πρόσληψη των λιπαρών οξέων και η σύνθεση των τριγλυκεριδίων. Η υπερινσουλιναιμία, διεγείρει τη de novo λιπογένεση στα ηπατοκύτταρα, μειώνει την οξείδωση των ΕΛΟ και ευνοεί τη συσσώρευση των τριγλυκεριδίων.

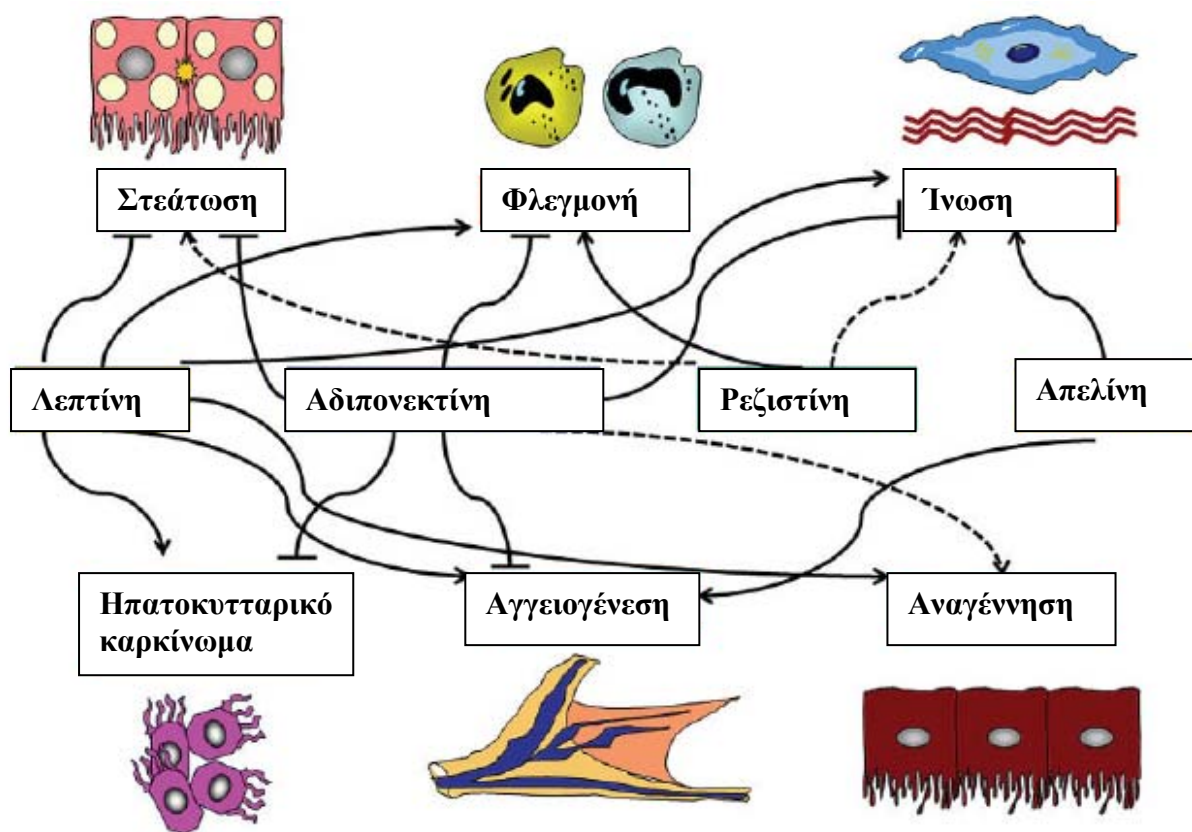
Υπέρ του ρόλου της ινσουλινικής αντίστασης είναι οι παρατηρήσεις από πιλοτικές μελέτες, οι οποίες έχουν δείξει ευεργετικά αποτελέσματα από τη χορήγηση των ινσουλινοευαισθητοποιητικών φαρμάκων σε ασθενείς με μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ (224). Η θεραπεία με ροζιγλιταζόνη μείωσε την έκφραση των ηπατικών πρωτεϊνών οξείας φάσης αποδυνκνώντας, ότι βελτίωση στην ινσουλινική ευαισθησία οδηγεί σε μείωση της φλεγμονής.

Το δεύτερο βήμα είναι το οξειδωτικό stress, που προκύπτει από τη συσσώρευση ελεύθερων λιπαρών οξέων και τη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων στο ήπαρ. Αυτές οι μεταβολικές διαδικασίες οδηγούν σε αύξηση στα ενδοκυττάρια ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία δεν οξειδώνονται, λόγω υπερφόρτωσης της μιτοχονδριακής οξείδωσης, ούτε εξάγονται μέσα σε VLDL, αλλά εστεροποιούνται σε τριγλυκερίδια και αποθηκεύονται σε σταγόνες λίπους. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι υποστρώματα και επαγωγείς

των μικροσωμιακών λιποξυγενασών του κυτοχρώματος P-450 2E1 και 4^A, οι οποίες οδηγούν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου ικανών να προκαλέσουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων των ηπατοκυτταρικών μεμβρανών, ηπατοκυτταρική βλάβη και ίνωση. Επιπλέον η αυξημένη συγκέντρωση των ηπατοκυτταρικών τριγλυκεριδίων καταλήγει σε μεταστροφή από την οξειδωση υδατανθράκων σε β-οξειδωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, ένα φαινόμενο που έχει διαπιστωθεί, ότι συμβαίνει σε ασθενείς με ινσουλινική αντίσταση. Η μεταστροφή προς τη β-οξειδωση ελεύθερων λιπαρών οξέων επί εδάφους ελαττωματικού μιτοχονδριακού οξειδωτικού μηχανισμού μπορεί να καταλήξει σε αυξημένο σχηματισμό ελεύθερων ριζών, ηπατοκυτταρική βλάβη και ίνωση.

Η μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ηπατοκυττάρων ασθενών με μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ έδειξε σημαντικές μιτοχονδριακές δομικές ανωμαλίες στους ασθενείς με NASH αλλά όχι σε αυτούς με απλή ηπατική στεάτωση (223). Αυτοί οι ερευνητές υπέθεσαν, ότι σε απουσία αυτών των μιτοχονδριακών ελαττωμάτων η περιφερική ινσουλινική αντίσταση θα οδηγήσει μόνο στην ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης. Συμβατή με αυτή την θεωρία είναι η παρατήρηση, ότι πολλά γονίδια σημαντικά για τη μιτοχονδριακή λειτουργία ήταν σημαντικά λιγότερο εκφρασμένα στους ασθενείς με NASH, υποδηλώνοντας, ότι υπάρχει μία μεταγραφική ή προμεταγραφική βάση για τη διαταραγμένη μιτοχονδριακή λειτουργία. Από την άλλη πλευρά είναι πιθανό οι μιτοχονδριακές δομικές ανωμαλίες να είναι συνέπεια της αυξημένης υπεροξειδωσης λίπους, αφού τα προϊόντα υπεροξειδωσης λίπους αλλάζουν τόσο το μιτοχονδριακό DNA όσο και τον αναπνευστικό κύκλο στα μιτοχόνδρια.

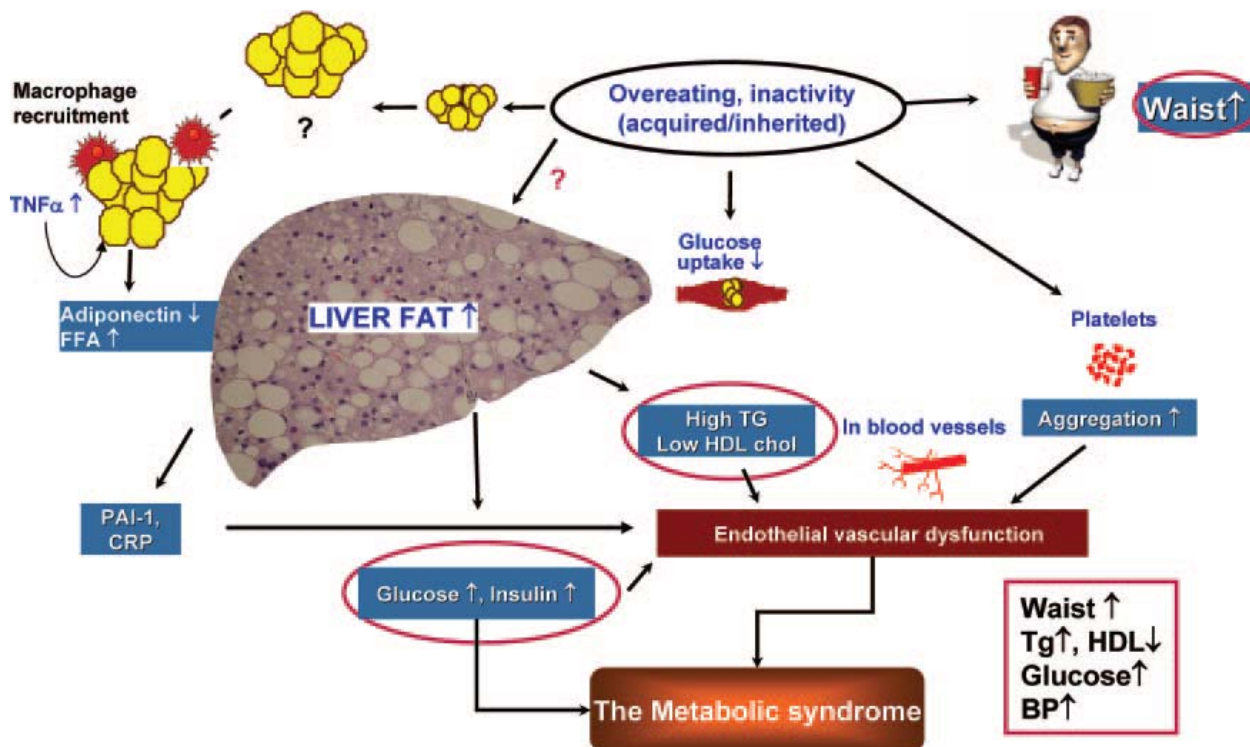
Τα χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης χαρακτηρίζουν τόσο τα λιποδυστροφικά όσο και τα παχύσαρκα ινσουλινοάντοχα άτομα και τα επίπεδά της στον ορό σχετίζονται με το ηπατικό λίπος. Στα άτομα με NAFLD τα επίπεδα αδιπονεκτίνης είναι μειωμένα, ενώ η εξωγενώς χορηγούμενη αδιπονεκτίνη σε ζωικά μοντέλα με NAFLD βελτίωσε την ηπατική στεάτωση (225). Η λεπτίνη, αγγειοτενσίνη II και νορεπινεφρίνη εκκρίνονται σε αυξημένη ποσότητα από τον λιπώδη ιστό στους παχύσαρκους και ενέχονται στην ινωτική εξεργασία (226). Τα δεδομένα για τη λεπτίνη από τις μελέτες σε ασθενείς με NAFLD είναι συγχυτικά. Σε ασθενείς με NASH έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα λεπτίνης ανεξάρτητα από το BMI. Στα παιδιά με NASH ο TNF-α και η λεπτίνη προδιαγράφουν ένα σκορ φλεγμονής >5%. Παρόλαυτά σε μία άλλη μελέτη σε ενήλικες τα επίπεδα λεπτίνης σχετίζονται άμεσα με τη σοβαρότητα της στεάτωσης αλλά όχι με τη φλεγμονή ή την ίνωση (227).



Σχήμα 1.10. Επίδραση των διαφόρων λιποκινών στους βασικούς μηχανισμούς πρόκλησης ή αναστολής της δημιουργίας στεατοηπατίτιδας (τα βέλη δείχνουν ενεργοποίηση, οι μπάρες αναστολή, οι διακεκομμένες γραμμές δράσεις, που πρέπει να επιβεβαιωθούν).

1.4.γ ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ NAFLD

Αν και ορισμένοι αμφισβητούν την κλινική σημασία του NAFLD, αφού πολλοί ασθενείς με αυτό δεν θα αναπτύξουν σοβαρή νοσηρότητα ή θνητότητα, αναγνωρίζεται σταδιακά η σημασία του όσον αφορά την ανάπτυξη συστηματικών νοσημάτων λόγω της σχέσης του με το μεταβολικό σύνδρομο. Ο ιστολογικός υπότυπος σχετίζεται με αυτούς τους παράγοντες κινδύνου. Ο Marchesini et al έδειξαν ότι ασθενείς με στεατοηπατίτιδα είχαν σε μεγαλύτερο ποσοστό (88%) τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου από ότι ασθενείς με απλή στεάτωση (53%) (19).

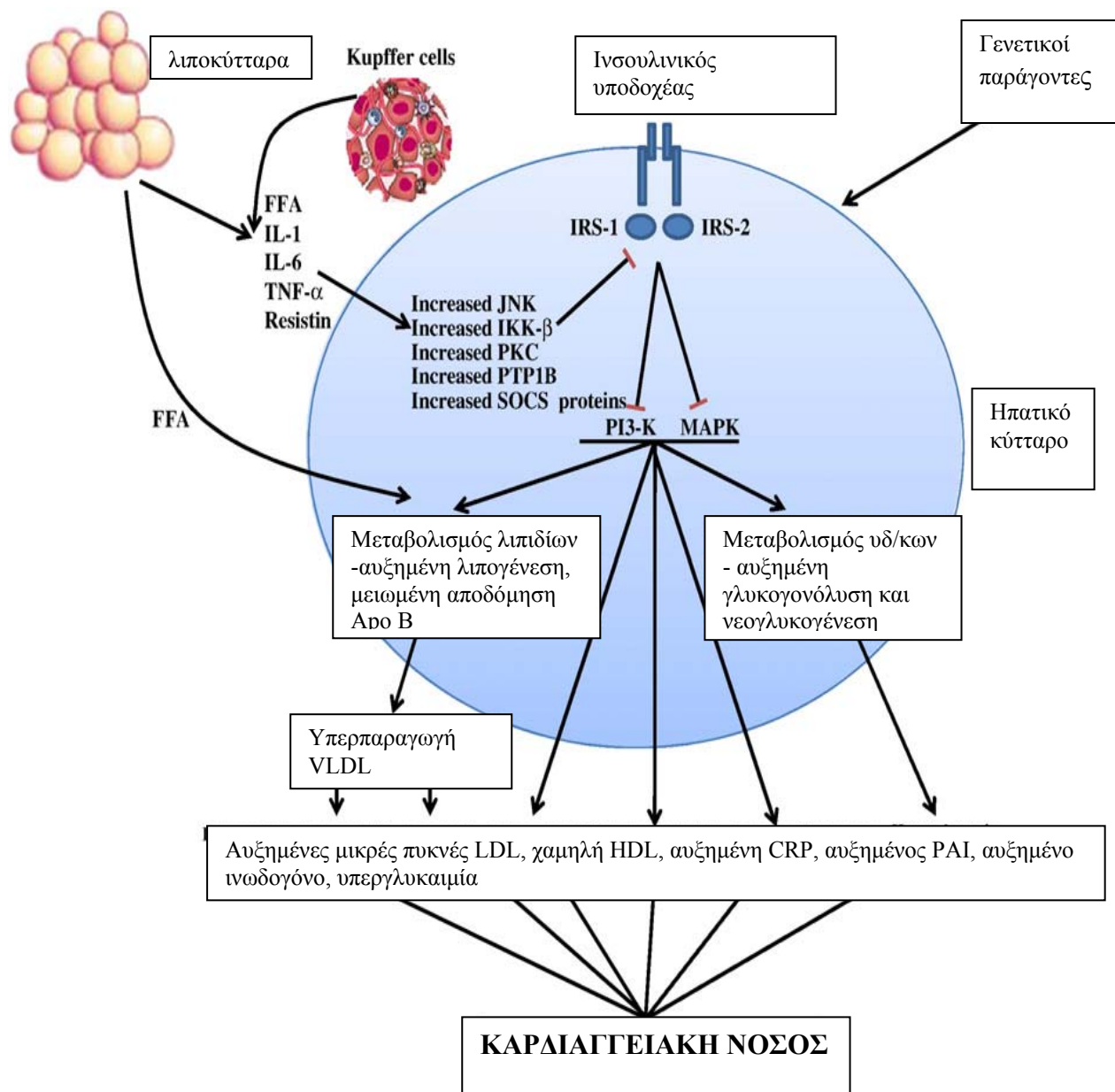


Σχήμα 1.11. Σχέση παραμέτρων μεταβολικού συνδρόμου με την συγκέντρωση λίπους στο ήπαρ.

NAFLD και Καρδιαγγειακός κίνδυνος

Το NAFLD χαρακτηρίζεται από χαμηλή ινσουλινική ευαισθησία και αυξημένη παραγωγή VLDL, γλυκόζης, CRP, PAI-1, ινωδογόνου (87). Τα άτομα με NAFLD παρουσιάζουν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου (185) και έχουν αυξημένο το πάχος του μέσου χιτώνα των καρωτίδων συγκριτικά με υγιή άτομα παρόμοιας ηλικίας, φύλου και BMI (23, 165). Συγκριτικά με άτομα χωρίς στεάτωση οι μη διαβητικοί ασθενείς με NAFLD παρουσιάζουν σημαντική μείωση στην αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας, η οποία σχετίζεται με την ιστολογική βαρύτητα του NAFLD ανεξάρτητα από την ηλικία, το φύλο, το BMI και το δείκτη HOMA-IR (185). Στην ίδια μελέτη φάνηκε, ότι η πιθανότητα για καρδιαγγειακά νοσήματα στη 10ετία (με βάση το Framingham score) είναι αυξημένη στα άτομα με NAFLD και ειδικά με NASH. Διαβητικοί με υπερηχογραφικά διαπιστωμένο NAFLD είχαν αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών συγκριτικά με διαβητικούς χωρίς NAFLD (228). Η RISC study έδειξε ότι σε ένα ευρωπαϊκό πληθυσμό 1307 ατόμων το λιπώδες ήπαρ σχετιζόταν με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, αυξημένο πάχος μέσου χιτώνα καρωτίδων και μειωμένη ινσουλινική ευαισθησία (28).

Τα δεδομένα αυτά δηλώνουν, ότι η παρουσία NAFLD μπορεί να αποτελεί πρώιμο δείκτη μεταβολικών διαταραχών. Δύο ερωτήματα μπορεί να θέσει κανείς: 1) Αν σχετίζεται το NAFLD με τα καρδιαγγειακά νοσήματα καθώς μοιράζονται κοινούς παράγοντες κινδύνου ή αν από μόνο του το NAFLD μπορεί να επιδεινώσει τα καρδιαγγειακά νοσήματα ανεξάρτητα αυτών των παραγόντων? 2) Είναι ο καρδιαγγειακός κίνδυνος υπαρκτός επίσης στην απλή στεάτωση ή είναι η χαρακτηριστική νεκροφλεγμονώδης κατάσταση της NASH το απαραίτητο προαθηρογόνο ερέθισμα?



Σχήμα 1.12. Η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης στα ηπατικά κύτταρα οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή VLDL, γλυκόζης, CRP, ινωδογόνου και PAI-1.

1.5 ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΤΕΑΤΩΣΗ

Στη φυσιολογική καρδιά η λιπόλυση και η λιπογένεση βρίσκονται σε ισορροπία και καταλήγουν σε σταθερά επίπεδα ενδομυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων. Κάτω από καταστάσεις αυξημένης παραγωγής λιπαρών οξέων όπως η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης η ισορροπία τείνει υπέρ της αυξημένης συγκέντρωσης ενδοκυττάρων τριγλυκεριδίων. Τα δεδομένα για την καρδιακή λιποτοξικότητα προέρχονται από μελέτες σε ζωικά μοντέλα και κυτταρικές καλλιέργειες. Στις μελέτες αυτές διαφορετικές διαιτητικές παρεμβάσεις, και μεταλλάξεις γονιδίων στα καρδιακά μυικά κύτταρα δείχνουν τη σχέση μεταξύ συσσώρευσης λιπιδίων, μεταβολικών διαταραχών και διαταραχών της καρδιακής λειτουργίας.

Αυξημένη έκφραση του ενζύμου ακυλο-CoA συνθετάσης στην καρδιά οδηγεί σε αυξημένη πρόσληψη λιπαρών οξέων από τα καρδιακά μυοκύτταρα και ενδομυοκυτταρική συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων (66), η οποία προκαλεί απόπτωση του καρδιακού μυοκυττάρου, καρδιακή υπερτροφία, διαταραχή της συστολικής λειτουργίας και πρόωρο θάνατο.

Τα δεδομένα που αφορούν στη συσσώρευση των ενδομυοκαρδιακών λιπιδίων στους ανθρώπους είναι περιορισμένα. Για παράδειγμα ιστοπαθολογικές μελέτες από καρδιές διαβητικών, που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση έδειξαν μυοκαρδιακή συσσώρευση λίπους. Στους ανθρώπους η υπερφόρτωση με λιπίδια της καρδιάς, όπως συμβαίνει σε κληρονομικές διαταραχές της οδού της μιτοχονδριακής οξειδωσης των λιπαρών οξέων σχετίζεται με καρδιακή ανεπάρκεια και αιφνίδιο θάνατο. Όταν η προσφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων είναι μεγάλη όπως συμβαίνει στην παχυσαρκία και στο ΣΔ2, η πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων από τα καρδιακά κύτταρα πιθανά ξεπερνά την μιτοχονδριακή οξειδωτική ικανότητα, η οποία μπορεί επιπλέον να διαταραχθεί από πολλούς πιθανούς μηχανισμούς όπως η αυξημένη έκφραση των uncoupling πρωτεϊνών, οι ενεργείς ρίζες οξυγόνου και τα προϊόντα υπεροξειδωσης λιπιδίων. Η συσσώρευση ενδοκυτταρικών λιπιδίων παράγει λιποτοξικά προϊόντα όπως τα κεραμίδια, τα οποία αυξάνουν την παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου και προκαλούν απόπτωση. Η συσσώρευση κεραμιδίων, η υπερπαραγωγή ROS, το stress στο ενδοπλασματικό δίκτυο και η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία μπορούν να διαδραματίσουν ρόλο στην παθογένεια της λιποτοξικής καρδιομυοπάθειας.

Προσφάτως με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας οι McGavock et al μελέτησαν την μυοκαρδιακή συσσώρευση λιπιδίων in vivo στους ανθρώπους και συγκεκριμένα στα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (67).

1.6 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΕΥΕΛΙΞΙΑ

Η ικανότητα ενός συστήματος (ολόκληρου οργανισμού, οργάνου, ιστού, κυττάρου) να προσαρμόζει την οξείδωση των καυσίμων με βάση τη διαθεσιμότητά τους ονομάζεται μεταβολική ευελιξία. Ο όρος αποδόθηκε από τους Kelley και Mandarino ως η δυνατότητα της μετάβασης από την κυριαρχούσα οξείδωση λιπιδίων και τους υψηλούς ρυθμούς πρόσληψης λιπαρών οξέων σε συνθήκες νηστείας, στην καταστολή της οξείδωσης των λιπιδίων και την αυξημένη πρόσληψη, οξείδωση και αποθήκευση γλυκόζης υπό συνθήκες διέγερσης από την ινσουλίνη (69). Η μετάβαση από την οξείδωση υδατανθράκων στην οξείδωση λιπιδίων (πτώση στο αναπνευστικό πηλίκο) κατά τη διάρκεια της ολονύχτιας νηστείας ή σε απάντηση σε δίαιτες πλούσιες σε λίπος αποτελούν μέρος της μεταβολικής ευελιξίας. Τα λιπαρά οξέα είναι η κύρια πηγή ενέργειας κατά τη μετάβαση από την μεταγευματική κατάσταση στην νηστεία όπως φαίνεται από την προοδευτική πτώση στο αναπνευστικό πηλίκο.

Στο σκελετικό μυ ενός υγιούς ατόμου συμβαίνουν τα εξής:

- A) σε κατάσταση νηστείας ο μυς οξειδώνει κυρίως λίπος, αφού προσλαμβάνει περισσότερα λιπαρά οξέα από την συστηματική κυκλοφορία και
- B) μετά από πρόσληψη τροφής άρα μετά από έκκριση ινσουλίνης ο μυς οξειδώνει κυρίως γλυκόζη, αφού υπάρχει σε διαθεσιμότητα στον οργανισμό, ενώ παράλληλα η οξείδωση του λίπους μειώνεται σημαντικά (καταστέλλεται).

Τα μιτοχόνδρια εξυπηρετούν ζωτικές λειτουργίες όπως η οξείδωση των υποστρωμάτων και η μετατροπή της ενέργειας σε ATP και παίζουν βασικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στην απόπτωση και στη μετάδοση του σήματος μέσω της παραγωγής NO, ROS και ενδοκυττάριου ασβεστίου. Ο σκελετικός μυς παίζει ένα βασικό ρόλο στον ενεργειακό μεταβολισμό όλου του σώματος και είναι υπεύθυνος για το 80% της ινσουλινοδιεγερόμενης πρόσληψης γλυκόζης κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής-υπερινσουλιναιμικής αντλίας. Στο σκελετικό μυ οι λευκές (γλυκολυτικές) ή οι ερυθρές (οξειδωτικές) μυικές ίνες ανταποκρίνονται διαφορετικά στην παροχή λιπαρών οξέων ή γλυκόζης. Οι γλυκολυτικές ίνες έχουν χαμηλούς

ρυθμούς οξείδωσης λιπιδίων συγκριτικά με τις οξειδωτικές ίνες, οι οποίες έχουν υψηλό περιεχόμενο σε μιτοχόνδρια και οξειδωτικά ένζυμα. Η οξειδωτική ικανότητα του σκελετικού μυ επηρεάζει την ινσουλινική ευαισθησία. Αν ο σκελετικός μυς δεν ισορροπεί την οξείδωση λιπιδίων με την πρόσληψη λίπους, θα συσσωρευθεί λίπος και θα προκληθεί ινσουλινική αντίσταση.

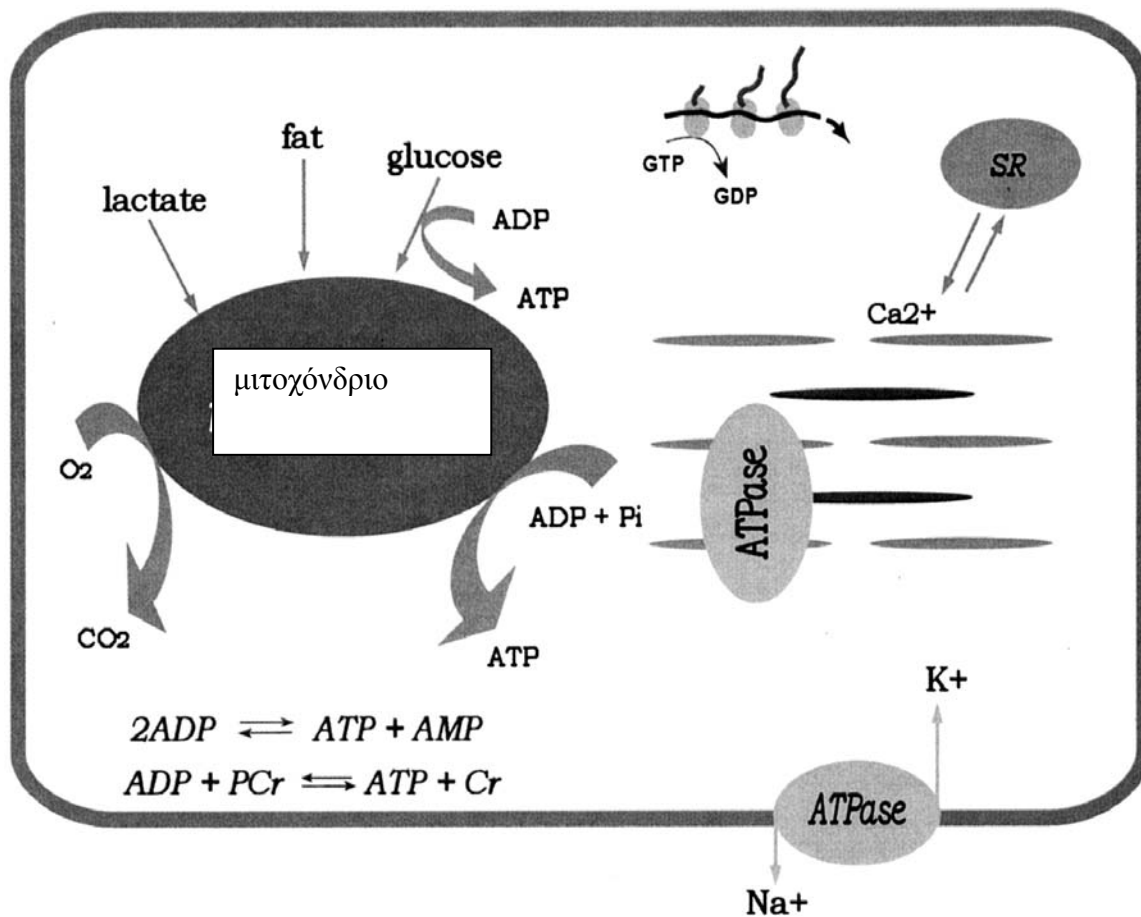
Η μιτοχονδριακή λειτουργία μπορεί να μελετηθεί μέσω της μέτρησης της δραστηριότητας των ενζύμων, που εμπλέκονται στην αναπνευστική αλυσίδα και την οξείδωση των υποστρωμάτων.

Έλλειψη μεταβολικής ευελιξίας σε άτομα με ινσουλινική αντίσταση, παχυσαρκία ή οικογενειακό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.

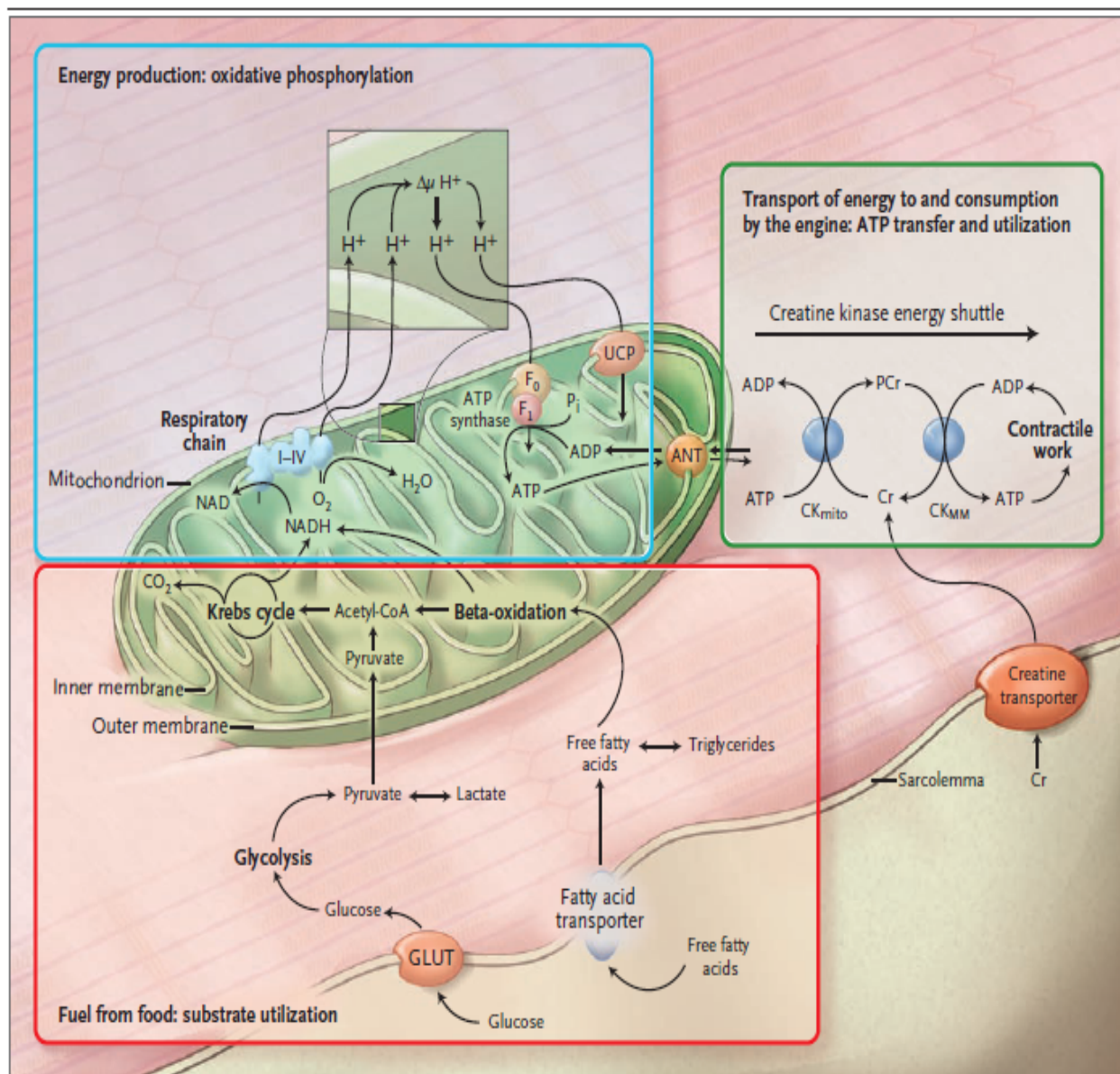
Δύο είναι τα βασικά χαρακτηριστικά της μειωμένης μεταβολικής ευελιξίας: η μειωμένη οξείδωση του λίπους στην κατάσταση νηστείας (υψηλότερο αναπνευστικό πηλίκο) και η μειωμένη ινσουλινοεξαρτώμενη οξείδωση γλυκόζης στη μεταγευματική κατάσταση. Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό της μειωμένης μεταβολικής ευελιξίας είναι η διαταραγμένη καταστολή της λιπόλυσης σε απάντηση στην ινсуλίνη.

Το αναπνευστικό πηλίκο νηστείας είναι υψηλό στο σκελετικό μυ των παχύσαρκων ατόμων με ινσουλινική αντίσταση, στους διαβητικούς τύπου 2 ενήλικες και στους πρώτου βαθμού συγγενείς τους (229). Στα άτομα αυτά με τη χρήση της *in vivo* ³¹P-MRS έχει διαπιστωθεί μειωμένη μιτοχονδριακή οξειδωτική ικανότητα του σκελετικού μυός (150). Η διαταραχή της μιτοχονδριακής λειτουργίας του σκελετικού μυός και η έλλειψη μεταβολικής ευελιξίας σχετίζονται με την ανάπτυξη ινσουλινική αντίστασης και τον τύπου 2 σακχ. διαβήτη. Οι διαταραχές αυτές εμφανίζονται πριν την εμφάνιση νόσου. Αυτό σημαίνει, ότι πρώιμες παρεμβάσεις μπορεί να αναστρέψουν αυτά τα ελαττώματα και να προλάβουν την εμφάνιση διαβήτη και καρδιαγγειακής νόσου.

1.7 ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ



Σχήμα 1.13. Οι αντιδράσεις σύνθεσης και χρήσης του ATP στην καρδιά. Από Ingwall, J. S. et al. *Circ Res* 2004;95:135-145.



Σχήμα 1.14. Παράμετροι του ενεργειακού μεταβολισμού στην καρδιά. Χρήση ενεργειακών υποστρωμάτων-οξειδωτική φωσφορύλωση-σύστημα κρεατινικής κινάσης.

Από Neubauer S. *The failing heart an engine out of fuel*. NEJM 2007;356:(11): 1140-1151.

Η καρδιά καταναλώνει περισσότερη ενέργεια από κάθε άλλο όργανο. Για να εκτελέσει τις λειτουργίες της μετατρέπει την χημική ενέργεια από την οξείδωση των λιπαρών οξέων και της γλυκόζης σε μηχανική ενέργεια αντίδρασης ακτίνης-μυοσίνης στα μυοϊνίδια.

Κάτω από φυσιολογικές αερόβιες συνθήκες 50-70% της ολικής ενέργειας σε ATP προέρχεται από την οξείδωση των λιπαρών οξέων, ενώ το υπόλοιπο προέχεται από τους υδατάνθρακες (γλυκόζη και γαλακτικό). Η χρήση αυτών των ενεργειακών υποστρωμάτων οδηγεί στο σχηματισμό ακετυλο-συνενζύμου Α, το οποίο εισάγεται στον κύκλο του Krebs και παράγει NADH και CO₂. Η δεύτερη παράμετρος είναι η οξειδωτική φωσφορυλίωση και η παραγωγή ενέργειας από την μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα. Τα συμπλέγματα της αναπνευστικής αλυσίδας I έως IV μεταφέρουν ηλεκτρόνια από το NADH στο οξυγόνο δημιουργώντας έτσι μια ηλεκτροχημική διαφορά πρωτονίων μεταξύ της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Αυτή η διαφορά διεγείρει την ATP συνθάση, η οποία παράγει ATP με φωσφορυλίωση του ADP. Η τρίτη παράμετρος είναι η μεταφορά ενέργειας με την κρεατινική κινάση και η κατανάλωση από την μυοϊνιδιακή ATPase και από άλλες αντιδράσεις, που καταναλώνουν ATP όπως οι αντλίες σαρκιλλεϊματικού και σαρκοπλασματικού δικτύου (230).

Το σύστημα της κρεατινικής κινάσης

Στην αντίδραση αυτή η μιτοχονδριακή κρεατινική κινάση καταλύει την μεταφορά ενός υψηλής ενέργειας φωσφορικού δεσμού στην κρεατίνη με αποτέλεσμα την παραγωγή φωσφοκρεατίνης και ADP. Η φωσφοκρεατίνη ένα μόριο μικρότερο από το ATP γρήγορα διαχέεται από τα μιτοχόνδρια στα μυοϊνίδια όπου η μυοϊνιδιακή κρεατινική κινάση καταλύει το σχηματισμό ATP από φωσφοκρεατίνη. Η ελεύθερη κρεατίνη, που σχηματίζεται από την μεταφορά της φωσφορικής ρίζας από την φωσφοκρεατίνη διαχέεται πάλι μέσα στα μιτοχόνδρια. Η κρεατίνη παράγεται από το ήπαρ και τους νεφρούς και μεταφέρεται στην καρδιά, όπου προσλαμβάνεται από έναν ειδικό μεμβρανικό μεταφορέα κρεατίνης (231-232).

Έτσι μία σημαντική λειτουργία του συστήματος της κρεατινικής κινάσης είναι να δρά σαν ενεργειακός ρυθμιστής. Όταν οι ανάγκες σε ενέργεια ξεπερνούν την παροχή ενέργειας το επίπεδο φωσφοκρεατίνης πέφτει, ώστε να διατηρηθεί το ATP σε φυσιολογικά επίπεδα αλλά το ADP αυξάνει. Το αυξημένο επίπεδο ελεύθερου ADP αναστέλλει τη λειτουργία πολλών ενδοκυττάρων ενζύμων προκαλώντας διαταραχή του συσπαστικού μηχανισμού της καρδιάς.

Έτσι μεταβολική αναδιάταξη μπορεί να συμβεί μέσα στο καρδιακό μυοκύτταρο, όταν τα επίπεδα φωσφοκρεατίνης πέφτουν και τα επίπεδα ελεύθερου ADP αυξάνουν ακόμα και αν τα επίπεδα ATP παραμένουν ανέπαφα.

Μελέτες με πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία έδειξαν, ότι η καρδιά έχει μία αποθήκη ενδογενών τριγλυκεριδίων ύψους 1% της μάζας της σε υγιή αδύνατα άτομα, που ισοδυναμεί με 10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ και συγκεντρώσεις ATP, κρεατίνης και φωσφοκρεατίνης 5–8 $\mu\text{mol g}^{-1}$, 21–36 $\mu\text{mol g}^{-1}$, και 10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ αντίστοιχα. Με βάση αυτά τα νούμερα και τη γνώση ότι η πλήρης οξείδωση της γλυκόζης και των λιπαρών οξέων δίνει 36 και 131 ATP ανά μόριο αντίστοιχα και ότι 7,3 kcal (=4.184 J) χρησιμοποιούνται στη σύνθεση ενός μορίου ATP μπορεί κανείς να υποθέσει, ότι η παραπάνω μεταφορά υποστρωμάτων στο πλάσμα παράγει ικανοποιητική ενέργεια για περίπου 0.5–0.7 J min⁻¹ καρδιακής μηχανικής εργασίας ένα νούμερο που μπορεί να αυξηθεί μέσω της χρήσης ενδομυοκαρδιακών τριγλυκεριδίων (168).

Η συμμετοχή των διαφορετικών υποστρωμάτων στον μυοκαρδιακό ενεργειακό μεταβολισμό εξαρτάται από το περιβάλλον των υποστρωμάτων, το ορμονικό περιβάλλον, το επίπεδο μυοκαρδιακής εργασίας και το επίπεδο μυοκαρδιακής αιματικής ροής. Σε συνθήκες νηστείας ο μυοκαρδιακός μεταβολισμός λιπαρών οξέων είναι η βασική πηγή ενέργειας. Αυτό συμβαίνει επειδή τα επίπεδα ινσουλίνης πέφτουν και αυξάνει η λιπόλυση στον περιφερικό λιπώδη ιστό και τα επίπεδα λιπαρών οξέων. Η αυξημένη μεταφορά λιπαρών οξέων στο μυοκάρδιο αυξάνει τα μυοκαρδιακά λιπαρά οξέα τα οποία αποτελούν προσδότη για τη ρυθμιστική οδό του γονιδίου του PPRAa. Ο PPARa είναι ένας πυρηνικός υποδοχέας που ρυθμίζει την μεταγραφή μίας σειράς γονιδίων υπεύθυνων για την πρόσληψη και την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Αντιθέτως μεταγενεματικά τα επίπεδα της ινσουλίνης αυξάνονται το οποίο έχει ως συνέπεια τη μεταφορά των μεταφορέων γλυκόζης GLUT 1 και 2 στις εξωτερικές σαρκειληματικές μεμβράνες και την αύξηση της πρόσληψης της γλυκόζης. Η ινσουλίνη προάγει 5 φορές την μυοκαρδιακή χρήση γλυκόζης ένα αποτέλεσμα, που αυξάνεται από την οξεία υπεργλυκαιμία. Επιπροσθέτως η αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης αναστέλλει την λιπόλυση μέσα στο λιπώδη ιστό και σαν συνέπεια τα λιπαρά οξέα του πλάσματος μειώνονται το οποίο με τη σειρά του οδηγεί σε μείωση του μυοκαρδιακού μεταβολισμού των λιπαρών οξέων. Έτσι μεταγενεματικά η γλυκόζη γίνεται το βασικό συστατικό του οξειδωτικού μεταβολισμού.

Σε συνθήκες φυσιολογικού οξυγόνου η γλυκόζη μετατρέπεται σε πυρρυνικό το οποίο στη συνέχεια οξειδώνεται μέσω του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων. Σε συνθήκες ήπιας και μέτριας μυοκαρδιακής ισχαιμίας η οξείδωση των μυοκαρδιακών λιπαρών οξέων διακόπτεται και ο αναερόβιος μεταβολισμός υπερέχει. Η γλυκόζη γίνεται το βασικό υπόστρωμα τόσο για την αυξημένη αναερόβια γλυκόλυση, όσο και για τον μειωμένο οξειδωτικό μεταβολισμό. Όταν το ισχαιμικό μυοκάρδιο αποκατασταθεί ο οξειδωτικός μεταβολισμός αυξάνεται και συνήθως επιστρέφει στα επίπεδα που ήταν πριν την ισχαιμία. Η χρήση των ελεύθερων λιπαρών οξέων αυξάνεται και με το χρόνο μειώνεται η χρήση της γλυκόζης.

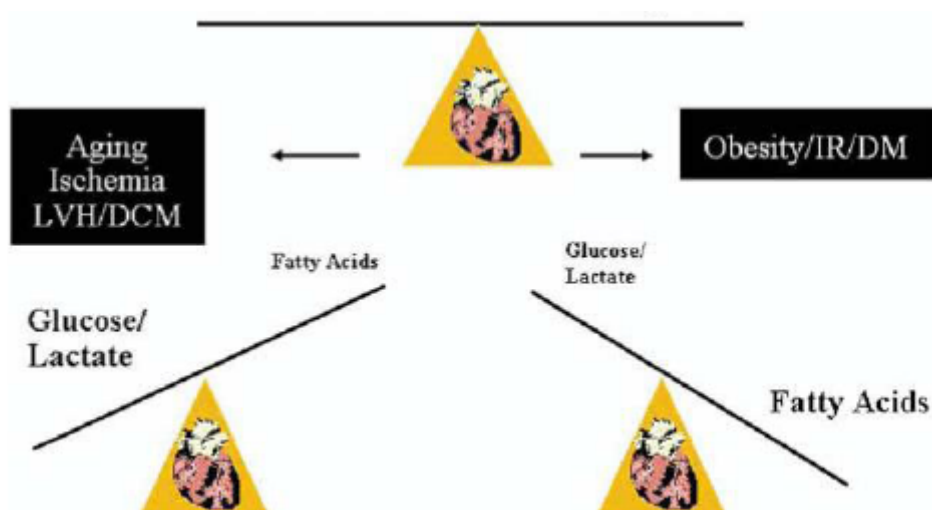
Μελέτες που συγκρίνουν τα αποτελέσματα της ινσουλίνης και της αντιλιπολυτικής ουσίας acipimox πάνω στην καρδιά, δείχνουν ότι η δράση της ινσουλίνης στην καρδιά γίνεται μέσω της μείωσης των κυκλοφορούντων λιπαρών οξέων και της μετακίνησης από την ινσουλίνη μεταφορέων γλυκόζης από το κυτταρόπλασμα στην μεμβράνη. Σε υγιή άτομα η μείωση των λιπαρών οξέων μειώνει την μυοκαρδιακή οξείδωση και το καρδιακό έργο και οδηγεί σε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Αντίθετα η αύξηση των κυκλοφορούντων λιπαρών οξέων όπως επί έγχυσης ηπαρίνης και λιπιδίων προκάλεσε αύξηση της πρόσληψης λιπαρών οξέων στο μυοκάρδιο και οξείδωσή τους, διαταραχή της ινσουλινεξαρτώμενης πρόσληψης γλυκόζης στην καρδιά, αύξηση στα μυοκαρδιακά τριγλυκερίδια και μείωση της διαστολικής λειτουργίας σε υγιείς αδύνατους άνδρες.

ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ

Φαίνεται λοιπόν ότι η υγεία του μυοκαρδίου εξαρτάται από την πλαστικότητα με την οποία μπορεί να εναλλάσσει τα υποστρώματά του ως απάντηση στο stress. Η απώλεια αυτής της ευελιξίας ξεκινά μια σειρά από διαδικασίες, που διαφέρουν αναλόγως, αν οι αλλαγές είναι οξείες ή χρόνιες. Στην πρώτη περίπτωση η οξεία προσαρμογή ρυθμίζεται από την ενεργοποίηση και απενεργοποίηση των οδών, που στρέφονται στη χρήση μεταβολικών καυσίμων με τον πιο αποτελεσματικό τρόπο για το δεδομένο περιβάλλον. Η απάντηση της καρδιάς στην οξεία αύξηση του εργασιακού φόρτου με την οξείδωση του γλυκογόνου, γαλακτικού και γλυκόζης είναι ένα παράδειγμα. Στη χρόνια φάση η μεταβολική ρύθμιση συμβαίνει σε μεταγραφικό επίπεδο και καταλήγει σε προσαρμογή της καρδιάς. Για παράδειγμα η υπερτροφική και

ανεπαρκής καρδιά αλλάζει το γενετικό της προφίλ σε ένα πιο εμβρυικό προφίλ, που ευνοεί τη χρήση γλυκόζης παρά των λιπαρών οξέων ως πηγής ενέργειας.

Αυτή η απώλεια της πλαστικότητας παρατηρείται σε καταστάσεις όπως το γήρας, η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια, η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας. Στις καταστάσεις αυτές παρατηρείται αυξημένη πρόσληψη και οξείδωση λιπαρών οξέων μείωση της χρήσης της γλυκόζης με τελικό αποτέλεσμα την κακή χρήση ενέργειας και οξυγόνου και τη διαταραχή της μηχανικής ικανότητας. Η ιδιοπαθής καρδιακή ανεπάρκεια είναι μία σύνθετη κατάσταση η οποία συχνά συυπάρχει με το διαβήτη, την ινσουλινική αντίσταση, και την υπέρταση στο τελικό στάδιο της μεταβολικής τοξικότητας, οδηγεί σε σοβαρή μιτοχονδριακή διαταραχή, ανικανότητα χρήσης των λιπαρών οξέων και εξάντληση ATP.



Σχήμα 1.15. Τα λιπαρά οξέα κυριαρχούν ως ενεργειακό υπόστρωμα στο σακχαρώδη διαβήτη και την παχυσαρκία.

Σε ασθενείς με διαβήτη η χρήση της γλυκόζης είναι σημαντικά μειωμένη και τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιούν το 90-99 % της MVO₂ εν αντιθέσει με το 50-70% που συμβαίνει στους μη διαβητικούς. Επιπλέον η ικανότητα της καρδιάς να αλλάζει τα ενεργειακά υποστρώματα περιορίζεται. Αυτή η εξάρτηση από το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων μπορεί να αποδοθεί σε πολλούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν: 1) την παρουσία υψηλών επιπέδων λιπαρών οξέων

και τριγλυκεριδίων, 2) η παρουσία υποινσουλιναιμίας, που προκαλεί ενδοκυττάρια μικροσωμιακή μετακίνηση των μεταφορέων γλυκόζης GLUT 4 και μειωμένη δραστηριότητα ακετυλο CoA καρβοξυλάσης και 3) ο συνδυασμός των αυξημένων λιπαρών οξέων και της υποινσουλιναιμίας μειώνουν τη δραστηριότητα του συμπλέγματος της πυρουβικής αφυδρογονάσης. Η οξείδωση της γλυκόζης αναστέλλεται στο επίπεδο του συμπλέγματος της πυρουβικής αφυδρογονάσης ως αποτέλεσμα των αυξημένων επιπέδων μιτοχονδριακού ακετυλ-CoA και της φωσφορυλίωσης της κινάσης της πυρουβικής αφυδρογονάσης 4 από την ενεργοποίηση των PPARα. Έτσι διατηρείται η πρόσληψη της μυοκαρδιακής γλυκόζης, ενώ μειώνεται ο μεταβολισμός της γεγονός, που οδηγεί σε αύξηση των μεταβολιτών της. Οι πιθανές επιπλοκές περιλαμβάνουν τη διαταραχή της μηχανικής λειτουργίας λόγω της αδυναμίας να αυξήσει το μεταβολισμό της γλυκόζης σε απάντηση στο μυοκαρδιακό φόρτο, τη συσσώρευση των μυοκαρδιακών λιπιδίων, που οδηγεί σε διαταραχή των κυτταρικών μεμβρανών, τη μείωση των ενδιάμεσων του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων, την απόπτωση και τη μεγαλύτερη ευαισθησία στη μυοκαρδιακή ισχαιμία. Οι διαβητικοί και οι παχύσαρκοι έχουν αυξημένα μυοκαρδιακά λιπίδια τα οποία σχετίζονται με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και διαταραχή σύσπασης καταστάσεις, που μπορεί να προηγούνται της ανάπτυξης της καρδιακής ανεπάρκειας (233).

Η παρούσα βιβλιογραφία υποστηρίζει, ότι τα πρωτογενή γεγονότα ξεκινούν από εξωκαρδιακά όργανα, αφού τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα επίπεδα γλυκόζης και η δράση της ινσουλίνης ελέγχονται από το λιπώδη ιστό, το σκελετικό μυ, το ήπαρ, ενώ η ευρύτερη έννοια της επικοινωνίας των οργάνων μπορεί να βοηθήσει την κατανόηση των πρωτογενών και προσαρμοστικών γεγονότων, που συμμετέχουν στη τοξικότητα της καρδιάς.

ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ IN VIVO

Στο ήπαρ και τους μύες η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων σχετίζεται με την ινσουλινική ευαισθησία. Το έκτοπο λίπος αποτελεί δείκτη της ισορροπίας μεταξύ της παροχής μεταβολικών υποστρωμάτων και της ζήτησης αυτών σε διαφορετικά επίπεδα ινσουλινικής ευαισθησίας.

Ο προσδιορισμός του έκτοπου λίπους στους ανθρώπους μπορεί να γίνει μέσα από την ανάλυση των ιστικών δειγμάτων από τις βιοψίες με τους περιορισμούς της επεμβατικότητας, του μικρού μεγέθους του δείγματος και της επιμόλυνσης από το γειτονικό λιπώδη ιστό. Μη επεμβατικές τεχνικές επιτυγχάνουν ημιποσοτική (US, CT) ή ποσοτική προσέγγιση του έκτοπου λίπους (1H

MRS). Η ^1H -MRS επιτρέπει τις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και την λήψη μεγαλύτερων ιστικών δειγμάτων.

Παρά το ότι η έκτοπη συσσώρευση λίπους αποτελεί δείκτη λιποτοξικότητας, η προσαρμογή των μεταβολικών διαδικασιών και της μιτοχονδριακής λειτουργίας φαίνεται να είναι πιο σημαντική από το πραγματικό ενδοκυτταρικό περιεχόμενο λίπους στο ήπαρ και τους μύες. Η σχέση αυτή επηρεάζεται από την οξειδωτική ικανότητα υποδηλώνοντας, ότι η έκτοπη συγκέντρωση λιπιδίων δεν είναι ο μόνος παράγοντας που εξηγεί την ινσουλινική ευαισθησία.

Νεότερες μέθοδοι για τον προσδιορισμό του ενεργειακού μεταβολισμού σε διάφορα όργανα όπως η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό νέων δεικτών λειτουργίας των οργάνων στους ανθρώπους.

1.8 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία MRS (MR Spectroscopy) είναι μία μέθοδος, που επιτρέπει την εκτίμηση της βιοχημείας και του μεταβολισμού *in vivo*. Η μεθοδολογία αυτή βασίζεται στην ίδια αρχή, που διέπει την MR απεικόνιση, δηλαδή την μεταφορά ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας (χρησιμοποιώντας ραδιοσυχνότητες) σε συγκεκριμένους πυρήνες ατόμων, που βρίσκονται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο, αλλά σε αντίθεση με τις τεχνικές της απεικόνισης, που δίνουν την δυνατότητα να δούμε τη μακροσκοπική δομή των ιστών, η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία δίνει τη δυνατότητα να παρακολουθήσουμε τη βιοχημεία σε επίπεδο μοριακό, παρέχοντας φάσμα διαφορετικών συχνοτήτων συντονισμού των πρωτονίων υδρογόνου (σε πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία υδρογόνου) ή των ατόμων φωσφόρου σε (πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου) ανάλογα με τα μόρια που περιέχουν. Με τη χρήση του μαγνητικού τομογράφου είναι δυνατή η λήψη πληροφοριών σχετικά με την βιοχημική κατάσταση των ιστών με την μορφή φασμάτων.

Τα χαρακτηριστικά, που κάνουν αυτή τη μέθοδο μοναδική και συναρπαστική είναι:

1) ότι είναι μη επεμβατική, δίνει τη δυνατότητα της μέτρησης συγκεντρώσεων μεταβολιτών σε επίπεδο ενδοκυτταρικό χωρίς τη χρήση βιοψίας, ραδιενεργών ισοτόπων και ακτίνων X.

2) είναι επαναλήψιμη και παρέχει έτσι τη δυνατότητα της συνεχούς παρακολούθησης μίας παραμέτρου κατά τη διάρκεια ενός πειράματος.

1.9 ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR) είναι μία μορφή φασματοσκοπίας απορρόφησης όπου υπό κατάλληλες συνθήκες το δείγμα απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε συχνότητες χαρακτηριστικές αυτού. Η απορρόφηση είναι συνάρτηση του παρατηρούμενου πυρήνα. Ένα φάσμα NMR είναι ένα διάγραμμα των κορυφών απορρόφησης σε συνάρτηση με τη συχνότητα. Τα πειράματα NMR εκμεταλλεύονται σταθερούς πυρήνες, που έχουν μαγνητική ροπή και δεν είναι ραδιενεργοί. Αν αυτοί οι πυρήνες εισαχθούν μέσα σε ένα πολύ ισχυρό στατικό μαγνητικό πεδίο και διεγερθούν με παλμό ραδιοσυχνότητας, εκπέμπουν ραδιοκύματα μιας συχνότητας, η οποία είναι ανάλογη με την ένταση του μαγνητικού πεδίου και σχετίζεται με το είδος και το μοριακό περιβάλλον των παρατηρούμενων πυρήνων.

Η μεταπτωτική κίνηση των πυρήνων

Πίσω από τα φαινόμενα, που περιγράφουν τον μαγνητικό συντονισμό κρύβεται η έννοια της περιστροφικής κίνησης των φορτισμένων σωματιδίων ή αλλιώς του spin. Όλοι οι πυρήνες των ατόμων χαρακτηρίζονται από μια μαγνητική ιδιότητα ροπής, που ονομάζεται spin. Σύμφωνα με την κβαντική μηχανική κάθε spin χαρακτηρίζεται από έναν κβαντικό αριθμό I , ο οποίος υποδηλώνει τις ενεργειακές στάθμες στις οποίες μπορούν να βρεθούν τα σωματίδια μέσα στον πυρήνα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Τα ανεξάρτητα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια, πρωτόνια, νετρόνια στην ύλη κατέχουν spin με κβαντικό αριθμό $I=1/2$. Στον μαγνητικό συντονισμό τα σωματίδια που μας ενδιαφέρουν είναι αυτά, που δεν μπορούν να ζευγαρώσουν και να μηδενίσουν τα spin τους. Όταν οι πυρήνες αυτοί βρεθούν κάτω από την επίδραση ενός ισχυρού μαγνητικού πεδίου, τότε είναι δυνατόν να μεταφερθεί ενέργεια στο σύστημα των πυρήνων με τη μορφή παλμών ραδιοσυχνοτήτων και να αλλάξει η ενεργειακή κατάσταση του συστήματος. Οι πυρήνες, που διεγείρονται κατά την φασματοσκοπία πρέπει να περιέχουν περιττό αριθμό πρωτονίων, προκειμένου να χαρακτηρίζονται από μια μαγνητική ροπή, το φαινόμενο της οποίας εκμεταλλευόμαστε. Αυτοί που χρησιμοποιούνται συνήθως σε *in vivo* πειράματα είναι του υδρογόνου ^1H , του φωσφόρου ^{31}P , του νατρίου ^{23}Na , του φθορίου ^{19}F , του άνθρακα ^{13}C και του

αζώτου ¹⁵N, γεγονός που φανερώνει το μεγάλο εύρος των εφαρμογών στην χημεία και στην ιατρική.

Η MR φασματοσκοπία του υδρογόνου, η οποία ονομάζεται εναλλακτικά φασματοσκοπία πρωτονίου, επειδή ο πυρήνας του υδρογόνου αποτελείται από ένα αζευγάρωτο πρωτόνιο είναι η πιο εύκολη και πιο αποτελεσματική τεχνική συγκριτικά και παρουσιάζει υψηλές τιμές του λόγου σήματος προς θόρυβο (σηματοθορυβικός λόγος SNR). Οι πυρήνες υδρογόνου απαιτούν τη μικρότερη ενεργειακή κατανάλωση για να μεταπηδήσουν σε διαφορετική ενεργειακή κατάσταση, ενώ ο ανθρώπινος οργανισμός αποτελείται κατά 80% από υδρογόνο, ποσοστό που ενισχύει το τελικό σήμα λήψης. Παράλληλα, μπορεί να εξάγει αποτελέσματα σε χρονικό διάστημα μερικών μόνο λεπτών, ενώ η διαδικασία έχει ήδη ενσωματωθεί στα συμβατικά MR απεικονιστικά πρωτόκολλα για κλινικές δοκιμές.

Οι συχνότητες συντονισμού των προαναφερθέντων πυρήνων διαφέρουν σημαντικά. Η ποικιλία στη συχνότητα του ίδιου πυρήνα σε διαφορετικά μοριακά περιβάλλοντα εκφράζεται σε ppm.

Η ποικιλία αυτή απορρέει από διάφορες προασπίσεις των πυρήνων από το στατικό μαγνητικό πεδίο μέσω των ηλεκτρονίων του μορίου και καλείται χημική μετατόπιση συχνότητας. Αυτή η ιδιότητα είναι σταθερή για τον ίδιο πυρήνα και στο ίδιο μοριακό περιβάλλον και χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των μορίων με τη χρήση φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Η χημική μετατόπιση συχνότητας εκφράζεται σε μονάδες δ (ppm) σε σχέση με τη θέση που συνήθως εμφανίζεται η κορυφή απορρόφησης των πρωτονίων του τετραμεθυλσιλενίου (TMS) στην οποία αυθαίρετα προσδίδεται η τιμή δ=0 ppm. Το δ είναι αδιάστατο μέγεθος, ανεξάρτητο του οργάνου, που χρησιμοποιείται και ορίζεται σαν το πηλίκο της συχνότητας σε Hz του συγκεκριμένου πρωτονίου προς τη συχνότητα σε Hz του φασματογράφου NMR πολλαπλασιαζόμενο επί 10⁶. Καθώς το pH στο περιβάλλον μεταβάλλεται, ορισμένα μόρια πρωτονιώνονται ή αποπρωτονιώνονται. Αυτές οι μεταβολές προκαλούν αντίστοιχα αλλαγές στην κατανομή ηλεκτρονίων του μορίου και μεταβάλλουν τη χημική μετατόπιση συχνότητας. Τέτοιες αλλαγές μπορούν να βαθμονομηθούν κατάλληλα και να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση του pH.

Στην Απεικόνιση Μαγνητικού Συντονισμού, η διαφορά της ενέργειας καταγράφεται ως ένα σήμα ραδιοσυχνοτήτων (RF), το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε μια εικόνα διαβαθμίσεων

του γκρί, όπου τα εντονότερα εικονοστοιχεία (pixels) αντιστοιχούν σε υψηλότερης ισχύος λαμβανόμενα σήματα. Η διαφορά ανάμεσα στην απεικόνιση και στην φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού εντοπίζεται στο γεγονός, ότι στην απεικόνιση, το λαμβανόμενο σήμα ραδιοσυχνοτήτων περιέχει πληροφορία σχετική με την χωρική θέση του πυρήνα, ενώ η φασματοσκοπία παρέχει πληροφορία σχετικά με τη χημική σύσταση του διεγερμένου ιστού. Η πληροφορία αυτή απεικονίζεται γραφικά ως ένα φάσμα, όπου οι κορυφές του αντιστοιχούν στις διαφορετικές χημικές ουσίες, που καταμετρήθηκαν και ανάλογα με το είδος και την θέση της κάθε κορυφής στον άξονα των συχνοτήτων εξάγονται συμπεράσματα για την σύσταση του ιστού.

Πυρήνας	Spin	Συχνότητα συντονισμού στα 1,5T (MHz)	Συχνότητα στη φύση (%)	Σχετική ευαισθησία
^1H	$\frac{1}{2}$	63.9	99.98	100
^{31}P	$\frac{1}{2}$	25.9	100	6.6
^{13}C	$\frac{1}{2}$	16.0	1.1	0.016

Σχήμα 1.16. Ιδιότητες στην μαγνητική φασματοσκοπία των πυρήνων, που χρησιμοποιούνται πιο συχνά.

Ο φώσφορος ^{31}P είναι η μοναδική μορφή ισότοπου του φωσφόρου στη φύση και αποτελεί το 100% των μορφών φωσφόρου. Συναντάται ειδικά σε ορισμένους ιστούς όπως ο σκελετικός μυς και ο καρδιακός μυς. Σε αντίθεση με το ^1H και το ^{31}P ο άνθρακας έχει μία παρουσία μόνο 1.1% στη μορφή ^{13}C και το υπόλοιπο βρίσκεται ως ^{12}C , το οποίο δεν είναι ορατό με τη μαγνητική φασματοσκοπία, αφού δεν έχει spin. Για αυτό η μαγνητική φασματοσκοπία αυτού του πυρήνα είναι μία τεχνική λιγότερο ευαίσθητη, όμως είναι δυνατό να την χρησιμοποιήσουμε σε περιπτώσεις όπου η συγκέντρωσή του είναι πάνω από 40 mM, όπως στην περίπτωση του ηπατικού (200-300mM) και μυϊκού (70-80 mM) γλυκογόνου.

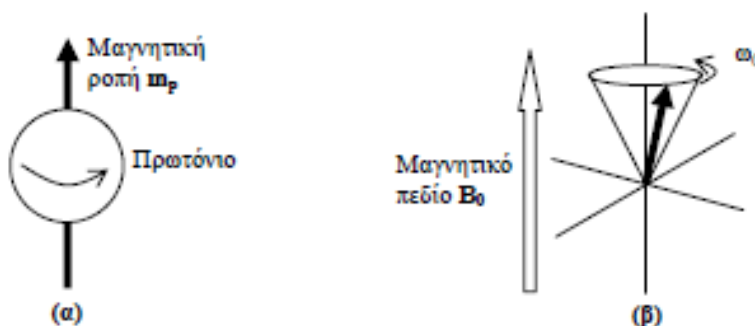
Όταν ένας ασθενής τοποθετηθεί στο εσωτερικό του μαγνήτη, η παρουσία του ισχυρού μαγνητικού πεδίου (τουλάχιστον 1.5 Tesla- 15.000 φορές ισχυρότερο από το μαγνητικό πεδίο

της γης) αναγκάζει ένα πλήθος από πυρήνες, που βρίσκονται στην ίδια ενεργειακή στάθμη να πραγματοποιούν περιστροφική κίνηση αλληλεπιδρώντας με το ισχυρό εξωτερικό μαγνητικό πεδίο που τους επιβάλλεται. Η αλληλεπίδραση αυτή έχει ως αποτέλεσμα μια σειρά σημαντικών ενεργειακών αλλαγών, που οδηγούν τελικά στην απεικόνιση του ιστού. Συγκεκριμένα, αν θεωρήσουμε, ότι ένα περιστρεφόμενο πρωτόνιο μπορεί να παρασταθεί ως ένα διάνυσμα μαγνητικής ροπής, στο οποίο επιβάλλουμε ένα σταθερό και ομοιόμορφο μαγνητικό πεδίο, τότε το διάνυσμα αυτό θα πραγματοποιήσει μεταπτωτική κίνηση (precession) με συχνότητα f_0 και γωνιακή ταχύτητα ω_0 .

$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \gamma B_0 \iff \omega_0 = \gamma B_0$$

Η εξίσωση αυτή ονομάζεται εξίσωση Larmor και η συχνότητα f_0 συχνότητα Larmor. ω_0 είναι η κυκλική συχνότητα με την οποία το διάνυσμα μαγνήτισης μ στρέφεται γύρω από το μαγνητικό πεδίο έντασης B_0 . Η συχνότητα ω είναι χαρακτηριστική για κάθε άτομο. Η ποσότητα γ είναι ίση με το λόγο της μαγνητικής ροπής εξ' αιτίας του σπιν προς τη στροφορμή λόγω σπιν. Ο λόγος γ ονομάζεται γυρομαγνητικός λόγος του σπιν (gyromagnetic ratio) και μπορεί να λάβει αρνητικές και θετικές τιμές ανάλογα με το είδος των πυρήνων, που υπόκεινται στην μεταπτωτική κίνηση.

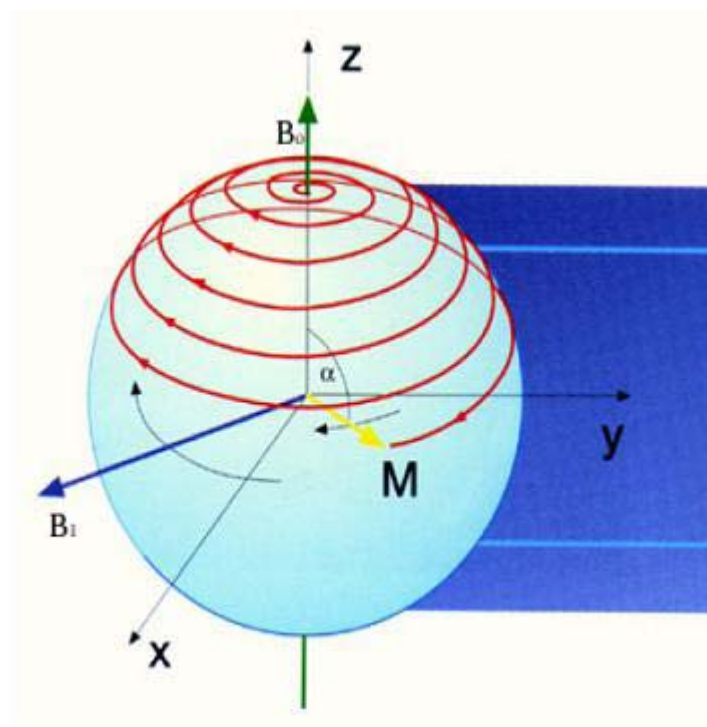
Πυρήνες	Αξευγάρωτα πρωτόνια	Αξευγάρωτα νετρόνια	Spin πλέγματος	Γυρομαγνητικός λόγος $ \gamma $ (MHz/T)
^1H	1	0	1/2	42.58
^{31}P	1	0	1/2	17.25
^{23}Na	1	2	3/2	11.27
^{15}N	1	1	1	3.08
^{13}C	0	1	1/2	10.71
^{19}F	1	0	1/2	40.08



A) Διάνυσμα μαγνητικής ροπής ενός περιστρεφόμενου πρωτονίου

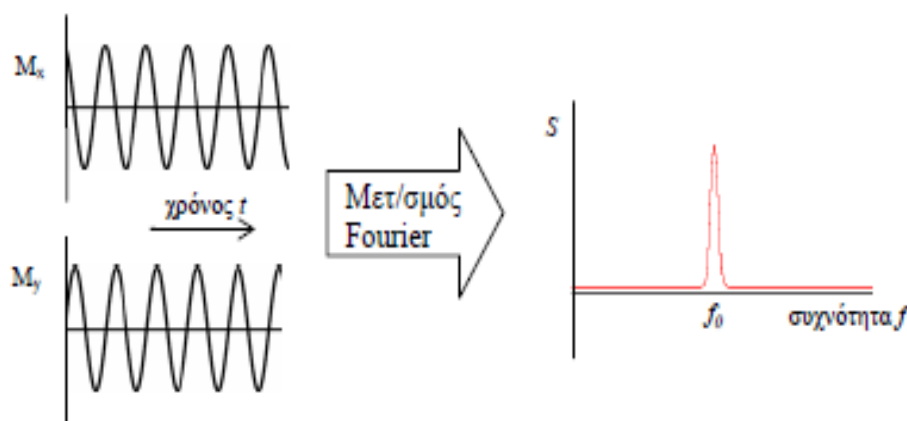
B) Η αλληλεπίδραση της μαγνητικής ροπής ενός πυρήνα με το μαγνητικό πεδίο προκαλεί την μεταπτωτική κίνηση με γωνιακή ταχύτητα ω γύρω από τον άξονα B_0 .

Είναι φανερό, ότι για δεδομένο εξωτερικό πεδίο κάθε τύπος ατομικού πυρήνα εκτελεί μεταπτωτική κίνηση με ορισμένη συχνότητα (ιδιοσυχνότητα), που είναι διαφορετική για κάθε άτομο και επιτρέπει το διαχωρισμό τους. Συνεπώς η μεταπτωτική αυτή κίνηση αποτελεί ένα μέσο διερεύνησης των διαφόρων τύπων πυρήνων, που εμπεριέχονται σε ένα σώμα, είτε αυτό είναι δείγμα κάποιας βιολογικής ή χημικής ουσίας, είτε είναι ιστός κάποιου εξεταζόμενου. Κατά την διάρκεια της εξέτασης τα πηνία ραδιοσυχνότητας του μαγνητικού τομογράφου εκπέμπουν RF (ραδιοσυχνότητες) με συχνότητα ίση με αυτή της περιστροφής των πυρήνων (συχνότητα Larmor). Οι πυρήνες απορροφούν την ηλεκτρομαγνητική ενέργεια και αλλάζει η κατάσταση περιστροφής τους.



Σχήμα 1.17. Η σπειροειδής κίνηση που εκτελεί ο πυρήνας υδρογόνου κατά την διέγερση με παλμούς RF (πεδίο B_1) και την αποδιέγερση.

Μετά από την διέγερση με παλμούς RF, ενώ οι τροχιές μεταπίπτουν στην αρχική τους κατάσταση, εκπέμπουν ένα αδύνατο σήμα ραδιοσυχνότητας στην συχνότητα Larmor (με μικρές αποκλίσεις). Το αδύναμο εκπεμπόμενο σήμα RF το οποίο λαμβάνουμε είναι το σήμα μαγνητικού συντονισμού. Το σήμα αυτό φθίνει με την πάροδο του χρόνου και ονομάζεται σήμα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης (Free Induction Decay). Έπειτα με την εφαρμογή μετασχηματισμού Fourier στο FID (σήμα στο πεδίο του χρόνου) λαμβάνουμε το σήμα στην τελική του μορφή, δηλαδή στο πεδίο των συχνοτήτων. Στο φάσμα στον άξονα των y εμφανίζεται η ισχύς του σήματος, ενώ στον άξονα των x εμφανίζεται η συχνότητα συντονισμού. Οι κορυφές, οι οποίες παρατηρούνται, αντιπροσωπεύουν τις διάφορες χημικές ουσίες (μεταβολίτες, νερό, λίπος), οι οποίες μελετούνται. Σε δείγματα ιστού όπου βρίσκονται πολλοί διαφορετικοί τύποι πυρήνων ο μετασχηματισμός Fourier δίνει ένα ποικιλόμορφο φάσμα με περισσότερες κορυφές σε διαφορετικά ύψη. Οι διαφορές στην συχνότητα συντονισμού των μεταβολιτών οφείλονται στις τοπικές παραμορφώσεις, που προκαλούν στο μαγνητικό πεδίο λόγω διαφορετικής σύστασης και διάταξης στον χώρο.



Σχήμα 1.18. Οι μαγνητίσεις M_x M_y συνθέτουν το φάσμα της μέτρησης. Στην περίπτωση της απλής μεταπτωτικής κίνησης ενός δείγματος ίδιων πυρήνων το φάσμα είναι μία κορυφή στη θέση f_0 .

Κατά την εφαρμογή εξετάσεων MRS και MRSI ο χωρικός προσδιορισμός των λαμβανόμενων σημάτων γίνεται με την υπέρθεση βαθμιδωτών μαγνητικών πεδίων τα οποία αλλάζουν τοπικά την ισχύ του κύριου πεδίου με αποτέλεσμα την μικρή αλλαγή στην συχνότητα συντονισμού των πυρήνων υδρογόνου. Με αυτό τον τρόπο και την εκπομπή παλμών ραδιοσυχνότητας με συγκεκριμένο εύρος συχνοτήτων διεγείρονται συγκεκριμένες περιοχές και μπορεί να

προσδιορισθεί η θέση τους με βάση τις διαφορές στην συχνότητα και τον ρυθμό περιστροφής των πρωτονίων.

Στη φασματοσκοπία λαμβάνονται πληροφορίες για τις σχετικές συγκεντρώσεις ενδογενών μεταβολιτών. Μετά από καταστολή των ισχυρών σημάτων του λίπους και του νερού, ανιχνεύονται διάφοροι μεταβολίτες, παρόντες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, σε ένα συγκεκριμένο όγκο ενδιαφέροντος. Μία συνήθης εμφάνιση φασματοσκοπικής μέτρησης αποτελείται από πολλές κορυφές. Τα φάσματα γενικά είναι το άθροισμα ενός συγκεκριμένου αριθμού επαναλαμβανόμενων διαδοχικών λήψεων. Στο φάσμα οι κορυφές των παραπάνω μεταβολιτών κατέχουν συγκεκριμένη θέση και ύψος και αντιστοιχούν στις σχετικές τους συγκεντρώσεις.

Το εμβαδό κάτω από την αιχμή μιας συγκεκριμένης κορυφής είναι ανάλογο του αριθμού των πυρήνων, που συμβάλλουν στο τελικό σήμα. Έτσι η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία επιτρέπει μία εκτίμηση ποσοτική της χημικής σύστασης ενός ιστού. Η πυκνότητα του μεταβολίτη προσδιορίζεται σε απόλυτη ή σχετική συγκέντρωση. Η σύγκριση γίνεται με ένα εσωτερικό standard όπως το λίπος, το νερό ή ο λόγος ανόργανου φωσφόρου/φωσφοκρεατίνης. Ο προσδιορισμός της απόλυτης συγκέντρωσης είναι εφικτός, όταν το εσωτερικό standard έχει σταθερή συγκέντρωση, η οποία μπορεί να ελεγχθεί ξεχωριστά. Διαφορετικά χρησιμοποιείται εξωτερική αναφορά με γνωστή συγκέντρωση.

Η αρχή χάρη στην οποία μπορούμε να διακρίνουμε μεταξύ των σημάτων, που προέρχονται από τους πυρήνες ίδιου είδους αλλά που βρίσκονται σε διαφορετικά μόρια είναι η λεγόμενη χημική μετατόπιση συχνότητας (chemical shift). Αυτό το φαινόμενο προέρχεται από το γεγονός, ότι οι πυρήνες που βρίσκονται σε ένα μαγνητικό πεδίο εκτός από το να υπόκεινται στην ένταση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, που ασκείται, δέχονται επιρροή και από μικρά μαγνητικά πεδία τοπικά, που σχηματίζονται από τα ηλεκτρικά ρεύματα μέσα στα άτομα των ιστών. Η ένταση αυτών μαγνητικών πεδίων εξαρτάται από την τοπική μοριακή σύσταση.

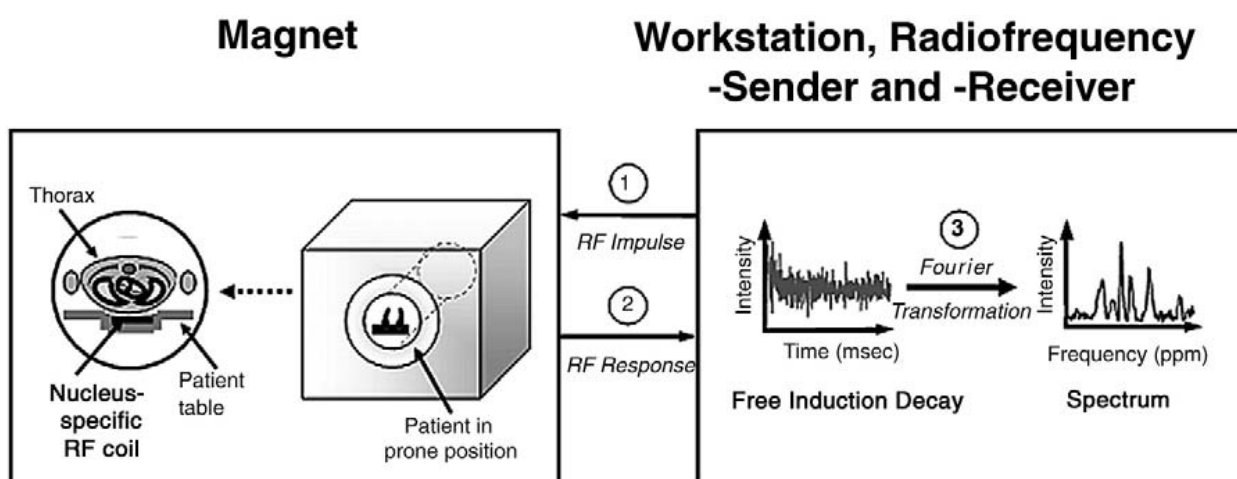
Μαγνητικός τομογράφος-τυπική δομή

Η δομή ενός συστήματος μαγνητικού συντονισμού παρουσιάζεται στην επόμενη εικόνα. Η κύρια συνιστώσα του συστήματος είναι ο κύριος μαγνήτης, που παράγει το εξωτερικό στατικό

πεδίο B_0 . Εκτός από τον βασικό μαγνήτη ένα σύστημα απεικόνισης πρέπει να διαθέτει τέσσερα ακόμα είδη πηνίων:

1. Βαθμιδωτά πηνία (gradient coils) για την παραγωγή της βαθμίδας πεδίου και το χωρικό προσδιορισμό της απεικονιζόμενης περιοχής,
2. πηνία εξομάλυνσης (shim coils) για την εξομάλυνση των ανομοιογενειών του στατικού μαγνητικού πεδίου,
3. κύριο πηνίο ραδιοσυχνότητας (RF coils) για παραγωγή μαγνητικών παλμών διέγερσης και ανίχνευση σημάτων FID, και
4. πηνία επιφανείας (surface coils) και πολυπηνία επιφανείας κυλιόμενης φάσης (phased array multicoils), για την βελτιωμένη λήψη σημάτων από επιλεγμένες περιοχές του σώματος.

Τέλος το απεικονιστικό σύστημα περιλαμβάνει έναν ισχυρό ηλεκτρονικό υπολογιστή για την ανακατασκευή και την επεξεργασία των λαμβανόμενων σημάτων. Ολο το σύστημα του μαγνήτη με τα διάφορα πηνία βρίσκεται στο βασικό σώμα του μηχανήματος. Το σώμα έχει συνήθως σχήμα, κατά προσέγγιση, ορθογωνίου παραλληλεπιπέδου με ένα άνοιγμα-σήραγγα (τούνελ) στο μέσον της πρόσοψής του. Στο άνοιγμα αυτό εισάγεται ο ασθενής.



Σχήμα 1.19. Σύστημα πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας.

Η κατασκευή, που χρησιμοποιείται για την λήψη φασματοσκοπίας με τη μαγνητική τομογραφία αποτελείται από ένα μαγνήτη για την κατασκευή του μαγνητικού πεδίου B_0 , ένα επιφανειακό πηνίο με ραδιοσυχνότητα εκπομπής και λήψεως και ένα ενισχυτή σήματος και έναν υπολογιστή για την επεξεργασία του σήματος. Το επιφανειακό πηνίο θα πρέπει να είναι συγχρονισμένο στο εύρος των συχνοτήτων των σχετικών με τους πυρήνες της μελέτης.

Ο ασθενής τοποθετείται σε ύπτια θέση στο εσωτερικό του μαγνήτη. Το επιφανειακό πηνίο τοποθετείται με τρόπο ώστε να έχει την πιο ακριβή φυσική επαφή με το όργανο και τον ιστό που μας ενδιαφέρει.

Συχνά λάθη.

Η παρουσία του ισχυρού μαγνητικού πεδίου δεν επιτρέπει την τοποθέτηση εξοπλισμού με σιδηρομαγνητικές ιδιότητες πολύ κοντά στον μαγνήτη λόγω του κινδύνου μηχανικής έλξης. Οι ευαίσθητες ηλεκτρονικές συσκευές μπορεί να επηρεασθούν από το μαγνητικό πεδίο, ενώ όποια ηλεκτρονική συσκευή μέσα στον χώρο του μαγνήτη μπορεί να προκαλέσει δυνητικά artifacts στο φάσμα που θα ληφθεί. Η κίνηση του σώματος μπορεί να μειώσει την ποιότητα του φάσματος και να κάνει δύσκολη τη σύγκριση με επόμενα.

Προκειμένου να αντιμετωπιστούν παράγοντες, που επηρεάζουν τις μετρητικές παραμέτρους της φασματοσκοπίας όπως είναι οι ανομοιογένειες του σταθερού μαγνητικού πεδίου B_0 και στην περίπτωση της ^1H MRS η επίδραση των πρωτονίων του ύδατος, γίνονται διαδικασίες εξομάλυνσης (shimming) και καταστολής ύδατος (water suppression). Πριν τη λήψη γίνεται ομογενοποίηση του μαγνητικού πεδίου με εφαρμογή βαθμιδωτών πηνίων εξομάλυνσης (shim gradients).

1.10 ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΡΩΤΟΝΙΟΥ

Η ^1H MRS επιτρέπει την ανίχνευση ενός αριθμού μεταβολιτών όπως η ολική κρεατίνη, το γαλακτικό, η δεοξυμυογλομπίνη και λιπαρά οξέα. Τα σήματα από τα πρωτόνια του νερού και του λίπους κυριαρχούν στο ^1H MRS φάσμα, που λαμβάνεται από το ήπαρ και το σκελετικό μυ.

1.11 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΜΥΟΣ

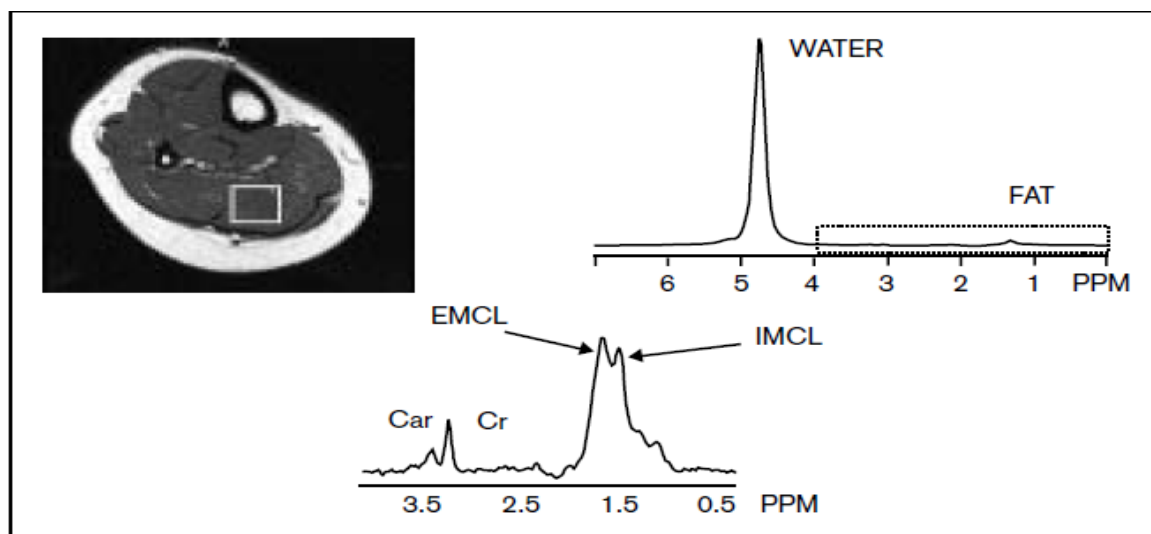
Η ^1H MRS υπερέχει της βιοψίας γιατί είναι ανώδυνη, μη επεμβατική, λαμβάνει δείγμα από μεγαλύτερο όγκο, και μπορεί να επαναληφθεί πολλές φορές στο ίδιο σημείο και μπορεί να διακρίνει το ενδομυοκυτταρικό (IMCL) από το εξωμυοκυτταρικό (EMCL) λίπος στο μυϊκό ιστό (82,12,103). Τα ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια συγκεντρώνονται ως σταγόνες στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων όπως φαίνεται και σε μελέτες με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Σε αντίθεση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο όπου τα λιπίδια διακρίνονται μέσα σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες, η ^1H MRS ανιχνεύει τα λιπίδια σε μεγαλύτερη περιοχή μυός. Η συχνότητα εκπομπής των μικρών σταγόνων λιπιδίων, που περιβάλλονται από υδάτινο διαμέρισμα είναι διαφορετική από αυτή των λιπιδίων, που περιβάλλονται από λιπώδη ιστό και επειδή η συχνότητα των εξωμυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων εξαρτάται από τον προσανατολισμό των στοιβάδων σε σχέση με το μαγνητικό πεδίο, η ^1H MRS μπορεί να διαχωρίσει τα ενδομυοκυτταρικά από τα εξωμυοκυτταρικά τριγλυκερίδια. Ο όγκος του μυός που εξετάζεται με τη μέθοδο αυτή είναι σχετικά μεγάλος 2-3 εκ³ για την single voxel spectroscopy.

Το μειονέκτημα είναι, ότι παρότι ανιχνεύονται δύο κορυφές, αλληλεπικαλύπτονται μερικώς και χρειάζεται ειδική επεξεργασία για την ποσοτικοποίηση καθεμιάς από αυτές. Ειδικά σε παχύσαρκα άτομα ο αυξημένος αριθμός των εξωμυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων καθιστά δύσκολη την τοποθέτηση του φασματοσκοπικού όγκου ενδιαφέροντος χωρίς να αλληλεπικαλυφθούν τα δύο διαμερίσματα.

Οι Perseghin et al διαπίστωσαν μεγαλύτερα ποσά ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων και χαμηλότερη ινσουλινική ευαισθησία σε συγγενείς πρώτου βαθμού διαβητικών τύπου 2 (103). Το αυξημένο ενδομυοκυτταρικό περιεχόμενο σε ινσουλινοάντοχα αλλά κατά τα άλλα υγιή άτομα δείχνει, ότι η συσσώρευση των ενδομυοκυτταρικών τριγλυκεριδίων αποτελεί πρώιμη διαταραχή της ανάπτυξης διαβήτη. Οι Sinha et al βρήκαν παρόμοια ευρήματα σε παχύσαρκους και μη εφήβους.

Η άσκηση μειώνει τα ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια (12). Παρόλα αυτά σε αθλητές αντοχής με αυξημένη οξειδωτική ικανότητα και ινσουλινική ευαισθησία παρατηρείται το παράδοξο να έχουν αυξημένα ενδομυοκυτταρικά τριγλυκερίδια.

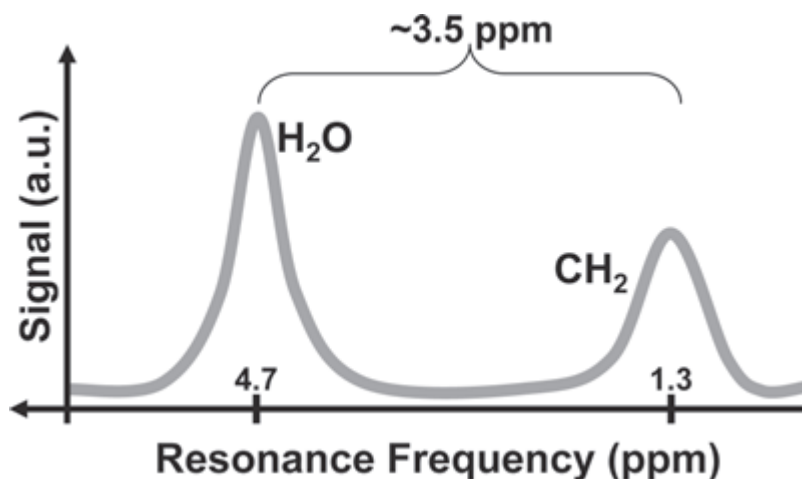


Σχήμα 1.20. ^1H -MRS σκελετικού μυός.

Όλο το φάσμα με την κυρίαρχη αιχμή νερού και τις μικρότερες κορυφές από τα λιπίδια. Φαίνονται οι αιχμές για την κρεατίνη, την καρνιτίνη και τα λιπίδια. Τα σήματα από τα πρωτόνια των ομάδων μεθυλενίου στα λιπίδια λαμβάνονται σε διαφορετικές συχνότητες στα 1,6 και 1,4 ppm και είναι διαφορετικά για τα εξωμυοκυτταρικά (EMCL) και ενδομυοκυτταρικά λιπίδια (IMCL) αντίστοιχα.

1.12 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ ΗΠΑΤΟΣ

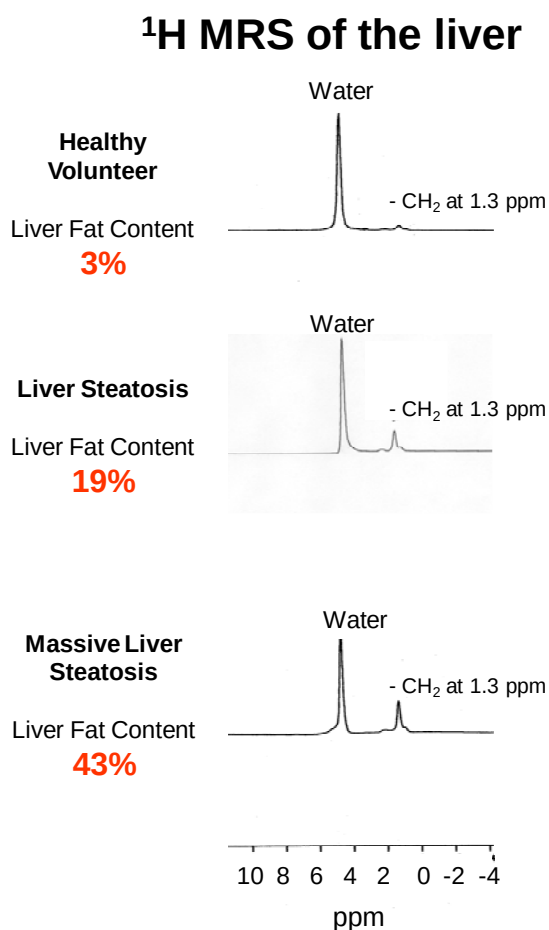
Με την πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία η συγκέντρωση οποιουδήποτε μορίου σε ένα δείγμα απεικονίζεται από την περιοχή κάτω από συγκεκριμένη κορυφή μέσα στο φάσμα. Καθώς η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων επιτρέπει την άμεση μέτρηση της περιοχής κάτω από το φάσμα λιπιδίων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό της λιπώδους διήθησης του ήπατος. Ο προσδιορισμός του ηπατικού λίπους με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων απαιτεί εκτίμηση των δύο βασικών κορυφών μέσα στο μη κατεσταλμένο μαγνητικό φάσμα, του νερού στα 4,7 ppm και των λιπιδίων στα 1,0-1,5 ppm. Εάν ο παλμός μιας ραδιοσυχνότητας εφαρμοσθεί σε ένα μίγμα λίπους-νερού και τα δύο είδη πρωτονίων διεγείρονται αλλά το σήμα από το νερό μετακινείται πιο γρήγορα από το σήμα του λίπους κατά 3,5 ppm.



Σχήμα 1.21 Απλοποιημένο MR φάσμα από ένα μίγμα λίπους-νερού.

Ο χ άξονας αντιπροσωπεύει τη χημική μετατόπιση συχνότητας και ο γ άξονας αντιπροσωπεύει την πυκνότητα του σήματος σε μονάδες a.u. Οι τιμές χημικής μετατόπισης συχνότητας αυξάνονται καθώς κανείς μετακινείται στον άξονα. Η χημική μετατόπιση συχνότητας του σήματος του πρωτονίου στο νερό (4,7 ppm) είναι περίπου 3,5 ppm μεγαλύτερη από το σήμα του πρωτονίου στο λίπος (1,3 ppm). Το μεθυλένιο είναι η πιο συχνή χημική ομάδα των λιπαρών οξέων. Στο 0 ορίζεται η συχνότητα ενός μορίου αναφοράς του τετραμεθυλσιλινίου.

Το ήπαρ με λιπώδη διήθηση εμφανίζει μεγαλύτερη αιχμή του φάσματος του λίπους όπως φαίνεται στο σχήμα 1.22.



Σχήμα 1.22. Φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίων ήπατος από 3 εθελοντές με διαφορετικούς βαθμούς λιπώδους διήθησης ήπατος. Φαίνονται οι κορυφές, που αντιστοιχούν στο νερό και τα λιπίδια. Για κάθε ένα άτομο το ηπατικό περιεχόμενο λίπους προσδιορίστηκε από την εξίσωση $\% \text{λίπους} = \frac{\text{IHCL CH}_2 \text{ περιοχή αιχμής/περιοχή αιχμής νερού}}{\text{}} \times 100$. Φαίνονται τα φάσματα που αντιστοιχούν σε ήπαρ με ήπιου βαθμού λιπώδη διήθηση (3%), σε ήπαρ με μέτριου βαθμού λιπώδη διήθηση (19 %), και σε ήπαρ με σοβαρού βαθμού στεάτωση (43%).

Οι Longo et al μελέτησαν έναν πληθυσμό ατόμων με μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ και βρήκαν, ότι το ποσοστό του λίπους, που μετρήθηκε με την ^1H MRS σχετιζόταν ισχυρά με αυτό που προέκυπτε από μετρήσεις με αξονική τομογραφία και βιοψίες ήπατος (75). Η ^1H MRS αποτελεί ένα γρήγορο, μη επεμβατικό μέσο για τον προσδιορισμό του ηπατικού περιεχομένου λίπους και έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της συχνότητας του NAFLD στο γενικό πληθυσμό καθώς και σε κλινικές μελέτες, παρόλα αυτά όμως στα περισσότερα κέντρα ακόμη χρησιμοποιείται μόνο για ερευνητικούς σκοπούς.

Η βιοψία ήπατος, αποτελεί την μέθοδο αναφοράς για την προσέγγιση της στεάτωσης, αποτελεί όμως επεμβατική μέθοδο με κόστος και νοσηρότητα, με πιθανότητα τεχνικού λάθους και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων, αφού λαμβάνει μικρό δείγμα ιστού και έτσι δεν είναι κατάλληλη ούτε για screening, ούτε για τη μακροχρόνια παρακολούθηση ή την εκτίμηση θεραπευτικών απαντήσεων. Χρειάζεται μία μέθοδος, που με ακρίβεια να προσδιορίζει και να ποσοτικοποιεί την ηπατική στεάτωση προκειμένου διαπιστώνονται οι ατομικές διαφορές και να είναι εφικτή η παρακολούθηση μετά από θεραπευτική παρέμβαση.

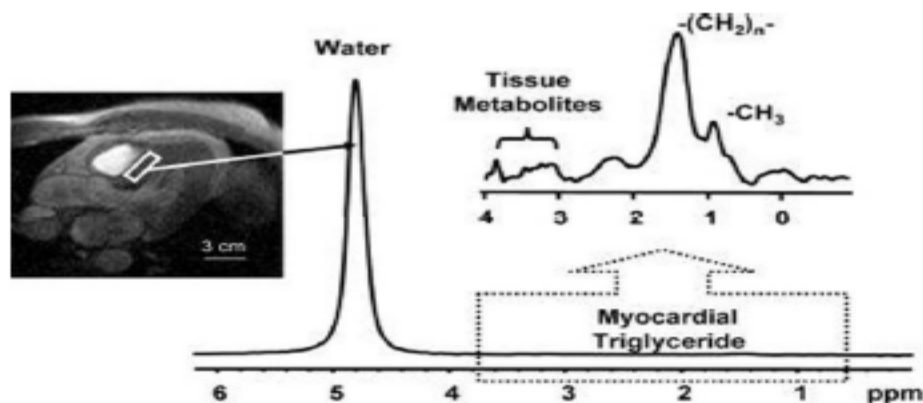
Η μαγνητική φασματοσκοπία μπορεί να ανιχνεύσει ποσότητα λίπους έως και 0,5% κάτι το οποίο καμία άλλη τεχνική μαγνητικής απεικόνισης δεν κατορθώνει, ενώ θεωρείται η πιο ευαίσθητη, μη επεμβατική μέθοδος για την ανίχνευση λίπους στο ήπαρ αλλά και σε άλλους ιστούς της κοιλιακής χώρας (90). Χρειάζεται όμως μεγάλο χρόνο λήψης, επειδή ένας υψηλός σηματοθορυβικός λόγος θα πρέπει να ανιχνευτεί και να αναλύσει μικρά σήματα φάσματος που σχετίζονται με μεταβολίτες. Αντίθετα με τη μαγνητική απεικόνιση η φασματοσκοπία πραγματοποιείται σε ένα voxel την ώρα και έτσι δεν λαμβάνει ανατομικές πληροφορίες.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΙΚΗΣ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ

Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες, που διερευνούν τους μηχανισμούς της ινσουλινικής αντίστασης. Η συγκέντρωση του ηπατικού λίπους έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με διαταραχή της καταστολής της ηπατικής γλυκονεογένεσης από την ινσουλίνη και αυξημένα τριγλυκερίδια ορού ανεξάρτητα του βαθμού παχυσαρκίας (87). Το αυξημένο ενδοηπατικό λίπος σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση σε HIV ασθενείς με HAART

λιποδυστροφία (163). Σημαντική βελτίωση στο βαθμό ηπατικής στεάτωσης έχει βρεθεί σε ασθενείς με λιποδυστροφία, οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με λεπτίνη (206, 192).

Η φασματοσκοπία πρωτονίου μπορεί να μετρήσει την ολική μυοκαρδιακή κρεατίνη τις φωσφορυλιωμένες και μη ενώσεις και είναι η μόνη μέθοδος που μπορεί να προσδιορίσει το μυοκαρδιακό περιεχόμενο λίπους μη επεμβατικά στους ανθρώπους.



Σχήμα 1.21 ^1H -MRS ανθρώπινης καρδιάς.

Φαίνεται αριστερά ο φασματοσκοπικός όγκος ενδιαφέροντος 6 ml στο κοιλιακό διάφραγμα του μυοκαρδίου, που έχει ληφθεί στο τέλος της συστολής. Από Herrero and Gropler (106).

Η ^{13}C -MRS προσεγγίζει τα μεταβολικά μονοπάτια της γλυκόλυσης, του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων, της β -οξειδωσης, της νεογλυκογένεσης κατά τη νηστεία στο ήπαρ. Παρόλα αυτά οι μη πρωτονικοί πυρήνες έχουν σημαντικά χαμηλότερη ευαισθησία από ότι ο ^1H και είναι παρόντες σε συγκεντρώσεις 4-5 φορές χαμηλότερες από αυτές του ^1H , που βρίσκεται στο νερό και το λίπος. Αυτό περιορίζει σημαντικά την κλινική χρησιμότητα. Μπορεί απευθείας να μετρήσει συγκεντρώσεις ενδοκυττάρων μεταβολιτών όπως η γλυκόζη, η 6-φωσφορική γλυκόζη, τα τριγλυκερίδια, το γλυκογόνο τα οποία δεν μπορούν να μετρηθούν με ακρίβεια και επαναληψιμότητα, με τη χρήση των συμβατικών τεχνικών βιοψίας. Οι Shulman GI et al με τη χρήση της ^{13}C MRS μέτρησαν το ρυθμό σύνθεσης μυϊκού γλυκογόνου σε ασθενείς με τύπου 2 διαβήτη και βρήκαν, ότι η σύνθεση του μυϊκού γλυκογόνου ήταν 50% χαμηλότερη σε διαβητικούς συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα. Έδειξαν λοιπόν, ότι υπό συνθήκες υπεργλυκαιμίας και υπερινσουλιναϊμίας η διαταραγμένη σύνθεση του μυϊκού γλυκογόνου είναι η βασική οδός πρόκλησης ινσουλινικής αντίστασης σε ασθενείς με ΣΔ2 (211).

Οι ίδιοι ερευνητές συνδύασαν την ^{13}C MRS και την ^{31}P MRS και μέτρησαν τους ρυθμούς της σύνθεσης μυικού γλυκογόνου και τις συγκεντρώσεις της 6-φωσφορικής γλυκόζης σε ασθενείς με τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη και σε μία ομάδα ελέγχου. Η ενδοκυττάρια 6- φωσφορική γλυκόζη είναι ενδιάμεσο προϊόν της μεταφοράς/φωσφορυλίωσης της γλυκόζης και της σύνθεσης γλυκογόνου, έτσι η συγκέντρωσή της εξαρτάται από τη δραστηριότητα αυτών των οδών. Λόγω της μειωμένης δραστηριότητας της συνθάσης γλυκογόνου στους διαβητικούς η συγκέντρωση της 6 φωσφορικής γλυκόζης θα περιμέναμε να είναι αυξημένη. Η μέτρηση της 6 φωσφορικής γλυκόζης δεν μπορεί να είναι ακριβής στους ανθρώπους με τη χρήση βιοψίας, γιατί η συγκέντρωσή της αυξάνει λόγω της υδρόλυσης του γλυκογόνου σε 6 φωσφορική-γλυκόζη κατά τη βιοψία. Με τη χρήση της ^{31}P -MRS βρέθηκε ότι στους διαβητικούς ήταν διαταραγμένη η μετατροπή της κάτι που σημαίνει ότι, είτε είναι ελαττωματική η μεταφορά γλυκόζης, είτε είναι μειωμένη η φωσφορυλίωση.

Όταν οι μελέτες έγιναν και σε συγγενείς πρώτου βαθμού διαβητικών, οι οποίοι έχουν 40% πιθανότητα να αναπτύξουν διαβήτη βρέθηκε, ότι είχαν μείωση 50% του ινσουλινοεξαρτώμενου μεταβολισμού της γλυκόζης, που οφειλόταν σε μείωση του ρυθμού σύνθεσης μυικού γλυκογόνου. Η μείωση αυτή συνοδευόταν από αύξηση της ενδομυικής 6-φωσφορικής γλυκόζης. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν, ότι οι διαταραχές της ινσουλινοεξαρτώμενης μεταφοράς/φωσφορυλίωσης της γλυκόζης αποτελούν πρώιμες βλάβες στην παθογένεια του διαβήτη τύπου 2 (212).

1.12 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΩΣΦΟΡΟΥ ^{31}P

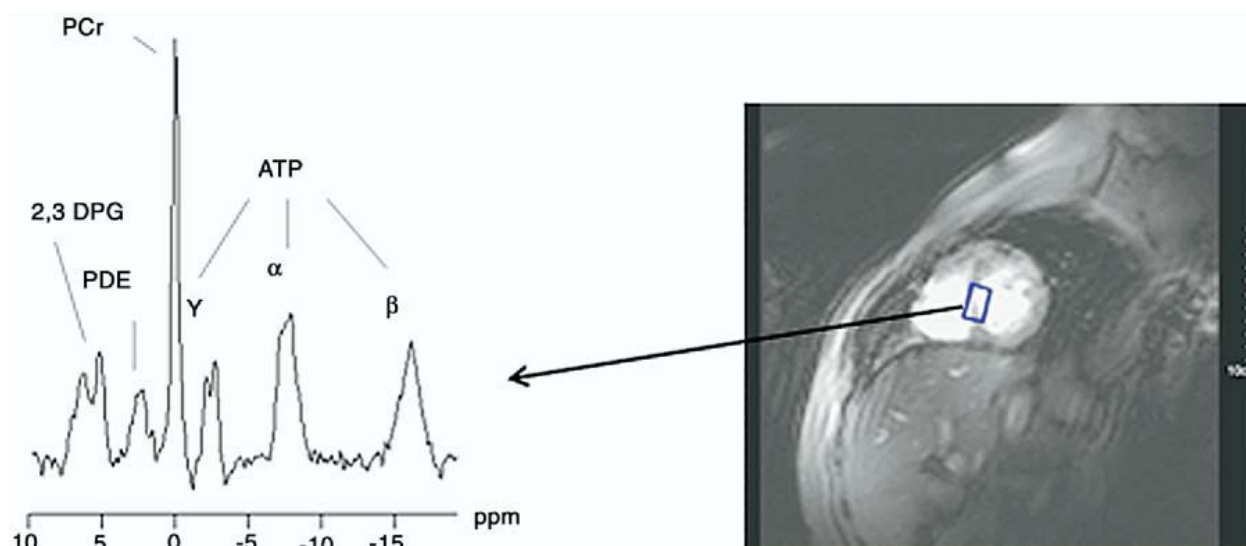
Μελέτη του ενεργειακού μεταβολισμού της καρδιάς

Οι ιστοί, που καταναλώνουν γρήγορα ATP όπως ο μυικός και ο εγκέφαλος χρησιμοποιούν τη φωσφοκρεατίνη σαν πηγή γρήγορης αναγέννησης ATP. Κατά τη διάρκεια της άσκησης η συγκέντρωση φωσφοκρεατίνης μειώνεται και μετά επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Η αναερόβια γλυκολυτική σύνθεση ATP και η οξειδωτική φωσφορυλίωση (αερόβια) παρέχουν την ενέργεια για την μακράς διάρκειας μυική εργασία και την άμεση αντικατάσταση του ATP στην αντίδραση της κρεατινικής κινάσης.

Οι παράμετροι του ενεργειακού μεταβολισμού στην καρδιά μπορούν να μετρηθούν μέσω των δειγμάτων, που παραλαμβάνονται από βιοψίες μυοκαρδίου κατά τη διαδικασία μεταμοσχεύσεων ή από ζωικά μοντέλα. Η ανάλυση του ATP και της φωσφοκρεατίνης στα ιστικά δείγματα είναι δύσκολη εξαιτίας της αστάθειας αυτών των δειγμάτων.

Η καρδιακή μαγνητική φασματοσκοπία (MRS) ανοίγει ένα παράθυρο στη μελέτη του μεταβολισμού της καρδιάς. Οι περισσότερες εφαρμογές της καρδιακής μαγνητικής φασματοσκοπίας έχουν πραγματοποιηθεί με τη χρήση των πυρήνων ^{31}P , οι οποίοι δίνουν στοιχεία για τον μεταβολισμό των φωσφορικών ενώσεων υψηλής ενέργειας. Άλλοι πυρήνες όπως του ^1H και του ^{13}C έχουν μελετηθεί λιγότερο εντατικά αλλά έχουν μικρότερη ευαισθησία εξαιτίας του μεγάλου σήματος, που δίνει το νερό. Η καρδιακή MRS χρησιμοποιεί το ίδιο hardware με την καρδιακή MRI, τυπικά 1,5 ή 3 T μαγνήτη ειδικά για τους πυρήνες πηνία και ευρείας ραδιοσυχνότητας μεταδότη για να διεγερθούν άλλοι πυρήνες πλην του πρωτονίου. Ειδικές συνέχειες πρόσληψης, επεξεργασίας και ανάλυσης δεδομένων χρησιμοποιούνται. Τα άτομα μελετώνται στην ύπτια θέση, ώστε να μειωθεί η απόσταση μεταξύ του επιφανειακού πηνίου και της καρδιάς και να μειωθούν οι αναπνευστικές κινήσεις. Η ^{31}P MRS αποτελεί μία μη επεμβατική, άμεση και ποσοτική τεχνική για την εκτίμηση της βιοενεργητικής του μυοκαρδίου καθώς μπορούν να διακριθούν διαφορετικές αιχμές για τον ανόργανο φώσφορο, την φωσφοκρεατίνη, και τα τρία άτομα φωσφόρου του ATP, οι οποίες είναι ανάλογες με τις συγκεντρώσεις αυτών των μεταβολιτών. Σημαντικοί στόχοι της ^{31}P -MRS είναι οι ενώσεις υψηλής ενέργειας φωσφόρου όπως το ATP το οποίο είναι πηγή όλων των αντιδράσεων, που καταναλώνουν ενέργεια, και η φωσφοκρεατίνη, που λειτουργεί ως ενεργειακή αποθήκη. Ο λόγος PCr/ATP είναι έμμεσος δείκτης της ενεργειακής κατάστασης του μυοκαρδίου. Όταν η ανάγκη για ATP ξεπερνά την σύνθεσή του, τα επίπεδα φωσφοκρεατίνης πέφτουν οδηγώντας σε χαμηλό λόγο φωσφοκρεατίνης/ATP.

Ένα τυπικό φάσμα ^{31}P από ένα υγιή εθελοντή έχει 6 κορυφές, οι 3 αντιστοιχούν στα ^{31}P άτομα (α , β , γ) του ATP και οι υπόλοιπες στη φωσφοκρεατίνη, στο 2,3 διφωσφογλυκερικό (από τα ερυθροκύτταρα) και στους φωσφοδιεστέρες (από τη μεμβράνη και τα φωσφολιπίδια του ορού).



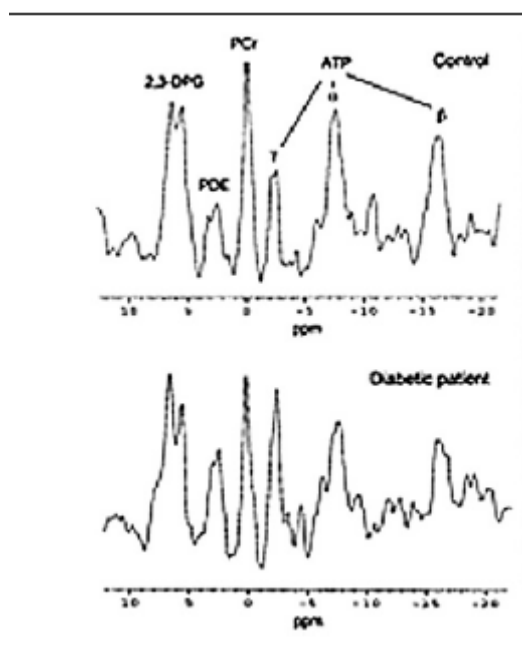
Σχήμα 1.22 ^{31}P MRS φάσμα υγιούς μυοκαρδίου.

Από αριστερά προς δεξιά συναντούμε φωσφομονοεστέρες και συγκεκριμένα το 2,3 διφωσφογλυκερικό το οποίο είναι παρόν στο αίμα (5,4 και 6,3 ppm), τον ανόργανο φωσφόρο (3,7-5,2 ppm)–μεταξύ αυτών υπάρχει αλληλεπικάλυψη-, τη φωσφοδιεστεράση (2-3 ppm), τη φωσφοκρεατίνη (0 ppm), και τις τρεις κορυφές του ATP γ , α , β (-2,7, -7,8, -16,3 ppm).

Αναφέρονται συγκεντρώσεις μεταξύ $9,0 \pm 1,2$ και $12,1 \pm 4,3$ για την φωσφοκρεατίνη (PCr) και μεταξύ $5,3 \pm 1,2$ και $7,7 \pm 3,0$ για το ATP σε υγιείς ενήλικες με τάση για υψηλότερα επίπεδα σε νέους και χαμηλότερα σε ηλικιωμένους και για τους 2 μεταβολίτες. Η αναλογία μεταξύ των απόλυτων συγκεντρώσεων PCr και ATP είναι μεταξύ 1,52 και 2,5. Υπάρχουν ενδείξεις, ότι οι φωσφορικές ενώσεις υψηλής ενέργειας μειώνονται με την ηλικία.

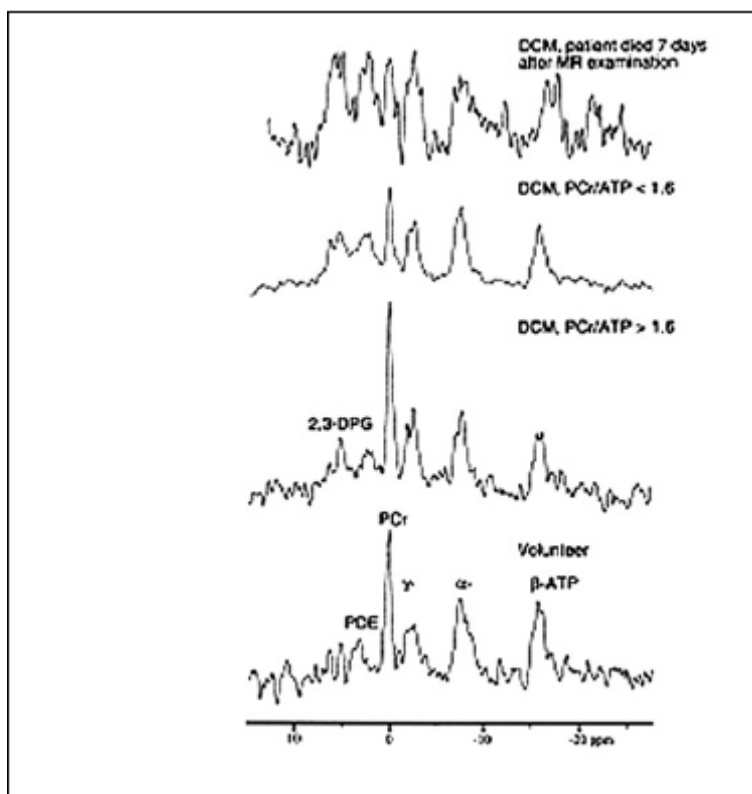
Η κλινική σημασία της ^{31}P φασματοσκοπίας επεκτείνεται σε μελέτες σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιακή νόσο, καρδιομυοπάθεια και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (183, 184). Ο λόγος φωσφοκρεατίνης/ATP έχει αποδειχθεί, ότι αποτελεί έναν ευαίσθητο δείκτη τοπικής ισχαιμίας σε ασθενείς με σημαντική στένωση των στεφανιαίων αγγείων. Μέσα σε δευτερόλεπτα ισχαιμίας τα επίπεδα φωσφοκρεατίνης πέφτουν και ο ανόργανος φωσφόρος αυξάνεται. Σε ασθενείς με >70% στένωση της πρόσθιας κατιούσας στεφανιαίας ο λόγος PCr/ATP ήταν φυσιολογικός στην ηρεμία, αλλά μειωνόταν όταν αυξανόταν το καρδιακό έργο κατά 30-35% και επέστρεφε στο φυσιολογικό κατά την αποκατάσταση. Ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και φυσιολογική καρδιακή λειτουργία παρουσιάζουν διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού στο

επίπεδο του καρδιακού και σκελετικού μυός (183) και συγκεκριμένα μείωση του λόγου PCr/ATP.



Σχήμα 1.22 Διαταραχή του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

Επάνω είναι το ^{31}P φάσμα ενός υγιούς ατόμου και κάτω το φάσμα ενός διαβητικού τύπου 2 όπου φαίνεται ο μειωμένος λόγος PCr/ATP. Από Scheuermann-Freestone (183).



Σχήμα 1.23 Από πάνω προς τα κάτω είναι τα φάσματα από εθελοντές με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και σοβαρά μειωμένο, μειωμένο και φυσιολογικό λόγο PCr/ATP και το φυσιολογικό φάσμα υγιούς εθελοντού. Από Neubauer et al (168)l.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ ΗΠΑΤΟΣ (^1H -MRS)

Πραγματοποιήθηκε στην ηρεμία με τους εθελοντές σε ύπτια θέση και τη χρήση του μαγνητικού τομογράφου 1,5 Tesla (whole body scanner Gyroscan Intera Master 1,5 MR System, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) και ενός κυκλικού επιφανειακού πηνίου (C1-coil). Ελήφθησαν στεφανιαίες και εγκάρσιες τομές του ήπατος από όλους τους ασθενείς. Εν συνεχεία ελήφθησαν T1- προσανατολισμένες ακολουθίες παλμών με το ύδωρ και το λίπος σε συμφωνία και σε αντίθεση φάσης (in-phase και out-of phase T1-weighted sequences), ώστε να αναζητηθεί η ενδεχόμενη απώλεια του σήματος στις ακολουθίες αντίθετης φάσης (out of phase), το οποίο αποτελεί χαρακτηριστικό της συσσώρευσης ενδοηπατικού λίπους. Ο φασματοσκοπικός όγκος ενδιαφέροντος 8 cm^3 τοποθετήθηκε πάνω από το δεξιό λοβό αποφεύγοντας τα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία, τα ενδοηπατικά χοληφόρα αγγεία και τα πλευρικά όρια του ήπατος.

Έγινε εντοπισμένη βαθμονόμηση συντονισμού σε όγκο ενδιαφέροντος (voxel shimming) για να βελτιωθεί η ομοιογένεια του μαγνητικού πεδίου μέσα στο συγκεκριμένο φασματοσκοπούμενο όγκο ενδιαφέροντος. Δύο ^1H φάσματα ελήφθησαν από το ηπατικό παρέγχυμα στις ίδιες prescanning συνθήκες με την PRESS ακολουθία παλμών (interpulse delay TR=3000 ms, χρόνος ηχούς (spin echo time) TE =25 ms, 1024 data points over a 1000 Hz spectral width and 64 acquisitions) με και χωρίς καταστολή του ύδατος αντίστοιχα. Το εμβαδό του φάσματος από τα πρωτόνια του νερού (4,8 ppm) και τις ομάδες μεθυλενίου στις αλυσίδες λιπαρών οξέων των ηπατικών τριγλυκεριδίων (1,4 ppm) προσδιορίστηκαν με time-domain non-linear fitting routine και τη χρήση εμπορικού λογισμικού (VARPRO-MRUI; (www.mrui.uab.es))

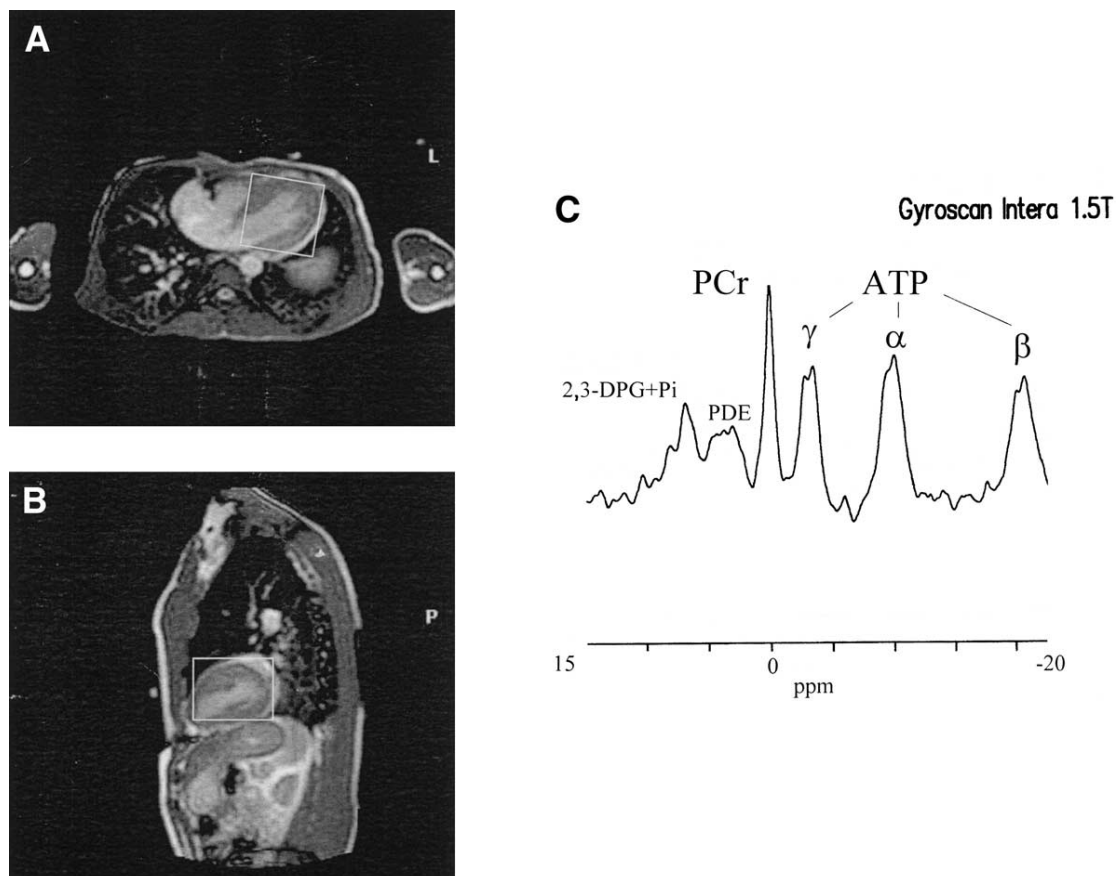
2.2 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ

Πραγματοποιήθηκε με το μαγνητικό τομογράφο (Gyroscan Intera Master 1,5 MR System; Philips Medical Systems, Best, Netherlands) και τη χρήση ενός ενισχυμένου συστήματος βαθμιδωτών πεδίων με μέγιστη ένταση κλίσης 30 mT/m και μέγιστο ρυθμό ανόδου 150 mT/m/s .

Χρησιμοποιήθηκε το Cardiac Research software patch. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ενός πολυπηνίου επιφανείας κυλιόμενης φάσης (SENSE-cardiac coil). Ελήφθησαν εικόνες σε προβολή 4 κοιλοτήτων με τη χρήση ακολουθίας βαθμιδωτών πεδίων balanced fast field echo breath-hold sequence (bFFE/BH) και πραγματοποιήθηκε ογκομετρική εκτίμηση των καρδιακών κοιλοτήτων. Έγινε καταγραφή της ροής μέσα από την μιτροειδή βαλβίδα και υπολογίσθηκαν παράμετροι της διαστολικής λειτουργίας. Ολόκληρο το πρωτόκολλο είχε διάρκεια 30 λεπτά.

2.3 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΦΩΣΦΟΡΟΥ 31P MRS ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ

Η 31P-MRS της καρδιάς πραγματοποιήθηκε σε ηρεμία με τη χρήση του μαγνήτη 1,5 T (Gyrosan Intera Master 1,5 MR System; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands). Το φάσμα 31P ελήφθη με τη χρήση επιφανειακού πηνίου διαμέτρου 10 εκ, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των σημάτων ραδιοσυχνότητας στη συχνότητα φάσματος του 31P (στα 1,5 T, 25,85 MHz) όπως έχει περιγραφεί από τους Lamb et al (174,175). Το επιφανειακό πηνίο σταθεροποιήθηκε στη θέση του με ένα Velcro band γύρω από το στήθος. Η MRI πραγματοποιήθηκε για να ληφθούν εικόνες και να προσαρμοσθεί η ακριβής θέση του επιφανειακού πηνίου 31P και τελικά να τοποθετηθεί το κέντρο του πηνίου ακριβώς κάτω από το επίπεδο της μιτροειδούς βαλβίδος στην καρδιά. Η προσαρμογή της τοπικής ομοιογένειας έγινε με τη χρήση του πηνίου και τη βελτίωση του 1^H MRS σήματος του νερού. Οι όγκοι εξομάλυνσης (shim) ελήφθηκαν σε εγκάρσια και στεφανιαία τομή προκειμένου να συμπεριληφθεί ολόκληρη η αριστερά κοιλία. Ο πομπός-δέκτης ρυθμίστηκε χωρίς χρονοκαθυστέρηση στην 31P συχνότητα. Η ραδιοσυχνότητα προσαρμόστηκε για να ληφθούν 180° παλμοί των 40 μ s για το δείγμα αναφοράς στο κέντρο του 31P επιφανειακού πηνίου. Η λήψη του 31P-MR φάσματος ρυθμίστηκε στο R-κύμα του ΗΚΓ με μία χρονική καθυστέρηση 200 ms και χρόνο ανακύκλωσης 3,6 s. Χρησιμοποιήθηκε ακολουθία 3D ISIS (Image Selected In vivo Spectroscopy). Η περιοχή ενδιαφέροντος (VOI) ήταν $6*7*7\text{ cm}^3$ και αποφεύχθηκαν ο μύς του διαφράγματος και του θωρακικού τοιχώματος. Χρόνος λήψης 10 λεπτά. Ο χρόνος εξέτασης ήταν 40-45 λεπτά.



Σχήμα 1.24 ^{31}P MRS φάσμα από την καρδιά.

Εικόνες από τις εγκάρσιες και στεφανιαίες λήψεις. Το τετράγωνο δείχνει τον φασματοσκοπικό όγκο ενδιαφέροντος. Δεξιά το ^{31}P φάσμα απεικονίζει τις κορυφές από τη φωσφοκρεατίνη (PCr), την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), τους φωσφοδιεστέρες (PDE) και τα συνδυαστικά σήματα από το 2,3 διφωσφογλυκερικό, που προέρχεται από το αίμα και τον ανόργανο φωσφόρο (Pi).

2.4 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Προσδιορισμός ενδοηπατικού περιεχομένου λίπους.

Το ποσοστό ενδοηπατικού λίπους υπολογίστηκε από τη διαίρεση του εμβαδού κάτω από τις ομάδες των μεθυλενίων στις αλυσίδες των λιπαρών οξέων των ηπατικών τριγλυκεριδίων με το άθροισμα των μεθυλενίων και του ύδατος $\times 100$. Η εξασθένηση σήματος οφειλόμενη στην εγκάρσια χαλάρωση (spin-spin relaxation) υπολογίστηκε με τη χρήση των μέσων χρόνων εγκάρσιας χαλάρωσης T_2 που είναι για το νερό 50 ms και για το λίπος 60 ms αντίστοιχα και την εξίσωση χαλάρωσης $I_m = I_o \exp(-T_e/T_2)$, όπου I_m είναι η μετρούμενη ένταση σήματος που θα αποκτηθεί στον επιλεγμένο χρόνο ηχούς T_e , I_o είναι η πυκνότητα σήματος αμέσως μετά τον παλμό 90° και T_2 είναι ο χρόνος εγκάρσιας χαλάρωσης. Οι μέσοι χρόνοι χαλάρωσης T_2 χρησιμοποιήθηκαν για τις εξισώσεις αυτές. Αυτές οι τιμές εκπροσωπούν μία σχετική ποσότητα ύδατος και πρωτονίων στις αλυσίδες των λιπαρών οξέων των ηπατικών τριγλυκεριδίων στον όγκο ενδιαφέροντος. Για να μετατραπούν αυτές οι τιμές σε απόλυτες συγκεντρώσεις εκφρασμένες ως αναλογία λίπους ανά βάρος όγκου χρησιμοποιήσαμε τις εξισώσεις που εκτιμήθηκαν από τους Longo et al (74).

Παραδοσιακά ηπατικό περιεχόμενο λίπους >50 mg/g ιστού (5% ηπατικού βάρους και ισοδύναμο με 6,5% της αναλογίας μεθυλενίου/μεθυλένιο+ύδωρ $\times 100$) είναι διαγνωστικό ηπατικής στεάτωσης. Οι εθελοντές χωρίστηκαν στην ομάδα των ατόμων με φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο ($<5\%$ ηπατικού βάρους) και μία δεύτερη ομάδα με υψηλότερο από το φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο ($>5\%$ ηπατικού βάρους).

Ανάλυση μαγνητικής τομογραφίας απεικόνισης στην καρδιά.

Η ανάλυση των εικόνων έγινε στο image-processing workstation. (Easy Vision; Philips Medical Systems) με τη χρήση του λογισμικού καρδιακής ανάλυσης. Τα ενδοκαρδιακά περιγράμματα της αριστερής κοιλίας σχεδιάστηκαν δια χειρός από πεπειραμένο καρδιοακτινολόγο σε όλες τις καρδιακές φάσεις και τα επικαρδιακά περιγράμματα αντίστοιχα στις τελοδιαστολικές φάσεις. Οι επιφάνειες των ενδοκαρδιακών ορίων στο τέλος της διαστολής και στο τέλος της συστολής αυτόματα αθροίστηκαν και πολλαπλασιάστηκαν με παραμέτρους σχετικές με το πάχος των τομών, ώστε να προκύψουν οι τελοδιαστολικοί και τελοσυστολικοί όγκοι. Από αυτή την

ανάλυση υπολογίσθηκαν τα stroke volumes, cardiac output, ejection fractions αυτόματα. Η μάζα της αριστεράς κοιλίας υπολογίσθηκε από τον πολλαπλασιασμό του τοιχωματικού όγκου με την ειδική πυκνότητα του καρδιακού μυός ($1,05 \text{ g/cm}^3$). Για την προσέγγιση της διαστολικής λειτουργίας η περιοχή της βαλβίδος της μιτροειδούς σχεδιάσθηκε με το χέρι. Η μέση ροή (ml/s) προσδιορίσθηκε για κάθε καρδιακή φάση.

Ανάλυση φάσματος 31P- MRS.

Το 31P-MR φάσμα μεταφέρθηκε στο SUN-SPARC workstation προς ανάλυση. Έγινε διόρθωση του ATP για τη συμμετοχή του αίματος από τις καρδιακές κοιλότητες. Βάση του χρόνου επανάληψης TR ο λόγος PCr/ATP διορθώθηκε για φαινόμενα μερικού κορεσμού. Μια εκτίμηση του σηματοθυρβικού λόγου κάθε φάσματος έγινε με τη σχετική Cramer-Rao τυπική απόκλιση (rCRSD), που υπολογίσθηκε για τον λόγο PCr/ATP. Σε περίπτωση που ήταν $>20\%$ το φάσμα απορρίπτετο και λαμβανόταν ένα νέο.

Υπολογισμός του ενδοπερικαρδιακού και εξωπερικαρδιακού λίπους.

Η θωρακική περιοχή απεικονίσθηκε με MRI και τη χρήση συγκεκριμένου πρωτοκόλλου με HKΓ παρακολούθηση και συγκράτηση αναπνοής κατά τη διάρκεια της λήψης όπως αναφέρεται από τους Sironi et al (176).

Η λήψη επικαρδιακού λίπους έγινε με ταχεία spin echo T1 προσανατολισμένη ακολουθία (TE, 42 ms, echo train length, 23, bandwidth, 62.50, slice thickness, 8 mm; slice gap, 0 mm; field of vision, 38 cm; matrix, $288 * 224$; phase field of vision, 0.75; NEX 1; Trigger delay minimum 8-mm-thick section with 0-mm intersection gap, field of view, and a $256 * 256$ matrix).

Το εξωπερικαρδιακό και ενδοπερικαρδιακό λίπος υπολογίσθηκαν με τη χρήση ημιαυτόματου προγράμματος και εκφράσθηκαν σε εκ^2 .

2.5 ΕΜΜΕΣΗ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑ

Η ενεργειακή δαπάνη είναι το άθροισμα τριών επιμέρους συστατικών στοιχείων: του βασικού μεταβολισμού, της ενεργειακής δαπάνης μετά την κατανάλωση τροφής και της ενεργειακής δαπάνης κατά τη φυσική δραστηριότητα. Η ενεργειακή δαπάνη για καθεμία από αυτές τις παραμέτρους μπορεί να προσδιοριστεί με τη βοήθεια της έμμεσης θερμιδομετρίας.

Με την έμμεση θερμιδομετρία προσδιορίζεται η πρόσληψη οξυγόνου και η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα. Στη συνέχεια γίνεται έμμεσα η εκτίμηση της ενεργειακής δαπάνης λαμβάνοντας υπόψη ότι πάνω από 95% της θερμότητας, που παράγεται στο ανθρώπινο σώμα οφείλεται σε αντιδράσεις, που απαιτούν τη χρήση οξυγόνου. Μάλιστα θεωρείται ότι για κάθε λίτρο οξυγόνου που χρησιμοποιείται παράγονται κατά μέσο όρο 5 Kcal. Η έμμεση θερμιδομετρία στηρίζεται στο γεγονός, ότι κατά την οξείδωση της τροφής χρησιμοποιείται οξυγόνο και παράγεται διοξείδιο του άνθρακα αναλογικά με την παραγωγή θερμότητας, όπως αυτό φαίνεται από τη στοιχειομετρία της ακόλουθης αντίδρασης.



Παρόμοιες αντιδράσεις μπορούν να γραφούν για το μεταβολισμό λιπών και πρωτεϊνών. Σε όλες τις περιπτώσεις, αν μετρηθεί η κατανάλωση πρόσληψης οξυγόνου μπορεί να υπολογισθεί έμμεσα το ποσό της ενέργειας που παράγεται. Ουσιαστικά κατά την έμμεση θερμιδομετρία μετράται η πρόσληψη οξυγόνου και η αποβολή διοξειδίου του άνθρακα από το άτομο σε ένα ορισμένο χρονικό διάστημα (αυτό που διαρκεί η μέτρηση). Η μέτρηση της ανταλλαγής αερίων με την έμμεση θερμιδομετρία επιτρέπει τον υπολογισμό του αναπνευστικού πηλίκου (RQ). Το αναπνευστικό πηλίκο ισούται με το λόγο του παραγομένου CO₂ προς το προσλαμβανόμενο O₂. Το αναπνευστικό πηλίκο αντανakλά την ποσοστιαία σύσταση του μείγματος των ενεργειακών υποστρωμάτων, που οξειδώνονται και παρέχουν ενέργεια, καθώς τα διάφορα μακροθρεπτικά συστατικά (λίπος, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες) απαιτούν διαφορετική ποσότητα οξυγόνου προκειμένου να μεταβολιστούν προς CO₂ και νερό. Η μέτρηση επομένως του αναπνευστικού πηλίκου σε διάφορες καταστάσεις (π.χ ανάπαυση, άσκηση, μετά από κατανάλωση γεύματος) ουσιαστικά αποτελεί ένα δείκτη των ενεργειακών πηγών, που χρησιμοποιούνται τη στιγμή της μέτρησης.

Από την εξίσωση φαίνεται ότι κατά την καύση της γλυκόζης το O₂ που χρησιμοποιείται ισούται με το παραγόμενο CO₂. Συνεπώς κατά την καύση της γλυκόζης το αναπνευστικό πηλίκο ισούται με 1,00. Με παρόμοιο τρόπο προκύπτουν οι τιμές του RQ κατά την καύση λίπους, πρωτεϊνών καθώς και μείγματος ενεργειακών υποστρωμάτων. Πρέπει ωστόσο να αναφερθεί, ότι το RQ σπάνια αντανakλά την οξείδωση καθαρών υδατανθράκων ή λίπους. Συνήθως οξειδώνεται μίγμα αυτών και η τιμή του RQ κυμαίνεται από 0,70 μέχρι 1,00. Μάλιστα πολλές φορές δεχόμαστε ότι η τιμή RQ 0,82 αντιστοιχεί σε μεταβολισμό μίγματος 40% υδατανθράκων και 60% λίπους. Στην κλινική πράξη μπορεί να υπάρξουν τιμές RQ μικρότερες από 0,7 ή μεγαλύτερες της μονάδας. Τιμές χαμηλότερες του 0,7 σημαίνουν, ότι ο εξεταζόμενος είτε είναι υποσιτισμένος, είτε καταναλώνει μικρή ποσότητα υδατανθράκων, ενώ μεγαλύτερες της μονάδας ερμηνεύονται ως ενδεικτικές λιπογένεσης.

Η σπυρομετρία κλειστού κυκλώματος περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση ενός ανεστραμένου κώδωνα που περιχει 100% οξυγόνο γνωστού όγκου. Ο εξεταζόμενος αναπνέει τον αέρα αυτού του κώδωνα και η μείωση του οξυγόνου με την πάροδο του χρόνου αποτελεί την παράμετρο, με βάση την οποία υπολογίζεται ο ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου. Ταυτόχρονα το εκπνεόμενο CO₂ απομακρύνεται συνεχώς μέσω της προώθησής του σε δοχείο που περιέχει σόδα.

Ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας (RMR, θερμίδες/λεπτό), καθώς και οι ρυθμοί οξείδωσης υδατανθράκων κα λιπιδίων σε ολόκληρο το σώμα (g/min), υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας εξισώσεις έμμεσης θερμιδομετρίας, με βάση τις μετρήσεις πρόσληψης οξυγόνου VO₂ και αποβολής διοξειδίου του άνθρακα VCO₂ από την έναρξη (t=0) της έγχυσης και για 6 ώρες συνολικά (88,92).

$$\text{RMR (kcal/min)} = 3,941 * \text{VO}_2 \text{ (L/min)} + 1,106 * \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 2,17 * n$$

$$\text{Οξείδωση υδατανθράκων (g/min)} = 4,55 * \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 3,21 * \text{VO}_2 \text{ (L/min)} - 2,87 * n$$

$$\text{Οξείδωση λιπιδίων (g/min)} = 1,67 * \text{VO}_2 \text{ (L/min)} - 1,67 * \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 1,92 * n$$

Ο συντελεστής n στις παραπάνω εξισώσεις εισάγεται για τη διόρθωση των τιμών λόγω του μεταβολισμού των πρωτεϊνών και ισούται με την ποσότητα του αζώτου στα ούρα ανά λεπτό.

Θεωρήθηκε ότι κατά μέσο όρο η απέκκριση του αζώτου στα ούρα σε υγιείς ενήλικες ισούται με 135 μγ ανά κιλό σωματικού βάρους ανα λεπτό.

2.6 Μέθοδος απορροφησιομετρίας ακτίνων X διπλής ενέργειας (DEXA)

Η σύσταση σώματος σε ολική άλιπη και λιπώδη μάζα καθώς και η εκατοστιαία αναλογία ολικού και τοπικού λίπους στις περιοχές του κορμού, των χεριών, των ποδιών προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτίνων X διπλής ενέργειας (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA) χρησιμοποιώντας το σαρωτή σώματος (Lunar-DPX-IQ, Madison, WI) και τη χρήση ειδικού προγράμματος. Το περιεχόμενο λίπους εκφράσθηκε ως kg/λιπώδους μάζας.

2.7 Αναλυτικοί προσδιορισμοί

Η συγκέντρωση της γλυκόζης μετρήθηκε με τη μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης σε αναλυτή γλυκόζης (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα τριγλυκερίδια, η ολική χοληστερόλη και η HDL χοληστερόλη μετρήθηκαν με ενζυμική μέθοδο και τη χρήση εμπορικών kit (ελεύθερα λιπαρά οξέα, Wako Chemicals USA, Inc), (τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη και HDL χοληστερόλη, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Η LDL χοληστερόλη υπολογίσθηκε με τη χρήση της φόρμουλας Friedwald. Τα επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα μετρήθηκαν με ραδιοανοσολογική μέθοδο χρησιμοποιώντας τυποποιημένα αντιδραστήρια (Linco Research, St.Charles, MO) (ευαισθησία μεθόδου 12 pmol/l, συντελεστές μεταβλητότητας <6% αντίστοιχα, <1% διασταυρούμενη αντίδραση με το C-πεπτιδίο και την προινσουλίνη). Τα επίπεδα λεπτίνης στο πλάσμα μετρήθηκαν με ραδιοανοσολογική μέθοδο (Linco Research, St.Charles, MO) (ευαισθησία 0,5 ng/ml, συντελεστές μεταβλητότητας <9% αντίστοιχα). Τα επίπεδα του C-πεπτιδίου μετρήθηκαν με τη μέθοδο RIA (Diagnostic products, Los Angeles, CA). Η ρεζιστίνη του ορού μετρήθηκε με μέθοδο ELISA (BioVendor Laboratory Medicine, Brno, Czech Republic). Η ευαισθησία της μεθόδου ήταν 0,2 ng/ml δείγματος. Οι συντελεστές μεταβλητότητας ήταν <7%. Η αδιπονεκτίνη του ορού μετρήθηκε με ELISA (B-Bridge International, Sunnyvale, CA) με ευαισθησία μεθόδου 25 pg/ml. Οι συντελεστές μεταβλητότητας ήταν <6%. Το άζωτο της ουρίας του ορού, η κρεατινίνη, οι αμινοτρανσφεράσες, η γ-GT μετρήθηκαν με ενζυμική μέθοδο σε αναλυτή Hitachi 747. Η

γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη μετρήθηκε με HPLC, η TSH με ανοσοφθοριομετρική μέθοδο και η κορτιζόλη ούρων με ανοσοενζυμική μέθοδο.

Τα επίπεδα hs-C-reactive protein μετρήθηκαν με τη χρήση ενός kit ELISA ((Diagnostic Biochem Canada Inc., London, Ontario, Canada) με ευαισθησία μεθόδου 10 ng/ml και συντελεστές μεταβλητότητας < 7%.

Μελέτες

- 1. Ινσουλινική ευαισθησία και ενεργειακή ομοιοστασία παχύσαρκων εφήβων με λιπώδες ήπαρ.**
- 2. Συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους σε μη διαβητικά άτομα.**
- 3. Συσχέτιση του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς καρδιακής κοιλίας σε παχύσαρκους άνδρες με φυσιολογική συστολική και διαστολική λειτουργία με την ινσουλινική αντίσταση.**
- 4. Αυξημένο μεσοθωρακικό λίπος και διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς καρδιακής κοιλίας σε νέους άνδρες με NAFLD.**

ΜΕΛΕΤΗ 1

Ινσουλινική ευαισθησία και ενεργειακή ομοιοστασία παχύσαρκων εφήβων με λιπώδες ήπαρ.

Η παρούσα εργασία δημοσιεύθηκε ως :

Insulin resistance and whole body energy homeostasis in obese adolescents with fatty liver disease. Am J Physiol Endocrinol Metab 291:E697-E703, 2006.

Gianluca Perseghin, Riccardo Bonfanti, Serena Magni, Guido Lattuada, Francesco Decobelli, Tamara Canu, Antonio Esposito, Paola Scifo, Georgia Ntali, Federica Constantino, Laura Bosio, Francesca Ragona, Alessandro Del Maschio, Giuseppe Chiumello and Livio Luzi.

Η παχυσαρκία αποτελεί την πιο σημαντική από τις διατροφικές διαταραχές, που πλήττουν τα παιδιά στις Ηνωμένες Πολιτείες (Centers for disease control and Prevention) και ο επιπολασμός της αυξάνεται συνεχώς παγκοσμίως. Στους εφήβους όπως και στους ενήλικες η παχυσαρκία σχετίζεται με διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων και των λιπιδίων. Η ενδομυοκυτταρική συγκέντρωση λιπιδίων (IMCL) επηρεάζει την ινσουλινική ευαισθησία (103) και η σχέση αυτή έχει ήδη διαπιστωθεί και σε παχύσαρκους εφήβους (88). Οι Weiss et al έδειξαν ότι η παθολογική ανοχή της γλυκόζης στα νεαρά άτομα συνδέεται με αλλαγή της αναλογίας του λίπους στο σκελετικό μυ και στο σπλαχνικό λίπος και σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση, γεγονός που δείχνει, ότι οι αλλαγές αυτές συμβαίνουν νωρίς στην φυσική πορεία της παχυσαρκίας (93). Εκτός από την αυξημένη συγκέντρωση IMCL και η αυξημένη συγκέντρωση ενδοηπατικού λίπους (IHF) είναι τυπικό χαρακτηριστικό των παχύσαρκων εφήβων (77,85). Στους ενήλικες το μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ (NAFLD) σχετίζεται με διαταραχή του ινσουλινοεξαρτώμενου μεταβολισμού της γλυκόζης, της καταστολής της ηπατικής νεογλυκογένεσης και της λιπόλυσης (76). Το ενδοηπατικό λίπος (IHF) μπορεί να υπολογισθεί με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων (1H-MRS) και φαίνεται, ότι σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση σε μη διαβητικά άτομα (87).

Στόχοι της μελέτης

Επειδή η παθογένεια και οι πιθανές μεταβολικές επιπτώσεις της έκτοπης συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ δεν έχουν επαρκώς μελετηθεί σε παχύσαρκους εφήβους, διενεργήσαμε την μελέτη αυτή με σκοπό:

- 1) να υπολογίσουμε ποσοτικά την συγκέντρωση ενδοηπατικού λίπους σε εφήβους, οι οποίοι πάσχουν από σοβαρού βαθμού παχυσαρκία.
- 2) να μελετήσουμε την επίδραση του ενδοηπατικού λίπους στο μεταβολισμό και της γλυκόζης, στην ινσουλινική ευαισθησία και στην ινσουλινική έκκριση.
- 3) να διερευνήσουμε, αν το μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ σχετίζεται με διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Εθελοντές

Συμμετείχαν 54 σοβαρά παχύσαρκοι έφηβοι ($BMI > 99^{\text{η}}$ εκατοστιαία θέση για την ηλικία και το φύλο), οι οποίοι προέρχονταν από τη Μονάδα Παιδιατρικών Μεταβολικών νοσημάτων του Επιστημονικού Ινστιτούτου San Raffaele. Η ηλικία τους κυμαινόταν από 11-18 ετών. Οι εκατοστιαίες θέσεις του BMI υπολογίστηκαν με βάση τις καμπύλες ανάπτυξης για τον ιταλικό παιδικό και εφηβικό πληθυσμό. Το στάδιο ανάπτυξης υπολογίστηκε με βάση την κλινική εξέταση και τα κριτήρια Tanner για την ανάπτυξη των μαστών και την ανάπτυξη των γεννητικών οργάνων. Όλα τα παιδιά ήταν σε καλή κλινική κατάσταση και δεν ελάμβαναν φάρμακα. Αποκλείστηκαν οι διαταραχές της θυρεοειδικής και επινεφριδικής λειτουργίας και το ιστορικό ηπατικής νόσου (ηπατίτιδος B και C) σε όλους τους εθελοντές. Το σωματικό τους βάρος ήταν σταθερό τους τελευταίους 3 μήνες πριν τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Οι έφηβοι μοιράστηκαν σε δύο ομάδες με βάση το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους, το οποίο μετρήθηκε με τη μέθοδο του πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων (^1H -MRS). Μία ομάδα είχε φυσιολογικό IHF (<5% ηπατικού βάρους) και η άλλη είχε αυξημένο (>5% ηπατικού βάρους) IHF.

Όλοι οι γονείς των παιδιών έδωσαν γραπτή έγκριση συγκατάθεσης, ενώ εθελοντική συγκατάθεση ελήφθη από τους εφήβους, αφού τους εξηγήθηκαν οι σκοποί και η φύση της μελέτης. Η μελέτη αυτή είχε την έγκριση της επιτροπής βιοηθικής του Επιστημονικού Ινστιτούτου San Raffaele.

Τα ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά φαίνονται στον πίνακα 3.1.1 και τα εργαστηριακά τους χαρακτηριστικά στον πίνακα 3.1.2.

Πειραματικό πρωτόκολλο

Όλα τα παιδιά και οι έφηβοι εισήχθησαν στην παιδιατρική κλινική του Ινστιτούτου San Raffaele. Προκειμένου ν'αποφευχθούν οι πιθανές επιδράσεις των διαιτητικών μακροδιατροφικών συστατικών στην οξείδωση των υποστρωμάτων (89), δόθηκαν οδηγίες στους γονείς των παιδιών να χρησιμοποιήσουν μία δίαιτα διατήρησης σωματικού βάρους, η οποία να περιέχει ≥ 250 γρ υδατανθράκων/ημέρα για 7 ημέρες πριν την εισαγωγή των παιδιών στην κλινική. Κατά την διάρκεια παραμονής τους στο νοσοκομείο έλαβαν μία τυποποιημένη δίαιτα, η οποία περιείχε 50% υδατάνθρακες, 20% πρωτεΐνη και 30% λίπος και απείχαν από κάθε άσκηση.

Οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε 1) τριώρη δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης με βάση τα κριτήρια της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας (ADA), ώστε να προσδιορισθεί η ανοχή στη γλυκόζη και οι παράμετροι της ινσουλινικής ευαισθησίας και έκκρισης, 2) έμμεση θερμιδομετρία προκειμένου να υπολογισθεί στην ηρεμία και μετά από τη φόρτιση με γλυκόζη η ενεργειακή δαπάνη και η οξείδωση γλυκόζης και λιπιδίων, 3) μέτρηση σύστασης σώματος με τη μέθοδο απορρόφησης ακτίνων Χ διπλής ενέργειας (DEXA), 4) πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων (^1H -MRS) προκειμένου να προσδιορισθεί το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF).

Δοκιμασία ανοχής γλυκόζης.

Η δοκιμασία ανοχής γλυκόζης εκτελέστηκε με βάση τις οδηγίες της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας (National Diabetes Data Group) στις 08.00-08.30 π.μ. Ένας φλεβοκαθετήρας Teflon τοποθετήθηκε στην αντιβραχιόνιο φλέβα προκειμένου να γίνονται

λήψεις φλεβικού αίματος για τον προσδιορισμό της γλυκόζης, της ινσουλίνης, των ελεύθερων λιπαρών οξέων και του C-πεπτιδίου τόσο κατά τη νηστεία όσο και μετά τη φόρτιση με 75 γρ γλυκόζης καθόλη τη διάρκεια των 180 λεπτών της δοκιμασίας και ανά διαστήματα 30 λεπτών. Επιπλέον προσδιορίστηκαν στην νηστεία η ολική χοληστερόλη, η HDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η κρεατινίνη, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, οι τρανσαμινάσες, η γ-γλουταμυλοτρανσπεπτιδάση (γGT), η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη και η ρεξιστίνη. 24ωρη συλλογή ούρων πραγματοποιήθηκε προκειμένου να προσδιοριστούν οι ρυθμοί απέκκρισης αζώτου και ελεύθερης κορτιζόλης.

Έμμεση θερμιδομετρία.

Στους εθελοντές πραγματοποιήθηκε έμμεση θερμιδομετρία με το σύστημα καλύματος κεφαλής (ventilated Hook, SensorMedics 2900 metabolic measurement cart) για 30 λεπτά κατά τη διάρκεια της βασικής περιόδου (νηστεία) και 1,2,3 ώρες μετά τη χορήγηση της γλυκόζης και προσδιορίστηκαν η πρόσληψη οξυγόνου VO₂ και η αποβολή διοξειδίου του άνθρακα VCO₂. Ο μέσος συντελεστής μεταβλητότητας (CV) για τις μετρήσεις O₂ και CO₂ ήταν <5%.

DEXA

Οι μετρήσεις DEXA πραγματοποιήθηκαν με το σύστημα Lunar-DPX-IQ scanner (Lunar, Madison, WI) όπως περιγράφεται στην μεθοδολογία. Έγινε ανάλυση τριών διαμερισμάτων στα χέρια, τον κορμό και τα πόδια. Το περιεχόμενο λίπους εκφράστηκε σε κιλά λιπώδους μάζας και εκατοστιαία αναλογία μαλακών ιστών. Για τεχνικούς λόγους μέτρηση DEXA πραγματοποιήθηκε σε 45 άτομα (31 με IHF <5% και 14 με IHF >5%).

Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων (¹H-MRS).

Πραγματοποιήθηκε με βάση το πρωτόκολλο που αναγράφεται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Η πίεση του αίματος παρακολουθήθηκε για περίοδο 2 ωρών το πρωί και ελήφθησαν 8-12 μετρήσεις για κάθε εθελοντή. Χρησιμοποιήθηκαν ο μέσος όρος όλων των τιμών για κάθε εθελοντή.

Οι αναλυτικοί προσδιορισμοί περιγράφονται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Υπολογισμοί

Υπολογισμός ινσουλινικής ευαισθησίας και έκκρισης.

Η ινσουλινική αντίσταση προσδιορίστηκε με δύο μεθόδους, με τους δείκτες που προκύπτουν από το ανανεωμένο computer -μοντέλο ομοιόστασης (HOMA-2) (105), διαθέσιμο στο δίκτυο στην ηλεκτρονική διεύθυνση www.OCDem.ox.ac.uk και με το δείκτη ινσουλινικής ευαισθησίας (WBISI), ο οποίος υπολογίζεται με βάση την τροποποιημένη φόρμουλα των Matsuda και DeFronzo (78) και βασίζεται στη χρήση των τιμών γλυκόζης και ινσουλίνης πλάσματος από επτά δείγματα που ελήφθησαν κατά την 3ωρη δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης.

$$WBISI (OGTT) = \frac{10,000}{\sqrt{(G_0 \times I_0) \times (\text{mean } G_{30-180 \text{ min}}) \times (\text{mean } I_{30-180 \text{ min}})}}$$

Όπου I_0 είναι η συγκέντρωση ινσουλίνης νηστείας ($\mu\text{U/ml}$), G_0 είναι η συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας (mg/dl) και $G_{30-180 \text{ min}}$ και $I_{30-180 \text{ min}}$ είναι οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων γλυκόζης και ινσουλίνης κατά τη διάρκεια της 3ωρης καμπύλης ανοχής της γλυκόζης αντίστοιχα. Αυτός ο δείκτης έχει φανεί στη σχετική μελέτη των Yeckel et al να σχετίζεται στενά με τις τιμές M , που προκύπτουν από την υπερινσουλιναιμική, ευγλυκαιμική αντλία σε παχύσαρκα παιδιά (96).

Για να υπολογίσουμε τη λειτουργία των β -κυττάρων χρησιμοποιήσαμε ένα δείκτη Φ ($\mu\text{U/ml}$ ανά mg/dl), ο οποίος αντανakλά το μεθηπατικό ρυθμό απόδοσης της ινσουλίνης. Αυτός ο δείκτης Φ υπολογίζεται ως ο λόγος μεταξύ του εμβαδού κάτω από την καμπύλη ινσουλίνης (AUC) προς το εμβαδό κάτω από την καμπύλη γλυκόζης (AUC). Η πρώτη απάντηση ινσουλίνης Φ_{30} ή ινσουλινογενής δείκτης υπολογίστηκε ως ο λόγος μεταξύ του εμβαδού κάτω από την καμπύλη ινσουλίνης, προς το εμβαδό κάτω από την καμπύλη της γλυκόζης κατά τα πρώτα 30 λεπτά της δοκιμασίας ανοχής της γλυκόζης όπως έχει προταθεί από τους Jensen et al (64). Αυτός ο δείκτης έχει καλή συσχέτιση με την πρώτη απάντηση ινσουλίνης, όπως προκύπτει από την υπεργλυκαιμική αντλία σε παιδιά και εφήβους (96).

Ενεργειακή ομοιοστασία

Η ενεργειακή κατανάλωση στην ηρεμία (REE) υπολογίσθηκε με την εξίσωση του Weir από τους ρυθμούς παραγωγής του O₂ και CO₂, οι οποίοι μετρήθηκαν με έμμεσο θερμιδομετρία (εξαιρέθηκαν τα πρώτα 10 λεπτά των δεδομένων) και από την αποβολή αζώτου στα ούρα (92).

Ο υπολογισμός του ενδοηπατικού περιεχομένου λίπους περιγράφεται στη μεθοδολογία.

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα στο κείμενο, πίνακες και σχήματα εκφράσθηκαν ως μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση. Οι αναλύσεις έγιναν με τη χρήση του λογισμικού SPSS (έκδοση 10.0, SPSS, Chicago, IL). Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών δεδομένων εξετάσθηκε με την εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov.

Οι συγκρίσεις των παραμέτρων των δύο ομάδων έγιναν με τη χρήση του αμφίπλευρου t-test για ανεξάρτητες μεταβλητές με επίπεδο σημαντικότητας 95% ($p < 0,05$). Όταν οι παράμετροι είχαν μη κανονική κατανομή έγινε λογαριθμική μετατροπή τους πριν την ανάλυση. Αυτό έγινε για τις παραμέτρους (AST, ALT, γ GT, TSH, διαστολική αρτηριακή πίεση, HOMA-2%S, WBISI). Η σύγκριση της αναλογίας των εθελοντών με IHF $>5\%$ ηπατικού βάρους κατά φύλο και στάδιο εφηβείας έγινε με το Pearson's χ^2 test. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson's υπολογίσθηκε προκειμένου να βρεθούν σταθερές μερικής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών. Γραμμική κατά βήμα παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ δύο ή περισσότερων κανονικά κατανεμημένων μεταβλητών. Η μελέτη της στατιστικής δύναμης έδειξε ότι 17 παχύσαρκοι έφηβοι με φυσιολογικό IHF και 13 παχύσαρκοι με αυξημένο IHF χρειάζονται για να υπάρχει στατιστική δύναμη 87% στην ανίχνευση 10% διαφοράς στο αναπνευστικό πηλίκο μεταξύ των 2 ομάδων. 19 παχύσαρκοι έφηβοι με φυσιολογικό IHF και 11 με αυξημένο IHF χρειάζονταν για στατιστική δύναμη 86% υπέρ της ανίχνευσης 20% διαφοράς στην WBISI μεταξύ των 2 ομάδων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους

Το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF) κυμάνθηκε από 0,98 % έως 26,99 % του ηπατικού βάρους. 16 άτομα (30%) είχαν ενδοηπατικό περιεχόμενο >5% και χαρακτηρίστηκαν ως παχύσαρκα άτομα με NAFLD. Τα υπόλοιπα 38 άτομα χαρακτηρίστηκαν ως παχύσαρκα άτομα με φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF).

Το IHF δεν διέφερε μεταξύ των δύο φύλων ($4,1 \pm 3,9$ έναντι $6,6 \pm 6,1\%$ ηπατικού βάρους στα κορίτσια και στα αγόρια αντίστοιχα, $p=0,078$). Επίσης η αναλογία των ατόμων με IHF >5% δεν διέφερε (21% στα κορίτσια και 37% στα αγόρια, $\chi^2=1,60$, $p=0,20$). Το IHF δεν διέφερε μεταξύ των ατόμων προεφηβικής και εφηβικής ηλικίας ($3,6 \pm 3,4$ έναντι $6,0 \pm 5,7\%$, $p=0,17$). Επίσης η αναλογία των ατόμων με IHF >5% δεν διέφερε (15% ήταν προεφηβικής ηλικίας και 34% εφηβικής ηλικίας, $\chi^2=1,67$, $p=0,19$).

Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων.

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων φαίνονται περιληπτικά στον **πίνακα 3.1.1**. Η ηλικία, το φύλο, το στάδιο εφηβείας ($p=0,57$), το BMI ($p=0,054$) και το ολικό περιεχόμενο λίπους ($p=0,062$) δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων, παρά το ότι το περιεχόμενο λίπους στον κορμό ήταν υψηλότερο ($p=0,03$) σε αυτούς με NAFLD. Το % ποσοστό του σωματικού λίπους δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων ούτε η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση. Το λιπιδαιμικό προφίλ έδειξε ότι οι έφηβοι με NAFLD χαρακτηρίζονταν από χαμηλότερα επίπεδα HDL χοληστερόλης (**πίνακας 3.1.2**). Τα τριγλυκερίδια ορού και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) δεν διέφεραν μεταξύ των ομάδων. Αν και μέσα στα φυσιολογικά όρια, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη ήταν υψηλότερη στους εφήβους με NAFLD. Η ALT ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερη ($p=0,006$) στους εφήβους με NAFLD. Η κρεατινίνη, η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη, η ρεζιστίνη, η TSH και η κορτιζόλη ούρων δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων (**πίνακας 3.1.2**).

Πίνακας 3.1.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά παχύσαρκων παιδιών και εφήβων με (IHF >5% ηπατικού βάρους) ή χωρίς (IHF <5% ηπατικού βάρους) αυξημένη ηπατική συγκέντρωση λίπους.

Ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους			
	<5% ηπατικού βάρους	>5% ηπατικού βάρους	p value
Ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους,	2,60 ± 1,1	12,4 ± 5,0	0,0001
% ηπατικού βάρους	(εύρος 0,98-4,98)	(εύρος 5,99-26,99)	
Αριθμός (Κορίτσια/Αγόρια)	38 (19/19)	16 (5/11)	0,20
Ηλικία, έτη	13,2 ± 2,1	13,6 ± 2,5	0,56
Στάδιο εφηβείας, σκορ	1,36 ± 1,25	1,56 ± 1,21	0,57
Ύψος, εκ	157 ± 11	161 ± 12	0,27
Βάρος, Kg	81 ± 16	96 ± 25	0,048
BMI	32,7 ± 4,6	36,2 ± 5,8	0,054
Σωματικό λίπος, Kg	35,3 ± 9,7	43,3 ± 13,7	0,062
Σωματικό λίπος, %	43,3 ± 6,1	44,9 ± 7,3	0,47
Αλιπος μάζα, Kg	41,2 ± 10,6	46,3 ± 13,2	0,22
Ποσό λίπους στο χέρι, Kg	3,3 ± 1,3	3,8 ± 1,4	0,22
Ποσό λίπους στο πόδι, Kg	14,8 ± 4,8	17,6 ± 6,3	0,16
Ποσό λίπους στον κορμό, Kg	15,8 ± 4,6	20,2 ± 6,4	0,03
Συστολική ΑΠ, mmHg	127 ± 12	126 ± 8	0,87
Διαστολική ΑΠ, mmHg	74 ± 10	73 ± 6	0,51

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση, αμφίπλευρο t-test (2-tailed) για ανεξάρτητα δείγματα, IHF: ενδοηπατικό λίπος, BMI: δείκτης μάζας σώματος. ΑΠ: αρτηριακή πίεση. απορροφησιομετρία ακτίνων Χ διπλής ενέργειας πραγματοποιήθηκε σε 45 εφήβους (31 με IHF <5% ηπατικού βάρους και 14 με IHF >5% νωπού βάρους). Τα στάδια της εφηβείας βασίζονται στο σκορ κατά Tanner.

Πίνακας 3.1.2 Βιοχημικά χαρακτηριστικά παχύσαρκων παιδιών και εφήβων με ή χωρίς αυξημένο ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.

Ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους			
	<5% ηπατικού βάρους	>5% ηπατικού βάρους	p value
Ολική χοληστερόλη, mmol/l	4,19 ± 0,57	4,34 ± 0,72	0,53
HDL χοληστερόλη, mmol/l	1,37 ± 0,28	1,19 ± 0,23	0,049
LDL χοληστερόλη, mmol/l	2,30 ± 0,52	2,72 ± 0,67	0,091
Τριγλυκερίδια, mmol/l	1,04 ± 0,34	1,03 ± 0,26	0,87
ΕΛΟ, mmol/l	0,82 ± 0,29	0,88 ± 0,28	0,56
HbA1c,%	5,4 ± 0,3	5,6 ± 0,2	0,021
AST,U/l	31 ± 18	36 ± 11	0,25
ALT,U/l	22 ± 8	54 ± 31	0,006
γ-GT,U/l	13 ± 6	26 ± 16	0,084
Κρεατινίνη, μmol/l	55 ± 11	63 ± 18	0,24
Λεπτίνη, ng/ml	31 ± 17	35 ± 14	0,43
Αδιπονεκτίνη, μg/ml	8,0 ± 3,7	7,0 ± 1,9	0,19
Ρεξιστίνη, ng/ml	5,0 ± 2,2	4,0 ± 1,1	0,12
TSH, mU/l	2,8 ± 1,4	3,3 ± 3,1	0,61
Ελεύθερη κορτιζόλη ούρων μg/24hr	58 ± 31	61 ± 26	0,82

Οι τιμές είναι εκφρασμένες ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση. Αμφίπλευρο t-test (2-tailed) για ανεξάρτητα δείγματα. HbA1c: γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, ALT: αλανινοτρανσφεράση, γGT: γ-γλουταμυλοτρανσπεπτιδάση.

OGTT: Ινσουλινική ευαισθησία και έκκριση ινσουλίνης

Σε ένα κορίτσι με φυσιολογικό IHF διαπιστώθηκε διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη. Η γλυκόζη πλάσματος νηστείας ήταν σημαντικά υψηλότερη στους εφήβους με NAFLD ($p=0,014$, **πίνακας 3.1.3**). Αντιθέτως η γλυκόζη πλάσματος κατά τη διάρκεια του OGTT δεν διέφερε, όπως διαπιστώνεται από τη μέση τιμή γλυκόζης πλάσματος κατά το OGTT και την τιμή γλυκόζης πλάσματος στα 120 λεπτά (**πίνακας 3.1.3**).

Η ινσουλίνη πλάσματος νηστείας και το C-πεπτίδιο δεν διέφεραν στην νηστεία (**πίνακας 3.1.3**) ή κατά τη διάρκεια του OGTT. Η HOMA2-%S και ο δείκτης WBISI ήταν μειωμένοι στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD συγκριτικά με τους παχύσαρκους εφήβους με φυσιολογικό IHF ($p<0,05$, **πίνακας 3.1.3**).

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) κατά τη διάρκεια του OGTT ήταν κατεσταλμένα και το προφίλ δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων παρά το ότι διαπιστώθηκε μία τάση για υψηλότερα επίπεδα στα άτομα με NAFLD. Η HOMA2%-B και οι δείκτες ινσουλινικής έκκρισης που προκύπτουν από το OGTT (Φ και Φ_{30}) δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων (**πίνακας 3.1.3**).

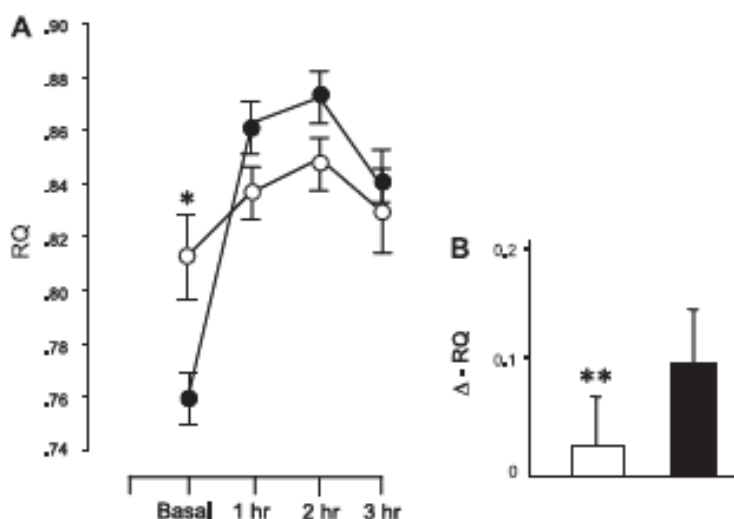
Πίνακας 3.1.3. Η γλυκόζη, η ινσουλίνη, το C-πεπτίδιο πλάσματος, οι δείκτες της ινσουλινικής ευαισθησίας και ινσουλινικής έκκρισης στην νηστεία και κατά τη διάρκεια του OGTT στα παχύσαρκα παιδιά και τους παχύσαρκους εφήβους με ή χωρίς αυξημένη ηπατική συγκέντρωση λίπους.

Ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους			
	<5% ηπατικού βάρους	>5% ηπατικού βάρους	p value
Γλυκόζη πλάσματος νηστείας, mmol/l	4,61 ± 0,50	4,94 ± 0,44	0,014
Ινσουλίνη πλάσματος νηστείας, pmol/l	126 ± 66	138 ± 36	0,29
C-πεπτίδιο πλάσματος νηστείας, nmol/l	0,83 ± 0,33	0,87 ± 0,26	0,96
Γλυκόζη στα 120-λεπτά, mmol/l	5,83 ± 0,94	6,05 ± 0,66	0,35
Μέση τιμή γλυκόζης, mmol/l	5,77 ± 0,78	6,05 ± 0,61	0,19
Μέση τιμή ινσουλίνης, pmol/l	432 ± 234	456 ± 174	0,64
Φ	2,9 ± 2,5	3,8 ± 3,0	0,36
Φ30	1,9 ± 1,5	2,0 ± 1,0	0,85
HOMA2-%B	220 ± 66	210 ± 45	0,52
HOMA2-%S	46 ± 18	37 ± 11	0,02
WBISI	3,4 ± 1,3	2,7 ± 1,0	0,05

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση, αμφίπλευρο t-test (2-tailed) για ανεξάρτητα δείγματα. OGTT: δοκιμασία ανοχής γλυκόζης, HOMA2-%B: ομοιοστατικό μοντέλο προσέγγισης 2 για την λειτουργία του β-κυττάρου, HOMA2-%S: ομοιοστατικό μοντέλο προσέγγισης 2 για την ινσουλινική ευαισθησία, WBISI: δείκτης ινσουλινικής ευαισθησίας.

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η ενεργειακή κατανάλωση ηρεμίας (REE) ήταν υψηλότερη στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD συγκριτικά με αυτούς που δεν είχαν NAFLD ($8,6 \pm 1,8$ έναντι $7,5 \pm 1,5$ MJ/ημέρα, $p=0,043$). Αυτή η διαφορά σχετιζόταν με το διαφορετικό μέγεθος σώματος επειδή όταν το REE προσαρμοζόταν ανά kg/άλιπου μάζας σώματος (LBM) δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων (187 ± 38 έναντι 191 ± 34 KJ*KG LBM⁻¹*ημέρα⁻¹, $p=0,81$). Η θερμογένεση η προερχόμενη από το OGTT δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων (% αύξηση από τη βασική : 4 ± 2 έναντι $7 \pm 11\%$, $p=0,43$). Το αναπνευστικό πηλίκο (RQ) νηστείας ήταν υψηλότερο στους εφήβους με NAFLD συγκριτικά με αυτούς με φυσιολογικό IHF ($0,83 \pm 0,08$ έναντι $0,77 \pm 0,05$, $p<0,01$, σχ. 3.1^A), αντανακλώντας χαμηλότερη οξείδωση λιπιδίων νηστείας. Κατά τη διάρκεια του OGTT το αναπνευστικό πηλίκο (RQ) αυξανόταν λιγότερο στους εφήβους με το NAFLD συγκριτικά με την αύξηση, που παρατηρούταν στους εφήβους με φυσιολογικό IHF (ΔRQ : $0,02 \pm 0,05$ έναντι $0,10 \pm 0,05$, $p=0,021$, σχ. 1B)



Σχήμα 3.1. A: Αναπνευστικό πηλίκο (RQ) στη νηστεία και μετά τη φόρτιση από του στόματος με γλυκόζη όπως προσεγγίζεται με την έμμεσο θερμιδομετρία σε παχύσαρκους εφήβους με ○ και ● χωρίς NAFLD.

B: μέση αύξηση του αναπνευστικού πηλίκου RQ στους παχύσαρκους εφήβους με (ανοιχτή μπάρα) και χωρίς (γεμάτη μπάρα) NAFLD. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση. * $p<0,01$ στο στάδιο νηστείας (βασικό) (αμφίπλευρο *t*-test για ανεξάρτητα δείγματα), ** $p=0,02$ (αμφίπλευρο *t*-test για ανεξάρτητα δείγματα).

Ανάλυση συσχέτισης

Η ανάλυση συσχέτισης Pearson έδειξε, ότι το IHF σχετιζόταν με τους ακόλουθους βιοχημικούς παράγοντες: ALT ($r = 0,79$, $p = 0,0001$), γ GT ($r = 0,60$, $p=0,0001$), TSH ($r = 0,29$, $p = 0,01$), γλυκόζη πλάσματος νηστείας ($r = 0,24$, $p = 0,019$), HDL χοληστερόλη ($r = -0,27$, $p = 0,048$), HOMA2-%S ($r = -0,29$, $p = -0,03$) και WBISI ($r = -0,25$, $p = 0,05$). Η ανάλυση παλινδρόμησης, που περιελάμβανε όλες αυτές τις μεταβλητές έδειξε μόνο την ALT σαν την παράμετρο την πιο σχετική με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους. Το (IHF) επίσης σχετιζόταν με το αναπνευστικό πηλίκο νηστείας ($r = 0,39$, $p = 0,006$), ενώ δεν βρέθηκε συσχέτιση με το περιεχόμενο λίπους στον κορμό, την ηλικία, το BMI, το περιεχόμενο λίπους στο χέρι, το περιεχόμενο λίπους στο πόδι, το ολικό περιεχόμενο λίπους, το REE, ή το REE προσαρμοσμένο ανά kg αλίπου σωματικής μάζας.

Επίδραση του BMI και του περιεχομένου λίπους του κορμού στην συσχέτιση μεταξύ ενδοηπατικού περιεχομένου και αναπνευστικού πηλίκου, WBISI και HOMA2-% S.

Η διαφορά του αναπνευστικού πηλίκου και της ινσουλινικής ευαισθησίας (WBISI), που παρατηρήθηκε μεταξύ των 2 ομάδων μπορεί να έχει επηρεαστεί από το γεγονός, ότι το BMI και το περιεχόμενο λίπους στον κορμό ήταν αυξημένα στα άτομα με NAFLD. Στην πραγματικότητα η σημαντική σχέση, που παρατηρήθηκε μεταξύ του IHF και του HOMA2-%S ή του WBISI εξασθενούσαν, όταν ελέγχαμε για το BMI ($p>0,05$) ή το περιεχόμενο λίπους στον κορμό ($p>0,1$). Αντιθέτως το αναπνευστικό πηλίκο διατηρούσε την σημαντική του συσχέτιση με το IHF, όταν ελέγχαμε για το BMI ($r = 0,40$, $p = 0,004$) και για το περιεχόμενο λίπους στον κορμό ($r = 0,37$, $p = 0,01$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήσαμε την πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων (^1H -MRS) προκειμένου να προσεγγίσουμε ποσοτικά και μη επεμβατικά το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF) σε παχύσαρκους εφήβους. Βρήκαμε ότι σε παχύσαρκους εφήβους 1) το NAFLD είναι συχνό χαρακτηριστικό και διαπιστώθηκε στο 30% του πληθυσμού μας, 2) το NAFLD σχετίζεται με μία αναπροσαρμογή των διαθέσιμων προς οξείδωση υποστρωμάτων όλου του σώματος, και 3) το NAFLD σχετίζεται με διαταραχή της ινσουλινικής ευαισθησίας (WBISI) και της ομοιοστασίας της γλυκόζης συγκριτικά με παχύσαρκους εφήβους, οι οποίοι έχουν φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.

Το NAFLD στα παιδιά και τους εφήβους αναφέρθηκε για πρώτη φορά στην αρχή της δεκαετίας του 1980. Ο επιπολασμός του στους παχύσαρκους εφήβους με βάση το κριτήριο της άνευ άλλης αιτιολογίας αύξησης της κυκλοφορούσας ALT (77,85) ή τον υπέρηχο (57) κυμαίνεται μεταξύ 12-25%. Η ^1H -MRS είναι μία μη επεμβατική τεχνική, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κλινικό επίπεδο και η ακρίβειά της και η ασφάλειά της την καθιστούν ιδανική μεθοδολογία για την προσέγγιση και την παρακολούθηση των αλλαγών του ενδοηπατικού περιεχομένου λίπους (90). Αυτή η μελέτη αντιπροσωπεύει την πρώτη εφαρμογή αυτής της τεχνικής σε παχύσαρκους εφήβους και ο υψηλός επιπολασμός (30%), που βρέθηκε στον πληθυσμό μας μπορεί να αντιπροσωπεύει την αυξημένη ευαισθησία αυτής της τεχνικής.

Ένα δεύτερο εύρημα είναι η διαταραχή της ινσουλινικής ευαισθησίας σε παχύσαρκους εφήβους με NAFLD στην κατάσταση νηστείας. Αυτό το συμπέρασμα βασίζεται στο εύρημα, ότι οι δείκτες ινσουλινικής ευαισθησίας HOMA-2%S και WBISI που προέρχονται από το OGTT ήταν χαμηλότεροι (**πίνακας 3.1.3**), ενώ η HbA1c (**πίνακας 3.1.2**) και η γλυκόζη πλάσματος νηστείας (**πίνακας 3.1.3**) ήταν υψηλότερες στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD συγκριτικά με αυτούς που είχαν φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους. Συγκριτικά όμως με δεδομένα από πληθυσμούς ενηλίκων (72,76,84) η διαταραχή της ινσουλινικής ευαισθησίας φαίνεται να είναι λιγότερο σοβαρή από την αναμενόμενη και αυτό μπορεί να εξηγηθεί από 3 παράγοντες. Πρώτον, η σύγκριση πραγματοποιήθηκε μεταξύ εφήβων με σοβαρού βαθμού παχυσαρκία (όλοι είχαν BMI>99η εκατοστιαία θέση), έτσι ακόμη και η ομάδα χωρίς NAFLD χαρακτηριζόταν από σημαντική ινσουλινική αντίσταση. Κατά δεύτερον η εφηβεία αποτελεί μία περίοδο της ζωής του ανθρώπου, που χαρακτηρίζεται από ινσουλινική αντίσταση, έτσι η επιπλέον επιβαρυντική

επίδραση του NAFLD δύσκολα θα μπορούσε να εκτιμηθεί. Τρίτον με βάση την υπόθεση ότι το αυξημένο IHF μπορεί να επηρεάσει επιλεκτικά την ηπατική ινσουλινική ευαισθησία και λιγότερο την περιφερική όπως φαίνεται από μελέτες σε μη διαβητικούς (87) και διαβητικούς ενήλικες (83), δεν αποκλείεται, ότι η ευαισθησία των δεικτών HOMA-2%S και WBISI δεν ήταν αρκετά υψηλή, ώστε ν'αναδείξουν το εύρος της διαφοράς στην ινσουλινική ευαισθησία μεταξύ των 2 ομάδων, ακόμα και αν ο WBISI έχει συσχετισθεί στενά με τον δείκτη ινσουλινικής ευαισθησίας, που προκύπτει από την ευγλυκαιμική αντλία ($r = 0,78$).

Οι ενδείξεις ότι αυτοί οι δείκτες σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη νωρίς στην ενήλικη ζωή, και ότι η ανοχή στη γλυκόζη μπορεί να επιδεινωθεί πιο γρήγορα στους παχύσαρκους εφήβους από ότι στους ενήλικες (94) μας υποδυσκνείουν, ότι το NAFLD θα πρέπει να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο υπό παρακολούθηση. Σημαντικό είναι, ότι οι παχύσαρκοι έφηβοι της μελέτης μας με NAFLD είχαν ελαφρά υψηλότερο BMI και αυξημένο περιεχόμενο λίπους στον κορμό. Η κοιλιακή παχυσαρκία φαίνεται ότι σχετίζεται με την συσσώρευση έκτοπου λίπους στον σκελετικό μυ (88,93) και πιθανά να είναι ο πρωταρχικός ρυθμιστής της ινσουλινικής ευαισθησίας. Είναι πιθανό ότι η διαταραχή του WBISI, που διαπιστώθηκε στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD να οφείλεται στο αυξημένο κοιλιακό λίπος, αφού διαπιστώθηκε, ότι η σχέση μεταξύ του ενδοηπατικού λίπους και του WBISI εξασθενούσε όταν διορθωνόταν για το περιεχόμενο λίπους στον κορμό.

Η τρίτη σημαντική παρατήρηση, που προκύπτει από τη μελέτη αυτή είναι ότι οι παχύσαρκοι έφηβοι με NAFLD χαρακτηρίζονταν από μια αναπροσαρμογή των διαθέσιμων προς οξείδωση υποστρωμάτων στη νηστεία αλλά και μετά τη φόρτιση με γλυκόζη. Η ενεργειακή κατανάλωση στην ηρεμία (REE) και η θερμογένεση μετά τη φόρτιση με γλυκόζη δεν διέφεραν μεταξύ των ομάδων, αλλά οι παχύσαρκοι έφηβοι χωρίς NAFLD έδειξαν ένα χαμηλότερο αναπνευστικό πηλίκο αντανakλώντας τη υψηλότερη συμμετοχή της οξείδωσης του λίπους στο σώμα στον REE συγκριτικά με τους εφήβους με NAFLD (σχ.3.1^A). Έχει φανεί ότι οι υπέρβαροι/παχύσαρκοι αλλά μεταβολικά εύρωστοι ενήλικες έχουν υψηλότερο ρυθμό οξείδωσης λίπους στην νηστεία συγκριτικά με λεπτούς ενήλικες συγκρίσιμους για την ινσουλινική ευαισθησία (82). Το ίδιο έχει παρατηρηθεί και στους συγγενείς πρώτου βαθμού των διαβητικών τύπου 2 με φυσιολογική ινσουλινική ευαισθησία (73) συγκριτικά με την ομάδα των ινσουλινοάντοχων συγγενών.

Οι Kelley et al. επίσης ανέφεραν σχέση μεταξύ του χαμηλότερου αναπνευστικού πηλίκου σε επίπεδο μυών και της ινσουλινικής ευαισθησίας σε παχύσαρκες, μη διαβητικές γυναίκες και οι Weiss et al διαπίστωσαν μία τάση για υψηλότερη οξείδωση λιπιδίων στη νηστεία σε παχύσαρκους ινσουλινοευαίσθητους εφήβους συγκριτικά με παχύσαρκους με ινσουλινική αντίσταση (30). Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί, ότι δεν ανιχνεύθηκε διαταραχή της οξείδωσης των λιπιδίων σε διαβητικούς με NAFLD (72,84), ούτε σε μη παχύσαρκους, μη διαβητικούς ενήλικες με NAFLD στους οποίους, η οξείδωση λιπιδίων φαίνεται ότι είναι ανάλογη με το το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (115). Έτσι αυτή η ξεκάθαρη συσχέτιση φαίνεται να είναι ειδικό εύρημα της εφηβείας. Είναι πιθανό ότι αυτό το ελάττωμα μπορεί να συμβαίνει στα πρώτα στάδια της ζωής και όχι στην ενήλικη ζωή, επειδή έως τότε αντισταθμιστικοί μηχανισμοί μπορεί να αναπτυχθούν και να αντirroπίσουν την μειωμένη διάθεση προς οξείδωση των λιπαρών οξέων.

Δεν πρέπει να παραβλέπουμε, ότι η διαταραγμένη οξείδωση λίπους στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD μπορεί να μην αντιπροσωπεύει απαραίτητα ηπατική διαταραχή. Πρέπει να τονίσουμε το γεγονός, ότι η έμμεση θερμιδομετρία αντιπροσωπεύει την οξείδωση των υποστρωμάτων ολόκληρου του σώματος και δεν δίνει εξειδικευμένες πληροφορίες για την οξείδωση των υποστρωμάτων στο ήπαρ. Σε κάθε περίπτωση η αναπροσαρμογή της διάθεσης των υποστρωμάτων προς οξείδωση, που παρατηρείται στη νηστεία δεν σχετίζεται με το αυξημένο BMI ή το περιεχόμενο λίπους στον κορμό και φαίνεται να είναι ανεξάρτητη διαταραχή αυτών των παχύσαρκων εφήβων με NAFLD.

Επίσης η ομοιοστατική απάντηση του ενεργειακού μεταβολισμού στην φόρτιση με γλυκόζη ήταν διαφορετική μεταξύ των ομάδων. Η καταστολή της οξείδωσης του λίπους βρέθηκε διαταραγμένη στους παχύσαρκους εφήβους με NAFLD (σχ 3.1B). Η κυριαρχία της οξείδωσης λίπους μετά τη χορήγηση γλυκόζης θυμίζει την θεωρία της έλλειψης μεταβολικής ευελιξίας (69), η οποία έχει αναγνωρισθεί ως δείκτης της ινσουλινικής αντίστασης στο επίπεδο του σκελετικού μυός (65). Έτσι η αποτυχία της μεταβολικής αναπροσαρμογής μετά τη φόρτιση με γλυκόζη στους εφήβους με NAFLD μπορεί να καθορίζεται από το γεγονός, ότι η ινσουλινική αντίσταση είναι αυξημένη στο σκελετικό μυ τους συγκριτικά με τους παχύσαρκους εφήβους χωρίς NAFLD, ακόμα και αν είναι πιθανό ότι το ήπαρ συνεισφέρει σε αυτήν την ανωμαλία. Ένας περιορισμός της παρούσης εργασίας είναι η έλλειψη ομάδος-ελέγχου εφήβων με φυσιολογικό βάρος. Εάν αυτός ο περιορισμός δεν είναι σημαντικός για το διαχωρισμό των εθελοντών σε δύο

ομάδες, επειδή αυτό προσδιορίζεται από το απόλυτο ενδοηπατικό περιεχόμενο (>5% ηπατικού βάρους), το WBISI αλλά πολύ περισσότερο τα δεδομένα της έμμεσης θερμιδομετρίας θα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη αυτόν τον περιορισμό.

Συμπερασματικά η παρουσία NAFLD είναι συχνή στην παιδική παχυσαρκία και σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση αλλά αυτή η σχέση πιθανά να καθορίζεται εν μέρει από το αυξημένο περιεχόμενο λίπους στον κορμό. Από την άλλη πλευρά η αναπροσαρμογή της διαθεσιμότητας υποστρωμάτων προς οξείδωση στη νηστεία φαίνεται να είναι ανεξάρτητο χαρακτηριστικό των εφήβων με NAFLD.

ΜΕΛΕΤΗ 2

Συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους σε μη διαβητικά άτομα.

Η παρούσα μελέτη δημοσιεύθηκε ως :

Serum resistin and hepatic fat content in nondiabetic individuals. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 91 (12):5122-5125.

Gianluca Perseghin, Guido Lattuada, Francesco De Cobelli, Georgia Ntali, Antonio Esposito, Agata Burshka, Elena Belloni, Tamara Canu, Francesca Ragogna, Paola Scifo, Alessandro Del Maschio, Livio Luzi.

Αρκετές μελέτες σε ζωικά μοντέλα προτείνουν, ότι η λιποκίνη ρεζιστίνη μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της παχυσαρκίας και της ινσουλινικής αντίστασης (52). Όμως άλλες μελέτες δεν δείχνουν σημαντικό ρόλο αυτής της ορμόνης στους ανθρώπους (97). Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν το ρόλο της ως πιθανό μεσολαβητή σε φλεγμονώδεις εξεργασίες (98). Οι Pagano et al διαπίστωσαν, ότι ασθενείς με NAFLD είχαν υψηλά επίπεδα ρεζιστίνης ορού τα οποία σχετίζονταν με το δείκτη βαρύτητας της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (NASH) (99). Αυτός είναι ένας δείκτης, που προσμετρά τη νέκρωση, τη φλεγμονή, την ίνωση στις βιοψίες ήπατος και αντανακλά τη σοβαρότητα της πάθησης. Αντίθετα δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ ινσουλινικής αντίστασης και του σκορ στεάτωσης το οποίο είναι δείκτης του ηπατικού περιεχομένου λίπους.

Στόχοι της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάσθηκε, ώστε να διευκρινισθεί η σχέση του ηπατικού περιεχομένου λίπους (IHF) με τα κυκλοφορούντα επίπεδα ρεζιστίνης. Η ηπατική συγκέντρωση λίπους υπολογίστηκε με την πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων (1H-MRS). Η έκτοπη συγκέντρωση λίπους προσεγγίστηκε και στο επίπεδο του σκελετικού μυός.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Εθελοντές

Στη μελέτη συμμετείχαν 28 άτομα με ιστορικό αυξημένου IHF. 47 άτομα με παρόμοια ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά αλλά με φυσιολογικό IHF χρησίμευσαν ως ομάδα ελέγχου. Ως φυσιολογικό επίπεδο IHF θεωρήθηκε το 5% του ηπατικού βάρους όπως προτείνει η Αμερικανική Ένωση Μελέτης Νοσημάτων του Ήπατος. Τα άτομα αυτά προέρχονταν από τα εξωτερικά ιατρεία του Κέντρου Διατροφής/Μεταβολισμού του Επιστημονικού Ινστιτούτου San Raffaele. Το σωματικό τους βάρος ήταν σταθερό για τουλάχιστον 6 μήνες και κριτήρια αποκλεισμού αποτελούσαν το ιστορικό ηπατικής νόσου, η κατάχρηση ουσιών και η ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ περισσότερο από 20 γρ. Όλοι οι εθελοντές ήταν υγιείς με βάση το ιατρικό τους ιστορικό, τη φυσική εξέταση, τις αιματολογικές εξετάσεις και τις εξετάσεις ούρων. Έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση, αφότου ενημερώθηκαν για τους σκοπούς, τη φύση και τους πιθανούς κινδύνους της μελέτης.

Πειραματικό πρωτόκολλο

Οι εθελοντές έλαβαν οδηγίες να καταναλώσουν μία ισοθερμιδική διαίτα και να απέχουν από άσκηση για 3 ημέρες πριν από τη μελέτη. Η μελέτη έγινε μετά από 8-10 ώρες νηστείας. Πραγματοποιήθηκαν 1^H -MRS και έμμεση θερμιδομετρία για τον προσδιορισμό του ενδοηπατικού λίπους και της ενεργειακής ομοιοστασίας όλου του σώματος. Έγινε λήψη αίματος και ούρων για τον προσδιορισμό της ρεζιστίνης, λεπτίνης, αδιπονεκτίνης, ινσουλίνης, γλυκόζης, ελεύθερων λιπαρών οξέων, του λιπιδαιμικού προφίλ, βιοχημικών παραμέτρων και του αζώτου της ουρίας. Μία υποομάδα εθελοντών (18 άτομα) (οι 5 με αυξημένο και οι 13 με φυσιολογικό ενδοηπατικό λίπος) υποβλήθηκαν σε 1^H -MRS στους γαστροκνήμιους μύες προκειμένου να προσδιοριστεί το ενδομυοκυτταρικό περιεχόμενο λίπους (IMCL).

Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων στο ήπαρ και το σκελετικό μυ (1^H -MRS)

Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίων ήπατος 1^H -MR πραγματοποιήθηκε σε όλους τους εθελοντές με τη χρήση του μαγνητικού τομογράφου 1,5T (Gyrosan Intera Master 1,5 MR

System; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands). Η 1H-MR φασματοσκοπία του πελματικού και πρόσθιου κνημιαίου έγινε με τη χρήση του μαγνητικού τομογράφου GE Signa 1,5 Tesla (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI).

Έμμεση θερμιδομετρία

Η έμμεση θερμιδομετρία πραγματοποιήθηκε για 30 συνεχή λεπτά με τη χρήση ventilated hood system (model 2900, Metabolic Measurement Cart, Sensor Medics, Yorba Linda, CA).

Οι αναλυτικοί προσδιορισμοί περιγράφονται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Υπολογισμοί

Η ινσουλινική αντίσταση προσδιορίστηκε με τη χρήση του ανανεωμένου computer model HOMA-2 το οποίο διατίθεται στην ηλεκτρονική διεύθυνση www.OCDem.ox.ac.uk. Η ενεργειακή δαπάνη στην ηρεμία υπολογίστηκε με την εξίσωση του Weir και από την απέκκριση αζώτου στα ούρα. Η οξείδωση γλυκόζης, λιπιδίων και πρωτεϊνών υπολογίστηκαν όπως έχει ήδη περιγραφεί στη μεθοδολογία.

Στατιστική μελέτη

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ σταθερά αποκλίση. Οι αναλύσεις έγιναν με τη χρήση του λογισμικού SPSS (έκδοση 10.0, SPSS, Chicago, IL). Οι συγκρίσεις των παραμέτρων των δύο ομάδων έγιναν με τη χρήση του αμφίπλευρου t-test για ανεξάρτητες μεταβλητές (2-tailed independent samples t-test) με επίπεδο σημαντικότητας 95% (τιμές $p < 0,05$). Οι μεταβλητές που δεν είχαν κανονική κατανομή όπως προσεγγίστηκε με το Kolmogorov-Smirnov test κανονικότητας ήταν (ο δείκτης μάζας σώματος, η ρεζιστίνη, το ενδοηπατικό περιεχόμενο, η HDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η γλυκόζη, η TSH, η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση) υποβλήθηκαν σε λογαριθμική μετατροπή πριν την ανάλυση. Η σχέση μεταξύ της ρεζιστίνης του ορού και των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκε με το συντελεστή συσχέτισης Pearson's. Μερική συσχέτιση χρησιμοποιήθηκε για να εξετάσει αυτές τις σχέσεις ανεξάρτητα από το αποτέλεσμα της ομάδας.

Αποτελέσματα

Χαρακτηριστικά των εθελοντών

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων δεν διέφεραν (πίνακας 3.2.1). Τα άτομα με αυξημένο ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους (IHF) είχαν υψηλότερα επίπεδα συστολικής αρτηριακής πίεσης και τριγλυκεριδίων ορού και χαμηλότερα επίπεδα HDL χοληστερόλης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα τα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων και κρεατινίνης δεν διέφεραν. Η ενεργειακή κατανάλωση ηρεμίας (REE) δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων (1880 ± 262 έναντι 1940 ± 338 kcal/die; $p=0,43$) ούτε μετά την προσαρμογή για το προβλεπόμενο REE υπολογισμένο με τη Harris-Benedict εξίσωση (107 ± 11 έναντι 109 ± 12 % στα άτομα ελέγχου και στα άτομα με NAFLD αντίστοιχα, $p=0,55$). Το αναπνευστικό πηλίκο και η οξείδωση γλυκόζης και λιπιδίων δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων. Η γλυκόζη πλάσματος και η ινσουλίνη δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων. Τα άτομα με NAFLD είχαν μειωμένη την κατά HOMA-2 ινσουλινική ευαισθησία ($p<0,04$), ενώ η ινσουλινική ευαισθησία του β-κυττάρου δεν διέφερε. Το ενδομυοκυτταρικό περιεχόμενο λιποειδών στον πελματιαίο (soleus) μυ ήταν αυξημένο στην ομάδα των ατόμων με NAFLD, ενώ στον πρόσθιο κνημιαίο (tibialis) διαπιστώθηκε μόνο μία τάση αύξησης. (πίνακας 3.2.1).

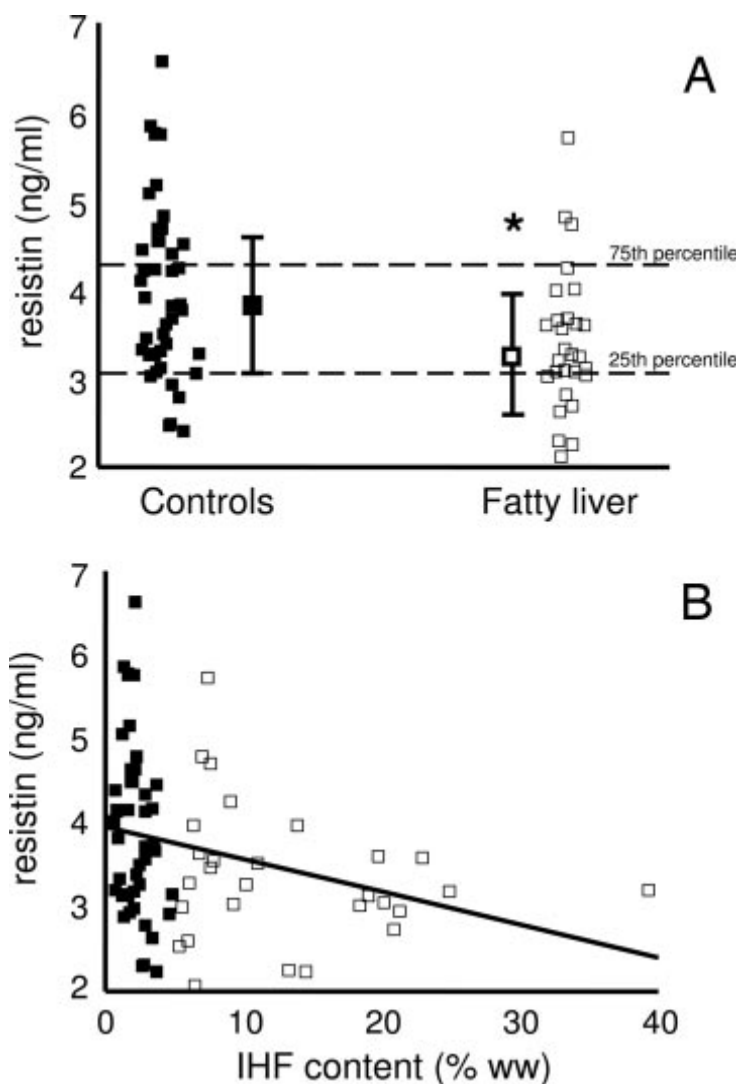
Συγκέντρωση λιποκινών

Η λεπτίνη πλάσματος δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων, ενώ η αδιπονεκτίνη του ορού και η ρεζιστίνη ($3,4 \pm 0,8$ έναντι $3,9 \pm 1,0$ ng/ml, $p<0,02$, σχ.3.2.1 A) ήταν χαμηλότερες στα άτομα με λιπώδες ήπαρ. Η συγκέντρωση ρεζιστίνης στον ορό σχετιζόταν με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους ($r = -0,35$, $p<0,003$ σχ. 3.2.1B) ακόμα και μετά την προσαρμογή για το αποτέλεσμα της ομάδος ($r= -0,23$, $p<0,05$). Παρά τον μικρό αριθμό των ασθενών στους οποίους πραγματοποιήθηκε η 1^H -MRS των γαστροκνημίων μυών η ρεζιστίνη παρουσίαζε αντίστροφη συσχέτιση και με το IMCL περιεχόμενο του πελματιαίου μυ ($r = -0,51$, $p<0,05$).

Πίνακας 3.2.1. Χαρακτηριστικά των ατόμων με ή χωρίς αυξημένο ηπατικό λίπος.

	IHF <5% ηπατικού βάρους	IHF >5% ηπατικού βάρους	p value
Ενδοηπατικό περιεχόμενο (% ηπατικού βάρους)	2,2 ± 1,0 εύρος: 0,63- 4,80	13,1 ± 8,0 εύρος: 5,40-39,25	0,001
Αριθμός και φύλο (Γ/Α)	47 (9/38)	28 (4/24)	0,59
Ηλικία (έτη)	36 ± 8	35 ± 8	0,62
Δείκτης μάζας σώματος (kg/m ²)	26,8 ± 3,0	27,1 ± 3,9	0,65
Συστολική ΑΠ (mmHg)	121 ± 9	128 ± 10	0,004
Διαστολική ΑΠ (mmHg)	80 ± 7	83 ± 9	0,25
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	188 ± 26	207 ± 47	0,07
HDL-χοληστερόλη (mg/dl)	54 ± 12	46 ± 12	0,015
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	88 ± 36	156 ± 25	0,008
ΕΛΟ (mmol/l)	0,55 ± 0,23	0,60 ± 0,14	0,30
Κρεατινίνη (mg/dl)	0,88 ± 0,14	0,84 ± 0,19	0,35
RER	0,80 ± 0,06	0,81 ± 0,06	0,88
GOx (mg/(kg*min))	1,30 ± 0,88	1,30 ± 0,82	0,99
Lox (mg/kg*min))	0,97 ± 0,39	0,98 ± 0,42	0,89
Γλυκόζη πλάσματος (mg/dl)	88 ± 8	92 ± 12	0,16
Ινσουλίνη πλάσματος (μU/ml)	12,8 ± 5,2	15,3 ± 6,0	0,07
HOMA2-B%	140 ± 44	148 ± 41	0,41
HOMA2-S%	72 ± 29	59 ± 24	0,04
Λεπτίνη (ng/ml)	12,1 ± 9,4	10,9 ± 7,2	0,58
Αδιπονεκτίνη (μg/ml)	6,7 ± 2,9	5,2 ± 1,9	0,01
Ρεξιστίνη	3,9 ± 1	3,4 ± 0,8	0,02
TSH (mU/liter)	1,17 ± 0,98	1,29 ± 0,99	0,59
Soleus IMCL (AU)*	61 ± 34	121 ± 11	0,004
Tibialis anterior IMCL (AU)*	18 ± 12	24 ± 4	0,09

Μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση, ΑΠ, αρτηριακή πίεση; RER, αναπνευστικό πηλίκο, GOx, οξείδωση γλυκόζης; Lox, οξείδωση λιπιδίων, AU, arbitrary unit. *Η IH MRS στο σκελετικό μυ πραγματοποιήθηκε σε 5 άτομα με αυξημένο και 13 με φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.



Σχήμα 3.2.1. Η ρεζιστίνη του ορού στις 2 ομάδες και η συσχέτισή της με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.

A. Η συγκέντρωση ρεζιστίνης ορού (μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση) φαίνεται να είναι χαμηλότερη στους ασθενείς με NAFLD (άδεια τετράγωνα) συγκριτικά με τα άτομα της ομάδας ελέγχου (γεμάτα τετράγωνα) (αμφίπλευρο t test για ανεάρτητα δείγματα, των λογαριθμικά μετασχηματισμένων δεδομένων; *, $p < 0,02$).

B. η συγκέντρωση ρεζιστίνης όπως παρουσιάζεται με το scatter plot δείχνει μία ασθενή αλλά σημαντική σχέση μεταξύ της ρεζιστίνης του ορού και του ενδοηπατικού περιεχόμενου λίπους (IHF) ($r = -0,35$, $p < 0,003$, pearson συσχέτιση των λογαριθμικά μετασχηματισμένων δεδομένων).

Συζήτηση

Η έκτοπη συγκέντρωση λίπους σε ιστούς πλην του λιπώδους θεωρείται δείκτης ινσουλινικής αντίστασης. Το μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ (NAFLD) έχει συσχετισθεί με διαταραχή του ινσουλινοεξαρτώμενου μεταβολισμού της γλυκόζης, της καταστολής της νεογλυκογένεσης και της λιπόλυσης (76), ενώ η συσσώρευση ενδομυοκυτταρικών λιπιδίων έχει συσχετισθεί με την ινσουλινική ευαισθησία (103).

Με βάση την υπόθεση, ότι η ρεζιστίνη εμπλέκεται στην ανάπτυξη της ινσουλινικής αντίστασης, θα περιμέναμε τα άτομα με ινσουλινική αντίσταση και έκτοπη συσσώρευση λίπους να έχουν αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης. Τα ευρήματα της μελέτης μας (σχ. 3.2.1^A) έρχονται σε αντίθεση με την υπόθεση, που σχετίζει τη ρεζιστίνη με την ινσουλινική αντίσταση στους ανθρώπους (97). Δεν προέκυψαν δεδομένα παρόμοια με αυτά από μελέτες με βιοψίες ήπατος, που έδειξαν, ότι οι ασθενείς με NAFLD είχαν αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης και αυξημένη έκφραση ρεζιστίνης στον υποδόριο λιπώδη ιστό (99). Αξίζει όμως να σημειωθεί, ότι στη μελέτη των Pagano et al η ρεζιστίνη ήταν αυξημένη μόνο στους ασθενείς με νέκρωση, φλεγμονή και ίνωση στο ήπαρ και αντανάκλωνε την βαρύτητα της νόσου, ενώ καμία συσχέτιση δεν βρέθηκε με την ινσουλινική αντίσταση και το σκορ στεάτωσης (99).

Το δυνατό σημείο της παρούσης μελέτης είναι ότι το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους προσεγγίστηκε με τη χρήση της ¹H-MRS μεθοδολογίας. Φάνηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης δεν σχετίζονται με το NAFLD και ότι η έκτοπη συσσώρευση λίπους μέσα στο ήπαρ (σχ 3.2.1B) και τον πελματιαίο μυ έχει αντίστροφη συσχέτιση με την κυκλοφορούσα ρεζιστίνη. Είναι πιθανό, ότι σε ασθενείς με NAFLD η ρεζιστίνη είναι αυξημένη μόνο σε αυτούς με NASH.

Αυτή η αντίστροφη συσχέτιση αν και ασθενής ήταν στατιστικά σημαντική και διαπιστώθηκε και σε παχύσαρκους εφήβους με NAFLD. Σε αυτούς τους εφήβους τα επίπεδα ρεζιστίνης στον ορό έτειναν να είναι χαμηλότερα από ότι σε παχύσαρκους εφήβους με φυσιολογικό IHF ($4,0 \pm 1,1$ έναντι $5,0 \pm 2,2$ ng/ml, $p=0,12$), ενώ το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους και η ρεζιστίνη του ορού είχαν αντίστροφη συσχέτιση ($r = -0,30$, $p=0,052$). Στους elite αθλητές στους οποίους το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους αναμένεται χαμηλό βρέθηκε, ότι η ρεζιστίνη του ορού ήταν εντυπωσιακά αυξημένη (104) ειδικά στους αθλητές, που συμμετείχαν σε αερόβια άσκηση

αντοχής. Όλα αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι στους ανθρώπους η συγκέντρωση ρεζιστίνης του ορού μπορεί να έχει αντίστροφη συσχέτιση με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους.

Οι ασθενείς με μη αλκοολικής αιτιολογίας στεατοηπατίτιδα (NASH) (99) μπορεί να αντιπροσωπεύουν μία εξαίρεση, ενώ και τα δεδομένα για τους τύπου 2 διαβητικούς ασθενείς είναι αμφιλεγόμενα. Οι Bajaj et al (107) βρήκαν ανάλογη συσχέτιση μεταξύ του ενδοηπατικού περιεχομένου λίπους και της ρεζιστίνης του ορού σε διαβητικούς ασθενείς, αλλά πιο πρόσφατα οι Carey et al (109) ανέφεραν χαμηλότερα επίπεδα ρεζιστίνης σε ασθενείς με τύπου 2 διαβήτη συγκριτικά με τους μη διαβητικούς controls και πρότειναν, ότι αυτά τα χαμηλότερα επίπεδα μπορεί να προστατεύουν τους ασθενείς από περαιτέρω επιδείνωση της ινσουλινικής αντίστασης κάτι που μπορεί να συμβαίνει και στους εθελοντές μας με την αυξημένη συγκέντρωση λίπους. Είναι πιθανό ότι στους τύπου 2 διαβητικούς η ενδοηπατική συγκέντρωση λίπους μιμείται μία κατάσταση ποικίλου βαθμού νέκρωσης, φλεγμονής και ίνωσης παρόμοια με αυτή της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας. Επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν, ότι η πρόγνωση του NAFLD μπορεί να επιδεινωθεί, αν συνυπάρχει διαβήτης (110). Αυτή η ερμηνεία υποστηρίζει την υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα ρεζιστίνης στους ασθενείς με NAFLD και τύπου 2 διαβήτη οφείλονται στην αυξημένη παραγωγή αυτής από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και της φλεγμονής (113) και δεν αντιπροσωπεύουν ένα σύνδεσμο με την ινσουλινική αντίσταση. Σε αντίθεση με τα ευρήματα, που σχετίζονται με την ρεζιστίνη, οι συγκεντρώσεις των λιποκινών υποστηρίζουν την πιθανότητα ότι σε αυτούς τους ασθενείς η χαμηλή αδιπονεκτίνη μπορεί πιθανά να εμπλέκεται στην παθογένεση της ινσουλινικής αντίστασης.

Συμπερασματικά στα άτομα με έκτοπη συγκέντρωση λίπους στο ήπαρ και στο σκελετικό μυ η ρεζιστίνη του ορού είναι μειωμένη εύρημα το οποίο αντιτίθεται στη θεωρία, που προτείνει τη ρεζιστίνη ως μεσολαβητή στην ινσουλινική αντίσταση. Αν αυτό αντιπροσωπεύει αντιροπιστικό μηχανισμό παραμένει να προσδιορισθεί.

ΜΕΛΕΤΗ 3

Συσχέτιση του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς καρδιακής κοιλίας σε παχύσαρκους άνδρες με φυσιολογική συστολική και διαστολική λειτουργία με την ινσουλινική αντίσταση.

Η μελέτη αυτή δημοσιεύθηκε ως:

Abnormal left ventricular energy metabolism in obese men with preserved systolic and diastolic functions is associated with insulin resistance. Diabetes Care, vol 30, number 6, june 2007, 1520-1526.

Gianluca Perseghin, Georgia Ntali, Francesco DeCobelli, Guido Lattuada, Antonio Esposito, Elena Belloni, Tamara Canu, Federica Constantino, Francesca Ragogna, Paola Scifo, Alessandro Del Maschio, Livio Luzi.

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η κύρια αιτία θανάτου σε ασθενείς με τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη (135,136). Ανεξάρτητα από την ισχαιμική αιτιολογία η διαβητική καρδιομυοπάθεια μπορεί να οφείλεται και σε άλλα αίτια, αφού ο σακχαρώδης διαβήτης μπορεί να βλάψει την καρδιά μέσω της στεφανιαίας μακροαγγειακής και μικροαγγειακής νόσου και της αυτόνομης δυσλειτουργίας (137). Έχει προταθεί, ότι ο διαφορετικός μεταβολισμός και η διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης στην καρδιά μπορεί να είναι το αίτιο και το αποτέλεσμα της διαταραγμένης καρδιακής λειτουργίας (139) και ότι το μεταβολικό remodeling στον διαβήτη μπορεί να προηγείται, να προκαλεί και να συντηρεί το λειτουργικό και το δομικό/γεωμετρικό remodeling της καρδιάς. Ο καρδιακός ενεργειακός μεταβολισμός είναι διαταραγμένος σε ασθενείς με ΣΔ2 παρά την έλλειψη σημαντικής καρδιακής δυσλειτουργίας (140) ή την παρουσία διαστολικής δυσλειτουργίας (141). Αυτές οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε άτομα μέσης ηλικίας 52-57 ετών στα οποία ο διαβήτης είχε διεγνωσθεί 1-3 χρόνια νωρίτερα. Έτσι το ερώτημα, αν οι διαταραχές του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού οφείλονται στην υπεργλυκαιμική κατάσταση per se ή είναι δευτεροπαθείς των μεταβολικών χαρακτηριστικών, που χαρακτηρίζουν την προδιαβητική κατάσταση παραμένει αναπάντητο.

Στόχοι της μελέτης

Η μελέτη αυτή στόχο είχε να διερευνήσει, αν η παχυσαρκία σχετίζεται με διαταραχή της δομής, γεωμετρίας, λειτουργίας και του ενεργειακού μεταβολισμού της καρδιάς και να διαπιστώσει, αν αυτές οι αλλαγές σχετίζονται με τους καρδιαγγειακούς και μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου, που συνοδεύουν τις καταστάσεις ινσουλινικής αντίστασης.

Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 81 υγιείς άνδρες χωρίς προηγούμενο ιστορικό διαβήτη, υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, στεφανιαίας, εγκεφαλικής νόσου ή περιφερικής αγγειακής νόσου, χωρίς ιστορικό διατατικής καρδιομυοπάθειας και παθολογικού κλάσματος εξώθησης ή ΗΚΓ δεικτών καρδιακής ισχαιμίας στην ηρεμία και χωρίς στοιχεία συμβατά με καρδιακή ανεπάρκεια σύμφωνα με την σταδιοποίηση NYHA (New York Heart Association). Δεν ελάμβαναν φάρμακα, η ηλικία τους ήταν 18-55 ετών, το BMI μεταξύ 18-35 kg/m² και το σωματικό βάρος ήταν σταθερό τουλάχιστον τους τελευταίους 6 μήνες. Προσεγγίστηκε η συνήθης φυσική τους δραστηριότητα με ένα ερωτηματολόγιο το οποίο βασίζεται σε 3 παραμέτρους: φυσική δραστηριότητα στην εργασία, σπορ στην διάρκεια του ελεύθερου χρόνου, και φυσική δραστηριότητα στη διάρκεια του ελεύθερου χρόνου, εκτός από τα σπορ. Το μεταβολικό σύνδρομο προσεγγίστηκε με τη χρήση των κριτηρίων του Adult Treatment Panel III με την εξαίρεση του κριτηρίου της μέσης αντί του οποίου χρησιμοποιήθηκε το BMI>30 Kg/m². Όλοι οι εθελοντές έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση, αφού τους εξηγήθηκαν οι σκοποί, η φύση και οι πιθανοί κίνδυνοι της μελέτης. Η μελέτη είχε την έγκριση της επιτροπής ηθικής του Επιστημονικού Ινστιτούτου San Raffaele.

Πειραματική διαδικασία

Στους εθελοντές δόθηκαν οδηγίες να καταναλώσουν μία ισοθερμιδική δίαιτα και να απέχουν από κάθε άσκηση για τουλάχιστον 3 ημέρες πριν το πειραματικό πρωτόκολλο, το οποίο περιελάμβανε μαγνητική τομογραφία απεικόνισης (MRI) και μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου (MRS-31P). Οι εθελοντές υποβλήθηκαν στο πρωτόκολλο μεταξύ 7.30-9.30 π.μ, ενώ βρίσκονταν σε κατάσταση ηρεμίας και μετά από 10 ώρες ολονύχτιας περιόδου νηστείας και αφού πρώτα ελήφθηκε φλεβικό αίμα προκειμένου να προσδιορισθούν η γλυκόζη πλάσματος, η

ολική χοληστερόλη, η HDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τα ΕΛΟ, η ινσουλίνη, η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη, η ρεξιστίνη, η TSH και η κρεατινίνη.

Πραγματοποιήθηκαν τα πρωτόκολλα της μαγνητικής τομογραφίας απεικόνισης καρδιάς και της καρδιακής μαγνητικής φασματοσκοπίας φωσφόρου όπως αναφέρονται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Οι αναλυτικοί προσδιορισμοί αναφέρονται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Υπολογισμοί

MRS ανάλυση

Το ³¹P MR φάσμα ποσοτικοποιήθηκε στο SUN-SPARC workstation. Έγινε διόρθωση του ATP για την συμμετοχή του αίματος από τις καρδιακές κοιλότητες και διόρθωση του λόγου PCr/ATP για το φαινόμενο του μερικού κορεσμού με τη χρήση των τιμών T1 (173). Με βάση το χρόνο επανάληψης 3,6 sec χρησιμοποιήσαμε τον παράγοντα αποκατάστασης κορεσμού 1,35 (145,146). Μία εκτίμηση του σηματοθορυβικού λόγου από κάθε φάσμα ελήφθη από τη σταθερά απόκλισης Cramer-Rao για το λόγο PCr/ATP (145).

MRI ανάλυση

Η ανάλυση των εικόνων έγινε με τη χρήση του image-processing workstation (Easy Vision; Philips Medical Systems) και τη χρήση των πακέτων software καρδιακής ανάλυσης.

Η ινσουλινική ευαισθησία και έκκριση υπολογίσθηκαν από το ανανεωμένο computer model ομοιόστασης (HOMA)2 το οποίο είναι διαθέσιμο στην ιστοσελίδα www.ocdem.ox.ac.uk. (105).

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση. Οι αναλύσεις έγιναν με τη χρήση του λογισμικού SPSS (έκδοση 10.0, SPSS, Chicago, IL). Οι παράμετροι που δεν είχαν κανονική κατανομή με βάση το τεστ κανονικότητας των Kolmogorov-Smirnov (συστολική και διαστολική πίεση, τριγλυκερίδια, λεπτίνη και TSH) υποβλήθηκαν σε λογαριθμική μετατροπή

πριν την ανάλυση. Η δοκιμασία ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) με διόρθωση κατά Bonferroni ή οι μη παραμετρικές δοκιμασίες Kruskal Wallis χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση των μεταβλητών μεταξύ των τεταρτημορίων του BMI. Ο συντελεστής συσχέτισης r κατά Pearson υπολογίσθηκε για την αξιολόγηση σχέσεων μεταξύ μεταβλητών με κανονική κατανομή και ο συντελεστής ρ Spearman για μεταβλητές με μη κανονική κατανομή. Η μελέτη στατιστικής δύναμης έδειξε ότι 17 άτομα ανά ομάδα χρειάζονταν για να δώσουν στατιστική δύναμη 90% προκειμένου ν' ανιχνευτεί 20% διαφορά στο λόγο PCr/ATP μεταξύ των ομάδων.

Πίνακας 3.3.1. Ανθρωπομετρικά, μεταβολικά, εργαστηριακά χαρακτηριστικά και lifestyle συνήθειες των υπό μελέτη ατόμων ανά τεταρτημόριο κατανομής για το BMI (kg/m²).

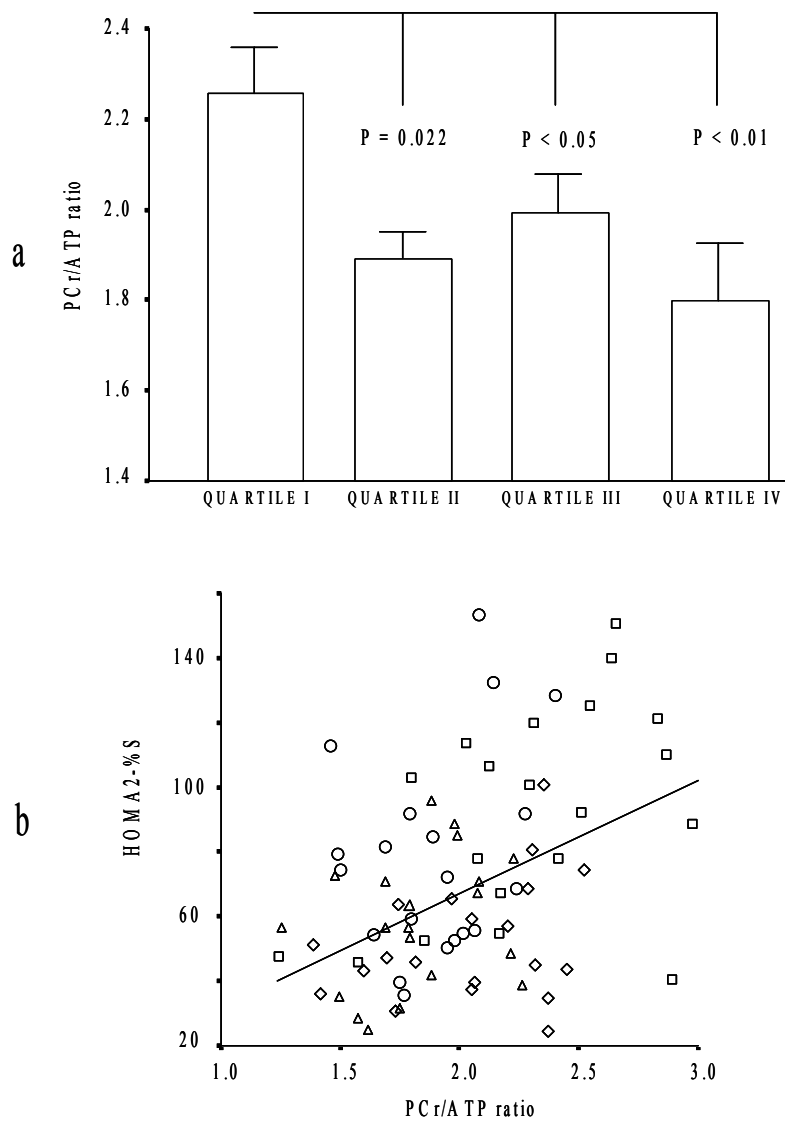
	<i>Τεταρτημόριο 1</i>	<i>Τεταρτημόριο 2</i>	<i>Τεταρτημόριο 3</i>	<i>Τεταρτημόριο 4</i>
	21,7±1,3(18,5-23,2)	24,6±0,7(23,3-25,5)	26,9±0,9(25,5-29,0)	32,0±1,7(30,0-35,3)
Ηλικία (έτη)	31 ± 7	35 ± 6	37 ± 9	37 ± 9
Ύψος (εκ)	177 ± 6	177 ± 6	177 ± 7	175 ± 8
Βάρος (Kg)*	68 ± 4	77 ± 5	84 ± 7	98 ± 9
Συστολική ΑΠ (mmHg)	121 ± 11	119 ± 6	125 ± 9	129 ± 9α
Διαστολική ΑΠ (mmHg)	79 ± 10	78 ± 6	83 ± 8	83 ± 7
Κρεατινίνη (μmol/l)	78 ± 17	80 ± 12	79 ± 10	80 ± 13
Γλυκόζη (mmol/l)	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,5	5,0 ± 0,6	5,2 ± 0,5
Ινσουλίνη (pmol/l)	66 ± 31	70 ± 28	101 ± 35α	105 ± 38α
Χοληστερόλη (mmol/l)				
Ολική	4,22 ± 0,68	4,81 ± 0,61	5,08 ± 1,30	4,84 ± 1,29
HDL	1,49 ± 0,34	1,47 ± 0,37	1,32 ± 0,29	1,12 ± 0,29α
Τριγλυκερίδια	0,87 ± 0,51	1,02 ± 0,82	1,09 ± 0,45	1,91 ± 0,99§
ΕΛΟ (mmol/l)	0,59 ± 0,19	0,58 ± 0,25	0,62 ± 0,22	0,60 ± 0,16
Λεπτίνη (ng/ml)	2,9 ± 1,2	6,5 ± 5,2	7,0 ± 3,3§	13,5 ± 6,0*
Αδιπονεκτίνη (μg/ml)	6,9 ± 3,7	6,9 ± 3,7	6,2 ± 2,8	5,2 ± 1,2
Ρεξιστίνη (ng/ml)	3,5 ± 1,0	3,4 ± 1,4	3,4 ± 0,8	3,4 ± 0,4
TSH (mU/l)	1,2 ± 0,9	1,2 ± 1,2	1,1 ± 1,0	1,5 ± 0,6
Κάπνισμα	3/20	6/21	8/20	5/20
PAI	9,1 ± 1,6	8,1 ± 1,2	8,0 ± 1,3	7,7 ± 0,9§
HOMA2-S%	88 ± 38	78 ± 34	52 ± 19α	49 ± 20α
HOMA2-B%	128 ± 40	126 ± 28	160 ± 42α	156 ± 41
HOMA2	1,39 ± 0,65	1,52 ± 0,58	2,15 ± 0,76α	2,4 ± 0,97 α

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση (εύρος BMI). * $p < 0,001$ έναντι όλων των άλλων τεταρτημορίων, α $p < 0,05$ έναντι τεταρτημορίου 1 και 2, § $p < 0,03$ έναντι τεταρτημορίου 1, one-way ANOVA και Bonferroni post hoc analysis. ΑΠ: Αρτηριακή πίεση,

Πίνακας 3.3.2-Μορφολογικές παράμετροι και λειτουργικά χαρακτηριστικά των ατόμων χωρισμένων ανά τεταρτημόρια BMI (kg/m²).

	Τετ/μόριο 1	Τετ/μόριο 2	Τετ/μόριο 3	Τετ/μόριο 4
Καρδιακός ρυθμός (παλμοί/λεπτό)	21,7 ± 1,3 (18,5-23,2)	24,6 ± 0,7 (23,3-25,5)	26,9 ± 0,9 (25,5-29,0)	32,0 ± 1,7 (30,0-35,3)
Μορφολογικά χαρακτηριστικά				
Τελοδιαστολικός όγκος (ml)	63 ± 13	63 ± 9	63 ± 10	65 ± 9
Τελοσυστολικός όγκος (ml)	143 ± 22	141 ± 21	148 ± 33	144 ± 28
Τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα (g)	56 ± 14	55 ± 13	56 ± 16	51 ± 14
Τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα/όγκος αναλογία (g/ml)	138 ± 24	133 ± 21	145 ± 17	157 ± 19*
Συστολική λειτουργία				
Όγκος παλμού (ml)				
Καρδιακή παροχή (l/min)	0,97 ± 0,16	0,94 ± 0,10	1,02 ± 0,18	1,12 ± 0,19*
Κλάσμα εξωθήσεως (%)	87 ± 13	86 ± 11	92 ± 19	93 ± 16
Διαστολική λειτουργία				
Early PFR (ml/s)	5,4 ± 1,4	5,4 ± 0,9	5,6 ± 1,0	6,0 ± 1,2
Atrial PFR (ml/s)	61 ± 5	62 ± 5	62 ± 4	65 ± 4
E/A peak flow	464 ± 78	475 ± 74	432 ± 92	469 ± 96
Χρόνος επιβράδυνσης (ms)	213 ± 54	219 ± 42	238 ± 84	261 ± 64
	2,31 ± 0,69	2,24 ± 0,49	1,99 ± 0,70	1,88 ± 0,49
	176 ± 26	183 ± 34	197 ± 39	183 ± 35

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση (BMI εύρος), αμφίπλευρο *t test* για ανεξάρτητα δείγματα. **p*<0,05 έναντι τεταρτημορίων 1 and 2 στην *in one way ANOVA* και *Bonferroni post hoc analysis*. *PFR:peak filling rate*.



Σχήμα 3.2.2 Ο λόγος PCr/ATP στα τεταρτημόρια I , II, III, IV και η σχέση μεταξύ λόγου PCr-to-ATP και HOMA2-S στο τεταρτημόριο I

στο τεταρτημόριο 2 ○

στο τεταρτημόριο 3 ◇

στο τεταρτημόριο 4 △

$r=0,43, p<0,001$.

Πίνακας 3.3.3- Two tailed Pearson's συσχέτιση και σταθερές προσαρμοσμένης μερικής συσχέτισης με το λόγο PCr/ATP.

<i>Μεταβλητές</i>	<i>Μονοπαραγοντική</i>	<i>Πολυπαραγοντική ανάλυση 1</i>	<i>Πολυπαραγοντική ανάλυση 2</i>	<i>Πολυπαραγοντική ανάλυση 3</i>	<i>Πολυπαραγοντική ανάλυση 4</i>
Ηλικία		-	-	-	-
R	0,19	-	-	-	-
P	0,11	-	-	-	-
BMI		-	-	-	-
r	-0,26	-	-	-	-
p	0,022	-	-	-	-
SBP		-	-	-	-
r	-0,11	--0,00	-	-	-
p	0,33	0,98	-	-	-
EDWM		-	-	-	-
r	0,0	0,13	-	-	-
p	0,98	0,29	-	-	-
HDL		-	-	-	-
r	0,15	0,06	-0,07	-	-
p	0,23	0,62	0,61	-	-
Τριγλυκερίδια		-	-	-	-
r	-0,16	-0,06	-0,04	-	-
p	0,20	0,66	0,74	-	-
PAI		-	-	-	-
r	0,273	0,23	0,21	0,21	-
p	<0,035	0,08	0,12	0,13	-
ATP III- MS		-	-	-	-
r	-0,29	-0,13	-0,15	-0,14	-0,12
p	<0,012	0,25	0,23	0,29	0,41
HOMA2-S%		0,37	-	-	-
r	0,43	0,007	0,38	0,40	0,34
p	<0,001		0,005	0,003	0,017

Το μοντέλο 1 προσαρμοσμένο για την ηλικία και το BMI, Το μοντέλο 2 προσαρμοσμένο για την ηλικία, BMI, PAS, και EDWM, Το μοντέλο 3 προσαρμοσμένο για την ηλικία, BMI, συστολική αρτηριακή πίεση, EDWM, HDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια Το μοντέλο 4 προσαρμοσμένο για την ηλικία, BMI, συστολική αρτηριακή πίεση EDWM, HDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια και δείκτη φυσικής δραστηριότητας δείκτη (PAI), EDWM τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα, SBP συστολική αρτηριακή πίεση.

Αποτελέσματα

Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών φαίνονται περιληπτικά στον πίνακα 3.3.1. Η ηλικία δεν διέφερε στα διάφορα τεταρτημόρια. Η συστολική αρτηριακή πίεση ήταν υψηλότερη στο τεταρτημόριο IV από ότι στο τεταρτημόριο I και II. Η HDL χοληστερόλη ήταν χαμηλότερη στο τεταρτημόριο IV συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II και η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων του ορού ήταν υψηλότερη στο τεταρτημόριο IV συγκριτικά με το τεταρτημόριο I. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) νηστείας δεν διέφεραν μεταξύ των τεταρτημορίων. Η αδιπονεκτίνη και η ρεξιστίνη δεν διέφεραν μεταξύ των τεταρτημορίων, ενώ η λεπτίνη πλάσματος αυξανόταν αναλογικά με το BMI. Η συνήθης φυσική δραστηριότητα ήταν χαμηλότερη στο τεταρτημόριο IV συγκριτικά με το τεταρτημόριο I, λόγω του δείκτη αθλητικής δραστηριότητας ($3,39 \pm 1,04$, $2,55 \pm 0,91$, $2,29 \pm 0,71$, και $2,17 \pm 0,38$ για τα τεταρτημόρια I-IV, αντίστοιχα, $p < 0,001$), ο οποίος ήταν υψηλότερος στο τεταρτημόριο I συγκριτικά με όλα τα άλλα τεταρτημόρια. ($p < 0,03$).

Ινσουλινική ευαισθησία

Η γλυκόζη πλάσματος νηστείας δεν διέφερε μεταξύ των διαφόρων τεταρτημορίων ($p = 0,14$). Αντίθετα η ινσουλίνη πλάσματος ήταν υψηλότερη στα τεταρτημόρια III και IV συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II ($p < 0,05$). Οι δείκτες της ινσουλινικής ευαισθησίας (HOMA-S%) και (HOMA-2) ήταν χαμηλότεροι στα τεταρτημόρια III και IV συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II ($p < 0,05$). Ο δείκτης HOMA-2 της λειτουργίας του β κυττάρου ως δείκτης της ινσουλινικής έκκρισης ήταν υψηλότερος στο τεταρτημόριο III συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II.

Ανατομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της αριστεράς κοιλίας

Οι μορφολογικές παράμετροι της αριστεράς κοιλίας φαίνονται περιληπτικά στον πίνακα 3.3.2. Η τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα ήταν υψηλότερη στο τεταρτημόριο IV συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II. Οι τελοδιαστολικοί και τελοσυστολικοί όγκοι της αριστεράς κοιλίας δεν

διέφεραν μεταξύ των τεταρτημορίων. Ο λόγος της τελοδιαστολικής μάζας/όγκο ήταν συνεπώς υψηλότερος στο τεταρτημόριο IV συγκριτικά με τα τεταρτημόρια I και II ($p=0,02$). Οι παράμετροι της συστολικής λειτουργίας (όγκος παλμού, καρδιακή παροχή και κλάσμα εξωθήσεως) καθώς και της διαστολικής λειτουργίας (early και atrial peak filling rates και χρόνος επιβράδυνσης) δεν διέφεραν μεταξύ των τεταρτημορίων.

PCr/ATP λόγος αριστεράς κοιλίας

Ο λόγος PCr/ATP ήταν υψηλότερος στο τεταρτημόριο I ($2,25 \pm 0,52$) συγκριτικά με τα τεταρτημόρια IV ($1,79 \pm 0,29$, $p<0,009$), III ($1,89 \pm 0,26$; $p<0,02$) και II ($1,99 \pm 0,38$ $p<0,05$). Η ακρίβεια ήταν εξαιρετική (r -CRSD $15 \pm 5\%$, $16 \pm 3\%$, $17 \pm 4\%$ και $18 \pm 3\%$ στα τεταρτημόρια I, II, III και IV, αντίστοιχα $p = 0,11$). Ο φασματοσκοπικός όγκος ενδιαφέροντος δεν διέφερε μεταξύ των τεταρτημορίων (178 ± 53 , 157 ± 61 , 160 ± 44 , και 178 ± 49 cm³, αντίστοιχα $p = 0,62$). Ο συντελεστής μεταβλητότητας στην ίδια σειρά δοκιμών ήταν $7 \pm 4\%$. Ο συντελεστής μεταβλητότητας μεταξύ διαφορετικών δοκιμών ήταν $12 \pm 5\%$. Η απόσταση μεταξύ του κέντρου του πηγίου και του πρόσθιου ορίου του τοιχώματος της αριστεράς κοιλίας ήταν μικρή αλλά διαφορετική στα διάφορα τεταρτημόρια λόγω της μορφολογίας του θώρακα ($4,0 \pm 0,8$, $4,2 \pm 0,5$, $4,5 \pm 0,7$, και $5,3 \pm 0,7$ εκ, $p<0,001$). Προσεγγίσαμε το αποτέλεσμα αυτής της διαφοράς πάνω στο λόγο PCr/ATP σε μία υποομάδα 7 εθελοντών (ηλικίας 31 ± 3 έτη, BMI $23,3 \pm 1,2$ Kg/m²) στην οποία 2 φασματοσκοπικές λήψεις ελήφθησαν. Η πρώτη λήψη ελήφθη με τη χρήση ενός 1,5 εκ spacer, ώστε η απόσταση μεταξύ του πηγίου και της καρδιάς να αλλάζει και ήταν ίδια με τη μέση απόσταση που μετρήθηκε στο τεταρτημόριο IV ενώ η δεύτερη λήψη ελήφθη χωρίς το spacer. Ο λόγος PCr/ATP που ελήφθη με το spacer ($2,13 \pm 0,31$) ή χωρίς αυτό ($1,85 \pm 0,27$) δεν διέφερε ($p = 0,22$).

Τα αποτελέσματα των αιμοδυναμικών και μεταβολικών μεταβλητών πάνω στη συσχέτιση μεταξύ BMI και λόγου PCr/ATP .

Η ανάλυση συσχέτισης Pearson έδειξε ότι ο λόγος PCr/ATP σχετιζόταν με το BMI ($r = -0,26$, $P = 0,022$), γλυκόζη πλάσματος νηστείας ($r = -0,32$, $p = 0,01$), ινσουλίνη ($r = -0,32$, $p = 0,012$), λεπτίνη ($r = -0,28$, $p = 0,039$), Adult treatment panel III κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου ($r = -0,29$, $p = 0,012$), HOMA2-S% ($r = 0,44$, $p = 0,001$, σχ.3.1), HOMA2 ($r = 0,34$, $p = 0,007$) και το δείκτη φυσικής δραστηριότητας ($r = 0,27$, $p = 0,035$). Όταν πραγματοποιήσαμε την

πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης προσαρμόζοντας για τις παραμέτρους, που περιγράφονται παραπάνω ο δείκτης HOMA2-S% ήταν η μόνη μεταβλητή, η οποία συνεχώς σχετιζόταν με το λόγο PCr/ATP. (Πίνακας 3.3.3).

Συζήτηση

Η αναπροσαρμογή του καρδιακού μεταβολισμού στο διαβήτη αντικατοπτρίζεται στις λειτουργικές και δομικές/γεωμετρικές αλλαγές, που διαπιστώνονται στη καρδιά των διαβητικών (178,191). Οι μελέτες των Scheuermann και Diamant διαπίστωσαν την αλλαγή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας σε τύπου 2 διαβητικούς, που δεν έπασχαν από άλλη καρδιακή νόσο (140,182). Αυτές οι μελέτες έγιναν σε διαβητικούς με συνοδά νοσήματα και χρήση πολλαπλών φαρμάκων, έτσι είναι δύσκολο να κατανοήσει κανείς, αν η διαταραχή του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού ήταν επακόλουθο της έκδηλης υπεργλυκαιμίας ή αν προϋπήρχε ήδη από το προδιαβητικό στάδιο.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώσαμε παρόμοια αλλαγή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας με αυτήν, που συμβαίνει στους τύπου 2 διαβητικούς ασθενείς και σε νέα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα τα οποία δεν έπασχαν από άλλα νοσήματα, δεν εμφάνιζαν υπεργλυκαιμία και δεν ελάμβαναν φάρμακα. Φαίνεται ότι η διαταραχή της καρδιακής ενεργειακής ομοιοστασίας δεν εξαρτάται μόνο από την γλυκοτοξικότητα αλλά και από άλλους παράγοντες, που μπορεί να επηρεάζουν τον καρδιακό μεταβολισμό πριν ακόμα αναπτυχθεί έκδηλη υπεργλυκαιμία.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα υπέρβαρα/παχύσαρκα άτομα των τεταρτημορίων II, III και IV είχαν χαμηλότερο λόγο PCr/ATP χωρίς να παρουσιάζουν βασικές δυσλειτουργίες της αριστεράς κοιλίας, η επίδραση των λειτουργικών ανωμαλιών θα πρέπει να αποκλεισθεί. Πιθανές εξηγήσεις για το εύρημα αυτό μπορεί να είναι οι εξής: 1) αυξημένη μάζα αριστεράς κοιλίας, 2) έκφραση μεταβολικών και καρδιοαγγειακών παραγόντων κινδύνου (μεταβολικό σύνδρομο), 3) ινσουλινική αντίσταση, 4) εγγενείς ή επίκτητες μεταβολικές καρδιακές ανωμαλίες. Υπέρ της πρώτης πιθανής εξήγησης είναι το γεγονός, ότι τα άτομα που ανήκουν στο τεταρτημόριο IV χαρακτηρίζονταν από λίγο υψηλότερη συστολική αρτηριακή πίεση συγκριτικά με τα άτομα των τεταρτημορίων I και II (πίνακας 3.3.1) και παρουσίαζαν υψηλότερη τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα (πίνακας 3.3.2). Στους ασθενείς με υπέρταση και υπερτροφία αριστεράς

κοιλίας ο λόγος PCr/ATP είναι μειωμένος (147), ενώ η μείωση αυτή σχετίζεται με επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας στους ασθενείς με διατακτική και υπερτροφική καρδιομυοπάθεια (148).

Η δεύτερη πιθανή εξήγηση υποστηρίζεται από το γεγονός, ότι τα άτομα του τεταρτημορίου IV παρουσίαζαν μειωμένη HDL χοληστερόλη και αυξημένα τριγλυκερίδια ορού και μία τάση για υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος. Αυτές οι παράμετροι συμπεριλαμβάνονται στον ορισμό του μεταβολικού συνδρόμου, το οποίο θεωρείται μέγιστος παράγοντας κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Στην μονοπαραγοντική ανάλυση το μεταβολικό σύνδρομο είχε αντίστροφη συσχέτιση με το λόγο PCr/ATP (πίνακας 3.3.3). Δεν είναι ξεκάθαρο, αν το μεταβολικό σύνδρομο έχει ένα μόνο αίτιο, αλλά η ινσουλινική αντίσταση θεωρείται ο πιο βασικός υποκείμενος παράγοντας κινδύνου (149). Εξάλλου ο δείκτης HOMA2-S% βρέθηκε διαταραγμένος στα διάφορα τεταρτημόρια του BMI και σχετιζόταν με το λόγο PCr/ATP στην μονοπαραγοντική ανάλυση (σχ.3.3.1). Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε, ότι ο δείκτης HOMA2-S% ήταν ο πιο σχετικός προγνωστικός παράγοντας του λόγου PCr/ATP και μόνο η επίδραση της συνήθους φυσικής δραστηριότητας εξασθενούσε χωρίς όμως να εκμηδενίζει την συσχέτιση (πίνακας 3.3.3). Διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού και αντίσταση στην ινσουλίνη έχει διαπιστωθεί και στο σκελετικό μύ των τύπου 2 διαβητικών ασθενών (140) καθώς και στους μη διαβητικούς πρώτου βαθμού συγγενείς τους (154).

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου μπορεί η ινσουλινική αντίσταση να επηρεάσει τον καρδιακό μεταβολισμό αποτελεί αντικείμενο εντατικών μελετών. Αυξημένη συγκέντρωση λιπιδίων στο μυοκαρδιακό κύτταρο έχει περιγραφεί στους ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση (151), σε σχέση με το αυξημένο BMI (152), σε παχύσαρκους, διαβητικούς ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια μη ισχαιμικής αιτιολογίας (153) και σε μετρίως παχύσαρκα άτομα (154).

Δεν προσδιορίσαμε την ενδοκαρδιακή συγκέντρωση λιπιδίων και δεν βρήκαμε καμία συσχέτιση μεταξύ του λόγου PCr/ATP και της συγκέντρωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA), που είναι δείκτης λιποτοξικότητας. Αυτή η έλλειψη συσχέτισης έρχεται σε αντίθεση με τα δεδομένα από ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (183) και μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ομάδων.

Στην καρδιά στο στάδιο νηστείας κυριαρχεί ο μεταβολισμός των λιπαρών οξέων. Όταν η καρδιά βρεθεί σε οξύ stress στρέφεται από τη χρήση του λίπους στους υδατάνθρακες (155) ως πηγή καυσίμου λόγω μιας πιο βολικής ισορροπίας στην κατανάλωση οξυγόνου. Έχει βρεθεί, ότι η τεχνητή αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στις καρδιές διαβητικών μειώνει την ικανότητα της καρδιάς μέσω της απώλειας οξυγόνου για μη συσπαστικές λειτουργίες (156). Αυτό το σενάριο υποστηρίζεται από τα ευρήματα σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια στους οποίους η θεραπεία με trimetazidine έναν εκλεκτικό αναστολέα της οξειδωσης των FFA προκάλεσε βελτίωση της λειτουργίας της αριστεράς κοιλίας και του λόγου PCr/ATP (157) πιθανά μεταβάλλοντας τα ενεργειακά υποστρώματα (139).

Στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 η αυξημένη διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων προς οξείδωση είχε αρνητική επίδραση στο λόγο PCr/ATP (140). Οι Peterson et al χρησιμοποιώντας την PET τομογραφία σε συνδυασμό με την υπερηχοκαρδιογραφία έδειξαν ότι σε νέες παχύσαρκες γυναίκες η καρδιακή ικανότητα ήταν διαταραγμένη και σχετιζόταν με την ινσουλινική αντίσταση και την πρόσληψη, χρήση και οξείδωση λιπαρών οξέων στο μυοκάρδιο ανεξάρτητα από τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων (159).

Η παρούσα εργασία έχει κάποιους περιορισμούς. Εκτιμήσαμε την ινσουλινική ευαισθησία και έκκριση με τη χρήση έμμεσων δεικτών. Ακόμα και αν έχουν την δυνατότητα να δείχνουν σημαντικά στοιχεία για το μεταβολισμό της γλυκόζης (160) είναι λιγότερο ευαίσθητοι και ειδικοί συγκριτικά με την ευγλυκαιμική, ινσουλιναϊκή αντλία. Δεν μπορούμε να αποκλείσουμε, ότι η συσχέτιση μεταξύ της ινσουλινικής ευαισθησίας και του λόγου PCr/ATP θα μπορούσε να είναι ισχυρότερη, εάν πιο ειδικά μέσα είχαν χρησιμοποιηθεί. Πρέπει επίσης να δηλώσουμε, ότι μία ελάχιστη συγκεντρική ανακατάταξη της γεωμετρίας της αριστεράς κοιλίας ανιχνεύθηκε σε άτομα του τεταρτημορίου IV (πίνακας 3.2). Το κλάσμα εξωθήσεως είναι ένας αδρός εκτιμητής της εξωθητικής ικανότητας της αριστεράς κοιλίας. Η χρήση ενός πιο άμεσου δείκτη εκτίμησης της μηχανικής των τοιχωμάτων ανεξάρτητα από το φορτίο (όπως αυτός που προκύπτει από την ιστική Doppler ηχοκαρδιογραφία) (161), η οποία δεν χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη θα μπορούσε να αποκαλύψει την παρουσία μίας μικρής δυσλειτουργίας σε αυτήν την υποομάδα. Αυτός ο περιορισμός δεν μειώθηκε από το σημαντικό εύρημα της αλλαγής του ενεργειακού μεταβολισμού, η οποία παρατηρήθηκε στα άτομα των τεταρτημορίων II και III.

Συμπερασματικά στη μελέτη αυτή ανιχνεύσαμε διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας σε παχύσαρκους αλλά υγιείς άνδρες, εύρημα που υποστηρίζει την υπόθεση, ότι το μεταβολικό remodeling σε καταστάσεις ινσουλινικής αντίστασης προηγείται της έναρξης της έκδηλης υπεργλυκαιμίας και της λειτουργικής, δομικής και γεωμετρικής αναδιάταξης της καρδιάς. Με βάση αυτήν την διατμηματική μελέτη η ινσουλινική αντίσταση μπορεί να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα για το μειωμένο λόγο PCr/ATP. Φυσικά χρειάζονται μακροχρόνιες μελέτες για να αποδείξουν τη σχέση μεταξύ αυτών των μεταβολικών αλλαγών και της μελλοντικής ανάπτυξης καρδιακής δυσλειτουργίας.

ΜΕΛΕΤΗ 4

Αυξημένο μεσοθωρακικό λίπος και διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς καρδιακής κοιλίας σε νέους άνδρες με NAFLD.

Η παρούσα μελέτη δημοσιεύτηκε ως:

Increased mediastinal fat and impaired left ventricular energy metabolism in young men with newly found fatty liver.

Hepatology, january 2008, 51-58.

Gianluca Perseghin, Guido Lattuada, Francesco De Cobelli, Antonio Esposito, Elena Belloni, Georgia Ntali, Francesca Ragogna, Tamara Canu, Paola Scifo, Alessandro Del Maschio and Livio Luzi.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ (NAFLD) αποτελεί παράμετρο του συνδρόμου αντίστασης στην ινσουλίνη (76, 19) και σχετίζεται με τη σπλαχνική παχυσαρκία (72). Στα άτομα με NAFLD έχουν διαπιστωθεί μεταβολικές διαταραχές όπως διαταραγμένη ηπατική νεογλυκογένεση (76, 87) διαταραχή του ινσουλινοδιεγερόμενου μεταβολισμού της γλυκόζης στο σκελετικό μύ (76, 58, 84) και διαταραχή της λιπόλυσης στο επίπεδο του λιπώδους ιστού (76, 87).

Η καρδιά είναι ένα ακόμα όργανο του οποίου ο μεταβολισμός μπορεί να επηρεαστεί από την αντίσταση στην ινσουλίνη. Λίγες είναι οι διαθέσιμες μελέτες, που αφορούν τον καρδιακό μεταβολισμό σε ασθενείς με NAFLD λόγω των δυσκολιών της in vivo μελέτης με μη επεμβατικό τρόπο του καρδιακού μεταβολισμού στους ανθρώπους. Οι Lautamaki et al προσδιόρισαν ποσοτικά με τη χρήση PET και το συνδυασμό 2-δεοξυ-2-(18F) φθορο -D-γλυκόζης και 15 O-σεσημασμένου ύδατος ταυτόχρονα την ευαισθησία στην ινσουλίνη στο επίπεδο της καρδιάς καθώς και την αιματική ροή σε ασθενείς με τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη και στεφανιαία νόσο και βρήκαν, ότι η ινσουλινική αντίσταση στο επίπεδο του μυοκαρδίου ήταν πιο σοβαρή σε ασθενείς με λιπώδες ήπαρ συγκριτικά με αυτούς που δεν είχαν (166). Η

μαγνητική φασματοσκοπία (MRS) έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη in vivo μεταβολικών μονοπατιών σε διάφορα όργανα και ιστούς (167) συμπεριλαμβανομένης και της καρδιάς (168).

Συγκεκριμένα ο προσδιορισμός του ενδοηπατικού λίπους (IHF) και δεικτών του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού μπορεί να γίνει μη επεμβατικά με τη χρήση της μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων υδρογόνου (1H-MRS) (151,102) και φωσφόρου (31P-MRS) αντίστοιχα (142).

Στόχοι της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε για να ελέγξει, αν υπάρχουν διαταραχές της α) μορφολογίας της αριστεράς κοιλίας και β) του ενδοπερικαρδιακού και εξωπερικαρδιακού μεσοθωρακικού λίπους, καθώς και να ελέγξει γ) παραμέτρους της συστολικής και διαστολικής λειτουργίας της αριστεράς κοιλίας και δ) τον ενεργειακό μεταβολισμό της αριστεράς κοιλίας σε συνθήκες ηρεμίας σε μία ομάδα νέων, μη διαβητικών ανδρών με αυξημένο ενδοηπατικό λίπος συγκριτικά με μία ομάδα ανδρών με παρόμοια ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και φυσιολογική συγκέντρωση ενδοηπατικού λίπους.

Μεθοδολογία

Συμμετείχαν 42 άνδρες. Οι 21 από αυτούς ήταν γνωστό, ότι είχαν αυξημένο ενδοηπατικό λίπος (IHF) από προηγούμενη συμμετοχή τους σε μία ^1H -MRS μελέτη για την ανίχνευση της συχνότητας του NAFLD στο ινστιτούτο San Raffaele. (177). 21 εθελοντές είχαν φυσιολογικό IHF και χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα ελέγχου σε αντιστοιχία με την ομάδα με NAFLD ως προς τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (ηλικία, δείκτη μάζας σώματος (BMI) και συνήθειες. Κανένα από τα άτομα της μελέτης δεν είχε ιστορικό υπέρτασης ή άλλη ενδοκρινική/μεταβολική νόσο. Η συνήθης φυσική δραστηριότητα προσεγγίστηκε με τη χρήση ενός ερωτηματολογίου (124). Το σωματικό βάρος των εθελοντών ήταν σταθερό κατά τη διάρκεια των τελευταίων 6 μηνών. Προσεγγίσαμε το μεταβολικό σύνδρομο με τη χρήση των κριτηρίων Adult treatment panel III (ATP III) με την εξαίρεση του κριτηρίου της μέσης, όπου αντί αυτού χρησιμοποιήθηκε το κροτήριο $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν το ιστορικό ηπατικής νόσου (ηπατίτιδα B, ηπατίτιδα C, γενετικών ηπατικών νοσημάτων όπως η αιμοχρωμάτωση, η ανεπάρκεια της $\alpha 1$ -αντιθρυψίνης, η νόσος WILSON), η κατάχρηση ουσιών ή η καθημερινή κατανάλωση περισσότερο από 1 αλκοολούχου ποτού ημερησίως (20gr/ημερ). 5 άτομα με

αυξημένο ενδοηπατικό λίπος και 2 χωρίς ήταν καπνιστές. Επιπρόσθετα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη ήταν το ιστορικό α) στεφανιαίας, εγκεφαλικής ή περιφερικής αγγειακής νόσου, β) διατακτικής καρδιομυοπάθειας γ) παθολογικού κλάσματος εξωθήσεως, δ) καρδιακής ισχαιμίας στην ηρεμία διαπιστωμένης με ηλεκτροκαρδιογραφικούς δείκτες και ε) καρδιακή ανεπάρκεια σύμφωνα με την ταξινόμηση New York Heart Association. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των ατόμων φαίνονται στον πίνακα 3.4.1. Κανένας εθελοντής δεν ελάμβανε φάρμακα και όλοι ήταν υγιείς όπως διαπιστώθηκε από το ιατρικό ιστορικό και τη φυσική εξέταση. Έγγραφο συγκατάθεσης υπεγράφη από όλους τους εθελοντές, αφού τους εξηγήθηκαν οι σκοποί, η φύση και οι πιθανοί κίνδυνοι της μελέτης. Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή Ηθικής του Ινστιτούτου San Raffaele.

Ερευνητικό πρωτόκολλο

Στους εθελοντές εδόθησαν οδηγίες να καταναλώσουν ισοθερμιδική δίαιτα και να απέχουν από οποιαδήποτε δραστηριότητα για 3 τουλάχιστον ημέρες πριν από τις μελέτες MRI-MRS. Όλοι οι εθελοντές υποβλήθηκαν στο πρωτόκολλο MRS-MRI από 7.30-9.30 π.μ σε κατάσταση νηστείας και αφού προηγήθηκε συλλογή φλεβικού αίματος στο μεταπορροφητικό στάδιο για τον προσδιορισμό της γλυκόζης πλάσματος, της ολικής χοληστερόλης της HDL-χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, των ελεύθερων λιπαρών οξέων, της ινσουλίνης, της λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης, της ρεζιστίνης, της hs-c-reactive protein, TSH και κρεατινίνης.

Ηπατική 1^H -MRS.

Η 1^H -MRS πραγματοποιήθηκε σε ηρεμία και με τους ασθενείς στην ύπτια θέση με τη χρήση του μαγνητικού τομογράφου 1,5T (Gyrosan Intera Master 1,5 MR System; Philips Medical Systems, Best the Netherlands) χρησιμοποιώντας ένα κυκλικό πηνίο επιφανείας C1 coil.

T1 ακολουθίες σε συμφωνία φάσης (in-phase) και σε αντίθεση φάσης (out-of-phase) ελήφθησαν προκειμένου να φανεί η πιθανή απώλεια σήματος στις out-of-phase εικόνες, εύρημα που δηλώνει την παρουσία ενδοηπατικής συσσώρευσης λίπους. Τα φάσματα 1^H ελήφθησαν με τη χρήση PRESS ακολουθίας (inter-pulse delay TR=3000msec, spin echo time TE=25 msec, 1024 data points over a 1000-Hz spectral width and 64 acquisitions) με και χωρίς καταστολή του σήματος του ύδατος.

Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου καρδιάς 31P-MRS.

Πραγματοποιήθηκε πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου καρδιάς σε συνθήκες ηρεμίας με βάση την ήδη περιγραφείσα μεθοδολογία.

Μαγνητική τομογραφία καρδιάς

Πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του πρωτοκόλλου, που έχει περιγραφεί στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας και τη χρήση enhanced gradient system with a maximum gradient strength of 30Mt/m και maximum gradient slew rate of 150 mt/m/sec. Χρησιμοποιήθηκε το Cardiac Research software patch (operating system 9).

Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε 2 φορές (στο τέλος της MRI-MRS δοκιμασίας) με τους εθελοντές σε κατακεκλιμένη θέση.

Οι αναλυτικοί προσδιορισμοί περιγράφονται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Υπολογισμοί

Υπολογισμός ενδοηπατικού περιεχομένου

Η περιεκτικότητα σε λίπος υπολογίστηκε όπως έχει ήδη περιγραφεί και η απόλυτη συγκέντρωση εκφράζεται σαν % λίπος ανά βάρος όγκου και τη χρήση εξισώσεων που έχουν αξιολογηθεί από τους Longo et al (74,75).

Παραδοσιακά το ηπατικό λίπος μεγαλύτερο από 50 mg/g (5% ηπατικού βάρους και ισοδύναμο με 6,5% της αναλογίας μεθυλενίου/μεθυλενίου+ύδατος*100) είναι διαγνωστικό ηπατικής στεάτωσης (63,101) .

Οι εθελοντές μας χαρακτηρίστηκαν με βάση το κριτήριο αυτό ως άτομα με φυσιολογικό ενδοηπατικό λίπος (<5% ηπατικού βάρους) ή αυξημένο ενδοηπατικό περιεχόμενο (>5% ηπατικού βάρους).

Ανάλυση 31P μαγνητικής φασματοσκοπίας

Το 31P-MR φάσμα αναλύθηκε αυτόματα αφού προηγήθηκε διόρθωση για την συμβολή της τριφωσφορικής αδενοσίνης ATP από το αίμα και αποκατάσταση μερικού κορεσμού.

Μία εκτίμηση του σηματοθορυβικού λόγου του κάθε φάσματος ελήφθηκε από τη σχετική σταθερά απόκλισης Cramer-Rao υπολογιζόμενο για το PCr/ATP, το οποίο χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης ακρίβειας της ποσοτικοποίησης του φάσματος (145).

Έγινε ανάλυση απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού σε workstation και τη χρήση software καρδιακής ανάλυσης (EasyVision; Philips Medical Systems).

Διαμερισματοποίηση καρδιακού λίπους

Περιγράφεται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας

Υπολογισμός ινσουλινικής ευαισθησίας

Υπολογίσθηκε η ινσουλινική ευαισθησία και έκκριση με τη χρήση του updated computer model HOMA-2 δεικτών το οποίο είναι διαθέσιμο από το [www.OCDEM](http://www.ocdem.ox.ac.uk).ox.ac.uk.

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα στο κείμενο, τους πίνακες και τα σχήματα είναι μέσες τιμές $\pm$ σταθερές αποκλίσεις. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό SPSS (ver. 13.0; SPSS Inc, Chicago). Αρχικά όλες οι κατανομές δεδομένων υπέστησαν έλεγχο κανονικότητας σύμφωνα με τη δοκιμασία των Kolmogorov-Smirnov. Όσοι οι παράμετροι δεν είχαν κανονική κατανομή, υποβλήθηκαν σε λογαριθμική μετατροπή πριν την ανάλυση (PCr/ATP ratio, ενδοηπατικό περιεχόμενο, διαστολική αρτηριακή πίεση, [HOMA] %). Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αμφίπλευρου *t* test για ανεξάρτητες μεταβλητές ή του μη παραμετρικού τεστ Kruskal-Wallis αναλόγως της κατανομής των δεδομένων και στατιστικώς σημαντική θεωρήθηκε μία *p* τιμή $<0,05$. Ο βαθμός γραμμικής συσχέτισης μεταξύ διαφόρων μεταβλητών προσδιορίστηκε υπολογίζοντας το συντελεστή συσχέτισης *r* του Pearson για

κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές ή ρ του Spearman για μη κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Έγινε υπολογισμός της στατιστικής δύναμης, ο οποίος έδειξε ότι 17 άτομα σε κάθε ομάδα χρειαζόνταν για να εξασφαλίσουν δύναμη 90% για την ανίχνευση 20% διαφοράς στον λόγο PCr/ATP μεταξύ των ομάδων. 13 άτομα σε κάθε ομάδα χρειαζόνταν για να εξασφαλίσουν δύναμη 90% να ανιχνεύσουν 10% διαφορά στο κλάσμα εξώθησης, 21 άτομα σε κάθε ομάδα χρειαζόνταν να εξασφαλίσουν δύναμη 90% για την ανίχνευση 20% διαφοράς στο E/A peak flow ratio και 16 άτομα σε κάθε ομάδα χρειαζόνταν για να ανιχνεύσουν 25% διαφορά στην τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα.

Αποτελέσματα

Ενδοηπατικό λίπος.

Το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους προσεγγίστηκε με τη χρήση ¹H- MRS (διάγραμμα 3.4.1) και κυμάνθηκε μεταξύ 5,40 και 39,14% ηπατικού βάρους στα άτομα με NAFLD και μεταξύ 0,69 και 4,65% στην ομάδα ελέγχου.

Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων (πίνακας 3.4.1).

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων αναφέρονται περιληπτικά στον πίνακα 3.4.1. Η ηλικία και το BMI δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων και οι εθελοντές ήταν κατά μέσον όρο υπέρβαρα άτομα. Η αρτηριακή πίεση ήταν μέσα στα φυσιολογικά όρια, αν και οι άνδρες με αυξημένο IHF είχαν μία τάση για υψηλότερες τιμές συστολικής πίεσης ($p = 0,07$). Η γλυκόζη νηστείας πλάσματος ήταν υψηλότερη στα άτομα με αυξημένο IHF ($p = 0,025$). Η ολική χοληστερόλη δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων, ενώ η HDL ήταν μειωμένη ($p = 0,018$) και τα τριγλυκερίδια ήταν ελαφρώς αυξημένα ($p = 0,05$) στους άνδρες με NAFLD συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα. Ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου ήταν υψηλότερος στους άνδρες με NAFLD (43%) συγκριτικά με την ομάδα χωρίς (9,5% pearson $\chi^2 = 16,81$, $p < 0,01$). Η κρεατινίνη και η TSH δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων.

Ινσουλινική ευαισθησία και λιποκίνες.

Η ινσουλίνη πλάσματος νηστείας δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων, ενώ το c-πεπτίδιο ήταν υψηλότερο στα άτομα με NAFLD ($p = 0,023$). Αν και οι 2 ομάδες ήταν σε αντιστοιχία για το BMI, η ινσουλινική ευαισθησία με βάση το δείκτη HOMA2-S% ($p = 0,047$) ήταν μειωμένη στους άνδρες με NAFLD (**πίνακας 3.4.2**). Η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων πλάσματος νηστείας ήταν υψηλότερη στους άνδρες με αυξημένο IHF ($p = 0,036$). Η λεπτίνη πλάσματος ήταν αυξημένη στα άτομα με NAFLD σε αντίθεση με τις συγκεντρώσεις αδιπνονεκτίνης και ρεζιστίνης, οι οποίες βρέθηκαν μειωμένες. Η hs-C-reactive protein ορού δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων.

Ανατομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της αριστεράς κοιλίας.

Οι μορφολογικές παράμετροι της αριστεράς κοιλίας και οι συστολικές και διαστολικές λειτουργίες δεν διέφεραν μεταξύ των 2 ομάδων μελέτης (**πίνακας 3.4.3**).

Αναλογία PCr/ATP αριστεράς κοιλίας

Ο λόγος PCr/ATP όπως υπολογίστηκε με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας φωσφόρου (^{31}P -MRS) (**σχ 3.4.2**) βρέθηκε μειωμένος στους ασθενείς με NAFLD συγκριτικά με την ομάδα με φυσιολογικό ενδοηπατικό λίπος ($1,84 \pm 0,34$ έναντι $2,11 \pm 0,32$, $p = 0,016$, **σχ.3.4.3**). Παρά το ότι τα άτομα ήταν υπέρβαρα, η ακρίβεια ήταν άριστη και το mean relative Cramer-Rao standard deviation δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων (16 ± 6 και $16 \pm 7\%$, $p = 0,96$). Ο συντελεστής μεταβλητότητας στην ίδια εξέταση για τους υπέρβαρους ασθενείς ήταν ($\text{CV}: 7 \pm 4\%$), ενώ ο συντελεστής μεταβλητότητας σε διαφορετικές εξετάσεις ήταν ($\text{CV}: 16 \pm 5\%$) (177). Η μέση απόσταση του κέντρου του πηνίου από το τοίχωμα της αριστεράς κοιλίας δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων ($4,7 \pm 0,6$ έναντι $4,6 \pm 0,8$ εκ, $P = 0,91$) και το ίδιο συνέβαινε για το φασματοσκοπικό όγκο ενδιαφέροντος (149 ± 30 έναντι $164 \pm 57 \text{ cm}^3$, $P = 0,39$).

Διαμερισματοποίηση καρδιακού λίπους

Το ενδοπερικαρδιακό ($7,8 \pm 3,1$ έναντι $5,9 \pm 2,5 \text{ cm}^2$, $P < 0,05$) και εξωπερικαρδιακό ($11,7 \pm 6,1$ έναντι $7,8 \pm 3,2 \text{ cm}^2$, $P < 0,03$) λίπος ήταν αυξημένο στους άνδρες με NAFLD.

Ανάλυση συσχέτισης.

Η συσχέτιση Spearman's rho έδειξε, ότι ο λόγος PCr/ATP σχετιζόταν με τη διαστολική αρτηριακή πίεση ($r = -0,48, p < 0,008$), με τη γλυκόζη πλάσματος νηστείας ($r = -0,35, p < 0,05$), με την ινσουλίνη ($r = -0,37, p < 0,03$) αλλά δεν σχετιζόταν σημαντικά με το ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους ($r = -0,33, p < 0,08$), τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τις λιποκίνες, την E-σελεκτίνη, το ενδοπερικαρδιακό ή μεσοθωρακικό λίπος. Τόσο το ενδοπερικαρδιακό όσο και το εξωπερικαρδιακό μεσοθωρακικό λίπος σχετίζονταν με πολλά ανθρωπομετρικά και μεταβολικά χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου αλλά γενικά το εξωπερικαρδιακό, μεσοθωρακικό λίπος σχετιζόταν πιο στενά με το BMI, το ενδοηπατικό λίπος (IHF), την ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τη γλυκόζη, την διαστολική αρτηριακή πίεση και το μεταβολικό σύνδρομο από ότι το ενδοπερικαρδιακό λίπος. Ακόμα και αν δεν σχετίζονταν με το λόγο PCr/ATP ανιχνεύσαμε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του early/atrial peak filling rate ratio και του ενδοπερικαρδιακού ($r = -0,45, p < 0,005$) και εξωπερικαρδιακού μεσοθωρακικού λίπους ($r = -0,36, p < 0,03$).

Συζήτηση

Το νέο εύρημα που προκύπτει από τη μελέτη αυτή είναι η διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού των φωσφορικών ενώσεων της αριστεράς κοιλίας στην ηρεμία στα άτομα με NAFLD. Η διαταραχή αυτή ανιχνεύθηκε παρά την φυσιολογική μορφολογία και τη φυσιολογική συστολική και διαστολική λειτουργία της αριστεράς κοιλίας στα άτομα αυτά στηρίζοντας την υπόθεση, ότι η μεταβολική διαταραχή μπορεί να αποτελεί πρώιμο εύρημα. Επιπλέον τα απεικονιστικά ευρήματα έδειξαν την παρουσία αυξημένου επικαρδιακού λίπους.

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε για να προσεγγισθεί η σχέση μεταξύ του ηπατικού και καρδιακού μεταβολισμού in vivo στους ανθρώπους. Το δυνατό σημείο της παρούσας μελέτης ήταν η συνδυαστική χρήση προηγμένων, μη επεμβατικών τεχνικών. Ο ποσοτικός προσδιορισμός του ενδοηπατικού λίπους έγινε με τη χρήση της ^1H -MRS, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κλινικό επίπεδο και η ακρίβεια και η ασφάλεια της την καθιστούν ιδανική μεθοδολογία για την προσέγγιση και την παρακολούθηση των αλλαγών του ενδοηπατικού περιεχομένου (90).

Ο ενεργειακός μεταβολισμός των φωσφορικών ενεργειακών υποστρωμάτων της αριστεράς κοιλίας μελετήθηκε με τη χρήση του ^{31}P -MRS, ενώ η ανατομία και η λειτουργία της αριστεράς

κοιλίας εξετάσθηκαν με τη χρήση της καρδιακής μαγνητικής τομογραφίας απεικόνισης. Ένα δυνατό σημείο αυτής της μελέτης ήταν η επιλογή να μελετηθούν νέα και σωστά αντιστοιχισμένα άτομα, ώστε να αποφευχθούν πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες όπως η ηλικία, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, η άσκηση, η εθνικότητα, ο διαβήτης, η υπέρταση και η φαρμακευτική αγωγή. Ένας περιορισμός της παρούσης εργασίας είναι, ότι πρόκειται για διατμηματική μελέτη, η οποία δεν επιτρέπει να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση μεταξύ της διαταραχής του λόγου PCr/ATP και της ανάπτυξης καρδιακής ανεπάρκειας σε αυτούς τους ασθενείς.

Φαίνεται λοιπόν ότι η διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας αποτελεί πρώιμο γεγονός σε νέους άνδρες με NAFLD, οι οποίοι δεν παρουσιάζουν άλλη μορφολογική ή λειτουργική καρδιακή διαταραχή. Η ανίχνευση ως μοναδικού ευρήματος του μειωμένου λόγου PCr/ATP σε αυτούς τους ασθενείς υποστηρίζει την υπόθεση, ότι το καρδιακό μεταβολικό remodeling ισχύει και προηγείται του λειτουργικού και δομικού remodeling της καρδιάς (158).

Μειωμένος λόγος PCr/ATP έχει βρεθεί σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιακή νόσο (179), με καρδιακό σύνδρομο X (180), υπέρταση (181) και τύπου 1 διαβήτη, τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (170) και τύπου 2 σακχ.διαβήτη (182), αλλά σε όλες αυτές τις μελέτες παράλληλα με τις μεταβολικές αλλαγές παρατηρήθηκε υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας και διαταραχή της διαστολικής και συστολικής λειτουργίας. Η εξάντληση της κρεατίνης έχει συσχετισθεί με την επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας στους ασθενείς με διατατική και υπερτροφική καρδιομυοπάθεια (184).

Φαίνεται, ότι οι ασθενείς με NAFLD παρουσιάζουν διαταραχή του ενδοθηλίου (20) και αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης (186). Η παθογένεια της διαταραχής του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας στους άνδρες με λιπώδες ήπαρ είναι ασαφής. Η έκτοπη συσσώρευση λίπους μέσα στο ήπαρ φαίνεται βασικά να προκαλείται από μία αυξημένη ροή FFA τα οποία προέρχονται από το λιπώδη ιστό (187). Είναι καλά τεκμηριωμένο, ότι το βασικό ενεργειακό υπόστρωμα για το μυοκάρδιο στην κατάσταση νηστείας είναι τα ελεύθερα FFA(188) και ότι η ελαττωμένη οξείδωσή τους στο μυοκάρδιο είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγων δυσλειτουργίας στους υπέρτασικούς ασθενείς (189).

Στους εθελοντές μας με NAFLD τα ελεύθερα λιπαρά οξέα πλάσματος νηστείας βρέθηκαν αυξημένα (πιν 3.4.2). Αυτή η αυξημένη ροή ΕΛΟ στην καρδιά μπορεί να είναι σημαντική όπως προσφάτως προτάθηκε από τους Kankaanpää et al. Όταν η παροχή των ελεύθερων λιπαρών οξέων ξεπερνάει το ρυθμό οξειδωσής τους προκαλείται οξειδωτικό stress και αυξάνουν οι συγκεντρώσεις των ενδοκυττάρων προϊόντων μεταβολισμού των λιπιδίων (τριγλυκεριδίων, κεραμιδίων, μακράς αλύσου λιπαρών acyl-CoA) με συνέπεια τη λιποτοξικότητα, η οποία μπορεί να σηματοδοτήσει αρχικά διαταραχή της ενεργειακής ομοιόστασης και αργότερα διαταραχή του μηχανισμού σύσπασης (191).

Ενάντια σε αυτήν την υπόθεση η εξάρτηση από το μεταβολισμό των ΕΛΟ στο μυοκάρδιο δεν μπορεί να ερμηνευτεί πλήρως από την αύξηση των ΕΛΟ του ορού στους ινσουλινοάντοχους, παχύσαρκους και τις νέες γυναίκες (192). Στη μελέτη μας τα ελεύθερα λιπαρά οξέα νηστείας παρότι υψηλότερα δεν σχετίζονταν με διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας. Ένα βασικό εύρημα αυτής της εργασίας είναι το γεγονός ότι το ποσό του επικαρδιακού λίπους ήταν αυξημένο (σχήμα 3.4 B,C) και δεν μπορούμε να αποκλείσουμε ότι αυτό το σπλαχνικό λίπος μπορεί να είναι πηγή υπερβολικών ποσών ελ.λιπαρών οξέων για το μυοκάρδιο τα οποία δεν ανιχνεύονται με τις μετρήσεις του περιφερικού αίματος.

Μια άλλη υπόθεση είναι ότι ο λιπώδης ιστός μπορεί να επηρεάσει τον ηπατικό και καρδιακό μεταβολισμό μέσα από την απελευθέρωση λιποκινών (193), γι' αυτό το λόγο μετρήσαμε τα επίπεδα συγκεντρώσεων στον ορό της λεπτίνης, αδιπονεκτίνης και ρεζιστίνης στη νηστεία. Οι συγκεντρώσεις στον ορό αυτών των λιποκινών ήταν διαφορετικές μεταξύ των 2 ομάδων (πιν 3.4.2) αλλά δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση με το λόγο PCr/ATP.

Χαμηλού βαθμού φλεγμονή σχετίζεται με το NAFLD (194) και την καρδιακή ανεπάρκεια (195). Με βάση την υπόθεση ότι αποτελεί πιθανό υποκείμενο μηχανισμό για την ηπατική στεάτωση και τη διαταραχή του καρδιακού ενεργειακού μεταβολισμού, μετρήσαμε στον ορό την hs C-reactive protein. Δεν βρήκαμε 1) συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσής της στον ορό και του λόγου PCr/ATP, ούτε 2) διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων. Διαπιστώθηκε όμως σημαντική συσχέτιση της hs C-reactive protein με το ενδοηπατικό λίπος (Spearman's rho: $r = 0,40$, $p = 0,038$). Γι' αυτό το λόγο δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την πιθανότητα, ότι η ηπατική στεάτωση per se μπορεί να προκαλέσει χαμηλού βαθμού φλεγμονή, η οποία με την σειρά της μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό του μυοκαρδίου.

Η ινσουλινική αντίσταση από μόνη της μπορεί να ενέχεται στη μεταβολική δυσλειτουργία όπως φάνηκε στην μελέτη 3 σε ένα πληθυσμό παχύσαρκων ατόμων, όπου η γλυκόζη πλάσματος νηστείας, η ινσουλίνη και ο δείκτης ινσουλινικής ευαισθησίας είχαν αντίστροφη συσχέτιση με το λόγο PCr/ATP (177). Άλλοι πιθανοί παράγοντες, που σχετίζονταν με το διαταραγμένο λόγο PCr/ATP μπορεί να μην σχετίζονται με τους κλασσικούς μεταβολικούς παράγοντες. Οι ασθενείς με NAFLD έχουν διαταραγμένη αγγειοδιαστολή. Επίσης βρήκαμε, ότι αν και μη παθολογική η διαστολική αρτηριακή πίεση σε αυτούς τους ασθενείς ήταν υψηλότερη από την ομάδα ελέγχου.

Συμπερασματικά η μελέτη αυτή δείχνει, ότι νέοι άνδρες με πρόσφατα διεγνωσθέν NAFLD παρουσιάζουν διαταραχή του ενεργειακού μεταβολισμού της αριστεράς κοιλίας και αυξημένο επικαρδιακό λίπος. Εάν αυτή η μεταβολική διαταραχή στο μυοκάρδιο οφείλεται στην αυξημένη παροχή υποστρωμάτων (FFA) ή φλεγμονωδών μεσολαβητών (λιποκινών) τοπικά απελευθερούμενων από το συσσωρευμένο επικαρδιακό λίπος είναι μια ελκυστική υπόθεση, η οποία όμως χρειάζεται περαιτέρω μελέτη.

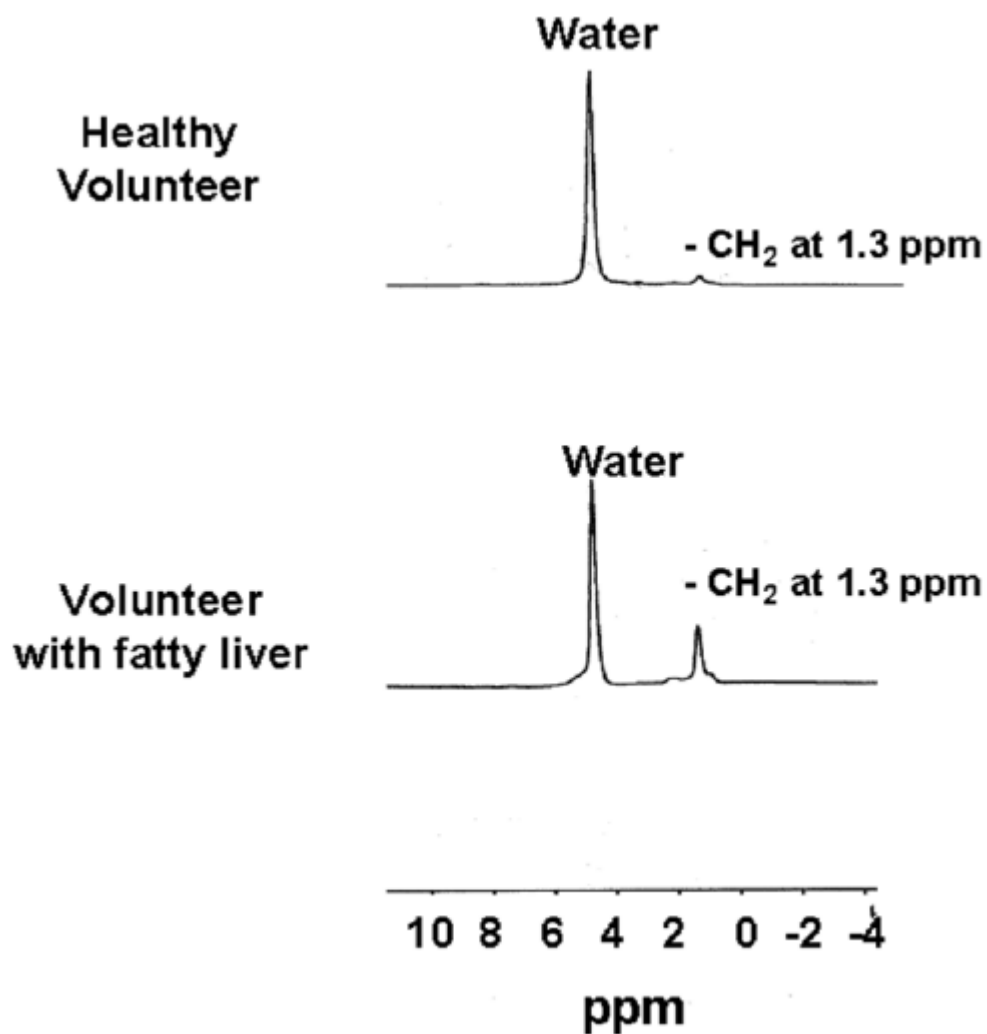
Πίνακας 3.4.1. Ανθρωπομετρικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ανδρών με (IHF >5% ww) ή χωρίς (IHF <5% ww) αυξημένη συγκέντρωση ηπατικού λίπους.

	IHF <5% ηπατικού βάρους	IHF >5% ηπατικού βάρους	P Value
N	21	21	
IHF (% ηπατικού βάρους)	2,20 ± 0,94 Εύρος: 0,69-4,65	14,59 ± 8,84 Εύρος: 5,40-39,14	0,0001
Ηλικία (έτη)	36 ± 7	35 ± 7	0,39
Ύψος (εκ)	176 ± 6	177 ± 5	0,43
Βάρος (kg)	84 ± 7	86 ± 13	0,82
BMI (kg/m ²)	27,1 ± 1,3	27,5 ± 3,6	0,42
Συστολική ΑΠ (mmHg)	122 ± 9	128 ± 10	0,06
Διαστολική ΑΠ (mmHg)	80 ± 9	84 ± 8	0,26
Γλυκόζη νηστείας (mmol/L)	4,86 ± 0,56	5,16 ± 0,58	0,052
Ολική χοληστερόλη (mmol/L)	4,75 ± 0,77	5,17 ± 1,41	0,40
HDL-χοληστερόλη (mmol/L)	1,45 ± 0,35	1,16 ± 0,29	0,008
Τριγλυκερίδια (mmol/L)	1,00 ± 0,49	1,85 ± 1,20	0,028
LDL-χοληστερόλη (mmol/L)	2,84 ± 0,62	3,28 ± 1,30	0,32
Κρεατινίνη (μmol/L)	82 ± 9	82 ± 9	0,94
TSH (mU/L)	1,25 ± 1,22	1,23 ± 0,99	0,75
AST (U/L)	30 ± 15	38 ± 13	0,35
ALT (U/L)	27 ± 9	54 ± 28	0,01
PAI	8,18 ± 1,21	7,85 ± 1,51	0,40

Οι τιμές δίνονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση.

Αμφίπλευρο t- test για ανεξάρτητα δείγματα (2-tailed) ή Kruskal-Wallis μη παραμετρικό τεστ.

PAI: δείκτης φυσικής δραστηριότητας.



Σχ.3.4.1. Δύο αντιπροσωπευτικά φάσματα ^1H MRS ήπατος.

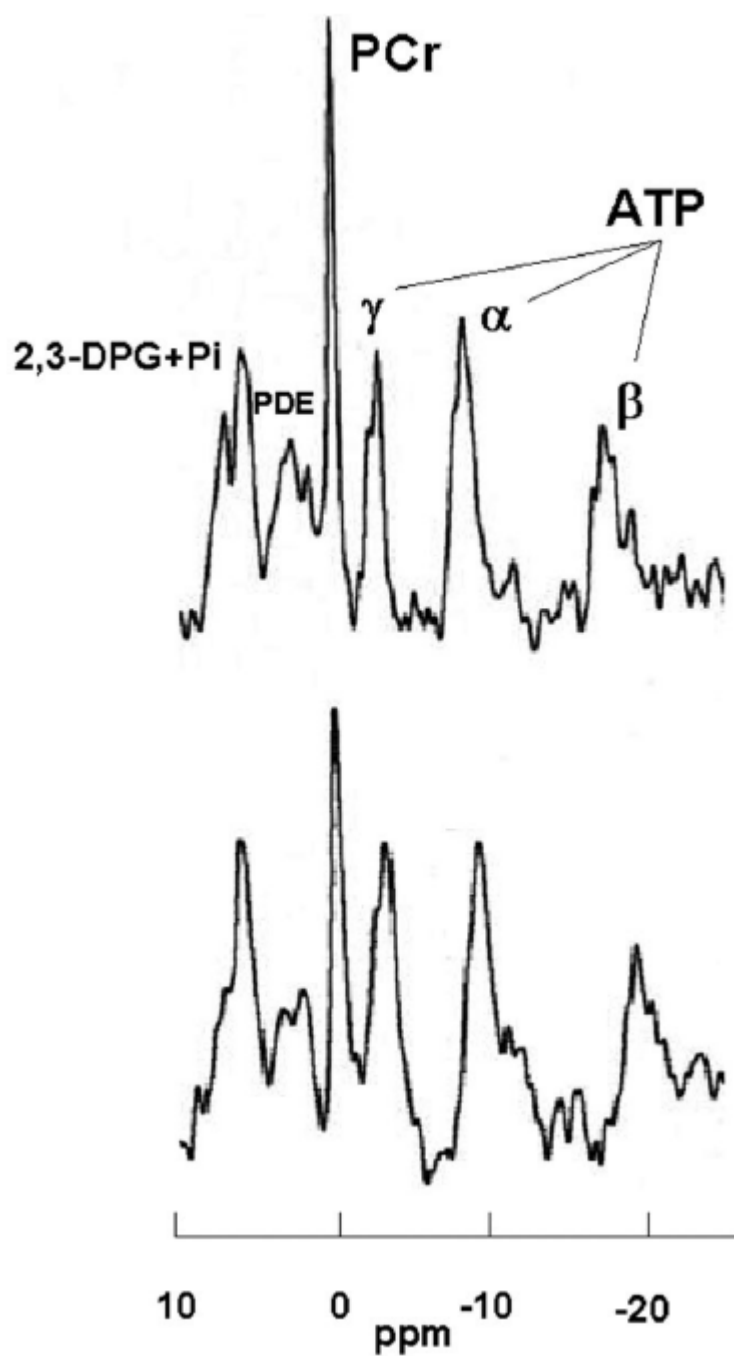
Επάνω φαίνεται το φάσμα ενός ατόμου με φυσιολογικό ενδοηπατικό λίπος (1,3 %). Φαίνονται η κορυφή που αντιστοιχεί στο νερό σε συχνότητα 4,7 ppm και οι κορυφές από τις ομάδες μεθυλενίου των ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων (1,35 ppm). Στο κάτω μέρος φαίνεται το φάσμα ατόμου με λιπώδες ήπαρ (36,1%).

Πίνακας 3.4.2. Ινσουλινική ευαισθησία, ελεύθερα λιπαρά οξέα, λιποκίνες και hs-CRP σε άτομα με (IHF >5%) ή χωρίς (IHF <5%) αυξημένο ενδοηπατικό λίπος.

	IHF<5% ηπατικού βάρους	IHF>5% ηπατικού βάρους	P Value
Ινσουλίνη πλάσματος νηστείας (pmol/L)	85 ± 28	105 ± 40	0,18
C-πεπτίδιο πλάσματος νηστείας (nmol/L)	0,71 ± 0,29	0,96 ± 0,31	0,018
HOMA2-%B	152 ± 43	152 ± 46	0,81
HOMA2-%S	63 ± 18	51 ± 19	0,047
Ελεύθερα λιπαρά οξέα και λιποκίνες			
Ελεύθερα λιπαρά οξέα (μmol/L)	559 ± 184	711 ± 194	0,014
Λεπτίνη (ng/ml)	5,7 ± 2,8	8,5 ± 3,6	0,015
Αδιπονεκτίνη(μg/ml)	7,4 ± 2,6	5,3 ± 1,9	0,015
Ρεζιστίνη (ng/ml)	4,0 ± 1,0	3,3 ± 0,8	0,019
hs CRP(mg/L)	0,90 ± 0,85	1,36 ± 1,14	0,19

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση.

Αμφίπλευρο t test για ανεξάρτητα δείγματα (2-tailed) ή Kruskal-Wallis μη παραμετρικό τεστ.

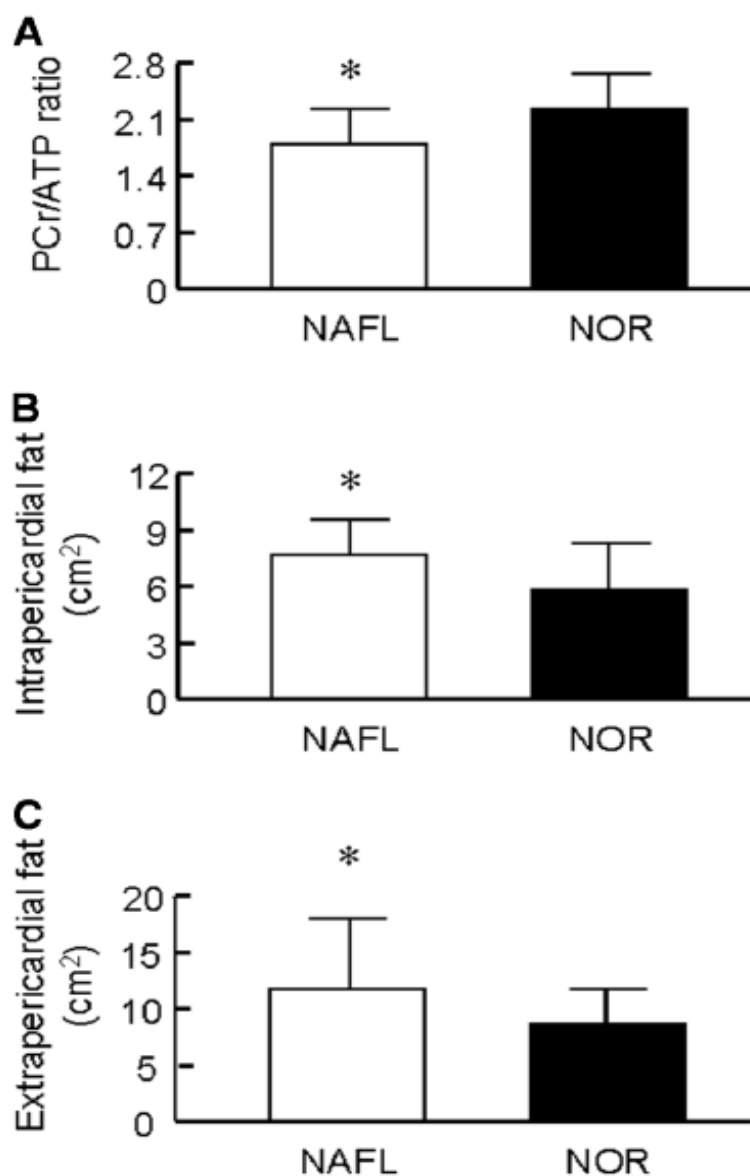


Σχήμα 3.4.2. ^{31}P MR φάσμα αριστεράς κοιλίας. Δύο αντιπροσωπευτικά ^{31}P φάσματα. Επάνω είναι οι κορυφές από τη φωσφοκρεατίνη (PCr), την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), τους φωσφοδιεστέρες (PDE) και το συνδυασμό σημάτων από το 2,3 διφωσφογλυκερικό (2,3DPG) που προέρχονται το αίμα και το ανόργανο φωσφόρο (P_i) ενός υγιούς εθελοντή με φυσιολογικό περιεχόμενο λίπους και κάτω είναι το φάσμα ενός ατόμου με λιπώδες ήπαρ.

Πίνακας 3.4.3 Μορφολογικές παράμετροι και λειτουργικά χαρακτηριστικά της αριστεράς κοιλίας σε άνδρες με (IHF >5%) ή χωρίς (IHF <5%) αυξημένη συγκέντρωση ηπατικού λίπους.

	IHF <5% ηπατικού βάρους	IHF>5% ηπατικού βάρους	P Value
Καρδιακός ρυθμός (χτύποι/λεπτό)	63 ± 7	61 ± 8	0,51
Μορφολογικά χαρακτηριστικά			
Τελοδιαστολικός όγκος (ml)	140 ± 29	140 ± 22	0,97
Τελοσυστολικός όγκος (ml)	53 ± 15	50 ± 10	0,44
Τελοδιαστολική τοιχωματική μάζα (g)	145 ± 20	144 ± 20	0,88
Συστολική λειτουργία			
Όγκος παλμού (ml)	86 ± 16	89 ± 14	0,57
Καρδιακή παροχή (L/min)	5,4 ± 0,7	5,5 ± 1,0	0,76
Κλάσμα εξωθήσεως (%)	62 ± 4	64 ± 3	0,07
Διαστολική λειτουργία			
Early peak filling rate (ml/sec)	432 ± 106	440 ± 72	0,80
Atrial peak filling rate (ml/sec)	207 ± 96	204 ± 75	0,93
E/A peak flow	2,0 ± 0,6	2,2 ± 0,6	0,36
Χρόνος επιβράδυνσης (msec)	198 ± 36	194 ± 35	0,77

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση. Αμφίπλευρο t test για ανεξάρτητα δείγματα (2-tailed) ή Kruskal-Wallis μη παραμετρικός έλεγχος.



Σχήμα 3.4.3. Ο λόγος PCr/ATP αριστεράς κοιλίας, το ενδοπερικαρδιακό και εξωπερικαρδιακό λίπος σε άτομα με NAFLD συγκριτικά με ομάδα ελέγχου.

(A) Ο λόγος PCr/ATP (μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση) ήταν χαμηλότερος σε ασθενείς με NAFL (άδειες στήλες) από ότι στα άτομα ελέγχου (γεμάτες στήλες) ($p = 0,016$, μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal-Wallis).

(B, Γ) Το ενδοπερικαρδιακό και εξωπερικαρδιακό λίπος ήταν υψηλότερο στους άνδρες με NAFL (άδειες στήλες) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (γεμάτες στήλες) ($p < 0,05$ και $p < 0,03$, αντίστοιχα, αμφίπλευρο t -test για ανεξάρτητα δείγματα).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελευταία χρόνια η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) συγκεντρώνει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω του αυξημένου επιπολασμού ο οποίος είναι περίπου 35% στο γενικό πληθυσμό και 75% μεταξύ των παχυσάρκων, ενώ τα άτομα με NAFLD παρουσιάζουν αυξημένη νοσηρότητα, θνητότητα και καρδιομεταβολικό κίνδυνο. Η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) αποτελεί την ηπατική παράμετρο του μεταβολικού συνδρόμου (19) και σχετίζεται με την ινσουλινική αντίσταση και τις κλινικές εκδηλώσεις της όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η παχυσαρκία, η δυσλιπιδαιμία και η υπέρταση.

Η βιοψία ήπατος παραμένει η μέθοδος αναφοράς για τη διάγνωση του NAFLD/NASH, όμως αποτελεί μία επεμβατική τεχνική, που εγκυμονεί αρκετούς κινδύνους. Στους ενήλικες η αποτελεσματικότητα της διαδερματικής βιοψίας ήπατος έχει εκτεταμένα μελετηθεί και γνωρίζουμε ότι η συχνότητα επιπλοκών –κυρίως η αιμορραγία- είναι χαμηλή και εξαρτάται από τη διάγνωση και τα συνοδά νοσήματα του ασθενούς, την εμπειρία του ιατρού και την ταυτόχρονη χρήση υπερηχογραφικής καθοδήγησης (197, 198, 199). Η εμπειρία σε παιδιατρικούς ασθενείς είναι μικρότερη αλλά φαίνεται ότι ο κίνδυνος αιμορραγίας είναι μεγαλύτερος από τους ενήλικες ειδικά στα παιδιά με διαταραχές πήκτικότητας (200-203). Για τους λόγους αυτούς είναι επιθυμητή η ανάπτυξη μη επεμβατικών, απεικονιστικών τεχνικών, οι οποίες να μπορούν να εκτιμούν και να παρακολουθούν σε μακροχρόνιο επίπεδο το NAFLD.

Πολλές ακτινολογικές τεχνικές όπως ο υπέρηχος, η μαγνητική τομογραφία απεικόνισης και η αξονική τομογραφία χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη για τον προσδιορισμό της ηπατικής στεάτωσης, καμία όμως δεν είναι ικανή να ποσοτικοποιήσει το βαθμό της στεάτωσης. Επιπλέον η πλειοψηφία των μελετών ελέγχου της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας αυτών έχουν γίνει σε ενήλικες και τα δεδομένα για τον παιδιατρικό πληθυσμό είναι ελάχιστα.

Μελετήσαμε την ενδοηπατική συγκέντρωση λίπους σε παχύσαρκους εφήβους με τη χρήση ενός μη επεμβατικού, ευαίσθητου εργαλείου της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας πρωτονίων και βρήκαμε, ότι **το NAFLD 1) είναι συχνό χαρακτηριστικό και στους παχύσαρκους εφήβους, αφού διαπιστώθηκε στο 30% αυτών, 2) σχετίζεται με μία αναπροσαρμογή των διαθέσιμων προς οξείδωση υποστρωμάτων όλου του σώματος.** Το αναπνευστικό πηλίκο (RQ) νηστείας βρέθηκε υψηλότερο στους εφήβους με NAFLD συγκριτικά με αυτούς με φυσιολογικό IHF, αντανakλώντας χαμηλότερη οξείδωση λιπιδίων νηστείας, ενώ αυξανόταν λιγότερο κατά τη διάρκεια του OGTT συγκριτικά με την αύξηση, που παρατηρούταν στους εφήβους με φυσιολογικό IHF. **Επιπλέον οι παχύσαρκοι έφηβοι με NAFLD παρουσίαζαν διαταραχή της ινσουλινικής ευαισθησίας και της ομοιοστασίας της γλυκόζης συγκριτικά με παχύσαρκους εφήβους, με φυσιολογικό ενδοηπατικό περιεχόμενο λίπους. Διαπιστώσαμε, ότι οι παχύσαρκοι έφηβοι με ενδοηπατική στεάτωση είχαν χαμηλότερα επίπεδα HDL, που είναι παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα.**

Το NAFLD αποτελεί πρώιμο δείκτη καρδιαγγειακής νοσηρότητας στα παχύσαρκα παιδιά. Η παρατήρηση αυτή έχει μεγάλη σημασία για την πρώιμη διάγνωση και την έγκαιρη πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και του σακχ. διαβήτη τύπου 2. Σημαίνει, ότι οι θεραπευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας δεν πρέπει να καθυστερούν και ότι το NAFLD θα πρέπει να αποτελεί θεραπευτικό στόχο προς παρακολούθηση ήδη από την παιδική ηλικία.

Η παθογένεια του NAFLD παραμένει ακόμη αντικείμενο προς διερεύνηση. Σημείο κλειδί στην εξέλιξη του αποτελεί η ινσουλινική αντίσταση. Ορμόνες και κυτοκίνες, που παράγονται από το λιπώδη ιστό μπορεί να αποτελούν ένα σύνδεσμο μεταξύ της παχυσαρκίας, της ινσουλινικής αντίστασης και του NAFLD. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του σπλαχνικού λίπους και του ήπατος μέσω των λιποκινών, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων μπορεί να εξηγήσει την χρόνια φλεγμονή, που παρατηρείται στο μεταβολικό σύνδρομο. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να επηρεάσουν τον ηπατικό μεταβολισμό μέσω της σύνδεσής τους σε συγκεκριμένους πυρηνικούς υποδοχείς οι οποίοι μπορεί και να αποτελέσουν στόχο συγκεκριμένων φαρμάκων.

Η ρεξιστίνη έχει φανεί σε μελέτες σε ζώα ότι μπορεί να διαδραματίζει ρόλο μεσολαβητή στη δημιουργία ινσουλινικής αντίστασης. **Μελετήσαμε παχύσαρκους εφήβους και υπέρβαρα άτομα με έκτοπη συγκέντρωση λίπους στο ήπαρ και στο σκελετικό μυ και βρήκαμε ότι η**

ρεζιστίνη του ορού είναι μειωμένη εύρημα το οποίο αντιτίθεται στη θεωρία, που προτείνει τη ρεζιστίνη ως μεσολαβητή στην ινσουλινική αντίστασης. Επιπλέον η ρεζιστίνη του ορού και το ενδοηπατικό λίπος είχαν αντίστροφη συσχέτιση. Περιορισμό της μελέτης αποτελεί το γεγονός, ότι δεν μετρήθηκαν δείκτες φλεγμονής. Πιθανολογείται, ότι η ρεζιστίνη είναι αυξημένη στις καταστάσεις αυτές όπως είναι η μη αλκοολικής αιτιολογίας **στεατοηπατίτιδα (NASH)**. Προσφάτως οι Chen et al διαπίστωσαν ότι η ρεζιστίνη επάγει την μείωση του οξειδίου του αζώτου και την αύξηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου σε καλλιέργειες ανθρώπινων, ενδοθηλιακών κυττάρων από στεφανιαία αγγεία. Προκαλεί μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας και μέσω αυτών αυξάνει το οξειδωτικό stress (196).

Η παχυσαρκία, ο διαβήτης και η ισχαιμική καρδιομυοπάθεια αποτελούν καταστάσεις αυξημένης πρόσληψης και οξείδωσης λιπαρών οξέων, μειωμένης χρήσης της γλυκόζης και οδηγούν σε κακή ενεργειακή κατάσταση και διαταραγμένη μηχανική. Μελετήσαμε τον ενεργειακό μεταβολισμό της αριστεράς καρδιακής κοιλίας με τη χρήση της πυρηνικής μαγνητικής φασματοσκοπίας φωσφόρου σε υγιείς άνδρες με BMI 18-35 kg/m² και διαπιστώσαμε **μείωση του λόγου PCr/ATP στην αριστερά καρδιακή κοιλία στους παχύσαρκους άνδρες παρά τη φυσιολογική συστολική και διαστολική τους λειτουργία**. Οι υπέρβαροι και παχύσαρκοι άνδρες χαρακτηρίζονταν από μειωμένη ινσουλινική ευαισθησία. Φαίνεται, ότι το μεταβολικό remodeling σε καταστάσεις ινσουλινικής αντίστασης προηγείται της έκδηλης υπεργλυκαιμίας και της λειτουργικής, δομικής και γεωμετρικής αναδιάταξης της καρδιάς. Είναι πιθανό η ινσουλινική αντίσταση να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα για τη μείωση του λόγου PCr/ATP.

Η κλινική επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου αφορά κυρίως στον αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα τα οποία είναι η 2^η πιο συχνή αιτία θανάτου σε ασθενείς με NAFLD. Η μεταβολική διαταραχή ξεκινά από εξωκαρδιακά όργανα αφού τα λιπαρά οξέα, η γλυκόζη και η ινσουλίνη ελέγχονται κυρίως από το λιπώδη ιστό, το σκελετικό μυ και το ήπαρ. Το λιπώδες ήπαρ χαρακτηρίζεται από μεταβολικές διαταραχές στο επίπεδο του ήπατος, του σκελετικού μυός και του λιπώδους ιστού. Πιθανολογείται, ότι και η καρδιά μπορεί να υφίσταται μεταβολική αναπροσαρμογή. **Μελετήσαμε τον ενεργειακό μεταβολισμό της αριστεράς καρδιακής κοιλίας σε υπέρβαρα άτομα με NAFLD και βρήκαμε, ότι παρουσίαζαν μείωση των φωσφορικών ενεργειακών υποστρωμάτων παρά τη φυσιολογική συστολική και διαστολική τους λειτουργία**. Φαίνεται ότι η μεταβολική αυτή διαταραχή αποτελεί πρώιμο εύρημα.

Επιπλέον τα υπέρβαρα άτομα με NAFLD είχαν μεγαλύτερο ποσό επικαρδιακού λίπους ως αποτέλεσμα της ινσουλινικής αντίστασης, που τα χαρακτηρίζει και της αυξημένης σπλαχνικής παχυσαρκίας. Το επικαρδιακό λίπος μπορεί να επηρεάσει απευθείας τα αγγεία και τη λειτουργία της καρδιάς διότι είναι μεταβολικά ενεργό και παράγει ορμόνες, κυτοκίνες και αγγειοδραστικές ουσίες, οι οποίες έχουν συστηματική και τοπική δράση, επηρεάζουν το ενδοθήλιο των αγγείων και εμπλέκονται στην παθογένεια της στεφανιαίας αγγειακής νόσου. Η έκτοπη συσσώρευση λίπους στα καρδιακά μυικά κύτταρα μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία τους, γι' αυτό και επιβάλλεται η έγκαιρη αναγνώρισή του.

Μελλοντικές κατευθύνσεις έρευνας

Τα αίτια και τα αποτελέσματα της παχυσαρκίας, του διαβήτη, της υπέρτασης σχετίζονται στενά μεταξύ τους και οι επιπλοκές τους (πρώτα και κύρια η καρδιαγγειακή νόσος) καταλήγουν σε σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα επιβαρύνοντας σημαντικά τα συστήματα υγείας. Η παθογένεια του τύπου 2 διαβήτη χαρακτηρίζεται από ινσουλινική αντίσταση και δυσλειτουργία του β-κυττάρου. Η δυσανάλογη συσσώρευση σπλαχνικού λιπώδους ιστού και η έκτοπη συσσώρευση λιπιδίων στους μύες και το ήπαρ αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την ινσουλινική αντίσταση. Έτσι είναι επιτακτική η προσέγγιση, η κατανόηση της αιτιοπαθογένειας και η έγκαιρη αντιμετώπιση αυτών των νοσημάτων.

Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία πρωτονίου αποτελεί μία μέθοδο μη επεμβατικού ποσοτικού προσδιορισμού μεταβολιτών στους ιστούς. Η αρχική εφαρμογή της έγινε με τη χρήση του chemical shift imaging στην κοιλιά για την μέτρηση του ενδοηπατικού λίπους και πρόσφατα του παγκρεατικού λίπους. Στο μέλλον άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές θα μπορέσουν να χαρακτηρίσουν τα διαφορετικά είδη λιπιδίων και τους μεταβολίτες στο ήπαρ και το πάγκρεας και να δώσουν πληροφορίες για την αναλογία ακόρεστων και κορεσμένων λιπιδίων.

Με την εφαρμογή της σε επίπεδο εγκεφάλου αναδुकνείται το νευροχημικό περιβάλλον και οι διαταραχές από την κατάχρηση φαρμάκων. Ανιχνεύει αλλαγές στη βιοχημεία του εγκεφάλου και προσφέρει τη δυνατότητα άμεσου ποσοτικού προσδιορισμού της χολίνης, κρεατίνης, N-ακετυλοασπαρτικού, γλουταμίνης, γλουταμικού και μυοινοσιτόλης. Καθώς το MRS φάσμα ομαλοποιείται μετά τους θεραπευτικούς χειρισμούς, η τεχνική αυτή μπορεί να αποτελέσει

εργαλείο παρακολούθησης του αρρώστου και προσέγγισης της αποτελεσματικότητας των διαφόρων θεραπευτικών σχημάτων. Η ευαισθησία της μεθόδου περιορίζεται από τις χαμηλές συγκεντρώσεις των περισσότερων εγκεφαλικών μεταβολιτών. Η νεώτερη advanced high/ultrahigh MRI/MRS τεχνολογία έχει ξεπεράσει τον περιορισμό αυτό ανοίγοντας νέους δρόμους και πιθανές εφαρμογές της MRS στην έρευνα του εγκεφάλου. Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα εφαρμογή είναι η μέτρηση και απεικόνιση των εγκεφαλικών μεταβολικών ρυθμών. Προσφάτως έχει αναπτυχθεί η in vivo MRS imaging μεθοδολογία για την απεικόνιση και τη μη επεμβατική μέτρηση των εγκεφαλικών μεταβολικών ρυθμών οξυγόνου (CMRO2) και CMR ATP.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναδειχθεί ο βασικός ρόλος του υποθαλάμου στην έλεγχο του ενεργειακού μεταβολισμού. Οι υποθαλαμικοί πυρήνες λαμβάνουν πλήθος ερεθισμάτων από τις λιποκίνες και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Αυτά τα σήματα διατροφικής αφθονίας οδηγούν στην ενεργοποίηση πλήθους υποθαλαμικών οδών, οι οποίες αλληλεπικαλύπτονται και παράγουν πλήθος κεντρικών και περιφερικών απαντήσεων. Η ινσουλίνη διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και αντιδρά με θέσεις δέσμευσης στον εγκέφαλο και υπάρχουν ενδείξεις, ότι μπορεί να ρυθμίζει την έκφραση νευροπεπτιδίων, που εμπλέκονται στο μηχανισμό ρύθμισης της πρόσληψης τροφής και ότι μπορεί να ρυθμίσει την ομοιοστασία της γλυκόζης μέσω κεντρικών συνδέσεων, που ρυθμίζουν την ηπατική γλυκονεογένεση, τη σύνθεση γλυκογόνου στους μύες και το μεταβολισμό του λίπους στα λιποκύτταρα. Η πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία φωσφόρου επιτρέπει με μη επεμβατικό τρόπο τον ποσοτικό προσδιορισμό του ενδοκυττάριου ATP, Pi, των φωσφοδιεστέρων και φωσφομονοεστέρων μπορεί να μετρήσει τις φωσφορικές ενεργειακές ενώσεις εγκεφάλου και να μας δώσει πληροφορίες για τη σχέση κεντρικού με περιφερικό ενεργειακό μεταβολισμό.

Στο μέλλον με την εξέλιξη της τεχνολογίας θα έχουμε ισχυρότερα μαγνητικά πεδία και βελτίωση των σημάτων που λαμβάνονται. Έτσι σε συνδυασμό με τη χρήση ιχνηλατών θα έχουμε τη δυνατότητα να μελετήσουμε καλύτερα το μεταβολικό σύνδρομο, τα καρδιαγγειακά και ηπατοχολικά νοσήματα, τη δομή και το μεταβολισμό του εγκεφαλικού κυττάρου καθώς και τις κακοήθειες και να προσδιορίσουμε με ακρίβεια τις συγκεντρώσεις των μεταβολιτών. Βεβαίως αυτό θα χρειαστεί την αξιολόγηση και εφαρμογή των MRS τεχνικών σε μεγαλύτερες πληθυσμιακές ομάδες, ώστε να μπορούμε να διακρίνουμε τις νοσηρές από τις υγιείς καταστάσεις.

Με τη χρήση της μεθοδολογίας αυτής ανοίγονται νέοι δρόμοι στη διερεύνηση του μεταβολισμού, αφού γίνεται εφικτή η μελέτη με ανώδυνο και μη επεμβατικό τρόπο του ιστικού μεταβολισμού *in vivo*. Μπορούν να εφαρμοσθούν τόσο στον παιδικό, εφηβικό αλλά και ενήλικα πληθυσμό με ασφάλεια και να αναδείξουν με ακρίβεια την παρουσία πρώιμων διαταραχών. Προσφάτως δε χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη του μεταβολισμού σε έμβρυα. Παρόλα αυτά δεν έχουν εφαρμοσθεί ακόμη στην κλινική πράξη λόγω της έλλειψης ενός consensus πάνω στη σωστή μεθοδολογία και εξαιτίας του υψηλού κόστους των τεχνικών. Χρειάζονται μακροχρόνιες μελέτες ώστε να αξιολογηθούν οι τεχνικές και να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καθημερινή κλινική πράξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Whitlock, G, Lewington, S, Sherliker, P, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900,000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 2009; 373:1083.
2. Khan LK, Bowman BA. Obesity: a major global public health problem. *Annu Rev Nutr* 1999;19:xiii-xvii.
3. James P.T, Leach R, Kalamara E, Shayeghi M. The worldwide obesity epidemic. *Obes Res*. 2001 Nov;9 Suppl 4:228S-233S.
4. Popkin BM, Doak CM. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutr Rev* 1998 Apr;56 (4 Pt 1): 106-14.
5. Seidell JC. Obesity, insulin resistance and diabetes- a worldwide epidemic. *Br J Nutr* 2000 Mar ;83 Suppl 1 :S5-8.
6. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL et al. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA* 2002; 288:1723-1727.
7. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL et al. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents and adults, 1999-2002. *JAMA* 2004, 291:2847-2850.
8. Molarius A, Seidell JC, Sans S et al. Educational level, relative body weight, and changes in their association over 10 years: an international perspective from the WHO MONICA Project. *AM J Public Health* 2000;90:1260-1268.
9. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C et al. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the Attica study. *Diabet Med* 2005; 22:1581-8.
10. Poirier P, Giles TD, Bray GA et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006; 113:898-918.
11. Sinha S, Rathi M, Misra A, et al. Subclinical inflammation and soleus muscle intramyocellular lipids in healthy Asian Indian males. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;63:350-5.
12. Sinha R, Dufour S, Petersen KF, et al. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by (1)H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes* 2002;51:1022-7.

- 13.Carey VJ, Walters EE, Colditz GA, et al. Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol.* 1997 Apr 1;145(7):614-9.
- 14.Koh-Banerjee P, Wang Y, Hu FB, et al. Changes in body weight and body fat distribution as risk factors for clinical diabetes in US men. *Am J Epidemiol.* 2004 Jun 15;159(12):1150-9.
- 15.A.J. Krentz, *Insulin Resistance*. Blackwell publ, 2002. p.7
- 16.Δ. Καραμήτσος, *Διαβητολογία*. Εκδ. Σιώκης, 2000, σελ.5
- 17.Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity:modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008;118:2992-3002
- 18.Nagle CA, Klett EL, Coleman RA. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *J Lipid Res* 2009;50 (Supl.):S74-S79.
- 19.Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003;37:917–923.
- 20.Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 42:473–480.
- 21.Schindhelm RK, Diamant M, Bakker SJ. Liver alanine aminotransferase, insulin resistance and endothelial dysfunction in normotriglyceridaemic subjects with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 2005;35:369–374.
- 22.Biddinger SB, Kahn CR. From mice to men: insights into the insulin resistance syndromes. *Annu Rev Physiol* 2006;68: 123-158.
- 23.Targher G, Bertolini L, Padovani R. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with carotid artery wall thickness in diet-controlled type 2 diabetic patients. *J Endocrinol Invest* 2006; 29:55–60.
- 24.Volzke H, Robinson DM, Kleine V. Hepatic steatosis is associated with an increased risk of carotid atherosclerosis. *World J Gastroenterol* 2005;11:1848–1853.
- 25.Targher G, Bertolini L, Padovani R. Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2006;29:1325–1330.
- 26.Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S. Carotid artery intima–media thickness in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Med* 2008;121:72–78.
- 27.Weiss R, Taksali SE, Tamborlane WV. Predictors of changes in glucose tolerance status in obese youth. *Diabetes Care* 2005;28:902-909.

28. Gastaldelli A, Kozacova M, Hollund K, Flyvbjerg, A, Mitrakou A, Balkau B. Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease, and early atherosclerosis in a large European population. *Hepatology* 2009 May; 49(5):1537-44.
29. Kaufman FR. Type 2 diabetes in children and youth. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:659-676.
30. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004;350:2362-2374.
31. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.
32. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995;270:26746-9.
33. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996;271:10697-703.
34. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:286-9.
35. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem (Tokyo)* 1996;120:803-12.
36. Gil-Campos M, Canete RR, Gil A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. *Clin Nutr* 2004;23:963-74.
37. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3815-9.
38. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1595-9.
39. Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res* 2004;12:962-71.
40. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001;7:947-53.

41. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7:941-6.
42. Satoh H, et al. Adenovirus-mediated chronic “hyper-resistinemia” leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J. Clin Invest* 2004;114:224-31.
43. Degawa-Yamauchi M et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J. Clin Endocrinol. Metabol* 2003;88:5452-5.
44. Fujinami A, Obayashi H, Ohta K et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta* 2004;339:57-63.
45. Pravenec M, Kazdová L, Landa V, Zidek V, Mlejnek P. Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J. Biol. Chem* 2003;278:45209-15.
46. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS et al. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 2004;303:1195-8.
47. Muse ED, Obici S, Bhanot S, et al. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J. Clin. Invest* 2004;114:232-9.
48. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005;111:932-9.
49. Konrad A, M. Lehrke, V. Schachinger, et al. Resistin is an inflammatory marker of inflammatory bowel disease in humans. *Eur J Gastroenterol* 2007;19:1070-1074.
50. Sunden-Cullberg. Pronounced elevation of resistin correlates with severity of disease in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2005;35:1536-42.
51. L.K. Heilbronn, J. Rood, L. Janderoova, et al. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese and obese diabetic subjects, *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2004;89:1844-1848.
52. C.M. Steppan, S.T. Bailey, S. Bhat et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409 2001;307-312.
53. M.W. Rajala, S. Obici, P.E. Scherer, L. Rossetti. Adipose derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J. Clin. Invest* 2003;111:225-230.

54. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-1808.
55. Rothman DL, Magnusson I, Cline G, et al. Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Feb 14;92(4):983-7.
56. Kolak M, Westerbacka J, Velagapudi VR, Wagsater D, Yetukuri L, Makkonen J. Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity. *Diabetes* 2007;56:1960-1968.
57. Arslan N, Buyukgebiz B, Ozturk Y, and Cakmakci H. Fatty liver in obese children: prevalence and correlation with anthropometric measurements and hyperlipidemia. *Turk J Pediatr* 2005; 47: 23–27.
58. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia* 2005 ;48: 634–642.
59. Cacciari E, Milani S, Balsamo A et al. Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (6–20 y). *Eur J Clin Nutr* 2002 ;56: 171–180.
60. Caprio S, Cline G, Boulware S, et al. Effects of puberty and diabetes on metabolism of insulin-sensitive fuels. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1994 ;266: E885– E891.
61. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of overweight among adolescents—United States, 1988–91. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994 ;43: 818–821.
62. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rashid A, and Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human non-alcoholic steatohepatitis. *JAMA* 1999;282: 1659–1664.
63. Hoyumpa AM, Greene HL, Dunn GD, and Schenker S. Fatty liver: biochemical and clinical considerations. *Am J Dig Dis* 1975;20: 1142–1170.
64. Jensen CC, Cnop M, Hull RL, Fujimoto WY, Kahn SE, and the American Diabetes Association GENNID study group. Beta-cell function is a major contributor to oral glucose tolerance in high-risk relatives of four ethnic groups in the U.S. *Diabetes* 2002;51: 2170–2178.
65. Kelley DE. Skeletal muscle fat oxidation: timing and flexibility are everything. *J Clin Invest* 2005;115: 1699–1702.
66. Chiu HC, Kovacs A, Blanton RM, et al. Transgenic expression of fatty acid transport protein 1 in the heart causes lipotoxic cardiomyopathy. *Circ Res* 2005;96:225-33.

67. McGavock JM, Lingvay I, Zib I et al. Cardiac steatosis in diabetes mellitus: a ¹H-magnetic resonance spectroscopy study. *Circulation* 2007;116:1170-5.
68. Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR, and Simoneau JA. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 277: E1130–E1141.
69. Kelley DE and Mandarino LJ. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance. A reexamination. *Diabetes* 2000; 49: 677–683.
70. Ingwall, J. S. et al. *Circ Res* 2004;95:135-145.
71. Neubauer S. The failing heart an engine out of fuel. *NEJM* 2007;356:(11): 1140-1151.
72. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, Kuller LH, and Kalhan SC. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: E906– E916.
73. Lattuada G, Costantino F, Caumo A, et al. Reduced whole body lipid oxidation is associated with insulin resistance but not with intramyocellular lipid content in offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 2005;48:741–747.
74. Longo R, Polesello P, Ricci C, et al. Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging* 1995;5: 281–285.
75. Longo R, Ricci C, Masutti F, et al. Fatty infiltration of the liver quantification by ¹H localized magnetic resonance spectroscopy and comparison with computed tomography. *Invest Radiol* 1993;28: 297–302.
76. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844–1850.
77. Marion AW, Baker AJ, Dhawan A. Fatty liver disease in children. *Arch Dis Child* 2004;89: 648–652.
78. Matsuda M and De Fronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. Comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999;22: 1462–1470.
79. Moran JR, Ghishan FK, Halter SA, and Greene HL. Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol* 1983;78: 374–377.

- 80.Nair S, Chacko VP, Arnold C, and Diehl AM. Hepatic ATP reserve and efficiency of replenishing:comparison between obese and nonobese normal individuals. *Am J Gastroenterol* 2003;98: 466–470.
- 81.National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28: 1039–1057.
- 82.Perseghin G, Scifo P, Danna M, et al. Normal insulin sensitivity and IMCL content in overweight humans are associated with higher fasting lipid oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;283: E556–E564.
- 83.Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, and Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54: 603–608.
- 84.Pietiläinen KH, Rissanen A, Kaprio J, et al. Acquired obesity is associated with increased liver fat, intra-abdominal fat, and insulin resistance in young adult monozygotic twins. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288: E768–E774.
- 85.Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, Behling C, Newbury R, and Lavine JE. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *J Pediatr* 2003;143: 500–505.
- 86.Schwimmer JB, McGreal N, Deutsch R, Finegold MJ, and Lavine JE. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents. *Pediatrics* 2005;115: e561–e565.
- 87.Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM, et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity an normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 3023–3028.
- 88.Frayn KN.Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *J Appl Physiol*. 1983 Aug;55(2):628-34.
- 89.Sunehag AL, Toffolo G, Treuth MS, et al. Effects of dietary macronutrient content on glucose metabolism in children. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ;87: 5168–5178.
- 90.Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E462–E468.
- 91.Thomsen C, Becker U, Winkler K, Christoffersen P, Jensen M, and Henriksen O. Quantification of liver fat by using magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging* 1994; 12: 487–495.

92. Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949;109: 1–9.
93. Weiss R, Dufour S, Taksali SE, et al. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet* 2003;362:951–957.
94. Weiss R, Taksali SE, Dufour S, et al. The “obese insulin-sensitive” adolescent: importance of adiponectin and lipid partitioning. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90: 3731–3737.
95. Weiss R, Taksali SE, Tamborlane WV, Burgert TS, Savoye M, and Caprio S. Predictors of changes in glucose tolerance status in obese youth. *Diabetes Care* 2005;28: 902–909.
96. Yeckel CW, Weiss R, Dziura J, et al. Validation of insulin sensitivity indices from oral glucose tolerance test parameters in obese children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 ;89: 1096–1101.
97. Arner P. Resistin: yet another adipokine tells us that men are not mice. *Diabetologia* 2005;48:2203–2205.
98. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005; 174:5789–5795.
99. Pagano C, Soardo G, Pilon C, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:1081–1086.
100. M.P.Reilly, M.Lehrke, M.L.Wolfe et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005;111 932-939.
101. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology* 2003;37:1202–1219.
102. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Reduced intra-hepatic fat content is associated with increased whole body lipid oxidation in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2005;48:2615– 2621.
103. Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, et al. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a ¹H-¹³CNMR spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 1999; 48: 1600–1606.
104. Perseghin G, Burska A, Lattuada G, et al. Increased serum resistin in elite endurance athletes with high insulin sensitivity. *Diabetologia* 2006; 49:1893–1900.

105. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modelling. *Diabetes Care* 2004;27:1487–1495.
106. Herrero P, Gropler RJ. Imaging of myocardial metabolism. *J Nucl Cardiol.* 2005 May-Jun;12(3):345-58.
107. Bajaj M, Suraamornkul, Hardies LJ, Pratipanawatr T, DeFronzo RA. Plasma resistin concentration, hepatic fat content, and hepatic and peripheral insulin resistance in pioglitazone-treated type II diabetic patients. *Int J Obes* 2004;28:783-789.
108. Prodi E, Obici S. Minireview: the brain as a molecular target for diabetic therapy. *Endocrinology* 2006; Jun 147 (6) 2664-9.
109. Carey AL, Wolsk Petersen E, et al. Discordant gene expression in skeletal muscle and adipose tissue of patients with type 2 diabetes: effect of interleukin- 6 infusion. *Diabetologia* 2006;49:1000–1007.
110. Adams LA, Lymp JF, Sauver JS, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population- based study. *Gastroenterology* 2005;129:113–121.
111. Caballería L, Auladell MA, Torán P, et al. Prevalence and factors associated with the presence of non alcoholic fatty liver disease in an apparently healthy adult population in primary care units. *BMC Gastroenterol.* 2007 Nov 5;7:41.
112. Munzberg H, Bjornholm M, Bates SH, Myers MG. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cell Mol Life Sci* 2005;Mar 62(6):642-52.
113. Diehl AM. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G1–G5.
114. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care.* 2004 Oct;27(10):2450-7
115. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3498–3504.
116. Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:1889–1895.

117. Gastaldelli A, Kozakova M, Højlund K, Flyvbjerg A, Favuzzi A, Mitrakou A, Balkau B; RISC Investigators. Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease and early atherosclerosis in a large European population. *Hepatology* 2009 May;49(5):1537-44.
118. Sattar N, Scherbakova O, Ford I, et al. West of Scotland Coronary Prevention Study: Elevated alanine aminotransferase predicts new-onset type 2 diabetes independently of classical risk factors, metabolic syndrome, and C-reactive protein in the west of Scotland coronary prevention study. *Diabetes* 2004;53:2855–2860.
119. Perry IJ, Wannamethee SG, Shaper AG: Prospective study of serum glutamyltransferase and risk of NIDDM. *Diabetes Care* 1998;21:732–737.
120. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001;345: 790–797.
121. Chiu HC, Kovacs A, Blanton RM, et al. Transgenic expression of fatty acid transport protein 1 in the heart causes lipotoxic cardiomyopathy. *Circ Res.* 2005 Feb 4;96(2):225-33.
122. Hu G, Qiao Q, Silventoinen K, et al. Occupational, commuting, and leisure-time physical activity in relation to risk for type 2 diabetes in middle-aged Finnish men and women. *Diabetologia* 2003;46:322–329.
123. Perseghin G, Price TB, Petersen KF, et al. Increased glucose transport/phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin resistant subjects. *N Engl J Med* 1996;335:1357–1362.
124. Baecke JAH, Burema J, Frijters JER. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982;36:936–942.
125. Perseghin G, Bonfanti R, Magni S, et al. Insulin resistance and whole body energy homeostasis in obese adolescents with fatty liver disease. *Am J Physiol* 2006;291: E697–E703.
126. Lawlor DA, Sattar N, Smith GD, Ebrahim S. The associations of physical activity and adiposity with alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase. *Am J Epidemiol* 2005; 161:1081–1088.
127. Church TS, Kuk JL, Ross R, Priest EL, Biltoff E, Blair SN. Association of cardiorespiratory fitness, body mass index, and waist circumference to nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2006; 130:2023–2030.

128. Nguyen-Duy TB, Nichaman MZ, Church TS, Blair SN, Ross R: Visceral fat and liver fat are independent predictors of metabolic risk factors in men. *Am J Physiol* 2003; 284: E1065–E1071.
129. Marchesini G, Brizi M, Morselli Labate AM, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease to insulin resistance. *Am J Med* 1999;107:450–455.
130. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002;23:201–229.
131. Lavoie JM, Gauthier MS: Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:1393–1409.
132. Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J Appl Physiol* 2003; 94:2127–2134.
133. Gauthier MS, Couturier K, Charbonneau A, Lavoie JM: Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28: 1064–1071.
134. Westerbacka J, Lammi K, Hakkinen A-M, et al. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90: 2804–2809.
135. Schernthaner G: Cardiovascular mortality and morbidity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 31 :S3– S13.
136. Kannel WB, Hjortland M, Castelli WP. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study. *Am J Cardiol* 1974; 34: 29 –34.
137. Picano E. Diabetic cardiomyopathy: the importance of being earliest. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:454–457.
138. Taegtmeyer H, McNulty P, Young ME. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes. I. General concepts. *Circulation* 2002; 105:1727–33.
139. Taegtmeyer H, Razeghi P. Heart disease in diabetes: resist the beginnings (Editorial). *J Am Coll Cardiol* 2004 ;43: 315.
140. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, et al. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation* 2003;107: 3040–3046.

141. Diamant M, Lamb HJ, Groeneveld Y, et al. Diastolic dysfunction is associated with altered myocardial metabolism in asymptomatic normotensive patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:328–335.
142. Perseghin G, Fiorina P, De Cobelli F, et al. Cross-sectional assessment of the effect of kidney and kidney-pancreas transplantation on resting left ventricular energy metabolism in type 1 diabetic-uremic patients: a ³¹P-MRS study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1085–1092.
143. Chia JM, Fischer SE, Wickline SA, Lorenz CH. Performance of QRS detection for cardiac magnetic resonance imaging with a novel vectorcardiographic triggering method. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:678–688.
144. De Roos A, Doornbos J, Luyten PR, Oosterwaal LJMP, van der Wall EE, den Hollander JA: Cardiac metabolism in patients with dilated and hypertrophic cardiomyopathy: assessment with proton-decoupled P-³¹ MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 1992;2:711–719.
145. Lamb HJ, Beyerbach HP, Ouwerkerk R, et al. Metabolic response of normal human myocardium to high dose atropine-dobutamine stress studied by ³¹P-MRS. *Circulation* 1997;96: 2969–2977.
146. Lamb HJ, Doornbos J, den Hollander JA, et al. Reproducibility of human cardiac ³¹P-NMR spectroscopy. *NMR Biomed* 1996; 9:217–227.
147. Lamb HJ, Beyerbach HP, van der Laarse A, et al. Diastolic dysfunction in hypertensive heart disease is associated with altered myocardial metabolism. *Circulation* 1999;99:2261–2267.
148. Nakae I, Mitsunami K, Omura T, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy can detect creatine depletion associated with the progression of heart failure in cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1587–1593.
149. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute: Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112:2735–2752.
150. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI: Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350:664–671.
151. Szczepaniak LS, Dobbins RL, Metzger GJ, et al: Myocardial triglycerides and systolic function in humans: in vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging. *Magn Reson Med* 2003;49 :417–423.

- 152.Reingold JS, McGavock JM, Kaka S, Tillery T, Victor RG, Szczepaniak LS: Determination of triglyceride in the human myocardium by magnetic resonance spectroscopy: reproducibility and sensitivity of the method. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;289:E935–E939.
- 153.Sharma S, Adroque JV, Golfman L, et al. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles lipotoxic rat heart. *FASEB J* 2004;18:1692–1700.
- 154.Kankaanpää M, Lehto H-R, Parkka JP, et al: Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4689–4695.
- 155.Goodwin GW, Taylor CS, Taegtmeyer H: Regulation of energy metabolism of the heart during acute increase in heart work. *J Biol Chem* 1998;273:29530–29539.
- 156.How O-J, Aasum E, Severson DL, Chan WYA, Faadiel Essop M, Larsen TS. Increased myocardial oxygen consumption reduces cardiac efficiency in diabetic mice. *Diabetes* 2006;55:466–473.
- 157.Fragasso G, Perseghin G, De Cobelli F, et al. Effects of metabolic modulation by trimetazidine on left ventricular function and phosphocreatine/adenosine triphosphate ratio in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2006;27:942–948.
- 158.Taegtmeyer H: Cardiac metabolism as a target for the treatment of heart failure. *Circulation* 2004;110:894–896.
- 159.Peterson LR, Herrero P, Schechtman KB, et al. Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate metabolism and efficiency in young women. *Circulation* 2004;109:2191–2196.
- 160.Caumo A, Perseghin G, Brunani A, Luzi L. New insights on the simultaneous assessment of insulin sensitivity and β -cell function with the HOMA2 method. *Diabetes Care* 2006; 29:2733–2734.
- 161.Palmon LC, Reichek N, Yeon SB, et al. Intramural myocardial shortening in hypertensive left ventricular hypertrophy with normal pump function. *Circulation* 1994;89: 122–131.
- 162.Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003;37:917-923.
- 163.Sutinen J, Häkkinen AM, Westerbacka J, et al. Increased fat accumulation in the liver in HIV-infected patients with antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *AIDS*. 2002 Nov 8;16(16):2183-93.

164. Pietilainen KH, Rissanen A, Kaprio J, et al. Acquired obesity is associated with increased liver fat, intra-abdominal fat, and insulin resistance in young adult monozygotic twins. *Am J Physiol* 2005;288 :E768-E774.
165. Volzke H, Robinson DM, Kleine V, et al. Hepatic steatosis is associated with an increased risk of carotid atherosclerosis. *World J Gastroenterol* 2005;Mar 28;11 (12):1848-53.
166. Lautamaki R, Borra R, Iozzo P, et al. Liver steatosis coexists with myocardial insulin resistance and coronary dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291:E282-E290.
167. Perseghin G, Petersen KF, Shulman GI. NMR studies on the mechanism of insulin resistance in man. In: Reaven G, Laws A. *Contemporary endocrinology: insulin resistance*, chapter 9. Totowa, NJ: Humana Press Inc, 1999:159-177.
168. Neubauer S. The failing heart: an engine out of fuel. *N Engl J Med* 2007;356:1140-1151.
169. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Reduced intra-hepatic fat content is associated with increased whole body lipid oxidation in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2005; 48:2615-2621.
170. Perseghin G, Fiorina P, De Cobelli F, et al. Cross-sectional assessment of the effect of kidney and kidney-pancreas transplantation on resting left ventricular energy metabolism in type 1 diabetic-uremic patients: a 31P-MRS study. *J Am Coll Cardiol* 2005 ;46: 1085-1092.
171. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Habitual physical activity is associated with the intra-hepatic fat content in humans. *Diabetes Care* 2007;30:683-688.
172. Hoyumpa AM, Greene HL, Dunn GD, Schenker S. Fatty liver: biochemical and clinical considerations. *Am J Dig Dis* 1975;20:1142-1170.
173. De Roos A, Doornbos J, Luyten PR, Oosterwaal LJMP, van der Wall EE, den Hollander JA. Cardiac metabolism in patients with dilated and hypertrophic cardiomyopathy: assessment with proton-decoupled P-31 MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 1992;2:711-719.
174. Lamb HJ, Beyerbach HP, Ouwerkerk R, et al. Metabolic response of normal human myocardium to high dose atropine dobutamine stress studied by 31P-MRS. *Circulation* 1997; 96:2969-2977.
175. Lamb HJ, Doornbos J, den Hollander JA, et al. Reproducibility of human cardiac 31P-NMR spectroscopy. *NMR Biomed* 1996;9:217-227.
176. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, et al. Visceral fat in hypertension influence on insulin resistance and b-cell Function. *Hypertension* 2004;44:127-133.

177. Perseghin G, Ntali G, De Cobelli F, et al. Abnormal left ventricular energy metabolism in obese men with preserved systolic and diastolic functions is associated with insulin resistance. *Diabetes Care* 2007;30:1520-1527.
178. Taegtmeyer H, Razeghi P. Heart disease in diabetes: resist the beginnings. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:315.
179. Beyerbacht HP, Vliegen HV, Lamb HJ, et al. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy of the human heart: current status and clinical implications. *Eur Heart J* 1996;17:1158-1166.
180. Buchthal SD, den Hollander JA, Merz CN, et al. Abnormal myocardial phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy in women with chest pain but normal coronary angiograms. *N Engl J Med* 2000;342:829-835.
181. Lamb HJ, Beyerbacht HP, van der Laarse A, et al. Diastolic dysfunction in hypertensive heart disease is associated with altered myocardial metabolism. *Circulation* 1999; 99:2261-2267.
182. Diamant M, Lamb HJ, Groeneveld Y, et al. Diastolic dysfunction is associated with altered myocardial metabolism in asymptomatic normotensive patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:328-335.
183. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, et al. *Circulation* 2003;107:3040-3046.
184. Nakae I, Mitsunami K, Omura T, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy can detect creatine depletion associated with the progression of heart failure in cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1587-1593.
185. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42:473-480.
186. Targher G, Bertolini L, Poli F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2005; 54:3541-3546.
187. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115:1343-1351.
188. Camici P, Ferrannini E, Opie LH. Myocardial metabolism in ischemic heart disease: basic principles and application to imaging by positron emission tomography. *Prog Cardiovasc Dis* 1989; 32:217-238.

189. De las Fuentes L, Herrero P, Peterson LR, Kelly DP, Gropler RJ, Davila- Roman VG. Myocardial fatty acid metabolism: independent predictor of left ventricular mass in hypertensive heart disease. *Hypertension* 2003;41: 83-87.
190. Kankaanpää M, Lehto H-R, Parkka JP, et al. Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4689-4695.
191. Taegtmeyer H, McNulty P, Young ME. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part I: general concepts. *Circulation* 2002;105:1727- 1733.
192. Simha V, Szczepaniak LS, Wagner AJ, DePaoli AM, Garg A. Effect of leptin replacement on intrahepatic and intramyocellular lipid content in patients with generalized lipodystrophy. *Diabetes Care*. 2003 Jan;26(1):30-5.
193. Petersen KF, Dufour S, Feng J, et al. Increased prevalence of insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in Asian-Indian men. *Proc Nat Acad Sci USA* 2006;103:18273-18277.
194. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346:1221-1231.
195. Fairweather D, Rose NR. Inflammatory heart disease: a role for cytokines. *Lupus* 2005;14:646-651.
196. Chen C, Jiang J, Lu JM et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010 Jul;299(1):H193-201.
197. Weigand K, Weigand K. Percutaneous liver biopsy: retrospective study over 15 years comparing 287 inpatients with 428 outpatients. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009.
198. Zamcheck N, Klausenstock O. Liver biopsy. II. The risk of needle biopsy. *N. Engl. J. Med.* 1953;249(26):1062–1069.
199. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J. Hepatol.* 1986;2(2):165–173.
200. Azzam RK, Alonso EM, Emerick KM, Whittington PF. Safety of percutaneous liver biopsy in infants less than three months old. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2005;41(5):639–643.
201. Cohen MB, A-Kader HH, Lambers D, Heubi JE. Complications of percutaneous liver biopsy in children. *Gastroenterology*. 1992;102(2):629–632.
202. Lachaux A, Le Gall C, Chambon M, et al. Complications of percutaneous liver biopsy in infants and children. *Eur. J. Pediatr.* 1995;154(8):621–623.

203. Lichtman S, Guzman C, Moore D, Weber JL, Roberts EA. Morbidity after percutaneous liver biopsy. *Arch. Dis. Child.* 1987;62(9):901–904.
204. McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet.* 2002 Jan 5;359(9300):46-7.
205. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care.* 2004 Oct;27(10):2450-7.
206. Petersen KF, Oral EA, Dufour S, et al. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest.* 2002 May;109(10):1345-50
207. A.J. Krentz, *Insulin Resistance.* Blackwell publ, 2002. p.7
208. Nagle CA, Klett EL, Coleman RA. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *J Lipid Res* 2009;50(Suppl.):S74-S79.
209. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008;118:2992-3002; and Nagle CA, Klett EL, Coleman RA. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *J Lipid Res* 2009;50(Suppl.):S74-S79.
210. Petersen KF, Hendler R, Price T1 et al. 3C/31P NMR studies on the mechanism of insulin resistance in obesity. *Diabetes.* 1998 Mar;47(3):381-6.
211. Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med.* 1990 Jan 25;322(4):223-8.
212. Rothman DL, Magnusson I, Cline G, et al. Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Feb 14;92(4):983-7.
213. Bevilacqua M, Dominguez LJ, Barbagallo . Insulin Resistance and the cardiometabolic syndrome in HIV infection. *J Cardiometab Syndr.* 2009 Winter;4(1):40-3.
214. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med.* 2010 Jan 19;152(2):93-100.

- 215.Barbarroja N, López-Pedrerá R, Mayas MD, et al. The obese healthy paradox: is inflammation the answer? *Biochem J*. 2010 Aug 15;430(1):141-9.
- 216.Hanley AJ, Wagenknecht LE, Norris JM, et al. Insulin resistance, beta cell dysfunction and visceral adiposity as predictors of incident diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Family study. *Diabetologia*. 2009 Oct;52(10):2079-86.
- 217.Jensen MD. Role of body fat distribution and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Nov;93(11 Suppl 1):S57-63.
- 218.van Raalte DH, van der Zijl NJ, Diamant M. Pancreatic steatosis in humans: cause or marker of lipotoxicity? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010 Jul;13(4):478-85.
- 219.Hegarty BD, Furler SM, Ye J, Cooney GJ, Kraegen EW. The role of intramuscular lipid in insulin resistance. *Acta Physiol Scand*. 2003 Aug;178(4):373-83.
- 220.Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science*. 2003 May 16;300(5622):1140-2.
- 221.Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes*. 2001 Jul;50(7):1612-7.
- 222.Schrauwen P. High-fat diet, muscular lipotoxicity and insulin resistance. *Proc Nutr Soc*. 2007 Feb;66(1):33-41.
- 223.Pérez-Carreras M, Del Hoyo P, Martín MA, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003 Oct;38(4):999-1007.
- 224.Stein LL, Dong MH, Loomba R. Insulin sensitizers in nonalcoholic fatty liver disease and steatohepatitis: Current status. *Adv Ther*. 2009 Oct;26(10):893-907.
- 225.Targher G, Bertolini L, Rodella S, et al. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Jun;64(6):679-83.
- 226.Ikejima K, Okumura K, Lang T, et al. The role of leptin in progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2005 Oct;33(2):151-4.
- 227.Nobili V, Manco M, Ciampalini P, et al. Leptin, free leptin index, insulin resistance and liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. 2006 Nov;155(5):735-43.

- 228.Lu H, Zeng L, Liang B, Shu X, Xie D. High prevalence of coronary heart disease in type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Med Res*. 2009 Oct;40(7):571-5.
- 229.Stull AJ, Galgani JE, Johnson WD, Cefalu WT. The contribution of race and diabetes status to metabolic flexibility in humans. *Metabolism*. 2010 Sep;59(9):1358-64.
- 230.Bessman SP, Geiger PJ. Transport of energy in muscle: the phosphorylcreatine shuttle. *Science* 1981;211:448-52.
- 231.Ingwall JS. ATP and the heart. Norwell, MA: Kluwer Academic, 2002.
- 232.Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands:the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy.
- 233.Hill MJ, Metcalfe D, McTernan PG. Obesity and diabetes: lipids, 'nowhere to run to'. *Clin Sci (Lond)*. 2009 Jan;116(2):113-23.

7) Δημοσιεύσεις

Από την παρούσα διατριβή έχουν δημοσιευτεί οι ακόλουθες αυτοτελείς πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες:

1. Perseghin G, Bonfanti R, Magni S, Lattuada G, De Cobelli F, Canu T, Esposito A, Scifo P, **Ntali G**, Costantino F, Bosio L, Ragogna F, Del Maschio A, Chiumello G, Luzi L. Insulin resistance and whole body energy homeostasis in obese adolescents with fatty liver disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Oct: 291(4):E697-703.
2. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, **Ntali G**, Esposito A, Burska A, Belloni E, Canu T, Ragogna F, Scifo P, Del Maschio A, Luzi L. Serum resistin and hepatic fat content in nondiabetic individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Dec: 91(12):5122-5.
3. Perseghin G, **Ntali G**, De Cobelli F, Lattuada G, Esposito A, Belloni E, Canu T, Costantino F, Ragogna F, Scifo P, Del Maschio A, Luzi L. Abnormal left ventricular energy metabolism in obese men with preserved systolic and diastolic functions is associated with insulin resistance. *Diabetes Care* 2007 Jun: 30 (6):1520-6.
4. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Esposito A, Belloni E, **Ntali G**, Ragogna F, Canu T, Scifo P, Del Maschio A, Luzi L. Increased mediastinal fat and impaired left ventricular energy metabolism in young men with newly found fatty liver. *Hepatology* 2008 Jan 47(1):51-8.