

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής

Διδακτορική Διατριβή

**«Επίδραση διατροφικών συνηθειών σε δείκτες φλεγμονής στον δεκαετή
επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ»**

Αγαθή Α. Ντζουβάνη
Διαιτολόγος – Διατροφολόγος, MSc



Αθήνα, 2017

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής

Η Διδακτορική Διατριβή εξετάστηκε από την κάτωθι Επιτροπή:

Σμαραγδή Αντωνοπούλου (Επιβλέπουσα, συμβουλευτική επιτροπή)

Καθηγήτρια Βιοχημείας με έμφαση στα λιποειδή, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής,
Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Χρήστος Πίτσας (συμβουλευτική επιτροπή)

Καθηγητής Καρδιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
(Ε.Κ.Π.Α.)

Ελισάβετ Φραγκοπούλου (συμβουλευτική επιτροπή)

Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Επιστήμης
Διαιτολογίας – Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Δημοσθένης Παναγιωτάκος (εξεταστική επιτροπή)

Καθηγητής Βιοστατιστικής – Επιδημιολογίας της Διατροφής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας –
Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ευάγγελος Λυμπερόπουλος (εξεταστική επιτροπή)

Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μερόπη Κοντογιάννη (εξεταστική επιτροπή)

Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Σχολή
Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ρωξάνη Τέντα (εξεταστική επιτροπή)

Επίκουρη Καθηγήτρια της Φυσιολογίας του Ανθρώπου, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας –
Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τζώρτζης Νομικός (εξεταστική επιτροπή)

Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Σχολή
Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα *Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής* του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου δεν υποδηλώνει και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε με χρηματοδότηση από το Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΠΜΣ) του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Σχολής Επιστημών Υγείας & Αγωγής, Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και οικονομική ενίσχυση από την Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης (Ε.Ε.Α.).

Η Αγαθή Α. Ντζουβάνη δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα 087 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

«Σα βγεις στον πηγαιμό για την Ιθάκη,
να εύχεται να 'ναι μακρύς ο δρόμος,
γεμάτος περιπέτειες, γεμάτος γνώσεις.

...

Κι αν πτωχική την βρεις, η Ιθάκη δεν σε γέλασε.
Έτσι σοφός που έγινες, με τόση πείρα,
ήδη θα το κατάλαβες οι Ιθάκες τι σημαίνουν.»

«Ιθάκη», Κ.Π. Καβάφης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή, με θέμα «Επίδραση διατροφικών συνηθειών σε δείκτες φλεγμονής στον δεκαετή επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ», εκπονήθηκε κατόπιν απόφασης της Γενικής Συνέλευσης Ειδικής Σύνθεσης του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (αριθμ. συνεδρ. 99/23-06-2011).

Επιβλέπουσα του ερευνητικού έργου το οποίο μού ανατέθηκε είναι η Σμαραγδή Αντωνοπούλου, Καθηγήτρια Βιοχημείας στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, την οποία ευχαριστώ για την γενική επίβλεψη και την καθοδήγηση κατά την διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής.

Εν συνεχεία, επιθυμώ να ευχαριστήσω τους εθελοντές οι οποίοι ανταποκρίθηκαν στην πρόσκληση συμμετοχής στον δεκαετή επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ και αφιέρωσαν χρόνο από την εργασία και τις προσωπικές τους ασχολίες για να συμμετάσχουν στην μελέτη.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Βιοχημείας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ» για την διεξαγωγή των αιμοληψιών και την διάθεση χώρου του εργαστηρίου για την απομόνωση, επεξεργασία και αποθήκευση των δειγμάτων αίματος.

Οφείλω να αναγνωρίσω την ουσιαστική συμβολή των προπτυχιακών και μεταπτυχιακών φοιτητών του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου στην επικοινωνία με τους εθελοντές και τη συλλογή των δεδομένων της μελέτης μέσω ερωτηματολογίων.

Θέλω να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στην Ελισάβετ Φραγκοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, και στον Τζώρτζη Νομικό, Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για την επίβλεψη των βιοχημικών αναλύσεων, καθώς και για την ηθική στήριξη των προσπαθειών μου.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω τον Δημοσθένη Παναγιωτάκο, Καθηγητή Βιοστατιστικής – Επιδημιολογίας της Διατροφής στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για τις υποδείξεις και τα εύστοχα σχόλια επί της στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων της μελέτης.

Είμαι ευγνώμων στην Κωνσταντία Μπάρδα, υπεύθυνη του Γραφείου Διασύνδεσης και Σταδιοδρομίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, και την Δήμητρα Φραγκογιαννοπούλου, υπεύθυνη του Γραφείου ERASMUS του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για την βοήθεια που μού

παρείχαν κατά την διάρκεια των σπουδών μου μέσω του προγράμματος ERASMUS στο Πανεπιστημιακό Ίδρυμα της πόλης Bergen, Νορβηγία.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω την Ελένη Σοφού, γραμματέα του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για την επιτυχή και έγκαιρη διεκπεραίωση των γραφειοκρατικών υποχρεώσεων κατά την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής.

Επιπροσθέτως, επιθυμώ να εκφράσω την εκτίμησή μου για την Αντιγόνη Τσιαφίτσα, γραμματέα στη Μονάδα Μεταβολισμού του Εργαστηρίου Διατροφής και Κλινικής Διαιτολογίας στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, με την οποία είχα την τύχη να συνεργαστώ μέσω ερευνητικών δραστηριοτήτων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής και την οποία διέκρινα ως επαγγελματία και ως άνθρωπο.

Θέλω να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές του Εργαστηρίου Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών, τους οποίους συναναστράφηκα και με ορισμένους συνεργάστηκα ήδη από την περίοδο εκπόνησης της μεταπτυχιακής διατριβής μου.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου που είναι πάντα παρόντες και πρόθυμοι να με συμβουλεύσουν όταν βρίσκομαι σε αδιέξοδο, καθώς και στα νεότερα μέλη της οικογένειας, τα ανίψια μου, επειδή μού υπενθυμίζουν ότι η ομορφιά της ζωής είναι σεμνή και απέρριτη.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT.....	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	8
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: «Εισαγωγή: Μεταβολικό σύνδρομο, λιποκυτταροκίνες, οξειδωτικό στρες» ...	13
1.1. Μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ): ορισμοί.....	13
1.2. Λιποκυτταροκίνες: ορισμοί και περιγραφή αντιπροσωπευτικών λιποκυτταροκινών	16
1.3. Λιποκυτταροκίνες και Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες	20
1.4. Οξειδωτικό στρες: ορισμός	25
1.5. Οξειδωτικό στρες και Μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: «Εισαγωγή: Μεταβολικό Αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο»	32
2.1. Μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών	32
2.2. Φασματομετρία μάζας.....	33
2.3. Μεταβολικό αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες	35
ΣΚΟΠΟΣ.....	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: «Μεθοδολογία»	44
3.1. Συμμετέχοντες.....	44
3.2. Αξιολόγηση παραγόντων του τρόπου ζωής.....	45

3.3. Κλινική αξιολόγηση	47
3.4. Αιμοληψία και συλλογή ορού/ πλάσματος	48
3.5. Βιοχημικές αναλύσεις	49
3.6. Μέτρηση συγκέντρωσης ινσουλίνης ορού	49
3.6.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης.....	50
3.6.2. Όργανα – Αντιδραστήρια	50
3.6.3. Προετοιμασία διαλυμάτων.....	51
3.6.4. Πειραματική πορεία.....	51
3.6.5. Υπολογισμός.....	52
3.7. Μέτρηση συγκέντρωσης ολικής αντιπυονεκτίνης πλάσματος.....	52
3.7.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης.....	52
3.7.2. Όργανα – Αντιδραστήρια	53
3.7.3. Προετοιμασία διαλυμάτων.....	53
3.7.4. Πειραματική πορεία.....	54
3.7.5. Υπολογισμός.....	55
3.8. Μέτρηση συγκέντρωσης ιντερλευκίνης-6 πλάσματος	55
3.8.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης.....	56
3.8.2. Όργανα – Αντιδραστήρια	56
3.8.3. Προετοιμασία διαλυμάτων.....	57
3.8.4. Πειραματική πορεία.....	58
3.8.5. Υπολογισμός.....	58
3.9. Μέτρηση δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στον ορό	59

3.9.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης.....	59
3.9.2. Όργανα – Αντιδραστήρια	60
3.9.3. Προετοιμασία διαλυμάτων.....	61
3.9.4. Πειραματική πορεία.....	62
3.9.5. Υπολογισμός της δραστηρότητας της GPx3.....	62
3.10. Μέτρηση του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση και του μέγιστου ρυθμού οξείδωσης.....	64
3.10.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης.....	64
3.10.2. Όργανα – Αντιδραστήρια	65
3.10.3. Πειραματική πορεία.....	65
3.10.4. Υπολογισμός του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση και του μέγιστου ρυθμού οξείδωσης	66
3.11. Εκτίμηση νεφρικής λειτουργίας και ινσουλινο-αντίστασης.....	67
3.12. Μεταβολικό αποτύπωμα (Metabolite profiling)	68
3.13. Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου (MΣ).....	72
3.14. Βιοηθική	72
3.15. Στατιστική ανάλυση	73
3.15.1. Μεταβολικό σύνδρομο και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος	73
3.15.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος	76
3.15.3. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα .	78
3.15.4. Αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα.....	80

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: «Αποτελέσματα»	82
---	-----------

4.1. Μεταβολικό σύνδρομο και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος	82
4.1.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά και επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ και του ΜΣ	82
4.1.2. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ	88
4.1.3. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ	89
4.1.4. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και δείκτες οξείδωσης ορού των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ	90
4.1.5. Συσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων που ορίζουν το ΜΣ και παραγόντων που σχετίζονται με το ΜΣ	92
4.1.6. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις της αντιπονεκτίνης και της IL-6 με παραγόντες του ΜΣ	99
4.1.7. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση αντιπονεκτίνης και IL-6 στο πλάσμα	102
4.1.8. Αξιολόγηση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα ως προς την ικανότητα εκτίμησης του ΜΣ μεταξύ των συμμετεχόντων	106
4.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος	107
4.2.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ	107
4.2.2. Ανάλυση σε κύριες συνιστώσες των αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα	110
4.2.3. Συσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων μεταβολιτών και παραγόντων που σχετίζονται με το ΜΣ	113
4.2.4. Συσχέτιση του ΜΣ με τους παράγοντες αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα	116

4.3. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα	118
4.3.1 Διατροφικά πρότυπα βάσει των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα.....	118
4.3.2. Συσχέτιση IL-6 και αντιπονεκτίνης με διατροφικά πρότυπα.....	120
4.4. Αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα.....	121
4.4.1 Διατροφικά πρότυπα βάσει των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα.....	121
4.4.2. Συσχέτιση παραγόντων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα με διατροφικά πρότυπα.....	124
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: «Συζήτηση»	126
5.1. Δείκτες της φλεγμονής (IL-6 και αντιπονεκτίνη) στο πλάσμα και μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ).....	126
5.2. Αποτύπωμα αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος και μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ)	134
5.3. Διατροφικά πρότυπα και συγκεντρώσεις IL-6 και αντιπονεκτίνης στο πλάσμα.....	143
5.4. Διατροφικά πρότυπα και αποτύπωμα αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος ...	149
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	154
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: «Εισαγωγή: Μεταβολικό σύνδρομο, λιποκυτταροκίνες, οξειδωτικό στρες»	154
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: «Εισαγωγή: Μεταβολικό Αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο»	166
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: «Μεθοδολογία»	168
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: «Συζήτηση».....	171
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: «Ερωτηματολόγιο δεκαετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ».....	180
Δημοσιεύσεις, Ομιλίες - Παρουσιάσεις	191

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Στο πρώτο σκέλος της παρούσας διδακτορικής διατριβής, ο σκοπός ήταν να μελετήσουμε την ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και την αντιπονεκτίνη του πλάσματος σε σχέση με 1) το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) και 2) τα διατροφικά πρότυπα όπως αξιολογούνται με μέθοδο *a posteriori*. Στο δεύτερο σκέλος, ο σκοπός ήταν να μελετήσουμε ένα ευρύ φάσμα αμινοξέων και μεταβολιτών αμινοξέων και ενώσεων ενός ατόμου άνθρακα του πλάσματος σε σχέση με 1) το ΜΣ και 2) τα διατροφικά πρότυπα όπως αξιολογούνται με μέθοδο *a posteriori*.

Μεθοδολογία: Η μελέτη είναι συγχρονική. Πραγματοποιήθηκε την περίοδο 2011 - 2012 στην Αθήνα και την ευρύτερη περιοχή του νομού Αττικής. Οι συμμετέχοντες προέρχονται από τον γενικό πληθυσμό ηλικίας άνω των 30 ετών. Στο πρώτο σκέλος συμμετείχαν 159 άνδρες και 125 γυναίκες ηλικίας 53 ± 9 και 52 ± 9 ετών, αντιστοίχως. Στο δεύτερο σκέλος συμμετείχαν 100 άνδρες ($54,6 \pm 8,9$ έτη) που επιλέχθηκαν τυχαία από το σύνολο των ανδρών του πρώτου σκέλους. Μετρήθηκε η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης και IL-6 στο πλάσμα με τη μέθοδο μη ισοτοπικού ανοσολογικού προσδιορισμού ELISA. Μετρήθηκε η συγκέντρωση 20 αμινοξέων και 15 μεταβολιτών που σχετίζονται με τον μεταβολισμό αμινοξέων και ενώσεων ενός ατόμου άνθρακα στο πλάσμα με τις μεθόδους της αέριας και υγρής χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας μάζας (GC-MS/MS και LC-MS/MS). Καταγράφηκαν οι διατροφικές συνήθειες με τη χρήση έγκυρου ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Το ΜΣ ορίστηκε βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI (1^ο σκέλος) και του IDF (1^ο και 2^ο σκέλος). Εφαρμόσαμε την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis, PCA) για την εξαγωγή παραγόντων αμινοξέων/ μεταβολιτών και την αξιολόγηση των διατροφικών προτύπων. **Αποτελέσματα:** Η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αντιστρόφως με το ΜΣ (λόγος πιθανοτήτων, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: 0,829, 0,762- 0,902, IDF, και 0,840, 0,772- 0,914, AHA/NHLBI). Η IL-6 δεν συσχετίστηκε με το ΜΣ. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στην IL-6 ή την αντιπονεκτίνη και τα διατροφικά πρότυπα. Ο παράγοντας BCAA/AAA, που αποτελείται κυρίως από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (branched-chain amino acids, BCAA) και τα αρωματικά αμινοξέα (aromatic amino acids, AAA), συσχετίστηκε με το ΜΣ (λόγος πιθανοτήτων, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: 6,41, 2,43-16,91). Αντίθετα, ο παράγοντας Gln/Gly/Ser/Asn, που αποτελείται κυρίως από την γλουταμίνη (Gln), την γλυκίνη (Gly), την σερίνη (Ser) και την ασπαραγίνη (Asn), συσχετίστηκε αντιστρόφως με το ΜΣ (0,47, 0,23-0,96). Οι παράγοντες BCAA/AAA και Gln/Gly/Ser/Asn συσχετίστηκαν αρνητικά με τα διατροφικά πρότυπα «φρούτα» και «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά,

γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες», αντιστοίχως [B, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: -0,225 (-0,418) – (-0,033) και -0,215 (-0,414) – (-0,015)]. **Συμπεράσματα:** Η αντιπονεκτίνη πλάσματος συσχετίζεται σημαντικά με το ΜΣ, ενώ δεν παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τα διατροφικά πρότυπα της μελέτης. Οι παράγοντες BCAA/AAA και Gln/Gly/Ser/Asn συσχετίζονται σημαντικά με το ΜΣ, αλλά σε αντίθετη κατεύθυνση, και συσχετίζονται σημαντικά με διατροφικά πρότυπα που διαφέρουν ως προς τις αναφερόμενες επιδράσεις τους στην υγεία.

Λέξεις κλειδιά: Ιντερλευκίνη-6, αντιπονεκτίνη, μεταβολίτες, διατροφικά πρότυπα

ABSTRACT

Aims: In the first part of the present thesis, the aim was to study plasma interleukin-6 (IL-6) and adiponectin in association with 1) metabolic syndrome (MetS) and 2) dietary patterns evaluated with a posteriori method. In the second part, the aim was to study an array of plasma amino acids and metabolites related to amino acid and one-carbon metabolism in association with 1) MetS and 2) dietary patterns evaluated with a posteriori method. **Methodology:** This is a cross-sectional study carried out during 2011-2012. Participants were recruited from the general population of 30 years and over living in Athens and the greater area of the Attica province. In the first part, 159 men and 125 women aged 53 ± 9 and 52 ± 9 , respectively, were enrolled. In the second part, 100 men (54.6 ± 8.9 years) were randomly chosen among male participants in the first part of the study. Concentration of total adiponectin and IL-6 in plasma was determined with ELISA method. Concentration of 20 amino acids and 15 metabolites related to amino acid and one-carbon metabolism in plasma was determined with gas and liquid chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS and LC-MS/MS). Dietary habits were evaluated with a validated semi-quantitative food frequency questionnaire. Definition of MetS was based on the AHA/NHLBI (1st part) and IDF (1st and 2nd parts) criteria. Principal components analysis (PCA) was applied to extract population-based amino acid/ metabolite patterns and dietary patterns. **Results:** Adiponectin was inversely associated with MetS (odds ratio, 95% confidence interval: 0.829, 0.762- 0.902, IDF, and 0.840, 0.772- 0.914, AHA/NHLBI). Interleukin-6 was not significantly associated with MetS. Neither adiponectin nor IL-6 were significantly associated with dietary patterns. The BCAA/AAA related metabolite pattern, comprising mostly the branched-chain amino acids (BCAA) and the aromatic amino acids (AAA), was associated with MetS (odds ratio, 95% confidence interval: 6.41, 2.43-16.91). In contrast, the Gln/Gly/Ser/Asn related metabolite pattern, comprising mostly glutamine (Gln), glycine (Gly), serine (Ser) and asparagine (Asn), was inversely associated with MetS (0.47, 0.23-0.96). The BCAA/AAA and Gln/Gly/Ser/Asn related patterns were negatively associated with the dietary patterns “fruits” and “meat, meat products, high fat cheese, eggs, sweeteners, bakery products, fried potatoes”, respectively [B, 95% confidence interval: -0.225, (-0.418) – (-0.033) and -0.215 (-0.414) – (-0.015)]. **Conclusions:** Plasma adiponectin is significantly associated with MetS, whereas there is no significant association with population-based dietary patterns. The BCAA/AAA and Gln/Gly/Ser/Asn related patterns are significantly associated with MetS, but in opposite directions. In addition, the BCAA/AAA and Gln/Gly/Ser/Asn related patterns are

significantly associated with specific dietary patterns evaluated in the present study, which differ on the basis of previously reported health effects.

Keywords: Interleukin-6, adiponectin, metabolites, dietary patterns

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Ορισμοί μεταβολικού συνδρόμου	15
Πίνακας 2. Μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών (metabolomics).....	32
Πίνακας 3. Αμινοξέα και ιόντα αμινοξέων κατά τον προσδιορισμό τους με την μέθοδο GC-MS/MS	35
Πίνακας 4. Εξισώσεις υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR), CKD-EPI	68
Πίνακας 5. Αμινοξέα και μεταβολίτες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της διπλής φασματομετρίας μάζας, βάσει μεταβολικής πορείας και ενδεικτικών περιπτώσεων αξιολόγησής τους	70
Πίνακας 6. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF).....	83
Πίνακας 7. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)	84
Πίνακας 8. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF).....	88
Πίνακας 9. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)	89
Πίνακας 10. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)	90
Πίνακας 11. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)	90
Πίνακας 12. Δείκτες φλεγμονής στο πλάσμα και δείκτες οξειδωσης στον ορό των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)	91
Πίνακας 13. Δείκτες φλεγμονής στο πλάσμα και δείκτες οξειδωσης στον ορό των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)	91

Πίνακας 14. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες	95
Πίνακας 15. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία	95
Πίνακας 16. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	97
Πίνακας 17. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία	97
Πίνακας 18. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις μεταξύ αντιπνεκτίνης και παραγόντων του ΜΣ	100
Πίνακας 19. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις μεταξύ IL-6 και παραγόντων του ΜΣ	101
Πίνακας 20. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση αντιπνεκτίνης στο πλάσμα	104
Πίνακας 21. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση IL-6 στο πλάσμα	105
Πίνακας 22. Συγκέντρωση αντιπνεκτίνης στο πλάσμα και ικανότητα εκτίμησης του ΜΣ	106
Πίνακας 23. Παράγοντες του τρόπου ζωής, κλινικοί και βιοχημικοί δείκτες των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ (IDF)	108
Πίνακας 24. Συγκεντρώσεις ελεύθερων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ (IDF)	109
Πίνακας 25. Παράγοντες αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα	112
Πίνακας 26. Συσχετίσεις των παραγόντων μεταβολιτών που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με παράγοντες του ΜΣ	115
Πίνακας 27. Συσχετίσεις των παραγόντων μεταβολιτών που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με δείκτες φλεγμονής και δείκτες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας	115

Πίνακας 28. Συσχέτιση του ΜΣ (IDF) με τους παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών στο πλάσμα	117
Πίνακας 29. Διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης (n=284)	119
Πίνακας 30. Συσχέτιση της IL-6 με διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης (n=284).....	120
Πίνακας 31. Συσχέτιση της αντιπονεκτίνης με διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης (n=284)	121
Πίνακας 32. Διατροφικά πρότυπα στο δείγμα ανδρών του 2 ^{ου} σκέλους της μελέτης (n=100).	123
Πίνακας 33. Συσχέτιση παραγόντων αμινοξέων/ μεταβολιτών με διατροφικά πρότυπα στο δείγμα ανδρών του 2 ^{ου} σκέλους της μελέτης (n=100).....	125

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Αρχή λειτουργίας της διπλής φασματοφωτομετρίας μάζας	34
Σχήμα 2. Διάγραμμα ροής	45
Σχήμα 3. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) του NADPH σε μήκος κύματος 340 nm (A_{340}) συναρτήσει του χρόνου (t, min), $t = f(A_{340})$	63
Σχήμα 4. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) των λιποειδικών υπεροξειδίων του ορού σε μήκος κύματος 245 nm (A_{245}) συναρτήσει του χρόνου (t, min), $t = f(A_{245})$	67
Σχήμα 5. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ και του ίδιου του ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF και του AHA/NHLBI	85
Σχήμα 6. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ στους συμμετέχοντες με ΜΣ (IDF) και στους μεταβολικά υγιείς	86
Σχήμα 7. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ στους συμμετέχοντες με ΜΣ (AHA/NHLBI) και στους μεταβολικά υγιείς	87
Σχήμα 8. Γραφική αναπαράσταση των αδρών συσχετίσεων και των συσχετίσεων με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία ανάμεσα στους παραγόντες του ΜΣ και παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες	96
Σχήμα 9. Γραφική αναπαράσταση των αδρών συσχετίσεων και των συσχετίσεων με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία ανάμεσα στους παραγόντες του ΜΣ και τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	98
Σχήμα 10. Μέση διαφορά μεταξύ των ανδρών με ΜΣ (IDF) και των μεταβολικά υγιών ως προς τα αμινοξέα και τους μεταβολίτες πλάσματος.....	110
Σχήμα 11. Γραφική αναπαράσταση της σύνθεσης των παραγόντων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών βάσει του συντελεστή συσχέτισης	113

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Αγγλικοί όροι

AAAs	Aromatic Amino Acids
AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
AdipoR1	Adiponectin Receptor 1
AdipoR2	Adiponectin Receptor 2
AHA/NHLBI	American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute
Ala	Alanine
ALT/GPT	Alanine aminotransferase/ Glutamate Pyruvate Transaminase
AMPK	AMP-activated protein kinase
AOPP	Advanced Oxidation Protein Products
APAO	Anteroposterior Diameter of infra-renal Abdominal Aorta
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
Asp	Aspartic acid
ASP	Acylation Stimulating Protein
AST/GOT	Aspartate aminotransferase/ Glutamate Oxaloacetate Transaminase
AUC	Area Under the Curve
BCAAs	Branched-Chain Amino Acids
Bet	Betaine
BMI	Body Mass Index
Chol	Choline
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
Creat	Creatinine
CRP	C-Reactive Protein
Cysta	Cystathionine
DBP	Diastolic Blood Pressure
DMG	Dimethylglycine
EDTA	Ethylene-Diamine-Tetra-acetic Acid
Egfr	estimated Glomerular Filtration Rate
EGIR	European Group for Study of Insulin Resistance
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
8-epi-PGF2 α	8-epi-prostaglandin F2 α
FFQ	Food Frequency Questionnaire

FHS	Framingham Heart Study
FMI	Fat Mass Index
FOX	Ferrous Oxidation-Xylenol
γ-GT	gamma Glutamyl-transferase
GC	Gas Chromatography
Gln	Glutamine
Glu	Glutamic acid
Gly	Glycine
GPx3	Glutathione Peroxidase 3
GR	Glutathione Reductase
GSH	Reduced Glutathione
GSSG	Glutathione disulphide
HbA1c	Haemoglobin A1c
HDL	High Density Lipoprotein
HDL-C	HDL-Cholesterol
HETEs	HydroxyEicosaTetraEnoic acids
His	Histidine
HMW	High Molecular Weight
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance index
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IDF	International Diabetes Federation
IFG	Impaired Fasting Glucose
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IL-6	Interleukin 6
Ile	Isoleucine
IMA	Ischemia Modified Albumin
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
Kyn	Kynurenine
L/A	Leptin-to-Adiponectin ratio
LC	Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoprotein
Leu	Leucine
LMW	Low Molecular Weight
Lys	Lysine
MDC	Malmö Diet and Cancer Study

MedDietScore	Mediterranean Diet Score
Met	Methionine
MET	Metabolic Equivalent
MMA	Methylmalonic Acid
MMW	Medium Molecular Weight
MS	Mass Spectrometry
MS-MS	tandem Mass Spectrometry
m/z	molecular mass to charge ratio
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NCEP ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
NF-κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
OR	Odds Ratio
Orn	Ornithine
oxLDL	oxidized Low Density Lipoprotein
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor 1
PCA	Principal Components Analysis
Phe	Phenylalanine
PPAR-α	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha
Pro	Proline
QUICKI	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROS/ RNS	Reactive Oxygen/ Nitrogen Species
SBP	Systolic Blood Pressure
SDMA	Symmetric Dimethylarginine
Ser	Serine
sGP130	soluble glycoprotein 130
sIL-6r	soluble IL-6 receptor
sOB-R	soluble receptor of leptin
SOCS3	Suppressor of Cytokine Signaling 3
TBARS	ThioBarbituric Acid Reactive Substances
T2D	Type 2 Diabetes Mellitus
TG	Triglycerides
TGF-β	Transforming Growth Factor beta
tHcy	total homocysteine

Thr	Threonine
TMAO	Trimethylamine N-oxide
TML	Trimethyllysine
TNF-α	Tumour Necrosis Factor alpha
TRAP	Total Radical-trapping Antioxidant Parameter
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosine
Val	Valine
VAT	Visceral Adipose Tissue
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
WC	Waist Circumference
WHR	Waist-to-Hip Ratio

Ελληνικοί όροι

ΔΑΠ	Διαστολική Αρτηριακή Πίεση
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ΜΣ	Μεταβολικό Σύνδρομο
ΠΙ	Περιφέρεια Ισχίων
ΠΜ	Περιφέρεια Μέσης
Π.Ο.Υ.	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΣΑΠ	Συστολική Αρτηριακή Πίεση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: «Εισαγωγή: Μεταβολικό σύνδρομο, λιποκυτταροκίνες, οξειδωτικό στρες»

1.1. Μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ): ορισμοί

Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) αποτελείται από παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Αυτοί οι παράγοντες είναι η κοιλιακή παχυσαρκία (αξιολογείται συνήθως μέσω μέτρησης της περιφέρειας μέσης), η δυσλιπιδαιμία (υπερτριγλυκεριδαιμία και/ή χαμηλές συγκεντρώσεις HDL-χοληστερόλης στο αίμα), η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (ινσουλινο-αντίσταση, υψηλές συγκεντρώσεις ινσουλίνης στο αίμα και/ή υπεργλυκαιμία) και η υψηλή αρτηριακή πίεση.

Αρκετοί διεθνείς οργανισμοί έχουν διατυπώσει κριτήρια με σκοπό τον ορισμό του ΜΣ (πίνακας 1). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ., 1998), η ευρωπαϊκή ομάδα για την μελέτη της ινσουλινο-αντίστασης (European Group for Study of Insulin Resistance, EGIR, 1999) και η Αμερικανική Εταιρεία Κλινικών Ενδοκρινολόγων (American Association of Clinical Endocrinologists, AACE, 2003) έχουν επισημάνει την ινσουλινο-αντίσταση ως αιτιολογικό παράγοντα του ΜΣ και ως απαραίτητη προϋπόθεση για τον ορισμό του ΜΣ. Η ομάδα θεραπευτικής αντιμετώπισης ενηλίκων του εθνικού προγράμματος εκπαίδευσης για την χοληστερόλη (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, NCEP ATP III, 2001) έχει θέσει ως στόχο την ταυτοποίηση εκείνων των ανθρώπων που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου λόγω αθηροσκλήρωσης, με σκοπό την εφαρμογή προγράμματος αλλαγής του τρόπου ζωής. Η ομάδα εργασίας της διεθνούς ομοσπονδίας για τον διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF, 2005) έχει επισημάνει την ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην κοιλιακή παχυσαρκία και την ινσουλινο-αντίσταση και έχει συμπεριλάβει την κοιλιακή παχυσαρκία ως απαραίτητη προϋπόθεση για τον ορισμό του ΜΣ. Η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute, AHA/NHLBI, 2005) έχει τροποποιήσει τα κριτήρια του NCEP ATP III και τα έχει εναρμονίσει σε μεγάλο βαθμό με τα κριτήρια του IDF. Σε αντίθεση με τους άλλους ορισμούς του ΜΣ, οι ορισμοί του NCEP ATP III και του AHA/NHLBI δεν εικάζουν σχετικά με τους μηχανισμούς παθογένεσης του ΜΣ, όπως η παρουσία κοιλιακής παχυσαρκίας και/ή ινσουλινο-αντίστασης (Grundey et al., 2005). Τέλος, η ομάδα εργασίας της διεθνούς ομοσπονδίας για τον διαβήτη (IDF) σε συνεργασία με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA/NHLBI) έχουν

εναρμονίσει τα κριτήριά τους για τον ορισμό του ΜΣ και έχουν συμφωνήσει στην αφαίρεση της κοιλιακής παχυσαρκίας ως απαραίτητη προϋπόθεση για τον ορισμό του ΜΣ (Alberti et al., 2009).

Πίνακας 1. Ορισμοί μεταβολικού συνδρόμου

Κλινικός παράγοντας	Π.Ο.Υ. (1998)	EGIR (1999)	NCEP ATP III (2001)	AACE (2003)	IDF (2005)	AHA/NHLBI (2005)	Harmonization (2009)
Ινσουλινο-αντίσταση	IGT, IFG, T2D ή χαμηλή ινσουλινο-ευαισθησία* + 2 από τους παρακάτω παράγοντες	Ινσουλίνη πλάσματος >75 ^ο εκατοστημόριο + 2 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο, 3 από τους παρακάτω παράγοντες	IGT ή IFG + 1 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο	Κανένα κριτήριο, 3 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο, 3 από τους παρακάτω παράγοντες
Παχυσαρκία	Άνδρες: WHR> 0.90 Γυναίκες: WHR> 0.85 και/ή BMI>30 kg/m ²	Άνδρες: WC≥ 94cm Γυναίκες: WC≥ 80 cm	Άνδρες: WC≥ 102cm Γυναίκες: WC≥ 88 cm	BMI≥ 25 kg/m ²	Άνδρες: WC≥ 94 cm Γυναίκες: WC≥ 80 cm (για εθνότητες ευρωπαϊκής προέλευσης) + 2 από τους παρακάτω παράγοντες	Άνδρες: WC≥ 102 cm Γυναίκες: WC≥ 88 cm	κριτήρια του IDF ή του AHA/NHLBI (για εθνότητες ευρωπαϊκής προέλευσης)
Δυσλιπιδαιμία	TG≥ 150 mg/dL και/ή Άνδρες: HDL-C< 35 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 39 mg/dL	TG≥ 150 mg/dL και/ή HDL-C< 39 mg/dL	TG≥ 150 mg/dL Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL	TG≥ 150 mg/dL και Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL	TG≥ 150 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx) Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	TG≥ 150 mg/dL ή θεραπευτική αγωγή (Rx) Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή	TG≥ 150 mg/dL ή θεραπευτική αγωγή (Rx) Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή
Υπεργλυκαιμία	IGT, IFG ή T2D	IGT ή IFG (όχι T2D)	> 110 mg/dL ή T2D	IGT ή IFG (όχι T2D)	≥ 100 mg/dL ή T2D	≥ 100 mg/dL ή T2D	≥ 100 mg/dL ή T2D
Υπέρταση	≥140/90 mm Hg	≥ 140/90 mm Hg ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	≥ 130/85 mm Hg	≥ 130/85 mm Hg	≥ 130 mm Hg SBP ή ≥ 85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	≥ 130 mm Hg SBP ή ≥ 85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	≥ 130 mm Hg SBP ή ≥ 85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)
Άλλο	Μικροαλβουμουρία	-	-	Παράγοντες ινσουλινο-αντίστασης**	-	-	

IGT, Impaired Glucose Tolerance; IFG, Impaired Fasting Glucose; T2D, Type 2 Diabetes Mellitus; WHR, Waist-to-Hip Ratio; BMI, Body Mass Index; TG, Triglycerides; HDL-C, HDL-Cholesterol; WC, Waist Circumference; SBP, Systolic Blood Pressure; DBP, Diastolic Blood Pressure;* Ινσουλινο-ευαισθησία όπως αξιολογείται σε συνθήκες υπερινσουλιναϊμίας – ευγλυκαιμίας; **Οικογενειακό ιστορικό T2D, σύνδρομοπολυκυστικών ωοθηκών, καθιστικός τρόπος ζωής, προχωρημένη ηλικία, εθνότητες με αυξημένη προδιάθεση για εμφάνιση T2D

πηγές: Grundy et al., 2005, Alberti et al., 2009

1.2. Λιποκυτταροκίνες: ορισμοί και περιγραφή αντιπροσωπευτικών λιποκυτταροκινών

Ως λιποκυτταροκίνες ορίζονται οι πρωτεΐνες οι οποίες συντίθενται και εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό (Hutley & Prins, 2005). Ωστόσο, σύμφωνα με τους Trayhurn και Wood (2004), ως λιποκυτταροκίνες ορίζονται οι πρωτεΐνες που συντίθενται και εκκρίνονται αποκλειστικά από τα λιποκύτταρα (Trayhurn & Wood, 2004). Στις λιποκυτταροκίνες ανήκουν: κυτταροκίνες (π.χ. TNF- α , IL-6), αυξητικοί παράγοντες (π.χ. TGF- β), πρωτεΐνες του συστήματος συμπληρώματος (π.χ. αντιψίνη, πρωτεΐνη ενεργοποίησης της ακυλίωσης-ASP), πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αιμόσταση (π.χ. PAI-1, ιστικός παράγοντας), στη ρύθμιση της πίεσης του αίματος (αγγειοτενσινογόνο), στον μεταβολισμό των λιπιδίων (π.χ. πρωτεΐνη δέσμευσης της ρετινόλης, πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης), στην ομοιοστασία της γλυκόζης (π.χ. αντιπονεκτίνη, ρεζιστίνη), στην αγγειογένεση (π.χ. VEGF), στην οξεία φάση και στην απάντηση στο στρες (π.χ. απογλοβίνη, μεταλλοθειονίνη). Επιπρόσθετα, υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των λιποκυττάρων και του εγκεφάλου μέσω της λεπτίνης και του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (Rayner & Trayhurn, 2001).

Ορισμένες από τις λιποκυτταροκίνες που έχουν ερευνηθεί επισταμένως σε σχέση με την παχυσαρκία, την φλεγμονή και την ινσουλινο-αντίσταση είναι ο παράγοντας νέκρωσης όγκων- α (tumour necrosis factor alpha, TNF- α), η ιντερλευκίνη 6 (interleukin 6, IL-6), η αντιπονεκτίνη, η λεπτίνη και η ρεζιστίνη.

Ο TNF- α εκφράζεται ως μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη της κυτταρικής επιφάνειας με μοριακή μάζα 26 kDa που διασπάται σε βιολογικά δραστική διαλυτή πρωτεΐνη με μοριακή μάζα 17 kDa (Moller, 2000). Αναγνωρίστηκε αρχικά ως μία προφλεγμονώδης κυτταροκίνη που παράγεται από τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα (Kriegler et al., 1988). Είναι η πρώτη φλεγμονώδης κυτταροκίνη για την οποία βρέθηκε ότι εκφράζεται και εκκρίνεται από τον λιπώδη ιστό (Hotamisligil et al., 1993) όπου δρα κυρίως με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο (Prins et al., 1997, Corrack, 2001) ρυθμίζοντας την σύνθεση και έκκριση άλλων λιποκυτταροκινών (Corrack, 2001). Επίσης, ο TNF- α είναι η πρώτη κυτταροκίνη που αναγνωρίστηκε ότι επάγει την ινσουλινο-αντίσταση (Moller, 2000) και θεωρήθηκε ως ο συνδετικός κρίκος ανάμεσα στην παχυσαρκία και την ινσουλινο-αντίσταση (Hotamisligil et al., 1993). Η έκφραση του TNF- α στον λιπώδη ιστό του ανθρώπου συσχετίζεται με τον δείκτη μάζας σώματος, το ποσοστό ολικού λίπους στο σώμα και την υπερινσουλιναίμια, ενώ η απώλεια βάρους μειώνει τα επίπεδα TNF- α (Jellema et al., 2004). Στη μελέτη Framingham

Offspring, η συγκέντρωση του TNF-α στο πλάσμα νηστείας συσχετίζεται με την ινσουλινο-αντίσταση (Hivert et al., 2008). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα TNF-α στην παχυσαρκία καταστέλλουν την έκφραση της αντιγονεκτίνης στον λιπώδη ιστό με αυτοκρινείς και παρακρινείς μηχανισμούς επιδρώντας αρνητικά στη συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στην κυκλοφορία και οδηγούν σε μείωση της ινσουλινο-ευαισθησίας (Kappes & Loffler, 2000, Fasshauer et al., 2002).

Η αντιγονεκτίνη είναι μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 244 αμινοξέα και εκφράζεται κυρίως στα ώριμα λιποκύτταρα του λιπώδους ιστού (adipose most abundant gene transcript 1 – apM1) (Halleux et al, 2001, Lago et al., 2007). Η συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στο πλάσμα κυμαίνεται μεταξύ 5 και 30 µg/mL σε ανθρώπους με φυσιολογικό σωματικό βάρος (Bastard et al., 2006). Επίσης, η συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στην κυκλοφορία εξαρτάται από το φύλο, με τις γυναίκες να εμφανίζουν υψηλότερη συγκέντρωση. Η αντιγονεκτίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα ως τριμερές χαμηλού μοριακού βάρους, εξαμερές μεσαίου μοριακού βάρους και ως πολυμερές (12 – 18 μόρια) υψηλού μοριακού βάρους (HMW), οι οποίες θεωρείται ότι διαφέρουν ως προς την βιολογική τους δράση (Waki et al., 2003, Wang et al., 2006). Η αντιγονεκτίνη υψηλού μοριακού βάρους (HMW) θεωρείται ως η βιολογικά δραστική μορφή αυτής της αντιγονεκτίνης (Rajvani et al., 2004) και συσχετίζεται ισχυρότερα με την ινσουλινο-αντίσταση και με χαρακτηριστικά του ΜΣ σε σύγκριση με την ολική αντιγονεκτίνη (Lara-Castro et al., 2006, Hara et al., 2006, von Eynatten et al., 2007). Η αντιγονεκτίνη ενεργοποιεί την οξείδωση των λιπαρών οξέων στον σκελετικό μυϊκό ιστό και δρα συνεργιστικά με την ινσουλίνη για να αναστείλει την παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ (Berg et al., 2001, Fruebis et al., 2001). Η μεταγωγή του σήματος της αντιγονεκτίνης συντελείται μέσω των υποδοχέων AdipoR1 και AdipoR2 (Lago et al., 2007). Ο υποδοχέας AdipoR1 ενεργοποιεί κυρίως οδούς όπου συμμετέχει η πρωτεϊνική κινάση εξαρτώμενη από το AMP (AMPK) μέσω της οποίας αναστέλλει την ηπατική γλυκονεογένεση και ενεργοποιεί την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Ο υποδοχέας AdipoR2 ενεργοποιεί κυρίως οδούς όπου συμμετέχει ο PPAR-α μέσω του οποίου ενεργοποιεί την οξείδωση των λιπαρών οξέων και αναστέλλει τους μηχανισμούς οξειδωτικού στρες και φλεγμονής (Capeau, 2007, Yamauchi et al., 2007). Αναστέλλει τους μηχανισμούς οξειδωτικού στρες και φλεγμονής (Capeau, 2007, Yamauchi et al., 2007).

Η IL-6 του ανθρώπου είναι μία πολυπεπτιδική αλυσίδα με 185 αμινοξέα και μοριακή μάζα που κυμαίνεται μεταξύ 21 και 28 kDa ανάλογα με τον βαθμό γλυκοζυλίωσης και φωσφορυλίωσης (May et al., 1988a, May et al., 1988b). Θεωρείται ως ο κύριος μεσολαβητής

της φλεγμονής που διαθέτει τόσο προφλεγμονώδεις όσο και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Tilg et al., 1997, Xing et al., 1998). Το 15-35% της συνολικής συγκέντρωσης της IL-6 στην κυκλοφορία εκτιμάται ότι προέρχεται από τον λιπώδη ιστό (Mohamed-Ali et al., 1997) καθιστώντας αυτήν την πρωτεΐνη μία λιποκυτταροκίνη. Τα λιποκύτταρα παράγουν και εκκρίνουν IL-6 (Bastard et al., 2000, Sopasakis et al., 2004), αλλά συνεισφέρουν ένα μικρό ποσοστό της συνολικής IL-6 που εκκρίνεται από τον λιπώδη ιστό (Fain et al., 2004). Μάλιστα, η μεγαλύτερη ποσότητα IL-6 στον λιπώδη ιστό δεν παράγεται από τα ώριμα λιποκύτταρα, αλλά από τα στρωματικά κύτταρα των αγγείων, όπως τα προλιποκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα/μακροφάγα (Fried et al., 1998, Fain et al., 2004). Μία από τις κύριες δράσεις της IL-6 είναι η επαγωγή της παραγωγής της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (C-Reactive Protein, CRP) από το ήπαρ (Ridker, 2003). Το περιεχόμενο του λιπώδους ιστού σε IL-6 συνδέεται σε σημαντικό βαθμό με τη συγκέντρωση τόσο της IL-6 όσο και της CRP στην κυκλοφορία (Maachi et al., 2004). Η IL-6 δρα απευθείας στα λιποκύτταρα και τα ηπατοκύτταρα όπου ελέγχει την μεταγωγή σήματος της ινσουλίνης (Senn et al., 2002, Rotter et al., 2003). Η IL-6 μειώνει τις επαγόμενες από την ινσουλίνη δράσεις σχετιζόμενες με την σύνθεση του γλυκογόνου στο ήπαρ (Senn et al., 2002, Klover et al., 2003) και την πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα και τον μυϊκό ιστό (Rotter et al., 2003). Η IL-6 μειώνει την μεταγωγή σήματος της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς μέσω μείωσης της έκφρασης των μορίων που συμμετέχουν σε αυτήν και αναστολής του παράγοντα SOCS3 (Senn et al., 2003). Τέλος, η IL-6 μπορεί να επάγει την ινσουλινο-αντίσταση, τουλάχιστον εν μέρει, μέσω μείωσης της έκκρισης της αντιπονεκτίνης (Fasshauer et al., 2003).

Η CRP είναι μία πρωτεΐνη οξείας φάσης που παράγεται κυρίως από το ήπαρ ως απάντηση στην IL-6 (Shoelson et al., 2007), αλλά μπορεί να παραχθεί και από εξωηπατικούς ιστούς. Για παράδειγμα, τα λιποκύτταρα που έχουν απομονωθεί από τον λιπώδη ιστό του ανθρώπου παράγουν CRP ως απάντηση σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (Calabro et al., 2005). Τα πολύ χαμηλά επίπεδα έκφρασης του mRNA της CRP στα λιποκύτταρα δείχνουν ότι αυτά τα κύτταρα δεν συνεισφέρουν σημαντικά ποσά της πρωτεΐνης στην κυκλοφορία. Παρόλα αυτά, η IL-6 είναι σημαντική πρωτεΐνη για τη ρύθμιση της παραγωγής της CRP από το ήπαρ και η έκκρισή της από τον λιπώδη ιστό είναι αυξημένη σε περιπτώσεις παχυσαρκίας, όπως αναφέρθηκε παραπάνω (Heinrich et al., 1990, Yudkin et al., 2000). Επομένως, ο λιπώδης ιστός μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση της συγκέντρωσης της CRP στην κυκλοφορία σε περιπτώσεις παχυσαρκίας μέσω της αυξημένης σύνθεσης και έκκρισης της IL-6 από τα

λιποκύτταρα. Η CRP έχει επανειλημμένως χρησιμοποιηθεί ως δείκτης φλεγμονής στην αθηροσκλήρωση και τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Ridker et al., 2000, Lind, 2003). Η συγκέντρωση της CRP στην κυκλοφορία αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση του δείκτη μάζας σώματος (Visser et al., 1999, Pannacciulli et al., 2001, Bulló et al., 2003) και συσχετίζεται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη, ενώ μειώνεται με την απώλεια βάρους (Tchernof et al., 2002). Επιπλέον, η συγκέντρωση της CRP στην κυκλοφορία συσχετίζεται με την ινσουλινο-αντίσταση (Pannacciulli et al., 2001, Müller et al., 2002, Leinonen et al., 2003, Festa et al., 2006), είναι υψηλότερη σε παχύσαρκους με ινσουλινο-αντίσταση, ενώ μειώνεται με την απώλεια βάρους και τη βελτίωση της ινσουλινο-ευαισθησίας (McLaughlin et al., 2002, Kopp et al., 2003).

Η λεπτίνη είναι μία ορμόνη μάζας 16-kDa η οποία εκφράζεται και παράγεται κυρίως από τα ώριμα λιποκύτταρα του λιπώδους ιστού (Ahima & Flier, 2000). Η συγκέντρωση της λεπτίνης στην κυκλοφορία και η μάζα του λιπώδους ιστού μεταβάλλονται προς την ίδια κατεύθυνση (Becker et al., 1995). Η συγκέντρωση της λεπτίνης στην κυκλοφορία (Considine et al., 1996) και η έκφραση του mRNA της λεπτίνης στον λιπώδη ιστό (Vidal et al., 1996) συσχετίζονται ισχυρά με τον δείκτη μάζας σώματος και την λιπώδη μάζα σε περιπτώσεις παχυσαρκίας. Η υπερλεπτιναιμία, που χαρακτηρίζει την παχυσαρκία, συνδέεται με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου (Kim et al., 2008) και ένας νέος προτεινόμενος δείκτης αθηροσκλήρωσης είναι ο λόγος της συγκέντρωσης λεπτίνης προς τη συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στο πλάσμα (Teta et al., 2008). Οι υποδοχείς λεπτίνης εκφράζονται τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα όσο και σε περιφερικούς ιστούς (Björbaek & Kahn, 2004). Επίσης, υποδοχείς λεπτίνης εντοπίζονται στα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα, τα B- και T-λεμφοκύτταρα (Busso et al., 2002). Οι υποδοχείς λεπτίνης επάγουν μηχανισμούς μεταγωγής σήματος παρόμοιους με αυτούς που ενεργοποιούνται από τους υποδοχείς της IL-6 (Tartaglia et al., 1995, Sánchez-Margalet et al., 2003).

Η κύρια πηγή ρεζιστίνης στους ανθρώπους είναι τα μονοκύτταρα του αίματος και τα μακροφάγα (Lehrke et al., 2004), ενώ η έκφραση του mRNA της ρεζιστίνης είναι σχετικά χαμηλή στα λιποκύτταρα (Yang et al., 2003). Φαίνεται ότι διαθέτει προφλεγμονώδεις ιδιότητες και λαμβάνει μέρος σε φλεγμονώδεις διεργασίες (Kusminski et al., 2005). Ενεργοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ, ο οποίος προάγει τη σύνθεση άλλων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF-α και η IL-6, καθώς και μορίων προσκόλλησης, όπως ο ICAM-1 και ο VCAM-1 (Kaser et al., 2003, Bokarewa et al., 2005, Silswal et al., 2005). Σύμφωνα με μελέτες σε

ανθρώπους, οι παχύσαρκοι έχουν υψηλότερη συγκέντρωση ρεζιστίνης σε σύγκριση με τους ανθρώπους φυσιολογικού σωματικού βάρους (Vendrell et al., 2004, Schäffler et al., 2004, Degawa-Yamauchi et al., 2003) και η συγκέντρωση της ρεζιστίνης συσχετίζεται θετικά με τον δείκτη μάζας σώματος και το σπλαχνικό λίπος (Azuma et al., 2003, Degawa-Yamauchi et al., 2003, Yannakoulia et al., 2003, Vozarova de Courten et al., 2004). Από την άλλη μεριά, υπάρχουν μελέτες σε ανθρώπους που δεν έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ρεζιστίνης στον ορό ή το πλάσμα και δεικτών παχυσαρκίας (Lee et al., 2003, Silha et al., 2003, Heilbronn et al., 2004). Τέλος, μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση ρεζιστίνης συσχετίζεται θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση in vivo (Silha et al., 2003) και in vitro (Smith et al., 2003) και η συγκέντρωση της ρεζιστίνης στον ορό αυξάνεται κατά 20% (McTernan et al., 2003, Fujinami et al., 2004) σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

1.3. Λιποκυτταροκίνες και Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες

Αρκετές συγχρονικές και προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν στη διάρκεια της τελευταίας πενταετίας (2011-2016), έχουν ερευνήσει την σχέση του ΜΣ με προφλεγμονώδεις ή αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και λιποκυτταροκίνες.

Αναφορικά με τις συγχρονικές μελέτες, ο επιπολασμός του ΜΣ βασίστηκε κυρίως στους ορισμούς του NCEP ATP III (2001) (Koh et al., 2011, den Engelsen et al., 2012, Weiss et al., 2013, Marques-Vidal et al., 2013), του IDF (2005) (Lau & Muniandy, 2011, Koh et al., 2011, Gauthier et al., 2012, Stelzer et al., 2012, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015), του AHA/NHLBI (2005) (Yoon et al., 2011, Voils & Cooper-DeHoff, 2014) ή διάφορες τροποποιήσεις του ορισμού του NCEP ATP III (Yu et al., 2011, Chu et al., 2012, Bae et al., 2013), ενώ μία άλλη μελέτη όρισε την παρουσία ΜΣ βάσει του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) και την παρουσία καρδιομεταβολικών διαταραχών βάσει των επιμέρους παραγόντων του ΜΣ (Phillips & Perry, 2013). Η μελέτη του ΜΣ πραγματοποιήθηκε κυρίως σε πληθυσμούς ευρωπαϊκής (den Engelsen et al., 2012, Gauthier et al., 2012, Stelzer et al., 2012, Weiss et al., 2013, Marques-Vidal et al., 2013, Phillips & Perry, 2013, Voils & Cooper-DeHoff, 2014) ή ασιατικής προέλευσης (Lau & Muniandy, 2011, Yoon et al., 2011, Koh et al., 2011, Yu et al., 2011, Chu et al., 2012, Bae et al., 2013, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015) και όλοι οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε φάση νηστείας (8-12 ώρες νηστείας) και μετρήθηκαν οι βιοχημικοί

παράγοντες του ΜΣ, καθώς και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες σε δείγματα πλάματος ή ορού. Παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στις κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες, τους παράγοντες του ΜΣ και το ΜΣ.

Η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε θετικά με την HDL-χοληστερόλη (Lau & Muniandy, 2011 Koh et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014) και δείκτες ινσουλινο-ευαισθησίας (π.χ. quantitative insulin sensitivity check index, QUICKI) (Lau & Muniandy, 2011), ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με τον ΔΜΣ (Lau & Muniandy, 2011, Koh et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014), την περιφέρεια μέσης (Lau & Muniandy, 2011, Koh et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014), τον λόγο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων (Lau & Muniandy, 2011), τη συστολική αρτηριακή πίεση (Abu-Farha et al., 2014), τα τριγλυκερίδια (Lau & Muniandy, 2011, Koh et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014), τη γλυκόζη (Lau & Muniandy, 2011, Abu-Farha et al., 2014), την ινσουλίνη (Lau & Muniandy, 2011), τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance index) (Lau & Muniandy, 2011, Abu-Farha et al., 2014) και τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης στο ολικό αίμα (HbA1c) (Lau & Muniandy, 2011, Abu-Farha et al., 2014). Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη υψηλού μοριακού βάρους (high molecular weight, HMW) συσχετίστηκε θετικά με την HDL-χοληστερόλη, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με τον ΔΜΣ, τον δείκτη λιπώδους μάζας (fat mass index, FMI), το ποσοστό λίπους στον κορμό, την περιφέρεια μέσης, τα τριγλυκερίδια, την ινσουλίνη και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) (Yu et al., 2011). Παρομοίως, ο διαλυτός υποδοχέας της λεπτίνης (soluble receptor of leptin, sOB-R), ο οποίος είναι η κύρια πρωτεΐνη δέσμευσης της λεπτίνης στο ανθρώπινο αίμα και ρυθμίζει την βιοδιαθεσιμότητά της, συσχετίστηκε θετικά με την HDL-χοληστερόλη και την συστολική αρτηριακή πίεση, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με τον ΔΜΣ, τον δείκτη λιπώδους μάζας (fat mass index, FMI), την περιφέρεια μέσης, τα τριγλυκερίδια, την ινσουλίνη και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) (Yu et al., 2011).

Η λεπτίνη συσχετίστηκε θετικά με τον ΔΜΣ (Yu et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014), την περιφέρεια μέσης (Abu-Farha et al., 2014), τον δείκτη λιπώδους μάζας (fat mass index, FMI) (Yu et al., 2011), τα τριγλυκερίδια (Yu et al., 2011), την ινσουλίνη (Yu et al., 2011) και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) (Yu et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014). Ο λόγος της λεπτίνης προς την αντιπονεκτίνη (leptin-to-adiponectin ratio, L/A) συσχετίστηκε θετικά με την περιφέρεια μέσης, τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τα τριγλυκερίδια, τη γλυκόζη, την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), την επιφάνεια του σπλαχνικού λιπώδους ιστού (visceral adipose tissue, VAT, area) και το ποσοστό του σπλαχνικού λιπώδους ιστού, ενώ

συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Gauthier et al., 2012). Η χημερίνη, η οποία είναι μία χημειοτακτική πρωτεΐνη που εκκρίνεται από τον λιπώδη ιστό, συσχετίστηκε θετικά με το ποσοστό σωματικού λίπους και τα τριγλυκερίδια, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Chu et al., 2012). Η CRP συσχετίστηκε θετικά με την περιφέρεια μέσης και τα τριγλυκερίδια (den Engelsen et al., 2012). Επίσης, η CRP έχει συσχετιστεί θετικά με τον ΔΜΣ, την συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τη γλυκόζη, την HbA1c, την ινσουλινο-αντίσταση, την ολική και την LDL-χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Abu-Farha et al., 2014). Η IL-6 συσχετίστηκε θετικά με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, τη μάζα του σπλαχνικού λιπώδους ιστού (visceral adipose tissue, VAT, mass), τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τα τριγλυκερίδια και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Stelzer et al., 2012). Η διαλυτή γλυκοπρωτεΐνη 130 (soluble glycoprotein 130, sGP130) και ο διαλυτός υποδοχέας της IL-6 (soluble IL-6 receptor, sIL-6r), που αποτελούν σημαντικούς μεσολαβητές του συστήματος μεταγωγής του σήματος της IL-6 στα κύτταρα, έχουν συσχετιστεί θετικά με την αυξημένη περιφέρεια μέσης, την υπερτριγλυκεριδαιμία, την υπεργλυκαιμία και την υπέρταση, όπως ορίζονται βάσει των κριτηρίων του ορισμού του NCEP ATP III (2001), ενώ η IL-6 δεν συσχετίστηκε με κανέναν παράγοντα του ΜΣ (Weiss et al., 2013). Η βιοφατίνη συσχετίστηκε θετικά με τα τριγλυκερίδια, τη γλυκόζη, την LDL-χοληστερόλη και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Abu-Farha et al., 2014). Η αντιψίνη συσχετίστηκε θετικά με τον ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την γλυκόζη και την HbA1c (Abu-Farha et al., 2014). Τέλος, η ρεζιστίνη συσχετίστηκε θετικά με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, τον λόγο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχύων, την γλυκόζη, την ινσουλίνη, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR και τα επίπεδα HbA1c στο ολικό αίμα, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη και δείκτες ινσουλινο-ευαισθησίας (π.χ. QUICKI) (Lau & Muniandy, 2011). Σε άλλη μελέτη, η ρεζιστίνη συσχετίστηκε αρνητικά με την γλυκόζη και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), καθώς και την συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση (Abu-Farha et al., 2014).

Τα επίπεδα της αντιγονεκτίνης βρέθηκε να μειώνονται με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ (Koh et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015), καθώς και με την αύξηση του βαθμού ινσουλινο-αντίστασης (HOMA-IR) (Koh et al., 2011). Παρομοίως τα επίπεδα της HMW-αντιγονεκτίνης και του υποδοχέα sOB-R της λεπτίνης βρέθηκε να μειώνονται με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ (Yu et al., 2011). Αντιθέτως,

τα επίπεδα της λεπτίνης (Abu-Farha et al., 2014), της IL-6 (Ding et al., 2015) και της CRP βρέθηκε να αυξάνονται με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ (den Engelsen et al., 2012, Voils et al., 2014, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015). Ωστόσο, σε άλλη μελέτη, ούτε η CRP ούτε η IL-6 συσχετίστηκαν σημαντικά με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ, ενώ τόσο η sGP130 όσο και ο υποδοχέας sIL-6r συσχετίστηκαν σημαντικά με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ (Weiss et al., 2013). Παρομοίως, ο λόγος της λεπτίνης προς την αντιπονεκτίνη (L/A) συσχετίζεται θετικά με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων ΜΣ (Gauthier et al., 2012).

Η ολική αντιπονεκτίνη (Koh et al., 2011, Chu et al., 2012, Bae et al., 2013, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015) και η HMW-αντιπονεκτίνη (Yu et al., 2011) συσχετίστηκαν αρνητικά με την παρουσία του ΜΣ. Παρομοίως, ο υποδοχέας της λεπτίνης sOB-R συσχετίστηκε αρνητικά με την παρουσία του ΜΣ (Yu et al., 2011). Η λεπτίνη συσχετίστηκε θετικά με την παρουσία του ΜΣ (Yu et al., 2011, Abu-Farha et al., 2014). Ο λόγος της λεπτίνης προς την αντιπονεκτίνη (L/A) βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με την παρουσία του ΜΣ και να αυξάνει την ικανότητα της ινσουλινο-αντίστασης (HOMA-IR) να διακρίνει τους έχοντες ΜΣ από τους μη έχοντες (Yoon et al., 2011, Gauthier et al., 2012). Η χημερινή συσχετίστηκε επίσης θετικά με την παρουσία του ΜΣ (Chu et al., 2012). Η IL-6 (Marques-Vidal et al., 2013, Bae et al., 2013, Ding et al., 2015) και ο TNF-α (Marques-Vidal et al., 2013, Bae et al., 2013), καθώς και η CRP (Bae et al., 2013, Voils et al., 2014, Abu-Farha et al., 2014, Ding et al., 2015) συσχετίστηκαν θετικά με την παρουσία του ΜΣ. Οι CRP, TNF-α, IL-6 και λεπτίνη συσχετίστηκαν αντιστρόφως με την παρουσία παχυσαρκίας με λιγότερους από 3 καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου, ενώ θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε για την αντιπονεκτίνη (Phillips & Perry, 2013).

Στις έρευνες που αναφέρθηκαν παραπάνω, οι στατιστικές αναλύσεις συμπεριέλαβαν συγχυτικούς παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάζουν τη σχέση ανάμεσα στις κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες και τους παράγοντες του ΜΣ ή την παρουσία του ΜΣ. Οι κυριότεροι είναι το φύλο, η ηλικία, η ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ο ΔΜΣ, καθώς και παράγοντες του τρόπου ζωής (κάπνισμα, διατροφικές συνήθειες, πρόσληψη ενέργειας, κατανάλωση αλκοόλ, σωματική δραστηριότητα), ατομικό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη/ καρδιαγγειακών νοσημάτων, φαρμακευτική αγωγή, οικογενειακό ιστορικό χρονίων νοσημάτων. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν συσχετίσεις μεταξύ των μελετούμενων κυτταροκινών/ λιποκυτταροκινών. Συγκεκριμένα, η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αρνητικά με την ρεζιστίνη (Lau & Muniandy, 2011) και την CRP (Koh et al., 2011), η HMW-αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αρνητικά με την IL-6 και θετικά με τον

υποδοχέα της λεπτίνης sOB-R (Yu et al., 2011), ο υποδοχέας sOB-R συσχετίστηκε αρνητικά με την IL-6 (Yu et al., 2011), η IL-6 συσχετίστηκε θετικά με την CRP και την λεπτίνη και αρνητικά με την αντιπονεκτίνη (Stelzer et al., 2012). Σε αυτές τις περιπτώσεις οι συσχετιζόμενες κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες θεωρήθηκαν ως πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες και πραγματοποιήθηκαν οι κατάλληλοι έλεγχοι.

Αναφορικά με τις προοπτικές μελέτες που έχουν ερευνήσει την σχέση κυτταροκινών/ λιποκυτταροκινών με τους παράγοντες του ΜΣ και το ΜΣ, η επίπτωση του ΜΣ βασίστηκε κυρίως στον ορισμό του AHA/NHLBI (2005) και στον ορισμό εναρμόνισης των κριτηρίων του IDF με αυτά του AHA/NHLBI (2009) (Juonala et al., 2011, Nakashima et al., 2011, Ahonen et al., 2012, Kim et al. 2013). Η μελέτη του ΜΣ πραγματοποιήθηκε τόσο σε πληθυσμούς ευρωπαϊκής (Juonala et al., 2011, Ahonen et al., 2012) όσο και ασιατικής προέλευσης (Nakashima et al., 2011, Kim et al., 2013) και όλοι οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες. Ο μέσος χρόνος επανελέγχου των συμμετεχόντων κυμαίνεται από 2,6 έως 6,5 έτη και η κύρια έκβαση είναι η εμφάνιση του ΜΣ. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε στη διάρκεια του πρώτου ελέγχου, σε φάση νηστείας (8-12 ώρες νηστείας) και μετρήθηκαν οι βιοχημικοί παράγοντες του ΜΣ, καθώς και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες σε δείγματα πλάματος ή ορού.

Η ολική αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αντιστρόφως με την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας (Juonala et al., 2011, Kim et al., 2013), δυσλιπιδαιμίας (Kim et al., 2013) και κοιλιακής παχυσαρκίας (Kim et al., 2013), ενώ δεν συσχετίστηκε με την εμφάνιση υπέρτασης (Kim et al., 2013). Επίσης, τα επίπεδα ολικής αντιπονεκτίνης βρέθηκε να μειώνονται με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ στον επανέλεγχο (Kim et al., 2013). Η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αντιστρόφως και με την επίπτωση του ΜΣ (Juonala et al., 2011, Nakashima et al., 2011, Ahonen et al., 2012, Kim et al., 2013). Παρομοίως, η HMW-αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αντιστρόφως με την επίπτωση του ΜΣ (Nakashima et al., 2011). Η IL-1β συσχετίστηκε επίσης αντιστρόφως με την επίπτωση του ΜΣ, ενώ η IL-1Ra συσχετίστηκε θετικά με την επίπτωση του ΜΣ (Ahonen et al., 2012). Στις εν λόγω μελέτες, οι στατιστικές αναλύσεις συμπεριέλαβαν συγχυτικούς παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάζουν την σχέση ανάμεσα στις κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες και την επίπτωση του ΜΣ. Οι κυριότεροι είναι το φύλο, η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων, παράγοντες του τρόπου ζωής (π.χ. κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ, σωματική δραστηριότητα), βιοχημικές παράμετροι που μετρήθηκαν ή αξιολογήθηκαν στον αρχικό έλεγχο (LDL-χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, ινσουλινο-αντίσταση), κλινικές παράμετροι που

μετρήθηκαν στον αρχικό έλεγχο (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, αρτηριακή πίεση), καθώς και άλλες λιποκυτταροκίνες/ φλεγμονώδεις παράγοντες (CRP, λεπτίνη).

1.4. Οξειδωτικό στρες: ορισμός

Το οξειδωτικό στρες ορίζεται ως η αυξημένη παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου και/ή αζώτου (reactive oxygen/ nitrogen species, ROS/ RNS) σε συνδυασμό με την μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα ενός βιολογικού συστήματος. Στην κατηγορία των ROS ανήκουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το υπεροξείδιο ($O_2^{\cdot-}$), το μονήρες οξυγόνο ($1/2 O_2$) και η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$) και διακρίνονται σε ελεύθερες και μη ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Στην κατηγορία των RNS ανήκουν το οξείδιο του νιτρικού (nitric oxide) και το διοξείδιο του αζώτου (nitrogen dioxide). Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται κατά τη διάρκεια αερόβιων πορειών, όπως η κυτταρική αναπνοή και η φαγοκυττάρωση. Επίσης, ελεύθερες ρίζες παράγονται ως αποτέλεσμα έκθεσης σε επιβαρυντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το αλκοόλ, ο καπνός του τσιγάρου, η υπεριώδης ακτινοβολία, τα εντομοκτόνα και το όζον. Οι ROS επιδρούν στη δομή και λειτουργία όλων των τάξεων βιομορίων ενός κυτταρικού συστήματος. Μεταξύ των βιομορίων που είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στην οξείδωση ανήκουν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Στον αντίποδα των ROS/ RNS, βρίσκονται τα ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά συστήματα, ενζυμικά και μη ενζυμικά, που επιβραδύνουν ή εμποδίζουν την οξείδωση βιομορίων. Στην κατηγορία των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων ανήκουν η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Στην κατηγορία των ενδογενών μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών ανήκουν η γλουταθειόνη, πρωτεΐνες (φερριτίνη, τρανσφερρίνη, σερουλοπλασμίνη, αλβουμίνη), καθώς και ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους (π.χ. ουρικό οξύ, συνένζυμο Q και λιποϊκό οξύ). Τέλος, στην κατηγορία των εξωγενών αντιοξειδωτικών ανήκουν οι βιταμίνες C και E, καροτενοειδή και φαινολικές ενώσεις που περιέχονται σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά ολικής αλέσεως και όσπρια (Pisoschi & Pop, 2015).

1.5. Οξειδωτικό στρες και Μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες

Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχουν ερευνήσει την σχέση του ΜΣ με δείκτες οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, 10 συγχρονικές μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν από

το 2008 έως και το 2015 ερεύνησαν την συσχέτιση του ΜΣ με δείκτες οξειδωτικού στρες. Ο επιπολασμός του ΜΣ βασίστηκε στους ορισμούς του NCEP ATP III (2001) (Simão et al., 2008, Venturini et al., 2012, Baez-Duarte et al., 2014), του IDF (2005) (Zelzer et al., 2011), του AHA/NHLBI (2005) (Giral et al., 2008, Seet et al., 2010, Kim et al., 2013, De Bona et al., 2013, Venturini et al., 2015) και των κριτηρίων εναρμόνισης (2009) (Zurawska-Płaksej et al., 2014). Η μελέτη του ΜΣ πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμούς από την Ευρώπη (Giral et al., 2008, Zelzer et al., 2011, Zurawska-Płaksej et al., 2014), τη Λατινική Αμερική (Simão et al., 2008, Venturini et al., 2012, De Bona et al., 2013, Baez-Duarte et al., 2014, Venturini et al., 2015) και την Ασία (Seet et al., 2010, Kim et al., 2013) και όλοι οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε φάση νηστείας (8-12 ώρες νηστείας) και μετρήθηκαν οι βιοχημικοί παράγοντες του ΜΣ, καθώς και δείκτες οξειδωτικού στρες σε δείγματα πλάσματος (Simão et al., 2008, Giral et al., 2008, Seet et al., 2010, Zelzer et al., 2011, Venturini et al., 2012, Kim et al., 2013, De Bona et al., 2013, Zurawska-Płaksej et al., 2014, Venturini et al., 2015), ορού (Seet et al., 2010, De Bona et al., 2013, Baez-Duarte et al., 2014, Venturini et al., 2015) και ούρων (Seet et al., 2010, Kim et al., 2013). Μεταξύ των δεικτών οξειδωτικού στρες που αξιολογήθηκαν είναι η γλουταθειόνη και το ένζυμο καταβολισμού της – η γ-γλουταμυλο-τρανσφεράση (γ-GT), η υπεροξειδάση 3 της γλουταθειόνης (GPx3), τα προϊόντα προχωρημένης οξείδωσης πρωτεϊνών (advanced oxidation protein products, AOPP), η οξειδωμένη μορφή των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (oxidized low density lipoprotein, oxLDL) και η 8-επι-προσταγλανδίνη F2α (8-epi-prostaglandin F2α, 8-epi-PGF2α).

Η γ-GT είναι σημαντική για τον εξωκυτταρικό καταβολισμό της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH), ενός μορίου χαμηλού μοριακού βάρους που απομακρύνει δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) (Whitfield, 2001, Wu et al., 2004). Η γ-GT εμπλέκεται στη διάσπαση της GSH σε κυστεΐνη (Cys) και κυστεΐνυλο-γλυκίνη (Cys-Gly) (Shaw & Newman, 1979, Wu et al., 2004) και συσχετίζεται με την παραγωγή ROS και το οξειδωτικό στρες (Drozd et al., 1998). Η GPx3 είναι εξωκυτταρικό ένζυμο και ασκεί αντιοξειδωτική δράση. Συγκεκριμένα, η GPx3 απομακρύνει δραστικές ρίζες οξυγόνου, ROS, στο πλαίσιο μεταβολικών διεργασιών ενδογενούς και εξωγενούς αιτιολογίας (Björnstedt et al., 1994).

Η οξειδωτική τροποποίηση των πρωτεϊνών του πλάσματος συνδέεται με την παθογένεση και την ανάπτυξη μεταβολικών διαταραχών (Atabek et al., 2006). Τα AOPP του πλάσματος παράγονται ως αποτέλεσμα της δράσης των ROS και δραστικών ριζών χλωρίου, κυρίως χλωραμίνης. Η αλβουμίνη είναι η κύρια πρωτεΐνη του πλάσματος και συνεπώς

αντιπροσωπεύει σημαντικό ποσοστό των πρωτεϊνών του πλάσματος που υφίστανται οξειδωτική τροποποίηση. Η παραγωγή των AOPP έχει συσχετιστεί με την αθηροσκλήρωση, την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Zurawska-Płaksej et al., 2014). Επίσης, η αλβουμίνη πλάσματος υφίσταται οξειδωτική τροποποίηση σε συνθήκες ισχαιμίας (π.χ. αθηροσκλήρωση, έμφραγμα μυοκαρδίου, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, έντονη σωματική δραστηριότητα) ως απάντηση στην υποξεία ή την οξεία ως αποτέλεσμα της δράσης των ROS. Αυτή η μορφή αλβουμίνης χαρακτηρίζεται ως αλβουμίνη τροποποιημένη λόγω ισχαιμίας (ischemia modified albumin, IMA) (Piwowar et al., 2008, Gaze, 2009, Lee et al., 2010). Η οξειδωτική τροποποίηση της αλβουμίνης προκαλεί μεταβολές στη δομή και λειτουργία της πρωτεΐνης και έχουν ως αποτέλεσμα την μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας της αλβουμίνης (Roy et al., 2006). Συνεπώς, οι οξειδωμένες μορφές της αλβουμίνης, AOPP και IMA, θεωρούνται αντιπροσωπευτικοί δείκτες οξειδωτικού στρες (Sbarouni et al., 2011, Zurawska-Płaksej et al., 2014).

Άλλοι δείκτες οξειδωτικού στρες είναι η οξειδωμένη LDL (oxLDL) και η 8-epi-PGF_{2α}. Η oxLDL συμμετέχει στην πορεία της αθηρογένεσης στο τοίχωμα των αγγείων (Steinberg et al., 1989). Συγκεκριμένα, η oxLDL εμπλέκεται στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου (Kugiyama et al., 1990), την προσκόλληση των μακροφάγων (Stiko-Rahm et al., 1992) και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (Yui et al., 1993). Η 8-epi-PGF_{2α} είναι F2-ισοπροστάνιο και σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της υπεροξείδωσης των λιποειδών (Basu, 2004).

Έχουν παρατηρηθεί σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα σε δείκτες του οξειδωτικού στρες, παράγοντες κινδύνου του ΜΣ και το ΜΣ. Συγκεκριμένα, ασθενείς με δυσλιπιδαιμία (υπερχοληστερολαιμία, LDL-χοληστερόλη ορού >160 mg/dL ή υπερτριγλυκεριδαιμία, τριγλυκερίδια ορού >150 mg/dL ή χαμηλή HDL-χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη ορού <35 mg/dL ή συνδυασμό αυτών των κλινικών καταστάσεων), οι οποίοι έχουν ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερες συγκεντρώσεις γλουταθειόνης και υψηλότερες συγκεντρώσεις των προϊόντων του καταβολισμού της γλουταθειόνης, Cys και Cys-Gly, καθώς και υψηλότερη δραστικότητα του ενζύμου γ-GT συγκριτικά με τους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία χωρίς ΜΣ. Επίσης, η αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ συνδέεται με μείωση των επιπέδων γλουταθειόνης, αλλά αύξηση των επιπέδων Cys και Cys-Gly, καθώς και της δραστικότητας της γ-GT. Η δραστικότητα της γ-GT συσχετίζεται θετικά με την αυξημένη περιφέρεια μέσης, την αυξημένη αρτηριακή πίεση, την αυξημένη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και γλυκόζης

νηστείας, ενώ δεν συσχετίζεται με τη μειωμένη συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης (Giral et al., 2008).

Συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση του ενζύμου GPx3 στον ορό σε σύγκριση με συμμετέχοντες που δεν φέρουν κανένα παράγοντα του ΜΣ. Αντιστοίχως, συμμετέχοντες με 1 ή 2 παράγοντες του ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση του ενζύμου GPx3 στον ορό συγκριτικά με συμμετέχοντες που δεν φέρουν κανένα παράγοντα του ΜΣ. Η συγκέντρωση της GPx3 στον ορό συσχετίζεται θετικά, αν και ασθενώς (Spearman's $\rho < 0,200$), με τον δείκτη ινσουλινο-ευαισθησίας QUICKI και τον λόγο τριγλυκεριδίων προς HDL-χοληστερόλη (triglycerides to HDL-cholesterol ratio, TG/HDL-C, δείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου), ενώ δεν συσχετίζεται με άλλους παράγοντες του ΜΣ (Baez-Duarte et al., 2014).

Συμμετέχοντες με 4 ή 5 παράγοντες του ΜΣ χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις AOPP στο πλάσμα σε σύγκριση με συμμετέχοντες που φέρουν κανένα, 1-2 ή 3 παράγοντες του ΜΣ. Αντιστοίχως, συμμετέχοντες με 1-2 ή 3 παράγοντες του ΜΣ χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις AOPP στο πλάσμα συγκριτικά τους συμμετέχοντες που δεν φέρουν κανέναν παράγοντα του ΜΣ. Επίσης, η συγκέντρωση των AOPP συσχετίζεται θετικά με τη γλυκόζη και τα τριγλυκερίδια, ενώ συσχετίζεται αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη. Συμμετέχοντες με τουλάχιστον 1 παράγοντα του ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις των IMA στο πλάσμα σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που δεν φέρουν κανένα παράγοντα του ΜΣ. Δεν παρατηρείται καμία συσχέτιση ανάμεσα στον δείκτη οξειδωτικού στρες IMA και παράγοντες του ΜΣ. Σύμφωνα με ανάλυση πολλαπλής λογαριθμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ, η ανεξάρτητη μεταβλητή AOPP είναι ο μόνος δείκτης οξειδωτικού στρες που συσχετίζεται με το ΜΣ (Zurawska-Płaksej et al., 2014). Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με τον δείκτη AOPP έχουν προκύψει και από άλλες μελέτες. Συγκεκριμένα, ο δείκτης AOPP έχει συσχετιστεί θετικά με την περιφέρεια μέσης, τη γλυκόζη νηστείας, την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) και τα τριγλυκερίδια, ενώ έχει συσχετιστεί αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη. Επίσης, οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις AOPP σε σύγκριση με συμμετέχοντες που δεν έχουν ΜΣ (Venturini et al., 2015). Επιπρόσθετα, υπέρβαροι ($\Delta\text{ΜΣ}$: 25-30 kg/m^2) με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις AOPP σε σύγκριση τόσο με άλλους υπέρβαρους χωρίς ΜΣ όσο και με συμμετέχοντες φυσιολογικού $\Delta\text{ΜΣ}$ (20-25 kg/m^2) χωρίς ΜΣ (Venturini et al., 2012).

Υπέρβαροι και παχύσαρκοι συμμετέχοντες ($\Delta\text{ΜΣ} > 25 \text{ kg/m}^2$) χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις oxLDL στο πλάσμα συγκριτικά με συμμετέχοντες φυσιολογικού βάρους. Επίσης, η oxLDL συσχετίζεται θετικά με τις περιφέρειες μέσης και ισχίων, τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και ολικής χοληστερόλης, ενώ συσχετίζεται αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη. Μάλιστα, η HDL-χοληστερόλη και η ολική χοληστερόλη είναι σημαντικές ανεξάρτητες μεταβλητές πρόβλεψης των επιπέδων oxLDL μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών. Συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις oxLDL στο πλάσμα σε σύγκριση με συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ (Zelzer et al., 2011). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και στο πλαίσιο μελέτης μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών ηλικίας $60,6 \pm 0,16$ ετών. Συγκεκριμένα, υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες ($\Delta\text{ΜΣ} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) χωρίς ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις oxLDL συγκριτικά με συμμετέχουσες φυσιολογικού βάρους ($\Delta\text{ΜΣ}$: $18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$) χωρίς ΜΣ. Επίσης, συμμετέχουσες με φυσιολογικό βάρος και ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις oxLDL στο πλάσμα σε σύγκριση με συμμετέχουσες με φυσιολογικό βάρος χωρίς ΜΣ, καθώς και σε σύγκριση με υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες χωρίς ΜΣ. Επιπρόσθετα, υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις oxLDL συγκριτικά με υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες χωρίς ΜΣ. Μάλιστα, η παρουσία ΜΣ συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα oxLDL ανεξαρτήτως $\Delta\text{ΜΣ}$ και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (Kim et al., 2013).

Οι συγκεντρώσεις των F_2 -ισοπροστανίων, των υδροξυ-εικοσατετραενοϊκών οξέων (hydroxyeicosatetraenoic acids, HETEs), προϊόντων οξείδωσης της χοληστερόλης στο πλάσμα, καθώς και οι συγκεντρώσεις του δείκτη οξείδωσης του DNA 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG) και των F_2 -ισοπροστανίων στα ούρα δεν διαφοροποιούνται με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ (Seet et al., 2010). Ωστόσο, η συγκέντρωση της 8-epi-PGF_{2α} στα ούρα είναι σημαντικά υψηλότερη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με φυσιολογικό βάρος ($\Delta\text{ΜΣ}$: $18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$) και ΜΣ σε σύγκριση τόσο με συμμετέχουσες φυσιολογικού βάρους χωρίς ΜΣ όσο και με υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες ($\Delta\text{ΜΣ} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) χωρίς ΜΣ. Επίσης, οι υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις 8-epi-PGF_{2α} στα ούρα συγκριτικά με υπέρβαρες/ παχύσαρκες συμμετέχουσες χωρίς ΜΣ. Μάλιστα, η παρουσία ΜΣ

συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα 8-epi-PGF_{2α} ανεξαρτήτως ΔΜΣ και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (Kim et al., 2013).

Υπέρβαροι συμμετέχοντες (ΔΜΣ: BMI 25-30 kg/m²) με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών (lipid hydroperoxide) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (hydrogen peroxide, H₂O₂) στο πλάσμα συγκριτικά με υπέρβαρους χωρίς ΜΣ (Venturini et al., 2012). Σε άλλη μελέτη, οι συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών στο πλάσμα δεν διαφέρουν μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και συμμετεχόντων χωρίς ΜΣ. Ωστόσο, συμμετέχοντες με 4 παράγοντες του ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών σε σύγκριση με συμμετέχοντες με 3 παράγοντες του ΜΣ. Οι συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών στο πλάσμα δεν συσχετίζονται με κανέναν παράγοντα του ΜΣ (Venturini et al., 2015). Η μέτρηση της συγκέντρωσης των υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών στις παραπάνω μελέτες πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο FOX (ferrous oxidation-xylenol orange assay). Άλλη μέθοδος μέτρησης της υπεροξειδωσής των λιποειδών στο πλάσμα είναι η μέθοδος των δραστικών ενώσεων θειοβαρβιτουρικού οξέος (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου, συμμετέχοντες με ΜΣ δεν διαφέρουν από τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ ως προς τη συγκέντρωση των TBARS (Simão et al., 2008, De Bona et al., 2013). Ωστόσο, τα TBARS συσχετίζονται θετικά με την περιφέρεια μέσης και αρνητικά με τη συστολική αρτηριακή πίεση, τη γλυκόζη και την ινσουλίνη νηστείας και την ινσουλινο-αντίσταση (Simão et al., 2008). Μία τρίτη μέθοδος αξιολόγησης της υπεροξειδωσής των λιποειδών στο πλάσμα στηρίζεται στην χημειοφωταύγεια (tert-butyl hydroperoxide-initiated chemiluminescence, CL-LOOH). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου, οι συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών στο πλάσμα είναι υψηλότερες στους συμμετέχοντες με ΜΣ (Simão et al., 2008, Venturini et al., 2015). Αν και υπέρβαροι συμμετέχοντες (ΔΜΣ: 25-30 kg/m²) με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών στο πλάσμα συγκριτικά με συμμετέχοντες φυσιολογικού βάρους χωρίς ΜΣ, δεν διαφέρουν σε σύγκριση με υπέρβαρους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ (Venturini et al., 2012). Οι συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών, όπως μετρήθηκαν με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας, συσχετίζονται θετικά με τη γλυκόζη νηστείας (Venturini et al., 2015).

Σε μία μελέτη μετρήθηκε η συγκέντρωση νιτρωδών και νιτρικών στον ορό (nitrite/nitrate, NO₂⁻/NO₃⁻, NOx) και βρέθηκε ότι οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από

υψηλότερες συγκεντρώσεις NOx στον ορό συγκριτικά με συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Επίσης, τα επίπεδα των NOx στον ορό συσχετίζονται θετικά με το ΜΣ ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης του ΔΜΣ (De Bona et al., 2013).

Σε ορισμένες από τις παραπάνω μελέτες αξιολογήθηκε η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα στο πλάσμα. Συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε ο δείκτης TRAP (total radical-trapping antioxidant parameter) (Simão et al., 2008, Venturini et al., 2012, Venturini et al., 2015). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και εκείνων χωρίς ΜΣ (Simão et al., 2008, Venturini et al., 2012). Ωστόσο, η συγκέντρωση του TRAP στο πλάσμα βρέθηκε χαμηλότερη στους υπέρβαρους συμμετέχοντες με ΜΣ συγκριτικά με τους συμμετέχοντες φυσιολογικού βάρους χωρίς ΜΣ κατόπιν διόρθωσης με τη συγκέντρωση του ουρικού οξέος, δηλαδή κατόπιν διαίρεσης της συγκέντρωσης του TRAP με τη συγκέντρωση του ουρικού οξέος (Venturini et al., 2012). Αντιστοίχως, συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη συγκέντρωση TRAP στο πλάσμα, κατόπιν διόρθωσης με τη συγκέντρωση του ουρικού οξέος. Επιπλέον, συμμετέχοντες με 5 παράγοντες του ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη συγκέντρωση TRAP συγκριτικά με συμμετέχοντες με 3 παράγοντες του ΜΣ. Τέλος, ο TRAP συσχετίζεται αρνητικά με την περιφέρεια μέσης, τη γλυκόζη και ινσουλίνη νηστείας και την ινσουλινο-αντίσταση, ενώ συσχετίζεται θετικά με την HDL-χοληστερόλη (Venturini et al., 2015).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: «Εισαγωγή: Μεταβολικό Αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο»

2.1. Μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του συνόλου των μορίων χαμηλού μοριακού βάρους (μεταβολίτες) ενός βιολογικού συστήματος (κύτταρο, ιστός, οργανισμός) αποτελεί αντικείμενο σύγχρονων αναλυτικών μεθόδων. Οι μεταβολίτες διακρίνονται σε οργανικές (π.χ. αμινοξέα, λιπαρά οξέα, υδατάνθρακες, βιταμίνες) και ανόργανες ενώσεις. Στον πίνακα 2 αναφέρονται συνοπτικά δύο κύριες μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών (Dunn & Ellis, 2005).

Οι μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών (στοχευμένη ή μη στοχευμένη) εφαρμόζονται ευρέως με σκοπό την αποτύπωση των μεταβολικών χαρακτηριστικών μίας νόσου, ενός συνδρόμου ή μίας κλινικής κατάστασης (π.χ. καρδιαγγειακά νοσήματα, σακχαρώδης διαβήτης, μεταβολικό σύνδρομο, ινσουλινο-αντίσταση, παχυσαρκία). Το σύνολο των μεταβολικών χαρακτηριστικών που περιγράφουν μία νόσο/ κλινική κατάσταση συνιστούν το αποτύπωμα μεταβολιτών ή μεταβολικό αποτύπωμα (metabolite profile) (Du et al., 2013).

Πίνακας 2. Μέθοδοι ανάλυσης μεταβολιτών (metabolomics)

Μη στοχευμένη ανάλυση (untargeted metabolomics):

Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση του συνόλου των μεταβολιτών ενός βιολογικού συστήματος.

Προετοιμασία δείγματος η οποία δεν αποκλείει μεταβολίτες. Αναλυτική τεχνική υψηλής ευαισθησίας και ικανότητας διαχωρισμού των μεταβολιτών. Η κυριότερη τεχνική ανάλυσης μεταβολιτών είναι η φασματομετρία με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (nuclear magnetic resonance spectrometry, NMR).

Στοχευμένη ανάλυση (targeted metabolomics):

Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση συγκεκριμένου αριθμού προεπιλεγμένων μεταβολιτών οι οποίοι συνδέονται μέσω μίας ή περισσότερων μεταβολικών πορειών.

Προετοιμασία δείγματος με σκοπό την απομόνωση των προεπιλεγμένων μεταβολιτών, συνήθως με χρωματογραφία. Η κυριότερη τεχνική ανάλυσης μεταβολιτών είναι η φασματομετρία μάζας (mass spectrometry, MS).

πηγές: Dunn & Ellis, 2005, Du et al., 2013

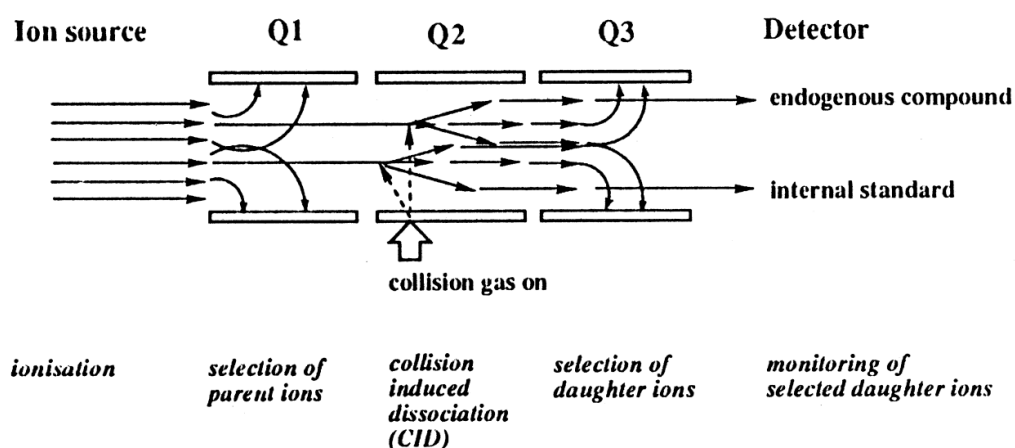
2.2. Φασματομετρία μάζας

Η φασματομετρία μάζας (mass spectrometry, MS) είναι μία τεχνική που εφαρμόζεται ευρέως για την ταυτοποίηση και την ποσοτική ανάλυση μεταβολιτών. Συνδυάζεται συνήθως με τεχνικές χρωματογραφίας οι οποίες χρησιμεύουν στον διαχωρισμό των μεταβολιτών ενός βιολογικού δείγματος. Μία τεχνική χρωματογραφίας είναι η αέρια χρωματογραφία (gas chromatography, GC) με την οποία διαχωρίζονται πτητικές ενώσεις (Dunn & Ellis, 2005). Χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης τεχνικής είναι η χημική επεξεργασία των προς μελέτη ενώσεων με σκοπό την δημιουργία παραγώγων (chemical derivatization), η οποία έχει ως σκοπό την αύξηση της πτητικότητας και της θερμικής σταθερότητας των προς ανάλυση ενώσεων. Ένας σημαντικός περιορισμός αυτής της τεχνικής είναι, επομένως, η σταθερότητα των ενώσεων σε υψηλές θερμοκρασίες (Tsikas, 1998). Μία άλλη τεχνική χρωματογραφίας είναι η υγρή χρωματογραφία (liquid chromatography, LC). Αυτή η τεχνική δεν απαιτεί συνήθως τη δημιουργία παραγώγων των προς μελέτη ενώσεων και δεν εξαρτάται από την εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών με αποτέλεσμα την απλοποίηση της διαδικασίας προετοιμασίας του δείγματος προς ανάλυση (Dunn & Ellis, 2005).

Η φασματομετρία μάζας συνίσταται στην μετατροπή της προς ανάλυση ένωσης σε ιόντα και κλάσματα ιόντων και στον προσδιορισμό αυτών των ιόντων βάσει του λόγου της μοριακής μάζας προς το φορτίο (molecular mass to charge ratio, m/z) (Pitt, 2009). Κάθε βιολογικό δείγμα αποτελείται από πολλές διαφορετικές ενώσεις, ορισμένες από τις οποίες δύναται να έχουν την ίδια μοριακή μάζα (m). Επιπλέον, ενώσεις με διαφορετικές μοριακές μάζες δύναται να έχουν τον ίδιο λόγο μοριακής μάζας προς φορτίο (m/z). Το αποτέλεσμα αυτών των περιπτώσεων είναι η χαμηλή ειδικότητα ανίχνευσης διαφορετικών ενώσεων στα βιολογικά δείγματα έτσι ώστε να απαιτείται καλύτερος διαχωρισμός των ενώσεων με χρωματογραφία. Ένας τρόπος επίλυσης αυτού του προβλήματος είναι η εφαρμογή της διπλής φασματομετρίας μάζας (tandem mass spectrometry, MS-MS) (Vogeser, 2003).

Η διπλή φασματομετρία μάζας πραγματοποιείται σε δύο φάσεις και απαιτεί τη λειτουργία τριών τετράπολων (κάθε τετράπολο αποτελείται από 4 παράλληλες μεταλλικές ράβδους) (σχήμα 1). Το πρώτο και τρίτο τετράπολο (Q_1 , Q_3) «επιλέγουν» τα ιόντα ενώσεων βάσει του λόγου μοριακής μάζας προς φορτίο (m/z), ενώ το δεύτερο τετράπολο (Q_2), που παρεμβάλλεται, λειτουργεί ως ο χώρος όπου παράγονται κλάσματα ιόντων (collision cell) μέσω σύγκρουσής τους με τα μόρια αδρανούς αερίου, συνήθως αργού, το οποίο ρέει υπό

υψηλή πίεση και με σταθερό ρυθμό (Tsikas, 1998). Συγκεκριμένα, κάθε ένωση που εκλύεται από την στήλη χρωματογραφίας, υφίσταται ιονισμό από μία πηγή ιονισμού και τα ιόντα εισέρχονται στο πρώτο τετράπολο (Q1) όπου «επιλέγεται» το αρχικό ιόν (parent or precursor ion) με συγκεκριμένο λόγο μοριακής μάζας προς φορτίο (m/z). Ακολουθεί η κλασματοποίηση του αρχικού ιόντος (parent or precursor ion) μέσω σύγκρουσης με τα μόρια ενός αδρανούς αερίου που ρέει με σταθερό ρυθμό μέσα στο δεύτερο τετράπολο (Q2). Τα κλάσματα ιόντων (daughter or product ions) εισέρχονται στο τρίτο τετράπολο (Q3) όπου επιλέγεται εκείνο με συγκεκριμένο λόγο μοριακής μάζας προς φορτίο (m/z) το οποίο τελικά ανιχνεύεται. Ο συνδυασμός του λόγου m/z του επιλεγμένου αρχικού ιόντος με τον λόγο m/z του επιλεγμένου κλάσματος του αρχικού ιόντος αποτελεί μέρος της ταυτότητας κάθε ένωσης (Vogeser, 2003) (πίνακας 3).



Σχήμα 1. Αρχή λειτουργίας της διπλής φασματοφωτομετρίας μάζας. Q, quadrupole (Tsikas, 1998)

Πίνακας 3. Αμινοξέα και ιόντα αμινοξέων κατά τον προσδιορισμό τους με την μέθοδο GC-MS/MS

Ένωση	Αρχικό ιόν (m/z)	Κλάσμα αρχικού ιόντος (m/z)
Αλανίνη	175,0	102,0
Ασπαργίνη	127,0	56,0
Ασπαργινικό	142,0	96,0
Βαλίνη	144,0	98,0
Γλουταμίνη	141,0	109,0
Γλουταμινικό	188,0	114,0
Γλυκίνη	161,0	88,0
Θρεονίνη	134,0	58,0
Ιστιδίνη	224,0	152,0
Κνουρενίνη	204,0	160,0
Λευκίνη	144,0	88,0
Λυσίνη	259,0	142,0
Μεθειονίνη	235,0	161,0
Ομοκυστεΐνη	233,0	174,0
Προλίνη	201,0	128,0
Σερίνη	176,0	100,0
Τρυπτοφάνη	290,0	215,0
Τυροσίνη	294,0	220,0
Φαινυλαλανίνη	178,0	146,0

πηγή: Midttun et al., 2016

2.3. Μεταβολικό αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ): επιδημιολογικές μελέτες

Αρκετές μελέτες έχουν ακολουθήσει τη μέθοδο της στοχευμένης ανάλυσης μεταβολιτών με σκοπό την περιγραφή νόσων, συνδρόμων και κλινικών καταστάσεων, σε μία προσπάθεια ανάδειξης μεταβολικών δεικτών και διερεύνησης των υποκείμενων μηχανισμών. Αναζητήσαμε πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες στην μηχανή αναζήτησης MEDLINE από το 2007 έως το 2017, οι οποίες αφορούν σε συγχρονικές και προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες που ερευνούν το μεταβολικό αποτύπωμα στην ινσουλινο-αντίσταση, το ΜΣ και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε ενήλικες (>18 ετών). Η αναζήτηση βάσει των παραπάνω κριτηρίων, απέδωσε συνολικά 17 ερευνητικές εργασίες που ακολούθησαν τη μέθοδο της στοχευμένης ανάλυσης των μεταβολιτών. Οι 13 εξ αυτών εφάρμοσαν την τεχνική της φασματομετρίας μάζας (απλής, MS, ή διπλής MS/MS) (Konstantinova et al., 2008, Huffman et al., 2009, Newgard et al., 2009, Mihalik et al., 2010, Cheng et al., 2012, Batch et al., 2013, Theofylaktopoulou et al., 2013, Mook-Kanamori et al., 2014, Boulet et al., 2015, Yamada et al., 2015, Yamakado et al., 2015, Allam-Ndoul et al., 2016, Ho et al. 2016), ενώ οι 4 εφάρμοσαν την τεχνική της φασματομετρίας με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (NMR) (Würtz et al., 2012a, Würtz et al., 2012b, Würtz et al., 2013, Wiklund et al., 2014). Για την ποσοτική ανάλυση των

μεταβολιτών χρησιμοποιήθηκε δείγμα πλάσματος σε 11 μελέτες (Konstantinova et al., 2008, Huffman et al., 2009, Mihalik et al., 2010, Cheng et al., 2012, Batch et al., 2013, Theofylaktopoulou et al., 2013, Boulet et al., 2015, Yamada et al., 2015, Yamakado et al., 2015, Allam-Ndoul et al., 2016, Ho et al., 2016) και δείγμα ορού σε 6 (Newgard et al., 2009, Mook-Kanamori et al., 2014, Würtz et al., 2012a, Würtz et al., 2012b, Würtz et al., 2013, Wiklund et al., 2014). Επιπλέον η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε φάση νηστείας (8-12 ώρες νηστεία) στην πλειονότητα των μελετών (Huffman et al., 2009, Newgard et al., 2009, Mihalik et al., 2010, Cheng et al., 2012, Batch et al., 2013, Mook-Kanamori et al., 2014, Boulet et al., 2015, Yamada et al., 2015, Yamakado et al., 2015, Allam-Ndoul et al., 2016, Ho et al., 2016, Würtz et al., 2012a, Würtz et al., 2012b, Würtz et al., 2013, Wiklund et al., 2014), ενώ μόνο δύο πραγματοποίησαν αιμοληψία ανεξαρτήτως της διάρκειας που μεσολάβησε από το τελευταίο γεύμα έως την αιμοληψία, ωστόσο, στις στατιστικές αναλύσεις η διάρκεια από το τελευταίο γεύμα χρησιμοποιήθηκε ως συγχυτική μεταβλητή με σκοπό τον έλεγχο της επίδρασής της στις τιμές συγκεντρώσεων των μεταβολιτών (Konstantinova et al., 2008, Theofylaktopoulou et al., 2013).

Οι μεταβολίτες που έχουν μετρηθεί στις εν λόγω ερευνητικές εργασίες ανήκουν στις ακόλουθες κατηγορίες: 1) αμινοξέα, βιογενείς αμίνες, μεταβολίτες κύκλου ουρίας, 2) λιπαρά οξέα, ακυλο-καρνιτίνες, ελεύθερη καρνιτίνη, 3) τριακυλογλυκερόλες, 4) σφιγγολιποειδή (σφιγγομυελίνες, υδροξυ-σφιγγομυελίνες), 5) φωσφολιποειδή (φωσφατιδυλο-χολίνες, λυσο-φωσφατιδυλο-χολίνες, λυσο-φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνες), 6) εστέρες χοληστερόλης, 7) εξόζες, μεταβολίτες γλυκόλυσης, μεταβολίτες γλυκονεογένεσης, 8) γλυκοπρωτεΐνες, 9) νουκλεοτίδια και μεταβολίτες αυτών, 10) μεταβολίτες κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων, 11) κετονοσώματα (3-υδροξυ-βουτυρικό και ακετοξικό). Δύο μελέτες έχουν μετρήσει μεταβολίτες που συνδέονται μεταξύ τους μέσω συγκεκριμένης μεταβολικής πορείας: η πορεία μεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη με δότη μεθυλο-ομάδας τη βηταΐνη, η οποία προέρχεται από την οξείδωση της χολίνης (Konstantinova et al., 2008), και η πορεία καταβολισμού της τρυπτοφάνης (Theofylaktopoulou et al., 2013).

Από τις 17 μελέτες, 6 εφάρμοσαν την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis, PCA) για την εξαγωγή παραγόντων – προτύπων μεταβολιτών πλάσματος ή ορού (Newgard et al., 2009, Huffman et al., 2009, Batch et al., 2013, Wiklund et al., 2014, Boulet et al., 2015, Allam-Ndoul et al., 2016) και 2 εφάρμοσαν άλλες μεθόδους για τον υπολογισμό μεταβολικών παραγόντων (Würtz et al., 2013, Yamakado et al., 2015). Εξ αυτών

των μελετών, οι 5 ερευνήσαν την σχέση παραγόντων μεταβολιτών πλάσματος ή ορού με παράγοντες του ΜΣ (Newgard et al., 2009, Huffman et al., 2009, Boulet et al., 2015, Würtz et al., 2013, Yamakado et al., 2015) και οι 4 ερευνήσαν την σχέση παραγόντων μεταβολιτών με την παρουσία ΜΣ (Batch et al., 2013, Wiklund et al., 2014, Yamakado et al., 2015, Allam-Ndoul et al., 2016).

Ακολούθως, αναλύουμε εκείνες τις μελέτες που έχουν ερευνήσει παράγοντες μεταβολιτών. Αυτές διακρίνονται σε συγχρονικές και προοπτικές.

Αναφορικά με τις συγχρονικές μελέτες, έχει ερευνηθεί η σχέση παραγόντων μεταβολιτών σε πλάσμα ή ορό με παράγοντες του ΜΣ και την παρουσία ΜΣ. Παχύσαρκοι ενήλικες έχουν χαρακτηριστεί από υψηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα λευκίνη/ισολευκίνη, βαλίνη, μεθειονίνη, γλουταμινικό οξύ/γλουταμίνη (Glx), φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και μόρια ακυλο-καρνιτίνης βραχείας λιπαρής αλυσίδας (προπιονυλο-καρνιτίνη ή C3 και βαλερυλο-καρνιτίνη ή C5). Ο ίδιος παράγοντας έχει συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) ανεξαρτήτως σωματικού βάρους (Newgard et al., 2009). Παρομοίως, ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα λευκίνη/ισολευκίνη, βαλίνη, φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, προλίνη, ιστιδίνη, μεθειονίνη και το ουρικό οξύ και ο παράγοντας που συνίσταται από ελεύθερα λιπαρά οξέα και προϊόντα οξείδωσης αυτών έχουν συσχετιστεί αρνητικά με δείκτες παγκρεατικής λειτουργίας και ινσουλινο-ευαισθησίας, μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και της περιφέρειας μέσης (Huffman et al., 2009). Ο παράγοντας που συνίσταται από το γλουταμινικό οξύ και την ακυλο-καρνιτίνη C18 έχει συσχετιστεί θετικά με δείκτη σπλαχνικού λιπώδους ιστού, τα επίπεδα ολικών και VLDL-τριγλυκεριδίων, την ινσουλίνη νηστείας και την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ενώ έχει συσχετιστεί αρνητικά με τον λόγο ολικής προς HDL-χοληστερόλης και τη συγκέντρωση του TNF-α. Ο παράγοντας που συνίσταται από τον λόγο της κυνουρενίνης προς την τρυπτοφάνη έχει συσχετιστεί θετικά με δείκτες σωματικού λίπους (ΔΜΣ, λιπώδης μάζα σώματος, επιφάνεια σπλαχνικού και υποδόριου λιπώδους ιστού, μέγεθος λιποκυττάρων του υποδόριου λιπώδους ιστού), την LDL-χοληστερόλη, τον λόγο ολικής προς HDL-χοληστερόλη και τη λεπτίνη, ενώ έχει συσχετιστεί αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη και την απολιποπρωτεΐνη A1 των σωματιδίων της HDL. Ο παράγοντας που συνίσταται από σφιγγομυελίνες έχει συσχετιστεί θετικά με την ολική, την LDL- και την HDL-χοληστερόλη, καθώς και τα επίπεδα απολιποπρωτεΐνης Β των σωματιδίων της LDL. Ο παράγοντας που συνίσταται από φωσφατιδυλο-χολίνες έχει συσχετιστεί θετικά με την ολική, την VLDL- και την HDL-χοληστερόλη, τα ολικά, VLDL- και HDL-

τριγλυκερίδια, όπως και με τα επίπεδα της απολιποπρωτεΐνης A1 των σωματιδίων της HDL. Ο παράγοντας που περιλαμβάνει λυσο-φωσφατιδυλο-χολίνες έχει συσχετιστεί αρνητικά με δείκτες σωματικού λίπους (Boulet et al., 2015).

Ενήλικες με τουλάχιστον 2 παράγοντες καρδιομεταβολικού κινδύνου έχουν χαρακτηριστεί από υψηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα γλουταμινικό οξύ, ορνιθίνη, αργινίνη, ιστιδίνη και του παράγοντα που συνίσταται από μόρια ακυλο-καρνιτίνης βραχείας λιπαρής αλυσίδας (C5), ενώ έχουν χαρακτηριστεί από χαμηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα γλυκίνη, σερίνη, ορνιθίνη συγκριτικά με μεταβολικά υγιείς ενήλικες (≤ 1 παράγοντες καρδιομεταβολικού κινδύνου). Οι διαφορές αυτές παρέμειναν και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης του ΔΜΣ (Batch et al., 2013). Επίσης, προ-εμμηνοπαυσιακές υπέρβαρες ή παχύσαρκες γυναίκες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, και την α1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη συγκριτικά με προ-εμμηνοπαυσιακές υπέρβαρες ή παχύσαρκες γυναίκες χωρίς ΜΣ. Η συσχέτιση αυτού του παράγοντα με το ΜΣ παρέμεινε σημαντική και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, περιφέρεια μέσης, ΔΜΣ) (Wiklund et al., 2014). Ωστόσο, στην μελέτη των Allam-Ndoul και συνεργατών (2016), υπέρβαροι ή παχύσαρκοι ενήλικες έχουν χαρακτηριστεί από χαμηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από μόρια ακυλο-καρνιτίνης (C0, C3, C4, C16, C18), τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, το γλουταμινικό οξύ και την μεθειονίνη, καθώς και το προϊόν καταβολισμού της τρυπτοφάνης, κυνουρενίνη συγκριτικά με ενήλικες φυσιολογικού σωματικού βάρους. Αυτές οι διαφορές ήταν ανεξάρτητες τόσο από τον τρόπο ορισμού των υπέρβαρων και παχύσαρκων (ΔΜΣ ή ποσοστό σωματικού λίπους) όσο και από την παρουσία ή μη ΜΣ (Allam-Ndoul et al., 2016).

Αναφορικά με τις προοπτικές μελέτες, έχει ερευνηθεί η σχέση παραγόντων μεταβολιτών σε πλάσμα ή ορό με την επίπτωση παραγόντων του ΜΣ και του ίδιου του ΜΣ. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων των αμινοξέων βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, τυροσίνη και φαινυλαλανίνη (amino acid score), καθώς και οι συγκεντρώσεις των επιμέρους αμινοξέων βαλίνη, λευκίνη και φαινυλαλανίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με την επίπτωση της ινσουλινο-αντίστασης (HOMA-IR) σε διάστημα 6 ετών. Η συσχέτιση των συγκεκριμένων αμινοξέων με την επίπτωση της ινσουλινο-αντίστασης παρέμεινε στατιστικά σημαντική και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης

της παρουσίας ινσουλινο-αντίστασης προ εξαετίας (Würtz et al., 2013). Επίσης, ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα λευκίνη, αλανίνη, τυροσίνη, ασπαραγίνη, τρυπτοφάνη, γλυκίνη έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δυσλιπιδαιμίας (47-102%), ΜΣ (29-96%) και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (2-69%) σε διάστημα 4 ετών, μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών παραγόντων (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, γλυκόζη πλάσματος νηστείας και ινσουλινο-αντίσταση). Παρομοίως, ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα ισολευκίνη, αλανίνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη, μεθειονίνη, ιστιδίνη έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δυσλιπιδαιμίας (28-69%), ΜΣ (14-63%) και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (12-74%), στο ίδιο χρονικό διάστημα και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης των ίδιων πιθανών συγχυτικών παραγόντων. Αν και παρατηρήθηκε μείωση του κινδύνου εμφάνισης δυσλιπιδαιμίας (12-60% και 2-40%, αντιστοίχως) και ΜΣ (12-76% και 4-53%, αντιστοίχως) και για τους δύο παράγοντες αμινοξέων μετά από τον επιπρόσθετο έλεγχο της επίδρασης των παραγόντων του ΜΣ προ τετραετίας, οι συσχετίσεις παρέμειναν σημαντικές. Ωστόσο, μόνο ο παράγοντας που συνίσταται από την ισολευκίνη, την αλανίνη, την τυροσίνη, την φαινυλαλανίνη, την μεθειονίνη και την ιστιδίνη συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 σε διάστημα 4 ετών (4-63%) (Yamakado et al., 2015).

Στη συνέχεια, αναλύουμε εκείνες τις μελέτες που έχουν ερευνήσει την σχέση επιμέρους μεταβολιτών με παράγοντες του ΜΣ (παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, υπεργλυκαιμία, ινσουλινο-αντίσταση, υψηλή αρτηριακή πίεση). Η γενική παρατήρηση είναι ότι οι συσχετίσεις των παραγόντων μεταβολιτών με παράγοντες του ΜΣ και το ίδιο το ΜΣ, που αναφέρθηκαν παραπάνω, μπορούν να ερμηνευθούν από ανάλογες συσχετίσεις των επιμέρους μεταβολιτών που συνθέτουν αυτούς τους παράγοντες.

Οι παχύσαρκοι έχουν χαρακτηριστεί από υψηλότερα επίπεδα των επιμέρους αμινοξέων λευκίνη/ισολευκίνη, βαλίνη, φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, αλανίνη, αργινίνη, γλουταμινικό οξύ/γλουταμίνη, ασπαραγινικό οξύ/ασπαραγίνη και των επιμέρους μορίων ακυλο-καρνιτίνης C3, C5, C6 και C8:1, αλλά χαρακτηρίζονται από χαμηλότερα επίπεδα της γλυκίνης συγκριτικά με ενήλικες φυσιολογικού βάρους (Newgard et al., 2009). Επίσης, οι παχύσαρκοι χαρακτηρίζονται από υψηλότερα επίπεδα των μορίων ακυλοκαρνιτίνης μακριάς λιπαρής αλυσίδας (C16, C18, C14:1, C18:1) συγκριτικά με ενήλικες φυσιολογικού βάρους (Mihalik et al., 2010). Επιπλέον, ενήλικες υπέρβαροι και παχύσαρκοι έχουν χαρακτηριστεί από υψηλότερα επίπεδα τρυπτοφάνης, προϊόντων καταβολισμού της τρυπτοφάνης (κυνουρενίνη, ανθρανιλικό

οξύ, κυνουρενικό οξύ, 3-υδροξυ-κυνουρενίνη, 3-υδροξυ-ανθρανιλικό οξύ και ξανθουρενικό οξύ) και του λόγου κυνουρενίνης προς τρυπτοφάνη συγκριτικά με ενήλικες φυσιολογικού βάρους. Αυτές οι διαφορές μειώθηκαν, αλλά παρέμειναν σημαντικές μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, φύλο, νεφρική λειτουργία, σωματική δραστηριότητα και κάπνισμα) (Theofylaktouroulou et al., 2013). Τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, η αλανίνη και η προλίνη, η ορνιθίνη (μεταβολίτης του κύκλου της ουρίας), προϊόντα καταβολισμού της τρυπτοφάνης (κυνουρενίνη και κυνουρενικό οξύ), μεταβολίτες νουκλεοτιδίων (ξανθοσίνη και ουρικό οξύ), τριγλυκερίδια με βραχείες λιπαρές αλυσίδες και μικρό αριθμό διπλών δεσμών, καθώς και σφιγγομυελίνες έχουν συσχετιστεί θετικά με τον ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης. Αντίθετα, η γλυκίνη, οι λυσο-φωσφατιδυλο-χολίνες και λυσο-φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνες, καθώς και τριγλυκερίδια με μακρές λιπαρές αλυσίδες και μεγάλο αριθμό διπλών δεσμών έχουν συσχετιστεί αρνητικά με τον ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης. Μάλιστα, οι συσχετίσεις των μεταβολιτών με την περιφέρεια μέσης είναι ισχυρότερες συγκριτικά με τον ΔΜΣ (Ho et al., 2016).

Εκτός από δείκτες παχυσαρκίας (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης), τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (λευκίνη, ισολευκίνη, βαλίνη), τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, η αλανίνη και προϊόντα του καταβολισμού της τρυπτοφάνης (κυνουρενικό και ανθρανιλικό οξύ) έχουν συσχετιστεί θετικά και με τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας στο αίμα (διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη), την συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τα χαμηλά επίπεδα της HDL-χοληστερόλης και τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων (δυσλιπιδαιμία) (Cheng et al., 2012). Επιπλέον, τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, η φαινυλαλανίνη, η αργινίνη, η προλίνη και η λυσίνη έχουν συσχετιστεί με τον κίνδυνο εμφάνισης υπερτριγλυκεριδαιμίας σε μη διαβητικούς ενήλικες σε διάστημα 7 ετών, μετά από το έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, φύλο, αρχικός ΔΜΣ, αρχικές τιμές τριγλυκεριδίων) (Mook-Kanamori et al., 2014). Ενδιαφέρουσα είναι η σχέση της γλουταμίνης και του γλουταμινικού οξέος με τους παράγοντες του ΜΣ. Συγκεκριμένα, η γλουταμίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με τη γλυκόζη, την ινσουλίνη, την αρτηριακή πίεση και τα τριγλυκερίδια, αλλά θετικά με την HDL-χοληστερόλη, ενώ το γλουταμινικό οξύ παρουσιάζει αντίστροφες συσχετίσεις (Cheng et al., 2012). Εξίσου ενδιαφέρουσες είναι οι αντίθετες συσχετίσεις της χολίνης και της βηταΐνης με τους παράγοντες του ΜΣ. Συγκεκριμένα, η χολίνη έχει συσχετιστεί θετικά με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, το ποσοστό σωματικού λίπους, τα

τριγλυκερίδια και τη γλυκόζη ορού, ενώ έχει συσχετιστεί αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη. Αντιθέτως, η βηταΐνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, το ποσοστό σωματικού λίπους, την συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τα τριγλυκερίδια και την χοληστερόλη ορού, αλλά έχει συσχετιστεί θετικά με την HDL-χοληστερόλη (Konstantinova et al., 2008).

Ενήλικες με ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) έχουν χαρακτηριστεί από αυξημένα επίπεδα των αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (βαλίνη, ισολευκίνη και λευκίνη), των αρωματικών αμινοξέων φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, του γλουταμινικού και του ασπαραγινικού οξέος, της αλανίνης, της προλίνης, της αργινίνης και του συνόλου των απαραίτητων αμινοξέων. Η βαλίνη έχει συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση, ενώ η ασπαραγίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση σε γυναίκες. Επίσης, το γλουταμινικό οξύ, το ασπαραγινικό οξύ, η αλανίνη και η προλίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση, ενώ η γλυκίνη και η σερίνη έχουν συσχετιστεί αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση σε άνδρες (Yamada et al., 2015). Η α1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη, το σύνολο των λιπαρών οξέων και τα φωσφολιποειδή έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ενώ η γλουταμίνη και τα κετονοσώματα (3-υδροξυ-βουτυρικό και ακετοξικό) έχουν συσχετιστεί αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση (Würtz et al., 2012a). Τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, η φαινυλαλανίνη, η τυροσίνη, η αλανίνη, το γαλακτικό οξύ, το πυροσταφυλικό οξύ, η α1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη, το σύνολο των λιπαρών οξέων, τα ω9 και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR), ενώ τα κετονοσώματα (3-υδροξυ-βουτυρικό και ακετοξικό) έχουν συσχετιστεί αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση ανεξαρτήτως περιφέρειας μέσης σε ενήλικες άνδρες. Επίσης, Η φαινυλαλανίνη, η αλανίνη, τα ω6 και τα ω7 λιπαρά οξέα έχουν συσχετιστεί θετικά, ενώ η γλουταμίνη αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση ανεξαρτήτως περιφέρειας μέσης σε ενήλικες γυναίκες. Ωστόσο, η γλουταμίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με την ινσουλινο-αντίσταση μόνο για περιφέρεια μέσης ίση ή μεγαλύτερη από 92 cm σε ενήλικες άνδρες. Παρομοίως, τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας και η τυροσίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση (HOMA-IR) μόνο για περιφέρεια μέσης ίση ή μεγαλύτερη από 81 cm σε ενήλικες γυναίκες (Würtz et al., 2012a). Αναφορικά με άλλους δείκτες ινσουλινο-αντίστασης (γλυκόζη ορού νηστείας, γλυκόζη ορού 2 ώρες μετά τη φόρτιση ή OGTT), έχει βρεθεί ότι τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας και η τυροσίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με τη γλυκόζη ορού νηστείας, η φαινυλαλανίνη, η α1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη, τα συνολικά λιπαρά οξέα και τα

πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εκτός του λινελαϊκού έχουν συσχετιστεί θετικά με την γλυκόζη ορού 2 ώρες μετά τη φόρτιση (OGTT), η αλανίνη, μεταβολίτες της γλυκονεογένεσης (πυροσταφυλικό, γαλακτικό, και κιτρικό οξύ), τα ω7, ω9, τα κορεσμένα και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν συσχετιστεί θετικά τόσο με τη γλυκόζη ορού νηστείας όσο και με τη γλυκόζη ορού 2 ώρες μετά τη φόρτιση (OGTT). Αντίθετα, η γλυκίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με τη γλυκόζη ορού 2 ώρες μετά τη φόρτιση (OGTT) και ο λόγος ω6 προς συνολικά λιπαρά οξέα έχει συσχετιστεί αρνητικά τόσο με τη γλυκόζη ορού νηστείας όσο και με τη γλυκόζη ορού 2 ώρες μετά τη φόρτιση (OGTT) (Würtz et al., 2012b).

Παχύσαρκοι ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έχουν χαρακτηριστεί από αυξημένα επίπεδα μορίων ακυλο-καρνιτίνης βραχέος και μεσαίου μήκους λιπαρής αλυσίδας (C3, C5, C8) και μορίων υδροξυ-ακυλο-καρνιτίνης (C4-OH, C5-OH, C6-OH) συγκριτικά με παχύσαρκους που δεν πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη (Mihalik et al., 2010). Στη μελέτη Framingham Heart Study (FHS) Offspring cohort, η γλουταμίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, ενώ το γλουταμινικό οξύ έχει συσχετιστεί θετικά. Ως εκ τούτου, ο λόγος γλουταμίνης προς γλουταμινικό οξύ έχει συσχετιστεί αρνητικά με τον εν λόγω κίνδυνο ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, αρχικά επίπεδα γλυκόζης νηστείας). Η συσχέτιση της γλουταμίνης με την επίπτωση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 έχει επαληθευθεί στην μελέτη Malmö Diet and Cancer Study (MDC), ενώ οι συσχετίσεις του γλουταμινικού οξέος και του λόγου γλουταμίνης προς γλουταμινικό οξύ με την επίπτωση του σακχαρώδους διαβήτη δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Cheng et al., 2012). Πρόσφατη μετα-ανάλυση 8 προοπτικών μελετών με 8000 συμμετέχοντες έχει δείξει ότι τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη), καθώς και τα αρωματικά αμινοξέα τυροσίνη και φαινυλαλανίνη συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Αντίθετα, η γλυκίνη και η γλουταμίνη συσχετίζονται με χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (Guasch-Ferré et al., 2016).

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν διττός και αφορούσε στην εξέταση της σχέσης:

- 1) παραγόντων καρδιομεταβολικού κινδύνου και του ΜΣ με δείκτες φλεγμονής (IL-6 και αντιπονεκτίνη), δείκτες οξειδωτικού στρες και πρότυπα αμινοξέων και μεταβολιτών που συμμετέχουν στον μεταβολισμό ομάδων ενός ατόμου άνθρακα,
- 2) διατροφικών συνηθειών με δείκτες φλεγμονής (IL-6 και αντιπονεκτίνη) και πρότυπα αμινοξέων και μεταβολιτών που συμμετέχουν στον μεταβολισμό ομάδων ενός ατόμου άνθρακα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: «Μεθοδολογία»

3.1. Συμμετέχοντες

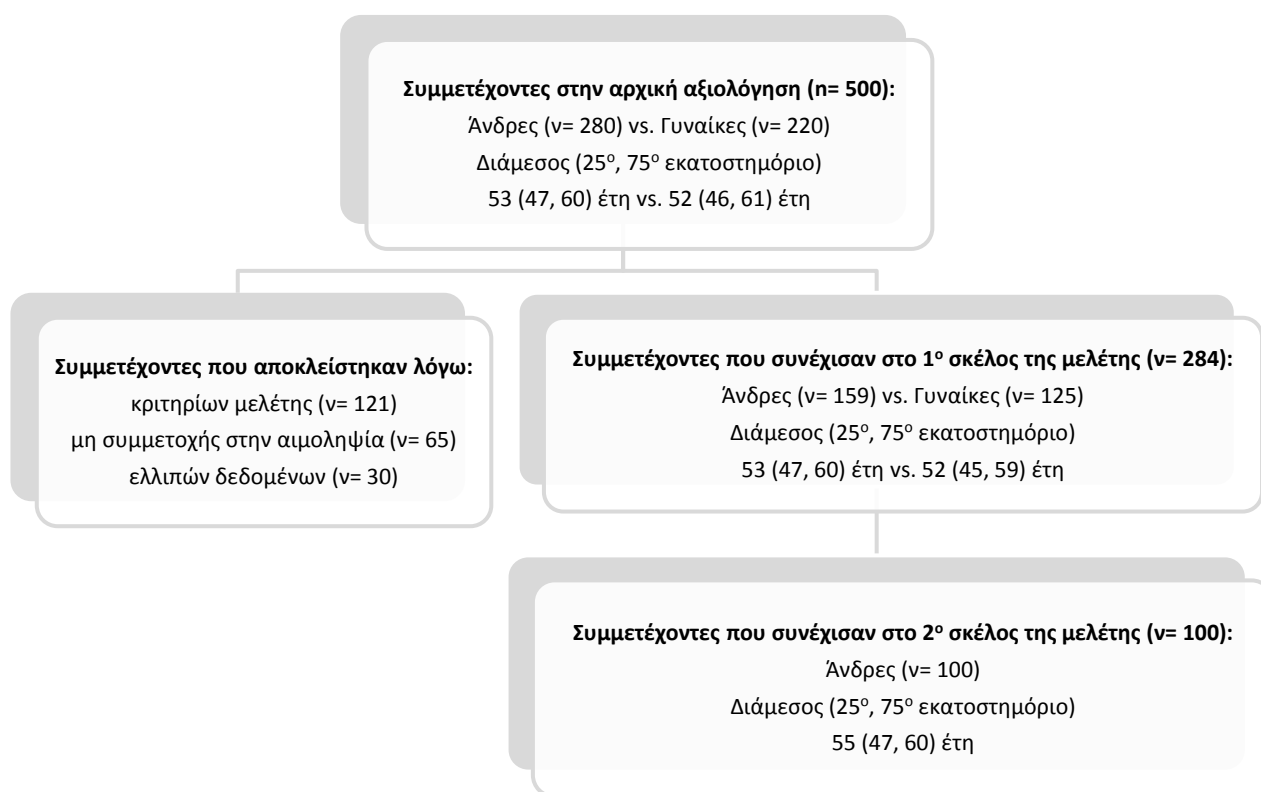
Η συγχρονική μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2011 με 2012 στην Αθήνα και την ευρύτερη περιοχή του νομού Αττικής. Οι συμμετέχοντες προέρχονται από τον γενικό πληθυσμό ηλικίας άνω των 30 ετών. Οι συμμετέχοντες ανταποκρίθηκαν σε πρόσκληση αξιολόγησης της υγείας τους, η οποία αναρτήθηκε στον χώρο εργασίας τους. Συμμετείχαν 500 εργαζόμενοι στην αρχική αξιολόγηση εκ των οποίων αποκλείστηκαν 120 λόγω κριτηρίων συμμετοχής στη μελέτη, 65 λόγω μη συμμετοχής στην αιμοληψία και 30 λόγω ελλιπών δεδομένων σχετικά με παράγοντες του τρόπου ζωής και την κλινική αξιολόγηση (σχήμα 2).

Αναλυτικά, τα κριτήρια αποκλεισμού από την παρούσα μελέτη ήταν η παρουσία: 1) καρδιαγγειακής νόσου (έμφραγμα του μυοκαρδίου, στηθάγχη, άλλες καθιερωμένες μορφές ισχαιμίας, αποκατάσταση της αιματώσεως των στεφανιαίων αγγείων όπως στην περίπτωση της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης και της διαδερμικής παρέμβασης στα στεφανιαία αγγεία, καρδιακή ανεπάρκεια, χρόνια αρρυθμία, εγκεφαλικό επεισόδιο), 2) οξέος ή χρόνιου φλεγμονώδους νοσήματος (π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ατοπική δερματίτιδα, άσθμα), 3) ιογενούς νοσήματος, 4) γρίπης ή κοινού κρυολογήματος, 5) οξείας λοιμώξεως του αναπνευστικού, 6) νεφρικής νόσου, 7) σακχαρώδους διαβήτη τύπου 1, 8) οδοντικών προβλημάτων, 9) οποιασδήποτε χειρουργικής επέμβασης κατά τον μήνα που προηγήθηκε της μελέτης. Η εκτίμηση της κλινικής εικόνας των συμμετεχόντων πραγματοποιήθηκε από καρδιολόγους, παθολόγους και νοσηλευτές.

Στο 1^ο σκέλος της μελέτης, συμμετείχαν οι 284 εργαζόμενοι οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης και για τους οποίους είχαμε πλήρη δεδομένα σχετικά με τους βιοχημικούς δείκτες, τους παράγοντες του τρόπου ζωής και την κλινική εικόνα. Οι συμμετέχοντες στη μελέτη δεν διέφεραν από εκείνους που αποκλείστηκαν από αυτήν όσον αφορά στην ηλικία και την κατανομή των φύλων ($p > 0,30$). Οι 159 συμμετέχοντες ήταν άνδρες και οι 125 γυναίκες (μέση ηλικία $\pm$ τυπική απόκλιση: 53 ± 9 και 52 ± 9 έτη, αντιστοίχως).

Στο 2^ο σκέλος της μελέτης, συμμετείχαν 100 άνδρες (μέση ηλικία $\pm$ τυπική απόκλιση: $54,6 \pm 8,9$ έτη), οι οποίοι επιλέχθηκαν τυχαία από το σύνολο των ανδρών του 1^{ου} σκέλους ($n = 159$, μέση ηλικία + τυπική απόκλιση: 53 ± 9 έτη). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές

ανάμεσα στους άνδρες που επιλέχθηκαν τυχαία για το 2^ο σκέλος της μελέτης και εκείνους που δεν επιλέχθηκαν όσον αφορά στην ηλικία, στις συνήθειες διατροφής, σωματικής δραστηριότητας και καπνίσματος, καθώς και το κλινικό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, δυσλιπιδαιμίας και υπέρτασης ($p>0,05$).



Σχήμα 2. Διάγραμμα ροής. Αριθμός συμμετεχόντων στην αρχική αξιολόγηση, αριθμός συμμετεχόντων στο 1^ο σκέλος της μελέτης και αριθμός συμμετεχόντων στο 2^ο σκέλος της μελέτης.

3.2. Αξιολόγηση παραγόντων του τρόπου ζωής

Η αξιολόγηση των παραγόντων του τρόπου ζωής πραγματοποιήθηκε από εκπαιδευμένους διαιτολόγους.

Οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με τη χρήση έγκυρου ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (food frequency questionnaire, FFQ) (Bountziouka et al., 2012) και τον υπολογισμό του βαθμού συμμόρφωσης με το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore, εύρος τιμών 0-55) (Panagiotakos et al., 2006). Το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής χαρακτηρίζεται από: (α) *καθημερινή κατανάλωση* μη επεξεργασμένων δημητριακών και προϊόντων τους (8 μικρομερίδες/ημέρα), λαχανικών (2-3

μικρομερίδες/ημέρα), φρούτων (4-6 μικρομερίδες/ημέρα), ελαιόλαδου (ως το κύριο προστιθέμενο λίπος) και άπαχων γαλακτοκομικών προϊόντων ή γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (1-2 μικρομερίδες/ημέρα), (β) *εβδομαδιαία κατανάλωση* πατατών (4-5 μικρομερίδες/εβδομάδα), ψαριών (4-5 μικρομερίδες/εβδομάδα), ελιών, οσπρίων, ξηρών καρπών (>4 μικρομερίδες/εβδομάδα), πουλερικών (1-3 μικρομερίδες/εβδομάδα), αυγών και γλυκών (1-3 μικρομερίδες/εβδομάδα), (γ) *μηνιαία κατανάλωση* κόκκινου κρέατος και προϊόντων κρέατος (4-5 μικρομερίδες/μήνα). Ειδικότερα, η κατανάλωση τροφίμων που είναι κοντά σε αυτό το διατροφικό πρότυπο βαθμολογήθηκε με 0 για σπάνια ή καθόλου κατανάλωση, 1 για κατανάλωση 1-4 μικρομερίδων/μήνα, 2 για κατανάλωση 5-8 μικρομερίδων/μήνα, 3 για 9-12 μικρομερίδων/μήνα, 4 για κατανάλωση 13-18 μικρομερίδων/μήνα και 5 για κατανάλωση >18 μικρομερίδων/μήνα (καθημερινή κατανάλωση). Αντιθέτως, η κατανάλωση τροφίμων που απομακρύνονται από την παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή, όπως το κρέας και τα προϊόντα κρέατος, βαθμολογήθηκε αντιστρόφως, δηλαδή 0 για σχεδόν καθημερινή κατανάλωση έως 5 για σπάνια ή καθόλου κατανάλωση. Σχετικά με την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών, η βαθμολογία ήταν 5 για κατανάλωση μικρότερη των 300 mL ημερησίως, 4 για 300 mL/ημέρα, 3 για 400 mL/ημέρα, 2 για 500 mL/ημέρα, 1 για 600 mL/ημέρα και 0 για κατανάλωση είτε >700 mL/ημέρα είτε μηδενική κατανάλωση. Υψηλότερες τιμές του προτεινόμενου διατροφικού δείκτη υποδεικνύουν συμμόρφωση με την παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή, ενώ χαμηλότερες τιμές υποδεικνύουν συμμόρφωση με το δυτικό πρότυπο διατροφής (Panagiotakos et al., 2006).

Ως καπνιστές χαρακτηρίστηκαν εκείνοι οι συμμετέχοντες που κάπνιζαν καθημερινά τουλάχιστον ένα τσιγάρο ή είχαν διακόψει το κάπνισμα κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους που προηγήθηκε της μελέτης. Οι υπόλοιποι συμμετέχοντες χαρακτηρίστηκαν ως μη καπνιστές. Ως παθητικοί καπνιστές χαρακτηρίστηκαν εκείνοι οι συμμετέχοντες που είχαν εκτεθεί στον καπνό ενεργών καπνιστών για χρονικό διάστημα άνω των 30 λεπτών την ημέρα και με συχνότητα μεγαλύτερη των 5 ημερών την εβδομάδα. Τα κριτήρια ορισμού του παθητικού καπνίσματος προέκυψαν από μελέτες που έχουν ερευνήσει τις επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο καρδιαγγειακό σύστημα (Panagiotakos et al., 2004, Barnoya et al., 2005).

Το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας αξιολογήθηκε με τη χρήση του διεθνούς ερωτηματολογίου αξιολόγησης της σωματικής δραστηριότητας (International Physical Activity

Questionnaire, IPAQ) όπως αυτό τροποποιήθηκε και προσαρμόστηκε στον ελληνικό πληθυσμό. Επίσης, στο ίδιο ερωτηματολόγιο καταγράφηκε η διάρκεια καθιστικών δραστηριοτήτων η οποία εκφράστηκε σε ώρες (Parathanasiou et al., 2009). Στο 1^ο σκέλος της μελέτης αξιολογήθηκαν η συνολική σωματική δραστηριότητα, η σωματική δραστηριότητα έντονης και μέτριας έντασης, η σωματική δραστηριότητα λόγω περπατήματος, οι οποίες εκφράζονται ως μεταβολικά ισοδύναμα (MET) επί την διάρκεια σε λεπτά ανά εβδομάδα (MET.min.week⁻¹). Στο 2^ο σκέλος της μελέτης αξιολογήθηκε το επίπεδο της σωματικής δραστηριότητας, το οποίο χαρακτηρίστηκε ως χαμηλό εφόσον το σύνολο των δραστηριοτήτων ανά εβδομάδα δεν υπερέβαινε τα 600 MET.min, ενώ χαρακτηρίστηκε ως μέτριο εφόσον το σύνολο των δραστηριοτήτων ανά εβδομάδα ήταν ίσο ή μεγαλύτερο των 600 MET.min.

3.3. Κλινική αξιολόγηση

Μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση στον δεξιό βραχίονα με τη βοήθεια ηλεκτρονικού πιεσόμετρου. Πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση και μετά την παρέλευση τουλάχιστον 30 λεπτών σε κατάσταση ηρεμίας. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε από καρδιολόγους ή εκπαιδευμένους διαιτολόγους. Οι συμμετέχοντες κατέγραψαν μόνοι τους σε ερωτηματολόγιο την παρουσία διαγνωσμένης από ιατρό υπέρτασης, υπερλιπιδαιμίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, καθώς και την φαρμακευτική θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των νοσημάτων.

Μετρήθηκαν και καταγράφηκαν η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια ισχίων, το ύψος και το βάρος. Η περιφέρεια μέσης μετρήθηκε στην περιοχή που ορίζεται από τη 12^η θωρακική πλευρά και το λαγόνιο οστόν. Η περιφέρεια ισχίων μετρήθηκε στην περιοχή των γλουτών στο ύψος της μέγιστης έκτασης. Το ύψος μετρήθηκε χωρίς υποδήματα, με ακρίβεια 0,5 εκατοστών και το βάρος μετρήθηκε με τη βοήθεια ζυγού με ράβδο εξισορρόπησης (lever balance), χωρίς υποδήματα και με ελαφρά ένδυση, με ακρίβεια 100 γραμμαρίων. Οι περιφέρειες μέσης και ισχίων εκφράζονται σε εκατοστά (cm), το ύψος σε εκατοστά (cm) και το βάρος σε χιλιόγραμμα (kg). Τέλος, υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) σε χιλιόγραμμα (kg) ανά τετραγωνικό μέτρο (m²) (βάρος/ύψος²). Βάσει των κριτηρίων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.), το υπερβάλλον βάρος ορίστηκε ως ΔΜΣ από 25 έως και 29,9 kg/m² και η παχυσαρκία ορίστηκε ως ΔΜΣ μεγαλύτερος από 29,9 kg/m².

3.4. Αιμοληψία και συλλογή ορού/ πλάσματος

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε φάση 12ωρης νηστείας, μεταξύ 08:00 και 10:00, στο βιοχημικό εργαστήριο του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου ή στον εργασιακό χώρο των συμμετεχόντων. Συλλέχθηκε φλεβικό αίμα, με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση. Είχαν δοθεί οδηγίες σωστής προετοιμασίας των συμμετεχόντων για την ημέρα πριν και ανήμερα της αιμοληψίας σχετικά με την αποχή από την κατανάλωση φαγητού, την ενυδάτωση, το κάπνισμα, την άσκηση και τη λήψη φαρμάκων. Οι οδηγίες αυτές δόθηκαν είτε τηλεφωνικά είτε μέσω ηλεκτρονικού μηνύματος.

Για την παραλαβή του ορού, συλλέχθηκαν 10 mL αίματος σε πλαστικό σωλήνα υπό κενό (BD Vacutainer) με επικάλυψη σιλικόνης και παράγοντα ενεργοποίησης (clot activator, CAT). Μετά τη συλλογή του δείγματος αίματος και την επαρκή ανάμειξη του αίματος με τον παράγοντα ενεργοποίησης (αναποδογύρισμα του σωλήνα 5 φορές), αφήσαμε το αίμα στον σωλήνα να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου (18 – 25 °C) για 60 λεπτά, σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (BD Vacutainer® Venous Blood Collection, Tube Guide). Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα. Αμέσως μετά την παρέλευση των 60 λεπτών, φυγοκεντρίσαμε τους σωλήνες στα 1500 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και παραλάβαμε τον ορό τον οποίο μοιράσαμε ισομερώς σε 5 erpendorf.

Για την παραλαβή του πλάσματος, συλλέχθηκαν 6 mL αίματος σε πλαστικό σωλήνα υπό κενό (BD Vacutainer) με επικάλυψη του αντιπηκτικού παράγοντα EDTA (αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ), συγκεκριμένα καλιούχου άλατος αυτού του παράγοντα (K₂-EDTA ή K₂E, EDTA-dipotassium salt). Μετά τη συλλογή του δείγματος αίματος, αναμίξαμε επαρκώς το αίμα με τον αντιπηκτικό παράγοντα (αναποδογύρισμα του σωλήνα 8 φορές), σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (BD Vacutainer® Venous Blood Collection, Tube Guide). Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα. Η τελική συγκέντρωση του αντιπηκτικού παράγοντα μετά την ανάμειξη υπολογίστηκε σε 4 mmol/L. Φυγοκεντρίσαμε τους σωλήνες εντός 60 λεπτών από την αιμοληψία, στα 1500 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και παραλάβαμε το πλάσμα το οποίο μοιράσαμε ισομερώς σε 5 erpendorf.

Αμέσως μετά την απομόνωσή τους, τα δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν σε καταψύκτη στους -80 °C μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

3.5. Βιοχημικές αναλύσεις

Μετρήθηκε η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης, της HDL-χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, της γλυκόζης, των ηπατικών ενζύμων (AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT) και της κρεατινίνης στον ορό. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στον αναλυτή COBAS 8000/ ROCHE στο βιοχημικό εργαστήριο της ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ Α.Ε. (διαπίστευση ELOT EN ISO: 15189, Ελληνικό Σύστημα Διαπίστευσης, Ε.ΣΥ.Δ.). Η μέθοδος προσδιορισμού των παραπάνω βιοχημικών δεικτών ήταν η φασματοφωτομετρία σε συγκεκριμένο μήκος κύματος χαρακτηριστικό για κάθε βιοχημικό δείκτη. Η ακρίβεια της μεθόδου για τη μέτρηση της ολικής χοληστερόλης είναι 2,06% (intra-assay CV) και 0,94% (inter-assay CV), της HDL-χοληστερόλης 1,50% και 0,80%, των τριγλυκεριδίων 1,80% και 1,98%, της γλυκόζης 1,97% και 1,28%, του ενζύμου AST/GOT 0,96% και 2,97%, του ενζύμου ALT/GPT 1,94% και 2,67%, του ενζύμου γ-GT 1,07% και 1,48%, της κρεατινίνης 2,23% και 1,94%. Η LDL-χοληστερόλη υπολογίστηκε βάσει της εξίσωσης Friedewald: (ολική χοληστερόλη) – (HDL-χοληστερόλη) – (τριγλυκερίδια/2.2) (Friedewald et al., 1972). Η εξίσωση αυτή χρησιμοποιήθηκε σε όλους τους συμμετέχοντες δεδομένου ότι κανένας δεν είχε συγκέντρωση τριγλυκεριδίων >4.5 mmol/L. Όλοι οι παραπάνω βιοχημικοί δείκτες μετρήθηκαν εις διπλούν και οι συγκεντρώσεις τους εκφράζονται σε mmol/L για την ολική χοληστερόλη, την HDL-χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τη γλυκόζη και την κρεατινίνη, ενώ οι συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων εκφράζονται σε U/L.

3.6. Μέτρηση συγκέντρωσης ινσουλίνης ορού

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Κλινικής Διαιτολογίας του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και το πρωτόκολλο μέτρησης που ακολουθήθηκε είναι εμπορικά διαθέσιμα (AIA-PACK IRI). Η ακρίβεια της μεθόδου για τη μέτρηση της συγκέντρωσης ινσουλίνης είναι <3% (intra- και inter-assay CV). Η συγκέντρωση ινσουλίνης εκφράζεται σε mU/L.

3.6.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης

Η μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης της ινσουλίνης είναι συνδυασμός ανοσολογικής τεχνικής, παρουσία δύο αντισωμάτων, με ενζυμική αντίδραση (two-site immunoenzymometric assay, ST AIA-PACK IRI). Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια: 1) η ινσουλίνη του δείγματος συνδέεται με ακινητοποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, 2) το οποίο συνδέεται με δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα που φέρει ένζυμο, 3) το οποίο επώάζεται με φθορίζον υπόστρωμα (4-methylumbelliferyl phosphate, 4MUP). Η ποσότητα του μονοκλωνικού αντισώματος που φέρει το ένζυμο και η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο δείγμα είναι ευθέως ανάλογα ποσά και ο προσδιορισμός της άγνωστης συγκέντρωσης ινσουλίνης στο δείγμα υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

3.6.2. Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- Αναλυτής TOSOH AIA-600 II

Αναλώσιμα/αντιδραστήρια:

- Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- Αυτόματες πιπέτες
- Απεσταγμένο νερό
- ST AIA-PACK IRI (Cat. No. 0025260)
 - 5 trays x 20 plastic test cups (περιέχουν λυοφιλοποιημένα 8 μαγνητικά σφαιρίδια επικεκαλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα ινσουλίνης και 100 μ L μονοκλωνικού αντισώματος ινσουλίνης συζευγμένου με αλκαλική φωσφατάση)
- AIA-PACK substrate SET II (Cat. No. 0020968)
 - AIA-PACK substrate reagent II
 - AIA-PACK substrate reconstituent II
- AIA-PACK IRI calibrator set (Cat. No. 0020360)
 - AIA-PACK IRI calibrator (1) 0 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (2) 20 μ U/mL

- AIA-PACK IRI calibrator (3) 40 $\mu\text{U/mL}$
- AIA-PACK IRI calibrator (4) 80 $\mu\text{U/mL}$
- AIA-PACK IRI calibrator (5) 160 $\mu\text{U/mL}$
- AIA-PACK IRI calibrator (6) 340 $\mu\text{U/mL}$
- AIA-PACK IRI sample diluting solution (Cat. No. 0020560)
- AIA-PACK wash concentrate (Cat. No. 0020955)
- AIA-PACK diluent concentrate (Cat. No. 0020956)
- Sample cups (Cat. No. 0018581)
- AIA-PACK detector standardization test cup (Cat. No. 0020970)
- AIA-PACK sample treatment cup (Cat. No. 0020971)

3.6.3. Προετοιμασία διαλύματων

- Παρασκευάζουμε το διάλυμα υποστρώματος. Αναμειγνύουμε το περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK substrate reconstituent II με το λυοφιλοποιημένο περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK substrate reagent II.
- Παρασκευάζουμε το διάλυμα πλύσης. Αραιώνουμε το περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK wash concentrate (100 mL) με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 2,5 L.
- Αραιώνουμε το περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK diluent concentrate (100 mL) με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 5 L.

3.6.4. Πειραματική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- Κατασκευάζουμε την καμπύλη βαθμονόμησης (calibration curve). Αναδιαλύουμε τα λυοφιλοποιημένα αντιδραστήρια AIA-PACK IRI calibrator (2)-(6) με 1 mL απεσταγμένου νερού, ενώ το αντιδραστήριο AIA-PACK IRI calibrator (1) είναι έτοιμο προς χρήση. Κάθε μέτρηση πραγματοποιείται εις τριπλούν.
- Τοποθετούμε τα δείγματα ορού στον αναλυτή και πραγματοποιούμε τη μέτρηση ινσουλίνης βάσει των οδηγιών χειρισμού του αναλυτή. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης στον ορό πραγματοποιήθηκε μία φορά.

3.6.5. Υπολογισμός

Οι αναλυτές συστημάτων TOSOH AIA εκτελούν αυτόματα όλες τις διαδικασίες χειρισμού δειγμάτων και αντιδραστηρίων. Οι αναλυτές συστημάτων TOSOH AIA διαβάζουν τον ρυθμό παραγωγής φθορισμού από την αντίδραση και μετατρέπουν αυτόματα τον ρυθμό σε συγκέντρωση ινσουλίνης.

3.7. Μέτρηση συγκέντρωσης ολικής αντιπνεκτίνης πλάσματος

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας και Μικροβιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και το πρωτόκολλο μέτρησης που ακολουθήθηκε είναι εμπορικά διαθέσιμα (Quantikine® ELISA, R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, U.K.). Το εύρος μέτρησης της μεθόδου είναι 3.9 - 250 ng/mL και η ακρίβεια της μεθόδου είναι <7% (intra- και inter-assay CV). Η συγκέντρωση της αντιπνεκτίνης εκφράζεται σε μg/mL.

3.7.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ολικής αντιπνεκτίνης βασίστηκε στη μέθοδο μη ισοτοπικού ανοσολογικού προσδιορισμού ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια: 1) η αντιπνεκτίνη του δείγματος συνδέεται με ακινητοποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, 2) τα ακινητοποιημένα μόρια αντιπνεκτίνης συνδέονται με ένα δεύτερο μονοκλωνικό ειδικό αντίσωμα το οποίο φέρει ένζυμο, 3) το ένζυμο επωάζεται με συγκεκριμένο υπόστρωμα με σκοπό την κατάλυση της ενζυμικής αντίδρασης και την παραγωγή χρωμοφόρου προϊόντος, 4) η ενζυμική αντίδραση αναστέλλεται με την προσθήκη ανασταλτικού παράγοντα (προσθήκη οξέος, π.χ. θειϊκού οξέος). Η ποσότητα του χρωμοφόρου προϊόντος (ένταση χρώματος) και η συγκέντρωση της αντιπνεκτίνης είναι ευθέως ανάλογα ποσά και ο προσδιορισμός της άγνωστης συγκέντρωσης αντιπνεκτίνης στο δείγμα υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

3.7.2. Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- καταγραφέας απορρόφησης ELISA

Αναλώσιμα/αντιδραστήρια:

- Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- Αυτόματες πιπέτες
- kit μέτρησης αντιπονεκτίνης (DRP300)
 - Πλακίδιο 96 πηγαδιών επικεκαλυμμένων με μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού, το οποίο είναι ειδικό για το σφαιρικό τμήμα της αντιπονεκτίνης
 - Μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού, ειδικό για το σφαιρικό τμήμα της αντιπονεκτίνης, συζευγμένου με υπεροξειδάση - horseradish peroxidase, HRP - (21 mL/φιαλίδιο)
 - Λυοφιλοποιημένη ανασυνδυασμένη αντιπονεκτίνη ανθρώπου (500 ng/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα assay diluent RD1W (11 mL/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα calibrator diluent RD6-39 (21 mL/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate (21 mL/φιαλίδιο)
 - Σταθεροποιημένο υπεροξείδιο του υδρογόνου - color reagent A (12 mL/φιαλίδιο)
 - Σταθεροποιημένο χρωμογόνο (τετραμεθυλοβενζιδίνη, TMB) - color reagent B (12 mL/φιαλίδιο)
 - Διάλυμα θειϊκού οξέος 2 N (6 mL/φιαλίδιο)
 - Αυτοκόλλητες ταινίες
- Απεσταγμένο νερό

3.7.3. Προετοιμασία διαλύματων

- Αραιώνουμε τα δείγματα πλάσματος με ρυθμιστικό διάλυμα calibrator diluent RD6-39 (αραίωση 1:100).
- Αραιώνουμε το ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 500 mL.

- Αναδιαλύουμε τη λυοφιλοποιημένη ανασυνδυασμένη αντιγονεκτίνη ανθρώπου με 2 mL ρυθμιστικού διαλύματος calibrator diluent RD6-39. Ανακινούμε προσεκτικά και σχολαστικά το μείγμα για την παρασκευή διαλύματος αντιγονεκτίνης συγκέντρωσης 250 ng/mL.
- Πραγματοποιούμε κατάλληλες διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος αντιγονεκτίνης (250 ng/mL) με ρυθμιστικό διάλυμα calibrator diluent RD6-39 για την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων αντιγονεκτίνης (250 → 125 → 62,5 → 31,2 → 15,6 → 7,8 → 3,9 ng/mL).
- Αναμειγνύουμε τα αντιδραστήρια color reagent A και color reagent B, σε αναλογία 1:1, 15 λεπτά πριν από την προσθήκη του μείγματος στα πηγαδάκια του πλακιδίου (200 μL/πηγαδάκι).

3.7.4. Πειραματική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- Προσθέτουμε 100 μL ρυθμιστικού διαλύματος assay diluent RD1W σε κάθε πηγαδάκι.
- Προσθέτουμε 50 μL πρότυπου διαλύματος αντιγονεκτίνης (3,9 – 250 ng/mL) ή ρυθμιστικού διαλύματος calibrator diluent RD6-39 (τυφλό) ή αραιωμένου δείγματος πλάσματος σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε το πλακίδιο με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 ώρες.
- Απομακρύνουμε το διάλυμα από κάθε πηγαδάκι με αναρρόφηση και πλένουμε με αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate. Συνολικά πραγματοποιούμε 3 αναρροφήσεις και 4 πλυσίματα με την προσθήκη 400 μL αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος wash buffer concentrate σε κάθε πηγαδάκι.
- Προσθέτουμε 200 μL διαλύματος μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού συζευγμένου με υπεροξειδάση (HRP) σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 ώρες.
- Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία αναρρόφησης (x3) και πλύσης (x4) που περιγράφηκε παραπάνω.
- Προσθέτουμε 200 μL του μείγματος color reagent A και color reagent B σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 30 λεπτά απουσία πηγής φωτός.

- Προσθέτουμε 50 μL διαλύματος θειϊκού οξέος σε κάθε πηγαδάκι. Ανακινούμε με κυκλικές κινήσεις προσεκτικά το πλακίδιο για την πλήρη ανάμειξη των αντιδραστηρίων και τη μετατροπή του χρώματος της αντίδρασης από μπλέ σε κίτρινο.
- Μετρούμε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 450 nm (κύρια μέτρηση) και σε μήκος κύματος 570 nm (για διόρθωση της κύριας μέτρησης).

3.7.5. Υπολογισμός

- Υπολογίζουμε την μέση τιμή απορρόφησης κάθε πρότυπου διαλύματος αντιπνεκτίνης και του τυφλού στα μήκη κύματος 450 και 570 nm.
- Αφαιρούμε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 570 nm από την απορρόφηση σε μήκος κύματος 450 nm για το τυφλό, κάθε πρότυπο διάλυμα αντιπνεκτίνης και κάθε αραιωμένο δείγμα.
- Αφαιρούμε την διορθωμένη απορρόφηση του τυφλού από την διορθωμένη απορρόφηση κάθε πρότυπου διαλύματος αντιπνεκτίνης και κάθε αραιωμένου δείγματος.
- Κατασκευάζουμε την πρότυπη καμπύλη αναφοράς του δεκαδικού λογάριθμου ($\log_{10}$) της απορρόφησης συναρτήσει του δεκαδικού λογάριθμου ($\log_{10}$) της συγκέντρωσης αντιπνεκτίνης των προτύπων διαλυμάτων (γραμμική συνάρτηση).
- Υπολογίζουμε τον δεκαδικό λογάριθμο της απορρόφησης κάθε αραιωμένου δείγματος και εκτιμούμε τον δεκαδικό λογάριθμο της συγκέντρωσης αντιπνεκτίνης στο αραιωμένο δείγμα βάσει της πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Απολογαριθμίζουμε και με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε τη συγκέντρωση αντιπνεκτίνης στα αραιωμένα δείγματα πλάσματος.
- Πολλαπλασιάζουμε με τον συντελεστή αραιώσης ($\times 100$) για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης αντιπνεκτίνης στα μη αραιωμένα δείγματα πλάσματος.

Σημείωση¹: Τα πρότυπα διαλύματα αντιπνεκτίνης, καθώς και το τυφλό μετρήθηκαν εις διπλούν. Όσον αφορά στα δείγματα πλάσματος, η μέτρηση της συγκέντρωσης της αντιπνεκτίνης πραγματοποιήθηκε μία φορά.

3.8. Μέτρηση συγκέντρωσης ιντερλευκίνης-6 πλάσματος

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας και Μικροβιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν,

καθώς και το πρωτόκολλο μέτρησης που ακολουθήθηκε είναι εμπορικά διαθέσιμα (Quantikine® HS ELISA, R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, U.K.). Το εύρος μέτρησης της μεθόδου είναι 0.156 -10 pg/mL και η ακρίβεια της μεθόδου είναι <10% (intra- και inter-assay CV). Η συγκέντρωση της IL-6 εκφράζεται σε pg/mL.

3.8.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης τόσο της IL-6 βασίστηκε στη μέθοδο μη ισοτοπικού ανοσολογικού προσδιορισμού ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια: 1) η IL-6 του δείγματος συνδέεται με ακινητοποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, 2) τα ακινητοποιημένα μόρια IL-6 συνδέονται με ένα δεύτερο πολυκλωνικό ειδικό αντίσωμα το οποίο φέρει ένζυμο, 3) το ένζυμο επωάζεται με συγκεκριμένο υπόστρωμα με σκοπό την κατάλυση της ενζυμικής αντίδρασης και την παραγωγή χρωμοφόρου προϊόντος, 4) η ενζυμική αντίδραση αναστέλλεται με την προσθήκη ανασταλτικού παράγοντα (προσθήκη οξέος, π.χ. θειϊκού οξέος). Η ποσότητα του χρωμοφόρου προϊόντος (ένταση χρώματος) και η συγκέντρωση της IL-6 είναι ευθέως ανάλογα ποσά και ο προσδιορισμός της άγνωστης συγκέντρωσης IL-6 στο δείγμα υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

3.8.2. Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- καταγραφέας απορρόφησης ELISA

Αναλώσιμα/αντιδραστήρια:

- Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- Αυτόματες πιπέτες
- kit μέτρησης IL-6 (HS600B)
 - Πλακίδιο 96 πηγαδιών επικεκαλυμμένων με μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για την IL-6 ανθρώπου

- Πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό για την IL-6 ανθρώπου, συζευγμένου με αλκαλική φωσφατάση (21 mL/φιαλίδιο)
 - Λυοφιλοποιημένη ανασυνδυασμένη IL-6 ανθρώπου (50 pg/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα assay diluent RD1-75 (11 mL/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα calibrator diluent RD6-11 (21 mL/φιαλίδιο)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate (100 mL/φιαλίδιο)
 - Λυοφιλοποιημένο NADPH (υπόστρωμα)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα substrate diluent (7 mL/φιαλίδιο)
 - Λυοφιλοποιημένα ένζυμα – ενισχυτές (amplifier enzymes)
 - Ρυθμιστικό διάλυμα amplifier diluent (7mL/φιαλίδιο)
 - Διάλυμα θειϊκού οξέος 2 N (6 mL/φιαλίδιο)
 - Αυτοκόλλητες ταινίες
- Απεσταγμένο νερό

3.8.3. Προετοιμασία διαλύματων

- Αραιώνουμε το ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 1000 mL.
- Αναδιαλύουμε το λυοφιλοποιημένο υπόστρωμα (NADPH) με 6 mL ρυθμιστικού διαλύματος substrate diluent, τουλάχιστον 10 λεπτά πριν από τη χρήση του. Ανακινούμε προσεκτικά και σχολαστικά για την ομογενοποίηση του μείγματος.
- Αναδιαλύουμε τα λυοφιλοποιημένα ένζυμα – ενισχυτές (amplifier enzymes) με 6 mL ρυθμιστικού διαλύματος amplifier diluent, τουλάχιστον 10 λεπτά πριν από τη χρήση του. Ανακινούμε προσεκτικά και σχολαστικά για την ομογενοποίηση του μείγματος.
- Αναδιαλύουμε τη λυοφιλοποιημένη ανασυνδυασμένη IL-6 ανθρώπου με 5 mL ρυθμιστικού διαλύματος calibrator diluent RD6-11. Ανακινούμε προσεκτικά και σχολαστικά το μείγμα για την παρασκευή διαλύματος IL-6 συγκέντρωσης 10 pg/mL.
- Πραγματοποιούμε κατάλληλες διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος IL-6 συγκέντρωσης 10 pg/mL με ρυθμιστικό διάλυμα calibrator diluent RD6-11 για την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων IL-6 ($10 \rightarrow 5 \rightarrow 2,5 \rightarrow 1,25 \rightarrow 0,625 \rightarrow 0,313 \rightarrow 0,156$ pg/mL).

3.8.4. Πειραματική πορεία

Όλα τα διαλύματα πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- Προσθέτουμε 100 μL ρυθμιστικού διαλύματος assay diluent RD1-75 σε κάθε πηγαδάκι.
- Προσθέτουμε 100 μL πρότυπου διαλύματος IL-6 (0,156 – 10 pg/mL) ή ρυθμιστικού διαλύματος calibrator diluent RD6-11 (τυφλό) ή δείγματος πλάσματος σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε το πλακίδιο με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 ώρες.
- Απομακρύνουμε το διάλυμα από κάθε πηγαδάκι με αναρρόφηση και πλένουμε με αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα wash buffer concentrate. Συνολικά πραγματοποιούμε 5 αναρροφήσεις και 6 πλυσίματα με την προσθήκη 400 μL αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος wash buffer concentrate σε κάθε πηγαδάκι.
- Προσθέτουμε 200 μL διαλύματος πολυκλωνικού αντισώματος συζευγμένου με αλκαλική φωσφατάση σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 ώρες.
- Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία αναρρόφησης (x5) και πλύσης (x6) που περιγράφηκε παραπάνω.
- Προσθέτουμε 50 μL διαλύματος υποστρώματος NADPH σε κάθε πηγαδάκι. Καλύπτουμε με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 60 λεπτά.
- Προσθέτουμε 50 μL διαλύματος ενζύμων – ενισχυτών (amplifier enzymes solution) σε κάθε πηγαδάκι για την έναρξη της ανάπτυξης χρώματος. Καλύπτουμε με αυτοκόλλητη ταινία. Επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 30 λεπτά.
- Προσθέτουμε 50 μL διαλύματος θειϊκού οξέος σε κάθε πηγαδάκι. Ανακινούμε με κυκλικές κινήσεις προσεκτικά το πλακίδιο για την πλήρη ανάμειξη των αντιδραστηρίων.
- Μετρούμε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 490 nm (κύρια μέτρηση) και σε μήκος κύματος 690 nm (για διόρθωση της κύριας μέτρησης).

3.8.5. Υπολογισμός

- Υπολογίζουμε την μέση τιμή απορρόφησης κάθε πρότυπου διαλύματος IL-6 και του τυφλού στα μήκη κύματος 490 και 690 nm.

- Αφαιρούμε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 690 nm από την απορρόφηση σε μήκος κύματος 490 nm για το τυφλό, κάθε πρότυπο διάλυμα IL-6 και κάθε δείγμα.
- Αφαιρούμε την διορθωμένη απορρόφηση του τυφλού από την διορθωμένη απορρόφηση κάθε προτύπου διαλύματος IL-6 και κάθε δείγματος.
- Κατασκευάζουμε την πρότυπη καμπύλη αναφοράς του δεκαδικού λογάριθμου ($\log_{10}$) της απορρόφησης συναρτήσει του δεκαδικού λογάριθμου ($\log_{10}$) της συγκέντρωσης IL-6 των προτύπων διαλυμάτων (γραμμική συνάρτηση).
- Υπολογίζουμε τον δεκαδικό λογάριθμο της απορρόφησης κάθε δείγματος και εκτιμούμε τον δεκαδικό λογάριθμο της συγκέντρωσης IL-6 στο δείγμα βάσει της πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Απολογαριθμίζουμε και με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε τη συγκέντρωση IL-6 στα δείγματα πλάσματος.

Σημείωση¹: Τα πρότυπα διαλύματα IL-6, καθώς και το τυφλό μετρήθηκαν εις διπλούν. Όσον αφορά στα δείγματα πλάσματος, η μέτρηση της συγκέντρωσης της IL-6 πραγματοποιήθηκε μία φορά.

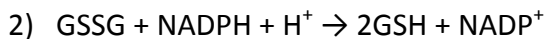
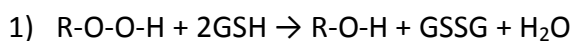
3.9. Μέτρηση δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στον ορό

Η μέτρηση της δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στον ορό πραγματοποιήθηκε βάσει πρωτοκόλλου που αναπτύχθηκε από το εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας και Μικροβιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Ακολουθεί η περιγραφή του πρωτοκόλλου:

3.9.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (glutathione peroxidase, GPx) δρα ως αντιοξειδωτικός παράγοντας καταλύοντας την αναγωγή των υδροϋπεροξειδίων ($R-O-O-H$), συμπεριλαμβανομένου του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), παρουσία ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH). Η GPx είναι τετραμερές ένζυμο και κάθε υπομονάδα της φέρει ένα μόριο σεληνοκυστεΐνης στο ενεργό της κέντρο και συμμετέχει στην αναγωγή του υπεροξειδίου του υποστρώματος.

Η μέτρηση της δραστικότητας της GPx του ορού (GPx3) βασίζεται σε φασματοφωτομετρική μέθοδο και χαρακτηρίζεται ως έμμεση επειδή στηρίζεται σε δύο συζευγμένες ενζυμικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις:



Η πρώτη αντίδραση καταλύεται από την GPx και οδηγεί στην παραγωγή οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG). Η δεύτερη αντίδραση καταλύεται από την αναγωγάση της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR) και οδηγεί στην αναγωγή της γλουταθειόνης (2GSH) με ταυτόχρονη οξείδωση του NADPH προς NADP⁺. Η NADPH είναι το υπόστρωμα που απορροφά ακτινοβολία σε μήκος κύματος 340 nm (A₃₄₀) και η σταδιακή οξείδωσή του προς NADP⁺ οδηγεί σε μείωση του βαθμού απορρόφησης στο συγκεκριμένο μήκος κύματος. Η δραστικότητα της GPx στο δείγμα είναι ευθέως ανάλογη με τον ρυθμό μείωσης της απορρόφησης στα 340 nm στις περιπτώσεις όπου η μεταβολή της απορρόφησης σε συνάρτηση με το χρόνο είναι σταθερή (γραμμική συσχέτιση).

3.9.2. Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- καταγραφέας απορρόφησης ELISA

Αναλώσιμα:

- Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- Αυτόματες πιπέτες
- Πλακίδια 96 θέσεων (επίπεδη βάση, κατάλληλα για ακτινοβολία UV)

Στερεά αντιδραστήρια/Διαλύτες:

- Μονοβασικό φωσφορικό νάτριο (sodium phosphate monobasic, Na₂PO₄·H₂O)
- Άλας αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικού οξέος (ethylene-diamine-tetraacetic acid, EDTA, tetrasodium salt) (Sigma, E6511)
- Αζιδιούχο νάτριο (sodium azide) (Sigma, S-2002)

- Άλας φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, ανηγμένη μορφή, β -NADPH, tetrasodium salt (N1630, μοριακό βάρος= 833,35), 25 mg
- Αναγωγή της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR) (Sigma, G-3664)
- Ανηγμένη μορφή γλουταθειόνης (reduced glutathione, GSH) (Sigma, G-4251)
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2 30%) (Sigma, H-1009)

3.9.3. Προετοιμασία διαλυμάτων

Παρασκευάζουμε το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (phosphate buffer saline, PBS) και κατόπιν το ρυθμιστικό διάλυμα αζιδιούχου νατρίου. Έπειτα παρασκευάζουμε το διάλυμα της αναγωγής της γλουταθειόνης (GR), το διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH), το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και το διάλυμα NADPH. Ο τρόπος παρασκευής των διαλυμάτων περιγράφεται ακολούθως:

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50 mM με EDTA 0,4 mM, pH 7,0 (PBS/EDTA): 6,900 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ και 0,1665 g EDTA σε 1000 mL απεσταγμένο νερό. Ρύθμιση pH με NaOH 1M
 - Ρυθμιστικό διάλυμα αζιδιούχου νατρίου 1 mM σε PBS 50 mM/EDTA 0,4 mM/pH 7,0 (PBS/sodium azide): 0,0032 g NaN_3 σε 50 mL PBS/EDTA
- Διάλυμα αναγωγής της γλουταθειόνης 100 U/mL (GR): Αραίωση stock διαλύματος αναγωγής με παγωμένο απεσταγμένο νερό. Απευθείας αραίωση κατά την παρασκευή του μείγματος της αντίδρασης. Παρασκευάζεται αμέσως πριν το πείραμα
- Διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης 200 mM (GSH): 0,0615 g σε 1 mL απεσταγμένο νερό
- Διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου 0.0084% (H_2O_2): 1,12 μL διαλύματος H_2O_2 από το stock διάλυμα (30%) και 3999 μL απεσταγμένο νερό. Παρασκευάζεται αμέσως πριν το πείραμα
- Διάλυμα NADPH: Προσθήκη 2500 μL ρυθμιστικού διαλύματος αζιδιούχου νατρίου σε stock NADPH, αναδιάλυση με ήπια ανακίνηση, ρύθμιση του pH στο 7,0 (εφόσον κρίνεται απαραίτητο) και διαμοιρασμός σε Eppendorf ανά 100 μL

3.9.4. Πειραματική πορεία

Όλα τα διαλύματα πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- Παρασκευάζουμε το μείγμα αντίδρασης σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα. Αναμειγνύουμε 7371 μL PBS/sodium azide, 20 μL διαλύματος GR, 70 μL H_2O , 45 μL διαλύματος GSH και 90 μL διαλύματος NADPH
- Προσθέτουμε 180 μL μείγματος αντίδρασης σε κάθε πηγαδάκι ενός πλακιδίου 96 θέσεων
- Προσθέτουμε 50 μL απεσταγμένου νερού στο πηγαδάκι του τυφλού (blank) ή 50 μL ορού (που περιέχει την GPx3) σε κάθε ένα από τα υπόλοιπα πηγαδάκια
- Αναμειγνύουμε με τη βοήθεια tip και αφήνουμε το μείγμα για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου
- Προσθέτουμε 25 μL H_2O_2 σε κάθε πηγαδάκι για την έναρξη των ενζυμικών αντιδράσεων
- Τοποθετούμε το πλακίδιο στον καταγραφέα απορρόφησης ELISA και μετράμε την απορρόφηση στους 37 $^\circ\text{C}$, σε μήκος κύματος 340 nm (A_{340}), ανά 1 λεπτό για συνολική χρονική διάρκεια 10 λεπτών

Σημείωση¹: Κάθε φορά προσθέτουμε τα διαλύματα της αντίδρασης στα πηγαδάκια μίας σειράς (από το Α έως το Η) ή μίας στήλης (από το 1 έως το 12) του πλακιδίου 96 θέσεων όπου το πρώτο πηγαδάκι προορίζεται για το τυφλό.

Σημείωση²: Κάθε δείγμα μετράται εις διπλούν.

3.9.5. Υπολογισμός της δραστικότητας της GPx3

Για τον υπολογισμό της δραστικότητας της GPx3 χρησιμοποιούμε την εξίσωση:

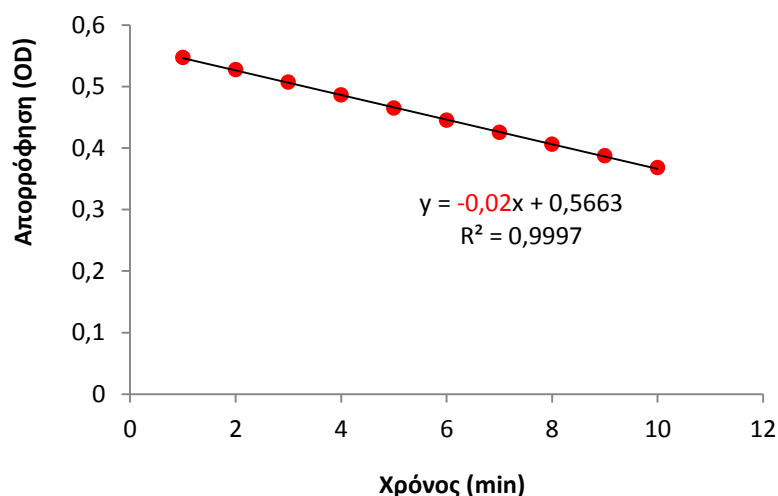
$$\text{Δραστικότητα GPx3} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min, sample} - \Delta A_{340}/\text{min, blank}}{0,00560 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{255 \mu\text{L}}{50 \mu\text{L}} \times 2$$

Ακολουθεί η επεξήγηση των συστατικών στοιχείων της εξίσωσης υπολογισμού της δραστικότητας της GPx3:

(1) Σχεδιάζουμε το γράφημα της απορρόφησης του NADPH στα 340 nm (A_{340}) σε συνάρτηση με το χρόνο (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 και 10 min) και καταγράφουμε την κλίση του

ευθύγραμμου τμήματος της καμπύλης η οποία αντιστοιχεί στο ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του NADPH ($\Delta A_{340}/\text{min}$) (σχήμα 3, κόκκινη επισήμανση στην πρωτοβάθμια εξίσωση). Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα, καθώς και για το τυφλό κάθε σειράς μετρήσεων. Επειδή η απορρόφηση του NADPH μειώνεται συν τω χρόνω, η κλίση της ευθείας έχει αρνητική τιμή, ωστόσο λαμβάνουμε την απόλυτη τιμή της κλίσης για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της GPx3.

Στη συνέχεια, αφαιρούμε τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του τυφλού ($\Delta A_{340}/\text{min}$, blank) από τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του δείγματος ($\Delta A_{340}/\text{min}$, sample). Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης που οφείλεται αποκλειστικά στη μείωση της συγκέντρωσης του NADPH λόγω της συζευγμένης δράσης της GPx3 του δείγματος και της αναγωγάσης της γλουταθειόνης του μείγματος της αντίδρασης ($\Delta A_{340}/\text{min}$, sample - $\Delta A_{340}/\text{min}$, blank).



Σχήμα 3. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) του NADPH σε μήκος κύματος 340 nm (A_{340}) συναρτήσει του χρόνου (t , min), $t = f(A_{340})$.

(2) Ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης (ϵ) του NADPH σε μήκος κύματος 340 nm είναι $0,00622 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ και εκφράζει την απορρόφηση 1 μM NADPH για μήκος οπτικής διαδρομής ίσο με 1 cm. Ωστόσο, το μήκος της οπτικής διαδρομής στο πείραμα είναι ίσο με 0,9 cm και συνεπώς ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης ισούται με $0,00560 \mu\text{M}^{-1}$.

(3) Διαιρώντας το $\Delta A_{340}/\text{min, sample} - \Delta A_{340}/\text{min, blank}$ με τον συντελεστή μοριακής απορρόφησης του NADPH στο μήκος της οπτικής διαδρομής του πειράματος, δηλαδή $0,00560 \mu\text{M}^{-1}$, υπολογίζουμε τη συγκέντρωση του NADPH (μM) που καταναλώνεται ανά λεπτό (min). Ωστόσο για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της GPx3, πρέπει να γνωρίζουμε τα μmol NADPH. Συνεπώς, πολλαπλασιάζουμε τα $\mu\text{M}/\text{min}$ με τον τελικό όγκο της ενζυμικής αντίδρασης (255 μL). Για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της GPx3 στα δείγματα διαιρούμε με τον όγκο του ορού που προσθέσαμε σε κάθε πηγαδάκι (50 μL).

(4) Ως μονάδα ενζυμικής δραστηριότητας (1U: International Unit) ορίζεται το ποσό του ενζύμου που «αλλοιώνει» 1 μmol υποστρώματος ανά λεπτό ($\text{U}=\mu\text{mol}/\text{min}$). Στην προκειμένη περίπτωση, ως υπόστρωμα θεωρείται το NADPH το οποίο «αλλοιώνεται» από το ένζυμο αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) που υπάρχει στο μείγμα της αντίδρασης. Στην οξειδοαναγωγική αντίδραση που καταλύει αυτό το ένζυμο, το οξειδωτικό υπόστρωμα είναι η οξειδωμένη μορφή της γλουταθειόνης για την παραγωγή της οποίας απαιτούνται 2 μόρια ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) στην οξειδοαναγωγική αντίδραση που καταλύεται από την GPx3 που υπάρχει στο δείγμα ορού. Συνεπώς, για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της GPx3 απαιτείται διόρθωση μέσω πολλαπλασιασμού με το 2.

Η δραστηριότητα της GPx3 εκφράζεται ως $\mu\text{mol}/\text{min}$ ή U.

3.10. Μέτρηση του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση και του μέγιστου ρυθμού οξείδωσης

Η μέτρηση του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση και του μέγιστου ρυθμού οξείδωσης πραγματοποιήθηκε βάσει πρωτοκόλλου που αναπτύχθηκε από το εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας και Μικροβιολογίας του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου. Ακολουθεί η περιγραφή του πρωτοκόλλου:

3.10.1. Αρχή μεθόδου μέτρησης

Με το διάλυμα CuSO_4 επάγεται η οξείδωση λιποειδικών μορίων του ορού. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται σε μήκος κύματος 245 nm όπου ανιχνεύονται κυρίως

λιποειδικά υδροϋπεροξειδία (συζυγή διένια) και 7-κετοχοληστερόλη (Pinchuk and Lichtenberg, 1996).

3.10.2. Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- καταγραφέας απορρόφησης ELISA

Αναλώσιμα:

- Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- Αυτόματες πιπέτες
- Πλαστικός σωλήνας των 50 mL με καπάκι (falcon)
- Πλακίδιο των 96 θέσεων (στρογγυλή βάση)
- Πλακίδια 96 θέσεων (επίπεδη βάση, κατάλληλα για ακτινοβολία UV)

Αντιδραστήρια:

- Stock διάλυμα CuSO_4 20mM: Ζυγίζονται 0,0250 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (μοριακό βάρος= 249,68) και διαλύονται σε 2,5ml H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου.
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS): Αναδιαλύονται σε 500 mL απεσταγμένου νερού 4,5 g NaCl, 0,4538 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1204 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και ρυθμίζεται το pH στο 7,4.

3.10.3. Πειραματική πορεία

- Αραιώνουμε το δείγμα ορού με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (αναλογία 1:12). Συγκεκριμένα, αναμειγνύουμε 5 μL ορού και 55 μL PBS (τελικός όγκος 60 μL) σε πλακίδιο των 96 θέσεων με στρογγυλή βάση.
- Παρασκευάζουμε διάλυμα CuSO_4 16 μM σε PBS: Για ένα πλακίδιο των 96 θέσεων αναμειγνύουμε 20 μL CuSO_4 με 22,98 mL PBS σε πλαστικό σωλήνα των 50 mL με καπάκι.

- Τοποθετούμε 20 μL αραιωμένου δείγματος ορού σε κάθε πηγαδάκι ενός πλακιδίου των 96 θέσεων με επίπεδη βάση.
- Προσθέτουμε 230 μL μείγματος CuSO_4/PBS σε κάθε πηγαδάκι του πλακιδίου που φέρει αραιωμένο δείγμα ορού προκειμένου να ξεκινήσει η οξείδωση.
- Τοποθετούμε το πλακίδιο στον καταγραφέα απορρόφησης ELISA και μετράμε την απορρόφηση στους 37 $^{\circ}\text{C}$, σε μήκος κύματος 245 nm (A_{245}), ανά 2 λεπτά για συνολική χρονική διάρκεια 3 ½ ωρών.

Σημείωση¹: Σε κάθε μέτρηση χρησιμοποιούνται όλα τα πηγαδάκια ενός πλακιδίου των 96 θέσεων.

Σημείωση²: Κάθε δείγμα μετράται εις διπλούν.

3.10.4. Υπολογισμός του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση και του μέγιστου ρυθμού οξείδωσης

Σχεδιάζουμε το γράφημα της απορρόφησης σε συνάρτηση με το χρόνο (σχήμα 4). Η γραφική παράσταση έχει τη μορφή σιγμοειδούς καμπύλης η οποία χωρίζεται σε 3 διακριτές φάσεις (Aurrekoetxa et al., 2010):

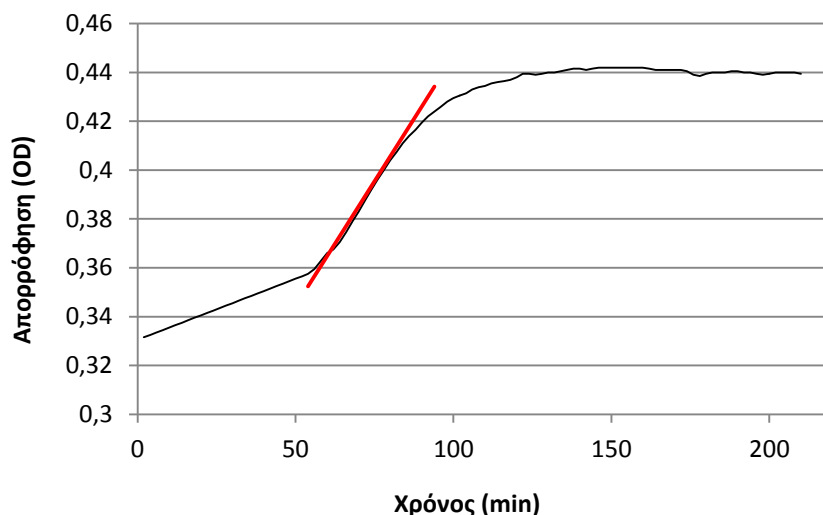
1) Η λανθάνουσα φάση (lag phase), δηλαδή ο χρόνος που μεσολαβεί από την προσθήκη διαλύματος του οξειδωτικού παράγοντα CuSO_4 στον ορό έως την παραγωγή ανιχνεύσιμης συγκέντρωσης λιποειδικών υπεροξειδίων. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης αναλώνονται τα αντιοξειδωτικά συστατικά του ορού.

2) Η φάση εξάπλωσης (propagation phase), δηλαδή ο χρόνος μέσα στον οποίο λιποειδή του ορού, κυρίως η χοληστερόλη και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, υφίστανται ταχεία οξείδωση προς 7-κετοχοληστερόλη και λιποειδικά υπεροξείδια λόγω εξάντλησης των αντιοξειδωτικών συστατικών του ορού.

3) Η φάση διάσπασης (decomposition phase), δηλαδή ο χρόνος κατά τη διάρκεια του οποίου η 7-κετοχοληστερόλη και τα λιποειδικά υπεροξείδια μετατρέπονται σε άλλες ενώσεις (π.χ. αλδεΐδες).

Στην παρούσα εργασία αξιολογήσαμε τον χρόνο αντίστασης του ορού στην οξείδωση (lag time, χρονική διάρκεια λανθάνουσας φάσης), καθώς και τον μέγιστο ρυθμό ή ταχύτητα

συσσώρευσης προϊόντων οξείδωσης στον ορό ($V_{\max}$) στη φάση εξάπλωσης. Το lag time εκφράζεται σε λεπτά (min) και η $V_{\max}$ σε (mOD/min, δηλαδή μονάδες οπτικής πυκνότητας ή απορρόφησης ανά λεπτό).



Σχήμα 4. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) των λιποειδικών υπεροξειδίων του ορού σε μήκος κύματος 245 nm (A_{245}) συναρτήσει του χρόνου (t , min), $t = f(A_{245})$. Η γραφική παράσταση έχει τη μορφή σιγμοειδούς καμπύλης (μαύρη γραμμή). Η κλίση της εφαπτομένης της καμπύλης (κόκκινη γραμμή) είναι η μέγιστη ταχύτητα συσσώρευσης προϊόντων οξείδωσης στον ορό ($V_{\max}$).

3.11. Εκτίμηση νεφρικής λειτουργίας και ινσουλινο-αντίστασης

Η νεφρική λειτουργία αξιολογήθηκε εμμέσως με τη βοήθεια εξισώσεων υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (estimated glomerular filtration rate, eGFR). Οι εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν αφορούν στην εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας σε γενικό πληθυσμό (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, CKD-EPI) βάσει της συγκέντρωσης κρεατινίνης στο ορό, την ηλικία, το φύλο και τη φυλή (Levey et al., 2009). Ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης εκφράζεται σε mL/min/1.73m². Οι εξισώσεις δίδονται στον πίνακα 4. Η ινσουλινο-αντίσταση αξιολογήθηκε με τη βοήθεια της εξίσωσης HOMA-IR= Fasting glucose (mmol/L) x Fasting insulin (mU/L)/22.5 (Matthews et al., 1985), όπου HOMA-IR είναι δείκτης ινσουλινο-αντίστασης (homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR).

Πίνακας 4. Εξισώσεις υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR), CKD-EPI

Φυλή (Λευκή)	Συγκέντρωση κρεατινίνης ορού (μmol/L ή mg/dL)	Εξίσωση
Άνδρες	≤80 ή ≤0.9	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-0.411} \times (0.993)^{Age}$
	>80 ή >0.9	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-1.209} \times (0.993)^{Age}$
Γυναίκες	≤62 ή ≤0.7	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-0.329} \times (0.993)^{Age}$
	>62 ή >0.7	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-1.209} \times (0.993)^{Age}$

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, eGFR: estimated glomerular filtration rate, Scr: Serum creatinine

πηγή: Levey et al., 2009

3.12. Μεταβολικό αποτύπωμα (Metabolite profiling)

Στο 2^ο σκέλος της μελέτης μετρήθηκε σε δείγμα πλάσματος η συγκέντρωση αμινοξέων και μεταβολιτών που συμμετέχουν στον μεταβολισμό ομάδων ενός ατόμου άνθρακα (one-carbon metabolism). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας μάζας (gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS) και τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας μάζας (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS). Οι μεταβολίτες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας μάζας (GC-MS/MS) είναι τα αμινοξέα αλανίνη, ασπαράγίνη, ασπαραγινικό οξύ, βαλίνη, γλουταμίνη, γλουταμινικό οξύ, γλυκίνη, θρεονίνη, ισολευκίνη, ιστιδίνη, ολική κυστεΐνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, ολική ομοκυστεΐνη, ορνιθίνη, προλίνη, σερίνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη και φαινυλαλανίνη, καθώς και μεταβολίτες που συνδέονται με τον μεταβολισμό των αμινοξέων (κινουρενίνη, κυσταθειονίνη και μεθυλμαλονικό οξύ) (Midttun et al., 2016). Οι μεταβολίτες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας μάζας (LC-MS/MS) είναι τα αμινοξέα αργινίνη και τα παράγωγα αυτής (ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη, συμμετρική διμεθυλαργινίνη, ομοαργινίνη), μεθειονίνη, ολική κυστεΐνη, ιστιδίνη, ολική ομοκυστεΐνη, τριμεθυλλυσίνη, καθώς και μεταβολίτες που συνδέονται με τον μεταβολισμό των αμινοξέων (βηταΐνη, διμεθυλγλυκίνη, κρεατίνη, κρεατινίνη, κυσταθειονίνη, οξειδωμένη τριμεθυλαμίνη, ολική χολίνη) (Midttun et al., 2013). Το σύνολο των μεταβολιτών που μετρήθηκαν δίδονται στον πίνακα 5. Αναφορικά με τους μεταβολίτες που μετρήθηκαν και με τις δύο μεθοδολογίες (μεθειονίνη, ολική κυστεΐνη, ολική ομοκυστεΐνη, κυσταθειονίνη και ιστιδίνη), χρησιμοποιήσαμε τη μέση τιμή των μετρήσεων. Οι συντελεστές διακύμανσης για τους μεταβολίτες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο GC-MS/MS είναι 0.7 – 4.5% (within-day CV) και 1.1 – 4.7% (between-day CV). Οι συντελεστές διακύμανσης για τους μεταβολίτες που μετρήθηκαν

με τη μέθοδο LC-MS/MS είναι 3.6 – 12.3% (within-day CV) και 2.2 – 12.2% (between-day CV). Οι μετρήσεις πραγματοποιηθήκαν στο εργαστήριο της BEVITAL AS (<http://www.bevital.no>). Οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών εκφράζονται σε μmol/L.

Πίνακας 5. Αμινοξέα και μεταβολίτες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της διπλής φασματομετρίας μάζας, βάσει μεταβολικής πορείας και ενδεικτικών περιπτώσεων αξιολόγησής τους

Μεταβολική πορεία φυλλικού και κοβαλαμίνης:	Ενδείξεις:
Ολική ομοκυστεΐνη (περιλαμβάνει μεικτά δισουλφίδια ομοκυστεΐνης-κυστεΐνης, ελεύθερη ομοκυστεΐνη και δεσμευμένη ομοκυστεΐνη)	- Αξιολόγηση κατάστασης φυλλικού και κοβαλαμίνης - Αξιολόγηση κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα
Μεθυλμαλονικό οξύ	Αξιολόγηση κατάστασης κοβαλαμίνης
Μεταβολική πορεία χολίνης:	
Ολική χολίνη (περιλαμβάνει τη χολίνη που προέρχεται από φωσφολιποειδή, κυρίως φωσφατιδυλο-χολίνες, παρουσία του ενζύμου φωσφολιπάση D και ιόντων ασβεστίου)	- Αξιολόγηση της ανεπάρκειας σε χολίνη - Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Βηταΐνη	Αξιολόγηση της ανεπάρκειας σε χολίνη
Διμεθυλγλυκίνη (σχηματίζεται από τη βηταΐνη κατά τη μεταβολική πορεία μεταφοράς μεθυλομάδας από τη βηταΐνη στην ομοκυστεΐνη)	- Αξιολόγηση της ανεπάρκειας σε χολίνη - Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Γλυκίνη	Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Οξειδωμένη τριμεθυλαμίνη (η χολίνη, η φωσφατιδυλο-χολίνη και η L-καρνιτίνη διασπώνται σε τριμεθυλαμίνη από την εντερική μικροχλωρίδα και η τριμεθυλαμίνη υφίσταται οξείδωση στο ήπαρ όπου παράγεται η οξειδωμένη τριμεθυλαμίνη)	- Αξιολόγηση της ανεπάρκειας σε χολίνη - Αξιολόγηση κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα
Μεταβολική πορεία ομοκυστεΐνης (transsulfuration):	
Κυσταθειονίνη (μεταβολίτης στην πορεία μετατροπής της ομοκυστεΐνης σε κυστεΐνη)	- Αξιολόγηση της κατάστασης της ομοκυστεΐνης - Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Ολική κυστεΐνη (περιλαμβάνει μεικτά δισουλφίδια κυστεΐνης, ελεύθερη κυστεΐνη και δεσμευμένη κυστεΐνη)	Αξιολόγηση της κατάστασης της ομοκυστεΐνης
Αμινοξέα:	
Μεθειονίνη	Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Σερίνη	Αξιολόγηση του μεταβολισμού ομάδων ενός ατόμου άνθρακα
Ιστιδίνη	Αξιολόγηση φλεγμονωδών καταστάσεων, παχυσαρκίας, σακχαρώδους διαβήτη και νεφρικής λειτουργίας
Άλλα αμινοξέα (π.χ. αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη)	Αξιολόγηση κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, πρώιμης νεφρικής δυσλειτουργίας

(συνέχεια πίνακα 5)

Μεταβολισμός τρυπτοφάνης:

Τρυπτοφάνη

Κυνουρενίνη

- Ο λόγος κυνουρενίνης προς τρυπτοφάνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης κυτταρικής ανοσολογικής απάντησης (T1 βοηθητικά λεμφοκύτταρα)

Ενδοθηλιακή λειτουργία:

Αργινίνη

Ομοαργινίνη

Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (asymmetric dimethylarginine, ADMA)

- Αξιολόγηση ενδοθηλιακής λειτουργίας και κίνδυνου για καρδιαγγειακά νοσήματα

Νεφρική λειτουργία:

Κρεατίνη

- Αξιολόγηση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης

Άλλοι μεταβολίτες:

Κρεατίνη

- Αξιολόγηση του μεταβολισμού της κρεατίνης

πηγή: <http://www.bevital.no>

3.13. Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου (ΜΣ)

Στο 1^ο σκέλος της μελέτης, το ΜΣ ορίστηκε βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI και του IDF (Grundy et al., 2005). Σύμφωνα με τον ορισμό του AHA/NHLBI, η παρουσία ΜΣ ορίζεται από την παρουσία τουλάχιστον 3 εκ των ακόλουθων 5 παραγόντων: 1) κεντρική ή κοιλιακή παχυσαρκία, 2) αυξημένη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, 3) μειωμένη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, 4) αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας ή παρουσία σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, 5) αυξημένη πίεση αίματος. Τα κριτήρια ορισμού της παρουσίας καθενός από τους παραπάνω παράγοντες είναι: 1) περιφέρεια μέσης ≥ 102 cm για τους άνδρες και ≥ 88 cm για τις γυναίκες, 2) συγκέντρωση τριγλυκεριδίων νηστείας ≥ 1.7 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για αυξημένα τριγλυκερίδια, 3) συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης < 1.03 mmol/L για τους άνδρες και < 1.3 mmol/L για τις γυναίκες ή φαρμακευτική αγωγή για χαμηλή HDL-χοληστερόλη, 4) συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας ≥ 5.6 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για υπεργλυκαιμία, 5) συστολική πίεση αίματος (ΣΑΠ) ≥ 130 mmHg ή διαστολική πίεση αίματος (ΔΑΠ) ≥ 85 mmHg ή φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση. Σύμφωνα με τον ορισμό του IDF, η παρουσία κοιλιακής παχυσαρκίας είναι προαπαιτούμενο για τον ορισμό του ΜΣ. Τα κριτήρια ορισμού της παρουσίας κοιλιακής παχυσαρκίας είναι περιφέρεια μέσης ≥ 94 cm για τους άνδρες και ≥ 80 cm για τις γυναίκες ευρωπαϊκής προελεύσεως ή ΔΜΣ ≥ 30 kg/m². Στη συνέχεια απαιτείται ακόμη η παρουσία 2 τουλάχιστον παραγόντων από αυτούς που αναφέρονται στον ορισμό του AHA/NHLBI.

Στο 2^ο σκέλος της μελέτης, το ΜΣ ορίστηκε βάσει των κριτηρίων του IDF μόνο (Grundy et al., 2005). Τα κριτήρια για τους άνδρες είναι: 1) περιφέρεια μέσης ≥ 94 cm ή ΔΜΣ ≥ 30 kg/m², 2) τριγλυκερίδια (≥ 1.7 mmol/L) ή φαρμακευτική αγωγή για αυξημένα τριγλυκερίδια, 3) HDL-χοληστερόλη < 1.03 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για χαμηλή HDL-χοληστερόλη, 4) γλυκόζη νηστείας ≥ 5.6 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για υπεργλυκαιμία, 5) συστολική πίεση αίματος (ΣΑΠ) ≥ 130 mmHg ή διαστολική πίεση αίματος (ΔΑΠ) ≥ 85 mmHg ή φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση.

3.14. Βιοηθική

Η μελέτη ακολούθησε τις αρχές της Διακήρυξης του Ελνσίνκι (Declaration of Helsinki) και έλαβε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Οι

συμμετέχοντες ενημερώθηκαν σχετικά με τον σκοπό της μελέτης και τη διαδικασία λήψης πληροφοριών και έδωσαν ενυπόγραφη συγκατάθεση εθελοντικής συμμετοχής.

3.15. Στατιστική ανάλυση

3.15.1. Μεταβολικό σύνδρομο και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος

Ο επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ εκφράζεται ως σχετική συχνότητα (%), χωριστά για τον κάθε ορισμό (σχήμα 5). Ο επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ εκφράζεται ως σχετική συχνότητα χωριστά για τους μεταβολικά υγιείς και τους συμμετέχοντες με ΜΣ και χωριστά για τον κάθε ορισμό (σχήμα 6 και σχήμα 7). Ο επιπολασμός του ΜΣ εκφράζεται ως απόλυτη (ν) και σχετική συχνότητα (%), χωριστά για κάθε ορισμό (σχήμα 5, πίνακας 6, πίνακας 7).

Η κανονική κατανομή των συνεχών μεταβλητών ελέγχθηκε με το διαγνωστικό κριτήριο κατά Kolmogorov-Smirnov και με διαγράμματα P-P. Οι συνεχείς μεταβλητές ηλικία, ολική χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, βάρος, περιφέρεια μέσης, περιφέρεια ισχίων, MedDietScore, ουρικό οξύ, κρεατινίνη και eGFR εκφράζονται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι συνεχείς μεταβλητές τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR, ΔΜΣ, συνολική δραστηριότητα, έντονη δραστηριότητα, μέτριας έντασης δραστηριότητα, περπάτημα, διάρκεια καθιστικών δραστηριοτήτων, διάρκεια ύπνου, μη επεξεργασμένα δημητριακά (MDS1), πατάτες (MDS2), φρούτα (MDS3), λαχανικά (MDS4), όσπρια (MDS5), ψάρια (MDS6), ελαιόλαδο (MDS7), κόκκινο κρέας και προϊόντα (MDS8), πουλερικά (MDS9), πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα (MDS10), αλκοολούχα ποτά (MDS11), AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT, IL-6 και αντιπυρεκτική εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο - 75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι ποιοτικές μεταβλητές φύλο, φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, κάπνισμα, παθητικό κάπνισμα εκφράζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%) (πίνακες από 6 έως και 13).

Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για τις συνεχείς

μεταβλητές με κανονική κατανομή, με τον μη παραμετρικό έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Pearson Chi-Square για τις ποιοτικές μεταβλητές.

Αξιολογήθηκαν οι αδρές συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, περιφέρεια μέσης) με παράγοντες του τρόπου ζωής (σωματική δραστηριότητα), δείκτες ινσουλινο-αντίστασης (ινσουλίνη, HOMA-IR), βιοχημικούς δείκτες ηπατικής (ALT/GPT, γ-GT) και νεφρικής λειτουργίας (κρεατινίνη, ουρικό οξύ), δείκτες φλεγμονής (IL-6, αντιπονεκτίνη) και ανθρωπομετρικούς δείκτες (ΔΜΣ, περιφέρεια ισχίων, λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων). Επίσης, αξιολογήθηκαν οι συσχετίσεις μεταξύ των ίδιων παραγόντων με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία. Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια, γλυκόζη, συνολική δραστηριότητα, ινσουλίνη, HOMA-IR, ALT/GPT, γ-GT, IL-6, αντιπονεκτίνη και ΔΜΣ μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r) (πίνακας 14, πίνακας 15, σχήμα 8). Επιπρόσθετα αξιολογήθηκαν οι αδρές συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς και οι συσχετίσεις με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία. Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια και γλυκόζη μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστές γραμμικής συσχέτισης (β) (πίνακας 16, πίνακας 17, σχήμα 9).

Αξιολογήθηκαν οι πολυπαραγοντικές γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ αντιπονεκτίνης και παραγόντων του ΜΣ (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης ή ΔΜΣ) και συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, την ηλικία και την ινσουλίνη. Παρομοίως, αξιολογήθηκαν οι πολυπαραγοντικές γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ IL-6 και παραγόντων του ΜΣ (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης ή ΔΜΣ) και συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, την ηλικία και την ινσουλίνη. Οι τιμές αντιπονεκτίνης και IL-6 μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχει πρόβλημα πολυσυγγραμμικότητας για κανένα πολυπαραγοντικό γραμμικό μοντέλο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μη κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B), τυπικό σφάλμα του συντελεστή B

(SE) και κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β) (πίνακας 18 και πίνακας 19).

Αξιολογήθηκε ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ ΜΣ και αντιπονεκτίνης με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία με τη βοήθεια της λογαριθμικής παλινδρόμησης. Παρομοίως αξιολογήθηκε ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ ΜΣ και IL-6 με τις ίδιες συγχυτικές μεταβλητές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγος πιθανοτήτων (95% διάστημα εμπιστοσύνης) ή OR (95% CI) (πίνακας 20 και πίνακας 21). Εφαρμόσαμε τον έλεγχο κατά Sobel προκειμένου να ελέγξουμε αν ο βαθμός συσχέτισης της εξαρτημένης μεταβλητής (ΜΣ) με την αντιπονεκτίνη ή την IL-6 (ανεξάρτητη μεταβλητή) μετά την εισαγωγή της μεταβλητής – μεσολαβητή (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια ή ινσουλίνη) παραμένει στατιστικά σημαντικός από το μηδέν (Preacher et al., 2004). Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε διαδικτυακά (<http://quantpsy.org/sobel/sobel.htm>).

Εφαρμόσαμε την ανάλυση ROC (receiver operating characteristic, λειτουργικός χαρακτηριστικός δέκτης) για να αξιολογήσουμε την ικανότητα της αντιπονεκτίνης να διακρίνει τους συμμετέχοντες με ΜΣ από τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Οι συγχυτικές μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν είναι το φύλο και η ηλικία στην πρώτη ανάλυση και επιπλέον ο ΔΜΣ, η περιφέρεια μέσης και η συγκέντρωση ινσουλίνης σε επόμενες αναλύσεις. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως το εμβαδό κάτω από την την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (AUROC ή AUC) και 95% CI. Το εμβαδό κυμαίνεται από 0,5 έως 1,0 και εν προκειμένω χρησιμοποιείται για να αξιολογήσει της εγκυρότητα της αντιπονεκτίνης ως δείκτη του ΜΣ (πίνακας 22).

Η ανάλυση ROC πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα R (έκδοση 3.2.4 για τα Windows) και συγκεκριμένα το στατιστικό πακέτο “rROC” (Robin et al., 2015). Οι υπόλοιπες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, έκδοση 21). Το ονομαστικό επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 5% ($p < 0,05$) για στατιστικούς ελέγχους με δύο εναλλακτικές υποθέσεις (two-sided tests). Οι αναλύσεις του 1^{ου} σκέλους πραγματοποιήθηκαν στους 284 συμμετέχοντες της μελέτης στους οποίους περιλαμβάνονται άνδρες και γυναίκες (σχήμα 2).

3.15.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος

Ο επιπολασμός του ΜΣ εκφράζεται ως απόλυτη συχνότητα. Οι συνεχείς μεταβλητές ηλικία, MedDietScore, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR, ΣΑΠ, ΔΑΠ, περιφέρεια μέσης, ΔΜΣ, eGFR, AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT, IL-6 και αντιπονεκτίνη εκφράζονται ως διάμεσος (25° - 75° εκατοστημόριο). Επίσης, οι συνεχείς μεταβλητές αλανίνη, αργινίνη, ασπαραγίνη, ασπαραγινικό οξύ, ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη, βαλίνη, βηταΐνη, γλουταμίνη, γλουταμινικό οξύ, γλυκίνη, διμεθυλγλυκίνη, θρεονίνη, ισολευκίνη, ιστιδίνη, κρεατίνη, κρεατινίνη, κυνουρενίνη, κυσταθειονίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, μεθυλμαλονικό οξύ, ολική κυστεΐνη, ολική ομοκυστεΐνη, ομοαργινίνη, ορνιθίνη, προλίνη, σερίνη, συμμετρική διμεθυλαργινίνη, τριμεθυλαμινο-N-οξείδιο, τριμεθυλλυσίνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη και χολίνη παρουσιάζονται ως διάμεσος (25° – 75° εκατοστημόριο). Οι κατηγορικές μεταβλητές κάπνισμα, επίπεδο σωματικής δραστηριότητας και φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%) (πίνακας 23 και πίνακας 24).

Οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών ως προς τις συνεχείς μεταβλητές (ηλικία, MedDietScore, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR, ΣΑΠ, ΔΑΠ, περιφέρεια μέσης, ΔΜΣ, eGFR, AST/GOT ορού ή SGOT, ALT/GPT ορού ή SGPT, γ-GT, IL-6, αντιπονεκτίνη, αμινοξέα και μεταβολίτες) αξιολογήθηκαν με τον μη παραμετρικό έλεγχο U κατά Mann-Whitney. Υπολογίσαμε τη μέση διαφορά μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών ως προς τα αμινοξέα και τους μεταβολίτες πλάσματος με τον παραμετρικό έλεγχο t (σχήμα 10). Πριν από την ανάλυση, μετατρέψαμε τις τιμές συγκεντρώσεων των αμινοξέων και μεταβολιτών σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) επειδή οι συγκεκριμένες μεταβλητές δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Η συσχέτιση του ΜΣ με τις κατηγορικές μεταβλητές (κάπνισμα, επίπεδο σωματικής δραστηριότητας και φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2) αξιολογήθηκε με τον έλεγχο Fischer's Exact Test (πίνακας 23 και πίνακας 24). Η κανονική κατανομή των τιμών των συνεχών μεταβλητών ελέγχθηκε με το διαγνωστικό κριτήριο Z κατά Kolmogorov-Smirnov και με διαγράμματα P-P.

Εφαρμόσαμε την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis, PCA) με σκοπό να μειώσουμε τον αριθμό των 35 μεταβλητών που αφορούν στα αμινοξέα και μεταβολίτες σε λιγότερους παράγοντες (components ή factors). Πριν από την ανάλυση,

μετατρέψαμε τις τιμές συγκεντρώσεων των αμινοξέων και μεταβολιτών σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) επειδή οι συγκεκριμένες μεταβλητές δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Για να ελέγξουμε την καταλληλότητα της στατιστικής ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες όσον αφορά στην εφαρμογή της στα δεδομένα της συγκεκριμένης μελέτης, υπολογίσαμε τον στατιστικό δείκτη Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy (0,5 – 1,0) και πραγματοποιήσαμε τον έλεγχο σφαιρικότητας κατά Bartlett ($p < 0,05$). Από το σύνολο των 35 συνιστωσών - παραγόντων επιλέξαμε τους πρώτους 12 με διακύμανση (eigenvalue) $\geq 1,0$. Στη συνέχεια, κατασκευάσαμε το διάγραμμα της διακύμανσης (eigenvalue) για τις 12 συνιστώσες - παράγοντες (scree plot) προκειμένου να καταλήξουμε στον βέλτιστο αριθμό συνιστωσών - παραγόντων που θα χρησιμοποιηθούν σε περαιτέρω αναλύσεις. Επιλέξαμε τη μέθοδο της ορθογώνιας περιστροφής (varimax rotation) για τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης κάθε μεταβλητής (αμινοξέα και μεταβολίτες) με κάθε συνιστώσα - παράγοντα (component ή factor load). Η μεταβλητή με συντελεστή συσχέτισης $\geq |0,4|$ με κάποια συνιστώσα - παράγοντα θεωρείται ότι συμμετέχει στη σύνθεση αυτού του παράγοντα (πίνακας 25, σχήμα 11). Κάθε συνιστώσα - παράγοντας αποτελεί μία νέα μεταβλητή οι τιμές της οποίας έχουν υπολογιστεί με μέθοδο παλινδρόμησης. Η μέση τιμή κάθε νέας μεταβλητής είναι μηδέν και η διακύμανση ισούται με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ εκτιμώμενης και πραγματικής τιμής. Οι τιμές που υπολογίστηκαν με αυτόν τον τρόπο χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο συσχετίσεων μεταξύ των συνιστωσών - παραγόντων και των παραγόντων του ΜΣ, της αντιπυονεκτίνης και των ηπατικών ενζύμων.

Αξιολογήσαμε τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ των συνιστωσών - παραγόντων που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες και παράγοντες που σχετίζονται με τον ορισμό του ΜΣ (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων), με συγχυτική μεταβλητή την ηλικία. Οι τιμές των συνεχών μεταβλητών γλυκόζη, ινσουλίνη και HOMA-IR μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Επίσης, τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ των παραγόντων που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες και δείκτες φλεγμονής (IL-6, αντιπυονεκτίνη) και δείκτες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας (eGFR, AST/GOT, ALT/GPT, γ -GT). Οι τιμές των συνεχών μεταβλητών IL-6 και γ -GT μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r) (πίνακας 26 και πίνακας 27).

Αξιολογήσαμε τη συσχέτιση των συνιστωσών – παραγόντων (ανεξάρτητες μεταβλητές) με το ΜΣ (εξαρτημένη μεταβλητή) με τη βοήθεια της λογαριθμικής παλινδρόμησης και συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία, το κάπνισμα, το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας και την φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 28, Μοντέλο 1). Η ηλικία, το κάπνισμα, το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας και η φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 χρησιμοποιήθηκαν ως συγχυτικές μεταβλητές λόγω των συσχετίσεών τους με παράγοντες του ΜΣ, καθώς και με τα αμινοξέα και τους μεταβολίτες που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των αμινοξέων και των μορίων ενός ατόμου άνθρακα (Konstantinova et al., 2008, Cheng et al., 2012, Würtz et al., 2013, Theofylaktopoulou et al., 2013, Wiklund et al., 2014, Yamakado et al., 2015). Στην συνέχεια αξιολογήσαμε την πιθανή μεσολάβηση του AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT ή της αντιπυονεκτίνης στην συσχέτιση ανάμεσα στις συνιστώσες – παράγοντες και το ΜΣ προσθέτοντας στο βασικό μοντέλο 1 τους παράγοντες GOT, GPT, γ-GT, αντιπυονεκτίνη εναλλάξ (πίνακας 28). Οι τιμές της συνεχούς μεταβλητής γ-GT μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγος πιθανοτήτων (95% διάστημα εμπιστοσύνης) ή OR (95% CI).

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, έκδοση 21). Το ονομαστικό επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 5% ($p < 0,05$) για στατιστικούς ελέγχους με δύο εναλλακτικές υποθέσεις (two-sided tests). Εφαρμόσαμε τη διόρθωση του ονομαστικού επιπέδου σημαντικότητας κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις. Το διορθωμένο επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 0,14% ($p < 0,0014$), το οποίο υπολογίστηκε ως το ονομαστικό επίπεδο σημαντικότητας διαιρεμένο με τον αριθμό των μεταβολιτών (δηλ. $0,05/35$). Οι αναλύσεις του 2^{ou} σκέλους πραγματοποιήθηκαν σε 100 συμμετέχοντες της μελέτης στους οποίους περιλαμβάνονται μόνο άνδρες (σχήμα 2).

3.15.3. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα

Εφαρμόσαμε την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis, PCA) με σκοπό να μειώσουμε τον αριθμό των 69 μεταβλητών που αφορούν στην κατανάλωση μερίδων ομάδων τροφίμων ανά εβδομάδα όπως αυτή προέκυψε από την καταγραφή της συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Από την ανάλυση προέκυψαν 7 συνιστώσες –παράγοντες

(components ή factors), FAC_{FFQ} 1-7, βάσει της διακύμανσης (eigenvalue) $\geq 1,0$ και του διαγράμματος της διακύμανσης (eigenvalue) για τις 69 συνιστώσες - παράγοντες (scree plot).

Επιλέξαμε τη μέθοδο της ορθογώνιας περιστροφής (varimax rotation) για τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης κάθε μεταβλητής (αμινοξέα και μεταβολίτες) με κάθε συνιστώσα - παράγοντα (component ή factor load). Η μεταβλητή με συντελεστή συσχέτισης $\geq |0,4|$ με κάποια συνιστώσα - παράγοντα θεωρείται ότι συμμετέχει στη σύνθεση αυτού του παράγοντα (πίνακας 29). Κάθε συνιστώσα - παράγοντας αποτελεί μία νέα μεταβλητή οι τιμές της οποίας έχουν υπολογιστεί με τη μέθοδο κατά Anderson-Rubin. Η μέση τιμή κάθε νέας μεταβλητής είναι μηδέν και η διακύμανση (τυπική απόκλιση) είναι 1. Οι τιμές που υπολογίστηκαν με αυτόν τον τρόπο χρησιμοποιήθηκαν για την σύγκριση μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών ανδρών ως προς τις συνιστώσες – παράγοντες βάσει του μη παραμετρικού ελέγχου Z κατά Kolmogorov-Smirnov, καθώς και για τον έλεγχο πιθανών γραμμικών συσχετίσεων με την IL-6 και την αντιγονεκτίνη (πίνακας 30 και πίνακας 31).

Ως προς τις γραμμικές συσχετίσεις, η IL-6 και η αντιγονεκτίνη χρησιμοποιήθηκαν ως εξαρτημένες μεταβλητές. Επειδή οι τιμές των μεταβλητών IL-6 και αντιγονεκτίνης δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή, μετατράπηκαν σε δεκαδικούς λογάριθμους πριν από την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Οι μεταβλητές FAC_{FFQ} 1-7, δηλαδή κύριες συνιστώσες των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα για το σύνολο το δείγματος της μελέτης ($n=284$) χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Τέλος, το φύλο (άνδρες έναντι γυναικών), η ηλικία (έτη) και παράγοντες του ΜΣ χρησιμοποιήθηκαν ως συγχυτικές μεταβλητές. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI), καθώς και ως κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p) (πίνακας 30 και πίνακας 31).

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, έκδοση 21). Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 5% ($p < 0,05$) για στατιστικούς ελέγχους με δύο εναλλακτικές υποθέσεις (two-sided tests). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στους 284 συμμετέχοντες του 1^{ου} σκέλους της μελέτης στους οποίους περιλαμβάνονται άνδρες και γυναίκες (σχήμα 2).

3.15.4. Αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα

Εφαρμόσαμε την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis, PCA) με σκοπό να μειώσουμε τον αριθμό των 69 μεταβλητών που αφορούν στην κατανάλωση μερίδων ομάδων τροφίμων ανά εβδομάδα όπως αυτή προέκυψε από την καταγραφή της συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Από την ανάλυση προέκυψαν 7 συνιστώσες –παράγοντες (components ή factors), FAC_{FFQ} 1-7, βάσει της διακύμανσης (eigenvalue) $\geq 1,0$ και του διαγράμματος της διακύμανσης (eigenvalue) για τις 69 συνιστώσες - παράγοντες (scree plot).

Επιλέξαμε τη μέθοδο της ορθογώνιας περιστροφής (varimax rotation) για τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης κάθε μεταβλητής (αμινοξέα και μεταβολίτες) με κάθε συνιστώσα - παράγοντα (component ή factor load). Η μεταβλητή με συντελεστή συσχέτισης $\geq |0,4|$ με κάποια συνιστώσα - παράγοντα θεωρείται ότι συμμετέχει στη σύνθεση αυτού του παράγοντα (πίνακας 32). Κάθε συνιστώσα - παράγοντας αποτελεί μία νέα μεταβλητή οι τιμές της οποίας έχουν υπολογιστεί με τη μέθοδο κατά Anderson-Rubin. Η μέση τιμή κάθε νέας μεταβλητής είναι μηδέν και η διακύμανση (τυπική απόκλιση) είναι 1. Οι τιμές που υπολογίστηκαν με αυτόν τον τρόπο χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο πιθανών γραμμικών συσχετίσεων με τις συνιστώσες αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος (πίνακας 33).

Οι μεταβλητές FAC_{AA} 1-5, δηλαδή κύριες συνιστώσες των συγκεντρώσεων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα χρησιμοποιήθηκαν ως εξαρτημένες μεταβλητές. Οι τιμές των μεταβλητών FAC_{AA} 1-5 ακολουθούν την κανονική κατανομή. Οι μεταβλητές FAC_{FFQ} 1-7, δηλαδή κύριες συνιστώσες των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα για το δείγμα ανδρών του 2ου σκέλους της μελέτης ($n=100$) χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Η ηλικία (έτη) και ο ΔΜΣ (kg/m^2) χρησιμοποιήθηκαν ως συγχυτικές μεταβλητές. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B), 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p) (πίνακας 33). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν συσχετίσεις ανάμεσα στους παράγοντες αμινοξέων/ μεταβολιτών FAC_{AA} 1-5, τα διατροφικά πρότυπα FAC_{FFQ} 1-7 και παράγοντες του ΜΣ, την αντιπονεκτίνη και την IL-6. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστές συσχέτισης κατά Spearman (Spearman's rho). Οι σημαντικοί παράγοντες του ΜΣ και δείκτες φλεγμονής (αντιπονεκτίνη, IL-6) χρησιμοποιήθηκαν ως συγχυτικές μεταβλητές. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B), 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p) (βλ. πίνακα 33, συγχυτική μεταβλητή εντός παρενθέσεων).

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, έκδοση 21). Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 5% ($p < 0,05$) για στατιστικούς ελέγχους με δύο εναλλακτικές υποθέσεις (two-sided tests). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στους 100 άνδρες - συμμετέχοντες του 2^{ου} σκέλους της μελέτης (σχήμα 2).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: «Αποτελέσματα»

4.1. Μεταβολικό σύνδρομο και κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος

4.1.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά και επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ και του ΜΣ

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών αναφέρονται στον πίνακα 6 για τον ορισμό του ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF και στον πίνακα 7 βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI.

Ο επιπολασμός του ΜΣ μεταξύ των 284 συμμετεχόντων στη μελέτη είναι 37% βάσει των κριτηρίων του IDF και 33% βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική μεταξύ των δύο ορισμών (σχήμα 5). Ο συχνότερος παράγοντας που χαρακτηρίζει τους συμμετέχοντες με ΜΣ είναι η κοιλιακή παχυσαρκία (αυξημένη περιφέρεια μέσης) ανεξαρτήτως ορισμού. Ως προς τους υπόλοιπους 4 παράγοντες, η αυξημένη αρτηριακή πίεση, η μειωμένη HDL-χοληστερόλη, τα αυξημένα τριγλυκερίδια νηστείας και η αυξημένη γλυκόζη νηστείας χαρακτηρίζουν τους συμμετέχοντες με ΜΣ κατά φθίνουσα σειρά συχνότητας εμφάνισης, ανεξαρτήτως ορισμού (σχήμα 5).

Μεταξύ των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων, δηλαδή συμμετεχόντων που δεν ικανοποιούν τον ορισμό του ΜΣ, η κοιλιακή παχυσαρκία έχει συχνότητα εμφάνισης 55,1%, η αυξημένη αρτηριακή πίεση 27%, η μειωμένη HDL-χοληστερόλη 15,9%, η αυξημένη γλυκόζη νηστείας 7,9% και τα αυξημένα τριγλυκερίδια 6,2%, βάσει των κριτηρίων του IDF (σχήμα 6). Παρομοίως, η κοιλιακή παχυσαρκία έχει συχνότητα εμφάνισης 32,6%, η αυξημένη αρτηριακή πίεση 29,1%, η μειωμένη HDL-χοληστερόλη 15,5%, η αυξημένη γλυκόζη νηστείας 8% και τα αυξημένα τριγλυκερίδια νηστείας 6,3% μεταξύ των συμμετεχόντων που δεν ικανοποιούν τον ορισμό του AHA/NHLBI για το ΜΣ (σχήμα 7). Τέλος, μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF το 66,7% έχει φυσιολογική γλυκόζη νηστείας, το 53,3% φυσιολογικά τριγλυκερίδια νηστείας, το 45,3% φυσιολογική HDL-χοληστερόλη και το 26,4% φυσιολογική αρτηριακή πίεση (σχήμα 6). Παρομοίως, μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI το 64,1% έχει φυσιολογική γλυκόζη νηστείας, το 48,9% φυσιολογικά

τριγλυκερίδια νηστείας, το 40% φυσιολογική HDL-χοληστερόλη, το 25,3% φυσιολογική αρτηριακή πίεση και το 18,9% φυσιολογική περιφέρεια μέσης (σχήμα 7).

Πίνακας 6. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)

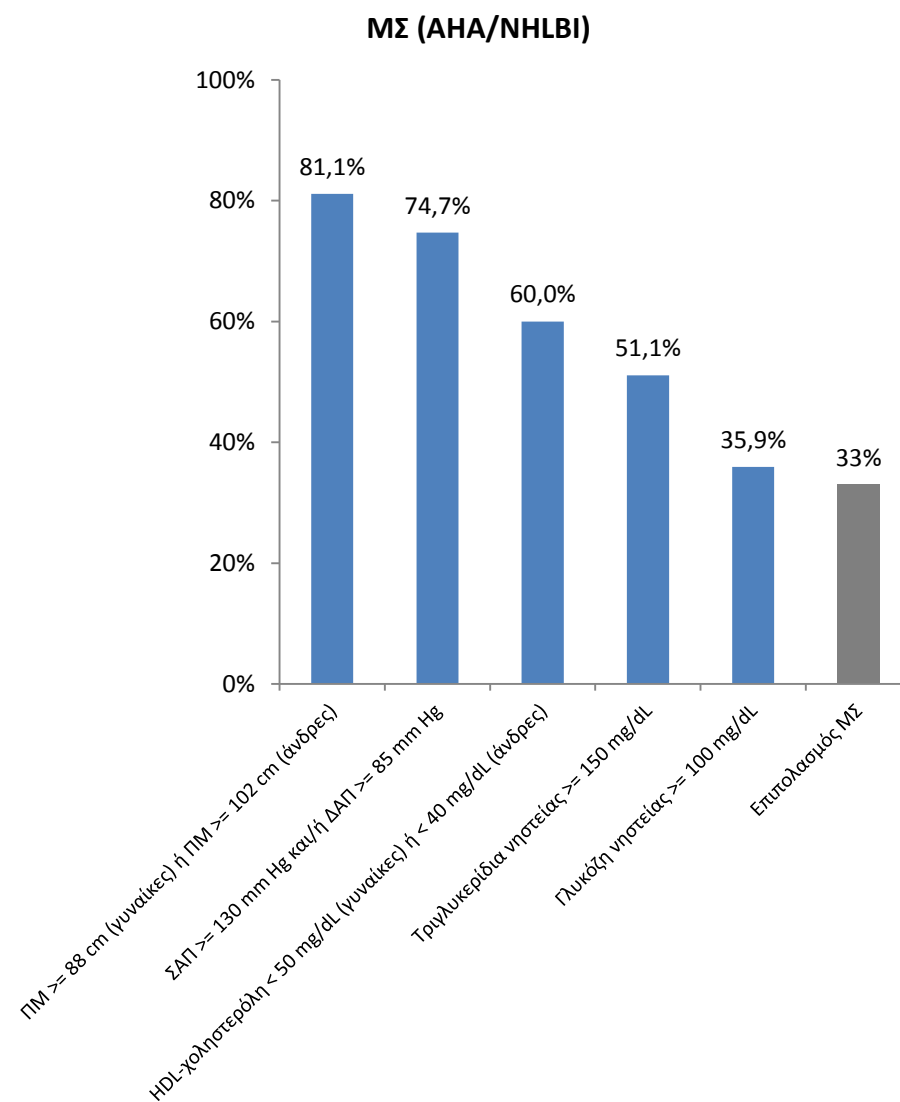
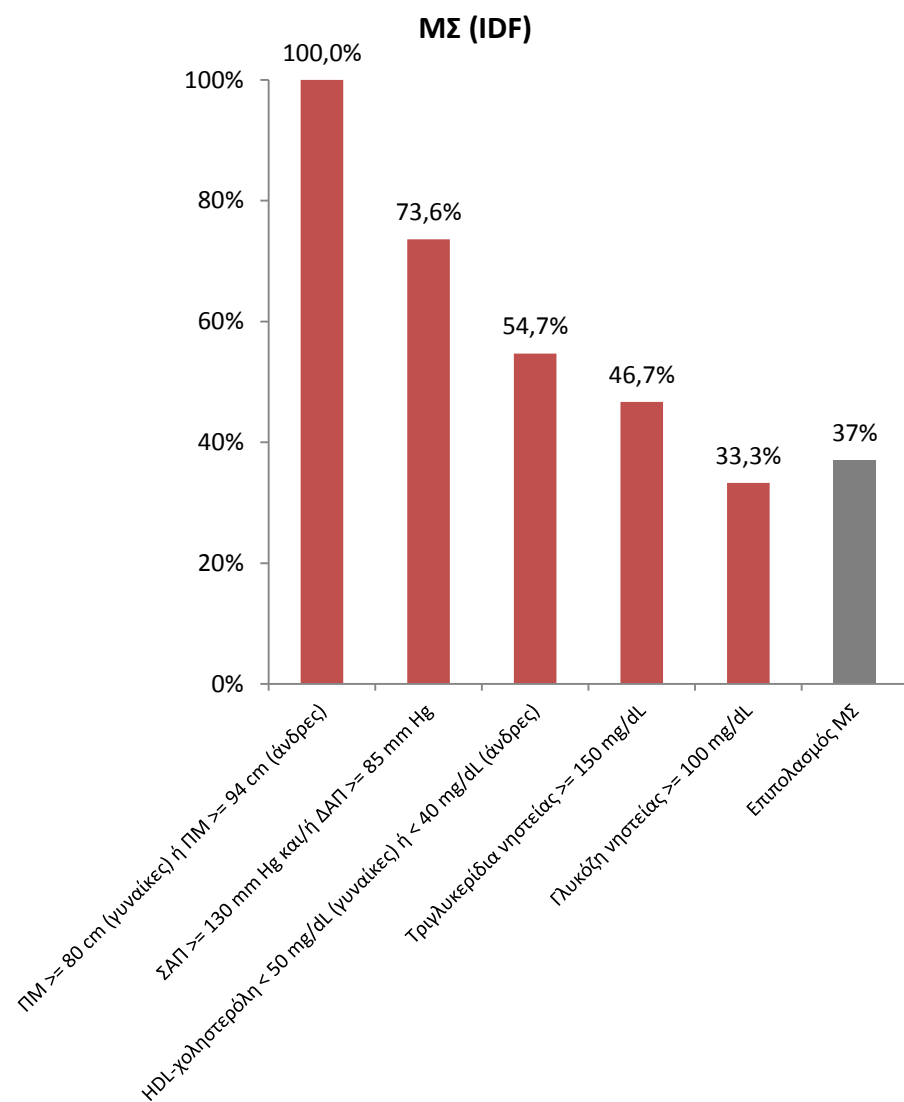
	Μεταβολικά υγιείς (n= 178)	ΜΣ (n= 106)	p
Ηλικία (έτη)	50,8 (8,9)	56,2 (9,3)	< 0,001
Φύλο (άνδρες)	85 (47,8)	74 (69,8)	< 0,001
Παράγοντες ΜΣ:			
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	209,6 (32,3)	207,5 (42,8)	0,661
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	54,6 (11,0)	44,1 (10,0)	< 0,001
non-HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	154,8 (34,3)	160,2 (35,9)	0,205
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	135,7 (30,5)	132,3 (39,1)	0,413
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	92,8 (67,0 – 114,9)	142,4 (101,2 – 192,8)	< 0,001
Γλυκόζη (mg/dL)	88,3 (84,5 – 93,2)	94,0 (87,5 – 102,8)	< 0,001
Ινσουλίνη (mU/L)	6,8 (4,9 – 9,2)	11,3 (8,7 – 14,0)	< 0,001
HOMA-IR	1,5 (1,0 – 2,0)	2,7 (1,9 – 3,4)	< 0,001
Συστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	118,4 (13,7)	132,4 (12,7)	< 0,001
Διαστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	76,0 (10,4)	83,1 (9,2)	< 0,001
Βάρος (kg)	78,5 (18,3)	89,8 (13,1)	< 0,001
ΔΜΣ (kg/m ²)	25,4 (23,9 – 29,0)	29,8 (27,2 – 32,4)	< 0,001
Περιφέρεια μέσης (cm)	90,4 (13,4)	104,0 (9,7)	< 0,001
Περιφέρεια ισχίων (cm)	103,6 (9,5)	107,4 (8,5)	0,001
Φαρμακευτική αγωγή για:			
Υπέρταση	14 (8,4)	35 (36,5)	< 0,001
Δυσλιπιδαιμία	52 (30,6)	57 (57,0)	< 0,001
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	2 (1,2)	12 (12,4)	< 0,001

Οι συνεχείς μεταβλητές ηλικία, ολική χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, βάρος, περιφέρεια μέσης και περιφέρεια ισχίων εκφράζονται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι συνεχείς μεταβλητές τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR και ΔΜΣ εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι ποιοτικές μεταβλητές φύλο, φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 εκφράζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή n (%). Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για τις συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή, με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Pearson χ^2 για τις ποιοτικές μεταβλητές.

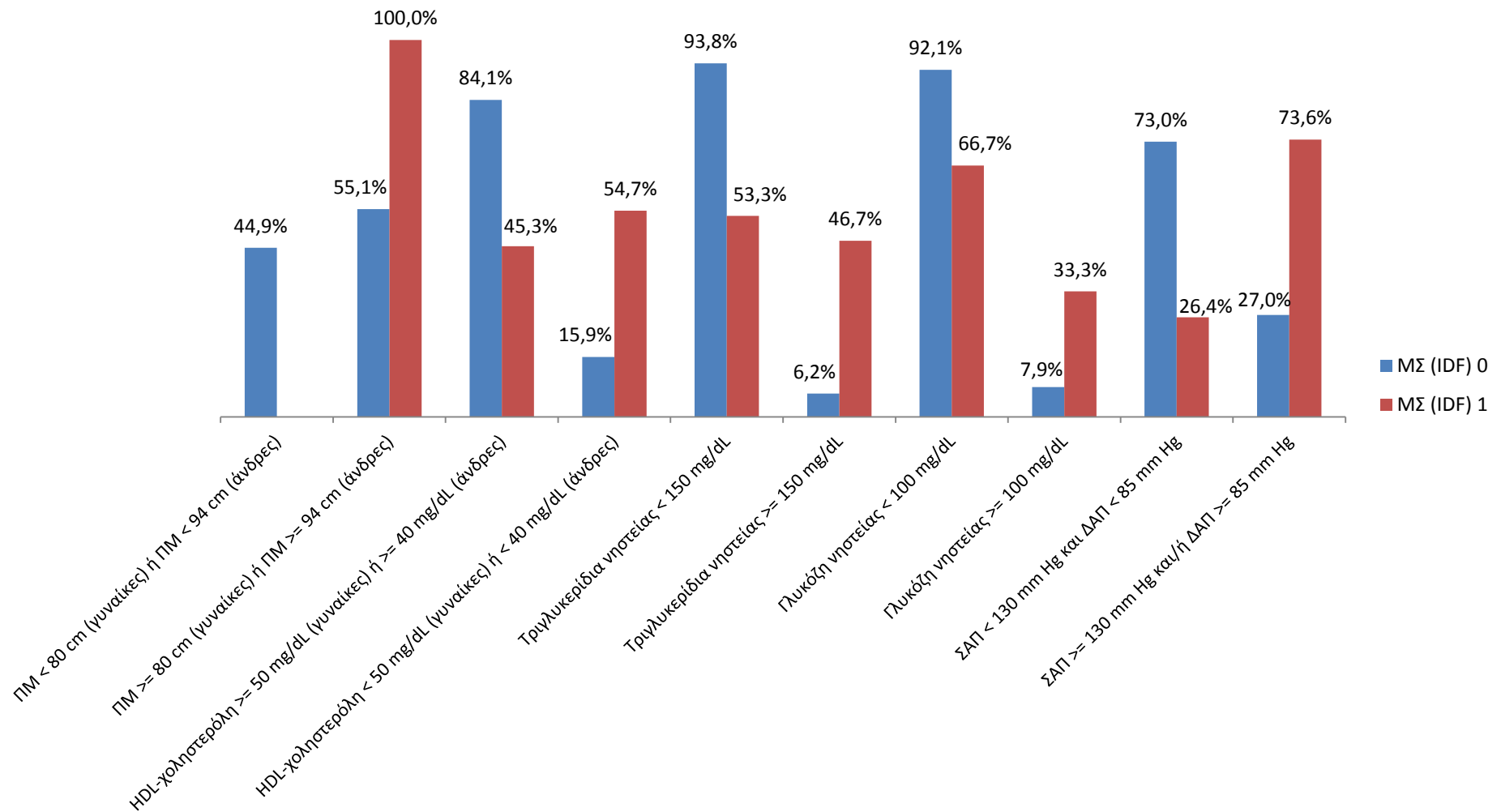
Πίνακας 7. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (ΑΗΑ/ΝΗΛΒΙ)

	Μεταβολικά υγιείς (ν= 189)	ΜΣ (ν= 95)	p
Ηλικία (έτη)	51,1 (9,4)	56,2 (8,6)	< 0,001
Φύλο (άνδρες)	93 (49,2)	66 (69,5)	0,001
Παράγοντες ΜΣ:			
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	208,4 (32,1)	209,6 (44,1)	0,808
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	54,6 (11,1)	43,0 (9,2)	< 0,001
non-HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	153,6 (33,7)	163,2 (36,6)	0,030
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	134,5 (31,0)	134,3 (39,4)	0,961
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	93,9 (68,0 – 115,4)	150,2 (100,3 – 206,3)	< 0,001
Γλυκόζη (mg/dL)	88,3 (84,3 – 93,2)	94,4 (88,3 – 104,8)	< 0,001
Ινσουλίνη (mU/L)	6,8 (5,0 – 9,1)	11,8 (9,1 – 14,9)	< 0,001
HOMA-IR	1,5 (1,1 – 2,0)	2,8 (2,2 – 3,5)	< 0,001
Συστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	119,0 (13,9)	132,7 (12,6)	< 0,001
Διαστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	76,1 (10,3)	83,7 (9,2)	< 0,001
Βάρος (kg)	78,6 (18,0)	90,9 (12,9)	< 0,001
ΔΜΣ (kg/m ²)	25,7 (24,0 – 28,9)	30,0 (28,0 – 32,7)	< 0,001
Περιφέρεια μέσης (cm)	90,7 (13,2)	104,9 (9,6)	< 0,001
Περιφέρεια ισχίων (cm)	103,4 (9,4)	108,2 (8,2)	< 0,001
Φαρμακευτική θεραπευτική αγωγή για:			
Υπέρταση	20 (11,4)	29 (33,3)	< 0,001
Δυσλιπιδαιμία	57 (31,8)	52 (57,1)	< 0,001
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	2 (1,1)	12 (13,8)	< 0,001

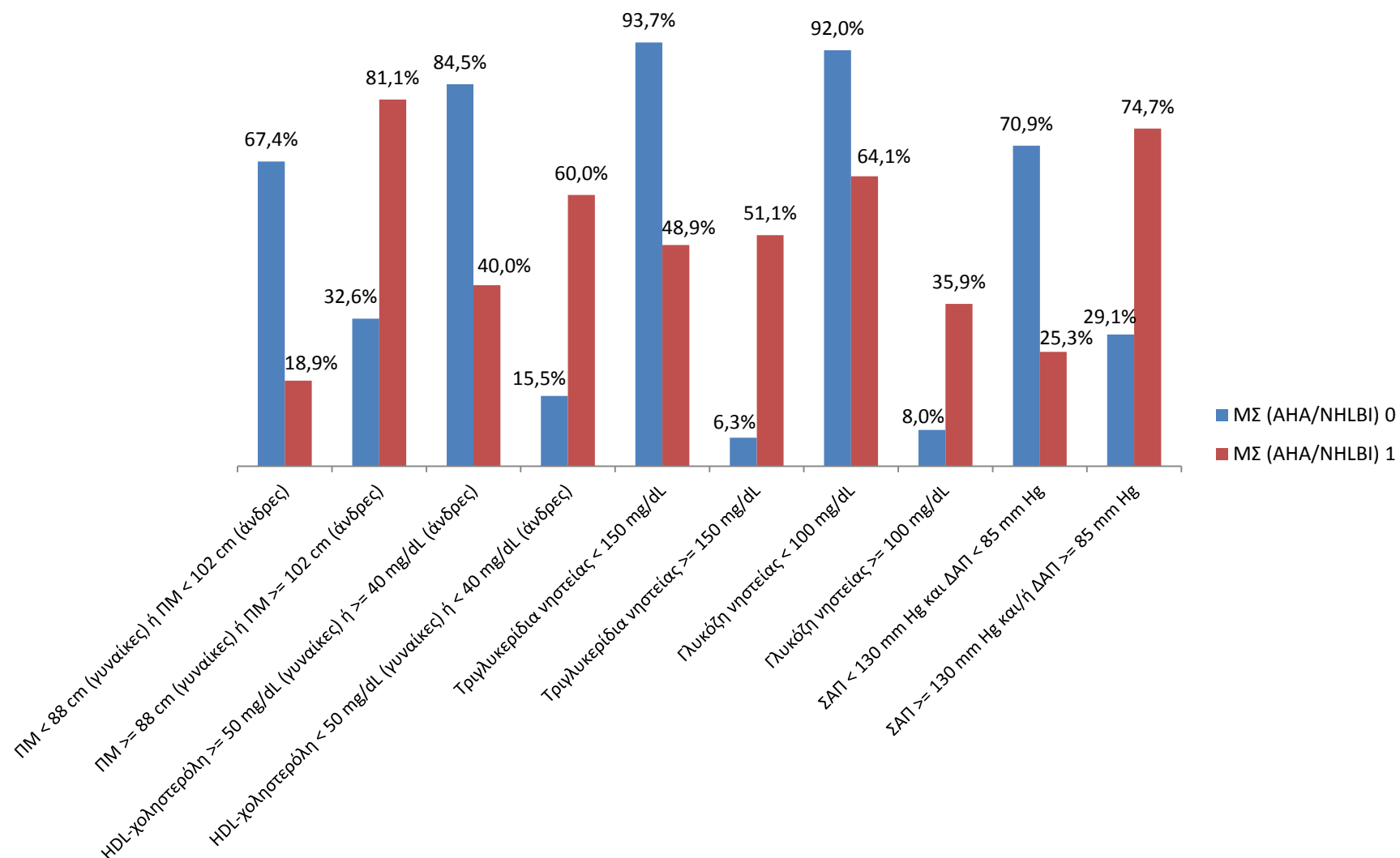
Οι συνεχείς μεταβλητές ηλικία, ολική χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, βάρος, περιφέρεια μέσης και περιφέρεια ισχίων εκφράζονται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι συνεχείς μεταβλητές τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR και ΔΜΣ εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι ποιοτικές μεταβλητές φύλο, φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (σχετική συχνότητα) ή ν (%). Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για τις συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή, με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Pearson χ^2 για τις ποιοτικές μεταβλητές.



Σχήμα 5. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ και του ίδιου του ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF (αριστερά) και των κριτηρίων του AHA/NHLBI (δεξιά).



Σχήμα 6. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ στους συμμετέχοντες με ΜΣ (IDF) και στους μεταβολικά υγιείς. ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο (0: απουσία, 1: παρουσία), ΠΜ: περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση



Σχήμα 7. Επιπολασμός των παραγόντων του ΜΣ στους συμμετέχοντες με ΜΣ (AHA/NHLBI) και στους μεταβολικά υγιείς. ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο (0: απουσία, 1: παρουσία), ΠΜ: περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση

4.1.2. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ

Οι συμμετέχοντες με ΜΣ δεν διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά από τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες ως προς τους παράγοντες του τρόπου ζωής που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη, δηλαδή σωματική δραστηριότητα, διατροφικές συνήθειες, κάπνισμα και παθητικό κάπνισμα. Ως προς τη σωματική δραστηριότητα, πρέπει να επισημάνουμε μία τάση διαφοροποίησης των συμμετεχόντων με ΜΣ από τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες ως προς το συνολικό επίπεδο σωματικής δραστηριότητας ($p = 0,063$). Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια για τους δύο ορισμούς του ΜΣ (πίνακας 8 και πίνακας 9).

Πίνακας 8. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)

	Μεταβολικά υγιείς ($n = 178$)	ΜΣ ($n = 106$)	p
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας:			
Συνολική δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	778 (260 - 2141)	665 (231 - 1309)	0,063
Έντονη δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	0 (0 - 480)	0 (0 - 0)	0,102
Μέτριας έντασης δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	120 (0 - 600)	0 (0 - 600)	0,634
Περπάτημα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	314 (99 - 693)	396 (140 - 693)	0,186
Διάρκεια καθιστικών δραστηριοτήτων (ώρες/ημέρα)	6 (4 - 9)	6 (4 - 8)	0,739
Διάρκεια ύπνου (ώρες/ημέρα)	7 (6 - 7)	6 (6 - 7)	0,157
Διατροφικές συνήθειες:			
MedDietScore	32,9 (4,0)	32,7 (4,8)	0,702
Μη επεξεργασμένα δημητριακά (MDS1)	1,0 (0,0 - 2,0)	1,0 (0,0 - 2,0)	0,647
Πατάτες (MDS2)	1,0 (1,0 - 1,0)	1,0 (1,0 - 1,0)	0,579
Φρούτα (MDS3)	3,0 (2,0 - 4,0)	3,0 (2,0 - 4,0)	0,955
Λαχανικά (MDS4)	2,0 (2,0 - 3,0)	2,0 (2,0 - 3,0)	0,995
Όσπρια (MDS5)	2,0 (2,0 - 2,0)	2,0 (2,0 - 2,0)	0,490
Ψάρια (MDS6)	2,0 (2,0 - 2,0)	2,0 (2,0 - 3,0)	0,430
Ελαιόλαδο (MDS7)	5,0 (5,0 - 5,0)	5,0 (5,0 - 5,0)	0,997
Κόκκινο κρέας και προϊόντα (MDS8)	3,0 (2,0 - 4,0)	3,0 (2,0 - 4,0)	0,613
Πουλερικά (MDS9)	5,0 (5,0 - 5,0)	5,0 (5,0 - 5,0)	0,991
Πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα (MDS10)	5,0 (5,0 - 5,0)	5,0 (5,0 - 5,0)	1,000
Αλκοολούχα ποτά (MDS11)	5,0 (5,0 - 5,0)	5,0 (5,0 - 5,0)	0,999
Κάπνισμα	56 (31,8)	39 (37,1)	0,361
Παθητικό κάπνισμα	31 (19,7)	21 (23,2)	0,506

Η συνεχής μεταβλητή MedDietScore εκφράζεται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές του πίνακα εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι ποιοτικές μεταβλητές κάπνισμα και παθητικό κάπνισμα εκφράζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή n (%). Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για το MedDietScore, με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Pearson χ^2 για τις ποιοτικές μεταβλητές.

Πίνακας 9. Παράγοντες του τρόπου ζωής των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)

	Μεταβολικά υγιείς (n= 189)	ΜΣ (n= 95)	p
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας:			
Συνολική δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	730 (256 – 1881)	693 (231 – 1386)	0,063
Έντονη δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	0 (0 – 480)	0 (0 – 0)	0,102
Μέτριας έντασης δραστηριότητα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	80 (0 - 492)	80 (0 - 644)	0,634
Περπάτημα (MET.λεπτά.εβδομάδα ⁻¹)	330 (107 – 693)	396 (149 – 693)	0,186
Διάρκεια καθιστικών δραστηριοτήτων (ώρες/ημέρα)	6 (4 – 9)	6 (4 – 8)	0,739
Διάρκεια ύπνου (ώρες/ημέρα)	7 (6 – 7)	6 (6 – 7)	0,157
Διατροφικές συνήθειες:			
MedDietScore	32,8 (4,2)	32,8 (4,5)	0,982
Μη επεξεργασμένα δημητριακά (MDS1)	1,0 (0,0 – 2,0)	1,0 (0,0 – 2,0)	0,647
Πατάτες (MDS2)	1,0 (1,0 -1,0)	1,0 (1,0 -1,0)	0,579
Φρούτα (MDS3)	3,0 (2,0 – 4,0)	3,0 (2,0 – 4,0)	0,955
Λαχανικά (MDS4)	2,0 (2,0 – 3,0)	2,0 (2,0 – 3,0)	0,995
Όσπρια (MDS5)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	0,490
Ψάρια (MDS6)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 3,0)	0,430
Ελαιόλαδο (MDS7)	5,0 (5,0 – 5,0)	5,0 (5,0 – 5,0)	0,997
Κόκκινο κρέας και προϊόντα (MDS8)	3,0 (2,0 – 4,0)	3,0 (2,0 – 4,0)	0,613
Πουλερικά (MDS9)	5,0 (5,0 – 5,0)	5,0 (5,0 – 5,0)	0,991
Πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα (MDS10)	5,0 (5,0 – 5,0)	5,0 (5,0 – 5,0)	1,000
Αλκοολούχα ποτά (MDS11)	5,0 (5,0 – 5,0)	5,0 (5,0 – 5,0)	0,999
Κάπνισμα (ναι)	62 (33,0)	33 (35,5)	0,676
Παθητικό κάπνισμα (ναι)	34 (20,6)	18 (22,0)	0,807

Η συνεχής μεταβλητή MedDietScore εκφράζεται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές του πίνακα εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο). Οι ποιοτικές μεταβλητές κάπνισμα και παθητικό κάπνισμα εκφράζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%). Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για το MedDietScore, με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Pearson χ^2 για τις ποιοτικές μεταβλητές.

4.1.3. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ

Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση των ηπατικών ενζύμων ALT/GPT και γ-GT στον ορό, καθώς και από υψηλότερη συγκέντρωση ουρικού οξέος στον ορό συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες. Οι δείκτες AST/GOT, κρεατινίνη και eGFR δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων του ΜΣ. Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια για τους δύο ορισμούς του ΜΣ (πίνακας 10 και πίνακας 11).

Πίνακας 10. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)

	Μεταβολικά υγιείς (n= 178)	ΜΣ (n= 106)	p
AST/GOT (U/L)	18,1 (15,3 – 21,2)	18,7 (15,7 – 22,0)	0,338
ALT/GPT (U/L)	15,2 (7,6 – 19,9)	19,0 (12,7 – 27,2)	0,005
γ-GT (U/L)	18,6 (15,6 – 25,7)	26,3 (18,7 – 37,4)	< 0,001
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4,8 (1,2)	5,7 (1,1)	< 0,001
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,879 (0,172)	0,921 (0,174)	0,050
eGFR (CKD-EPI) (mL/min/1.73m ²)	89,2 (18,0)	87,0 (17,2)	0,315

Οι συνεχείς μεταβλητές ουρικό οξύ, κρεατινίνη και eGFR εκφράζονται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι συνεχείς μεταβλητές AST/GOT, ALT/GPT και γ-GT εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για τις συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Πίνακας 11. Δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)

	Μεταβολικά υγιείς (n= 189)	ΜΣ (n= 95)	p
AST/GOT (U/L)	18,1 (15,2 – 21,3)	18,7 (15,8 – 22,0)	0,338
ALT/GPT (U/L)	15,4 (7,9 – 20,5)	19,0 (11,4 – 27,0)	0,005
γ-GT (U/L)	18,9 (15,6 – 27,4)	26,5 (19,6 – 37,6)	<0,001
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4,8 (1,2)	5,8 (1,1)	< 0,001
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,881 (0,174)	0,922 (0,170)	0,056
eGFR (CKD-EPI) (mL/min/1.73m ²)	89,4 (18,4)	86,4 (16,0)	0,183

Οι συνεχείς μεταβλητές ουρικό οξύ, κρεατινίνη και eGFR εκφράζονται ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση) ή μ.ο. (1 SD). Οι συνεχείς μεταβλητές AST/GOT, ALT/GPT και γ-GT εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο t ως προς την ισότητα των μέσων όρων για τις συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή και με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή.

4.1.4. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και δείκτες οξειδωσης ορού των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ

Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση της κυτταροκίνη/λιποκυτταροκίνης IL-6 στο πλάσμα και χαμηλότερη συγκέντρωση της λιποκυτταροκίνης αντιπονεκτίνη στο πλάσμα συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες (πίνακας 12 και πίνακας 13). Οι δείκτες οξειδωσης του ορού lag time, Vmax και

δραστικότητα της GPx3 δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ. Ωστόσο, παρατηρούμε ότι οι τιμές του lag time είναι οριακά υψηλότερες, ενώ του Vmax είναι οριακά χαμηλότερες στους συμμετέχοντες με ΜΣ βάσει των κριτηρίων AHA/NHLBI (πίνακας 13).

Πίνακας 12. Δείκτες φλεγμονής στο πλάσμα και δείκτες οξειδωσης στον ορό των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (IDF)

	Μεταβολικά υγιείς (v= 178)	ΜΣ (v= 106)	p
Δείκτες φλεγμονής:			
IL-6 (pg/mL)	1,4 (0,9- 2,2)	2,2 (1,3 – 3,0)	< 0,001
Αντιπυονεκτίνη (μg/mL)	8,5 (5,9 – 12,9)	5,5 (3,8 – 8,7)	< 0,001
Δείκτες οξειδωσης:			
Lag time (min)	61 (50 – 78,5)	66,5 (53,7 – 87,3)	0,157
Vmax (mOD/min)	1,95 (1,60 – 2,30)	1,73 (1,45 – 2,10)	0,117
GPx3 (U)	0,032 (0,025 – 0,039)	0,033 (0,026 – 0,041)	0,565

Οι συνεχείς μεταβλητές IL-6, αντιπυονεκτίνη, lag time , Vmax και GPx3 εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις μεταβλητές επειδή δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Πίνακας 13. Δείκτες φλεγμονής στο πλάσμα και δείκτες οξειδωσης στον ορό των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ (AHA/NHLBI)

	Μεταβολικά υγιείς (v= 189)	ΜΣ (v= 95)	p
Δείκτες φλεγμονής:			
IL-6 (pg/mL)	1,4 (0,9 – 2,3)	2,1 (1,4 – 3,0)	< 0,001
Αντιπυονεκτίνη (μg/mL)	8,5 (5,7 – 12,6)	5,5 (4,1 – 8,5)	< 0,001
Δείκτες οξειδωσης:			
Lag time (min)	61 (50 – 77)	68 (54 – 91)	0,053
Vmax (mOD/min)	1,95 (1,60 – 2,30)	1,70 (1,45 – 2,05)	0,095
GPx3 (U)	0,032 (0,025 – 0,039)	0,033 (0,026 – 0,040)	0,698

Οι συνεχείς μεταβλητές IL-6, αντιπυονεκτίνη, lag time , Vmax και GPx3 εκφράζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) λόγω μη κανονικής κατανομής. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο Z κατά Kolmogorov-Smirnov για τις μεταβλητές επειδή δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή.

4.1.5. Συσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων που ορίζουν το ΜΣ και παραγόντων που σχετίζονται με το ΜΣ

Η HDL-χοληστερόλη ορού συσχετίζεται αρνητικά με την ινσουλίνη ορού, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, την γ -GT ορού, την IL-6 πλάσματος και τον ΔΜΣ. Επίσης, η HDL-χοληστερόλη ορού συσχετίζεται αρνητικά με την κρεατινίνη και το ουρικό οξύ ορού, την περιφέρεια ισχίων και το σωματικό βάρος. Αντιθέτως, η HDL-χοληστερόλη ορού συσχετίζεται θετικά με την αντιπονεκτίνη πλάσματος (πίνακας 14, σχήμα 8). Οι συσχετίσεις της HDL-χοληστερόλης ορού με τους παραπάνω παράγοντες παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 15, σχήμα 8). Η HDL-χοληστερόλη συσχετίζεται αρνητικά με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 16, σχήμα 9). Οι συσχετίσεις παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9).

Τα τριγλυκερίδια ορού συσχετίζονται θετικά με την ινσουλίνη ορού, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τις ALT/GPT και γ -GT ορού, την IL-6 πλάσματος και τον ΔΜΣ. Επίσης, τα τριγλυκερίδια ορού συσχετίζονται θετικά με την κρεατινίνη και το ουρικό οξύ ορού, καθώς και με το σωματικό βάρος. Αντιθέτως, τα τριγλυκερίδια ορού συσχετίζονται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη πλάσματος (πίνακας 14, σχήμα 8). Οι συσχετίσεις των τριγλυκεριδίων ορού με τους παραπάνω παράγοντες παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές. Εξαίρεση αποτελούν οι συσχετίσεις με την κρεατινίνη ορού και με το σωματικό βάρος οι οποίες καθίστανται στατιστικά μη σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 15, σχήμα 8). Τα τριγλυκερίδια ορού συσχετίζονται θετικά με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 16, σχήμα 9). Οι συσχετίσεις παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9).

Η γλυκόζη ορού συσχετίζεται θετικά με την ινσουλίνη ορού, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τις ALT/GPT και γ -GT ορού και τον ΔΜΣ. Επίσης, η γλυκόζη ορού συσχετίζεται θετικά με την κρεατινίνη και το ουρικό οξύ ορού, καθώς και με το σωματικό βάρος. Αντιθέτως, η γλυκόζη ορού συσχετίζεται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη πλάσματος (πίνακας 14, σχήμα 8). Οι συσχετίσεις της γλυκόζης ορού με τους παραπάνω παράγοντες

παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές. Εξαίρεση αποτελούν οι συσχετίσεις με τις ALT/GPT, γ-GT και κρεατινίνη ορού οι οποίες καθίστανται στατιστικά μη σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 15, σχήμα 8). Η γλυκόζη ορού συσχετίζεται θετικά με τη φαρμακευτική αγωγή για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 16, σχήμα 9). Οι συσχετίσεις παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9).

Η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζονται θετικά με την ινσουλίνη ορού, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τις ALT/GPT και γ-GT ορού και τον ΔΜΣ. Επίσης, η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζονται θετικά με το ουρικό οξύ ορού και το σωματικό βάρος. Επιπλέον, η συστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζεται θετικά με την IL-6 πλάσματος. Αντιθέτως, η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζονται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη πλάσματος (πίνακας 14, σχήμα 8). Οι συσχετίσεις της συστολικής και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης με τους παραπάνω παράγοντες παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές. Εξαίρεση αποτελούν οι συσχετίσεις με την ALT/GPT ορού (μόνο για την διαστολική αρτηριακή πίεση), την γ-GT και το ουρικό οξύ ορού και την IL-6 πλάσματος (μόνο για την συστολική αρτηριακή πίεση), καθώς και την αντιπονεκτίνη πλάσματος. Οι συγκεκριμένες συσχετίσεις καθίστανται στατιστικά μη σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 15, σχήμα 8). Η συστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζεται θετικά με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 16, σχήμα 9). Οι συσχετίσεις παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9). Εξαίρεση αποτελεί η συσχέτιση της συστολικής αρτηριακής πίεσης με τη φαρμακευτική αγωγή για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η οποία καθίσταται στατιστικά μη σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9).

Η περιφέρεια μέσης συσχετίζεται θετικά με την ινσουλίνη ορού, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τις ALT/GPT και γ-GT ορού, την IL-6 πλάσματος και τον ΔΜΣ. Επίσης, η περιφέρεια μέσης συσχετίζεται θετικά με την κρεατινίνη και το ουρικό οξύ ορού, την περιφέρεια ισχίων και το σωματικό βάρος. Αντιθέτως, η περιφέρεια μέσης συσχετίζεται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη πλάσματος (πίνακας 14, σχήμα 8). Οι συσχετίσεις της περιφέρεια μέσης με τους παραπάνω παράγοντες παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το

φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές. Εξαίρεση αποτελεί η συσχέτιση με την κρεατινίνη ορού η οποία καθίσταται στατιστικά μη σημαντική όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 15, σχήμα 8). Η περιφέρεια μέσης συσχετίζεται θετικά με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (πίνακας 16, σχήμα 9). Οι συσχετίσεις παραμένουν στατιστικά σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9). Εξαίρεση αποτελεί η συσχέτιση της περιφέρεια μέσης με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, η οποία καθίσταται στατιστικά μη σημαντικές όταν το φύλο και η ηλικία χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές (πίνακας 17, σχήμα 9).

Πίνακας 14. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες

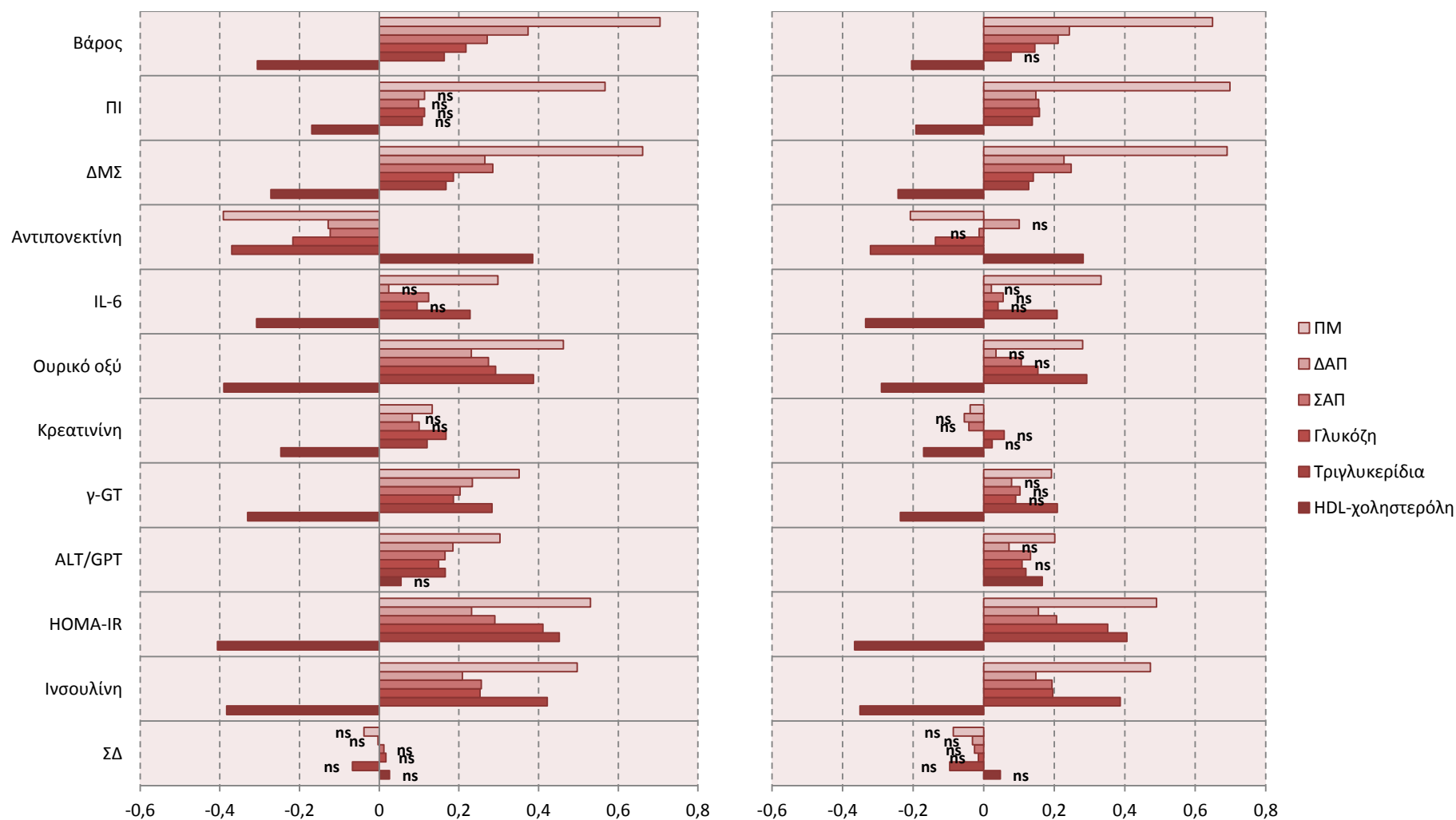
	ΣΔ	Ινσουλίνη	HOMA-IR	ALT/GPT	γ-GT	Κρεατινίνη	Ουρικό οξύ	IL-6	Αντιπνευκτίνη	ΔΜΣ	ΠΙ	Βάρος
HDL-χοληστερόλη	0,026	-0,383 ^a	-0,406 ^a	0,055	-0,330 ^a	-0,247 ^a	-0,390 ^a	-0,308 ^a	0,385 ^a	-0,272 ^a	-0,169 ^b	-0,306 ^a
Τριγλυκερίδια	-0,067	0,422 ^a	0,452 ^a	0,166 ^b	0,283 ^a	0,120 ^c	0,387 ^a	0,228 ^a	-0,370 ^a	0,168 ^b	0,108	0,163 ^b
Γλυκόζη	0,017	0,253 ^a	0,411 ^a	0,149 ^c	0,186 ^b	0,168 ^b	0,292 ^a	0,095	-0,217 ^a	0,186 ^b	0,114	0,218 ^a
ΣΑΠ	0,012	0,256 ^a	0,290 ^a	0,165 ^b	0,203 ^b	0,100	0,274 ^a	0,124 ^c	-0,123 ^c	0,285 ^a	0,099	0,271 ^a
ΔΑΠ	-0,003	0,209 ^a	0,232 ^a	0,185 ^b	0,234 ^a	0,083	0,231 ^a	0,024	-0,128 ^c	0,265 ^a	0,114	0,374 ^a
ΠΜ	-0,038	0,497 ^a	0,530 ^a	0,303 ^a	0,351 ^a	0,133 ^c	0,462 ^a	0,298 ^a	-0,391 ^a	0,661 ^a	0,567 ^a	0,705 ^a

Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια, γλυκόζη, συνολική δραστηριότητα, ινσουλίνη, HOMA-IR, ALT/GPT, γ-GT, IL-6, αντιπνευκτίνη και ΔΜΣ μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, ΠΙ: Περιφέρεια ισχίων, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, ΣΔ: Σωματική δραστηριότητα, HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r). ^ap-value <0,001, ^bp-value < 0,01, ^cp-value < 0,05.

Πίνακας 15. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία

	ΣΔ	Ινσουλίνη	HOMA-IR	ALT/GPT	γ-GT	Κρεατινίνη	Ουρικό	IL-6	Αντιπνευκτίνη	ΔΜΣ	ΠΙ	Βάρος
HDL-χοληστερόλη	0,047	-0,351 ^a	-0,366 ^a	0,166 ^b	-0,236 ^a	-0,170 ^b	-0,290 ^a	-0,335 ^a	0,282 ^a	-0,243 ^a	-0,192 ^b	-0,204 ^b
Τριγλυκερίδια	-0,096	0,387 ^a	0,406 ^a	0,120 ^c	0,209 ^b	0,024	0,292 ^a	0,208 ^b	-0,321 ^a	0,128 ^c	0,138 ^c	0,078
Γλυκόζη	-0,015	0,196 ^b	0,352 ^a	0,109	0,091	0,058	0,154 ^c	0,041	-0,137 ^c	0,141 ^c	0,158 ^c	0,145 ^c
ΣΑΠ	-0,026	0,194 ^b	0,207 ^b	0,133 ^c	0,103	-0,042	0,107	0,055	-0,013	0,248 ^a	0,156 ^c	0,211 ^a
ΔΑΠ	-0,032	0,148 ^c	0,155 ^c	0,072	0,079	-0,055	0,035	0,022	0,101	0,228 ^a	0,148 ^c	0,243 ^a
ΠΜ	-0,086	0,473 ^a	0,490 ^a	0,202 ^b	0,192 ^b	-0,038	0,281 ^a	0,333 ^a	-0,208 ^b	0,690 ^a	0,698 ^a	0,649 ^a

Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια, γλυκόζη, συνολική δραστηριότητα, ινσουλίνη, HOMA-IR, ALT/GPT, γ-GT, IL-6, αντιπνευκτίνη και ΔΜΣ μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, ΠΙ: Περιφέρεια ισχίων, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, ΣΔ: Σωματική δραστηριότητα, HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r). ^ap-value <0,001, ^bp-value < 0,01, ^cp-value < 0,05.



Σχήμα 8. Γραφική αναπαράσταση των αδρών συσχετίσεων (αριστερά) και των συσχετίσεων με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία (δεξιά) ανάμεσα στους παραγόντες του ΜΣ και παράγοντες του τρόπου ζωής, δείκτες ινσουλινο-αντίστασης, βιοχημικούς δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής και ανθρωπομετρικούς δείκτες. Ο άξονας των χ παρουσιάζει τους συντελεστές συσχέτισης κατά Pearson (r). ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, ΠΙ: Περιφέρεια ισχίων, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, ΣΔ: Σωματική δραστηριότητα, ns: non-significant.

Πίνακας 16. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

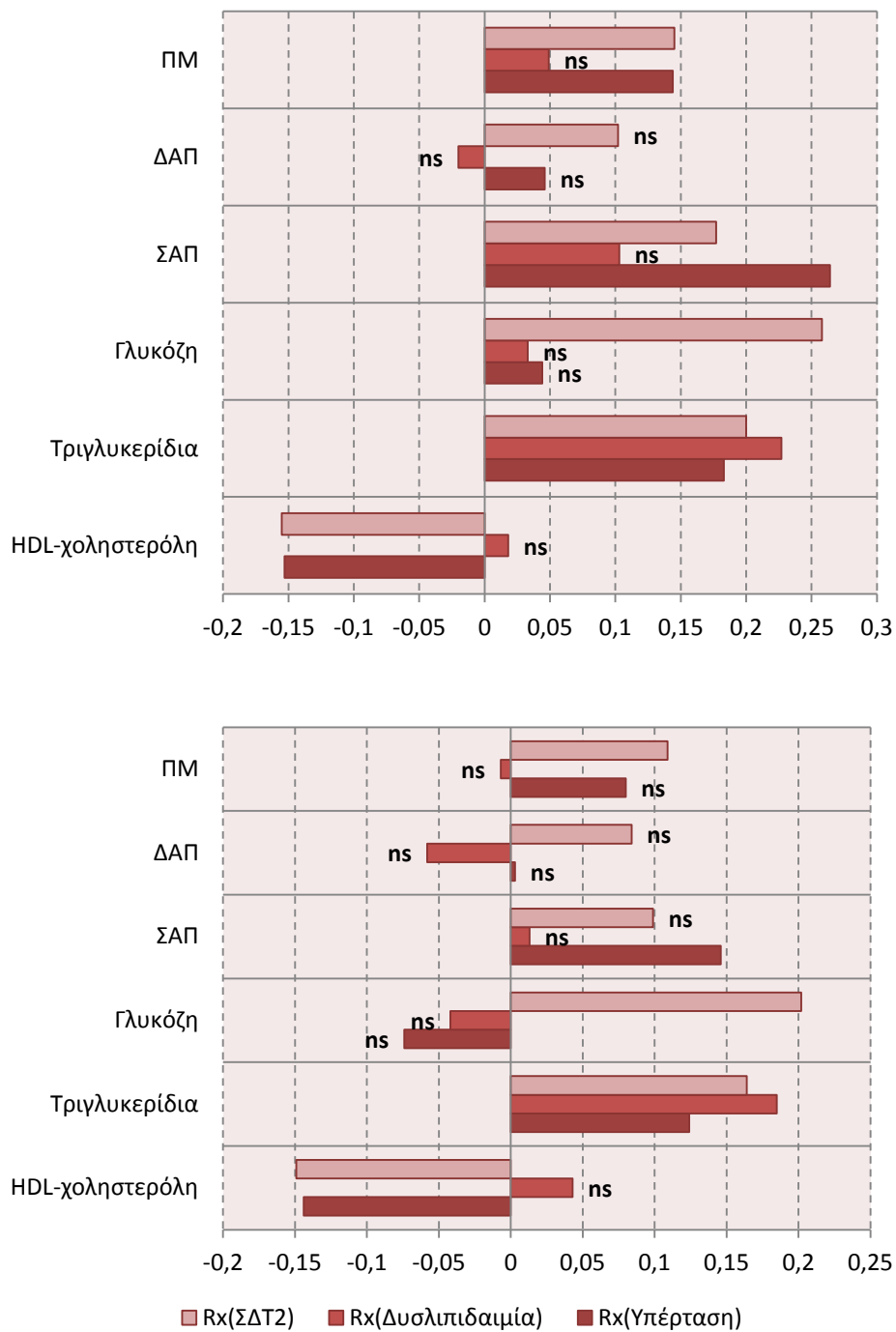
	Rx(Υπέρταση)	Rx(Δυσλιπιδαιμία)	Rx(ΣΔΤ2)
HDL-χοληστερόλη	-0,153 ^c	0,018	-0,155 ^c
Τριγλυκερίδια	0,183 ^b	0,227 ^a	0,200 ^b
Γλυκόζη	0,044	0,033	0,258 ^a
ΣΑΠ	0,264 ^a	0,103	0,177 ^b
ΔΑΠ	0,046	-0,020	0,102
ΠΜ	0,144 ^c	0,049	0,145 ^c

Εξαρτημένες μεταβλητές (συνεχείς μεταβλητές): HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΠΜ. Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια και γλυκόζη μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Ανεξάρτητες μεταβλητές (κατηγορικές μεταβλητές): Rx(Υπέρταση), Rx(Δυσλιπιδαιμία), Rx(ΣΔΤ2). ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, Rx(Υπέρταση): φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, Rx(Δυσλιπιδαιμία): φαρμακευτική αγωγή για τη δυσλιπιδαιμία, Rx(ΣΔΤ2): φαρμακευτική αγωγή για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β). ^ap-value <0,001, ^bp-value < 0,01, ^cp-value < 0,05.

Πίνακας 17. Συσχετίσεις των παραγόντων του ΜΣ με τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία

	Rx(Υπέρταση)	Rx(Δυσλιπιδαιμία)	Rx(ΣΔΤ2)
HDL-χοληστερόλη	-0,144 ^c	0,043	-0,149 ^c
Τριγλυκερίδια	0,124 ^c	0,185 ^b	0,164 ^b
Γλυκόζη	-0,074	-0,042	0,202 ^b
ΣΑΠ	0,146 ^c	0,013	0,099
ΔΑΠ	0,003	-0,058	0,084
ΠΜ	0,080	-0,007	0,109 ^c

Εξαρτημένες μεταβλητές (συνεχείς μεταβλητές): HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΠΜ. Οι τιμές των μεταβλητών τριγλυκερίδια και γλυκόζη μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 ($\log_{10}$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Ανεξάρτητες μεταβλητές (κατηγορικές μεταβλητές): Rx(Υπέρταση), Rx(Δυσλιπιδαιμία), Rx(ΣΔΤ2). ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, Rx(Υπέρταση): φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, Rx(Δυσλιπιδαιμία): φαρμακευτική αγωγή για τη δυσλιπιδαιμία, Rx(ΣΔΤ2): φαρμακευτική αγωγή για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β). ^ap-value <0,001, ^bp-value < 0,01, ^cp-value < 0,05.



Σχήμα 9. Γραφική αναπαράσταση των αδρών συσχετίσεων (πάνω) και των συσχετίσεων με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο και την ηλικία (κάτω) ανάμεσα στους παραγόντες του ΜΣ και τη φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Ο άξονας των χ παρουσιάζει τους συντελεστές γραμμικής συσχέτισης β . ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, ΠΜ: Περιφέρεια μέσης, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, Rx(Υπέρταση): φαρμακευτική αγωγή για την υπέρταση, Rx(Δυσλιπιδαιμία): φαρμακευτική αγωγή για τη δυσλιπιδαιμία, Rx(ΣΔΤ2): φαρμακευτική αγωγή για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, ns: non-significant

4.1.6. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις της αντιπονεκτίνης και της IL-6 με παραγόντες του ΜΣ

Το φύλο, η ηλικία και η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων (Μοντέλο 1), το φύλο, η ηλικία, η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και η περιφέρεια μέσης (Μοντέλο 2), καθώς και το φύλο, η ηλικία, η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και η συγκέντρωση ινσουλίνης (Μοντέλο 3 και Μοντέλο 4) αποτελούν σημαντικά μοντέλα που ερμηνεύουν το ~40% της διακύμανσης των τιμών του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα. Η συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης συμμετέχει στα παραπάνω μοντέλα με συντελεστή συσχέτισης ο οποίος τείνει να είναι στατιστικά σημαντικός (πίνακας 18).

Το φύλο, η ηλικία, η συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης και ο ΔΜΣ (Μοντέλο 1 και Μοντέλο 3), το φύλο, η ηλικία, η συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης και η περιφέρεια μέσης (Μοντέλο 2 και Μοντέλο 4) αποτελούν σημαντικά μοντέλα που ερμηνεύουν το ~20-25% της διακύμανσης των τιμών του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης IL-6 στο πλάσμα (πίνακας 19).

Πίνακας 18. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις μεταξύ αντιπονεκτίνης και παραγόντων του ΜΣ

	Μοντέλο 1 R ² =0,376				Μοντέλο 3 R ² =0,393			
	B	SE	β	P	B	SE	β	P
Φύλο (άνδρες)	-0,194	0,025	-0,405	<0,001	-0,189	0,025	-0,395	<0,001
Ηλικία (έτη)	0,005	0,001	0,210	<0,001	0,005	0,001	0,202	<0,001
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	0,002	0,001	0,119	0,055	0,002	0,001	0,119	0,053
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	-0,001	0,000	-0,213	<0,001	-0,001	0,000	-0,169	0,007
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,001	0,001	-0,046	0,401	-0,001	0,001	-0,040	0,459
ΔΜΣ (kg/m ²)	-0,004	0,003	-0,074	0,153	0,000	0,003	-0,004	0,941
Ινσουλίνη (mU/L)					-0,007	0,002	-0,164	0,006
	Μοντέλο 2 R ² =0,380				Μοντέλο 4 R ² =0,394			
	B	SE	β	P	B	SE	β	P
Φύλο (άνδρες)	-0,172	0,028	-0,359	<0,001	-0,179	0,028	-0,375	<0,001
Ηλικία (έτη)	0,006	0,001	0,211	<0,001	0,005	0,001	0,205	<0,001
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	0,002	0,001	0,119	0,052	0,002	0,001	0,117	0,057
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	-0,001	0,000	-0,201	0,001	-0,001	0,000	-0,165	0,008
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,001	0,001	-0,043	0,434	-0,001	0,001	-0,037	0,501
ΠΜ (cm)	-0,002	0,001	-0,117	0,049	-0,001	0,001	-0,054	0,398
Ινσουλίνη (mU/L)					-0,006	0,002	-0,148	0,011

Εξαρτημένη μεταβλητή: αντιπονεκτίνη. Οι τιμές αντιπονεκτίνης μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 (log10) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Ανεξάρτητες μεταβλητές: φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) (Μοντέλο 1), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης (ΠΜ) (Μοντέλο 2), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), ινσουλίνη (Μοντέλο 3), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης (ΠΜ), ινσουλίνη (Μοντέλο 4). B: μη κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης, SE: τυπικό σφάλμα του συντελεστή B, β: κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης

Πίνακας 19. Πολυπαραγοντικές συσχετίσεις μεταξύ IL-6 και παραγόντων του ΜΣ

	Μοντέλο 1 R ² =0,199				Μοντέλο 3 R ² =0,220			
	B	SE	β	P	B	SE	β	P
Φύλο (άνδρες)	-0,079	0,040	-0,117	0,052	-0,090	0,040	-0,134	0,027
Ηλικία (έτη)	0,008	0,002	0,211	<0,001	0,008	0,002	0,216	<0,001
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	-0,008	0,002	-0,265	<0,001	-0,008	0,002	-0,286	<0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	0,000	0,000	0,067	0,326	0,000	0,000	0,039	0,573
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,002	0,002	-0,050	0,422	-0,002	0,002	-0,059	0,342
ΔΜΣ (kg/m ²)	0,013	0,004	0,201	0,001	0,011	0,004	0,172	0,006
Ινσουλίνη (mU/L)	-	-	-	-	0,005	0,004	0,084	0,196
	Μοντέλο 2 R ² =0,236				Μοντέλο 4 R ² =0,253			
	B	SE	β	P	B	SE	β	P
Φύλο (άνδρες)	-0,171	0,043	-0,256	<0,001	-0,179	0,043	-0,268	<0,001
Ηλικία (έτη)	0,007	0,002	0,205	<0,001	0,008	0,002	0,214	<0,001
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	-0,007	0,002	-0,261	<0,001	-0,008	0,002	-0,287	<0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	0,000	0,000	0,040	0,555	0,000	0,000	0,027	0,692
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,002	0,002	-0,067	0,268	-0,002	0,002	-0,072	0,238
ΠΜ (cm)	0,008	0,002	0,320	<0,001	0,008	0,002	0,312	<0,001
Ινσουλίνη (mU/L)	-	-	-	-	0,001	0,004	0,025	0,703

Εξαρτημένη μεταβλητή: IL-6. Οι τιμές IL-6 μετατράπηκαν σε λογαρίθμους με βάση το 10 (log10) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Ανεξάρτητες μεταβλητές: φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) (Μοντέλο 1), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης (ΠΜ) (Μοντέλο 2), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), ινσουλίνη (Μοντέλο 3), φύλο, ηλικία, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, περιφέρεια μέσης (ΠΜ), ινσουλίνη (Μοντέλο 4). B: μη κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης, SE: τυπικό σφάλμα του συντελεστή B, β: κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης

4.1.7. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση αντιπονεκτίνης και IL-6 στο πλάσμα

Η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης στο πλάσμα συσχετίζεται αντιστρόφως με την παρουσία του ΜΣ ανεξαρτήτως ορισμού (πίνακας 20).

Συγκεκριμένα, για αύξηση κατά 1 μονάδα της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα, η πιθανότητα ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF είναι 0,829 (95% CI: 0,762- 0,902) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ (πίνακας 20, Μοντέλο 1), ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας και του φύλου. Η συσχέτιση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα με το ΜΣ, βάσει των κριτηρίων του IDF, παραμένει σημαντική και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης ινσουλίνης, της HDL-χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, του ΔΜΣ και της περιφέρειας μέσης (πίνακας 20, Μοντέλα 2-6).

Παρομοίως, για αύξηση κατά 1 μονάδα της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα, η πιθανότητα ΜΣ βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI είναι 0,840 (95% CI: 0,772- 0,914) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ (πίνακας 20, Μοντέλο 1), ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας και του φύλου. Η συσχέτιση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα παραμένει σημαντική και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης ινσουλίνης, της HDL-χοληστερόλης, του ΔΜΣ και της περιφέρειας μέσης (πίνακας 20, Μοντέλα 2-5). Ωστόσο, η συσχέτιση καθίσταται μη σημαντική μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων (πίνακας 20, Μοντέλο 6).

Οι μεταβλητές ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης και συγκέντρωση ινσουλίνης, HDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων συνιστούν παράγοντες του ΜΣ. Επίσης, οι ίδιες μεταβλητές συσχετίζονται με την αντιπονεκτίνη, όπως αναφέρεται στις υπο-ενότητες 4.1.5 και 4.1.6. Συνεπώς, οι συγκεκριμένες μεταβλητές θεωρούνται μεταβλητές – μεσολαβητές. Ο έλεγχος κατά Sobel εξετάζει εάν η συσχέτιση της αντιπονεκτίνης με το ΜΣ παρουσία μεταβλητής – μεσολαβητή (έμμεση συσχέτιση) διαφέρει από τη συσχέτιση της αντιπονεκτίνης με το ΜΣ απουσία μεταβλητής – μεσολαβητή (άμεση συσχέτιση) και εάν αυτή η διαφορά είναι σημαντική. Οι διαφορές είναι σημαντικές στην περίπτωση του ΔΜΣ (z-test = 2.898, SE = 0.012, p = 0.004), της περιφέρειας μέσης (z-test = 2.732, SE = 0.012, p = 0.006), της ινσουλίνης (z-test = 2.539, SE = 0.010, p = 0.011), της HDL-χοληστερόλης (z-test = 2.388, SE = 0.011, p = 0.017) και των τριγλυκεριδίων (z-test = 2.163, SE = 0.010, p = 0.031) ως μεταβλητές – μεσολαβητές της συσχέτισης της αντιπονεκτίνης με την παρουσία του ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF. Παρομοίως, οι διαφορές είναι σημαντικές για τις ίδιες μεταβλητές – μεσολαβητές και με την

ίδια σειρά σημαντικότητας για τη συσχέτιση της αντιπονεκτίνης με το ΜΣ βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Συγκεκριμένα, για τον ΔΜΣ είναι $z\text{-test} = 2.633$, $SE = 0.011$ ($p = 0.008$), για την περιφέρεια μέσης $z\text{-test} = 2.441$, $SE = 0.011$ ($p = 0.015$), για την ινσουλίνη $z\text{-test} = 2.225$, $SE = 0.009$ ($p = 0.026$) και για την HDL-χοληστερόλη $z\text{-test} = 1.980$, $SE = 0.010$ ($p = 0.048$).

Η συγκέντρωση IL-6 δεν συσχετίζεται με το ΜΣ (πίνακας 21). Συνεπώς, δεν πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος κατά Sobel για την IL-6.

Πίνακας 20. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση αντιπονεκτίνης στο πλάσμα

		Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
ΜΣ-IDF	Αντιπονεκτίνη (µg/mL)	0,829 (0,762- 0,902)	0,870 (0,797-0,949)	0,837 (0,764- 0,916)	0,846 (0,769- 0,930)	0,875 (0,798- 0,958)	0,894 (0,818- 0,977)
	Ινσουλίνη (mU/L)		1,131 (1,069-1,197)				
	ΔΜΣ (kg/m ²)			1,193 (1,113- 1,278)			
	ΠΜ (cm)				1,098 (1,064- 1,133)		
	HDL-χοληστερόλη (mg/dL)					0,904 (0,873- 0,937)	
	Τριγλυκερίδια (mg/dL)						1,020 (1,013- 1,027)
		Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
ΜΣ-AHA/NHLBI	Αντιπονεκτίνη (µg/mL)	0,840 (0,772- 0,914)	0,887 (0,813-0,969)	0,850 (0,776- 0,931)	0,861 (0,783- 0,947)	0,897 (0,817- 0,985)	0,921 (0,842- 1,007)
	Ινσουλίνη (mU/L)		1,147 (1,083-1,215)				
	ΔΜΣ (kg/m ²)			1,212 (1,129- 1,302)			
	ΠΜ (cm)				1,105 (1,070- 1,141)		
	HDL-χοληστερόλη (mg/dL)					0,884 (0,850- 0,919)	
	Τριγλυκερίδια (mg/dL)						1,023 (1,016- 1,031)

Εξαρτημένη μεταβλητή: ΜΣ. Συγχυτικές μεταβλητές: ηλικία (έτη), φύλο (άνδρες έναντι γυναικών).

Μοντέλο 1: αντιπονεκτίνη (µg/mL)

Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν ινσουλίνη (mU/L)

Μοντέλο 3: Μοντέλο 1 συν δείκτης μάζας σώματος, ΔΜΣ (kg/m²)

Μοντέλο 4: Μοντέλο 1 συν περιφέρεια μέσης, ΠΜ (cm)

Μοντέλο 5: Μοντέλο 1 συν HDL-χοληστερόλη (mg/dL)

Μοντέλο 6: Μοντέλο 1 συν τριγλυκερίδια (mg/dL)

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγος πιθανοτήτων (95% διάστημα εμπιστοσύνης) ή OR (95% CI).

Πίνακας 21. Συσχέτιση του ΜΣ με την συγκέντρωση IL-6 στο πλάσμα

		Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
ΜΣ-IDF	IL-6 (pg/mL)	1,086 (0,975- 1,210)	1,051 (0,935-1,182)	1,054 (0,934- 1,191)	1,021 (0,894- 1,166)	0,968 (0,853- 1,099)	1,033 (0,907- 1,176)
	Ινσουλίνη (mU/L)		1,154 (1,090-1,221)				
	ΔΜΣ (kg/m ²)			1,139 (1,073- 1,209)			
	ΠΜ (cm)				1,097 (1,065- 1,131)		
	HDL-χοληστερόλη (mg/dL)					0,893 (0,861- 0,925)	
	Τριγλυκερίδια (mg/dL)						1,023 (1,015- 1,030)
		Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
ΜΣ-AHA/NHLBI	IL-6 (pg/mL)	1,064 (0,954- 1,186)	1,024 (0,907-1,156)	1,019 (0,894- 1,162)	0,983 (0,854- 1,131)	0,918 (0,805- 1,048)	0,995 (0,870- 1,139)
	Ινσουλίνη (mU/L)		1,168 (1,103-1,237)				
	ΔΜΣ (kg/m ²)			1,167 (1,094- 1,244)			
	ΠΜ (cm)				1,110 (1,075- 1,146)		
	HDL-χοληστερόλη (mg/dL)					0,865 (0,830- 0,902)	
	Τριγλυκερίδια (mg/dL)						1,026 (1,018- 1,034)

Εξαρτημένη μεταβλητή: ΜΣ. Συγχυτικές μεταβλητές: ηλικία (έτη), φύλο (άνδρες έναντι γυναικών).

Μοντέλο 1: IL-6 (pg/mL)

Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν ινσουλίνη (mU/L)

Μοντέλο 3: Μοντέλο 1 συν δείκτης μάζας σώματος, ΔΜΣ (kg/m²)

Μοντέλο 4: Μοντέλο 1 συν περιφέρεια μέσης, ΠΜ (cm)

Μοντέλο 5: Μοντέλο 1 συν HDL-χοληστερόλη (mg/dL)

Μοντέλο 6: Μοντέλο 1 συν τριγλυκερίδια (mg/dL)

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγος πιθανοτήτων (95% διάστημα εμπιστοσύνης) ή OR (95% CI).

4.1.8. Αξιολόγηση της συγκέντρωσης αντιγονεκτίνης στο πλάσμα ως προς την ικανότητα εκτίμησης του ΜΣ μεταξύ των συμμετεχόντων

Η συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στο πλάσμα διακρίνει το 74,4% (ΜΣ-IDF) ή 73,1% (ΜΣ-AHA/NHLBI) των συμμετεχόντων με ΜΣ. Η συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στο πλάσμα μαζί με τη συγκέντρωση ινσουλίνης στον ορό διακρίνουν το 81,3% (ΜΣ-IDF) ή 81,8% (ΜΣ-AHA/NHLBI) των συμμετεχόντων με ΜΣ. Η συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στο πλάσμα μαζί με την περιφέρεια μέσης διακρίνουν το 82,5% (ΜΣ-IDF) ή 82,2% (ΜΣ-AHA/NHLBI) των συμμετεχόντων με ΜΣ. Τέλος, η συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στο πλάσμα μαζί με τη συγκέντρωση ινσουλίνης στον ορό και την περιφέρεια μέσης διακρίνουν το 85,8% (ΜΣ-IDF) ή 86% (ΜΣ-AHA/NHLBI) των συμμετεχόντων με ΜΣ (πίνακας 22). Δεν πραγματοποιήθηκε στατιστικός έλεγχος της σημαντικότητας του βαθμού εκτίμησης του επιπολασμού του ΜΣ μεταξύ των μοντέλων.

Πίνακας 22. Συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στο πλάσμα και ικανότητα εκτίμησης του ΜΣ

		AUC	95% CI
ΜΣ-IDF	Αντιγονεκτίνη	0,744	0,685-0,801
	Ινσουλίνη	0,783	0,730-0,837
	ΔΜΣ	0,752	0,688-0,815
	ΠΜ	0,798	0,743-0,853
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη	0,813	0,760-0,858
	Αντιγονεκτίνη και ΔΜΣ	0,793	0,734-0,850
	Αντιγονεκτίνη και ΠΜ	0,825	0,767-0,883
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη και ΔΜΣ	0,829	0,780-0,874
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη και ΠΜ	0,858	0,814-0,896
ΜΣ-AHA/NHLBI	Αντιγονεκτίνη	0,731	0,672-0,791
	Ινσουλίνη	0,789	0,734-0,843
	ΔΜΣ	0,758	0,696-0,817
	ΠΜ	0,803	0,746-0,859
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη	0,818	0,763-0,862
	Αντιγονεκτίνη και ΔΜΣ	0,791	0,732-0,849
	Αντιγονεκτίνη και ΠΜ	0,822	0,767-0,879
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη και ΔΜΣ	0,840	0,793-0,884
	Αντιγονεκτίνη και Ινσουλίνη και ΠΜ	0,860	0,813-0,899

Εξαρτημένη μεταβλητή: ΜΣ. Ανεξάρτητες μεταβλητές: ηλικία, φύλο, αντιγονεκτίνη (Μοντέλο 1), ηλικία, φύλο, ινσουλίνη (Μοντέλο 2), ηλικία, φύλο, δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) (Μοντέλο 3), ηλικία, φύλο, περιφέρεια μέσης (ΠΜ) (Μοντέλο 4), μοντέλο 1 συν ινσουλίνη (Μοντέλο 5), μοντέλο 1 συν ΔΜΣ (Μοντέλο 6), μοντέλο 1 συν ΠΜ (Μοντέλο 7), μοντέλο 5 συν ΔΜΣ (Μοντέλο 8), μοντέλο 5 συν ΠΜ (Μοντέλο 9). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως εμβασό κάτω από την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (AUC) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI)

4.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος

4.2.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ

Οι άνδρες με ΜΣ (IDF) χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και αντιγονεκτίνης συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς. Αντιθέτως, χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας, υψηλότερες τιμές του δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, υψηλότερη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης, λόγο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων και δείκτη μάζας σώματος, καθώς και υψηλότερη συγκέντρωση του ηπατικού ενζύμου γ-GT και της IL-6. Τέλος, οι άνδρες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη συχνότητα λήψης φαρμακευτικής αγωγής για υπέρταση (πίνακας 23).

Οι άνδρες με ΜΣ (IDF) χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση αλανίνης, ασπαραγινικού οξέος, βαλίνης, γλουταμινικού οξέος, ισολευκίνης, κυνουρενίνης, λευκίνης, ολικής κυστεΐνης, τριμεθυλαμινο-N-οξειδίου, τρυπτοφάνης, τυροσίνης και φαινυλαλανίνης στο πλάσμα συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς (πίνακας 24). Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών, οι οποίες παραμένουν σημαντικές μετά από την διόρθωση κατά Bonferroni του επιπέδου σημαντικότητας λόγω πολλαπλών συγκρίσεων, εντοπίζονται ως προς την αλανίνη, την βαλίνη, το γλουταμινικό οξύ και την κυνουρενίνη. Στο σχήμα 10 παρουσιάζεται η μέση διαφορά μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών ως προς τα αμινοξέα και τους μεταβολίτες πλάσματος.

Πίνακας 23. Παράγοντες του τρόπου ζωής, κλινικοί και βιοχημικοί δείκτες των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ (IDF)

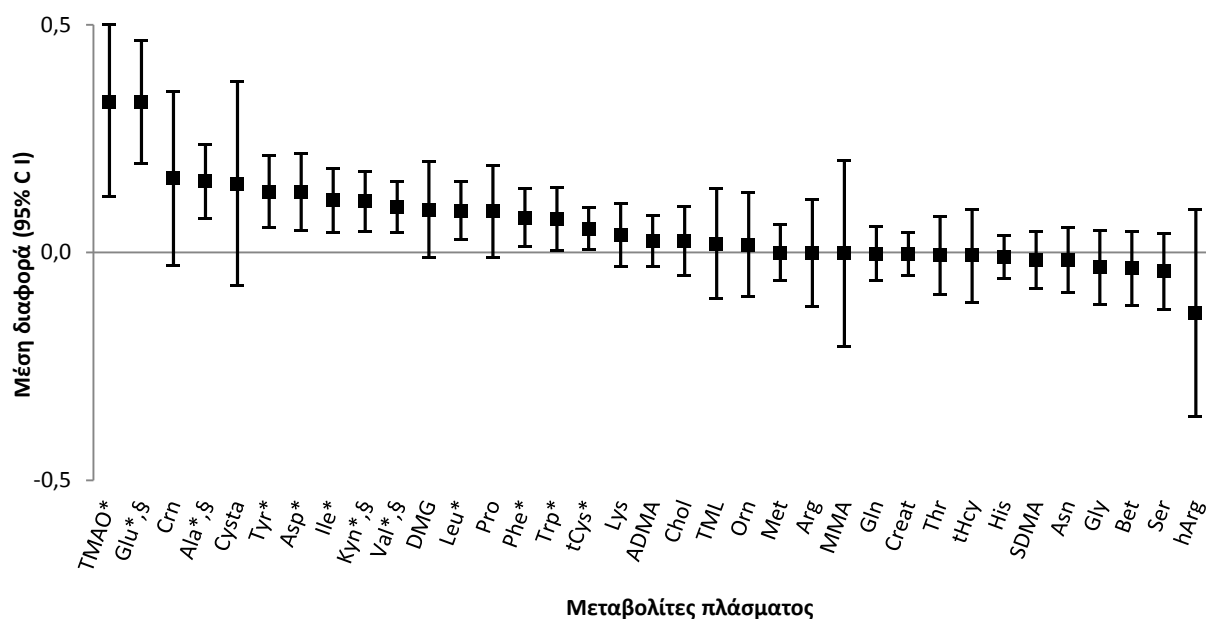
	Μεταβολικά υγιείς (n=44)	ΜΣ (n= 56)	p
Ηλικία (έτη)	53,5 (47,3 - 57,0)	57,5 (47,3 - 63,8)	0,068
Κάπνισμα (ναι)	12 (27,9)	22 (40)	0,285
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας (μέτριο)	28 (63,6)	29 (51,8)	0,309
MedDietScore (0-55)	33,0 (31,0 - 35,5)	34,0 (31,0 - 36,0)	0,620
Παράγοντες ΜΣ:			
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	50,2 (44,1 - 59,3)	37,7 (34,7 - 45,8)	<0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	101,2 (75,2 - 128,3)	166,9 (120,7 - 218,7)	<0,001
Γλυκόζη (mg/dL)	91,2 (86,1 - 97,1)	99,3 (90,3 - 109,3)	0,003
Ινσουλίνη (mU/L)	6,4 (5,0 - 9,3)	11,8 (8,7 - 16,7)	<0,001
HOMA-IR	1,5 (1,2 - 2,2)	2,9 (2,2 - 4,5)	<0,001
ΣΑΠ (mm Hg)	123,5 (116,0 - 131,0)	134,3 (125,5 - 138,0)	<0,001
ΔΑΠ (mm Hg)	80,0 (71,0 - 86,0)	85,0 (79,2 - 90,0)	0,035
Περιφέρεια μέσης (cm)	90,5 (87,0 - 93,0)	105,0 (100,0 - 112,4)	<0,001
Περιφέρεια μέσης/Περιφέρεια ισχίων	0,92 (0,88 – 0,95)	1,0 (0,95 – 1,06)	<0,001
ΔΜΣ (kg/m ²)	24,9 (24,1 - 26,5)	29,3 (27,1 - 32,4)	<0,001
Φαρμακευτική αγωγή για:			
Υπέρταση	3 (6,8)	17 (30,4)	0,005
Δυσλιπιδαιμία	7 (15,9)	14 (25,0)	0,327
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	0	4 (7,1)	0,128
eGFR (mL/min/1.73m ²)	96,9 (76,1 - 102,7)	91,4 (73,0 - 98,1)	0,059
AST/GOT (U/L)	19,59 (16,71 - 21,91)	18,67 (14,19 - 21,16)	0,271
ALT/GPT (U/L)	17,22 (11,99 - 23,35)	19,00 (11,76 - 28,13)	0,588
γ-GT (U/L)	21,54 (17,51 - 30,66)	28,48 (21,54 - 39,88)	0,021
IL-6 (pg/mL)	1,16 (0,90 - 2,21)	2,06 (1,50 - 2,99)	0,001
Αντιπυρεκτίνη (μg/mL)	6,50 (4,55 - 9,53)	4,71 (3,38 - 7,28)	0,006

Οι συνεχείς μεταβλητές ηλικία, MedDietScore, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, HOMA-IR, ΣΑΠ, ΔΑΠ, περιφέρεια μέσης, ΔΜΣ, eGFR, AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT, IL-6 και αντιπυρεκτίνη παρουσιάζονται ως διάμεσος (25^ο – 75^ο τεταρτημόριο). Οι κατηγορικές μεταβλητές κάπνισμα, παθητικό κάπνισμα και επίπεδο σωματικής δραστηριότητας ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή n (%). Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον μη παραμετρικό έλεγχο U κατά Mann-Whitney για τις συνεχείς μεταβλητές και τον έλεγχο Fischer's Exact Test για τις κατηγορικές μεταβλητές.

Πίνακας 24. Συγκεντρώσεις ελεύθερων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα των μεταβολικά υγιών ανδρών και των ανδρών με ΜΣ (IDF)

	Μεταβολικά υγείς		ΜΣ		ρ
	(ν= 44)		(ν= 56)		
Αλανίνη ^{*,§}	213,26	(171,87 - 240,96)	231,78	(211,37 - 270,16)	0,013 x 10 ⁻¹
Αργινίνη	72,05	(51,53 - 83,30)	69,00	(57,60 - 86,05)	0,956
Ασπαργίνη	106,88	(96,16 - 119,49)	102,88	(90,24 - 112,79)	0,252
Ασπαργινικό οξύ [*]	2,70	(2,25 - 2,92)	2,92	(2,66 - 3,40)	0,017 x 10 ⁻¹
Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη	0,462	(0,423 - 0,508)	0,470	(0,420 - 0,521)	0,479
Βαλίνη ^{*,§}	239,19	(225,72 - 262,16)	262,09	(244,07 - 292,96)	0,036 x 10 ⁻²
Βηταΐνη	39,35	(33,80 - 44,33)	38,05	(32,60 - 43,98)	0,468
Γλουταμίνη	518,49	(469,87 - 560,61)	505,86	(457,72 - 566,06)	0,612
Γλουταμινικό οξύ ^{*,§}	66,08	(52,67 - 81,52)	87,31	(72,96 - 106,84)	0,002 x 10 ⁻³
Γλυκίνη	243,44	(219,00 - 269,61)	232,87	(202,62 - 268,90)	0,159
Διμεθυλγλυκίνη	4,19	(3,69 - 4,75)	4,59	(3,81 - 5,41)	0,122
Θρεονίνη	188,89	(164,16 - 217,09)	186,48	(164,03 - 203,35)	0,537
Ισολευκίνη [*]	65,20	(59,56 - 76,03)	74,72	(66,10 - 82,98)	0,025 x 10 ⁻¹
Ιστιδίνη	80,10	(75,80 - 86,55)	82,60	(74,03 - 87,10)	0,978
Κρεατίνη	24,15	(16,03 - 34,28)	26,40	(19,50 - 40,53)	0,113
Κρεατινίνη	84,65	(77,95 - 88,43)	84,00	(75,90 - 92,29)	0,865
Κυνουρενίνη ^{*,§}	1,50	(1,34 - 1,74)	1,74	(1,52 - 1,88)	0,012 x 10 ⁻¹
Κυσταθειονίνη	0,186	(0,133 - 0,289)	0,233	(0,171 - 0,302)	0,121
Λευκίνη [*]	132,51	(119,01 - 140,57)	140,34	(125,91 - 152,69)	0,008
Λυσίνη	210,83	(187,47 - 234,65)	217,60	(192,55 - 242,53)	0,378
Μεθειονίνη	30,83	(27,62 - 33,02)	29,75	(27,41 - 34,68)	0,862
Μεθυλμαλονικό οξύ	0,167	(0,143 - 0,204)	0,167	(0,130 - 0,221)	0,824
Ολική κυστεΐνη [*]	276,50	(259,25 - 300,75)	298,50	(276,25 - 319,75)	0,012
Ολική ομοκυστεΐνη	12,40	(10,73 - 14,70)	11,95	(10,63 - 15,40)	0,956
Ομοαργινίνη	2,49	(1,79 - 3,37)	2,42	(1,90 - 3,24)	0,862
Ορνιθίνη	88,08	(67,43 - 117,17)	90,14	(73,43 - 108,44)	0,734
Προλίνη	184,24	(140,34 - 219,44)	197,75	(159,10 - 216,04)	0,143
Σερίνη	122,07	(103,75 - 140,61)	112,85	(99,76 - 131,28)	0,153
Συμμετρική διμεθυλαργινίνη	0,607	(0,544 - 0,675)	0,593	(0,537 - 0,660)	0,539
Τριμεθυλαμινο-N-οξειδίο [*]	2,60	(1,98 - 3,48)	3,26	(2,35 - 5,27)	0,036
Τριμεθυλλυσίνη	0,652	(0,564 - 0,780)	0,673	(0,565 - 0,816)	0,603
Τρυπτοφάνη [*]	72,00	(66,65 - 81,24)	78,68	(70,69 - 86,06)	0,043
Τυροσίνη [*]	65,14	(59,30 - 72,75)	75,24	(64,79 - 84,35)	0,017 x 10 ⁻¹
Φαινυλαλανίνη [*]	57,29	(51,98 - 61,74)	60,37	(56,34 - 64,88)	0,026
Χολίνη	9,68	(8,79 - 10,98)	9,69	(8,56 - 11,10)	0,755

Οι μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος (25^ο-75^ο εκατοστημόριο) και εκφράζονται σε μmol/L. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών πραγματοποιήθηκε με τον μη παραμετρικό έλεγχο U κατά Mann-Whitney. * p< 0,05, § p διορθωμένο κατά Bonferroni < 0,0014



Σχήμα 10. Μέση διαφορά μεταξύ των ανδρών με ΜΣ (IDF) και των μεταβολικά υγιών ως προς τα αμινοξέα και τους μεταβολίτες πλάσματος. Παριστάνεται η μέση διαφορά και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (CI) της μέσης διαφοράς (κάθετος άξονας) για κάθε μεταβολίτη (οριζόντιος άξονας). Η μέση διαφορά παριστάνεται με τετράγωνο (*) και το 95% CI της μέσης διαφοράς παριστάνεται με άνω και κάτω γραμμές. Οι τιμές των μεταβλητών μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από τον έλεγχο t, λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές παριστάνονται με (*) για $p < 0,05$ και (§) για p -Bonferroni $< 0,0014$. Συντομογραφίες: Ala, αλανίνη; Arg, αργινίνη; Asn, ασπαραγίνη; Asp, ασπαραγινικό οξύ; ADMA, ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη; Bet, βηταΐνη; Chol, χολίνη; Crn, κρεατίνη; Creat, κρεατινίνη; Cysta, κυσταθειονίνη; DMG, διμεθυλγλυκίνη; Glu, γλουταμινικό οξύ; Gln, γλουταμίνη; Gly, γλυκίνη; His, ιστιδίνη; hArg, ομοαργινίνη; Ile, ισολευκίνη; Kyn, κυνουρενίνη; Leu, λευκίνη; Lys, λυσίνη; Met, μεθειονίνη; MMA, μεθυλμαλονικό οξύ; Orn, ορνιθίνη; Phe, φαινυλαλανίνη; Pro, προλίνη; SDMA, συμμετρική διμεθυλαργινίνη; Ser, σερίνη; tCys, ολική κυστεΐνη; tHcy, ολική ομοκυστεΐνη; Thr, θρεονίνη; TMAO, τριμεθυλαμινο-N-οξειδίο; TML, τριμεθυλλυσίνη; Trp, τρυπτοφάνη; Tyr, τυροσίνη; Val, βαλίνη.

4.2.2. Ανάλυση σε κύριες συνιστώσες των αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα

Οι συγκεντρώσεις των ελεύθερων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των λογαριθμοποιημένων μεταβλητών ήταν η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με ορθογώνια περιστροφή. Ο στατιστικός δείκτης Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy ισούται με 0,664 και μαζί με τον έλεγχο σφαιρικότητας κατά Bartlett ($p < 0.001$) έδειξαν ότι η ανάλυση

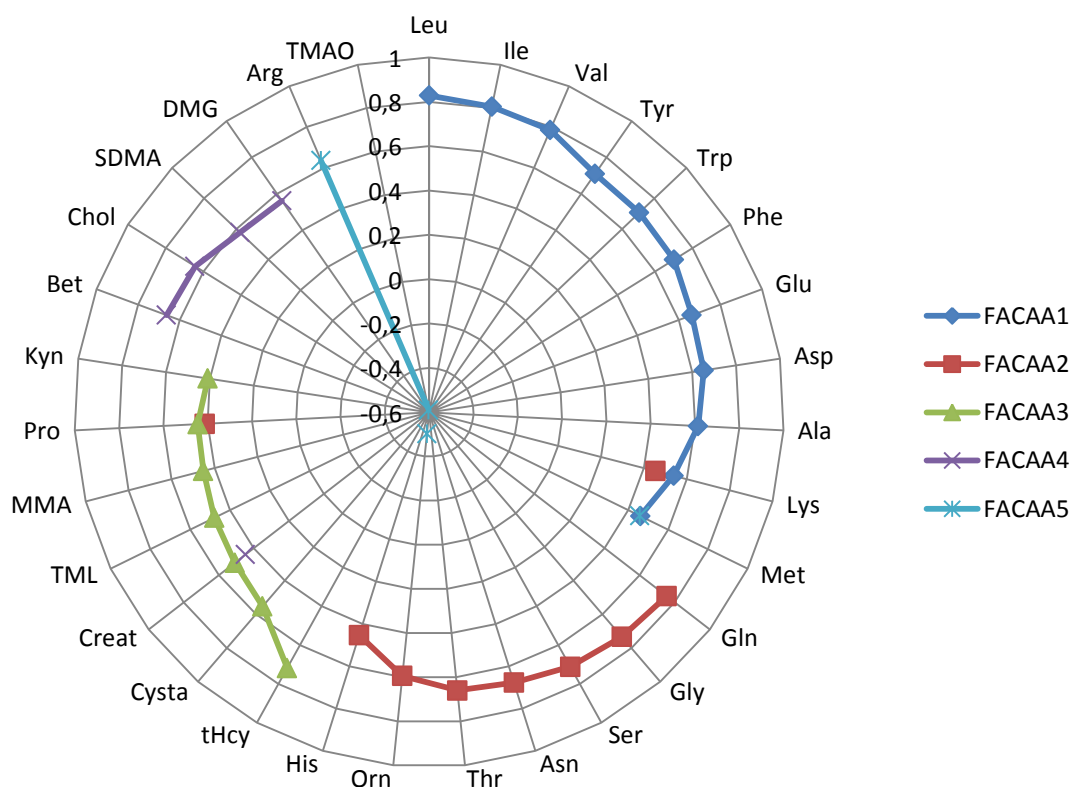
σε κύριες συνιστώσες είναι κατάλληλη για να εφαρμοστεί στα δεδομένα της συγκεκριμένης μελέτης. Από τις 35 συνιστώσες – παράγοντες, οι 12 έχουν διακύμανση (eigenvalue) ίση ή μεγαλύτερη από τη μονάδα. Βάσει του διαγράμματος της διακύμανσης για τους 12 παράγοντες (scree plot), καταλήξαμε σε 5 παράγοντες, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στις επόμενες αναλύσεις. Οι 5 παράγοντες ερμηνεύουν το ~50% της διακύμανσης των 35 αρχικών μεταβλητών. Οι μεταβλητές που συνθέτουν κάθε παράγοντα παρουσιάζονται στον πίνακα 25 και στο σχήμα 11.

Ο παράγοντας FAC_{AA1} αποτελείται από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (λευκίνη, ισολευκίνη, βαλίνη), τα αρωματικά αμινοξέα (τυροσίνη, τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη), το γλουταμινικό και το ασπαραγινικό οξύ, την αλανίνη, την λυσίνη και την μεθειονίνη. Ο παράγοντας FAC_{AA2} αποτελείται από την γλουταμίνη, την γλυκίνη, την σερίνη, την ασπαραγίνη, την θρεονίνη, την ορνιθίνη, την λυσίνη, την ιστιδίνη και την προλίνη. Ο παράγοντας FAC_{AA3} αποτελείται από την ολική ομοκυστεΐνη, την κυσταθειονίνη, την κρεατινίνη, την τριμεθυλλυσίνη, το μεθυλμαλονικό οξύ, την προλίνη και την κυνουρενίνη. Ο παράγοντας FAC_{AA4} αποτελείται από την βηταΐνη, την χολίνη, την συμμετρική διμεθυλαργινίνη, την διμεθυλγλυκίνη και την κρεατινίνη. Ο παράγοντας FAC_{AA5} αποτελείται από την αργινίνη, την οξειδωμένη τριμεθυλαμίνη, την ορνιθίνη και την μεθειονίνη.

Πίνακας 25. Παράγοντες αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα

	Παράγοντας (FAC _{AA})				
	1	2	3	4	5
Λευκίνη	0,829	0,221	-0,080	0,113	-0,185
Ισολευκίνη	0,807	0,098	0,147	0,095	-0,120
Βαλίνη	0,785	0,171	0,027	-0,024	-0,306
Τυροσίνη	0,710	0,234	0,198	-0,085	0,183
Τρυπτοφάνη	0,707	0,393	-0,063	-0,056	-0,009
Φαινυλαλανίνη	0,701	0,354	0,168	0,149	0,167
Γλουταμινικό οξύ	0,663	-0,262	-0,115	-0,136	0,030
Ασπαραγινικό οξύ	0,653	0,107	0,092	0,060	0,155
Αλανίνη	0,615	0,265	0,288	-0,167	0,068
Λυσίνη	0,539	0,454	-0,240	0,223	0,035
Μεθειονίνη	0,461	0,317	0,138	0,023	0,459
Κρεατίνη	0,286	-0,002	-0,086	-0,081	-0,270
Γλουταμίνη	0,119	0,754	0,147	-0,018	-0,006
Γλυκίνη	-0,004	0,734	-0,044	-0,257	0,119
Σερίνη	0,244	0,712	-0,189	0,015	0,038
Ασπαραγίνη	0,361	0,677	-0,039	0,094	0,185
Θρεονίνη	0,345	0,660	0,162	-0,063	0,058
Ορνιθίνη	0,107	0,594	0,107	0,290	-0,503
Ιστιδίνη	0,240	0,453	-0,173	0,177	0,279
Ολική ομοκυστεΐνη	-0,067	-0,066	0,719	0,051	0,082
Κυσταθειονίνη	0,193	-0,162	0,553	-0,055	-0,040
Κρεατινίνη	-0,137	0,014	0,508	0,447	-0,030
Τριμεθυλλυσίνη	0,077	-0,012	0,479	0,199	-0,251
Μεθυλμαλονικό οξύ	0,046	0,075	0,452	0,096	0,210
Προλίνη	0,262	0,413	0,445	-0,360	-0,228
Κυνουρενίνη	0,316	0,211	0,410	0,227	-0,259
Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη	-0,036	0,162	0,244	0,130	-0,122
Βηταΐνη	-0,061	0,009	-0,026	0,663	0,027
Χολίνη	0,116	0,040	0,082	0,644	-0,244
Συμμετρική διμεθυλαργινίνη	-0,225	0,001	0,294	0,577	0,216
Διμεθυλγλυκίνη	0,267	-0,046	0,341	0,562	0,112
Ολική κυστεΐνη	0,080	-0,168	0,216	0,264	0,165
Αργινίνη	0,026	0,035	0,142	-0,002	0,636
Τριμεθυλαμινο-N-οξείδιο	-0,014	-0,091	0,198	0,134	-0,589
Ομοαργινίνη	-0,017	0,078	-0,055	0,192	0,365
% διακύμανσης	22,857	9,288	7,160	6,007	5,052

Μέθοδος: Ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (PCA) με ορθογώνια περιστροφή (varimax rotation). Οι τιμές των μεταβλητών μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. FAC_{AA}: amino acid factor



Σχήμα 11. Γραφική αναπαράσταση της σύνθεσης των παραγόντων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών βάσει του συντελεστή συσχέτισης. Αναφέρονται μόνο εκείνοι οι μεταβολίτες για τους οποίους ο συντελεστής συσχέτισης με τον εκάστοτε παράγοντα είναι $\geq |0.4|$. Ala, αλανίνη; Arg, αργινίνη; Asn, ασπαράγινη; Asp, ασπαραγινικό οξύ; Bet, βηταΐνη; Chol, χολίνη; Creat, κρεατινίνη; Cysta, κυσταθειονίνη; DMG, διμεθυλγλυκίνη; Glu, γλουταμινικό οξύ; Gln, γλουταμίνη; Gly, γλυκίνη; His, ιστιδίνη; Ile, ισολευκίνη; Kyn, κυνουρενίνη; Leu, λευκίνη; Lys, λυσίνη; Met, μεθειονίνη; MMA, μεθυλμαλονικό οξύ; Orn, ορνιθίνη; Phe, φαινυλαλανίνη; Pro, προλίνη; SDMA, συμμετρική διμεθυλαργινίνη; Ser, σερίνη; tHcy, ολική ομοκυστεΐνη; Thr, θρεονίνη; TMAO, τριμεθυλαμινο-N-οξύδιο; TML, τριμεθυλλυσίνη; Trp, τρυπτοφάνη; Tyr, τυροσίνη; Val, βαλίνη. FAC_{AA} : amino acid factor

4.2.3. Συσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων μεταβολιτών και παραγόντων που σχετίζονται με το ΜΣ

Οι 5 παράγοντες που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (πίνακας 25) συσχετίζονται με παράγοντες του ΜΣ (πίνακας 26). Ο παράγοντας FAC_{AA1} συσχετίζεται αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη, ενώ συσχετίζεται θετικά με τα τριγλυκερίδια, την γλυκόζη, την ινσουλίνη, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τον ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης. Αντιθέτως, ο παράγοντας FAC_{AA2} συσχετίζεται θετικά με την HDL-χοληστερόλη, ενώ συσχετίζεται αρνητικά με την ινσουλίνη, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τη

συστολική αρτηριακή πίεση και τον ΔΜΣ. Ο παράγοντας FAC_{AA}3 συσχετίζεται θετικά με τον λόγο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων και ο παράγοντας FAC_{AA}4 συσχετίζεται αρνητικά με την γλυκόζη. Ο παράγοντας FAC_{AA}5 δεν συσχετίζεται με κανέναν παράγοντα του ΜΣ (πίνακας 26).

Επίσης, οι 5 παράγοντες συσχετίζονται με κυτταροκίνες/λιποκυτταροκίνες και δείκτες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας (πίνακας 27). Ο παράγοντας FAC_{AA}1 συσχετίζεται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη, ενώ συσχετίζεται θετικά με την γ-GT. Ο παράγοντας FAC_{AA}2 συσχετίζεται αρνητικά με την IL-6. Ο παράγοντας FAC_{AA}3 συσχετίζεται αρνητικά με τον δείκτη νεφρικής λειτουργίας eGFR. Ο παράγοντας FAC_{AA}4 συσχετίζεται θετικά με την αντιπονεκτίνη. Τέλος, ο παράγοντας FAC_{AA}5 συσχετίζεται θετικά με την AST/GOT (πίνακας 27).

Οι άνδρες με ΜΣ (IDF) χαρακτηρίζονται από υψηλότερες τιμές του παράγοντα FAC_{AA}1 ($p<0.001$) και χαμηλότερες τιμές του παράγοντα FAC_{AA}2 ($p=0,018$) συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς άνδρες. Ωστόσο, μετά από την διόρθωση του επιπέδου σημαντικότητας κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις, μόνο ο παράγοντας FAC_{AA}1 διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων του ΜΣ.

Η ηλικία χρησιμοποιήθηκε ως συγχυτική μεταβλητή σε όλες τις συσχετίσεις που αναφέρονται στην παρούσα υπο-ενότητα.

Πίνακας 26. Συσχετίσεις των παραγόντων μεταβολιτών που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με παράγοντες του ΜΣ

Παράγοντας	HDL-χοληστερόλη	Τριγλυκερίδια	Γλυκόζη ^a	Ινσουλίνη ^a	HOMA-IR ^a	ΣΑΠ	ΔΑΠ	ΔΜΣ	ΠΜ	ΠΜ/ΠΙ
FAC _{AA} 1	-0,435 ^b	0,416 ^b	0,222 ^d	0,451 ^b	0,473 ^b	0,112	0,193	0,389 ^b	0,426 ^b	0,199
FAC _{AA} 2	0,289 ^c	-0,196	-0,195	-0,271 ^d	-0,300 ^c	-0,296 ^c	-0,041	-0,219 ^d	-0,171	-0,113
FAC _{AA} 3	0,080	0,080	0,003	0,184	0,176	0,100	0,108	0,126	0,147	0,203 ^d
FAC _{AA} 4	0,104	-0,007	-0,225 ^d	-0,024	-0,080	0,195	0,083	0,086	-0,023	-0,114
FAC _{AA} 5	0,070	-0,068	-0,023	0,044	0,038	-0,008	0,104	0,008	0,011	-0,083

^aΟι τιμές των συνεχών μεταβλητών γλυκόζη, ινσουλίνη και HOMA-IR μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι συσχετίσεις παρουσιάζονται ως συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r). ^b $p \leq 0,001$; ^c $p \leq 0,005$; ^d $p \leq 0,05$. ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος, ΠΜ: περιφέρεια μέσης, ΠΜ/ΠΙ: λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, FAC_{AA}: amino acid factor, HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance

Πίνακας 27. Συσχετίσεις των παραγόντων μεταβολιτών που προέκυψαν από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με δείκτες φλεγμονής και δείκτες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας

Παράγοντας	IL-6 ^a	Αντιπυρεκτινή	eGFR	AST/GOT	ALT/GPT	γ-GT ^a
FAC _{AA} 1	0,159	-0,384 ^b	-0,071	-0,135	0,112	0,453 ^b
FAC _{AA} 2	-0,291 ^c	0,041	0,079	0,033	0,136	-0,111
FAC _{AA} 3	0,124	0,078	-0,270 ^d	0,047	0,034	0,010
FAC _{AA} 4	-0,130	0,246 ^d	-0,150	0,013	0,139	-0,054
FAC _{AA} 5	-0,009	0,067	-0,100	0,282 ^c	0,057	-0,113

^aΟι τιμές των συνεχών μεταβλητών IL-6 και γ-GT μετατράπηκαν σε φυσικούς λογαρίθμους ($\log_e$ ή $\ln$) πριν από την ανάλυση λόγω μη κανονικής κατανομής. Οι συσχετίσεις παρουσιάζονται ως συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κατά Pearson (r). ^b $p \leq 0,001$; ^c $p \leq 0,005$; ^d $p \leq 0,05$. eGFR: estimated glomerular filtration rate, FAC_{AA}: amino acid factor

4.2.4. Συσχέτιση του ΜΣ με τους παράγοντες αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα

Το ΜΣ (IDF) συσχετίζεται άμεσα με τον παράγοντα FAC_{AA}1, ο οποίος χαρακτηρίζεται από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα, το γλουταμινικό οξύ, το ασπαραγινικό οξύ, την αλανίνη, την λυσίνη και την μεθειονίνη (πίνακας 28, Μοντέλο 1). Συγκεκριμένα, για αύξηση κατά 1 μονάδα του παράγοντα FAC_{AA}1, η πιθανότητα ΜΣ (IDF) είναι 6,41 (95% CI: 2,43-16,91) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ (πίνακας 28, Μοντέλο 1), ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας, του καπνίσματος, του επιπέδου σωματικής δραστηριότητας, της φαρμακευτική αγωγής και των άλλων παραγόντων μεταβολιτών. Αντίθετα, το ΜΣ (IDF) συσχετίζεται αντιστρόφως με τον παράγοντα FAC_{AA}2, ο οποίος χαρακτηρίζεται από τα αμινοξέα γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαραγίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη, προλίνη (πίνακας 28, Μοντέλο 1). Συγκεκριμένα, για αύξηση κατά 1 μονάδα του παράγοντα FAC_{AA}2, η πιθανότητα ΜΣ (IDF) είναι 0,47 (95% CI: 0,23-0,96) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ (πίνακας 28, Μοντέλο 1), ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας, του καπνίσματος, του επιπέδου σωματικής δραστηριότητας, της φαρμακευτικής αγωγής και των άλλων παραγόντων μεταβολιτών. Κανένας από τους άλλους παράγοντες μεταβολιτών (FAC_{AA}3-5) δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με το ΜΣ (IDF).

Οι συσχετίσεις του ΜΣ (IDF) με τους παράγοντες FAC_{AA}1 και FAC_{AA}2 παραμένουν σημαντικές ακόμη και μετά από την προσθήκη των μεταβλητών GOT, GPT, γ-GT και αντιπυονεκτίνη ως μεταβλητές που ενδέχεται να μεσολαβούν στην σχέση του ΜΣ με τους συγκεκριμένους παράγοντες μεταβολιτών (πίνακας 28, Μοντέλα 2-5). Επιπλέον, ο παράγοντας FAC_{AA}3, ο οποίος χαρακτηρίζεται από την ολική ομοκυστεΐνη, την κυσταθειονίνη, την κρεατινίνη, την τριμεθυλλυσίνη, το μεθυλμαλονικό οξύ, την προλίνη και την κυνουρενίνη, βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με το ΜΣ (OR, 95% CI: 1,96, 1,03-3,72) μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης αντιπυονεκτίνης (πίνακας 28, Μοντέλο 5).

Πίνακας 28. Συσχέτιση του ΜΣ (IDF) με τους παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών στο πλάσμα

	Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5
	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)
FAC _{AA} 1	6,41 (2,43-16,91)	6,45 (2,42-17,22)	6,35 (2,40–16,77)	6,17 (2,00–19,00)	5,13 (1,90-13,85)
FAC _{AA} 2	0,47 (0,23-0,96)	0,47 (0,23-0,96)	0,46 (0,22-0,95)	0,47 (0,23-0,96)	0,45 (0,22-0,92)
FAC _{AA} 3	1,83 (0,98-3,41)	1,83 (0,98-3,41)	1,81 (0,97-3,38)	1,81 (0,97-3,38)	1,96 (1,03-3,72)
FAC _{AA} 4	0,66 (0,36-1,21)	0,66 (0,36-1,22)	0,66 (0,36-1,21)	0,66 (0,35-1,25)	0,72 (0,39-1,35)
FAC _{AA} 5	0,69 (0,38-1,26)	0,69 (0,36-1,32)	0,69 (0,37-1,26)	0,69 (0,38-1,26)	0,73 (0,39-1,34)
GOT (U/L)		1,00 (0,91-1,11)			
GPT (U/L)			1,00 (0,97-1,05)		
γ-GT (ln)				0,95 (0,25-3,68)	
Αντιπυρεκτική (μg/mL)					0,88 (0,71-1,09)

FAC_{AA} 1 (λευκίνη, ισολευκίνη, βαλίνη, τυροσίνη, τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη, γλουταμινικό οξύ, ασπαργινικό οξύ, αλανίνη, λυσίνη, μεθειονίνη); FAC_{AA} 2 (γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαργίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη, προλίνη); FAC_{AA} 3 (ολική ομοκυστεΐνη, κυσταθειονίνη, κρεατινίνη, τριμεθυλλυσίνη, μεθυλμαλονικό οξύ, προλίνη, κυνουρενίνη); FAC_{AA} 4 (βηταΐνη, χολίνης, συμμετρική διμεθυλαργινίνη, διμεθυλγλυκίνη, κρεατινίνη); FAC_{AA} 5 (αργινίνη, τριμεθυλ-αμινο-N-οξείδιο, ορνιθίνη, μεθειονίνη). Η ηλικία, οι παράγοντες FAC_{AA} 1-5, καθώς και οι μεταβλητές GOT, GPT και αντιπυρεκτική είναι συνεχείς μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή. Η μεταβλητή γ-GT δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή και οι τιμές της μετατρέπονται σε φυσικούς λογάριθμους (ln) πριν από την ανάλυση.

Μοντέλο 1: Οι παράγοντες FAC_{AA} 1-5 χρησιμοποιούνται ως ανεξάρτητες μεταβλητές και οι μεταβλητές ηλικία (έτη), κάπνισμα (ναι έναντι όχι), επίπεδο σωματικής δραστηριότητας (μέτριας έντασης έναντι χαμηλής έντασης) και φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση (ναι έναντι όχι), δυσλιπιδαιμία (ναι έναντι όχι) και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ναι έναντι όχι) χρησιμοποιούνται ως συγχυτικές μεταβλητές.

Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν GOT (U/L).

Μοντέλο 3: Μοντέλο 1 συν GPT (U/L).

Μοντέλο 4: Μοντέλο 1 συν γ-GT (ln).

Μοντέλο 5: Μοντέλο 1 συν αντιπυρεκτική (μg/mL).

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγος πιθανοτήτων (odds ratio, OR) και 95 % διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval, 95% CI).

4.3. Κυτταροκίνες/ λιποκυτταροκίνες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα

4.3.1 Διατροφικά πρότυπα βάσει των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα

Οι μεταβλητές που συνθέτουν τις συνιστώσες – παράγοντες αφορούν στην κατανάλωση ομάδων τροφίμων, η οποία έχει καταγραφεί σε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και εκφράζεται σε μερίδες ανά εβδομάδα. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των μεταβλητών ήταν η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με ορθογώνια περιστροφή. Ο στατιστικός δείκτης Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy ισούται με 0,579 και μαζί με τον έλεγχο σφαιρικότητας κατά Bartlett ($p < 0.001$) έδειξαν ότι η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες είναι κατάλληλη για να εφαρμοστεί στα δεδομένα της συγκεκριμένης μελέτης. Από τους 69 παράγοντες, οι 26 έχουν διακύμανση (eigenvalue) ίση ή μεγαλύτερη από τη μονάδα. Βάσει του διαγράμματος της διακύμανσης για τους 26 παράγοντες (scree plot), καταλήξαμε σε 7, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στις επόμενες αναλύσεις. Οι 7 παράγοντες ερμηνεύουν το ~30% της διακύμανσης των 69 αρχικών μεταβλητών. Οι μεταβλητές που συνθέτουν κάθε παράγοντα παρουσιάζονται στο πίνακα 29. Κάθε παράγοντας συνιστά ένα διατροφικό πρότυπο:

- 1) «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά», FAC_{FFQ1}
- 2) «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», FAC_{FFQ2}
- 3) «λαχανικά, αρτοσκευάσματα από δημητριακά ολικής αλέσεως, ψάρια, φρούτα», FAC_{FFQ3}
- 4) «παραδοσιακά πιάτα μεσογειακής κουζίνας, μαγιονέζα, θαλασσινά», FAC_{FFQ4}
- 5) «λίπη και έλαια, κρεατοσκευάσματα», FAC_{FFQ5}
- 6) «λευκό ρύζι, ελιές, αλκοολούχα ποτά χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθανόλη», FAC_{FFQ6}
- 7) «πατάτες, όσπρια, γλυκαντικές ύλες, λευκά ζυμαρικά», FAC_{FFQ7}

Πίνακας 29. Διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης (n=284)

	Παράγοντας (FAC _{FFQ})						
	1	2	3	4	5	6	7
Μπιφτέκι, κεφτεδάκια, κιμάς (FFQ19)	0,666	-0,015	0,010	-0,073	0,249	0,104	0,028
Χοιρινό (μπριζόλα, κομμάτι, σουβλάκι) (FFQ21)	0,585	-0,022	-0,148	0,045	0,024	0,242	0,072
Μοσχάρι (μπριζόλα, κομμάτι) (FFQ18)	0,552	0,045	0,005	0,093	-0,087	0,353	-0,050
Τοστ, σάντουιτς (FFQ47)	0,549	0,045	0,050	0,112	-0,118	-0,394	0,088
Κοτόπουλο/ γαλοπούλα (FFQ20)	0,513	-0,008	0,197	-0,094	0,003	-0,040	-0,078
Αλλαντικά (FFQ23)	0,483	0,041	-0,256	-0,080	0,011	-0,120	0,199
Τυρί κίτρινο, τυρί σε κρέμα (FFQ3)	0,435	0,205	-0,002	-0,126	0,082	-0,076	0,071
Πάστες, τάρτα (FFQ50)	-0,067	0,711	-0,026	0,316	0,110	-0,046	-0,070
Πατατάκια, γαριδάκια, ποπ κορν (FFQ54)	0,038	0,711	-0,129	0,002	0,105	-0,023	-0,092
Κρουασάν, γκοφρέτες, κέικ, μπισκότα (FFQ51)	0,005	0,645	-0,034	-0,103	0,192	0,045	0,056
Παγωτό, μιλκ σέικ, κρέμα, ρυζόγαλο (FFQ53)	0,126	0,597	-0,083	0,081	-0,166	-0,070	-0,059
Αναψυκτικά (FFQ60)	0,010	0,508	-0,259	0,260	-0,079	0,030	0,106
Μαρούλι, λάχανο, σπανάκι, ρόκα (FFQ34)	0,106	-0,127	0,633	0,052	-0,007	0,074	0,158
Μπρόκολο, κουνουπίδι, κολοκυθάκια (FFQ35)	0,074	-0,021	0,598	0,174	0,023	0,121	-0,123
Ψωμί ολικής αλέσεως, φρυγανιά (FFQ8)	-0,084	0,060	0,455	-0,106	0,002	-0,161	0,004
Ψάρια μεγάλα (FFQ27)	0,146	-0,107	0,436	0,248	-0,086	0,101	0,093
Μήλο, αχλάδι (FFQ38)	-0,030	-0,103	0,406	-0,127	0,040	-0,024	0,136
Παστίτσιο, μουςακάς, παπουτσάκια (FFQ31)	0,071	0,042	-0,076	0,713	0,128	0,126	-0,028
Χόρτα, πράσο, σπανάκι, σέλινο (FFQ36)	-0,006	-0,036	0,382	0,578	-0,028	0,118	0,057
Αρακάς, φασολάκια, μπάμιες, αγκινάρες (FFQ32)	-0,123	0,102	0,004	0,548	0,164	-0,020	0,156
Μαγιόνεζα, σως (FFQ64)	-0,054	0,084	-0,037	0,532	0,146	-0,013	0,069
Θαλασσινά (FFQ28)	-0,015	0,144	0,020	0,415	0,260	0,074	-0,059
Μαγιονέζα/ σως λάιτ (FFQ65)	0,042	0,066	-0,064	0,081	0,599	-0,132	-0,008
Σπορέλαιο (FFQ67)	-0,067	-0,024	0,045	0,099	0,536	-0,028	0,015
Κριτσίνια, παξιμάδια, κουλούρια (FFQ10)	0,188	-0,072	0,104	-0,051	0,496	0,092	0,133
Ελαιόλαδο (FFQ66)	0,028	-0,113	0,296	-0,213	-0,489	0,103	0,113
Λουκάνικα, μπέικον (FFQ24)	0,300	0,008	-0,032	0,099	0,467	0,105	-0,100
Βούτυρο (FFQ69)	0,005	-0,022	0,101	0,042	0,448	-0,025	0,266
Ρύζι λευκό (FFQ12)	0,100	0,132	0,271	-0,037	0,282	0,453	0,041
Ελιές (FFQ56)	-0,053	0,120	0,227	-0,101	0,115	0,450	0,084
Μπύρα (FFQ58)	0,107	-0,009	-0,014	0,101	-0,072	0,447	-0,057
Κρασί (FFQ57)	-0,087	-0,104	-0,004	0,108	-0,033	0,424	0,147
Πατάτες βραστές, φούρνου, πουρές (FFQ16)	0,159	0,001	0,042	-0,122	0,275	0,162	0,494
Μαργαρίνη (FFQ68)	-0,172	0,001	0,002	0,195	0,013	0,010	0,487
Όσπρια (FFQ29)	-0,172	0,061	0,077	0,023	0,063	-0,004	0,485
Μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη (FFQ55)	0,247	0,120	0,004	0,036	-0,211	-0,023	0,482
Μακαρόνια, κριθαράκι, χυλοπίτες, άλλα ζυμαρικά	0,254	0,034	0,115	-0,099	0,072	0,292	0,431
% διακύμανσης	6,376	4,972	4,871	3,845	3,515	3,186	2,901

Μέθοδος: Ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (PCA) με ορθογώνια περιστροφή (varimax rotation). Οι μεταβλητές που συνθέτουν τους παράγοντες αφορούν στην κατανάλωση ομάδων τροφίμων, η οποία έχει καταγραφεί σε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και εκφράζεται σε μερίδες ανά εβδομάδα. Στην παρένθεση δηλώνεται ο αριθμός της ερώτησης που αφορά στην κατανάλωση συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων κατά σειρά αναφοράς στο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (food frequency questionnaire, FFQ), FAC_{FFQ}: FFQ factor

4.3.2. Συσχέτιση IL-6 και αντιπονεκτίνης με διατροφικά πρότυπα

Οι συμμετέχοντες με ΜΣ δεν διαφέρουν σημαντικά από τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες ως προς τα διατροφικά πρότυπα. Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια ανεξαρτήτως του ορισμού του ΜΣ στην παρούσα μελέτη. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στην IL-6 και τα διατροφικά πρότυπα, στο σύνολο του δείγματος της παρούσας μελέτης ($n=284$), μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών, οι οποίοι συνιστούν παράγοντες του ΜΣ (πίνακας 30). Παρομοίως, δεν παρατηρήθηκε σημαντική γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και τα διατροφικά πρότυπα, στο σύνολο του δείγματος της παρούσας μελέτης ($n=284$), μετά από τον έλεγχο της επίδρασης παραγόντων του ΜΣ (πίνακας 31).

Πίνακας 30. Συσχέτιση της IL-6 με διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης ($n=284$)

	B	95% CI	β	p
<i>Μοντέλο 1</i>				
FAC _{FFQ} 1	-0,004	-0,048 – 0,039	-0,013	0,851
FAC _{FFQ} 2	0,031	-0,010 – 0,072	0,099	0,133
FAC _{FFQ} 3	0,004	-0,040 – 0,048	0,012	0,855
FAC _{FFQ} 4	0,011	-0,031 – 0,053	0,034	0,607
FAC _{FFQ} 5	0,012	-0,038 – 0,063	0,031	0,636
FAC _{FFQ} 6	0,017	-0,029 – 0,062	0,049	0,470
FAC _{FFQ} 7	-0,005	-0,051 – 0,041	-0,014	0,836
<i>Μοντέλο 2</i>				
FAC _{FFQ} 1	-0,003	-0,044 – 0,037	-0,010	0,874
FAC _{FFQ} 2	0,025	-0,013 – 0,063	0,083	0,196
FAC _{FFQ} 3	0,008	-0,032 – 0,049	0,026	0,690
FAC _{FFQ} 4	0,007	-0,032 – 0,046	0,023	0,723
FAC _{FFQ} 5	0,005	-0,044 – 0,053	0,012	0,852
FAC _{FFQ} 6	0,010	-0,034 – 0,054	0,028	0,670
FAC _{FFQ} 7	0,003	-0,040 – 0,046	0,009	0,891

Εξαρτημένη μεταβλητή: $\log_{10}$ (IL-6). Οι τιμές της IL-6 δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και μετατρέπονται σε δεκαδικούς λογάριθμους πριν από την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Μοντέλο 1: φύλο, ηλικία (έτη), ΔΜΣ (kg/m^2), FAC_{FFQ} 1-7. Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν HDL-χοληστερόλη (mg/dL). FAC_{FFQ} 1-7: κύριες συνιστώσες των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα, για το σύνολο το δείγματος της μελέτης ($n=284$). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI), καθώς και ως κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p).

Πίνακας 31. Συσχέτιση της αντιπυονεκτίνης με διατροφικά πρότυπα στο σύνολο του δείγματος της μελέτης (v=284)

	B	95% CI	β	p
<i>Μοντέλο 1</i>				
FAC _{FFQ} 1	0,004	-0,024 – 0,032	0,018	0,762
FAC _{FFQ} 2	-0,005	-0,031 – 0,022	-0,020	0,731
FAC _{FFQ} 3	0,001	-0,027 – 0,029	0,003	0,957
FAC _{FFQ} 4	-0,008	-0,035 – 0,019	-0,036	0,548
FAC _{FFQ} 5	-0,006	-0,038 – 0,027	-0,020	0,731
FAC _{FFQ} 6	0,020	-0,009 – 0,049	0,085	0,166
FAC _{FFQ} 7	-0,009	-0,039 – 0,020	-0,036	0,547
<i>Μοντέλο 2</i>				
FAC _{FFQ} 1	0,003	-0,024 – 0,029	0,012	0,834
FAC _{FFQ} 2	0,002	-0,023 – 0,026	0,008	0,890
FAC _{FFQ} 3	-0,004	-0,030 – 0,023	-0,015	0,790
FAC _{FFQ} 4	-0,008	-0,033 – 0,017	-0,035	0,546
FAC _{FFQ} 5	0,0005	-0,030 – 0,031	0,002	0,975
FAC _{FFQ} 6	0,015	-0,012 – 0,043	0,066	0,275
FAC _{FFQ} 7	-0,011	-0,038 – 0,016	-0,045	0,430

Εξαρτημένη μεταβλητή: $\log_{10}$ (αντιπυονεκτίνη). Οι τιμές της αντιπυονεκτίνης δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και μετατρέπονται σε δεκαδικούς λογάριθμους πριν από την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Μοντέλο 1: φύλο, ηλικία (έτη), ΔΜΣ (kg/m^2), FAC_{FFQ} 1-7. Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν HDL-χοληστερόλη (mg/dL), τριγλυκερίδια (mg/dL), ινσουλίνη (mU/L). FAC_{FFQ} 1-7: κύριες συνιστώσες των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα, για το σύνολο το δείγματος της μελέτης (v=284). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI), καθώς και ως κανονικοποιημένος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (β) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p).

4.4. Αμινοξέα/ μεταβολίτες πλάσματος και διατροφικά πρότυπα

4.4.1 Διατροφικά πρότυπα βάσει των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα

Οι μεταβλητές που συνθέτουν τις συνιστώσες – παράγοντες αφορούν στην κατανάλωση ομάδων τροφίμων, η οποία έχει καταγραφεί σε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και εκφράζεται σε μερίδες ανά εβδομάδα. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των μεταβλητών ήταν η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες με ορθογώνια περιστροφή. Ο στατιστικός δείκτης Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy ισούται με 0,401 και μαζί με τον έλεγχο σφαιρικότητας κατά Bartlett ($p < 0.001$)

έδειξαν ότι η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες είναι κατάλληλη για να εφαρμοστεί στα δεδομένα της συγκεκριμένης μελέτης. Από τους 69 παράγοντες, οι 22 έχουν διακύμανση (eigenvalue) ίση ή μεγαλύτερη από τη μονάδα. Βάσει του διαγράμματος της διακύμανσης για τους 22 παράγοντες (scree plot), καταλήξαμε σε 7, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στις επόμενες αναλύσεις. Οι 7 παράγοντες ερμηνεύουν το ~43% της διακύμανσης των 69 αρχικών μεταβλητών. Οι μεταβλητές που συνθέτουν κάθε παράγοντα παρουσιάζονται στο πίνακα 32. Κάθε παράγοντας συνιστά ένα διατροφικό πρότυπο:

- 1) «γαλακτοκομικά χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, δημητριακά και προϊόντα δημητριακών ολικής αλέσεως, πρόσθετες ύλες χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, αναψυκτικά με υποκατάστατα σακχάρων», FAC_{FFQ}1
- 2) «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες», FAC_{FFQ}2
- 3) «φρούτα», FAC_{FFQ}3
- 4) «σπιτικές πίτες, λευκό ψωμί και αρτοσκευάσματα, λαχανικά, λευκό ρύζι, πατάτες, λιπαρές ύλες», FAC_{FFQ}4
- 5) «γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων», FAC_{FFQ}5
- 6) «γλυκά, αφεψήματα, αλμυρά σνακ, αποξηραμένα φρούτα, ωμά λαχανικά», FAC_{FFQ}6
- 7) «ξηροί καρποί και σπόροι, ψάρια, θαλασσινά, γλυκά», FAC_{FFQ}7

Πίνακας 32. Διατροφικά πρότυπα στο δείγμα ανδρών του 2^{ου} σκέλους της μελέτης (n=100)

	Παράγοντας (FAC _{FFQ})						
	1	2	3	4	5	6	7
Γάλα/ γιαούρτι χαμηλό σε λιπαρά (FFQ2)	0,985	-0,008	-0,003	-0,038	-0,004	-0,008	-0,005
Ρύζι καστανό (FFQ13)	0,985	-0,001	-0,004	-0,042	-0,006	-0,005	-0,005
Ζυμαρικά ολικής αλέσεως (FFQ15)	0,985	-0,002	-0,005	-0,043	-0,006	-0,008	-0,006
Μαγιονέζα/ σως λάιτ (FFQ65)	0,985	0,002	-0,004	-0,040	-0,004	-0,009	-0,011
Ψωμί ολικής αλέσεως, φρυγανιά (FFQ8)	0,984	-0,002	-0,001	-0,036	-0,006	0,002	-0,009
Αναψυκτικά light (FFQ61)	0,624	0,085	-0,003	0,053	0,098	-0,018	0,032
Δημητριακά πρωινού, μπάρες δημητριακών (FFQ11)	0,504	-0,190	-0,027	-0,136	-0,011	0,213	-0,237
Μπιφτέκι, κεφτεδάκια, κιμάς (FFQ19)	-0,071	0,744	-0,035	-0,022	0,022	-0,113	-0,130
Χοιρινό (μπριζόλα, κομμάτι, σουβλάκι) (FFQ21)	0,041	0,687	-0,063	-0,052	0,027	-0,093	0,109
Τυρί κίτρινο, τυρί σε κρέμα (FFQ3)	-0,054	0,621	-0,064	-0,070	0,077	-0,102	0,084
Κοτόπουλο/ γαλοπούλα (FFQ20)	-0,036	0,577	-0,119	-0,077	-0,047	0,109	0,044
Λουκάνικα, μπέικον (FFQ24)	-0,033	0,483	-0,089	0,076	0,040	-0,126	0,051
Αλλαντικά (FFQ23)	-0,002	0,482	-0,120	-0,067	-0,019	-0,188	-0,292
Αυγό (βραστό, τηγανιτό, ομελέτα) (FFQ6)	-0,045	0,435	0,076	0,037	0,176	0,026	0,271
Τοστ, σάντουιτς (FFQ47)	0,241	0,425	-0,125	-0,065	-0,020	-0,137	-0,292
Μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη (FFQ55)	0,179	0,414	-0,022	0,074	0,227	0,143	0,255
Πατάτες τηγανιτές (FFQ17)	-0,038	0,408	0,342	-0,192	0,333	-0,108	0,239
Μήλο, αχλάδι (FFQ38)	0,005	-0,065	0,955	-0,012	0,008	-0,041	0,004
Άλλα καλοκαιρινά φρούτα (FFQ41)	-0,001	-0,075	0,954	-0,022	0,014	-0,053	0,009
Μπανάνα (FFQ40)	0,002	-0,067	0,953	-0,014	0,016	-0,054	0,008
Άλλα χειμερινά φρούτα (FFQ39)	-0,015	0,009	0,786	-0,001	-0,056	-0,015	-0,018
Πορτοκάλι (FFQ37)	-0,017	-0,135	0,751	-0,062	-0,009	-0,088	-0,008
Πίτες σπιτικές (FFQ45)	0,019	-0,103	-0,011	0,738	0,026	-0,003	-0,167
Ψωμί άσπρο, φρυγανιά (FFQ7)	0,013	-0,092	-0,010	0,732	0,034	-0,012	-0,155
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε βούτυρο (FFQ69)	-0,004	0,117	-0,065	0,722	0,063	-0,161	-0,102
Αρακάς, φασολάκια, μπάμιες, αγκινάρες (FFQ32)	-0,052	-0,082	-0,177	0,589	0,228	-0,064	0,243
Κριτσίνια, παξιμάδια, κολούρια (FFQ10)	-0,048	0,424	0,040	0,554	-0,079	-0,001	-0,387
Χόρτα, πράσο, σπανάκι, σέλινο (FFQ36)	-0,011	-0,182	-0,110	0,522	-0,105	0,026	0,210
Πατάτες βραστές, φούρνου, πουρές (FFQ16)	0,196	0,376	0,277	0,502	-0,064	-0,028	-0,175
Ρύζι λευκό (FFQ12)	-0,066	0,397	0,127	0,500	-0,108	0,224	0,208
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε μαργαρίνη (FFQ68)	0,454	-0,187	0,085	0,478	-0,004	0,011	0,153
Μαρούλι, λάχανο, σπανάκι, ρόκα (FFQ34)	-0,051	0,142	0,174	0,455	-0,236	0,453	-0,235
Μπρόκολο, κουνουπίδι, κολοκυθάκια (FFQ35)	-0,064	-0,044	-0,085	0,427	-0,218	0,081	0,133
Παγωτό, μιλκ σέικ, κρέμα, ρυζόγαλο (FFQ53)	-0,065	-0,008	-0,014	-0,084	0,846	0,011	0,109
Γλυκά κουταλιού, κομπόστα, ζελέ (FFQ49)	-0,050	0,088	0,002	0,085	0,713	0,078	-0,269
Όσπρια (FFQ29)	-0,048	-0,128	-0,011	0,048	0,665	0,112	-0,215
Πάστες, τάρτα (FFQ50)	0,074	0,044	0,064	0,051	0,547	-0,152	0,421
Αναψυκτικά (FFQ60)	-0,023	0,161	-0,018	-0,177	0,546	-0,090	0,275
Χυμός φρούτων (FFQ42)	0,234	-0,009	-0,041	0,066	0,501	0,264	-0,011
Σοκολάτα (FFQ52)	-0,023	-0,013	0,005	-0,109	0,022	0,840	0,068
Τσάι, άλλα αφεψήματα (FFQ63)	0,131	-0,078	-0,073	0,118	0,079	0,645	0,003
Κρουασάν, γκοφρέτες, κέικ, μπισκότα (FFQ51)	-0,014	-0,140	0,002	-0,088	0,023	0,608	-0,141
Πατατάκια, γαριδάκια, ποπ κορν (FFQ54)	-0,019	0,127	0,000	-0,067	0,018	0,572	0,240
Αποξηραμένα φρούτα (FFQ43)	-0,033	-0,139	-0,026	-0,069	0,032	0,495	-0,225
Ξηροί καρποί, σπόροι (FFQ44)	-0,069	0,120	0,162	0,198	0,382	0,246	-0,641
Ψάρια μικρά (FFQ26)	-0,022	0,261	0,031	0,087	0,091	-0,026	-0,518
Θαλασσινά (FFQ28)	-0,037	-0,079	-0,086	0,300	0,058	-0,164	0,403
% διακύμανσης	8,841	7,026	6,655	6,321	4,961	4,869	4,281

Μέθοδος: Ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (PCA) με ορθογώνια περιστροφή (varimax rotation). Οι μεταβλητές που συνθέτουν τις συνιστώσες – παράγοντες αφορούν στην κατανάλωση ομάδων τροφίμων, η οποία έχει καταγραφεί σε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και εκφράζεται σε μερίδες ανά εβδομάδα. Στην παρένθεση δηλώνεται ο αριθμός της ερώτησης που αφορά στην κατανάλωση συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων κατά σειρά αναφοράς στο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (food frequency questionnaire, FFQ), FAC_{FFQ} : FFQ factor

4.4.2. Συσχέτιση παραγόντων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα με διατροφικά πρότυπα

Οι παράγοντες μεταβολιτών FAC_{AA1} , FAC_{AA2} συσχετίζονται αρνητικά με τους διατροφικούς παράγοντες FAC_{FFQ3} («φρούτα») και FAC_{FFQ2} («κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες»), αντιστοίχως. Αντίθετα, οι παράγοντες μεταβολιτών FAC_{AA3} και FAC_{AA4} συσχετίζονται θετικά με τους διατροφικούς παράγοντες FAC_{FFQ5} («γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων») και FAC_{FFQ3} («φρούτα»), αντιστοίχως. Ο παράγοντας μεταβολιτών FAC_{AA5} δεν συσχετίστηκε με κάποιον διατροφικό παράγοντα. Όλες οι συσχετίσεις ελέγχθηκαν ως προς την επίδραση πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, ΔΜΣ). Οι συσχετίσεις παρουσιάζονται στον πίνακα 33.

Οι παράγοντες FAC_{AA1} και FAC_{FFQ3} («φρούτα») συσχετίζονται με τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR (Spearman's rho= 0,457 και -0,226, αντιστοίχως). Οι παράγοντες FAC_{AA2} και FAC_{FFQ2} συσχετίζονται με την HDL-χοληστερόλη (Spearman's rho= 0,342 και -0,238, αντιστοίχως). Οι παράγοντες FAC_{AA3} και FAC_{FFQ5} συσχετίζονται με την συστολική αρτηριακή πίεση (Spearman's rho= 0,210 και -0,218, αντιστοίχως). Τέλος, οι παράγοντες FAC_{AA4} και FAC_{FFQ3} συσχετίζονται με την αντιπυρεκτίνη (Spearman's rho= 0,251 και 0,179, αντιστοίχως). Συνεπώς, ελέγξαμε αν οι συσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων αμινοξέων/ μεταβολιτών και των διατροφικών προτύπων παραμένουν σημαντικές μετά από τον επιπρόσθετο έλεγχο της επίδρασης αυτών των μεταβλητών (βλ. πίνακα 33, συγχυτική μεταβλητή εντός παρενθέσεων). Παρατηρούμε ότι οι συσχετίσεις παρέμειναν σημαντικές, με εξαίρεση την συσχέτιση ανάμεσα στον παράγοντα FAC_{AA2} και το διατροφικό πρότυπο FAC_{FFQ2} («κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες»), μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της HDL-χοληστερόλης.

Πίνακας 33. Συσχέτιση παραγόντων αμινοξέων/ μεταβολιτών με διατροφικά πρότυπα στο δείγμα ανδρών του 2^{ου} σκέλους της μελέτης (n=100)

	B	95% CI		p
FAC_{AA}1:				
FAC _{FFQ} 3	-0,225	-0,418	-0,033	0,022
FAC _{FFQ} 3 (HOMA-IR)	-0,198	-0,387	-0,009	0,040
FAC_{AA}2:				
FAC _{FFQ} 2	-0,215	-0,414	-0,015	0,035
FAC _{FFQ} 2 (HDL-χοληστερόλη)	-0,169	-0,379	0,041	0,114
FAC_{AA}3:				
FAC _{FFQ} 5	0,257	0,064	0,450	0,009
FAC _{FFQ} 5 (ΣΑΠ)	0,258	0,064	0,452	0,010
FAC_{AA}4:				
FAC _{FFQ} 3	0,227	0,019	0,435	0,032
FAC _{FFQ} 3 (αντιπυρεκτίνη)	0,205	0,003	0,408	0,047

Εξαρτημένες μεταβλητές: FAC_{AA}1-5, δηλαδή κύριες συνιστώσες των συγκεντρώσεων αμινοξέων και σχετιζόμενων μεταβολιτών στο πλάσμα. Οι τιμές των μεταβλητών FAC_{AA}1-5 ακολουθούν την κανονική κατανομή. *Ανεξάρτητες μεταβλητές:* FAC_{FFQ}1-7, δηλαδή κύριες συνιστώσες των μερίδων ομάδων τροφίμων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα για το δείγμα ανδρών του 2^{ου} σκέλους της μελέτης (n=100). Συγχυτικές μεταβλητές: ηλικία (έτη), ΔΜΣ (kg/m²), σε όλα τα μοντέλα, καθώς και HOMA-IR, HDL-χοληστερόλη, ΣΑΠ, αντιπυρεκτίνη, αναλόγως των παραγόντων που συσχετίζονται. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (B), 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI) και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: «Συζήτηση»

5.1. Δείκτες της φλεγμονής (IL-6 και αντιπονεκτίνη) στο πλάσμα και μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ)

Στην παρούσα υπο-ενότητα θα σχολιάσουμε τα σημαντικότερα ευρήματα της υπο-ενότητας 4.1. των αποτελεσμάτων που αφορούν στους 284 συμμετέχοντες του 1^{ου} σκέλους της μελέτης. Εν συντομία, τα σημαντικότερα ευρήματα του 1^{ου} σκέλους της μελέτης είναι τα ακόλουθα:

- 1) Η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης στο πλάσμα συσχετίζεται αντιστρόφως με την παρουσία του ΜΣ ανεξαρτήτως ορισμού (IDF και AHA/NHLBI) και ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας και του φύλου. Η συγκέντρωση της IL-6 δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με το ΜΣ.
- 2) Ορισμένοι από τους παράγοντες του ΜΣ (δηλ. δείκτης μάζας σώματος, περιφέρεια μέσης και συγκέντρωση ινσουλίνης, HDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων) αποτελούν μεσολαβητές της συσχέτισης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το ΜΣ τόσο βάσει των κριτηρίων του IDF όσο και των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Ωστόσο η αντιπονεκτίνη εξακολουθεί να συσχετίζεται με την παρουσία του ΜΣ.
- 3) Η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα μπορεί να διακρίνει την παρουσία ΜΣ στον πληθυσμό της μελέτης σε ποσοστό >70%. Η ικανότητα εκτίμησης του επιπολασμού του ΜΣ είναι παρόμοια για τους δύο ορισμούς που αξιολογήθηκαν στην μελέτη (IDF και AHA/NHLBI).

Αρχικά αξιολογήσαμε τον επιπολασμό του ΜΣ σε δείγμα του πληθυσμού της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, χρησιμοποιώντας δύο παρεμφερείς ορισμούς του ΜΣ: τον ορισμό βάσει των κριτηρίων του IDF και τον ορισμό βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Παρόλο που και οι δύο ορισμοί αξιολογούν την κοιλιακή παχυσαρκία μέσω μέτρησης της περιφέρειας μέσης, στηρίζονται σε διαφορετικά κριτήρια της περιφέρειας μέσης για τον ορισμό της κοιλιακής παχυσαρκίας. Ο επιπολασμός του ΜΣ μεταξύ των 284 συμμετεχόντων στη μελέτη είναι 37% βάσει των κριτηρίων του IDF και 33% βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Προγενέστερες επιδημιολογικές μελέτες έχουν αξιολογήσει τον επιπολασμό του ΜΣ σε δείγμα του ελληνικού πληθυσμού (Pitsavos et al., 2003, Athyros et al., 2005, Panagiotakos et al., 2007). Ο

επιπολασμός του ΜΣ στην μελέτη MetS Greece Study ήταν 23,6%, βάσει των κριτηρίων του NCEP ATP III (Athyros et al., 2005) και στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ ήταν 20% βάσει των κριτηρίων του NCEP ATP III ή 48,9% βάσει των κριτηρίων του IDF (Panagiotakos et al., 2007).

Στην παρούσα μελέτη, ο συχνότερος παράγοντας που χαρακτηρίζει τους συμμετέχοντες με ΜΣ είναι η κοιλιακή παχυσαρκία, η οποία χαρακτηρίζει το 81% των συμμετεχόντων με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Αντίστοιχα, στην μελέτη MetS Greece Study, η κοιλιακή παχυσαρκία ήταν ο παράγοντας με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης (72%) μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ (Athyros et al., 2005), καθώς και στην μελέτη ΑΤΤΙΚΗ όπου το 76% των ανδρών και το 96% των γυναικών είχαν κοιλιακή παχυσαρκία βάσει των κριτηρίων του NCEP ATP III (Panagiotakos et al., 2007). Η κοιλιακή παχυσαρκία έχει αξιολογηθεί μέσω της μέτρησης της περιφέρειας μέσης τόσο στην παρούσα μελέτη όσο και στις προγενέστερες μελέτες. Η περιφέρεια μέσης έχει χαρακτηριστεί ως καλύτερος παράγοντας πρόβλεψης του ΜΣ σε σύγκριση με τον ΔΜΣ, τον λόγο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων, καθώς και τον λόγο περιφέρειας μέσης προς το ύψος (Bener et al., 2013). Η κοιλιακή παχυσαρκία έχει συσχετιστεί τόσο με την ινσουλινο-αντίσταση όσο και με την παρουσία χρόνιας και ήπιας φλεγμονής και θεωρείται ως η κύρια, υποκείμενη αιτία του ΜΣ (Grundy et al., 2005, Maury & Brichard, 2010).

Η κυριότερη μεταβολική διαταραχή μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ στην παρούσα μελέτη είναι η δυσλιπιδαιμία. Συγκεκριμένα, το 55% και το 47% των συμμετεχόντων με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλή συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και υψηλή συγκέντρωση τριγλυκεριδίων στον ορό, αντίστοιχα, βάσει των κριτηρίων του IDF. Τα αντίστοιχα ποσοστά συμμετεχόντων βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI είναι 60% και 51%. Παρομοίως, ο επιπολασμός της χαμηλής συγκέντρωσης HDL-χοληστερόλης και της υψηλής συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων ήταν 54% και 62%, αντιστοίχως, στην μελέτη MetS Greece Study (Athyros et al., 2005). Στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, το 89% των ανδρών και το 60% των γυναικών με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του NCEP ATP III είχαν χαμηλή συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, ενώ μεταξύ των ανδρών και των γυναικών με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF η συχνότητα της χαμηλής συγκέντρωσης HDL-χοληστερόλης ήταν 68% και 37%, αντιστοίχως (Panagiotakos et al., 2007). Επίσης, στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, το 69% των ανδρών και το 56% των γυναικών με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του NCEP ATP III είχαν υψηλή συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, ενώ μεταξύ των ανδρών και των γυναικών με ΜΣ βάσει των κριτηρίων του IDF η συχνότητα της υψηλής συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων ήταν 38% και 23%, αντιστοίχως (Panagiotakos et al., 2007). Η

δυσλιπιδαιμία αποτελεί κύριο παράγοντα κινδύνου σε σχέση με την επίπτωση και τη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα και η ρύθμιση των επιπέδων των λιπιδίων στο αίμα μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η υιοθέτηση του μεσογειακού προτύπου διατροφής μπορεί να συντελέσει στη ρύθμιση των επιπέδων λιπιδίων στο αίμα και στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Αυτό οφείλεται εν μέρει στα θρεπτικά συστατικά των ομάδων τροφίμων που συνιστούν το πρότυπο της μεσογειακής διατροφής, όπως η ρεσβερατρόλη και οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού, τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα και οι πρωτεΐνες των ψαριών, οι πολυφαινόλες και οι φυτοστερόλες των φρούτων και των λαχανικών (Scicchitano et al., 2014). Στην παρούσα μελέτη, οι συμμετέχοντες με ΜΣ δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά ούτε ως προς τις επιμέρους διατροφικές τους συνήθειες ούτε ως προς τον βαθμό συμμόρφωσης με το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Ωστόσο, θα πρέπει να επισημάνουμε ότι στην παρούσα συγχρονική μελέτη, οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν μία φορά με τη χρήση ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Συνεπώς, η εκτίμηση της πραγματικής διατροφικής πρόσληψης των συμμετεχόντων μπορεί να είναι ανακριβής λόγω των ημερήσιων και των εποχικών διακυμάνσεων στην κατανάλωση τροφής ή λόγω άλλων εγγενών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων που δεν αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη (Bountziouka et al., 2012).

Η σημασία της παρούσας μελέτης έγκειται στην εξέταση του ΜΣ πέραν των κλινικών και των βιοχημικών παραγόντων που το συνιστούν. Κατ' αρχάς, παρατηρήσαμε ότι οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση της κυτταροκίνης/λιποκυτταροκίνης IL-6 στο πλάσμα και χαμηλότερη συγκέντρωση της λιποκυτταροκίνης αντιπονεκτίνη στο πλάσμα συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες. Αντίθετα, οι δείκτες οξειδωσης του ορού lag time, Vmax και δραστικότητα της GPx3 δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των μεταβολικά υγιών συμμετεχόντων και των συμμετεχόντων με ΜΣ. Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια για τους δύο ορισμούς του ΜΣ.

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, μετρήσαμε τις συγκεντρώσεις της IL-6 και της ολικής αντιπονεκτίνης στο πλάσμα ως αντιπροσωπευτικούς δείκτες της φλεγμονής. Εκτιμάται ότι το 15-35% της IL-6 στην συστηματική κυκλοφορία προέρχεται από τον λιπώδη ιστό όπου παράγεται από μη λιποκύτταρα, όπως ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και μονοκύτταρα (Mohamed-Ali et al., 1997). Αντίθετα, η αντιπονεκτίνη προέρχεται κυρίως από τον λευκό λιπώδη ιστό όπου παράγεται από ώριμα λιποκύτταρα (Halleux et al., 2001, Lago et al., 2007). Η

ολική αντιπονεκτίνη της συστηματικής κυκλοφορίας διακρίνεται σε τρεις μορφές: 1) τριμερή αντιπονεκτίνης, χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις (low-molecular weight, LMW), 2) εξαμερή αντιπονεκτίνης, μεσαίου μοριακού βάρους ενώσεις (medium-molecular weight, MMW) και 3) ολιγομερή αντιπονεκτίνης υψηλού μοριακού βάρους (high-molecular weight, HMW) (Ruan & Dong, 2016). Η HMW αντιπονεκτίνη αναδεικνύεται ως η βιολογικά ενεργή μορφή αντιπονεκτίνης (Caselli, 2014) και έχει συσχετιστεί με την ινσουλινο-ευαισθησία (Tsao, 2014) και την προσθιοπίσθια διάμετρο της υπονεφρικής κοιλιακής αορτής (anteroposterior diameter of infrarenal abdominal aorta, ARAO), έναν πρώιμο δείκτη αθηροσκλήρωσης (Cicccone et al., 2016). Εντούτοις, η HMW αντιπονεκτίνη συσχετίζεται σημαντικά με την ολική αντιπονεκτίνη της κυκλοφορίας (Kizer et al., 2012, Saito et al., 2013) και τα επίπεδα τόσο της HMW αντιπονεκτίνης όσο και της ολικής αντιπονεκτίνης στην κυκλοφορία έχουν συσχετιστεί αντιστρόφως με δείκτες φλεγμονής, ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και ινσουλινο-αντίστασης (Fargnoli et al., 2010), καθώς και με τον επιπολασμό και την επίπτωση του ΜΣ (Nakashima et al., 2011, von Frankenberg et al., 2014).

Παρουσία παχυσαρκίας, μειώνεται η παραγωγή της ολικής αντιπονεκτίνης, αντιφλεγμονώδους λιποκυτταροκίνης, ενώ αυξάνεται η παραγωγή της IL-6, προφλεγμονώδους κυτταροκίνης/λιποκυτταροκίνης (You et al., 2005). Μάλιστα, τόσο η αντιπονεκτίνη όσο και η IL-6 παρουσιάζουν μεγαλύτερη συσχέτιση με την κοιλιακή παχυσαρκία έναντι της ολικής παχυσαρκίας (You et al., 2008). Ωστόσο, η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης είναι μειωμένη, ενώ της IL-6 είναι αυξημένη παρουσία μεταβολικών διαταραχών σε ενήλικες, ανεξαρτήτως της παρουσίας παχυσαρκίας (Phillips & Perry, 2013). Είναι χαρακτηριστικό ότι τόσο οι παράγοντες που συνιστούν το ΜΣ όσο και το ίδιο το ΜΣ έχουν συσχετιστεί με μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης και αυξημένα επίπεδα της IL-6 (Grundy et al., 2005, Hung et al., 2008, Marques-Vidal et al., 2013, Weiss et al., 2013). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι μεταβολές των συγκεντρώσεων αντιπονεκτίνης και IL-6 προς αντίθετες κατευθύνσεις στις παραπάνω περιπτώσεις μπορούν εν μέρει να αποδοθούν στην αλληλεπίδραση που παρατηρείται μεταξύ της αντιπονεκτίνης και της IL-6, καθώς και στην επίδραση άλλων προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Συγκεκριμένα, υπάρχουν ενδείξεις σχετικά με την αλληλεπίδραση της αντιπονεκτίνης με την IL-6 και άλλες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, TNF- α , καθώς και την C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), σύμφωνα με τις οποίες κάθε παράγοντας ρυθμίζει την έκφραση ενός ή περισσότερων εκ των άλλων παραγόντων μέσω ανατροφοδότησης (Knights et al., 2014). Συγκεκριμένα, η IL-6 του λιπώδους ιστού συσχετίζεται σημαντικά με την συγκέντρωση της IL-6 στην κυκλοφορία (Maachi et al., 2004). Η IL-6 της κυκλοφορίας μεσολαβεί στην

απάντηση οξείας φάσης διεγείροντας την παραγωγή της CRP από το ήπαρ (Ridker, 2003), η οποία συσχετίζεται σημαντικά με την συγκέντρωση της CRP στην κυκλοφορία (Maachi et al., 2004). Αντίθετα, η σύνθεση και έκκριση της αντιπονεκτίνης από τον λιπώδη ιστό στην κυκλοφορία αναστέλλονται τόσο από την IL-6 και τον TNF-α (Caselli, 2014) όσο και από την CRP (Yuan et al., 2012). Από την άλλη, η αντιπονεκτίνη, δρώντας ως αντιφλεγμονώδης λιποκυτταροκίνη, αναστέλλει την παραγωγή IL-6 (Eder et al., 2009), μειώνει την παραγωγή CRP μέσω της IL-6 (Sun et al., 2011) και μειώνει τα επίπεδα του TNF-α (Shehzad et al., 2012).

Η αρχική υπόθεση αναφορικά με την αντιπονεκτίνη, την IL-6 και το ΜΣ ήταν ότι τόσο η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης όσο και η συγκέντρωση της IL-6 στο πλάσμα συσχετίζονται με το ΜΣ και ότι η συσχέτιση αυτή μεσολαβείται από τους παράγοντες που συνιστούν το ΜΣ. Συνεπώς, ελέγξαμε αρχικά τον βαθμό και την κατεύθυνση της συσχέτισης ανάμεσα στην συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης πλάσματος και το ΜΣ, καθώς και τον βαθμό και την κατεύθυνση της συσχέτισης ανάμεσα στην συγκέντρωση της IL-6 πλάσματος και το ΜΣ στο σύνολο των συμμετεχόντων. Στη συνέχεια, ελέγξαμε αν αυτές οι συσχετίσεις επηρεάζονται – μεσολαβούνται από παράγοντες του ΜΣ δοθέντος ότι η αντιπονεκτίνη και η IL-6 συσχετίζονται με αυτούς τους παράγοντες. Ακολουθεί ο σχολιασμός των αποτελεσμάτων αυτών των αναλύσεων:

Αρχικά βρήκαμε ότι η αντιπονεκτίνη και η IL-6 συσχετίζονται με ορισμένους από τους παράγοντες που συνιστούν το ΜΣ. Πρώτον, η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αρνητικά με την περιφέρεια μέσης, ενώ η IL-6 συσχετίστηκε θετικά τόσο με την περιφέρεια μέσης όσο και με τον ΔΜΣ σε μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών. Συγκεκριμένα, η αντιπονεκτίνη έχει συσχετιστεί αντιστρόφως με δείκτες κατανομής σωματικού λίπους, όπως η λιπώδης μάζα, ο ΔΜΣ, η περιφέρεια μέσης και ο λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων σε μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (Vilarrasa et al., 2005, Gannagé-Yared et al., 2006, Maahs et al., 2007, Salas-Salvadó et al., 2007). Αναφορικά με την IL-6, έχει βρεθεί ότι συμμετέχοντες με κεντρική κατανομή του σωματικού λίπους (περιφέρεια μέσης προς περιφέρεια ισχίων $\geq 0,95$ στους άνδρες και $\geq 0,8$ στις γυναίκες) χαρακτηρίζονται από 42% υψηλότερη συγκέντρωση IL-6 στον ορό συγκριτικά με συμμετέχοντες με «φυσιολογική» κατανομή του σωματικού λίπους. Αντίστοιχα, συμμετέχοντες με παχυσαρκία ($\Delta\text{ΜΣ} > 29,9 \text{ kg/m}^2$) χαρακτηρίζονται από 46% υψηλότερη συγκέντρωση IL-6 συγκριτικά με συμμετέχοντες με φυσιολογικό σωματικό βάρος ($\Delta\text{ΜΣ} < 25 \text{ kg/m}^2$) (Panagiotakos et al., 2005). Επίσης, έχει

βρεθεί ότι η κοιλιακή παχυσαρκία αποτελεί σημαντικό παράγοντα πρόβλεψης των αυξημένων επιπέδων IL-6 στην κυκλοφορία ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου, δεικτών του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιποειδών, της πίεσης αίματος και του καπνίσματος (Thewissen et al., 2011). Επίσης, η κοιλιακή παχυσαρκία, όπως έχει αξιολογηθεί με την μέτρηση της περιφέρειας μέσης, έχει βρεθεί ότι ερμηνεύει σημαντικό μέρος της διακύμανσης των επιπέδων IL-6 στην κυκλοφορία μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου, των καπνιστικών συνηθειών, της κατανάλωσης αλκοόλ και του επιπέδου σωματικής δραστηριότητας (Thorand et al., 2006).

Δεύτερον, βρήκαμε ότι η αντιπονεκτίνη συσχετίστηκε αρνητικά με τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων ορού νηστείας σε μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης. Αυτή η συσχέτιση περιορίστηκε, αλλά παρέμεινε σημαντική μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης της ινσουλίνης ορού νηστείας. Η IL-6 συσχετίστηκε αρνητικά με την συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης σε μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης. Αυτή η συσχέτιση δεν επηρεάστηκε μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της συγκέντρωσης της ινσουλίνης νηστείας. Προγενέστερες μελέτες έχουν συνδέσει τις λιποκυτταροκίνες με τον μεταβολισμό των λιποειδών μέσω επίδρασης στην δράση και τη μεταγωγή σήματος της ινσουλίνης. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η αντιπονεκτίνη ενισχύει τις δράσεις της ινσουλίνης και ενδέχεται να επηρεάζει τον μεταβολισμό των λιποειδών, ενώ η IL-6 φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την μεταγωγή σήματος της ινσουλίνης και έχει συσχετιστεί με τον διαταραγμένο μεταβολισμό των λιποειδών (Hoene & Weigert, 2008, Rabe et al., 2008, Jung & Choi, 2014, Fisman, Tenenbaum, 2014). Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη δεν μπορούμε να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα ως προς την ύπαρξη αιτιολογικής σχέσης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη ή IL-6 και την δυσλιπιδαιμία επειδή η παρούσα μελέτη είναι συγχρονική και η αξιολόγηση των επιπέδων αντιπονεκτίνης, IL-6, ινσουλίνης και λιποειδών βασίζεται σε μέτρηση δείγματος σε μία χρονική στιγμή.

Στη συνέχεια βρήκαμε ότι τα επίπεδα αντιπονεκτίνης στο πλάσμα συσχετίστηκαν αντιστρόφως με το ΜΣ, ανεξαρτήτως ορισμού, ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης παραγόντων του ΜΣ. Παρομοίως, προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι η πιθανότητα παρουσίας ή εμφάνισης ΜΣ είναι μικρότερη μεταξύ των συμμετεχόντων με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιπονεκτίνης (4^ο τεταρτημόριο) συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις (1^ο τεταρτημόριο), ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και παραγόντων που συνιστούν ή συσχετίζονται με το ΜΣ (Hung et al.,

2008, Henneman et al., 2010, Koh et al., 2011, Juonala et al., 2011, Kim et al., 2013). Μία διαφορετική προσέγγιση που ακολουθήσαμε στην παρούσα μελέτη ήταν ότι πραγματοποιήσαμε ανεξάρτητους ελέγχους της επίδρασης παραγόντων του ΜΣ που συνιστούν δείκτες κατανομής σωματικού λίπους (ΔΜΣ και περιφέρεια μέσης) ή μεταβολισμού (συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και ινσουλίνης ορού νηστείας) με σκοπό να εξετάσουμε την επίδραση κάθε παράγοντα στην συσχέτιση ανάμεσα στην συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος και το ΜΣ. Συγκεκριμένα, προσδιορίσαμε την έμμεση συσχέτιση μεταξύ αντιπονεκτίνης και ΜΣ, δηλαδή τη συσχέτιση η οποία μεσολαβείται από παράγοντες που συνιστούν το ΜΣ, με σκοπό να παρέχουμε εύλογη εξήγηση αναφορικά με την συσχέτιση που παρατηρείται ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το ΜΣ τόσο στην παρούσα μελέτη όσο και σε προγενέστερες μελέτες. Βρήκαμε ότι ο ΔΜΣ και η περιφέρεια μέσης (δείκτες ολικής και κεντρικής παχυσαρκίας), τα επίπεδα HDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ορού νηστείας (δείκτες δυσλιπιδαιμίας), καθώς και τα επίπεδα ινσουλίνης ορού νηστείας (δείκτης μεταβολισμού) περιορίζουν, αλλά δεν καταργούν τη συσχέτιση μεταξύ αντιπονεκτίνης πλάσματος και ΜΣ.

Αναφορικά με την IL-6 στην παρούσα μελέτη, η συγκέντρωσή της δεν συσχετίστηκε με το ΜΣ μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και παραγόντων του ΜΣ. Σύμφωνα με προγενέστερη μελέτη, η IL-6 συσχετίζεται με το ΜΣ και οι συμμετέχοντες με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις IL-6 (3^ο τριτημόριο) χαρακτηρίζονται από αυξημένη πιθανότητα παρουσίας ΜΣ συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις IL-6 (1^ο τριτημόριο) μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας και του φύλου. Παρ' όλα αυτά, η συσχέτιση μεταξύ IL-6 και ΜΣ περιορίζεται μετά από επιπρόσθετο έλεγχο της επίδρασης του ΔΜΣ και της ινσουλίνης (Hung et al., 2005). Παρόμοια αποτελέσματα με την παρούσα μελέτη ως προς την σχέση IL-6 και ΜΣ έχουν προκύψει σε προγενέστερη μελέτη από τους Choi και συνεργάτες (2007) όπου τα επίπεδα της IL-6 δεν συσχετίστηκαν με το ΜΣ μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και παραγόντων του ΜΣ (Choi et al., 2007).

Τέλος, λαμβάνοντας ως δεδομένο ότι η αντιπονεκτίνη συσχετίζεται με το ΜΣ στην παρούσα μελέτη, αξιολογήσαμε την συγκέντρωσή της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα ως προς την ικανότητα διάκρισης των συμμετεχόντων με ΜΣ χρησιμοποιώντας δύο ορισμούς του ΜΣ. Στην παρούσα μελέτη, η αντιπονεκτίνη μπορεί να διακρίνει τους συμμετέχοντες με ΜΣ στον πληθυσμό της μελέτης σε ποσοστό >70% μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας και του φύλου και επιπρόσθετου ελέγχου της επίδρασης του ΔΜΣ, της περιφέρειας μέσης και της

συγκέντρωσης ινσουλίνης ορού νηστείας, ανεξαρτήτως ορισμού. Παρομοίως, προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης μπορεί να διακρίνει σημαντικά τους συμμετέχοντες με ΜΣ. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η αντιπονεκτίνη μπορεί να διακρίνει τους συμμετέχοντες που θα εμφανίσουν ΜΣ σε ποσοστό >70% μετά από τον έλεγχο της επίδρασης του φύλου και παραγόντων που συνιστούν το ΜΣ (Kim et al., 2013). Τέλος, έχει βρεθεί ότι η ικανότητα της αντιπονεκτίνης πλάσματος να διακρίνει τους συμμετέχοντες με ΜΣ είναι παρόμοια με την ικανότητα του ΔΜΣ μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας και του φύλου (Henneman et al., 2010).

Η παρούσα μελέτη έχει συγκεκριμένους περιορισμούς. Κατ' αρχάς, πρόκειται για μία συγχρονική μελέτη, γεγονός που περιορίζει την δυνατότητα εξαγωγής ασφαλών συμπερασμάτων που αφορούν στη σχέση αιτίου-αιτιατού. Κατά δεύτερον, το δείγμα της μελέτης αποτελείται από λευκούς ενήλικες, μέσης ηλικίας, οι οποίοι δεν πάσχουν από κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα. Επομένως, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με σύνεση ως προς την διατύπωση υποθέσεων σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες, πληθυσμούς διαφορετικής εθνικής ή φυλετικής προέλευσης και ασθενείς με καρδιαγγειακό νόσημα. Ένας τρίτος περιορισμός είναι ο μικρότερος επιπολασμός του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και της διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας στον πληθυσμό της μελέτης συγκριτικά με την δυσλιπιδαιμία και την υπέρταση. Συνεπώς, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε ότι η γλυκόζη αίματος νηστείας αποτελεί σημαντικό παράγοντα που μεσολαβεί στη συσχέτιση μεταξύ της αντιπονεκτίνης πλάσματος και του ΜΣ. Ένας τελευταίος σημαντικός περιορισμός είναι η μέτρηση μόνο δύο λιποκυτταροκινών από το ευρύ φάσμα των προ- και αντιφλεγμονωδών βιοχημικών δεικτών που συντίθενται και εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό στην συστηματική κυκλοφορία.

Παρ' όλα αυτά, η παρούσα μελέτη έχει ισχυρά σημεία. Κατ' αρχάς, ο επιπολασμός του ΜΣ αξιολογήθηκε με τη βοήθεια δύο ορισμών οι οποίοι είναι παρεμφερείς και διαφοροποιούνται μόνο ως προς το κριτήριο της κοιλιακής παχυσαρκίας. Με αυτόν τον τρόπο καθίσταται ασφαλέστερη η σύγκριση μεταξύ των δύο ορισμών του ΜΣ και δυνατός ο έλεγχος του ρόλου της κοιλιακής παχυσαρκίας στο ΜΣ. Κατά δεύτερον, οι λιποκυτταροκίνες που μετρήθηκαν επιλέχθηκαν λόγω της αποδεδειγμένης και σταθερής συσχέτισής τους με δείκτες της κατανομής του σωματικού λίπους, του μεταβολισμού και της φλεγμονής. Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη και η IL-6 επιλέχθηκαν λόγω των αντίθετων λειτουργιών και επιδράσεών τους στον μεταβολισμό και την φλεγμονή. Τέλος, η παρούσα μελέτη παρέχει μία εύλογη ερμηνεία

αναφορικά με τη συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης ολικής αντιπονεκτίνης πλάσματος και του ΜΣ.

Συμπερασματικά, στο πλαίσιο του 1^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής, δείξαμε ότι η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος είναι μία σημαντική παράμετρος που συσχετίζεται αντιστρόφως με το ΜΣ ανεξαρτήτως της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου, δεικτών παχυσαρκίας, δυσλιπιδαιμίας και των επιπέδων ινσουλίνης ορού. Η συγκέντρωση IL-6 πλάσματος αν και είναι υψηλότερη μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ, ανεξαρτήτως ορισμού, δεν συσχετίζεται με το ΜΣ μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και παραγόντων του ΜΣ. Τέλος, παράγοντες του ΜΣ που αποτελούν δείκτες παχυσαρκίας ή μεταβολισμού των λιποειδών, δηλαδή ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, επίπεδα HDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ορού νηστείας, καθώς και τα επίπεδα ινσουλίνης ορού νηστείας περιορίζουν, αλλά δεν καταργούν τη συσχέτιση μεταξύ αντιπονεκτίνης πλάσματος και ΜΣ δρώντας ως μεσολαβητές.

5.2. Αποτύπωμα αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος και μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ)

Στην παρούσα υπο-ενότητα θα σχολιάσουμε τα σημαντικότερα ευρήματα της υπο-ενότητας 4.2. των αποτελεσμάτων που αφορούν στους 100 άνδρες του 2^{ου} σκέλους της μελέτης. Εν συντομία, τα σημαντικότερα ευρήματα του 2^{ου} σκέλους της μελέτης είναι τα ακόλουθα:

- 1) Οι άνδρες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση των αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη), των αρωματικών αμινοξέων (τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη), της κυνουρενίνης (προϊόντος καταβολισμού της τρυπτοφάνης), της ολικής κυστεΐνης και της οξειδωμένης τριμεθυλαμίνης ή τριμεθυλαμινο-N-οξείδιο (μεταβολίτες που συνδέονται με τις μεταβολικές πορείες της ομοκυστεΐνης και της χολίνης, αντιστοίχως), καθώς και των αμινοξέων αλανίνη, ασπαραγινικό και γλουταμινικό οξύ στο πλάσμα σε σύγκριση με του μεταβολικά υγιείς άνδρες.
- 2) Τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα, το γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ, η αλανίνη, η λυσίνη και η μεθειονίνη συνθέτουν έναν παράγοντα οι τιμές του οποίου συσχετίζονται αρνητικά με τη συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης και της αντιπονεκτίνης, ενώ συσχετίζονται θετικά με τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, γλυκόζης

και ινσουλίνης, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τον δείκτη μάζας σώματος, την περιφέρεια μέσης και την συγκέντρωση του ηπατικού ενζύμου γ-GT.

- 3) Τα αμινοξέα γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαραγίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη, προλίνη συνθέτουν έναν παράγοντα οι τιμές του οποίου συσχετίζονται θετικά με τη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, ενώ συσχετίζονται αρνητικά με την συγκέντρωση ινσουλίνης, τον δείκτη ινσουλινο-αντίστασης HOMA-IR, τη συστολική αρτηριακή πίεση, τον δείκτη μάζας σώματος και την συγκέντρωση IL-6.
- 4) Οι άνδρες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, τα αρωματικά αμινοξέα, το γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ, την αλανίνη, τη λυσίνη και τη μεθειονίνη, ενώ χαρακτηρίζονται από σημαντικά χαμηλότερες τιμές του παράγοντα που συνίσταται από τα αμινοξέα γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαραγίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη, προλίνη συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς άνδρες.
- 5) Οι συσχετίσεις των παραπάνω παραγόντων με το ΜΣ παρέμειναν σημαντικές ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της αντιπυρεκτικής και των ηπατικών ενζύμων GOT, GPT και γ-GT.

Ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (branched-chain amino acids, BCAAs), τα αρωματικά αμινοξέα (aromatic amino acids, AAAs), το γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ, την αλανίνη, τη λυσίνη και τη μεθειονίνη είναι ο παράγοντας που προέκυψε από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες που ερμηνεύει το μεγαλύτερο ποσοστό (~23%) της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της ανάλυσης. Οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών που συμμετέχουν στην σύνθεση αυτού του παράγοντα είναι σημαντικά υψηλότερες στο πλάσμα των ανδρών με ΜΣ συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς άνδρες. Εξαίρεση αποτελούν οι συγκεντρώσεις της λυσίνης και της μεθειονίνης οι οποίες δεν βρέθηκε να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Επειδή τα BCAAs και τα AAAs παρουσιάζουν τον μεγαλύτερο βαθμό συσχέτισης (>0,700) με τον συγκεκριμένο παράγοντα, θα αναφερόμαστε εφεξής σε αυτόν ως BCAA/AAA παράγοντα.

Ο BCAA/AAA παράγοντας συσχετίστηκε με παράγοντες που συνιστούν το ΜΣ και αποτελούν δείκτες δυσλιπιδαιμίας, διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας και αυξημένου σωματικού βάρους. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα προγενέστερων μελετών. Συγκεκριμένα, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι τα αμινοξέα που συνθέτουν τον BCAA/AAA

παράγοντα συσχετίζονται θετικά με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, την μάζα σπλαχνικού λιπώδους ιστού, την συστολική και διαστολική πίεση αίματος, τη συγκέντρωση γλυκόζης, ινσουλίνης και τριγλυκεριδίων νηστείας και την ινσουλινο-αντίσταση, ενώ συσχετίζονται αρνητικά με την συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης (Newgard et al., 2009, Cheng et al., 2012, Würtz et al., 2013, Mook-Kanamori et al., 2014, Yamada et al., 2015, Yamakado et al., 2015, Ho et al., 2016). Επίσης, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με εκείνα προγενέστερων μελετών που έχουν χρησιμοποιήσει την μέθοδο της παραγοντικής ανάλυσης για τη διερεύνηση παραγόντων ή μεταβολικών αποτυπωμάτων/προτύπων αμινοξέων. Μία εξ αυτών έχει δείξει ότι ο παράγοντας που αποτελείται από τα BCAAs, την μεθειονίνη, το άθροισμα γλουταμινικού οξέος – γλουταμίνης (Glx), την φαινυλαλανίνη, την τυροσίνη και τις ακυλοκαρνιτίνες C₃ και C₅, συσχετίζεται σημαντικά με την παχυσαρκία και την ινσουλινο-αντίσταση (Newgard et al., 2009). Παράγοντες αμινοξέων παρόμοιας σύνθεσης με τον BCAA/AAA παράγοντα της παρούσας μελέτης, έχουν συσχετιστεί αντιστρόφως με την ινσουλινο-ευαισθησία (Huffman et al., 2009), θετικά με τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και ινσουλίνης στην κυκλοφορία, την ινσουλινο-αντίστασης, τον ΔΜΣ και την συστολική πίεση αίματος, ενώ έχουν συσχετιστεί αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη (Wiklund et al., 2014). Οι Yamakado και συνεργάτες (2015) ακολούθησαν μία διαφορετικά προσέγγιση από την παραγοντική ανάλυση με σκοπό την μελέτη του αποτυπώματος ελεύθερων αμινοξέων πλάσματος, ωστόσο κατέληξαν σε αποτελέσματα παρόμοια με της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, παράγοντες αμινοξέων οι οποίοι συνίστανται από BCAAs και AAAs έχουν συσχετιστεί θετικά με την μάζα σπλαχνικού λιπώδους ιστού και την συγκέντρωση ινσουλίνης στην κυκλοφορία (Yamakado et al., 2015).

Ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαραγίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη και προλίνη είναι ο παράγοντας που προέκυψε από την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες που ερμηνεύει το δεύτερο μεγαλύτερο ποσοστό (~9%) της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της ανάλυσης. Κανένα από τα αμινοξέα που συμμετέχουν στην σύνθεση αυτού του παράγοντα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ανδρών με ΜΣ και των μεταβολικά υγιών ως προς τις συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα νηστείας. Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι τα πρώτα τέσσερα αμινοξέα που συνθέτουν τον παράγοντα, δηλαδή η γλουταμίνη, η γλυκίνη, η σερίνη και η ασπαραγίνη, συσχετίζονται με αντιστρόφως με παράγοντες του ΜΣ. Συγκεκριμένα, η γλουταμίνη έχει συσχετιστεί αρνητικά με την συγκέντρωση γλυκόζης, τριγλυκεριδίων και ινσουλίνης νηστείας, την συστολική και διαστολική πίεση αίματος (Cheng et al., 2012), καθώς

και την ινσουλινο-αντίσταση (Würtl et al., 2012), ενώ έχει συσχετιστεί θετικά με την συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης (Cheng et al., 2012). Επίσης, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της γλυκίνης είναι χαμηλότερα μεταξύ παχύσαρκων ατόμων έναντι ατόμων με φυσιολογικό σωματικό βάρος (Newgard et al., 2009) και η γλυκίνη έχει συσχετιστεί αντιστρόφως με τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης (Ho et al., 2016) και την ινσουλινο-αντίσταση (Yamada et al., 2015). Η σερίνη και η ασπαραγίνη έχουν συσχετιστεί αντιστρόφως με την ινσουλινο-αντίσταση (Yamada et al., 2015). Όσον αφορά στα αμινοξέα ορνιθίνη, ιστιδίνη και προλίνη που συμμετέχουν επίσης στη σύνθεση του δεύτερου παράγοντα αμινοξέων στην παρούσα μελέτη, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι προγενέστερες μελέτες έχουν αναδείξει θετικές συσχετίσεις αυτών με παράγοντες του ΜΣ. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η ορνιθίνη, η ιστιδίνη και η προλίνη δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ παχύσαρκων ατόμων και ατόμων με φυσιολογικό σωματικό βάρος (Newgard et al., 2009), ωστόσο, τόσο η ορνιθίνη όσο και η προλίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με τον ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης (Ho et al., 2016). Επιπλέον, η ιστιδίνη και η προλίνη έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-αντίσταση (Yamada et al., 2015). Στην παρούσα μελέτη, βρήκαμε ότι ο παράγοντας που συνίσταται από τα αμινοξέα γλουταμίνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαραγίνη, θρεονίνη, ορνιθίνη, λυσίνη, ιστιδίνη και προλίνη συσχετίζεται αντιστρόφως με παράγοντες του ΜΣ, δηλαδή συσχετίζεται θετικά με την HDL-χοληστερόλη, και αρνητικά με την ινσουλίνη και την ινσουλινο-αντίσταση, τη συστολική αρτηριακή πίεση και τον ΔΜΣ. Συνεπώς, οι συσχετίσεις αυτού του παράγοντα αμινοξέων με παράγοντες του ΜΣ είναι παρόμοιες με τις συσχετίσεις των τεσσάρων πρώτων αμινοξέων, γλουταμίνη (Gln), γλυκίνη (Gly), σερίνη (Ser) και ασπαραγίνη (Asn) που συνθέτουν τον παράγοντα, ενώ είναι αντίθετες με τις συσχετίσεις των αμινοξέων ορνιθίνη (Orn), ιστιδίνη (His), προλίνη (Pro). Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι οι συσχετίσεις του παράγοντα αμινοξέων επηρεάζονται από τις επιμέρους συσχετίσεις των αμινοξέων Gln, Gly, Ser και Asn επειδή τα συγκεκριμένα αμινοξέα συμμετέχουν στην σύνθεση του παράγοντα με υψηλότερο βαθμό συσχέτισης με τον παράγοντα (factor load: 0,677 – 0,754) συγκριτικά με τα αμινοξέα Orn, His και Pro (factor load: 0,413 – 0,594). Για τον λόγο αυτόν, θα αναφερόμαστε εφεξής σε αυτόν τον παράγοντα αμινοξέων ως Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντας.

Στη συνέχεια, εξετάσαμε τη συσχέτιση των παραγόντων αμινοξέων με το ΜΣ όπου η παρουσία ΜΣ ήταν η έκβαση (εξαρτημένη μεταβλητή) και οι παράγοντες αμινοξέων ήταν οι ανεξάρτητες μεταβλητές. Στην συγκεκριμένη ανάλυση, εξετάσαμε αρχικά την επίδραση κάθε παράγοντα αμινοξέων στην πιθανότητα παρουσίας ΜΣ ανεξάρτητα από την επίδραση των άλλων παραγόντων αμινοξέων. Για τον σκοπό αυτόν, εισαγάγαμε και τους 5 παράγοντες

αμινοξέων που προέκυψαν από την παραγοντική ανάλυση σε ένα μοντέλο και εκτιμήσαμε τον λόγο πιθανοτήτων παρουσίας ΜΣ προς την απουσία ΜΣ. Εξετάσαμε και τους 5 παράγοντες αμινοξέων παρόλο που οι παράγοντες 3, 4 και 5 ερμήνευαν μικρότερα ποσοστά της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της παραγοντικής ανάλυσης. Στο πρώτο μοντέλο της λογαριθμικής παλινδρόμησης, δείξαμε ότι ο BCAA/AAA παράγοντας και ο Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντας ήταν οι μοναδικοί παράγοντες αμινοξέων που συσχετίζονται σημαντικά με το ΜΣ μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, κάπνισμα, επίπεδο σωματικής δραστηριότητας, φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2). Ο BCAA/AAA παράγοντας συσχετίζεται θετικά με την παρουσία ΜΣ όπου η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 6,41 (95% CI: 2,43-16,91) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ για κάθε μονάδα αύξησης του BCAA/AAA παράγοντα όταν οι υπόλοιποι παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών παραμένουν αμετάβλητοι. Αντίθετα, ο Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντας συσχετίζεται αντιστρόφως με την παρουσία του ΜΣ όπου η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 0.47 (95% CI: 0.23-0.96) φορές μικρότερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ για κάθε μονάδα αύξησης του Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντα όταν οι υπόλοιποι παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών παραμένουν αμετάβλητοι. Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει παρόμοια αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, παράγοντας που συνίσταται από BCAAs και AAAs έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με θετικά την παρουσία ΜΣ ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας, του ΔΜΣ και της περιφέρειας μέσης (Wiklund et al., 2014). Επίσης, παράγοντες που συνίστανται από BCAAs, AAAs, μεθειονίνη, αλανίνη, ιστιδίνη, προλίνη, γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ έχει βρεθεί ότι συσχετίζονται θετικά με την παρουσία κατάστασης μεταβολικής διαταραχής (metabolically unwell state, MUW) χαρακτηριζόμενη από την παρουσία δύο ή περισσότερων μεταβολικών διαταραχών, ακόμη και μετά από τον έλεγχο της επίδρασης του ΔΜΣ (Batch et al., 2013). Αντίθετα, παράγοντας που συνίσταται από την γλυκίνη, την σερίνη και την ορνιθίνη έχει συσχετιστεί θετικά με την παρουσία κατάστασης μεταβολικής υγείας (metabolically well state, MW) (Batch et al., 2013).

Στη συνέχεια της λογαριθμικής παλινδρόμησης, εξετάσαμε την πιθανή επίδραση των ηπατικών ενζύμων GOT, GPT, γ-GT και της αντιπυονεκτίνης στην συσχέτιση ανάμεσα στην παρουσία ΜΣ και κάθε παράγοντα αμινοξέων. Οι λόγοι για τους οποίους προχωρήσαμε στην συγκεκριμένη διερεύνηση είναι οι εξής:

- 1) Στην παρούσα μέλετη, ο BCAA/AAA παράγοντας συσχετίστηκε αρνητικά με την αντιπυονεκτίνη και θετικά με την γ-GT,

2) Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα BCAAs, φαινυλαλανίνης και τυροσίνης στον ορό παράλληλα με μειωμένα επίπεδα αντιπυονεκτίνης και αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων (Cheng et al., 2015) και αντίστροφη συσχέτιση των BCAAs και της τρυπτοφάνης με τα επίπεδα αντιπυονεκτίνης στο πλάσμα (Nakamura et al., 2014, Combs et al., 2016),

3) Στο πλαίσιο του 1^{ου} σκέλους της παρούσας διδακτορικής διατριβής δείξαμε ότι η αντιπυονεκτίνη διαθέτει σημαντική ικανότητα διάκρισης των συμμετεχόντων με ΜΣ, ανεξαρτήτως της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και παραγόντων του ΜΣ (Ntzounani et al., 2016),

4) Πρόσφατη μετα-ανάλυση έχει δείξει ότι τα επίπεδα της γ-GT συσχετίζονται σημαντικά και θετικά με τον κίνδυνο ΜΣ, ακόμη και εντός φυσιολογικών ορίων αναφοράς των επιπέδων της γ-GT (Kunutsor et al., 2015).

Βρήκαμε ότι η συσχέτιση του BCAA/AAA παράγοντα με την παρουσία ΜΣ παρέμεινε σημαντική και θετική, ανεξάρτητα από την επίδραση των ενζύμων GOT, GPT, γ-GT και της αντιπυονεκτίνης. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 6.45 (95% CI: 2.42 - 17.22, παρουσία GOT), 6.35 (95% CI: 2.40 - 16.77, παρουσία GPT), 6.17 (95% CI: 2.00 - 19.00, παρουσία γ-GT) και 5.13 (95% CI: 1.90 - 13.85, παρουσία αντιπυονεκτίνης) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ για κάθε μονάδα αύξησης του BCAA/AAA παράγοντα όταν οι υπόλοιποι παράγοντες αμινοξέων παραμένουν αμετάβλητοι. Επίσης, βρήκαμε ότι η συσχέτιση του Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντα με την παρουσία ΜΣ παρέμεινε σημαντική και αντίστροφη, ανεξάρτητα από την επίδραση των ενζύμων GOT, GPT, γ-GT και της αντιπυονεκτίνης. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 0.47 (95% CI: 0.23 - 0.96, παρουσία GOT), 0.46 (95% CI: 0.22 - 0.95, παρουσία GPT), 0.47 (95% CI: 0.23 - 0.96, παρουσία γ-GT) και 0.45 (95% CI: 0.22 - 0.92, παρουσία αντιπυονεκτίνης) φορές μικρότερη της πιθανότητας απουσίας ΜΣ για κάθε μονάδα αύξησης του Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντα όταν οι υπόλοιποι παράγοντες αμινοξέων παραμένουν αμετάβλητοι. Δεν βρήκαμε προγενέστερες μελέτες που να έχουν διερευνήσει την πιθανή επίδραση των ηπατικών ενζύμων GOT, GPT γ-GT και της αντιπυονεκτίνης στην συσχέτιση ανάμεσα σε παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών και την παρουσία ΜΣ.

Ακολούθως, θα προσπαθήσουμε να ερμηνεύσουμε τα αποτελέσματα του 2^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής. Για την ορθότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να

λάβουμε υπ' όψιν τα εξής σημεία: 1) οι συγκεντρώσεις αμινοξέων πλάσματος μετρήθηκαν σε φάση νηστείας και 2) τα BCAA και AAA αμινοξέα, τα οποία χαρακτηρίζουν τον παράγοντα αμινοξέων που συσχετίζεται θετικά με το ΜΣ θεωρούνται απαραίτητα αμινοξέα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Τα επίπεδα αυτών των αμινοξέων στο αίμα σε φάση νηστείας εξαρτώνται εν μέρει από τον ρυθμό εμφάνισής τους στο αίμα (Rate of appearance, Ra), ο οποίος εξαρτάται με την σειρά του από τον ρυθμό πρωτεόλυσης και απελευθέρωσης αμινοξέων από τους ιστούς, κυρίως τον σκελετικό μυϊκό ιστό (Cynober, 2002). Τα αυξημένα επίπεδα των BCAAs και AAAs στο αίμα μπορεί να εξηγούνται από την παρουσία ινσουλινο-αντίστασης οφειλόμενης στην παρουσία παχυσαρκίας. Η ινσουλινο-αντίσταση έχει συσχετιστεί με την αύξηση του ρυθμού μυϊκής πρωτεόλυσης μέσω αρνητικής ρύθμισης (down-regulation) της μεταγωγής σήματος του υποδοχέα της ινσουλίνης (insulin receptor substrate-1(IRS-1)/ phosphatidylinositol-3-kinase(PI3K)/ Akt) (Wang et al., 2006). Ένας δευτερεύων παράγοντας ο οποίος έχει αναγνωριστεί ότι ενισχύει τον μηχανισμό ενεργοποίησης της πρωτεόλυσης παρουσία ινσουλινο-αντίστασης, είναι τα μειωμένα επίπεδα της αντιγονεκτίνης στην κυκλοφορία (Wang et al., 2006). Στην παρούσα μελέτη, όλοι οι συμμετέχοντες με ΜΣ ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι και είχαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας οι οποίες αποτελούν ένδειξη μειωμένης ινσουλινο-ευαισθησίας. Επίσης, όλοι οι συμμετέχοντες με ΜΣ είχαν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις αντιγονεκτίνης στο πλάσμα συγκριτικά με τους μεταβολικά υγιείς συμμετέχοντες.

Τα επίπεδα των BCAAs και των AAAs στο αίμα σε φάση νηστείας εξαρτώνται επίσης από τον ρυθμό απομάκρυνσής τους από το αίμα (Rate of disappearance, Rd), ο οποίος οφείλεται εν μέρει στον αυξημένο καταβολισμό των αμινοξέων (Cynober, 2002). Ο καταβολισμός των BCAAs αρχίζει με μία αντιστρεπτή αντίδραση μεταφοράς αμινομάδας (τρανσαμίνωση) η οποία καταλύεται στα μιτοχόνδρια από το ένζυμο BCAA αμινοτρανσφεράση (mitochondrial BCAA aminotransferase, BCATm) και οδηγεί στην μετατροπή των BCAAs στα αντίστοιχα α-κετο-οξέα (branched-chain α-keto-acids, BCKAs). Η επόμενη αντίδραση καταβολισμού των BCAAs είναι μη αντιστρεπτή αντίδραση οξειδωτικής αποκαρβοξυλίωσης των BCKAs προς τους αντίστοιχους εστέρες ακυλο-συνένζυμου Α (acyl-CoA esters) και καταλύεται από το ενζυμικό σύμπλεγμα της BCKA αφυδρογονάσης (BCKA-dehydrogenase complex, BCKDH) (Lu et al., 2013). Από την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης υποδόριου λιπώδους ιστού έχει προκύψει ότι η βιοχημική πορεία καταβολισμού των BCAAs υφίσταται αρνητική ρύθμιση σε παχύσαρκα άτομα έναντι ατόμων με φυσιολογικό σωματικό βάρος (Badoud et al., 2014). Επιπλέον, τα επίπεδα mRNA των γονιδίων που κωδικοποιούν για τα

ένζυμα BCATm και BCKDH έχουν συσχετιστεί θετικά με την ινσουλινο-ευαισθησία (Stančáková et al., 2012) και ενδέχεται συνεπώς να μειώνονται παρουσία ινσουλινο-αντίστασης.

Εκτός από την αύξηση των επιπέδων των BCAAs στο αίμα παρουσία παχυσαρκίας και/ή ινσουλινο-αντίστασης λόγω μειωμένου καταβολισμού αυτών, ενδέχεται να επηρεάζονται προς την ίδια κατεύθυνση και τα επίπεδα γλουταμινικού οξέος και αλανίνης. Συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα του γλουταμινικού οξέος μπορεί να οφείλονται στην σύνθεσή του στην πρώτη αντίδραση του καταβολισμού των BCAAs, κατά την οποία παράγονται τα BCKAs μέσω τρانشαμίνωσης (Newgard et al., 2009). Παρόλο που η πορεία καταβολισμού των BCAAs υφίσταται αρνητική ρύθμιση στον λιπώδη ιστό παχύσαρκων ατόμων με ινσουλινο-αντίσταση, ενδέχεται η ίδια βιοχημική πορεία να υφίσταται θετική ρύθμιση στον σκελετικό μυϊκό ιστό των ίδιων ατόμων (Newgard, 2012). Αυτή η διαφοροποίηση ως προς τη ρύθμιση του καταβολισμού των BCAAs μεταξύ λιπώδους και μυϊκού ιστού μπορεί να ερμηνεύσει εν μέρει τα αυξημένα επίπεδα γλουταμινικού οξέος που παρατηρούνται στους συμμετέχοντες με ΜΣ στην παρούσα μελέτη. Αντιστοίχως, ο ενισχυμένος καταβολισμός των BCAAs στον σκελετικό μυϊκό ιστό μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της σύνθεσης αλανίνης από το πυροσταφυλικό μέσω τρانشαμίνωσης λόγω αύξησης των επιπέδων γλουταμινικού οξέος (Newgard et al., 2009). Προγενέστερη μελέτη σύγκρισης των επιπέδων διαφόρων μεταβολιτών μεταξύ αρτηριακού και φλεβικού αίματος σε ανθρώπους, έχει δείξει υψηλότερα επίπεδα αλανίνης πλάσματος από φλεβικό αίμα συγκριτικά με το πλάσμα από αρτηριακό αίμα ως αποτέλεσμα της κυκλοφορίας μέσω του σκελετικού μυϊκού ιστού και της συνακόλουθης σύνθεσης αλανίνης μέσω αντιδράσεων τρانشαμίνωσης στα κύτταρα του σκελετικού μυϊκού ιστού (Ivanisevic et al., 2015). Συνεπώς, ο αυξημένος καταβολισμός των BCAAs στον σκελετικό μυϊκό ιστό μπορεί να ερμηνεύσει εν μέρει τα αυξημένα επίπεδα αλανίνης που παρατηρούνται στους συμμετέχοντες με ΜΣ στην παρούσα μελέτη.

Αναφορικά με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης που αφορούν στον Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντα, προγενέστερες μελέτες έχουν καταλήξει σε παρόμοια αποτελέσματα. Οι Yamakado και συνεργάτες (2015) έχουν βρει ότι η Gln, η Gly, η Ser και η Asn συμμετέχουν στην σύνθεση μίας συστάδας μεταβολιτών η οποία συσχετίζεται αρνητικά με την λιπώδη μάζα και την ινσουλινο-αντίσταση (Yamakado et al., 2015). Επίσης, η Gln, η Gly, η Ser και η Asn μπορεί να συνδέονται με τον καρδιο-μεταβολικό κίνδυνο μέσω μηχανισμών που επηρεάζονται από την ινσουλίνη (Cheng et al., 2012). Για παράδειγμα, τόσο η Gly όσο και η Ser μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα ηπατοκύτταρα στην εκ νέου σύνθεση γλυκόζης μέσω της βιοχημικής

πορείας της νεογλυκογένεσης, η οποία ενισχύεται παρουσία ινσουλινο-αντίστασης, με αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων αυτών των αμινοξέων στην κυκλοφορία (Yamakado et al., 2015).

Συνοπτικά, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης και ειδικότερα εκείνα που αφορούν στην συσχέτιση του BCAA παράγοντα με το ΜΣ, μπορούν να αποδοθούν στην παρουσία αυξημένου σωματικού βάρους και ινσουλινο-αντίστασης μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ. Οι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων ενδέχεται να δρουν το αυξημένο σωματικό βάρος και η ινσουλινο-αντίσταση περιλαμβάνουν την αύξηση του ρυθμού πρωτεόλυσης στον σκελετικό μυϊκό ιστό και την μείωση του καταβολισμού των αμινοξέων στον λιπώδη ιστό.

Όσον αφορά στους περιορισμούς του 2^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η μελέτη είναι συγχρονική, γεγονός που περιορίζει την δυνατότητα εξαγωγής ασφαλών συμπερασμάτων που αφορούν στη σχέση αιτίου-αιτιατού. Επίσης, το μέγεθος του δείγματος είναι σχετικά μικρό με αποτέλεσμα να περιορίζεται η ισχύς της μελέτης. Ο πληθυσμός της μελέτης προ της διαστρωμάτωσης είναι σε μεγάλο βαθμό ομοιογενής, γεγονός που περιορίζει την δυνατότητα γενίκευσης των αποτελεσμάτων. Παρ' όλα αυτά, η παρούσα μελέτη έχει ισχυρά σημεία. Οι βιοχημικές αναλύσεις και η ανάλυση του αποτυπώματος αμινοξέων και μεταβολιτών πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα αίματος νηστείας, με αποτέλεσμα να ελαχιστοποιείται η συγχυτική επίδραση μεταγευματικών παραγόντων. Επίσης, τα αμινοξέα και οι μεταβολίτες τους που αξιολογήθηκαν αποτελούν ένα μοναδικό φάσμα μεταβολιτών σε ό,τι αφορά στη μελέτη του ΜΣ. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών με παρόμοιο σχεδιασμό. Τέλος, η παραγοντική ανάλυση απέδωσε παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών που συνδέονται μεταξύ τους τόσο στατιστικά όσο και βιοχημικά.

Συμπερασματικά, στο πλαίσιο του 2^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής, δείξαμε ότι το ΜΣ συσχετίζεται με δύο διακριτούς παράγοντες αμινοξέων. Ο πρώτος παράγοντας χαρακτηρίζεται κυρίως από τα BCAA και τα AAA αμινοξέα (BCAA/AAA παράγοντας), ενώ ο δεύτερος χαρακτηρίζεται κυρίως από τα αμινοξέα Gln, Gly, Ser και Asn (Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντας). Ο BCAA/AAA παράγοντας συσχετίζεται θετικά τόσο με παράγοντες καρδιο-μεταβολικού κινδύνου όσο και με την παρουσία ΜΣ. Αντίθετα ο Gln/Gly/Ser/Asn παράγοντας συσχετίζεται αντιστρόφως τόσο με παράγοντες καρδιο-μεταβολικού κινδύνου όσο και με την παρουσία ΜΣ. Αυτές οι συσχετίσεις δεν επηρεάζονται από δείκτες ηπατικής λειτουργίας ή την αντιπονεκτίνη πλάσματος.

5.3. Διατροφικά πρότυπα και συγκεντρώσεις IL-6 και αντιπονεκτίνης στο πλάσμα

Πολλές μελέτες έχουν έως σήμερα εξετάσει τη σχέση μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών με την συγκέντρωση δεικτών της φλεγμονής και τον κίνδυνο μη μεταδοτικών νοσημάτων (π.χ. καρδιαγγειακά νοσήματα). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται η τάση μελέτης διατροφικών προτύπων επειδή θεωρούνται ως ασφαλέστερη μέθοδος προσέγγισης των σχέσεων και των επιδράσεων της διατροφής σε δείκτες υγείας (Smidowicz & Regula, 2015). Για την εξαγωγή διατροφικών προτύπων, ακολουθούνται δύο κύριες μέθοδοι: η μέθοδος *a priori* («εκ των προτέρων») και η μέθοδος *a posteriori* («εκ των υστέρων»). Η πρώτη μέθοδος βασίζεται, όπως υποδηλώνει και ο χαρακτηρισμός της, σε προγενεστέρα επιστημονική γνώση αναφορικά με τις ωφέλιμες ή επιβλαβείς επιδράσεις στην υγεία διαφόρων ομάδων τροφίμων ή συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών. Αντίθετα, η δεύτερη μέθοδος είναι διερευνητική και εξαρτάται πλήρως από τα εκάστοτε διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα. Επομένως, η μέθοδος *a posteriori* δεν βασίζεται σε προγενέστερη επιστημονική γνώση και δεν αποτιμά καθιερωμένα διατροφικά πρότυπα. Οι πιο διαδεδομένες στατιστικές τεχνικές για την εξαγωγή διατροφικών προτύπων βάσει της *a posteriori* μεθόδου είναι η συσταδική ανάλυση (cluster analysis) και η παραγοντική ανάλυση (factor analysis) όπου ανήκει η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (principal components analysis) (Costacou et al., 2003). Η συσταδική ανάλυση ομαδοποιεί μεμονωμένα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων βάσει της συχνότητας κατανάλωσης, σε προκαθορισμένο αριθμό κατηγοριών – συστάδων τροφίμων. Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες ομαδοποιεί μεμονωμένα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων βάσει του βαθμού συσχέτισης μεταξύ τους. Τα διατροφικά πρότυπα που προκύπτουν από τις μεθόδους *a priori* και *a posteriori*, και ειδικότερα από τις τεχνικές της συσταδικής ανάλυσης και της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες βρίσκουν εφαρμογή σε μεθόδους στατιστικής ανάλυσης όπως η πολλαπλή παλινδρόμηση με σκοπό την διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ διατροφικών συνηθειών και δεικτών υγείας (Panagiotakos et al., 2007).

Στο 3^ο σκέλος της διδακτορικής διατριβής μελετήσαμε συγχρονικά την σχέση διατροφικών προτύπων με τις συγκεντρώσεις της IL-6 και της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα σε δείγμα 159 ανδρών και 125 γυναικών, μέσης ηλικίας 53 ± 9 και 52 ± 9 έτη, αντιστοίχως. Η συνήθης διατροφική πρόσληψη κατά τη διάρκεια του προηγούμενου μήνα αξιολογήθηκε με ημι-ποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) που περιελάμβανε ερωτήσεις για 69 μεμονωμένα τρόφιμα και ομάδες τροφίμων με καθορισμένες μερίδες κατανάλωσης και 6 κατηγορίες συχνότητας κατανάλωσης (ποτέ ή σπάνια, 1-3 φορές/μήνα, 1-2

φορές/ εβδομάδα, 3-6 φορές/ εβδομάδα, 1 φορά/ ημέρα, ≥ 2 φορές/ ημέρα). Από την συχνότητα εκτιμήσαμε τον αριθμό των μερίδων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα βάσει των οποίων υπολογίστηκαν τα διατροφικά πρότυπα. Ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων βασίστηκε στην μέθοδο *a posteriori* και συγκεκριμένα στην στατιστική τεχνική της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Υπολογίστηκαν 7 διατροφικά πρότυπα: 1) «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά», 2) «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», 3) «λαχανικά, αρτοσκευάσματα από δημητριακά ολικής αλέσεως, ψάρια, φρούτα», 4) «παραδοσιακά πιάτα μεσογειακής κουζίνας, μαγιονέζα, θαλασσινά», 5) «λίπη και έλαια, κρεατοσκευάσματα», 6) «λευκό ρύζι, ελιές, αλκοολούχα ποτά χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθανόλη», 7) «πατάτες, όσπρια, γλυκαντικές ύλες, λευκά ζυμαρικά». Από την ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης βρήκαμε ότι ούτε η IL-6 ούτε η αντιπονεκτίνη συσχετίζονται στατιστικά με κάποιο διατροφικό πρότυπο. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μία τάση θετικής, γραμμικής συσχέτισης ανάμεσα στην IL-6 και το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», καθώς και μία τάση θετικής, γραμμικής συσχέτισης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το διατροφικό πρότυπο «λευκό ρύζι, ελιές, αλκοολούχα ποτά χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθανόλη» μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου και του ΔΜΣ. Τα αποτελέσματά μας είναι συγκρίσιμα με εκείνα προγενέστερων μελετών οι οποίες περιγράφονται ακολούθως.

Μελέτες έχουν αξιολογήσει την σχέση διατροφικών προτύπων με την συγκέντρωση της IL-6 στον ορό ή το πλάσμα (Lopez-Garcia et al., 2004, Nettleton et al., 2006, Wood et al., 2014). Αυτές οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε δείγμα 732 γυναικών, ηλικίας 43 – 69 ετών (Lopez-Garcia et al., 2004), 2407 ανδρών και 2682 γυναικών, ηλικίας 45 – 84 ετών (Nettleton et al., 2006) ή 2114 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (Wood et al., 2014). Η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) που περιελάμβαναν ερωτήσεις για 116, 120 και 136 μεμονωμένα τρόφιμα, αντιστοίχως (Lopez-Garcia et al., 2004, Nettleton et al., 2006, Wood et al., 2014), με καθορισμένες μερίδες κατανάλωσης (Lopez-Garcia et al., 2004) ή επιλογές για το μέγεθος της μερίδας (μικρό, μεσαίο, μεγάλο) (Nettleton et al., 2006) και 9 κατηγορίες συχνότητας κατανάλωσης (Lopez-Garcia et al., 2004, Nettleton et al., 2006). Τα μεμονωμένα τρόφιμα κατηγοριοποιήθηκαν σε 37 (Lopez-Garcia et al., 2004, Wood et al., 2014) ή 47 ομάδες τροφίμων (Nettleton et al., 2006) βάσει των οποίων υπολογίστηκαν 2 (Lopez-Garcia et al., 2004) ή 4 (Nettleton et al., 2006, Wood et al., 2014) διατροφικά πρότυπα. Αναφορικά με την σχέση IL-6 και διατροφικών προτύπων βρέθηκε αρχικά ότι η μέση συγκέντρωση της IL-6 στο πλάσμα δεν διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των πεμπτημορίων είτε του «συνετού» (“prudent” dietary pattern) είτε του «δυτικού»

διατροφικού προτύπου (“Western” dietary pattern). Ωστόσο, η συγκέντρωση της IL-6 βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, σωματική δραστηριότητα, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ). Εντούτοις, με την προσθήκη του ΔΜΣ ως συγχυτικής μεταβλητής στην πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση, η συσχέτιση δεν παρέμεινε στατιστικά σημαντική (Lopez-Garcia et al., 2004). Η συγκέντρωση της IL-6 βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με το διατροφικό πρότυπο «λιπαρά και επεξεργασμένο κρέας» και αρνητικά με τα διατροφικά πρότυπα «δημητριακά ολικής αλέσεως και φρούτα» και «λαχανικά και ψάρια». Ωστόσο, οι συσχετίσεις της IL-6 με τα παραπάνω διατροφικά πρότυπα δεν παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά από την προσθήκη της περιφέρειας μέσης ως συγχυτικής μεταβλητής στην πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (Nettleton et al., 2006). Η συγκέντρωση της IL-6 στον ορό βρέθηκε να εμφανίζει σημαντική φθίνουσα τάση με την αύξηση των πεμπτημορίων του «συνετού» διατροφικού προτύπου (“prudent” dietary pattern), αλλά σημαντική αυξητική τάση με την αύξηση των πεμπτημορίων του διατροφικού προτύπου όπου «κυριαρχεί» η κατανάλωση κρέατος (“meat-dominated dietary pattern”), μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, σωματικό βάρος, επίπεδο σωματικής δραστηριότητας) (Wood et al., 2014).

Μελέτες έχουν επίσης αξιολογήσει την σχέση διατροφικών προτύπων με την συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης στον ορό ή το πλάσμα (Yannakoulia et al., 2008, Kashino et al., 2015). Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε δείγμα 196 γυναικών, ηλικίας 18 – 84 ετών (Yannakoulia et al., 2008) και 296 ανδρών και 213 γυναικών, ηλικίας 20 – 65 ετών (Kashino et al., 2015). Η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων (3-day food record) όπου οι συμμετέχοντες κατέγραψαν το είδος και την ποσότητα των τροφίμων που καταναλώθηκαν επί 2 συγκεκριμένες συναπτές καθημερινές και 1 ημέρα του Σαββατοκύριακου (Yannakoulia et al., 2008) ή με ένα σύντομο ερωτηματολόγιο διατροφικού ιστορικού (brief diet history questionnaire, BDHQ) που περιελάμβανε ερωτήσεις για 58 μεμονωμένα τρόφιμα (Kashino et al., 2015). Βάσει των απαντήσεων της συνήθους διατροφικής πρόσληψης υπολογίστηκαν 10 (Yannakoulia et al., 2008) ή 3 (Kashino et al., 2015) διατροφικά πρότυπα. Στην πρώτη μελέτη (Yannakoulia et al., 2008), η οποία πραγματοποιήθηκε σε δείγμα από πληθυσμό της Ελλάδας, βρέθηκε ότι η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα συσχετίζεται θετικά με το διατροφικό πρότυπο «υψηλή κατανάλωση δημητριακών ολικής αλέσεως και γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, χαμηλή κατανάλωση επεξεργασμένων δημητριακών». Η θετική

συσχέτιση παρέμεινε στατιστικά σημαντική μετά από τον έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών παραγόντων (ΔΜΣ, κατάσταση εμμηνόπαυσης (menopausal status), επίπεδο σωματικής δραστηριότητας, υποκαταγραφή της ενεργειακής πρόσληψης και τα υπόλοιπα διατροφικά πρότυπα της μελέτης). Επίσης, η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης στο πλάσμα βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά, με οριακή στατιστική σημαντικότητα, με το διατροφικό πρότυπο «υψηλή κατανάλωση αλκοολούχων ποτών» μετά από τον έλεγχο της επίδρασης των παραπάνω συγχυτικών μεταβλητών (Yannakoulia et al., 2008). Το διατροφικό πρότυπο «λευκό ρύζι, ελιές, αλκοολούχα ποτά χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθανόλη», της παρούσας μελέτης, χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση λευκού ρυζιού, ελιών, μπύρας και κρασιού. Αυτό το διατροφικό πρότυπο προσομοιάζει στο διατροφικό πρότυπο «υψηλή κατανάλωση αλκοολούχων ποτών» (Yannakoulia et al., 2008), το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση κρασιού, μπύρας, καθώς και άλλων αλκοολούχων ποτών. Στην δεύτερη μελέτη, η οποία πραγματοποιήθηκε σε δείγμα από πληθυσμό της Ιαπωνίας (Kashino et al., 2015), η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με το «ιαπωνικό» διατροφικό πρότυπο, που συνοψίζει το παραδοσιακό πρότυπο διατροφής της Ιαπωνίας, το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο ή το διατροφικό πρότυπο όπου «κυριαρχεί» η κατανάλωση κρέατος και προϊόντων του (Kashino et al., 2015).

Το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», της παρούσας μελέτης, χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση γλυκών (πάστες, τάρτες), γλυκών αρτοσκευασμάτων (κρουασάν, γκοφρέτες, κέικ, μπισκότα), γλυκών με βάση το γάλα (παγωτό, μιλκ σέικ, κρέμα, ρυζόγαλο), αλμυρών σνακ (πατατάκια, γαριδάκια, ποπ κορν) και σακχαρούχων αναψυκτικών. Αυτό το διατροφικό πρότυπο είναι παρόμοιο με το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο της μελέτης των Lopez-Garcia και συνεργατών (2014), το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση κόκκινου κρέατος, επεξεργασμένου κρέατος, επεξεργασμένων δημητριακών, γλυκών, επιδορπίων, τηγανιτών πατατών και γαλακτοκομικών προϊόντων με πλήρη λιπαρά (Lopez-Garcia et al., 2004). Επίσης, το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», της παρούσας μελέτης, προσομοιάζει με το διατροφικό πρότυπο όπου «κυριαρχεί» η κατανάλωση κρέατος» (“meat-dominated dietary pattern”), χαρακτηριζόμενο από υψηλή κατανάλωση κρέατος, πατατών, χυμών φρούτων και λαχανικών (Wood et al., 2014), καθώς και με το διατροφικό πρότυπο «λιπαρά και επεξεργασμένο κρέας» που χαρακτηρίζεται από υψηλότερες προσλήψεις λιπαρών και ελαίων, λιπαρών και επεξεργασμένων κρεάτων, τηγανιτών πατατών, αλμυρών σνακ και επιδορπίων (Nettleton et al., 2006).

Στον αντίποδα των διατροφικών προτύπων που περιγράφονται στην προηγούμενη παράγραφο, βρίσκεται το «συνετό» διατροφικό πρότυπο, το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση λαχανικών, φρούτων, οσπρίων, δημητριακών ολικής αλέσεως, ψαριών και θαλασσινών, πουλερικών (Lopez-Garcia et al., 2004), καθώς και υψηλότερη κατανάλωση γιαουρτιού, κρέμας, ρυζιού, ζυμαρικών και κρασιού, αλλά χαμηλή κατανάλωση ψωμιού, μπισκότων, κέικ, γλυκών, λιπών και ελαίων (Wood et al., 2014). Διατροφικά πρότυπα που μοιάζουν με το «συνετό» είναι: 1) το διατροφικό πρότυπο «δημητριακά ολικής αλέσεως και φρούτα» που χαρακτηρίζεται από υψηλότερες προσλήψεις ψωμιού, ρυζιού και ζυμαρικών από ολικής αλέσεως δημητριακά, φρούτων, σπόρων, ξηρών καρπών και φυστικοβούτυρου, πράσινων φυλλωδών λαχανικών και γάλακτος χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (Nettleton et al., 2006), 2) το διατροφικό πρότυπο «λαχανικά και ψάρια» που χαρακτηρίζεται από υψηλότερες προσλήψεις διαφόρων ειδών λαχανικών, ψαριών και σουπών (Nettleton et al., 2006) και 3) το διατροφικό πρότυπο «υψηλή κατανάλωση δημητριακών ολικής αλέσεως και γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, χαμηλή κατανάλωση επεξεργασμένων δημητριακών» (Yannakoulia et al., 2008). Στην παρούσα μελέτη υπολογίστηκαν διατροφικά πρότυπα που προσομοιάζουν στο «συνετό» διατροφικό πρότυπο. Αυτά είναι τα διατροφικά πρότυπα «λαχανικά, αρτοσκευάσματα από δημητριακά ολικής αλέσεως, ψάρια, φρούτα» και «παραδοσιακά πιάτα μεσογειακής κουζίνας, μαγιονέζα, θαλασσινά» τα οποία, ωστόσο, δεν συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά ούτε με την συγκέντρωση της IL-6 ούτε με την συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα.

Τέλος, τα 7 διατροφικά πρότυπα που υπολογίστηκαν στην παρούσα μελέτη ερμηνεύουν το 29,7% της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της συνήθους διατροφικής πρόσληψης. Τα αντίστοιχα ποσοστά των μελετών αναφοράς είναι 23,3% (4 πρότυπα) (Wood et al., 2014), 82% (10 πρότυπα) (Yannakoulia et al., 2008) και 20% (3 πρότυπα) (Kashino et al., 2015) της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της συνήθους διατροφικής πρόσληψης. Στις άλλες δύο μελέτες (Lopez-Garcia et al., 2004, Nettleton et al., 2006) δεν γίνεται αναφορά στην διακύμανση.

Η παρούσα μελέτη έχει ορισμένους περιορισμούς. Συγκεκριμένα, επιπρόσθετα με τους περιορισμούς του 1^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής, τα οποία έχουν αναφερθεί στην υπο-ενότητα 5.1., αναφέρουμε τους εξής περιορισμούς: Κατ' αρχάς, πραγματοποιήσαμε έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών. Ωστόσο, υπάρχουν πιθανόν μεταβλητές που δεν λάβαμε υπ' όψιν. Δεύτερον, η συνήθης διατροφική πρόσληψη

αξιολογήθηκε μία φορά με τη χρήση ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Συνεπώς, η εκτίμηση της πραγματικής διατροφικής πρόσληψης των συμμετεχόντων μπορεί να είναι ανακριβής λόγω των ημερήσιων και των εποχικών διακυμάνσεων στην κατανάλωση τροφής ή λόγω άλλων εγγενών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων που δεν αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Τρίτον, χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο *a posteriori* και συγκεκριμένα την τεχνική της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες για τον υπολογισμό των διατροφικών προτύπων. Ωστόσο, αυτός ο τρόπος προσέγγισης των προτύπων διατροφής κρίνεται ως υποκειμενικός επειδή στηρίζεται στα εκάστοτε διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα, τα οποία επηρεάζονται τόσο από τον πληθυσμό όσο και από τη μεθοδολογία της μελέτης. Επίσης, αυτή η τεχνική εξαρτάται από παραδοχές σχετικές με τις μεταβλητές που συμμετέχουν στην σύνθεση των συνιστωσών – παραγόντων. Τέλος, ο χαρακτηρισμός των διατροφικών προτύπων εξαρτάται από τον βαθμό και την κατεύθυνση συσχέτισης των μεταβλητών με κάθε παράγοντα.

Εντούτοις, η παρούσα μελέτη έχει και ισχυρά σημεία. Κατ' αρχάς, η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με τη βοήθεια ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, η εγκυρότητα του οποίου έχει ελεγχθεί. Επίσης, ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων δεν βασίστηκε σε εκτενές ερωτηματολόγιο μεμονωμένων τροφίμων, που μπορεί ίσως να επηρεάζει την αληθή καταγραφή της συνήθους κατανάλωσης, αλλά βασίστηκε σε ερωτήσεις επί συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων. Επιπρόσθετα, ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων πραγματοποιήθηκε με στατιστικές τεχνικές και παραδοχές που έχουν χρησιμοποιηθεί σε προγενέστερες μελέτες, γεγονός που επιτρέπει την ασφαλή σύγκριση των αποτελεσμάτων. Τέλος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι παρόμοια με εκείνα προγενέστερων μελετών, με συνέπεια να θεωρούνται έγκυρα.

Επομένως, βρήκαμε μία τάση θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην IL-6 και το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, αλμυρά σνακ, αναψυκτικά», το οποίο προσομοιάζει στο «δυτικό» διατροφικό πρότυπο. Επίσης, βρήκαμε μία τάση θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το διατροφικό πρότυπο «λευκό ρύζι, ελιές, αλκοολούχα ποτά χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθανόλη», η οποία επιβεβαιώνεται από προγενέστερη μελέτη. Τέλος, υπολογίσαμε διατροφικά πρότυπα που προσομοιάζουν στο «συνετό» διατροφικό πρότυπο, δηλαδή «λαχανικά, αρτοσκευάσματα από δημητριακά ολικής αλέσεως, ψάρια, φρούτα» και «παραδοσιακά πιάτα μεσογειακής κουζίνας, μαγιονέζα, θαλασσινά», τα οποία, ωστόσο, δεν συσχετίστηκαν με την IL-6 ή την αντιπονεκτίνη.

5.4. Διατροφικά πρότυπα και αποτύπωμα αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος

Στο 3^ο σκέλος της διδακτορικής διατριβής μελετήσαμε επίσης συγχρονικά την σχέση διατροφικών προτύπων με παράγοντες αμινοξέων και μεταβολιτών πλάσματος σε δείγμα 100 ανδρών, μέσης ηλικίας $54,6 \pm 8,9$ έτη. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η συνήθης διατροφική πρόσληψη κατά τη διάρκεια του προηγούμενου μήνα αξιολογήθηκε με ημι-ποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) που περιελάμβανε ερωτήσεις για 69 μεμονωμένα τρόφιμα και ομάδες τροφίμων με καθορισμένες μερίδες κατανάλωσης και 6 κατηγορίες συχνότητας κατανάλωσης (ποτέ ή σπάνια, 1-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/ εβδομάδα, 3-6 φορές/ εβδομάδα, 1 φορά/ ημέρα, ≥ 2 φορές/ ημέρα). Από την συχνότητα εκτιμήσαμε τον αριθμό των μερίδων που καταναλώνονται ανά εβδομάδα βάσει των οποίων υπολογίστηκαν τα διατροφικά πρότυπα. Ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων βασίστηκε στην μέθοδο *a posteriori* και συγκεκριμένα στην στατιστική τεχνική της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Υπολογίστηκαν 7 διατροφικά πρότυπα τα οποία ερμηνεύουν το 43% της διακύμανσης των αρχικών μεταβλητών της συνήθους διατροφικής πρόσληψης: 1) «γαλακτοκομικά χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, δημητριακά και προϊόντα δημητριακών ολικής αλέσεως, πρόσθετες ύλες χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, αναψυκτικά με υποκατάστατα σακχάρων», 2) «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες», 3) «φρούτα», 4) «σπιτικές πίτες, λευκό ψωμί και αρτοσκευάσματα, λαχανικά, λευκό ρύζι, πατάτες, λιπαρές ύλες», 5) «γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων», 6) «γλυκά, αφεψήματα, αλμυρά σνακ, αποξηραμένα φρούτα, ωμά λαχανικά», 7) «ξηροί καρποί και σπόροι, ψάρια, θαλασσινά, γλυκά».

Προγενέστερες μελέτες έχουν αξιολογήσει συγχρονικά την σχέση διατροφικών προτύπων με μεταβολίτες πλάσματος ή ορού (Bouchard-Mercier et al., 2013, Floegel et al., 2013, Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016). Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε δείγμα 37 υπέρβαρων ανδρών και γυναικών (ΔΜΣ: $29,7 \pm 4,2$ Kg/m²), ηλικίας $34,6 \pm 9,2$ ετών (Bouchard-Mercier et al., 2013), 2380 συμμετεχόντων στην μελέτη EPIC-Potsdam (Floegel et al., 2013) και 392 ανδρών, ηλικίας 30-49 ετών, που συμμετείχαν στην μελέτη EPIC-Oxford (Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016). Η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) που περιελάμβανε ερωτήσεις για 35 (Bouchard-Mercier et al., 2013) ή 45 ομάδες τροφίμων (Floegel et al., 2013). Τα διατροφικά πρότυπα υπολογίστηκαν βάσει των ομάδων τροφίμων με την βοήθεια στατιστικών τεχνικών (Bouchard-Mercier et al., 2013, Floegel et al., 2013) ή βάσει των απαντήσεων του

ερωτηματολογίου σχετικών με την κατανάλωση συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων (Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016). Συνεπώς, υπολογίστηκαν στατιστικά το «συνετό» και το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο (Bouchard-Mercier et al., 2013), ενώ αναγνωρίστηκαν 4 διατροφικά πρότυπα βάσει των απαντήσεων του ερωτηματολογίου: «όσοι καταναλώνουν κρέας» (meat eaters), «όσοι δεν καταναλώνουν κρέας, αλλά καταναλώνουν ψάρι» (fish eaters), «όσοι δεν καταναλώνουν ούτε κρέας ούτε ψάρι» (vegetarians) και «όσοι δεν καταναλώνουν κρέας, ψάρι, γαλακτοκομικά προϊόντα ή αυγά» (vegans) (Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016). Αναφορικά με τους μεταβολίτες, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 55 (Bouchard-Mercier et al., 2013) ή 118 μεταβολιτών στο πλάσμα (Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016) και οι συγκεντρώσεις 127 μεταβολιτών στον ορό (Floegel et al., 2013).

Στην παρούσα μελέτη, από την ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης βρήκαμε ότι το διατροφικό πρότυπο «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες» συσχετίζεται αρνητικά με τον παράγοντα Gln/Gly/Ser/Asn και το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων» συσχετίζεται θετικά με τον παράγοντα ολική ομοκυστεΐνη/κυσταθειονίνη/κρεατινίνη μετά από τον έλεγχο της επίδρασης της ηλικίας και του ΔΜΣ. Το διατροφικό πρότυπο «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες» χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση κόκκινου και λευκού κρέατος, κρεατοσκευασμάτων (λουκάνικα, μπέικον, αλλαντικά), λιπαρών τυριών (κίτρινα τυριά, κρεμώδη τυριά), αυγών (βραστά, τηγανιτά, ομελέτα), αρτοσκευασμάτων (τοστ, σάντουιτς, κριτσίνια, παξιμάδια, κουλούρια), γλυκαντικών υλών (μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη) και τηγανιτών πατατών. Το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων» χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση γλυκών με βάση το γάλα (παγωτό, μιλκ σέικ, κρέμα, ρυζόγαλο), γλυκών με βάση τα φρούτα (γλυκά κουταλιού, κομπόστα, ζελέ), άλλων γλυκών (πάστες, τάρτες), οσπρίων, σακχαρούχων αναψυκτικών και χυμών φρούτων. Και τα δύο διατροφικά πρότυπα προσομοιάζουν στο «δυτικού» τύπου διατροφικό πρότυπο, όπως περιγράφεται σε προγενέστερες μελέτες (Bouchard-Mercier et al., 2013, Floegel et al., 2013, Schmidt et al., 2015, Schmidt et al., 2016).

Αναφορικά με την σχέση των διατροφικών προτύπων με τους μεταβολίτες σε προγενέστερες μελέτες, έχει βρεθεί ότι το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο συσχετίστηκε θετικά με τον παράγοντα μεταβολιτών PC2, ο οποίος συνίσταται από τα αμινοξέα λευκίνη, μεθειονίνη, αργινίνη, φαινυλαλανίνη, προλίνη, ορνιθίνη, ιστιδίνη, μόρια ακυλοκαρνιτίνης με

λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (3, 4 και 5 άτομα άνθρακα) και καρνιτίνη. Επιπρόσθετα, βρέθηκε ότι το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο συσχετίζεται θετικά με μεταβολίτες που συνθέτουν τον παράγοντα PC2 (μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη). Οι συσχετίσεις ελέγχθηκαν ως προς την πιθανή επίδραση συγχυτικών μεταβλητών (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ) (Bouchard-Mercier et al., 2013). Επίσης, το «δυτικού» τύπου διατροφικό πρότυπο έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται θετικά με τις συγκεντρώσεις της μεθειονίνης και των BCAAs (Floegel et al., 2013). Αναφορικά με την κατανάλωση ομάδων τροφίμων που συνθέτουν το «δυτικό» διατροφικό πρότυπο, έχει βρεθεί θετική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση επιδορπίων και τον παράγοντα PC2. Επίσης, η κατανάλωση γλυκών και επιδορπίων έχει συσχετιστεί θετικά με μεταβολίτες που συνθέτουν τον παράγοντα PC2: την μεθειονίνη (γλυκά και επιδόρπια), την φαινυλαλανίνη και την λευκίνη (επιδόρπια) (Bouchard-Mercier et al., 2013). Αξίζει να σημειωθεί ότι «όσοι καταναλώνουν κρέας» (meat eaters) χαρακτηρίζονται από την υψηλότερη πρόσληψη αμινοξέων, ακολουθούμενοι από «όσους δεν καταναλώνουν κρέας, αλλά καταναλώνουν ψάρι» (fish eaters), «όσους δεν καταναλώνουν ούτε κρέας ούτε ψάρι» (vegetarians) και «όσους δεν καταναλώνουν κρέας, ψάρι, γαλακτοκομικά προϊόντα ή αυγά» (vegans) για τα περισσότερα αμινοξέα της διατροφής (Schmidt et al., 2016). Συνεπώς, η διατροφική πρόσληψη των αμινοξέων σχετίζεται με ένα «δυτικού» τύπου διατροφικό πρότυπο. Εξαίρεση σε αυτήν την παρατήρηση είναι η διατροφική πρόσληψη των αμινοξέων αργινίνη και γλυκίνη για τα οποία η φθίνουσα σειρά πρόσληψης είναι «meat eaters», «vegans», «fish-eaters», «vegetarians» (Schmidt et al., 2016), δηλαδή η πρόσληψη αυτών των αμινοξέων σχετίζεται κατά σειρά με ένα διατροφικό πρότυπο απαλλαγμένο από τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Αν και η διάρκεια από το τελευταίο γεύμα έως την αιμοληψία έχει χρησιμοποιηθεί ως συγχυτική μεταβλητή στις συσχετίσεις μεταξύ των διατροφικών προτύπων και των συγκεντρώσεων αμινοξέων και μεταβολιτών στο πλάσμα (Schmidt et al., 2015), μεταγενέστερη μελέτη από την ίδια ερευνητική ομάδα (Schmidt et al., 2016) έχει δείξει ότι οι συγκεντρώσεις των περισσότερων αμινοξέων στο πλάσμα δεν συσχετίζονται σημαντικά με τις προσλήψεις αμινοξέων από την διατροφή. Παρόλα αυτά, έχουν βρεθεί σημαντικές θετικές συσχετίσεις για την λευκίνη, την λυσίνη, την μεθειονίνη, την τρυπτοφάνη και την τυροσίνη (Schmidt et al., 2016).

Από την άλλη μεριά, το «συνετό» διατροφικό πρότυπο, το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση λαχανικών, φρούτων, προϊόντων δημητριακών ολικής αλέσεως, μη υδρογονωμένων λιπαρών υλών, αλλά χαμηλότερη κατανάλωση προϊόντων επεξεργασμένων δημητριακών, δεν έχει βρεθεί να συσχετίζεται με μεταβολίτες στο πλάσμα ή τον ορό. Ωστόσο,

η κατανάλωση φρούτων, που αποτελεί συστατικό παράγοντα του «συνετού» διατροφικού προτύπου, έχει συσχετιστεί αρνητικά με τον παράγοντα PC2 (Bouchard-Mercier et al., 2013). Τα αποτελέσματα αυτά αναφορικά με την σχέση διατροφικών προτύπων ή ομάδων τροφίμων με αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (BCAAs) και αρωματικά αμινοξέα (AAAs), συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, στην παρούσα μελέτη, από την ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης βρήκαμε επιπλέον ότι το διατροφικό πρότυπο «φρούτα», το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλότερη κατανάλωση φρούτων (μήλο, αχλάδι, μπανάνα, πορτοκάλι, άλλα χειμερινά και καλοκαιρινά φρούτα), συσχετίζεται αρνητικά με τον παράγοντα BCAA/AAA. Το ίδιο διατροφικό πρότυπο συσχετίζεται θετικά με τον παράγοντα βηταΐνη/χολίνη/SDMA/DMG.

Η παρούσα μελέτη έχει ορισμένους περιορισμούς. Συγκεκριμένα, επιπρόσθετα με τους περιορισμούς του 2^{ου} σκέλους της διδακτορικής διατριβής, τα οποία έχουν αναφερθεί στην υπο-ενότητα 5.2., αναφέρουμε τους εξής περιορισμούς: Κατ' αρχάς, πραγματοποιήσαμε έλεγχο της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών. Ωστόσο, υπάρχουν πιθανόν μεταβλητές που δεν λάβαμε υπ' όψιν. Δεύτερον, η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε μία φορά με τη χρήση ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Συνεπώς, η εκτίμηση της πραγματικής διατροφικής πρόσληψης των συμμετεχόντων μπορεί να είναι ανακριβής λόγω των ημερήσιων και των εποχικών διακυμάνσεων στην κατανάλωση τροφής ή λόγω άλλων εγγενών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων που δεν αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Τρίτον, χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο *a posteriori* και συγκεκριμένα την τεχνική της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες για τον υπολογισμό των διατροφικών προτύπων. Ωστόσο, αυτός ο τρόπος προσέγγισης των προτύπων διατροφής κρίνεται ως υποκειμενικός επειδή στηρίζεται στα εκάστοτε διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα, τα οποία επηρεάζονται τόσο από τον πληθυσμό όσο και από τη μεθοδολογία της μελέτης. Επίσης, αυτή η τεχνική εξαρτάται από παραδοχές σχετικές με τις μεταβλητές που συμμετέχουν στην σύνθεση των συνιστωσών – παραγόντων. Τέλος, ο χαρακτηρισμός των διατροφικών προτύπων εξαρτάται από τον βαθμό και την κατεύθυνση συσχέτισης των μεταβλητών με κάθε παράγοντα.

Εντούτοις, η παρούσα μελέτη έχει και ισχυρά σημεία. Κατ' αρχάς, η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με τη βοήθεια ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, η εγκυρότητα του οποίου έχει ελεγχθεί. Επίσης, ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων δεν βασίστηκε σε εκτενές ερωτηματολόγιο μεμονωμένων τροφίμων,

που μπορεί ίσως να επηρεάζει την αληθή καταγραφή της συνήθους κατανάλωσης, αλλά βασίστηκε σε ερωτήσεις επί συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων. Επιπρόσθετα, ο υπολογισμός των διατροφικών προτύπων πραγματοποιήθηκε με στατιστικές τεχνικές και παραδοχές που έχουν χρησιμοποιήσει προγενέστερες μελέτες, γεγονός που επιτρέπει την ασφαλή σύγκριση των αποτελεσμάτων. Τέλος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι παρόμοια με εκείνα προγενέστερων μελετών, με συνέπεια να θεωρούνται έγκυρα.

Επομένως, βρήκαμε ότι δύο διατροφικά πρότυπα προσομοιάζουν στο «δυτικό», το διατροφικό πρότυπο «κρέας, κρεατοσκευάσματα, λιπαρά τυριά, αυγά, γλυκαντικές ύλες, αρτοσκευάσματα, τηγανιτές πατάτες» και το διατροφικό πρότυπο «γλυκά, όσπρια, αναψυκτικά, χυμοί φρούτων», συσχετίζονται το πρώτο αρνητικά με τον παράγοντα Gln/Gly/Ser/Asn και το δεύτερο θετικά με τον παράγοντα ολική ομοκυστεΐνη/ κυσταθειονίνη/ κρεατινίνη. Το διατροφικό πρότυπο «φρούτα», η κατανάλωση των οποίων αποτελεί συστατικό παράγοντα του «συνετού» διατροφικού προτύπου, συσχετίζεται αρνητικά με τον παράγοντα BCAA/AAA, αλλά θετικά με τον παράγοντα βηταΐνη/χολίνη/SDMA/DMG. Είναι προφανές ότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με σκοπό την διερεύνηση των μηχανισμών που θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τις παρατηρηθείσες συσχετίσεις.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: «Εισαγωγή: Μεταβολικό σύνδρομο, λιποκυτταροκίνες, οξειδωτικό στρες»

- Abu-Farha M., Behbehani K., Elkum N. (2014). Comprehensive analysis of circulating adipokines and hsCRP association with cardiovascular disease risk factors and metabolic syndrome in Arabs. *Cardiovasc Diabetol* 13:76
- Ahima R.S., Flier J.S. (2000). Leptin. *Annu Rev Physiol* 62:413-437
- Ahonen T.M., Saltevo J.T., Kautiainen H.J., Kumpusalo E.A., Vanhala M.J. (2012). The association of adiponectin and low-grade inflammation with the course of metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22(3): 285-91
- Alberti K.G., Eckel R.H., Grundy S.M., Zimmet P.Z., Cleeman J.I., Donato K.A., Fruchart J.C., James W.P., Loria C.M., Smith S.C. Jr. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 120(16): 1640-5
- Atabek M.E., Keskin M., Yazici C., Mustafa Kendirci M., Hatipoglu N., Koklu E., Kurtoglu S. (2006). Protein oxidation in obesity and insulin resistance. *Eur J Pediatr* 165(11):753–6
- Bae Y.J., Kim S.H., Chung J.H., Song S.W., Kim K.S., Kim M.K., Kwon O., Choi M.S., Sung M.K. (2013). Evaluation of adiposity-related biomarkers as metabolic syndrome indicators. *Clin Nutr Res* 2(2):91-9
- Baez-Duarte B.G., Mendoza-Carrera F., García-Zapién A., Flores-Martínez S.E., Sánchez-Corona J., Zamora-Ginez I., Torres-Rasgado E., León-Chávez B.A., Pérez-Fuentes R.; Multidisciplinary Research Group on Diabetes of the Instituto Mexicano del Seguro Social. (2014). Glutathione peroxidase 3 serum levels and GPX3 gene polymorphisms in subjects with metabolic syndrome. *Arch Med Res* 45(5):375-82
- Bastard J.P., Jardel C., Bruckert E., Blondy P., Capeau J., Laville M., Vidal H., Hainque B. (2000). Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9):3338–42
- Bastard J.P., Maachi M., Lagathu C., Kim M.J., Caron M., Vidal H., Capeau J., Feve B. (2006). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 17(1):4-12

- Basu S. (2004). Isoprostanes: novel bioactive products of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 38(2):105–22
- Becker D.J., Ongemba L.N., Brichard V., Henquin J.C., Brichard S.M. (1995). Diet- and diabetes-induced changes of ob gene expression in rat adipose tissue. *FEBS Lett* 371(3):324–8
- Berg A.H., Combs T.P., Du X., Brownlee M., Scherer P.E. (2001). The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 7(8):947–53
- Bjørbaek C, Kahn BB. (2004). Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 59:305–331
- Björnstedt M., Xue J., Huang W., Akesson B., Holmgren A. (1994). The thioredoxin and glutaredoxin systems are efficient electron donors to human plasma glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 269(47):29382–4
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. (2005). Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 174(9):5789–95
- Bulló M., García-Lorda P., Megias I., Salas-Salvadó J. (2003). Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes Res* 11(4):525–31
- Busso N, So A, Chobaz-Péclat V, Morard C, Martinez-Soria E, Talabot-Ayer D, Gabay C. (2002). Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. *J Immunol* 168(2):875–82
- Calabro P., Chang D.W., Willerson J.T., Yeh E.T. (2005). Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation. *J Am Coll Cardiol* 46(6):1112–3
- Capeau J. (2007). The story of adiponectin and its receptors AdipoR1 and R2: to follow. *J Hepatol* 47(5):736–8
- Chu S.H., Lee M.K., Ahn K.Y., Im J.A., Park M.S., Lee D.C., Jeon J.Y., Lee J.Y. (2012) Chemerin and adiponectin contribute reciprocally to metabolic syndrome. *PLoS ONE* 7(4):e34710
- Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L., Kriauciunas A., Stephens T.W., Nyce M.R., Ohannesian J.P., Marco C.C., McKee L.J., Bauer T.L., Caro J.F. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334(5):292–5
- Coppack S.W. (2001). Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 60(3):349–56
- De Bona K.S., Bonfanti G., Bitencourt P. E., Cargnelutti L.O., da Silva P.S., De Lucca L., Pimentel V.C., Tatsch E., Gonçalves T.L., Premaor M., Moresco R.N., Moretto M.B. (2013). Butyrylcholinesterase and γ -glutamyltransferase activities and oxidative stress markers

- are altered in metabolic syndrome, but are not affected by body mass index. *Inflammation* 36(6):1539-147
- Degawa-Yamauchi M., Bovenkerk J.E., Juliar B.E., Watson W., Kerr K., Jones R., Zhu Q., Considine R.V. (2003). Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88(11):5452–5
- Ding Y., Li S., Ma R.L., Guo H., Zhang J., Zhang M., Liu J., Guo S. (2015). Association of homeostasis model assessment of insulin resistance, adiponectin, and low-grade inflammation with the course of the metabolic syndrome. *Clin Biochem* 48(7-8):503–7
- Drozdz R., Parmentier C., Hachad H., Leroy P., Siest G., Wellman M. (1998). gamma-Glutamyltransferase dependent generation of reactive oxygen species from a glutathione/transferrin system. *Free Radic Biol Med*. 25(7):786–92
- den Engelsen C., Koekkoek P.S., Gorter K.J., van den Donk M., Salomé P.L., Rutten G.E. (2012). High-sensitivity C-reactive protein to detect metabolic syndrome in a centrally obese population: a cross-sectional analysis. *Cardiovasc Diabetol* 11:25
- von Eynatten M., Lepper P.M., Humpert P.M. (2007). Total and high-molecular weight adiponectin in relation to metabolic variables at baseline and in response to an exercise treatment program: comparative evaluation of three assays: response to Bluher et al. *Diabetes Care* 30(7):e67
- Fain J.N., Madan A.K., Hiler M.L., Cheema P., Bahouth S.W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 145(5):2273–82
- Fasshauer M., Klein J., Neumann S., Eszlinger M., Paschke R. (2002). Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 290(3):1084–9
- Fasshauer M., Kralisch S., Klier M., Lossner U., Bluher M., Klein J., Paschke R. (2003). Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 301(4):1045–50
- Festa A., Williams K., Tracy R.P., Wagenknecht L.E., Haffner S.M. (2006). Progression of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen levels in relation to incident type 2 diabetes. *Circulation* 113(14):1753–9

- Fried S.K., Bunkin D.A., Greenberg A.S. (1998). Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 83(3):847–50
- Fruebis J., Tsao T.S., Javorschi S., Ebbets-Reed D., Erickson M.R., Yen F.T., Bihain B.E., Lodish H.F. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(4):2005-10
- Fujinami, A., Obayashi, H., Ohta, K., Ichimura T., Nishimura M., Matsui H., Kawahara Y., Yamazaki M., Ogata M., Hasegawa G., Nakamura N., Yoshikawa T., Nakano K., Ohta M. (2004). Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta* 339(1-2):57–63
- Gauthier A., Dubois S., Bertrais S., Gallois Y., Aube C., Gagnadoux F., Cales P., Rohmer V., Leftheriotis G., Ducluzeau P.H. (2012) The Leptin to Adiponectin Ratio is a Marker of the Number of Metabolic Syndrome Criteria in French Adults. *J Metabolic Syndr* 1:101
- Gaze D.C. (2009). Ischemia modified albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. *Drug Metab Pharmacokinet* 24(4):333–41
- Giral P., Jacob N., Dourmap C., Hansel B., Carrié A., Bruckert E., Girerd X., Chapman M.J. (2008). Elevated gamma-glutamyltransferase activity and perturbed thiol profile are associated with features of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28(3):587-93
- Grundey S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R., Donato K.A., Eckel R.H., Franklin B.A., Gordon D.J., Krauss R.M., Savage P.J., Smith S.C. Jr, Spertus J.A., Costa F. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 112(17): 2735-52
- Halleux C.M., Takahashi M., Delporte M.L., Detry R., Funahashi T., Matsuzawa Y., Brichard S.M. (2001). Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 288(5):1102–7
- Hara K., Horikoshi M., Yamauchi T., Yago H., Miyazaki O., Ebinuma H., Imai Y., Nagai R., Kadowaki T. (2006). Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care* 29(6):1357–62

- Heilbronn LK., Rood J, Janderova L, Albu J.B., Kelley D.E., Ravussin E., Smith S.R. (2004). Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 89(4):1844–8
- Heinrich P.C., Castell J.V., Andus T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 265(3):621–36
- Hivert M.F., Sullivan L.M., Fox C.S., Nathan D.M., D’Agostino R.B. Sr, Wilson P.W., Meigs J.B. (2008). Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 93(8):3165–72
- Hotamisligil G.S., Shargill N.S., Spiegelman B.M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259(5091):87–91
- Hutley L., Prins J.B. (2005). Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* 330(6): 280-9
- Jellema A., Plat J., Mensink R.P. (2004). Weight reduction, but not a moderate intake of fish oil, lowers concentrations of inflammatory markers and PAI-1 antigen in obese men during the fasting and postprandial state. *Eur J Clin Invest* 34(11):766–73
- Juonala M., Saarikoski L.A., Viikari J.S., Oikonen M., Lehtimäki T., Lyytikäinen L.P., Huupponen R., Magnussen C.G., Koskinen J., Laitinen T., Taittonen L., Kähönen M., Kivimäki M., Raitakari O.T. (2011). A longitudinal analysis on associations of adiponectin levels with metabolic syndrome and carotid artery intima-media thickness. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis* 217(1):234–9
- Kappes A., Löffler G. (2000). Influences of ionomycin, dibutyryl-cycloAMP and tumour necrosis factor-alpha on intracellular amount and secretion of apM1 in differentiating primary human preadipocytes. *Horm Metab Res* 32(11-12):548–54
- Kaser S., Kaser A., Sandhofer A., Ebenbichler C.F., Tilg H., Patsch J.R. (2003). Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 309(2):286–90
- Kim S.K., Kim H.J., Ahn C.W., Park S.W., Cho Y.W., Lim S.K., Lee H.C., Cha B.S. (2008). Hyperleptinemia as a robust risk factor of coronary artery disease and metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. *Endocr J* 55(6):1085-92
- Kim J.Y., Ahn S.V., Yoon J.H., Koh S.B., Yoon J., Yoo B.S., Lee S.H., Park J.K., Choe K.H., Guallar E. (2013). Prospective study of serum adiponectin and incident metabolic syndrome: The ARIRANG study. *Diabetes Care* 36(6):1547–53

- Kim M., Paik J.K., Kang R., Kim S.Y., Lee S.H., Lee J.H. (2013). Increased oxidative stress in normal-weight postmenopausal women with metabolic syndrome compared with metabolically healthy overweight/obese individuals. *Metabolism* 62(4):554 – 60
- Klover P.J., Zimmers T.A., Koniaris L.G., Mooney R.A. (2003). Chronic exposure to interleukin-6 causes hepatic insulin resistance in mice. *Diabetes* 52(11):2784–9
- Koh S.B., Yoon J., Kim J.Y., Yoo B.S., Lee S.H., Park J.K., Choe K.H. (2011). Relationships between serum adiponectin with metabolic syndrome and components of metabolic syndrome in non-diabetic Koreans: ARIRANG study. *Yonsei Med J* 52(2):234-41
- Kopp H.P., Kopp C.W., Festa A., Krzyzanowska K., Kriwanek S., Minar E., Roka R., Schernthaner G. (2003). Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23(6):1042–7
- Kriegler M., Perez C., DeFay K., Albert I., Lu S.D. (1988). A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 53(1): 45–53
- Kugiyama K., Kerns S.A., Morrisett J.D., Roberts R., Henry P.D. (1990). Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 344(6262):160–2
- Kusminski C.M., McTernan P.G., Kumar S. (2005). Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 109(3):243–56
- Lago F., Dieguez C., Gómez-Reino J., Gualillo O. (2007). The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 18(3-4):313–25
- Lara-Castro C., Luo N., Wallace P., Klein R.L., Garvey W.T. (2006). Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes* 55(1):249–59
- Lau C.H., Muniandy S. (2011). Novel adiponectin-resistin (AR) and insulin resistance (IRAR) indexes are useful integrated diagnostic biomarkers for insulin resistance, type 2 diabetes and metabolic syndrome: a case control study. *Cardiovasc Diabetol* 10:8
- Lee J.H., Chan J.L., Yiannakouris N., Kontogianni M., Estrada E., Seip R., Orlova C., Mantzoros C.S. (2003). Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 88(10):4848–56

- Lee D.H., Jeon H.K., Park H.J., Shin W.S., Lee S.W., Yoon H.J., Kim C.M., Lee H.K. (2010). Change in ischemia-modified albumin and its clinical significance during exercise stress testing. *Circ J* 74(3):484–9
- Lehrke M., Reilly M.P., Millington S.C., Iqbal N., Rader D.J., Lazar M.A. (2004). An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 1(2):e45
- Leinonen E., Hurt-Camejo E., Wiklund O., Hultén L.M., Hiukka A., Taskinen M.R. (2003). Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 166(2):387–94
- Lind L. (2003). Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 169(2):203–14
- Maachi M., Piéroni L., Bruckert E., Jardel C., Fellahi S., Hainque B., Capeau J., Bastard J.P. (2004). Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28(8):993–7
- Marques-Vidal P., Bastardot F., von Känel R., Paccaud F., Preisig M., Waeber G., Vollenweider P. (2013). Association between circulating cytokine levels, diabetes and insulin resistance in a population-based sample (CoLaus study). *Clin Endocrinol (Oxf)* 78(2):232–41
- McLaughlin T., Abbasi F., Lamendola C., Liang L., Reaven G., Schaaf P., Reaven P. (2002). Differentiation between obesity and insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation* 106(23):2908–12
- McTernan P.G., Fisher F.M., Valsamakis G., Chetty R., Harte A., McTernan C.L., Clark P.M., Smith S.A., Barnett A.H., Kumar S. (2003). Resistin and type 2 diabetes: regulation of resistin expression by insulin and rosiglitazone and the effects of recombinant resistin on lipid and glucose metabolism in human differentiated adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 88(12):6098–106
- May L.T., Ghrayeb J., Santhanam U., Tatter S.B., Stoecker Z., Helfgott D.C., Chiorazzi N., Grieninger G., Sehgal P.B. (1988a). Synthesis and secretion of multiple forms of beta 2-interferon/B-cell differentiation factor 2/hepatocyte-stimulating factor by human fibroblasts and monocytes. *J Biol Chem* 263(16):7760–6
- May L.T., Santhanam U., Tatter S.B., Bhardwaj N., Ghrayeb J., Sehgal P.B. (1988b). Phosphorylation of secreted forms of human beta 2-interferon/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6. *Biochem Biophys Res Commun* 152(3):1144–50

- Mohamed-Ali V., Goodrick S., Rawesh A., Katz D.R., Miles J.M., Yudkin J.S., Klein S., Coppel S.W. (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 82(12):4196–200
- Moller D.E. (2000). Potential role of TNF- α in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 11(6):212–7
- Müller S., Martin S., Koenig W., Hanifi-Moghaddam P., Rathmann W., Haastert B., Giani G., Illig T., Thorand B., Kolb H. (2002). Impaired glucose tolerance is associated with increased serum concentrations of interleukin 6 and co-regulated acute-phase proteins but not TNF- α or its receptors. *Diabetologia* 45(6):805–12
- Nakashima R., Yamane K., Kamei N., Nakanishi S., Kohno N. (2011). Low serum levels of total and high-molecular-weight adiponectin predict the development of metabolic syndrome in Japanese-Americans. *J Endocrinol Invest* 34(8):615-9
- Pajvani U.B., Hawkins M., Combs T.P., Rajala M.W., Doebber T., Berger J.P., Wagner J.A., Wu M., Knopps A., Xiang A.H., Utzschneider K.M., Kahn S.E., Olefsky J.M., Buchanan T.A., Scherer P.E. (2004). Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279(13):12152–62
- Pannacciulli N., Cantatore F.P., Minenna A., Bellacicco M., Giorgino R., De Pergola G. (2001). C-reactive protein is independently associated with total body fat, central fat, and insulin resistance in adult women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25(10):1416–20
- Phillips C.M., Perry I.J. (2013). Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab* 98(10): E1610–9
- Pisoschi A.M., Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 97:55-74
- Piwowar A., Knapik-Kordecka M., Warwas M. (2008). Ischemia-modified albumin level in type 2 diabetes mellitus - Preliminary report. *Dis Markers* 24(6):311–7
- Prins J.B., Niesler C.U., Winterford C.M., Bright N.A., Siddle K., O’Rahilly S., Walker N.I., Cameron D.P. (1997). Tumor necrosis factor- α induces apoptosis of human adipose cells. *Diabetes* 46(12):1939–44
- Rayner D.V., Trayhurn P. (2001). Regulation of leptin production: sympathetic nervous system interactions. *J Mol Med (Berl)* 79(1):8–20

- Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N. (2000). C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342(12):836–43
- Ridker P.M. (2003). Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 107(3):363–9
- Rotter V., Nagaev I., Smith U. (2003). Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor- α , overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem* 278(46):45777–84
- Roy D., Quiles J., Gaze D.C., Collinson P., Kaski J.C., Baxter G.F. (2006). Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin. *Heart* 92(1):113–4
- Sánchez-Margalet V., Martín-Romero C., Santos-Alvarez J., Goberna R., Najib S., Gonzalez-Yanes C. (2003). Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol* 133(1):11–9
- Sbarouni E., Georgiadou P., Voudris V. (2011). Ischemia modified albumin changes - review and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 49(2):177–84
- Schäffler A., Büchler C., Müller-Ladner U., Herfarth H., Ehling A., Paul G., Schölmerich J., Zietz B. (2004). Identification of variables influencing resistin serum levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 36(10):702–7
- Seet R.C., Lee C.Y., Lim E.C., Quek A.M., Huang S.H., Khoo C.M., Halliwell B. (2010). Markers of oxidative damage are not elevated in otherwise healthy individuals with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 33(5):1140–2
- Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Mooney R.A. (2002). Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes* 51(12):3391–9
- Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Zimmers T.A., Koniaris L.G., Furlanetto R.W., Mooney R.A. (2003). Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem* 278(16):13740–6
- Shaw L.M., Newman D.A. (1979). Hydrolysis of glutathione by human liver gamma-glutamyltransferase. *Clin Chem* 25(1):75–9
- Shoelson S.E., Herreo L., Naaz A. (2007). Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology* 132(6):2169–80

- Silha J.V., Krsek M., Skrha J.V., Sucharda P., Nyomba B.L., Murphy L.J. (2003). Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol* 149(4):331–5
- Silswal N., Singh A.K., Aruna B., Mukhopadhyay S., Ghosh S., Ehtesham N.Z. (2005). Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 334(4):1092–101
- Simão A.N., Dichi J.B., Barbosa D.S., Cecchini R., Dichi I. (2008). Influence of uric acid and gamma-glutamyltransferase on total antioxidant capacity and oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Nutrition* 24(7-8):675–81
- Smith S.R., Bai F., Charbonneau C., Janderová L., Argyropoulos G. (2003). A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes* 52(7):1611–8
- Sopasakis V.R., Sandqvist M., Gustafson B., Hammarstedt A., Schmelz M., Yang X., Jansson P.A., Smith U. (2004). High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. *Obes Res* 12(3):454–60
- Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E., Khoo J.C., Witztum J.L. (1989). Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320(14):915–24
- Stelzer I., Zelzer S., Raggam R.B., Prüller F., Truschnig-Wilders M., Meinitzer A., Schnedl W.J., Horejsi R., Möller R., Weghuber D., Reeves G., Postolache T.T., Mangge H. (2012). Link between leptin and interleukin-6 levels in the initial phase of obesity related inflammation. *Transl Res* 159(2):118–24
- Stiko-Rahm A., Hultgårdh-Nilsson A., Regnström J., Hamsten A., Nilsson J. (1992). Native and oxidized LDL enhances production of PDGF AA and the surface expression of PDGF receptors in cultured human smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb* 12(9):1099–109
- Tartaglia L.A., Dembski M., Weng X., Deng N., Culpepper J., Devos R., Richards G.J., Campfield L.A., Clark F.T., Deeds J., Muir C., Sanker S., Moriarty A., Moore K.J., Smutko J.S., Mays G.G., Wool E.A., Monroe C.A., Tepper R.I. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83(7):1263–71
- Tchernof A., Nolan A., Sites C.K., Ades P.A., Poehlman E.T. (2002). Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation* 105(5):564–9
- Teta D., Maillard M., Halabi G., Burnier M. (2008). The leptin/adiponectin ratio: potential implications for peritoneal dialysis. *Kidney Int Suppl* 108:S112-8

- Tilg H., Dinarello C.A., Mier J.W. (1997). IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today* 18(9):428–32
- Trayhurn P., Wood I.S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 92(3):347–55
- Vendrell J., Broch M., Vilarrosa N., Molina A., Gómez J.M., Gutiérrez C., Simón I., Soler J., Richart C. (2004). Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res* 12(6):962–71
- Venturini D., Simão A.N., Sripes N.A., Bahls L.D., Melo P.A., Belinetti F.M., Lozovoy M.A., Dichi I. (2012). Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 20(12):2361–6
- Venturini D., Simão A.N., Dichi I. (2015). Advanced oxidation protein products are more related to metabolic syndrome components than biomarkers of lipid peroxidation. *Nutr Res* 35(9):759 – 65
- Vidal H., Auboeuf D., De Vos P., Staels B., Riou J.P., Auwerx J., Laville M. (1996). The expression of ob gene is not acutely regulated by insulin and fasting in human abdominal subcutaneous adipose tissue. *J Clin Invest* 98(2):251-5
- Visser M., Bouter L.M., McQuillan G.M., Wener M.H., Harris T.B. (1999). Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282(22):2131–5
- Voils S.A., Cooper-DeHoff R.M. (2014). Association between high sensitivity C-reactive protein and metabolic syndrome in subjects completing the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2009–10. *Diabetes Metab Syndr* 8(2):88–90
- Vozarova de Courten B., Degawa-Yamauchi M., Considine R.V., Tataranni P.A. (2004). High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians. *Diabetes* 53(5):1279–84
- Waki H., Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Uchida S., Kita S., Hara K., Hada Y., Vasseur F., Froquel P., Kimura S., Nagai R., Kadowaki T. (2003). Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem* 278(41):40352-63
- Wang Y., Lam K.S., Chan L., Chan K.W., Lam J.B., Lam M.C., Hoo R.C., Mak W.W., Cooper G.J., Xu A. (2006). Post-translational modifications of the four conserved lysine residues within the collagenous domain of adiponectin are required for the formation of its high molecular weight oligomeric complex. *J Biol Chem* 281(24):16391–400

- Weiss T.W., Arnesen H., Seljeflot I. (2013). Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Metabolism* 62(7):1008–13
- Whitfield J.B. (2001). Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci* 38(4):263–355
- Wu G., Fang Y.Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 134(3):489–92
- Xing Z., Gauldie J., Cox G., Baumann H., Jordana M., Lei X.F., Achong M.K. (1998). IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 101(2):311–20
- Yamauchi T., Nio Y., Maki T., Kobayashi M., Takazawa T., Iwabu M., Okada-Iwabu M., Kawamoto S., Kubota N., Kubota T., Ito Y., Kamon J., Tsuchida A., Kumagai K., Kozono H., Hada Y., Ogata H., Tokuyama K., Tsunoda M., Ide T., Murakami K., Awazawa M., Takamoto I., Froquel P., Hara K., Tobe K., Nagai R., Ueki K., Kadowaki T. (2007). Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med* 13(3):332–9
- Yang R.Z., Huang Q., Xu A., McLenithan J.C., Eisen J.A., Shuldiner A.R., Alkan S., Gong D.W. (2003). Comparative studies of resistin expression and phylogenomics in human and mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 310(3):927–35
- Yannakoulia M., Yiannakouris N., Blüher S., Matalas A.L., Klimis-Zacas D., Mantzoros C.S. (2003). Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88(4):1730–6
- Yoon J.H., Park J.K., Oh S.S., Lee K.H., Kim S.K., Cho I.J., Kim J.K., Kang H.T., Ahn S.G., Lee J.W., Lee S.H., Eom A., Kim J.Y., Ahn S.V., Koh S.B. (2011). The ratio of serum leptin to adiponectin provides adjunctive information to the risk of metabolic syndrome beyond the homeostasis model assessment insulin resistance: The Korean Genomic Rural Cohort Study. *Clin Chim Acta* 412(23-24): 2199–205
- Yu D., Yu Z., Sun Q., Sun L., Li H., Song J., Mi M., Wu H., Lu L., Liu C., Zhang G., Hu F.B., Lin X. (2011). Effects of body fat on the associations of high-molecular-weight adiponectin, leptin and soluble leptin receptor with metabolic syndrome in Chinese. *PLoS ONE* 6(2): e16818
- Yudkin J.S., Kumari M., Humphries S.E., Mohamed-Ali. (2000). Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 148(2):209–14

- Yui S., Sasaki T., Miyazaki A., Horiuchi S., Yamazaki M. (1993). Induction of murine macrophage growth by modified LDLs. *Arterioscler Thromb* 13(3):331–7
- Zelzer S., Fuchs N., Almer G., Raggam R.B., Prüller F., Truschnig-Wilders M., Schnedl W., Horejsi R., Möller R., Weghuber D., Ille R., Mangge H. (2011). High density lipoprotein cholesterol level is a robust predictor of lipid peroxidation irrespective of gender, age, obesity, and inflammatory or metabolic biomarkers. *Clin Chim Acta* 412(15-16):1345–9
- Zurawska-Płaksej E., Grzebyk E., Marciniak D., Szymańska-Chabowska A., Piwowar A. (2014). Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 37(9):819–27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: «Εισαγωγή: Μεταβολικό Αποτύπωμα και Μεταβολικό Σύνδρομο»

- Allam-Ndoul B., Guénard F., Garneau V., Cormier H., Barbier O., Pérusse L., Vohl M.C. (2016). Association between Metabolite Profiles, Metabolic Syndrome and Obesity Status. *Nutrients* 8(6):E324
- Batch B.C., Shah S.H., Newgard C.B., Turer C.B., Haynes C., Bain J.R., Muehlbauer M., Patel M.J., Stevens R.D., Appel L.J., Newby L.K., Svetkey L.P. (2013). Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. *Metabolism* 62(7): 961–9
- Boulet M.M., Chevrier G., Grenier-Larouche T., Pelletier M., Nadeau M., Scarpa J., Prehn C., Marette A., Adamski J., Tchernof A. (2015). Alterations of plasma metabolite profiles related to adipose tissue distribution and cardiometabolic risk. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 309(8):E736–46
- Cheng S., Rhee E.P., Larson M.G., Lewis G.D., McCabe E.L., Shen D., Palma M.J., Roberts L.D., Dejam A., Souza A.L., Deik A.A., Magnusson M., Fox C.S., O'Donnell C.J., Vasan R.S., Melander O., Clish C.B., Gerszten R.E., Wang T.J. (2012). Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans. *Circulation* 125(18): 2222–31
- Du F., Virtue A., Wang H., Yang X.F. (2013). Metabolomic analyses for atherosclerosis, diabetes, and obesity. *Biomark Res* 1(1):17
- Dunn W.B., Ellis D.I. (2005). Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. *Trends Analyt Chem* 24(4):285-94
- Guasch-Ferré M., Hruby A., Toledo E., Clish C.B., Martínez-González M.A., Salas-Salvadó J., Hu F.B. (2016). Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care* 39(5):833-46

- Ho J.E., Larson M.G., Ghorbani A., Cheng S., Chen M.H., Keyes M., Rhee E.P., Clish C.B., Vasan R.S., Gerszten R.E., Wang T.J. (2016). Metabolomic Profiles of Body Mass Index in the Framingham Heart Study Reveal Distinct Cardiometabolic Phenotypes. *PLoS ONE* 11(2): e0148361
- Huffman K.M., Shah S.H., Stevens R.D., Bain J.R., Muehlbauer M., Slentz C.A., Tanner C.J., Kuchibhatla M., Houmard J.A., Newgard C.B., Kraus W.E. (2009). Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women. *Diabetes Care* 32(9):1678–83
- Konstantinova S.V., Tell G.S., Vollset S.E., Nygård O., Bleie Ø., Ueland P.M. (2008). Divergent associations of plasma choline and betaine with components of metabolic syndrome in middle age and elderly men and women. *J Nutr* 138(5): 914–20
- Midttun Ø., McCann A., Aarseth O., Krokeide M., Kvalheim G., Meyer K., Ueland P.M. (2016). Combined Measurement of 6 Fat-Soluble Vitamins and 26 Water-Soluble Functional Vitamin Markers and Amino Acids in 50 µL of Serum or Plasma by High-Throughput Mass Spectrometry. *Anal Chem* 88(21):10427–36
- Mihalik S.J., Goodpaster B.H., Kelley D.E., Chace D.H., Vockley J., Toledo F.G., DeLany J.P. (2010). Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipotoxicity. *Obesity (Silver Spring)* 18(9):1695–700
- Mook-Kanamori D.O., Römisch-Margl W., Kastenmüller G., Prehn C., Petersen A.K., Illig T., Gieger C., Wang-Sattler R., Meisinger C., Peters A., Adamski J., Suhre K. (2014). Increased amino acids levels and the risk of developing of hypertriglyceridemia in a 7-year follow-up. *J Endocrinol Invest* 37(4):369–74
- Newgard C.B., An J., Bain J.R., Muehlbauer M.J., Stevens R.D., Lien L.F., Haqq A.M., Shah S.H., Arlotto M., Slentz C.A., Rochon J., Gallup D., Ilkayeva O., Wenner B.R., Yancy W.S. Jr., Eisenson H., Musante G., Surwit R.S., Millington D.S., Butler M.D., Svetkey L.P. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab* 9(4): 311–26
- Pitt J.J. (2009). Principles and applications of liquid chromatography-aass spectrometry in clinical biochemistry. *Clin Biochem Rev* 30(1):19-34
- Theofylaktopoulou D., Midttun Ø., Ulvik A., Ueland P.M., Tell G.S., Vollset S.E., Nygård O., Eussen S.J. (2013). A community-based study on determinants of circulating markers of cellular immune activation and kynurenines: the Hordaland Health Study. *Clin Exp Immunol* 173(1):121–30

- Tsikas D. (1998). Application of gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry to assess in vivo synthesis of prostaglandins, thromboxane, leukotrienes, isoprostanes and related compounds in humans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 717(1-2):201–45
- Vogeser M. (2003). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry – application in the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med*. 41(2):117–26
- Wiklund P.K., Pekkala S., Autio R., Munukka E., Xu L., Saltevo J., Cheng S., Kujala U.M., Alen M., Cheng S. (2014). Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):40
- Würtz P., Mäkinen V.P., Soininen P., Kangas A.J., Tukiainen T., Kettunen J., Savolainen M.J., Tammelin T., Viikari J.S., Rönnemaa T., Kähönen M., Lehtimäki T., Ripatti S., Raitakari O.T., Järvelin M.R., Ala-Korpela M. (2012a). Metabolic signatures of insulin resistance in 7,098 young adults. *Diabetes* 61(6): 1372–80
- Würtz P., Tiainen M., Mäkinen V.P., Kangas A.J., Soininen P., Saltevo J., Keinänen-Kiukaanniemi S., Mäntyselkä P., Lehtimäki T., Laakso M., Jula A., Kähönen M., Vanhala M., Ala-Korpela M. (2012b). Circulating metabolite predictors of glycemia in middle-aged men and women. *Diabetes Care* 35(8):1749–56
- Würtz P., Soininen P., Kangas A.J., Rönnemaa T., Lehtimäki T., Kähönen M., Viikari J.S., Raitakari O.T., Ala-Korpela M. (2013). Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. *Diabetes Care* 36(3):648–55
- Yamada C., Kondo M., Kishimoto N., Shibata T., Nagai Y., Imanishi T., Oroguchi T., Ishii N., Nishizaki Y. (2015). Association between insulin resistance and plasma amino acid profile in non-diabetic Japanese subjects. *J Diabetes Investig* 6(4):408–15
- Yamakado M., Nagao K., Imaizumi A., Tani M., Toda A., Tanaka T., Jinzu H., Miyano H., Yamamoto H., Daimon T., Horimoto K., Ishizaka Y. (2015). Plasma Free Amino Acid Profiles Predict Four-Year Risk of Developing Diabetes, Metabolic Syndrome, Dyslipidemia, and Hypertension in Japanese Population. *Sci Rep* 5:11918

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: «Μεθοδολογία»

- Aurrekoetxea I., Ruiz-Sanz J.I., del Agua A.R., Navarro R., Hernández M.L., Matorras R., Prieto B., Ruiz-Larrea M.B. (2010). Serum oxidizability and antioxidant status in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 94(4):1279–86

- Barnoya J., Glantz S.A. (2005). Cardiovascular effects of second-hand smoke: nearly as large as smoking. *Circulation* 111(20):2684–98
- Bountziouka V., Bathrellou E., Giotopoulou A., Katsagoni C., Bonou M., Vallianou N., Barbetseas J., Avgerinos P.C., Panagiotakos D.B. (2012). Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: methodological considerations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22(8):659–67
- Cheng S., Rhee E.P., Larson M.G., Lewis G.D., McCabe E.L., Shen D., Palma M.J., Roberts L.D., Dejam A., Souza A.L., Deik A.A., Magnusson M., Fox C.S., O'Donnell C.J., Vasan R.S., Melander O., Clish C.B., Gerszten R.E., Wang T.J. (2012). Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans. *Circulation* 125(18):2222–31
- Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18(6):499–502
- Grundy S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R., Donato K.A., Eckel R.H., Franklin B.A., Gordon D.J., Krauss R.M., Savage P.J., Smith S.C. Jr, Spertus J.A., Costa F.; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 112(17): 2735–52
- Konstantinova S.V., Tell G.S., Vollset S.E., Nygård O., Bleie Ø., Ueland P.M. (2008). Divergent associations of plasma choline and betaine with components of metabolic syndrome in middle age and elderly men and women. *J Nutr* 138(5): 914–20
- Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H., Zhang Y.L., Castro A.F. 3rd, Feldman H.I., Kusek J.W., Eggers P., Van Lente F., Greene T., Coresh J.; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). (2009). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150(9): 604–12
- Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7): 412-9
- Midttun Ø., Kvalheim G., Ueland P.M. (2013). High-throughput, low-volume, multianalyte quantification of plasma metabolites related to one-carbon metabolism using HPLC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem* 405(6): 2009–17
- Midttun Ø., McCann A., Aarseth O., Krokeide M., Kvalheim G., Meyer K., Ueland P.M. (2016). Combined Measurement of 6 Fat-Soluble Vitamins and 26 Water-Soluble Functional

- Vitamin Markers and Amino Acids in 50 μ L of Serum or Plasma by High-Throughput Mass Spectrometry. *Anal Chem* 88(21):10427–36
- Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Chrysoshoou C., Skoumas J., Masoura C., Toutouzas P., Stefanadis C; ATTICA study. (2004). Effect of exposure to second-hand smoke on markers of inflammation: the ATTICA study. *Am J Med* 116(3):145–50
- Panagiotakos D.B., Miliatis G.A., Pitsavos C., Stefanadis C. (2006). MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to cardiovascular disease risk. *Comput Methods Programs Biomed* 83(1):73–7
- Papathanasiou G., Georgoudis G., Papandreou M., Spyropoulos P., Georgakopoulos D., Kalfakakou V., Evangelou A. (2009). Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50(4):283–94
- Pinchuk I., Lichtenberg D. (1996) Continuous monitoring of intermediates and final products of oxidation of low density lipoprotein by means of UV-spectroscopy. *Free Radic Res* 24(5):351–60
- Preacher K.J., Hayes A.F. (2004). SPSS and SAS procedures for estimating indirect effects in simple mediation models. *Behav Res Methods Instrum Comput* 36(4):717–31
- Robin X., Turck N., Hainard A., Tiberti N., Lisacek F., Sanchez J.C., Müller M. (2015). Package ‘pROC’: Display and Analyze ROC Curves (Version 1.8). Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/pROC/pROC.pdf>. Accessed 24 Mar 2016
- Theofylaktopoulou D., Midttun Ø., Ulvik A., Ueland P.M., Tell G.S., Vollset S.E., Nygård O., Eussen S.J. (2013). A community-based study on determinants of circulating markers of cellular immune activation and kynurenines: the Hordaland Health Study. *Clin Exp Immunol* 173(1):121–30
- Wiklund P.K., Pekkala S., Autio R., Munukka E., Xu L., Saltevo J., Cheng S., Kujala U.M., Alen M., Cheng S. (2014). Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):40
- Würtz P., Soininen P., Kangas A.J., Rönnemaa T., Lehtimäki T., Kähönen M., Viikari J.S., Raitakari O.T., Ala-Korpela M. (2013). Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. *Diabetes Care* 36(3):648–55
- Yamakado M., Nagao K., Imaizumi A., Tani M., Toda A., Tanaka T., Jinzu H., Miyano H., Yamamoto H., Daimon T., Horimoto K., Ishizaka Y. (2015). Plasma Free Amino Acid

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: «Συζήτηση»

- Athyros V.G., Bouloukos V.I., Pehlivanidis A.N., Papageorgiou A.A., Dionysopoulou S.G., Symeonidis A.N., Petridis D.I., Kapousouzi M.I., Satsoglou E.A., Mikhailidis D.P.; MetS-Greece Collaborative Group. (2005). The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: The MetS-Greece Multicentre Study. *Diabetes Obes Metab* 7(4):397–405
- Badoud F., Lam K.P., DiBattista A., Perreault M., Zulyniak M.A., Cattrysse B., Stephenson S., Britz-McKibbin P., Mutch D.M. (2014). Serum and adipose tissue amino acid homeostasis in the metabolically healthy obese. *J Proteome Res* 13(7): 3455–66
- Batch B.C., Shah S.H., Newgard C.B., Turer C.B., Haynes C., Bain J.R., Muehlbauer M., Patel M.J., Stevens R.D., Appel L.J., Newby L.K., Svetkey L.P. (2013). Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. *Metabolism* 62(7): 961–9
- Bener A., Yousafzai M.T., Darwish S., Al-Hamaq A.O., Nasralla E.A., Abdul-Ghani M. (2013). Obesity index that better predict metabolic syndrome: body mass index, waist circumference, waist hip ratio, or waist height ratio. *J Obes* 2013: 269038
- Bouchard-Mercier A., Rudkowska I., Lemieux S., Couture P., Vohl M.C. (2013). The metabolic signature associated with the Western dietary pattern: a cross-sectional study. *Nutr J* 12:158
- Bountziouka V., Bathrellou E., Giotopoulou A., Katsagoni C., Bonou M., Vallianou N., Barbetseas J., Avgerinos P.C., Panagiotakos D.B. (2012). Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: methodological considerations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22(8):659–67
- Caselli C. (2014). Role of adiponectin system in insulin resistance. *Mol Genet Metab* 113(3):155–60
- Cheng S., Rhee E.P., Larson M.G., Lewis G.D., McCabe E.L., Shen D., Palma M.J., Roberts L.D., Dejam A., Souza A.L., Deik A.A., Magnusson M., Fox C.S., O'Donnell C.J., Vasan R.S., Melander O., Clish C.B., Gerszten R.E., Wang T.J. (2012). Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans. *Circulation* 125(18):2222–31

- Cheng S., Wiklund P., Autio R., Borra R., Ojanen X., Xu L., Törmäkangas T., Alen M. (2015). Adipose Tissue Dysfunction and Altered Systemic Amino Acid Metabolism Are Associated with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS One* 10(10):e0138889
- Choi K.M., Ryu O.H., Lee K.W., Kim H.Y., Seo J.A., Kim S.G., Kim N.H., Choi D.S., Baik S.H. (2007). Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 75(2):235–40
- Ciccione M.M., Faienza M.F., Altomare M., Nacci C., Montagnani M., Valente F., Cortese F., Gesualdo M., Zito A., Mancarella R., Leogrande D., Viola D., Scicchitano P., Giordano P. (2016). Endothelial and Metabolic Function Interactions in Overweight/Obese Children. *J Atheroscler Thromb* 23(8):950-9
- Combs T.P., Marliss E.B., Lamarche M., Chevalier S. (2016). Adiponectin is an Independent Predictor of Circulating Branched-Chain Amino Acids in Men. *Can J Diabetes* 40(5): S55-6
- Costacou T., Bamia C., Ferrari P., Riboli E., D Trichopoulos D., Trichopoulou A. (2003). Tracing the Mediterranean diet through principal components and cluster analyses in the Greek population. *Eur J Clin Nutr* 57(11):1378–85
- Cynober L.A. (2002). Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition* 18(9): 761–6
- Eder K., Baffy N., Falus A., Fulop A.K. (2009). The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res* 58(11):727–36
- Fargnoli J.L., Sun Q., Olenczuk D., Qi L., Zhu Y., Hu F.B., Mantzoros C.S. (2010). Resistin is associated with biomarkers of inflammation while total and high-molecular weight adiponectin are associated with biomarkers of inflammation, insulin resistance, and endothelial function. *Eur J Endocrinol* 162(2):281–8
- Fisman E.Z., Tenenbaum A. (2014). Adiponectin: a manifold therapeutic target for metabolic syndrome, diabetes, and coronary disease? *Cardiovasc Diabetol* 13:103
- Floegel A., von Ruesten A., Drogan D., Schulze M.B., Prehn C., Adamski J., Pischon T., Boeing H. (2013). Variation of serum metabolites related to habitual diet: a targeted metabolomic approach in EPIC-Potsdam. *Eur J Clin Nutr* 67(10):1100-8 (Abstract)
- von Frankenberg A.D., do Nascimento F.V., Gatelli L.E., Nedel B.L., Garcia S.P., de Oliveira C.S., Saddi-Rosa P., Reis A.F., Canani L.H., Gerchman F. (2014). Major components of metabolic syndrome and adiponectin levels: a cross-sectional study. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):26

- Gannagé-Yared M.H., Khalife S., Semaan M., Fares F., Jambart S., Halaby G. (2006). Serum adiponectin and leptin levels in relation to the metabolic syndrome, androgenic profile and somatotrophic axis in healthy non-diabetic elderly men. *Eur J Endocrinol* 155(1):167–76
- Grundy S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R., Donato K.A., Eckel R.H., Franklin B.A., Gordon D.J., Krauss R.M., Savage P.J., Smith S.C. Jr, Spertus J.A., Costa F.; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 112(17): 2735–52
- Halleux C.M., Takahashi M., Delporte M.L., Detry R., Funahashi T., Matsuzawa Y., Brichard S.M. (2001). Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 288(5):1102–7
- Henneman P., Janssens A.C., Zillikens M.C., Frolich M., Frants R.R., Oostra B.A., van Duijn C.M., van Dijk K.W. (2010). Menopause impacts the relation of plasma adiponectin levels with the metabolic syndrome. *J Intern Med* 267(4):402–9
- Ho J.E., Larson M.G., Ghorbani A., Cheng S., Chen M.H., Keyes M., Rhee E.P., Clish C.B., Vasan R.S., Gerszten R.E., Wang T.J. (2016). Metabolomic Profiles of Body Mass Index in the Framingham Heart Study Reveal Distinct Cardiometabolic Phenotypes. *PLoS ONE* 11(2): e0148361
- Hoene M., Weigert C. (2008). Appetite regulatory peptides. The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obes Rev* 9(1):20–9
- Huffman K.M., Shah S.H., Stevens R.D., Bain J.R., Muehlbauer M., Slentz C.A., Tanner C.J., Kuchibhatla M., Houmard J.A., Newgard C.B., Kraus W.E. (2009). Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women. *Diabetes Care* 32(9): 1678–83
- Hung J., McQuillan B.M., Chapman C.M., Thompson P.L., Beilby J.P. (2005). Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25(6):1268–73
- Hung J., McQuillan B.M., Thompson P.L., Beilby J.P. (2008). Circulating adiponectin levels associate with inflammatory markers, insulin resistance and metabolic syndrome independent of obesity. *Int J Obes (Lond)* 32(5):772–9

- Ivanisevic J., Elias D., Deguchi H., Averell P.M., Kurczyk M., Johnson C.H., Tautenhahn R., Zhu Z., Watrous J., Jain M., Griffin J., Patti G.J., Siuzdak G. (2015). Arteriovenous Blood Metabolomics: A Readout of Intra-Tissue Metabostasis. *Sci Rep* 5:12757
- Jung U.J., Choi M.S. (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci* 15(4):6184–223
- Juonala M., Saarikoski L.A., Viikari J.S., Oikonen M., Lehtimäki T., Lyytikäinen L.P., Huupponen R., Magnussen C.G., Koskinen J., Laitinen T., Taittonen L., Kähönen M., Kivimäki M., Raitakari O.T. (2011). A longitudinal analysis on associations of adiponectin levels with metabolic syndrome and carotid artery intima-media thickness. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis* 217(1):234–9
- Kashino I., Nanri A., Kurotani K., Akter S., Yasuda K., Sato M., Hayabuchi H., Mizoue T. (2015). Association of dietary patterns with serum adipokines among Japanese: a cross-sectional study. *Nutr J* 14:58
- Kim J.Y., Ahn S.V., Yoon J.H., Koh S.B., Yoon J., Yoo B.S., Lee S.H., Park J.K., Choe K.H., Guallar E. (2013). Prospective study of serum adiponectin and incident metabolic syndrome: the ARIRANG study. *Diabetes Care* 36(6):1547–53
- Kizer J.R., Arnold A.M., Benkeser D., Ix J.H., Djousse L., Zieman S.J., Barzilay J.I., Tracy R.P., Mantzoros C.S., Siscovick D.S., Mukamal K.J. (2012). Total and high-molecular-weight adiponectin and risk of incident diabetes in older people. *Diabetes Care* 35(2):415–23
- Knight A.J., Funnell A.P., Pearson R.C., Crossley M., Bell-Anderson K.S. (2014). Adipokines and insulin action: A sensitive issue. *Adipocyte* 3(2):88–96
- Koh S.B., Yoon J., Kim J.Y., Yoo B.S., Lee S.H., Park J.K., Choe K.H. (2011). Relationships between serum adiponectin with metabolic syndrome and components of metabolic syndrome in non-diabetic Koreans: ARIRANG study. *Yonsei Med J* 52(2):234–41
- Kunutsor S.K., Apekey T.A., Seddoh D. (2015). Gamma glutamyltransferase and metabolic syndrome risk: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Int J Clin Pract* 69(1): 136–44
- Lago F., Dieguez C., Gómez-Reino J., Gualillo O. (2007). The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 18(3-4):313–25

- Lopez-Garcia E., Schulze M.B., Fung T.T., Meigs J.B., Rifai N., Manson J.E., Hu F.B. (2004). Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr* 80(4):1029–35
- Lu J., Xie G., Jia W., Jia W. (2013). Insulin resistance and the metabolism of branched-chain amino acids. *Front Med* 7(1): 53–9
- Maachi M., Piéroni L., Bruckert E., Jardel C., Fellahi S., Hainque B., Capeau J., Bastard J.P. (2004). Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF- α , leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28(8):993–7
- Maahs D.M., Ogden L.G., Snell-Bergeon J.K., Kinney G.L., Wadwa R.P., Hokanson J.E., Dabelea D., Kretowski A., Eckel R.H., Rewers M. (2007). Determinants of serum adiponectin in persons with and without type 1 diabetes. *Am J Epidemiol* 166(6):731–40
- Marques-Vidal P., Bastardot F., von Känel R., Paccaud F., Preisig M., Waeber G., Vollenweider P. (2013). Association between circulating cytokine levels, diabetes and insulin resistance in a population-based sample (CoLaus study). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 78(2):232–41
- Maury E., Brichard S.M. (2010). Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 314(1):1–16
- Mohamed-Ali V., Goodrick S., Rawesh A., Katz D.R., Miles J.M., Yudkin J.S., Klein S., Coppel S.W. (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 82(12):4196–200
- Mook-Kanamori D.O., Römisch-Margl W., Kastenmüller G., Prehn C., Petersen A.K., Illig T., Gieger C., Wang-Sattler R., Meisinger C., Peters A., Adamski J., Suhre K. (2014). Increased amino acids levels and the risk of developing of hypertriglyceridemia in a 7-year follow-up. *J Endocrinol Invest* 37(4): 369–74
- Nakamura H., Jinzu H., Nagao K., Noguchi Y., Shimba N., Miyano H., Watanabe T., Iseki K. (2014). Plasma amino acid profiles are associated with insulin, C-peptide and adiponectin levels in type 2 diabetic patients. *Nutr Diabetes* 4:e133
- Nakashima R., Yamane K., Kamei N., Nakanishi S., Kohno N. (2011). Low serum levels of total and high-molecular-weight adiponectin predict the development of metabolic syndrome in Japanese-Americans. *J Endocrinol Invest* 34(8):615–9
- Nettleton J.A., Steffen L.M., Mayer-Davis E.J., Jenny N.S., Jiang R., Herrington D.M., Jacobs D.R. Jr. (2006). Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr* 83(6):1369–79

- Newgard C.B., An J., Bain J.R., Muehlbauer M.J., Stevens R.D., Lien L.F., Haqq A.M., Shah S.H., Arlotto M., Slentz C.A., Rochon J., Gallup D., Ilkayeva O., Wenner B.R., Yancy W.S. Jr, Eisenson H., Musante G., Surwit R.S., Millington D.S., Butler M.D., Svetkey L.P. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab* 9(4): 311–26
- Newgard C.B. (2012). Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance. *Cell Metab* 15(5): 606–14
- Ntzouvani A., Fragopoulou E., Panagiotakos D., Pitsavos C., Antonopoulou S. (2016). Reduced circulating adiponectin levels are associated with the metabolic syndrome independently of obesity, lipid indices and serum insulin levels: a cross-sectional study. *Lipids Health Dis* 15(1):140
- Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Yannakoulia M., Chryschoou C., Stefanadis C. (2005). The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: The ATTICA study. *Atherosclerosis* 183(2):308–15
- Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Das U.N., Skoumas Y., Stefanadis C. (2007). The implications of anthropometric, inflammatory and glycaemic control indices in the epidemiology of the metabolic syndrome given by different definitions: a classification analysis. *Diabetes Obes Metab* 9(5):660–8
- Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Skoumas Y., Stefanadis C. (2007). The association between food patterns and the metabolic syndrome using principal components analysis: The ATTICA Study. *J Am Diet Assoc* 107(6):979-87
- Phillips C.M., Perry I.J. (2013). Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab* 98(10):E1610–9
- Pitsavos C., Panagiotakos D.B., Chryschoou C., Stefanadis C. (2003). Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 3:32
- Rabe K., Lehrke M., Parhofer K.G., Broedl U.C. (2008). Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 14(11-12):741–51
- Ridker P.M. (2003). Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 107(3):363–9
- Ruan H., Dong L.Q. (2016). Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J Mol Cell Biol* 8(2):101–9

- Saito I., Yamagishi K., Chei C.L., Cui R., Ohira T., Kitamura A., Kiyama M., Imano H., Okada T., Kato T., Hitsumoto S., Ishikawa Y., Tanigawa T., Iso H. (2013). Total and high molecular weight adiponectin levels and risk of cardiovascular disease in individuals with high blood glucose levels. *Atherosclerosis* 229(1):222–7
- Salas-Salvadó J., Granada M., Bulló M., Corominas A., Casas P., Foz M. (2007). Plasma adiponectin distribution in a Mediterranean population and its association with cardiovascular risk factors and metabolic syndrome. *Metabolism* 56(11):1486–92
- Schmidt J.A., Rinaldi S., Ferrari P., Carayol M., Achaintre D., Scalbert A., Cross A.J., Gunter M.J., Fensom G.K., Appleby P.N., Key T.J., Travis R.C. (2015). Metabolic profiles of male meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans from the EPIC-Oxford cohort. *Am J Clin Nutr* 102(6):1518–26
- Schmidt J.A., Rinaldi S., Scalbert A., Ferrari P., Achaintre D., Gunter M.J., Appleby P.N., Key T.J., Travis R.C. (2016). Plasma concentrations and intakes of amino acids in male meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans: a cross-sectional analysis in the EPIC-Oxford cohort. *Eur J Clin Nutr* 70(3):306–12
- Shehzad A., Iqbal W., Shehzad O., Lee Y.S. (2012). Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)* 11(1):8–20
- Scicchitano P., Cameli M., Maiello M., Modesti P.A., Muiesan M.L., Novo S., Palmiero P., Saba P.S., Pedrinelli R., Ciccone M.M., “Gruppo di Studio Ipertensione, Prevenzione e Riabilitazione”, Società Italiana di Cardiologia. (2014). Nutraceuticals and dyslipidaemia: Beyond the common therapeutics. *J Funct Foods* 6:11–32
- Smidowicz A., Regula J. (2015). Effect of nutritional status and dietary patterns on human serum C-reactive protein and interleukin-6 concentrations. *Adv Nutr* 6(6):738–47
- Stančáková A., Civelek M., Saleem N.K., Soininen P., Kangas A.J., Cederberg H., Paananen J., Pihlajamäki J., Bonnycastle L.L., Morken M.A., Boehnke M., Pajukanta P., Lusi A.J., Collins F.S., Kuusisto J., Ala-Korpela M., Laakso M. (2012). Hyperglycemia and a common variant of GCKR are associated with the levels of eight amino acids in 9,369 Finnish men. *Diabetes* 61(7): 1895–902
- Sun H., Zhang Y., Gao P., Li Q., Sun Y., Zhang J., Xu C. (2011). Adiponectin reduces C-reactive protein expression and downregulates STAT3 phosphorylation induced by IL-6 in HepG2 cells. *Mol Cell Biochem* 347(1-2):183–9
- Thewissen M.M., Damoiseaux J.G., Duijvestijn A.M., van Greevenbroek M.M., van der Kallen C.J., Feskens E.J., Blaak E.E., Schalkwijk C.G., Stehouwer C.D., Cohen Tervaert J.W.,

- Ferreira I. (2011). Abdominal fat mass is associated with adaptive immune activation: the CODAM Study. *Obesity (Silver Spring)* 19(8):1690–8
- Thorand B., Baumert J., Döring A., Herder C., Kolb H., Rathmann W., Giani G., Koenig W.; KORA Group. (2006). Sex differences in the relation of body composition to markers of inflammation. *Atherosclerosis* 184(1):216–24
- Tsao T.S. (2014). Assembly of adiponectin oligomers. *Rev Endocr Metab Disord* 15(2):125–36
- Vilarrasa N., Vendrell J., Maravall J., Broch M., Estepa A., Megia A., Soler J., Simón I., Richart C., Gómez J.M. (2005). Distribution and determinants of adiponectin, resistin and ghrelin in a randomly selected healthy population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 63(3):329–35
- Wang X., Hu Z., Hu J., Du J., Mitch W.E. (2006). Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. *Endocrinology* 147(9): 4160–8
- Weiss T.W., Arnesen H., Seljeflot I. (2013). Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Metabolism* 62(7):1008–13
- Wiklund P.K., Pekkala S., Autio R., Munukka E., Xu L., Saltevo J., Cheng S., Kujala U.M., Alen M., Cheng S. (2014). Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):40
- Wood A.D., Strachan A.A., Thies F., Aucott L.S., Reid D.M., Hardcastle A.C., Mavroeidi A., Simpson W.G., Duthie G.G., Macdonald H.M. (2014). Patterns of dietary intake and serum carotenoid and tocopherol status are associated with biomarkers of chronic low-grade systemic inflammation and cardiovascular risk. *Br J Nutr* 112(8):1341–52
- Würtz P., Mäkinen V.P., Soininen P., Kangas A.J., Tukiainen T., Kettunen J., Savolainen M.J., Tammelin T., Viikari J.S., Rönnekaa T., Kähönen M., Lehtimäki T., Ripatti S., Raitakari O.T., Järvelin M.R., Ala-Korpela M. (2012). Metabolic signatures of insulin resistance in 7,098 young adults. *Diabetes* 61(6): 1372–80
- Würtz P., Soininen P., Kangas A.J., Rönnekaa T., Lehtimäki T., Kähönen M., Viikari J.S., Raitakari O.T., Ala-Korpela M. (2013). Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. *Diabetes Care* 36(3):648–55
- Yamada C., Kondo M., Kishimoto N., Shibata T., Nagai Y., Imanishi T., Oroguchi T., Ishii N., Nishizaki Y. (2015). Association between insulin resistance and plasma amino acid profile in non-diabetic Japanese subjects. *J Diabetes Investig* 6(4):408–15

- Yamakado M., Nagao K., Imaizumi A., Tani M., Toda A., Tanaka T., Jinzu H., Miyano H., Yamamoto H., Daimon T., Horimoto K., Ishizaka Y. (2015). Plasma Free Amino Acid Profiles Predict Four-Year Risk of Developing Diabetes, Metabolic Syndrome, Dyslipidemia, and Hypertension in Japanese Population. *Sci Rep* 5:11918
- Yannakoulia M., Yiannakouris N., Melistas L., Kontogianni M.D., Malagaris I., Mantzoros C.S. (2008). A dietary pattern characterized by high consumption of whole-grain cereals and low-fat dairy products and low consumption of refined cereals is positively associated with plasma adiponectin levels in healthy women. *Metabolism* 57(6):824–30
- You T., Yang R., Lyles M.F., Gong D., Nicklas B.J. (2005). Abdominal adipose tissue cytokine gene expression: relationship to obesity and metabolic risk factors. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288(4):E741–7
- You T., Nicklas B.J., Ding J., Penninx B.W., Goodpaster B.H., Bauer D.C., Tylavsky F.A., Harris T.B., Kritchevsky S.B. (2008). The metabolic syndrome is associated with circulating adipokines in older adults across a wide range of adiposity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63(4):414–9
- Yuan G., Jia J., Di L., Zhou L., Dong S., Ye J., Wang D., Yang L., Wang J., Li L., Yang Y., Mao C., Chen M. (2012). Effects of C-reactive protein on adipokines genes expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 424(3):462–8

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: «Ερωτηματολόγιο δεκαετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ»

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Επιδημιολογική Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ 10ΕΤΟΥΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ

2001-2011

ΚΩΔΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ:

.....

Αφού ενημερώσετε τον συμμετέχοντα για τους σκοπούς της μελέτης, το απόρρητο των πληροφοριών που θα σας δώσει και εξασφαλίσετε την συγκατάθεση του, συνεχίστε με ακρίβεια στα επόμενα ερωτήματα:

ΣΥΜΦΩΝΗΤΙΚΟ ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ

Ο/Η δηλώνω τη συγκατάθεσή μου για να συμμετέχω στην επιδημιολογική μελέτη, που διεξάγεται από την Α' Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, με την υποστήριξη και του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Η έρευνα περιλαμβάνει τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου της μελέτης, το οποίο αφορά κοινωνικά, δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, διατροφικά και ψυχολογικά χαρακτηριστικά μου, στοιχεία από το κλινικό ιστορικό, καθώς και λήψη αίματος 25 ml και ούρων. Πιθανά ερωτήματά μου σχετικά με οποιαδήποτε διαδικασία της μελέτης θα απαντηθούν πλήρως από την επιστημονική ομάδα. Διατηρώ το δικαίωμα να διακόψω ανά πάσα στιγμή τη συμμετοχή μου στη συνέντευξη. Οποιαδήποτε πληροφορία σχετικά με το άτομό μου και τα αποτελέσματα των μετρήσεών μου που θα προκύψουν κατά τη διάρκεια της μελέτης, θα παραμείνουν απόρρητα. Δηλώνω ότι υπογράφω αυτό το Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής με ελεύθερη βούληση.

Η σημερινή ημερομηνία είναι/...../2011

Ο/Η εθελοντής,-τρια

.....

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

Code	Κωδικός αριθμός		
Date10	Ημερομηνία επανελέγχου (ΗΗ/ΜΜ/ΕΕΕΕ)		
ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ			
Death10	Θάνατος;		1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ
DDetah10	Ημερομηνία θανάτου:		... / ... / ...
CauseD10	Αίτιο θανάτου:	1. Α.Ε.Ε. 2. Στεφανιαία νόσος 3. Άλλη καρδιαγγειακή πάθηση 4. Κακοήθεια, από 5. Λοίμωξη	6. Αυτοκτονία 7. Ατύχημα 8. Πάρκινσον ή άλλη νευρολογική νόσος Άλλο ...
Αν απαντηθεί ΝΑΙ στην ερώτηση #2 σταματά η συνέντευξη για το συγκεκριμένο άτομο.			
HTN10	Σας έχει ενημερώσει ποτέ ο ιατρός σας ότι έχετε αρτηριακή υπέρταση;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
DHTN10	Ημερομηνία διάγνωσης	Έτος:..... ΔΕΝ θυμάμαι, αλλά σίγουρα πριν το	
Αν απαντήσατε ΝΑΙ, τι είδους θεραπεία χρησιμοποιείτε;			
DietHTN10	Ειδική διαίτα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
RxHTN10	Φάρμακα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
RxTypeHTN10	Είδος φαρμάκων:		
HCHOL10	Σας έχει ενημερώσει ποτέ ο ιατρός σας ότι έχετε αυξημένες τιμές λιπιδίων;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
DHCHOL10	Ημερομηνία διάγνωσης	Έτος:..... ΔΕΝ θυμάμαι, αλλά σίγουρα πριν το	
Αν απαντήσατε ΝΑΙ, τι είδους θεραπεία χρησιμοποιείτε;			
DietHCHOL10	Ειδική διαίτα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
RxHCHOL10	Φάρμακα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
RxTypeHCHOL10	Είδος φαρμάκων:		
DM10	Σας έχει ενημερώσει ποτέ ο ιατρός σας ότι έχετε σακχαρώδη διαβήτη;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ	
DDM10	Ημερομηνία διάγνωσης	Έτος:..... ΔΕΝ θυμάμαι, αλλά σίγουρα πριν το	
Αν απαντήσατε ΝΑΙ, τι είδους θεραπεία χρησιμοποιείτε;			
		Ειδική διαίτα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ
		Φάρμακα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ
		Είδος φαρμάκων:	
HealthStat#	Τα τελευταία 10 έτη είχατε άλλα προβλήματα υγείας (συμπληρώστε όσα ταιριάζουν); Εκδήλωση:	1. Α.Ε.Ε. 2. Μικρό ΑΕΕ ή παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο (ΠΙΕ) Αν ΝΑΙ στο 1 ή 2, η διάρκεια των συμπτωμάτων ήταν μεγαλύτερη από 24 ώρες; Είχατε ποτέ μια αιφνίδια παράλυση (αδυναμία) ή αιμωδία (απώλεια της αισθητικότητας) στη μια πλευρά του σώματος αλλά όχι στην άλλη; Είχατε ποτέ μια αιφνίδια απώλεια της ομιλίας (μη δυνάμενος καθόλου να ομιλήσεις) ή αιφνίδια δυσαρθρία χωρίς να μπορείτε να προφέρετε καθαρά τις λέξεις; Είχατε ποτέ μια αιφνίδια απώλεια της συνείδησης με έντονη κεφαλαλγία, ναυτία ή έμετο; Είχατε ποτέ μια αιφνίδια αίσθηση ότι βλέπατε διπλά (διπλωπία); Αν ναι, η διάρκεια των ανωτέρω ήταν: 0: λίγα δευτερόλεπτα 1: λεπτά 2: ώρες 3: ημέρες 3. Στεφανιαία νόσος / OEM 4. Άλλη καρδιαγγειακή πάθηση 5. Κακοήθεια, από 6. Λοίμωξη 7. ΧΑΠ	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ

		8. Πάρκινσον	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ										
		9. Ατύχημα ...	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ										
		10. Άλλο ...											
MensAge	Για γυναίκες συμμετέχουσες ... 16.1.1 Σε ποια ηλικία είχατε την 1 ^η σας περίοδο;	 ετών											
MensStop MensStopMo	16.1.2 Υπήρχε κάποιο διάστημα στη ζωή σας που διακόπηκε η περιόδός σας;	1.ΝΑΙ 0. ΌΧΙ Αν ΝΑΙ , για πόσους μήνες; _____ μήνες											
MensNow MensYear	16.1.3 Τώρα έχετε κανονικά περίοδο;	1.ΝΑΙ 0. ΌΧΙ Αν ΟΧΙ , πόσες περιόδους είχατε τον τελευταίο χρόνο; _____ (αριθμός περιόδων)											
MensEnd	16.1.4 Αν δεν είχατε περίοδο τον τελευταίο χρόνο, τότε σταμάτησε η περιόδός σας;	____ ΜΗΝΑΣ ____ ΕΤΟΣ											
FamHistory	Οικογενειακό ιστορικό:												
	Καρδιαγγειακής νόσου	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ											
	Υπέρτασης	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ											
	Δυσλιπιδαιμίας	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ											
	Διαβήτη	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ 9.ΔΓ											
HealthQual	Γενικά πώς βαθμολογείτε την κατάσταση της υγείας σας;	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
SelfServ	Πώς βαθμολογείτε την ικανότητά σας να αυτοεξυπηρετείστε;	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
ΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΣ ΖΩΗΣ													
AgeNow10	Ποια είναι η ηλικία σας;												
OccupNow10	Ποιο το επάγγελμα που ασκείτε τώρα;												
TypeOccupNow10	Πως θα χαρακτηρίζατε το επάγγελμα που ασκείτε τώρα;	1. χειρωνακτικό 2. ημι-χειρωνακτικό (παραδείγματα) 3. πνευματικό											
Marrital10	Οικογενειακή κατάσταση	1.Άγαμος 2. Έγγαμος						3.Διαζευγμένος 4.Χήρος					
Weight10	Σωματικό βάρος (σε kg);												
Height10	Ύψος (σε εκατοστά);												
Waist10	Περιφέρεια μέσης (σε εκατοστά);												
Hip10	Περιφέρεια γοφών (σε εκατοστά);												
Smoking10	Είστε καπνιστής τώρα;	1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ											
Packyrscig10	Αν ΝΑΙ, πόσα τσιγάρα κατά μέσο όρο την ημέρα καπνίζετε και για πόσα χρόνια;												
StopSmokYr	Πότε διακόψατε το κάπνισμα (έτος);												
ETS10	Εκτίθεστε σε καπνό του περιβάλλοντος για >30 λεπτά και >5 ημέρες/εβδομάδα;												
IPAQ10_1	Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες μέρες κάνατε έντονες φυσικές δραστηριότητες όπως άρση βαρών, σκάψιμο, αεροβική γυμναστική ή έντονη ποδηλασία; Να αναφερθούν μόνο οι δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά.												
IPAQ10_2	Πόσο χρόνο (σε λεπτά) καταναλώσατε συνήθως κάνοντας έντονες φυσικές δραστηριότητες σε μία από αυτές τις ημέρες;												
IPAQ10_3	Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες μέρες κάνατε φυσικές δραστηριότητες μέτριας έντασης όπως μεταφορά ελαφρού φορτίου, ποδηλασία σε μέτρια ένταση ή διπλό τένις; Μη συμπεριλάβετε το περπάτημα. Να αναφερθούν μόνο οι δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά.												
IPAQ10_4	Πόσο χρόνο (σε λεπτά) καταναλώσατε συνήθως κάνοντας φυσικές δραστηριότητες μέτριας έντασης σε μία από αυτές τις ημέρες;												
IPAQ10_5	Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες ημέρες περπατήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά;												
IPAQ10_6	Πόσο χρόνο (σε λεπτά) καταναλώσατε συνήθως για περπάτημα σε μια από τις παραπάνω ημέρες;												
IPAQ10_7	Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσο χρόνο (σε ώρες συνολικά) καταναλώσατε καθιστός στο γραφείο, με φίλους, διαβάζοντας ή καθιστός ή ξαπλωμένος βλέποντας τηλεόραση;												

ΚΟΙΝΩΝΙΚΟΠΟΙΗΣΗ							
	Τον τελευταίο χρόνο ...	Ποτέ / σπάνια	<1 φορά/μήνα	2-5 φορές/μήνα	1-3 φορές/εβδομάδα	4+ φορές εβδομάδα	
Social10_1	ασχολείστε με κάποιο hobby	0	1	2	3	4	
Social10_2	βγαίνετε έξω για περπάτημα ή για άσκηση	0	1	2	3	4	
Social10_3	βγαίνετε για να επισκεφτείτε φίλους ή συγγενείς	0	1	2	3	4	
Social10_4	δέχεστε επισκέψεις από συγγενείς ή από φίλους στο σπίτι σας	0	1	2	3	4	
Social10_5	πηγαίνετε στον κινηματογράφο, εστιατόριο ή ασχολείστε με κάποια αθλητική δραστηριότητα	0	1	2	3	4	
Social10_6	διαβάζετε περιοδικά	0	1	2	3	4	
Social10_7	διαβάζετε εφημερίδες	0	1	2	3	4	
Social10_8	διαβάζετε βιβλία	0	1	2	3	4	
Social10_9	βλέπετε τηλεόραση ή ακούτε ραδιόφωνο	0	1	2	3	4	
Social10_10	προσφέρετε εθελοντική εργασία	0	1	2	3	4	
Social10_11	παίζετε χαρτιά, παιχνίδια ή bingo, ΠΡΟΠΟ, στοίχημα, σκάκι, τάβλι, σταυρόλεξα	0	1	2	3	4	
Social10_12	πηγαίνετε στο καφενείο-ΚΑΠΗ ή κέντρο για να λάβετε μέρος σε δραστηριότητες	0	1	2	3	4	
Social10_13	συμμετέχετε σε κάποια μαθήματα	0	1	2	3	4	
Social10_14	πηγαίνετε στην εκκλησία	0	1	2	3	4	
Social10_15	βγαίνετε έξω για ψώνια	0	1	2	3	4	
Social10_16	ετοιμάζετε το γεύμα σας	0	1	2	3	4	
Social10_17	πηγαίνετε ημερήσια ταξίδια ή ταξίδια στα οποία διανυκτερεύετε εκτός σπιτιού	0	1	2	3	4	
Social10_18	συμμετέχετε σε διάφορες ομάδες ατόμων (πχ σύλλογοι)	0	1	2	3	4	
Social10_19	πηγαίνετε σε μουσεία ή άλλες εκδηλώσεις	0	1	2	3	4	
Sleep10_1	Πόσο χρονικό διάστημα συνήθως χρειάζεστε για να σας πάρει ο ύπνος τις τελευταίες 4 εβδομάδες; (επέλευση του ύπνου)			1. 0-15 λεπτά 2. 16-30 λεπτά 3. 31-45 λεπτά 4. 46-60 λεπτά 5. Περισσότερο από 60 λεπτά 9. ΔΓ/ΔΑ			
Sleep10_2	Κατά μέσο όρο πόσο χρονικό διάστημα κοιμάστε κάθε βράδυ τις τελευταίες 4 εβδομάδες; (διάρκεια του ύπνου)					ώρεςλεπτά	
	Τις τελευταίες 4 εβδομάδες	Ποτέ	Λίγες φορές	1-7 φορές	8-15 φορές	16-20 φορές	Τις περισσότερες
Sleep10_3	... πόσο συχνά αισθανθήκατε (φορές) ότι ο ύπνος σας δεν ήταν ήσυχος την ώρα που κοιμόσασταν;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_4	...πόσο συχνά κοιμηθήκατε αρκετά ώστε να αισθανθείτε ξεκούραστος όταν ξυπνήσατε το πρωί;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_5	...πόσο συχνά ξυπνήσατε με λαχάνιασμα ή με πονοκέφαλο;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_6	...πόσο συχνά αισθανθήκατε νύστα κατά τη διάρκεια της ημέρας;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_7	...πόσο συχνά είχατε δυσκολία να κοιμηθείτε;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_8	...πόσο συχνά ξυπνήσατε κατά τη διάρκεια του ύπνου και είχατε δυσκολία να ξανακοιμηθείτε;	0	1	2	3	4	5
Sleep10_9	...πόσο συχνά είχατε μικρής διάρκειας ύπνους (naps) (5 λεπτά ή περισσότερο) στη διάρκεια της ημέρας;	0	1	2	3	4	5

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Διατροφικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, από Bountziouka V., et al., NMCV 2011						
Είστε σε ειδική διαίτα αυτή την περίοδο;					1.NAI	0.OXI
Αν απαντήσατε ΝΑΙ στην προηγούμενη ερώτηση, η διαίτα είναι για ...	Απώλεια βάρους;				1.NAI	0.OXI
	Ρύθμιση σακχάρου;				1.NAI	0.OXI
	Ρύθμιση λιπιδίων;				1.NAI	0.OXI
	Ρύθμιση αρτηριακής πίεσης;				1.NAI	0.OXI
	Ακολουθείτε κάποιο είδος διαίτας (προσδιορίστε);					
Σημείωσε ΠΟΣΟ ΣΥΧΝΑ καταναλώσατε τα παρακάτω τρόφιμα τον τελευταίο μήνα. Προσοχή, θα πρέπει να απαντήσετε έχοντας ως μερίδα αναφοράς την ποσότητα που αναγράφεται στις παρενθέσεις. (Συντμήσεις: φ = φορές, γρ. = γραμμάρια, τμχ. = τεμάχιο, φλ. = φλιτζάνι τσαγιού = 240 ml)	Ποτέ/ Σπάνια	1-3 φ/ μήνα	1-2 φ/ εβδομ.	3-6 φ/ εβδομ.	1 φ/ ημέρα	≥ 2 φ/ ημέρα
Γάλα/ γιαούρτι πλήρες (1 ποτήρι/ 1 κεσεδάκι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Γάλα/ γιαούρτι χαμηλό σε λιπαρά (1 ποτήρι/ 1 κεσεδάκι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τυρί κίτρινο, τυρί σε κρέμα (30 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τυρί φέτα, ανθότυρο (30 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τυρί άπαχο ή χαμηλό σε λιπαρά (light, κότατζ) (30 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αυγό (βραστό, τηγανιτό, ομελέτα) (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ψωμί άσπρο (1 φέτα 30γρ ή φέτα τοστ), φρυγανιά (2 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ψωμί ολικής αλέσεως (1 φέτα 30γρ ή φέτα τοστ), φρυγανιά (2 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Κουλούρι Θεε/κης, πίτα (σουβλάκι), ψωμάκια μπέργκερ (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Κριτσίνια (2 λεπτά), παξιμάδια (1 μέτριο), κουλούρια (2 μέτρια)	α	β	γ	δ	ε	στ
Δημητριακά πρωινού (½ φλ), μπάρες δημητριακών (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ρύζι λευκό (1 φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ρύζι καστανό (1 φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μακαρόνια, κριθαράκι, χυλοπίτες, άλλα ζυμαρικά (1 φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ζυμαρικά ολικής αλέσεως (1 φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πατάτες βραστές, φούρνου, πουρές (1 μέτρια/ ½ φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πατάτες τηγανιτές (½ μερίδα εστιατορίου)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μοσχάρι (μπριζόλα, κομμάτι) (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μπιφτέκι (2 τμχ), κεφτεδάκια (4 τμχ), κιμάς (1 κουτάλα)	α	β	γ	δ	ε	στ
Κοτόπουλο/ γαλοπούλα (όλα τα είδη) (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Χοιρινό (μπριζόλα, κομμάτι, σουβλάκι) (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αρνί, κατσίκι, κυνήγι, παϊδάκια (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αλλαντικά (1 φέτα)	α	β	γ	δ	ε	στ
Λουκάνικα (1 μέτριο), μπέικον (2 φέτες)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αλλαντικά/ κρεατοσκευάσματα άπαχα ή light (όπως παραπάνω)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ψάρια μικρά (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ψάρια μεγάλα (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Θαλασσινά (χταπόδι, καλαμάρι, γαρίδες) (150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Όσπρια (π.χ. φακές, φασόλια, ρεβίθια) (1 πιάτο)	α	β	γ	δ	ε	στ
Σπανακόρυζο/ λαχανόρυζο (1 πιάτο), γεμιστά (2 μέτρια)	α	β	γ	δ	ε	στ
Παστίτσιο, μουςακάς, παπουτσάκια (1 μερίδα = 150 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αρακάς, φασολάκια, μπάμιες, αγκινάρες (1 πιάτο)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τομάτα, αγγούρι, καρότο, πιπεριά (1 φλ. ωμά)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μαρούλι, λάχανο, σπανάκι, ρόκα (1 φλ. ωμά)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μπρόκολο, κουνουπίδι, κολοκυθάκια, (½ φλ. βραστά)	α	β	γ	δ	ε	στ
Χόρτα, πράσο, σπανάκι, σέλινο (½ φλ. βραστά)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πορτοκάλι (1 μέτριο)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μήλο, αχλάδι (1 μέτριο)	α	β	γ	δ	ε	στ
Άλλα χειμερινά φρούτα (1 ολόκληρο ή ½ φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ

Μπανάνα (1 μέτρια)	α	β	γ	δ	ε	στ
Άλλα καλοκαιρινά φρούτα (1 ολόκληρο ή ½ φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Χυμός φρούτων (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αποξηραμένα φρούτα (¼ φλ.)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ξηροί καρποί, σπόροι (1 φλιτζανάκι καφέ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πίτες σπιτικές (π.χ. τυρόπιτα, σπανακόπιτα) (1 κομμάτι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πίτες έτοιμες (1 κομμάτι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τοστ, σάντουιτς (1 ολόκληρο)	α	β	γ	δ	ε	στ
Γλυκά ταψιού (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Γλυκά κουταλιού, κομποσά, ζελέ (1 μερίδα)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πάστες, τάρτα (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Κρουασάν (1), γκοφρέτες (1 μέτρια), κέικ (1 φέτα), μπισκότα (3-4)	α	β	γ	δ	ε	στ
Σοκολάτα (όλα τα είδη) (1 μέτρια ~ 60 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Παγωτό, μιλκ σέικ, κρέμα, ρυζόγαλο (1 τμχ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πατατάκια, γαριδάκια, ποπ κορν (1 σακουλάκι ~70 γρ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη (π.χ. σε ψωμί, καφέ) (1 κουτ. γλυκού)	α	β	γ	δ	ε	στ
Ελιές (10 μικρές/ 5 μεγάλες)	α	β	γ	δ	ε	στ
Κρασί (1 ποτήρι = 125 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μπύρα (1 ποτήρι = 240 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Άλλο είδος αλκοόλ (1 ποτό)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αναψυκτικά (1 κουτί ~ 330 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Αναψυκτικά light (1 κουτί ~ 330 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Καφές (1 φλ. ή ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Τσάι, άλλα αφεψήματα (1 φλ)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μαγιόνεζα, σως (1 κουτ. σούπας)	α	β	γ	δ	ε	στ
Μαγιόνεζα/ σως λάιτ (1 κουτ. σούπας)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε ελαιόλαδο (οπουδήποτε);	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε σπορέλαιο (οπουδήποτε);	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε μαργαρίνη (οπουδήποτε);	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσες φορές χρησιμοποιείτε βούτυρο (οπουδήποτε);	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό πριν το πρωινό/μόλις ξυπνήσετε (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό με το πρωινό σας (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό μεταξύ του πρωινού και του μεσημεριανού (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό με το μεσημεριανό (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό μεταξύ μεσημεριανού και βραδινού (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό με το βραδινό (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό μετά το βραδινό και πριν του ύπνου (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Νερό κατά τη διάρκεια της νύχτας / Σηκώνεστε από το κρεβάτι για να πιείτε νερό (1 ποτήρι)	α	β	γ	δ	ε	στ
Γάλα (1 ποτήρι = 240 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Καφές ζεστός, φίλτρου ή τύπου καπουτσίνο (1 φλιτζάνι = 240 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Καφές Ελληνικός ή εσπρέσο (1 μικρό φλιτζάνι = 40 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Καφές κρύος, Φραπέ ή Φρέντο (1 ποτήρι = 240 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Σοκολάτα ρόφημα, ζεστή ή κρύα (1 φλιτζάνι = 240 ml)	α	β	γ	δ	ε	στ
Πίνετε εμφιαλωμένο νερό; Αν ναι απαντήστε στην επόμενη ερώτηση	Ναι			Όχι		
Σε σχέση με το συνολικό νερό που πίνετε, σε τι ποσοστό ανέρχεται το εμφιαλωμένο;	Σπάνια	10%	25%	50%	75%	100%
Πόσο τρώτε από το ορατό λίπος και την πέτσα στο κρέας;	Α. όλο		Β. περισσότερο		Γ. μέρος	Δ. καθόλου
Όσον αφορά την κατανάλωση όλων των αλκοολούχων ποτών, πόσες μερίδες ποτών πίνετε το Σαββατοκύριακο (στο σύνολό του);	Α. 0-1		Β. 2-4		Γ. 5-8	Δ. >8
Όσον αφορά την κατανάλωση όλων των αλκοολούχων ποτών, πόσες μερίδες ποτών πίνετε τις καθημερινές (συνολικά, και τις 5 μέρες);	Α. 0-4		Β. 5-10		Γ. 11-15	Δ. >16

Όταν πίνετε κρασί, αυτό είναι:		1. Πιο συχνά λευκό	2. Πιο συχνά κόκκινο		3. Κόκκινο και λευκό με την ίδια συχνότητα	
Πόσο συχνά παραγγέλλετε από έξω ή τρώτε εκτός σπιτιού;	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσο συχνά καταναλώνετε πρωινό;	α	β	γ	δ	ε	-
Πόσο συχνά τρώτε κάποιο γεύμα ή σνακ με την οικογένεια ή άλλη παρέα;	α	β	γ	δ	ε	στ
Πόσα γεύματα κάνετε συνήθως συνολικά την ημέρα μαζί με τα σνακ;				1-3	4-5	> 6
Πόσα από αυτά είναι κυρίως γεύματα (πρωινό, μεσ/νό, βρ/νό);				1	2	3
Παίρνετε συμπληρώματα διατροφής (π.χ. βιταμίνες);				1.Ναι	0.Όχι	

ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Παρακάτω ακολουθούν ορισμένες φράσεις που οι άνθρωποι συνήθίζουν να χρησιμοποιούν στην καθημερινή τους ζωή, προκειμένου να εκφράσουν την ψυχολογική τους κυρίως κατάσταση. Ζητείται από εσάς να διαβάσετε προσεκτικά την κάθε φράση και στη συνέχεια να επιλέξετε το κατά πόσο σας αντιπροσωπεύει η κάθε φράση συνήθως. Σας υπενθυμίζουμε ότι δεν υπάρχουν σωστές και λάθος απαντήσεις. Προσπαθήστε να είστε όσο το δυνατόν πιο ειλικρινείς σε σχέση με το πώς αισθάνεστε σε γενικές γραμμές στην καθημερινότητά σας.

Κλίμακα κατάθλιψης ZDRS, από <i>Fountoulakis KN, et al., J Affect Disord 2007</i>		Σχεδόν ποτέ	Μερικές φορές	Συχνά	Σχεδόν πάντοτε
Zung10_1	Νιώθω αποκαρδιωμένος και κακόκεφος	1	2	3	4
Zung10_2	Το πρωί νιώθω πάντα καλύτερα	4	3	2	1
Zung10_3	Κλαίω ή συγκινούμαι	1	2	3	4
Zung10_4	Δυσκολεύομαι να κοιμηθώ το βράδυ	1	2	3	4
Zung10_5	Τρώω τις ίδιες ποσότητες με παλιά	4	3	2	1
Zung10_6	Χαίρομαι τη σεξουαλική επαφή	4	3	2	1
Zung10_7	Παρατηρώ ότι χάνω βάρος	1	2	3	4
Zung10_8	Αντιμετωπίζω πρόβλημα δυσκολιότητας	1	2	3	4
Zung10_9	Έχω πιο αυξημένους καρδιακούς παλμούς από παλιά	1	2	3	4
Zung10_10	Κουράζομαι χωρίς ιδιαίτερο λόγο	4	3	2	1
Zung10_11	Η σκέψη μου είναι καθαρή όπως παλιά	4	3	2	1
Zung10_12	Μου είναι εύκολο να κάνω τα πράγματα που έκανα και παλιά	4	3	2	1
Zung10_13	Είμαι ανήσυχος και υπερκινητικός	1	2	3	4
Zung10_14	Είμαι αισιόδοξος για το μέλλον	4	3	2	1
Zung10_15	Είμαι πιο ευερέθιστος από παλιά	1	2	3	4
Zung10_16	Παίρνω εύκολα αποφάσεις	4	3	2	1
Zung10_17	Νιώθω χρήσιμος και αναγκαίος	4	3	2	1
Zung10_18	Η ζωή μου είναι αρκετά πλήρης	4	3	2	1
Zung10_19	Νιώθω ότι αποτελώ βάρος για τους άλλους	1	2	3	4
Zung10_20	Ακόμα χαίρομαι συνήθειες όπως παλιά	4	3	2	1

Κλίμακα άγχους STAI, από <i>Fountoulakis KN, et al., Ann Gen Psych 2006</i>		Σχεδόν ποτέ	Μερικές φορές	Συχνά	Σχεδόν πάντοτε
STAI10_1	Αισθάνομαι ευχάριστα	4	3	2	1
STAI10_2	Αισθάνομαι νευρική και υπερένταση	1	2	3	4
STAI10_3	Είμαι ικανοποιημένος -η με τον εαυτό μου	4	3	2	1
STAI10_4	Θα ήθελα να είμαι τόσο ευτυχισμένος -η όσο οι άλλοι δείχνουν να είναι	1	2	3	4
STAI10_5	Αισθάνομαι αποτυχημένος -η	1	2	3	4
STAI10_6	Αισθάνομαι ξεκούρατος -η	4	3	2	1
STAI10_7	Είμαι ήρεμος -η, ψύχραιμος -η και συγκροτημένος -η	4	3	2	1
STAI10_8	Αισθάνομαι πως οι δυσκολίες συσσωρεύονται, ώστε να μην μπορώ να τις ξεπεράσω	1	2	3	4
STAI10_9	Ανησυχώ πάρα πολύ για πράγματα που δεν έχουν σημασία	1	2	3	4
STAI10_10	Είμαι χαρούμενος -η	4	3	2	1
STAI10_11	Κάνω άσχημες σκέψεις	1	2	3	4
STAI10_12	Μου λείπει η αυτοπεποίθηση	1	2	3	4
STAI10_13	Αισθάνομαι ασφαλής	4	3	2	1
STAI10_14	Παίρνω εύκολα αποφάσεις	4	3	2	1
STAI10_15	Αισθάνομαι ότι είμαι ανεπαρκής	1	2	3	4
STAI10_16	Είμαι ευχαριστημένος -η	4	3	2	1
STAI10_17	Μη σημαντικές σκέψεις μου περνούν από το μυαλό και με ανησυχούν	1	2	3	4
STAI10_18	Παίρνω τις απογοητεύσεις τόσο πολύ στα σοβαρά, ώστε δεν μπορώ να τις διώξω από τη σκέψη μου	1	2	3	4
STAI10_19	Είμαι σταθερός χαρακτήρας	4	3	2	1
STAI10_20	Έρχομαι σε μια κατάσταση έντασης ή αναστάτωσης όταν σκέφτομαι τις τρέχουσες ασχολίες και τα ενδιαφέροντά μου	1	2	3	4

Αυτοεκτίμηση του Επιπέδου Υγείας (EQ-5D)

EuroQol Group Executive Office

Ποια από τις παρακάτω προτάσεις περιγράφει καλύτερα την κατάσταση της υγείας σας σήμερα;
ΚΥΚΛΩΣΤΕ ΜΙΑ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΕ ΚΑΘΕ ΤΟΜΕΑ

2.1	Κινητικότητα 1. Δεν έχω κανένα πρόβλημα στο περπάτημα 2. Έχω κάποια προβλήματα στο περπάτημα 3. Είμαι κατάκοιτος στο κρεβάτι (μπορεί να αφαιρεθεί αφού συμπεριλαμβάνεται στη λέξη κατάκοιτος)	2.7 ΔΙΑΒΑΣΕ ΕΚΦΩΝΗΣΗ ΚΑΙ ΔΩΣΕ ΣΤΟΝ/ΣΤΗΝ ΕΡΩΤΩΜΕΝΟ/Η ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗ ΚΑΡΤΑ ΝΑ ΔΕΙΞΕΙ Ο/Η ΙΔΙΟΣ/ΙΔΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ Για να σας βοηθήσουμε να εκφράσετε πόσο καλή ή άσχημη είναι η κατάσταση της υγείας σας, τοποθετήσαμε μία κλίμακα (που μοιάζει με θερμόμετρο) στην οποία η καλύτερη κατάσταση που μπορείτε να φανταστείτε βρίσκεται στο 100 και η χειρότερη που μπορείτε να φανταστείτε βρίσκεται στο 0 . Θα θέλαμε από σας να σημειώσετε στην κλίμακα πόσο καλή ή άσχημη είναι η σημερινή κατάσταση της υγείας σας, σύμφωνα με την δική σας εκτίμηση, με μια γραμμή προς εκείνο το σημείο της κλίμακας που προσδιορίζει πόσο καλή ή άσχημη είναι η τωρινή κατάσταση της υγείας σας. ΣΗΜΕΙΩΣΕ ΑΚΡΙΒΩΣ ΤΗΝ ΘΕΣΗ ΝΟΥΜΕΡΟ ΠΟΥ ΕΔΕΙΞΕ	
2.2	Αυτοεξυπηρέτηση 1. Δεν έχω κανένα πρόβλημα στην αυτοεξυπηρέτησή μου 2. Έχω κάποια προβλήματα στο να πλένομαι και να ντύνομαι 3. Είμαι ανίκανος να πλυθώ ή να ντυθώ μόνος/η μου		
2.3	Καθημερινές Δραστηριότητες (π.χ. εργασία, σπουδές, οικιακές δουλειές, οικογενειακές ή κοινωνικές ασχολίες) 1. Δεν έχω κανένα πρόβλημα στο να εκτελώ τις συνήθειες δραστηριότητές μου 2. Έχω κάποια προβλήματα στο να εκτελώ τις συνήθειες δραστηριότητές μου 3. Είμαι ανίκανος στο να εκτελώ τις συνήθειες δραστηριότητές μου		
2.4	Πόνος / Δυσφορία 1. Δεν αισθάνομαι καθόλου πόνο ή δυσφορία 2. Αισθάνομαι μέτριο πόνο ή δυσφορία 3. Αισθάνομαι υπερβολικό πόνο ή δυσφορία		
2.5	Άγχος / Κατάθλιψη 1. Δεν αισθάνομαι άγχος ή κατάθλιψη 2. Αισθάνομαι μέτριο άγχος ή κατάθλιψη 3. Αισθάνομαι υπερβολικό άγχος ή κατάθλιψη		
2.6	Συγκριτικά με την κατάσταση της υγείας μου τους τελευταίους 12 μήνες, η σημερινή μου κατάσταση είναι: (ΠΑΡΑΚΑΛΟΥΜΕ ΣΗΜΕΙΩΣΤΕ ΜΟΝΟ ΕΝΑ ΚΟΥΤΑΚΙ) 1. Καλύτερη 2. Παραμένει ίδια 3. Χειρότερη		

Δημοσιεύσεις

- Ntzouvani A., Fragopoulou E., Panagiotakos D., Pitsavos C., Antonopoulou S. Reduced circulating adiponectin levels are associated with the metabolic syndrome independently of obesity, lipid indices and serum insulin levels: a cross-sectional study. *Lipids Health Dis.* 2016;15(1):140
- Ntzouvani A., Nomikos T., Panagiotakos D., Fragopoulou E., Pitsavos C., McCann A., Ueland P.M., Antonopoulou S. Amino acid profile and metabolic syndrome in a male Mediterranean population: A cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2017;27(11):1021-30

Ομιλίες – Παρουσιάσεις

- 4^η Διημερίδα Εφαρμοσμένης Διαιτολογίας – Διατροφής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειου Πανεπιστήμιο, 17-18/03/2017
- 68^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Ίδρυμα Ευγενίδου, 10-12/11/2017