



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής

Ερεύνης « Ν. Σ. Χρηστέας »

Διευθύντρια Καθηγήτρια Κ. Δέσποινα Περρέα

***«Η επίδραση της διατροφής χαμηλού
γλυκαιμικού δείκτη σε μεταβολικές
παραμέτρους πειραματικού διαβήτη»***

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Γ. ΖΗΡΟΣ

Κλινικός Διαιτολόγος - Διατροφολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αθήνα 2014

Αφιερώνω την διατριβή μου στην οικογένειά μου

Ευχαριστίες

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή είναι το αποτέλεσμα ερευνητικής εργασίας που πραγματοποιήθηκε τα τελευταία χρόνια στο Πανεπιστήμιο Αθηνών. Θα επιθυμούσα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλλαν, με διαφορετικό τρόπο ο καθένας, στην προσπάθεια αυτή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή: την Καθηγήτρια κα. Δέσποινα Περρέα, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Χρήστο Βερίκοκο και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νικόλαο Τεντολούρη που ο καθένας από μέρος του με βοήθησε να ολοκληρώσω αυτή την διατριβή.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου κα. Περρέα, η οποία όλα αυτά τα χρόνια με καθοδηγούσε ερευνητικά και με στήριζε ηθικά, αφιερώνοντας σε εμένα ένα μεγάλο μέρος του πολύτιμου χρόνου της. Η συνεργασία μας θα μου μείνει αξέχαστη.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής.

Ευχαριστώ επίσης όλους τους συναδέλφους από το Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Έρευνας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών καθώς και την κα Τσοπανομίχαλου Μαρία για την συμμετοχή τους στο πειραματικό μέρος αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες τέλος θα ήθελα να απευθύνω σε όλους τους κοντινούς μου ανθρώπους και φίλους για την υποστήριξη και την ανοχή που έδειξαν στις προτεραιότητες που επέβαλε αυτή η προσπάθεια όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, αφιερώνω αυτό το έργο στην οικογένειά μου που αποτέλεσε ένα επιπλέον κίνητρο για να ολοκληρώσω αυτήν την επίμονη προσπάθεια και ιδιαίτερα στους γονείς μου για τις κατάλληλες συνθήκες που δημιούργησαν για να βρίσκομαι σε αυτή τη θέση. Τους ευχαριστώ για τη συμπαράστασή τους.

Περιεχόμενα

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

1. Ανατομία και Φυσιολογία παγκρέατος

1.1 Ανατομία παγκρέατος	1
1.2 Φυσιολογία παγκρέατος	5
1.3 Παγκρεατικές Ορμόνες	8
1.3.1 Ινσουλίνη	8
1.3.2 Γλυκαγόνη	11

2. Σακχαρώδης Διαβήτης

2.1 Γενικά	13
2.1.1 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου I	14
2.1.2 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II	15
2.1.3 Άλλες μορφές διαβήτη	16
2.2 Κλινική εικόνα και αντιμετώπιση του ΣΔ	18
2.2.1 Παράγοντες κινδύνου/ προδιαθεσικοί παράγοντες	18
2.2.2 Συμπτώματα	19
2.2.3 Διάγνωση/ Πρόληψη/ Θεραπεία	19
2.2.4 Επιπλοκές	25
2.3 Επιδημιολογία	26

3. Κυτταρικές και μοριακές διαταραχές στο Σακχαρώδη Διαβήτη

3.1 Μεταβολικές αλλοιώσεις στο Σακχαρώδη Διαβήτη	31
3.2 Κυτταρικές αλλοιώσεις στο Σακχαρώδη Διαβήτη	32

3.3 Μοριακές αλλοιώσεις στο ΣΔ/Κληρονομικότητα	36
<u>4. Σακχαρώδης Διαβήτης και καρδιαγγειακοί νόσοι</u>	42
<u>5. Σακχαρώδης Διαβήτης και Διατροφή</u>	45
 II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
A. ΥΛΙΚΟ	
<u>A. 1 Πειραματόζωα</u>	48
<u>A.2 Τροφές πειραματόζωων</u>	49
<u>A.3 Αντιδραστήρια</u>	50
B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	
<u>B.1 Διατροφή & μετρήσεις</u>	
B.1.1 Διατροφή	51
<u>B.2 Μακροσκοπικές και Βιοχημικές παράμετροι</u>	52
<u>B.3 Μονιμοποίηση και επεξεργασία ιστών</u>	53
<u>B.4 Ιστοχημικές και ανοσοϊστοχημικές Χρώσεις</u>	55
B.5.1 Ιστοχημική χρώση Ηωσίνης- Αιματοξυλίνης	55
B.5.2 Ιστοχημική χρώση Picrosirius Red	57
B.5.3 Προσδιοριζόμενες ιστολογικές παράμετροι	59
<u>B.6 Στατιστική μεθοδολογία</u>	62
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	63
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	71
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	80

Περίληψη

Ο Διαβήτης είναι μια νόσος διαταραχής του μεταβολισμού της γλυκόζης και επιδρά σε διαφορετικά συστήματα του οργανισμού του πάσχοντος. Χαρακτηρίζεται από χρόνια υπεργλυκαιμία και διαταραχές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών. Υπάρχουν διαφορετικές εξηγήσεις για τις βιοχημικές διαταραχές που παρατηρούνται είτε μέσα από το μονοπάτι των πολυολών είτε μέσα από τα παραπροϊόντα της γλυκοσυλίσωσης. Μια τρίτη εκδοχή περιλαμβάνει το μηχανισμό του οξειδωτικού στρες.

Η διαίτα έχει μελετηθεί εκτενώς σε σχέση με την καρδιακή λειτουργία και την συνολική ευεξία του ατόμου αλλά και ως ένας απλό μη επεμβατικός τρόπος διαχείρισης της νόσου του διαβήτη. Για τη μελέτη της επίδρασης της διατροφής στην καρδιά και το διαβήτη έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά πειραματικά μοντέλα, αλλά δυστυχώς τα αποτελέσματα δεν είναι σαφή καθώς είναι δύσκολη η ποσοτική αποτίμηση των αλλοιώσεων λόγω διαβήτη.

Στη μελέτη μας μελετήσαμε την επίδραση της γλυκόζης στην εναπόθεση κολλαγόνου σε καρδιομυοκύτταρα σε επίμυες με πειραματικά επαγόμενο διαβήτη και επικεντρωθήκαμε στην ποσοτικοποίηση της ίνωσης που προκύπτει από τη διαφορετική διατροφή των ομάδων.

Αρσενικοί επίμυες τύπου Wistar διαχωρίστηκαν τυχαία σε 3 ομάδες: ομάδα ελέγχου ομάδα διαβητικών ποντικών λόγω στρεπτοζοτοκίνης (STZ) με κανονική διατροφή και ομάδα διαβητικών ποντικών λόγω στρεπτοζοτοκίνης (STZ) με διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη. Μετρήθηκαν οι βιοχημικές παράμετροι των ζώων σε όλη τη διάρκεια του πειράματος και δύο μήνες μετά τα ζώα θυσιάστηκαν, συλλέχθηκαν οι καρδιακοί ιστοί, μονιμοποιήθηκαν και εμπεδώθηκαν σε κύβους παραφίνης και χρώστηκαν ιστοχημικά. Οι ιστοχημικές χρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ηωσίνη-αιματοξυλίνη και το picrosirius red. Με την πρώτη είχαμε τη δυνατότητα να

ελέγξουμε τη συνολική μορφολογία του ιστού ενώ με τη δεύτερη την εναπόθεση ινών κολλαγόνου. Έγινε μορφομετρική ανάλυση εγκάρσιων κεχρωσμένων τομών με χρήση υπολογιστή και τα ιστολογικά αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τα βιοχημικά δεδομένα.

Τα επίπεδα γλυκόζης είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ των διαβητικών ζώων με κανονική διατροφή και με διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, ενώ το λιπιδιαμικό προφίλ δεν άλλαξε σημαντικά, επιβεβαιώνοντας ότι το μοντέλο μελέτης μας ανταποκρίνεται στις πραγματικές συνθήκες. Η χρώση της εναπόθεσης κολλαγόνου είναι εντονότερη στα ζώα με κανονική διατροφή και πιθανώς αυτό εξηγεί την παρατηρούμενη καρδιακή υπερτροφία που παρατηρείται στα διαβητικά άτομα, στην προσπάθεια αντιστάθμισης της χαμηλής ελαστικότητας του καρδιακού μυ. Τέλος η διατροφή φαίνεται να επηρεάζει την απόθεση κολλαγόνου και αυτό μπορεί να είναι σημαντική παράμετρος για την αντιμετώπιση της καρδιοπάθειας λόγω διαβήτη.

Summary

Diabetes is a condition of disordered glucose metabolism that has a great impact on the individuals affecting many different systems. It is characterized by chronic hyperglycemia and disorders of carbohydrate, lipid and protein metabolism. Two mechanisms have been postulated to participate in the biochemical abnormalities: one that involves the polyol pathway and the other implicates the glycosylation by products. A third theory suggests that oxidative stress is responsible for the systematic dysfunction.

Diet has long been investigated in relation to the cardiac function and overall health and as a non invasive way to influence the diabetic burden. Different animal models have been used to address the issue, but no conclusive results have been drawn, since the quantitation of the diabetic lesions is very difficult to achieve.

In our study we investigated the effect of glucose on collagen deposition on cardiomyocytes of rats with experimentally induced diabetes and its impact on the overall health status of the animals and focused on the fibrosis occurring in the cardiac tissue in response to different dietary regimes, using morphometry as a means to have an accurate measurable quantitation of collagen deposition.

Wistar male rats were randomly divided into 3 groups: control rats, streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats on normal diet and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats on high glucose. Biochemical parameters were evaluated every 15 days and two months later the animals were sacrificed and myocardial tissues were collected, formalin fixed and sectioned. To detect collagen deposition, Picrosirius Red staining of the collagen fibers was performed and cardiomyocyte cross-sectional area was measured. Biochemical parameters were correlated to myocardial morphometrical data, to assess the overall health of the animals.

Glucose levels show a prominent difference between the LGI and normal diet STZ-induced diabetic rats whereas the lipidic profile does not show any apparent differences. Therefore our model is pretty accurate in depicting the diabetic status. The collagen deposition staining is more intense in normal diet diabetic rats, giving a direct explanation of the cardiac hypertrophy observed in diabetic individuals, as a means to compensate for the reduced cardiac flexibility. Diet seems to seriously affect collagen deposition on the myocardial tissue of STZ-induced diabetic rats and this could be useful in avoiding diabetic cardiopathy.

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

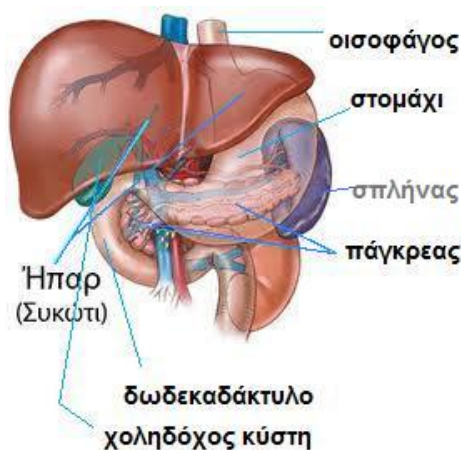
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Το πάγκρεας αναφέρθηκε για πρώτη φορά στα γραπτά του Ερίστρατου (310-250 π.Χ.) και βαπτίστηκε από τον Rufus της Εφέσου (100 μΧ.). Το όνομα πάγκρεας (παν-κρέας) χρησιμοποιήθηκε γιατί το όργανο αυτό δεν περιέχει καθόλου χόνδρο , ούτε οστό. Ο κύριος παγκρεατικός πόρος περιγράφηκε από τον Wirsung, το 1642. Η διόγκωση του παγκρεατικού πόρου, κατά την ένωσή του με τον κοινό χοληδόχο πόρο και η προβολή του στο δωδεκαδάκτυλο, περιγράφηκε από τον Vater, το 1720 (το φύμα του Vater). Ο Santorini περιέγραψε, το 1734, τον επικουρικό παγκρεατικό πόρο, που φέρει το όνομά του [Steer ML, 2004].

Το πάγκρεας βρίσκεται πίσω από το στομάχι, στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο της άνω κοιλίας, εκτείνεται εγκάρσια και εγείρεται ελαφρώς καθώς ξεκινά από τη δωδεκαδακτυλική καμπή προς την σπληνική πύλη. Κείται εμπρός από την κάτω κοίλη φλέβα, την αορτή, την σπληνική φλέβα και το αριστερό επινεφρίδιο.

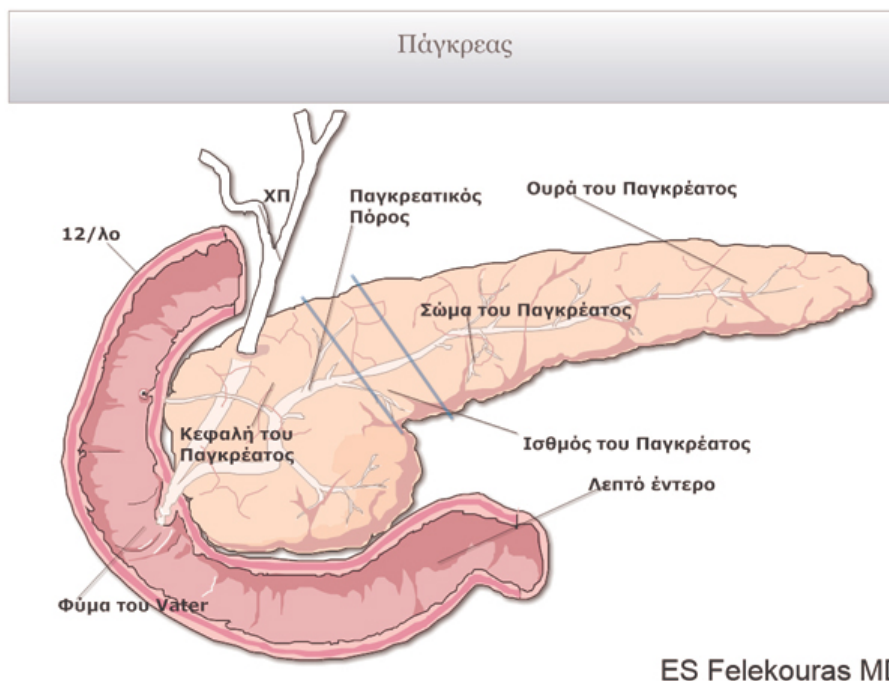


Εικ. 1. Οι ανατομικές σχέσεις του παγκρέατος όπως φαίνονται σε εγκάρσια τομή [http://iatropoli.gr/cyberknife/index.php?option=com_content&view=category&id=84&layout=blog&Itemid=243].

Πρόκειται για ένα σχετικά μικρό όργανο, έχει μήκος 10-15 cm, παρουσιάζει σχήμα σφηνοειδές και ζυγίζει λιγότερο από 110gr. Διαιρείται σε τέσσερα μέρη: α) τη κεφαλή και την αγκιστροειδή απόφυση, β) τον αυχένα, γ) το σώμα και δ) την ουρά. Η κεφαλή του παγκρέατος κείται μέσα στην δωδεκαδακτυλική καμπή. Η αγκιστροειδής απόφυση εκτείνεται προς την μέση γραμμή πίσω από την πυλαία φλέβα, την άνω μεσεντέρια φλέβα και την άνω μεσεντέρια αρτηρία. Ο αυχένas του παγκρέατος εκτείνεται επίσης προς τη μέση γραμμή αλλά εμπρός από τα παραπάνω αγγεία. Το σώμα του παγκρέατος εκτείνεται πλάγια του αυχένα προς τον σπλήνα και η ουρά του παγκρέατος καταλήγει μέσα στην σπληνική πύλη.

Ως επί το πλείστον, το σώμα και η ουρά του παγκρέατος αιματώνονται από κλάδους της σπληνικής αρτηρίας. Η κεφαλή και η αγκιστροειδής απόφυση λαμβάνουν αιμάτωση από τα αγγειακά τόξα που προέρχονται από τον ηπατικό/γαστροδωδεκαδακτυλικό κλάδο της κοιλιακής αρτηρίας και από τον πρώτο κλάδο της άνω μεσεντέριας αρτηρίας. Το πάγκρεας νευρώνεται από το συμπαθητικό

και το παρασυμπαθητικό αυτόνομο νευρικό σύστημα. Γενικά, η πορεία των νεύρων του παγκρέατος είναι ίδια με των αγγείων που το αιματώνουν.



Εικ. 2. Ανατομία του φυσιολογικού παγκρέατος [<http://www.surgery.gr/index.php/surgeries/135-surgery-pancreas/79-pancreas>]

Ο μείζων παγκρεατικός πόρος (πόρος του Wirsung) ξεκινά από την ουρά του παγκρέατος και καταλήγει στο φύμα του Vater και το δωδεκαδάκτυλο. Στους ενήλικες, ο πόρος του Wirsung στο ύψος της κεφαλής του παγκρέατος έχει διάμετρο 3-5 χιλιοστά. Σταδιακά, ο μείζων παγκρεατικός πόρος λεπταίνει και καταλήγει με διάμετρο 1-2,5 χιλιοστά στην ουρά του παγκρέατος. Με την πάροδο των χρόνων η διάμετρος του πόρου μπορεί να αυξηθεί. Ο επικουρικός πόρος του Santorini είναι μικρότερος από τον μείζονα παγκρεατικό πόρο. Ξεκινά από τον μείζονα παγκρεατικό πόρο στο ύψος του αυχένα του παγκρέατος και καταλήγει στο έλασσον φύμα. Το έλασσον φύμα κείται περίπου 2 εκατοστά κεφαλικά του μείζονος φύματος του Vater.

Μορφολογικά το πάγκρεας αποτελείται από λόβια που το καθένα παροχετεύεται από ένα ενδολόβιο πόρο. Ομάδες λοβίων, που διαχωρίζονται από διαφράγματα συνδετικού ιστού, παροχετεύονται από μεγαλύτερους μεσολόβιους πόρους που με την σειρά τους αδειάζουν στον εκφορητικό πόρο του παγκρέατος (παγκρεατικό ή πόρο του Wirsung), που περνά από τον σφιγκτήρα του Oddi και το φύμα του Vater για να εκβάλει στην δεύτερη μοίρα του δωδεκαδακτύλου. Επιπλέον ένας μικρός επικουρικός πόρος (του Santorini), που ενώνεται με τον κύριο, αντίστοιχα προς την κεφαλή του αδένα, ακολουθεί ιδιαίτερη πορεία διαμέσου της κεφαλής του παγκρέατος και εκβάλλει στο δωδεκαδάκτυλο από τη δευτερεύουσα λήκυθο, μερικά εκατοστόμετρα κεφαλικά. Ο ελάσσων πόρος του παγκρέατος παραμένει βατός στο 70% περίπου των ατόμων. Η κεφαλή του παγκρέατος βρίσκεται μέσα στην αγκύλη του δωδεκαδάκτυλου, ενώ το σώμα και η ουρά του εκτείνονται σε μήκος περίπου 12 – 15 cm στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, φθάνοντας ως την πύλη του σπλήνα. Η κεφαλή του παγκρέατος βρίσκεται σε στενή ανατομική σχέση με ορισμένα ζωτικά ανατομικά στοιχεία, όπως τον κοινό χοληδόχο πόρο, την κάτω κοίλη φλέβα, την αορτή και την έκφυση της άνω μεσεντέριας αρτηρίας, τη σπληνική αρτηρία και φλέβα και το δεξιό νεφρό και επινεφρίδιο.

Δομική και λειτουργική μονάδα κάθε λοβίου είναι η εκκριτική μονάδα. Η εκκριτική μονάδα αποτελείται από την αδενοκυψέλη και τον εμβόλιμο πόρο. Η αδενοκυψέλη αποτελείται από 15-100 κύτταρα που συνθέτουν και εκκρίνουν στον αυλό περίπου 20 διαφορετικά ζυμογόνα και πεπτικές πρωτεΐνες. Τα επιθηλιακά κύτταρα των πόρων συμμετέχουν στην τελική σύνθεση του παγκρεατικού υγρού με την ρύθμιση της έκκρισης ηλεκτρολυτών, διττανθρακικών και H₂O. Η ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος αποτελείται από τα νησίδια του Langerhans. Αντιπροσωπεύουν το 1-1,5% της παγκρεατικής μάζας. Κατανέμονται ομότιμα σε όλα

τα τμήματα του παγκρέατος. Αποτελούνται από πληθυσμούς κυττάρων που ο καθένας παράγει και διαφορετικές ορμόνες, όπως θα αναφερθεί παρακάτω.

1.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Το πάγκρεας είναι ένας μεικτός αδένας με εξωκρινή και ενδοκρινή λειτουργία. Εξωκρινής, διότι παράγει ουσίες που εκκρίνονται στον εντερικό αυλό και σχετίζονται με τη λειτουργία της πέψης, όπως το σπουδαιότερο από τα πεπτικά υγρά, το παγκρεατικό υγρό, στην ίδια περιοχή εκκρίνεται και η χολή με στόχο την εξουδετέρωση των οξέων του στομάχου. Ενδοκρινής, διότι εκκρίνει στην κυκλοφορία ορμόνες, οι οποίες σχετίζονται κυρίως με τη ρύθμιση του σακχάρου του αίματος, όπως η ινσουλίνη, η οποία ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων στον οργανισμό [Marino CR & Gorelick FS, 2006].

Η εξωκρινής μοίρα του παγκρέατος, εκκρίνει άχρωμο (διαυγές) αλκαλικό υγρό ($\text{pH}=8$), σε ποσότητα περίπου 1500cc τη μέρα. Το υγρό αυτό είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες και διττανθρακικά. Περιέχει κυρίως πρωτεολυτικά, αμυλολυτικά και λιπολυτικά ένζυμα, όπως το θρυψινογόνο, το χυμοθρυψινογόνο, η παγκρεατική λιπάση και η αμυλάση. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα εκκρίνονται σε ανενεργή μορφή ως προένζυμα σε αντίθεση προς την λιπάση και την αμυλάση που εκκρίνονται ως ενεργά ένζυμα. Η λιπάση διασπά τα τριγλυκερίδια των τροφών, ενώ η αμυλάση υδρολύει το άμυλο. Η δράση και των δύο ενισχύεται από την παρουσία ιόντων ασβεστίου (Ca^{++}). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η παραγωγή των παγκρεατικών ενζύμων είναι ταχύτατη ιδιαίτερα όταν υπάρχουν αμινοξέα. Αντίθετα επιβραδύνεται όταν υπάρχουν συστηματικές πρωτεϊνικές διαταραχές (υπολευκοματιναιμία). Η έκκριση των

ενζύμων σε ανενεργή αρχικά μορφή προστατεύει το όργανο από αυτοπεψία. Την διέγερση της έκκρισης του παγκρέατος ρυθμίζουν άλλες ορμόνες, όπως η γαστρίνη, η χολοκυστοκινίνη και η εκκριματίνη (ή σεκρετίνη), οι οποίες εκκρίνονται από το στόμαχο και το δωδεκαδάκτυλο ως αποτέλεσμα της διάτασής τους από την παρουσία τροφής.

Ο έλεγχος της εξωκρινούς λειτουργίας του παγκρέατος είναι σύνθετος. Την μεγίστη ανταπόκριση στην παγκρεατική έκκριση έχει η παρουσία τροφής στο δωδεκαδάκτυλο και στην αρχή της νήστιδας, αν και πολλοί παράγοντες τροποποιούν την τελική παγκρεατική ανταπόκριση. Το πνευμονογαστρικό συμμετέχει στην κεφαλική φάση της έκκρισης, (που είναι ανάλογη με αυτή του στομάχου) και παράγει μια μικρή ποσότητα παγκρεατικού υγρού πλούσιου σε ένζυμα. Η σεκρετίνη και η χολοκυστοκινίνη (παλιότερη ονομασία παγκρεοζυμίνη) που εκκρίνονται από τον δωδεκαδακτυλικό και νηστιδικό βλεννογόνο, αυξάνουν τον όγκο και τα ένζυμα του παγκρεατικού υγρού. Η σεκρετίνη επηρεάζεται από τα ιόντα H^+ στον δωδεκαδακτυλικό βλεννογόνο, ενώ η χολοκυστοκινίνη εκκρίνεται σε απάντηση της παρουσίας λιπών και αμινοξέων στην αρχή της νήστιδας. Η ακριβής δράση της γαστρίνης στην παγκρεατική έκκριση δεν έχει ακόμη απόλυτα διευκρινισθεί αν και επηρεάζει και τον όγκο και την ποσότητα των ενζύμων της παγκρεατικής έκκρισης.

Η ενδοκρινής λειτουργία του παγκρέατος αφορά την έκκριση των ορμονών γλυκαγόνη, ινσουλίνη, γαστρίνη και σωματοστατίνη. Την ενδοκρινή λειτουργία του παγκρέατος αναλαμβάνουν αθροίσματα κυττάρων, διάσπαρτα μέσα στο παρέγχυμα του οργάνου που αποκαλούνται νησίδια του Langerhans. Αυτά (περίπου 1 εκατομμύριο) βρίσκονται στο σώμα και την ουρά του παγκρέατος, αποτελούν μόνο το 2% του βάρους του παγκρέατος. Τα κύτταρα α παράγουν τη γλυκαγόνη, μια ορμόνη που αυξάνει το σάκχαρο του αίματος σε καταστάσεις υπογλυκαιμίας. Τα

κύτταρα β παράγουν την ινσουλίνη, μια ορμόνη που δραστηριοποιείται κατά την πέψη των τροφών, επάγοντας την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών από την κυκλοφορία προς στους περιφερικούς ιστούς προκειμένου να καταναλωθούν ή να αποθηκευτούν. Η γαστρίνη πρόσφατα έχει προσδιορισθεί στα νησίδια του Langerhans και παράγεται από τα C και δ –κύτταρα των νησιδίων του Langerhans. Τα κύτταρα δ παράγουν την ορμόνη σωματοστατίνη, η οποία ασκεί ανασταλτικό έλεγχο στην έκκριση τόσο γλυκαγόνης, όσο και ινσουλίνης. Τα F κύτταρα που εκκρίνουν το παγκρεατικό πολυπεπτίδιο, βρίσκονται κυρίως στα νησίδια του οπίσθιου λοβού της κεφαλής του παγκρέατος [Barrett E, 2004]. Ο λοβός αυτός εμβρυολογικά προέρχεται από τη κοιλιακή μάλλον, παρά από τη ραχιαία παγκρεατική καταβολή και, για το λόγο αυτό, η αιμάτωση του είναι ανεξάρτητη του υπόλοιπου παγκρέατος (**Πίνακας 1.1**) [Γιώβος Ι, 2009].

Πίνακας 1.1

Τύπος κυττάρου	Ορμόνη
α	Γλυκαγόνη
β	Ινσουλίνη
	Προϊνσουλίνη
	Πεπτίδιο C
	Αμυλίνη
δ	Σωματοστατίνη
F	Παγκρεατικό πολυπεπτίδιο (PP)

1.3 ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

1.3.1 Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι μία πρωτεϊνική ορμόνη της οποίας το μόριο αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες Α και Β [McPhee S, 2000]. Απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Frederic Banting και Charles Best το 1921 στον Καναδά. Οι αλυσίδες αυτές συνδέονται μεταξύ τους μέσω διθειοφυλικών δεσμών. Η ινσουλίνη παράγεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, τα οποία είναι ένας τύπος των νησιδίων του Langherhans τα οποία βρίσκονται στην ενδοκρινή μοίρα του παγκρέατος. Τα β-κύτταρα αυτά βρίσκονται στην κεντρική περιοχή των νησιδίων και αποτελούν το 80% των κυττάρων των νησιδίων. Το κυριότερο ερέθισμα για την απελευθέρωση της ινσουλίνης είναι η γλυκόζη. Η γλυκόζη εισέρχεται στα β-κύτταρα μέσω του μεταφορέα της γλυκόζης. Όταν ο μεταφορέας εισέλθει στα β-κύτταρα, διεγείρει την έκκριση της ινσουλίνης. Φαίνεται ότι η έκκριση της ινσουλίνης διεγείρεται από προϊόντα μεταβολισμού της γλυκόζης και όχι την ίδια τη γλυκόζη. Πρέπει να σημειώσουμε ότι η έκκριση της ινσουλίνης αναστέλλεται από τις κατεχολαμίνες και από τη σωματοστατίνη.

Η δράση της ινσουλίνης βασίζεται στη σύνδεση της ορμόνης με τους υποδοχείς της ινσουλίνης, που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Τέτοιοι υποδοχείς βρίσκονται στο ήπαρ, στους μυς και στο λιπώδη ιστό, δηλαδή στους κλασικούς ινσουλινοευαίσθητους ιστούς, που είναι υπεύθυνοι για την ομοιόσταση των ενεργειακών πρώτων υλών του οργανισμού. Η ινσουλίνη τροποποιεί το μεταβολισμό των ενεργειακών πρώτων υλών μέσω της δράσης της σε τρεις κυρίως ιστούς: στο ήπαρ, στους μυς και στο λιπώδη ιστό. Στους ιστούς αυτούς η ινσουλίνη συμβάλλει στην αποθήκευση των ενεργειακών πρώτων υλών (αναβολισμός), ενώ αναστέλλει

την αποδόμηση και την απελευθέρωση αυτών που έχουν ήδη αποθηκευτεί (καταβολισμός).

Ειδικότερα η ινσουλίνη στο ήπαρ προάγει την εναποθήκευση των ενεργειακών πρώτων υλών, αυξάνοντας τη σύνθεση και την εναποθήκευση της γλυκογόνου. Μειώνει την παραγωγή γλυκόζης, αναστέλλοντας τη νεογλυκογέννεση (σύνθεση γλυκόζης) και τη γλυκογονόλυση. Συγχρόνως ενεργοποιεί τη γλυκόλυση και έτσι, προάγει το σχηματισμό πρόδρομων ουσιών για τη σύνθεση λιπαρών οξέων. Επιπλέον η ινσουλίνη, αφενός διεγείρει τη λιπογένεση στο ήπαρ, αυξάνοντας τη σύνθεση των ιδιαίτερα χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεϊνών που μεταφέρουν τα τριγλυκερίδια στο λιπώδη ιστό για εναπόθεση και αφετέρου, αναστέλλει την οξείδωση των λιπαρών οξέων και την παραγωγή κετονικών σωμάτων (κετογένεση). Τα κετονικά σώματα αποτελούν μία εναλλακτική μορφή ενέργειας, που παράγεται αποκλειστικά από το ήπαρ, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τον εγκέφαλο σε περίπτωση έλλειψης γλυκόζης. Η είσοδος γλυκόζης στα ηπατοκύτταρα δεν ελέγχεται από την ινσουλίνη. Αντίθετα η ινσουλίνη διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης από το λιπώδη ιστό, προκαλώντας την ταχεία μετακίνηση στην επιφάνεια των κυττάρων ενός, ευαίσθητου στην ινσουλίνη, μεταφορέα γλυκόζης.

Στους μυς, η ινσουλίνη προάγει την εναποθήκευση της γλυκόζης, διεγείροντας τη σύνθεση και αναστέλλοντας τον καταβολισμό του γλυκογόνου και επιπλέον, διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση. Στο λιπώδη ιστό, η ινσουλίνη προάγει την εναποθήκευση του λίπους μέσω της διέγερσης της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης. Το ένζυμο αυτό υδρολύει τα τριγλυκερίδια που μεταφέρονται με τις VLDL (Very Low Density Lipoprotein) και άλλες πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες, σε λιπαρά οξέα. Αυτά τα λιπαρά οξέα μπορούν στη συνέχεια να εισέλθουν στα λιποκύτταρα, όπου και εναποθηκεύονται με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Η εναποθήκευση του λίπους

προάγεται επίσης από την αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα, λόγω της αυξημένης έκφρασης του μεταφορέα γλυκόζης στην επιφάνειά τους. Επιπλέον, η ινσουλίνη αναστέλλει τη λιπόλυση, παρεμποδίζοντας έτσι την απελευθέρωση λιπαρών οξέων, που θα αποτελούσαν ενδεχομένως υπόστρωμα για τη σύνθεση κετονικών σωμάτων στο ήπαρ. Η παραπάνω αναστολή της λιπόλυσης επιτυγχάνεται με την καταστολή της ορομονοευαίσθητης λιπάσης, δηλαδή του ενζύμου που υδρολύει τα τριγλυκερίδια σε ελεύθερα λιπαρά οξέα. Όλες μαζί οι παραπάνω επιδράσεις της ινσουλίνης έχουν σαν αποτέλεσμα αυξημένη εναπόθεση λίπους [Henquin, J.C, 2004].

Η έκκριση της ινσουλίνης ελέγχεται από το συμπαθητικό και παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα. Η έκκριση της ινσουλίνης διεγείρεται από την παρουσία γλυκόζης και μερικών αμινοξέων στο αίμα. Οι κύριες λειτουργίες της ινσουλίνης κατά την ελεύθερη κυκλοφορία της είναι :

1. Διευκολύνει τη μεταφορά γλυκόζης μέσα από την κυτταρική μεμβράνη.
2. Βοηθά στην χρησιμοποίηση γλυκόζης από τα κύτταρα για αναβολικές διεργασίες και παραγωγή ενέργειας.
3. Εναποθηκεύει ενέργεια για περίπτωση ανάγκης (λιπογένεση, νεογλυκογένεση).

Το ήπαρ αδρανοποιεί την ινσουλίνη κατά 80% και οι νεφροί κατά 20%. Το ήπαρ βοηθά στην αποθήκευση σακχάρου όταν τα επίπεδά του στο αίμα είναι υψηλά. Επίσης το ήπαρ παράγει γλυκόζη όταν τα επίπεδα στο αίμα είναι χαμηλά. Το πάγκρεας παράγει την σωστή ποσότητα ινσουλίνης που ρυθμίζει τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα. Η ινσουλίνη λειτουργεί ως "κλειδί" που μεταφέρει τη γλυκόζη στα κύτταρα των μυών. Οι μύες παράγουν ενέργεια από το σάκχαρο. Δηλαδή το

ήπαρ και το πάγκρεας είναι τα πιο σημαντικά όργανα που βοηθούν στη ρύθμιση των επιπέδων του σακχάρου στο αίμα.

1.3.2 ΓΛΥΚΑΓΟΝΗ

Είναι πρωτεΐνη που αποτελείται από 29 αμινοξέα και το γονίδιο της βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 2. Εμφανίζει κατά κύριο λόγο, αντίθετες δράσεις με αυτές της ινσουλίνης. Παράγεται από τα α-κύτταρα των νησιδίων του Langerhans και εκκρίνεται από τα α-κύτταρα του παγκρέατος και σε υπογλυκαιμία διεγείρεται η έκκρισή της, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση του γλυκογόνου. Επίσης προάγει τη γλυκονεογένεση από τα αμινοξέα και το γαλακτικό οξύ. Η λήψη πρωτεϊνών φαίνεται να είναι ισχυρό ερέθισμα για την παραγωγή γλυκαγόνης. Αμινοξέα όπως η αργινίνη και η αλανίνη διεγείρουν την έκκριση της. Γενικά όταν υπάρχει αύξηση των ενεργειακών αναγκών και κατά συνέπεια κατανάλωση γλυκόζης από τους ιστούς ενεργοποιείται η παραγωγή γλυκαγόνης και των άλλων ορμονών του stress (GH, κορτιζόλη, αδρεναλίνη) ώστε να διατηρηθεί η συγκέντρωση της γλυκόζης σε ικανοποιητικά επίπεδα για την επαρκή ενεργειακή κάλυψη των πλέον ευαίσθητων οργάνων όπως ο εγκέφαλος.

Δράση γλυκαγόνης

- Ενεργοποίηση της γλυκογονόλυσης στο ήπαρ με αποτέλεσμα αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης.
- Διέγερση της νεογλυκογένεσης στο ήπαρ.

- Αυξάνει την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τα λιποκύτταρα και αναστέλλει την αποθήκευσή τους στο ήπαρ καθιστώντας τα έτσι διαθέσιμα για τις ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού.
- Σε υψηλές συγκεντρώσεις ενισχύει την συσταλτικότητα του καρδιακού μυός, την έκκριση χολής, ενώ αναστέλλει την έκκριση HCl από τους αδένες του γαστρικού βλεννογόνου.

2 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης είναι μια χρόνια νόσος που προκαλείται από την κληρονομούμενη ή επίκτητη ανεπάρκεια στην παραγωγή ινσουλίνης από το πάγκρεας ή από την αναποτελεσματικότητα της παραγόμενης ινσουλίνης. Αυτή η ανεπάρκεια έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση γλυκόζης στην κυκλοφορία του αίματος, που μπορεί με τη σειρά της να προκαλέσει βλάβη σε πολλά όργανα του σώματος, με πιο ευπαθή τα αγγεία και τα νεύρα.

Types \ Stages	Normoglycemia	Hyperglycemia		
	Normal glucose regulation	Impaired Glucose Tolerance or Impaired Fasting Glucose (Pre-Diabetes)	Not insulin requiring	Insulin requiring for control Insulin requiring for survival
Type 1*	←————→			
Type 2	←————→			
Other Specific Types**	←————→			
Gestational Diabetes **	←————→			

Εικ. 3. Συνοπτικός πίνακας των διαταραχών γλυκαιμίας: αιτιολογικοί τύποι και στάδια. * ακόμη και μετά την εμφάνιση κετοξέωσης, οι ασθενείς μπορούν να επιστρέψουν σε φυσιολογική γλυκαιμία χωρίς να απαιτείται συνεχής θεραπεία, ** σε σπάνιες περιπτώσεις οι ασθενείς αυτοί χρειάζονται ινσουλίνη για την επιβίωσή τους [American Diabetes Association, 2008]

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) [<http://www.who.int/>] υπάρχουν δυο βασικά είδη διαβήτη:

2.1.1 Διαβήτης Τύπου 1 (ΣΔΙ)

Λέγεται και νεανικός ή παιδικός διαβήτης (παλαιότερα γνωστός ως ινσουλινοεξαρτώμενος). Σε αυτό τη μορφή διαβήτη το πάγκρεας δε μπορεί να παράγει την απαραίτητη για την επιβίωση ινσουλίνη. Η ονομασία ινσουλινοεξαρτώμενος οφείλεται στο γεγονός ότι τα άτομα που πάσχουν από αυτή τη μορφή διαβήτη εξαρτώνται για την επιβίωσή τους από τη χορήγηση ινσουλίνης. Ονομάζεται νεανικός γιατί εμφανίζεται πιο συχνά σε άτομα νεαρής ηλικίας, μπορεί βέβαια να εμφανιστεί και σε ενήλικες αλλά και σε άτομα μεγάλης ηλικίας. Ο ΣΔΙ οφείλεται σε ανοσολογικά επαγόμενη καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση σοβαρής ινσουλινοπενίας.

Οι διάφορες μορφές ΣΔΙ είναι οι ακόλουθες.

Διαβήτης λόγω ανοσολογικής απόκρισης. Αποτελεί το 5-10% του συνόλου των περιστατικών διαβήτη. Σε αυτή τη μορφή διαβήτη, ο ρυθμός καταστροφής των β-κυττάρων ποικίλει ανάλογα με το άτομο (στα βρέφη και τα παιδιά συνήθως είναι ταχύς σε αντίθεση με τους ενήλικες που είναι βραδύτερος). Συνήθως σπάνια είναι παχύσαρκα άτομα, αν και δεν αποκλείεται και είναι συνήθως τα άτομα εμφανίζουν και άλλες αυτο-άνοσες διαταραχές όπως η νόσος Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Η νόσος Addison, η myasthenia gravis, η λεύκη, η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η κοιλιοκάκη και η κακοήθης μεγαλοβλαστική αναιμία. Επίσης η νόσος σχετίζεται στενά με το σύστημα Αντιγόνου Λευκοκυττάρων του Ανθρώπου [Human Leukocyte Antigen Complex- HLA] και έχει συσχέτιση με τα γονίδια DQA και DQB και επηρεάζεται από τα γονίδια DRB. Αυτά τα αλληλόμορφα του HLA-DR/DQ μπορεί να έχουν θετική ή προστατευτική επίδραση στο ΣΔΙ [American Diabetes Association, 2008].

Ιδιοπαθής διαβήτης. Κάποιες μορφές του ΣΔΙ δεν έχουν γνωστή αιτιολογία, Ορισμένοι από αυτούς τους ασθενείς έχουν μόνιμη ινσουλινοπενία και είναι ευάλωτοι σε κετοξέωση, αλλά δεν έχουν ενδείξεις αυτοανοσίας. Μόνο ένα μικρό ποσοστό των ασθενών με ΣΔΙ εμπίπτουν σε αυτή την κατηγορία και κυρίως αφορά σε άτομα με αφρικανική ή ασιατική προέλευση. Τα άτομα με αυτή τη μορφή του διαβήτη παρουσιάζουν επεισόδια κετοξέωσης και εμφανίζουν διακυμάνσεις στην ανεπάρκεια της ινσουλίνης μεταξύ των επεισοδίων. Αυτή η μορφή διαβήτη είναι κατεξοχήν κληρονομούμενη, δεν έχει ανοσολογικές ενδείξεις αυτοανοσίας και δε σχετίζεται με το HLA. Η εξάρτηση από ινσουλίνη παρουσιάζει διακυμάνσεις [American Diabetes Association, 2008].

2.1.2 Διαβήτης Τύπου 2 (ΣΔΙΙ)

Εμφανίζεται κυρίως σε ενήλικες αλλά παρατηρείται όλο και πιο συχνά και σε άτομα νεαρής ηλικίας και αποτελεί το 90-95% των περιπτώσεων διαβήτη (παλαιότερα γνωστός και ως μη ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης). Περιλαμβάνει άτομα που έχουν ινσουλινοαντοχή και έχουν σχετική (και όχι απόλυτη) ανεπάρκεια ινσουλίνης. Τουλάχιστον κατά την έναρξη της νόσου και συχνά σε όλη τους τη ζωή, αυτά τα άτομα δε χρειάζονται εξωγενή ινσουλίνη για να επιβιώσουν.

Πιθανολογείται ότι υπάρχουν πολλές διαφορετικές αιτίες για αυτή τη μορφή διαβήτη. Αν και δεν έχουν αναγνωριστεί συγκεκριμένες αιτιολογίες είναι σίγουρο ότι δεν υπάρχει αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων. Σχετίζεται τόσο με αυξημένη αντίσταση των ιστών-στόχων στη δράση της ινσουλίνης, όσο και με ελαττωμένη έκκριση της ινσουλίνης από το πάγκρεας. Συχνά σχετίζεται με την παχυσαρκία, η οποία αποτελεί έναν επιπρόσθετο παράγοντα αυξημένης αντίστασης των ιστών στην ινσουλίνη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί το χαρακτηριστικό γνώρισμα

αυτού του τύπου του διαβήτη. Υπάρχουν και ασθενείς που αν και δεν χαρακτηρίζονται ως παχύσαρκοι εντούτοις έχουν αυξημένο ποσοστό σωματικού λίπους κυρίως στην περιοχή της κοιλιάς.

Η κετοξέωση σπάνια παρατηρείται σε αυτό τον τύπο του διαβήτη και όταν εμφανίζεται είναι σε σχέση με στρες που προκαλείται από άλλο παθογόνο παράγοντα, όπως π.χ. μια λοίμωξη. Τα άτομα με ΣΔΠ είναι συνήθως ασυμπτωματικά και διαγιγνώσκονται αρκετό καιρό μετά από την πραγματική έναρξη της νόσου, κυρίως γιατί η υπεργλυκαιμία αναπτύσσεται αργά και στα αρχικά στάδια τα κλασσικά συμπτώματα (βλ. παράγραφος 2.2.2) δεν είναι αρκετά σημαντικά για να τα προσέξει ο ασθενής. Ο κίνδυνος ανάπτυξης του ΣΔΠ αυξάνει με την ηλικία, το σωματικό βάρος και την έλλειψη σωματικής άσκησης. Εμφανίζεται συχνότερα στη μορφή του διαβήτη κύησης (βλ. παρακάτω) και σε άτομα με υπέρταση και δυσλιπιδαιμία, ενώ δε φαίνεται να σχετίζεται με κάποια συγκεκριμένη φυλετική/εθνική ομάδα. Εμφανίζει γενετική προδιάθεση, περισσότερο από την αυτοάνοση μορφή του ΣΔΙ αλλά οι γενετικοί συσχετισμοί είναι πολύπλοκοι και όχι σαφώς διευκρινισμένοι [American Diabetes Association, 2008].

2.1.3 Άλλες μορφές διαβήτη

Διαβήτης κατά την κύηση (GDM): Πρόκειται για μια παροδική μορφή διαβήτη που εμφανίζεται στο 4% περίπου του γυναικείου πληθυσμού σε κύηση, κατά την 24η και 28η εβδομάδα της κυοφορίας. Τα υψηλά επίπεδα των ορμονών καθιστούν τον οργανισμό λιγότερο ευαίσθητο στην ινσουλίνη. Ο Διαβήτης της κύησης, λόγω των συνεπειών του στο έμβρυο πρέπει να διαγιγνώσκεται ή να αποκλείεται με έλεγχο ρουτίνας, που περιλαμβάνει δοκιμασία ανοχής γλυκόζης κατά την 24η εβδομάδα της κύησης. Στις περισσότερες περιπτώσεις εξαφανίζεται μετά το πέρας της

εγκυμοσύνης. Η παρουσία του διαβήτη κύησης μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες όπως οι συγγενείς δυσμορφίες, το αυξημένο σωματικό βάρος του εμβρύου και τον αυξημένο κίνδυνο θανάτου κατά τον τοκετό. Συνεπώς θα πρέπει να ελέγχονται και να υποβάλλονται σε αυστηρό μεταβολικό έλεγχο οι εγκυμονούσες με ενδείξεις διαβήτη κύησης.

Υπάρχουν και άλλες ειδικές μορφές διαβήτη, όπως:

Γενετικές ανωμαλίες των β-κυττάρων. Αυτές τις μορφές διαβήτη συχνά χαρακτηρίζονται από πρόωμη έναρξη της υπεργλυκαιμίας (πριν το 25^ο έτος) και χαρακτηρίζονται από ανεπαρκή έκκριση ινσουλίνης και κανένα ή ελάχιστα προβλήματα στη δράση της ινσουλίνης.

Γενετικές ανωμαλίες στη δράση της ινσουλίνης. Σπανιότερα υπάρχουν γενετικές ανωμαλίες που επιδρούν στη διαδικασία δράσης της ινσουλίνης. Αυτές μπορεί να αφορούν σε μεταλλάξεις στον υποδοχέα της ινσουλίνης και οδηγεί σε ήπια υπεργλυκαιμία, ενώ γυναίκες με πολυκυστικές ωοθήκες και παιδιά με σύνδρομο Donohue ή Rabson- Mendenhall έχουν αναφερθεί ότι φέρουν αυτή τη μεταλλαγή.

Νόσοι του ενδοκρινούς παγκρέατος, Κάθε διαδικασία που προκαλεί βλάβη στο πάγκρεας μπορεί να προκαλέσει διαβήτη. Σε αυτές τις βλάβες περιλαμβάνονται η παγκρεατίτιδα, το τραύμα, η λοίμωξη, η παγκρεατεκτομή και το παγκρεατικό καρκίνωμα. Με εξαίρεση το τελευταίο, για να προκληθεί διαβήτης, όλες οι υπόλοιπες βλάβες πρέπει να είναι εκτεταμένες. Αυτό υποδηλώνει ότι υπάρχει και άλλος μηχανισμός πέρα της ποσοτικής ελάττωσης των β-κυττάρων.

Ενδοκρινοπάθειες. Πολλές ορμόνες (αυξητική ορμόνη, κορτιζόλη, γλυκαγόνη, επινεφρίνη) ανταγωνίζονται τη δράση της ινσουλίνης. Αυξημένη ποσότητα αυτών

(όπως αντίστοιχα στην ακρομεγαλία, το σύνδρομο Cushing, το γλυκαγόνωμα, το φαιοχρωμοκύττωμα) μπορεί να προκαλέσει διαβήτη.

Διαβήτης που προκαλείται από φαρμακευτικούς/χημικούς παράγοντες.
Υπάρχουν πολλά φάρμακα που διαταράσσουν την έκκριση της ινσουλίνης. Μπορεί αυτά τα φάρμακα από μόνα τους να μην προκαλούν διαβήτη αλλά επιταχύνουν το διαβήτη με ινσουλινοαντοχή. Συνήθως αυτές οι περιπτώσεις είναι δύσκολο να ταξινομηθούν καθώς δεν είναι σαφές αν η δυσλειτουργία των β-κυττάρων έχει προηγηθεί της ινσουλινοαντοχής.

2.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΣΔ

2.2.1 Παράγοντες κινδύνου/Προδιαθεσικοί παράγοντες

Όπως αναφέρθηκε προηγούμενα, οι παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου δύνανται να κατηγοριοποιηθούν σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους παράγοντες, αναλόγως της δυνατότητας ή μη πρόληψής τους.

Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

- Παχυσαρκία και υπερβολικό σωματικό βάρος
- Διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και χαμηλή σε ίνες
- Υψηλή αρτηριακή πίεση και υψηλή χοληστερόλη
- Ιστορικό διαβήτη κύησης (δεδομένου ότι η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου εμφάνισης του διαβήτη κύησης)

Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

- Εθνικότητα
- Ηλικία

- Οικογενειακό ιστορικό διαβήτη
- Ιστορικό διαβήτη κύησης (δεδομένου ότι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης του διαβήτη κύησης αποτελούν και μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου όπως φυλή/εθνικότητα ή ύπαρξη οικογενειακού).

2.2.2 Συμπτώματα

Τα προειδοποιητικά σημάδια του διαβήτη περιλαμβάνουν:

- Συχνή διούρηση (πολυουρία)
- Υπερβολική δίψα (πολυδιψία)
- Αυξημένο αίσθημα πείνας
- Απώτομη απώλεια βάρους
- Υπερβολική κόπωση
- Έλλειψη ενδιαφέροντος και συγκέντρωσης
- Εμέτους και στομαχικό πόνο
- Αίσθημα μυρμηγκιάσματος ή μουδιάσματος στα χέρια ή τα πόδια
- Θολή όραση
- Συχνές λοιμώξεις
- Πληγές που αργούν να επουλωθούν

Αυτά μπορεί να είναι ήπια ή να μην υπάρχουν καν σε άτομα με ΣΔΙΙ. Σε αυτή τη μορφή διαβήτη τα συμπτώματα δεν εμφανίζονται στα πρώιμα στάδια αλλά αρκετά χρόνια μετά από την έναρξη της νόσου και όταν οι επιπλοκές είναι ήδη εμφανείς..

2.2.3 Διάγνωση/Πρόληψη/ Θεραπεία

Η έγκαιρη διάγνωση του ΣΔ είναι ιδιαίτερα σημαντική για την επιβίωση και την ευζωία του διαβητικού, καθώς όπως προαναφέρθηκε ο ΣΔ προκαλεί πολλές βραχυχρόνιες και μακροχρόνιες επιπλοκές στην υγεία του ατόμου που πάσχει από ΣΔ. Η πρόωπη διάγνωση του ΣΔ προσφέρει τη δυνατότητα έγκαιρης και αποτελεσματικής αντιμετώπισης, ώστε να προληφθούν ή τουλάχιστον να επιβραδυνθεί ο χρόνος εμφάνισης των χρόνιων επιπλοκών της νόσου.

Στο παρελθόν η διάγνωση του ΣΔ γινόταν με τη βοήθεια μίας εξέτασης ούρων, για την ανίχνευση της συγκέντρωσης γλυκόζης σε αυτά. Ωστόσο αν και η εξέταση ούρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των τιμών της συγκέντρωσης γλυκόζης και κετόνων, από μόνη της δεν μπορεί να διαγνώσει το διαβήτη. Η διάγνωση του ΣΔ θα στηριχθεί στα κριτήρια όπως αυτά έχουν ορισθεί από τις διεθνείς εταιρείες όπως η Ευρωπαϊκή Εταιρεία μελέτης του Διαβήτη (EASD), η Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρεία (ADA) [<http://www.diabetes.org> American Diabetes Association], και το Αμερικανικό Κολλέγιο Ενδοκρινολογίας (AACE). Είναι σημαντικό να τονίσουμε σε αυτό το σημείο, ότι προκειμένου να επιβεβαιωθεί η διάγνωση είναι απαραίτητη η επανάληψη των διαγνωστικών εξετάσεων. Οι ιατρικές διαγνωστικές εξετάσεις που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του διαβήτη είναι οι εξής [Τούντας ΧΔ, 2003]:

Έλεγχος των επιπέδων της γλυκόζης πλάσματος μετά από νηστεία (Fasting Plasma Glucose Test ή FPG): Πρόκειται για μία εξέταση στην οποία μετρώνται τα επίπεδα της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο πλάσμα ύστερα από μια νηστεία 8 ωρών. Με την εξέταση αυτή μελετάται ο μεταβολισμός των υδατανθράκων. Η νηστεία έχει σαν αποτέλεσμα να εκκριθεί η ορμόνη γλυκαγόνη, η οποία με τη σειρά της προκαλεί αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης. Σε φυσιολογικούς οργανισμούς,

παράγεται η απαραίτητη ποσότητα ινσουλίνης για να αντισταθμίσει αυτήν την αύξηση. Αντίθετα στους διαβητικούς τα επίπεδα συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα παραμένουν υψηλά. Στον Πίνακα 2.1 παρουσιάζεται η αξιολόγηση των ατόμων ανάλογα με τις μετρήσεις της γλυκόζης στο αίμα τους.

Πίνακας 2.1: Ταξινόμηση ανάλογα με τη συγκέντρωση γλυκόζης στο πλάσμα.

Γλυκόζης πλάσματος (mg/dL)	Διάγνωση
<99	Υγιής
100-125	Προ-διαβητικός (Impaired fasting glucose)
>126	Διαβητικός

Έλεγχος των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα μετά από φόρτιση με γλυκόζη από το στόμα (Oral glucose test tolerance ή OGTT): Πρόκειται για μία εξέταση όπου μετρώνται τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα ύστερα από περίπου οκτώ ώρες νηστείας και για δύο ώρες αφού το υπό εξέταση άτομο έχει πει διάλυμα το οποίο περιέχει 75 gr γλυκόζης διαλυμένα σε νερό. Η εξέταση αυτή χρησιμοποιείται για τη διάγνωση τόσο του διαβήτη, όσο και του προδιαβήτη. Η έρευνα έχει δείξει ότι η εξέταση αυτή είναι πιο ευαίσθητη από τη FPG, αλλά είναι και λιγότερο άνετη για το άτομο (Εικόνα 4). Με την εξέταση αυτή μετράται η ικανότητα του οργανισμού να μεταβολίσει τη γλυκόζη.

Πίνακας 2.2: Διαγνωστικά κριτήρια για το OGTT.

Γλυκόζης πλάσματος μετά από 2 ώρες (mg/dL)	Διάγνωση
---	----------

<139	Υγιής
140-199	Προ-διαβητικός (Impaired fasting glucose)
>200	Διαβητικός



Εικ. 4. Έλεγχος των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα μετά από φόρτιση με γλυκόζη από το στόμα

Η εξέταση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τη διάγνωση του διαβήτη κύησης. Για την εξέταση αυτή τα επίπεδα της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα μετρώνται τέσσερις φορές κατά τη διάρκεια της εξέτασης. Αν τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα υπερβαίνουν τα φυσιολογικά όρια σε τουλάχιστον δύο μετρήσεις, τότε διαγιγνώσκεται διαβήτης κύησης.

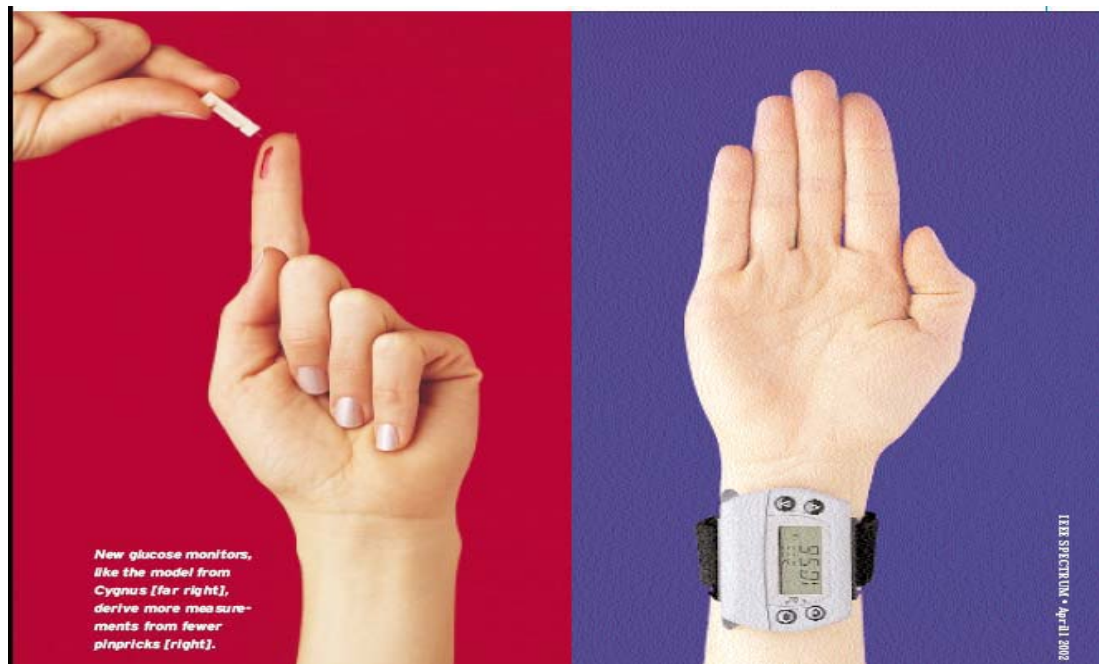
Τυχαίος έλεγχος των επιπέδων της γλυκόζης πλάσματος (Random Plasma Glucose Test): Με αυτήν την εξέταση ο ιατρός εξετάζει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ανεξάρτητα από την ώρα που έλαβε το άτομο το τελευταίο του γεύμα. Η εξέταση αυτή μαζί με διάφορα συμπτώματα χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του διαβήτη, αλλά όχι και του προ-διαβήτη. Μια τυχαία μέτρηση της γλυκόζης άνω των 200mg/dL μαζί με την παρουσία των κλασσικών συμπτωμάτων του διαβήτη, μπορεί να σημαίνει ότι κάποιο άτομο πάσχει από ΣΔ:

Ο έλεγχος των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος, εκτός από τον προσδιορισμό των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα, συμπληρώνεται, όποτε αυτό κρίνεται αναγκαίο, με τον προσδιορισμό στο αίμα του διαβητικού των επιπέδων της ινσουλίνης, του συνδετικού πεπτιδίου (C-peptide) και του αιμοσφαιρινικού κλάσματος A1c (Hb A1c).

Πρέπει να επισημάνουμε ότι μία εξέταση μόνο δεν είναι αρκετή για τη διάγνωση του διαβήτη. Οι εξετάσεις θα πρέπει να επαναληφθούν για να επιβεβαιωθεί η διάγνωση ή όχι του διαβήτη. Πρέπει επίσης να τονισθεί ότι οι τιμές της γλυκόζης διαφέρουν ανάλογα με τη θέση από την οποία λαμβάνουμε το δείγμα αίματος. Για παράδειγμα οι τιμές στο αρτηριακό αίμα είναι μεγαλύτερες κατά περίπου 7% από τις αντίστοιχες στο φλεβικό αίμα. Επίσης είναι γνωστό ότι οι τιμές της γλυκόζης στο πλάσμα αίματος είναι μεγαλύτερες κατά 15% από τις τιμές στο ολικό αίμα

Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει κάποια θεραπεία του διαβήτη και η αντιμετώπισή του συνίσταται στην προσπάθεια, τόσο από το διαβητικό, όσο και από το θεράποντα ιατρό του, για τη διατήρηση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα σε φυσιολογικά επίπεδα. Ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με σωστή εκπαίδευση του ασθενή και συχνές επισκέψεις στο διαβητολόγο, σωστή διατροφή, σωματική άσκηση και, αν είναι απαραίτητη, φαρμακευτική αγωγή. Ο διαβητικός καλείται ουσιαστικά να αυτορρυθμίσει το διαβήτη του μέσα από τον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης του αίματός του, πολλές φορές τη μέρα μέσα από μια σειρά βοηθημάτων που υπάρχουν στην αγορά [finger stick, ή διαδερμικοί αισθητήρες Εικ.5]. Ως αυτορρύθμιση του διαβήτη ορίζουμε τη διαδικασία που αποτελείται από τακτικές μετρήσεις της γλυκόζης αίματος σε συνδυασμό με τη ρύθμιση εξωτερικών παραγόντων. Οι εξωτερικοί παράγοντες αυτοί είναι α) η φαρμακευτική αγωγή, β) η δίαιτα και γ) η άσκηση. Περίπου το 40% των διαβητικών χρειάζονται φαρμακευτική αγωγή με τη

μορφή χαπιών για τον έλεγχο της γλυκόζης του αίματος και περίπου 40% χρειάζονται ενέσεις ινσουλίνης. Κύριοι τρόποι μη φαρμακολογικής αντιμετώπισης του διαβήτη είναι η άσκηση και η διατροφή (στην οποία θα αναφερθούμε εκτενέστερα στο Κεφ.5).



Εικ. 5. Συσκευή αυτομέτρησης, όπου η λήψη αίματος γίνεται από το δάχτυλο του ατόμου που πάσχει από διαβήτη και διαδερμικού αισθητήρα.

Οι ασθενείς με ΣΔΙ συνήθως εξαρτώνται αποκλειστικά από τις ενέσεις ινσουλίνης για την επιβίωσή τους, συνήθως σε καθημερινή βάση.

Οι ασθενείς με ΣΔΠ συνήθως λαμβάνουν χάπια σε συνδυασμό με δίαιτα και άσκηση. Τέτοια φάρμακα είναι τα Sulfonylureas, Meglitinides, Biguanides, Thiazolidinediones, Alpha-glucosidase inhibitors, και συνδυασμός τους. Ανάλογα με την ανταπόκριση περίπου ένα τρίτο αυτών χρειάζεται να λάβουν ινσουλίνη σε ενέσιμη μορφή.

2.2.4 Επιπλοκές

Οι επιπλοκές εξαρτώνται από τον τύπο του διαβήτη και χωρίζονται σε βραχυχρόνιες και μακροχρόνιες. Η μεγαλύτερη ανησυχία για τον ΣΔ είναι οι μακροχρόνιες επιπλοκές, στις οποίες οφείλεται η μεγαλύτερη νοσηρότητα και θνητότητα που παρουσιάζει αυτή η νόσος. Γενικά όμως, τόσο οι βραχυπρόθεσμες, όσο και οι μακροπρόθεσμες επιπλοκές του Διαβήτη σχετίζονται με προβλήματα των αγγείων σε όλο το σώμα, με επακόλουθες βλάβες σε διάφορα όργανα (καρδιά, νεφροί, μάτια, κλπ).

Βραχυχρόνιες επιπλοκές:

Υπογλυκαιμία,

Υπεργλυκαιμία,

Κώμα.

Μακροχρόνιες επιπλοκές:

Αμφιβληστροειδοπάθειες, Μετά από 15 έτη με διαβήτη, περίπου 2% των ασθενών τυφλώνονται, ενώ 10% αναπτύσσουν σοβαρές οφθαλμικές βλάβες. Επίσης κάποιοι τύποι γλαυκώματος είναι συχνοί στους διαβητικούς.

Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια,

Νευροπάθειες. Μελέτες δείχνουν ότι 50% των διαβητικών επηρεάζονται γυνευρολογικά σε κάποιο βαθμό. Η νευροπάθεια μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια αισθητήρων και βλάβη των άκρων, ενώ είναι ο κύριος λόγος ανικανότητας των διαβητικών ανδρών,

αδυναμία επούλωσης τραυμάτων,

γάγγραινα στα πόδια (Διαβητικό Πόδι) που μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε ακρωτηριασμό και οφείλεται τόσο τις αγγειακές όσο και στις νευρολογικές αλλοιώσεις που συμβαίνουν στους διαβητικούς,

στυτικές δυσλειτουργίες.

καρδιαγγειακά νοσήματα (που θα αναλυθούν περαιτέρω στο Κεφ. 4)

2.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

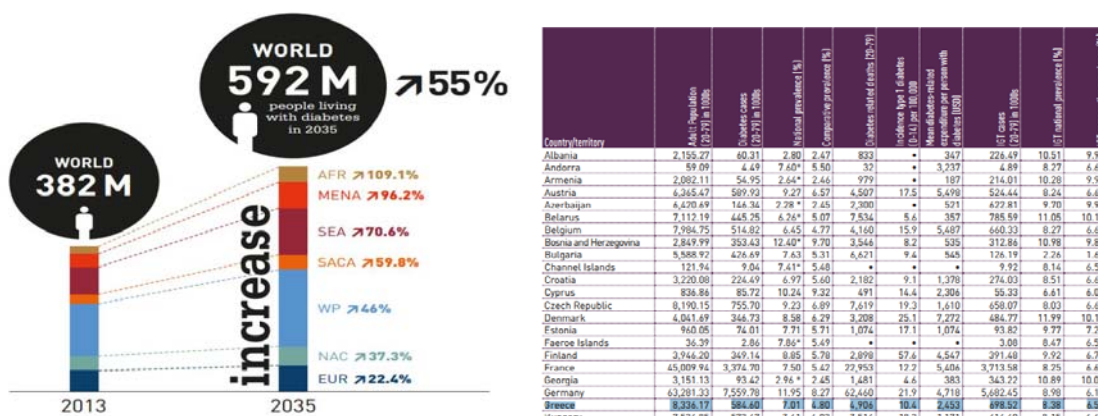
Η Διεθνής Ομοσπονδία για το Διαβήτη (International Diabetes Federation-IDF) το 2013 εξέδωσε την 6^η έκδοση του Παγκόσμιου Άτλαντα για το Διαβήτη [IDF Diabetes Atlas, 2013], με σκοπό την επικαιροποιημένη ενημέρωση για την επίπτωση της νόσου παγκοσμίως αλλά και για τον καθορισμό νέων πολιτικών υγείας τόσο σε εθνικό όσο και σε διεθνές επίπεδο. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί το γεγονός ότι στην πρώτη έκδοση του Άτλαντα το 2000 ο εκτιμώμενος αριθμός των διαβητικών διεθνώς άγγιζε τα 151 εκατομμύρια. Όμως στην τελευταία έκδοση, η εκτιμώμενη επίπτωση των νοσούντων για το 2013 φτάνει τα 382 εκατομμύρια. Ακόμη πιο απαισιόδοξη είναι η πρόβλεψη για το μέλλον με μια εκτιμώμενη επίπτωση για το 2035 που αγγίζει τα 592 εκατομμύρια ασθενείς παγκοσμίως (Εικ.6).



Health expenditure (USD) due to diabetes (20-79 years), 2013



Proportion of deaths due to diabetes in people under 60 years of age, 2013



Εικ. 6. Α. Παγκόσμιος χάρτης επιπολασμού και ποσοστά νόσησης από διαβήτη ανά ηλικία. Β Προβολή επιπολασμού για το 2035. Γ. Δεδομένα για την Ελλάδα

To World Economic Forum 2009 Global Risks Landscape assessment report αναγνώρισε τις χρόνιες νόσους ως το έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τις Διεθνείς Οικονομίες. Παρ' όλα αυτά, η IDF θεωρεί ότι η Διεθνής Κοινότητα δεν έχει ακόμη εκτιμήσει επαρκώς την επείγουσα ανάγκη για αύξηση της χρηματοδότησης για την αντιμετώπιση των νοσημάτων αυτών και για την ένταξη του διαβήτη στα εντατικοποιημένα συστήματα Πρωτοβάθμιας Φροντίδας [IDF Diabetes Atlas 2009]. Η νόσος έχει υψηλότερο επιπολασμό (συχνότητα εμφάνισης) στο δυτικό κόσμο (ιδιαίτερα ο διαβήτης τύπου II) και αυτό αποτελεί μια σαφή ένδειξη για τη συσχέτιση της νόσου με το σύγχρονο τρόπο ζωής, τις διατροφικές μας συνήθειες και την έλλειψη σωματικής άσκησης.

Ο επιπολασμός του σακχαρώδους διαβήτη στην Ελλάδα ακολουθεί κατά προσέγγιση το μέσο ευρωπαϊκό όρο. Πιο συγκεκριμένα, από δεδομένα της τελευταίας έκδοσης του Παγκόσμιου Άτλαντα για το Διαβήτη της Διεθνούς Ομοσπονδίας για το Διαβήτη (International Diabetes Federation-IDF), στη χώρα μας το 7.01% του γενικού πληθυσμού πάσχει από σακχαρώδη διαβήτη (Εικ. 6Γ) [Ε.ΚΕ.ΔΙ, 2012]

Παλαιότερη μελέτη στον ελλαδικό χώρο είχε δείξει αύξηση της επίπτωσης του γνωστού διαβήτη από 2,4% το 1974 σε 3,1% το 1990 [Katsilambros 1993]. Σε εθνικό επίπεδο, η μεγαλύτερη μελέτη που έχει εξετάσει τον επιπολασμό της νόσου είναι η ATTICA Study, που έγινε το 2002 και συμπεριέλαβε 1.514 άνδρες και 1.528 γυναίκες από την περιοχή της Αττικής. Από τη μελέτη αυτή προέκυψε πως διαβήτη εμφάνιζαν το 7,6% των ανδρών και το 5,9% των γυναικών. Περαιτέρω ανάλυση των δεδομένων της ATTICA για 5 έτη έδειξαν αύξηση της επίπτωσης του διαβήτη στον ενήλικο πληθυσμό μεταξύ 2001 και 2006 κατά 5,5%. Έτσι, η ετήσια επίπτωση της νόσου υπολογίστηκε στο 5,8% για τους άνδρες και 5,2% για τις γυναίκες. Επιπλέον, από την ίδια μελέτη φάνηκε πως τα άτομα με χαμηλή μόρφωση (<6 έτη εκπαίδευσης) εμφάνισαν σε μεγαλύτερο ποσοστό τη νόσο (11%) σε σχέση με αυτά με σημαντική μόρφωση (>12 έτη εκπαίδευσης) (3,8%). Ομοίως υπήρξε η αναμενόμενη συσχέτιση του δείκτη μάζας σώματος επίσης σχετίστηκε άμεσα με την επίπτωση του διαβήτη [Panagiotakos 2005].

Τα δεδομένα αυτά υπογραμμίζουν την επιτακτική ανάγκη για δράση, αφού ο σακχαρώδης διαβήτης προσλαμβάνει μορφή επιδημίας και στη χώρα μας. Το τελευταίο συνδυαζόμενο με τα αυξημένα ποσοστά παχυσαρκίας στην παιδική και εφηβική ηλικία, αποτελεί πλέον μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας. Πρόσφατες μελέτες σε παχύσαρκα παιδιά και εφήβους ανέδειξαν διαταραχή στην ανοχή στη γλυκόζη σε ποσοστό 14,7%. Το ποσοστό αυτό είναι μικρότερο του αντίστοιχου από μελέτες στις ΗΠΑ, σημαντικά μεγαλύτερο όμως από τη γειτονική Ιταλία (4,7%), γεγονός που πιθανά αντανακλά την απόκλιση των Ελλήνων σήμερα από την παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή [Xekouki 2007].

Μια άλλη παράμετρος της νόσου είναι το οικονομικό βάρος που ενσκύπτει από την αντιμετώπιση της (ιατρικές επισκέψεις, φάρμακα, διαγνωστικές - εργαστηριακές εξετάσεις) καθώς και στο σκέλος του κόστους που αφορά τη φαρμακευτική αγωγή των ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Στη μελέτη των Λιάτη και συν., που αφορούσε στα έτη 1998 και 2006 και μελετήθηκαν 1.743 φάκελοι ασθενών που βρίσκονταν υπό τακτική παρακολούθηση, σε τρία Διαβητολογικά Κέντρα της Αθήνας και του Πειραιά (Νοσοκομείο «Λαϊκό», «Τζάνειο» Νοσοκομείο και Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας), εξετάστηκε το ετήσιο κόστος της συνταγογράφησης φαρμάκων που χορηγούνται στα άτομα με διαβήτη τύπου 2, προκειμένου να μειωθεί ο καρδιαγγειακός κίνδυνος που διατρέχουν (φάρμακα έναντι της υπεργλυκαιμίας, αντιυπερτασικά, υπολιπιδαιμικά και αντι-αιμοπεταλιακά φάρμακα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το έτος 2006, όλοι οι καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου βρίσκονταν σε καλύτερα επίπεδα ρύθμισης σε σχέση με το 1998 με ταυτόχρονη αύξηση του κόστους θεραπείας κατά 3,2 φορές σε σχέση με το 1998 (από $341,3 \pm 276,0$ /ευρώ/ασθενή/έτος σε $1095,8 \pm 634$ ευρώ/ασθενή/έτος) [Liatis S et al., 2009].

Στη μελέτη των Αθανασάκη και συν., εκτός από το κόστος της αντιδιαβητικής φαρμακευτικής αγωγής, εξετάστηκε το κόστος των εργαστηριακών εξετάσεων στις οποίες υποβάλλονται οι ασθενείς καθώς και οι δαπάνες σε επισκέψεις ιατρών, κατά το έτος 2007, αναλόγως της ρύθμισης της HbA1c των ασθενών. Το δείγμα των ασθενών προερχόταν από ολόκληρη την ελληνική επικράτεια και η παρακολούθησή τους γινόταν στην Πρωτοβάθμια Περίθαλψη. Το συνολικό κόστος υπολογίστηκε σε 980 Ευρώ/άτομο ετησίως για τους καλά ρυθμισμένους ασθενείς και σε 1.565 Ευρώ/άτομο ετησίως για τους ασθενείς με πτωχή ρύθμιση. Συγκρίσεις με τις αντίστοιχες δαπάνες που παρατηρούνται σε άλλες χώρες είναι εξαιρετικά δύσκολο να γίνουν, εξαιτίας της διαφορετικής συγκρότησης των συστημάτων υγείας αλλά και

των διαφορετικών τιμών που ισχύουν, τόσο για τα φάρμακα, όσο και για τις λοιπές δαπάνες υγείας. Φαίνεται ωστόσο, ότι τουλάχιστον οι δαπάνες για τα αντιδιαβητικά φάρμακα δεν είναι πολύ διαφορετικές. Στις ΗΠΑ, κατά το έτος 2007, η ετήσια ανά ασθενή δαπάνη για αντιδιαβητικά δισκία ήταν 491\$ και για την ινσουλίνη 291\$. Αντίστοιχες μελέτες σε άλλες χώρες όπως η Ισπανία και η Σουηδία αλλά και η μελέτη CODE-2 σε οκτώ ευρωπαϊκές χώρες, έδειξαν ότι οι δαπάνες για την αντιμετώπιση του διαβήτη κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα και στις χώρες αυτές. Δεν υπάρχουν δημοσιευμένα στοιχεία ωστόσο για τις δαπάνες που αφορούν τη νοσηλεία των ατόμων με διαβήτη στην Ελλάδα, που αποτελούν, με βάση τα διεθνή δεδομένα, τη βασικότερη συνιστώσα των συνολικών δαπανών. Στη μελέτη των Αθανασάκη και συν., υπολογίστηκε ότι εάν τα αποτελέσματα της μελέτης CODE-2 εφαρμόζονταν στον ελληνικό πληθυσμό, υπολογίζοντας ότι στην Ελλάδα υπάρχουν 780.000 άτομα με διαβήτη, το συνολικό κόστος της δαπάνης για το διαβήτη στην Ελλάδα θα ανερχόταν στο ποσό των 2,3 δις Ευρώ, που αντιστοιχεί στο 6,5% των συνολικών δαπανών του ελληνικού κράτους για την υγεία! [Athanasakis K et al., 2010].

3 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΤΟ ΣΔ

3.1 Μεταβολικές αλλοιώσεις στο ΣΔ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης χαρακτηρίζεται από χρόνια υπεργλυκαιμία με διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των λιπών και των πρωτεϊνών που προκύπτουν, όπως περιγράφηκε παραπάνω, από ελαττωματική έκκριση της ινσουλίνης ή μειωμένη δράση της ινσουλίνης ή και από τα δύο. Σε πλήρη έκφραση, θα χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία νηστείας αλλά μπορεί να γίνει αντιληπτός και σε πρώιμα στάδια όπως αυτό της επηρεασμένης ανοχής στη γλυκόζη. Η κατάσταση αυτή πλέον καθορίζει αυτό που λέμε προ-διαβήτη. Στον σακχαρώδη διαβήτη ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου φτάνει το 92%.

Η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, είτε αυτή αφορά στη γλυκόζη νηστείας είτε στη μεταγευματική της τιμή, εμφανίζεται νωρίτερα από το Διαβήτη, ίσως από την πρώτη εφηβική ηλικία και σε συχνότητα 4-24%. Ο Διαβήτης εμφανίζεται αργότερα και σε συχνότητα 6,4-14,1%.

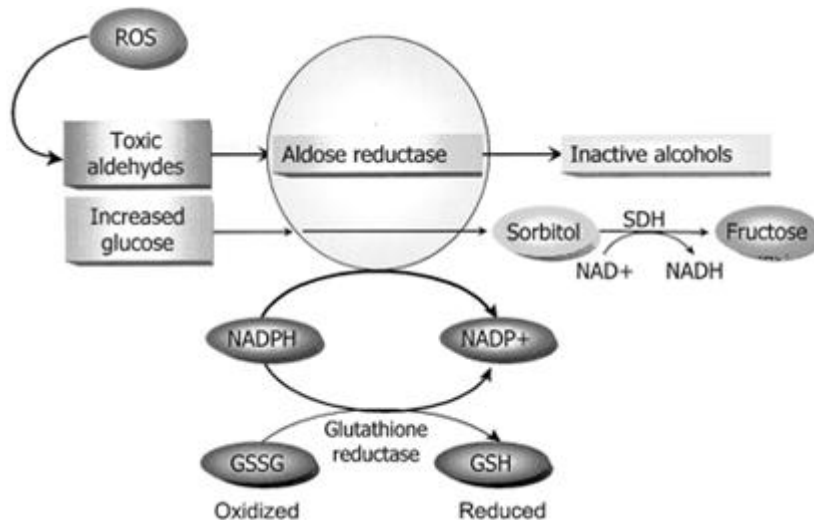
Η ομοιοστασία της γλυκόζης εξαρτάται τόσο από το ρυθμό εισόδου αυτής στη κυκλοφορία όσο και από το ρυθμό εξόδου. Σε φυσιολογικά άτομα, η φόρτιση με γλυκόζη θα προκαλέσει την έγκαιρη και ικανοποιητική έκκριση ινσουλίνης, από τα β- κύτταρα του παγκρέατος. Η ινσουλίνη με τη σειρά της, θα σταματήσει την παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ αλλά ταυτόχρονα θα ενεργοποιήσει τους μηχανισμούς πρόσληψης της γλυκόζης από τους περιφερικούς ιστούς, όπως το ήπαρ και οι μύες. Ταυτόχρονα η γλυκόζη διατηρεί μια αυξημένη τάση πρόσληψης της από τους ιστούς (glucose effectiveness). Στην περίπτωση όμως του ΣΔ, η γλυκόζη παύει να έχει αυτή την αυξημένη τάση να προσλαμβάνεται από τους ιστούς και παραμένει

έτσι στην κυκλοφορία του αίματος, προκαλώντας αυτό που ονομάζεται γλυκοτοξικότητα. Οι παράμετροι του μεταβολικού συνδρόμου με τη συνεπικουρία της αντίστασης στην ινσουλίνη των περιφερικών ιστών συμβάλλουν ιδιαίτερα στην αυξημένη συχνότητα της καρδιαγγειακής νόσου επί μεταβολικού συνδρόμου.

3.2 Κυτταρικές αλλοιώσεις στο ΣΔ

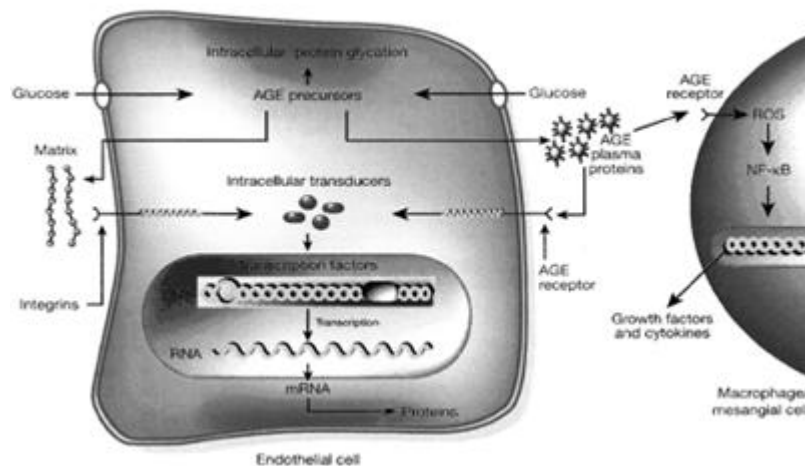
Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η υπεργλυκαιμία προκαλεί μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές στον διαβήτη, με μηχανισμούς, όμως, που δεν είναι πλήρως γνωστοί. Υπάρχουν τέσσερις υποθέσεις για το πώς η υπεργλυκαιμία προκαλεί επιπλοκές στο διαβήτη οι οποίες στηρίζονται σε αρκετές εργαστηριακές μελέτες με συγκεκριμένους αναστολείς των μηχανισμών αυτών.

Η πρώτη υπόθεση περιλαμβάνει την αυξανόμενη ροή στο μονοπάτι των πολυολών όπου σε φυσιολογικές συνθήκες η ρεδουκτάση της αλδόζης ανάγει τις αλδεϋδες που παράγονται από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σε ανενεργές αλκοόλες και τη γλυκόζη σε σορβιτόλη και κατόπιν σε φρουκτόζη χρησιμοποιώντας το NADPH. Σε αυξημένες όμως συγκεντρώσεις γλυκόζης το NADPH καταναλώνεται και η σορβιτόλη δεν μπορεί να διαχυθεί μεταξύ των μεμβρανών προκαλώντας οσμωτικές βλάβες στα κύτταρα των μικροαγγείων. Επίσης το NADPH καταναλώνεται και δεν μπορεί να αναχθεί η γλουταθειόνη προκαλώντας οξειδωτικό stress.



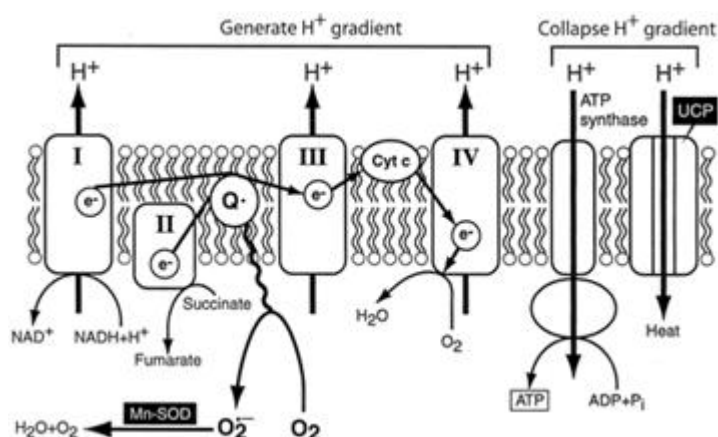
Εικ. 7. Κύκλος των πολυολών. <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/54/6/1615/F2.large.jpg>

Η δεύτερη υπόθεση είναι ο σχηματισμός των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced glycation end-product, AGE). Τα AGEs τροποποιούν τις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας και τις πρωτεΐνες του πλάσματος με αποτέλεσμα να δεσμεύονται σε υποδοχείς AGE και να επάγουν αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων των ενδοθηλιακών, μεσεγχυματικών και μακροφάγων κυττάρων.



Εικ. 8. Δράση των AGEs. <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/54/6/1615/F3.large.jpg>

Η τρίτη υπόθεση είναι η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C όπου αυξάνει τα επίπεδα του NF-κΒ προκαλώντας φλεγμονή, αυξάνει τον VEGF προκαλώντας αγγειογένεση, αυξάνει τον TGF-β προκαλώντας τριχοειδική απόφραξη και αυξάνει και τα επίπεδα των ROS προκαλώντας οξειδωτικό stress.

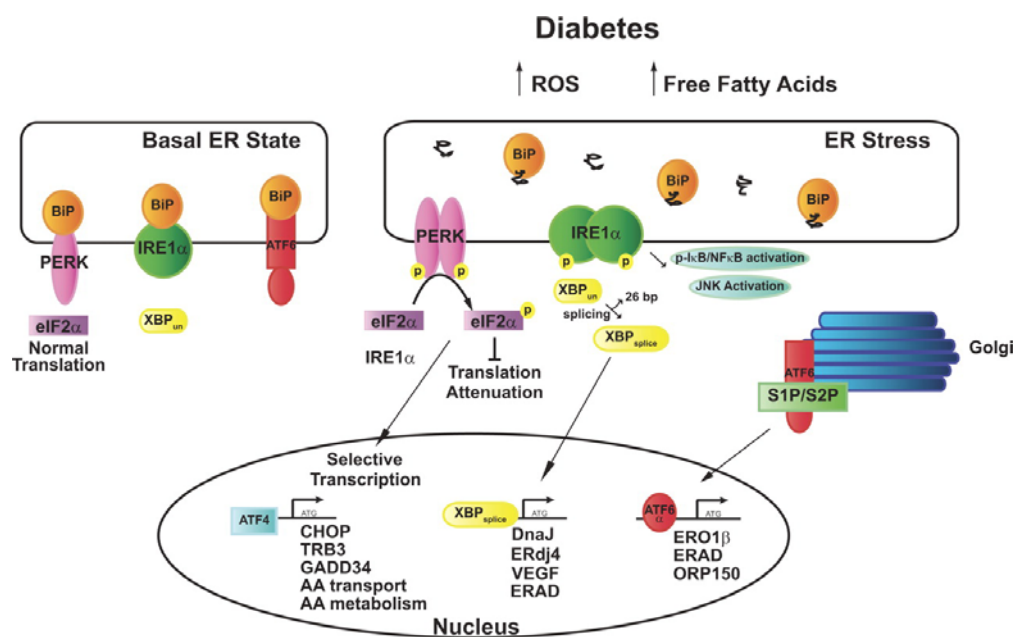


Εικ. 9. Μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και αυξημένη παραγωγή ROS.
<http://diabetes.diabetesjournals.org/content/54/6/1615/F6.large.jpg>

Η τέταρτη υπόθεση αφορά το μονοπάτι της εξοζαμίνης όπου η γλυκόζη μετατρέπεται σε 6-φωσφορική γλυκοζαμίνη. Η γλυκοζυλίωση γίνεται με το ένζυμο N-ακετυλογλυκοζαμίνη τρανσφεράση (O-GluNAc transferase), αλλά σε συνθήκες αυξημένης γλυκόζης το ένζυμο αυτό επάγει τους μεταγραφικούς παράγοντες του PAI-1 που αυξάνει την αγγειακή απόφραξη και του TGF-β1 που αυξάνει την τριχοειδική απόφραξη [Brownlee 2001].

Επιπλέον ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των β κυττάρων είναι η υψηλή ανάπτυξη του ενδοπλασματικού δικτύου, το οποίο είναι σημαντικό για την έκκριση της ινσουλίνης. Οι πρωτεΐνες του stress του ενδοπλασματικού δικτύου, συμπεριλαμβανομένου της Ire1 (Inositol Requiring 1), PERK και Bip εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στα παγκρεατικά β κύτταρα και αυτή η κατάσταση πιθανόν να

απεικονίζει το γεγονός ότι τα β κύτταρα συμμετέχουν ιδιαίτερα στην πρωτεϊνική έκκριση. Η υψηλή έκφραση αυτών των πρωτεϊνών θα μπορούσε να είναι απαραίτητη για τον αυστηρό ποιοτικό έλεγχο των εκκρινόμενων πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της ινσουλίνης στα β κύτταρα. Η αυστηρή διαταραχή στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών του ενδοπλασματικού δικτύου οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο, αλλά η ευαισθησία προς το stress του ενδοπλασματικού δικτύου διαφέρει από κύτταρο σε κύτταρο. Τα πρόσφατα συμπεράσματα μελετών έχουν αποκαλύψει ότι τα β κύτταρα αντιπροσωπεύουν έναν από τους πιο ευαίσθητους ιστούς έναντι στο stress του ενδοπλασματικού δικτύου και η απόπτωση των β κυττάρων μπορεί να είναι μια αιτία του διαβήτη [Araki *et al* 2003; Cunard R *et al.*, 2011].



Εικ. 10. Διαγραμματική περιγραφή της κατάστασης του Ενδοπλασματικού δικτύου (ER) στην κανονική κατάσταση (*basal status*) και στο διαβήτη. [Cunard R *et al* 2011].

Πιο συγκεκριμένα έχει δειχθεί σε κυτταρικές σειρές ότι το stress του ενδοπλασματικού δικτύου επάγει την πρόωρη αποδόμηση των μορίων mRNA της ινσουλίνης [Pirrot *et al* 2007]. Επίσης, σε τομές παγκρέατος από ασθενείς με διαβήτη

τύπου 2, η έκφραση των πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν το stress του ενδοπλασματικού δικτύου είναι ιδιαίτερα αυξημένη, αποδεικνύοντας έτσι ότι το stress του ενδοπλασματικού δικτύου συμβαίνει σε διαβητικές καταστάσεις και ενοχοποιείται για την απόπτωση των β κυττάρων [Laybutt et al 2007].

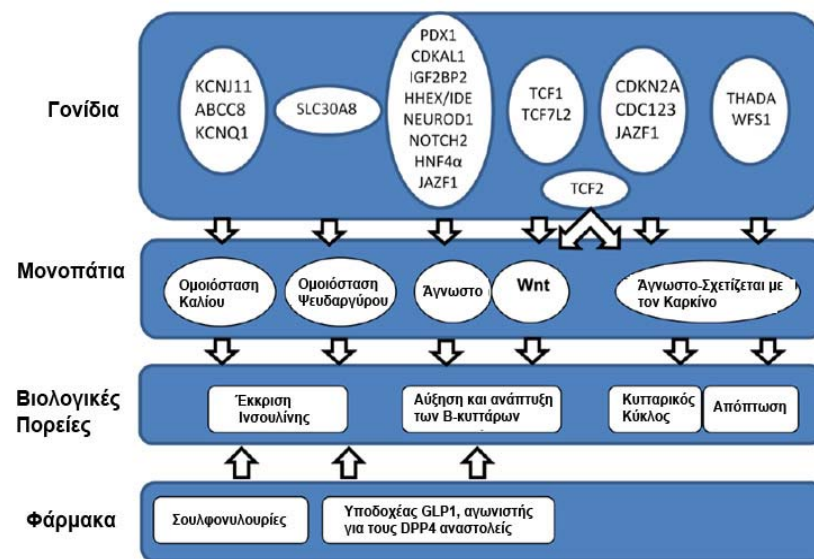
Η μεγαλύτερη απόδειξη συσχέτισης του διαβήτη με το stress του ενδοπλασματικού δικτύου είναι το διαβητικό πρότυπο μοντέλο μυός, Akita mouse, που χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία με μειωμένη μάζα β κυττάρων και παχυσαρκία. Η γενετική ανάλυση αποκάλυψε ότι μια μετάλλαξη στο γονίδιο της ινσουλίνης 2 (Ins2) (Cys96Tyr) είναι υπεύθυνη για το διαβητικό φαινότυπο σε αυτό το μυ. Αυτή η μετάλλαξη αλλάζει την κυστεΐνη σε τυροσίνη στο μόριο της προινσουλίνης και διασπά τον σχηματισμό ενός δισουλφιδικού δεσμού μεταξύ των αλυσίδων A και B, αλλάζοντας έτσι τη διαμόρφωση του μορίου. Επομένως, ο φαινότυπος των μυών Akita όχι μόνο απεικονίζει την παραγωγή της μη λειτουργικής ινσουλίνης αλλά μάλλον δείχνει ότι η μετάλλαξη της ινσουλίνης των μυών Akita ασκεί σημαντική επίδραση στη δυσλειτουργία των β κυττάρων. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το stress του ενδοπλασματικού δικτύου μπορεί να προκαλέσει απόπτωση και να οδηγήσει στην ανάπτυξη διαβήτη σε ζώντα οργανισμό, χρησιμοποιώντας τον μυ Akita ως ένα καλό πρότυπο ανάπτυξης διαβήτη μέσω του stress του ενδοπλασματικού δικτύου [Yoshioka *et al* 1997].

3.3 Μοριακές αλλοιώσεις στο ΣΔ -Κληρονομικότητα

Μέχρι το 2006 οι έρευνες συγκεκριμένων γονιδίων, υποψηφίων με βάσει τους μηχανισμούς που είχαν ανακαλυφθεί μέχρι εκείνη τη στιγμή, είχαν αποκαλύψει μόλις τρεις πολυμορφισμούς που σχετίζονταν με τον ΣΔΙΙ. Παραπάνω ήδη αναφέρθηκαν

ήδη βάσει του επαγόμενου οξειδωτικού stress του ενδοπλασματικού δικτύου, κάποια γονίδια έχουν διερευνηθεί για την εμπλοκή τους στο διαβήτη.

Πιο συγκεκριμένα η γενετική του ΣΔΙ ελέγχεται από περισσότερες από 50 περιοχές του ανθρώπινου γονιδιώματος. Τέσσερα κύρια μονοπάτια προδιάθεσης (έως τώρα):



Εικ. 11. Διαγραμματική περιγραφή των γονιδίων των διαδικασιών και των φαρμάκων.

1. Παραγωγής κυτοκινών και σηματοδότησης
2. Μειωμένη ενεργοποίηση και σηματοδότηση των T-κυττάρων
3. Αυξημένη παραγωγή της ιντερφερόνης τύπου 1 και των αντι-ιικών μηχανισμών
4. Παρουσίαση αντιγόνου και σχηματισμός του ρεπερτορίου των T κυττάρων

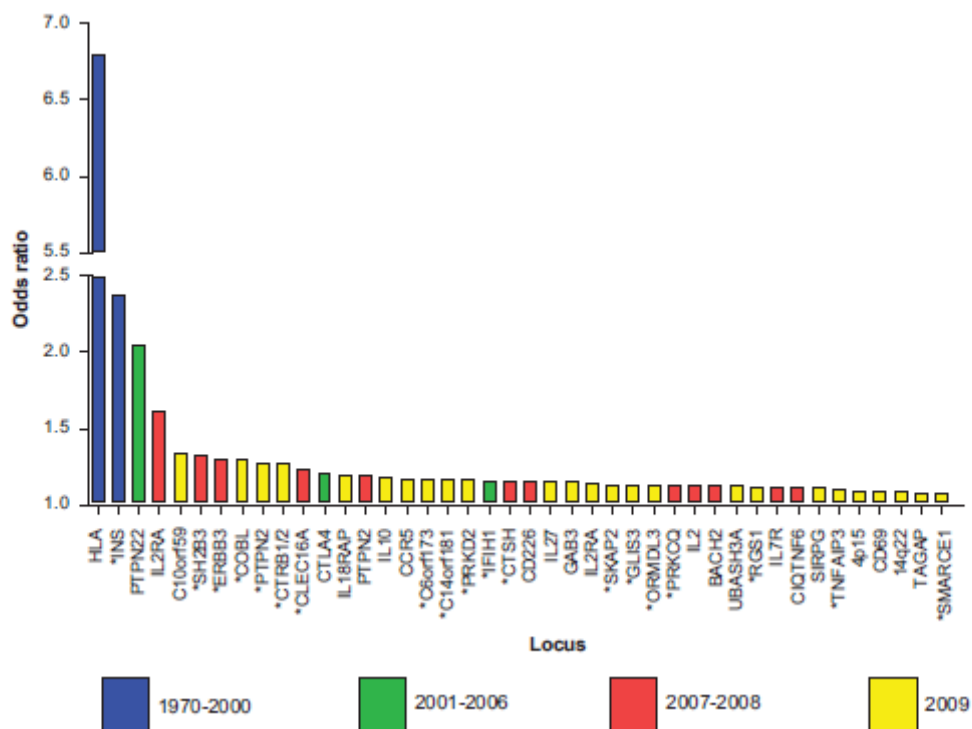
Από την άλλη για την αναζήτηση γονιδίων που ενέχονται στον ΣΔΙ η επιλογή των υποψήφιων γονιδίων με βάση το ρόλο τους στη

- Λειτουργία των βήτα κυττάρων του παγκρέατος
- Δράση της ινσουλίνης/ μεταβολισμό της γλυκόζης
- Ενεργειακή πρόσληψη/ δαπάνη
- Μεταβολισμό των λιπιδίων
- Μελέτες σύνδεσης σε επίπεδο γονιδιώματος
- Μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος

Έτσι έχουν βρεθεί τα ακόλουθα υποψήφια γονίδια πριν την εποχή των μελετών σε επίπεδο γονιδιώματος (πριν το 2007).

- PPARG (υποψήφιο γονίδιο)
- KCNJ11 (υποψήφιο γονίδιο)
- TCF7L2 (μελέτη σύνδεσης)

Με την ανακάλυψη του γονιδίου TCF7L2, του οποίου οι πολυμορφισμοί εμφανίζουν πολύ μεγαλύτερη συσχέτιση από όλα τα γνωστά γονίδια, άρχισε μια νέα εποχή στη μελέτη του διαβήτη. Επιπλέον, η ανάπτυξη της τεχνολογίας επέτρεψε τη μελέτη της συσχέτισης πολυγονιδιακών ασθενειών, όπως ο διαβήτης, με χιλιάδες πολυμορφισμούς σε όλο το γονιδίωμα (GWAS). Έτσι τα τελευταία τρία χρόνια έχουν ανακαλυφθεί 19 συχνοί (>5% στο γενικό πληθυσμό) πολυμορφισμοί που σχετίζονται με το διαβήτη. Τα ευρήματα αυτά είναι σημαντικά γιατί ουσιαστικά εστιάζουν σε γονιδιακές περιοχές που πιθανότατα ενέχονται στην παθογένεση του διαβήτη [Κανταρτζής Κ, 2009].



Εικ. 12. Οι μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος διευκολύνουν τη μελέτη [http://d1mqv16b9gxt7.cloudfront.net/images/16_GR-diabetes_re.pdf]

Από τις GWAS έχουν εντοπιστεί οι παρακάτω γενετικοί τόποι

IGF2BP2 – χρωμόσωμα 3q28. Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein

2, ρυθμίζει τη μετάφραση του IGF2· υποκινεί τη δράση της ινσουλίνης

CDKN2A/B – χρωμόσωμα 9p21. Cyclic dependent kinase inhibitor 2A

Εμπλέκεται στην ανάπτυξη του παγκρέατος και στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων των νησίδων

FTO – χρωμόσωμα 16q12, γονίδιο σχετιζόμενο με τη λιπώδη μάζα και την παχυσαρκία που ρυθμίζει το ενεργειακό ισοζύγιο· η έκφρασή του ρυθμίζεται από τη σίτιση και τη νηστεία

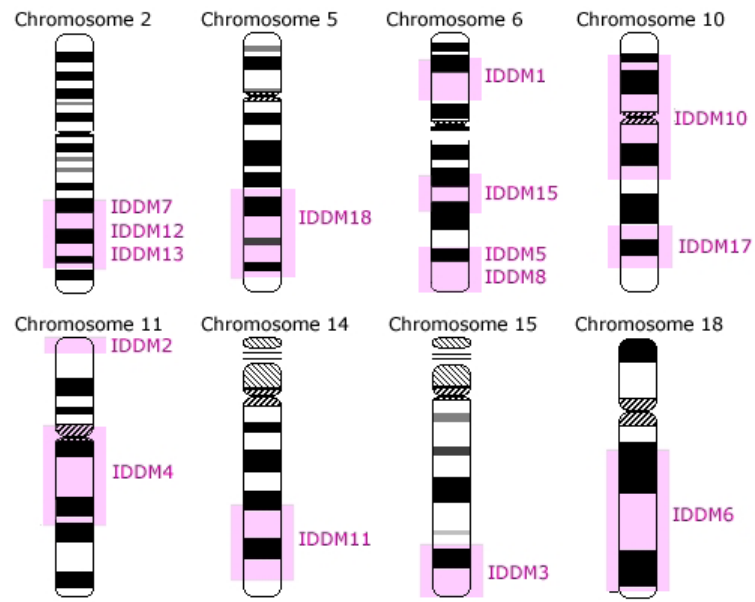
HHEX/IDE – χρωμόσωμα 10q23-24. Το γονίδιο HHEX φέρει ομοιοπλαίσιο (homeobox) που εκφράζεται στον αιμοποιητικό ιστό και είναι μεταγραφικός παράγοντας των κυττάρων του ήπατος. Το IDE είναι ένζυμο αποδόμησης της

ινσουλίνης και έχει συγγένεια για την ινσουλίνη· αναστέλλει την επαγόμενη από το ίδιο αποδόμηση άλλων ουσιών

CDKAL1 – χρωμόσωμα 6p22 Cyclin-dependent kinase regulatory subunit associated protein 1-like 1. Εμπλέκεται στην αναστολή της CDK5 και τη μείωση της έκκρισης ινσουλίνης

SLC30A8 – χρωμόσωμα 8q24, – Solute carrier family 30 zinc transporter. Ίσως είναι αυτοαντιγόνο για τον ΣΔΙ

Οι γενετικές ανωμαλίες των β-κυττάρων κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατές τρόπο και μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί 6 γενετικές θέσεις σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Η πιο συνηθισμένη μετάλλαξη αφορά το γονίδιο HNF-1α στο χρωμόσωμα 12, ενώ και μεταλλάξεις στο 7p στο γονίδιο της γλυκογενάσης. Οι σπανιότερες μεταλλάξεις στις ανωμαλίες των β-κυττάρων αφορούν στους μεταγραφικούς παράγοντες, όπως οι HNF-4α, HNF-1β, ο παράγοντας προαγωγής της ινσουλίνης (IPF)-1, και ο NeuroD1. Σημειακές μεταλλαγές στο μιτοχονδριακό DNA έχουν βρεθεί να σχετίζονται με το ΣΔ και την κώφωση. Η πιο κοινή μεταλλαγή υπάρχει στη θέση 3243 του γονιδίου του tRNA της λευκίνης. Η ίδια μεταλλαγή εμφανίζεται και στο σύνδρομο MELAS (μιτοχονδριακή μυοπάθεια, εγκεφαλοπάθεια, γαλακτική οξέωση, και σύνδρομο ομοιάζον με εγκεφαλικό), όμως ο διαβήτης δεν αποτελεί μέρος αυτού του συνδρόμου, γεγονός που υποδηλώνει μια διαφορετική φαινοτυπική εκδήλωση της ίδιας γονιδιακής αλλοίωσης.



Εικ. 13. T1DM σαρώσεις σε επίπεδο γονιδιώματος [http://d1mqv16b9gxt7.cloudfront.net/images/16_GR-diabetes_re.pdf]

4. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΝΟΣΟΙ

Ο ΣΔ αποτελεί μείζονα παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου καθώς επιδημιολογικά δεδομένα τεκμηριώνουν τη σύγχρονη θεώρησή του ως ισοδύναμου στεφανιαίας νόσου (ΣΝ). Ο ΣΝ αποτελεί μείζονα καρδιαγγειακή επιπλοκή του ΣΔ, η οποία εμφανίζεται συχνότερα στους διαβητικούς ασθενείς και είναι περισσότερο σοβαρή και εκτεταμένη συγκριτικά με τους μη διαβητικούς και ευθύνεται για το 75% των θανάτων των διαβητικών [Paneni *et al.*, 2012, Beckman JA *et al.*, 2013]. Κύριοι παράγοντες κινδύνου στους διαβητικούς είναι το κάπνισμα, η υψηλή πίεση, η παχυσαρκία και η υψηλή χοληστερόλη. Επιπλέον ο διαβήτης ουσιαστικά εξουδετερώνει την προστασία των προ-εμμηνοπαυσιακών γυναικών από καρδιακή νόσο.

Οι ασθενείς με ΣΔ εμφανίζουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο ισχαιμικών Αγγειακών Εγκεφαλικών Επεισοδίων (ΑΕΕ), ο οποίος είναι άμεσα συνδεδεμένος με την κακή γλυκαιμική ρύθμιση. Μεταξύ ατόμων με ΑΕΕ, οι διαβητικοί εμφανίζονται σε τριπλάσια συχνότητα έναντι των μη διαβητικών ατόμων. Παθοφυσιολογικά, ο ΣΔ προκαλεί μικροαγγειοπάθεια –λιποϋαλίνωση και ινιδοειδή νέκρωση του τοιχώματος των αρτηριδίων– που οδηγεί στη δημιουργία κενотоπιωδών εμφράκτων (lacunar infarcts) στη λευκή ουσία και μακροαγγειοπάθεια που σχετίζεται με αθηροσκλήρυνση των εξωκράνιων αγγείων (καρωτίδων, σπονδυλικών αρτηριών).

Το αυξημένο μιτοχονδριακό οξειδωτικό stress (από την οξείδωση υπερβολικής γλυκόζης και αυξημένης ποσότητας ελευθέρων λιπαρών οξέων) φαίνεται να είναι ο βηματοδότης διέγερσης και των άλλων ιδιαίτερων βιοχημικών και μοριακών μηχανισμών δράσης της υπεργλυκαιμίας (αυξημένη παραγωγή και δράση των AGEs, δραστηριοποίηση πρωτεϊνικής κινάσης C, διέγερσης κύκλου πολυολών, αυξημένη

δραστηριότητα παθοφυσιολογικής οδού εξοζαμίνης). Σε πειραματικά μοντέλα έχειδειχθεί ότι η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών O₂ οδηγεί σε βλάβη στο πυρηνικόDNA και ρυβοζυλίωση ενός κρίσιμου ενζύμου στη διαδικασία γλυκόλυσης του GAPDH. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα αναστολή εξέλιξης του μεταβολισμού του και διέγερση των άλλων ιδιαίτερων παθοφυσιολογικών μηχανισμών με τους οποίους η υπεργλυκαιμία ευνοεί την αθηρωματική διαδικασία.

Επιπρόσθετα, στο σακχαρώδη διαβήτη παρατηρείται συχνά υπερπηκτικότητα σαν αποτέλεσμα διαταραχών στην πήξη (αυξημένη έκφραση πολλών παραγόντων όπως θρομβίνης, παρ. VII, ιστικός παράγων, παρ. Von Willebrand κλπ) στην ινωδόλυση (αυξημένα επίπεδα PAI-I στον όρο κλπ.), στη λειτουργία των αιμοπεταλίων.

Ο διαβήτης επίσης ευνοεί τη φλεγμονώδη αγγειακή διαδικασία, καθώς συνδέεται με αυξημένη έκκριση κυττοκινών (κυρίως λόγω της γλυκοζυλιοξείδωσης των πρωτεϊνών και των λιπιδίων), αυξημένη έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών, αυξημένη διήθηση από μακροφάγα και Τα-λεμφοκύτταρα των αθηρωματικών πλακών των διαβητικών ασθενών, αυξημένη δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων στην υπενδοθηλιακή στιβάδα που περιέχουν τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες.

Η ινσουλινοαντίσταση εξάλλου που είναι παρούσα στο 90% των ατόμων με ΣΔ οδηγεί στην υπερβολική απελευθέρωση ελ. λιπαρών οξέων από τον λιπώδη ιστό, στην δημιουργία των αθηρογενετικών μικρών πυκνών LDL, στην αυξημένη παραγωγή ενδοθηλίνης-1 και άλλων αυξητικών παραγόντων στην μειωμένη παραγωγή NO και στην γενικευμένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Όλες αυτές οι προαναφερθείσες διαταραχές συμβάλλουν στην ιδιαίτερη ανάπτυξη της αθηρωματικής διαδικασίας και στον αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβαμάτων στο ΣΔ.

Ο ΣΔ αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εκδήλωσης κολπικής μαρμαρυγής. Η ισχαιμία του μυοκαρδίου λόγω στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης ή και μικροαγγειοπάθειας, η νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος, καθώς και οι ηλεκτροφυσιολογικές διαταραχές του διαστήματος QT, διαταραχές επαναπόλωσης – που παρατηρούνται στο μυοκάρδιο των διαβητικών ασθενών εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής. Οι Dublin *et al* ανέδειξαν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης κολπικής μαρμαρυγής σε ασθενείς με μακροχρόνιο ιστορικό ΣΔ και κακή γλυκαιμική ρύθμιση σε σχέση με τους μη διαβητικούς ασθενείς [Dublin S *et al.*, 2011]. Παράλληλα, η πιθανότητα εκδήλωσης κολπικής μαρμαρυγής σχετίστηκε σημαντικά με τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. [Πεπές Β κ.α 2011].

Καλύτερη μελλοντική κατανόηση και γνώση των μηχανισμών που οδηγούν στην αυξημένη αθηρωματική διαδικασία του σακχαρώδη διαβήτη μπορεί να επιτρέψει ανάπτυξη νέων στρατηγικών για τον περιορισμό της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας των διαβητικών ασθενών.

5. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Η διατροφική παρέμβαση στο Διαβήτη θα πρέπει να έχει σκοπό τόσο τη διατήρηση του επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα σε φυσιολογικά επίπεδα όσο και την ικανοποιητική ανάπτυξη του οργανισμού, τη ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και την υγεία των οστών. Σε ορισμένες περιπτώσεις μη ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη, η νόσος μπορεί να ελεγχθεί με τη διατροφή και την άσκηση μόνο. Η σωστή διατροφή μπορεί να βοηθήσει να ελεγχθούν τα επίπεδα γλυκόζης αίματος, μειώνει τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στο αίμα, βοηθάει στη διατήρηση ενός ιδανικού βάρους σώματος, και καθυστερεί τις επιπλοκές του διαβήτη. Όπως και με την άσκηση, η θεραπεία μέσω διατροφής προσαρμόζεται για κάθε πρόσωπο. Μια επιτυχής διατροφή πρέπει ιδανικά να λάβει υπόψη το υπόβαθρο, την οικονομική κατάσταση, και τον τρόπο ζωής του προσώπου. Πρέπει επίσης να είναι απλή καθώς μπορεί να είναι πολύ δύσκολο να ακολουθήσει κάποιος τα πολύπλοκα σχέδια διατροφής με ανταλλαγές τροφίμων [Ντζιού Ε κ.α. 2010].

Οι διαβητικοί συχνά ενθαρρύνονται να χρησιμοποιήσουν εναλλακτικές («τεχνητές») γλυκαντικές ουσίες. Οι γλυκαντικές ουσίες είναι είτε θρεπτικές, είτε μη-θρεπτικές. Οι θρεπτικές γλυκαντικές ουσίες όπως η σορβιτόλη και η φρουκτόζη παρέχουν τις θερμίδες αλλά μπορούν να μην αυξάνουν τα επίπεδα γλυκόζης αίματος τόσο πολύ όσο η κανονική ζάχαρη. Οι μη-θρεπτικές γλυκαντικές ουσίες όπως η σακχαρίνη, δεν περιέχουν θερμίδες. Και οι δύο τύποι γλυκαντικών ουσιών είναι αποδεκτοί, αλλά το θερμιδικό περιεχόμενο των θρεπτικών γλυκαντικών ουσιών πρέπει να εξεταστεί κατά τον υπολογισμό της καθημερινής λήψης των θερμίδων. Επιπλέον, οι μεγάλες ποσότητες σορβιτόλης μπορούν να προκαλέσουν διάρροια, και η φρουκτόζη μπορεί να συμβάλλει σε μερικές από τις επιπλοκές του διαβήτη.

Διάφορες αρχές εκδίδουν συγκεκριμένες οδηγίες για τη διατροφή των διαβητικών που προδιαγράφουν τον αριθμό των θερμίδων που πρέπει να λαμβάνει καθημερινά ο διαβητικός, τον αριθμό των λιπών που μπορεί να καταναλώσει, τον αριθμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών καθώς και άλλες καθημερινές συνήθειες [Ελληνικό Υπουργείο Υγείας, 1999].

Επιπλέον υπάρχουν πολλές μελέτες που ελέγχουν τα διατροφικά πρότυπα με την επίδραση που έχουν στο σακχαρώδη διαβήτη. Σύμφωνα με μια μεγάλη προοπτική μελέτη, στην οποία συμμετείχαν 42.500 άνδρες επαγγελματίες στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης με παρακολούθηση τα αποτελέσματα από τις προοπτικές μελέτες δείχνουν ότι τα διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται από υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, ψαριών, πουλερικών και δημητριακών ολικής αλέσεως, δηλαδή προτύπων που προσομοιάζουν τη Μεσογειακή διατροφή, προστατεύουν έναντι της ανάπτυξης ΣΔ2. Αντίθετα, πρότυπα κοντά στο «δυτικό» πρότυπο διατροφής, τα οποία χαρακτηρίζονται από αυξημένη κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος, τηγανητής πατάτας, γαλακτοκομικών προϊόντων υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και επεξεργασμένων δημητριακών, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ2 [Panagiotakos D 2009; Brunner EJ, *et al.*, 2008].

Αλλά και τα αποτελέσματα από τις συγχρονικές μελέτες συμφωνούν με αυτά των προοπτικών μελετών και υπογραμμίζουν τον ευεργετικό ρόλο ενός υγιεινού προτύπου διατροφής, πλούσιου σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης, πουλερικά, ψάρια και γαλακτοκομικά προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Σύμφωνα με μια τυχαιοποιημένη μελέτη πρωτογενούς πρόληψης διάρκειας 3 μηνών με 772 άτομα με ΣΔ2 ή ≥ 3 παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, τα άτομα που εφάρμοσαν έναν από τους δύο τύπους Μεσογειακής διατροφής, είτε την πρώτη που

έδινε έμφαση στο ελαιόλαδο είτε τη δεύτερη που έδινε έμφαση στους ξηρούς καρπούς, είχαν σημαντικά χαμηλότερη γλυκόζη νηστείας, χαμηλότερα επίπεδα ινσουλίνης και αντίσταση στην ινσουλίνη, σε σύγκριση με εκείνα που είχαν εφαρμόσει διατροφή χαμηλή σε λιπαρά. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί όσοι συμμετείχαν στην ομάδα Μεσογειακής διατροφής είχαν συνολικά καλύτερη διατροφική πληροφόρηση [Estruch R, *et al.*, 2006].

II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΥΛΙΚΟ

A.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ



Εικ. 14. Εικόνα επίμυων τύπου Wistar

Η χρήση πειραματόζωων στην επιστήμη είναι παλιά και διαδεδομένη πρακτική καθώς είναι βιολογικώς «όμοια» με τους ανθρώπους. Αυτό σημαίνει ότι αυτά τα ζώα παρουσιάζουν συχνά τα ίδια προβλήματα υγείας με τους ανθρώπους. Επίσης τα πειραματόζωα έχουν μικρότερο κύκλο ζωής σε σχέση με τους ανθρώπους με αποτέλεσμα να μπορούν να μελετηθούν καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου και για πολλές γενεές. Επιπλέον, οι επιστήμονες μπορούν εύκολα να ελέγξουν τις εξωτερικές (περιβαντολογικές) συνθήκες των πειραματόζωων, όπως η διατροφή τους, η θερμοκρασία, ο φωτισμός κ.α. κάτι που όπως είναι εύκολα κατανοητό θα ήταν δύσκολο να γίνει με στους ανθρώπους.

Στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί επίμυες τύπου *wistar rats*. Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες, την ομάδα Α, την ομάδα Β και την ομάδα Γ. Τα πειραματόζωα φυλάχθηκαν για μία εβδομάδα σε κλωβούς κάτω από άριστες συνθήκες υπό την επίβλεψη κτηνιάτρου ώστε να εγκλιματιστούν. Στην

συνέχεια πραγματοποιήθηκε μαρκάρισμα στα πειραματόζωα σύμφωνα με την ομάδα που χωρίστηκαν, με συγκεκριμένους κωδικούς.

Μετά τη αρχική τους ζύγιση και την αιμοληψία για να καταγραφούν οι τιμές βάσης (Baseline) του σακχάρου, στις ομάδες Α και Β προκλήθηκε πειραματικός διαβήτης με εφάπαξ ενδοφλέβια χορήγηση στρεπτοζωτοσίνης σε δόση 55 mg/kg. Σε 24 με 48 ώρες έγινε η πιστοποίηση πειραματικού διαβήτη και στις δύο ομάδες ελέγχοντας το σάκχαρο και την γλυκοζιωμένη αιμοσφαιρίνη. Αρχικά και οι τρεις ομάδες (Α,Β,Γ) ακολούθησαν φυσιολογική διατροφή. Στην συνέχεια κάθε ομάδα ακολουθούθησε συγκεκριμένη τροφή για περίπου 1 ½ μήνες.

ΟΜΑΔΑ Α (D-NGI): Σε αυτή την ομάδα χρησιμοποιήθηκαν 8 διαβητικά ζώα και τους χορηγήθηκε φυσιολογική διατροφή.

ΟΜΑΔΑ Β (D-LGI): Σε αυτή την ομάδα χρησιμοποιήθηκαν 8 διαβητικά ζώα και τους χορηγήθηκε διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη.

ΟΜΑΔΑ Γ (C-NGI): Σε αυτή την ομάδα χρησιμοποιήθηκαν 6 πειραματόζωα, αποτελεί την ομάδα control και τους χορηγήθηκε φυσιολογική διατροφή.

A.2 ΤΡΟΦΕΣ

Οι τροφές εισήχθησαν από την εταιρεία Research Diets.

Φυσιολογικό φύραμα Το κανονικό φύραμα με. Κωδ. D09051102 περιέχει 20kcal% πρωτεΐνη, 15kcal% λιπαρά και 65kcal% υδατάνθρακες. Η ακριβής του σύσταση βρίσκεται στο Παράρτημα Ι.

Φύραμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη με Κωδ. D09100902 ισοθερμιδική με το κανονικό φύραμα και ίδιας σύστασης όσο αφορά το % πρωτεΐνης, υδατανθράκων και λίπους. Χρησιμοποιήθηκε το Hi maize 260 που αυτή η φόρμουλα περιέχει ένα είδος μαλτοδεξτρίνης που ονομάζεται fibersol-2, που μειώνει τη γλυκαιμική απόκριση στις τροφές, αυξάνει την ευαισθησία της ινσουλίνης, μειώνει τις προσλαμβανόμενες θερμίδες και αυξάνει την απορρόφηση των μεταλλικών ιχνοστοιχείων. Η ακριβής του σύσταση βρίσκεται στο Παράρτημα I.

A.3 ANTIΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Πέρα από τις μετρήσεις γλυκόζης στο αίμα που έγιναν χρησιμοποιώντας αυτόματο γλυκομετρητή, λήφθηκε και αίμα από την ουραία φλέβα των πειραματόζωων των ομάδων D-NGI και D-LGI κατά το χρόνο 0 (baseline) και την 60^η μέρα (μέρα λήξης του πειράματος) και ο ορός διαχωρίστηκε με φυγοκέντρηση για περαιτέρω βιοχημική ανάλυση. Η συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης έγινε με την ενζυματική χρωμογονική μέθοδο CHOD-POD/αντίδραση Trinder και τα τριγλυκερίδια του ορού μετρήθηκαν με τη μέθοδο GPO-POD. Η γλυκόζη του ορού καθορίστηκε με τη μέθοδο Glycerol Phosphate Oxidase-Peroxidase GPO-POD. Όλες οι αναλύσεις των διεγμάτων έγιναν στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Έρευνας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών με χρήση αυτόματου αναλυτή (Technicon RA-XT, Technicon Instruments, Tarrytown, NY).

B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

B.1 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

B.1.1. ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τα ζώα είχαν την ευχέρεια αυτόνομης σίτισης σε όση ποσότητα επιθυμούσαν από την ενδεδειγμένη για τη συγκεκριμένη ομάδα.

Καταρχήν τα ζώα ζυγίστηκαν και έγινε αιμοληψία ώστε να σημειωθούν οι τιμές σακχάρου

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε κάθε 15 μέρες ενώ ο έλεγχος του σωματικού βάρους κάθε 10 μέρες. Μετά το πέρας του 1 ½ μήνα ακολούθησε ευθανασία αφού είχε ληφθεί πρώτα αίμα.

Μετά την ευθανασία απομονώθηκαν οι ιστοί της καρδιάς για ιστολογική ανάλυση. Οι ιστοί αυτοί αρχικά φυλάσσονταν σε φορμόλη και στη συνέχεια παραφινώθηκαν σε ειδικά πλακίδια. Συγκεκριμένα οι ιστοί κόπηκαν με τη βοήθεια μικροτόμου και ύστερα ακολούθησε έγκλιση σε λιωμένη παραφίνη σε ειδικά καψίδια (κασέτες) στους 55-65°C για να εμποτιστούν οι ιστοί με παραφίνη. Οι τομές αυτές χρησιμοποιήθηκαν για ιστοχημικές χρώσεις. Η ιστοχημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρώση αιματοξυλίνης – ιωσίνης (Haematoxylin-Eosin) για ανίχνευση φλεγμονής και ποσοτικοποίηση αυτής παρατηρώντας τη μορφολογία των κυττάρων στο οπτικό μικροσκόπιο. Η ιστοχημική μελέτη για τον καθορισμό της εναπόθεσης κολλαγόνου έγινε με χρώση Picrosirius Red.

Στη συνέχεια αυτής της πειραματικής μελέτης έγινε μια σειρά από μετρήσεις μεταβολικών παραγόντων σε όλες τις χρονικές στιγμές (4 χρονικές στιγμές, 0', 15 μέρες, 30 μέρες, 45 μέρες). Τέλος έγινε ανάλυση των δεδομένων και η στατιστική ανάλυση αυτών σύμφωνα με τα παρακάτω.

B.2 ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ & ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

1. Σωματικό βάρος: μέτρηση του σωματικού βάρους των πειραματόζων κατά την έναρξη των πειραμάτων και κάθε 10 μέρες μέχρι το πέρας των μετρήσεων (σύνολο 4 μετρήσεις) και έγινε σύγκριση μεταξύ τους.

2. Σάκχαρο αίματος: Το σάκχαρο στο αίμα ουσιαστικά αντιπροσωπεύει τους υδατάνθρακες που προσλαμβάνονται μέσω της τροφής από τον οργανισμό. Οι υδατάνθρακες, αποτελούν μια ομάδα οργανικών ουσιών, αρχίζουν από τους μονοσακχαρίτες (π.χ. γλυκόζη, φρουκτόζη), και φθάνουν μέχρι σύνθετα μόρια, που λέγονται πολυσακχαρίτες, όπως το άμυλο και η κυτταρίνη. Έτσι μερικοί είναι σχετικά μικροί, με μοριακά βάρη μικρότερα του $100 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, ενώ άλλοι είναι πραγματικά μακρομόρια, με μοριακό βάρος πολλές εκατοντάδες ή χιλιάδες $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Οι υδατάνθρακες που λαμβάνει ο οργανισμός μετατρέπονται σε γλυκόζη που σχηματίζει μόρια γλυκογόνου με τη χρήση των κατάλληλων ενζύμων για να συνθέτει γλυκόζη από το αποθηκευμένο σωματικό λίπος. Η απελευθέρωση της γλυκόζης στο αίμα, επιτρέπει στο γλυκογόνο να λειτουργεί ως προσωρινό αποθεματικό ενέργειας για την κάλυψη άμεσων αναγκών σε γλυκόζη. Ωστόσο, τα αποθέματα ενέργειας σε γλυκογόνο βρίσκονται σε λιγότερο συμπυκνωμένη μορφή από ότι τα αποθέματα ενέργειας σε τριγλυκερίδια. Ο οργανισμός εξισορροπεί την αύξηση των σακχάρων στο αίμα με επακόλουθη έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας. Συνεπώς η μέτρηση αυτού του δείκτη επιτρέπει τον έλεγχο τόσο της απορρόφησης τροφών όσο και της λειτουργίας του παγκρέατος.

B.3 ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΙΣΤΩΝ

Μετά το πέρας του πειράματος τα ζώα θανατώθηκαν, λήφθηκαν ιστολογικές τομές από την καρδιά. Τα ιστικά παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν σε μονιμοποιητικό διάλυμα φορμαλδεΰδης 4%, v/v pH 7,1. Μετά από μονιμοποίηση 24-48h, σύμφωνα με τις διεθνείς προδιαγραφές, ακολούθησε εγκλεισμός των επιλεγμένων θέσεων σε καψίδια και διαδοχική αφυδάτωση των ιστών και εμποτισμός με παραφίνη. Η διαδικασία αυτή είναι διαδικασία ρουτίνας στα Παθολογοανατομικά Εργαστήρια, γίνεται αυτόματα σε μηχάνημα που ονομάζεται ιστοκινέτα και περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια (Εικόνα 15)



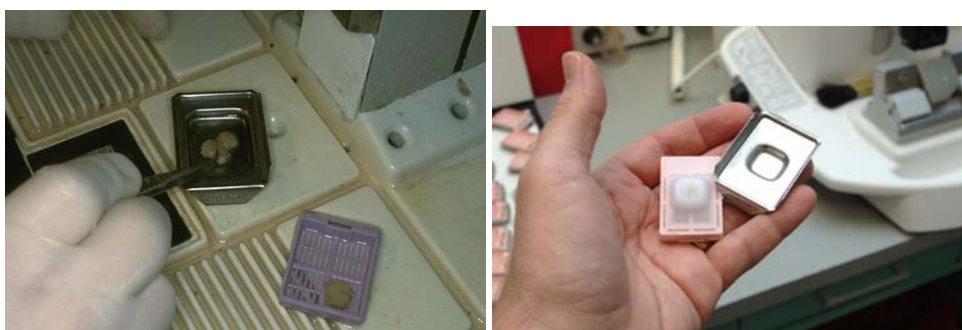
Εικ. 15 Αριστερά μηχανήμα ιστοκινέτας και δεξιά καψίδια μέσα στα οποία τοποθετούνται τα ιστοτεμάχια [http://www.biopsies.gr/2010/09/blog-post_04.html]

Αντιδραστήριο	Χρόνος επώασης
Αλκοόλη (αιθανόλη) 70% v/v	2 ώρες
Αλκοόλη 90% v/v	3 ώρες
Αλκοόλη 90% v/v	3 ώρες
Αλκοόλη 100% v/v	3 ώρες
Αλκοόλη 100% v/v	3 ώρες

Ξυλόλη	2 ώρες
Ξυλόλη	2 ώρες
Ξυλόλη	2 ώρες
Παραφίνη	Ως την λήψη τους για συνέχιση της διαδικασίας αλλά τουλάχιστον 2 ώρες

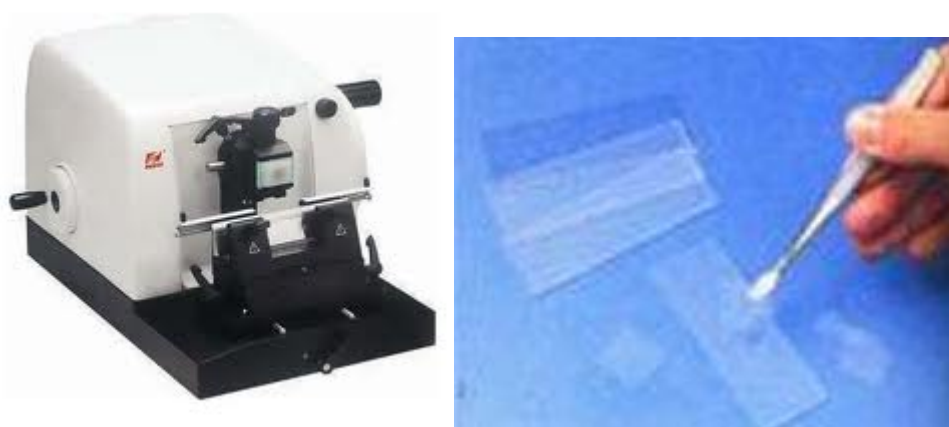
Η αλκοόλη χρησιμοποιείται με σκοπό την αφυδάτωση των υλικών, ενώ η ξυλόλη απολιπώνει τους ιστούς με αποτέλεσμα η παραφίνη να εμποτίζει τα κενά τα οποία δημιουργούνται. Για τα συγκεκριμένα ιστολογικά παρασκευάσματα χρησιμοποιήθηκε ένας ειδικός τύπος παραφίνης (PARAPLAST PLUS), η οποία έχει την ιδιότητα να αυξάνει την ελαστικότητα του υλικού ώστε να αποφεύγεται η ευθρυπτότητα κατά τις τομές σε μικροτόμο (βλ. παρακάτω).

Μετά τη διαδικασία της ιστοκινέτας ακολούθησε η έγκλειση των εμποτισμένων με παραφίνη ιστοτεμαχίων σε κύβους παραφίνης (σκήνωση). Αυτή έγινε σε λιωμένη παραφίνη δίνοντας προσοχή στον προσανατολισμό των ιστών. Τελικά έγινε καλούπωμα των δειγμάτων με τη ζεστή παραφίνη σε ειδικές θήκες και ξεκαλούπωμα όταν η παραφίνη είχε στερεοποιηθεί. Με τη διαδικασία αυτή παράγονται κύβοι παραφίνης με το επιλεγμένο ιστοτεμάχιο με κατάλληλο προσανατολισμό για κόψιμο και επεξεργασία (Εικόνα 16).



Εικ 16. Αριστερά εγκλεισμός του εμποτισμένου με παραφίνη ιστοτεμαχίου σε ειδική θήκη και δεξιά ξεκαλούπωμα του καψιδίου με την στερεοποιημένη παραφίνη και το ιστοτεμάχιο [http://www.biopsies.gr/2010/09/blog-post_04.html]

Αφού στερεοποιήθηκε η παραφίνη, η κοπή των ιστών έγινε σε μικροτόμο LEICA. Οι τομές πάχους 2-3μm, τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες με ειδική επεξεργασία σε διάλυμα ζελατίνης 1% w/v για να κολλήσουν οι τομές καλύτερα (Εικόνα 17).



Εικ 17. Αριστερά μικροτόμος με στερωμένο πάνω κύβο παραφίνης έτοιμο για κόψιμο γκλεισμός και δεξιά τοποθέτηση τομής παραφίνης πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα [http://www.kanidis.gr]

B.4 ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΧΡΩΣΕΙΣ

B.4.1 Ιστοχημική χρώση Ηωσίνης & Αιματοξυλίνης

Η χρώση της αιματοξυλίνης- ηωσίνης είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος στην ιστολογική εξέταση. Περιλαμβάνει αρχικά την εφαρμογή της βασεόφιλης βαφής η οποία βάφει τις βασεόφιλες δομές μπλε-μωβ, ενώ η ηωσίνη βάφει τις ηωσινόφιλες δομές ροζ. Βασεόφιλες δομές είναι συνήθως αυτές οι οποίες περιέχουν νουκλειακά οξέα (DNA, RNA), όπως ριβοσώματα και πυρήνες πλούσιους σε χρωματίνη, όπως και περιοχές του κυτταροπλάσματος πλούσιες σε RNA. Οι

ηωσινόφιλες δομές συνιστώνται συνήθως από ενδοκυττάρια ή εξωκυττάρια πρωτεΐνες.

Για τη χρώση των ιστών ως μέθοδος χρησιμοποιήθηκε η αιματοξυλίνη Harris - ηωσίνη (Luna, 1968) όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα

Αντιδραστήριο	Χρόνος παραμονής του ιστού
Ξυλόλη	5 λεπτά
Ξυλόλη	5 λεπτά
Ξυλόλη	5 λεπτά
Απόλυτη αλκοόλη (αιθανόλη)	2 λεπτά
95% αλκοόλη	3 λεπτά
95% αλκοόλη	3 λεπτά
80% αλκοόλη	3 λεπτά
Αποσταγμένο νερό	5 λεπτά
Αιματοξυλίνη Harris	5 λεπτά
Τρεχούμενο νερό σε σταγόνες	10 λεπτά
Όξινη αλκοόλη	5 εμβαπτίσεις
Νερό βρύσης	5 εμβαπτίσεις
Αμμωνιούχο νερό	5 εμβαπτίσεις (μέχρι ο ιστός να γίνει μπλέ)
Νερό βρύσης	5 εμβαπτίσεις
Ηωσίνη	10 εμβαπτίσεις
95% αλκοόλη	30 δευτερόλεπτα
95% αλκοόλη	30 δευτερόλεπτα
Απόλυτη αλκοόλη	1 λεπτό

Ευλόγη	5 λεπτά
Ευλόγη	5 λεπτά
Ευλόγη	5 λεπτά

B.5.2. Ιστοχημική χρώση picrosirius red

Για την ιστοχημική αυτή χρώση χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο σκόνη Sirius Red C.I. 35780 (PolySciences, USA Κωδ 09400) σε κεκορεσμένο διάλυμα πικρικού οξέος (Picric Acid –solution 1.2% AppliChem A2520, USA Κωδ 0500). Η χρώση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο [http://www.ihcworld.com/_protocols/special_stains/Sirius_red]

Παρασκευή των απαραίτητων διαλυμάτων:

Παρασκευή Picro-sirius red σε διάλυμα

Sirius Red	0.5g
Picric Acid	500ml

Παρασκευή διαλύματος αιματοξυλίνης Weigert από τα Διαλύματα A & B με ανάμειξη τους λίγο πριν τη χρήση

Διάλυμα A:

Αιματοξυλίνη	1g
Αλκοόλη 95%	100ml

Διάλυμα B:

29% Ferric Chloride σε H ₂ O	4ml
H ₂ O	95ml

Παρασκευή οξινισμένου H₂O

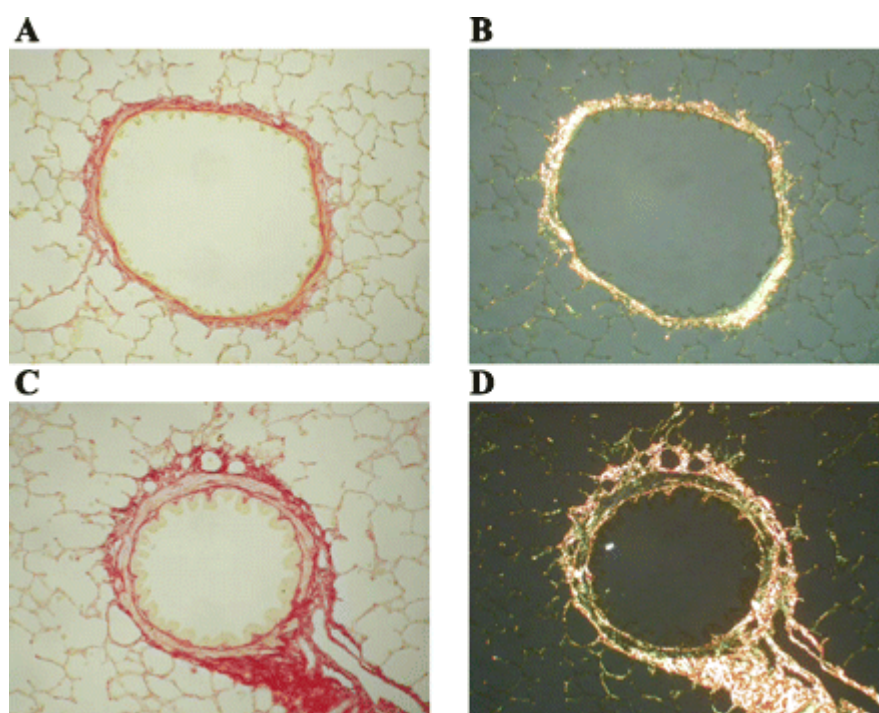
Συμπυκνωμένο HCL	1ml
------------------	-----

Acetic Acid	5ml
H ₂ O	1lt

Διαδικασία		Χρόνος Επώασης
Αποπαραφίνωση	Ξυλόλη	5 λεπτά
	Ξυλόλη	5 λεπτά
	Απόλυτη αλκοόλη	2 λεπτά
	95% αλκοόλη	3 λεπτά
	95% αλκοόλη	3 λεπτά
	70% αλκοόλη	3 λεπτά
	Αποσταγμένο νερό	5 λεπτά
Χρώση με αιματοξυλίνη Weigert		8 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης		10 λεπτά
Χρώση με Picrosirius red		60 λεπτά
Ξέπλυμα με οξινισμένο H ₂ O 2φορές		
Αφυδάτωση πλακιδίων	95% αλκοόλη	30 δευτερόλεπτα
	95% αλκοόλη	30 δευτερόλεπτα
	Απόλυτη αλκοόλη	1 λεπτό
	Ξυλόλη	5 λεπτά
	Ξυλόλη	5 λεπτά
	Ξυλόλη	5 λεπτά
Προσθήκη καλυπτικού υγρού Entellan (Merck) και καλυπτρίδας		

B.5.3 Προσδιοριζόμενες ιστολογικές παράμετροι

Από τις παραπάνω ιστοχημικές χρώσεις Αιματοξυλίνης-Ηωσίνης και Picrosirius Red προσδιορίστηκαν στην πρώτη περίπτωση η ιστολογία/μορφολογία του ιστοτεμαχίου και στη δεύτερη περίπτωση η εναπόθεση κολλαγόνου υπό κανονικό και πολωτικό φως. Η εκτίμηση έγινε σε μικροσκόπιο Zeiss που διαθέτει και φίλτρα πολωτικού φωτός, ώστε να είναι εφικτή η λήψη φωτογραφιών και στις δυο συνθήκες. Στο κανονικό φως ανιχνεύεται η εναπόθεση κολλαγόνου ως ερυθρά σε αχνό κίτρινο υπόστρωμα. Στην περίπτωση πολωτικού φωτός οι μεγάλες ίνες κολλαγόνου χρωματίζονται κίτρινες ή πορτοκαλί και συνεπώς αναδεικνύονται από το σύνολο του αποτιθέμενου κολλαγόνου.



Εικ 18. Αριστερά (A-C) εικόνες με picrosirius red σε κανονικό φως και Δεξιά (B-D) με πολωτικό [http://ajplung.physiology.org/content/294/4/L612]

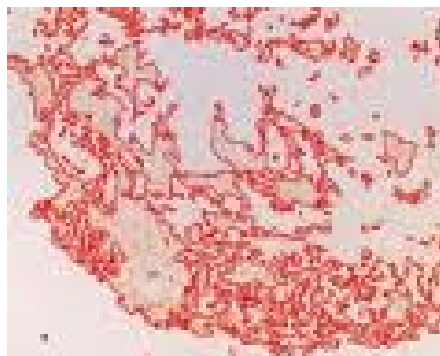
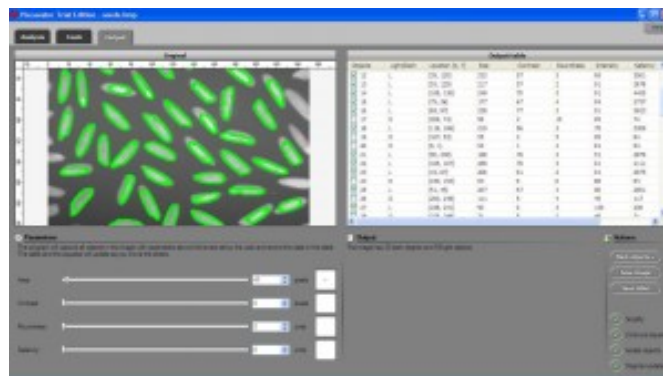
Για την ποσοτική μέτρηση της εναπόθεσης κολλαγόνου και την ανίχνευση της διαφοροποίησης χρησιμοποιήθηκε κατά κύριο λόγο το μορφομετρικό πρόγραμμα Pixcavator. Τα αποτελέσματα μετρήθηκαν και αξιολογήθηκαν και με δεύτερο

μορφομετρικό πρόγραμμα το Cell Profiler, το οποίο επιβεβαίωσε τις εκτιμήσεις του πρώτου. Πιο αναλυτικά παρουσιάζονται τα δυο προγράμματα παρακάτω:

Μορφομετρικό πρόγραμμα Pixcavator

Το μορφομετρικό πρόγραμμα Pixcavator δημιουργήθηκε από την εταιρεία Intelligent Perception για την επεξεργασία, ανάλυση και διαχείριση υπολογιστικών οπτικών δεδομένων, που απευθύνεται σε ερευνητές και επιστήμονες χωρίς εξειδικευμένες γνώσεις σε υπολογιστές.

Η λογική του προγράμματος βασίζεται στην αναγνώριση και ταυτοποίηση της περιμέτρου στοιχείων σε μια εικόνα και η καταγραφή σε excel των μετρήσεων και της θέσης των αντικειμένων. Η ανάλυση μπορεί να γίνει σε τρία επίπεδα:

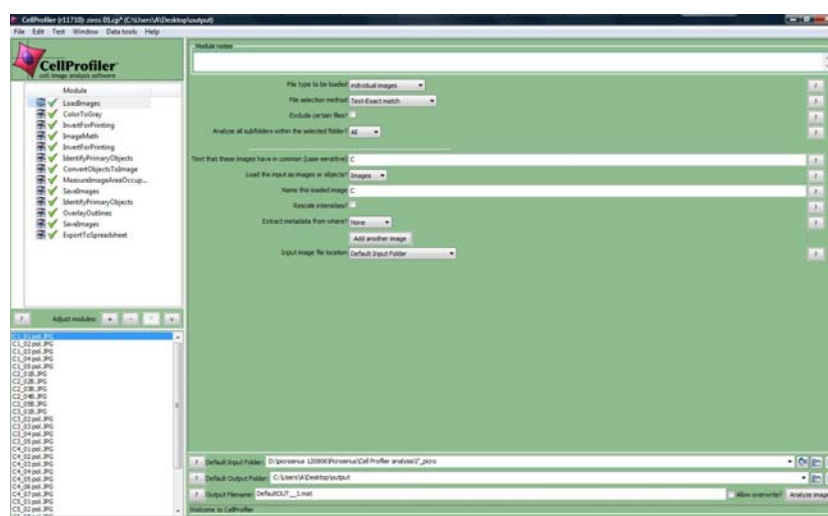


- ☐ Επίπεδο 1: αυτόματο. Δημιουργείται μια δομή- γραφική παράσταση που περιέχει όλα τα δεδομένα όλων των πιθανών αντικειμένων στην εικόνα.
- ☐ Επίπεδο 2: ημι-αυτόματο. Ο χρήστης μετακινεί τον κέρσορα στα αντίστοιχα αντικείμενα που επιθυμεί και μπορεί να τους αλλάξει το περίγραμμα και να επιλέξει τον καλύτερο διαχωρισμό. Τα αποτελέσματα στο excel ενημερώνονται αυτόματα.
- ☐ Επίπεδο 3: χειροκίνητο. Ο χρήστης μπορεί να αποκλείει το «θόρυβο» και τις άσχετες λεπτομέρειες αποεπιλέγοντάς τις.

Αυτός ο αλγόριθμος περιορίζει τον χειροκίνητο υποκειμενικό τρόπο εκτίμησης των περισσότερων προγραμμάτων μορφομετρίας και επιπλέον προσφέρει ευκολία στο χειρισμό. Περισσότερες πληροφορίες για το πρόγραμμα στο Pixcavator IA - Image Analysis - Free download and software reviews - CNET Download.com http://download.cnet.com/Pixcavator-IA-Image-Analysis/3000-2078_4-10622629.html#ixzz2khY7Q6uA

Μορφομετρικό πρόγραμμα CellProfiler

Αποτελεί ένα ελεύθερο πρόγραμμα που μπορεί κάθε χρήστης να κατεβάσει και να χρησιμοποιήσει από τον ιστότοπο www.cellprofiler.org και μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε macintosh όσο και σε PC και Unix. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για καταγραφή πληθώρας αντικειμένων από αποικίες βακτηρίων ως τη μορφολογία της πτέρυγας της *Drosophila*. Το πρόγραμμα αυτό στηρίζεται σε μια σειρά ενοτήτων (modules) που ανάλογα με την εφαρμογή μπορεί να επιλεγεί μοναδιαία αλληλουχία εντολών (pipeline) που να καλύπτει τις παραμέτρους που κάθε φορά ζητούνται. Συνοπτικά η διαδικασία περιλαμβάνει την φόρτωση των εικόνων προς μέτρηση στο πρόγραμμα, τη διόρθωση του φωτισμού, την ταυτοποίηση των αντικειμένων προς μέτρηση (με βάση παραμέτρους που θέτει ο χρήστης) και τη μέτρηση στοιχείων σχετικά με τα επιλεγμένα αντικείμενα. Ο χρήστης μπορεί να επέμβει με τη ρύθμιση των παραμέτρων που επιθυμεί ώστε να λαμβάνει αληθή στοιχεία και όχι «θόρυβο» (background).



B.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η κανονικότητα των κατανομών των δεδομένων ελέγχθηκε με τη δοκιμή Kolmogorov-Smirnov και γραφικές αναπαραστάσεις. Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων ανά δυο έγινε χρησιμοποιώντας το Student's t-test για τις κανονικές κατανομές και την παραμετρική δοκιμή Mann-Whitney's U test για τις μη κανονικές κατανομές. Οι διαφορές μεταξύ πολλαπλών ομάδων για τα παραμετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με τη δοκιμή ANOVA (μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης). Όταν η τιμή P ήταν <0.05 κατά την ANOVA, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή της εκ των υστέρων ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (LSD) για να εξεταστούν οι διαφορές μεταξύ των ομάδων μελέτης. Οι διαφορές των πολλαπλών ομάδων για τα μη παραμετρικά δεδομένα έγινε με τη δοκιμή Kruskal Wallis και εφαρμόζοντας τη δοκιμή U Mann-Whitney για πολλαπλή εκ των υστέρων ανάλυση. Οι συγκρίσεις μεταξύ δυο μετρήσεων εντός της ίδιας ομάδας έγινε με ζευγαρωτή ανάλυση t-test για τις κανονικές κατανομές ή με το Wilcoxon's signed rank test για τις μη κανονικές κατανομές. Όλες οι δοκιμές εξετάστηκαν αμφίδρομα. Οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές όταν η μηδενική υπόθεση μπορούσε να απορριφθεί με βεβαιότητα $>95\%$ ($p<0.05$). Οι τιμές για τα επίπεδα γλυκόζης στον ορό, που μετρήθηκαν με αυτόματο μετρητή γλυκόζης για την επιβεβαίωση της επαγωγής διαβήτη στα πειραματόζωα δεν συμπεριλήφθηκαν στη στατιστική ανάλυση των συγκριτικών τιμών της ίδιας ομάδας.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.1 ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ & ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Σωματικό βάρος. Μέτρηση του σωματικού βάρους κάθε πειραματόζωου ανά 10 μέρες. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι μέσοι όροι βαρών κατά την αρχική στιγμή (μέτρηση baseline) και στο τέλος του πειράματος (πριν την ευθανασία των πειραματόζωων).

Πίνακας 1.

Ομάδες	D-NGI	D-LGI	C-NGI	Διαφορές μεταξύ των ομάδων
Αρχικό σωματικό βάρος (σε g) – μέρα 0	268.00 ± 11.81	290.25 ± 40.22	288.5 ± 34.96	NS
Τελικό σωματικό βάρος (σε g) – 60 ^η μέρα	303.88 ± 13.79*	285.25 ± 39.06	328.16 ± 26.94*	D-LGI ως προς C-NGI, P = 0.012

D-NGI: διαβητικά ποντίκια που λαμβάνουν διατροφή με κανονικό γλυκαιμικό δείκτη; D-LGI: διαβητικά ποντίκια που λαμβάνουν διατροφή με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη; C-NGI: κανονικά ποντίκια της ομάδας ελέγχου που λαμβάνουν διατροφή με κανονικό γλυκαιμικό δείκτη. NS= στατιστικά μη σημαντικό. *: $p < 0.05$ ως προς τη μέτρηση Baseline

Οι ομάδες D-NGI και C-NGI παρουσιάζουν σημαντική αύξηση στα επίπεδα σωματικού βάρους κατά το πέρας της πειραματικής διαδικασίας, δηλ την 60^η ημέρα. Κατά τη σύγκριση των αρχικών επιπέδων με τα τελικά επίπεδα του σωματικού

βάρους βρέθηκε διαφορά τόσο στα D-NGI ($P < 0.001$) όσο και στην ομάδα ελέγχου ($P = 0.001$), ενώ το σωματικό βάρος για την ομάδα D-LGI παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητο σε όλη τη μελέτη ($P = 0.123$). Στο τέλος της μελέτης η ομάδα D-LGI παρουσίαζε σημαντική μείωση σωματικού βάρους σε σχέση με την ομάδα ελέγχου μη διαβητικών ποντικών (Πίνακας 1).

Η ενδοφλέβια χορήγηση STZ στα ποντίκια επηρέασε τα επίπεδα γλυκόζης τους στο αίμα (Πίνακας 2) και είχε ως αποτέλεσμα τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης του ορού (>200 mg/dl σε όλα τα ζώα) σε όλα τα ζώα των ομάδων D-NGI και D-LGI (μέσος όρος $\pm$ σταθερή απόκλιση: 426.50 ± 150.52 ; 376.87 ± 102.64 mg/dl για τις ομάδες D-NGI και D-LGI, αντίστοιχα).

Με το πέρας του πειράματος, τα πειραματόζωα της ομάδας D-NGI εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα γλυκόζης, ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ορού σε σχέση με τα αντίστοιχα πειραματόζωα της ομάδας D-LGI ($P = 0.023$, $P = 0.05$ and $P = 0.032$; γλυκόζη ορού, ολική χοληστερόλη ορού και επίπεδα τριγλυκεριδίων, αντίστοιχα).

Στην ομάδα D-NGI, τα επίπεδα γλυκόζης του ορού ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα την 60^η μέρα της μελέτης σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα ($P = 0.008$). Σχετικά με τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης του ορού σε αυτή την ομάδα, δεν διέφεραν από τις αρχικές τιμές (baseline) ($P = 0.591$). Τα επίπεδα τριγλυκεριδίων του ορού στο τέλος της μελέτης ήταν χαμηλότερα από τις αρχικές τιμές αναφοράς (baseline) ($P = 0.02$) (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Βιοχημικές παράμετροι του ορού (Μέσος όρος $\pm$ Σταθερή Απόκλιση) σε διαφορετικές χρονικές στιγμές

Παράμετρος	Χρόνος (σε μέρες)	D-NGI	D-LGI	Διαφορές μεταξύ των ομάδων
Γλυκόζη (mg/dl)				
		144.00 $\pm$		NS
	0	21.46	154.62 $\pm$ 26.4	
	Ως 5 μέρες μετά τη χορήγηση του STZ – μέτρηση με γλυκόμετρο	426.50 $\pm$	376.87 $\pm$	NS
		150.52	102.64	
		395.75 $\pm$	211.63 $\pm$	P = 0.023
	60	199.65*	40.43*	
Χοληστερόλη (mg/dl)				
	0	66.75 $\pm$ 7.11	58.75 $\pm$ 9.97	NS
	60	69.50 $\pm$ 17.14	56.75 $\pm$ 8.81	P = 0.05
Τριγλυκερίδια (mg/dl)				
		139.75 $\pm$		NS
	0	29.18	122.75 $\pm$ 41.8	
				P = 0.032
	60	89.5 $\pm$ 35.02*	55.5 $\pm$ 20.17*	

D-NGI: διαβητικά ποντίκια που λαμβάνουν διατροφή με κανονικό γλυκαιμικό δείκτη; D-LGI: διαβητικά ποντίκια που λαμβάνουν διατροφή με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη; C-NGI: κανονικά ποντίκια της ομάδας ελέγχου που λαμβάνουν διατροφή με κανονικό γλυκαιμικό δείκτη. NS= στατιστικά μη σημαντικό. *: $p < 0.05$ ως προς τη μέτρηση Baseline

Οι τιμές της γλυκόζης ορού μετρήθηκαν με αυτόματο γλυκομετρητή μετά τη χορήγηση STZ δεν συμπεριλήφθηκαν στη στατιστική ανάλυση των συγκρίσεων στην ίδια ομάδα σε διαφορετικές στιγμές.

Τα επίπεδα γλυκόζης του ορού στην ομάδα D-LGI την 60^η μέρα ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τις αρχικές τιμές αναφοράς (P = 0.024). Η συνολική συγκέντρωση χοληστερόλης στον ορό στην ομάδα D-LGI την 60^η ημέρα δεν διέφερε

από τα επίπεδα κατά την έναρξη του πειράματος ($P = 0.205$). Τέλος, τα επίπεδα τριγλυκεριδίων του ορού στην ομάδα D-LGI ήταν σημαντικά χαμηλότερα την 60η μέρα σε σχέση με την αρχή της μελέτης ($P = 0.001$).

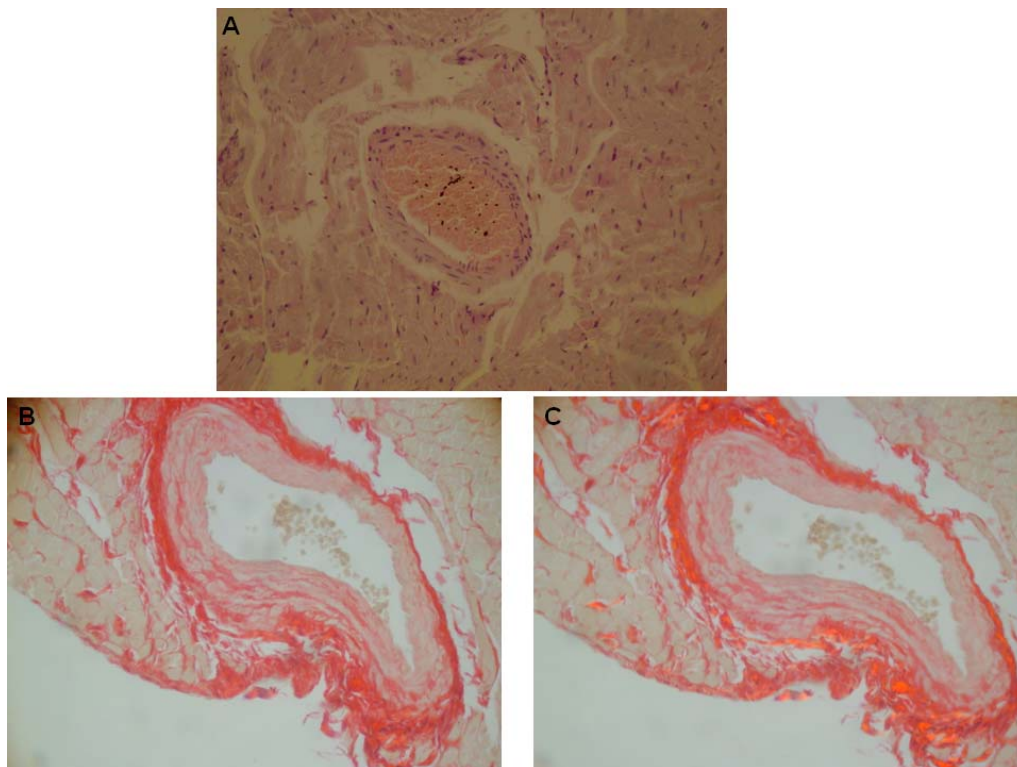
Γ.2 ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Δεδομένα από τη χρώση Αιματοξυλίνης Ηωσίνης (H&E)

Όπως αναφέρθηκε και στη μεθοδολογία η συνηθέστερη ιστολογική χρώση είναι η αιματοξυλίνη- ηωσίνη (H&E). Είναι μια διπλή χρώση όπου η χρώση αιματοξυλίνης εντοπίζεται πυρηνικά (μπλε ή μωβ χρώμα), ενώ η ηωσίνη παράγει κυτταροπλασματική χρώση (ρόδινα). Με αυτό τον τρόπο είναι εφικτή η παρατήρηση του ιστού καθώς τα κύτταρα και οι πυρήνες τους χρωματίζονται διακριτά και η διάταξή τους στο χώρο είναι εμφανής.

Με αυτή τη χρώση μακροσκοπικά και με απλή παρατήρηση στο μικροσκόπιο ήταν εμφανής η στένωση των αγγείων στην διαβητική ομάδα με κανονική διατροφή. Για να ποσοτικοποιηθεί αυτή η παρατήρηση χρησιμοποιήθηκε το εργαλείο του χάρακα του μορφομετρικού μας προγράμματος και εκτιμήθηκε η μέγιστη εξωτερική και εσωτερική διάμετρος των αγγείων του καρδιακού ιστού. Η μέτρηση έγινε επί φωτογραφιών αιματοξυλίνης/ηωσίνης που λήφθηκαν σε μεγέθυνση X200 σε οπτικό μικροσκόπιο. Ενώ η μέγιστη εξωτερική διάμετρος δεν ήταν διαφορετική στις τρεις ομάδες πειραματόζωων, υπήρχε τάση η μέγιστη εσωτερική διάμετρος να είναι μικρότερη στην ομάδα D-NGI σε σχέση με τις ομάδες D-LGI και C-NGI. Αυτό υποδηλώνει στένωση του αγγειακού αυλού, πιθανότατα λόγω αποθέσεων. Ο λόγος της μέγιστης εξωτερικής προς τη μέγιστη εσωτερική διάμετρο των καρδιακών αγγείων υπολογίστηκε και ήταν πράγματι μεγαλύτερη, αν και όχι σε στατιστικά

σημαντικά επίπεδα, στα πειραματόζωα της ομάδας D-LGI σε σχέση με την ομάδα D-NGI ($P=0,08$) (Εικόνα 19Α), εύρημα που επιβεβαιώνει και την αρχική οπτική εκτίμηση.



Εικόνα 19. Αντιπροσωπευτικές εικόνες από οπτικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 200X) (Α) Χρώσης Αιματοξυλίνης & Ηωσίνης. (Β) Χρώσης Picrosirius Red σε φυσιολογικό φως (C) Χρώσης Picrosirius Red σε πολωτικό φως.

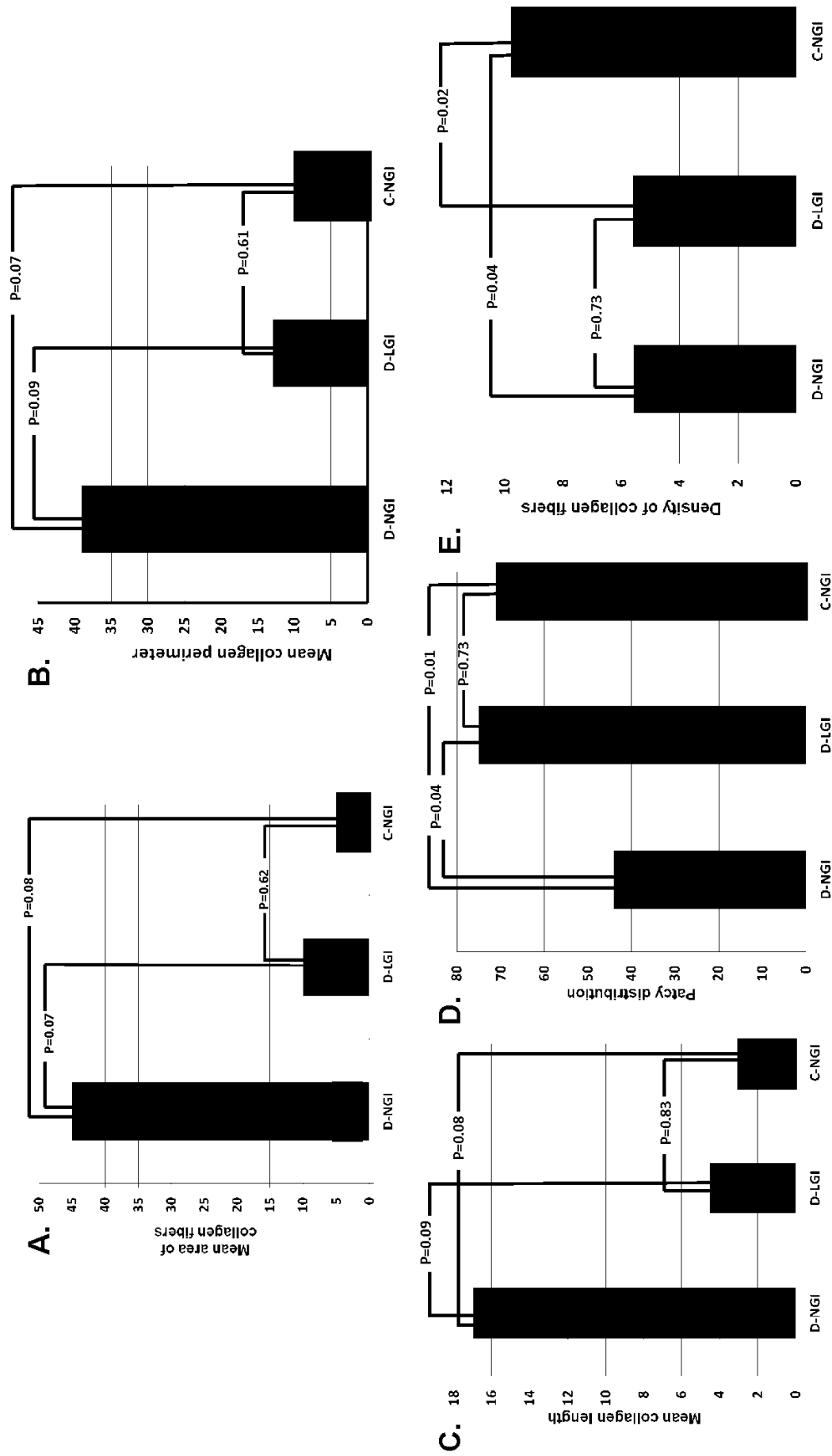
Δεδομένα από τη χρώση με Picrosirius red

Επειδή οι αποθέσεις που αναφέρονται παραπάνω εικάζεται ότι είναι κολλαγόνο, έγινε περαιτέρω ιστοχημική χρώση με Picrosirius Red. Η χρώση επιβεβαίωσε την αρχική υποψία ότι πρόκειται περί κολλαγόνου που βάφουν στο φυσικό φως κόκκινο σε αχνό κίτρινο υπόβαθρο (Εικόνα 19Β), ενώ όταν γίνεται μικροσκοπική ανάλυση σε πολωτικό φως τότε οι μεγάλες ίνες κολλαγόνου παρουσιάζονται ως έντονα κίτρινες ή πορτοκαλί ((Εικόνα 19C).

Από αυτή τη χρώση και με την περαιτέρω μορφομετρική ανάλυση φαίνεται ότι υπάρχει εμφανής διαφοροποίηση όλων των παραμέτρων που μετρήθηκαν και σχετίζονται με τις ίνες κολλαγόνου (δηλαδή, τη συσσώρευση, την απόθεση, το μήκος, την κατανομή την, περίμετρο και την πυκνότητά τους) μεταξύ των ομάδων D-NGI και D-LGI. Τα χαρακτηριστικά της ομάδας D-LGI προσεγγίζουν αυτά της ομάδας ελέγχου C-NGI, ως προς την απόθεση ινών κολλαγόνου στον καρδιακό ιστό των ποντικών (Εικόνα 20), αν και η παρουσία ινών στην πρώτη ομάδα είναι πιο εμφανής. Το μέσο εμβαδόν που καταλαμβάνουν οι ίνες κολλαγόνου είναι μεγαλύτερο, αν και δεν φτάνει σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα, στην ομάδα D-NGI σε σχέση με την ομάδα D-LGI ($P=0.07$) και την ομάδα C-NGI ($P=0.08$), οι οποίες δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά ($P=0.62$) (Εικόνα 20A).

Το ίδιο ισχύει για τη μέση περίμετρο του κολλαγόνου που τείνει να είναι μεγαλύτερη, αν και δεν φτάνει σε στατιστικά σημαντικά ποσοστά, στην ομάδα D-NGI σε σχέση με τις ομάδες D-LGI ($P=0.09$) και C-NGI ($P=0.07$). Και πάλι οι ομάδες D-LGI και C-NGI δε διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη μέση περίμετρο των ινών κολλαγόνου ($P=0.61$) (Εικόνα 20B).

Επιπλέον το μέσο μήκος των ινών κολλαγόνου και αυτό είναι υψηλότερο στην ομάδα D-NGI σε σχέση με τις ομάδες D-LGI ($P=0.09$) και C-NGI ($P=0.08$) αλλά και πάλι δε φτάνει σε στατιστικά σημαντική διαφορά. Όπως και παραπάνω κατά τη σύγκριση των ομάδων group D-LGI και ομάδας ελέγχου, δεν υπήρχε διαφορά ($P=0.83$) (Εικόνα 20C).



Από την άλλη, η κατά τόπους (patchy) κατανομή κολλαγόνου φαίνεται να είναι στατιστικά χαμηλότερη στην ομάδα D-NGI σε σχέση με τις ομάδες D-LGI ($P=0.04$) και C-NGI ($P=0.01$) ενώ και πάλι οι δύο τελευταίες δε φαίνεται να διαφέρουν μεταξύ τους ($P=0.73$) (Εικόνα 20D), γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι ίνες κολλαγόνου είναι πιο εστιακές και συγκεντρωμένες στους ιστούς που προέρχονται από την ομάδα D-NGI.

Η τελευταία παράμετρος που μετρήθηκε ήταν η πυκνότητα του κολλαγόνου που εμφανίζει τιμή χαμηλότερη στις ομάδες D-NGI και D-LGI –χωρίς ουσιαστική διαφοροποίηση μεταξύ τους ($P=0.73$) – σε σχέση με την ομάδα C-NGI (D-NGI προς C-NGI και D-LGI προς C-NGI; $P=0.04$ και $P=0.02$ αντίστοιχα) (Εικόνα 20E). Αυτό υποδηλώνει ότι η συσσώρευση ινών (προηγούμενη παράμετρος) δεν οδηγεί αναγκαστικά σε μεγαλύτερη πυκνότητά τους, ενώ αυτό το εύρημα είναι μάλλον αναμενόμενο λόγω του διαβητικού υπόβαθρου και πιθανότατα δεν επηρεάζεται από τη διατροφή.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ως σακχαρώδης διαβήτης ορίζεται ένα σύνολο μεταβολικών ασθενειών με βασικό χαρακτηριστικό τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, τα οποία οφείλονται συνήθως είτε σε ελαττωματική έκκριση της ινσουλίνης είτε σε ελαττωματική δράση της, ενώ είναι δυνατό να παρατηρηθούν ταυτόχρονα και οι δυο καταστάσεις [American Diabetes Association, 2008]. Για πολλά χρόνια θεωρήθηκε ως μια ασθένεια χαμηλής σημαντικότητας, ωστόσο τις τελευταίες δυο δεκαετίες κυρίως λόγω της δυτικοποίησης του τρόπου ζωής μεγάλου ποσοστού του πληθυσμού παγκοσμίως, αυξάνει συνεχώς η επίγνωση της σημασίας του στην ανθρωπινή υγεία καθώς ο αριθμός των ανθρώπων που διαγιγνώσκονται με την συγκεκριμένη ασθένεια αυξάνεται θεαματικά [Imes CC *et al.*, 2014; Rahati S *et al.*, 2014].

Οι ασθενείς που πάσχουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, και ειδικά όσοι δεν ελέγχουν ικανοποιητικά τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, είναι πιθανό να εμφανίσουν μικροαγγειακές και μακροαγγειακές μεταβολές, που με τη σειρά τους θα προκαλέσουν ανεπανόρθωτες βλάβες στους οφθαλμούς (αμφιβληστρο- ειδωπάθεια, καταρράκτης), στους νεφρούς (νεφροπάθεια), στο νευρικό σύστημα (νευροπάθειες και παραισθησίες) και στην καρδιά (επιταχυνόμενη αθηροσκλήρυνση), καθώς επίσης υποτροπιάζουσες λοιμώξεις και καθυστερημένη επούλωση τραυμάτων.

Παρά τις επισταμένες μελέτες και την ευρεία διαθεσιμότητα των αντιδιαβητικών φαρμάκων (κυρίως ινσουλίνης), ο γλυκαιμικός έλεγχος παραμένει ακόμη μεγάλη πρόκληση στην αντιμετώπιση των διαβητικών ασθενών. Ο κύριος λόγος για τη σημασία γλυκαιμικού δείκτη είναι το γεγονός ότι η υπεργλυκαιμία επάγει την παραγωγή των προηγμένων παραπροϊόντων γλυκοσυλίσωσης (AGEs), που με τη

σειρά τους μέσα από ένα πολύπλοκο μονοπάτι καταλήγουν στην μυοκαρδιοπάθεια [Varga ZV *et al.*, 2014].

Η καρδιακή ανεπάρκεια λόγω της διαστολικής κοιλιακής δυσλειτουργίας είναι ένα από τα χαρακτηριστικά της DCM και μπορεί να εμφανιστεί στα αρχικά στάδια του διαβήτη. Πιο συγκεκριμένα, οι αντιδραστικές οξειδωτικές ρίζες (ROS) αντιδρούν με τα λιπίδια και τα σάκχαρα και επάγουν τη δημιουργία αντιδραστικών ηλεκτρόφιλων καρβονυλικών ριζών, οι οποίες με τη σειρά τους δημιουργούν αντιδράσεις με πρωτεΐνες δημιουργώντας σταθερές ενώσεις (AGEs, ALEs and EAGLEs) και δεσμούς [Cooper ME, 2004]. Το πλέγμα του αγγειακού τοιχώματος γίνεται λιγότερο διατάσιμο και η δημιουργία αυτών των παραπροϊόντων μειώνει το φυσιολογικό ρυθμό αποδόμησης του κολλαγόνου. Με αυτό το μηχανισμό, προκαλείται η μυοκαρδιακή ίνωση λόγω μεταβολικών δυσλειτουργιών και θεωρείται ότι είναι η αρχική διαφοροποίηση που σχετίζεται με τη διαβητική καρδιομυοπάθεια [Kohda Y *et al.*, 2009; Ciulla MM *et al.*, 2011].

Επομένως υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η εναπόθεση κολλαγόνου στο καρδιακό ενδιάμεσο χώρο θα μπορούσε να είναι κύριος παράγοντας που συμβάλλει στην καρδιακή δυσλειτουργία. Μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έδειξαν ότι οι αλλαγές στη διαμόρφωση του κολλαγόνου στο μυοκάρδιο στην ισχαιμική και μη καρδιοπάθεια παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη κοιλιακής δυσλειτουργίας. [Naito J *et al.*, 2001]. Η συσσώρευση κολλαγόνου σχετίζεται επίσης και τη σοβαρότητα της καρδιακής ανεπάρκειας, το βαθμό της αιμοδυναμικής βλάβης, την υπονατριαιμία και την αναγκαιότητα μεταμόσχευσης καρδιάς [Sakakibara M *et al.*, 2011]. Αντίθετα υπερτασικοί ασθενείς που έλαβαν αναστολείς του ενζύμου μετατροπής της αγγιοτενσίνης ή αναστολείς πρόσδεσης στον υποδοχέα της αγγιοτενσίνης παρουσίασαν ελάττωση στην μυοκαρδιακή ίνωση και την κοιλιακή

υπερτροφία, άσχετα με τη μείωση της πίεσης του αίματος, τη βελτίωση της συστολικής και διαστολικής κοιλιακής λειτουργίας, των καρδιακών αρρυθμιών και των κλινικών συμπτωμάτων, καθώς και της ελάττωσης της κοιλιακής μάζας [Westerlund Montera M *et al.*, 2009].

Έχειδειχτεί εδώ και καιρό ότι η παχυσαρκία που προκαλείται σε ποντίκια με χημικά επαγόμενο διαβήτη είναι ένας αρνητικός προδιαθεσικός παράγοντας για έμφραγμα του μυοκαρδίου [Thakker GD *et al.*, 2006]. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η τροποποίηση της διατροφής, όπως η αύξηση της πρόσληψης ινών, μπορεί να βελτιώσει την ευαισθησία σε ινσουλίνη, την ανοχή στη γλυκόζη και άλλες μεταβολικές διαταραχές που σχετίζονται με το διαβήτη [Galisteo M *et al.*, 2008]. Αυτό το εύρημα συμφωνεί και με αντίστοιχα ευρήματα σε ανθρώπους που έδειξαν ότι η αυξημένη μυοκαρδιακή ίνωση, η έκφραση της (καρβοξυμεθυλ) λυσίνης (CML), η υπερτροφία του μυοκαρδίου και η διαταραγμένη μικρο-αγγειακή δικτύωση που έχουν ήδη περιγραφεί στην καρδιακή νόσο των διαβητικών είναι μάλλον το αποτέλεσμα και όχι η αρχική αιτία της καρδιακής δυσλειτουργίας [Campbell DJ *et al.*, 2011].

Επιπλέον σε πειραματικά μοντέλα ποντικών με επαγόμενο διαβήτη λόγω STZ, παρατηρείται οξειδωτικό στρες και υπερπαραγωγή AGE σε μια περίοδο υπεργλυκαιμίας 6 βδομάδων. Επιπλέον αυξάνει και η παραγωγή προ-ινογόνων γονιδίων και η εναπόθεση ECM, που οδηγεί αναπόφευκτα σε καρδιακή δυσλειτουργία. Η υπεργλυκαιμία έχει επίσης βρεθεί ότι επάγει την έκφραση του αυξητικού παράγοντα του συνδετικού ιστού (CTGF), γεγονός που προηγείται της συσσώρευσης ECM [Aragno M *et al.*, 2008].

Καθώς το μοντέλο των ποντικών με πειραματικά επαγόμενο διαβήτη λόγω STZ αποτελούν ένα καλά μελετημένο σύστημα για τη μελέτη του διαβήτη τύπου I,

χρησιμοποιήσαμε το σύστημα αυτό για να μελετήσουμε την εναπόθεση κολλαγόνου σε καρδιακό ιστό και να προσπαθήσουμε να διαλευκάνουμε το μηχανισμό της μυοκαρδιοπάθειας στο διαβήτη.

Είναι γνωστό ότι η στρεπτοζοτοκίνη (STZ) επάγει αλλαγές στα επίπεδα της γλυκόζης του ορού σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα από τη χορήγησή του σε ποντίκια Wistar rats [Komolafe O *et al.*, 2008]. Στη μελέτη μας η αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης στον ορό παρατηρείται σε όλα τα ζώα που δόθηκε STZ μέσα σε 5 μέρες από τη χορήγηση.

Ο γλυκαιμικός δείκτης στη μελέτη μας, επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα γλυκόζης ορού στα ποντίκια που δόθηκε STZ. Συγκεκριμένα τα επίπεδα γλυκόζης ορού στην ομάδα διαβητικών ζώων με διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη (D-LGI) ήταν χαμηλότερη στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας σε σχέση με τα διαβητικά ποντίκια που έλαβαν κανονική διατροφή.

Οι αλλαγές στο γλυκαιμικό δείκτη της διατροφής θεωρούνται ως ουσιαστικό και αποτελεσματικός τρόπος παρέμβασης και αντιμετώπισης του διαβήτη [Burani J *et al.*, 2006; Marsh K *et al.*, 2011]. Τα αποτελέσματά μας είναι σε πλήρη συμφωνία με αυτές τις μελέτες, καθώς δείχνουν την ευεργετική επίδραση της διατροφής χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη (LGI) στα επίπεδα γλυκόζης ορού και σωματικού βάρους.

Μελέτη στις συγκεντρώσεις γλυκόζης στο αίμα μετά από γεύμα σε ασθενείς με διαβήτη τύπου I και έλαβαν διατροφή χαμηλού και υψηλού γλυκαιμικού δείκτη για μια χρονική περίοδο 24 ωρών έδειξε βελτιωμένα επίπεδα γλυκόζης ορού σε σχέση με ασθενείς που την ίδια περίοδο έλαβαν διατροφή με υψηλή και χαμηλή περιεκτικότητα ινών [Riccardi G *et al.*, 2008]. Αυτά τα δεδομένα συμφωνούν με παλαιότερη μελέτη, όπου η αντικατάσταση της διατροφής με σιτάρι (υψηλός γλυκαιμικός δείκτης) με αντίστοιχη διατροφή με αλεύρι από φασόλια (χαμηλός

γλυκαιμικός δείκτης) για 5 βδομάδες είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της γλυκόζης του πλάσματος σε φυσιολογικά ποντίκια αλλά όχι σε διαβητικά [Lerer-Metzger M *et al.*, 1996].

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η διατροφή με υψηλά λιπαρά, άσχετα αν συνοδεύεται από παχυσαρκία και συνοδά προβλήματα, επάγει αλλαγές στην οξείδωση της καρδιάς και στη διαχείριση του ασβεστίου και συνεπώς είναι παράγοντας κινδύνου για μυοκαρδιοπάθεια [Littlejohns B *et al.*, 2014]. Στη μελέτη μας, τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης την 60^η μέρα για τις ομάδες D-NGI και D-LGI δεν διέφεραν σε σχέση με τις αντίστοιχες αρχικές τους τιμές, ενώ τα επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού ήταν μειωμένα και στις δυο ομάδες διαβητικών ποντικών (ανεξάρτητα της διατροφής που είχαν λάβει) σε σχέση με τις αντίστοιχες αρχικές τους τιμές. Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ότι η χορήγηση STZ σε ποντίκια μειώνει τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης στον ορό κάποιες ώρες μετά την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του φαρμάκου [Ragbetli C & Ceylan E, 2010]. Άλλες μελέτες δείχνουν ότι τριπλή χορήγηση χαμηλής δόσης (40 mg/Kg) STZ σε αρσενικά ποντίκια αλμπίνο CD1 είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης του ορού σε διαβητικά σε σχέση με μη διαβητικά ζώα μέχρι και 28 μέρες από τη χορήγηση του STZ [Ventura-Sobrevilla J *et al.*, 2011]. Αντίθετα άλλες μελέτες έδειξαν αύξηση της ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, της LDL και της VLDL χοληστερόλης και σημαντική μείωση της HDL χοληστερόλης του ορού σε ποντίκια με χημική επαγωγή διαβήτη λόγω STZ [Komolafe O *et al.*, 2008].

Υπάρχουν αναφορές ότι οι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μειώνουν τα επίπεδα λιπαρών οξέων, τριγλυκεριδίων στο πλάσμα καθώς και τον όγκο των λιποκυττάρων τόσο στα φυσιολογικά όσο και στα διαβητικά πειραματόζωα [Lerer-Metzger M *et al.*, 1996]. Επιπλέον, η επιλογή τροφών με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη

έχει όφελος και για υγιή άτομα ως προς τον μεταβολισμό των λιπιδίων μετά το γεύμα [Rizkalla SW *et al.*, 2002]. Παρόμοια συμπεράσματα έχουμε και στη δικιά μας μελέτη όπου η χορήγηση τροφών με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη σε διαβητικά ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων του ορού σε σύγκριση με τα διαβητικά ποντίκια που έλαβαν κανονική τροφή.

Έχει προταθεί ότι ο μακροχρόνιος διαβήτης συνοδεύεται από απόθεση κολλαγόνου στον ενδιάμεσο χώρο του καρδιακού ιστού. Ο Tang και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης προάγουν την παραγωγή κολλαγόνου τύπου I και III σε *in vitro* πειράματα σε καρδιακούς ινοβλάστες [Tang M *et al.*, 2007]. Η μυοκαρδιακή ίνωση, που προκύπτει από την αυξημένη παραγωγή κολλαγόνου στους καρδιακούς ινοβλάστες, ενέχεται στην παθογένεση της καρδιομυοπάθειας λόγω διαβήτη [Aneja A *et al.*, 2008]. Στη μελέτη μας, οι παράμετροι που αφορούν στην καταλαμβανόμενη επιφάνεια, την περίμετρο που καλύπτουν και το μήκος των ινών φαίνεται να αυξάνουν στην ομάδα των διαβητικών ποντικών που λάμβαναν κανονική διατροφή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και τη διαβητική ομάδα που λάμβανε διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η απόθεση κολλαγόνου, που μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της παραγωγής κολλαγόνου, επάγεται σε μεταβολικά ανεπαρκή άτομα που δεν προσαρμόζουν ανάλογα τη διατροφή τους. Επιπλέον, μια διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μπορεί να διορθώσει εν μέρει το διαβητικό υπόβαθρο, εξισορροπώντας κατά κάποιο τρόπο τη βλάβη.

Η ίνωση του ενδιάμεσου χώρου και περιαγγειακά αποτελεί την ιστολογική επιβεβαίωση της καρδιομυοπάθειας λόγω διαβήτη (DCM), και της παθολογικής υπερτροφίας των καρδιομυοκυττάρων που τη συνοδεύουν [Sunil K *et al.*, 2011].

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας στα διαβητικά ζώα που λάμβαναν κανονική διατροφή όχι μόνο αυξήθηκε η ποσότητα των ινών κολλαγόνου αλλά υπήρξε και ποιοτική αλλαγή της κατανομής τους. Η κατά τόπους (patchy) κατανομή του κολλαγόνου που περιγράφει τη χωρική τους κατανομή μειώνεται στην ομάδα D-NGI, υποδηλώνοντας ότι η απόθεση των ινών κολλαγόνου γίνεται εστιακά και με πιο εντοπισμένο τρόπο. Βέβαια αυτή η διαπίστωση δεν υποδηλώνει με κανένα τρόπο ότι η διάταξη του κολλαγόνου είναι πυκνότερη σε αυτές τις περιοχές συνάθροισης των ινών, καθώς και η παράμετρος της πυκνότητας μειώνεται ανάλογα.

Λαμβάνοντας όλα τα παραπάνω υπόψη, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το κολλαγόνο καταλαμβάνει μεγαλύτερη μέση επιφάνεια, καλύπτει μεγαλύτερη περίμετρο αλλά παραμένει εστιακή χωρίς να αυξάνει η πυκνότητα, πιθανώς επειδή παράγονται μακρύτερες ίνες κολλαγόνου. Αυτά τα δεδομένα είναι μάλλον άμεση απόδειξη ανακατανομής και αναδιάταξης του κολλαγόνου στα διαβητικά ζώα και ότι η διατροφή επηρεάζει ουσιαστικά το πρότυπο αυτό. Πρόσφατη έρευνα συμφωνεί με τα δικά μας ευρήματα [Shamhart PE *et al.*, 2014].

Η μείωση της συσσώρευσης γλυκογόνου στους διαβητικούς ιστούς μπορεί να είναι ένδειξη της βλάβης στα ενεργειακά αποθέματα του ιστού μαζί με μειωμένη λειτουργική χωρητικότητα. Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι τα μειωμένα επίπεδα γλυκογόνου στη διαβητική καρδιά μπορεί να θεωρηθούν ως ένδειξη αρχόμενης καρδιακής δυσλειτουργίας, συνεπεία της επαγωγής διαβήτη. Μέσα στα ίδια πλαίσια, άλλες μελέτες προτείνουν άμεση συσχέτιση της υπεργλυκαιμίας και των καταστροφικών δομικών αλλαγών που εμφανίζονται στο διαβητικό μυοκάρδιο, όπως η υπερτροφία των μυοκυττάρων, η αγγειακή ίνωση και η αυξημένη εναπόθεση κολλαγόνου [El-Wakf AM *et al.*, 2011]. Στη μελέτη μας, η εμφανής αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στα ποντίκια που ανήκουν στην ομάδα D-NGI σε σχέση με τα

ζώα που ανήκουν στην ομάδα D-LGI, σχετίζεται άμεσα με τον αριθμό ινών και τη συνολική επιφάνεια που αυτές καταλαμβάνουν και αυτό συμφωνεί πλήρως με ήδη δημοσιευμένες εργασίες τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους [Lim K *et al.*, 2012].

Οι ανωμαλίες στο μεταβολισμό των λιπιδίων έχουν περιγραφεί συχνά στην καρδιομυοπάθεια, όπου ο ρυθμός πρόσληψης ελεύθερων λιπαρών οξέων από το μυοκάρδιο είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη σοβαρότητα της μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας [Yazaki Y *et al.*, 1999]. Τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων έχουν κατηγορηθεί για την παθογένεια της καρδιομυοπάθειας ως κύριος εμπλεκόμενος παράγοντας. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι στη μελέτη μας η αυξημένη απόθεση κολλαγόνου στο μυοκάρδιο δε συνοδεύεται από διαταραγμένα επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων του ορού. Η αύξηση των επιπέδων γλυκόζης του ορού μπορεί να είναι ο μόνος κύριος εμπλεκόμενος στα μεταβολικά μονοπάτια που οδηγούν στην ιστολογική καταστροφή του καρδιακού ιστού, στα πειράματά μας.

Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ο γλυκαιμικός δείκτης της διατροφής επηρεάζει την εναπόθεση κολλαγόνου στον μυοκαρδιακό ιστό, σε ποντίκια με επαγόμενο διαβήτη λόγω STZ. Επεκτείνοντας τα ευρήματά μας, θα μπορούσαμε να συνάγουμε ότι οι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μπορεί να ωφελούν τόσο τα διαβητικά όσο και τα μη διαβητικά άτομα, αφού η εναπόθεση κολλαγόνου είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για καρδιομυοπάθεια, ανεξάρτητα της μεταβολικής προδιάθεσης του ατόμου.

Πλέον ο γλυκαιμικός δείκτης (GI) επέστησε την προσοχή του κοινού και οι διαβαθμίσεις του έχουν αρχίσει να εμφανίζονται στις συσκευασίες τροφίμων. Ο γλυκαιμικός δείκτης σχετίζεται με την ποιότητα και όχι με την ποσότητα των υδατανθράκων, ενώ και η ποσότητα του τροφίμου παίζει πολύ σημαντικό ρόλο.

Γενικά, η δομή του τροφίμου είναι τόσο σημαντική όσο και ο τύπος υδατανθράκων που περιέχει. Τα σιτηρά ολικής αλέσεως, για παράδειγμα, είναι σχετικά ανθεκτικά στην πέψη, αλλά, αν αλεστούν και ψηθούν, πέπτονται εύκολα.

Από το 1981, που ο Jenkins άρχισε την έρευνα πάνω στο γλυκαιμικό φορτίο και τον έλεγχο της γλυκόζης του αίματος [Jenkins DJ *et al.*, 1981], μέχρι το 2002 που ο Willet και οι συνεργάτες του [Willett W *et al.*, 2002] συνέχισαν την έρευνα και συμπέραναν ότι η αντικατάσταση της δίαιτας υψηλού γλυκαιμικού φορτίου με δίαιτα χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης διαβήτη τύπου 2, έως σήμερα η συσσωρευμένη γνώση για το γλυκαιμικό δείκτη χρησιμοποιείται από τους διατροφολόγους παγκοσμίως τόσο για τα διαβητικά άτομα όσο και γενικότερα.

Με τη δική μας μελέτη δώσαμε άμεση απόδειξη της συσχέτισης του γλυκαιμικού δείκτη και της εναπόθεσης κολλαγόνου στο επίπεδο του ιστού. Υπάρχει πλέον απόδειξη μηχανικής εναπόθεσης ινών κολλαγόνου, ύπαρξης μεγαλύτερων ινών (πιθανότατα λόγω διαφοροποίησης κατά τη δημιουργία τους) και εστιασμένης αναδιάταξης των υπαρχουσών. Η συσσώρευσή τους περιαγγειακά μπορεί να είναι η αιτιολογία της έναρξης της μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας.

Στο πείραμά μας, σε διατροφή με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη η εναπόθεση κολλαγόνου είναι λιγότερο εμφανής αν και τα πειραματόζωά μας είχαν πρόβλημα μεταβολισμού, δηλ. ήταν ιατρικά βεβαρυμμένα. Καθώς όπως τονίσαμε παραπάνω η εναπόθεση ινών κολλαγόνου είναι προάγγελος της μυοκαρδιοπάθειας, είναι προφανές ότι η διατροφή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη είναι επωφελής για όλους.

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aneja A, Tang WH, Bansilal S, Garcia MJ, Farkouh ME. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options. *Am J Med*. 2008 Sep;121(9):748-57.

Araki E, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic β -cells and diabetes mellitus. *Exp Biol Med* 228: 1213-1217, 2003.

American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 31, S1,2008; 555-560.

Aragno M, Mastrocola R, Alloatti G, et al. Oxidative Stress Triggers Cardiac Fibrosis in the Heart of Diabetic Rats. *Endocrinology*. 2008;149(1):380–388.

Athanasakis K, Ollandezos M, Angeli A, et al. Estimating the direct cost of Type 2 diabetes in Greece: the effects of blood glucose regulation on patient cost. *Diabet Med* 2010; 27: 679-684.

Beckman JA, Paneni F, Cosentino F, Creager MA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II. *Eur Heart J*. 2013 Aug;34(31):2444-52.

Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 13: 813-820, 2001.

Brunner EJ, Mosdol A, Witte DR et al. Dietary patterns and 15y risks of major coronary events, diabetes, and mortality. *Am J Clin Nutr* 2008, 87:1414–1421.

Burani J, Longo PJ. Low-glycemic index carbohydrates: an effective behavioral change for glycemic control and weight management in patients with type 1 and 2 diabetes. *Diabetes Educ*. 2006;32(1):78-88.

Campbell DJ, Somaratne JB, Jenkins AJ, et al. Impact of type 2 diabetes and the metabolic syndrome on myocardial structure and microvasculature of men with coronary artery disease. *Cardiovascular Diabetology*. 2011;10:80.

Cooper ME. Importance of advanced glycation end products in diabetes-associated cardiovascular and renal disease. *Am J Hypertens*. 2004;17(12 Pt2):31S-38S.

Ciulla MM, Paliotti R, Carini M, Aldini G. Fibrosis, enzymatic and non-enzymatic cross-links in hypertensive heart disease. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2011.

Cunard R, Sharma K. The endoplasmic reticulum stress response and diabetic kidney disease *American Journal of Physiology - Renal Physiology* May 2011,300(5), 2011.

Dublin S, Glazer NL, Smith NL, Psaty BM, Lumley T, Wiggins KL, Page RL, Heckbert SR. Diabetes mellitus, glycemic control, and risk of atrial fibrillation. *J Gen Intern Med*. 2010 Aug;25(8):853-8.

Ekoe JM Paul Zimmet and Rhys Williams, 'The epidemiology of diabetes mellitus'2001 John Wiley & Sons Ltd.

El-Wakf AM, Hassan HA, El-komy MM Amr MM. Role of Dietary Fibers in the Management of Diabetes Induced Heart Disease in Male Rats. *Journal of American Science*. 2011;7(4): 638-649.

Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006, 145:1–11.

Galisteo M, Duarte J, Zarzuelo A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *Nutr. J. Biochem*. 2008;19(2):71–84.

Henquin, J.C., Pathways in beta-cell stimulus-secretion coupling as targets for therapeutic insulin secretagogues, *Diabetes*, 2004, 53 Suppl 3, S48-58.

Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr*. 1981 Mar;34(3):362-6.

IDF Diabetes Atlas 4th Ed 2009.

IDF Diabetes Atlas 6th Ed 2013. Diabetes Atlas. Facts and figures.

Imes CC, Burke LE. The Obesity Epidemic: The United States as a Cautionary Tale for the Rest of the World. *Curr Epidemiol Rep*. 2014 Jun 1;1(2):82-88.

Katsilambros N, Aliferis K, Darviri CH, et al. Evidence for an increase in the prevalence of known diabetes in a sample of urban population in Greece. *Diabet Med* 1993; 10: 87-90.

Komolafe O, Adeyemi D, Adewole S, Obuotor E. Streptozotocin-Induced Diabetes Alters The Serum Lipid Profiles Of Adult Wistar Rats. *The Internet Journal of Cardiovascular Research*. 2008;7(1).

Kohda Y, Kanematsu M, Kono T, Terasaki F, Tanaka T. Protein O-Glycosylation Induces Collagen Expression and Contributes to Diabetic Cardiomyopathy in Rat Cardiac Fibroblasts. *J Pharmacol Sci*. 2009;111(4):446-450.

Lerer-Metzger M, Rizkalla SW, Luo J, et al. Effects of long-term low-glycaemic index starchy food on plasma glucose and lipid concentrations and adipose tissue cellularity in normal and diabetic rats. *Br J Nutr*. 1996;75(5):723-32.

Littlejohns B, Pasdois P, Duggan S, Bond AR, Heesom K, Jackson CL, Angelini GD, Halestrap AP, Suleiman MS. Hearts from mice fed a non-obesogenic high-fat diet exhibit changes in their oxidative state, calcium and mitochondria in parallel with

increased susceptibility to reperfusion injury. PLoS One. 2014 Jun 20;9(6):e100579. doi: 10.1371/journal.pone.0100579. eCollection 2014

Marsh K, Barclay A, Colagiuri S, Brand-Miller J. Glycemic index and glycemic load of carbohydrates in the diabetes diet. *Curr Diab Rep*. 2011;11(2):120-7.

Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC, Kench JG, Busch AK, Biankin AV, Bide TJ. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes *Diabetologia* 50: 752-63, 2007.

Liatis S, Thomakos P, Papaoikonomou S, et al. Trends in the Management of Type 2 Diabetes and its Prescription Drug Costs in Greece (1998 & 2006). *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009; 117: 505-510.

Lim K, Lombardo P, Schneider – Kolsky M, Jane Black M. Intrauterine growth restriction coupled with hyperglycemia: effects on cardiac structure in adult rats. *Pediatric Research*. 2012;72:344-351.

Naito J, Koretsune Y, Sakamoto N, et al. Transmural heterogeneity of myocardial integrated backscatter in diabetic patients without overt cardiac disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;52(1):11-20.

Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrysohou C, et al. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. *Diabet Med* 2005; 22: 1581-1588.

Panagiotakos D. A-priori versus a-posteriori methods in dietary pattern analysis: a review in nutrition epidemiology. British Nutrition Foundation. *Nutr Bull* 2008:311–315

Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*. 2013 Aug;34(31):2436-43.

Pirot P, Naamane N, Libert F, Magnusson NE, Orntoft TF, Cardozo AK, Eizirik DL. Global profiling of genes modified by endoplasmic reticulum stress in pancreatic beta cells reveals the early degradation of insulin mRNAs. *Diabetologia* **50**:1006-1014, 2007.

Rahati S, Shahraki M, Arjomand G, Shahraki T. Food pattern, lifestyle and diabetes mellitus. *Int J High Risk Behav Addict*. 2014 Mar 10;3(1):e8725

Ragbetli C, Ceylan E. Effect of Streptozotocin on Biochemical Parameters in Rats. *Asian Journal of Chemistry*. 2010;22(3):2375-2378.

Riccardi G, Rivellese AA, Giacco R. Role of glycemic index and glycemic load in the healthy state, in prediabetes, and in diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(1):269S-274S.

Rizkalla SW, Bellisle F, Slama G. Health benefits of low glycaemic index foods, such as pulses, in diabetic patients and healthy individuals. *Br J Nutr*. 2002;88(3):S255-62

Sakakibara M, Hirashiki A, Cheng XW, et al. Association of diabetes mellitus with myocardial collagen accumulation and relaxation impairment in patients with dilated cardiomyopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;92(3):348-355.

Shamhart PE, Luther DJ, Adapala RK, Bryant JE, Petersen KA, Meszaros JG, Thodeti CK. Hyperglycemia enhances function and differentiation of adult rat cardiac fibroblasts. *Can J Physiol Pharmacol*. 2014 Jul;92(7):598-604.

Steer ML. Exocrine Pancreas. Townsend: Sabiston Textbook of Surgery, Saunders 17th ed, 2004; Chapter 53.

Sunil K. Kota, Siva K. Kota, Sruti J, Sandip P, Kirtikumar D. Modi. Effect of Diabetes on Alteration of Metabolism in Cardiac Myocytes: Therapeutic Implications. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2011;13(11): 1155-1160.

Tang M, Zhang W, Lin H, Jiang H, Dai H, Zhang Y. High glucose promotes the production of collagen type I and III by cardiac fibroblasts through a pathway dependent on extracellular-signal-regulated kinase 1/2. *Mol Cell Biochem.* 2007; 301:109–114.

Thakker GD, Frangogiannis NG, Bujak M, et al. Effects of diet-induced obesity on inflammation and remodeling after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(5):H2504-14.

Varga ZV, Giricz Z, Liaudet L, Haskó G, Ferdinándy P, Pacher P. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Jul 2. pii: S0925-4439(14)00207-5.

Ventura-Sobrevilla J, Boone-Villa VD, Aguilar CN, et al. Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proc West Pharmacol Soc.* 2011;54:5-9.

Westerlund Montera M, Drumond C, Takiya C, Mesquita CT, Dohmann HFR, Mady C. Correlation of Myocardial Interstitial Collagen in the Right Ventricular Septum with Ventricular Function of Patients with Ischemic Cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol.* 2009;92(1):54-62.

Willett W, Manson J, Liu S. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2002 Jul;76(1):274S-80S.

Yazaki Y, Isobe M, Takahashi W, et al. Assessment of myocardial fatty acid metabolic abnormalities in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy using 123IBMIPP SPECT: correlation with clinicopathological findings and clinical course. *Heart.* 1999;81(2):153-9.

Yoshioka M, Kayo T, Ikeda T, Koizumi A. A novel locus, Mody4, distal to D7Mit189 on chromosome 7 determines early-onset NIDDM in non-obese C57BL/6 (Akita) mutant mice. *Diabetes* 46: 887–894, 1997.

Xekouki P, Nikolakopoulou NM, Papageorgiou A, Livadas S, Voutetakis A, Magiakou MA, Chrousos GP, Spiliotis BE, Dacou-Voutetakis C. Glucose dysregulation in obese children: predictive, risk, and potential protective factors. *Obesity (Silver Spring)*. 2007 Apr;15(4):860-9

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs138/en/>

<http://www.diabetes.org> American Diabetes Association

<http://www.idf.org/> International Diabetes Federation

<http://www.cdc.gov/> Center for Disease Control and Prevention

<http://diabetes.niddk.nih.gov/> National Diabetes Information Clearinghouse

http://www.ihcworld.com/_protocols/special_stains/Sirius_red

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Barrett E. Η Ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος. Ιατρική Φυσιολογία W. Baron, E..Boulpaep εκδ.Πασχαλίδης, Αθήνα 2006, σελ.11385-1410.

McPhee S, Χαράλαμπος Μουτσόπουλος , *Παθολογική Φυσιολογία* Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 2000.

Marino CR, Gorelick FS. Παγκρεατικοί και Σιελογόνοι αδένες. Ιατρική Φυσιολογία W. Baron, E..Boulpaep εκδ.Πασχαλίδης, Αθήνα 2006, σελ.1181-1210.

Γιώβος Ι. Ο ρόλος των α-, δ- και PP κυττάρων στην έκκριση και δράση της ινσουλίνης. Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά 22, 2: 98-99, 2009.

Εθνικό Σχέδιο Δράσης για την Πρόληψη και αντιμετώπιση του Σακχαρώδη Διαβήτη και των Επιπλοκών του. Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία, 2012.

Κανταρτζής Κ. Μοριακοί μηχανισμοί έκκρισης ινσουλίνης από το β-κύτταρο. Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά 22, 2: 94-97, 2009.

Ντζιού Ε, Καστορίνη ΧΜ, Παναγιωτάκος ΔΒ. Διατροφικά πρότυπα και σακχαρώδης διαβήτης. Ελληνική Επιθεώρηση Διαιτολογίας- Διατροφής 2010, 1(2), 78–86.

Πάσχου Π. Γενετική του πολυπαραγοντικού διαβήτη. Ομιλία European. Territorial Cooperation Programmes. http://d1mqv16b9gxt7.cloudfront.net/images/16_GR-diabetes_re.pdf

Πεππές Β, Πανουτσόπουλος Α, Ράμμος Γ, Ζακόπουλος Ν. Συσχέτιση του σακχαρώδους διαβήτη με τη βαρύτητα αγγειογραφικών ευρημάτων σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα στεφανιαία νόσο. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2011, 28(2):245-250.

Τούντας Σακχαρώδης Διαβήτης - Θεωρία και Πράξη (2 τόμοι) Εκδόσεις Παρισιάνος, 2003.

Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας. Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας. Κατευθυντήριες οδηγίες: Διατροφικές οδηγίες για ενήλικες στην Ελλάδα. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 1999, 16(6): 615-625.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι



D09051102 and D09100902

Open Standard Diet with 20 kcal% Protein, 65 kcal% Carbohydrate, and 15 kcal% Fat and Same With Resistant Starch

Product #	D09051102		D09100902	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	19.0	20	19.0	20
Carbohydrate	63.1	65	63.1	65
Fat	6.5	15	6.5	15
Total		100		100
kcal/gm	3.80		3.80	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal
Casein	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12
Corn Starch	346	1384	0	0
Corn Starch, High Maize 260 *	0	0	509	2036
Maltodextrin 10	45	180	0	0
Fibersol-2 (Resistant) *	0	0	132	528
Dextrose	250	1000	0	0
Cellulose, BW200	75	0	75	0
Inulin	25	25	25	25
Soybean Oil	70	630	70	630
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
Dicalcium Phosphate	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0
Red Dye #40, FD&C	0	0	0	0
Blue Dye #1, FD&C	0.025	0	0.05	0
Yellow Dye #5, FD&C	0.025	0	0	0
Total	1071.05	4071	1071.05	4071
* Caloric value is expected gross energy and not physiological Fuel Value				