



ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

<< Διερεύνηση της επίδρασης του *Crocus Sativus* (Κρόκου Κοζάνης) σε πειραματικό μοντέλο Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2. >>

**Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης
«Ν.Σ.Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών.**

Διευθυντής: Καθηγητής Νικόλαος Ι. Νικητέας


Κωνσταντόπουλος Παναγιώτης

Βιολόγος, MSc

ΑΘΗΝΑ 2017

Στην οικογένειά μου με αγάπη

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΉΓΗΣΑΣΘΕ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΛΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΪΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΛΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΪΙΟΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΔΥΤΑ, ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΔΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

□

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

10/2014: Δήλωση θέματος Διδακτορικής Διατριβής στην Ιατρική Σχολή Αθηνών
“Διερεύνηση της επίδρασης του Crocus Sativus (Κρόκου Κοζάνης) σε πειραματικό
μοντέλο Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου II.”

09/2014: Ορισμός Τριμελούς Επιτροπής Διδακτορικής Διατριβής στην Ιατρική Σχολή
Αθηνών με θέμα “Διερεύνηση της επίδρασης του Crocus Sativus (Κρόκου Κοζάνης)
σε πειραματικό μοντέλο Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου II.”

10/2012-7/2015: Απόφοιτος του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών, <<Έρευνα
στη γυναικεία αναπαραγωγή>> του Τμήματος της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού
Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.Βαθμός πτυχίου:9/10 Άριστα

ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ CROCUS SATIVUS (ΚΡΟΚΟΥ ΚΟΖΑΝΗΣ) ΣΤΟ
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΕΠΙΜΥΩΝ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης
«Ν.Σ.Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθύντρια Καθηγήτρια
Δέσποινα Περρέα

Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής Καθηγητής Γεώργιος Κρεατσάς

09/2005-4/2012: Απόφοιτος τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Βαθμός πτυχίου: 6.54/10 Λίαν Καλώς

ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ:

Συμμετοχή στο κατ' επιλογήν υποχρεωτικό μάθημα <<Πειραματική και Κλινική Έρευνα>>, με διδασκαλία από Αμφιθέατρο καθώς και σε όλες τις ημέρες της Πρακτικής άσκησης των φοιτητών (Ιούνιος 2016).

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ:

5/2012-σήμερα: Επιστημονικός συνεργάτης του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης <<Ν.Σ.Χρηστέας>>, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Διευθύντρια Εργαστηρίου : Καθηγήτρια Πειραματικής Παθολογικής
Δέσποινα Περρέα

Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501. Email: dperrea@lessr.eu

Εκπόνηση διπλωματικής εργασίας με τίτλο:

<<Επίδραση του crocus sativus (κροκου κοζανής) στο μεταβολικό προφίλ επιμυών με σακχαρώδη διαβήτη τυπου 2.>>

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης
«Ν.Σ.Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθύντρια Καθηγήτρια
.Δέσποινα Περρέα

Β΄ Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής κ. Καθηγητής Γεώργιος Κρεατσάς

Εκπόνηση πτυχιακής εργασίας με τίτλο: <<Μελέτη της επίδρασης της ήπιας άσκησης σε διαβητικούς μύες c57/bL6 και μέτρηση της αντιπονεκτίνης ορού με την μέθοδο X-map Technology>>.

Συμμετοχή στον σχεδιασμό Κλινικών και Πειραματικών πρωτοκόλλων.

Μέλος της συγγραφικής ομάδας για Ευρωπαϊκά προγράμματα χρηματοδότησης..

Βιβλιογραφική έρευνα

Λήψη ιστορικού από ασθενείς.

Χειρισμός επιμυών κατά την διεξαγωγή πειραματικών πρωτοκόλλων

Εργαστηριακοί μέθοδοι:

DNA extraction από ανθρώπινους ιστούς και αίμα (Salting/Phenolchloroform). X-map technology, Elisa tests.

.Υπεύθυνη: **Καθηγήτρια Πειραματικής Παθοβιοχημείας Δέσποινα Περρέα:**

Διευθύντρια Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας», Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501. Email: dperrea@lessr.eu

Συμμετοχή σε Ερευνητικά Προγράμματα:

01/03/2015 έως 31/07/2015: Σύμβαση μίσθωσης έργου ως Βιολόγος στο ερευνητικό πρόγραμμα της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών με τίτλο:

«Λειτουργικά Προϊόντα Δημητριακών και Συμβολή στην Προαγωγή της Υγείας του Καταναλωτή», και Κωδικό Αριθμό έρευνας 70/3/12381 για το χρονικό διάστημα 01/03/2015 έως 31/07/2015, με επιστημονικό υπεύθυνο τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Τεντολούρη Νικόλαο

Στο πλαίσιο της Ενότητας Εργασίας 2: Κλινικές Μελέτες επίδρασης κατανάλωσης προϊόντων δημητριακών στην υγεία υγιών εθελοντών και ασθενών με μεταβολικά νοσήματα, το 1ο Στάδιο (Φάση Α) περιελάμβανε τη μελέτη της επίδρασης της κατανάλωσης άρτου σιταριού ολικής άλεσης εμπλουτισμένου με μαγιά της μύρας και άρτου σιταριού ή/και σίκαλης ή/και κριθαριού ή/και βρώμης ολικής άλεσης με φύτρο και έλαιο φύτρου σιταριού στην απόκριση της γλυκόζης και της ινσουλίνης σε 12 φυσιολογικά άτομα. Έγινε προσδιορισμός των επιπέδων ινσουλίνης, γκρελίνης με ενζυμική μέθοδο ανοσοπροσρόφησης (Enzyme Immunosorbent Assay, ELISA), καθώς και μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων.

Η Φάση Β, περιελάμβανε τη μελέτη επίδρασης της κατανάλωσης μπισκότων βρώμης εμπλουτισμένων με μαγιά της μύρας και μπισκότων βρώμης με ινουλίνη και φυτικές ίνες σιταριού στην απόκριση της γλυκόζης φυσιολογικών ατόμων. Έγινε προσδιορισμός των επιπέδων ινσουλίνης, γκρελίνης με ενζυμική μέθοδο

ανοσοπροσρόφησης (Enzyme Immunosorbent Assay, ELISA), καθώς και μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων.

Όσον αφορά το 2ο Στάδιο της μελέτης, με αντικείμενο τη μελέτη της επίδρασης της κατανάλωσης ενός τύπου λειτουργικού άρτου στην προαγωγή της υγείας ασθενών με Διαβήτη τύπου 2, έγινε διατροφική παρέμβαση των 12 βδομάδων σε 22 ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2. Έγινε προσδιορισμός των επιπέδων ινσουλίνης, TNF α , IL-6, αδιπονεκτίνης, βισφατίνης, TBARS, TAC, και hs-CRP ορού με ενζυμική μέθοδο ανοσοπροσρόφησης (Enzyme Immunosorbent Assay, ELISA), καθώς και μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων.

01/11/2014 έως 31/12/2014: Σύμβαση μίσθωσης έργου ως Βιολόγος στο ερευνητικό πρόγραμμα της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών με τίτλο: **«Παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο: διατροφική παρέμβαση με Κορινθιακή Σταφίδα σε λιπώδη διήθηση του ήπατος (NAFLD/NASH) - Διερεύνηση μοριακών μηχανισμών δράσης - κωδικός 09ΣΥΝ-12- 890»** με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθηγητή κ. Λαδά Σπυρίδωνα, που εντάσσεται στη Δράση Εθνικής Εμβέλειας «Συνεργασία» στο πλαίσιο των Επιχειρησιακών Προγραμμάτων «Ανταγωνιστικότητα & Επιχειρηματικότητα» και Περιφερειών σε Μετάβαση, της πράξης I «Συνεργατικά έργα μικρής και μεσαίας κλίμακας». Αντικείμενο έργου: Προσδιορισμός των επιπέδων TNF α , IL-6, λεπτίνης, αδιπονεκτίνης, βισφατίνης, oxLDL και CRP ορού με ενζυμική μέθοδο ανοσοπροσρόφησης (Enzyme Immunosorbent Assay, ELISA), καθώς και των επιπέδων αντιοξειδωτικών παραγόντων MDA και GSH με φωτομετρική μέθοδο.

2010-2015: Συμμετοχή στο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα: <<Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση>, στο πλαίσιο της Πράξης με τίτλο <<ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ II: Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας του Ε.Κ.Π.Α.>> με προϋπολογισμό 45.000 ευρώ. Τίτλος διδακτορικής διατριβής <<Μελέτη της Βισφατίνης σε πειραματικό μοντέλο αθηρωμάτωσης>>.

4/2012-7-2012: Συμμετοχή στο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης και Αρχικής Επαγγελματικής Κατάρτισης (ΕΠΕΑΕΚ II) του Υπουργείου Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II για την χρονική περίοδο 2004 έως 2007.

Η χρηματοδότηση έγινε κατά το 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο της Ε.Ε. και κατά το 25% από εθνικούς πόρους.

Τίτλος Προγράμματος: Πρόγραμμα

«Πυθαγόρας II»: «Αναγνώριση Προτύπων και Ανακάλυψη Γνώσεων σε Ιατρικά Πειραματικά Δεδομένα. Εφαρμογή στην Πρόγνωση

Της Αθηρωμάτωσης, μέσω των Νεότερων Βιοχημικών Παραμέτρων, Μη-Επεμβατικών Εξετάσεων και Τεχνολογιών Μηχανικής Μάθησης. Ανάπτυξη

Και Υλοποίηση Πρότυπου Εκπαιδευτικού Λογισμικού

Εξειδίκευσης Ερευνητών στο Χώρο της Αθηρωμάτωσης.» Επιστημονικός

Υπεύθυνος : Καθηγητής Γεώργιος Τσιχριντζής

Όπου έλαβα μέρος στην λήψη ιστορικού από ασθενείς και στην κατασκευή 45-plex kit για τον προσδιορισμό καρδιαγγειακών δεικτών μέσω της τεχνολογίας X-map technology. Η κατασκευή του 45-plex kit έγινε σε συνεργασία με το Εθνικό Μετσόβιο

Πολυτεχνείο και την εταιρεία ProtATonce και υπ'ευθύνη του Επίκουρο Καθηγητή
Λεωνίδα Αλεξόπουλου PhD.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ:

11/2014-σήμερα: Συμμετοχή στο πρωτόκολλο: «Διερεύνηση της επίδρασης του
Crocus sativus (Κρόκος Κοζάνης) σε πειραματικό μοντέλο μεταβολικού
συνδρόμου.»

Του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.
Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Υπεύθυνη: **Καθηγήτρια Πειραματικής Παθοβιοχημείας Δέσποινα Περρέα:**

Διευθύντρια Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής
Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501.

Email: dperrea@lessr.eu

11/2014-σήμερα: Συμμετοχή στο πρωτόκολλο: «Μελέτη της δόσοεξαρτώμενης επίδρασης της χορήγησης Βιταμίνης Ε στις ορμόνες του φλοιού των επινεφριδίων και στις ορμόνες αναπαραγωγής»

Του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Υπεύθυνη: Καθηγήτρια Πειραματικής Παθολογικής Δέσποινα Περρέα:

Διευθύντρια Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501.

Email: dperrea@lessr.eu

Συμμετοχή σε διδακτορικές διατριβές:

1. <<Σύγχρονες Μεθοδολογίες Ανάλυσης Ιατρικών Δεδομένων.Εφαρμογή στην Αθηρωμάτωση.>>Αθήνα,Σεπτέμβριος 2014.

Ιωάννη Σ. Βλάχου, Επιστήμονα Βιοιατρικής Πληροφορικής

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.

Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών,

Διευθύντρια Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

2. :<<Η επίδραση της διατροφής χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη σε μεταβολικές παραμέτρους πειραματικού διαβήτη>>. Αθήνα 2014.

Κωνσταντίνου Γ. Ζήρου, Κλινικού Διαιτολόγου-Διατοφολόγου
Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.
Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθύντρια
Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα .

3. :<<Ο ρόλος των δραστικών μορφών αναγωγής του οξυγόνου (REACTIVE OXYGEN SPECIES,ROS) στην τελικού σταδίου χρόνια νεφρική νόσο (ΤΣΧΝΝ).Επίδραση της N-ΑΚΕΤΥΛΟΚΥΣΤΕΙΝΗΣ (NAC) στους δείκτες οξειδωτικού stress σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς>>. Αθήνα 2014

Ιωάννη Εμμανουήλ Γιαννικουρή, Ιατρού Νεφρολόγου

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.
Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια
Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

<<Επίδραση Αντιοξειδωτικών και Αντιφλεγμονωδών ουσιών και συνδιασμός αυτών σε κατάσταση ισχαιμίας-επαναιμάτωσης άνω μεσεντέριου αρτηρίας,στους νεφρούς.Πειραματική μελέτη σε επίμυες.
Αθήνα 2015

Γεράσιμου Β. Μπαζίγου, Ιατρού Αγγειοχειρουργού

Δ' Χειρουργική Κλινική ΠΓΝ

“ΑΤΤΙΚΟΝ”.Διευθυντής:ΚαθηγητήςΒασίλειος Σμυρνιώτης.

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.
Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια
Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

5.<<Μελέτη μεταβολικών επιπτώσεων,γονιδιακών μεταβολών και καρκινογένεσης μετά από χειρουργική παρέμβαση για αντιμετώπιση παχυσαρκίας.Πειραματική μελέτη. Αθήνα 2012

Παναγιώτη Πατρικάκου Ιατρού

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Αθηνών.Διευθυντής Καθηγητής Γ.Κ. Ζωγράφος.

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

6. <<Επίδραση διατροφής υψηλού και χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη στην μεταβολική ρύθμιση και αναπαραγωγική ικανότητα μυών c57BL/6 καθώς και στην υγεία των απογόνων τους>>. Αθήνα 2013

Ειρήνης Μπογράκου Τζανατάκου, Βιολόγου, Κλινικής Διαιτολόγου Α'Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική,Διευθυντής Χριστόδουλος Ι.Στεφανάδης

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

7. <<Η μελέτη του νευρογενετικού παράγοντα NGF σε κονίκλους Νέας Ζηλανδίας με γλαύκωμα>> Αθήνα 2014

Ανδρέα Ι. Καρύδη, Χειρουργού Οφθαλμιάτρου

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

**8. <<Μελέτη της Βισφατίνης σε πειραματικό μοντέλο αθηρωμάτωσης>>Αθήνα
2015**

Ευάγγελου Γ.Δουκιαντζάκη, Ιατρού Καρδιολόγου

**Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.
Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Διευθύντρια
Εργαστηρίου Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα**

Ευγενίδειο

03/2012-12/2013: Ευγενίδειο Νοσοκομείο, Ιατρική σχολή Αθηνών.

Παρακολούθηση βαριατρικών χειρουργικών επεμβάσεων. Λήψη και αποθήκευση ανθρώπινων ιστών και αίματος για βιβλιοθήκη DNA, υπό την επιτήρηση του υπεύθυνου Επίκουρου Καθηγητή κ. Ευάγγελου Μενενάκου MD, PhD.

Συμμετοχή στην πολυκεντρική, διεθνή κλινική μελέτη, με συνεγαζόμενους φορείς Πανεπιστήμιο Νανσύ της Γαλλίας (υπεύθυνος Καθηγητής Γηριατρικής Dr. Αθανάσιος Μπενέτος), Πανεπιστήμιο Ιατρικής και Οδοντιατρικής, Νιου Τζερσευ των Η.Π.Α. (Υπεύθυνος Καθηγητής Παιδιατρικής Νεφρολογίας Dr. Abraham Aviv).

Τίτλος πρωτοκόλλου : Δυναμική των τελομερών σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς.

**2/2014-5/2014:Εργαστήριο Μυκητολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας της Ιατρικής
σχολής Αθηνών Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.**

Καθήκοντα: Γραμμική κωδικοποίηση (χαρακτηρισμός/ταξινομική) μυκήτων, περιγραφική και Μοριακή επιδημιολογία ευκαιριακών μυκητιάσεων.

Εργαστηριακοί μέθοδοι: DNA extraction. Καλλιέργειες μυκήτων. Pcr. Πέψεις με περιοριστικά ένζυμα.

Υπεύθυνη εργαστηρίου Αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Αριστέα Βελεγράκη.

1/7/2008-31/8/2008:

Τμήμα Ανθρώπινης Αναπαραγωγής-Μονάδα Εξωσωματικής Γονιμοποίησης.Π.Γ.Ν. Μαιευτήριο <<Ελενα Ελ.Βενιζέλου>>

Παρακολούθηση τεχνικών εξωσωματικής γονιμοποίησης : (Ωοθηκική διέγερση - Πρόκληση ωορρηξίας. Ωοληψία. Αξιολόγηση και χειρισμός ωαρίων .IUI - Σπερματέγχυση. Αξιολόγηση σπέρματος-σπερμοδιάγραμμα .Εξωσωματική Γονιμοποίηση - IVF. .Εμβρυομεταφορά. Κρυοσυντήρηση Ωαρίων).

Ξένες Γλώσσες:

ΑΓΓΛΙΚΑ:

University of Michigan: Certificate of Proficiency.Αριστη χρήση της Αγγλικής γλώσσας σε γραπτό και προφορικό λόγο.Επίσημα διδακτική άδεια.

ΓΕΡΜΑΝΙΚΑ:

Goethe – Institut: Zertifikat (B1)

Γνώση ηλεκτρονικού υπολογιστή:

Πτυχίο ECDL::

Άριστη χρήση Microsoft Word, Excell, Powerpoint and Internet.

Βασική γνώση του πακέτου SPSS.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ:

1. Per os colchicine administration in cholesterol fed rabbits: Triglycerides lowering effects without affecting atherosclerosis progress.

Kaminiotis VV, Agrogiannis G, Konstantopoulos P, Androutsopoulou V, Korou LM, Vlachos IS, Dontas IA, Perrea D, Iliopoulos DC.

Lipids Health Dis. 2017 Sep 26;16(1):184. doi: 10.1186/s12944-017-0573-8.

2.Effect of Saffron on Metabolic Profile and Retina in Apolipoprotein E-Knockout Mice Fed a High-Fat Diet.

Doumouchtsis EK, Tzani A, Doulamis IP, Konstantopoulos P, Laskarina-Maria K, Agrogiannis G, Agapitos E, Moschos MM, Kostakis A, Perrea DN.

J Diet Suppl. 2017 Sep 22:1-11.

3.Dynamic changes in calprotectin and its correlation with traditional markers of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke.

Chatzopoulos A, Tzani AI, Doulamis IP, Konstantopoulos PS, Birmipa D, Verikokos C, Tentolouris N, Karatzas G, Perrea DN.

Hellenic J Cardiol. 2017 Jul 13.

4. Incorporation of beta-glucans into bread: Postprandial glucose, insulin and ghrelin response of healthy subjects.

Stamataki NS, Yanni AE, Stoupaki MG, Tsigkas A, Konstantopoulos P, Pateras I, Tentolouris N, Perrea DN, Karathanos VT.

Clin Nutr ESPEN. 2016 Jun;13:e72.

5. Metabolic effects of *Crocus sativus* and protective action against non-alcoholic fatty liver disease in diabetic rats.

Konstantopoulos P, Doulamis IP, Tzani A, Korou ML, Agapitos E, Vlachos IS, Pergialiotis V, Verikokos C, Mastorakos G, Katsilambros NL, Perrea DN.

Biomed Rep. 2017 May;6(5):513-518.

6. Protective effects of N-acetylcystein and atorvastatin against renal and hepatic injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion.

Alexandropoulos D, Bazigos GV, Doulamis IP, Tzani A, Konstantopoulos P, Tragotsalou N, Kondi-Pafiti A, Kotsis T, Arkadopoulos N, Smyrniotis V, Perrea DN.

Biomed Pharmacother. 2017 May

7. Pre-treatment with simvastatin prevents the induction of diet-induced atherosclerosis in a rabbit model.

Oikonomidis N, Kavantzias N, Korou LM, Konstantopoulos P, Pergialiotis V, Misiakos E, Rizos I, Verikokos C, Perrea DN.

Biomed Rep. 2016 Dec;5(6):667-674.

8.A sirtuin 1/MMP2 prognostic index for myocardial infarction in patients with advanced coronary artery disease.

Doulamis IP, Tzani AI, Konstantopoulos PS, Samanidis G, Georgiopoulos G, Toutouzas KP, Perrea DN, Perreas KG.

Int J Cardiol. 2017 Mar 1;230:447-453.

9.MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: The impact of subclinical hypothyroidism on anthropometric characteristics, lipid, glucose and hormonal profile of PCOS patients: a systematic review and meta-analysis.

Pergialiotis V, Konstantopoulos P, Prodromidou A, Florou V, Papantoniou N, Perrea DN.

Eur J Endocrinol. 2017 Mar;176

10.Controlling type-2 diabetes by inclusion of Cr-enriched yeast bread in the daily dietary pattern: a randomized clinical trial.

Yanni AE, Stamataki NS, Konstantopoulos P, Stoupaki M, Abeliatis A, Nikolakea I, Perrea D, Karathanos VT, Tentolouris N.

Eur J Nutr. 2016 Oct 12.

11. Calprotectin as a diagnostic tool for inflammatory bowel diseases.

Chatzikonstantinou M, Konstantopoulos P, Stergiopoulos S, Kontzoglou K, Verikokos C, Perrea D, Dimitroulis D.

Biomed Rep. 2016 Oct;5

12.The effect of long-term amiodarone administration on myocardial fibrosis and evolution of left ventricular remodeling in a porcine model of ischemic cardiomyopathy.

Zagorianou A, Maroungkas M, Drakos SG, Diakos N, Konstantopoulos P, Perrea DN, Anastasiou-Nana M, Malliaras K.

Springerplus. 2016 Sep 15

13.Evaluation of a high nutritional quality snack based on oat flakes and inulin: effects on postprandial glucose, insulin and ghrelin responses of healthy subjects.

Stamataki NS, Nikolidaki EK, Yanni AE, Stoupaki M, Konstantopoulos P, Tsigkas AP, Perrea D, Tentolouris N, Karathanos VT.

Food Funct. 2016 Jul 13

14.Calprotectin levels in necrotizing enterocolitis: a systematic review of the literature.

Pergialiotis V, Konstantopoulos P, Karampetsou N, Koutaki D, Gkioka E, Perrea DN, Papantoniou N.

Inflamm Res. 2016 Nov

15.Cr-enriched yeast: beyond fibers for the management of postprandial glycemic response to bread.

Yanni AE, Stamataki N, Stoupaki M, Konstantopoulos P, Pateras I, Tentolouris N, Perrea D, Karathanos V.

Eur J Nutr. 2017 Jun

16. The impact of Anastrozole and Letrozole on the metabolic profile in an experimental animal model.

Boutas I, Pergialiotis V, Salakos N, Agrogiannis G, Konstantopoulos P, Korou LM, Kalampokas T, Gregoriou O, Creatsas G, Perrea D.

Sci Rep. 2015

17. Correlation between mesenteric fat thickness and serum apolipoproteins in patients with peripheral arterial occlusive disease.

Perelas A, Safarika V, Vlachos IS, Tzanetakou I, Korou LM, Konstantopoulos P, Doulamis I, Ioannidis I, Kornezos I, Gargas D, Klonaris C, Perrea DN, Chatziioannou A.

Lipids Health Dis. 2012 Oct

18. Evangelos Doukiantzakis, Vasilios Pergialiotis, Laskarina-Maria Korou, Panagiotis Konstantopoulos, Christos Verikokos, Despina Perrea. «Serum visfatin levels in an atherosclerotic animal model treated with rosuvastatin combined with physical exercise»

Medwell Journals "Journal of Animal and Veterinary Advances"

19. Stavroula Fragkouli, Laskarina-Maria A. Korou, Panagiotis Konstantopoulos, Dimitrios Dimitroulis, Nikolaos Tentolouris³, Nikolaos Germanos, Despina N. Perrea «Serum Prealbumin and Calprotectin Levels in Chronic Hemodialysis Patients» >> Jacobs Journal of Nephrology and Urology 2016 September 26

20. A. Tzani, I. Georgiadis, L.M. Korou, P. Konstantopoulos, G. Agrogiannis, I. Vlachos, I. Doulamis, N. Katsilambros, D. Perrea

Investigation of chios mastic gum effect on metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic mice

Medical school of Athens, Laboratory for Experimental Surgery and Surgical Research "N.S Christeas", athens, Greece

EAS16-0972

Article in *Atherosclerosis* 252:e95 · September 2016

21. P. Konstantopoulos, L.M. Korou, I. Vlachos, I. Doulamis, A. Tzani, S. Fragouli, G. Mastorakos, N. Katsilambros, D. Perrea

Investigation of the impact of *Crocus sativus* on the metabolic profile of diabetic rats

EAS16-0974

Article in *Atherosclerosis* 252:e209 · September 2016

22. Nikolaos Oikonomidis Nikolaos Kavantzias Laskarina-Maria Korou Panagiotis Konstantopoulos Vasilios Pergialiotis Evangelos Misiakos Ioannis Rizos Christos Verikokos Despina N. Perrea

<<Pre-treatment with simvastatin prevents the induction of diet-induced atherosclerosis in a rabbit model *Biomedical Reports*>> Monday, October 17, 2016

23. Nikoleta S. Stamataki, Amalia E. Yanni, Maria G. Stoupaki, Alexandros Tsigkas, Panagiotis Konstantopoulos, Irene Pateras, Nikolaos Tentolouris, Despina N. Perrea, Vaios T. Karathanos

Incorporation of beta-glucans into bread: Postprandial glucose, insulin and ghrelin response of healthy subjects

Clinical Nutrition ESPEN June 2016 Volume 13, Page e72

24. Nikoleta S. Stamataki, Amalia E. Yanni, Maria G. Stoupaki, Konstantinos Gkikas, Irene Pateras, Nikolaos Tentolouris, Despina N. Perrea, Vaios T. Karathanos
Postprandial glucose response of healthy subjects to oat biscuits
Clinical Nutrition ESPEN June 2016 Volume 13, Pages e71–e72

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

1. Proteomics Discovery of Biomarkers for Atrial Fibrillation in Patients With Cardiovascular Disease

Aspasia Tzani, Ilias P. Doulamis, Asier Antoranz, George Samanidis, Vicky Pliaka, Anastasios Gkogkos, Panagiotis Konstantopoulos, Theodore Sakellaropoulos, Leonidas Alexopoulos, Konstantinos G. Perreas, Despina N. Perrea, American College of Cardiology 2017, 66th Annual Scientific Session and Expo, Washington DC, 17-19 March 2017

2. Anti-inflammatory, hypolipidemic and hepatoprotective properties of cmg in an experimental model of diabetes

Panagiotis Konstantopoulos, Aspasia Tzani, Ilias P. Doulamis, Maria-Laskarina Korou, Ioannis S. Vlachos, Ioannis Georgiadis, Despina N. Perrea 85th EAS Congress April 23-26, 2017 Prague Czech Republic.

3.P. Konstantopoulos, L.M. Korou, I. Vlachos, I. Doulamis, A. Tzani, S. Fragouli, G. Mastorakos, N. Katsilambros, D. Perrea

Investigation of the impact of Crocus sativus on the metabolic profile of diabetic rats

84th EAS Congress May 29-June 1,2016 Innsbruck,Austria

A. Tzani, I. Georgiadis, L.M. Korou, P. Konstantopoulos, G. Agrogiannis, I. Vlachos, I. Doulamis, N. Katsilambros, D. Perrea

4.Investigation of chios mastic gum effect on metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic mice

Medical school of Athens, Laboratory for Experimental Surgery and Surgical Research "N.S Christeas", athens, Greece

84th EAS Congress May 29-June 1,2016 Innsbruck,Austria

5.Nikoleta S. Stamataki, Amalia E. Yanni, Maria G. Stoupaki, Alexandros Tsigkas, Panagiotis Konstantopoulos, Irene Pateras, Nikolaos Tentolouris, Despina N. Perrea, Vaios T. Karathanos

Incorporation of beta-glucans into bread: Postprandial glucose, insulin and ghrelin response of healthy subjects

Clinical Nutrition ESPEN June 2016

6. Nikoleta S. Stamataki, Amalia E. Yanni, Maria G. Stoupaki, Konstantinos Gkikas, Irene Pateras, Nikolaos Tentolouris, Despina N. Perrea, Vaios T. Karathanos

Postprandial glucose response of healthy subjects to oat biscuits

Clinical Nutrition ESPEN June 2016

7.Liver Histopathological Findings after Treatment with Anastrozole and Letrozole in Ovariectomized Rats. Boutas I., Pergialiotis V., Salakos N., Agrogiannis G., Konstantopoulos P., Korou LM, Kalampokas T , Gregoriou O. , Creatsas G., Perrea D. 18th International Conference on Breast Cancer, 25-26 February 2016, London, United Kingdom.

8.Influence of non-steroidal aromatase inhibitors in the lipid profile of an animal experimental model. Boutas I., Pergialiotis V., Salakos N., Konstantopoulos P., Korou L.M., Kalampokas T., Gregoriou O., Creatsas G., Perrea D. 19th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology, 24-27 October 2015, Nice, France.

9.<<Low-GI bread enriched with oat beta-glucans attenuates postprandial insulin response in healthy subjects>>

Nikoleta Stamataki , Amalia Yanni ,Panagiotis Konstantopoulos ,Maria Stoupaki , Eirini Patera ,Nicholas Tentolouris ,Despina Perrea ,Vaios Karathanos
12th FENS European Nutrition conference, Berlin October 20-23, 2015

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

1. «*ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΥΞΗΜΕΝΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΦΡΟΥΚΤΟΖΗΣ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ*»

Παναγιώτης Κωνσταντόπουλος, Μαρία-Λασκαρίνα Κορού, Δέσποινα Περρέα

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

2. <<ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ CROCUS SATIVUS (ΚΡΟΚΟΥ ΚΟΖΑΝΗΣ) ΣΤΟ
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΕΠΙΜΥΩΝ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ>>

Π. Κωνσταντόπουλος¹, Λασκαρίνα-Μαρία Κορού¹, Ι.Βλάχος¹, Η.
Δουλάμης¹, Σ. Φραγκούλη¹, Γ.Μαστοράκος², Ν.Κατσιλάμπρος¹, Δέσποινα
Περρέα¹

¹Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης
«Ν.Σ.Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

²Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική
Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο

18 -21 Μαρτίου 2015, Αθήνα

3.ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ Β-ΓΛΥΚΑΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΤΟ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ
ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ, ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΚΑΙ
ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ ΥΓΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ Νικολέτα Σ. Σταματάκη, Αμαλία Ε.
Γιάννη, Μαρία Γ. Στουπάκη, Αλέξανδρος Τσίγκας, Παναγιώτης
Κωνσταντόπουλος, Ειρήνη Πατέρα, Νικόλαος Κ. Τεντολούρης, Δέσποινα Ν.
Περρέα, Βάιος Καραθάνος

13ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής & Διαιτολογίας και 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Διατροφής στις 27-28 Νοεμβρίου, <<ΘΕΑΤΡΟΝ>> Κέντρο Πολιτισμού, <<Ελληνικός Κόσμος>> Αθήνα

4. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΟ ΠΕΔΙΟ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ

Μαστρολέων Ι., Κωνσταντόπουλος Π., Κορού Λ.Μ., Βλάχος Ι., Δουλάμης Η., Χαλάφ Ε.Ι, Μπακογιάννης Ι.Ι, Περρέα .

Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

13ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΥ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ στις 8- 9 - 10 ΜΑΪΟΥ 2015

5.Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΚΡΟΚΟΥ ΚΟΖΑΝΗΣ ΣΤΟΝ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ Ε. Δουμουχτσής¹, Ε. Αγαπητός², Α. Τζανή¹, Η. Δουλάμης¹, Π. Κωνσταντόπουλος¹, Γ. Αγρογιάννης², Μ. Μόσχου³, Α. Κωστάκης¹, Δ. Περρέα¹ ¹Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Αθηνών, 2Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Αθηνών, 3Α' Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Γεννηματάς»

7ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ
ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, 1-3 Δεκεμβρίου 2016 Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani
Caravel

6. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΞΕΟΣ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΣΕ ΑΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ
ΝΟΣΟ Α. Τζανή¹, Η. Δουλάμης¹, Π. Κωνσταντόπουλος¹, Γ. Σαμανίδης², Δ.
Περρέα¹, Κ. Περρέας² ¹Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και
Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Αθηνών, 2Α' Τμήμα
Επίκτητων Καρδιοπαθειών, Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο Αθηνών

7ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ
ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, 1-3 Δεκεμβρίου 2016 Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani
Caravel

7. Η ΠΡΟ-ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΣΙΜΒΑΣΤΑΤΙΝΗ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΕΙ ΤΗ
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ- ΕΝΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ
ΜΟΝΤΕΛΟ ΣΕ ΚΟΝΙΚΛΟΥΣ όικονομίδης ν.1, καβαντζάς ν.2, κόρου λ.1,
Περγαλιώτης Β.1, μισιακός ε.3, κωνσταντόπουλος Π.2, ρίζος ι.4, Περρέα δ.1
¹εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής ερεύνης ν. σ.
Χρηστεας, εκΠα, ιατρική σχολή, 2 εκΠα, Παθολογοανατομικό τμήμα
ιατρικής σχολής., 3γ' Πανεπιστημιακή Χειρουργική κλινική, Πγνα αττικών, 4
εκΠα, Β' Πανεπιστημιακή καρδιολογική κλινική, Πγνα αττικό

30ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ, 8-
12 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη Ξενοδοχείο Macedonia Palace

ΞΕΝΟΔΟΧΕΙΟ ROYAL OLYMPIC, ΑΘΗΝΑ

8. ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΜΕΛΕΤΩΝ ΜΕ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΠΡΙΝ ΑΠΟ Ή ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΝΕΑΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΟΔΗΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ

Κορού Α.Μ., Βλάχος Ι., Κωνσταντόπουλος Π., Γκίζα Ε., Μαστρολέων Ι., Τσακιρόπουλος Π., Ντούση Ε., Περρέα .

Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

13ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΥ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ στις 8- 9 - 10 ΜΑΪΟΥ 2015

ΞΕΝΟΔΟΧΕΙΟ ROYAL OLYMPIC, ΑΘΗΝΑ

9.ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΠΛΟΥΣΙΑΣ ΣΕ ω-3

ΚΑΙ ΣΕ ΚΕΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΣΤΟ ΒΑΡΟΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ

ΕΠΙΜΥΩΝ WISTAR Τζανετάκου Ε., Δουλάμης Η., Βλάχος Ι., Κορού Α.Μ., Παντοπούλου Α.,

Κωνσταντόπουλος Π., Τζιβράς Δ., Περρέα Δ., Κατσιλάμπρος Ν.

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας», Ιατρική

Σχολή, ΕΚΠΑ

10.“Comparison of two diets: one rich in omega – 3 fatty acids and the other in saturated fat regarding weight gain and eating patterns of Wistar rats”

Tzanetakou IP, Doulamis I, Vlachos I, Korou LM, Pantopoulou A, Konstantopoulos P, Tzivras D, Perrea DN, Katsilambros NL

11. Φετουΐνη Α και καρδιαγγειακή νόσος: Ένα οξύμωρο σχήμα

Δουλάμης Η., Χασεμάκη Ν., Τζανετάκου Ε., Κωνσταντόπουλος Π.,
Τζιβράς Δ., Περρέα Δ.

“Fetuin A and cardiovascular disease: An oxymoron”

Doulamis I, Hasemaki N, Tzanetakou I, Konstantopoulos P, Tzivras D, Perrea
D

18th Scientific Congress of Hellenic Medical Students- 6th International
Forum of Hellenic Medical Students & Junior Doctors, Athens, 05/2012,
Greece

12. Η προστατευτική δράση των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στην
επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου

Δουλάμης Η., Προδρομίδου Α., Τζανετάκου Ε., Κωνσταντόπουλος Π.,
Μιχάλη Η., Βλάχος Ι., Τζιβράς Δ., Περρέα Δ.

“The protective role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular
disease

Doulamis I, Prodromidou A, Tzanetakou I, Konstantopoulos P, Michali I,
Vlachos I, Tzivras D, Perrea D

”18th Scientific Congress of Hellenic Medical Students- 6th International Forum of Hellenic Medical Students & Junior Doctors, Athens, 05/2012, Greece

13.Χρήση των παραισθησιογόνωνμανιταριών του γένους Psilocybe και του είδους Amanitamuscaria στην ιατρική πράξη

Μαστρολέων Ι., Δουλάμης Η., Τσανετάκου Ειρ., Κορού Α.-Μ.,

Κορός Χρ., Βλάχος Ι., Κωνσταντόπουλος Π., Περρέα Δ.

”18th Scientific Congress of Hellenic Medical Students- 6th International Forum of Hellenic Medical Students & Junior Doctors, Athens, 05/2012, Greece

14.Βαριατρική Χειρουργική: Ανασκόπηση της επιμήκους γαστρεκτομής

Δουλάμης Η., Τζανή Α., Τζανετάκου Ε.,Μενενάκος Ε., Θεοδώρου Δ.,

ΝατούδηΜ., Κωνσταντόπουλος Π., Ζωγράφος Χ., Τζιβράς Δ., Περρέα Δ.

“Bariatric Surgery: A review of sleeve gastrectomy”

Tzani A, Doulamis I, Tzanetakou I, Menenakos E, Theodorou D, Natoudi M, Konstantopoulos P, Zografos C, Tzivras D, Perrea D

18th Scientific Congress of Hellenic Medical Students- 6th International Forum of Hellenic Medical Students & Junior Doctors, Athens, 4/5/2012, Greece

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

1.Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΟ ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ C57BL/6 ΜΥΩΝ,

ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΟΥΝ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ

Η. Δουλάμης, Ε. Τζανετάκου, Μ. Κορού, Ι. Βλάχος, Κ. Παρασκευάς,

Π. Κωνσταντόπουλος, Δ. Τζιβράς, Δ. Περρέα

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ, Αθήνα

“The Role of ageing in the lipidemic profile of C57BL/6 mice on a hyperlipidemic diet

Doulamis I, Tzanetakou IP, Korou LM, Vlachos K, Paraskevas KI, Konstantopoulos D, Tzivras D, Perrea DN.

4th Symposium of the Hellenic Atherosclerosis Society, Athens, 12/2011
Greece

2.Πρότυπη ανακοίνωση βιβλιογραφικής ανασκόπησης: Η ηπατοπροστατευτική

δράση της βιταμίνης Ε στην με αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος

Δουλάμης Η., Τζανετάκου Ε., Κωνσταντόπουλος Π., Δουκιαντζάκης Ε., Βλάχος Ι.,

Περρέα Δ.

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας»,

Ιατρική Σχολή Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

“ A review of literature: The hepatoprotective role of Vitamin E in non alcoholic fatty liver disease”

Doulamis I, Tzanetakou I, Konstantopoulos P, Doukiantzakis E, Vlachos I, Perrea D

17th Scientific Congress of Hellenic Medical Students- 5th International Forum of Hellenic Medical Students & Junior Doctors, 05/2011, Athens, Greece

3. Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΦΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ

ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ ΑΠΟΓΟΝΩΝ, Μαστρολέων Ι., Κορού Α.-Μ., Περγιαλιώτης Β., Κωσταντόπουλος Π., Γκιώκα Ε., Περρέα Ν.Δ.

18^ο ΠΑΝΝΕΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 16-18 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2015, Μέγαρο Διεθνές Συνεδριακό Κέντρο Αθηνών.

4. Η ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΚΦΕΙΝΗ ΩΣ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ

Μαστρολέων Ι., Κορού Α.-Μ., Περγιαλιώτης Β., Κωσταντόπουλος Π., Περρέα Ν.Δ.

18^Ο ΠΑΝΝΕΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΛΙΠΙΔΙΟΛΟΓΙΑΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΑΘΗΝΑ, 24 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2015

5. ‘‘Animal rodent models in Diabetes Type II Research’’

Laskarina-Maria Korou, Panagiotis Konstantopoulos, Despina N. Perrea

Πανερωπαϊκό Συνέδριο EEBEZE-ESLAV-ECLAM

Hellenic Society for Biomedical and Laboratory Animal Science (HSBLAS) /

European Society of Laboratory Animal Veterinarians (ESLAV) / European

College of Laboratory Animal Medicine (ECLAM)

Annual scientific meeting. Athens, on September 22-23, 2014

6.ΦΟΙΤΗΤΕΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ: ΜΙΑ ΣΥΝΑΡΠΙΑΣΤΙΚΗ

ΑΝΑΓΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ; Τζανή Α., Δουλάμης Η, Κωνσταντόπουλος Π.,

Περγιαλιώτης Β., Κορού Μ., Βλάχος Ι, Ηλιόπουλος Δ., Νικητέας Ν. Εργαστήριο

Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής ερεύνης Ν.Σ Χρηστέας, Ιατρική

Σχολή, ΕΚΠΑ

30ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ,8-12

Νοεμβρίου 2016,Θεσσαλονίκη Ξενοδοχείο Macedonia Palace

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ:

1/9/2015-31/8/2017: Υποτροφία από το Τδρμα Κρατικών Υποτροφιών: “Ερευνητικά προγράμματα Αριστείας IKY-SIEMENS”.

9/2016: Υποτροφία για την διεκπόνηση διδακτορικής διατριβής από την Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης.

ΒΡΑΒΕΙΑ:

Hellenic Responsible Business Awards 2016:

BRONZE βραβείο στην κατηγορία 1.4 Συνεργασία Επιχείρησης – Ακαδημαϊκών Φορέων για το έργο Λειτουργικά Προϊόντα Δημητριακών και Συμβολή στην Προαγωγή της Υγείας του Καταναλωτή

ΒΡΑΒΕΙΟ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

Η ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΚΑΦΕΙΝΗ ΩΣ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ

Μαστρολέων Ι., Κορού Α.-Μ., Περγιαλιώτης Β., Κωσταντόπουλος Π, Περρέα Ν.Δ.

18ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΛΙΠΙΔΙΟΛΟΓΙΑΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΑΘΗΝΑ, 24 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2015

3^ο ΒΡΑΒΕΙΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ

ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ Β-ΓΛΥΚΑΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΤΟ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ, ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ ΥΓΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ Νικολέτα Σ. Σταματάκη, Αμαλία Ε. Γιάννη, Μαρία Γ. Στουπάκη, Αλέξανδρος Τσίγκας, Παναγιώτης Κωνσταντόπουλος, Ειρήνη Πατέρα, Νικόλαος Κ. Τεντολούρης, Δέσποινα Ν. Περρέα, Βάιος Καραθάνος

13ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής & Διαιτολογίας και 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Διατροφής στις 27-28 Νοεμβρίου, <<ΘΕΑΤΡΟΝ>> Κέντρο Πολιτισμού, <<Ελληνικός Κόσμος>> Αθήνα

Μέλος Επιστημονικών Εταιρειών:

Μέλος της Ελληνικής Διαβητολογικής Εταιρείας

Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης

Μέλος της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης (European Atherosclerosis Society, EAS)

Μέλος του Ελληνικού κολλεγίου θεραπείας της Αθηροσκλήρωσης.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΟΛΕΣ:

Δίδονται κατόπιν συνεννόησης:

Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα:

Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών. Διευθύντρια Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501.

Email: dperrea@lessr.eu

Ομότιμος Καθηγητής Νικόλαος Κατσιλάμπρος :

Καθηγητής Παθολογίας, Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής
Ερεύνης «Ν. Σ.Χρηστέας». Αγ. Θωμά 15β, 115 27, Αθήνα. Τηλ: 210-7462501. .

Email: laennec@techlink.gr

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	30
ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	31
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	25-39
ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ –ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	39-42
ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ (NAFLD)	42-47
NAFLD ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	47-58
ΔΙΑΓΝΩΣΗ NAFLD	58-64
ΘΕΡΑΠΕΙΑ NAFLD	64-70
ΚΡΟΚΟΣ ΚΟΖΑΝΗΣ	
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	70-74
ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΔΡΑΣΕΙΣ	74-78
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	78-80
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ	80-85
ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	85
ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	86-95
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	96-104
ΑΝΤΙΠΙΟΝΕΚΤΙΝΗ	105-111
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	

ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	112
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	113-127
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	128
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	129-133
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	134-138
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	139-158

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Από τη θέση αυτή οφείλω να ευχαριστήσω όλους εκείνους που με βοήθησαν να φτάσω στην ολοκλήρωση της διδακτορικής μου εργασίας. Είμαι σίγουρος, ότι το στάδιο αυτό θα αποτελέσει όχι το τέρμα αλλά έναν σημαντικό σταθμό, στο συναρπαστικό ταξίδι που ξεκίνησα πριν επτά περίπου χρόνια στον τομέα της πειραματικής έρευνας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην Καθηγήτρια κ. Δέσποινα Περρέα, γιατί με δέχτηκε στην ερευνητική της ομάδα, με κατανόηση και αγάπη και μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω την διδακτορική μου εργασία στο εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ.Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, το οποίο και διευθύνει. Οφείλω να επισημάνω την καθημερινή βοήθεια και εποπτεία της σε όλους τους τομείς της πειραματικής διαδικασίας από το στάδιο των πειραματοζώων μέχρι τις εργαστηριακές τεχνικές και την τεκμηρίωση των αποτελεσμάτων. Αποτελεί τον άνθρωπο που από την πρώτη στιγμή που ξεκίνησα την διδακτορική μου εργασία, μέχρι και το τέλος αυτής, στάθηκε δίπλα μου, επιβλέποντας ουσιαστικά την ερευνητική μου πορεία, όχι μόνο ως καθηγήτρια, αλλά και ως άνθρωπος, προσφέροντάς μου τις πολύτιμες γνώσεις της, συμβουλές και πάνω από όλα την ανεκτίμητη ηθική και την ανιδιοτελή αγάπη της.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Νικόλαο Κατσιλάμπρο για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του και συμβουλές του. Έμαθα πολλά στο χρονικό διάστημα εκπόνησης της διδακτορικής μου εργασίας κοντά του. Με βοήθησε καθοριστικά στην ολοκλήρωση της διατριβής μου προσφέροντάς μου τις πολύτιμες γνώσεις του και την καθοδήγησή του.

Τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Μαστοράκο, Υπεύθυνο του Μεταπτυχιακού ευχαριστώ θερμά για την συνολική υποστήριξή του στην εκπόνηση της διδακτορικής μου εργασίας. Καθώς και τον παθολογοανατόμο Καθηγητή κ. Εμμανουήλ Αγαπητό για την πολύτιμη βοήθειά του στο ιστολογικό μέρος της διατριβής.

Την διδάκτωρ της Ιατρικής σχολής και φίλη μου κ. Μαρία –Λασκαρίνα Κορού για την σημαντική βοήθειά της στο σχεδιασμό της πειραματικής μελέτης και στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων μου, και για το κίνητρο που μου έδινε όλο αυτό το διάστημα να προσπαθώ να γίνω καλύτερος, Μαζί με την Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα αποτέλεσε τον άνθρωπο που από την πρώτη στιγμή που ξεκίνησα την διδακτορική μου εργασία, μέχρι και το τέλος αυτής, στάθηκε δίπλα μου, επιβλέποντας ουσιαστικά την ερευνητική μου πορεία προσφέροντάς μου τις πολύτιμες γνώσεις της, και τις συμβουλές της με ανιδιοτελή αγάπη.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους φίλους και Τεχνολόγους του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ.Χρηστέας» κ. Παναγιώτη Τσακινόπουλο και κ. Εσμεράλδα Ντούση για την βοήθεια και καθοδήγηση στον χειρισμό των πειραματοζώων, την συνεχή παρουσία τους στην υλοποίηση των πειραματικών διαδικασιών και την ηθική υποστήριξή τους όλο αυτόν τον καιρό.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Ιωάννη Βλάχο, Βιοστατιστικό, επιστημονικό συνεργάτη και μέλος της ερευνητικής ομάδας του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής για την φιλία του, την ηθική υποστήριξή του.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον παρασκευαστή του Βιοχημικού Εργαστηρίου κ. Νίκο Τσακιρόπουλο για την φιλία του, την προθυμία του και την συνεχή βοήθειά του σε όλα τα στάδια της πειραματικής μελέτης και την συνεχή παρουσία του στην υλοποίηση των πειραματικών διαδικασιών και την ηθική υποστήριξή του όλο αυτόν τον καιρό.

Επίσης, τον κύριο Πρίαμο Ράπο ζωοκόμο, για την συνεχή υποστήριξή και την απaráμιλλη βοήθεια του, για όλα αυτά τα χρόνια.

Τους υποψηφίους διδάκτορες της ερευνητικής ομάδας μας Ηλία Δουλάμη, Ασπασία Τζανή , ευχαριστώ για τη φιλία τους και για τη σημαντική βοήθεια που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, οι οποίοι με παρότρυναν και με στήριξαν σε κάθε δυσκολία στην προσπάθειά μου αυτή και με βοήθησαν καθοριστικά στην ολοκλήρωση της διατριβής μου καθώς και στην δημοσίευση της εργασίας μου.

Τέλος οφείλω ευχαριστίες στην οικογένεια και τους φίλους μου για την αγάπη τους, και για την ηθική και υλική υποστήριξη τους όλο αυτό το διάστημα. Χωρίς αυτούς τίποτε δε θα ήταν εφικτό.

Η διδακτορική διατριβή χρηματοδοτήθηκε εν μέρει μέσω υποτροφίας από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών: “Ερευνητικά προγράμματα Αριστείας IKY-SIEMENS” και από την Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Η μη αλκοολική λιπαρή ηπατική νόσο (NAFLD) είναι το αποτέλεσμα της συσσώρευσης αποθεμάτων λιπώδους ιστού στο ήπαρ και σχετίζεται με διαβήτη τύπου 2. Το *Crocus sativus* (σαφράν) είναι γνωστό για το αντιοξειδωτικό του και τα πιθανά υπογλυκαιμικά του αποτελέσματα. Ερευνήσαμε το ρόλο του Κρόκου Κοζάνης στην NAFLD σε διαβητικούς αρουραίους. Τριάντα ενήλικα αρσενικά αρουραίοι χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. (n = 10), που έλαβαν κανονική διαίτα. (n = 10), που έλαβαν κανονική διαίτα τροφής, 10% φρουκτόζη στο πόσιμο νερό τους και STZ (40 mg / kg σωματικού βάρους, ομάδα STZ-κρόκου (n = 10) ως ομάδα STZ και συμπληρώθηκαν με κρόκο (100 mg / kg / ημέρα), μετρώντας το μεταβολικό προφίλ και αξιολογήθηκε η ιστοπαθολογική εξέταση του ήπατος, η ομάδα STZ εμφάνισε τα υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης στο τέλος του πειράματος (P <0,05), ενώ δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας STZ-σαφράν (584 έναντι 213 mg / dl έναντι 209 mg / dl αντίστοιχα), ενώ η ομάδα STZ αποκάλυψε υψηλότερο ποσοστό στεάτωσης (5-33%) συγκριτικά με το άλλο δύο ομάδες (P <0,005).Ο Κρόκος Κοζάνης παρουσιάζει υπογλυκαιμικές και ηπατοπροστατευτικές δράσεις, αλλά απαιτούνται περαιτέρω μελέτες που θα φωτίζουν τους ακριβείς μηχανισμούς του τρόπου δράσης του σαφράν.

ABSTRACT:

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the result of the accumulation of adipose tissue deposits in the liver and it is associated with type 2 diabetes. *Crocus sativus* (saffron) is known for its antioxidant and its potential hypoglycemic effects. We investigated the role of saffron on NAFLD in diabetic rats. Thirty adult male rats were allocated into three groups; control (n=10), which received normal diet; streptozotocin (STZ) group (n=10), which received normal chow diet, 10% fructose in their drinking water and STZ (40 mg/kg body weight); STZ-saffron group (n=10), which followed the same dietary and pharmacological pattern as STZ group and were additionally supplemented with saffron (100 mg/kg/day). Metabolic profile was measured and histopathological examination of the liver was evaluated. STZ group exhibited the highest glucose levels at the end of the experiment ($P<0.05$), while there was no difference between control and STZ-saffron group (584 vs. 213 mg/dl vs. 209 mg/dl, respectively). STZ group revealed higher percentage of steatosis (5-33%) when compared to the other two groups ($P<0.005$). Saffron exhibits both hypoglycemic and hepatoprotective actions. Yet, further studies enlightening the exact mechanisms of saffron's mode of actions are required.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ:

Ο σακχαρώδης διαβήτης περιλαμβάνει μια ομάδα μεταβολικών νόσων με κύριο χαρακτηριστικό την υπεργλυκαιμία. Η υπεργλυκαιμία προέρχεται από διαταραχές της έκκρισης της ινσουλίνης ή/και της δράσης της ινσουλίνης στους ιστούς στόχους. Τα άτομα που έχουν σακχαρώδη διαβήτη παρουσιάζουν συμπτώματα όπως πολυουρία, πολυφαγία και πολυδιψία, καθώς και συχνά απώλεια σωματικού βάρους. Σε καταστάσεις χρόνιας υπεργλυκαιμίας υπάρχει ευπάθεια σε λοιμώξεις(1). Η χρόνια υπεργλυκαιμία προκαλεί επιπλοκές σε μια σειρά οργάνων, όπως στην καρδιά, στους νεφρούς, στα μάτια, καθώς και στο αγγειακό και νευρικό σύστημα .(1, 2)

Οι δύο κύριες κατηγορίες του σακχαρώδη διαβήτη είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. Εκτός από τις δύο αυτές κύριες κατηγορίες συναντάται σπανιότερα σακχαρώδης διαβήτης της κήσης και σακχαρώδης διαβήτης που οφείλεται σε αιτίες όπως γενετικές βλάβες των β-κυττάρων ή της δράσης της ινσουλίνης, παθολογικές καταστάσεις της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, ενδοκρινοπάθειες, γενετικά σύνδρομα και διαβήτης που προκαλείται από φάρμακα ή χημικές ουσίες και λοιμώξεις .(1, 3)

Τα φυσιολογικά όρια των διαγνωστικών δοκιμασιών που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του σακχαρώδη διαβήτη έχουν αλλάξει τα τελευταία χρόνια. Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) είναι ένας από τους σημαντικότερους δείκτες, αφού η τιμή της αντανακλά το μέσο όρο των επιπέδων γλυκόζης των τελευταίων δύο έως τριών μηνών (1)

Τα πρόσφατα κριτήρια διάγνωσης του σακχαρώδη διαβήτη είναι τα εξής (1) :

1. HbA1c \geq 6,5% ή
2. Γλυκόζη νηστείας στον ορό του αίματος \geq 126 mg/dl (έχει προηγηθεί νηστεία 8 ωρών) ή
3. Γλυκόζη στον ορό του αίματος 2 ώρες μετά τη χορήγηση 75 γρ. γλυκόζης διαλελυμένης σε νερό από το στόμα \geq 200 mg/dl ή
4. Ασθενής με κλασικά συμπτώματα υπεργλυκαιμίας ή υπεργλυκαιμική κρίση και γλυκόζη στον ορό του αίματος \geq 200 mg/dl σε τυχαία μέτρηση.

Για να αποκλειστεί η πιθανότητα εργαστηριακού λάθους, η διαγνωστική δοκιμασία για τη διάγνωση του σακχαρώδη διαβήτη προτείνεται να επαναλαμβάνεται, εκτός αν συνυπάρχουν κλινικά συμπτώματα. Η δοκιμασία δεν είναι απαραίτητο να επαναληφθεί αν ο ασθενής έχει υποβληθεί σε δύο διαφορετικές δοκιμασίες που επιβεβαιώνουν την ύπαρξη σακχαρώδη διαβήτη. Σε περίπτωση ασυμφωνίας αποτελεσμάτων δύο διαφορετικών δοκιμασιών, επαναλαμβάνεται η δοκιμασία που πιστοποιεί την ύπαρξη διαβήτη και η διάγνωση βασίζεται σε αυτή τη δοκιμασία (1)

Υπάρχουν 4 τύποι σακχαρώδους διαβήτη:

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔτ1): χαρακτηρίζεται από παντελή έλλειψη ινσουλίνης. Παλιότερα ονομάζονταν νεανικός σακχαρώδης διαβήτης και ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης.

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔτ2): είναι ο συχνότερος τύπος και χαρακτηρίζεται από τη συνύπαρξη διαταραχής της έκκρισης και της δράσης της ινσουλίνης. Παλιότερα ονομάζονταν σακχαρώδης διαβήτης των ενηλίκων και μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης.

Άλλοι τύποι σακχαρώδους διαβήτη: οφείλονται σε γενετικές διαταραχές των β κυττάρων (διαβήτη τύπου MODY), νοσήματα της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, φάρμακα, κλπ.

Σακχαρώδης διαβήτη της κύησης: ορίζεται ως διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων ποικίλης βαρύτητας με έναρξη ή πρώτη αναγνώριση στην παρούσα εγκυμοσύνη.(1, 4)

Προδιαβήτη

Οι φυσιολογικές τιμές του γλυκόζης πλάσματος είναι < 100 mg/dl.

Άτομα που έχουν τιμές γλυκόζης νηστείας πλάσματος μεταξύ 100 και 125 mg/dl έχουν διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (Impaired Fasting Glucose, IFG).

Άτομα με τιμές γλυκόζης πλάσματος ≥ 140 mg/dl και < 200 mg/dl, 2 ώρες μετά από τη λήψη γλυκόζης 75 g κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη και τιμές γλυκόζη νηστείας πλάσματος < 126 mg/dl, θεωρούνται ότι έχουν διαταραγμένη (παθολογική) ανοχή στη γλυκόζη (Impaired Glucose Tolerance, IGT). Τόσο τα άτομα με IFG όσο και IGT χαρακτηρίζονται ότι έχουν προδιαβήτη. (1)

Τα άτομα που έχουν προδιαβήτη ευρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη στο μέλλον.

Η συχνότητα του σακχαρώδους διαβήτη στην Ελλάδα (διαγνωσμένου και αδιάγνωστου) σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες είναι της τάξης του 7-8%. Από το σύνολο των ατόμων με διαβήτη, περίπου το 95% έχει ΣΔτ2 και το υπόλοιπο περίπου 5% έχει ΣΔτ1. Διαχρονικά παρατηρείται μια συνεχής αύξηση της συχνότητας

του σακχαρώδους διαβήτη στην Ελλάδα (2,4% το 1974, 3,1% το 1990 και 7-8% σήμερα). (5)

Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες:

Οι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη είναι οι εξής (1):

Δείκτης μάζας σώματος $\geq 30 \text{ kg/m}^2$

Καθιστική ζωή

Συγγενείς πρώτου βαθμού με διαβήτη

Γυναίκες με ιστορικό γέννησης τέκνου $> 4 \text{ kg}$

Γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Ιστορικό διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας ή/και διαταραγμένης (παθολογικής) ανοχής στη γλυκόζη

Υπέρταση

HDL $< 35 \text{ mg/dl}$ ή τριγλυκερίδια νηστείας $> 250 \text{ mg/dl}$

Καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη (σοβαρού βαθμού παχυσαρκία, μελανίζουσα ακάνθωση)

Ιστορικό καρδιοαγγειακού επεισοδίου

Όταν οι ανωτέρω παράγοντες απουσιάζουν, ο προσυμπτωματικός έλεγχος για τη διάγνωση του προδιαβήτη και του διαβήτη συνιστάται να αρχίζει σε ηλικία ≥ 45

ετών. Όταν οι τιμές της γλυκόζης είναι στα φυσιολογικά όρια, συνιστάται επανέλεγχος μετά από 3 χρόνια. Όταν όμως υπάρχουν παράγοντες κινδύνου ή οι τιμές της γλυκόζης ευρίσκονται στα ανώτερα φυσιολογικά όρια συνιστάται συχνότερος επανέλεγχος.

Σχεδόν το 25% των ατόμων με IFG ή IGT θα εμφανίσει σακχαρώδη διαβήτη στα επόμενα 3-5 χρόνια. Τα άτομα με προδιαβήτη πρέπει να ακολουθούν έναν υγιεινό τρόπο ζωής που πρέπει να περιλαμβάνει σωστή διατροφή και τακτική σωματική άσκηση. Παράλληλα πρέπει να γίνει μια επιθετική προσέγγιση σε τυχόν συνυπάρχουσες καταστάσεις όπως είναι το κάπνισμα, η υπέρταση, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία.

Κανένα φάρμακο σήμερα δεν έχει ένδειξη για την πρόληψη του διαβήτη.

Γλυκαιμικοί στόχοι

HbA1c $\leq 7\%$

Προγευματικές τιμές γλυκόζης (τριχοειδικό αίμα) 70-130 mg/dl

Μέγιστες μεταγευματικές τιμές γλυκόζης (τριχοειδικό αίμα) < 180 mg/dl

Οι τιμές της HbA1c αναφέρονται σε σχέση με φυσιολογικές τιμές HbA1c 4,0-6,0%.

Η μέτρηση του γλυκόζης μεταγευματικά πρέπει να γίνεται 1-2 ώρες μετά από την έναρξη λήψης του γεύματος.

Οι στόχοι της γλυκαιμικής ρύθμισης πρέπει πάντοτε να εξατομικεύονται σε σχέση με την ηλικία των ασθενών, το προσδόκιμο επιβίωσης, τη διάρκεια του διαβήτη, των

συνθηκών διαβίωσης (ηλικιωμένα άτομα ή άτομα που ζουν μόνα), της ικανότητας αντίληψης των υπογλυκαιμιών και της ύπαρξης καρδιαγγειακής νόσου.

Σε ασθενείς με μεγάλη διάρκεια διαβήτη, με ιστορικό σοβαρών υπογλυκαιμιών, μειωμένο προσδόκιμο επιβίωσης, επιπλοκές σε προχωρημένο στάδιο και βαριά συνυπάρχοντα νοσήματα, η τιμή-στόχος της HbA1c είναι 7,0-7,5%.

Επιπλέον στόχοι στα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη

Εκτός της γλυκαιμικής ρύθμισης, επειδή τα ενήλικα άτομα με διαβήτη έχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση αθηροσκλήρωσης και μικροαγγειοπαθητικών επιπλοκών, έχει εξίσου μεγάλη σημασία η καλή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, των λιπιδίων, χορήγηση αντιαιμοπεταλιακής αγωγής και η αποφυγή ή η διακοπή του καπνίσματος.

Οι επιπλέον στόχοι για την αρτηριακή πίεση και τα λιπίδια είναι οι εξής:

Αρτηριακή πίεση \leq 140/80 mmHg

LDL χοληστερόλη < 100 mg/dl σε άτομα χωρίς καρδιαγγειακή νόσο ή < 70 mg/dl σε άτομα με καρδιαγγειακή επιπλοκή

- Επιπλέον είναι επιθυμητές οι κάτωθι τιμές: HDL χοληστερόλη > 40 mg/dl στους άνδρες και > 50 mg/dl στις γυναίκες

Τριγλυκερίδια νηστείας < 150 mg/dl (1, 4)

ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

Η διαίτα και η άσκηση αποτελούν απαραίτητες συνιστώσες, στην πρόληψη και αντιμετώπιση του σακχαρώδους διαβήτη.

Η εκπαίδευση τόσο για την εφαρμογή τους όσο για τα οφέλη που προκύπτουν, θα πρέπει να ξεκινά τη στιγμή της πρώτης διάγνωσης και να επαναλαμβάνεται σε τακτικά χρονικά διαστήματα(6)

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Τα άτομα με διαβήτη πρέπει πάντοτε να ενθαρρύνονται για αλλαγές στον τρόπο ζωής σε κάθε θεραπευτικό βήμα. Συνιστάται να γίνεται τακτικά αυτοέλεγχος καθώς και έλεγχος της HbA1c κάθε 3 μήνες. Όταν δεν επιτυγχάνεται ο στόχος της γλυκόζης σε λίγες μέρες ή της HbA1c μετά από 2-3 μήνες πρέπει να γίνεται αλλαγή στη θεραπεία. Στην επιλογή των φαρμάκων πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα ειδικά χαρακτηριστικά των φαρμάκων και τα οφέλη καθώς και οι κίνδυνοι που προκύπτουν από τη χορήγησή τους. Τονίζεται ότι δεν είναι απαραίτητη η χορήγηση αντιδιαβητικών φαρμάκων σε άτομα με νεοδιαγνωσθέντα σακχαρώδη διαβήτη όταν τα υγιεινοδιαιτητικά μέτρα είναι αποτελεσματικά και επιτυγχάνονται οι στόχοι της γλυκαιμικής ρύθμισης. (4) Η αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας στο ΣΔτ2 παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα .

Κατηγορία	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα	Κόστος
Διγουανίδια			Χαμηλό
Μετφομίνη	<ul style="list-style-type: none">• Μεγάλη εμπειρία• Δεν προκαλεί υπογλυκαιμίες• Ουδέτερη επίδραση οξέωση	<ul style="list-style-type: none">• Γαστρεντερικές διαταραχές• Σπάνια γαλακτική οξέωση	

στο σωματικό βάρος • Ανεπάρκεια

- Πιθανώς μείωση βιταμίνης B12

καρδιοαγγειακών • Αντενδείκνυται σε

συμβαμάτων διάφορες παθήσεις

Σουλφονουλορίες

Χαμηλό

1. Γλιβενκλαμίδη

- Μεγάλη εμπειρία
- Υπογλυκαιμίες

2. Γλικλαζίδη MR

- Μείωση κινδύνου
- Αύξηση του

3. Γλιμεπιρίδη

εμφάνιση σωματικού βάρους

- Μικρή διατηρησιμότητα
- Πιθανώς μείωση της ισχαιμικής προπόνησης στο μυοκάρδιο

μικροαγγειοπάθειας

Μεγλιτινίδες

Υψηλό

1. Νατεγλινίδη

- Ευελιξία στη
- Υπογλυκαιμίες

2. Ρεπαγλινίδη

δοσολογία

- Αύξηση του
- Συχνή δοσολογία
- Πιθανώς μείωση της ισχαιμικής προπόνησης στο μυοκάρδιο

Βελτίωση της σωματικού βάρους

μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας

Γλιταζόνες		Υψηλό
Πιογλιταζόνη	<ul style="list-style-type: none"> • Δεν προκαλεί υπογλυκαιμίες • Βελτιώνει τη λιπιδαιμική εικόνα • Πιθανώς μείωση καρδιοαγγειακών συμβαμάτων • Διατηρησιμότητα 	<ul style="list-style-type: none"> • Αύξηση του σωματικού βάρους • Οίδημα, καρδιακή ανεπάρκεια • Κατάγματα • Πιθανώς αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου ουροδόχου κύστης
Αναστολείς α-γλυκοσιδάσης		Χαμηλό
Ακαρβόζη	<ul style="list-style-type: none"> • Δεν προκαλεί υπογλυκαιμίες • Βελτίωση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας • Ουδέτερη επίδραση στο σωματικό βάρος 	<ul style="list-style-type: none"> • Γαστρεντερικές διαταραχές • Συχνή δοσολογία
Αναστολείς DPP-4		Υψηλό
1.Βιλνταγλιπτίνη	<ul style="list-style-type: none"> • Δεν προκαλούν υπογλυκαιμίες 	<ul style="list-style-type: none"> • Παγκρεατίτιδα (;)
2.Σαξαγλιπτίνη		
3.Σιταγλιπτίνη	<ul style="list-style-type: none"> • Ουδέτερη επίδραση στο σωματικό βάρος 	

Μιμητικά GLP-1

Υψηλό

1.Εξενατίδη

- Δεν προκαλούν • Γαστρεντερικές

2.Λιραγλουτίδη

υπογλυκαιμίες διαταραχές

- Μείωση του • Ενέσιμα

σωματικού βάρους

- Απαιτείται

εκπαίδευση

- Παγκρεατίτιδα (;)

Ινσουλίνες

Ποικίλλει

- Μεγάλη εμπειρία

- Υπογλυκαιμίες

- Μείωση κινδύνου

- Αύξηση του

εμφάνισης

σωματικού βάρους

μικροαγγειοπάθειας

- Ενέσιμα

- Απαιτείται

εκπαίδευση

ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ (NAFLD)

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι ένα πρόβλημα δημόσιας υγείας: 347 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως έχουν διαβήτη και ο ΠΟΥ δηλώνει ότι ο διαβήτης θα είναι η 7η κύρια αιτία θανάτου το 2030. Πρόκειται για μια ομάδα μεταβολικών ασθενειών που χαρακτηρίζονται από υπεργλυκαιμία που οφείλεται σε ελαττωματική έκκριση ινσουλίνης, δράση της ινσουλίνης ή και τα δύο. Υπάρχουν δύο σημαντικότερες κατηγορίες αιτιολογίας: ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 (T1DM), ο οποίος αντιστοιχεί στο 5% -10% των περιπτώσεων Σακχαρώδους Διαβήτη και προκύπτει από την αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος και την απόλυτη ανεπάρκεια της ινσουλίνης. Και ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 (T2DM), η οποία περιλαμβάνει ασθενείς με αντίσταση στην ινσουλίνη με σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης και αντιπροσωπεύει ποσοστό 90% -95% διαβητικών ασθενών. Και οι δύο ασθενείς Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 1 και Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιων μακροαγγειακών και μικροαγγειακών εκφυλιστικών επιπλοκών. Παρόλα αυτά, πέρα από αυτές τις κλασσικές επιπλοκές, ο Σακχαρώδης Διαβήτης συσχετίζεται επίσης με τη θνησιμότητα που σχετίζεται με το ήπαρ και αυξάνει τον κίνδυνο του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Ο επιπολασμός της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (NAFLD) είναι αυξημένος σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη (7, 8). Αυξανόμενες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι οι ασθενείς με Σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 βρίσκονται σε ιδιαίτερα υψηλό κίνδυνο για τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH), με διαφορετικούς βαθμούς ηπατικής ίνωσης (9, 10). Παρομοίως, ο προϋπάρχων διαβήτης είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εξέλιξη της NAFLD και για τη θνησιμότητα που σχετίζεται με το ήπαρ και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε προοπτικές μελέτες (11)

(12-14). Από την άλλη πλευρά, οι ασθενείς με NAFLD έχουν αυξημένο επιπολασμό στους προδιαβητικούς και πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει ότι η παρουσία NAFLD προοιωνίζει την ανάπτυξη του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 (15, 16).

Υπάρχουν παθογενετικοί μηχανισμοί που συνδέουν την NAFLD και τον Σακχαρώδη Διαβήτη. Εκτός από την αντίσταση στην ινσουλίνη και την υπερινσουλιναίμια, ο διαταραγμένος λιπιδικός μεταβολισμός, το αυξημένο οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή συνυπάρχουν και στις δύο ασθένειες . Είναι πιθανό ότι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν με μεταβολικές διαταραχές για να επιταχύνουν την εξέλιξη της NAFLD σε διαβητικούς ασθενείς. Ο υπερηχογράφος είναι η μέθοδος επιλογής για τη διαλογή ασθενών για την NAFLD. Σε ασθενείς με διαβήτη και ιστολογικά αποδεδειγμένο NASH, παρατηρούνται μη φυσιολογικά ηπατικά ένζυμα σε λιγότερο από 20% των ασθενών (17, 18) . Η βιοψία του ήπατος εξακολουθεί να είναι βέλτιστη μέθοδος για τη διάγνωση και το στάδιο της NAFLD. Ωστόσο, πρόκειται για μια δαπανηρή και επεμβατική διαδικασία με ορισμένους περιορισμούς, όπως το σφάλμα δειγματοληψίας και τη μεταβλητότητα μεταξύ των παρατηρητών και μεταξύ των παθολόγων (9). Προηγουμένως προτάθηκε ότι η βιοψία ήπατος θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε όλους τους ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη και ηπατική στεάτωση σε υπερηχογράφημα. Νέες ακτινολογικές τεχνικές, βιοδείκτες και κλινικοί αλγόριθμοι μελετώνται επί του παρόντος και μπορούν να προσφέρουν, στο εγγύς μέλλον, πολύτιμες μη επεμβατικές εναλλακτικές λύσεις στην ιστολογική διάγνωση. Η θεραπεία βασίζεται κυρίως στις αλλαγές στον τρόπο ζωής και στα αντιοξειδωτικά και πολυάριθμα φάρμακα έχουν μελετηθεί για την ιστολογική βελτίωση με μεταβλητά αποτελέσματα.

Το 1980, οι Ludwig et al περιγράφουν μια μικρή σειρά ασθενών με ιστολογικό ιστορικό ήπατος που χαρακτηρίζεται από συσσώρευση λίπους, ηπατική νεκρωτική

φλεγμονή και, στις περισσότερες περιπτώσεις, ίνωση απουσία ιστορίας υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ. Από την αρχική αυτή περιγραφή, το ιστολογικό κριτήριο για τη διάγνωση της NAFLD έχει εξελιχθεί και έχουν προταθεί πολλά συστήματα ταξινόμησης για την αξιολόγηση της ιστολογικής σοβαρότητας. Το 1999, οι Matteoni et al (19) πρότειναν παθολογικούς υποτύπους NAFLD βασιζόμενους σε αποτελέσματα μελετών και ο Brunt et al (20) πρότεινε ειδική ταξινόμηση για την NASH με βάση κριτήρια που χρησιμοποιούνται σε άλλες μορφές χρόνιας ηπατικής νόσου, χρησιμοποιώντας βαθμούς νεκροφλεγμονώδους βλάβης και στάδια της ίνωσης. Στη συνέχεια, η Παθολογική Επιτροπή του Κέντρου Κλινικών Ερευνών NASH των ΗΠΑ (21) πρότεινε και επικύρωσε ένα ιστολογικό σύστημα βαθμολόγησης συγκεκριμένων αλλοιώσεων που αφορούσαν το πλήρες φάσμα της NAFLD. Επιπλέον, αναπτύχθηκε ένα ξεχωριστό σύστημα βαθμολόγησης που είναι γνωστό ως NAFLD (NAS) για χρήση σε κλινικές δοκιμές. Μετράει τη στεατίδα ημιποσοτικά, καθώς και τη φλεγμονή του λοβού και την ηπατοκυτταρικό αεροθάλαμο, ώστε να καταστεί δυνατή η συστηματική τεκμηρίωση των αλλαγών στη δραστηριότητα της NASH (21). Ωστόσο, μόνο μια αριθμητική τιμή δεν γίνεται αποδεκτή για την οριστική διάγνωση της στεατοηπατίτιδας. Γενικά, η συσσώρευση άνω του 5% λίπους, ιδιαίτερα με τη μορφή τριγλυκεριδίων, θεωρείται ότι αποτελεί την ελάχιστη απαίτηση για ιστολογική διάγνωση στεατώσεως. Η NASH, με τη σειρά της, περιλαμβάνει τη στεατώση και τη φλεγμονή του λοβού και τον εκφυλισμό με διόγκωση, με ή χωρίς μεταβαλλόμενους βαθμούς ίνωσης, ο οποίος αρχικά επικεντρώνεται στις ηπατικές κηλίδες.

Η NAFLD είναι γενικά ασυμπτωματική στην παρουσίαση της και συχνά απαντάται σε άτομα με παθήσεις όπως η παχυσαρκία, ο Σακχαρώδης Διαβήτης, και το μεταβολικό σύνδρομο (22). Τα πιο συνηθισμένα σημεία και συμπτώματα είναι η

κόπωση, ο δεξιός άνω τεταρτημόριος πόνος και η ηπατομεγαλία , τα οποία παρατηρούνται συχνότερα στον παιδικό πληθυσμό. Στην πραγματικότητα, οι περισσότεροι ασθενείς με NAFLD διαγιγνώσκονται από περιστασιακά αυξημένα ηπατικά ένζυμα ή μελέτες απεικόνισης που υποδηλώνουν ηπατική στεάτωση (22). Εξ ορισμού, η NAFLD είναι εγκατεστημένη σε ασθενείς που καταναλώνουν λίγο ή καθόλου αλκοόλ που παρουσιάζει ιστολογική εικόνα που μοιάζει με ηπατική νόσο που προκαλείται από οινόπνευμα. Οι περισσότερες μελέτες καθόρισαν ένα όριο για την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ πάνω από 20 g / d στις γυναίκες και πάνω από 30 g / d στους άνδρες (19, 23). Αντίθετα, τα επίπεδα πρόσληψης 20 g / d (140 g εβδομαδιαίως) για τους άνδρες και 10 g / d (70 g εβδομαδιαίως) για γυναίκες θεωρούνται αποδεκτά όρια για τον ορισμό των "μη αλκοολικών" στις κατευθυντήριες γραμμές που προτείνει η Επιτροπή Της ομάδας εργασίας Ασίας-Ειρηνικού για την NAFLD (APWPNAFLD) και από το δίκτυο κλινικών ερευνών των εθνικών ινστιτούτων υγείας (24, 25). Επιπλέον, η οριστική διάγνωση της NAFLD απαιτεί τον αποκλεισμό άλλων δευτερογενών αιτιών της ηπατικής στεάτωσης, με λήψη φαρμάκων όπως πρεδνιζολόνη, ταμοξιφένη, αμιωδαρόνη και μεθοτρεξάτη μεταξύ άλλων. Επίσης , η έκθεση σε τοξίνες όπως χλωριούχο βινύλιο, η ολική παρεντερική διατροφή, η καχεξία, η χειρουργική επέμβαση εντερικής παράκαμψης, ο ιός της ηπατίτιδας C του γονότυπου 3 και ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας.

Η NAFLD είναι η συνηθέστερη αιτία ηπατικών νόσων στις δυτικές χώρες, που είναι παρούσες σε ποσοστό άνω του 30% του γενικού πληθυσμού (26, 27). Ο επιπολασμός στους ασιατικούς πληθυσμούς κυμαίνεται από 6% έως 25% (28). Ο επιπολασμός της NAFLD μεταξύ των παιδιών είναι 3% -10%, αυξάνεται έως και 40% -70% μεταξύ των παχύσαρκων παιδιών (29). Ο επιπολασμός της NASH είναι δύσκολο να εκτιμηθεί επειδή απαιτεί ιστολογική διάγνωση, η οποία είναι μη πρακτική σε όλους

τους ασθενείς με NAFLD. Σε μια πρόσφατη μελέτη σε μια ομάδα 400 ανθρώπων στρατιωτικού προσωπικού και των συγγενών τους, ο υπερηχητικός επιπολασμός της NAFLD ήταν 46%, και η NASH βρέθηκε στο 30% αυτών των ατόμων, με αποτέλεσμα να επικρατεί η NASH 12% για ολόκληρη την κοόρτη___??? (30). Η κίρρωση NASH είναι πλέον η τρίτη συνηθέστερη ένδειξη για τη μεταμόσχευση ήπατος στις Ηνωμένες Πολιτείες, πίσω από την ηπατίτιδα C και την αλκοολική ηπατική νόσο και είναι η μόνη ένδειξη μεταμόσχευσης που σχετίζεται με το ήπαρ και συνεχίζει να αυξάνεται (31). Η ηπατική νόσος είναι η τρίτη κύρια αιτία θανάτου σε ασθενείς με NAFLD (32), με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα να είναι η συχνότερη αιτία θανάτου που σχετίζεται με το ήπαρ (33). Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 δεν είναι μόνο ένας παράγοντας κινδύνου για την NAFLD, αλλά σχετίζεται επίσης με υψηλότερο επιπολασμό της NASH και της ίνωσης (7, 10, 11). Τα δεδομένα σχετικά με τον Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και την NAFLD είναι λιγοστά. Παρόλο που ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 χαρακτηρίζεται από ανεπάρκεια ινσουλίνης, η παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο μπορεί τελικά να εμφανιστούν σε αυτούς τους ασθενείς και να οδηγήσουν σε NAFLD (34). Ο Targher et al (35) βρήκε επιπολασμό NAFLD 44% σε ασθενείς με απεικόνιση υπερήχων, χωρίς ιστολογική επιβεβαίωση. Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 έχει αναφερθεί ότι είναι τόσο υψηλός όσο το 74% (36). Οι περισσότερες από τις μελέτες που αξιολογούν την NAFLD στο Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 βασίστηκαν αποκλειστικά σε υπερηχογραφία ή σε αυξημένα ηπατικά ένζυμα για διάγνωση. Μελέτες που περιγράφουν το ιστοπαθολογικό φάσμα της NAFLD στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 είναι ακόμη σπάνιες (9).

Η NAFLD αντιπροσωπεύει ένα ευρύ φάσμα καταστάσεων που κυμαίνονται από το λιπώδες ήπαρ, το οποίο ακολουθεί γενικά μια καλοήγη και σταθερή κλινική πορεία,

στην NASH που μπορεί να προχωρήσει σε κίρρωση. Λιγότερο από 1% έως 4% των ασθενών με απλή στεάτωση προχωρούν σε προχωρημένη ίνωση. Αντίθετα, η NASH μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση σε 15% έως 25% των ατόμων, με περαιτέρω επιπλοκές στο συκώτι και να οδηγήσει σε θάνατο (37). Μεταξύ των ατόμων με κίρρωση που σχετίζεται με NASH, περίπου το 25% θα αναπτύξουν σημαντικές επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης εντός 3 ετών (38). Ο ρόλος του διαβήτη στην NASH και η ίνωση αξιολογήθηκε αρχικά σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε βαριατρική χειρουργική επέμβαση. Ο επιπολασμός του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 κυμάνθηκε από 14% έως 28% σε αυτές τις μελέτες και η παρουσία του ήταν ένας προγνωστικός παράγοντας της NASH και της ίνωσης σε ασθενείς με παθολογική παχυσαρκία (39, 40). Οι Younossi et al (11), σε μια αναδρομική μελέτη κοόρτης με 132 ασθενείς με ιστολογική διάγνωση NAFLD, ανέφεραν ότι οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη είχαν υψηλότερα ποσοστά κίρρωσης και θνησιμότητας από αυτούς με NAFLD χωρίς Σακχαρώδη Διαβήτη. Σε μια πρόσφατη προοπτική μελέτη 328 ασυμπτωματικών ασθενών, το 16,5% είχε μια καθιερωμένη διάγνωση του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Ο επιπολασμός της NAFLD και της NASH σε ολόκληρη την ομάδα ήταν 46% και 12% αντίστοιχα. Ωστόσο, σε διαβητικούς ασθενείς, παρατηρήθηκε NAFLD σε 74% και NASH σε 22% (30). Λίγες μελέτες αξιολόγησαν τον επιπολασμό της NAFLD και τους συσχετισμένους παράγοντες με ιστοπαθολογικά στάδια της NAFLD σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Τα μεγέθη των δειγμάτων ποικίλουν από 32 έως 92 ασθενείς και την NASH να είναι παρούσα σε 63-87% των ασθενών, ενώ ο επιπολασμός οιασδήποτε ίνωσης κυμαίνεται από 22% έως 60% στις μελέτες αυτές (7, 10, 41). Στη μεγαλύτερη μελέτη με ένα κέντρο, διαπιστώθηκε υψηλή επικράτηση των πιο σοβαρών σταδίων της NAFLD: 78% για την NASH και 34% για το 60% για τη μέτρια έως σοβαρή ίνωση (7). Καμία

μεταβλητή που δεν σχετίζεται με τον διαβήτη, όπως ο γλυκαιμικός έλεγχος, η διάρκεια του διαβήτη ή η παρουσία μικρο-και μακρο-αγγειακών επιπλοκών, συσχετίστηκε με τα πιο σοβαρά στάδια της NAFLD (7). Η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT), τα υψηλά τριγλυκερίδια και η χαμηλή HDL-χοληστερόλη συνδέθηκαν ανεξάρτητα με την NASH. Από την άλλη πλευρά, το αρσενικό φύλο, η μεγαλύτερη ηλικία και οι αυξημένες τιμές της γαμμαγλουταμυλ τρανσφεράσης (GGT) συσχετίστηκαν με μέτρια έως σοβαρή ίνωση (7). Οι Prashanth et al (10) ανέφεραν την επικράτηση της NASH και οποιουδήποτε σταδίου ίνωσης 62,6% και 37,3% αντίστοιχα. Τα επίπεδα της ALT και της αλκαλικής φωσφατάσης, αν και εντός των φυσιολογικών ορίων, ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με NASH (10). Αξιοσημείωτα, ο επιπολασμός NASH αυξήθηκε αναλογικά με τον αριθμό των παραγόντων κινδύνου του μεταβολικού συνδρόμου που παρουσιάστηκαν.

Επίσης, καμία μεταβλητή που σχετίζεται με το διαβήτη δεν μπορούσε να προβλέψει τη σοβαρότητα της NAFLD. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στο Μεξικό, αξιολογήθηκαν 60 ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη και 22 από αυτούς (37%) είχαν αυξημένα ηπατικά ένζυμα ή / και στεάτωση σε ακτινολογική εξέταση (42). Αυτοί οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος και ο επιπολασμός της NASH ήταν 64%. Δεν υπήρξε συσχέτιση των ηπατικών ενζύμων, του προφίλ των λιπιδίων, της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης ή του δείκτη μάζας σώματος με την παρουσία της NASH. Σε μια άλλη μικρή ομάδα 32 ασθενών με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 που υποβλήθηκαν σε βιοψίες ήπατος, το 49% είχε NAFLD στην ιστοπαθολογία, εκ των οποίων το 87,5% είχε NASH. Δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ ηπατικών ενζύμων και NASH ή ίνωσης (41). Στη συνέχεια, αυτοί οι ερευνητές ανέφεραν, ότι σε 36 ασθενείς με NASH, το 30,5% είχε οποιοδήποτε στάδιο ίνωσης. Οι ασθενείς με οποιοδήποτε στάδιο της ίνωσης είχαν υψηλότερα επίπεδα αμινοτρανσφερασών και

υψηλότερη αναλογία ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) στην αναλογία ALT (17). Παρόλο που στις περισσότερες μελέτες οι διαβητικοί ασθενείς με NASH είχαν υψηλότερο ALT στον ορό από αυτούς χωρίς NASH και τα επίπεδα της ALT συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με την παρουσία NASH στην ηπατική βιοψία, τα μη φυσιολογικά επίπεδα ALT ήταν ασυνήθιστα και δεν είχαν αρκετή προβλεπτική αξία για να επισημανθεί μια δοκιμή διαλογής για ανίχνευση NASH (7). Επιπλέον, σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, τα ένζυμα του ήπατος του ορού θα μπορούσαν να είναι λιγότερο αντιπροσωπευτικά της σοβαρότητας της ενδοηπατικής συσσώρευσης λίπους. Σε άλλη μελέτη, οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 έδειξαν περίπου 80% περισσότερο περιεχόμενο ενδο-ηπατικού λίπους με φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού σε οποιαδήποτε ηλικία, φύλο και μη-διαβητικούς μάρτυρες που ταιριάζουν με το σωματικό βάρος (43). Η περιεκτικότητα σε λιπώδες ήπαρ υποεκτιμήθηκε από την ALT του ορού σε σύγκριση με τα εξίσου παχύσαρκα μη διαβητικά άτομα. Μια πρόσφατη μελέτη εγκάρσιας τομής έδειξε ότι εκτός από τον διαβήτη, ένα οικογενειακό ιστορικό διαβήτη αύξησε τον κίνδυνο NASH και ίνωσης σε μη διαβητικά άτομα (44). Η συσχέτιση μεταξύ οικογενειακού ιστορικού διαβήτη με NASH και ίνωσης παρέμεινε σημαντική ακόμη και μετά την προσαρμογή στην κατάσταση των προδιαβητικών, υποδεικνύοντας ότι ένα οικογενειακό ιστορικό διαβήτη μπορεί να προσφέρει πρόσθετη διαστρωμάτωση κινδύνου σε μη διαβητικούς ασθενείς με NAFLD. Παρά την προφανή έλλειψη συσχέτισης μεταξύ οποιουδήποτε χαρακτηριστικού που σχετίζεται με το διαβήτη και της παρουσίας πιο σοβαρών σταδίων της NAFLD σε προηγούμενες μελέτες, υπάρχουν στοιχεία ότι η NAFLD μπορεί να σχετίζεται με την εμφάνιση μικροαγγειακών και μακροαγγειακών εκφυλιστικών επιπλοκών σε διαβητικούς ασθενείς (45, 46). Σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και Σακχαρώδη

Διαβήτη τύπου 2, η NAFLD συσχετίστηκε με υψηλότερα ποσοστά μικρολευκωματινουρίας, μειωμένη ταχύτητα σπειραματικής διήθησης και αμφιβληστροειδοπάθεια (47, 48). Οι προοπτικές μελέτες έχουν δείξει υψηλότερη επίπτωση χρόνιας νεφρικής νόσου σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και NAFLD, ανεξάρτητα από διάφορους καθορισμένους παράγοντες κινδύνου (46, 47). Και οι δύο υποκλινικοί δείκτες αθηροσκλήρωσης, όπως το αυξημένο πάχος της καρωτιδικής intima-media και η αορτική δυσκαμψία, καθώς και οι κλινικές καρδιαγγειακές παθήσεις, ήταν επίσης συχνότερες σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 με τη διάγνωση NAFLD από ό, τι στους ομολόγους τους χωρίς NAFLD (49). Αποδείχθηκε ότι η συσχέτιση μεταξύ της μακροαγγειακής νόσου και της NAFLD ήταν ανεξάρτητη από τους κλασσικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου και μεταβολικού συνδρόμου (35). Ένα άλλο θέμα που πρέπει να εξεταστεί είναι εάν ο διαβήτης επιταχύνει επίσης την εξέλιξη της NAFLD. Η παρουσία του Σακχαρώδους Διαβήτη συσχετίστηκε ανεξάρτητα με την προχωρημένη ηπατική ίνωση σε μελέτες εγκάρσιας τομής (50, 51). Ωστόσο, τα ευρήματα από προοπτικές μελέτες με σειριακές βιοψίες ήπατος εξακολουθούν να είναι σπάνιες και αμφιλεγόμενες. Σε μια μελέτη κοορτής με 129 ασθενείς με αποδεδειγμένη με βιοψία NAFLD που αξιολογήθηκε εκ νέου μετά από μέση παρακολούθηση 13,7 ετών, η πρόοδος της ηπατικής ίνωσης εμφανίστηκε στο 41% (13). Η πιο έντονη αντίσταση στην ινσουλίνη κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης συσχετίστηκε με την πρόοδο της ίνωσης του ήπατος. Δυστυχώς, η γλυκόζη πλάσματος νηστείας δεν μετρήθηκε κατά την έναρξη της μελέτης και συνεπώς η επικράτηση του διαβήτη κατά την έναρξη της μελέτης δεν μπόρεσε να αναφερθεί (13). Σε μια άλλη κοορτή 103 ασθενών με NAFLD που υποβλήθηκαν σε δεύτερη βιοψία ήπατος με μέσο διάστημα 3,2 ετών, η σταδιοποίηση της ίνωσης προχώρησε σε

37%. Ο προχωρημένος διαβήτης και τα πρώιμα στάδια της ίνωσης κατά την πρώτη βιοψία ήταν παράγοντες πρόβλεψης της εξέλιξης της ίνωσης (12). Διαφορετικά, σε μια συστηματική ανασκόπηση που περιλάμβανε δέκα επιμήκεις μελέτες που περιελάμβαναν 221 ασθενείς που είχαν NASH στην αρχική βιοψία τους, δεν έλαβαν καμία παρέμβαση αποδεδειγμένου οφέλους όσον αφορά την ιστολογία και υποβλήθηκαν σε δεύτερη βιοψία ήπατος τουλάχιστον ενός έτους χωριστά, μόνο ηλικία και οποιοδήποτε βαθμό φλεγμονής. Η αρχική βιοψία ήταν οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονταν με την πρόοδο στην προχωρημένη ίνωση. Άλλες παραδοσιακές παράμετροι όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης και η υπέρταση δεν ήταν στατιστικά σημαντικοί παράγοντες πρόβλεψης (52). Συνολικά, η συμπερίληψη ετερογενών μελετών, η διαφωνία σχετικά με τα κριτήρια διάγνωσης της NASH, το σφάλμα δειγματοληψίας και η μεταβλητότητα μεταξύ των παθολόγων είναι αξιοσημείωτοι περιορισμοί των μακροχρόνιων ιστολογικών μελετών. Δεν είναι σαφώς καθορισμένο αν η NAFLD επιδεινώνει τον γλυκαιμικό έλεγχο σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Οι ασθενείς με NAFLD έδειξαν τόσο μειωμένη ικανότητα της ινσουλίνης να καταστέλλει την παραγωγή ενδογενούς γλυκόζης που σχετίζεται με την ανοχή στην ηπατική ινσουλίνη όσο και μείωση της απόρριψης γλυκόζης, μέτρηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη ολόκληρου του σώματος (53). Πράγματι, η περιεκτικότητα σε ενδοεπτικά τριγλυκερίδια μπορεί να επηρεάσει τις ανάγκες σε ινσουλίνη σε διαβητικούς ασθενείς μέσω της επίδρασης στην ευαισθησία της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης στην ινσουλίνη (54). Από την άλλη πλευρά, η NAFLD είναι γνωστό ότι συσχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, την υπερινσουλιναιμία και τον προδιαβήτη, η οποία περιλαμβάνει τόσο μειωμένη γλυκόζη νηστείας (IFG) όσο και μειωμένη ανοχή γλυκόζης (IGT). Σε μια αυστραλιανή μελέτη 70 ασθενών με NAFLD που προσδιορίστηκαν με

υπερηχογράφημα, 24% είχαν IGT και 10% είχαν διαβήτη σε πρότυπη δοκιμασία ανοχής γλυκόζης από το στόμα (OGTT). Περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς με NAFLD με φυσιολογική γλυκόζη νηστείας είχαν Ανώμαλη ανοχή στη γλυκόζη, όπως ανιχνεύθηκε από το OGTT. Επιπλέον, ανεξάρτητα από την κατάσταση της ανοχής στη γλυκόζη, η υπερινσουλιναιμία κατά τη διάρκεια της OGTT εμφανίστηκε σε όλα τα άτομα με NAFLD και η αντοχή στην ινσουλίνη νηστείας βρέθηκε στο 73%. Η αντοχή στην ινσουλίνη νηστείας αξιολογήθηκε με τη μέθοδο αξιολόγησης μοντέλου ομοιόστασης (HOMA-IR) και ορίστηκε με HOMA-IR ίση ή μεγαλύτερη από 2 (55). Στην μελέτη Framingham Heart με 2589 άτομα, το λιπώδες ήπαρ συσχετίστηκε με επίπεδα Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, IFG, υπέρτασης, μεταβολικού συνδρόμου, HDL-χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και αδιπνεκτίνης, ακόμη και μετά από πολυπαραγοντική προσαρμογή για άλλες αποθήκες λίπους, όπως τον σπλαχνικό λιπώδη ιστό, την περιφέρεια μέσης και τον δείκτη μάζας σώματος (56). Επιπλέον, αρκετές προοπτικές μελέτες παρατήρησης έδειξαν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 σε ασθενείς με NAFLD που διαγνώστηκαν με υπερηχογραφία ή με βιοψία ήπατος. Ωστόσο, τα περισσότερα από αυτά δεν προσαρμόστηκαν για τις κύριες συνιστώσες, όπως οικογενειακό ιστορικό Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, σωματική δραστηριότητα και επίπεδα γλυκόζης νηστείας και ινσουλίνης (57). Σε μια πρόσφατη προοπτική κοινοτική μελέτη σε αστικό πληθυσμό ενηλίκων από τη Σρι Λάνκα, άτομα με υπερηχογραφική NAFLD έδειξαν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Μετά από τρία χρόνια παρακολούθησης, τα ποσοστά εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 ήταν 64,2 και 34 ανά 1000 άτομα / έτη για τα άτομα με και χωρίς NAFLD αντίστοιχα και η NAFLD ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την εξέλιξη του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 (58). Μια διαχρονική μελέτη κοορτής 7849 ατόμων από τη Κορέα,

παρακολούθησε για 5 χρόνια όσους είχαν αυξημένη ALT και υπερηχογραφική ηπατική στεάτωση, οι οποίοι είχαν αυξημένο κίνδυνο μελλοντικής ανάπτυξης διαβήτη (59). Μια άλλη κορεατική μελέτη έδειξε ότι η NAFLD είχε ανεξάρτητο και πρόσθετο αποτέλεσμα στην ανάπτυξη του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 σε ασθενείς με IFG κατά την έναρξη (60). Ομοίως, οι Musso et al (16) ανέφεραν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διαβητικών προσβολών σε ασθενείς με αποδεικτικά στοιχεία υπερηχογραφικού και ιστολογικού NAFLD σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση τριών μεγάλων κοορτών με βάση την κοινότητα, με εύρος παρακολούθησης από 4 έως 10 έτη. Συνολικά, φαίνεται ότι ο Σακχαρώδης Διαβήτης και η NAFLD είναι δύο νοσολογικές οντότητες με έντονους ρόλους αλληλεπίδρασης, που ο ένας που επηρεάζει δυσμενώς τη πορεία του άλλου, και αντίστροφα.

Το παθοφυσιολογικό χαρακτηριστικό της NAFLD είναι η υποκείμενη αντίσταση στην ινσουλίνη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη στο επίπεδο των λιποκυττάρων φαίνεται να είναι το κύριο μειονέκτημα στο NAFLD, οδηγώντας σε αυξημένη λιπόλυση. Οποιοσδήποτε βαθμός έλλειψης έκκρισης ινσουλίνης που σχετίζεται με Σακχαρώδη Διαβήτη αυξάνει περαιτέρω την δραστικότητα λιπάσης στον λιπώδη ιστό. Αυτό οδηγεί πρώτα σε αυξημένα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs) και στη συνέχεια στον αυξημένο σκελετικό μυ και την ηπατική απελευθέρωση και πρόσληψη, γεγονός που μειώνει τη δράση της ινσουλίνης στους ιστούς αυτούς (61, 62). Η ανθεκτικότητα στην ινσουλίνη στους ιστούς αυτούς οδηγεί σε αυξημένη γλυκογονεογένεση και γλυκογονόλυση στο ήπαρ, καθώς και μείωση στην απόρριψη της περιφερικής γλυκόζης με αποτέλεσμα υπεργλυκαιμία. Τα κύτταρα νησίδων παγκρεατικής βήτα προσαρμόζονται στην υπεργλυκαιμία αυξάνοντας την έκκριση ινσουλίνης, οδηγώντας σε υπερινσουλιναιμία. Η υπερινσουλιναιμία και η υπεργλυκαιμία ρυθμίζουν επίσης αρκετούς βασικούς παράγοντες λιπογενούς

μεταγραφής, όπως η πρωτεΐνη σύνδεσης 1c του ρυθμιστικού στοιχείου στερόλης (SREBP1c) και η πρωτεΐνη δέσμευσης στοιχείων υδατανθράκων (ChREBP), προωθώντας τη σύνθεση των ηπατικών λιπιδίων ή de novo λιπογένεση (63). Σε ασθενείς με NAFLD, μελέτες έδειξαν ότι η μεγάλη πλειοψηφία του ηπατικού λίπους προέρχεται από FFAs (59%), αλλά το 26% προέρχεται από de novo λιπογένεση και το 15% προέρχεται από τη δίαιτα (64). Η ηπατική στεάτωση προκύπτει όταν η ισορροπία μεταξύ της χορήγησης και της σύνθεσης των FFA υπερβαίνει την ικανότητα του ήπατος να οξειδώνει ή να τα εξάγει. Τα λιπίδια εξάγονται με τη μορφή λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και η σύνθεση της απολιποπρωτεΐνης B-100, η οποία είναι η απολιποπρωτεΐνη που περιέχεται σε σωματίδια VLDL, μειώνεται σε ασθενείς με NASH (65). Η συσσώρευση λιπιδίων μπορεί να προκαλέσει τοξικές επιδράσεις στο ήπαρ με αναποτελεσματική οξείδωση ή ενεργοποίηση φλεγμονωδών οδών. Αν και τα ηπατικά τριγλυκερίδια (τριακυλγλυκερόλη) θεωρούνται προστατευτικά για την εξέλιξη της NAFLD, ορισμένοι λιπιδικοί μεταβολίτες όπως η διακυλγλυκερόλη και τα κεραμίδια μπορεί να προκαλέσουν τον ίδιο τον τραυματισμό και τον θάνατο των κυττάρων και να συμβάλουν στην ανάπτυξη NASH (66). Τα FFAs μπορούν να οξειδωθούν μέσα στα μιτοχόνδρια, τα υπεροξυσώματα και το μικροσωμικό σύστημα. Η αυξημένη οξείδωση του FFA προκαλεί ένα οξειδωτικό στρες που περαιτέρω αποκλείει τη μιτοχονδριακή οξείδωση / φωσφορυλίωση και παράγει περισσότερο δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Πράγματι, η μη φυσιολογική μιτοκτονική μορφολογία και λειτουργία είναι συχνά παρούσα στα ηπατοκύτταρα ασθενών με NASH. Αυτές οι ανωμαλίες θα μπορούσαν να καταστήσουν τα ηπατοκύτταρα ακόμη πιο επιρρεπή σε οξειδωτική βλάβη (67). Το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται από το ROS προάγει

την υπεροξειδωση των λιπιδίων και αυξάνει τη φλεγμονή με τη ρύθμιση των βασικών παραγόντων και των οδών σηματοδότησης υποδοχέων NFκB και TLR (68).

Η συστηματική υποκλινική φλεγμονή φαίνεται επίσης να εμπλέκεται στην παθογένεση των NAFLD και NASH. Οι ασθενείς με NAFLD έχουν υψηλότερους κυκλοφορούντες δείκτες φλεγμονής από τους υγιείς μάρτυρες. Έχει αποδειχθεί ότι οι διαβητικοί ασθενείς με NAFLD έχουν υψηλότερους κυκλοφορούντες δείκτες φλεγμονής από τους διαβητικούς ασθενείς χωρίς NAFLD (69). Έχει επίσης περιγραφεί, ότι καθώς αυξάνεται η παχυσαρκία, υπάρχει μια αύξηση στην διείσδυση μακροφάγων στον λιπώδη ιστό. Αυτοί οι ενεργοποιημένοι μακροφάγοι εκκρίνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως TNF-άλφα και IL-6 που μπορεί να επιδεινώσουν την αντίσταση στην ινσουλίνη μειώνοντας τη σηματοδότηση της ινσουλίνης. Με τη σειρά τους, τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης στον ορό, μια ευαισθητοποιητική αντιφλεγμονώδη ινσουλίνη και ενδεχομένως η ηπατοπροστατευτική αδιποκίνη, μειώνονται σε ασθενείς με NAFLD και είναι χαμηλότερες σε NASH από ότι σε απλή στεάτωση (70, 71). Επιπρόσθετα, τα επίπεδα αδιπονεκτίνης πέφτουν σε προδιαβήτη και σε Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και μπορεί να υπάρξει μια σύνδεση μεταξύ δυσλειτουργίας λιποκυττάρων και NASH σε αυτούς τους ασθενείς (72). Αναγνωρίζεται τώρα ότι η εξέλιξη της NAFLD και ιδιαίτερα η NASH προκύπτει από μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ της αντίστασης στην ινσουλίνη και της υπερινσουλιναιμίας, αυξημένου οξειδωτικού στρες, ηπατικής και συστηματικής φλεγμονής.

Η ινσουλιναιμία σε συνδυασμό με τη συνεχιζόμενη ηπατική φλεγμονή και την απόπτωση ηπατοκυττάρων μπορεί να προκαλέσει profibrotic παράγοντες. Έτσι, οι profibrotic παράγοντες μπορούν να συμβάλλουν στην πρόοδο της ίνωσης ενεργοποιώντας τα κύτταρα stellate των ηπατοκυττάρων. Το NAFLD έχει πρόσφατα

συνδεθεί με αλλοιώσεις του μικροβίου του εντέρου και των μεταβολικών του επιδράσεων. Η αυξημένη απορρόφηση των λιποπολυσακχαριτών (LPS) που προέρχεται από έναν λεπτό εντερικό βλεννογόνο μπορεί να προκαλέσει την ενεργοποίηση του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος, με άμεση διέγερση της σηματοδότησης TLR, οδηγώντας σε φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη(73). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 είχαν μέσα επίπεδα πλάσματος LPS υψηλότερα από τους μάρτυρες λόγω της υψηλότερης βακτηριακής υπερανάπτυξης του εντέρου και της αυξημένης διαρροής του εντερικού βλεννογόνου (74).

Οι γενετικοί παράγοντες μπορούν επίσης να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη του NAFLD. Με βάση τους πολύπλοκους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθογένεση της NAFLD, υπάρχει μια μικρή πιθανότητα να βρεθεί ένα μόνο υποψήφιο γονίδιο υπεύθυνο για το NAFLD ή μια σαφής γενετική σύνδεση μεταξύ του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και του NAFLD. Μέσω αρκετών μελετών συσχέτισης με το γονιδίωμα, ο πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου rs738409 C / G υποδηλώνει μεταβολή αμινοξέος από την ισολευκίνη (I) σε μεθειονίνη (M) στην θέση 148 (I148M) της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί από την φωσφολιπάση τύπου πατατίνης Domain που περιέχει 3 γονίδια (PNPLA3) συσχετίστηκε έντονα με αυξημένη περιεκτικότητα σε ηπατικές λιπαρές ουσίες και ιστολογική σοβαρότητα NAFLD (75, 76). Η γενετική διαφοροποίηση στο PNPLA3 φαίνεται να προσδίδει σημαντικά αυξημένο κίνδυνο σοβαρών ιστολογικών χαρακτηριστικών του NAFLD, αλλά δεν υπάρχει συσχέτιση αυτού του γενετικού πολυμορφισμού με δείκτη μάζας σώματος, τριγλυκερίδιο, επίπεδα HDL και LDL χοληστερόλης ή διαβήτη (77). Άλλοι πολυμορφισμοί στην πρωτεΐνη μεταφοράς μικροσωματικών τριγλυκεριδίων ή στο

γονίδιο της δισμουτάσης υπεροξειδίου 2 θα μπορούσαν να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ NAFLD και διαβήτη (78, 79).

Όταν υπάρχει υπόνοια για την NAFLD, το πρώτο βήμα για τον ορισμό της διάγνωσης του είναι να αποκλειστούν άλλες γνωστές αιτιολογίες χρόνιων ηπατικών ασθενειών όπως η στεάτωση (80, 81), οι ιοί και το οινόπνευμα. Όπως περιγράφηκε προηγουμένως, πρέπει να ληφθεί ένα προσεκτικό ιστορικό κατάποσης αλκοόλ. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι διαβητικοί ασθενείς με υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να έχουν όλες τις εκφράσεις του αλκοολισμού όσο και της NAFLD (82). Τα ένζυμα του ήπατος μπορεί να είναι αυξημένα, αλλά οι φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες δεν αποκλείουν τη διάγνωση της NAFLD, ακόμη και σε διαβητικά άτομα (83). Τα επίπεδα αμινοτρανσφεράσης έχουν επανεκτιμηθεί και έχουν προταθεί νέα όρια για φυσιολογικά επίπεδα κατά την εξέταση ασθενών με NAFLD. Αυτά τα επίπεδα είναι 19 U / L για τους άνδρες και 30 U / L για τις γυναίκες και αυτό έχει βελτιώσει την ευαισθησία για τη διάγνωση της NAFLD (84), αν και η διάγνωση της NASH εξακολουθεί να μην μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο με βάση τις αμινοτρανσφεράσες. Αν και δεν είναι συγκεκριμένα, τα επίπεδα φερριτίνης στον ορό μπορεί να είναι υψηλά και είναι σημαντικό να απορρίπτεται η αιμοχρωμάτωση σε ασθενείς με υψηλό δείκτη κορεσμού τρανσφερίνης (85). Τα αυτοαντισώματα χαμηλού τίτλου, όπως ο αντι-πυρηνικός και ο αντιπληροφοριακός μυς, μπορούν να βρεθούν ως επιφανιόμενο στη NAFLD (86), αν και μπορεί να ενδείκνυται η βιοψία ήπατος για να αποκλειστεί η αυτοάνοση ηπατική νόσο. Η διαγνωστική προσέγγιση σε ασθενείς με NAFLD βασίζεται κυρίως σε απεικονιστικές, ορολογικές και ιστοπαθολογικές μεθόδους. Εκτός από τον Σακχαρώδη Διαβήτη, άλλες κλινικές καταστάσεις σχετίζονται με την NAFLD, όπως η ιδιοπαθής υπέρταση, η παχυσαρκία, η υπερτριγλυκεριδαιμία, η πολυκυστική ωοθηκική νόσος και το μεταβολικό

σύνδρομο (87-89). Επομένως, η NAFLD θα πρέπει να διερευνηθεί σε αυτές τις κλινικές συνθήκες, και συνήθως σε Σακχαρώδη Διαβήτη . Το φάσμα του NAFLD είναι παρόμοιο σε διαβητικά και μη διαβητικά άτομα και αναπτύσσεται από απλή στεάτωση έως προχωρημένη ίνωση, κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (90). Η μόνη αξιόπιστη μέθοδος που προσδιορίζει αυτά τα διαφορετικά στάδια είναι η βιοψία ήπατος. Ωστόσο, λόγω των πιθανών επιπλοκών και περιορισμών όπως το κόστος, ο κίνδυνος δειγματοληψίας και οι κίνδυνοι της διαδικασίας, έχουν προταθεί πολλές μη επεμβατικές μέθοδοι για τη διάγνωση της NAFLD και την πρόβλεψη των ασθενών με υψηλότερο κίνδυνο να έχουν NASH (91, 92). Οι μέθοδοι απεικόνισης έχουν σημαντική ακρίβεια για τον εντοπισμό της ηπατικής στεάτωσης (93). Η υπερηχογραφία του ήπατος (ΗΠΑ) είναι μια ασφαλής, φθηνή και άμεσα διαθέσιμη μέθοδος. Είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη τεχνική για τη διάγνωση της NAFLD με ευαισθησία 60% -94% και ειδικότητα 66% -95% για την ανίχνευση της στεάτωσης (94, 95). Ο κύριος περιορισμός είναι ότι είναι εξαρτώμενος από τον χειριστή και δεν μπορεί να ανιχνεύσει ήπια στεάτωση (5% -30%) (94-96). Η πρόσθετη ρομεομετρία Doppler βοηθά στον εντοπισμό έμμεσων σημείων προχωρημένης ηπατικής νόσου.

Η αξονική τομογραφία (CT) επιτρέπει την ποσοτική και ποιοτική αξιολόγηση της στεατότητας του ήπατος με μεγαλύτερη ακρίβεια. Με βάση τη διαφορά της εξασθένησης του ηπατικού σπληνός, το CT χωρίς ανίχνευση μπορεί να ανιχνεύσει τις βαθμολογίες ηπατικής στεάτωσης τόσο χαμηλές όσο το 5% (97). Η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MR) με κατάλληλες αλληλουχίες παρέχει επίσης υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Η φασματοσκοπία MR είναι μια από τις πιο ακριβείς μεθόδους για την αξιολόγηση της ηπατικής στεάτωσης, έχει ισχυρή συσχέτιση με την ιστολογία και μπορεί να ανιχνεύσει πολύ χαμηλά επίπεδα στεάτωσης (98). Πρόσφατα, η ελαστογραφία MR έχει δείξει υψηλή προγνωστική αξία για τον

αποκλεισμό της προηγμένης ίνωσης και μια καλή ακρίβεια για την ανίχνευση της NASH με μια περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC 0,93. Η ελαστογραφία MR διακρίνει την NASH από στεάτωση με ευαισθησία 94% και εξειδίκευση 73% με αποκοπή μονάδων 2.74 kilopascals (kPa) (99). Ωστόσο, το MR είναι υπερβολικά δαπανηρό για χρήση ρουτίνας, αλλά μπορεί να είναι χρήσιμο σε ασθενείς με πρωτόκολλα μελέτης και σε ασθενείς με ισχυρό ύποπτο για NAFLD με φυσιολογική ηχογένεση στο υπερηχογράφημα (100)

Μια νέα μέθοδος για τη διάγνωση και την ποσοτικοποίηση της στεατώσης είναι η ελεγχόμενη εξασθενημένη παράμετρος (CAP) (101). Το CAP είναι λογισμικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα με τη μεταβατική ελαστογραφία του ήπατος που διατίθεται από το Fibroscan (102, 103). Πρόκειται για μια απλή και εύκολη μέθοδο που μπορεί να ανιχνεύσει τη στεατόπαυση του ήπατος σε επίπεδα τόσο χαμηλά όσο το 5%. Ο Sasso et al (102) όρισε την καλύτερη τιμή αποκοπής των 292 για σοβαρή στεατόωση (> 66%), με αρνητική τιμή πρόβλεψης 100%. Ο κύριος περιορισμός της είναι η δυσκολία λήψης αξιόπιστων μετρήσεων σε παχύσαρκους ασθενείς. Όταν η στεατόπωση του ήπατος εκτιμάται χρησιμοποιώντας CAP, η ηπατική δυσκαμψία αξιολογείται επίσης με την ελαστογραφία Fibroscan. Σε αυτή τη μέθοδο, οι δονήσεις με ήπιο πλάτος και χαμηλή συχνότητα μεταδίδονται από τον μορφοτροπέα, προκαλώντας ένα ελαστικό κύμα διάτμησης που διαδίδεται μέσω του ήπατος. Η ταχύτητα της διάδοσης των κυμάτων σχετίζεται άμεσα με τη δυσκαμψία του ήπατος ή την ίνωση: όσο πιο σκληρός είναι ο ιστός, τόσο πιο γρήγορα διαδίδεται το διάτμητο κύμα. Η ταχύτητα της διάδοσης των διατμητικών κυμάτων μετριέται σε kilopascals (kPa). Η υψηλότερη δυσκαμψία ιστού αντιστοιχεί στην αυξανόμενη σοβαρότητα της ίνωσης. Οι Wong et al (104) καθόρισαν μια αποκοπή 10,3 kPa σε ασθενείς με NAFLD για να προβλέψουν την προχωρημένη ίνωση με ευαισθησία 92%

και εξειδίκευση 88%. Η αρνητική τιμή πρόβλεψης αυτής της αποκοπής για προχωρημένη ίνωση ήταν 99%. Η δυνατότητα αξιολόγησης της ίνωσης και της στεάτωσης ταυτόχρονα καθιστά το Fibroscan πολύτιμο εργαλείο στη μελέτη της NAFLD. Πολλές ορολογικές μέθοδοι έχουν αξιολογηθεί στη διάγνωση της NAFLD όσον αφορά την ακρίβειά τους για την ανίχνευση της NASH (105). Σε αυτή τη ρύθμιση, θα εξεταστεί ο λόγος AST / ALT (106), ο δείκτης FIB-4 (91), η βαθμολογία BARD (51), η βαθμολογία ινώδους NAFLD (50) και η ενισχυμένη δοκιμή της ινώδους ηπατικής λειτουργίας. Η αναλογία AST / ALT χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό ασθενών με προχωρημένη ίνωση και μια τιμή > 1 μπορεί να προβλέψει προχωρημένη ίνωση σε ασθενείς με NAFLD (106). Ο δείκτης FIB-4 υπολογίζεται εύκολα χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο: $[\text{ηλικία (έτη)} \times \text{AST (U / L)}] / [\text{αιμοπετάλια (109 / L)} \times \text{τετραγωνική ρίζα ALT (U / L)}]$ Της ηπατικής ίνωσης, αλλά δεν είναι ικανή διάγνωσης της NASH. Περιγράφηκε ότι ο δείκτης FIB-4 $\geq 2,67$ είχε τιμή θετικής πρόβλεψης 80% και ο δείκτης FIB-4 $\leq 1,30$ είχε 90% αρνητική πρόβλεψη για ίνωση σε ασθενείς με NAFLD, αν και άλλες μη επεμβατικές εξετάσεις όπως η ELF και Το Fibrotest ήταν ακριβέστερο από το δείκτη FIB-4 για την πρόβλεψη της προχωρημένης ίνωσης (91, 107). Η βαθμολογία ινώδους NAFLD και η βαθμολογία BARD περιλαμβάνουν Σακχαρώδη Διαβήτη ως μεταβλητή στον τύπο τους. Η βαθμολογία BARD αποτελείται από τρεις μεταβλητές: αναλογία AST / ALT $\geq 0,8$ άθροισμα 2 μονάδων. Ένας ΔΜΣ ≥ 28 ποσά 1 βαθμός. Παρουσία Σακχαρώδους Διαβήτη 1 βαθμού. Η πιθανή βαθμολογία κυμαίνεται από 0 έως 4 βαθμούς. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Harrison et al (51), οι τιμές βαθμολογίας 0 ή 1 θα είχαν υψηλή αρνητική προγνωστική αξία (NPV) για σοβαρή ίνωση. Η βαθμολογία NAFLD περιλαμβάνει δημογραφικές και εύκολα αποκτημένες εργαστηριακές μεταβλητές όπως ηλικία, BMI, υπεργλυκαιμία, αριθμό αιμοπεταλίων, λευκοματίνη και AST /

ALT. Οι τύποι $\{-1.675 + [0.037 \times \text{ηλικία (έτη)}] + (0.094 \times \text{BMI}) + [1.13 \times \text{IFG} / \text{διαβήτη (ναι} = 1, \text{όχι} = 0)] + (109 / \text{L}) - [0,66 \times \text{λευκωματίνη (g / dL)}]\}$ μπορεί να αξιολογηθεί ηλεκτρονικά στο [http:// NAFLDscore. Com](http://NAFLDscore.Com). Σύμφωνα με αρκετές μελέτες έχει υψηλή ακρίβεια για την πρόβλεψη της προηγμένης ίνωσης. Ο Musso et al (16) έδειξε σε μια μετα-ανάλυση ότι η βαθμολογία NAFLD είχε ευαισθησία και ειδικότητα υψηλότερη από 90% για την πρόβλεψη της προχωρημένης ίνωσης και πρότεινε ότι ο συνδυασμός δύο μη επεμβατικών μεθόδων όπως η βαθμολογία NAFLD και η ελαστογραφία Fibroscan μπορεί να είναι χρήσιμο εργαλείο σε αυτή τη ρύθμιση. Ο πίνακας ELF, που προέκυψε από την αξιολόγηση τριών πρωτεϊνών μεταβολισμού μήτρας (υαλουρονικό οξύ, TIMP-1 και PIIINP) παρουσίασε υψηλή ακρίβεια στην πρόγνωση της ίνωσης, αν και η χρήση του μπορεί να περιοριστεί από το κόστος και την τοπική διαθεσιμότητα (108).

Η κυτοκερατίνη-18 (CK-18) είναι ένας ορολογικός δείκτης απόπτωσης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνος ή σε συνδυασμό και ήταν εξαιρετικά ακριβής για την ανίχνευση της NASH (109). Ο κύριος περιορισμός της για κλινική χρήση είναι ότι δεν έχει ακόμη καθοριστεί μια καλά καθορισμένη αποκοπή. Μέχρι στιγμής, οι μελέτες που αξιολογούν τους διαφορετικούς βιοδείκτες ορού αποτελούνται από γενικούς ασθενείς με NAFLD και δεν υπάρχει ειδική δοκιμή για ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη . Πρόσφατα, μελετήσαμε αρκετούς βιοδείκτες ορού σε 78 διαβητικούς ασθενείς με NAFLD και έδειξε μια συσχέτιση μεταξύ χαμηλών επιπέδων αδιπονεκτίνης και TGF-β1 με σοβαρά στάδια NAFLD (71). Ίσως ο συνδυασμός δύο μεθόδων όπως οι βιοδείκτες ορού και οι μέθοδοι απεικόνισης μπορεί να είναι το καλύτερο εργαλείο για την πρόβλεψη της NASH και της προχωρημένης ίνωσης. Η ιστολογική διάγνωση της NAFLD ορίζεται ως η παρουσία καταλοίπων λιπιδίων σε περισσότερο από 5% των ηπατοκυττάρων ανεξάρτητα από τον εντοπισμό στο

ηπατικό λοβό. Ωστόσο, το πιο σημαντικό ζήτημα είναι ο ορισμός της NASH, λόγω της προγνωστικής του αξίας. Οι Brunt et al (20) το 1999 ταξινομούν την NAFLD σε τρία διαφορετικά στάδια: ήπια, μέτρια και σοβαρή. Ομοίως, η ταξινόμηση του Matteoni της NAFLD βασίστηκε στη σοβαρότητα της ηπατικής βλάβης ως εξής: τύπος 1, απομονωμένη στεάτωση, Τύπος 2, στεάτωση και φλεγμονή του λοβού. Τύπος 3, στεάτωση και μπαλονιώση ηπατοκυττάρων. Και ο τύπος 4, ο οποίος προσέθεσε την ύπαρξη υαλώδους σώματος και ίνωσης στα προηγούμενα στάδια. Τα στάδια 3 και 4 θεωρήθηκαν ως NASH (19). Ο Kleiner et al (21) το 2005 πρότεινε μια ενημέρωση για την ταξινόμηση του Brunt και ορίστηκε μια βαθμολογία που ονομάζεται NAS, με βάση το άθροισμα τριών κριτηρίων: steatosis (με βαθμολογία 0 έως 3), φλεγμονή του λοβού (βαθμολογηθείσα 0 έως 3) και ballonization Έως 2). Ένα $NAS \geq 5$ βαθμοί συνεπάγεται προηγμένη φλεγμονώδη δραστηριότητα. Ωστόσο, αυτή η βαθμολογία δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται για τη διάγνωση της NASH επειδή πολλοί ασθενείς έχουν NASH με $NAS < 4$ σημεία. Το NAS είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης της θεραπείας και θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε αυτή την κατάσταση. Έτσι, τα χαρακτηριστικά για τη διάγνωση της NASH είναι τα ιστολογικά ευρήματα που παρατηρούνται στην βιοψία ήπατος και όχι την έντασή του. Επί του παρόντος, η NASH ορίζεται από το συνδυασμό στεατώσεως και νεκρωτικών φλεγμονωδών βλαβών, όπως μπαλονιών, με ή χωρίς ίνωση (110).

Υπάρχουν πολύ λίγες τυχαίοποιημένες, τυφλές και ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές φαρμάκων με επαρκή διάρκεια και επαρκή ιστολογική έκβαση σε ασθενείς με NAFLD και Σακχαρώδη Διαβήτη. Ως εκ τούτου, τα δεδομένα σχετικά με τη θεραπεία της NAFLD σε διαβητικούς ασθενείς είναι λιγοστά και η θεραπεία της NAFLD σε διαβητικούς ασθενείς διεξάγεται με βάση στοιχεία από μικτούς πληθυσμούς

διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων. Η απώλεια βάρους μετά τον θερμιδικό περιορισμό και τη σωματική άσκηση βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τους καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου. Ωστόσο, τόσο η εφαρμογή όσο και η διατήρηση αυτών των παρεμβάσεων στον τρόπο ζωής αποτελούν πρόκληση για τα περισσότερα άτομα (111, 112). Μια απώλεια βάρους κατά 5% μέσω της τροποποίησης του τρόπου ζωής βελτίωσε τη βιοχημεία του ήπατος και τη μειωμένη ηπατική στεατώση (113), ωστόσο απαιτήθηκε τουλάχιστον 10% μείωση βάρους για μια σημαντική βελτίωση στη φλεγμονή, το ballooning και το NAS (113). Ειδικότερα, οι καθισμένοι ασθενείς με NAFLD και Σακχαρώδη Διαβήτη θα πρέπει να υποβληθούν σε εκτίμηση καρδιαγγειακού κινδύνου πριν από την έναρξη ενός προγράμματος γυμναστικής, ειδικά πριν από μια υψηλή εντατική εκπαίδευση. Σε μια αναδρομική μελέτη με 813 άτομα με βιοσυσσωματώδη NAFLD από το Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network, ούτε μέτρια άσκηση έντασης ούτε συνολική άσκηση ανά εβδομάδα συσχετίστηκαν με NASH ή στάδιο της ίνωσης. Σε αυτή τη μελέτη, η συνάντηση έντονων συστάσεων σχετίζεται με μειωμένες προσαρμοσμένες πιθανότητες να έχουν NASH. Η μελέτη αυτή πρότεινε ότι ίσως η ένταση της άσκησης να είναι πιο σημαντική από τη διάρκεια της (114). Παρ' όλα αυτά, οι Hallsworth et al. (115) έδειξαν ότι ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους, η μέτρια αναερόβια άσκηση φαίνεται να βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την ηπατική στεατώση. Σε μια πρόσφατη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη, ο Bacchi et al (116) συνέκρινε τα αποτελέσματα της εκπαίδευσης αερόβιας (AER) ή αντίστασης (RES) στην περιεκτικότητα σε ηπατικά λίπη σε 31 άτομα με διαβήτη τύπου 2 με NAFLD. Η περιεκτικότητα σε ηπατικές λιπαρές ουσίες μειώθηκε σημαντικά τόσο στις ομάδες κατάρτισης AER όσο και στις ομάδες ΑΠΕ. Επιπλέον, η ηπατική στεατώση, που ορίστηκε ως περιεκτικότητα σε ηπατική λιπαρά > 5,56% με

τεχνική απεικόνισης με μαγνητικό συντονισμό, δεν ανιχνεύθηκε σε περίπου το ένα τέταρτο των ασθενών σε κάθε ομάδα παρέμβασης.

Επειδή η NAFLD είναι παρούσα στην πλειοψηφία των ασθενών που υποβάλλονται σε βαριατρική χειρουργική επέμβαση, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την αξιολόγηση του ρόλου της χειρουργικής επέμβασης στη θεραπεία NAFLD. Σε μια προοπτική μελέτη με 381 σοβαρά παχύσαρκους ενήλικους που παρακολούθηθηκαν για 5 χρόνια μετά τη χειρουργική επέμβαση, παρατηρήθηκαν σημαντικές βελτιώσεις στη στεάτωση, το αερόλυμα, τη NAS και την ανάλυση της NASH, αλλαγές που υπήρχαν ήδη στον πρώτο χρόνο (117). Μετά από 5 χρόνια, τα επίπεδα της ίνωσης αυξήθηκαν, αλλά το 95,7% των ασθενών διατηρούσε ίνωση βαθμού 1. Δεδομένου ότι κανένας από τους ασθενείς δεν είχε προηγμένη ίνωση κατά την είσοδο, δεν ήταν δυνατόν να αξιολογηθεί η επίδραση της βαριατρικής χειρουργικής στη ίνωση του ήπατος (117). Σε μία μετα-ανάλυση που αξιολόγησε την επίδραση της βαριατρικής χειρουργικής στην ιστολογική ιστορία του ήπατος σε ενήλικες με NAFLD, οι Mummadi et al. (118) διαπίστωσαν ότι η στεάτωση, η NASH και η ίνωση βελτιώθηκαν ή εξαλείφθηκαν πλήρως σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών. Αυτή τη στιγμή, δεν υπάρχουν ακόμη σαφή στοιχεία που να δείχνουν ότι η βαριατρική χειρουργική επέμβαση είναι μια σταθερή επιλογή για να αντιμετωπιστεί ειδικά η NASH, αλλά μπορεί να προσφέρει όφελος στη θεραπεία της NAFLD σε αντίθετα αποδεκτά παχύσαρκα άτομα (118). Οι υψηλές δόσεις ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) είναι αποτελεσματικές στη θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαιμίας, η οποία είναι συχνά χαρακτηριστικό των NAFLD και Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Η αποτελεσματικότητα της συμπλήρωσης της ωμέγα-3 PUFAs στην NAFLD εξετάστηκε πρόσφατα σε μια συστηματική ανασκόπηση εννέα επιλέξιμων μελετών, στις οποίες συμμετείχαν 355 ασθενείς με NAFLD (119). Αυτή η συστηματική

ανασκόπηση με διαφορετικές δόσεις ω-3 PUFAs κατέδειξε σημαντική μείωση της περιεκτικότητας σε ηπατικές λιπαρές ουσίες. Ωστόσο, σε αυτό το σημείο, η βέλτιστη δόση και η διάρκεια αυτής της θεραπείας δεν έχουν ακόμη τεκμηριωθεί. Μια μεγάλη, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, μελέτη δύο δόσεων εικοσαπεντανοϊκού οξέος βρίσκεται σε εξέλιξη στις Ηνωμένες Πολιτείες. Πολλά φάρμακα έχουν αξιολογηθεί στη διαχείριση της NAFLD. Η θεραπεία με στατίνη συνιστάται σε ασθενείς με εμφανή καρδιαγγειακή νόσο και σε όλους σχεδόν τους ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Επιπροσθέτως, αυτά τα φάρμακα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε δυσλιπιδαιμικά άτομα με αυξημένα βασικά ηπατικά ένζυμα και μπορεί ακόμη να παράγουν κάποιο ιστολογικό όφελος στην NASH (120, 121). Το ουρσοδεσοξυχολικό οξύ (UDCA) είναι ένα δευτερογενές χολικό οξύ με μείωση των λιπιδίων, αντιαποπρωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Υπήρξε αρχικό ενδιαφέρον για τη χρήση του UDCA για τη θεραπεία της NAFLD, αν και οι διπλά τυφλές, τυχαιοποιημένες, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο μελέτες με δόσεις που κυμαίνονταν από 13 έως 28 mg / kg ημερησίως και οι βιοψίες ήπατος πριν και μετά τη θεραπεία απέδωσαν απογοητευτικά αποτελέσματα (122, 123). Δεδομένης της σημασίας της ανθεκτικότητας στην ινσουλίνη στην παθογένεση της NAFLD, οι παράγοντες ευαισθητοποίησης της ινσουλίνης έχουν ερευνηθεί στη θεραπεία αυτής της κατάστασης σε ασθενείς με διαβήτη και χωρίς αυτό. Η μετφορμίνη μειώνει την ενδογενή παραγωγή γλυκόζης και βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη ολόκληρου του σώματος. Είναι η πρώτη επιλογή στη θεραπεία από το στόμα για ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 . Η μετφορμίνη έχει ευεργετικές επιδράσεις στις αμινοτρανσφεράσες του ορού και στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Ωστόσο, σε ασθενείς με NAFLD χωρίς Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 , αρκετές μικρές τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο κλινικές δοκιμές με διαφορετικές

δόσεις (1500-2000 mg / d) και μικρές διάρκειες (6-12 mo) απέτυχαν να αποδείξουν βελτίωση στη στεατίνη του ήπατος, στη φλεγμονή ή ίνωση (124-126). Παρά τα ανεπαρκή αυτά αποτελέσματα, υπάρχουν στοιχεία από μελέτες που αφορούν τον έλεγχο των περιπτώσεων και τις πληθυσμιακές μελέτες ότι η χρήση της μεθορμίνης συσχετίστηκε με τη μείωση του κινδύνου για την ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε διαβητικούς ασθενείς (127, 128). Η ροσιγλιταζόνη και η πιογλιταζόνη είναι συναγωνιστές του ενεργοποιητή του πολλαπλασιαστή του υπεροξυσώματος γ (PPAR γ) που ανακατανέμουν το λίπος από τον μυ και το συκώτι στο περιφερικό λιπώδη ιστό και έτσι βελτιώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη. Έχουν αναφερθεί ανησυχίες σχετικά με τη συσχέτιση μεταξύ του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου με τη ροσιγλιταζόνη και τη χρήση του έχει περιοριστεί. Τρεις μελέτες της πιογλιταζόνης με δόσεις που κυμαίνονταν από 30 έως 45 mg έδειξαν σημαντική βελτίωση στην ιστολογική ιστολογία του ήπατος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο σε ασθενείς με NASH (129, 130), αλλά η βελτίωση της ίνωσης αποδείχθηκε σε μία μόνο μελέτη (131). Επιπλέον, μεταξύ αυτών των μελετών εξετάστηκε μόνο μία ομάδα ασθενών με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 ή μειωμένη ανοχή γλυκόζης με NASH. Σε αυτή τη μελέτη, η πιογλιταζόνη βελτίωσε σημαντικά τη στεατώση, την ηπατοκυτταρική έκρηξη, τη φλεγμονή και την οίδημα Νεκροφλεγμονή, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Βελτίωση της NAS παρατηρήθηκε στο 73% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με πιογλιταζόνη σε σύγκριση με το 24% των ασθενών που έλαβαν εικονικό φάρμακο και υπήρξε μια τάση βελτίωσης της ίνωσης σε ασθενείς που έλαβαν πιογλιταζόνη (130). Η μελέτη PIVENS είναι μια πρόσφατη κλινική δοκιμή που τυχαιοποίησε 247 μη διαβητικούς ασθενείς με αποδεδειγμένη από βιοψία NASH σε πιογλιταζόνη 30 mg / d, βιταμίνη E 800 IU / d ή εικονικό φάρμακο για 24 μήνες. Το κύριο αποτέλεσμα ήταν η ιστολογική

βελτίωση των χαρακτηριστικών της NASH. Η πιογλιταζόνη, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, δεν συσχετίστηκε με ένα σημαντικά υψηλότερο ποσοστό βελτίωσης στη σύνθετη βαθμολογία NAS. Ωστόσο, τόσο η θεραπεία με βιταμίνη Ε όσο και η θεραπεία με πιογλιταζόνη βελτίωσαν τα αποτελέσματα της στεάτωσης, της φλεγμονής, της αεροθάλασης και των επιπέδων της αμινοτρανσφεράσης στον ορό (132). Φαίνεται ότι τα οφέλη της ιστολογίας του ήπατος που λαμβάνονται με τη θεραπεία με πιογλιταζόνη μπορεί να εξαφανιστούν με τη διακοπή της. Παρ'όλα αυτά, υπάρχει μια συζήτηση γύρω από τον μακροπρόθεσμο λόγο κινδύνου-οφέλους της θεραπείας με πιογλιταζόνη. Οι πιο συχνές παρενέργειες της πιογλιταζόνης είναι η αύξηση βάρους κατά 2-5 κιλά και η απώλεια οστικής μάζας με κατάγματα (133). Η θεραπεία με πιογλιταζόνη μπορεί επίσης να προκαλέσει συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια σε ασθενείς με προϋπάρχουσα καρδιακή ανεπάρκεια (134). Επιπλέον, ο αυξημένος κίνδυνος καρκίνου της ουροδόχου κύστης συσχετίστηκε πρόσφατα με τη χρήση πιογλιταζόνης σε διαβητικούς ασθενείς (135). Οι αγωνιστές τύπου πεπτιδίου-1 (GLP-1) και αναστολείς διπεπτιδυλ πεπτιδάσης-IV (DPP-IV) είναι νέοι φαρμακολογικοί παράγοντες με πολλαπλές αντι-υπεργλυκαιμικές δράσεις. Οι βιολογικές δραστηριότητες των αγωνιστών GLP-1 περιλαμβάνουν την εξαρτώμενη από γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης, την καταστολή της μεταγευματικής γλυκαγόνης για τη μείωση της απελευθέρωσης ηπατικής γλυκόζης και την επιβράδυνση της γαστρικής εκκένωσης. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι οι αγωνιστές GLP-1 έχουν ευεργετικές επιδράσεις στο ήπαρ, συμπεριλαμβανομένης της καταστολής της ηπατικής λιπογένεσης και της διέγερσης της λιπιδικής οξείδωσης (136, 137). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση δύο συναγωνιστών GLP-1, λιραγλουτιδης και εξενατιδης, σε πληθυσμούς με και χωρίς διαβήτη, συμπεριλαμβανομένων δεδομένων για εξετάσεις ηπατικών ενζύμων από 12 από τις 25 δοκιμές που συμπεριλήφθηκαν,

διαπίστωσε ότι οι συγκεντρώσεις ALT μειώθηκαν μετά τη θεραπεία με το λιραγλουτίδιο αλλά όχι με εξενατίδη (138). Οι κλινικές δοκιμές με αυτούς τους παράγοντες σε ασθενείς με NAFLD με ή χωρίς Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 είναι σε εξέλιξη και τα αποτελέσματά τους αναμένονται τα επόμενα χρόνια. Αυξημένο οξειδωτικό στρες συμβαίνει σε NAFLD και Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Μεταξύ των αντιοξειδωτικών ενώσεων, η βιταμίνη E έχει τα σημαντικότερα στοιχεία που υποστηρίζουν τη χρήση της. Στη μελέτη PIVENS (132), η συμπλήρωση βιταμίνης E, 800 UI / d, οδήγησε σε σημαντική βελτίωση των παθολογικών χαρακτηριστικών του NASH. Η βελτίωση στο NAS παρατηρήθηκε στο 42% των ασθενών που έλαβαν βιταμίνη E σε σύγκριση με το 19% των ασθενών που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Παρόλα αυτά, πρέπει να επιβάλλεται προσοχή όσον αφορά τη μακροπρόθεσμη ασφάλεια της βιταμίνης E, ιδιαίτερα σε δόσεις μεγαλύτερες από 400 IU / ημέρα, οι οποίες μπορεί να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας από όλες τις αιτίες (139). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της βιταμίνης E σε διαβητικούς ασθενείς με NASH ή σε ασθενείς με κίρρωση σχετιζόμενη με NASH. Ο GFT505, ένας αγωνιστής διπλού υπεροξειδικού πολλαπλασιαστή (PPAR) -α / δ, βελτίωσε την ευαισθησία στην περιφερική και ηπατική ινσουλίνη σε μια τυχαίοποιημένη διασταυρωμένη μελέτη σε επακόλουθες περιόδους θεραπείας 8 εβδομάδων με GFT505 (80 mg / ημέρα) ή εικονικό φάρμακο. Η GFT505 επίσης μείωσε τις συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων και θα μπορούσε να αποτελέσει υποψήφιο υποψήφιο φάρμακο για τη θεραπεία των Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και NAFLD. Δεν υπήρξε ένδειξη ενεργοποίησης του PPARγ και καμία ανησυχία για την ασφάλεια με το GFT505 (140). Το Obeticholic acid (OCA), ένας υποδοχέας αγωνιστή X φαρνεσοειδούς, είναι ένα ημισυνθετικό ανθρώπινο χολικό οξύ που ρυθμίζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης

και του λιπιδίου. Δεδομένα από μια μικρή πιλοτική μελέτη δείχνουν ότι το OCA βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Επίσης, σημαντική, η OCA φαίνεται να βελτιώνει την ηπατική βλάβη σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και NAFLD (141). Μεγαλύτερες μελέτες με μεγαλύτερη διάρκεια θεραπείας και παρακολούθηση είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση της μακροπρόθεσμης αποτελεσματικότητας αυτών των αναδυόμενων θεραπειών.

ΚΡΟΚΟΣ ΚΟΖΑΝΗΣ (C.SATIVUS)

Το σαφράν είναι το ιδιωματικό όνομα για τα στίγματα από τα λουλούδια του φυτού *Crocus Sativus* (οικογένεια Iridaceae). Αν και η Ισπανία θεωρείται, μέσα στην Ευρώπη, η σημαντικότερη παραγωγός χώρα του σαφράν, λόγω της μεγάλης έκτασης εξαγωγών αυτού του προϊόντος, η μεγάλη πλειοψηφία του εξαγόμενου σαφράν από αυτήν την χώρα, είναι ιρανικής και μαροκινής προέλευσης. Η Ελλάδα είναι στην πραγματικότητα, σήμερα, η χώρα της Ευρώπης με την μεγαλύτερη παραγωγή σαφράν υπερίσχυοντας κατα 4.5 τόννους/έτος της ισπανικής παραγωγής(142)

Ο κρόκος Κοζάνης ή σαφράν (*Crocus sativus* Linn) έχει χρησιμοποιηθεί ως ένα σημαντικό διαιτητικό συστατικό σε διάφορα μέρη του κόσμου από την αρχαία εποχή . Έχει επίσης εφαρμοστεί στην παραδοσιακή ιατρική για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών από διάφορους πολιτισμούς. Επιπλέον, οι διαφορετικές βιομηχανικές εφαρμογές του είναι γνωστές. Για παράδειγμα, έχει χρησιμοποιηθεί ως βαφή ή χρωστικός παράγοντας, συντηρητικό, και αντιοξειδωτικό. Ο κρόκος είναι γνωστός ως το πιο ακριβό μπαχαρικό στον κόσμο, και έχει ονομαστεί ως "Red Gold" στο Ιράν.

Χημική σύνθεση του *Crocus sativus*

Η χημική ανάλυση των στιγμάτων του *C. sativus* έδειξε την παρουσία περισσότερων από 150 πτητικών και μη πτητικών ενώσεων όπως πρωτεΐνες, αμινοξέα, υδατάνθρακες, μέταλλα, βιταμίνες και χρωστικές ουσίες.

Οι πτητικές ενώσεις περιλαμβάνουν περισσότερα από 34 συστατικά που είναι τα τερπένια και οι εστέρες τους μεταξύ των οποίων το σαφράν που είναι η

σημαντικότερη χημική ουσία. Χημική ανάλυση των φυτικών εκχυλισμάτων έδειξε ότι τα καροτενοειδή, δηλαδή οι κροκίνες, η κροκετίνη, η πικροκροκίνη και η σαφρανάλη, είναι τα κύρια συστατικά αυτού του είδους (143). Η σαφρανάλη ($C_{10}H_{10}O$, 2,3-Διϋδρο-2,2,6-τριμεθυλοβενζαλδεϋδη), ένα μονοτερπένιο είναι μία αλδεϋδη με μοριακό βάρος 150,21, και είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα του σαφράν (144). Τα μη πτητικά συστατικά του φυτού αποτελούνται από κροκίνες, κροκετίνη, πικροκροκίνη, κερσετίνη και καμπερόλη.

Οι κροκίνες ($C_{44}H_{64}O_{24}$), είναι γλυκοζυλεστέρες κροκετίνης με μοριακό βάρος 976,96, και είναι υπεύθυνες για το χρώμα του *C. sativus* (145) και χρησιμοποιούνται ως φυσικό χρωστικό τροφίμων (145). Επί πλέον,

Ο *C. sativus* περιέχει κροκετίνη ($C_{20}H_{24}O_4$), με μοριακό βάρος 328,4, το οποίο είναι υπεύθυνο για το χρώμα του Κρόκου και ως υδρόφοβη ένωση είναι ο κύριος μεταβολίτης της κροκίνης. Η πικροκροκίνη ($C_{16}H_{26}O_7$), είναι ένα κρυσταλλικό τερπεν-γλυκοσίδιο σαφραλάνης με μοριακό βάρος από 330,37 και προκαλεί την πραγματική γεύση του *C. Sativus* και είναι ο πρόδρομος της σαφρανάλης(145).

Επιπλέον, η χημική ανάλυση των πετάλων *C. Sativus* έχει υποδείξει ότι τα παράγωγα γλυκοσίδης της κουρσετίνης και της καμπερόλης είναι οι κύριες ενώσεις φλαβονοειδών στα πέταλα του *C. Sativus* (146). Η Κερσετίνη ($C_{15}H_{10}O_7$), είναι η

άγλυκη μορφή ενός πλήθους άλλων φλαβονοειδών γλυκοσίδων, με το μοριακό βάρος 302.236, και έχει πιθανή φαρμακολογική δράση (146)Η καμπερόλη (C₁₅H₁₀O₆),είναι ένα φλαβονοειδές με μοριακό βάρος 286,23, που υπάρχει στα πέταλα του *C. sativus*, και δρα ως αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης ένωση(146).

Αξιολογήσεις ασφαλείας του *Crocus sativus* και των κύριων του συστατικών.

Ο *Crocus sativus* θεωρείται ασφαλές φυσικό καρύκευμα με πολύ χαμηλή τοξικότητα. Οι αξιολογήσεις τοξικότητας έχουν αποκαλύψει ότι η από του στόματος LD50 εκχύλισμα σαφράν σε ποντικούς ήταν 20,7 g / kg. Επίσης, η τοξικότητα από εκχυλίσματα φυτών δεν παρατηρείται μετά από από στόματος χορήγηση δόσεων που κυμαίνονται από 0,1 έως 5 g / kg σε ποντικούς. Οι τιμές LD50 έχουν βρεθεί σε αιθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα στίγματος σαφράν 3,38 g / kg, i.p. (2,55, 4,52) και 1,6 g / kg, i.p. (1.16, 2.22)αντίστοιχα σε ποντικούς (143, 147, 148).

Οι τιμές LD50 και οι μέγιστες μη θανατηφόρες δόσεις ήταν πιο τοξικές στα εκχυλίσματα στίγματος από τα εκχυλίσματα των πετάλων σε ποντίκια (143, 147, 148)Τα εκχυλίσματα στιμάτων και το πετάλων θεωρούνται ως «σχετικά τοξικά» και «χαμηλάτοξικά» (149). Η ασφάλεια των κροκινών έχει αξιολογηθεί σε μερικές μελέτες.Η A-Crocin (C₄₄H₆₄O₂₄, εστέρας κροκετίνης) δεν παρουσίασε τοξικές επιδράσεις στις αιματολογικές, βιοχημικές και παθολογικές παραμέτρους σε δόσεις μέχρι 3 g, p.o. και i.p. καθώς και ως 15-180 mg / kg, i.p. (150). Η A-κροκίνη και η διμεθυλοκροκετίνη που απομονώθηκαν από τον *C. sativus* δεν παρουσίασαν μεταλλαξιγόνα ή τοξικά αποτελέσματα στην Δοκιμή Ames / Salmonella (151)Οι τιμές LD50 έδειξαν ότι η σαφρανάλη ήταν χαμηλή τοξικότητας σε οξεία i.p. χορήγηση και μη τοξική μετά από οξεία από του στόματος χορήγηση σε ποντικούς και αρουραίους (152). Οι τιμές της ενδοπεριτοναϊκής LD50 της σαφρανάλης ήταν

1,48 mL / kg σε αρσενικούς ποντικούς, 1,88 mL / kg σε θηλυκούς ποντικούς και 1,50 mL / kg σε αρσενικούς αρουραίους.

Οι τιμές LD50 από το στόμα ήταν 21,42 mL / kg σε αρσενικούς ποντικούς, 11,42 ml / kg σε θηλυκούς ποντικούς και 5,53 ml / kg σε αρσενικούς αρουραίους(152). Μετά από την σαφραναλική χορήγηση για 21 ημέρες (υπο-οξεία έκθεση), παρατηρήθηκαν μεταβολές σε μερικές αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους στα ζώα. Ιστολογικές μελέτες έδειξαν ότι η σαφρανάλη δεν είχε καμία τοξική επίδραση στην καρδιά, το ήπαρ, και τον σπλήνα, αλλά παρατηρήθηκαν παθολογικές μεταβολές στα νεφρά και τους πνεύμονες (152). Μία μελέτη ασφάλειας για χορήγηση 1 εβδομάδας 200 και δακτυλιωμένα δισκία 400 mg επίσης πραγματοποιήθηκε σε υγιείς ενήλικες εθελοντές. Το αποτέλεσμα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι από του στόματος χορήγηση υψηλών δόσεων 200-400 mg δισκίου σαφράν σε υγιείς ενήλικες εθελοντές προκάλεσε ορισμένες μικρές αλλαγές στις κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους όπως η μειωμένη συστολική αρτηριακή πίεση και μειωμένες μέσες αρτηριακές πιέσεις στην υψηλότερη δόση (400 mg),

Μειωμένα αιμοπετάλια και χρόνος αιμορραγίας στην δόση των 200 mg, Και αυξημένη κρεατινίνη και άζωτο ουρίας αίματος(BUN). Ωστόσο, δεν υπήρξαν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις όπως παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Επομένως, ο *C. sativus* θα έπρεπε να θεωρηθεί ως ασφαλές ιατρικό φυτό ανάλογα με τις διαδικασίες ελέγχου υψηλής ποιότητας και των πρωτοκόλλων καλής κατασκευής. Η ασφάλεια αυτού του βοτάνου σε ελεγχόμενο κλινικές δοκιμές σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνιες παθήσεις ήταν επίσης αποδεδειγμένη. Η χορήγηση 30 mg / ημέρα εκχυλίσματος αιθανόλης στιγμάτων κρόκου (για 6 εβδομάδες) σε ασθενείς με κατάθλιψη έδειξε την αποτελεσματικότητα του *C. sativus* στην θεραπεία της ήπιας έως μέτριας κατάθλιψης χωρίς καμία παρενέργεια (153).

Επιπλέον, το αντι-καταθλιπτικό αποτέλεσμα κάψουλας 30mg σαφράν την ημέρα παρατηρήθηκε χωρίς παρενέργειες (154). Σε πρόσφατη μελέτη, η αποτελεσματικότητα του καγιάκιο σαφράν (30 mg / ημέρα) στη θεραπεία των συμπτωμάτων του προεμμηνορροϊκού συνδρόμου παρατηρήθηκε μόνο με μικρές και ανεκτές αρνητικές επιπτώσεις (155). Ωστόσο, μερικές μελέτες διαπίστωσαν ότι 1.2-2g του *C. sativus* προκάλεσαν ναυτία, ακολουθούμενη από έμετο, διάρροια, και αιμορραγία (142). Αυτό το φυτό μπορεί επίσης να βλάψει τα έμβρυα και την ανάπτυξη του εμβρύου (143).

Φλεγμονώδεις μεσολαβητές συμπεριλαμβανομένων των εικοσανοειδών, των οξειδωτικών, των κυτοκινών και των λυτικών ενζύμων εκκρίνονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα, τα μακροφάγα, και τα ουδετερόφιλα (156). Ως εκ τούτου, η ανακάλυψη νέων παραγόντων πρόληψης και πολλαπλών δυνατοτήτων για αποτελεσματική θεραπεία των φλεγμονωδών καταστάσεων έχει αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Τα προληπτικά αποτελέσματα του εκχυλίσματος *C. sativus* στη φλεγμονή των ιστών έχει αποδειχθεί με τη χρήση διαφορετικών ζωικών μοντέλων. Το υδροαιθανολικό εκχύλισμα *C. sativus* σε ευαισθητοποιημένα με ωοαλβουμίνη ινδικά χοιρίδια θα μπορούσε να βελτιώσει συνολικά και να διαφοροποιήσει τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) στο αίμα(157) .

Η θεραπεία ευαισθητοποιημένων ζώων με εκχύλισμα *C. sativus* (0,1, 0,2 και 0,4 mg / mL) εμπόδισε την αύξηση του συνολικού WBC, των ηωσινοφίλων και τον αριθμό των λεμφοκυττάρων. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η επίδραση του εκχυλίσματος στον αριθμό WBC ήταν παρόμοια με αυτής της δεξαμεθαζόνης (157). Ωστόσο, η επίδραση της θεραπείας με δεξαμεθαζόνη ήταν μικρότερη από την επίδραση της χαμηλής συγκέντρωσης του εκχυλίσματος (0,1 mg / mL) στον αριθμό των ηωσινοφίλων (157). Η θεραπεία ευαισθητοποιημένων αρουραίων με 50, 10 και 200

mg / kg υαλοαιθανολικού εκχύλισματος σαφράν μείωσε το WBC και μείωσε το ποσοστό των ουδετερόφιλων και των ηωσινόφιλων στην πλύση των πνευμόνων σε σύγκριση με τα μη θεραπευμένα ευαισθητοποιημένα ζώα (158). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η προεπεξεργασία ευαισθητοποιημένων αρουραίων με υδροαιθανολικό εκχύλισμα *C. Sativus* μείωσε επίσης σημαντικά τον αριθμό WBC, το ποσοστό ηωσινόφιλων, το ποσοστό ουδετερόφιλων, και τα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC) και τον αριθμό των αιμοπεταλίων στο αίμα. Το ποσοστό των λεμφοκυττάρων αυξήθηκε στα ζώα που έλαβαν 100 mg / kg υδροατανθρακικό εκχύλισμα *C. Sativus* (159). Τα ηωσινόφιλα μπορούν να παράγουν λευκοτριένια C4 / D4, PAF, προσταγλανδίνη E2 (PGE2), και προσταγλανδίνη I2 που εμπλέκονται στη φλεγμονή των αεραγωγών.

Μπορεί επίσης να εμπλέκεται και η ουδετεροφιλική φλεγμονή, στην παθογένεση του άσθματος με την απελευθέρωση διαφόρων προϊόντων, όπως κυτοκίνες, λιπίδια, πρωτεάσες, δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), μικροβιοκτόνα προϊόντα και νιτρικό Οξείδιο (NO). Τα προϊόντα ουδετερόφιλων αυξάνουν την έκκριση βλέννας και την υπερευαισθησία των αεραγωγών (160).

Συνεπώς, η μείωση των ηωσινοφίλων, ουδετερόφιλων, και του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε ευαισθητοποιημένα ζώα με το εκχύλισμα *C. sativus* δείχνει ότι ο κρόκος έχει αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα. Επιπλέον, μειώθηκε το RBC και ο αριθμός των αιμοπεταλίων σε ευαισθητοποιημένα ζώα στα οποία χορηγήθηκε αγωγή. Το φυτικό εκχύλισμα έδειξε ότι ο *C. sativus* μπορεί να είναι χρήσιμη θεραπεία για διάφορες φλεγμονώδεις πνευμονοπάθειες όπως το άσθμα. Σύμφωνα με τις γνώσεις μας, ο αριθμός RBC των ασθενών με άσθμα αυξάνεται λόγω του ότι στενεύουν και φλεγμονώνονται οι οδοί των αεραγωγών. Η ενεργοποίηση αιμοπεταλίων έχει εμπλακεί σε διάφορες φλεγμονώδεις πνευμονοπάθειες με την παραγωγή διαφόρων

φλεγμονωδών μεσολαβητών (161),(162). Η προληπτική επίδραση του υδατοαιθανολικού εκχυλίσματος του *C. Sativus* έχει δειχθεί ακόμα στους φλεγμονώδεις δείκτες ορού, συμπεριλαμβανομένης της ενδοθηλίνης 1 (ET-1) και της ολικής πρωτεΐνης σε ευαισθητοποιημένα ινδικά χοιρίδια (163). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θεραπεία ευαισθητοποιημένων ζώων με δεξαμεθαζόνη και εκχυλίσματα μειωμένα επίπεδα ορού του ET-1 και θρομβοξάνη σε σύγκριση με τα μη υποβληθέντα σε αγωγή ευαισθητοποιημένα ζώα. Τα αποτελέσματα των 0,4 mg / mL του εκχυλίσματος ήταν σημαντικά υψηλότερα από τη δεξαμεθαζόνη (50 µg / mL). Η αυξημένη ολική πρωτεΐνη στον ορό σε ασθματικούς ασθενείς μπορεί οφείλεται σε αυξημένη γ σφαιρίνη, σε C αντιδρώσα πρωτεΐνη, και σε άλλη πρωτεΐνη δομημένη ως φλεγμονώδεις μεσολαβητές (163).

Οι επιδράσεις του φυτικού εκχυλίσματος και της δεξαμεθαζόνης στην θεραπεία για τη φλεγμονή των πνευμόνων εξετάστηκε επίσης σε ένα ζωικό μοντέλο αλλεργικού άσθματος. Η θεραπεία με *C. Sativus* μείωσε τον αριθμό των ηωσινόφιλων και τον αριθμό WBC στην πλύση των πνευμόνων, η οποία ήταν συγκρίσιμη με τις επιδράσεις της δεξαμεθαζόνης. Η θεραπεία έδειξε προληπτική επίδραση στην φλεγμονή του αεραγωγού αναισθητοποιημένων ζώων, πράγμα που μπορεί να υποδηλώνει την θεραπευτική δράση του Κρόκου Κοζάνης στο αλλεργικό άσθμα (164). Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του άσθματος είναι η αυξημένη ανταπόκριση των αεραγωγών ή η υπερευαισθησία του αεραγωγού, η οποία οφείλεται σε φλεγμονή των πνευμόνων (165).

Οι προληπτικές δράσεις του υδροαιθανολικού εκχυλίσματος του *C. Sativus* έχουν δειχθεί επίσης στην απόκριση τραχείας σε μεθαχολίνη και ωλευκωματίνη σε ασθματικά ινδικά χοιρίδια. Σε ζώα που έλαβαν θεραπεία με Δεξαμεθαζόνη και

εκχύλισμα μειώθηκε , η τραχειακή απόκριση τόσο στην μεθαχολίνη όσο και στην ωαλβουμίνη (OVA) ήταν σημαντικά σε σύγκριση με ευαισθητοποιημένα ζώα.

Οι επιδράσεις της υψηλότερης συγκέντρωσης του εκχυλίσματος (80 mg / kg) ήταν μεγαλύτερες από αυτές της δεξαμεθαζόνης (10 mg / kg). Η διαπίστωση έδειξε ότι το εκχύλισμα του *C.Sativus* θα μπορούσε να εξασθενήσει τη μεθαχολίνη και την επαγόμενη από OVA αύξηση της ανταπόκρισης στην τραχεία (166). Η επίδραση του υδροαιθανολικού εκχυλίσματος του *C. sativus* στις παθολογικές αλλαγές των πνευμόνων, συμπεριλαμβανομένου του παρενθέματος (Ηωσινοφιλική και λεμφοκυτταρική) διήθηση, διάμεση επέκταση, ατελεκτάση, συμφόρηση των πνευμόνων, αιμορραγία, και σε επιθηλιακή βλάβη σε ευαισθητοποιημένο ζώο αξιολογήθηκε επίσης.

Η θεραπεία ευαισθητοποιημένων ζώων με το εκχύλισμα του Κρόκου Κοζάνης βελτίωσε σημαντικά τους παθολογικούς δείκτες των πνευμόνων. Τα στοιχεία αυτά υποδηλώνουν επίσης την προληπτική επίδραση του εκχυλίσματος του *C. sativus* σε ευαισθητοποιημένη φλεγμονή των πνευμόνων σε Ινδικά χοιρίδια (164). Η ανασταλτική επίδραση του Κρόκου Κοζάνης στον υποδοχέα ισταμίνης (H1) (167) και το αντιβηχικό της αποτέλεσμα (168) επιβεβαιώνουν επίσης την άποψή της αντιφλεγμονώδους δραστηριότητας.

Τα αιθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα *C. sativus* βελτίωσαν τον νευροπαθητικού πόνου στον τραυματισμό χρόνιας συστολής μέσω της εξασθένησης των προφλεγμονωδών παραγόντων συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, IL-6 και IL-1β (169).

Επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα

Η διαταραχή του ανοσοποιητικού συστήματος θεωρείται ως η αιτιολογία πολλών διαταραχών και ο έλεγχος των ανοσολογικών αποκρίσεων μπορεί να είναι επωφελής

για την διαχείριση διαφόρων ασθενειών. Μερικά ιατρικά φυτά μπορούν να επηρεάσουν τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω της επίδρασης στην έκκριση των κυτοκινών και της έκκρισης της ανοσοσφαιρίνης, της απελευθέρωσης της ισταμίνης, της ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων, της φαγοκυττάρωσης και της έκφρασης του κυτταρικού Συν-υποδοχέα (170).

Τα φυτά με φαρμακευτικές δράσεις όπως ο *C. sativus* επηρεάζουν τις ανοσολογικές αντιδράσεις μέσω ενεργοποίησης ανοσοκυττάρων που παράγουν ελεύθερες ρίζες (170). Σε θεραπεία ευαισθητοποιημένων ζώων με εκχύλισμα *C. sativus* και δεξαμεθαζόνη παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην IL-4 ενώ παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων IFN- γ και της αναλογίας IFN- γ / IL-4. Η μείωση των IL-4 και η αύξηση της IFN- γ στον ορό ευαισθητοποιημένων ζώων με εκχύλισμα *C. sativus* και δεξαμεθαζόνη μπορεί να υποδεικνύει την διεγερτική επίδραση του *C. sativus* επί του Th1 και της κατασταλτικής του επίδρασης στα κύτταρα Th2. Ως εκ τούτου, η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη και το εκχύλισμα οδήγησαν σε αύξηση της ισορροπίας Th1 / Th2 σε ευαισθητοποιημένα ζώα (171). Τα αποτελέσματα του υδροαιθανολικού εκχυλίσματος του Κρόκου Κοζάνης στα επίπεδα ισταμίνης ινδικών χοιριδίων ευαισθητοποιημένων από ωλεουκωματίνη αξιολογήθηκαν επίσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *C. Sativus* μείωσε τα επίπεδα ισταμίνης σε πειραματικό άσθμα σε Ινδικά χοιρίδια (164).

Όσον αφορά τις επιδράσεις του Κρόκου Κοζάνης στην απόκριση του χυμικού αντισώματος στα ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου, τα πέταλα του *C. Sativus* στην δόση των 75 mg / kg οδήγησαν σε αυξημένα επίπεδα ορού ανοσοσφαιρίνης G (IgG) σε αρουραίους ανοσοποιημένους με ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτων.(172).

Αυτό το εύρημα έδειξε διεγερτική δράση του σαφράν σε κυτοκίνες κυττάρων Th1 όπως η IFN- γ .

Η IFN- γ είναι η κύρια κυτοκίνη για την επαγωγή της παραγωγής IgG από τα Β λεμφοκύτταρα. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση δισκίων *C. sativus* (100 mg / ημέρα) σε υγιείς άνδρες για 6 εβδομάδες αύξησε το επίπεδο της IgG μειώνοντας το επίπεδο της IgM (173). Αξιολογήθηκε επίσης η ανοσοτροποποιητική επίδραση του *C. sativus* σε Th1 και Th2 άκρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Από την άποψη αυτή, το εκχύλισμα *C. sativus* ενδείκνυται ότι έχει ισχυρή ανασταλτική επίδραση στην κυτταρική βιωσιμότητα αμφοτέρων των μη διεγερμένων και διεγερμένα από φυτοαιμαγλουτινίνη ανθρώπινα λεμφοκύτταρα. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν επίσης ότι το εκχύλισμα σαφράν αυξάνει την αναλογία IPN- γ / Ιί-4, πράγμα που δείχνει αυξημένη Th1 / Th2 ισορροπία (174). Έτσι, τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι τα θεραπευτικά αποτελέσματα του *C. sativus* σε φλεγμονώδεις ασθένειες όπως το άσθμα μπορεί να σχετίζονται με την αύξηση της έκκρισης κυτοκίνης Th2. Η από του στόματος χορήγηση του αλκοολούχου εκχυλίσματος του φυτού αύξησε την ανταπόκριση Th2 της χυμικής ανοσίας με αποτέλεσμα ένα την αύξηση του τίτλου συγκολλητικού αντισώματος σε ποντικούς και αύξηση των CD19 + Β κυττάρων και της κυτταροκίνης IL-4 (κύρια κυτοκίνη του Th2). Σημαντικές αυξήσεις των επιπέδων IgG-1 και IgM αντισώματα του πρωτογενούς και δευτερογενούς Εντοπίστηκαν ανοσοαποκρίσεις. Ωστόσο, ο *C. sativus* δεν είχε καμία επίδραση στην έκφραση των T1 κυτοκινών, IL-2 και IPN- γ . Η μελέτη αυτή έδειξε την εκλεκτική επίδραση του Κρόκου Κοζάνης στην απόκριση Th2 (175). Η επίδραση του αιθανολικού εκχυλίσματος της θεραπείας με *C. sativus* στην πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (EAE) σε ποντίκια αξιολογήθηκε επίσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο κρόκος μειώνει σημαντικά τα κλινικά συμπτώματα σε ποντίκια C57BL /

6 με ΕΑΕ (176). Το φυτό μείωσε σημαντικά τη διείσδυση των λευκοκυττάρων στο ωτιαίο μυελό σε σύγκριση με τα ποντίκια ελέγχου. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο *C. sativus* είναι αποτελεσματικός στην αναστολή του οξειδωτικού στρες και της διήθησης λευκοκυττάρων στο ΚΝΣ και μπορεί να είναι δυνητικά χρήσιμη για τη θεραπεία της πολλαπλής σκλήρυνσης (175).

Αντιοξειδωτικές επιδράσεις

Το οξειδωτικό στρες προέρχεται από μια ανισορροπία μεταξύ των προ-οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών συστημάτων που προκαλούνται από την υπερπαραγωγή και τη διανομή ελεύθερων ριζών (177). Το οξειδωτικό στρες πιστεύεται ότι είναι ένα ουσιαστικό στοιχείο στην πρόοδο και ανάπτυξη ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η καρδιακή ανεπάρκεια, η ηπατική φλεγμονή, ηπατική κίρρωση, οξύ και χρόνια αλκοολικό συκώτι, αθηροσκλήρωση, υπερχοληστερολαιμία, χρόνιες νεφροπάθειες, πνευμονικές παθήσεις, διαβήτη, έμφραγμα του μυοκαρδίου κ.ο.κ. (177),(178). Πρόσφατα, ένας μεγάλος αριθμός μελετών επικεντρώθηκε σε φυσικά προϊόντα με αντιοξειδωτική δράση (177) μεταξύ των οποίων ο *C. Sativus* χρησιμοποιούνται συνήθως στην παραδοσιακή ιατρική ως βότανο πρόληψης της ασθένειας. Οι αντιοξειδωτικές και ελεύθερες ρίζες δραστηριότητες καθαρισμού του *C. sativus* και των συστατικών του έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες (179, 180). Ενδείκνυται η αντιοξειδωτική δράση των αιθανολικών και των υδατικών εκχυλισμάτων του *C. sativus* χρησιμοποιώντας τον προσδιορισμό δεοξυριβόζης, τον ερυθροκύτταρο δοκιμασία υπεροξειδωσης μεμβράνης και μία άλλη δοκιμασία που χρησιμοποιεί υπεροξειδωση μικροσωματικών λιπιδίων ήπατος αρουραίου που επάγεται από Fe^{2+} / ασκορβικό. Σε δοκιμασία δεοξυριβόζης, υδατάνθρακας και τα

αιθανολικά εκχυλίσματα σε διάφορες συγκεντρώσεις (10, 100, 250, 500 και 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$) έδειξαν δραστικότητα δέσμευσης ριζών υδροξυλίου κατά τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση. Σε ειδικές δοκιμασίες θέσης, απουσία αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος, τα εκχυλίσματα παρουσίασαν χηλική δραστικότητα ιόντος σιδήρου. Απουσία ασκορβικού οξέος, αιθανολικό εκχύλισμα (500 και 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$) διέγειρε την αποικοδόμηση δεοξυριβόζης και έδειξε αντιοξειδωτική δράση. Και τα δύο εκχυλίσματα σε συγκεντρώσεις 250, 500 και 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ αναστέλλουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων RBC και τη μαλονική διαλδεΐδη (MDA). Η θεραπεία των μικροσωμάτων του ήπατος με εκχυλίσματα *C. sativus* μείωθηκε η γενεά MDA (181). Ο κύριος ρόλος του οξειδωτικού στρες σε διάφορες ασθένειες των πνευμόνων, συμπεριλαμβανομένων οξείας πνευμονικής βλάβης, άσθματος, χρόνιας αποφρακτικής νόσου, πνευμονικής νόσου, πνευμονικής ίνωσης και ο καρκίνου του πνεύμονα (182).

Πολλές μελέτες αποσκοπούσαν στην εξεύρεση φυσικού αντιοξειδωτικού για τον έλεγχο των αναπνευστικών διαταραχών (156). Το αντιοξειδωτικό δυναμικό του κρόκου στα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα αξιολογήθηκε σε μοντέλο ποντικού του άσθματος. Το στρες προκλήθηκε σε αυτά τα κύτταρα με συνδυασμό διαφορετικών κυτοκινών που οδήγησαν σε αύξηση της παραγωγής NO, επίπεδα iNOS, παραγωγή ιόντος υπεροξυνιρίτη, και απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Ο *C. sativus* μείωσε τα επίπεδα NO, iNOS, την παραγωγή ιόντος υπεροξυνιρίτη και εμπόδισε την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c (183).

Οι Bayrami et al (171). έδειξαν ότι η θεραπεία ευαισθητοποιημένων ινδικών χοιριδίων με κρόκο οδήγησε σε σημαντική μείωση των επιπέδων NO και νιτροδών στον ορό. Έδειξαν επίσης μια προληπτική επίδραση του εκχυλίσματος *C. sativus* στην τραχειακή απόκριση στο OVA. Σύμφωνα με αυτό το εύρημα, το προληπτικό αποτέλεσμα του Κρόκου Κοζάνης στην τραχειακή ανταπόκριση των

ευαισθητοποιημένων ζώων (η οποία οφείλεται κυρίως στη φλεγμονή των αεραγωγών) μπορεί να σχετίζεται με την αντιοξειδωτική δράση της (26).

Εξετάστηκαν επίσης τα προστατευτικά αποτελέσματα του εκχυλίσματος *C. sativus* (30 mg / kg) στην επαγόμενη από το στρες οξειδωτική βλάβη στον εγκέφαλο, στο ήπαρ και στους νεφρούς. Το χρόνιο άγχος έχει αναφερθεί ότι προκαλούν οξειδωτική βλάβη στον ιστό. Σε ζώα με στρες, η θεραπεία με φυτικό εκχύλισμα (30 mg / kg) προκάλεσε βελτίωση των αυξημένων επιπέδων MDA και των δραστηριοτήτων της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx), της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) και της δισμουτάσης υπεροξειδίου (SOD) καθώς και της μειωμένης συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC). Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν ότι ο *C. sativus* μπορεί να είναι χρήσιμος έναντι της χρόνιας καταστροφής του στρες μέσω διαμόρφωσης συστήματος οξειδωτικού στρες (184).

Τα νευροπροστατευτικά αποτελέσματα του εκχυλίσματος *C. sativus* αξιολογήθηκαν σε προκαλούμενη από γλυκόζη νευροτοξικότητα, χρησιμοποιώντας κύτταρα PC12 ως *in vitro* μοντέλο διαβητικής νευροπάθειας. Το φυτικό εκχύλισμα (5 και 25 mg / mL) αναστέλλει αποτελεσματικά την ενδοκυτταρική παραγωγή ROS που προκαλείται από τη γλυκόζη (185). Έχει μελετηθεί η επίδραση του εκχυλίσματος *C. sativus* σε συναπτοσώματα ραβδωτού που απομονώθηκαν από τον εγκέφαλο των αρουραίων έναντι του νιτροπροπιονικού οξέος (3-NPA). Το εκχύλισμα *C. sativus* (1 mg / kg ημερησίως, ενδοπεριτοναϊκώς) προκάλεσε νευροπροστατευτική δράση με μείωση της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων και βελτίωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας (186). Αναφέρθηκε ότι το φυτικό εκχύλισμα (60 mg / kg ανά ημέρα, επί 6 ημέρες) βελτίωσε τη νευροτοξική επίδραση του αλουμινίου στα ζώα. Το εκχύλισμα *C. sativus* ανέτρεψε σημαντικά τις μεταβολές που προκαλούνται από το αλουμίνιο στη δραστηριότητα μονοαμινοξειδάσης και τα επίπεδα MDA και γλουταθειόνης (GSH) στον εγκέφαλο

(187). Έχει αναφερθεί ότι ο Κρόκος Κοζάνης ασκεί μία μη προστατευτική επίδραση έναντι της κεφταζιδίμης μειώνοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων (188). Οι επιδράσεις του σαφράν στην εκμάθηση και την απώλεια μνήμης και το χρόνιο οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το στρες στον ιππόκαμπο εξετάστηκε επίσης. Αυτές οι παρατηρήσεις έδειξαν ότι ο *C. sativus* βελτίωσε τη λειτουργία μάθησης και μνήμης καθώς και τις βλάβες του οξειδωτικού στρες (Αυξημένα προϊόντα υπεροξειδωσης λιπιδίων και μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων συμπεριλαμβανομένων των GPx, GRx και SOD και TAC) σε ιππόκαμπο αρουραίου μετά από χρόνιο στρες. Ο *C. sativus* ήταν επίσης σε θέση να εμποδίσει την ικανότητα του χρόνιου στρες να επηρεάσει τη χωρική εκμάθηση και τη διατήρηση της μνήμης μέσω της μείωσης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων και αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων στον ιππόκαμπο (189). Η επίδραση του υδροαλκοολικού εκχυλίσματος του *C. sativus* μελετήθηκε σε μοντέλο αρουραίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση της αγγειακής νοητικής βλάβης. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι το εκχύλισμα θα μπορούσε να βελτιώσει τις χωρικές γνωστικές ικανότητες μετά από χρόνια εγκεφαλική υποδιαπότιση λόγω των αντιοξειδωτικών επιδράσεών του (190).

Οι επιδράσεις της θεραπείας σαφράν στις γνωστικές λειτουργίες εξετάστηκαν σε υγιείς ενήλικες και ηλικιωμένους ποντικούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ποντικοί που υπέστησαν αγωγή με *C. sativus* σημαντικά βελτιωμένη μάθηση και μνήμη με μειωμένη υπεροξειδωση λιπιδίων και δραστηριότητα κασπάσης-3, καθώς και αυξημένη συνολική αντιοξειδωτική δράση του εγκεφάλου σε ηλικιωμένα ποντίκια (191). Μία προηγούμενη μελέτη έδειξε επίσης αντινοτυπικές επιδράσεις αιθανολικών και υδατικών εκχυλισμάτων του *C. sativus* στο μοντέλο χρόνιας συστολής

τραυματισμού νευροπαθητικού πόνου με μείωση της MDA και αύξηση των επιπέδων GSH. Μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα αυτό

Η δραστικότητα κατά του πνεύμονα του *C. sativus* συνδέεται με τα αντιοξειδωτικά του αποτελέσματα (169). Το φυτικό εκχύλισμα βελτίωσε την κάκωση καρδιομυοκυττάρων που προκλήθηκε από τη δοξορουβικίνη (DOX) και την επαναιμάτωση ισχαιμίας (I / R) in vitro. Το DOX, ένα χημειοθεραπευτικό φάρμακο, προκαλεί σοβαρές καρδιοτοξικές επιδράσεις μέσω αυξημένου οξειδωτικού στρες. Τα φυτικά εκχυλίσματα είχαν καρδιοπροστατευτική δράση έναντι της τοξικότητας I / R και DOX στα καρδιομυοκύτταρα H9c2. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα I / R και DOX μείωσαν σημαντικά τη βιωσιμότητα των καρδιομυοκυττάρων, παρεμπόδιζαν την καρδιοπροστατευτική οδό διάσωσης της κινάσης διάσπασης τραυματισμού, μειώθηκαν οι συσταλτικές πρωτεΐνες (ελαφριές αλυσίδες α-ακτινίνης, τροπονίνης C και μυοσίνης), αυξημένη έκφραση κασπάσης-3 και επαγόμενη απώλεια μιτοχονδρίων του δυναμικού μεμβράνης. Το εκχύλισμα (10 μg / mL) βελτίωσε σημαντικά αυτά τα αποτελέσματα. Αυτό το εύρημα έδειξε ότι η θεραπεία με *C. sativus* προκάλεσε καρδιοπροστασία κατά της τοξικότητας I / R και DOX με μείωση του οξειδωτικού στρες (δοκιμασία LDH) (192). Έχει υποδειχθεί ότι η ισορροπία της ισορροπίας ισχαιμίας και η υπεροξείδωση των λιπιδίων σε καρδιακούς ιστούς των αρουραίων υποδηλώνουν επίσης ότι μειώνεται η ισορροπία της ισοπροτερενόλης (193).

Οι επιδράσεις του φυτού στους δείκτες του γλυκαιμικού ελέγχου, του προφίλ των λιπιδίων, του οξειδωτικού στρες και της φλεγμονής αξιολογήθηκαν σε 204 ασθενείς με T2D. Μετά από 8 εβδομάδες, η κατανάλωση *C. sativus* είχε σημαντικές επιδράσεις στη συνολική χοληστερόλη, λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας και επίπεδα λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας. Ωστόσο, το φυτό δεν έχει αξιολογηθεί σε αρουραίους. Ανακαλύφθηκε ότι το υδατικό εκχύλισμα των φυτών (5, 20 και 80 mg /

kg, ip) μείωσε επίσης τα προϊόντα υπεροξειδωσης λιπιδίων και την αυξημένη αντιοξειδωτική ισχύ σε νεφρούς αρουραίων με βλάβη I / R (194). Το σαφράν μπορεί να βελτιώσει τον αριθμό των σπερματοζωαρίων, την κινητικότητα και τη ζωτικότητα σε αρουραίους που εκτίθενται στο κάδμιο. Ο *C. sativus* μπορεί να είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία των στείρων ανδρών που εκτέθηκαν σε κάδμιο. Το αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα του σαφράν είναι ίσως ο κύριος λόγος για την προστατευτική επίδρασή του στις σπερματολογικές αλλαγές (195). Το αιθανολικό εκχύλισμα του *C. sativus* μείωσε τα κλινικά συμπτώματα αυξάνοντας την TAC στην πειραματική αυτοάνοση EAE σε ποντίκια (175).

ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 (T2D) συνδέεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την έλλειψη επαρκούς αντιστάθμισης από τα βήτα κύτταρα που οδηγούν σε σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης (196) . Επομένως, και οι δύο τύποι ενδοκρινικών διαταραχών αντιπροσωπεύουν πολλαπλές ασθένειες με τη συμμετοχή διαφορετικών σωματικών συστημάτων. Στη βάση αυτή, έρευνες πραγματοποιήθηκαν σε ζωικά πρότυπα κατά τη διάρκεια της νόσου, ανάλογα με τις πτυχές της νόσου που μελετώνται. Επιπλέον, τα ζωικά μοντέλα διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στην κατανόηση της παθογένεσης του διαβήτη καθώς επιτρέπουν τον συνδυασμένο γενετικό και λειτουργικό χαρακτηριστικό του συνδρόμου (197) . Η έλλειψη επαρκούς παραγωγής ινσουλίνης στον διαβήτη τύπου 1 μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετικούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν τη χημική απομάκρυνση των β-κυττάρων σε νεογέννητα τρωκτικά που αναπτύσσουν αυτόματα αυτοάνοσο διαβήτη . Δεδομένου ότι τα ζώα που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη του διαβήτη τύπου 1 είναι σε αυξημένη αναπαραγωγή αλλά με περιορισμένο αριθμό μονοπατιών προς τον διαβήτη τύπου 1, έχει τεθεί υπό αμφισβήτηση η συσχέτιση με τον ανθρώπινο διαβήτη τύπου 1 . Με

σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (T2D), έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμα ζωικά μοντέλα για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του διαβήτη και των επιπλοκών του . Αυτά τα μοντέλα ζωικών προτύπων περιλαμβάνουν μοντέλα αντίστασης στην ινσουλίνη και μοντέλα βλαστικών κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, αρκετά μοντέλα T2D είναι παχύσαρκα, αντανακλώντας την ανθρώπινη κατάσταση όπου η παχυσαρκία συνδέεται στενά με την ανάπτυξη του T2D. Τα περισσότερα από αυτά τα μοντέλα τείνουν να έχουν ανωμαλίες σε ένα μόνο γονίδιο ή σε πολλαπλά γονίδια που σχετίζονται με την παχυσαρκία, τη δυσανεξία στη γλυκόζη και την αντίσταση στην ινσουλίνη, οδηγώντας σε υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα (198). Η ανάπτυξη και η εξέλιξη των διαβητικών επιπλοκών επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες όπως η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η υπεργλυκαιμία και η υπερλιπιδαιμία .

Zucker Diabetic Fatty (ZDF) Rats

Η ανακάλυψη αυτού του τύπου αρουραίων συνέβη το 1961 μετά από διασταύρωση των αρουραίων Merck (M-στέλεχος) και των αρουραίων Sherman. Χαρακτηρίζονται από έναν μεταλλαγμένο υποδοχέα λεπτίνης που επάγει υπερφαγία και οι αρουραίοι γίνονται παχύσαρκοι σε ηλικία 4 εβδομάδων (199). Αυτοί οι αρουραίοι είναι επίσης υπερινσουλιναϊμικοί, υπερλιπιδαιμικοί και υπερτασικοί και παρουσιάζουν μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη (200). Η ομοζυγωτική μετάλλαξη (fa / fa) του υποδοχέα ορμόνης λεπτίνης οδηγεί στην ανάπτυξη διαβήτη τύπου 2 σε αρσενικούς αρουραίους όταν ακολουθούν δίαιτα υψηλής ενέργειας. Αυτοί οι αρουραίοι αναπτύσσουν προηγμένη αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσανεξία στη γλυκόζη στην ηλικία μεταξύ 3 και 8

εβδομάδων και μετατρέπονται σε διαβητικούς μεταξύ 8 και 10 εβδομάδων με επίπεδα γλυκόζης στην κατάσταση διατροφής συνήθως 500mg / dL ηλικίας 10 έως 11 εβδομάδων. Τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι υπάρχει μια καλή συνέπεια μεταξύ της αύξησης του περιεχομένου DNA των νησιδίων και των επιπέδων της ινσουλίνης στον ορό, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υπερπλασία των νησιδίων παίζει ρόλο στην ανάπτυξη υπερινσουλιναϊμίας στους αρουραίους Zucker Diabetic Fatty (ZDF) (201). Τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και χοληστερόλης σε παχύσαρκους αρουραίους είναι υψηλότερα από αυτά που παρατηρήθηκαν σε μη παχύσαρκους αρουραίους. Η λιποτοξικότητα αποδίδεται στα προϊόντα υπερβολικού μη-β-οξειδωσης μεταβολισμού της περίσσειας λιπαρού οξέος στους σκελετικούς μυς και τις παγκρεατικές νησίδες (202-204). Οι συνηθισμένες επιπλοκές της παχυσαρκίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη, των καρδιαγγειακών παθήσεων και του διαβήτη πιστεύεται ότι προκαλούνται από τα υψηλά επίπεδα αυτών των μεταβολικών προϊόντων διαταράσσοντας τη λειτουργία των κυττάρων και τελικά προάγοντας τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο «λιποαπόπτωση» (203, 204). Επιπλέον, αναφέρθηκε ότι πολύ υψηλά επίπεδα λιπιδίων μπορούν να προκληθούν σε παχύσαρκους αρουραίους Zucker Diabetic Fatty (ZDF), χρησιμοποιώντας υψηλά κορεσμένα λιπαρά και δίαιτες που περιέχουν σακχαρόζη. Η υπογονιμότητα των παχύσαρκων αρσενικών θεωρείται ένα σημαντικό ζήτημα που παρεμποδίζει την έρευνα στους εν λόγω αρουραίους και το οποίο έχει αντιμετωπιστεί με τη χρήση της προπιονικής τεστοστερόνης (TP) (205). Ανάλογα με την ποσότητα και τη διάρκεια της χορήγησης του TP, η αρσενική παχυσαρκία αυξάνει την πιθανότητα εκσπερμάτωσης και σεξουαλικής δραστηριότητας. Επιπλέον, οι αρουραίοι ZDF δεν αναπτύσσουν αυθόρμητα υπέρταση ή καρδιαγγειακή νόσο (206).

Οι αρουραίοι Zucker Diabetic Fatty (ZDF) με έναν διαβητογόνο φαινότυπο προέρχονται από την επαγωγή μιας μετάλλαξης σε αυτό το στέλεχος. Αυτό το παράγωγο στέλεχος των αρουραίων είναι λιγότερο παχύσαρκο από τους αρουραίους Zucker Fatty (ZF) αλλά έχει πιο σοβαρή αντίσταση στην ινσουλίνη, που δεν είναι σε θέση να αντισταθμιστεί λόγω της αύξησης των επιπέδων απόπτωσης στα βήτα κύτταρα (207). Αυτό χαρακτηρίζεται από αρχική υπερινσουλιναμία στην ηλικία των οκτώ εβδομάδων, που ακολουθείται από μειωμένα επίπεδα ινσουλίνης (208). Αναφέρθηκε ότι τα θηλυκά δεν αναπτύσσουν εμφανή διαβήτη (200). Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η εξέλιξη του διαβήτη σε άρρενες με ZDF αρουραίους με έλλειψη υποδοχέα λεπτίνης (ZDF / CrCr^{lj}) έχει γίνει δημοφιλές μοντέλο για προκλινικές μελέτες για διαβήτη τύπου 2 λόγω του γεγονότος ότι αυτοί οι αρουραίοι εμφανίζουν διαταραγμένη αρχιτεκτονική νησιδίων, αποκοκκίωση Β κυττάρων, και αυξημένο θάνατο Β κυττάρων (206).

BB Rats

Αυτός ο τύπος αρουραίου προερχόταν από αρουραίους Wistar με εξαίρεση. Πρώτον, ο αυτόματος αυτοάνοσος διαβήτης εντοπίστηκε το 1974 σε μια αποικία του Καναδά και στη συνέχεια οδήγησε στη δημιουργία δύο αποικιών ιδρυτών από τις οποίες προήλθαν όλα τα υποστρώματα συμπεριλαμβανομένου ενός από τους συγγενείς Biobreeding Diabetes-Prone / Worcester (BBDP / Wor) και έναν από τους αρουραίους Biobreeding Diabetes-Prone (BBDP) (209). Έχει αναφερθεί ότι ανοσολογικά και γενετικά διακριτά υποστρώματα BB αρουραίου προέρχονται από αρκετές αποικίες τριτοβάθμιων Biobreeding (BB) αρουραίων συμπεριλαμβανομένων Biobreeding / Ottawa Karlsburg (BB / OK) (BB / Pfd) και Biobreeding

Spontaneously Hypertensive Rats (BB.SHR) (210-213). Επιπλέον, οι αρουραίοι BB είναι ανθεκτικοί στον διαβήτη έχουν εκτραφεί για να λειτουργήσουν ως μάρτυρες.

Μετά την εφηβεία, οι αρουραίοι Biobreeding (BB) αναπτύσσουν διαβήτη με παρόμοια επίπτωση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών, με περίπου το 90% αρουραίων που αναπτύσσουν διαβήτη να είναι ηλικίας μεταξύ οκτώ και δεκαέξι εβδομάδων. Ο διαβητικός φαινότυπος είναι αρκετά σοβαρός και χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη υπεργλυκαιμίας, απώλεια βάρους υποινσουλιναϊμίας και κετονουρία που απαιτεί θεραπεία ινσουλίνης για επιβίωση. Τα τελευταία κλινικά και μεταβολικά συμπτώματα προηγούνται ιστολογικών ανωμαλιών στις νησίδες του παγκρέατος. Συμπεραίνεται ότι η πρώτη ανιχνεύσιμη ανωμαλία είναι η αυξημένη έκφραση μορίων τάξης I συμπλέγματος ιντερφερόνης- α (IPN- α) και κύριου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) (NK), δενδριτικών κυττάρων, T κυττάρων και σε μικρότερο βαθμό B-λεμφοκυττάρων (210, 214, 215).

Αν και αυτά τα ζώα έχουν ινσουλίτιδα με την παρουσία T κυττάρων, κυττάρων B, μακροφάγων και κυττάρων φυσικών φονέων (NK), είναι λεμφοπενικά με σοβαρή μείωση των CD4 + T κυττάρων και σχεδόν απουσία CD8 + T κυττάρων. Η λεμφοπενία δεν αποτελεί χαρακτηριστικό του διαβήτη τύπου 1 (T1D) ούτε σε ανθρώπους ούτε σε παχύσαρκους διαβητικούς (NOD) ποντικούς. Πρόσφατα, ένα νέο μέλος της οικογένειας GTPase περιγράφηκε ως rIAN5 στον αρουραίο BB και η μετάλλαξή του, η οποία αναγνωρίστηκε στο γονίδιο Gimap5 (Ian5) (RNO4), έχει ως αποτέλεσμα την λεμφοπενία T κυττάρων που προκαλεί διαβήτη σε αυτό το μοντέλο (216, 217). Κατά συνέπεια, θεωρείται μειονέκτημα στη χρήση αρουραίων Biobreeding (BB) ως μοντέλο διαβήτη ανθρώπινου τύπου 1(209).

LEW 1AR1/-iddm Rats

Αυτό το μοντέλο αρουραίου του διαβήτη τύπου 1 (T1D) προκλήθηκε αυθόρμητα σε μια αποικία ομοειδών αρουραίων Lewis που χαρακτηρίζεται από έναν καθορισμένο MHC απλότυπο Lewis.1AR1 (LEW.1AR1) αρουραίο. Πρόκειται για ένα μοναδικό μοντέλο για τη μελέτη της ανθρώπινης T1D στην οποία οι αρουραίοι εκτρέφονταν στο Ιατρικό Σχολείο του Hannover (Ztm) στο Ινστιτούτο Εργαστηριακών Επιστημών Ζώων. Ελήφθησαν ως αποτέλεσμα μιας αυθόρμητης μετάλλαξης στο LEW.1AR1 στέλεχος. Ήταν προφανές ότι αυτοί οι αρουραίοι αναπτύσσουν διαβήτη ηλικίας 60 έως 90 ημερών και χαρακτηρίζονται από ταχεία εξέλιξη της ινσουλίτιδας που οδηγεί σε εκτεταμένη καταστροφή β κυττάρων (218, 219). Αυτοί οι αρουραίοι είναι διαφορετικοί από το καλά χαρακτηρισμένο μη παχύσαρκο διαβητικό (NOD) μοντέλο του T1D, καθώς, σε αντίθεση με τους αρουραίους Biobreeding Diabetes-Prone (BBDP), ο διαβήτης αναπτύσσεται με την ίδια συχνότητα σε αρσενικά και θηλυκά ζώα (220). Μελέτες έδειξαν σαφώς ότι η συχνότητα εμφάνισης διαβήτη σε αυτά τα ζώα αυξάνεται από 20% σε 60% με περαιτέρω αναπαραγωγή με ίση συχνότητα και στα δύο φύλα. Επιπλέον, τα ζώα εμφανίζουν μια προδιαβητική κατάσταση που διαρκεί περίπου μία εβδομάδα με διήθηση νησιδίων. Οι αρουραίοι με διαβήτη εξαρτώμενο από ινσουλίνη Lewis (LEW-iddm) είναι ικανοί να επιβιώσουν, αφού ο σακχαρώδης διαβήτης παρουσιάζεται εμφανώς και κατά συνέπεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μοντέλο για τη μελέτη διαβητικών επιπλοκών (221). Αυτά τα ζώα είναι κετονουρικά, αλλά δεν είναι λεμφοπενικά που εκφράζουν κανονικούς αριθμούς ART2 + T κυττάρων. Επιπλέον, τα β κύτταρα των νησίδων του Langerhans των προσβεβλημένων ζώων διεισδύουν με τα B και T λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα φυσικά δολοφόρα (NK) κύτταρα και φαίνεται ότι τα βήτα κύτταρα πεθαίνουν μέσω της απόπτωσης (209). Εμφανίζονται αποπτωτικές καταστροφές βήτα κυττάρων

Από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες που απελευθερώνονται από ανοσοκύτταρα που διεισδύουν σε νησίδες(219).

Η χορήγηση STZ δημιουργεί ένα μοντέλο διαβήτη τύπου 1 ή τύπου 2;

Το τελικό γεγονός που εμπλέκεται στην ανάπτυξη του διαβήτη τύπου 2 είναι η β-κυτταρική ανεπάρκεια / θάνατος (222, 223). Αυτό συμβαίνει επίσης στον διαβήτη τύπου 1(224). Ως εκ τούτου, η τοξίνη β-κυττάρων, STZ, έχει χρησιμοποιηθεί τόσο σε μοντέλα με διαβήτη τύπου 1 όσο και τύπου 2 (225, 226). Η δόση STZ θα επηρεάσει σημαντικά τη μάζα των β-κυττάρων που παραμένει στους αρουραίους. Αντίστοιχα, η μεταβολή της ποσότητας μάζας β-κυττάρων που απομένει τόσο στον διαβήτη τύπου 1 όσο και στον τύπο 2 υπάρχει στους ανθρώπους (227, 228). Παρά την έλλειψη μη επεμβατικών τεχνικών μέτρησης, έχει προταθεί ότι το 60-80% της λειτουργικής μάζας των β-κυττάρων χάνεται κατά τον χρόνο διάγνωσης του διαβήτη τύπου 1 (228). Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί μείωση κατά 24% σε ασθενείς με ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 <5 ετών σε σύγκριση με τους μη διαβητικούς ανθρώπους (229). Ωστόσο, σε άλλη μελέτη έχει αναφερθεί μείωση κατά 54% της μάζας β-κυττάρων 15 χρόνια μετά τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 2(229). Συλλογικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ομοιότητα στη μάζα των β-κυττάρων, όταν συγκρίνονται ο πρώιμος τύπος 1 και ο διαβήτης τύπου 2 πρώιμου σταδίου.

Αυτή η παρατήρηση δείχνει ότι το μοντέλο αρουραίου HFD / STZ θα μπορούσε να μιμηθεί την περίπτωση του πρώιμου διαβήτη τύπου 1 που συνυπάρχει με την παχυσαρκία. Ωστόσο, η παχυσαρκία παρατηρείται συχνότερα στους ασθενείς μετά τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 1, ενώ η παχυσαρκία παρατηρείται συχνά δεκαετίες πριν από τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 2. Έτσι, η παχυσαρκία ακολουθούμενη από

β-κυτταρική ανεπάρκεια, που παρατηρείται σε αρουραίους HFD / STZ, ευνοεί τη μίμηση του διαβήτη τύπου 2 παρά τον διαβήτη τύπου 1, παρά την παρατηρούμενη ομοιότητα μεταξύ πρώιμου διαβήτη τύπου 1 και καθυστερημένου διαβήτη τύπου 2 . Επιπλέον, η απώλεια μάζας β-κυττάρων στην παθογένεση του διαβήτη τύπου 1 συμβαίνει κυρίως ως αποτέλεσμα μιας αυτοάνοσης αντίδρασης , η οποία δεν συμβαίνει στους αρουραίους HFD / STZ(228). Αντίθετα, τα γεγονότα που οδηγούν σε β-κυτταρικούς αντισταθμιστικούς μηχανισμούς και επακόλουθη β-κυτταρική αποτυχία στον διαβήτη τύπου 2 περιλαμβάνουν λιποτοξικότητα και / ή γλυκολιποτοξικότητα, αντοχή στην ινσουλίνη, υπερινσουλιναίμια και στρες, με μέτρια συμβολή από χαμηλού επιπέδου φλεγμονή (230). Με άλλα λόγια, οι διαφορετικές αιτίες που προκαλούν θάνατο β-κυττάρων στον διαβήτη τύπου 1 και τύπου 2 δεν μπορούν να μιμηθούν στην τελειότητα με τη χορήγηση STZ σε ζωικά μοντέλα.

Παρά την έλλειψη του αυτοάνοσου υπόβαθρου , οι αρουραίοι που έλαβαν HFD που έλαβαν μόνο μία υψηλή δόση STZ δείχνουν σαφή χαρακτηριστικά του διαβήτη τύπου 1, όπως υπεργλυκαιμία, έλλειψη ινσουλίνης, δραστική απώλεια βάρους και αντίσταση έναντι της ινσουλινοευαισθητοποίησης των θεραπευτικών μέσων (225, 226, 231). Περαιτέρω, η χορήγηση STZ τόσο του άπαχου STZ (ένα συχνά χρησιμοποιούμενο μοντέλο διαβήτη τύπου 1 (225, 226, 232)30 mg STZ / kg σωματικού βάρους, μία φορά ημερησίως για 3 ημέρες) όσο και των αρουραίων HFD / STZ (20 mg STZ / Kg σωματικού βάρους, μία φορά ημερησίως για 3 ημέρες) συσχετίζονται συχνά μία απώλεια αρχικού βάρους, ενώ και τα δύο μοντέλα αποκρίνονται με αύξηση βάρους μετά από 3 εβδομάδες θεραπείας με ινσουλίνη.Μία επαγόμενη από την ινσουλίνη αύξηση βάρους παρατηρείται συνήθως κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ινσουλίνη σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και τύπου

2(233, 234). Σε αντίθεση με τον διαβήτη τύπου 1, δεν παρατηρείται σαφής και ξαφνική απώλεια βάρους στη διάγνωση του διαβήτη τύπου 2. Ωστόσο, οι ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 με αδιαγνωσμένο ή / και χωρίς ινσουλίνη, θα αντιμετωπίσουν αναπόφευκτα επίσης σημαντική απώλεια βάρους με το χρόνο. Έτσι, η απώλεια βάρους που προκαλείται από STZ και η αύξηση του βάρους στην θεραπεία ινσουλίνης, που παρατηρήσαμε στο μοντέλο αρουραίων HFD / STZ, δεν καθιστούν το μοντέλο καλύτερο μοντέλο διαβήτη τύπου 1 από το διαβήτη τύπου 2, καθώς υπάρχουν φαινόμενα που μπορεί να συμβούν και στις δύο ασθένειες. Η σύγκριση έχει προστεθεί στη βιβλιογραφία από το γεγονός ότι ορισμένα μοντέλα αρουραίων που λαμβάνουν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με την ίδια υψηλή δόση STZ που χρησιμοποιείται κατά τη μοντελοποίηση του διαβήτη τύπου 1 έχουν επίσης αναφερθεί ως μοντέλα διαβήτη τύπου 2 σε άλλες μελέτες (235, 236). Ωστόσο, όταν η δόση STZ αλλάζει από μία υψηλή δόση σε μία μόνο χαμηλή δόση ή σε πολλαπλές χαμηλότερες δόσεις STZ, οι ερευνητές τείνουν να συμφωνούν στον αρουραίο HFD / STZ ως κατάλληλο μοντέλο διαβήτη τύπου 2(225, 226, 236, 237). Επομένως, η δόση της STZ καθαυτή έχει προφανώς σημαντική επίδραση στον φαινότυπο των αρουραίων που τροφοδοτούνται με HFD. Η χορήγηση STZ προκαλεί ισχυρή (αλλά όχι απόλυτη) απομάκρυνση των β-κυττάρων κατά τρόπο που εξαρτάται από τη δόση, τον αριθμό των δόσεων, το χρονικό διάστημα μεταξύ των δόσεων, την οδό χορήγησης, την κατάσταση τροφοδοσίας / νηστείας κατά τη χορήγηση STZ και το είδος του αρουραίου. Υπάρχουν μεγάλες παραλλαγές στις θεραπείες STZ, οι οποίες επηρεάζουν το επίπεδο της εξάντλησης των β-κυττάρων. Παραλλαγές μεταξύ αυτών των παραμέτρων υπάρχουν επίσης σε μελέτες που συνεργάζονται με το μοντέλο αρουραίων HFD / STZ .

Η ίδια αγωγή με STZ έχει εφαρμοστεί σε αρουραίους σε διαφορετικά σχήματα διατροφής και έτσι αρουραίοι με δυνητικά διαφορετικές συνθέσεις σώματος μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε διαφορετικούς φαινότυπους. Στοιχεία που υποστηρίζουν αυτή τη θέση βρίσκονται σε μελέτες που συγκρίνουν τους αρουραίους STZ με τους αρουραίους HFD / STZ που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με την ίδια ποσότητα STZ. Αυτοί οι αρουραίοι δεν εμφανίζουν τον ίδιο φαινότυπο σε σχέση με τα επίπεδα γλυκόζης αίματος(235). Αυτό μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι η STZ έχει αποδειχθεί ότι δεν αλληλεπιδρά με τα λιπίδια (238). Μια άλλη πιθανότητα θα μπορούσε να είναι τα μεταβαλλόμενα επίπεδα του μεταφορέα γλυκόζης 2 στα β-κύτταρα, στα δύο μοντέλα. Μια άλλη προειδοποίηση κατά τη θεραπεία των ζώων που τρέφονται με HFD με STZ είναι ότι ο διαβήτης που προκαλείται από την χορήγηση STZ μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη συγκριτικά με τους μάρτυρες (239). Αντίθετα, ο διαβήτης τύπου 2 στους ανθρώπους χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη . Τέλος, επηρεάζει την χορήγηση STZ σε σχέση με το μοντέλο HFD / STZ, θα πρέπει να τονιστεί ότι η χορήγηση STZ οδηγεί σε μια μετάβαση από μια κατάσταση ανθεκτικής στην ινσουλίνη σε μια κατάσταση διαβήτη τύπου 2 με πολύ γρήγορο και αφύσικο τρόπο. Αυτό σημαίνει ότι η χρονική όψη της εξέλιξης / μετάβασης της νόσου δεν μιμείται ιδανικά σε αυτό το ζωικό μοντέλο. Συνοπτικά, ο σχεδιασμός της θεραπείας STZ που υπερκαλύπτεται με την επιλογή του διατροφικού σχήματος θα επηρεάσει σημαντικά τον φαινότυπο του μοντέλου αρουραίων HFD / STZ. Καμία απόλυτη συμφωνία της προσέγγισης θεραπείας STZ δεν υπάρχει στη βιβλιογραφία όταν πρόκειται για μοντελοποίηση του διαβήτη τύπου 2 στο μοντέλο αρουραίων HFD / STZ, αν και εμφανίζονται κάποιες τάσεις.

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ:

Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας και του διαβήτη τύπου 2 αυξάνεται ραγδαία σε όλα τα μέρη του κόσμου και συνδέεται με έναν τρόπο ζωής υπερβολικής κατανάλωσης τροφίμων και πολύ λίγη σωματική δραστηριότητα. Με την υπερβολική αποθήκευση ενέργειας, αναπτύσσεται παχυσαρκία, οδηγώντας σε αυξημένο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2. Στα κύτταρα, π.χ. Λιπώδη κύτταρα / λιποκύτταρα, από ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 η σηματοδότηση της ινσουλίνης αλλάζει και ο ιστός είναι ανθεκτικός στην ινσουλίνη. Η σηματοδότηση της ινσουλίνης συμβαίνει μέσω ενός σύνθετου δικτύου διαφορετικών μονοπατιών σηματοδότησης. Οι πρωτεΐνες καθίστανται φωσφορυλιωμένες και αποφωσφορυλιωμένες σε διαφορετικά αμινοξέα και συνεπώς περισσότερο ή λιγότερο δραστικά στον καταρράκτη σηματοδότησης της ινσουλίνης. Ωστόσο, οι μηχανισμοί της σηματοδότησης της ινσουλίνης εξακολουθούν να μην είναι πλήρως γνωστοί. Οι πληροφορίες σχετικά με τις αντιδράσεις σηματοδότησης της ινσουλίνης και τους υποκείμενους κυτταρικούς μηχανισμούς που οδηγούν στην αντοχή στην ινσουλίνη και στον διαβήτη τύπου 2, ιδιαίτερα στα ανθρώπινα λιπώδη κύτταρα, είναι πολύ περιορισμένες.

Η παχυσαρκία ορίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) μέσω του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) > 30. Η παχυσαρκία αναπτύσσεται όταν η κατανάλωση ενέργειας υπερβαίνει την χρησιμοποιούμενη ενέργεια. Συνδέεται με διάφορες μεταβολικές ασθένειες, π.χ. την αντίσταση στην ινσουλίνη, την υπέρταση, τις καρδιαγγειακές παθήσεις και την ανάπτυξη του διαβήτη τύπου 2. Είναι σημαντικό να αντιμετωπιστεί η παχυσαρκία με περιορισμό της πρόσληψης τροφής, σωματική δραστηριότητα ή, σε περιπτώσεις εξαιρετικά υπέρβαρων ασθενών, με χειρουργική

θεραπεία (240). Στην παχυσαρκία, ο λιπώδης ιστός γίνεται χρόνια φλεγμονή μέσω της διήθησης των μακροφάγων και μαζί αυτά τα κύτταρα παράγουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες,(241). Επιπλέον, ο λιπώδης ιστός στην παχυσαρκία είναι εκτεθειμένος σε πολλά είδη στρες, συμπεριλαμβανομένου του οξειδωτικού στρες (242), του στρες του ενδοπλασματικού δικτυώματος (ER) (243), του φλεγμονώδους στρες και του μεταβολικού στρες, που αλληλοσυνδέονται και είναι ισχυροί επαγωγείς σηματοδότησης του στρες και μπορούν να προκαλέσουν αντίσταση στην ινσουλίνη(244).

Ο λιπώδης ιστός είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ενεργειακής ισορροπίας και του συνολικού μεταβολισμού του ανθρώπινου σώματος. Ο λιπώδης ιστός είναι, μαζί με το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες, είναι κεντρικός παράγοντας στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη. Ο λιπώδης ιστός είναι ένα όργανο που αποτελείται από λιπώδη κύτταρα, νεύρα, συνδετικό ιστό, αιμοφόρα αγγεία και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα λιποκύτταρα ή λιπώδη κύτταρα περιέχουν ένα μεγάλο κεντρικό σταγονίδιο ελαίου, το οποίο αποτελείται κυρίως από τριακυλγλυκερόλη. Αυτό το σταγονίδιο ελαίου καταλαμβάνει περίπου το 95% του όγκου των λιποκυττάρων. Τα λιποκύτταρα μπορούν να αυξηθούν σε μέγεθος ενσωματώνοντας περισσότερη τριακυλγλυκερόλη. Έτσι, αυτά τα κύτταρα διαφέρουν σε μέγεθος και έχουν διάμετρο μεταξύ 20-200 μm. Ένα λεπτό φιλμ <0,5 μm κυτοσόλης περιβάλλει το σταγονίδιο των λιπιδίων. Σε αυτό το κυτταρόπλασμα και στη πλασματική μεμβράνη πραγματοποιείται το μεγάλο μέρος της σηματοδότησης της ινσουλίνης. Στην πλασματική μεμβράνη των λιποκυττάρων υπάρχουν σπηλαιώδεις δομές, που ονομάζονται κυτταρικές εισαγωγές (245, 246). Στα

ανθρώπινα λιποκύτταρα αρκετές σημαντικές πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην σηματοδότηση της ινσουλίνης εντοπίζονται στις κυτταρικές εισαγωγές (247, 248).

Η ινσουλίνη συντίθεται στα βήτα κύτταρα του παγκρέατος με τη μορφή προπροϊνσουλίνης που είναι ο τελικός πρόδρομος και το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11 κοντά σε εκείνο του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα-2 (IGF-2).2 Μέσα σε ένα λεπτό μετά τη σύνθεση, αποβάλλεται σε αδρανή χώρο του ακατέργαστου ενδοπλασμικού δικτύου όπου διασπάται σε προϊνσουλίνη με πρωτεολυτικά ένζυμα. Η προϊνσουλίνη με αλυσίδα O (συνδετική) αλυσίδα που συνδέει αλυσίδες A και B μεταφέρεται έπειτα με μικρόβια σε συσκευή Golgi. Η προϊνσουλίνη απελευθερώνεται σε κυστίδια. Η μετατροπή της προϊνσουλίνης σε ινσουλίνη συνεχίζεται στους κόκκους ωρίμανσης μέσω της δράσης προορμόνης 2 και 3 και της καρβοξυ πεπτιδάσης H.4 Οι κόκκοι ωρίμανσης μετατοπίζονται με τη βοήθεια μικροσωληναρίων και μικρομολυσμάτων.

Η ινσουλίνη είναι η αναβολική ορμόνη που εκκρίνεται από τα παγκρεατικά β-κύτταρα, με πρωταρχικές δράσεις στα λιποκύτταρα, στα μυϊκά και στα ηπατικά κύτταρα. Η βασική συγκέντρωση ινσουλίνης στο αίμα κυμαίνεται μεταξύ 0,01 nM και 0,2 nM και η συγκέντρωση μπορεί να αυξηθεί έως και 10 φορές μετά από ένα γεύμα, κάνοντας τα κύτταρα να πάρουν περισσότερη γλυκόζη. Μια σημαντική δράση της ινσουλίνης είναι η μείωση της συγκέντρωσης γλυκόζης στο αίμα με την τόνωση της πρόσληψης γλυκόζης στο μυϊκό και λιπώδη ιστό και την καταστολή της παραγωγής γλυκόζης από το ήπαρ. Η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα είναι συνήθως 3,5-6,1 mM. Μετά από ένα γεύμα αυξάνεται το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα, πράγμα που οδηγεί σε αυξημένη έκκριση ινσουλίνης στο αίμα. Η ινσουλίνη επίσης διεγείρει τη σύνθεση πρωτεϊνών, την πρόσληψη και σύνθεση ελεύθερων λιπαρών οξέων, καθώς και την αναστολή της λιπόλυσης στα λιποκύτταρα (249). Επιπλέον, η

ινσουλίνη ρυθμίζει την ανάπτυξη του λιπώδους ιστού και τη διαφοροποίηση του λιποκυττάρου μέσω του ελέγχου της γονιδιακής μεταγραφής μέσω διαφορετικών αδιποκινών και των ειδικών για το λίπος παραγόντων μεταγραφής, π.χ. PPAR γ (250).

Οι ορμόνες που απελευθερώνονται από τα λιποκύτταρα, οι αδιποκίνες, επηρεάζουν το σώμα μέσω επιδράσεων για παράδειγμα στην όρεξη, τη φλεγμονή και την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Μερικές αδιποκίνες όπως η αδιπονεκτίνη και η βισφατίνη έχουν αντιδιαβητικές δράσεις και σε κάποιο βαθμό βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη, ενώ άλλες, όπως ο TNF- α , η IL-6 και η RBP4 είναι ουσίες που μειώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη(251). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι τα λιποκύτταρα τόσο από ποντίκια όσο και από ανθρώπους εκκρίνουν μια πρόσφατα ανακαλυφθείσα αδιποκίνη, η χημερινή, η οποία ρυθμίζει την έκφραση γονιδίου στα λιποκύτταρα, καθώς και την διαφοροποίηση μέσω των πρωτεϊνικών κινασών ERK1 / 2 που εμπλέκονται στη σηματοδότηση της ινσουλίνης (252). Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ υψηλών επιπέδων RBP4 στο πλάσμα και στην αντίσταση στην ινσουλίνη (253). Μια μελέτη σε πρωτογενή ανθρώπινα λιποκύτταρα έδειξε επίσης μια σύνδεση μεταξύ της RBP4 και της αντίστασης στην ινσουλίνη (253), γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι η RBP4 εμπλέκεται στην αντίσταση στην ινσουλίνη του διαβήτη τύπου 2 και της παχυσαρκίας . Η έκκριση αδιποκίνης μπορεί να εξηγήσει πώς συμμετέχουν τα λιποκύτταρα στον έλεγχο της ευαισθησίας στην ινσουλίνη ολόκληρου του σώματος και στην αντίσταση στην ινσουλίνη(253, 254).

Ο υποδοχέας ινσουλίνης (IR) υπάρχει σε όλους τους ιστούς σπονδυλωτών με την υψηλότερη συγκέντρωση στα κύρια μεταβολικά όργανα όπως οι μύες, τα λιποκύτταρα και τα ηπατοκύτταρα. Στα λιποκύτταρα ο υποδοχέας της ινσουλίνης εντοπίζεται σε κυτταρικές εισαγωγές της πλασματικής μεμβράνης (245, 246, 255). Το

IR αποτελείται από δύο α -υπομονάδες (130 kDa) οι οποίες εντοπίζονται στο εξωτερικό του κυττάρου και συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Ο καθένας συνδέεται επίσης με δισουλφιδικούς δεσμούς με ένα διαμεμβρανικό διμερές β -υπομονάδας (96kDa), το οποίο είναι πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης (256).

Η σύνδεση με ινσουλίνη στις α -υπομονάδες επάγει δια-αυτοφωσφορυλίωση των β -υπομονάδων που ενεργοποιούνται. Μετά από αυτή τη φωσφορυλίωση του IR σε υπολείμματα τυροσίνης ενδοκυτταρικά οι πρωτεΐνες σηματοδοσίας προσλαμβάνονται και μπορούν να φωσφορυλιωθούν με προσάρτηση στο φωσφορυλιωμένο IR. Μεταξύ αυτών είναι μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών IRS και της οικογένειας Shc . Με την αλληλεπίδραση με το IR αρκετά υπολείμματα τυροσίνης των πρωτεϊνών IRS φωσφορυλιώνονται. Αυτό δημιουργεί θέσεις πρόσδεσης για άλλες ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες με περιοχές SH2 και το σήμα ινσουλίνης μετασχηματίζεται μέσω μιας σειράς φωσφορυλίωσεων και αποφωσφορυλίωσεων που συνιστούν την σηματοδότηση της ινσουλίνης μέσα στο λιποκύτταρο.

Η φωσφορυλίωση της πρωτεϊνικής τυροσίνης είναι μια ισορροπία μεταξύ των δραστηριοτήτων των πρωτεϊνικών κινασών και των φωσφατάσων πρωτεϊνικής τυροσίνης, των PTPασών. Είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι ακόμη και σε φυσιολογική σηματοδότηση ινσουλίνης οι PTPάσες παίζουν σημαντικό ρόλο στη δράση της ινσουλίνης. Μετά την αφαίρεση της ορμόνης, το σήμα σβήνει και τα αποτελέσματα της ινσουλίνης μπλοκάρονται. Εκτός από τις PTPases υπάρχουν επίσης φωσφατάσες πρωτεΐνης σερίνης / θρεονίνης που επηρεάζουν τη σηματοδότηση της ινσουλίνης αντισταθμίζοντας τις πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης / θρεονίνης.

Η μεταγενέστερη σηματοδότηση από την ινσουλίνη συμβαίνει μέσω δύο κύριων καταρρακτών κινάσης: της μιτογόνου οδού σηματοδότησης και της οδού μεταβολικής σηματοδότησης. Αυτά τα μονοπάτια σηματοδότησης απεικονίζονται συνήθως ως γραμμικά, αλλά συνίστανται στην πραγματικότητα σε ένα πολύπλοκο δίκτυο ανατροφοδοτήσεων και διαβημάτων με άλλες οδούς σηματοδότησης στο κύτταρο (257).

Η οδός μιτογόνου σηματοδότησης ή ο καταρράκτης κινάσης Ras / MAP γίνεται στα λιποκύτταρα κυρίως ενεργοποιημένα από ινσουλίνη μέσω των πρωτεϊνών IRS (258, 259). Η πρωτεΐνη προσαρμογέα Grb2 συνδέεται με την IRS (ή Shc) (260), πριν προσαρμοστεί στο Sos, τον παράγοντα ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης για Ras. Το ενεργοποιημένο Ras-GTP συνδέεται και ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση Raf, η οποία επάγει τα βήματα φωσφορυλίωσης του καταρράκτη κινάσης MAP, στα οποία φωσφορυλιώνονται και ενεργοποιούνται οι κινάσες ERK1 / 2 (261). Αυτή η οδός σηματοδότησης εμπλέκεται κυρίως στην κυτταρική ανάπτυξη, στην επιβίωση και στην διαφοροποίηση (262). Στα ανθρώπινα λιποκύτταρα οι πρωτεΐνες IRS μεσολαβούν στη σηματοδότηση με ινσουλίνη μέσω ελέγχου της κινάσης MAP, για παράδειγμα του παράγοντα μεταγραφής ELK-1 (259). Η σχετιζόμενη με το άγχος MAP κινάση p38 MAPK ενεργοποιείται από κυτταρικό στρες, τις κυτοκίνες και την ινσουλίνη σε πολλούς τύπους κυττάρων (263-265). Έχει επίσης προταθεί ότι αυτή η πρωτεϊνική κινάση εμπλέκεται στον έλεγχο της πρόσληψης γλυκόζης από την ινσουλίνη (263), αλλά υπάρχουν και αντιφατικές αναφορές. Ωστόσο, στα ανθρώπινα λιποκύτταρα η ινσουλίνη δεν φαίνεται να επηρεάζει τη φωσφορυλίωση του p38 MAPK.

Η IR-μεσολαβούμενη φωσφορυλίωση της τυροσίνης του IRS1 ενεργοποιεί επίσης ένα μεταβολικό μονοπάτι σηματοδότησης με δέσμευση στην ρυθμιστική υπομονάδα (p85) του PI3K (266). Συνεπώς, ενεργοποιείται η καταλυτική υπομονάδα (p110) του PI3K. Το PI3K φωσφορυλιώνει λιπίδια φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης στη πλασματική μεμβράνη. Έτσι, το παραγόμενο 3,4,5-τριφωσφορικό φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη (PIP3) δημιουργεί τις πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης / θρεονίνης PDK1 και PKB / Akt στη πλασματική μεμβράνη (267). Το PKB / Akt φωσφορυλιώνεται στο Thr 308 (στην αλληλουχία PKB-άλφα) από την PDK1 και έτσι ενεργοποιείται εν μέρει (268, 269). Το PKB / Akt πρέπει επίσης να φωσφορυλιώνεται σε σερίνη 403 (στην αλληλουχία PKB-άλφα) για μέγιστη ενεργοποίηση (270). Πρόσφατα, η υπεύθυνη πρωτεϊνική κινάση αναγνωρίστηκε ως mTORC2, μια ειδική μορφή mTOR σε σύμπλεγμα με τον ρυθμιστή υπομονάδας (271, 272). Το PKB / Akt υπάρχει σε τρεις στενά σχετιζόμενες ισομορφές στα θηλαστικά (άλφα, βήτα και γάμμα) και ελέγχει αρκετές βιολογικές λειτουργίες όπως η επιβίωση των κυττάρων, ο μεταβολισμός του γλυκογόνου και η πρόσληψη γλυκόζης(273, 274).

Ένας άλλος στόχος του PI3K στα λιποκύτταρα είναι η άτυπη PKC (ζ / λ). Τόσο το PKB / Akt (274)όσο και το άτυπο PKC (275)φαίνεται να είναι σημαντικά για τη διέγερση της ινσουλίνης της μετατόπισης των GLUT4 στη πλασματική μεμβράνη και τη βελτίωση της μεταφοράς γλυκόζης.

Αρκετά δεδομένα καταδεικνύουν την ανάγκη για PI3K-εξαρτώμενες οδούς για τη σηματοδότηση της ινσουλίνης στην πρόσληψη γλυκόζης, αλλά ορισμένα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση αυτού του ενζύμου δεν επαρκεί για την ενίσχυση της μεταφοράς γλυκόζης (276). Μία μη-PI3K-εξαρτώμενη οδός αναφέρθηκε ότι

εμπλέκει την φωσφορυλίωση τυροσίνης του πρωτογονκογόνου Cbl. Σε απόκριση της ινσουλίνης το Cbl συνεργάζεται με την πρωτεΐνη προσαρμογέα CAP και το σύμπλοκο μετατοπίζεται στη πλασματική μεμβράνη (277). Μαζί με το Crk υπάρχει μια ενεργοποίηση της G-πρωτεΐνης TC10, η οποία φαίνεται να είναι σημαντική για τη μετάθεση του GLUT4 στη πλασματική μεμβράνη (278), αν και αυτό έχει προκληθεί έντονα(279, 280).

Η γλυκόζη είναι μια θεμελιώδης πηγή ενέργειας για τα κύτταρα . Δεδομένου ότι η κυτταρική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη από υδατάνθρακες, η μεταφορά γλυκόζης στο κύτταρο διευκολύνεται από πρωτεΐνες φορείς γλυκόζης. Σε κυτταρικό επίπεδο, η ινσουλίνη διεγείρει τη μεταφορά γλυκόζης στα λιποκύτταρα προκαλώντας μετατόπιση του μεταφορέα γλυκόζης 4 (GLUT4) από ένα διαμέρισμα αποθήκευσης ενδοκυττάριου κυστιδίου στη πλασματική μεμβράνη . Στα λιποκύτταρα το GLUT4 είναι πιο άφθονο, αλλά η ισομορφία GLUT1 μπορεί να παρέχει βασική πρόσληψη γλυκόζης (281). Στην βασική κατάσταση ο κύκλος GLUT4 κυμαίνεται μεταξύ της πλασματικής μεμβράνης και ενός ή περισσοτέρων ενδοκυτταρικών διαμερισμάτων με διαφορετικούς αλλά όχι εντελώς γνωστούς μηχανισμούς (282). Μετά την διέγερση με ινσουλίνη των κυττάρων τα ενδοκυτταρικά κυστίδια GLUT4 μεταφέρονται και συντήκονται με τη πλασματική μεμβράνη (283). Στα λιποκύτταρα, το GLUT4 φαίνεται να συντήκεται ή να μετακινείται σε σπηλαία όπου λαμβάνει χώρα η πρόσληψη γλυκόζης (246, 284). Όταν τερματίζεται η διέγερση της ινσουλίνης, τα GLUT4 εσωτερικοποιούνται , προφανώς με ενδοκύτωση από τις κυτταρικές εισαγωγές (246). Η εξωκύτωση των GLUT4 αυξάνεται έως και 10-20 φορές από την ινσουλίνη, ενώ η ενδοκυττάρωση του GLUT4 μειώνεται ελαφρώς (282).

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα μια καθαρή αύξηση της GLUT4 στη πλασματική μεμβράνη αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα πρόσληψης γλυκόζης. Έχειδειχθεί ότι η διεγερόμενη από ινσουλίνη πρόσληψη γλυκόζης καθώς και η έκφραση των GLUT4 μειώνονται σε ανθρώπινα λιποκύτταρα σε αντίσταση στην ινσουλίνη π.χ. Διαβήτης τύπου 2 ή / και παχυσαρκία (285-287). Μετά από ένα γεύμα οι μύες προσλαμβάνουν το μεγαλύτερο μέρος της γλυκόζης στο σώμα και ο λιπώδης ιστός καταναλώνει μόνο περίπου το 10 έως 15% (288, 289). Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί σε ζώα ότι μια λιπώδης-εκλεκτική αναγωγή του GLUT4 οδηγεί σε μια διαταραγμένη διέγερση γλυκόζης με ινσουλίνη και μια αντίσταση ινσουλίνης σε ολόκληρο το σώμα (290). Ακόμη πιο επιτακτική είναι ότι η υπερέκφραση του GLUT4, στα μυϊκά εξαντλημένα με GLUT4 ζώα, αποκατέστησε την ευαισθησία στην ινσουλίνη (291). Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι οι ποντικοί με ειδικό εξάντλημα της GLUT4 στον λιπώδη ιστό προκάλεσαν αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης RBP4 που δεσμεύεται με ρετινόλη στα λιποκύτταρα και επίσης αύξησαν την έκκριση του RBP4 από τα λιποκύτταρα . Αυτό κατέστησε τα ζώα ανθεκτικά στην ινσουλίνη στα μυϊκά κύτταρα καθώς και στο ήπαρ . Αυτά τα ζωϊκά μοντέλα υποδεικνύουν τη σημασία του λιπώδους ιστού στην πρόκληση αντοχής στην ινσουλίνη ολόκληρου του σώματος.

ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ :

Η αντιπονεκτίνη (γνωστή ως Acrp30 ή AdipoQ) είναι μία 30-kDa πρωτεΐνη η οποία εκκρίνεται κατά κύριο λόγο από τα λιποκύτταρα. Αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά, σχεδόν ταυτόχρονα, από 4 διαφορετικές ερευνητικές ομάδες στα μισά της δεκαετίας του 1990, με τελική απομόνωση στο ανθρώπινο πλάσμα το 1996 (Nakano et al)(292). Το γονίδιο της ανευρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q27, σε περιοχή που συνδέεται με την εμφάνιση του συνδρόμου αντίστασης στην ινσουλίνη και του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 (293) και κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο το οποίο αποτελείται από 244 αμινοξέα. Αποτελείται από ένα αμινοτελικό-τελικό τμήμα που μοιάζει με το κολλαγόνο και ένα ανθρακοτελικό-τελικό σφαιρικό τμήμα το οποίο παρουσιάζει παρόμοια δομή με τον παράγοντα νέκρωσης όγκου-α (TNF-α), μια άλλη αντιποκίνη με τις αντίθετες από την αντιπονεκτίνη δράσεις, αλλά και με τα σφαιρικά τμήματα των κολλαγόνων VIII, X, καθώς και με πρωτεΐνες γνωστές ως κολλεκτίνες (294). Τα ανωτέρω μονομερή πολυμερίζονται σε τριμερείς (χαμηλού μοριακού βάρους-LMW), σε εξαμερείς (μέσου μοριακού βάρους), ή σε μεγαλύτερου μοριακού βάρους (HMW) μορφές (δωδεκαμερείς ή δεκαοχταμερείς). Φαίνεται ότι ο σχηματισμός των πολυμερών και κυρίως των εξαμερών εξαρτάται από τη δημιουργία δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των αμινοξέων και πιο συγκεκριμένα της κυστεΐνης που βρίσκεται στη θέση 39. Επιπρόσθετα τα ανωτέρω μόρια δύναται να υποστούν πρωτεόλυση μέσω της ελαστάσης των ενεργοποιημένων ουδετεροφίλων ή μακροφάγων ή πρωτεασών που ανευρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια των κυττάρων στόχων και ως εκ τούτου έχουν ανιχνευθεί στο ανθρώπινο πλάσμα μικρές σφαιρικές δομές οι οποίες διαθέτουν τμήμα του κολλαγονικού τομέα (295). Όλες οι ανωτέρω μορφές φαίνεται να εμφανίζουν διακριτές δράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, αν και πλήρης γνώση για το είδος της δράσης του δεν υπάρχει. Φαίνεται πάντως ότι η

μεγάλου μοριακού βάρους μορφή της ορμόνης παρουσιάζει μεγαλύτερη συσχέτιση με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την καρδιοαγγειακή νόσο, γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορεί να αποτελεί την κύρια δραστική μορφή της αντιπονεκτίνης, αν και το είδος της δράσης των διαφόρων μορφών της ορμόνης εξαρτάται από τον τύπο των υποδοχέων στον οποίο δρουν(296).

ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ-ΡΥΘΜΙΣΗ

Όπως αναφέρθηκε, η ορμόνη πρωταρχικά συντίθεται στον λευκό και σε μικρότερες συγκεντρώσεις στον καφέ λιπώδη ιστό(297). Σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα έχει απομονωθεί στους σκελετικούς μύες, στο ήπαρ, στο έντερο, στο μυοκάρδιο, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και το μητρικό γάλα(298). Η φυσιολογική συγκέντρωση στο πλάσμα κυμαίνεται μεταξύ 5-30 μg/dl, είναι 1000 φορές υψηλότερη από αυτή της λεπτίνης, ενώ οι γυναίκες παρουσιάζουν μεγαλύτερα επίπεδα σε σχέση με τους άντρες κατά 40% περίπου, πιθανότατα λόγω διαφορών στις συγκεντρώσεις των οιστρογόνων μεταξύ των δύο φύλων(299). Η χαμηλού μοριακού βάρους ισομορφή αποτελεί το κυρίως κυκλοφορούν τμήμα της ορμόνης, ενώ η υψηλού μοριακού βάρους -η πιο δραστική μορφή- το ενδοκυττάριο τμήμα αυτής(300). In vitro και in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι η έκφραση και έκκριση της αντιπονεκτίνης συνοδεύεται από τις θειαζολινεδιόνες και τους ειδικούς τροποποιητές των ενεργοποιημένων μικροσωματικών γ υποδοχέων πολλαπλασιασμού (PPAR)(301). Η αντιπονεκτίνη ελαττώνει το βάρος του σώματος και το λίπος και διεγείρει τη θερμογένεση. Οι συγκεντρώσεις της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα είναι χαμηλότερες στα άτομα με παχυσαρκία, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, υπέρταση, στεφανιαία νόσο, μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Ελαττωμένες συγκεντρώσεις αντιπονεκτίνης παρατηρούνται με την αύξηση του βάρους και αυξημένες συγκεντρώσεις με απώλεια του βάρους μετά από επέμβαση στομάχου ή

μετά από δίαιτα με χαμηλές θερμίδες. Ελαττωμένες συγκεντρώσεις αντιπονεκτίνης συνδέονται επίσης με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη τύπου II. Σε αντίθεση με άλλες αντιπονεκτίνες, η έκφραση του γονιδίου της αντιπονεκτίνης, είναι παραδόξως ελαττωμένη στο λιπώδη ιστό παχύσαρκων και διαβητικών ποντικών αλλά και ανθρώπων. Επιπλέον, η απώλεια βάρους επαναφέρει τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης στη φυσιολογική τους τιμή. Αντιθέτως η ινσουλίνη ελαττώνει την έκφραση της τόσο στα ποντίκια όσο και στους ανθρώπους, ενώ και πολλοί άλλοι παράγοντες όπως οι κατεχολαμίνες, τα γλυκοκορτικοειδή, η προλακτίνη, η αυξητική ορμόνη και τα ανδρογόνα φαίνεται να δρουν ανασταλτικά στη ρύθμισή της(302, 303).

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ-ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ

Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί δύο τύποι υποδοχέων οι 1 και 2 (AdipoR1–AdipoR2)(304). Πρόκειται για διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες σε αντιδιαστολή με τις υπόλοιπες G πρωτεΐνες διαθέτουν εσωτερικές αμινοτελικές και εξωτερικές ανθρακοτελικές ομάδες(304). Ο τύπου 1 υποδοχέας εμφανίζει υψηλή συγγένεια με τη σφαιρική μορφή της ορμόνης, χαμηλή με το πλήρες μόριο και εκφράζεται στους σκελετικούς μύες και στα ενδοκθλιακά κύτταρα(304). Ο τύπου 2 παρουσιάζει ενδιάμεση συγγένεια και με τις δύο μορφές της αντιπονεκτίνης και ανευρίσκεται στο ήπαρ. Οι δύο τύποι υποδοχέων μπορεί να εμφανίζουν και σε άλλους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των β-παγκρεατικών κυττάρων, μακροφάγων, μυοκαρδιακών, καρκινικών κυττάρων καθώς και στο υποδόριο και κοιλιακό λίπος, αν και σε κάθε περίπτωση κυριαρχεί ο ένας από τους δύο(305).

Η παρουσία και των δύο μορφών υποδοχέων στο μυϊκό ιστό σχετίζεται αντιστρόφως με τα επίπεδα της κυκλοφορούσας αντιπονεκτίνης, ενώ η ύπαρξη των τύπου 2 στο υποδόριο λίπος σχετίζεται θετικά. Η φυσική δραστηριότητα προκαλεί προς τα άνω ρύθμιση των υποδοχέων, κάτι το οποίο σημαίνει ότι το ανωτέρω σύστημα μπορεί να επιφέρει ευμενείς δράσεις στην αντίσταση στην ινσουλίνη, μέσω ασκήσεως(306). Η θετική επίδραση της άσκησης οφείλεται αφ'ενός στην μείωση της λιπώδους μάζας, αφ'ετέρου στην αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη .

Η σύνδεση της αντιπονεκτίνης με τους υποδοχείς της ενεργοποιεί μια σειρά από ενδοκυττάρια οδοί, κυρίως το σύστημα της εξαρτώμενης από τη μονοφωσφορική αδενοσίνη πρωτεϊνικής κινάσης (AMPK) αλλά και άλλα όπως το σύστημα μετατροπής σημάτων και ενεργοποίησης της μεταγραφής (STAT3), τις Janus κινάσες (JNK) και τον πυρηνικό παράγοντα-Kb (NF-kb). Η ενεργοποίηση της προαναφερθείσας κινάσης, μέσω φωσφορυλιώσεων, αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τους σκελετικούς μύες, μειώνει τη νεογλυκογένεση στο ήπαρ, ενώ συμμετέχει στη ρύθμιση της δράσης μιας σειράς ενζύμων (ακετυλοσυνένζυμοΑ καρβοξυλάση, συνθετάση λιπαρών οξέων, γλυκοζο-6-φωσφατάση), ρυθμιστικών πρωτεϊνών και παραγόντων μεταγραφής(304).Επίσης φαίνεται ότι η αντιπονεκτίνη ενεργοποιεί και τους ενεργοποιημένους μικροσωματικούς α υποδοχείς πολλαπλασιασμού (PPARα) με συνέπεια την περαιτέρω οξείδωση των λιπαρών οξέων τόσο στο μυϊκό όσο και στο ηπατικό κύτταρο, την ελάττωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων και σε τελικό βαθμό τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη.

Η αντιπονεκτίνη ελαττώνει τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα αυξάνοντας τον καταβολισμό των VLDL(307).Μία σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κυκλοφορούμενης αντιπονεκτίνης και των επιπέδων των τριγλυκεριδίων και μια θετική συσχέτιση μεταξύ της αντιπονεκτίνης και των επιπέδων HDL χοληστερόλης

έχει παρατηρηθεί στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II.Στους ασθενείς με ΣΔ τύπου II (308, 309).Τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης στον ορό είναι μειωμένα, ενώ αυξάνονται στον ορό των ασθενών με ΣΔ τύπου I(310). Επίσης, η υποαδιπονεκτιναιμία συσχετίζεται θετικά με την υπερλιπιδαιμία (TGL, LDL-C) και αρνητικά με τα επίπεδα της HDL-C στον ορό (311). Η έκκριση της αδιπονεκτίνης στους ανθρώπους γίνεται κατά ώσεις και ακολουθεί ένα είδος κικάρδειου ρυθμού, όμως σε αντίθεση με την λεπτίνη, οι αιχμές (peaks) παρατηρούνται την ημέρα και η έκκριση μειώνεται την νύχτα(312).Ασαφή είναι και τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών σχετικά με την συσχέτιση των θυρεοειδικών ορμονών με τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης. Αν και η αδιπονεκτίνη φαίνεται να επηρεάζει τη σύνθεση των 76 θυρεοειδικών ορμονών και ιδίως της free T4 (FT4), δε παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της αδιπονεκτίνης μεταξύ ευθυρεοειδικών και υπο/υπερθυρεοειδικών ατόμων (313).

Πολυάριθμες κλινικές και πειραματικές μελέτες επιβεβαιώνουν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση της αντίστασης στην ινσουλίνη και του ΣΔ τύπου II με τα χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης που παρουσιάζονται στην παχυσαρκία. Ο ρόλος της να αυξάνει την ευαισθησία των ιστών στη δράση της ινσουλίνης οδήγησε στην υπόθεση ότι η χρησιμοποίηση της αδιπονεκτίνης ή φαρμάκων που να διεγείρουν την έκκριση ή τις δράσεις της, ίσως συμβάλλει θεραπεία του ΣΔ II και του μεταβολικού συνδρόμου. Σε πειραματικά μοντέλα και σε κλινικές μελέτες ατόμων με λιποατροφίες/λιποδυστροφίες έχουν δοθεί χαμηλές δόσεις αδιπονεκτίνης για να αντιστραφεί η αντίσταση στην ινσουλίνη (314). Η χορήγηση ανασυνδυασμένης αδιπονεκτίνης προκαλεί μείωση των επιπέδων της γλυκόζης χωρίς να επάγει την έκκριση ινσουλίνης τόσο σε υγιείς όσο και σε διαβητικούς επίμυες (315). Επίσης, σε

db/db επίμυες με ινσουλινοαντοχή, η αδιπονεκτίνη βελτιώνει την ανοχή στη γλυκόζη και αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη (315). Περιφερική χορήγηση αδιπονεκτίνης μειώνει το σωματικό βάρος και λίπος χάρη στην αυξημένη οξείδωση λιπαρών οξέων (316). Σε ob/ob επίμυες, η χρόνια χορήγηση αδιπονεκτίνης προκαλεί αναστολή της πρόσληψης τροφής με συνοδό απώλεια βάρους και πτώση των επιπέδων γλυκόζης και λιπιδίων στον ορό (317). Σε αντίθεση όμως με την λεπτίνη, η κεντρική χορήγηση αδιπονεκτίνης δεν επηρεάζει την πρόσληψη τροφής, αλλά οδηγεί σε απώλεια βάρους αυξάνοντας την ενεργειακή κατανάλωση (318). Συνεπώς, πλήθος κλινικών και πειραματικών μελετών στοχεύουν στην αξιοποίηση της αδιπονεκτίνης ως θεραπευτικού μέσου για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας και της ινσουλινοαντίστασης που απαντούν στο μεταβολικό σύνδρομο. Η αντιφλεγμονώδης δράση της αδιπονεκτίνης και η προστασία που παρέχει στο ενδοθήλιο των αγγείων, δημιούργησε ελπίδες για χρησιμοποίησή της με στόχο την πρόληψη των καρδιαγγειακών επιπλοκών του μεταβολικού συνδρόμου. Συγκεκριμένα, χορήγηση ανασυνδυασμένης αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμίες, ινσουλινοαντίσταση και άλλες καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από υποαδιπονεκτιναϊμία, ίσως βοηθά στη πρόληψη της αθηρωμάτωσης, της υπέρτασης και των καρδιαγγειακών συμβαμάτων (319, 320). Σε επίμυες με ανεπάρκεια της απολιποπρωτεΐνης E, η χορήγηση αδιπονεκτίνης προλαμβάνει το σχηματισμό αθηρωματικών πλακών (321). Επίσης σε επίμυες με γονιδιακή ανεπάρκεια αδιπονεκτίνης, η θεραπεία υποκατάστασης μειώνει τις αθηροσκληρωτικές αλλαγές στους έσω χιτώνες των αγγείων (322). Η έκφραση των υποδοχέων της αδιπονεκτίνης στο ενδοθήλιο των αγγείων, δημιουργεί προοπτικές φαρμακευτικής παρέμβασης με στόχο τη θετική ρύθμιση των υποδοχέων και την μείωση της αντίστασης στην αδιπονεκτίνη, αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την αντιαθηρογόνο δράση της (323). Το

πηλίκου της λεπτίνης/αδιπονεκτίνης του ορού, θεωρείται καλύτερος προγνωστικός δείκτης της αντίστασης στην ινσουλίνη σε διαβητικούς ασθενείς, από καθεμία ορμόνη χωριστά (324). Επίσης, κλινικές μελέτες ενισχύουν την υπόθεση ότι το πηλίκου αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί για τη σωστή επιλογή αντιδιαβητικής αγωγής και τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των αντιδιαβητικών φαρμάκων (324). Άλλο ένα πηλίκου με σημαντική προγνωστική αξία είναι το πηλίκου της HMW/Total αδιπονεκτίνης του ορού που συσχετίζεται ισχυρότερα με τα επίπεδα της γλυκόζης και της ινσουλίνης σε σχέση με την ολική αδιπονεκτίνη. Το γεγονός ότι η HMW μορφή είναι η πιο ενεργή μεταβολικά, εξηγεί γιατί το πηλίκου αυτό αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη αντίστασης στην ινσουλίνη και μεταβολικού συνδρόμου.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στο να διερευνήσει τον τρόπο με τον οποίο επιδρά η χορήγηση κρόκου Κοζάνης per os σε πειραματικό μοντέλο ΣΔ. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων θα οδηγήσει σε σημαντικά συμπεράσματα αναφορικά με την επίδραση της χορήγησης κρόκου Κοζάνης στην παθοφυσιολογία του ΣΔ και στις μεταβολικές διαταραχές που συνυπάρχουν με τη νόσο.

Εφόσον τα αποτελέσματα της μελέτης μας αναφορικά με τις ευεργετικές δράσεις του κρόκου Κοζάνης στον Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) είναι ενθαρρυντικά, θα εξασφαλιστεί η απαιτούμενη γνώση για την περαιτέρω εκπόνηση κλινικών μελετών με άμεσο στόχο την δημιουργία κάποιου ειδικού προϊόντος για την πρόληψη ή/και υποστροφή του ΣΔ.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Τα πειραματόζωα προήλθαν από τον Οικο Πειραματόζωων του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών .. Τα ζώα παρέμεναν στους θαλάμους κάτω από σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας ($19\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$), σχετικής υγρασίας ($55\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), αερισμού (12 πλήρεις αλλαγές αέρα ανά ώρα) με χρόνο φωτός/σκότους (12/12 ώρες) και προσελάμβαναν τροφή και νερό ad libitum. Οι ανωτέρω συνθήκες καθώς και οι κλωβοί που χρησιμοποιήθηκαν για την στέγαση των ζώων ήταν σύμφωνα με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο ΠΔ 160/1991 «Προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς σε συμμόρφωση προς την Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου».

Καθημερινά γινόταν κλινικός έλεγχος των πειραματοζώων από τους Κτηνιάτρους του εργαστηρίου. Παράλληλα καθημερινά οι επίμυες ζυγίζονταν με την βοήθεια ζυγού ακριβείας (Navigator Balance N1B110, Ohaus Corp, Pine Brook NJ, USA), ενώ προσδιορίζονταν η καθημερινή κατανάλωση ύδατος και τροφής από την αρχή της πειραματικής διαδικασίας μέχρι και την ευθανασία των ζώων. Η εν λόγω μελέτη εγκρίθηκε από τη Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας την Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και από την Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχίας Αθηνών (10/1/2014)

Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες ομάδες αρσενικών ενήλικων επίμυων Sprague Dawley: ομάδα ελέγχου (Α), ομάδα ΣΔ2 (Β), ομάδα ΣΔ2 + κρόκος Κοζάνης (100 mg / kg ΣΒ per os) (Γ) (n=10/ομάδα). Ο ΣΔ2 στις ομάδες Β και Γ προκλήθηκε με χορήγηση υδατικού διαλύματος φρουκτόζης 10% ,επί 2 εβδομάδες και εν συνεχεία ip

χορήγηση χαμηλής δόσης στρεπτοζοτοκίνης (45 mg/kg ΣΒ). Ο κρόκος Κοζάνης διαλυόταν στο νερό καθόλη τη διάρκεια της μελέτης.

Στην αρχή της μελέτης, πριν και αμέσως μετά την πρόκληση ΣΔ2 καθώς και 2 μήνες μετά τη χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης προσδιορίστηκαν τα επίπεδα γλυκόζης και λιπιδίων ορού, και μετρήθηκε το σωματικό βάρος και η κατανάλωση νερού και τροφής.

Στέγαση

Τα ζώα στεγάζονταν σε πλαστικούς κλωβούς των οποίων η αφαιρούμενη οροφή ήταν κατασκευασμένη από μεταλλικό πλέγμα και διέθετε κοίλους χώρους για την τοποθέτηση των φιαλών ύδατος και της τροφής.

Στρωμνή

Για τη στρωμνή χρησιμοποιούνταν ρινίσματα ξύλου (ροκανίδι) τα οποία ήταν σχεδιασμένα έτσι ώστε να απορροφούν σε ικανοποιητικό βαθμό τα ούρα και την υγρασία των περιτωμάτων των μυών παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη μυκήτων και άλλων μικροοργανισμών. Η στρωμνή ανανεώνονταν σε καθημερινή βάση.

Τροφή

Η τροφή που καταλάωναν κατά βούληση οι μύες ήταν ξηρά τροφή σε μορφή κυλίνδρων (pellets), 4RF25, Mucedola, Milan, Italy, και η χημική της σύσταση φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 4).

Πίνακας 4: Χημική σύσταση standard διαίτας πειραματοζώων

	Υπολογισμένο	Ελάχιστο	Μέγιστο	Δηλωθέν
Νερό	10.71%	8.40%	13.20%	12.00%
Ολικές πρωτεΐνες	23.10%	19.80%	28.60%	22.00%
Ολικά λιπαρά	3.48%	2.50%	6.50%	3.50%
Κνυτταρίνες	4.02%	1.80%	5.40%	4.50%
Τέφρα	7.75%	5.25%	8.25%	7.50%
Υδατάνθρακες (NFE)	50.94%	-	-	50.50%

Η τοποθέτηση της τροφής γινόταν όπως προαναφέρθηκε στους κοίλους χώρους της μεταλλικής οροφής των κλωβών έτσι ώστε να αποφεύγεται η ρύπανσή της από τα απορρίματα των πειραματοζώων.

Χορήγηση Νερού

Το νερό το οποίο χορηγείτο στα ζώα προερχόταν από το δίκτυο ύδρευσης και ανανεωνόταν καθημερινά. Ήταν τοποθετημένο σε πλαστικές φιάλες του μισού λίτρου που η καθεμία έκλεινε με ένα ελαστικό πώμα με λεπτό μεταλλικό σωλήνα. Ο

σωλήνας αυτός ήταν στενός στο ένα άκρο έτσι ώστε να μην ρέει το νερό, παρά μόνο όταν ακουμπούσε το ζώο. Οι εν λόγω φιάλες ήταν σκληρές έτσι ώστε να μην υπάρχει απώλεια ύδατος κατά την τοποθέτηση και την απομάκρυνσή τους από τους κλωβούς.

Αιμοληψίες των ζώων

Πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες στα πειραματόζωα στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας και σε διάστημα 8 εβδομάδων μετά την έναρξή της, οπότε και τα ζώα ευθανατώθηκαν. Αναλυτικά οι μύες υποβάλλονταν σε μικρής διάρκειας αναισθητοποίηση, με την τοποθέτησή τους σε υάλινη φιάλη, η οποία περιείχε βαμβάκι εμποτισμένο με αιθέρα. Η ελαφρά αναισθητοποίηση των ζώων διατηρούνταν με περιοδική τοποθέτηση προσωπίδων με αιθέρα στα πειραματόζωα. Πριν από την αιμοληψία προηγούνταν 12ωρη νηστεία των πειραματοζώων.

Παρακέντηση αγγείων οφθαλμικού κόγχου

Μία ηπαρινισμένη πιπέτα Pasteur τοποθετούνταν στον έξω κανθό του οφθαλμού και προωθούνταν ήπια προς τα αγγεία του μέχρι να αιμορραγήσουν. Το αίμα στη συνέχεια αναρροφούνταν στον τριχοειδικό σωλήνα και έπειτα μεταφέρονταν σε φιαλίδιο erpendorf με σκοπό την συλλογή του ορού ή σε φιαλίδιο με αντιπηκτικό ηπαρίνη, για την συλλογή πλάσματος. Μια ποσότητα ίση περίπου με 200 μl συλλέγονταν από κάθε πειραματόζωο στην έναρξη του πειράματος, ενώ μεγαλύτερη ποσότητα (400-500 μl) συλλέχθηκε από τα ζώα στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας και πριν την ευθανασία των ζώων. Κατά την ευθανασία των ζώων, η λήψη του αίματος έγινε πέρα από τα τριχοειδή αγγεία του έξω κανθού, και έπειτα από

καρδιακή παρακέντηση με την χρήση σύριγγας με βελόνα 23G-25G (Hoff 2000; McClure 1999; Ness 1999; Lucas et al., 2004).

Τα δείγματα ορού που συλλέγονταν από κάθε ζώο, φυγοκεντρήθηκαν σε θερμοκρασία 4° C στις 3500 στροφές / λεπτό για 10 λεπτά, και είτε τοποθετούνταν σε φιαλίδια erpendorf και φυλάσσονταν στους -80°C για αναλύσεις σε επόμενο χρόνο, είτε χρησιμοποιήθηκαν αμέσως για τον προσδιορισμό βιοχημικών παραμέτρων .και

Η ευθανασία των πειραματοζώων πραγματοποιήθηκε 8 εβδομάδες μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας.

Προσδιορισμός γλυκόζης

Η γλυκόζη στα δείγματα αίματος προσδιορίστηκε με την ενζυμική μέθοδο Οξειδάση της Γλυκόζης (GOT-PAP), ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε βιοχημικό αναλυτή TECHNICON RA-XT.

Αρχή της μεθόδου

Η οξειδάση της γλυκόζης μετατρέπει τη γλυκόζη του δείγματος σε γλυκονικό οξύ και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγεται στην αντίδραση, αντιδρά υπό την παρουσία της υπεροξειδάσης με 4-υδρόξυβενζοϊκό οξύ (HBA) και 4-αμινοαντιπυρίνη (4-AAP) σχηματίζοντας μια ερυθρή χρωστική κινονιμίνη. Η ένταση του χρώματος που σχηματίζεται μετράται με την χρήση αντιδραστήριου δείκτη Trinder στα 505 nm. Η αύξηση στην απορρόφηση είναι ανάλογη με την συγκέντρωση γλυκόζης στο δείγμα.

Προσδιορισμός λιπιδαιμικού προφίλ

Ολική χοληστερόλη

Η ολική χοληστερόλη στα δείγματα προσδιορίστηκε με την ενζυμική μέθοδο Οξειδάση της χοληστερόλης (CHOD/PAP) ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σεβιοχημικό αναλυτή TECHNICON RA-XT.

Αρχή της μεθόδου

Η χοληστερόλη προσδιορίζεται έπειτα από την ενζυμική υδρόλυση και οξείδωση. Ο δείκτης κινονιμίνης (quinoneimine) σχηματίζεται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου και την 4-αμινοαντιπυρίνη παρουσία φαινόλης και υπεροξειδάσης.

HDL χοληστερόλη

Η HDL χοληστερόλη στα δείγματα προσδιορίστηκε με την άμεση, χωρίς κατακρήμνιση (Direct) μέθοδο ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε βιοχημικό αναλυτή TECHNICON RA-XT.

Αρχή της μεθόδου

Η δοκιμή της HDL χοληστερόλης είναι μια ομοιογενής μέθοδος για άμεση μέτρηση των επιπέδων HDL χοληστερόλης, χωρίς να υπάρχει ανάγκη για κάποια βήματα φυγοκέντρησης ή άλλης προετοιμασίας. Περιλαμβάνει δυο αντιδραστήρια. Το πρώτο περιέχει ένα μείγμα πολυμερών και πολυανιόντων που προσκολλώνται στην επιφάνεια των LDL, VLDL, και των χυλομικρών. Οι σύνθετες αυτές λιποπρωτεΐνες παραμένουν σταθερές ακόμα και παρουσία του διαλυτικού-καθαριστικού το οποίο περιέχεται στο δεύτερο αντιδραστήριο μαζί με τα υπόλοιπα συστατικά του αντιδραστηρίου χοληστερόλης. Από την άλλη, τα μόρια HDL δεν σταθεροποιούνται από τα πολυμερή και τα πολυανιόντα και διαλύονται από την προσθήκη του καθαριστικού. Συνεπώς μόνο η HDL χοληστερόλη υπόκειται σε μέτρηση.

Τριγλυκερίδια

Τα τριγλυκερίδια στα δείγματα προσδιορίστηκαν με την ενζυμική μέθοδο Οξειδάση της φωσφορικής γλυκερόλης (GPO/PAP), ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε βιοχημικό αναλυτή TECHNICON RA-XT.

Αρχή της μεθόδου

Τα τριγλυκερίδια υδρολύονται από την λιποπρωτεϊνική λιπάση και η ελευθερούμενη γλυκερόλη μετασχηματίζεται σε 3-φωσφορική γλυκερόλη από την κινάση της γλυκερόλης με την αντίδρασή της με τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP). Η 3-φωσφορική γλυκερόλη θα οξειδωθεί από την οξειδάση της 3-φωσφορικής γλυκερόλης με σχηματισμό φωσφορικής διϋδρόξυ-ακετόνης (DAP) και υπεροξειδίων του υδρογόνου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κάτω από την καταλυτική επίδραση της υπεροξειδάσης, την οξειδωτική ένωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου με 4-αμινοαντιπυρίνη (4-AAP) και σουλφονικό 3,5-διγλωρο-2-υδροξυβενζόλιο (DHBS) και την δημιουργία ερυθρού χρώματος (χρωστική κινονιμίνης) με μέγιστη απορρόφηση στα 505 nm. Ο οπτική πυκνότητα είναι ανάλογη της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων και ελεύθερης γλυκερόλης στο δείγμα.

LDL- χοληστερόλη

Η LDL χοληστερόλη υπολογίστηκε με τον τύπο Friedewald (Friedewald et al.,1972):

$LDL\ Cholesterol = Total\ Cholesterol - (HDL\ Cholesterol + TG/5)$

Τα Υλικά

30 Ενήλικες Αρουραίοι Sprague-Dawley

STZ

Κιτρικό νάτριο, pH 5.5

Υδατικό διάλυμα 10% σακχαρόζης

Ζυγαριά ακριβείας

Δοκιμαστικός σωλήνας

Αλουμινόχαρτο

1-ml TB ή σύριγγες ινσουλίνης με 26- έως 28-G βελόνες

Κλουβιά με συμπαγή δάπεδα και μαλακό κρεβάτι

1. Στέρηση από τους ενήλικους αρουραίους της τροφής και του διαλύματος φρουκτόζης 10% 4-6 ώρες πριν από την επαγωγή της STZ.

2. Ζυγίζουμε όλα τα ζώα χρησιμοποιώντας μια ζυγαριά ακριβείας.

3. Ακριβώς πριν από την χρήση (δηλαδή μέσα σε 15 έως 20 λεπτά), παρασκευάζεται το διάλυμα STZ ως εξής:

α. Ρίχνουμε το περιεχόμενο ενός μετρημένου σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης του STZ σε ένα αποστειρωμένο κωνικό δοκιμαστικό σωλήνα καλυμμένο με αλουμινόχαρτο και τα οποία περιέχουν επαρκή ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού νατρίου, pH 5.5, για να δώσει 50 mg / ml διάλυμα.

β. Ανακατεύουμε μέχρι η STZ να διαλυθεί πλήρως.

γ. Φυλάσσεται προστατευμένη από το φως για όχι περισσότερο από 15 έως 20 λεπτά.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η STZ είναι κυτταροτοξική σε ανθρώπους και ζώα. Η παρασκευή του διαλύματος αυτού θα πρέπει να πραγματοποιείται σε μια τάξη II βιοασφάλειας /απορροφητήρα που έχει πιστοποιηθεί για την προετοιμασία κυτταροτοξικών υλικών. Η προετοιμασία και η ένεση στις περιοχές θα πρέπει να καλύπτονται με αναλώσιμα απορροφητικά καλύμματα. Τα άτομα που χειρίζονται αυτά τα υλικά θα πρέπει να ακολουθούν τις συνήθειες προφυλάξεις και να φορέσουν μια εργαστηριακή ποδιά, μάσκα, και γάντια .

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η STZ διασπάται ταχέως σε ρυθμιστικό κιτρικό νάτριο και είναι ευαίσθητη στο φως.

4. Τραβήξτε τα 50 mg / ml διαλύματος STZ σε 1 ml, TB ή σύριγγα ινσουλίνης με 26- έως 28-Gβελόνα έτσι ώστε η τελική δοσολογία να είναι 45 mg / kg αρουραίου. Αμέσως υποδόρια ένεση. Επαναλαμβάνουμε για κάθε ζώο στην πειραματική ομάδα.

Κάνουμε την ένεση του αρουραίου αμέσως μετά την πλήρωση της σύριγγας για να ελαχιστοποιηθεί η έκθεση της σύριγγας στο φως.

5. Τοποθετούμε τους επίμυες στους οποίους έχει γίνει η χορήγηση STZ σε κλουβιά με συμπαγή δάπεδα και μαλακό κρεβάτι.

6. Προμηθεύουμε τους επίμυες με υδατικό διάλυμα σακχαρόζης 10% ως μόνη πηγή νερού για 48 ώρες μετά την χορήγηση STZ.

Το υδατικό διάλυμα σακχαρόζης 10% προστατεύει τους επίμυες από υπογλυκαιμίες μετά τη λύση των παγκρεατικών κυττάρων νησιδίων με STZ.

7. Μέτρηση των σωματικών βαρών και των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα σε 72 ώρες μετά την χορήγηση STZ και ακολούθως σε 1 εβδομάδα για να προσδιοριστεί η έναρξη και συνέχιση της παρουσίας της διαβητικής υπεργλυκαιμίας.

Φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα των επίμυων 60-100 mg / dl. Διαβητική υπεργλυκαιμία ορίζεται ως μη νηστείας συγκέντρωση γλυκόζης στο πλάσμα > 250 mg / dl. Τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα στους επίμυες με χορήγηση STZ θα είναι μεταξύ 300 και 550 mg/ dl.

Μέτρηση επιπέδων γλυκόζης αίματος με γλυκοζόμετρο

Τα Υλικά

Επίμυες με περιραματική πρόκληση διαβήτη και control επίμυες.

Γλυκόμετρο και οι ταινίες μέτρησης (η LifeScan OneTouch Ultra μετρητής γλυκόζης αίματος)

Βελόνες (OneTouch Ultra microlancets)

1. Τοποθετήστε ταινία μέτρησης στογλυκόμετρο .
2. Συγκράτηση του αρουραίου με τύλιγμα σε μια μαλακή πετσέτα, αφήνοντας περίπου 3 έως 5 cm στο άκρο της ουράς να εκτίθενται για τη συλλογή του αίματος.
3. Με μία αποστειρομένη βελόνα τρυπάμε την άκρη τηςουράς του επίμυ.

Μια μικρή σταγόνα αίματος θα πρέπει να εμφανίζεται στην επιφάνεια του δέρματος.

4. Αγγίζουμε το αίμα στην ταινία μέτρησης του γλυκομέτρου .
6. Περιμένουμε το γλυμόμετρο να αναλύσει το δείγμα αίματος (περίπου 5 δευτερόλεπτα) και καταγράφουμε την τιμή ο γλυκόζης στο πλάσμα σε mg/dl.

Αντιδραστήρια και διαλύματα

Χρησιμοποιούμε απιονισμένο, απεσταγμένο νερό σε όλες τις συνταγές και τα βήματα του πρωτοκόλλου.

Ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού νατρίου, pH 5.5

Διαλύουμε 210,14 mg ένυδρο κιτρικό οξύ ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$,.. Μοριακού βάρους 210,14, Sigma) σε 100 ml απεσταγμένου νερού για να γίνει ένα διάλυμα 10 mM κιτρικού οξέος. Διαλύονται 294,10 mg διένυδρου κιτρικού τρινατρίου ($C_8H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$,. Μοριακό βάρος 294,12,. Sigma) σε 100 ml απεσταγμένου ύδατος για να κάνει μια 10 mM διαλύματος κιτρικού νατρίου. Προσθέτουμε το διάλυμα κιτρικού οξέος στο διάλυμα κιτρικού νατρίου μέχρις ότου το pH να είναι 5,5, όπως παρακολουθείται από όργανο μέτρησης του pH

Το προετοιμάζουμε φρέσκο πριν από το πείραμα.

STZ

Υπολογίζουμε το ποσό της στρεπτοζοτοκίνης (STZ, Sigma) που απαιτείται για όλες τις ενέσεις σε ένα μόνο πείραμα, χρησιμοποιώντας μία τελική δόση των 45 mg / kg / αρουραίο (με βάση το βάρος των ζώων , που μετράται 1 ημέρα πριν από το πείραμα) .Ζυγίζουμε το ποσό της STZ σε έναν μικροφυγόκεντρο σωλήνα (δεν προσθέτουμε ρυθμιστικό). Καλύπτουμε το σωλήνα με αλουμινόχαρτο (STZ είναι ευαίσθητο στο φως) και αποθηκεύουμε σε $-20^{\circ}C$ μέχρι να είναι έτοιμο για χρήση το ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού νατρίου.

Το απόθεμα σκόνης της STZ στο μπουκάλι πρέπει επίσης να αποθηκεύεται σε καταψήκητη $-20^{\circ}C$

Επίπεδα ινσουλίνης ορού και αδιπονεκτίνης. Τα επίπεδα ινσουλίνης ορού και αδιπονεκτίνης προσδιορίστηκαν με ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA) χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα κιτ. (ELISA ινσουλίνης υψηλού βαθμού αρουραίου, ALPCO (26-G Keewaydin Drive, Salem, NH, Η.Π.Α.) Kit ELISA αρουραίου ADP / Acrp30 (Adiponectin) ELISA Elabscience Biotechnology, Co., Ltd. (Wuhan, China).

Ιστοπαθολογική εξέταση. Μετά την ευθανασία, το ήπαρ σταθεροποιήθηκε αμέσως σε φορμαλίνη 10% σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Οι ιστοί στη συνέχεια ενσωματώθηκαν σε παραφίνη, διαχωρίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε γυάλινες μικροσκοπικές πλάκες. Τα τμήματα χρωματίστηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη και εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας μικροσκοπία φωτός από δύο ανεξάρτητους ερευνητές.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ:

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με την χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσες τιμές \pm τυπική απόκλιση (standard deviation - SD). Η κανονικότητα των κατανομών ελέγχθηκε με τη δοκιμή Shapiro wilk και με τον έλεγχο των γραφημάτων. Για τις συγκρίσεις των ομάδων ανά χρονική στιγμή, τα δεδομένα που ακολουθούσαν κανονική κατανομή αναλύθηκαν με την μέθοδο διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (One Way ANOVA). Η διόρθωση bonferroni χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό επιμέρους διαφορών. Για τα δεδομένα που δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή, οι συγκρίσεις έγιναν με την μέθοδο Kruskal-Wallis test, και ακολουθήθηκε όπου ήταν επιτρεπτό Mann-Whitney U test. Για τις συγκρίσεις των ίδιων ομάδων ζώων μέσα στον χρόνο χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμές paired t test και Wilcoxon test για τα δεδομένα με κανονική και μή κατανομή αντίστοιχα. Η στατιστική σημαντικότητα καθορίστηκε στο $p < 0.05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων κατά τις βασικές μετρήσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα Ι. Στο τέλος της μελέτης (t_4), τα επίπεδα σωματικού βάρους παρέμειναν αυξημένα σε ζώα μάρτυρες σε σύγκριση με τις ομάδες STZ και STZ-saffron ($P < 0,005$, σε κάθε περίπτωση). Η εργαστηριακή ανάλυση αποκάλυψε υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης στον ορό, στην ομάδα STZ σε σύγκριση με τις δύο άλλες ομάδες μελέτης ($P < 0.005$ σε όλες τις περιπτώσεις). Η ομάδα STZ είχε αυξημένα επίπεδα ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων σε ορό σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0,05$ για τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης ορού και τριγλυκεριδίων) (Πίνακας Ι). Όσον αφορά την ομάδα που έλαβε *Crocus sativus* (STZ-σαφράν), παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκρίσεις μεταξύ όλων των χρονικών σημείων εκτός του t_2 έναντι του t_3 . Στην ομάδα αυτή, τα ζώα εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα σωματικού βάρους από την αρχική τιμή σε t_1 , ενώ τα επίπεδα αυτά μειώθηκαν σταδιακά από το t_1 μέχρι το τέλος της μελέτης. Τα επίπεδα γλυκόζης στον ορό στην ομάδα STZ-σαφράν αυξήθηκαν σε t_2 σε σύγκριση τόσο με τα αρχικά όσο και με τα επίπεδα t_1 , ενώ αυτά τα επίπεδα ήταν χαμηλότερα σε t_3 και t_4 σε σύγκριση με το t_2 (Σχήμα 1). Τα επίπεδα t_1 και t_2 ολικής ολικής χοληστερόλης ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με τις βασικές τιμές. Στο τέλος της μελέτης, τα επίπεδα της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης ήταν σημαντικά χαμηλότερα στο STZ-σαφράν από την ομάδα STZ ($P < 0.001$, Εικόνα 2) Μετρήσεις ινσουλίνης και αδιπνονεκτίνης στον ορό. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές για τα επίπεδα ινσουλίνης και αδιπνονεκτίνης στις ομάδες STZ και STZ-σαφράν μεταξύ διαφορετικών μετρήσεων κατά τη διάρκεια του χρόνου (Πίνακας Ι).

Ιστοπαθολογία του ήπατος. Τα δείγματα ήπατος με αιματοξυλίνη-ηωσίνη που ελήφθησαν από την ομάδα STZ αποκάλυψαν στατιστικά σημαντικό υψηλότερο αριθμό περιπτώσεων (5-33%) με σημεία στεάτωσης σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου και STZ-σαφράν, όπου δεν παρατηρήθηκε στεάτωση ($P < 0,005$). Όσον αφορά την παρουσία ορατών υαλίνων, βακτηριδιακών ιστών Mallory, που ελήφθησαν από ομάδα STZ, παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου και STZ-σαφράν ($P < 0.005$ και στις δύο περιπτώσεις, Σχήμα 3).

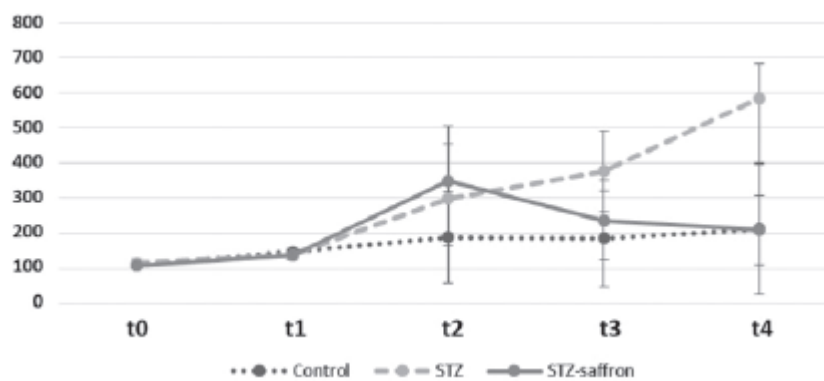
Πίνακας I. Επίπεδα ορού λιπιδαιμικού, γλυκαιμικού και μεταβολικού προφίλ σε όλο το πείραμα που εκφράζεται ως μέση τιμή (SD).

	t0	t1	t2	t3	t4
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
Weight (g)					
Control	218 (6)	362 (22)	371 (30) ^b	409 (56) ^d	423 (76) ⁱ
STZ	218 (5)	364 (25)	330 (30)	338 (26)	307 (33)
STZ-saffron	221 (3)	367 (12)	330 (19)	333 (16)	300 (24)
Glucose(mg/dl)					
Control	110 (11)	148 (10)	189 (129) ^e	187 (136) ^e	213 (185)
STZ	115 (10)	139 (11)	299 (134)	378 (118)	584 (184) ^j
STZ-saffron	110 (12)	139 (15)	350 (155)	237 (113) ^f	209 (99)
Cholesterol (mg/d)					
Control	107 (20)	77 (7)	72 (8)	72 (19) ^g	74 (15)
STZ	107 (13)	74 (10)	75 (9)	89 (9)	93 (14) ^h
STZ-saffron	109 (23)	74 (8)	73 (9)	86 (18)	87 (17)
HDL (mg/dl)					
Control	69 (6)	68 (6)	69 (7)	69 (7)	71 (5)
STZ	68 (3)	68 (3)	68 (3)	68 (3)	67 (3)
STZ-saffron	68 (5)	68 (5)	68 (6)	69 (5)	67 (5)
Triglycerides (mg/dl)					
Control	104 (21)	87 (27)	92 (97)	80 (18) ^h	110 (40)
STZ	104 (230)	96 (22)	89 (42)	129 (52)	1,55 ⁱ (52)
STZ-saffron	87 (25)	114 (11) ^a	89 (37)	125 (54)	130 (47)
Insulin (ng/dl)					
Control	1.8 (0.4)	1.8 (0.2)	2.2 (0.7)	2 (0.2)	2.6 (0.8)
STZ	2 (0.4)	1.8 (0.2)	2 (0.3)	2 (0.3)	2.4 (0.9)
STZ-saffron	1.9 (0.3)	2.1 (0.3) ^a	1.9 (0.2)	2.4 (0.5)	2.3 (0.7)
Adiponectin (ng/dl)					
Control	2.4 (1.5)	2.9 (2.5)	4.2 (3.2)		4.5 (2)
STZ	1.6 (1.1)	5.7 (2)	1.4 (0.2)		12.5 (13)
STZ-saffron	2.3 (1.8)	1.5 (1)	1.5 (0.7)		5.6 (5.6)

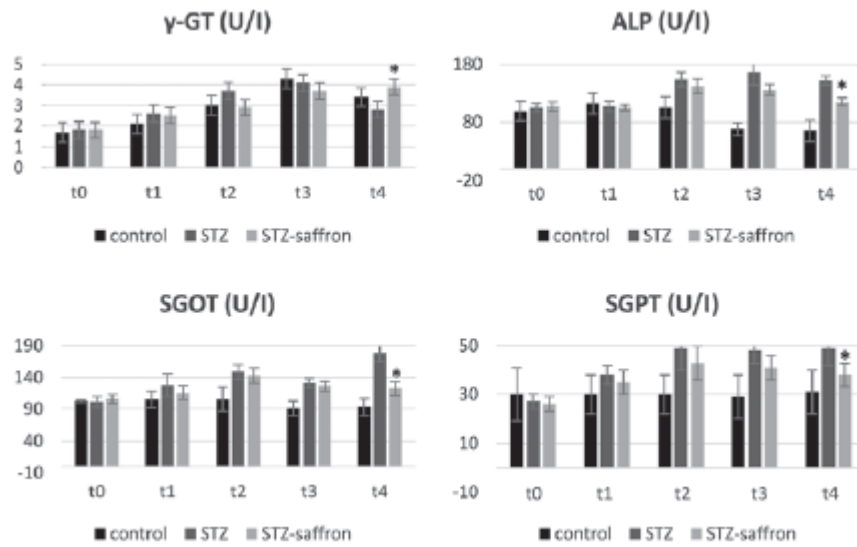
^aSTZ-saffron group vs. STZ group and STZ-saffron group vs. control, P<0.05; ^{b-e}Control group vs. STZ-saffron group and control group vs. STZ group, P<0.05; ^fSTZ-saffron group vs. STZ group, P<0.05; ^gSTZ group vs. control group and STZ group vs. STZ-saffron group, P<0.05; ^hSTZ group vs. control group, P<0.05. SD, standard deviation; STZ, streptozotocin.

Γλυκόζη

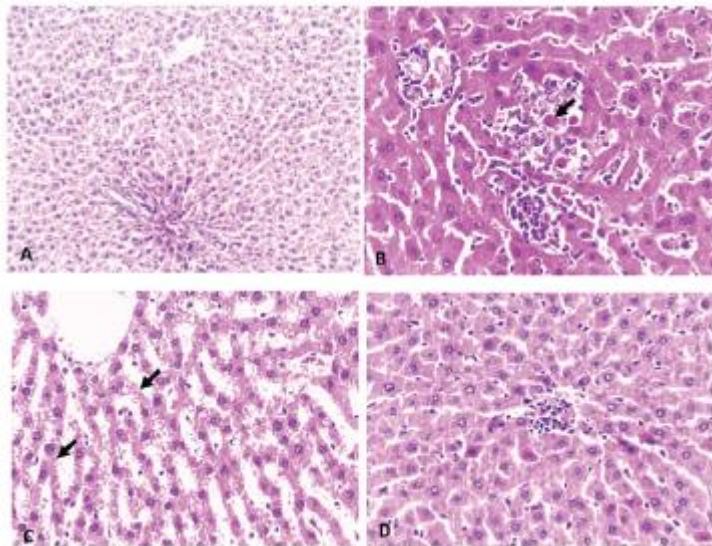
(mg/dl)



Σχήμα 1. Μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης στον ορό καθ 'όλη τη διάρκεια της μελέτης μεταξύ των ομάδων. STZ, στρεπτοζοτοσίνη.



Σχήμα 2. Επίδραση του σαφράν στα αποτελέσματα των δοκιμών της ηπατικής λειτουργίας. * Ομάδα STZ-σαφράν έναντι ομάδας STZ ($P < 0,001$). Γ-GT, γ-γλουταμυλο τρανσπεπτιδάση, ALP, αλκαλική φωσφατάση. SGOT, τρανσαμινάση ολικού γλουταμινικού οξαλοξικού ορού. SGPT, πυροσταφυλική τρανσαμινάση.



Σχήμα 3. Χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης (H & E) ηπατικού ιστού. (Α) Ομάδα ελέγχου. Την κανονική ιστολογική εμφάνιση του ήπατος στους αρουραίους ελέγχου. Μεγέθυνση H & E, x40, (Β) ομάδα STZ; Ενδοκυττάρια μονοπυρηνικές φλεγμονώδεις διηθήσεις και σωματίδια Mallory (βέλος) λόγω εκφυλισμού των ηπατοκυττάρων των διαβητικών αρουραίων. Μεγέθυνση H & E, x120, (C) ομάδα STZ; Διάχυτες μικροδιηθήσεις εκφυλισμού ηπατοκυττάρων (βέλος) σε διαβητικούς αρουραίους. Μεγέθυνση H & E, x 120, (Δ) ομάδα STZ-σαφράν, Ήπια μονοπυρηνική φλεγμονώδη συσσωμάτωση σε αρουραίους ομάδας σαφράν. Μεγέθυνση H & E, x120.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ:

Ο Κρόκος Κοζάνης είναι ένα φυτικό διατροφικό προϊόν, που έχει τεθεί επί του παρόντος στο προσκήνιο για τα υπογλυκαιμικά, αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη του αποτελέσματα (325). Παρά το γεγονός ότι η υπόθεση για τη μείωση της γλυκόζης του σαφράν είχε αρχικά δημοσιευθεί το 1998, οι πρώτες αναφορές για το ρόλο του σαφράν ειδικά για το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και τις εκδηλώσεις του έχουν χρονολογηθεί την τελευταία δεκαετία (326, 327). Τα αποτελέσματά μας, υποδηλώνουν ότι το σαφράν δεν ασκεί μόνο αντιδιαβητικές δράσεις, αλλά προστατεύει επίσης την ηπατική βλάβη που προκαλείται από το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, τόσο από πλευράς ηπατικής ιστολογίας όσο και από ηπατική λειτουργία. Η πρόκληση του διαβήτη επιτεύχθηκε με προσέγγιση δύο όψεων. Αφενός, τα ζώα έλαβαν από του στόματος φρουκτόζη μέσω πόσιμου νερού και από την άλλη έλαβαν ενδοπεριτοναϊκή ένεση STZ. Αυτό το συνδυασμένο μοντέλο χορήγησης χαμηλής δόσης STZ και φρουκτόζης προσομοιάζει καλύτερα το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 από ότι ένα μοντέλο υψηλής δόσης STZ, το οποίο μοιάζει περισσότερο με το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 (328). Μόνο η φρουκτόζη, δεν θα επιτύχει τα επιθυμητά επίπεδα υπεργλυκαιμίας. Θα πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι το STZ συσχετίζεται με την απώλεια βάρους σε αρουραίους, σε αντίθεση με την αύξηση βάρους στην ομάδα ελέγχου (329).

Όσον αφορά την πρόκληση της NAFLD, η STZ είναι, μεταξύ άλλων, κατάλληλος υποψήφιος για την επίτευξη ενός μοντέλου ηπατικής στεάτωσης (330).

Συγκεκριμένα, η STZ προκαλεί υπεργλυκαιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη, γεγονός που οδηγεί τελικά σε αυξημένη απόθεση λίπους στον ιστό του ήπατος (331). Εκτός από τη δράση της STZ, η συμπλήρωση της φρουκτόζης μπορεί να προάγει το οξειδωτικό στρες μέσω αυξημένης εντερικής μετατόπισης βακτηριακής ενδοτοξίνης, η οποία οδηγεί στην έκκριση ενδοτοξίνης στο πυλαίο αίμα και στη συνέχεια προκαλεί την ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer στο ήπαρ (332). Στη μελέτη μας προσεγγίσαμε την ισχυρή επίδραση του σαφράν στο μεταβολισμό της γλυκόζης σε δύο διαστάσεις. Ο διαβήτης *per se* και η NAFLD ως παράπλευρη εκδήλωση. Στην πρώτη περίπτωση, η επίδραση του *Crocus sativus* στην ευαισθησία ιστού στην ινσουλίνη είναι καλά τεκμηριωμένη. Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα με τα υπάρχοντα στοιχεία της βιβλιογραφίας (333-335). Η μείωση των επιπέδων γλυκόζης στην ομάδα STZ-Κρόκου Κοζάνης ήταν εξαιρετικά σημαντική, με αποτέλεσμα επίπεδα γλυκόζης παρόμοια με εκείνα της ομάδας ελέγχου στο τέλος του πειράματος. Παρόλο που η κροκίνη και η κροκετίνη - δύο από τις κύριες ενώσεις του σαφράν - έχουν μελετηθεί εκτεταμένα σχετικά με την υπογλυκαιμική τους δραστηριότητα, η μελέτη μας δείχνει ότι αυτές οι ουσίες διατηρούν αυτές τις ιδιότητες ακόμη και όταν δεν χορηγούνται χωριστά (185, 336). Η σταθερή επίδραση μείωσης της γλυκόζης του σαφράν είναι ενδεικτική μιας συνεργιστικής δράσης των εκχυλισμάτων του, κοινό στα βότανα (337). Με βάση το γεγονός ότι τα επίπεδα ινσουλίνης δεν αυξήθηκαν στην ομάδα STZ-Κρόκου Κοζάνης, υποδεικνύουν μάλλον ότι η επίδραση του σαφράν οφείλεται στην ικανότητά του να αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Εκτός από τις παρατηρήσεις σχετικά με την ενίσχυση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, το 2012, ένας πιθανός μηχανισμός για την καθαρή επίδραση του σαφράν σε αυτή τη συγκεκριμένη κατεύθυνση προτάθηκε από τους Kang et al (338). Συγκεκριμένα, μελέτησαν το μεταβολισμό της γλυκόζης των διαφοροποιημένων κυττάρων

σκελετικών μυών C2C12 και πρότειναν ότι η βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη επιτεύχθηκε τόσο μέσω ανεξάρτητης από την ινσουλίνη οδού (ενεργοποίηση της οδού AMPK / ACC και MAPKs) όσο και από μία εξαρτώμενη από την ινσουλίνη (PI3-κινάση / Akt και mTOR) (338). Επιπρόσθετα στις ιδιότητες αύξησης της αντοχής στην ινσουλίνη του σαφράν, οι Rajaei et al υποστήριξαν ότι η κοκρετίνη ρυθμίζει την έκκριση ινσουλίνης από τα παγκρεατικά β-κύτταρα χάρη στην αντιοξειδωτική του δράση η οποία οδήγησε σε μείωση των επιπέδων ROS εστιακά στα κύτταρα Langerhan). Ο ρόλος του Κρόκου Κοζάνης στην NAFLD, μπορεί να δικαιολογηθεί μέσω της δράσης μείωσης της γλυκόζης και των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του. Τα χαμηλά επίπεδα γλυκόζης συσχετίζονται με αρνητική ανατροφοδότηση στη δραστηριότητα των SREBP-1c και ChREBP, εμποδίζοντας έτσι την λιπογένεση (339, 340). Επιπλέον, τα αποδεδειγμένα αντιοξειδωτικά αποτελέσματα του σαφράν συμβάλλουν στη μείωση του εστιακού οξειδωτικού στρες στον ηπατικό ιστό, ως αποτέλεσμα του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2, μειώνοντας έτσι την πρόοδο της NAFLD (333). Το γεγονός ότι παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης στον ορό και η ύφεση του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 είναι υπέρ ενός μηχανισμού δράσης εξαρτώμενου από τη γλυκόζη του σαφράν στην NAFLD. Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του υποδηλώνουν ταυτόχρονη ανεξάρτητη από τη γλυκόζη οδό (332). Πρέπει ακόμη να διερευνηθεί ποιος από τους δύο αυτούς μηχανισμούς είναι πιο αποτελεσματικός και εμφανής στην περίπτωση του NAFLD και κατά πόσον ενεργούν συνεργιστικά ή παρεμβαίνουν σε ορισμένες διασυνδέσεις. Όσον αφορά τα σχετικά μειωμένα ηπατικά ένζυμα στα ζώα του STZ-κρόκου (Σχήμα 2), μπορεί να υποτεθεί ότι ο κρόκος ασκεί προστατευτική δράση κατά της τοξικότητας STZ και / ή της προκαλούμενης από διαβήτη ηπατικής στεάτωσης.

Όταν λαμβάνεται υπόψη η επίπτωση του σαφράν στον Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και στην NAFLD, είναι προφανές ότι παρουσιάζει ένα πρότυπο παρόμοιο με αυτό των παραγόντων ευαισθητοποίησης της ινσουλίνης όπως οι αγωνιστές $\text{ppar-}\gamma$. Τα φάρμακα αυτής της κατηγορίας, χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 και έχουν διερευνηθεί στη θεραπεία της NAFLD σε ασθενείς με και χωρίς διαβήτη (341). Είναι θέμα μελέτης αν η συμβολή του $\text{ppar-}\gamma$ έχει ένα ξεχωριστό ρόλο στις ωφέλιμες ιδιότητες του σαφράν. Ο ρόλος της ινσουλίνης στο Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 και στον μηχανισμό δράσης του σαφράν είναι καλά περιγραφόμενος (338, 342). Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα στοιχείων που δείχνουν ότι υπάρχει σταθερός συσχετισμός μεταξύ σαφράν και αντοχής στην ινσουλίνη (334, 343). Αν και, εντυπωσιακή μείωση των επιπέδων γλυκόζης σημειώθηκε, δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη μείωση των επιπέδων ινσουλίνης. Θεωρείται ότι η αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη είναι ο καθοριστικός παράγοντας. Η μελέτη μας, παρά την καινοτομία της, έχει ορισμένους περιορισμούς. Μικρός αριθμός ζώων και χορήγηση σαφράν μέσω ύδατος που δεν επιτρέπει τον προσδιορισμό της φαρμακοκινητικής και του μεταβολισμού της. Τα διαθέσιμα δεδομένα, σχετικά με την υπογλυκαιμική επίδραση του σαφράν είναι ελπιδοφόρα, όμως η πιο προτιμητέα δόση παραμένει ζήτημα συζήτησης. Υπάρχει μια διακύμανση στη δοσολογία που προτιμάται σε διαφορετικά πειράματα σε ζώα που κυμαίνονται από 20 έως 100 mg / kg (344). Κατά συνέπεια, διασαφήνιση της ακριβούς δοσολογίας του σαφράν ή των συστατικών του, προκειμένου να επιτευχθεί ο υψηλότερος θεραπευτικός δείκτης και αποτελεσματικότητα.

Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα υποδεικνύουν σαφώς ότι η χορήγηση σαφράν προστατεύει το ήπαρ από τις τοξικές επιδράσεις του διεγερόμενου από STZ διαβήτη.

Προς το παρόν, μπορεί να εκφραστεί μόνο μια υπόθεση σχετικά με τον ακριβή μηχανισμό της δράσης του σαφράν στο λιπώδες ήπαρ. Ως εκ τούτου, οι αρχικές παρατηρήσεις που περιγράφονται σε αυτό το έγγραφο φαίνεται να είναι πολύ σημαντικές όσον αφορά τις πιθανές θεραπευτικές επιδράσεις του κρόκου στον ανθρώπινο διαβήτη με ή χωρίς λιπώδη ηπατική νόσο. Παρόλα αυτά, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να διασαφηνιστεί η παραπάνω υπόθεση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ :

1. Marathe PH, Gao HX and Close KL: American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *Journal of diabetes* 9: 320-324, 2017.
2. Mealey BL and Oates TW: Diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of periodontology* 77: 1289-1303, 2006.
3. Craig WJ and Mangels AR: Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. *Journal of the American Dietetic Association* 109: 1266-1282, 2009.
4. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al.: Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centred approach. Update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia* 58: 429-442, 2015.
5. Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία Α, 2013.
6. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al.: Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes care* 35: 1364-1379, 2012.
7. Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA and Cardoso CR: Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 29: 113-119, 2009.

8. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al.: Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes care* 30: 1212-1218, 2007.
9. Leite NC, Villela-Nogueira CA, Pannain VL, et al.: Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 31: 700-706, 2011.
10. Prashanth M, Ganesh HK, Vima MV, et al.: Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of the Association of Physicians of India* 57: 205-210, 2009.
11. Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, Boparai N and McCullough AJ: Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2: 262-265, 2004.
12. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD and Angulo P: The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *Journal of hepatology* 42: 132-138, 2005.
13. Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, et al.: Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 44: 865-873, 2006.
14. Porepa L, Ray JG, Sanchez-Romeu P and Booth GL: Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 182: E526-531, 2010.

15. Willner IR, Waters B, Patil SR, Reuben A, Morelli J and Riely CA: Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *The American journal of gastroenterology* 96: 2957-2961, 2001.
16. Musso G, Gambino R, Cassader M and Pagano G: Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Annals of medicine* 43: 617-649, 2011.
17. Amarapurka DN, Amarapurkar AD, Patel ND, et al.: Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) with diabetes: predictors of liver fibrosis. *Annals of hepatology* 5: 30-33, 2006.
18. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB and Oh BJ: Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic proceedings* 55: 434-438, 1980.
19. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC and McCullough AJ: Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 116: 1413-1419, 1999.
20. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA and Bacon BR: Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *The American journal of gastroenterology* 94: 2467-2474, 1999.
21. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al.: Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 41: 1313-1321, 2005.
22. Angulo P: Nonalcoholic fatty liver disease. *The New England journal of medicine* 346: 1221-1231, 2002.
23. Bellentani S, Saccoccio G, Costa G, et al.: Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut* 41: 845-850, 1997.

24. Farrell GC, Chitturi S, Lau GK and Sollano JD: Guidelines for the assessment and management of non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: executive summary. *Journal of gastroenterology and hepatology* 22: 775-777, 2007.
25. Farrell GC and Larter CZ: Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 43: S99-s112, 2006.
26. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al.: Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 40: 1387-1395, 2004.
27. Loomba R and Sanyal AJ: The global NAFLD epidemic. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* 10: 686-690, 2013.
28. Fan JG: [An introduction of strategies for the management of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) recommended by Asia Pacific Working Party on NAFLD]. *Zhonghua gan zang bing za zhi = Zhonghua ganzangbing zazhi = Chinese journal of hepatology* 15: 552-553, 2007.
29. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M and Bedogni G: Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 28: 155-161, 2010.
30. Williams CD, Stengel J, Asike MI, et al.: Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 140: 124-131, 2011.
31. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK and Dierkhising RA: Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology* 141: 1249-1253, 2011.

32. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al.: The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 129: 113-121, 2005.
33. Hashimoto E, Yatsuji S, Tobari M, et al.: Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of gastroenterology* 44 Suppl 19: 89-95, 2009.
34. McGill M, Molyneaux L, Twigg SM and Yue DK: The metabolic syndrome in type 1 diabetes: does it exist and does it matter? *Journal of diabetes and its complications* 22: 18-23, 2008.
35. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al.: Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *Journal of hepatology* 53: 713-718, 2010.
36. Lv WS, Sun RX, Gao YY, et al.: Nonalcoholic fatty liver disease and microvascular complications in type 2 diabetes. *World journal of gastroenterology* 19: 3134-3142, 2013.
37. Rafiq N, Bai C, Fang Y, et al.: Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 7: 234-238, 2009.
38. Ratziu V, Bugianesi E, Dixon J, et al.: Histological progression of non-alcoholic fatty liver disease: a critical reassessment based on liver sampling variability. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 26: 821-830, 2007.
39. Boza C, Riquelme A, Ibanez L, et al.: Predictors of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in obese patients undergoing gastric bypass. *Obesity surgery* 15: 1148-1153, 2005.

40. Lima ML, Mourao SC, Diniz MT and Leite VH: Hepatic histopathology of patients with morbid obesity submitted to gastric bypass. *Obesity surgery* 15: 661-669, 2005.
41. Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, et al.: Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *Journal of gastroenterology and hepatology* 19: 854-858, 2004.
42. Kemmer NM XS, Singh H, Murray R, Abdo B.: High prevalence of NASH among Mexican American females with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology* 120 Suppl 1: A117, 2001;.
43. Kotronen A, Juurinen L, Hakkarainen A, et al.: Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. *Diabetes care* 31: 165-169, 2008.
44. Loomba R, Abraham M, Unalp A, et al.: Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 56: 943-951, 2012.
45. Targher G, Chonchol M, Pichiri I and Zoppini G: Risk of cardiovascular disease and chronic kidney disease in diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: just a coincidence? *Journal of endocrinological investigation* 34: 544-551, 2011.
46. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Lippi G, Zoppini G and Chonchol M: Relationship between kidney function and liver histology in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 5: 2166-2171, 2010.

47. Targher G, Chonchol M, Zoppini G, Abaterusso C and Bonora E: Risk of chronic kidney disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease: is there a link? *Journal of hepatology* 54: 1020-1029, 2011.
48. Targher G, Bertolini L, Chonchol M, et al.: Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 53: 1341-1348, 2010.
49. Lee YJ, Shim JY, Moon BS, et al.: The relationship between arterial stiffness and nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases and sciences* 57: 196-203, 2012.
50. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al.: The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 45: 846-854, 2007.
51. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S and Neuschwander-Tetri BA: Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 57: 1441-1447, 2008.
52. Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM and Caldwell SH: Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of hepatology* 51: 371-379, 2009.
53. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, et al.: Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia* 48: 634-642, 2005.
54. Ryysy L, Hakkinen AM, Goto T, et al.: Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 49: 749-758, 2000.

55. Manchanayake J, Chitturi S, Nolan C and Farrell GC: Postprandial hyperinsulinemia is universal in non-diabetic patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology* 26: 510-516, 2011.
56. Speliotes EK, Massaro JM, Hoffmann U, et al.: Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 51: 1979-1987, 2010.
57. Targher G and Byrne CD: Clinical Review: Nonalcoholic fatty liver disease: a novel cardiometabolic risk factor for type 2 diabetes and its complications. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98: 483-495, 2013.
58. Kasturiratne A, Weerasinghe S, Dassanayake AS, et al.: Influence of non-alcoholic fatty liver disease on the development of diabetes mellitus. *Journal of gastroenterology and hepatology* 28: 142-147, 2013.
59. Choi JH, Rhee EJ, Bae JC, et al.: Increased risk of type 2 diabetes in subjects with both elevated liver enzymes and ultrasonographically diagnosed nonalcoholic fatty liver disease: a 4-year longitudinal study. *Archives of medical research* 44: 115-120, 2013.
60. Bae JC, Rhee EJ, Lee WY, et al.: Combined effect of nonalcoholic fatty liver disease and impaired fasting glucose on the development of type 2 diabetes: a 4-year retrospective longitudinal study. *Diabetes care* 34: 727-729, 2011.
61. Cusi K: Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology* 142: 711-725.e716, 2012.
62. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, et al.: Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 55: 1389-1397, 2012.

63. Browning JD and Horton JD: Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *The Journal of clinical investigation* 114: 147-152, 2004.
64. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD and Parks EJ: Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of clinical investigation* 115: 1343-1351, 2005.
65. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K and Nair KS: Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 35: 898-904, 2002.
66. Neuschwander-Tetri BA: Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 52: 774-788, 2010.
67. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al.: Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 120: 1183-1192, 2001.
68. Brenner DA, Seki E, Taura K, et al.: Non-alcoholic steatohepatitis-induced fibrosis: Toll-like receptors, reactive oxygen species and Jun N-terminal kinase. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 41: 683-686, 2011.
69. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, Kuller LH and Kalhan SC: Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 285: E906-916, 2003.

70. Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C and Kountouras J: Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism: clinical and experimental* 60: 313-326, 2011.
71. Leite NC, Salles GF, Cardoso CR and Villela-Nogueira CA: Serum biomarkers in type 2 diabetic patients with non-alcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 43: 508-515, 2013.
72. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A and George J: Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology (Baltimore, Md.)* 40: 46-54, 2004.
73. Musso G, Gambino R and Cassader M: Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Progress in lipid research* 48: 1-26, 2009.
74. Cuoco L, Montalto M, Jorizzo RA, et al.: Eradication of small intestinal bacterial overgrowth and oro-cecal transit in diabetics. *Hepato-gastroenterology* 49: 1582-1586, 2002.
75. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al.: Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature genetics* 40: 1461-1465, 2008.
76. Sookoian S and Pirola CJ: Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 53: 1883-1894, 2011.

77. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF and Hirschhorn JN: PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 52: 904-912, 2010.
78. Al-Serri A, Anstee QM, Valenti L, et al.: The SOD2 C47T polymorphism influences NAFLD fibrosis severity: evidence from case-control and intra-familial allele association studies. *Journal of hepatology* 56: 448-454, 2012.
79. Rubin D, Helwig U, Pfeuffer M, et al.: A common functional exon polymorphism in the microsomal triglyceride transfer protein gene is associated with type 2 diabetes, impaired glucose metabolism and insulin levels. *Journal of human genetics* 51: 567-574, 2006.
80. Osman KA, Osman MM and Ahmed MH: Tamoxifen-induced non-alcoholic steatohepatitis: where are we now and where are we going? *Expert opinion on drug safety* 6: 1-4, 2007.
81. Farrell GC: Drugs and steatohepatitis. *Seminars in liver disease* 22: 185-194, 2002.
82. Scaglioni F, Ciccia S, Marino M, Bedogni G and Bellentani S: ASH and NASH. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 29: 202-210, 2011.
83. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al.: Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 37: 1286-1292, 2003.
84. Kunde SS, Lazenby AJ, Clements RH and Abrams GA: Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese women. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 42: 650-656, 2005.

85. Chandok N, Minuk G, Wengiel M and Uhanova J: Serum ferritin levels do not predict the stage of underlying non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD* 21: 53-58, 2012.
86. Vuppalanchi R, Gould RJ, Wilson LA, et al.: Clinical significance of serum autoantibodies in patients with NAFLD: results from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology international* 6: 379-385, 2012.
87. Neuschwander-Tetri BA: Fatty liver and the metabolic syndrome. *Current opinion in gastroenterology* 23: 193-198, 2007.
88. Targher G: Non-alcoholic fatty liver disease, the metabolic syndrome and the risk of cardiovascular disease: the plot thickens. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 24: 1-6, 2007.
89. Targher G and Byrne CD: Diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease and its hemostatic/thrombotic and vascular complications. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 39: 214-228, 2013.
90. Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, et al.: Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 30: 847-850, 1999.
91. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ and Sanyal AJ: Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 7: 1104-1112, 2009.
92. Wieckowska A and Feldstein AE: Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. *Seminars in liver disease* 28: 386-395, 2008.
93. Siegelman ES and Rosen MA: Imaging of hepatic steatosis. *Seminars in liver disease* 21: 71-80, 2001.

94. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al.: The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 123: 745-750, 2002.
95. Debongnie JC, Pauls C, Fievez M and Wibin E: Prospective evaluation of the diagnostic accuracy of liver ultrasonography. *Gut* 22: 130-135, 1981.
96. Foster KJ, Dewbury KC, Griffith AH and Wright R: The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. *The British journal of radiology* 53: 440-442, 1980.
97. Limanond P, Raman SS, Lassman C, et al.: Macrovesicular hepatic steatosis in living related liver donors: correlation between CT and histologic findings. *Radiology* 230: 276-280, 2004.
98. van Werven JR, Marsman HA, Nederveen AJ, et al.: Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. *Radiology* 256: 159-168, 2010.
99. Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO and Ehman RL: Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology* 259: 749-756, 2011.
100. Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J and Schick F: Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *Journal of hepatology* 51: 433-445, 2009.
101. Castera L, Vilgrain V and Angulo P: Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* 10: 666-675, 2013.
102. Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, et al.: Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients

with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound in medicine & biology* 36: 1825-1835, 2010.

103. de Ledinghen V, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W and le Bail B: Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 32: 911-918, 2012.

104. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, et al.: Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 51: 454-462, 2010.

105. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD and Day CP: Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 59: 1265-1269, 2010.

106. Angulo P, Keach JC, Batts KP and Lindor KD: Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 30: 1356-1362, 1999.

107. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, et al.: Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC gastroenterology* 6: 6, 2006.

108. Guha IN, Parkes J, Roderick P, et al.: Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 47: 455-460, 2008.

109. Chen J, Zhu Y, Zheng Q and Jiang J: Serum cytokeratin-18 in the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis: A meta-analysis. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 44: 854-862, 2014.

110. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al.: The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 142: 1592-1609, 2012.
111. Bellentani S, Dalle Grave R, Suppini A and Marchesini G: Behavior therapy for nonalcoholic fatty liver disease: The need for a multidisciplinary approach. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 47: 746-754, 2008.
112. Nobili V, Manco M, Devito R, et al.: Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 48: 119-128, 2008.
113. Musso G, Cassader M, Rosina F and Gambino R: Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia* 55: 885-904, 2012.
114. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF and Schwimmer JB: Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *The American journal of gastroenterology* 106: 460-468; quiz 469, 2011.
115. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, et al.: Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut* 60: 1278-1283, 2011.
116. Bacchi E, Negri C, Targher G, et al.: Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty

liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology* (Baltimore, Md.) 58: 1287-1295, 2013.

117. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, et al.: Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology* 137: 532-540, 2009.

118. Mummadi RR, Kasturi KS, Chennareddygar S and Sood GK: Effect of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 6: 1396-1402, 2008.

119. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT and George J: Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology* 56: 944-951, 2012.

120. Foster T, Budoff MJ, Saab S, Ahmadi N, Gordon C and Guerci AD: Atorvastatin and antioxidants for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: the St Francis Heart Study randomized clinical trial. *The American journal of gastroenterology* 106: 71-77, 2011.

121. Athyros VG, Tziomalos K, Daskalopoulos GN, Karagiannis A and Mikhailidis DP: Statin-based treatment for cardiovascular risk and non-alcoholic fatty liver disease. Killing two birds with one stone? *Annals of medicine* 43: 167-171, 2011.

122. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al.: Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* (Baltimore, Md.) 39: 770-778, 2004.

123. Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, et al.: High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* (Baltimore, Md.) 52: 472-479, 2010.

124. Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, et al.: Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 19: 537-544, 2004.
125. Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbo HB, et al.: Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scandinavian journal of gastroenterology* 44: 853-860, 2009.
126. Shields WW, Thompson KE, Grice GA, Harrison SA and Coyle WJ: The Effect of Metformin and Standard Therapy versus Standard Therapy alone in Nondiabetic Patients with Insulin Resistance and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): A Pilot Trial. *Therapeutic advances in gastroenterology* 2: 157-163, 2009.
127. Hassan MM, Curley SA, Li D, et al.: Association of diabetes duration and diabetes treatment with the risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 116: 1938-1946, 2010.
128. Lai SW, Chen PC, Liao KF, Muo CH, Lin CC and Sung FC: Risk of hepatocellular carcinoma in diabetic patients and risk reduction associated with anti-diabetic therapy: a population-based cohort study. *The American journal of gastroenterology* 107: 46-52, 2012.
129. Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, et al.: The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 46: 424-429, 2007.
130. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al.: A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *The New England journal of medicine* 355: 2297-2307, 2006.

131. Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, et al.: Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 135: 1176-1184, 2008.
132. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al.: Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *The New England journal of medicine* 362: 1675-1685, 2010.
133. Kelly IE, Han TS, Walsh K and Lean ME: Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes care* 22: 288-293, 1999.
134. Hernandez AV, Usmani A, Rajamanickam A and Moheet A: Thiazolidinediones and risk of heart failure in patients with or at high risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis and meta-regression analysis of placebo-controlled randomized clinical trials. *American journal of cardiovascular drugs : drugs, devices, and other interventions* 11: 115-128, 2011.
135. Lewis JD, Ferrara A, Peng T, et al.: Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: interim report of a longitudinal cohort study. *Diabetes care* 34: 916-922, 2011.
136. Ben-Shlomo S, Zvibel I, Shnell M, et al.: Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase. *Journal of hepatology* 54: 1214-1223, 2011.
137. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, et al.: Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 31: 1285-1297, 2011.

- S138. Vilsboll T, Christensen M, Junker AE, Knop FK and Gluud LL: Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ (Clinical research ed.)* 344: d7771, 2012.
139. Miller ER, 3rd, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ and Guallar E: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of internal medicine* 142: 37-46, 2005.
140. Cariou B, Hanf R, Lambert-Porcheron S, et al.: Dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonist GFT505 improves hepatic and peripheral insulin sensitivity in abdominally obese subjects. *Diabetes care* 36: 2923-2930, 2013.
141. Mudaliar S, Henry RR, Sanyal AJ, et al.: Efficacy and safety of the farnesoid X receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 145: 574-582.e571, 2013.
142. Schmidt M, Betti G and Hensel A: Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)* 157: 315-319, 2007.
143. Abdullaev FI and Espinosa-Aguirre JJ: Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer detection and prevention* 28: 426-432, 2004.
144. Tarantilis PA, Tsoupras G and Polissiou M: Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* 699: 107-118, 1995.
145. Lage M CC: Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental

- Moroccan conditions. . *Sci Horti* 121:: 366-373., 2009.
146. Hosseinzadeh H and Younesi HM: Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC pharmacology* 2: 7, 2002.
147. Abdullaev FI: Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.) 227: 20-25, 2002.
148. Nair SC, Kurumboor SK and Hasegawa JH: Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. *Cancer biotherapy* 10: 257-264, 1995.
149. JA F: Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Res Devel Plant Sci* 2: 127-159, 2004.
150. Hosseinzadeh H and Jahanian Z: Effect of *Crocus sativus* L. (saffron) stigma and its constituents, crocin and safranal, on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytotherapy research : PTR* 24: 726-730, 2010.
151. Alavizadeh SH and Hosseinzadeh H: Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 64: 65-80, 2014.
152. Hosseinzadeh H and Nassiri-Asl M: Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Phytotherapy research : PTR* 27: 475-483, 2013.
153. Akhondzadeh S, Tahmacebi-Pour N, Noorbala AA, et al.: *Crocus sativus* L. in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytotherapy research : PTR* 19: 148-151, 2005.

154. Moshiri E, Basti AA, Noorbala AA, Jamshidi AH, Hesameddin Abbasi S and Akhondzadeh S: *Crocus sativus* L. (petal) in the treatment of mild-to-moderate depression: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 13: 607-611, 2006.
155. Agha-Hosseini M, Kashani L, Aleyaseen A, et al.: *Crocus sativus* L. (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 115: 515-519, 2008.
156. Gholamnezhad Z KR, Boskabady MH.: Antiinflammatory , antioxidant, and immunomodulatory aspects of *Nigella sativa* for its preventive and bronchodilatory effects on obstructive respiratory diseases: a review of basic and clinical evidence. *J Funct Foods*: 910-927, 2015.
157. Bayrami G and Boskabady MH: The potential effect of the extract of *Crocus sativus* and safranal on the total and differential white blood cells of ovalbumin-sensitized guinea pigs. *Research in pharmaceutical sciences* 7: 249-255, 2012.
158. Mahmoudabady M, Neamati A, Vosooghi S and Aghababa H: Hydroalcoholic extract of *Crocus sativus* effects on bronchial inflammatory cells in ovalbumin sensitized rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 3: 356-363, 2013.
159. Vosooghi S, Mahmoudabady M, Neamati A and Aghababa H: Preventive effects of hydroalcoholic extract of saffron on hematological parameters of experimental asthmatic rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 3: 279-287, 2013.

160. Bloemen K, Verstraelen S, Van Den Heuvel R, Witters H, Nelissen I and Schoeters G: The allergic cascade: review of the most important molecules in the asthmatic lung. *Immunology letters* 113: 6-18, 2007.
161. Averill FJ, Hubbard WC, Proud D, Gleich GJ and Liu MC: Platelet activation in the lung after antigen challenge in a model of allergic asthma. *The American review of respiratory disease* 145: 571-576, 1992.
162. Kowal K, Pampuch A, Kowal-Bielecka O, DuBuske LM and Bodzenta-Lukaszyk A: Platelet activation in allergic asthma patients during allergen challenge with *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 36: 426-432, 2006.
163. Gholamnezhad Z, Koushyar H, Byrami G and Boskabady MH: The Extract of *Crocus sativus* and Its Constituent Safranal, Affect Serum Levels of Endothelin and Total Protein in Sensitized Guinea Pigs. *Iranian journal of basic medical sciences* 16: 1022-1026, 2013.
164. Boskabady M, Nematollahi H and Boskabady MH: Effect of inhaled medication and inhalation technique on dental caries in asthmatic patients. *Iranian Red Crescent medical journal* 14: 816-821, 2012.
165. Cohn L, Elias JA and Chupp GL: Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annual review of immunology* 22: 789-815, 2004.
166. Byrami G, Boskabady MH, Jalali S and Farkhondeh T: The effect of the extract of *Crocus sativus* on tracheal responsiveness and plasma levels of IL-4, IFN-gamma, total NO and nitrite in ovalbumin sensitized guinea-pigs. *Journal of ethnopharmacology* 147: 530-535, 2013.

167. Boskabady MH, Ghasemzadeh Rahbardar M, Nemati H and Esmaeilzadeh M: Inhibitory effect of *Crocus sativus* (saffron) on histamine (H1) receptors of guinea pig tracheal chains. *Die Pharmazie* 65: 300-305, 2010.
168. Hosseinzadeh H and Ghenaati J: Evaluation of the antitussive effect of stigma and petals of saffron (*Crocus sativus*) and its components, safranal and crocin in guinea pigs. *Fitoterapia* 77: 446-448, 2006.
169. Amin B, Abnous K, Motamedshariaty V and Hosseinzadeh H: Attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis by ethanolic and aqueous extracts of *Crocus sativus* L. stigma after chronic constriction injury of rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 86: 1821-1832, 2014.
170. Das I, Chakrabarty RN and Das S: Saffron can prevent chemically induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 5: 70-76, 2004.
171. Bayrami G, Boskabady MH, Iranshahi M and Gholamnezhad Z: Relaxant effects of asafoetida extract and its constituent umbelliprenin on guinea-pig tracheal smooth muscle. *Chinese journal of integrative medicine*, 2013.
172. Babaei M, Dashti N, Lamei N, et al.: Evaluation of plasma concentrations of homocysteine, IL-6, TNF-alpha, hs-CRP, and total antioxidant capacity in patients with end-stage renal failure. *Acta medica Iranica* 52: 893-898, 2014.
173. Kianbakht S and Ghazavi A: Immunomodulatory effects of saffron: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy research : PTR* 25: 1801-1805, 2011.
174. Boskabady MH, Seyedhosseini Tamijani SM, Rafatpanah H, Rezaei A and Alavinejad A: The effect of *Crocus sativus* extract on human lymphocytes' cytokines and T helper 2/T helper 1 balance. *Journal of medicinal food* 14: 1538-1545, 2011.

175. Bani S, Pandey A, Agnihotri VK, Pathania V and Singh B: Selective Th2 Upregulation by *Crocus sativus*: A Nutraceutical Spice. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM 2011, 2011.
176. Ghazavi A, Mosayebi G, Salehi H and Abtahi H: Effect of ethanol extract of saffron (*Crocus sativus* L.) on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57bl/6 mice. Pakistan journal of biological sciences : PJBS 12: 690-695, 2009.
177. Tsantarliotou MP, Poutahidis T, Markala D, et al.: Crocetin administration ameliorates endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits. Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis 24: 305-310, 2013.
178. Al-Gubory KH: Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. Reproductive biomedicine online 29: 17-31, 2014.
179. Assimopoulou AN, Sinakos Z and Papageorgiou VP: Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. Phytotherapy research : PTR 19: 997-1000, 2005.
180. Halataei BA, Khosravi M, Arbabian S, et al.: Saffron (*Crocus sativus*) aqueous extract and its constituent crocin reduces stress-induced anorexia in mice. Phytotherapy research : PTR 25: 1833-1838, 2011.
181. Hosseinzadeh H, Modagheh MH and Saffari Z: *Crocus sativus* L. (Saffron) extract and its active constituents (crocin and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM 6: 343-350, 2009.

182. Park HS, Kim SR and Lee YC: Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology (Carlton, Vic.)* 14: 27-38, 2009.
183. Bukhari SI, Pattnaik B, Rayees S, Kaul S and Dhar MK: Safranal of *Crocus sativus* L. inhibits inducible nitric oxide synthase and attenuates asthma in a mouse model of asthma. *Phytotherapy research : PTR* 29: 617-627, 2015.
184. Bandegi AR, Rashidy-Pour A, Vafaei AA and Ghadrdoost B: Protective Effects of *Crocus Sativus* L. Extract and Crocin against Chronic-Stress Induced Oxidative Damage of Brain, Liver and Kidneys in Rats. *Advanced pharmaceutical bulletin* 4: 493-499, 2014.
185. Mousavi SH, Tayarani NZ and Parsaee H: Protective effect of saffron extract and crocin on reactive oxygen species-mediated high glucose-induced toxicity in PC12 cells. *Cellular and molecular neurobiology* 30: 185-191, 2010.
186. Urrutia EC R-NL, Abdullaev F, Del-Angel DS, and Martínez NLH CM: Saffron extract ameliorates oxidative damage and mitochondrial dysfunction in the rat brain. *Acta Horti*: 359-366, 2007.
187. Linardaki ZI, Orkoula MG, Kokkosis AG, Lamari FN and Margarity M: Investigation of the neuroprotective action of saffron (*Crocus sativus* L.) in aluminum-exposed adult mice through behavioral and neurobiochemical assessment. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 52: 163-170, 2013.
188. Dhar MH SK, Ghongane BB, Rane SR. : Nephroprotective activity of *Crocus sativus* extract against gentamicin and/or ceftazidime-induced nephrotoxicity in rats

Int J Pharm Bio Sci 864-870, 2013.

189. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, et al.: Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *European journal of pharmacology* 667: 222-229, 2011.

190. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ghaeni FA, Motamedshariaty VS and Mohajeri SA: Effects of saffron (*Crocus sativus* L.) and its active constituent, crocin, on recognition and spatial memory after chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Phytotherapy research : PTR* 26: 381-386, 2012.

191. Papandreou MA, Tsachaki M, Efthimiopoulos S, Cordopatis P, Lamari FN and Margariti M: Memory enhancing effects of saffron in aged mice are correlated with antioxidant protection. *Behavioural brain research* 219: 197-204, 2011.

192. Chahine N, Nader M, Duca L, Martiny L and Chahine R: Saffron extracts alleviate cardiomyocytes injury induced by doxorubicin and ischemia-reperfusion in vitro. *Drug and chemical toxicology* 39: 87-96, 2016.

193. Mehdizadeh R, Parizadeh MR, Khooei AR, Mehri S and Hosseinzadeh H: Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. *Iranian journal of basic medical sciences* 16: 56-63, 2013.

194. Hosseinzadeh H and Sadeghnia HR: Safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques* 8: 394-399, 2005.

195. Asadi MH, Zafari F, Sarveazad A, et al.: Saffron improves epididymal sperm parameters in rats exposed to cadmium. *Nephro-urology monthly* 6: e12125, 2014.
196. Solomon TP, Sistrun SN, Krishnan RK, et al.: Exercise and diet enhance fat oxidation and reduce insulin resistance in older obese adults. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985) 104: 1313-1319, 2008.
197. Arndt T, Jorns A, Weiss H, et al.: A variable CD3(+) T-cell frequency in peripheral blood lymphocytes associated with type 1 diabetes mellitus development in the LEW.1AR1-iddm rat. *PloS one* 8: e64305, 2013.
198. Kawano K, Mori S, Hirashima T, Man ZW and Natori T: Examination of the pathogenesis of diabetic nephropathy in OLETF rats. *The Journal of veterinary medical science* 61: 1219-1228, 1999.
199. M. S. Phillips QL, H. A. Hammond et al: Leptinreceptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nature Genetics* vol. 13: pp.18-19, 1996.
200. Srinivasan K and Ramarao P: Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *The Indian journal of medical research* 125: 451-472, 2007.
201. Y. Tokuyama JS, A.M. DePaoli et al: Evolution of β -cell dysfunction in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes* vol. 44: pp.1447-1457, 1995.
202. Lee Y, Hirose H, Zhou YT, Esser V, McGarry JD and Unger RH: Increased lipogenic capacity of the islets of obese rats: a role in the pathogenesis of NIDDM. *Diabetes* 46: 408-413, 1997.
203. Zhou YT, Shimabukuro M, Wang MY, et al.: Role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in disease of pancreatic beta cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 8898-8903, 1998.

204. Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M and Unger RH: Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2498-2502, 1998.
205. Hemmes RB and Schoch R: High dosage testosterone propionate induces copulatory behavior in the obese male Zucker rat. *Physiology & behavior* 43: 321-324, 1988.
206. Clark JB, Palmer CJ and Shaw WN: The diabetic Zucker fatty rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)* 173: 68-75, 1983.
207. Pick A, Clark J, Kubstrup C, et al.: Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes* 47: 358-364, 1998.
208. Shibata T, Takeuchi S, Yokota S, Kakimoto K, Yonemori F and Wakitani K: Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma agonist, JTT-501, on diabetic complications in Zucker diabetic fatty rats. *British journal of pharmacology* 130: 495-504, 2000.
209. Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA and Greiner DL: Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. *ILAR journal* 45: 278-291, 2004.
210. Huang X, Hultgren B, Dybdal N and Stewart TA: Islet expression of interferon-alpha precedes diabetes in both the BB rat and streptozotocin-treated mice. *Immunity* 1: 469-478, 1994.
211. Kloting I, van den Brandt J and Kuttler B: Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: lessons from congenic BB.SHR rat strains. *Biochemical and biophysical research communications* 283: 399-405, 2001.

212. Kovacs P, van den Brandt J, Bonne AC, van Zutphen LF, van Lith HA and Kloting I: Congenic BB.SHR rat provides evidence for effects of a chromosome 4 segment (D4Mit6-Npy approximately 1 cm) on total serum and lipoprotein lipid concentration and composition after feeding a high-fat, high-cholesterol diet. *Metabolism: clinical and experimental* 50: 458-462, 2001.
213. Schroder D, Ratke M, Bauer UC, Kloting I, Ziegler B and Schmidt S: Prophylactic insulin treatment of diabetes-prone BB/OK rats by application of a sustained release insulin implant. *Autoimmunity* 35: 143-153, 2002.
214. Ono SJ, Issa-Chergui B, Colle E, Guttman RD, Seemayer TA and Fuks A: IDDM in BB rats. Enhanced MHC class I heavy-chain gene expression in pancreatic islets. *Diabetes* 37: 1411-1418, 1988.
215. Hanenberg H, Kolb-Bachofen V, Kantwerk-Funke G and Kolb H: Macrophage infiltration precedes and is a prerequisite for lymphocytic insulinitis in pancreatic islets of pre-diabetic BB rats. *Diabetologia* 32: 126-134, 1989.
216. MacMurray AJ, Moralejo DH, Kwitek AE, et al.: Lymphopenia in the BB rat model of type 1 diabetes is due to a mutation in a novel immune-associated nucleotide (Ian)-related gene. *Genome research* 12: 1029-1039, 2002.
217. Krucken J, Schroetel RM, Muller IU, et al.: Comparative analysis of the human gimap gene cluster encoding a novel GTPase family. *Gene* 341: 291-304, 2004.
218. Lenzen S, Tiedge M, Elsner M, et al.: The LEW.1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 44: 1189-1196, 2001.
219. Jorns A, Gunther A, Hedrich HJ, Wedekind D, Tiedge M and Lenzen S: Immune cell infiltration, cytokine expression, and beta-cell apoptosis during the

development of type 1 diabetes in the spontaneously diabetic LEW.1AR1/Ztm-iddm rat. *Diabetes* 54: 2041-2052, 2005.

220. Arndt T, Jorns A, Hedrich HJ, Lenzen S and Wedekind D: Variable immune cell frequencies in peripheral blood of LEW.1AR1-iddm rats over time compared to other congenic LEW strains. *Clinical and experimental immunology* 177: 168-178, 2014.

221. Mathews CE: Utility of murine models for the study of spontaneous autoimmune type 1 diabetes. *Pediatric diabetes* 6: 165-177, 2005.

222. Bell GI and Polonsky KS: Diabetes mellitus and genetically programmed defects in beta-cell function. *Nature* 414: 788-791, 2001.

223. Johnson JD and Alejandro EU: Control of pancreatic beta-cell fate by insulin signaling: The sweet spot hypothesis. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 7: 1343-1347, 2008.

224. Tisch R and McDevitt H: Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* 85: 291-297, 1996.

225. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL and Ramarao P: Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological research* 52: 313-320, 2005.

226. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG and Chen L: The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Experimental diabetes research* 2008: 704045, 2008.

227. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA and Butler PC: Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 102-110, 2003.

228. Di Galleonardo V, de Vries EF, Di Girolamo M, Quintero AM, Dierckx RA and Signore A: Imaging of beta-cell mass and insulinitis in insulin-dependent (Type 1) diabetes mellitus. *Endocrine reviews* 33: 892-919, 2012.
229. Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C and Henquin JC: Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes, obesity & metabolism* 10 Suppl 4: 32-42, 2008.
230. Prentki M and Nolan CJ: Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation* 116: 1802-1812, 2006.
231. Lu HE, Jian CH, Chen SF, et al.: Hypoglycaemic effects of fermented mycelium of *Paecilomyces farinosus* (G30801) on high-fat fed rats with streptozotocin-induced diabetes. *The Indian journal of medical research* 131: 696-701, 2010.
232. Kim E, Sohn S, Lee M, Jung J, Kineman RD and Park S: Differential responses of the growth hormone axis in two rat models of streptozotocin-induced insulinopenic diabetes. *The Journal of endocrinology* 188: 263-270, 2006.
233. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* (London, England) 352: 837-853, 1998.
234. Purnell JQ, Zinman B and Brunzell JD: The effect of excess weight gain with intensive diabetes mellitus treatment on cardiovascular disease risk factors and atherosclerosis in type 1 diabetes mellitus: results from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study (DCCT/EDIC) study. *Circulation* 127: 180-187, 2013.

235. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, et al.: A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism: clinical and experimental* 49: 1390-1394, 2000.
236. Si Y, Zhao Y, Hao H, et al.: Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity. *Diabetes* 61: 1616-1625, 2012.
237. Sahin K, Onderci M, Tuzcu M, et al.: Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism: clinical and experimental* 56: 1233-1240, 2007.
238. Masiello P, Karunanayake EH, Bergamini E, Hearse DJ and Mellows G: (14C) Streptozotocin: its distribution and interaction with nucleic acids and proteins. *Biochemical pharmacology* 30: 1907-1913, 1981.
239. Yang J, Li G, Zhang F, et al.: Identification of variations of gene expression of visceral adipose and renal tissue in type 2 diabetic rats using cDNA representational difference analysis. *Chinese medical journal* 116: 529-533, 2003.
240. Kral JG and Naslund E: Surgical treatment of obesity. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism* 3: 574-583, 2007.
241. Wellen KE and Hotamisligil GS: Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of clinical investigation* 115: 1111-1119, 2005.
242. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al.: Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation* 114: 1752-1761, 2004.
243. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al.: Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science (New York, N.Y.)* 306: 457-461, 2004.

244. Rudich A, Kanety H and Bashan N: Adipose stress-sensing kinases: linking obesity to malfunction. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 18: 291-299, 2007.
245. Thorn H, Stenkula KG, Karlsson M, et al.: Cell surface orifices of caveolae and localization of caveolin to the necks of caveolae in adipocytes. *Molecular biology of the cell* 14: 3967-3976, 2003.
246. Gustavsson J, Parpal S and Stralfors P: Insulin-stimulated glucose uptake involves the transition of glucose transporters to a caveolae-rich fraction within the plasma membrane: implications for type II diabetes. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)* 2: 367-372, 1996.
247. Karlsson M, Thorn H, Danielsson A, et al.: Colocalization of insulin receptor and insulin receptor substrate-1 to caveolae in primary human adipocytes. Cholesterol depletion blocks insulin signalling for metabolic and mitogenic control. *European journal of biochemistry* 271: 2471-2479, 2004.
248. Stenkula KG, Thorn H, Franck N, et al.: Human, but not rat, IRS1 targets to the plasma membrane in both human and rat adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications* 363: 840-845, 2007.
249. Saltiel AR and Kahn CR: Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414: 799-806, 2001.
250. Vidal-Puig AJ, Considine RV, Jimenez-Linan M, et al.: Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *The Journal of clinical investigation* 99: 2416-2422, 1997.
251. Rosen ED and Spiegelman BM: Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 444: 847-853, 2006.

252. Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, et al.: Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *The Journal of biological chemistry* 282: 28175-28188, 2007.
253. Yang Q, Graham TE, Mody N, et al.: Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 436: 356-362, 2005.
254. Gavi S, Stuart LM, Kelly P, et al.: Retinol-binding protein 4 is associated with insulin resistance and body fat distribution in nonobese subjects without type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92: 1886-1890, 2007.
255. Gustavsson J, Parpal S, Karlsson M, et al.: Localization of the insulin receptor in caveolae of adipocyte plasma membrane. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13: 1961-1971, 1999.
256. Cheatham B and Kahn CR: Insulin action and the insulin signaling network. *Endocrine reviews* 16: 117-142, 1995.
257. White MF: The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Molecular and cellular biochemistry* 182: 3-11, 1998.
258. Parpal S, Karlsson M, Thorn H and Stralfors P: Cholesterol depletion disrupts caveolae and insulin receptor signaling for metabolic control via insulin receptor substrate-1, but not for mitogen-activated protein kinase control. *The Journal of biological chemistry* 276: 9670-9678, 2001.
259. Stenkula KG, Said L, Karlsson M, et al.: Expression of a mutant IRS inhibits metabolic and mitogenic signalling of insulin in human adipocytes. *Molecular and cellular endocrinology* 221: 1-8, 2004.

260. Pelicci G, Lanfrancone L, Grignani F, et al.: A novel transforming protein (SHC) with an SH2 domain is implicated in mitogenic signal transduction. *Cell* 70: 93-104, 1992.
261. Avruch J, Khokhlatchev A, Kyriakis JM, et al.: Ras activation of the Raf kinase: tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. *Recent progress in hormone research* 56: 127-155, 2001.
262. Bost F, Aouadi M, Caron L and Binetruy B: The role of MAPKs in adipocyte differentiation and obesity. *Biochimie* 87: 51-56, 2005.
263. Somwar R, Kim DY, Sweeney G, et al.: GLUT4 translocation precedes the stimulation of glucose uptake by insulin in muscle cells: potential activation of GLUT4 via p38 mitogen-activated protein kinase. *The Biochemical journal* 359: 639-649, 2001.
264. Somwar R, Perreault M, Kapur S, et al.: Activation of p38 mitogen-activated protein kinase alpha and beta by insulin and contraction in rat skeletal muscle: potential role in the stimulation of glucose transport. *Diabetes* 49: 1794-1800, 2000.
265. Sweeney G, Somwar R, Ramlal T, Volchuk A, Ueyama A and Klip A: An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase prevents insulin-stimulated glucose transport but not glucose transporter translocation in 3T3-L1 adipocytes and L6 myotubes. *The Journal of biological chemistry* 274: 10071-10078, 1999.
266. Turban S, Beardmore VA, Carr JM, et al.: Insulin-stimulated glucose uptake does not require p38 mitogen-activated protein kinase in adipose tissue or skeletal muscle. *Diabetes* 54: 3161-3168, 2005.
267. James SR, Downes CP, Gigg R, Grove SJ, Holmes AB and Alessi DR: Specific binding of the Akt-1 protein kinase to phosphatidylinositol 3,4,5-

trisphosphate without subsequent activation. *The Biochemical journal* 315 (Pt 3): 709-713, 1996.

268. Alessi DR, James SR, Downes CP, et al.: Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase Balpha. *Current biology : CB* 7: 261-269, 1997.

269. Stokoe D, Stephens LR, Copeland T, et al.: Dual role of phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate in the activation of protein kinase B. *Science (New York, N.Y.)* 277: 567-570, 1997.

270. Alessi DR, Andjelkovic M, Caudwell B, et al.: Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *The EMBO journal* 15: 6541-6551, 1996.

271. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM and Sabatini DM: Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science (New York, N.Y.)* 307: 1098-1101, 2005.

272. Hresko RC and Mueckler M: mTOR.RICTOR is the Ser473 kinase for Akt/protein kinase B in 3T3-L1 adipocytes. *The Journal of biological chemistry* 280: 40406-40416, 2005.

273. Coffey PJ, Jin J and Woodgett JR: Protein kinase B (c-Akt): a multifunctional mediator of phosphatidylinositol 3-kinase activation. *The Biochemical journal* 335 (Pt 1): 1-13, 1998.

274. Vanhaesebroeck B and Alessi DR: The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *The Biochemical journal* 346 Pt 3: 561-576, 2000.

275. Farese RV: Insulin-sensitive phospholipid signaling systems and glucose transport. Update II. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)* 226: 283-295, 2001.

276. Saltiel AR and Pessin JE: Insulin signaling pathways in time and space. *Trends in cell biology* 12: 65-71, 2002.
277. Ribon V and Saltiel AR: Insulin stimulates tyrosine phosphorylation of the proto-oncogene product of c-Cbl in 3T3-L1 adipocytes. *The Biochemical journal* 324 (Pt 3): 839-845, 1997.
278. Chiang SH, Baumann CA, Kanzaki M, et al.: Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. *Nature* 410: 944-948, 2001.
279. Taniguchi CM, Emanuelli B and Kahn CR: Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature reviews. Molecular cell biology* 7: 85-96, 2006.
280. Litherland GJ, Hajdуч E and Hundal HS: Intracellular signalling mechanisms regulating glucose transport in insulin-sensitive tissues (review). *Molecular membrane biology* 18: 195-204, 2001.
281. Holman GD, Kozka IJ, Clark AE, et al.: Cell surface labeling of glucose transporter isoform GLUT4 by bis-mannose photolabel. Correlation with stimulation of glucose transport in rat adipose cells by insulin and phorbol ester. *The Journal of biological chemistry* 265: 18172-18179, 1990.
282. Pessin JE, Thurmond DC, Elmendorf JS, Coker KJ and Okada S: Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location! *The Journal of biological chemistry* 274: 2593-2596, 1999.
283. Watson RT and Pessin JE: GLUT4 translocation: the last 200 nanometers. *Cellular signalling* 19: 2209-2217, 2007.
284. Karlsson M, Thorn H, Parpal S, Stralfors P and Gustavsson J: Insulin induces translocation of glucose transporter GLUT4 to plasma membrane caveolae in

adipocytes. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 16: 249-251, 2002.

285. Carvalho E, Jansson PA, Nagaev I, Wentzel AM and Smith U: Insulin resistance with low cellular IRS-1 expression is also associated with low GLUT4 expression and impaired insulin-stimulated glucose transport. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 15: 1101-1103, 2001.

286. Garvey WT, Huecksteadt TP, Matthaei S and Olefsky JM: Role of glucose transporters in the cellular insulin resistance of type II non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Journal of clinical investigation 81: 1528-1536, 1988.

287. Garvey WT, Maianu L, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ, Molina JM and Ciaraldi TP: Pretranslational suppression of a glucose transporter protein causes insulin resistance in adipocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. The Journal of clinical investigation 87: 1072-1081, 1991.

288. DeFronzo RA, Bonadonna RC and Ferrannini E: Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. Diabetes care 15: 318-368, 1992.

289. Kahn BB: Lilly lecture 1995. Glucose transport: pivotal step in insulin action. Diabetes 45: 1644-1654, 1996.

290. Abel ED, Peroni O, Kim JK, et al.: Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. Nature 409: 729-733, 2001.

291. Carvalho E, Kotani K, Peroni OD and Kahn BB: Adipose-specific overexpression of GLUT4 reverses insulin resistance and diabetes in mice lacking GLUT4 selectively in muscle. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism 289: E551-561, 2005.

292. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T and Tomita M: Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *Journal of biochemistry* 120: 803-812, 1996.
293. Stumvoll M, Tschrirter O, Fritsche A, et al.: Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 37-41, 2002.
294. Ruan H and Lodish HF: Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine & growth factor reviews* 14: 447-455, 2003.
295. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al.: Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 2005-2010, 2001.
296. Heidemann C, Sun Q, van Dam RM, et al.: Total and high-molecular-weight adiponectin and resistin in relation to the risk for type 2 diabetes in women. *Annals of internal medicine* 149: 307-316, 2008.
297. Viengchareun S, Zennaro MC, Pascual-Le Tallec L and Lombes M: Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. *FEBS letters* 532: 345-350, 2002.
298. Berg AH, Combs TP and Scherer PE: ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 13: 84-89, 2002.
299. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, et al.: Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 46: 459-469, 2003.

300. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, et al.: Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *The Journal of biological chemistry* 279: 12152-12162, 2004.
301. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al.: PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 50: 2094-2099, 2001.
302. Motoshima H, Wu X, Sinha MK, et al.: Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 87: 5662-5667, 2002.
303. Koerner A, Kratzsch J and Kiess W: Adipocytokines: leptin--the classical, resistin--the controversial, adiponectin--the promising, and more to come. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* 19: 525-546, 2005.
304. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al.: Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423: 762-769, 2003.
305. Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL and Cnop M: Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochemical and biophysical research communications* 312: 1118-1122, 2003.
306. Bluher M, Williams CJ, Kloting N, et al.: Gene expression of adiponectin receptors in human visceral and subcutaneous adipose tissue is related to insulin resistance and metabolic parameters and is altered in response to physical training. *Diabetes care* 30: 3110-3115, 2007.
307. Qiao L, Zou C, van der Westhuyzen DR and Shao J: Adiponectin reduces plasma triglyceride by increasing VLDL triglyceride catabolism. *Diabetes* 57: 1824-1833, 2008.

308. Park KG, Park KS, Kim MJ, et al.: Relationship between serum adiponectin and leptin concentrations and body fat distribution. *Diabetes research and clinical practice* 63: 135-142, 2004.
309. Li M, Kim DH, Tsenovoy PL, et al.: Treatment of obese diabetic mice with a heme oxygenase inducer reduces visceral and subcutaneous adiposity, increases adiponectin levels, and improves insulin sensitivity and glucose tolerance. *Diabetes* 57: 1526-1535, 2008.
310. Imagawa A, Funahashi T, Nakamura T, et al.: Elevated serum concentration of adipose-derived factor, adiponectin, in patients with type 1 diabetes. *Diabetes care* 25: 1665-1666, 2002.
311. Havel PJ: Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes* 53 Suppl 1: S143-151, 2004.
312. Ahima RS: Metabolic actions of adipocyte hormones: focus on adiponectin. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 14 Suppl 1: 9s-15s, 2006.
313. Hsieh CJ and Wang PW: Serum concentrations of adiponectin in patients with hyperthyroidism before and after control of thyroid function. *Endocrine journal* 55: 489-494, 2008.
314. Ravussin E and Smith SR: Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 967: 363-378, 2002.
315. Havel PJ: Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Current opinion in lipidology* 13: 51-59, 2002.

316. Ahima RS: Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity* (Silver Spring, Md.) 14 Suppl 5: 242s-249s, 2006.
317. ShklyaeV S, Aslanidi G, Tennant M, et al.: Sustained peripheral expression of transgene adiponectin offsets the development of diet-induced obesity in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 14217-14222, 2003.
318. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, et al.: Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nature medicine* 10: 524-529, 2004.
319. Dzielinska Z, Januszewicz A, Wiecek A, et al.: Decreased plasma concentration of a novel anti-inflammatory protein--adiponectin--in hypertensive men with coronary artery disease. *Thrombosis research* 110: 365-369, 2003.
320. Plant S, Shand B, Elder P and Scott R: Adiponectin attenuates endothelial dysfunction induced by oxidised low-density lipoproteins. *Diabetes & vascular disease research* 5: 102-108, 2008.
321. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al.: Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 106: 2767-2770, 2002.
322. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, et al.: Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *The Journal of biological chemistry* 277: 25863-25866, 2002.
323. Zhang P, Wang Y, Fan Y, Tang Z and Wang N: Overexpression of adiponectin receptors potentiates the antiinflammatory action of subeffective dose of globular adiponectin in vascular endothelial cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 29: 67-74, 2009.

324. Oda N, Imamura S, Fujita T, et al.: The ratio of leptin to adiponectin can be used as an index of insulin resistance. *Metabolism: clinical and experimental* 57: 268-273, 2008.
325. Bailey CJ and Day C: Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes care* 12: 553-564, 1989.
326. Hemmati M, Zohoori E, Mehrpour O, et al.: Anti-atherogenic potential of jujube, saffron and barberry: anti-diabetic and antioxidant actions. *EXCLI journal* 14: 908-915, 2015.
327. S ZMaN-U-HN: Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats. A comparative study. *Int J Morphol* 28: 135-142,, 2010.
328. Skovso S: Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *Journal of diabetes investigation* 5: 349-358, 2014.
329. Ye JH, Chao J, Chang ML, et al.: Pentoxifylline ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in hyperglycaemic and dyslipidaemic mice by upregulating fatty acid beta-oxidation. *Scientific reports* 6: 33102, 2016.
330. Boskabady MH and Farkhondeh T: Antiinflammatory, Antioxidant, and Immunomodulatory Effects of *Crocus sativus* L. and its Main Constituents. *Phytotherapy research : PTR* 30: 1072-1094, 2016.
331. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M and Fernandez JA: Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer letters* 100: 23-30, 1996.
332. Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, et al.: Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *International journal of molecular sciences* 14: 21833-21857, 2013.

333. Samarghandian S, Borji A, Delkhosh MB and Samini F: Safranal treatment improves hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques* 16: 352-362, 2013.
334. Rajaei Z, Hadjzadeh MA, Nemati H, Hosseini M, Ahmadi M and Shafiee S: Antihyperglycemic and antioxidant activity of crocin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food* 16: 206-210, 2013.
335. Shirali S, Zahra Bathaie S and Nakhjavani M: Effect of crocin on the insulin resistance and lipid profile of streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy research : PTR* 27: 1042-1047, 2013.
336. Xi L, Qian Z, Xu G, et al.: Beneficial impact of crocetin, a carotenoid from saffron, on insulin sensitivity in fructose-fed rats. *The Journal of nutritional biochemistry* 18: 64-72, 2007.
337. Zhou X, Seto SW, Chang D, et al.: Synergistic Effects of Chinese Herbal Medicine: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. *Frontiers in pharmacology* 7: 201, 2016.
338. Kang C, Lee H, Jung ES, et al.: Saffron (*Crocus sativus* L.) increases glucose uptake and insulin sensitivity in muscle cells via multipathway mechanisms. *Food chemistry* 135: 2350-2358, 2012.
339. Leite NC, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR and Salles GF: Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes: from physiopathological interplay to diagnosis and treatment. *World journal of gastroenterology* 20: 8377-8392, 2014.

340. Nascimbeni F, Aron-Wisnewsky J, Pais R, et al.: Statins, antidiabetic medications and liver histology in patients with diabetes with non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ open gastroenterology* 3: e000075, 2016.
341. Abd El-Kader SM and El-Den Ashmawy EM: Non-alcoholic fatty liver disease: The diagnosis and management. *World journal of hepatology* 7: 846-858, 2015.
342. Bajerska J, Mildner-Szkudlarz S, Podgorski T and Oszmatek-Pruszyńska E: Saffron (*Crocus sativus* L.) powder as an ingredient of rye bread: an anti-diabetic evaluation. *Journal of medicinal food* 16: 847-856, 2013.
343. Asri-Rezaei S, Tamaddonfard E, Ghasemsoltani-Momtaz B, Erfanparast A and Gholamalipour S: Effects of crocin and zinc chloride on blood levels of zinc and metabolic and oxidative parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 5: 403-412, 2015.
344. Hemmati M, Asghari S, Zohoori E and Karamian M: Hypoglycemic effects of three Iranian edible plants; jujube, barberry and saffron: Correlation with serum adiponectin level. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* 28: 2095-2099, 2015.