

1837
2017
ΧΡΟΝΙΑ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ
ΤΟ ΑΝΑΛΟΓΟ GLP-1 ΛΙΡΑΓΛΟΥΤΙΔΗ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ
ΤΗΝ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ ΣΤΗΝ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΣΚΛΗΡΙΑ,
ΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΥΣΤΑΛΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΟ
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ
ΝΕΟΔΙΑΓΝΩΣΜΕΝΟ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2**

Δημήτρης Γεωργίου
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

Ευχαριστίες

Η πραγματοποίηση της έγινε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017 από τον μεταπτυχιακό φοιτητή του τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών: Γεωργίου Δημήτρη με θέμα: « Η επίδραση της θεραπείας με το αναλογο GLP-1 Λιραγλουτίδη, στην αρτηριακή σκληρία, την καρδιακή συσταλτικότητα και το οξειδωτικό στρες σε άτομα με νεοδιαγνωσμένο διαβήτη τύπου 2».

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω μία σειρά ανθρώπων, οι οποίοι με την πολύτιμη βοήθειά τους συνέβαλλαν στο να διεξαχθεί αυτή η εργασία. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά:

Την επιβλέπουσά μου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Ανδρεάδου Ιωάννα για την ανάθεση του θέματος, την υποστήριξη και την καθοδήγηση του καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Την Καθηγήτρια κα Κυρούδη Σοφία για τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή, την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου καθώς και την συμβολή της στην ολοκλήρωση του κύκλου σπουδών μου.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Βαλσαμή Γεωργία για τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή, την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο Διδάκτορα ερευνητή Εφεντάκη Παναγιώτη για την πολύτιμη βοήθεια στο πειραματικό κομμάτι αλλά και την ηθική υποστήριξη.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στο Αναπληρωτή καθηγητη Καρδιολογίας κύριο Ιγνάτιο Οικονομίδη για την εμπιστοσύνη του και την ανάθεση ενός μέρους της κλινικής του μελέτης.

Ευχαριστώ πολύ όλους συμφοιτητές μου για την πολύτιμη συνεργασία που είχαμε εντός και εκτός εργαστηρίου. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους φίλους μου και στους γονείς μου για την αμέριστη κατανόηση και την υποστήριξη τους.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	5
Abstract	6
1. Εισαγωγή	7
1.1. Τύποι Σακχαρώδη Διαβήτη	7
1.1.1. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1	7
1.1.2. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2	8
1.1.3. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 3	9
1.1.4. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 4	10
1.1.5. Διαβητικές Επιπλοκές	11
1.1.6. Φαρμακευτική Αγωγή για Διαβήτη τύπου 2	13
2. Μετορμίνη	20
2.1. Η επίδραση της μετορμίνης στην Ισχαιμική Καρδιακή Νόσο	20
2.2. Η επίδραση της μετορμίνης στην αγγειακή λειτουργία	21
3. Λιραγλουτίδη	23
3.1. Παχυσαρκία	23
3.2. Η φυσιολογία του GLP-1	24
3.3. Φαρμακοκινητικές ιδιότητες της λιραγλουτίδης	27
3.4. Θεραπευτικές επιδράσεις της λιραγλουτίδης	28
3.4.1. Δοκιμές Διαβήτη τύπου 2	28
3.4.2. Λιραγλουτίδη σε σύγκριση με τα από του στόματος αντιδιαβητικά φάρμακα (OADs)	28
3.4.3. Η λιραγλουτίδη σε σύγκριση με την ινσουλίνη	30
3.4.4. Δοκιμές παχυσαρκίας	31
3.4.5. Καρδιαγγειακή ασφάλεια	33
4. Οξειδωτικό Στρες	34
4.1. Οξειδωτικό στρες και σακχαρώδης διαβήτης	36
4.2. Μηχανισμοί επαγωγής οξειδωτικού στρες κατά τον διαβήτη	38
4.3. Η υπεργλυκαιμία και οι οδοί που ενεργοποιούνται από το στρες	44
4.4. Οξειδωτικό στρες και δυσλειτουργία του β-κυττάρου	50
4.5. Μηλονική Διαλδεΰδη (MDA)	52
4.6. Πρωτεϊνικά Καρβονύλια (Protein Carbonyls/PCs)	53
5. Σκοπός	54
6. Υλικά και Μέθοδοι	55
6.1. Έγγραφη Συγκατάθεση Ασθενών	55
6.2. Επιλογή Ασθενών	55
6.3. Δειγματοληψίες αίματος	57
6.4. Εργαστηριακές αναλύσεις	57
6.5. Προσδιορισμός της μηλονικής διαλδεΰδης	57
6.6. Προσδιορισμός των πρωτεϊνικών καρβονυλίων	61
6.7. Στατιστική Ανάλυση	64

7. Αποτελέσματα	65
7.1. Η λιραγλουτίδη βελτιώνει τις ανθρωπομετρικές, βιοχημικές και αιμοδυναμικές παραμέτρους κατόπιν 6 μηνών θεραπείας σε σύγκριση με τη μετορμίνη.	65
7.2. Η λιραγλουτίδη βελτιώνει την αρτηριακή σκληρία και στην συσταλτικότητα της αριστερής κοιλίας.	66
7.3. Η λιραγλουτίδη μειώνει τα επίπεδα της μηλονικής διαλδεύδης μετά από 6 μήνες θεραπείας.	67
7.4. Η λιραγλουτίδη μειώνει τα επίπεδα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μετά από 6 μήνες θεραπείας.	68
8. Συζήτηση	70
9. Συμπεράσματα	73
10. Βιβλιογραφία	74

Περίληψη

Εισαγωγή: Τα ανάλογα ινκρετίνης χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (T2DM) και της παχυσαρκίας. Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση στις μεταβολές της αρτηριακής σκληρίας και της καρδιακής συσταλτικότητας μετά από 6 μήνες θεραπείας με το ανάλογο GLP-1 λιραγλουτίδη σε άτομα με νεοδιαγνωσμένο T2DM.

Μέθοδοι: 60 ασθενείς με νεοδιαγνωσμένο T2DM και χωρίς προηγούμενη αντιδιαβητική θεραπεία τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε λιραγλουτίδη (n = 30) είτε μετφορμίνη (n = 30) για 6 μήνες. Κατά την έναρξη και κατόπιν 6 μηνών θεραπείας μετρήθηκαν : (α) η ταχύτητα παλμικού κύματος (PWV) (β) δείκτες καρδιακής συσταλτικότητας (συστροφή/αποσυστροφή του μυοκαρδίου) (γ) η μηλονική διαλδεύδη (MDA) ως δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PCs) ως δείκτες οξειδωτικού στρες.

Αποτελέσματα: Μετά από 6 μήνες θεραπείας, τα άτομα που έλαβαν λιραγλουτίδη παρουσίασαν μειωμένο PWV (11.8 ± 2.5 έναντι 10.3 ± 3.3 m/s), μειωμένη συγκέντρωση MDA ($0.92 [0.45-2.45]$ έναντι $0.68 [0.43-2.08]$ uM) παράλληλα με μία αύξηση στο GLS (-15.4 ± 3 έναντι -16.6 ± 2.7), GLSR (0.77 ± 0.2 έναντι 0.89 ± 0.2), pUtwVel (-112 ± 52 °, $p < 0.05$), % dpTw-UtwMVO (31 ± 10 έναντι 40 ± 14), % dpTw-UtwPEF (43 ± 19 έναντι 53 ± 22) και FMD% (± 6 , $p < 0,01$). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των μετρηθέντων δεικτών σε άτομα που έλαβαν μετφορμίνη εκτός από τη βελτίωση της παραμέτρου FMD.

Συμπεράσματα: Η εξάμηνη θεραπεία με λιραγλουτίδη βελτιώνει την αρτηριακή σκληρία, τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου, μειώνοντας το οξειδωτικό στρες σε άτομα με νεοδιαγνωσμένο T2DM.

Λέξεις-κλειδιά: Αρτηριακή δυσκαμψία; Ανάλογο GLP-1; Λειτουργία αριστερής κοιλίας; Λιραγλουτίδη; Μετφορμίνη; Οξειδωτικό στρες.

Abstract

Introduction: Incretin-based therapies are used in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity. We investigated the changes in arterial stiffness and left ventricular (LV) myocardial deformation after 6-month treatment with the GLP-1 analogue liraglutide in subjects with newly diagnosed T2DM.

Methods: We randomized 60 patients with newly diagnosed and treatment-naïve T2DM to receive either liraglutide (n = 30) or metformin (n = 30) for 6 months. We measured at baseline and after 6-month treatment: (a) carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) (b) Left Ventricular function (c) malondialdehyde (MDA) and protein carbonyls (PCs).

Results: After 6-months treatment, subjects that received liraglutide presented with a reduced PWV (11.8 ± 2.5 vs. 10.3 ± 3.3 m/s), MDA ($0.92 [0.45-2.45]$ vs. $0.68 [0.43-2.08]$ nM/L) and NT-proBNP ($p < 0.05$) in parallel with an increase in GLS (-15.4 ± 3 vs. -16.6 ± 2.7), GLSR (0.77 ± 0.2 vs. 0.89 ± 0.2), pUtwVel (-97 ± 49 vs. $-112 \pm 52^\circ$, $p < 0.05$), %dpTw-UtwMVO (31 ± 10 vs. 40 ± 14), %dpTw-UtwPEF (43 ± 19 vs. 53 ± 22) and FMD% (8.9 ± 3 vs. 13.2 ± 6 , $p < 0.01$). There were no statistically significant differences of the measured markers in subjects that received metformin except for an improvement in FMD.

Conclusion: Six-month treatment with liraglutide improves arterial stiffness, LV myocardial strain, LV twisting and untwisting by reducing oxidative stress in subjects with newly diagnosed T2DM.

Keywords: Arterial stiffness; GLP-1 analogue; Left ventricular function; Liraglutide; Metformin; Oxidative stress

1. Εισαγωγή

1.1. Τύποι Σακχαρώδη Διαβήτη

Η Συμβουλευτική Επιτροπή του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO, 1999) και η Επιτροπή Ειδικών της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας (ADA, 2004, 2007) πρότειναν η ταξινόμηση να βασίζεται στην αιτιολογία του σακχαρώδη διαβήτη. Το νέο σύστημα ταξινόμησης περιλαμβάνει 4 τύπους σακχαρώδη διαβήτη [1].

1.1.1. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1

(Ινσουλινο-εξαρτώμενος Διαβήτης ή Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1)

Αυτοάνοσος ή τύπου 1α

Ινσουλινο-εξαρτώμενος, παιδικός ή νεανικός διαβήτης. Πρόκειται για αυτοάνοση νόσο, κατά την οποία το ανοσολογικό σύστημα του οργανισμού καταστρέφει (ή τουλάχιστον προσπαθεί) τα β-κύτταρα του παγκρέατος (85-90%) που παράγουν ινσουλίνη λόγω ανάπτυξης μιας ποικιλίας αυτοαντισωμάτων έναντι αυτών των κυττάρων με αποτέλεσμα τη μη παραγωγή ινσουλίνης. Χαρακτηρίζεται από αυξημένη συγκεντρωση γλυκόζης στο πλάσμα (FP6) (>6.1 mmol/L, 110 mg/dL και <7.0 mmol/L, 126 mg/dL) [1].

Ιδιοπαθής ή Τύπου 1β

Σπάνια μορφή της νόσου, αγνώστου αιτιολογίας, η οποία όμως δεν οφείλεται σε αυτοάνοσο μηχανισμό. Έχει γενετική βάση η οποία δεν σχετίζεται με το σύστημα ιστοσυμβατότητας (HLA). Η ηλικία εκδήλωσης της νόσου είναι κάτω των 40 ετών και η προτεινόμενη θεραπεία είναι η ινσουλίνη. Η πλειοψηφία των ατόμων που προσβάλλονται από Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 ανήκουν στην ηλικία των 4-5 ετών, ή στην εφηβεία και στην αρχή της ενηλικίωσης [2].

Καθυστερημένος Αυτοάνοσος Διαβήτης των Ενηλίκων

Είναι ειδική υποκατηγορία του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και περιγράφεται ως καθυστερημένος εκλεκτικός αυτοάνοσος διαβήτης των ενηλίκων ή καθυστερημένης έναρξης Διαβήτη Τύπου 1 με γενετική βάση και σχετίζεται με το κομμάτι του HLA (MICA-5.1) γονιδίου και με παρουσία θετικών αυτοαντισωμάτων (Anti-GAD65). [2]

Αποτελεί το 15-20% των εσφαλμένα διαγνωσμένων ατόμων ως διαβητικών τύπου 2, που είναι θετικά σε αντισώματα (ICA και GAD) και των μη υπέρβαρων μεσήλικων που δεν αναπτύσσουν υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και ανταποκρίνονται αρχικά σε ινσουλινοεκκριτικά φάρμακα για περιορισμένο χρονικό διάστημα. Εκδηλώνεται, κυρίως, σε μεσήλικες και σε μη υπέρβαρα άτομα. Δεν απαιτείται άμεσα ινσουλίνη, έτσι αρχικά ξεκινά αντιμετώπιση με ινσουλινοεκκριτικά φάρμακα, προοπτικά, όμως, και γρήγορα εξαντλείται η β-κυτταρική έκκριση. [2]

1.1.2. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2

(Μη-ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης, ή διαβήτης τύπου 2 ή διαβήτης των ενηλίκων)

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 οφείλεται στην αδυναμία δράσης της ινσουλίνης λόγω υπερβολικού λίπους. Αποτελεί το 90% των περιπτώσεων του Σακχαρώδη Διαβήτη.

Χαρακτηρίζεται από:

- αντίσταση της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς ή/ και
- σχετική ή απόλυτη ανεπάρκεια έκκρισης ινσουλίνης των β-κυττάρων (γενετική

προδιάθεση). Εντούτοις, οριστικός γενετικός δείκτης δεν έχει εντοπιστεί.

Η ηλικία εκδήλωσης είναι άνω των 40 ετών σε άτομα υπέρβαρα, με έλλειψη άσκησης, με διατροφή πλούσια σε λιπαρά, με θετικό οικογενειακό ιστορικό Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, με αρτηριακή υπέρταση, με χαμηλή HDL χοληστερίνη (<35 mg/dl ή τριγλυκερίδια >250 mg/dl

και γυναίκες, που γέννησαν υπέρβαρα νεογνά >4Kg). Το 50% περίπου των ατόμων με ΣΔ2 δεν γνωρίζει ότι πάσχει από τη νόσο.

Η προτεινόμενη θεραπευτική αντιμετώπιση είναι απώλεια βάρους, σωματική άσκηση, αντιδιαβητικά δισκία και συχνά ινσουλίνη. [2]

1.1.3. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 3

(Άλλοι ειδικοί τύποι)

Τύποι Σακχαρώδη Διαβήτη γνωστής αιτιολογίας ταξινομούνται στην κατηγορία «άλλοι ειδικοί τύποι», που δεν μπορούν να καταταχθούν στις υπόλοιπες κατηγορίες (Holt, 2004. WHO [3], 1999), όπως:

Γενετικές ανωμαλίες της λειτουργίας των β-κυττάρων (MODY, Maturity Onset Diabetes in Young) [3] Γενετικές ανωμαλίες της δράσης της ινσουλίνης:

- Παχυσαρκία.
- Τύπος A αντίστασης: μείωση υποδοχέων της ινσουλίνης.
- (γυναίκες με υπερτρίχωση και πολυκυστικές ωθήκες)
- Τύπος B αντίστασης: αυτοαντισώματα έναντι του υποδοχέα ινσουλίνης [πρωτεϊνουρία, λευκοπενία ANA(+)].
- Μυοτονική δυστροφία.
- Λεπρεκωνισμός.

Γενετικά σύνδρομα σχετιζόμενα μερικές φορές με το Σακχαρώδη Διαβήτη:

- Θαλασσαιμίες.
- Prader-Willi.
- Laurence - Moon Biedl.

- Stiff Man.
- Down.
- Turner.
- Klinefelter.
- Friedreich's ataxia.
- Huntington's chorea.
- Πορφυρία.
- Σπάνιοι τύποι ανοσολογικού τύπου Σακχαρώδη Διαβήτη.

Διαβήτης ως δευτερογενές σύμπτωμα διαταραχής νοσημάτων του παγκρέατος (παγκρεατικοί νόσοι):

- Χρόνια παγκρεατίτιδα.
- Αιμοχρωμάτωση.
- Τραύμα/Παγκρεατεκτομή.
- Νεοπλασία.
- Ινωδολιθιασική παγκρεατοπάθεια.
- Κυστική ίνωση.
- Έλλειψη αϊ-αντιθρυψίνης.

[3]

1.4.4. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 4

(Διαβήτης κύησης)

Ο διαβήτης κύησης αποτελεί παθολογική κατάσταση ανοχής των υδατανθράκων, διαφόρου βαθμού, που έχει έναρξη ή εκδηλώνεται για 1η φορά, κατά τη διάρκεια της κύησης και κυρίως, κατά το δεύτερο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Πρόκειται για λειτουργική μη παθοφυσιολογική κατάσταση. Παρουσιάζεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης λόγω των πολλαπλών

μεταβολικών και ορμονολογικών αλλαγών, ο οποίος συνήθως εξαφανίζεται μετά τον τοκετό, με ένδειξη όμως για εμφάνιση Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 με το πέρασμα του χρόνου.

Γυναίκες με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και γυναίκες με αδιάγνωστο ασυμπτωματικό Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, που εκδηλώνεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ταξινομούνται σ' αυτή την κατηγορία. Οι περισσότερες γυναίκες με διαβήτη κύησης αναπτύσσουν υπεργλυκαιμία στο τελευταίο μισό της εγκυμοσύνης [3].

1.1.5. Διαβητικές Επιπλοκές

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης απαιτεί καθημερινή αντιμετώπιση, παρακολούθηση και ρύθμιση. Είναι πολύ σημαντικό να διατηρείται το επίπεδο γλυκόζης αίματος όσο το δυνατόν πιο κοντά στο φυσιολογικό για να απομακρύνεται ο κίνδυνος των μακροπρόθεσμων επιπλοκών του διαβήτη. Τα προβλήματα που προκαλεί ο διαβήτης μπορούν να προληφθούν με το κατάλληλο θεραπευτικό σχήμα, διατροφή και σωματική άσκηση.

Η ύπαρξη υψηλής τιμής γλυκόζης στο αίμα για μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε υπεργλυκαιμία, η οποία σε ορισμένα άτομα σχετίζεται με εκδήλωση επιπλοκών πολλά χρόνια μετά την αρχική διάγνωση του διαβήτη. Η χρόνια αύξηση του σακχάρου στο αίμα επηρεάζει τα μικρά και μεγάλα αγγεία με αποτέλεσμα να εκδηλώνονται οι επιπλοκές του διαβήτη, οι οποίες προλαμβάνονται με την επίτευξη γλυκαιμικής ρύθμισης [4].

Αναλυτικά, οι διαβητικές επιπλοκές περιγράφονται ως εξής:

- Η εκδήλωση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (ΔΑ) (αλλοιώσεις στο βυθό του οφθαλμού) στο Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 σχετίζεται με τη διάρκεια, τη χρονιότητα και την απορρύθμισή του.
- Η εκδήλωση της διαβητικής νεφροπάθειας (ΔΝ) (αλλοιώσεις λειτουργικές και μορφολογικές, στο νεφρό) στο Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 σχετίζεται με την αποβολή

λευκώματος (πρωτεΐνης) στα ούρα (μικρολευκωματινουρία, πρωτεϊνουρία). Η μικρολευκωματινουρία είναι ανάλογη της διάρκειας του Σακχαρώδη Διαβήτη. Μετά, όμως, από 15-20 χρόνια διάρκειας Σακχαρώδη Διαβήτη, η επίπτωση της μικρολευκωματινουρίας μειώνεται. Γενικότερα, οι αλλοιώσεις στους νεφρούς είναι αναστρέψιμες, σε αρχική φάση, με τη ρύθμιση του σακχάρου και με τη μείωση της υψηλής αρτηριακής πίεσης.

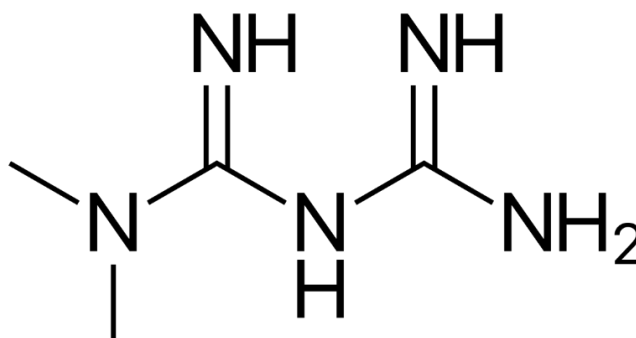
- Η εκδήλωση της διαβητικής νευροπάθειας (ΔΝ) (η αιτιολογία είναι σαφής) σχετίζεται με τη διάρκεια και το χρόνο του σακχαρώδη διαβήτη. Τα συμπτώματα αυτής της επιπλοκής είναι ποικίλα, αλλά η προοδευτική μείωση του πόνου και της θερμοκρασίας των ποδιών κυριαρχούν.
- Η διαβητική μικροαγγειοπάθεια.
- Η εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου (ΣΝ) προκύπτει συχνότερα σε διαβητικά άτομα.
- Η εκδήλωση αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ) στα άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και 2 παρουσιάζει ποσοστό 1,5-5,7%.
- Η εκδήλωση της περιφερικής αρτηριοπάθειας είναι 3,8 φορές συχνότερη στους άνδρες και 6,5 στις γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό. Το διαβητικό πόδι εκδηλώνεται ως αποτέλεσμα συνδυασμού αρτηριακής νόσου και νευροπάθειας και μπορεί να προκαλέσει μολύνσεις και έλκη στο πόδι και, σε σοβαρές περιπτώσεις, νέκρωση και γάγγραινα [5].

Στη παρούσα εργασία θα επικεντρωθούμε στον Διαβήτη τύπου 2 καθώς το πειραματικό μας πρωτόκολλο περιλαμβάνει τέτοιου είδους διαβητικούς ασθενείς.

1.1.6. Φαρμακευτική Αγωγή για Διαβήτη τύπου 2

Η φαρμακευτική αγωγή του διαβήτη τύπου 2 περιλαμβάνει μια πληθώρα κατηγοριών υπογλυκαιμικών παραγόντων με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης. Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότερες κατηγορίες και οι αντιπρόσωποι τους.

1. Διγουανίδες (*Biguanides*) (*Μετφορμίνη*)



Εικόνα 1: Χημικός τύπος μετφορμίνης

Οι διγουανίδες βοηθούν στην ελάττωση των επιπέδων γλυκόζης του αίματος μειώνοντας την ποσότητα αποθηκευμένης γλυκόζης που απελευθερώνεται από το συκώτι και επιβραδύνοντας την απορρόφηση γλυκόζης από το έντερο. Έτσι βοηθούν τον οργανισμό να καταστεί πιο ευαίσθητος στην ινσουλίνη. Οι παρενέργειες μπορεί να περιλαμβάνουν ναυτία, διάρροια και μεταλλική γεύση στο στόμα. Για να μειωθούν οι παρενέργειες, η αγωγή θα πρέπει να λαμβάνεται με γεύμα ή μετά το γεύμα. Χρειάζεται να γίνεται έναρξη της θεραπείας με χαμηλή δόση και η οποία να αυξάνεται σταδιακά. Η μετφορμίνη έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη συνολική θνησιμότητα των ατόμων με διαβήτη τύπου 2, περισσότερο όσο θα αναμενόταν αν λαμβάναμε υπόψιν μόνο την επίδραση που έχει στις μετρήσεις της γλυκόζης. Για το λόγο αυτό η μετφορμίνη συχνά θεωρείται ως η πρώτη επιλογή για τη διαχείριση του διαβήτη τύπου 2 [6]. Η μετφορμίνη δεν προξενεί γενικά αύξηση βάρους και μπορεί να βοηθήσει στην απώλειά του. Είναι συχνά το πρώτο φάρμακο για το διαβήτη που συνταγογραφείται για ανθρώπους με διαβήτη τύπου 2 που είναι υπέρβαροι. Η μετφορμίνη δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται από άτομα με σοβαρή ηπατική, νεφρική. Η μετφορμίνη μπορεί να χρειαστεί να διακόπτεται πριν

από χειρουργικές επεμβάσεις ή διαδικασίες που απαιτούν ένεση ακτινοαδιαφανούς χρωστικής ουσίας, όπως η στεφανιαία αγγειογραφία. Σπάνια συνταγογραφείται για γυναίκες που είναι έγκυες ή θηλάζουν. Η μετοφορμίνη μπορεί να χρειαστεί να συνδυάζεται με την κατηγορία χαπιών σουλφονουλourίας. Η μετοφορμίνη από μόνη της δεν προκαλεί υπογλυκαιμία, αλλά μπορεί να συμβάλλει στην υπογλυκαιμία όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με σουλφονουλourία [6].

2. Σουλφονουλourίες (*Γλυκλαζίδη, Γλιβενκλαμίδη, Γλιμεπερίδη/Gliclazide Glibenclamide, Glimepiride*)

Οι σουλφονουλourίες ελαττώνουν τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος διεγείροντας το πάγκρεας να εκκρίνει περισσότερη ινσουλίνη. Μπορούν να προκαλέσουν υπογλυκαιμία. Τα δισκία πρέπει να λαμβάνονται αμέσως πριν από ένα γεύμα [7]. Υπάρχει λιγότερος κίνδυνος υπογλυκαιμίας κατόπιν τακτικών γευμάτων κατά τη διάρκεια της ημέρας. Οι παρενέργειες μπορεί να περιλαμβάνουν αύξηση βάρους και σπανίως δερματικά εξανθήματα, στομαχικές διαταραχές και ίκτερο. Δεν θα πρέπει να λαμβάνονται από γυναίκες που είναι έγκυες ή θηλάζουν. Οι σουλφονουλourίες μπορεί να χρειαστεί να συνδυάζονται με χάπια μετοφορμίνης [7].

3. Θειαζολιδινεδιόνες (γλιταζόνες) (*Ροσιγλιταζόνη, Πιογλιταζόνη/Rosiglitazone, Pioglitazone*)

Οι θειαζολιδινεδιόνες βοηθούν στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης του αίματος αυξάνοντας την δράση της ινσουλίνης, ειδικά σε μυς και λιποκύτταρα, δηλαδή βελτιώνουν την ινσουλινοαντίσταση. Η επίδρασή τους είναι αργή αφού χρειάζονται ημέρες έως εβδομάδες για να αρχίσουν να επενεργούν και έναν έως δύο μήνες για πλήρη αποτελεσματικότητα. Λειτουργούν καλά σε συνδυασμό με ορισμένα από τα άλλα χάπια διαβήτη. Λαμβάνονται συνήθως ως μονοθεραπεία, δεν προκαλούν χαμηλά επίπεδα γλυκόζης του αίματος, ωστόσο αυτό μπορεί να συμβεί όταν λαμβάνονται με σουλφονουλιδίες [8]. Μια πιθανή παρενέργεια είναι η αύξηση του σωματικού βάρους. Το λίπος μετακινείται από περιοχές όπου είναι βλαβερό για την υγεία (γύρω από την κοιλιά) προς άλλες περιοχές όπως το άνω μέρος των μηρών, όπου ενέχει λιγότερους κινδύνους. Μια άλλη παρενέργεια είναι η κατακράτηση υγρών και ως εκ τούτου, οι γλιταζόνες θα πρέπει γενικά να αποφεύγονται από άτομα με καρδιακή ανεπάρκεια. Δεν θα πρέπει να λαμβάνονται αν είναι παρούσα ηπατοπάθεια ή σε περιπτώσεις εγκυμοσύνης ή θηλασμού. Συνιστάται να διενεργούνται τακτικοί έλεγχοι της ηπατικής λειτουργίας ιδιαίτερα κατά το πρώτο έτος της θεραπείας με αυτά τη κατηγορία φαρμάκων [8].

4. Μεγλιτινίδες (Ρεπαγλινίδη/Repaglinide)

Η Ρεπαγλινίδη ελαττώνει τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος διεγείροντας το πάγκρεας να εκκρίνει περισσότερη ινσουλίνη, αν και δεν έχουν χημική σχέση με τις σουλφονουλουρίες. Είναι ταχείας δράσης και βραχείας διάρκειας, επομένως ένα δισκίο λαμβάνεται πριν από κάθε γεύμα για να διεγείρει την ινσουλίνη να αντιμετωπίσει αυτό το γεύμα. Προσφέρουν ευελιξία για άτομα με ακανόνιστες διατροφικές συνήθειες, π.χ.: εργαζόμενους με βάρδιες. Μπορεί να προκαλέσουν υπογλυκαιμία. Άλλες παρενέργειες εκτός του χαμηλού επιπέδου γλυκόζης του αίματος είναι ασυνήθιστες αλλά μπορεί να περιλαμβάνουν στομαχικές διαταραχές και ανωμαλίες στις εξετάσεις ηπατικής λειτουργίας. Δεν πρέπει να λαμβάνονται από γυναίκες που είναι έγκυες ή θηλάζουν [9].

5. Αναστολείς της γλυκοσιδάσης άλφα (Ακαρβόζη/Acarbose)

Οι αναστολείς της γλυκοσιδάσης άλφα βοηθούν να επιβραδύνεται η πέψη και η απορρόφηση ορισμένων διατροφικών υδατανθράκων στο έντερο. Λαμβάνονται ως μονοθεραπεία και δεν προκαλούν υπογλυκαιμία. Οι παρενέργειες περιλαμβάνουν μετεωρισμό (αέρια), φούσκωμα και διάρροια. Χρειάζεται να γίνεται έναρξη της θεραπείας με χαμηλές δόσεις και να τις αυξάνετε αργά για να μειωθούν οι παρενέργειες. Χρειάζεται να λαμβάνονται αμέσως πριν από το φαγητό και δεν θα πρέπει να λαμβάνονται από γυναίκες που είναι έγκυες ή θηλάζουν [10].

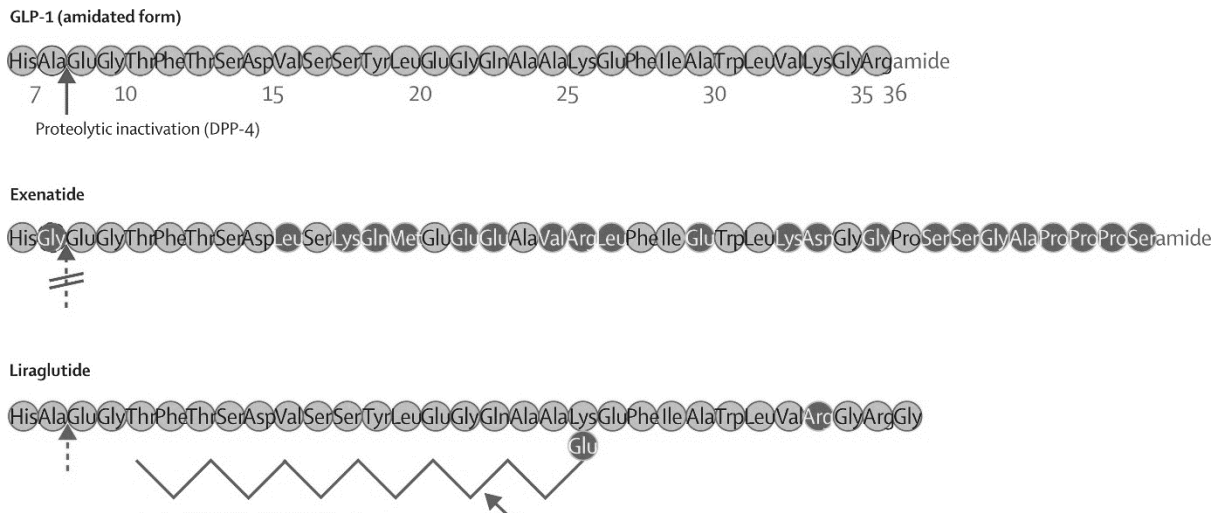
6. Αναστολείς DPP-4 (Σιταγλιπτίνη, Βιλδαγλιπτίνη/Sitagliptin, Vildagliptin)

Οι Αναστολείς DPP-4 ενισχύουν την ικανότητα του ίδιου του οργανισμού να μειώνει τη γλυκόζη του αίματος όταν είναι αυξημένη. Επενεργούν αναστέλλοντας το ένζυμο DPP-4, ενισχύοντας έτσι τα επίπεδα των ενεργών ινκρετινών ορμονών οι οποίες ελαττώνουν τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος αυξάνοντας την έκκριση ινσουλίνης και μειώνοντας την έκκριση γλυκαγόνης. Οι αναστολείς DPP-4 λειτουργούν μόνο όταν η γλυκόζη στο αίμα είναι αυξημένη, επομένως είναι απίθανο να προκληθεί υπογλυκαιμία. Όταν συνδυάζονται με σουλφονουλουρίες, η πιθανότητα υπογλυκαιμίας μπορεί να αυξηθεί. Επί του παρόντος, η σιταγλιπτίνη συνταγογραφείται όταν η υγιεινή διατροφή/τακτική σωματική δραστηριότητα και χρήση άλλου μεμονωμένου χαπιού δεν παρέχουν επαρκή έλεγχο της γλυκόζης του αίματος – και δεν είναι ανεκτή η προσθήκη άλλου είδους. Οι παρενέργειες της σιταγλιπτίνης μπορεί να περιλαμβάνουν συμπτώματα της ανώτερης αναπνευστικής οδού, πονοκέφαλο και ρινοφαρυγγίτιδα. Οι παρενέργειες της βιλνταγλιπτίνης μπορεί να περιλαμβάνουν πρήξιμο στα άκρα, αύξηση βάρους, ή εξάνθημα με φαγούρα. Η σιταγλιπτίνη έχει γενικά ουδέτερη επίδραση στο βάρος. Η σιταγλιπτίνη διατίθεται σε συνδυασμό σταθερής δόσης υπό την ονομασία Janumet. Δεδομένου ότι περιέχει μετοφορμίνη, το Janumet χρειάζεται να λαμβάνεται δύο φορές την ημέρα με γεύμα ή μετά το γεύμα. Οι αναστολείς DPP-4 δεν θα πρέπει να λαμβάνονται από γυναίκες που είναι έγκυες ή θηλάζουν ή άτομα ηλικίας κάτω των 18 ετών [11].

7. Μιμητικά ινκρετινών (Εξενατίδη, Λιραγλουτίδη/ Exenatide, Liraglutide)

Τα μιμητικά ινκρετινών (Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) agonist) είναι ενέσιμα φάρμακα. Μιμούνται τις επιδράσεις των «ινκρετινών ορμονών» του ίδιου του σώματος, οι οποίες βοηθούν στον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης του αίματος μετά τα γεύματα. Βοηθούν στη

μείωση των επιπέδων γλυκόζης του αίματος διεγείροντας το πάγκρεας να εκκρίνει περισσότερη ινσουλίνη και μειώνοντας την ποσότητα γλυκαγόνης που εκκρίνεται από το πάγκρεας μετά από ένα γεύμα. Η γλυκαγόνη είναι μια ορμόνη η οποία επιδρά αντίθετα από την ινσουλίνη και έτσι αυξάνει τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος επιβραδύνοντας τη διέλευση της τροφής από το στομάχι στο έντερο, έτσι ώστε τα τρόφιμα να απορροφώνται πιο αργά και σταθερά αυξάνοντας το αίσθημα πληρότητας (χορτασμού) μετά το φαγητό. Τα μιμητικά ινκρετινών δεν αποτελούν υποκατάστατο της ινσουλίνης για άτομα που χρειάζονται ινσουλίνη για την αντιμετώπιση του διαβήτη τους. Τα μιμητικά ινκρετινών μπορεί να μειώσουν την όρεξη, την ποσότητα τροφής που καταναλώνεται και το σωματικό βάρος. Τα μιμητικά ινκρετινών χορηγούνται με ένεση κάτω από το δέρμα (υποδόρια) στον μηρό, στην κοιλιά ή στους βραχίονες. Διατίθεται σε προγεμισμένο στυλό με σταθερή δοσολογία (χορηγείται η ίδια δόση σε κάθε άτομο) που περιέχει αρκετές δόσεις για 1 μήνα. Οι ενέσεις χορηγούνται συνήθως δύο φορές την ημέρα, εντός μιας ώρας πριν από τα γεύματα. Χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με μετφορμίνη ή σουλφονουλουρία. Όταν λαμβάνεται με μετφορμίνη, τα μιμητικά ινκρετινών συνήθως δεν προκαλούν χαμηλά επίπεδα γλυκόζης του αίματος, ωστόσο αυτό μπορεί να συμβεί όταν λαμβάνεται με σουλφονουλουρία. Οι παρενέργειες μπορεί να περιλαμβάνουν ναυτία, εμετό και διάρροια. Τα μιμητικά ινκρετινών δεν συνιστώνται για άτομα με σοβαρή γαστρεντεροπάθεια ή σοβαρή νεφροπάθεια. Αλλεργικές αντιδράσεις μπορεί να εμφανιστούν σε ορισμένα άτομα. Τα μιμητικά ινκρετινών δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται κατά την εγκυμοσύνη και είναι άγνωστο αν περνούν στο μητρικό γάλα. Τα μιμητικά ινκρετινών επιβραδύνουν την εκκένωση του στομάχου και μπορεί να επηρεάσουν τα επίπεδα ορισμένων φαρμάκων που χρειάζεται να περάσουν γρήγορα από το στομάχι [12].



Εικόνα 2: Χημικός τύπος GLP-1 αγωνιστών

2. Μετορμίνη

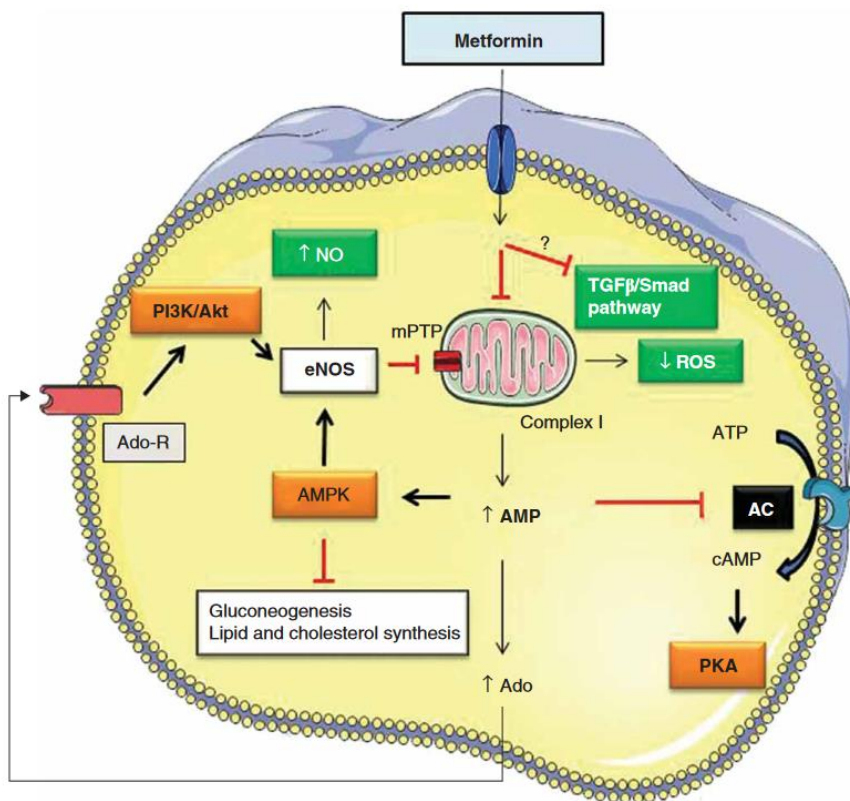
2.1. Η επίδραση της μετορμίνης στην Ισχαιμική Καρδιακή νόσο

Δεδομένα από τη βρετανική μελέτη πρόγνωσης του διαβήτη (UKPDS) υποδεικνύουν ότι 34 μελέτες έδειξαν ότι η μετορμίνη μείωσε τις κλινικές επιπλοκές - συμβάματα και τη θνησιμότητα που συνοδεύουν τον διαβήτη όχι μόνο σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο αλλά και σε ασθενείς που λάμβαναν ινσουλίνη ή σουλφονουλιδίες [13]. Από τότε η μετορμίνη θεωρείται το από του στόματος φάρμακο πρώτης γραμμής στη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2. Είναι ενδιαφέρον ότι η μετορμίνη ήταν ανώτερη από την ινσουλίνη και τη σουλφονουλιδίες στη μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, παρά το γεγονός ότι επέφεραν την ίδια μείωση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης A1c (HbA1c), γεγονός που υποδηλώνει πρόσθετες καρδιοπροστατευτικές δράσεις εκτός από τις αντιυπεργλυκαιμικές.

Παρόλα αυτά ο ενθουσιασμός για τον καρδιοπροστατευτικό ρόλο της μετορμίνης πρόσφατα καταρίφθηκε όταν η μελέτη GIPS-III ζ έδειξε ότι όταν η μετορμίνη χορηγείται για 4 μήνες σε μη διαβητικούς ασθενείς μετά από ανάσπαση του ST διαστήματος, δεν συσχετίστηκε με βραχυχρόνια βελτιωμένη λειτουργία της αριστερής κοιλίας [14].

2.2. Η επίδραση της μετφορμίνης στην αγγειακή λειτουργία

Αυξανόμενα στοιχεία δείχνουν ότι η μετφορμίνη ασκεί πολλές ευεργετικές επιδράσεις εκτός από εκείνες που σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την καρδιοπροστασία. Για παράδειγμα, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που διαδραματίζει ρόλο-κλειδί στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης-φλεγμονής, βελτιώνεται ακόμη και μετά τη βραχυχρόνια χορήγηση της μετφορμίνης, μέσω της αυξημένης διαθεσιμότητας NO και μέσω βελτίωσης της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής [15].



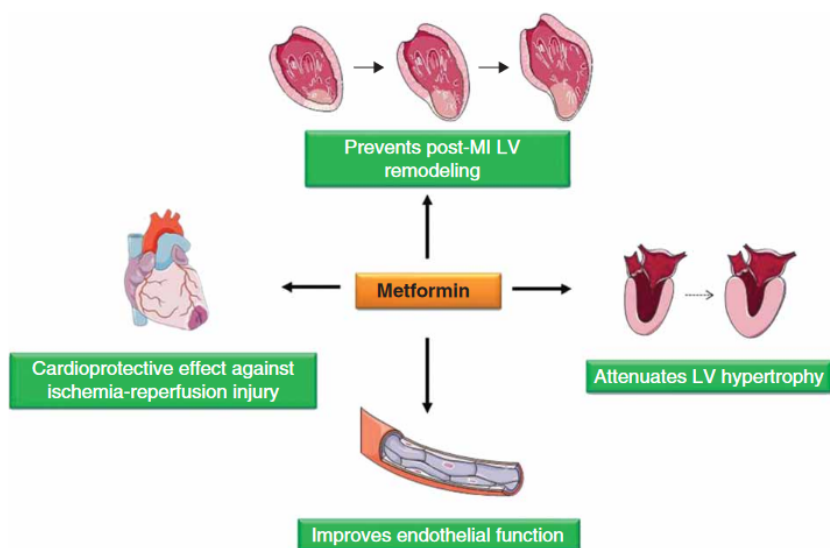
Εικόνα 3: Μηχανισμός δράσης της μετφορμίνης [15]

Σε τελευταία μελέτη περιλαμβάνονται γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, στις οποίες η μετφορμίνη μείωσε την αρτηριακή σκληρία, βελτιώνοντας έτσι σε συνολικό επίπεδο την αγγειακή λειτουργία. Η θεραπεία με μετφορμίνη σχετίζεται με βελτίωση της αθηροσκλήρυνσης, το θρομβρωτικό και φλεγμονώδες προφίλ του αίματος, καθώς επίσης μείωση των επιπέδων του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1, TNP-1 και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και αυξημένη συγκέντρωση

αδιπονεκτίνης [16]. Η επίδρασή της στα αιμοπετάλια εξακολουθεί να μην είναι πλήρως μελετημένη, με λίγες μελέτες να υποδηλώνουν μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, ενώ άλλες ανέφεραν ότι η μετοφορμίνη δεν είχε καμία επίδραση στην αιμοπεταλική λειτουργία [17].

Η αντιυπερτασική επίδραση της μετοφορμίνης επίσης αξίζει περαιτέρω έρευνα. Αν και παλαιότερες μελέτες πρότειναν ότι η μετοφορμίνη μειώνει την αρτηριακή πίεση [18, 19], μια πρόσφατη τυχαίοποιημένη μελέτη, που συμπεριλάμβανε παχύσαρκους υπερτασικούς ασθενείς χωρίς διαβήτη τύπου 2, δεν έδειξε καμία αλλαγή στην αρτηριακή πίεση στους ασθενείς που έλαβαν μετοφορμίνη [20].

Συμπερασματικά η μετοφορμίνη ξεκίνησε ως φάρμακο που προκαλεί ευαισθητοποίηση στην ινσουλίνη και είναι σήμερα φάρμακο πρώτης εκλογής στη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2. Ωστόσο, το σύνολο των δεδομένων που συσσωρεύτηκαν τα τελευταία 20 χρόνια έδειξε ότι η μετοφορμίνη έχει πολλά άλλα ευεργετικά αποτελέσματα που σχετίζονται με το μεταβολικό προφίλ και το καρδιαγγειακό σύστημα. Πράγματι, μπορεί όχι μόνο να αναστρέψει την πρόοδο μιας προ-διαβητικής κατάστασης, αλλά μπορεί επίσης να αποτρέψει τις προοδευτικές ανατομικές και λειτουργικές μεταβολές που συνοδεύουν το διαβήτη, συμβάλλοντας στη βελτίωση των συστολικών και διαστολικών λειτουργιών του μυοκαρδίου. Επιπλέον, η μετοφορμίνη φαίνεται να διαδραματίζει έναν πολλά υποσχόμενο ρόλο την πρόληψη της βλάβης από ισχαιμία/επαναιμάτωση που σχετίζεται με οξεία στεφανιαία σύνδρομα - ένα φαινόμενο που είναι ακόμη πιο έντονο σε διαβητικούς ασθενείς. Τα κυτταρικά και υποκυτταρικά μονοπάτια υπεύθυνα για τα αποτελέσματα αυτά εξακολουθούν να διερευνούνται. Κυριότερο αποτελεί το μονοπάτι της AMP-ενεργοποιούμενης πρωτεϊνικής κινάσης AMPK. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την διερεύνηση του πλήρους μηχανισμού της μετοφορμίνης [21].



Εικόνα 9: Συνοπτική παρουσίαση των στόχων δράσεων της μετοφορμίνης στο καρδιαγγειακό [120]

3. Λιραγλουτίδη

3.1. Παχυσαρκία

Το 2013, η παχυσαρκία ταξινομήθηκε ως ασθένεια από την Αμερικανική Ιατρική Ένωση [22]. Κατά την περίοδο 2011-2012, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας στις ΗΠΑ ήταν 17% στη νεολαία και 35% στους ενήλικες και ο εκτιμώμενος επιπολασμός των παχύσαρκων ατόμων ήταν 13% (600 εκατομμύρια) παγκοσμίως. Δεδομένου ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα συννοσηροτήτων, υπάρχει επείγουσα ανάγκη για νέες στρατηγικές θεραπείας [23]. Με την ανακάλυψη της δυνατότητας των αγωνιστών του υποδοχέα γλυκαγονόμορφου πεπτιδίου 1 (Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists, GLP-1 RAs) όχι μόνο για μείωση της γλυκόζης αίματος αλλά και μείωση του σωματικού βάρους [24], μια εντελώς νέα προοπτική για τον GLP-1 και τους GLP-1 RAs έχει καθιερωθεί. Ο GLP-1 RA λιραγλουτίδη (Victoza™) εγκρίθηκε για τη θεραπεία του T2DM στην Ευρώπη το 2009 ως πρόσθετη θεραπεία σε άλλα αντιδιαβητικά φάρμακα συμπεριλαμβανομένης της ινσουλίνης και στις ΗΠΑ το 2010 ως μονοθεραπεία μία φορά την ημέρα ή ως πρόσθετη θεραπεία με άλλους από του στόματος αντιδιαβητικούς παράγοντες. Το 2014 ο Αμερικανικός Οργανισμός Φαρμάκων [25] ενέκρινε

τη λιραγλουτίδη [25] για τη χρόνια διαχείριση βάρους επιπλέον της διατροφής με μειωμένες θερμίδες και της σωματικής άσκησης και το 2015 ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA) ενέκρινε τη λιραγλουτίδη για τη διαχείριση βάρους [25-27]. Το φάρμακο έχει εγκριθεί για χρήση στους ενήλικες με BMI 30 kg/m^2 ή μεγαλύτερο (παχυσαρκία) ή 27 kg/m^2 ή περισσότερο (υπέρβαρο) με την παρουσία τουλάχιστον μίας συννοσηρότητας που σχετίζεται με το βάρος, όπως υπέρταση, T2DM, δυσλιπιδαιμία ή αποφρακτική άπνοια ύπνου. Η δόση θα είναι 3,0 mg ημερησίως σε αντίθεση με το 1,2 ή 1,8 mg ημερησίως για τη διαχείριση του T2DM [25, 26]. Με την αναγνώριση του GLP-1 και των αναλόγων του όχι μόνο ως ισχυρούς διεγέρτες της μεσολαβούμενης από γλυκόζη έκκρισης ινσουλίνης, αλλά και ως κλινικά σχετιζόμενους παράγοντες μείωσης του σωματικού βάρους, φαίνεται ότι είμαστε ένα βήμα πιο κοντά στη στόχευση της υποκείμενης κοινής παθοφυσιολογίας του T2DM και της παχυσαρκίας [28, 29].

3.2. Η φυσιολογία του GLP-1

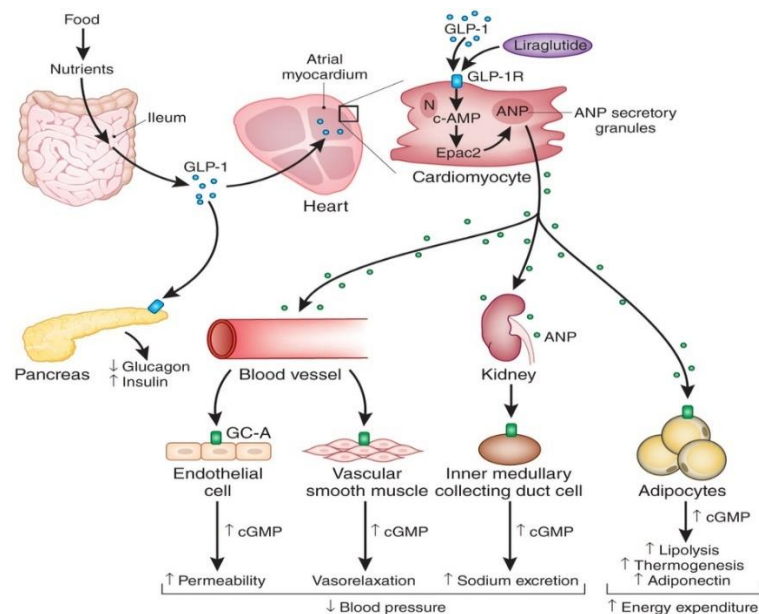
Το GLP-1 είναι μία πεπτιδική ορμόνη 30 αμινοξέων η οποία παράγεται και απελευθερώνεται από τα ενδοκρινικά L-κύτταρα στο εντερικό επιθήλιο μέσω του γονιδίου του προγλυκογόνου που εκφράζεται σε αυτά τα κύτταρα. Το γονίδιο του προγλυκογόνου εκφράζεται επίσης στα ακύτταρα του παγκρέατος και σε ορισμένους νευρώνες στο στέλεχος του εγκεφάλου. Στο πάγκρεας, η γλυκαγόνη, το σχετιζόμενο με γλυκεντίνη παγκρεατικό πολυπεπίδιο και το μείζον ανενεργό θραύσμα του proglucagon σχηματίζονται. Στα L-κύτταρα του εντέρου και στον εγκέφαλο, σχηματίζεται η γλυκεντίνη, το GLP-1 και το GLP-2. Με την πρόσληψη τροφής, τα θρεπτικά συστατικά στον αυλό του εντέρου διεγείρουν τα L-κύτταρα τα οποία εκκρίνουν το GLP-1 στα τριχοειδή αγγεία του εντερικού βλεννογόνου. Ωστόσο, μικρό ποσοστό του GLP-1 φτάνει άθικτο στη συστηματική κυκλοφορία λόγω άμεσης αποικοδόμησης από την αμινοπεπτιδάση DPP-4 στα τριχοειδή του βλεννογόνου (~ 75%) ακολουθούμενη από επιπλέον αποικοδόμηση (40-50%) στο ήπαρ [30].

Ο υποδοχέας GLP-1 είναι ένας μεμβρανικός GPCR υποδοχέας συζευγμένος με αδενυλική κυκλάση [30]. Ο υποδοχέας GLP-1 κατανέμεται ευρέως στο πάγκρεας, στο έντερο, τον εγκέφαλο, την καρδιάς τους νεφρούς, το λιπώδη ιστό και άλλα όργανα, αν και η λειτουργία του δεν είναι γνωστή για όλα αυτά τα όργανα.

Ωστόσο, η παγκρεατική δράση του GLP-1 είναι καλώς μελετημένη και συχνά, μαζί με τη δράση του ανασταλτικού γαστρικού πολυπεπτιδίου (GIP), αναφέρεται ως «η επίδραση της ινκρετίνης». Παρουσία υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης, η πρόσδεση GLP-1 στους υποδοχείς των β-κυττάρων οδηγεί σε αυξημένο cAMP ενδοκυτταρικά οδηγώντας σε μια πληθώρα δράσεων που οδηγούν σε έκκριση ινσουλίνης. Στα παγκρεατικά άλφα κύτταρα, το GLP-1 αναστέλλει την έκκριση γλυκογόνου. Στο γαστρεντερικό σωλήνα, το GLP-1 επιβραδύνει την κινητικότητα του εντέρου και την γαστρική κένωση και καθυστερεί την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών στο γαστρεντερικό σωλήνα. Συνολικά, οι ενέργειες αυτές διασφαλίζουν ότι μετά το φαγητό τα επίπεδα γλυκόζης είναι περιορισμένα και μάλλον ανεξάρτητα από το μέγεθος και τη σύσταση του γεύματος [30]. Η καθυστερημένη γαστρική εκκένωση που προκαλείται από το GLP-1 αντιπροσωπεύει την ανασταλτική παλίνδρομη ρύθμιση της γαστρεντερικής διέλευσης μέσω ορμονών που προέρχονται από το έντερο, η οποία επιτυγχάνεται από την παρουσία θρεπτικών συστατικών στον αυλό του εντέρου. Άλλα γαστρεντερικά πεπτίδια όπως GIP, χοληκυστοκινίνη, GLP-2 και GLP-2 το πεπτίδιο YY (PYY) μπορεί επίσης να συμβάλουν σε αυτό το αποτέλεσμα. Σε συνδυασμό με το PYY, το GLP-1 καταστέλλει, με συνεργιστικό τρόπο, την έκκριση οξέος που διεγείρεται από γαστρίνη. Επιπλέον, μελέτες με συνεχή έγχυση φυσικού GLP-1 δείχνουν ότι η αύξηση των δόσεων του GLP-1 μειώνει τη γλυκόζη νηστείας με γραμμικό τρόπο. Το GLP-1 έχει βασικό ρόλο στη σηματοδότηση του κορεσμού. Το αποτέλεσμα μπορεί να επιτευχθεί μέσω της ενεργοποίησης τόσο των περιφερειακών όσο και των κεντρικών υποδοχέων GLP-1. [31]

Μελέτες που αξιολογούν τόσο συστηματική (ενδοφλέβια ή περιτοναϊκή) όσο και

ενδοεγκεφαλοκοιλιακή χορήγηση του GLP-1 σε τρωκτικά έχουν καταδείξει την καταστολή της όρεξης [32, 33]. Το κατά πόσο η περιφερειακά απελευθερούμενη GLP-1 προκαλεί κεντρική δράση ή οι κεντρικές δράσεις προκύπτουν από GLP-1 απελευθερούμενο εντός του εγκεφάλου παραμένει ασαφές. Μια άλλη θεωρία για τις κεντρικές δράσεις του περιφερικά απελευθερούμενου GLP-1 υποδηλώνει ότι το περιφερικό GLP-1 ενεργοποιεί τους υποδοχείς GLP-1 που βρίσκεται σε νευρικούς προσαγωγούς νευρώνες που προέρχονται από το οζώδες γάγγλιο (όπου το mRNA του υποδοχέα βρίσκεται σε μεγάλο αριθμό κυττάρων) στον εντερικό βλεννογόνο καθώς και ίσως στην πυλαία φλέβα και το ήπαρ, αν και πρόσφατη αναφορά έδειξε ότι ο ηπατικός κλάδος του πνευμονογαστρικού νεύρου δεν είναι απαραίτητος για αυτές τις δράσεις. Αυτοί οι αισθητικοί προσαγωγοί νευρώνες με τη σειρά τους ενεργοποιούν άλλους νευρώνες στον πυρήνα της απομονωμένης οδού που προβάλλει τον υποθάλαμο. Ο υποθάλαμος δημιουργεί τότε καθοδικά ερεθίσματα που διεγείρουν ή αναστέλλουν τους κινητικούς νευρώνες του πνευμονογαστρικού στο πάγκρεας και τον γαστρεντερικό σωλήνα, με αποτέλεσμα την έκκριση ινσουλίνης και μειωμένη γαστρική κινητικότητα [30].



Εικόνα 10: Επίδραση του GLP-1 στα διάφορα όργανα στόχους [34]

3.3. Φαρμακοκινητικές ιδιότητες της λιραγλουτίδης

Η λιραγλουτίδη έχει 97% ομολογία με το ανθρώπινο φυσικό GLP-1. Μία απλή υποκατάσταση αμινοξέων της λυσίνης με αργινίνη στη θέση 34 και πρόσδεση αλυσίδας C16 λιπαρού οξέος στη λυσίνη στη θέση 26 εξασφαλίζει προστασία από την αποικοδόμηση από το ένζυμο διπεπτιδύλο πεπτιδάση-4 (DPP-4). Η δέσμευση στην αλβουμίνη οδηγεί σε πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από ότι το ενδογενές GLP-1 (~ 11-13 ώρες μετά από sc. χορήγηση έναντι 1-2 λεπτά μετά την ενδοφλέβια χορήγηση) και συνεπώς απαιτείται μόνο μία δόση ημερησίως [35, 36]. Η θεραπεία με λιραγλουτίδη αρχίζει με 0,6 mg ημερησίως, αυξάνοντας σε 1,2 mg ημερησίως μετά από 1 εβδομάδα. Εάν είναι καλώς ανεκτή, η δοσολογία μπορεί να αυξηθεί σε 1,8 mg ημερησίως για να επιτευχθεί καλύτερος έλεγχος της γλυκόζης στο αίμα (και καλύτερη επίδραση στο σωματικό βάρος) [37]. Προτείνεται αργή τιτλοδότηση για τη μείωση των γαστρεντερικών ανεπιθύμητων ενεργειών, εκ των οποίων η ναυτία είναι η πιο διαδεδομένη. Η λιραγλουτίδη μεταβολίζεται με τρόπο παρόμοιο με εκείνον των μεγάλων πρωτεϊνών, χωρίς κάποιο συγκεκριμένο όργανο να αναγνωρίζεται ως κυρίαρχο για την απομάκρυνση, αν και οι νεφροί παίζουν σημαντικό ρόλο. Το φύλο, η ηλικία, η φυλή, η εθνικότητα και ο ΔΜΣ δεν έχουν κλινικά σημαντικές επιδράσεις στο φαρμακοκινητικό προφίλ σύμφωνα με αποτελέσματα πληθυσμιακών μελετών φαρμακοκινητικής. Κατά συνέπεια, σε μια ομάδα παιδιών ηλικίας T2DM ηλικίας 10-17 ετών, η λιραγλουτίδη (0,6-1,8 mg / ημέρα) ήταν καλώς ανεκτή, προκάλεσε σημαντικές μειώσεις στην HbA1c και είχε φαρμακοκινητική παρόμοια με εκείνη των ενηλίκων [35-37].

In vitro, η λιραγλουτίδη έδειξε πολύ χαμηλή πιθανότητα φαρμακοκινητικών αλληλεπιδράσεων που σχετίζονται με το κυτόχρωμα P450 (CYP). Αν και η λιραγλουτίδη σε κάποιο βαθμό καθυστερεί τη γαστρική εκκένωση και επομένως τον ρυθμό απορρόφησης των από του στόματος φαρμάκων, μελέτες δεν έδειξαν κλινικά σχετικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της λιραγλουτίδης σε σταθερή κατάσταση (1,8 mg / ημέρα) και εφάπαξ δόσεις ινσουλίνης detemir,

απορβαστατίνης, παρακεταμόλης, διγοξίνης, λισινοπρίλης ή από του στόματος αντισυλληπτικών. [35-37].

3.4. Θεραπευτικές επιδράσεις της λιραγλουτίδης

3.4.1. Δοκιμές Διαβήτη τύπου 2

Η αποτελεσματικότητα της λιραγλουτίδης μία φορά την ημέρα (1,2 ή 1,8 mg) ως μονοθεραπεία ή ως πρόσθετη θεραπεία έχει καθοριστεί σε πολλές μεγάλες πολυκεντρικές δοκιμές φάσης III. Το πρόγραμμα LEAD συμπεριέλαβε έξι τυχαιοποιημένες διπλά τυφλές δοκιμές σε περισσότερες από 40 διαφορετικές χώρες. Σε αυτό το πρόγραμμα, η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της λιραγλουτίδης αξιολογήθηκαν εκτενώς ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με διαφορετικά από του στόματος αντιδιαβητικά, καθώς και με ινσουλίνη γλαργίνη και εξενατίδη. Καθώς η ροσιγλιταζόνη αποσύρθηκε από την αγορά [38], η σύγκριση της ροσιγλιταζόνης στο LEAD-1 και στο LEAD-4 θα αναφερθούν μόνο εν ολίγοις. Ωστόσο, τα αποτελέσματα από τις μεγάλες πολυεθνικές μελέτες που συγκρίνουν λιραγλουτίδη με άλλους GLP-1 RAs όπως η λιξαζαζίδη, αλβιγλουτίδη και δουλαγλουτίδη συζητούνται παρακάτω.

3.4.2. Λιραγλουτίδη σε σύγκριση με τα από του στόματος αντιδιαβητικά φάρμακα (OADs)

Η λιραγλουτίδη βελτίωσε τον γλυκαιμικό έλεγχο και μείωσε το σωματικό βάρος και τη συστολική αρτηριακή πίεση (SBP) σε συνδυασμό με μετφορμίνη, glimeperide και μετφορμίνη / ροσιγλιταζόνη. Σε όλες τις μελέτες, η συνολική μείωση της HbA1c ήταν 0,8-1,5% σε ασθενείς με μέση αρχική τιμή HbA1c 8,2-8,5%. Η μείωση ήταν στις περισσότερες περιπτώσεις μεγαλύτερη ή τουλάχιστον παρόμοια με τα από του στόματος αντιδιαβητικά φάρμακα. Έτσι, η λιραγλουτίδη 1,8 mg σε συνδυασμό με τη γλιμεπιρίδη [39] μείωσε την HbA1c σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι το εικονικό φάρμακο (ή ροσιγλιταζόνη). Στη δοκιμή LEAD-2, το liraglutide σε συνδυασμό με μετφορμίνη μείωσε την HbA1c αποτελεσματικά όπως η γλιμεπιρίδη συν

μετορμίνη και ο γλυκαιμικός έλεγχος διατηρήθηκε μετά από 2 χρόνια [40]. Στη μελέτη LEAD-3, η λιραγλουτίδη 1,8 mg βελτίωσε τον γλυκαιμικό έλεγχο σημαντικά σε σχέση με τη γλιμεπιρίδη. Επίσης, η μείωση της HbA1c από την αρχική τιμή ήταν σημαντικά μεγαλύτερη με τη λιραγλουτίδη 1,8 mg από ό, τι με 1,2 mg με διαφορά 0,29% ($p = 0,0046$) [41]. Επιπλέον, η μονοθεραπεία με λιραγλουτίδη για 2 χρόνια παρείχε σημαντική επίδραση και διατηρημένη βελτίωση στο γλυκαιμικό έλεγχο σε σύγκριση με μονοθεραπεία με γλιμεπιρίδη και χαμηλότερο κίνδυνο υπογλυκαιμίας [42]. Συνολικά, το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν τους κατά την Αμερικανική Ένωση Διαβήτη (ADA) στόχους για HbA1c $<7\%$ ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στην ομάδα λιραγλουτίδης από ό, τι στις ομάδες εικονικού φαρμάκου [42]. Όσον αφορά τη γλυκόζη πλάσματος νηστείας (FPG), οι μειώσεις ήταν σημαντικά μεγαλύτερη με μονοθεραπεία με λιραγλουτίδη σε σύγκριση με τη γλιμεπιρίδη. Και πάλι το αποτέλεσμα ήταν εξαρτώμενο από τη δόση, με περισσότερο διακριτή επίδραση με 1,8 mg από ό, τι με 1,2 mg. Σε συνδυασμό με ένα ή δύο OAD, η μείωση του FPG ήταν μεγαλύτερη από το εικονικό φάρμακο [41]. Η λιραγλουτίδη προκάλεσε απώλεια βάρους 2-3 κιλών σε σύγκριση με τις ομάδες που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Μια σημαντική και η παρατεταμένη μείωση του βάρους με τη λιραγλουτίδη 1.8 mg καταγράφηκε σε σύγκριση με γλιμεπιρίδη ($-2,7$ kg έναντι $+ 0,95$ kg; $p < 0.0001$) [41]. Και πάλι, η απώλεια βάρους με λιραγλουτίδη τείνει να εξαρτάται από τη δόση τόσο στη μονοθεραπεία όσο και σε συνδυασμό με OADS [42, 43]. Τέλος, η θεραπεία με λιραγλουτίδη συσχετίστηκε με σημαντική μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης σε σύγκριση με τις ομάδες που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Έτσι σε μια μελέτη 52 εβδομάδων (LEAD-3), η Σ.Α.Π. μειώθηκε κατά 3,6 mmHg σε αντίθεση με 0,7 mmHg με γλιμεπιρίδη. Επιπλέον, η μείωση παρατηρήθηκε πριν από την απώλεια βάρους και συνεπώς είναι ανεξάρτητη από τη μείωση βάρους [41]. Μείωση στη Σ.Α.Π. με λιραγλουτίδη παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με από του στόματος αντιδιαβητικά φάρμακα [42, 43]. Σε μία τυχαίοποιημένη, παράλληλης-ομάδας ανοιχτού τύπου κλινική

μελέτη σε συνδυασμό με μετφορμίνη, η προσθήκη λιραγλουτίδης σε δόσεις 1,8 mg / ημέρα ήταν σημαντικά πιο αποτελεσματική από την προσθήκη σιταγλιπτίνης 100 mg / ημέρα όσον αφορά στην βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου και τη μείωση του σωματικού βάρους [44, 45].

3.4.3. Η λιραγλουτίδη σε σύγκριση με την ινσουλίνη

Στην LEAD-5, προσθέτοντας λιραγλουτίδη στη μετφορμίνη συν γλιμεπιρίδη βελτιώθηκαν τα επίπεδα HbA1c περισσότερο από ό, τι προσθέτοντας εικονικό φάρμακο ή ινσουλίνη glargine την 26^η εβδομάδα. Επίσης, η προσθήκη λίγαρουτιδίου ήταν σημαντικά πιο αποτελεσματική από το πρόσθετο εικονικό φάρμακο ή προσθήκη ινσουλίνης glargine στη μείωση του FPG (αλλά όχι σημαντικά vs ινσουλίνη glargine), καθώς και την επίτευξη επιπέδων στόχων HbA1c. Στην ομάδα προσθήκης λιραγλουτίδης, η μέση τιμή SBP βελτιώθηκε σημαντικά από ό, τι στην ομάδα προσθήκης ινσουλίνης glargine (διαφορά θεραπείας, <4.51 mmHg, $p = 0.0001$) αλλά όχι έναντι του εικονικού φαρμάκου. Όσον αφορά την απώλεια βάρους, η λιραγλουτίδη ήταν ανώτερη από την ινσουλίνη glargine, με μια μέση διαφορά βάρους <3,43 kg, $p < 0,0001$. Σε μια τυχαιοποιημένη, παράλληλης ομάδας, ανοικτή δοκιμή που συμπεριέλαβε άτομα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με T2DM με μετφορμίνη + σουλφονουλουρία με HbA1c επίπεδα 7,5-12% δόθηκαν τυχαία για 24 εβδομάδες ινσουλίνη glargine ή liraglutide 1,8 mg ημερησίως [46]. Η προσθήκη ινσουλίνης glargine ή liraglutide σε ασθενείς με ανεπαρκή γλυκαιμικό έλεγχο μείωσε σημαντικά την HbA1c, με σχεδόν το ήμισυ των ατόμων να φτάνουν στο στόχο των 7%. Κατά τη σύγκριση της ομάδας προσθήκης λιραγλουτίδης με την ομάδα που έλαβε ινσουλίνη glargine, η ινσουλίνη glargine ήταν ελαφρώς πιο αποτελεσματική στην ελάττωση της HbA1c (μέση διαφορά, > 0.15%, $p = 0.019$) και τα αυτοελεγχόμενα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ήταν χαμηλότερα στην ινσουλίνη glargine συγκριτικά με την ομάδα liraglutide (μέση

διαφορά, 1,5 mmol / l; $p < 0,001$). Ωστόσο, στην ομάδα λιραγλουτίδης επιτεύχθηκε σημαντικότερη μείωση σωματικού βάρους (μέση διαφορά, 5kg, $p < 0,001$), καθώς και μείωση της SBP (μέση μείωση στην ομάδα liraglutide ήταν $> 3,1$ mmHg, ενώ δεν υπήρχαν αλλαγές παρατηρήθηκαν στην ομάδα της ινσουλίνης glargine) [47].

3.4.4. Δοκιμές παχυσαρκίας

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, η λιραγλουτίδη έχει δυνατότητα μείωσης του βάρους. Συνεπώς, παρατηρήθηκε σταθερά απώλεια βάρους σε όλες τις κύριες κλινικές δοκιμές Φάσης III LEAD 1-6, καθώς και σε άλλες δοκιμές T2DM μεγάλης κλίμακας . Επιπλέον, μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε παχύσαρκους μη διαβητικούς ασθενείς θα συζητηθούν παρακάτω.

Σε μια διπλή-τυφλή ελεγχόμενη με ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη 20 εβδομάδων με 564 άτομα με μη διαβητικούς παχύσαρκους (BMI 30-40 kg / m²), συμμετέχοντες χορηγήθηκαν λιραγλουτίδη (1,2, 1,8, 2,4 ή 3,0 mg ημερησίως), ορλιστάτη 120 mg 3 φορές ημερησίως ή εικονικό φάρμακο, επιπλέον της δίαιτας χαμηλών θερμίδων και άσκησης. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, τα άτομα που τυχαιοποιήθηκαν στη λιραγλουτίδη εμφάνισαν σημαντική και δοσοεξαρτώμενη απώλεια βάρους από τα άτομα της ομάδας ορλιστάτης ή εικονικού φαρμάκου. Επίσης, ο επιπολασμός του προδιαβήτη ήταν σημαντικά μειωμένος στα άτομα που έλαβαν λιραγλουτίδη. Ο προδιαβήτης ορίστηκε είτε ως μειωμένη FPG (5,6-6,9 mmol / l) είτε ως εξασθενημένη ανοχή γλυκόζης (7,8-11,0 mmol / l). Επιπλέον, η λιραγλουτίδη 2,4 mg μείωσε τη ΣΒΠ σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό από ό, τι στην ομάδα ελέγχου ($> 8,8$ και $> 4,0$ mmHg, αντίστοιχα. $p = 0,015$) [24].

Μια μελέτη παρακολούθησης κατέδειξε ότι η αποτελεσματικότητα της λιραγλουτίδης σε σχέση με την απώλεια βάρους διατηρήθηκε για 2 χρόνια. Θα πρέπει να τονιστεί ότι μετά από ένα χρόνο, οι συμμετέχοντες άλλαξαν λιραγλουτίδη 2,4 ή 3,0 mg ημερησίως - δόσεις σημαντικά υψηλότερες από αυτά που συνιστώνται για τη θεραπεία του διαβήτη. Επιπλέον, σε

παχύσαρκους με προδιαβήτη, η ανοχή στη γλυκόζη επανήλθε σε φυσιολογικά επίπεδα στην πλειοψηφία μετά από 2 χρόνια, υποδηλώνοντας ότι η θεραπεία με GLP-1 RA μπορεί στην πραγματικότητα να προστατεύσει έναντι του T2DM σε αυτόν τον πληθυσμό υψηλού κινδύνου [48].

Η μελέτη SCALE αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα της λιραγλουτίδης στη διατήρηση της απώλειας βάρους που επιτυγχάνεται με δίαιτα περιορισμένων θερμίδων. Σε αυτή τη μελέτη, 422 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε λιραγλουτίδη 3,0 mg ημερησίως ή εικονικό φάρμακο για 56 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν 6,2% μείωση στο σωματικό βάρος στην 56^η εβδομάδα, σε σύγκριση με το 0,2% με το εικονικό φάρμακο. Επιπλέον, οι περισσότεροι ασθενείς που έλαβαν λιραγλουτίδη (81,4%) διατήρησαν την απώλεια βάρους από ότι όσοι έλαβαν εικονικό φάρμακο (48,9%, εκτιμώμενος λόγος πιθανότητας, 4,8, $p < 0,001$) [49]. Η κλινική μελέτη φάσης IIIa SCALE για παχυσαρκία και προδιαβήτη έδειξε μεγαλύτερη απώλεια σωματικού βάρους (9,2% από την αρχική τιμή έναντι 3,5% με εικονικό φάρμακο, εκτιμώμενη διαφορά 5,7%. $p < 0,0001$). Όλες οι ομάδες θεραπείας ακολούθησαν δίαιτα περιορισμένων θερμίδων και αυξήθηκαν τα επίπεδα σωματικής δραστηριότητάς τους. Τα αποτελέσματα από τη μελέτη SCALE για παχυσαρκία και διαβήτη αποκάλυψαν ότι η λιραγλουτίδη σε δόσεις 3,0 mg/ημέρα, σε συνδυασμό με δίαιτα και φυσική δραστηριότητα, κατέδειξε στατιστικά σημαντική απώλεια βάρους σε 56 εβδομάδες σε ενήλικες με παχυσαρκία και T2DM, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (5,9% της βασικής γραμμής σωματικού βάρους με λιραγλουτίδη 3,0 mg έναντι 4,6% με λιραγλουτίδη 1,8 mg και 2,0% με εικονικό φάρμακο) [50].

3.4.5. Καρδιαγγειακή ασφάλεια

Σε όλες τις μελέτες T2DM η θεραπεία με λιραγλουτίδη έχει συνδεθεί με σημαντική αύξηση του καρδιακού παλμού (έως +4 παλμούς/λεπτό). Ωστόσο, σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με γλιμεπιρίδη (+1,6 παλμούς/λεπτό, $p > 0,05$) [41] και δελαγλουτίδη (+3,1, παλμούς/λεπτό $p > 0,05$), δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στη μεταβολή του καρδιακού ρυθμού. Επίσης σε μια

ακόμη κλινική μελέτη, όπου πραγματοποιήθηκε σύγκριση με την ορλιστάτη, η λιραγλουτίδη κατάφερε να αυξήσει τον καρδιακό ρυθμό [24]. Ωστόσο, όσον αφορά την αρτηριακή πίεση, η θεραπεία με λιραγλουτίδη έχει αποδειχθεί ότι μειώνει σημαντικά την συστολική αρτηριακή πίεση σε σημαντικό βαθμό σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, τη γλιμεπιρίδη και την ινσουλίνη-γλαργίνη [41, 47]. Επίσης, 2,4 mg λιραγλουτίδης αποδείχθηκε ότι μειώνουν την συστολική αρτηριακή πίεση κατά 8,8 mmHg σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Σε σύγκριση με άλλους αγωνιστές του GLP-1, η λιραγλουτίδη παρείχε παρόμοια αποτελέσματα στη μείωση της αρτηριακής πίεσης [51]. Οι μηχανισμοί πίσω από αυτές τις καρδιαγγειακές επιπτώσεις είναι ασαφείς, αλλά έχει προταθεί ότι η μείωση της πίεσης του αίματος προκαλείται από τη αγγειοδιαστολή που προκαλείται από την έκκριση της μεταγευματικής ινσουλίνης και η αύξηση του καρδιακού ρυθμού μπορεί να είναι ένα δευτερογενές αποτέλεσμα λόγω αυτής της δράσης [52]. Επιπλέον, η GLP-1 έχει άμεση αγγειοδιασταλτική δράση [53, 54], καθώς οι υποδοχείς GLP-1 έχουν εντοπιστεί στα καρδιομυοκύτταρα του φλεβόκομβου. Το γεγονός αυτό μπορεί εν μέρει να εξηγήσει την αύξηση του καρδιακού ρυθμού κατά τη διάρκεια της θεραπείας με λιραγλουτίδη [53].

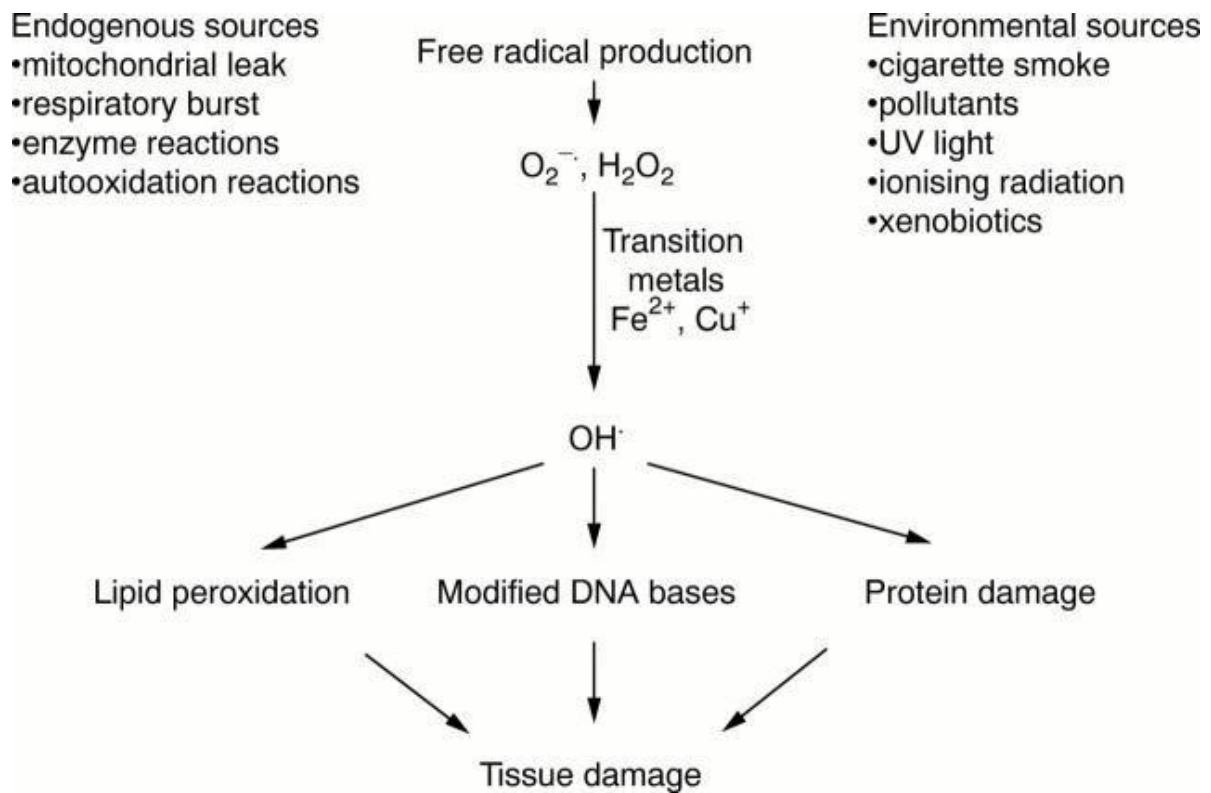
Μια αναδρομική μελέτη αξιολόγησε την επίδραση της 12μηνιαίας θεραπείας με τη λιραγλουτίδη στους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις (CVD) σε 115 ασθενείς με διαβήτη τύπου 2. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θεραπεία με λιραγλουτίδη σχετίζεται με σημαντική μείωση των παραγόντων για CVD και μειωμένο καρδιομεταβολικό κίνδυνο που αξιολογείται από τον δείκτη σπλαγχνικής λιπώσεως [55]. Η καρδιαγγειακή ασφάλεια της λιραγλουτίδης έχει επίσης αξιολογηθεί σε μια μελέτη που περιελάμβανε 15 ολοκληρωμένες δοκιμές Φάσης II και III. Τα τελικά σημεία της μελέτης περιελάμβαναν τον αιφνίδιο καρδιαγγειακό θάνατο, το έμφραγμα του μυοκαρδίου και το εγκεφαλικό επεισόδιο (MACE). Σε περισσότερους από 6000 ασθενείς (4257 εξ αυτών έλαβαν θεραπεία με λιραγλουτίδη), τα συμβάματα MACE παρατηρήθηκαν μόνο σε 114 ασθενείς και ήταν στατιστικά μειωμένα σε

σχέση με όλα τα φάρμακα σύγκρισης (μετφορμίνη, γλιμεπιρίδη, ροσιγλιταζόνη, ινσουλίνη γλαργίνη και εικονικό φάρμακο) [56].

Συμπερασματικά φαίνεται ότι η λιραγλουτίδη υπερέχει έναντι των υπολοίπων αντιδιαβητικών και είναι ικανή να προλαμβάνει τις καρδιαγγειακές επιπλοκές οι οποίες παρατηρούνται κατά το διαβήτη.

4. Οξειδωτικό Στρες

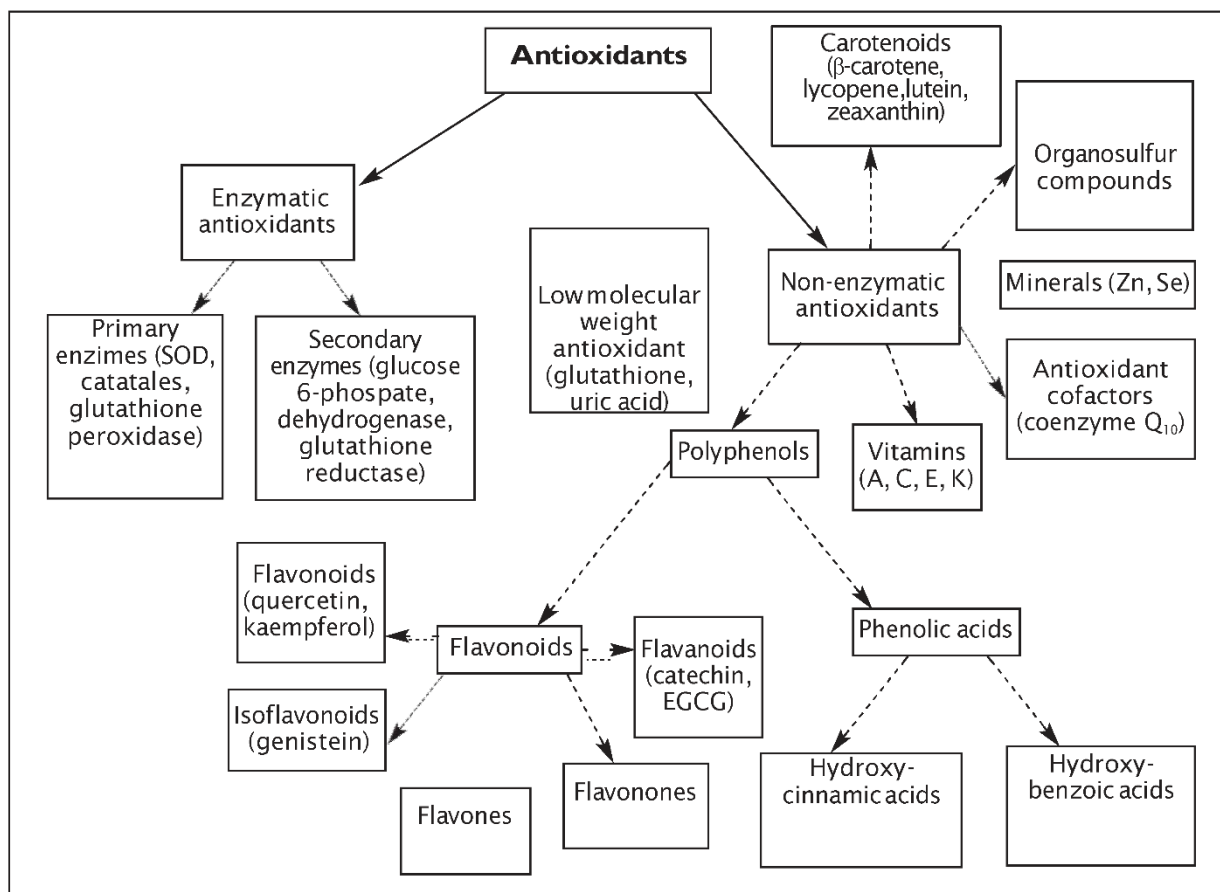
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Reactive Oxygen Species/ROS) παράγονται στον οργανισμό είτε ενδογενώς είτε εξωγενώς. Το μιτοχόνδριο ως βασικό κυτταρικό όργανο, είναι υπεύθυνο τόσο για την παραγωγή ενέργειας μέσω βιοσύνθεσης του ATP, όσο και για το μεγαλύτερο ποσοστό της ενδογενούς παραγωγής ROS μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και της μεταφοράς ηλεκτρονίων κατά μήκος των πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων. Στο σύμπλεγμα I και III θεωρείται ότι παράγεται η μεγαλύτερη ποσότητα ριζών υπεροξειδίου του υδρογόνου οι οποίες μετατρέπονται σε υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) από την υπεροξειδική δισμουτάση SOD [57]. Άλλες ενδογενείς πηγές ROS είναι οι NADPH οξειδάσες, η οξειδάση της ξανθίνης, ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος και η καταστροφή βλαβερών ουσιών από τα ουδετερόφιλα και μακροφάγα [58].



Εικόνα 11: Βασικές πηγές ενδογενούς και εξωγενούς παραγωγής ROS [58].

Ο ανθρώπινος οργανισμός κατέχει ένα ευρέως ανεπτυγμένο αντιοξειδωτικό σύστημα το οποίο είναι υπεύθυνο για την απομάκρυνση των τοξικών προϊόντων του οξειδωτικού στρες. Το σύστημα αυτό αποτελεί ένα πολύπλοκο σύστημα μορίων και πρωτεϊνών οι οποίες υπόκεινται σε συνεχή ρύθμιση τόσο της λειτουργίας όσο και της έκφρασής τους [59]. Αυτοί οι αμυντικοί μηχανισμοί μπορούν να διακριθούν σε:

1. Ενζυμικά συστήματα όπως τα αντιοξειδωτικά ένζυμα υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSH-Px), καταλάση, οξυγενάση της αίμης (HO) και η παραοξονάση [60].
2. Αντιοξειδωτικές ουσίες και πρωτεΐνες όπως η μελατονίνη, η γλουταθειόνη, οι βιταμίνες C και E, το ουρικό οξύ, η σερουλοπλασμίνη και η φερριτίνη.



Εικόνα 12: Γενικές κατηγορίες αντιοξειδωτικών στον οργανισμό [61].

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να οδηγήσουν στην υπεροξειδωση λιπιδίων, την οξείδωση των πρωτεϊνών και την κατάλυση των νουκλεϊκών οξέων επιφέροντας βλάβες στο σύνολο των συστημάτων του κυττάρου [62].

4.1. Οξειδωτικό στρες και σακχαρώδης διαβήτης

Είναι γνωστό ότι η ανάπτυξη των μικρο- και μακρο-αγγειακών επιπλοκών στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 (ΣΔ1 και ΣΔ2) προέρχονται από την χρόνια αυξημένη γλυκόζη και πιθανώς από τα αυξημένα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων (ΕΛΟ) [63]. Προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι ο μακροχρόνιος γλυκαιμικός έλεγχος είναι σπουδαίος προγνωστικός παράγοντας για τις μικρο- και μακρο- αγγειακές επιπλοκές του διαβήτη [4, 64, 65]. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων είναι στόχος καταστροφής από την υπεργλυκαιμία, αλλά ο μηχανισμός μέσω του οποίου διαδραματίζεται το γεγονός αυτό δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί.

Αναφέρεται ότι το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στις μικρο- και μακρο-αγγειακές επιπλοκές [66].

Η υπεργλυκαιμία και ίσως τα ΕΛΟ φαίνεται ότι προκαλούν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS), οι οποίες έχουν τη δυνατότητα αφ' ενός να προκαλούν απ'ευθείας καταστροφή των μακρομορίων, αφ'ετέρου να ενεργοποιούν οδούς ευαίσθητους στο στρες, προκαλώντας κυτταρική καταστροφή και ανάπτυξη των επιπλοκών του διαβήτη. Πρώιμος δείκτης της ιστικής καταστροφής, είναι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Στον ΣΔ 2, η υπεργλυκαιμία και πιθανόν τα ΕΛΟ συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης στους περιφερικούς ιστούς καθώς επίσης και σε ελάττωση της έκκρισής της από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Η προτεινόμενη αλληλουχία αυτών των γεγονότων περιλαμβάνει, την ενεργοποίηση διάφορων οδών από τις ROS όπως, την οδό του πυρηνικού παράγοντα NF-kB, του p38 MAPK, του JNK/ SAPK, της εξοζαμίνης, την αυξημένη παραγωγή τελικών παραγόντων μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (AGEg), της σορβιτόλης, τις κυτοκίνες, τα προστανοειδή μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης (PKC), και της διαγλυκερόλης (DAG) [4, 64, 65].

Φυσιολογικά, το μοριακό οξυγόνο στην αναπνευστική αλυσίδα, χρησιμοποιείται για τον πλήρη μεταβολισμό της γλυκόζης και άλλων υποστρωμάτων κατά την παραγωγή του ATP. Εντούτοις κατά την φυσιολογική οξειδωτική φωσφορυλίωση, το 0,4 έως το 4% του απορροφούμενου οξυγόνου μετατρέπεται σε ρίζα υπεροξειδίου του O_2 , το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε άλλες ROS. Το O_2^- φυσιολογικά εξουδετερώνεται από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα [61]. Σε προηγούμενες μελέτες ερευνητές χρησιμοποίησαν ενδοθηλιακά κύτταρα σε καλλιέργεια καθώς σε αυτά τα κύτταρα η μεταφορά της γλυκόζης δεν είναι ινσουλινοεξαρτώμενη αλλά γίνεται μέσω των μεταφορέων GLUT1. Αποδείχθηκε ότι η υπεργλυκαιμία αυξάνει την παραγωγή των ROS και ειδικά του O_2^- . Η ομάδα του Brownlee και προσδιόρισε σαν πηγή παραγωγής των ROS τα ενδοθηλιακά κύτταρα και υποστήριξαν ότι οι

ROS παράγονται κατά τη μεταφορά του πυρουβικού οξέως στα μιτοχόνδρια, στο επίπεδο του συμπλέγματος II (succinate:ubiquinone oxidoreductase) [67]. Το σύμπλεγμα αυτό είναι ένα από τα τέσσερα συμπλέγματα της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων που εμπλέκεται στην οξειδωτική φωσφορυλίωση. Κατά τον Brownlee, στην υπεργλυκαιμία η επακολουθούσα αυξημένη ενδοκυττάρια γλυκόλυση, έχει σαν αποτέλεσμα την τροφοδότηση με πυρουβικό οξύ του κύκλου του TRC (κύκλος του krebs). Στη συνέχεια ακολουθεί η υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με συνέπεια την υπερβολική παραγωγή ROS και κυρίως O_2^- [67]. Η αυξημένη παραγωγή των ROS, έχει ιδιαίτερα παθολογικές συνέπειες, διότι δραστηριοποιούνται όλοι οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της αθηρωματικής διαδικασίας. Επιπλέον η ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα (NP)-κΒ από την υπεργλυκαιμία οδηγεί στην έκφραση πολλών γονιδίων που έχουν σχέση με την παραγωγή αυτών των ουσιών από τα αγγεία υπό καταστάσεις στρες [68].

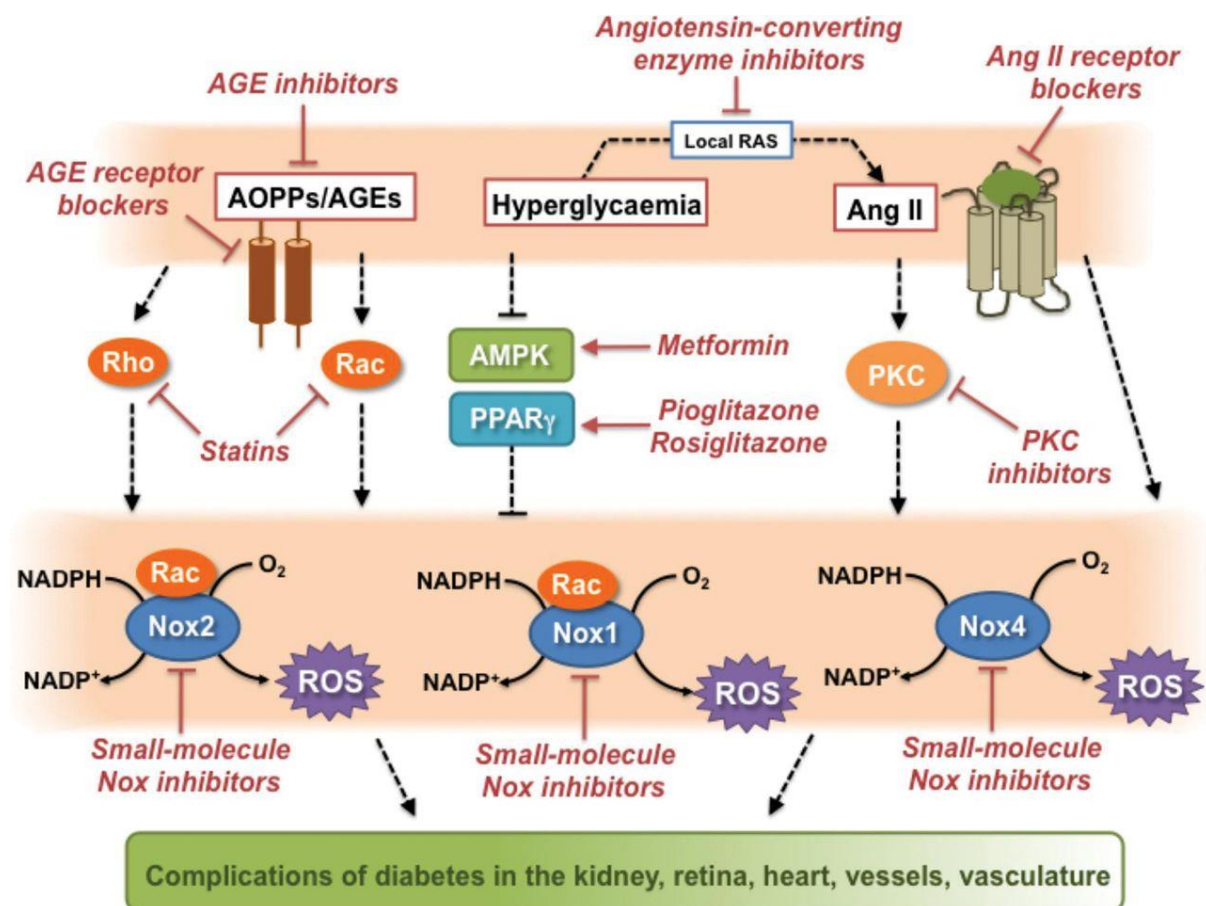
4.2. Μηχανισμοί επαγωγής οξειδωτικού στρες κατά τον διαβήτη

Διάφοροι οδοί και μηχανισμοί εμπλέκονται στον σχηματισμό των ROS στα κύτταρα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ο σχηματισμός τους μέσω του ενζύμου NAD(P)H οξειδάσης, της αναπνευστικής αλύσου στα μιτοχόνδρια, της οξειδάσης της ξανθίνης, της οδού του αραχιδονικού οξέος (λιποξυγενάση και κυκλοξυγενάση), του NO και των μικροσωματικών ενζύμων [68].

Νικοτιναμιδο-αδενινο-νουκλεοτιδική φωσφορική οξειδάση (NAD(P)H οξειδάση)

Η οικογένεια των νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτιδικών φωσφορικών οξειδάσεων (NOX 1-7), καταλύει την αναγωγή του O_2 μέσω της προσφοράς ενός ηλεκτρονίου από το NADPH/NADH) και οδηγεί στην παραγωγή O_2^- . Οι NOX-2 και NOX-4 των αγγείων αποτελούν την κύρια πηγή του αγγειακού H_2O_2 και προάγουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Η αγγειοτενσίνη II, είναι ένας γνωστός επαγωγέας της παραγωγής H_2O_2 από τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και η

δράση της μεσολαβείται μέσω αυξημένης ενεργοποίησης των NOX [69]. Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C λόγω της υπερπαραγωγής H_2O_2 , προάγει την επιπρόσθετη σύνθεση των NOX, δημιουργώντας έτσι μια αλυσιδωτη αντίδραση που οδηγεί στην ακόμη μεγαλύτερη παραγωγή ROS [70]. Η υπεργλυκαιμία επίσης μέσω της ενεργοποίησης του πυρηνικού παράγοντα NF-κΒ, αυξάνει την έκφραση των NOX και της iNOS (επαγόμενη συνθετάσης του NO). Η αύξηση της έκφρασης της iNOS μπορεί επιπρόσθετα να επάγει την εκδήλωση νιτροξειδωτικού στρες μέσω αύξησης της παραγωγής NO το οποίο αλληλεπιδρά με τις ήδη κυκλοφορούσες ROS προς την παραγωγή υπεροξυνιτρώδους ανιόντος $ONOO^-$ [71].



Εικόνα 13: Ρόλος των NOX στην παθοφυσιολογία του διαβήτη [72]

Οξειδάση της ξανθίνης

Η Οξειδάση της ξανθίνης (XOD) καταλύει την αποδόμηση της υποξανθίνης σε ουρικό οξύ, συνοδευόμενη από υποπροϊόντα του οξειδωτικού στρες όπως, η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$), η

ρίζα ανιόντος του σουπεροξειδίου (O_2^-) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2). Η οξειδάση της ξανθίνης όπως και οι NOX, χρησιμοποιούν το NADH για την παραγωγή O_2^- οπότε ο διαχωρισμός των δυο αυτών συστημάτων είναι δύσκολος. Μελέτες σε υπερχοληστεριναιμικούς και διαβητικούς ασθενείς με ΣΔ 2, η χορήγηση αλλοπουρινόλης βελτίωσε την ροή του αίματος στα αγγεία μέσω αναστολής της δράσης της XOD και επαγωγής αγγειοδιαστολής [73-75].

Παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην κυτταρική μεμβράνη μέσω των ενζυματικών οδών του μεταβολισμού του αραχιδονικού/λινολεϊκού οξέος.

Η παραγωγή των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι αποτέλεσμα του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος, της οξειδωσης των πρωτεϊνών που συνδέονται με την μεμβράνη και τέλος, της αυτοοξειδωσης των κυτοχρωμάτων που είναι συνδεδεμένα με τη μεμβράνη αυτή [66]. Η επίδραση των διαφόρων μορφών ROS, πάνω στη λιπιδική διπλοστιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης, έχει σαν κύριο αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A που βρίσκεται στη μεμβράνη αυτή, με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται αραχιδονικό οξύ. Στη συνέχεια το αραχιδονικό οξύ μεταβολίζεται είτε μέσω της οδού της κυκλοξυγενάσης είτε μέσω της οδού της λιποξυγενάσης. Κατά το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος μέσω της οδού της κυκλοξυγενάσης παράγεται O_2^- στο στάδιο της μετατροπής της προσταγλανδίνης G2 στην προσταγλανδίνη H2. Το O_2^- παράγεται επίσης και από το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος μέσω της οδού της λιποξυγενάσης. Και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται η παρουσία της NADH ή και της NADPH οξειδάσης. [66]

Η οδός της κυκλοξυγενάσης

Η αρχική οξυγόνωση του αραχιδονικού οξέος οδηγεί στον σχηματισμό της θρομβοξάνης A2 (TxA_2), της προστακυκλίνης (PGI_2), της προσταγλανδίνης E2 (PGE_2) και της $PGF_{2\alpha}$ ενώ καταλύεται από την κυκλοξυγενάση των λιπαρών οξέων. Παράγωγο της κυκλοξυγενάσης είναι επίσης ένα ασταθές προϊόν, η προσταγλανδίνη G (PGG). Ένα δεύτερο μοριακό οξυγόνο στη

θέση C1S οδηγεί στο σχηματισμό ενός 15-υδροξυπεροξυενδουπεροξειδίου PGH και περαιτέρω στον σχηματισμό ROS [76].

Η απελευθέρωση του αραχιδονικού μπορεί να επιτευχθεί μέσω πολλών μηχανισμών και οδηγεί στο σχηματισμό των εικοσανοειδών. Η διάσπαση του αραχιδονικού είτε από την φωσφατιδυλοχολίνη είτε από τη φωσφατιδυλοαθανολαμίνη διενεργείται μέσω της μετακίνησης της φωσφολυτάσης A στη μεμβράνη, η οποία μπορεί να μεσολαβηθεί από τη φωσφορυλίωσή της από την πρωτεϊνική κινάση C. [77]

Η οδός της λιποξυγενάσης

Το αραχιδονικό οξύ στα ουδετερόφιλα, μετά την πρόσληψη ενός μορίου οξυγόνου σε ένα από τους διπλούς δεσμούς του, σχηματίζει το 5-υδροϋ-περοξυεικοσατετραενικό οξύ (5-HPETE). Αυτή η διακλάδωση μπορεί περαιτέρω να μεταβολισθεί είτε σε 5-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ (5-HETE) ή σε ένα ασταθές ενδιάμεσο παράγωγο το λευκοτριένιο A₄ (LTA₄). Αυτός ο μεταβολίτης μπορεί να υδρολυθεί σε 5,12-διυδροξυεικοσατετραενοϊκά οξέα (5,12-DiHETE), ένα από τα οποία είναι το λευκοτριένιο LTB₄. Το 12-HETE σχηματίζεται κυρίως στα αιμοπετάλια, το 5-HETE στα πολυμορφοπύρηνα, και το 5-HETE, το 11-HETE, και το 15-HETE στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το ένζυμο 5-λιποξυγενάση των ουδετερόφιλων, μεταφέρεται στην μεμβράνη για τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος. Ο σχηματισμός του 15-HETE φαίνεται ότι αυξάνεται στα αθηρωματικά αγγεία [77]. Πιο συγκεκριμένα, η LTB₄ διεγείρει την συγκόλληση, μετανάστευση και συσσώρευση αιμοπεταλίων, την απελευθέρωση ενζύμων και την παραγωγή O₂⁻ από τα πολυμορφοπύρηνα. Τα διηγεργμένα λευκοκύτταρα μετατρέπουν το 15-HPETE σε λυτοξίνες. Οι κυριότερες λυτοξίνες είναι η λιποξίνη A και η λυτοξίνη B. Η λυτοξίνη A, είναι ένας ισχυρός επαγωγέας του O₂⁻ από τα ουδετερόφιλα [77, 78].

Μονοξειδίο του Αζώτου

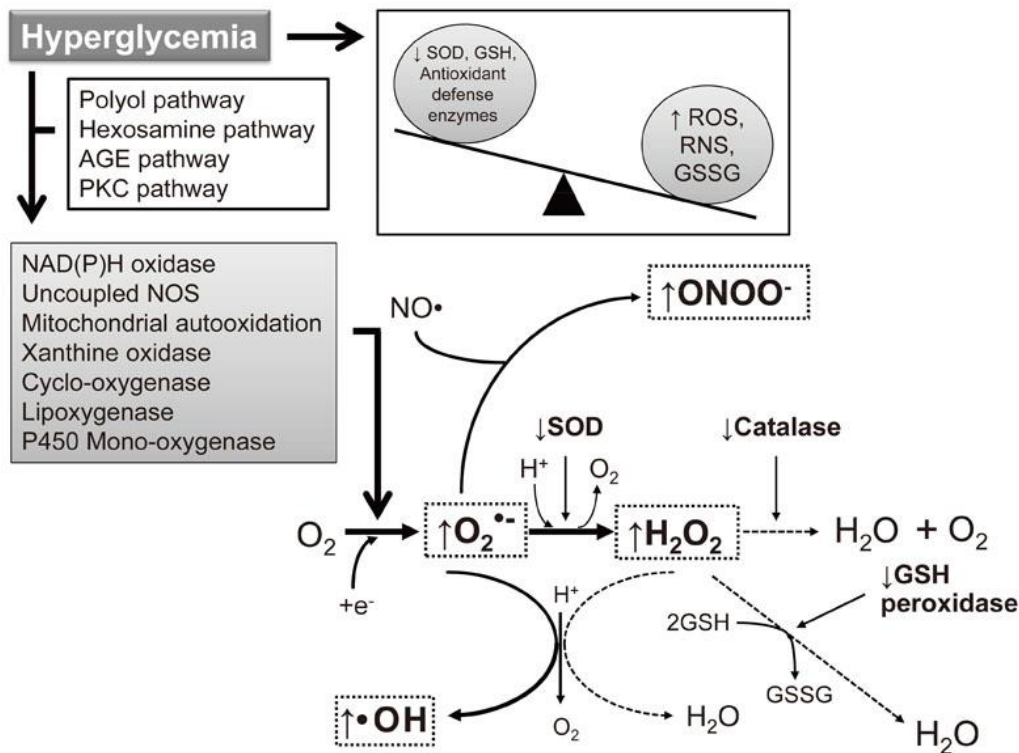
Η αύξηση του O_2^- από την υπεργλυκαιμία σηματοδοτεί την ενεργοποίηση άλλων οδών που εμπλέκονται στην παθογένεση των διαβητικών επιπλοκών και αποτελούν το πρώτο βήμα στη διαβητική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [67, 68].

Η παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου (NO) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, μέσω της αγγειοχάλασης, την αναστολή της συσσώρευσης των λευκοκυττάρων στην κυτταρική μεμβράνη και πιθανώς μέσω εξουδετέρωσης του O_2^- με τον επακόλουθο σχηματισμό του ONOO⁻ [74].

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν NO από την L-αργινίνη, μέσω οξείδωσης του τελικού ατόμου του αζώτου της γουανιδίνης. Το μοριακό οξυγόνο και το φωσφορικό νικοτινάμίδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NADPH) αποτελούν συνυποστρώματα αυτής της χημικής αντίδρασης, η οποία καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου [8].

Υπάρχουν 3 διαφορετικές ισομορφές της NOS, η ενδοθηλιακή (endothelial-eNOS), η νευρωνική (neuronal-nNOS), και η επαγωγίμη (inducible -iNOS). Η eNOS και η nNOS, βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα στο κυτταρόπλασμα και ενεργοποιούνται από το κυτταροπλασματικό ασβέστιο παρουσία της καλμοδουλίνης. Η είσοδος ασβεστίου μέσα σε αυτά τα κύτταρα, οδηγούν σε άμεση παραγωγή NO. Η υπερπαραγωγή του O_2^- , μειώνει την δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθετάσης (eNOS), αλλά δια μέσου της PKC και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, δραστηριοποιεί την NAD(P)H αυξάνοντας την έκφραση της iNOS, με τελικό αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή του NO. Αυτή η κατάσταση ευνοεί τον σχηματισμό του ισχυρού οξειδωτικού υπεροξυνιτρώδους (ONOO⁻) [74]. Το ανιόν αυτό, είναι κυτταροτοξικό επειδή οξειδώνει τις σουλφυδριλικές ομάδες στις πρωτεΐνες, συμβάλλοντας έτσι στην υπεροξείδωση των λιπιδίων και των αζωτούχων αμινοξέων, όπως η τυροσίνη, ευνοώντας την παραγωγή μιας ισχυρότατης οξειδωτικής ουσίας, της νιτροτυροσίνης (3-NT)

που εμφανίζει άμεσα τοξική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων. Η πιθανότητα ο διαβήτης να συνδέεται με αυξημένο σχηματισμό νιτροτυροσίνης, φαίνεται από το γεγονός ότι βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα της ουσίας αυτής στο πλάσμα διαβητικών ασθενών [79]. Ο σχηματισμός της ακολουθείται από την ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [80]. Το υπεροξυνιτρώδες ανιόν, είναι ένας ισχυρός παράγοντας καταστροφής του DNA, η καταστροφή του οποίου αποτελεί ερέθισμα για την ενεργοποίηση του πυρηνικού ενζύμου poly(ADP-ribose) polymerase (PARP). Η καταστροφή του DNA φαίνεται από την αυξημένη παραγωγή της 8-υδροξυγουανίνης και 8-υδροξυδεοξυ-γουανোসίνης (δείκτες καταστροφής του DNA) [81]. Η ενεργοποίηση του PARP έχει ως συνέπεια τη μείωση του ενδοκυττάρου NAD⁺ (προκαλώντας μείωση του ρυθμού της γλυκόλυσης, της μεταφοράς ηλεκτρονίων και του σχηματισμού του ATP) και προάγει την ADP-ριβοζυλίωση του ενζύμου δευδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεύδης (GAPDH) [82]. Η γλυκεραλδεύδη (GAPDH) είναι από τα βασικά μεταβολικά προϊόντα του καταρράκτη της γλυκόλυσης. Η ριβοζυλίωση του ενζύμου αυτού, άρα η αναστολή του μεταβολισμού του, έχει σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση των προηγούμενων από τη GAPDH μεταβολικών προϊόντων της γλυκόλυσης και εκτροπή του μεταβολισμού από την οδό της γλυκόλυσης σε άλλες παθοφυσιολογικές οδούς (εξοζαμίνης, PKC, πολυόλες) [81].



Εικόνα 14: Το μονοπάτι του NO στην παθοφυσιολογία του διαβήτη [83]

4.3. Η υπεργλυκαιμία και οι οδοί που ενεργοποιούνται από το στρες

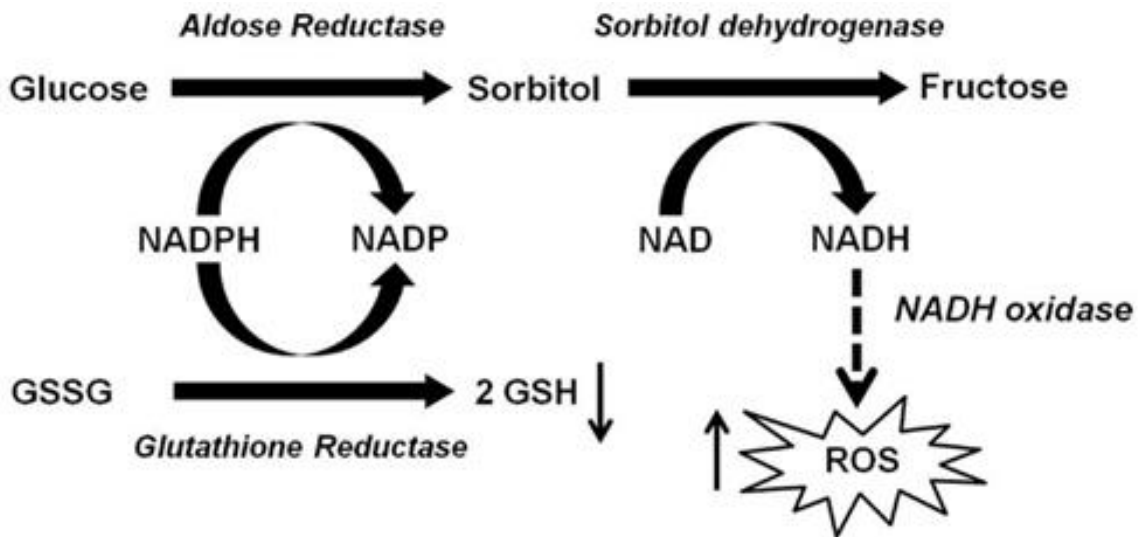
Σε in vivo μελέτες φαίνεται ότι το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία και ίσως από τα ΕΛΟ, ευθύνεται για τις επιπλοκές του διαβήτη πριν αυτές γίνουν κλινικά εμφανείς. Η υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί αρκετές σημαντικές οδούς που ευθύνονται για τις επιπλοκές του διαβήτη. Αυτοί οι οδοί περιλαμβάνουν τα τελικά παράγωγα της γλυκοζυλίωσης (AGEs) και τους υποδοχείς τους, την οδό της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), και την οδό της πολυόλης [84]. Οι Wolff και Dean [85] προτείνουν ότι η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, είναι ένας μηχανισμός που θεωρείται ότι ευθύνεται για την γλυκοτοξικότητα και η παραγωγή τους επηρεάζεται από τις ROS.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η υπεργλυκαιμία εμπλέκεται στην ενεργοποίηση επιπλέον βιοχημικών οδών, που ενεργοποιούνται με το στρες και περιλαμβάνουν την οδό του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (NF-κΒ), τις οδούς των NH2-terminal Jun kinases/stress activated protein

kinases (JNK/SAPK) και p38 mitogen-activated protein (MAP) κινασών και την οδό της εξοζαμίνης. Τα δεδομένα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση αυτών των οδών ευθύνονται όχι μόνο για τις διαβητικές επιπλοκές αλλά και για την ινσουλινοαντίσταση καθώς και για την δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος [84, 85].

Η οδός της πολυόλης

Υπάρχουν τρεις κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους η οδός της πολυόλης εμπλέκεται στο οξειδωτικό στρες και δύο είναι τα ένζυμα που συμμετέχουν στην οδό αυτή. Το πρώτο ένζυμο, η αναγωγή της αλδόζης (AP), παρουσιάζει χαμηλή συγγένεια προς τη γλυκόζη, με αποτέλεσμα σε χαμηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, ο μεταβολισμός της γλυκόζης στο κύκλο των πολυολών να αποτελεί μικρό ποσοστό στο μεταβολισμό της. Σε υπεργλυκαιμικό όμως περιβάλλον παρατηρείται ενεργοποίηση του ενζύμου αυτού και αυξημένη μετατροπή της γλυκόζης σε σορβιτόλη με συνοδό μείωση του NADPH. Το δεύτερο ένζυμο η δεϋδρογονάση της σορβιτόλης με τον συμπαράγοντα του NAD⁺, μετατρέπει την σορβιτόλη σε φρουκτόζη. Το οσμωτικό στρες από την συσσώρευση της σορβιτόλης ενοχοποιείται για τις διαβητικές επιπλοκές στους οφθαλμούς και στα νεύρα. Σε μοντέλα ζώων η θεραπεία με αναστολείς της AP, φαίνεται να προλαμβάνει τις διάφορες επιπλοκές του διαβήτη όπως ο καταρράκτης, η νευροπάθεια και η νεφροπάθεια [85]. Όμως, αυτός δεν είναι ο κυριότερος μηχανισμός για τις διαβητικές αλλοιώσεις. Χορήγηση AP σε διαβητικούς αρουραίους, μειώνει την γλουταθειόνη στους οφθαλμούς τους, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η AP προκαλεί οξειδωτικό στρες. Οι αναστολείς της AP μπορεί να έχουν και προστατευτική δράση έναντι των ROS.



Εικόνα 15: Το μονοπάτι της αναγωγής της αλδόζης στην υπεργλυκαιμία [86].

Σε καταστάσεις υπεργλυκαιμίας καθώς το 30% της γλυκόζης εισέρχεται στην οδό της πολυόλης προκαλείται σημαντική εξάντληση του NADPH, με επακόλουθο σημαντική μείωση των επιπέδων της GSH. Έτσι πρώτον, στην υπεργλυκαιμία η δραστηριότητα της AP ελαττώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου. Δεύτερον, η οξείδωση της σορβιτόλης σε φρουκτόζη από την δεϋδρογενάση της σορβιτόλης (SDH) προκαλεί οξειδωτικό στρες επειδή ο συμπαράγοντας του NAD⁺ μετατρέπεται σε NADH κατά την αντίδραση και το NADH, είναι το υπόστρωμα της NOX για την παραγωγή ROS. Τρίτον, στην οδό της πολυόλης γίνεται η μετατροπή της γλυκόζης σε φρουκτόζη, η οποία είναι ένας πιο ισχυρός μη ενζυματικός παράγοντας γλυκοζυλίωσης σε σχέση με την γλυκόζη. Η είσοδος λοιπόν της γλυκόζης στην οδό της πολυόλης, αυξάνει τον σχηματισμό των τελικών προϊόντων της γλυκοζυλίωσης [87], τα οποία συνδέονται με τους υποδοχείς τους και προκαλούν οξειδωτικό στρες [84].

Γλυκοζυλίωση και προϊόντα τελικής γλυκοζυλίωσης (AGEs)

Ένας από τους πλέον ενδιαφέροντες μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την επιταχυνόμενη αθηρωμάτωση στον ΣΔ, είναι η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών ή και των λιποπρωτεϊνών [85].

Η γλυκοζυλίωση, είναι μία μη ενζυματική αντίδραση μεταξύ γλυκόζης και πρωτεϊνών ή και

λιποπρωτεϊνών. Η γλυκόζη αντιδρά με τις αμινομάδες των πρωτεϊνών του πλάσματος ή του αγγειακού τοιχώματος και παράγονται χημικώς αναστρέψιμα γλυκοζυλιωμένα παράγωγα (βάσεις Schiff), τα οποία αργότερα μέσα σε λίγες εβδομάδες, σχηματίζουν πιο σταθερά προϊόντα (προϊόντα Amadori). Μερικά από τα πρώιμα γλυκοζυλιωμένα προϊόντα (πρωτεΐνες μεγάλου χρόνου ημίσειας ζωής) συνεχίζουν να υφίστανται διάφορες χημικές αλλαγές μέχρι του σχηματισμού των σταθερών μη αναστρέψιμων προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης (AGEs). Τα παραγόμενα AGEs μπορούν να επιταχύνουν και να επηρεάσουν καθοριστικά την αθηρωματική διαδικασία με μηχανισμούς που δεν έχουν σχέση με τον κυτταρικό υποδοχέα των AGEs [87] καθώς και με μηχανισμούς που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης (RAGEs). Τα φωσφολιπίδια και η αποπρωτεΐνη Β της LDL γλυκοζυλιούνται με αποτέλεσμα, η LDL να υφίσταται ευκολότερα οξειδωτική μετατροπή και δυσκολότερα να αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα των LDL. Αυτό είναι ένα σημαντικό βήμα για την έναρξη και την πορεία της αθηρωμάτωσης, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα και τις λείες μυϊκές ίνες. Η αλληλεπίδραση των AGEs με τους υποδοχείς τους (RAGEs) των ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιεί το μεταγραφικό πυρηνικό παράγοντα NF-κ β , με συνέπεια να επάγεται η παραγωγή ROS και του οξειδωτικού στρες. Έτσι λοιπόν η αλληλεπίδραση των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς RAGEs τροποποιεί την λειτουργία ενδοκυττάρων πρωτεϊνών και πρωτεϊνών του εξωκυττάρου συνδετικού ιστού, ενώ δραστηριοποιεί ειδικούς υποδοχείς των AGEs στη παραγωγή αυξητικών παραγόντων και ROS [84].

Ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C

Μεταξύ των διάφορων πιθανολογούμενων μηχανισμών, είναι παραδεκτό ότι τα υψηλά επίπεδα της γλυκόζης ενεργοποιούν την οδό της διαγλυκερόλης-πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) στους ιστούς με μικρο-μακροαγγεία, σε διαβητικούς ασθενείς. Επειδή η PKC είναι ένα ενδοκυττάριο μόριο που σηματοδοτεί πολλές αγγειακές λειτουργίες, αναμένεται ότι η

ενεργοποίησή της μπορεί να προκαλέσει αλλοιώσεις στις αγγειακές λειτουργίες στον διαβήτη Ένας μεγάλος αριθμός in vitro και in vivo μελετών, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στον διαβήτη έχουμε αύξηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Όπως προαναφέρθηκε, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η οξειδάση του NAD(P)H, σαν τη πιο σπουδαία πηγή παραγωγής ROS στα αγγεία. Η ενεργοποίηση της NAD(P)H οξειδάσης από το σύστημα της PKC αποτελεί ένα ιδιαίτερο μηχανισμό που είναι υπεύθυνος για την αύξηση των ROS στα αγγεία των διαβητικών, λόγω της ικανότητάς τους να οξειδώνουν απευθείας και να καταστρέφουν το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια [84]. Η οικογένεια της PKC περιλαμβάνει 11 τουλάχιστον ισομορφές κινασών σερίνης και θρεονίνης. Οι β και δ-ισομορφές PKC δραστηριοποιούνται κυρίως στα αγγειακά κύτταρα ενώ οι υπόλοιπες 9 από τις ισομορφές της ενεργοποιούνται από τον ενδογενή συμπαράγοντα για την δραστηριοποίηση της PKC, τη διαγλυκερόλη (DAG). Αυξημένη DAG έχουμε από την αντίστοιχα αυξημένη ενδοκυττάρια παραγωγή των προϊόντων της γλυκόλυσης. Επιπλέον η υπεργλυκαιμία μπορεί να ενεργοποιήσει έμμεσα την PKC με τη ενεργοποίηση των υποδοχέων των AGEs, την αυξημένη δραστηριότητα της πολυόλης, και μέσω αυξημένων ROS. Η ενεργοποίηση της PKC προκαλεί τις ακόλουθες μεταβολικές συνέπειες [84].

1. αναστολή της έκφρασης του mRNA για την ενδοθηλιακή συνθετάση του NO
2. αύξηση της δραστηριότητας της ενδοκυττάριας MAP κινάσης με αποτέλεσμα αύξηση της ενδοθηλίνης-1, που εμφανίζει αυξημένη αγγειοσυσπαστική δράση
3. αυξημένη έκφραση του αγγειακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) παράγοντα που συντελεί στην αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας
4. αύξηση του αυξητικού παράγοντα μετατροπής (TGF-β), παράγοντα που συνδέεται με τη πάχυνση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών αγγείων

5. αύξηση του ενεργοποιητή του αναστολέα της ινωδόλυσης PAI-1, του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα NF-κB (που ενεργοποιεί αυξητικούς και προφλεγμονώδεις παράγοντες) και των NAD(P)H οξειδασών των κυτταρικών μεμβρανών που ενοχοποιούνται για τη δημιουργία ROS.

Η οδός της εξοζαμίνης

Πρόσφατα δεδομένα εμπλέκουν την ενεργοποίηση της οδού της εξοζαμίνης από την υπεργλυκαιμία, στο σχηματισμό των ROS [84]. Η είσοδος της γλυκόζης ή των ΕΛΟ μέσα στα κύτταρα έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της βιοσυνθετικής οδού της εξοζαμίνης [85]. Στην οδό αυτή, η 6-φωσφορική γλυκόζη, προϊόν της γλυκόλυσης, εκτρέπεται από τη γλυκόλυση, στη οδό της εξοζαμίνης. Το ένζυμο φωσφορική γλουταμινοφρουκτόζη-6-αμινοτρανσφεράση (GFAT) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη παραγωγή των νουκλεοτιδίων, των εξοζαμινών και κυρίως της UDP-N-ακετυλ-γλυκοζαμίνης. Στους διαβητικούς ασθενείς φαίνεται ότι η δραστηριότητα αυτού του ενζύμου (GFAT) είναι αυξημένη και συσχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση και ανάπτυξη των διαβητικών επιπλοκών [88, 89]. Στα κύτταρα του μεσαγγείου, η υπερέκφραση του ενζύμου φωσφορική GFAT (ένζυμο που τερματίζει την οδό της εξοζαμίνης), αυξάνει την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα NF-κB [89].

Η οδός του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα NF-κB

Η πιο μελετημένη ενδοκυτταρική οδός, όπου επιδρά η υπεργλυκαιμία, οι ROS και το οξειδωτικό στρες είναι αυτή του NF-κB [90, 91]. Ο NF-κB διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσία και στην απάντηση στα φλεγμονώδη φαινόμενα. Πολλά από τα γονίδια που ρυθμίζονται από τον NF-κB, με την σειρά τους τον ενεργοποιούν (VEGF, RAGE), καταταλίζοντας σε ένα φαύλο κύκλο (vicious circle). Η ενεργοποίηση του NF-κB συνεπάγεται την φωσφορυλίωσή του μέσω της αποδόμησης των ανασταλτικών υπομονάδων / των

ανασταλτικών πρωτεϊνών κΒ (IkB). Η υποομομάδα IkB φωσφορυλιώνεται από την κινάση της σερίνης, IkB κινάση β (IKK-β) [90, 91].

Πρόσφατη μελέτη σε ενδοθηλιακά κύτταρα βοός έδειξε, ότι η έκθεσή τους σε υπεργλυκαιμία αύξησε αρχικά τις ενδοκυττάρειες ROS και ακολούθησε η ενεργοποίηση του NF-κΒ. Ακολούθως αυξήθηκε η δραστηριότητα της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και αυξήθηκαν τα τελικά προϊόντα της γλυκοζυλίωσης και η σορβιτόλη [92].

Λιπαρά οξέα, οξειδοαναγωγική ισορροπία και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ

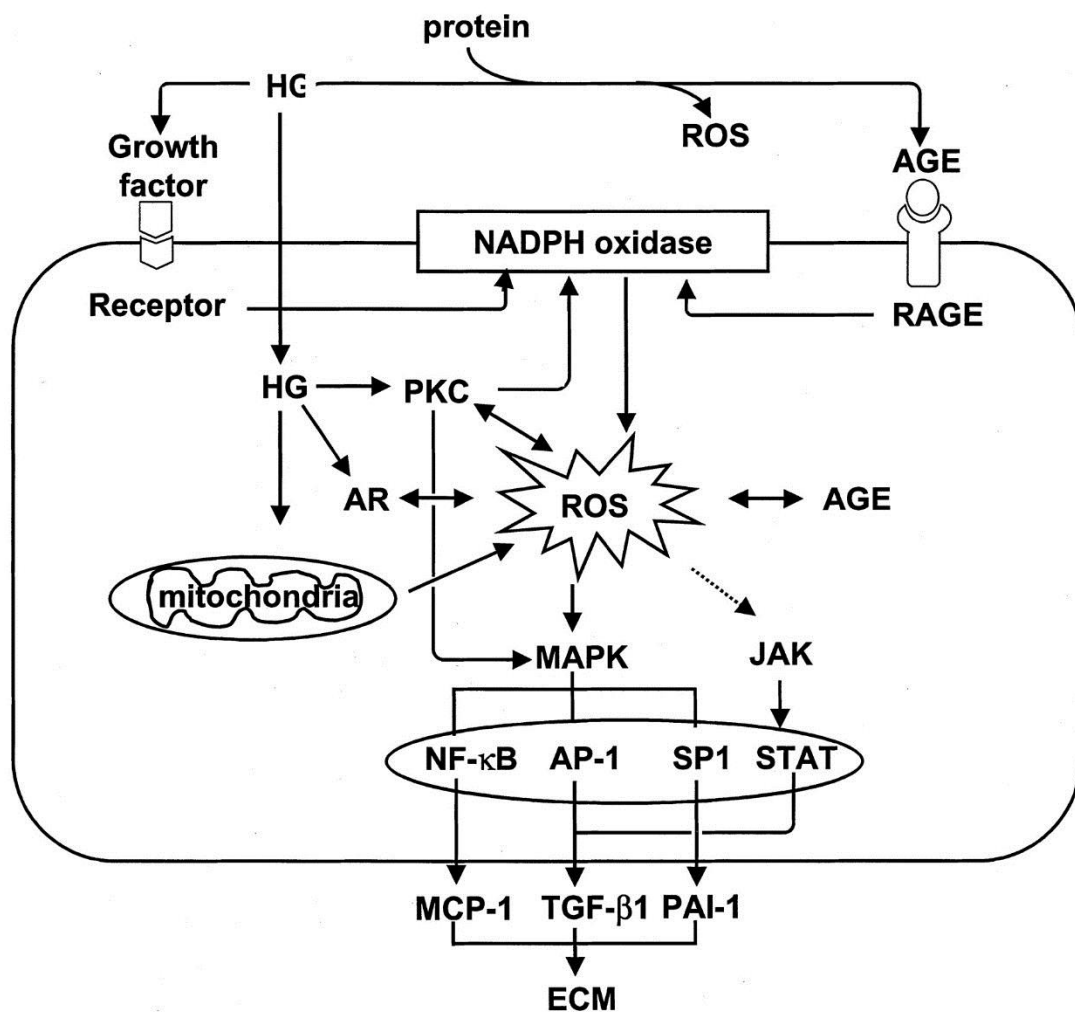
Σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2, υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ΕΛΟ νηστείας και της σχέσης μεταξύ αναχθείσης/οξειδωμένης γλουταθειόνης (ένα σημαντικό ενδογενές αντιοξειδωτικό). Σε υγιείς εθελοντές η έγχυση ΕΛΟ προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού στρες όπως τεκμηριώνεται από τα αυξημένα επίπεδα της μηλονικής διαλδεϋδης, και από τη πτώση του λόγου της αναχθείσης/οξειδωμένης γλουθαθειόνης στο πλάσμα. Η μηλονική διαλδεϋδη, ένα πολύ τοξικό παράγωγο, προέρχεται από την οξείδωση των λιπιδίων από τις ROS και είναι αυξημένη στο διαβήτη [93]. In vitro δεδομένα δείχνουν ότι τα αυξημένα επίπεδα ΕΛΟ προκαλούν ανεπιθύμητες δράσεις στα μιτοχόνδρια και προάγουν τον σχηματισμό των ROS. Τα ΕΛΟ από μόνα τους, δεν είναι ικανά να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες αλλά διαταράσσουν την ενδογενή αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού, ελαττώνοντας την ενδοκυττάρια γλουταθειόνη [94, 95]. Μελέτες in vitro αναφέρουν την ενεργοποίηση του NF-κΒ μέσω των ΕΛΟ, με αποτέλεσμα τα ΕΛΟ να αυξάνουν τις ROS και να ελαττώνουν την γλουταθειόνη [96, 97]. Αυτή η δράση συνδέεται με την ενεργοποίηση της PKC μέσω των ΕΛΟ, η οποία ενεργοποιεί τον NF-κΒ.

4.4. Οξειδωτικό στρες και δυσλειτουργία του β-κυττάρου του παγκρέατος

Ένας άλλος στόχος του οξειδωτικού στρες είναι το β-κύτταρο του παγκρέατος. Πολλές μελέτες θεωρούν ότι η καταστροφή του β-κυττάρου, είναι το αποτέλεσμα της αυξημένης γλυκόζης και

των ΕΛΟ ή και συνδυασμός αυτών. Υπάρχουν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα που αφορούν την άμεση τοξικότητα της γλυκόζης στα β-κύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι ο συνδυασμός των αυξημένων ΕΛΟ και της γλυκόζης, δρα στην αύξηση της παραγωγής των ROS. Τα β-κύτταρα είναι ευαίσθητα στις ROS, επειδή εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της καταλάσης, της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης [98].

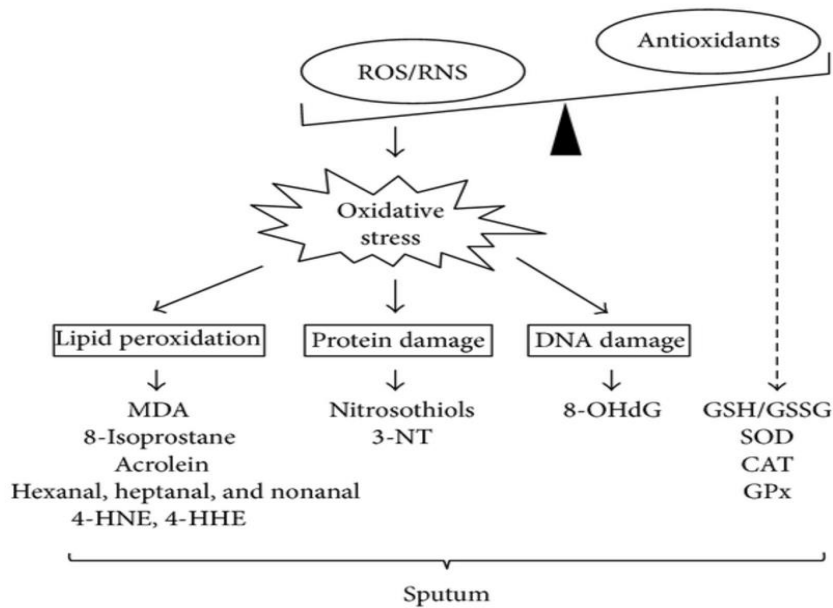
Αναστολή της έκκρισης της ινσουλίνης και της οξείδωσης της γλυκόζης συμβαίνει όταν τα νησίδια εκτίθενται σε προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης [99]. Αντίθετα αντιοξειδωτικές ουσίες όπως η N-acetyl-L-cysteine [60], η αμινογουανιδίνη και ο ψευδάργυρος, μπορούν να προστατεύσουν τα β-κύτταρα από την παραγωγή των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης και να αναστείλουν την ενεργοποίηση του NF-κΒ [99].



Εικόνα 16: Σηματοδοτικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην παθογένεση του διαβήτη και των επιπλοκών του [100].

4.5. Μηλονική Διαλδεΐδη (MDA)

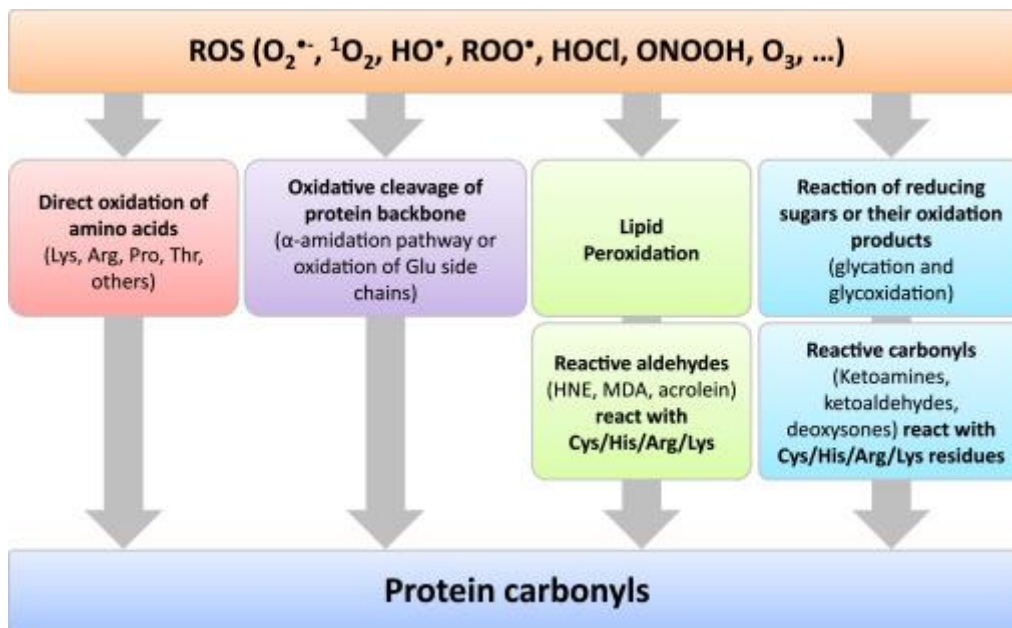
Ανάμεσα στους βιολογικούς στόχους του οξειδωτικού στρες, τα λιπίδια εμπλέκονται συχνά και οδηγούν σε έναν αριθμό δευτερευόντων προϊόντων οξείδωσης. Η μηλονική διαλδεΐδη (MDA) είναι το κύριο και πιο μελετημένο προϊόν υπεροξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA). Αυτή η αλδεΐδη είναι ένα εξαιρετικά τοξικό μόριο που αλληλεπιδρά με το DNA και πρωτεΐνες και μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις και αθηρωμάτωση. Η βιοχημική διαδικασία υπεροξείδωσης των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης είναι ένας μηχανισμός τοξικότητας των ελεύθερων ριζών και οδηγεί στην αυξημένη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα τον θάνατο του κυττάρου [101]. Οι φυσιολογικές διεργασίες που προάγουν την παραγωγή της MDA είναι ο μεταβολισμός των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα του λινολεϊκού και του αραχιδονικού οξέος από την κυκλοοξυγενάση-2 προς την σύνθεση προσταγλανδινών. Η επαφή αυτών των λιπαρών οξέων με τις ROS πυροδοτεί μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων αυτοκατάλυσης με λιπιδικά υδροϋπεροξείδια ως ενδιάμεσα παράγωγα (LOOHs), τα οποία παρουσία περεταίρω οξειδωτικών μορίων συνθέτουν διάφορες αλδεΐδες όπως η MDA, 4-HNE, οι ισοπροστάνες και η ακρολεΐνη [102, 103].



Εικόνα 17: Τελικοί στόχοι οξειδωτικής βλάβης [62]

4.6. Πρωτεϊνικά Καρβονύλια (Protein Carbonyls/PCs)

Οι πρωτεΐνες αποτελούν κυτταρικούς στόχους των ελεύθερων ριζών με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται αλλοιώσεις στην πρωτοταγή, δευτεροταγή και τριτοταγή τους δομή. Η οξειδωτική καταστροφή των πρωτεϊνών είναι επιβλαβής και έχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση αρκετών παθήσεων. Έχει αποδειχθεί ότι τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (protein carbonyl - PCs) είναι παράγωγα διάφορων βιοχημικών διεργασιών, με αποτέλεσμα η συγκέντρωσή τους να είναι συχνά πιο υψηλή σε σχέση με τους άλλους βιοδείκτες. Η διάσπαση των πρωτεϊνικών δομών οδηγεί στο σχηματισμό των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Η οξειδωτική απαμίνωση της λυσίνης και του γλουταμικού οξέος είναι επίσης μια πηγή πρωτεϊνικών καρβονυλίων [104]. Οι καρβονυλικές ενώσεις είναι δυνατό να δημιουργηθούν με την εισαγωγή προϊόντων οξείδωσης λιπιδικών αλδευδών και υδατανθράκων σε κατάλοιπα λυσίνης και αργινίνης. Τα καρβονύλια που σχηματίζονται είναι χημικά σταθερά μόρια, στις κατάλληλες συνθήκες (-80°C), μπορούν να διατηρηθούν για χρόνια στο πλάσμα του αίματος και αποτελούν δείκτες οξειδωτικού στρες.



Εικόνα 18: Οδοί σχηματισμού πρωτεϊνικών καρβονυλίων [105]

5. Σκοπός

Στην παρούσα μελέτη υποθέσαμε ότι μια δμηνη θεραπεία με λιραγλουτιδή σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέντα διαβήτη τύπου 2 προκαλεί μεγαλύτερη βελτίωση στην αγγειακή λειτουργία, στη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου και στο οξειδωτικό στρες όπως αξιολογείται από τη μηλωνική διαλδεύδη (MDA) και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PCs) σε σύγκριση με την τυπική θεραπεία με μετφορμίνη.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθούν οι πρώιμες διαφορές στην αγγειακή λειτουργία, τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου και το οξειδωτικό στρες 6 μήνες μετά τη θεραπεία είτε με λιραγλουτιδή είτε με μετφορμίνη σε πληθυσμό με μικρή διάρκεια νόσου και χωρίς προηγούμενη θεραπευτική παρέμβαση.

6. Υλικά και Μέθοδοι

6.1. Έγγραφη Συγκατάθεση Ασθενών

Το πρωτόκολλο της μελέτης κατατέθηκε στην Επιστημονική Επιτροπή και στην Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Π.Γ.Ν «Αττικών» το 2013. Επιπλέον απαιτήθηκε η έγγραφη συγκατάθεση των ασθενών που πήραν μέρος στη μελέτη και πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του κ. Ιγνάτιου Οικονομίδη PhD, FESC, Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας στην Β' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική του Π.Γ.Ν. «Αττικών».

6.2. Επιλογή Ασθενών

Εξετάσθηκαν 60 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία για σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε αναλογία 1:1, για να λάβουν σταδιακά είτε 1.8 mg λιραγλουτιδης μία φορά ημερησίως (με εβδομαδιαία κλιμάκωση δόσης) ως υποδόρια ένεση ή μετφορμίνης 1000 mg δύο φορές την ημέρα για 6 μήνες. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν το ιστορικό των ασθενών ή κλινικές ενδείξεις στεφανιαίας ή βαλβιδικής καρδιακής νόσου, συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, περιφερικής αγγειακής νόσου, ηπατικής ή νεφρικής ανεπάρκειας, ιστορικό αλκοολισμού ή κατάχρησης φαρμάκων και θεραπείες ικανές να τροποποιήσουν το μεταβολισμό της γλυκόζης. Όλες οι γυναίκες ήταν προεμμηνοπαυσιακές και οι έρευνες διεξήχθησαν κατά την πρώτη εβδομάδα των εμμηνορροϊκών κύκλων τους. Κανένας από τους ασθενείς δεν έλαβε από του στόματος αντισυλληπτικά. Η δυσλιπιδαιμία ορίστηκε ως συνολική χοληστερόλη > 220 mg / dl (LDL > 100 mg / dl και / ή HDL < 40 mg / dl στους άνδρες και HDL < 50 mg / dl στις γυναίκες) και / ή τριγλυκερίδια > 150 mg / dl. Η υπέρταση ορίστηκε ως κλινική Α.Π. > 140/90 mmHg. Το ύψος, το βάρος, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) και η περιφέρεια των ισχίων προσδιορίστηκαν για όλους τους συμμετέχοντες. 10 από τους ασθενείς που παρουσίαζαν διάφορους βαθμούς δύσπνοιας κατά την έναρξη και ταξινομήθηκαν στο στάδιο NYHA I της καρδιακής ανεπάρκειας και συμμετείχαν κανονικά στην μελέτη.

	Σύνολο (n = 60)	Λιραγλουτίδη (n = 30)	Μετοφορμίνη (n = 30)	P
Ηλικία (έτη)	51 ± 12	51 ± 10	50 ± 12	0.594
Ποσοστό ανδρών	66.7 (40)	66.7 [22]	66.7 [22]	0.896
Ποσοστό καπνιζόντων	36.6 (22)	36.7 (11)	36.7 (11)	0.782
Ποσοστό Υπερτασικών	55 (33)	56.7 (17)	53.3 (16)	0.27
Ποσοστό Δυσλιπιδαιμικών	51.6 (31)	53.3 (16)	50 [26]	0.41
Ποσοστό οικογενειακού ιστορικού Στεφανιαίας Νόσου	20 (12)	20 [22]	20 [22]	0.804
Κρεατινίνη, mg/dl	1.0 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.733
eGFR, ml/min	85 ± 9	85 ± 8	83 ± 11	0.315
Φαρμακευτική Αγωγή				
β-αποκλειστές, % (n)	18.3 (11)	16.7 [26]	20 [22]	0.492
Ανταγωνιστές Ασβεστίου, % (n)	30 [22]	33.3 (10)	26.7 [22]	0.231
ΑΜΕΑ ή ΑΥΑ, % (n)	31.7 [26]	30 (9)	33.3 (10)	0.913
Διουρητικά, % (n)	13.3 [22]	13.3 [25]	13.3 [25]	0.984
Στατίνες, % (n)	43.3 (26)	46.7 [25]	40 (12)	0.292

Πίνακας 1: Πίνακας Κλινικών Χαρακτηριστικών Ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

6.3. Δειγματοληψίες αίματος

Από κάθε ασθενή λήφθηκε ένα δείγμα αίματος στην αρχή και σε κάθε επίσκεψη Follow-Up. Η πρώτη μέτρηση και αιμοληψία θεωρείται ως μέτρηση αναφοράς, όπου ο ασθενής ξεκίνησε την φαρμακευτική αγωγή. Επαναλήψεις των μετρήσεων έγιναν κατά τον πρώτο, τρίτο, έκτο και δωδέκατο μήνα. Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε περιφερικές φλέβες, όπου και ελήφθησαν 10-15ml αίματος, με προσοχή για την αποφυγή της αιμόλυσης του δείγματος. Έπειτα το αίμα διαμοιράζεται κατά μερική πλήρωση σε 4 σωληνάρια αιμοληψίας (evacuated tubes) και μεταφέρεται για φυγοκέντρηση. Η φυγοκέντρηση τελείται για 10 λεπτά σε 3500 rpm σε θερμοκρασία 4 °C. Από τα φυγοκεντρισμένα φιαλίδια, γίνεται λήψη του 80% του υπερκείμενου υγρού (πλάσμα ή ορός) και η μετάγγιση του σε micro tubes ή eppendorf. Το ληφθέν πλάσμα καταψύχεται στους -80 °C μέχρι την εξαγωγή για ανάλυση.

6.4. Εργαστηριακές αναλύσεις

Σε όλες τις εργαστηριακές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα, πριν τον προσδιορισμό των οξειδωτικών δεικτών, τα δείγματα τοποθετήθηκαν από τους -80 °C σε δοχείο με πάγο όπου παρέμειναν μέχρι την πλήρη τήξη τους. Ακολούθησε ελάχιστη ανακίνηση των δειγμάτων σε Vortex πριν την εκκίνηση της αναλυτικής διαδικασίας.

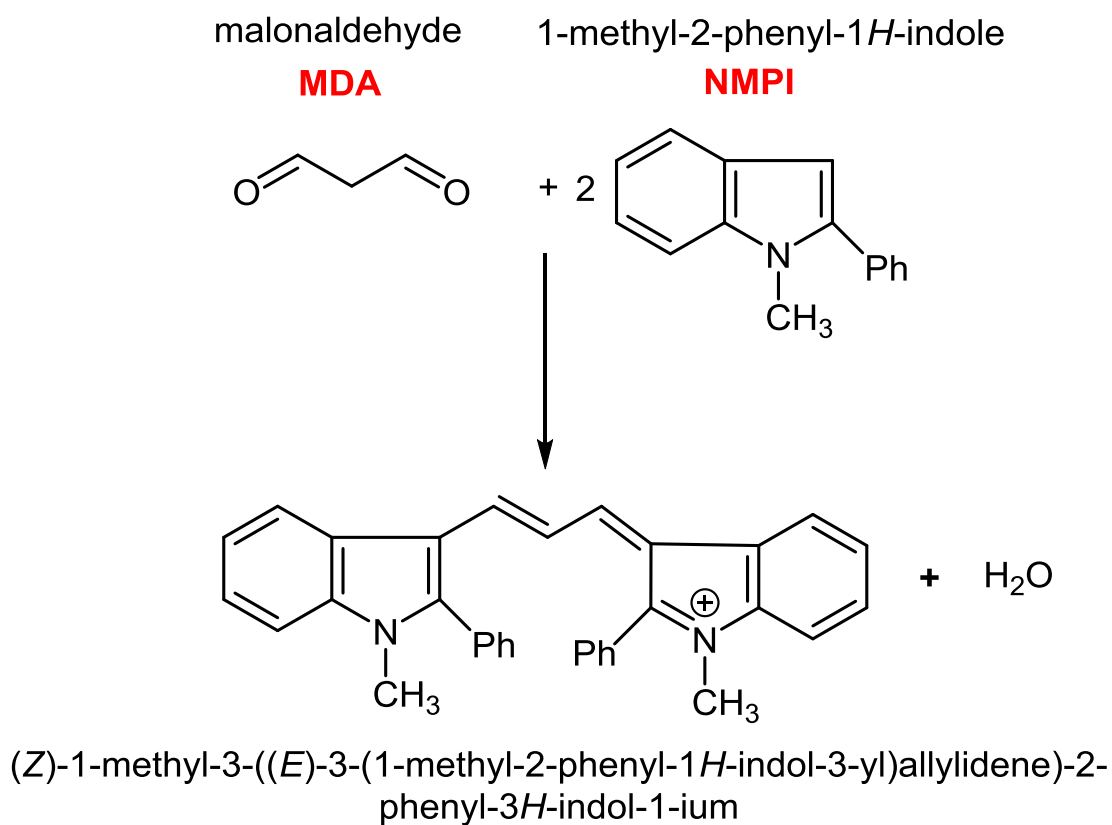
6.5. Προσδιορισμός της μηλονικής διαλδεΐδης

Ο προσδιορισμός της ποσότητας της μηλονικής διαλδεΐδης (MDA) γίνεται φασματοφωτομετρικά στα 586nm. Η μέθοδος που ακολουθήθηκε σε βήματα περιγράφεται παρακάτω:

- 1) Προετοιμασία διαλύματος Beaker με διάλυση 0,106mg 1-μεθυλ-2-φαινυλινδόλης σε 50mL ακετονιτριλίου (ACN).

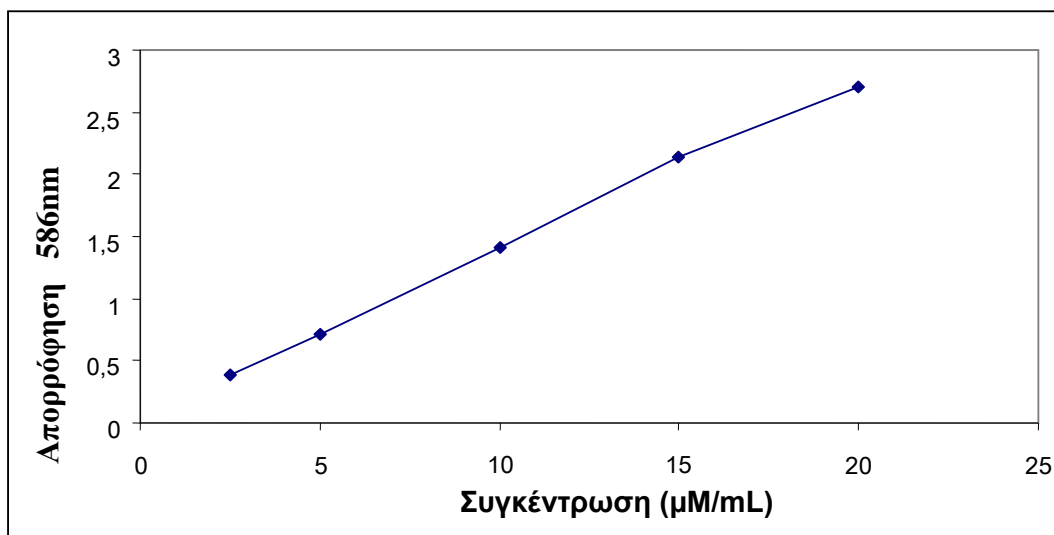
- 2) Προσθήκη 400μL δείγματος (πλάσμα) σε δοκιμαστικό σωλήνα.
- 3) Προσθήκη 1300μL διαλύματος Beaker.
- 4) Προσθήκη 300μL HCl 12N.
- 5) Επώαση για 1 ώρα σε υδατόλουτρο στους 45 °C.
- 6) Τοποθέτηση των δοκιμαστικών σωλήνων σε δοχείο με πάγο μέχρι να μειωθεί η θερμοκρασία των δειγμάτων.
- 7) Τοποθέτηση σε φυγόκεντρο για 15 λεπτά σε 3500 rpm στους 4 °C.
- 8) Τοποθέτηση του υπερκείμενου υγρού σε κυψελίδες για φασματοφωτομετρική μέτρηση.
- 9) Δημιουργία δυο «τυφλών» κυψελίδων με μείγμα διαλύματος Beaker και HCl 2N.
- 10) Μέτρηση στα 586nm.

Για την φασματοφωτομετρική ανίχνευση της MDA γίνεται υδρόλυση σε όξινο περιβάλλον και ένωση με το αντιδραστήριο 1-μέθυλ-2-φαινυλινδόλη (NMPI) (Σχήμα 17):



Εικόνα 19: Χημική αντίδραση για την ανίχνευση της μηλονικής διαλδεΐδης.

Μία καμπύλη αναφοράς με διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης MDA (από 2 έως 20 $\mu\text{M}/\text{mL}$) χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση. Από την καμπύλη αναφοράς προέκυψε η εξίσωση:
 $Y = 0,0169(\pm 0,0325) + 0,1377(\pm 0,0026)X$ και $R^2 = 0,9988$ (Σχήμα 18)

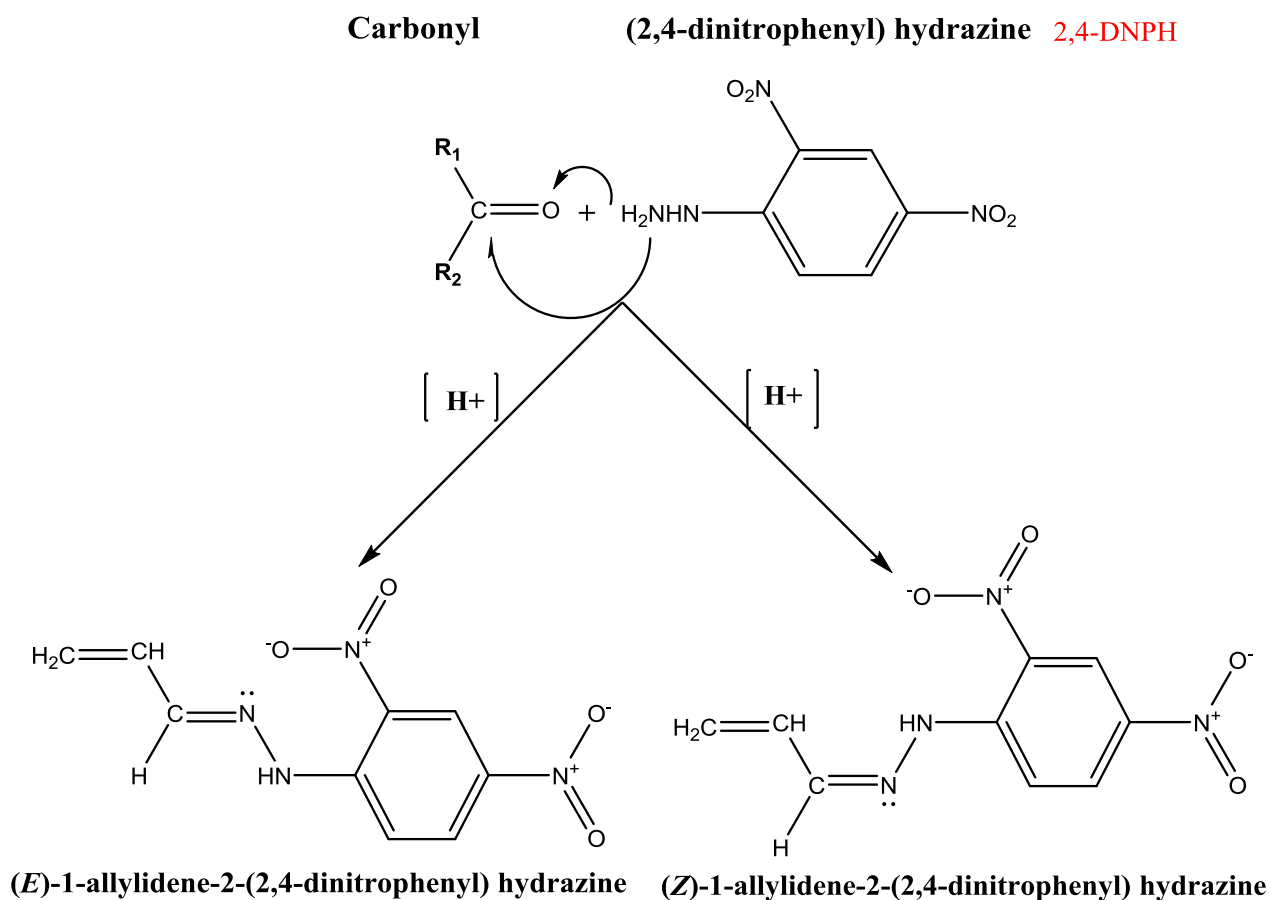


Εικόνα 20: Καμπύλη αναφοράς προτύπου διαλύματος MDA.

6.6. Προσδιορισμός των πρωτεϊνικών καρβονυλίων

Για την ανίχνευση τους γίνεται παραγωγοποίηση με 2,4-δινιτροφαιλυδραζίνη (DNPH)

Σχηματικά η αντίδραση με 2,4-DNPH φαίνεται στο παρακάτω σχήμα



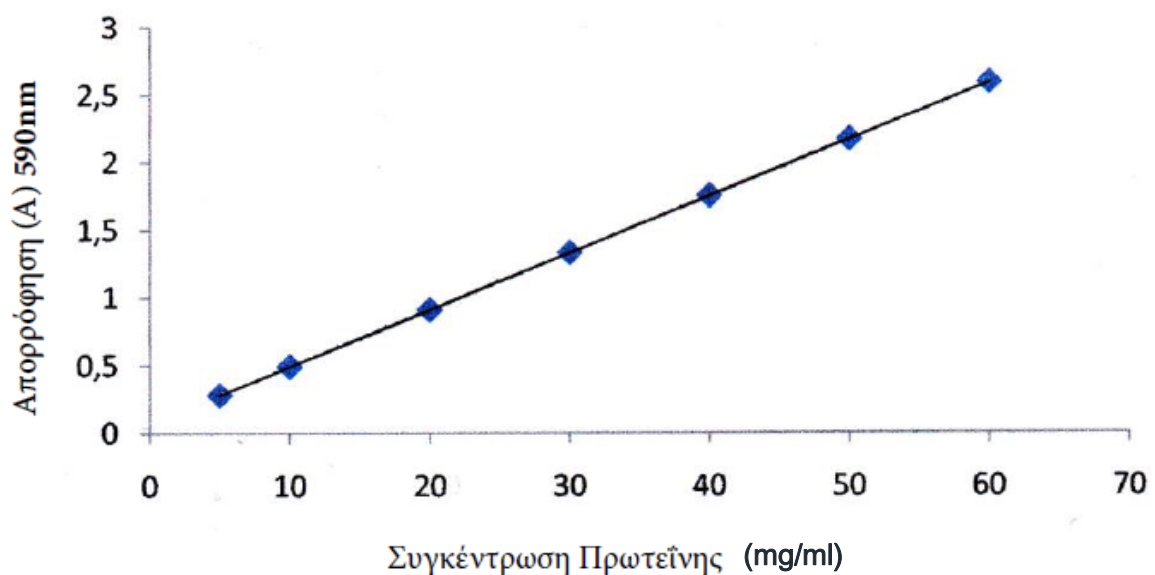
Εικόνα 21: Η αντίδραση καρβονυλίων και 2,4-δινιτροφαιλυδραζίνης [106].

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε σε βήματα περιγράφεται παρακάτω:

- 1) Προετοιμασία διαλύματος 2,4-δινιτροφαιλυδραζίνης (DNPH) με την διάλυση 0,0396gr DNPH σε 20mL HCl 2N.
- 2) Σε έκαστους από δύο σωλήνες erpendorf μεταφέρθηκαν 100μL δείγματος (πλάσμα). Στο ένα erpendorf τοποθετήθηκε το δείγμα από τον ασθενή ενώ στο άλλο το control.
- 3) Στο πλάσμα του ασθενούς προστέθηκαν 500μL διαλύματος DNPH ενώ στο δείγμα control προστέθηκαν 500μL HCl 2N και έγινε ανακίνηση σε vortex.
- 4) Τα δείγματα, αφέθηκαν για επώαση σε σκοτεινό μέρος για 1 ώρα. Στη διάρκεια της

- επώασης τα δείγματα αναδεύονταν σε vortex κάθε 15 λεπτά.
- 5) Κατά τη διάρκεια της επώασης προετοιμάζεται διάλυμα τριγλωρικού οξέος (TCA) 20% με διάλυση 20gr TCA σε 100mL νερού.
 - 6) Αφού ολοκληρώθηκε ο χρόνος επώασης προστέθηκε σε όλα τα δείγματα 600mL διαλύματος Τριγλωρικού οξέος 20% και έγινε ανάδευση με vortex.
 - 7) Όλα τα δείγματα μεταφέρονται σε δοχείο με πάγο για 5 λεπτά.
 - 8) Γίνεται φυγοκέντρηση στις 12000rpm στους 4 °C για 10 λεπτά.
 - 9) Απομακρύνεται με προσοχή το υπερκείμενο και γίνεται έκπλυση του ιζήματος με 1mL μείγματος (1:1) αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα. Ακολούθησε η ανακίνηση του ιζήματος με vortex έως την πλήρη διάλυση του ιζήματος.
 - 10) Τα βήματα 8 και 9 επαναλήφθηκαν 3 διαδοχικές φορές. Εκτελέστηκαν δηλαδή 4 φυγοκεντρήσεις και 3 εκπλύσεις - αναδεύσεις.
 - 11) Μετά την τελευταία φυγοκέντρηση αφαιρείται πάλι το υπερκείμενο και το ίζημα αφήνεται μέσα στο ανοιχτό erpendorf να στεγνώσει στον ατμοσφαιρικό αέρα. Ο χρόνος για αυτό το στάδιο δεν είναι προκαθορισμένος.
 - 12) Προετοιμάζεται διάλυμα γουανιδίνης 6M με προσθήκη 17,2gr γουανιδίνης σε 30mL νερού.
 - 13) Προστίθεται 1mL διαλύματος γουανιδίνης σε όλα τα αποξηραμένα ιζήματα δείγματος και ακολουθεί ανακίνηση σε vortex, στην καλύτερη δυνατή αποκόλληση και διάλυση του ιζήματος.
 - 14) Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο 45 °C για επώαση 30 λεπτών.
 - 15) Με τη λήξη της επώασης τα δείγματα τοποθετούνται στην ψύξη όλη τη νύχτα.
 - 16) Η φασματοφωτομέτρηση γίνεται την επόμενη ημέρα στα 360nm σε συνδυασμό μείγματος γουανιδίνης 6M που είχε χρησιμοποιηθεί στην αναλυτική διαδικασία και HCl 2N ως control.

Μία καμπύλη αναφοράς με διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης πρωτεΐνης (από 5 έως 60 mg/mL) χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση. Από την καμπύλη αναφοράς προέκυψε η εξίσωση (Σχήμα 20): $A = C_{pr} \times 0,042 + 0,073$



Εικόνα 22: Καμπύλη αναφοράς προτύπου διαλύματος πρωτεϊνικών καρβονυλίων

6.7. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω μετρήσεων με τη μέθοδο των πολλαπλών συσχετίσεων και τη μέθοδο πολλαπλής μεταβλητότητας (ANOVA) και Wilcoxon Signed-Rank Test (με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος IBM SPSS Statistics ver. 23 και του Graphpad Prism ver. 6.) Οι μεταβλητές εξετάστηκαν για την κανονικότητά τους χρησιμοποιώντας το Kolmogorov – Smirnov test. Για τις μη κανονικές κατανομές, θα χρησιμοποιηθούν μη παραμετρικές διαδικασίες και τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν ως διάμεσος (median). Επειδή αρκετές βιολογικές μεταβλητές δεν ακολουθούν κανονική κατανομή σε κάθε χρονική στιγμή ασχέτως αν υπάρχει ισχύς απόρριψης

μηδενικής υπόθεσης στα μικρά νούμερα ιδίως ακολουθήθηκε απαραμετρική στατιστική με Wilcoxon paired tests. Οι έλεγχοι στατιστικής σημαντικότητας ήταν όλοι αμφίπλευροι στο επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$.

7. Αποτελέσματα

7.1. Η λιραγλουτίδη βελτιώνει τις ανθρωπομετρικές, βιοχημικές και αιμοδυναμικές παραμέτρους κατόπιν 6 μηνών θεραπείας σε σύγκριση με τη μετφορμίνη.

Η λιραγλουτίδη μείωσε το σωματικό βάρος (92 ± 16 vs 98 ± 16), το δείκτη μάζας σώματος (30.9 ± 5 vs 32.9 ± 5), την περιφέρεια της μέσης (104 ± 14 vs 109 ± 15), το σάκχαρο νηστείας (135 ± 33 vs 165 ± 45), την HbA1c [7 ± 1.2 (53 ± 13) vs 8.6 ± 2 (70 ± 22)], την συστολική (138 ± 19 vs 142 ± 15) αρτηριακή πίεση και την κεντρική συστολική πίεση (138 ± 19 vs 143 ± 20) καθώς αύξησε το καρδιακό ρυθμό (80 ± 11 vs 74 ± 12). Έτσι η λιραγλουτίδη βελτιώνει τις ανθρωπομετρικές, βιοχημικές και αιμοδυναμικές παραμέτρους. Αντίθετα η μετφορμίνη μείωσε μόνο το σάκχαρο νηστείας (143 ± 45 vs 163 ± 40) και την HbA1c [7.7 ± 1 (61 ± 11) vs 8.4 ± 1.2 (68 ± 13)] αλλά σε μικρότερο βαθμό από ότι η λιραγλουτίδη (Πίνακας 2).

Χρόνος σε μήνες	Λιραγλουτίδη (n = 30)			Μετφορμίνη (n = 30)		
	0	6	p	0	6	P
Βάρος (kg)	98 ± 16	$92 \pm 16^*$	0.031	78 ± 12	77 ± 14	0.655
BMI, (kg/m ²)	32.9 ± 5	$30.9 \pm 5^{\#}$	0.009	27.7 ± 2	26.9 ± 3	0.176
Περιφέρεια Μέσης (cm)	109 ± 15	$104 \pm 14^*$	0.065	97 ± 12	95 ± 13	0.401
Σάκχαρο νηστείας, (mg/dl)	165 ± 45	$135 \pm 33^*$	0.027	163 ± 40	143 ± 45	0.042
HbA1c, % (mmol/mol)	8.6 ± 2 (70 ± 22)	7 ± 1.2 (53 ± 13) [*]	0.006	8.4 ± 1.2 (68 ± 13)	7.7 ± 1 (61 ± 11)	0.012
SBP, (mmHg)	142 ± 15	$138 \pm 19^*$	0.024	142 ± 19	141 ± 16	0.632
DBP, (mmHg)	90 ± 8	87.5 ± 12	0.092	89 ± 9	88 ± 8	0.122
cSBP, (mmHg)	143 ± 20	$138 \pm 19^*$	0.035	142 ± 18	140 ± 18	0.574
Καρδιακός Ρυθμός, (bpm)	74 ± 12	$80 \pm 11^*$	0.043	71 ± 12	68 ± 10	0.075

Πίνακας 2: Η επίδραση της αγωγής με λιραγλουτίδη και μετορμίνη στις ανθρωπομετρικές, βιοχημικές και αγγειακές παραμέτρους (* p < 0.05; #p < 0.01, λιραγλουτίδη vs. μετορμίνη κατόπιν της θεραπείας).

7.2. Η λιραγλουτίδη βελτιώνει την αρτηριακή σκληρία και στην συσταλτικότητα της αριστερής κοιλίας.

Η λιραγλουτίδη βελτιώνει την αγγειακή ελαστικότητα όπως φάνηκε από την ταχύτητα παλμικού κύματος (PWV) (10.3 ± 3.3 vs 11.8 ± 2.5), καθώς και την ενδοθηλιακή λειτουργία όπως φάνηκε από το δείκτη της ροής διαμεσολαβούμενης διαστολής (FMD) (13.2 ± 6 vs 8.9 ± 3). Επίσης βελτίωσε της υπερηχογραφικές παραμέτρους οι οποίες αφορούν τις ροές της μητροειδούς βαλβίδας (AI₇₅, GLS, GLSR, pTw, pUtw velocity, %dpTw-UtwPEF, E/A) υποδηλώνοντας βελτιωμένη καρδιακή συσταλτικότητα. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα η μετορμίνη δεν προκάλεσε καμία σημαντική μεταβολή ούτε στους δείκτες ελαστικότητας των αγγείων, ούτε στους δείκτες της καρδιακής συσταλτικότητας.

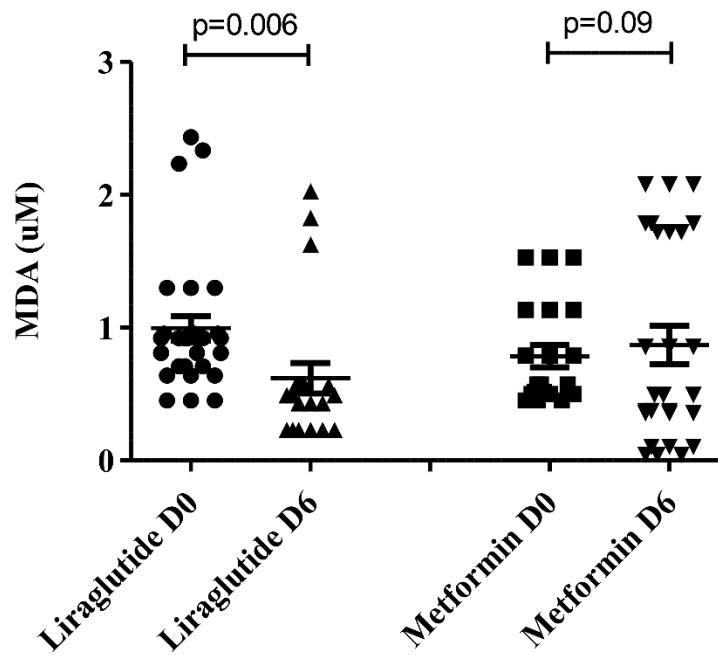
Χρόνος σε μήνες	Λιραγλουτίδη (n = 30)			Μετορμίνη (n = 30)		
	0	6	P	0	6	P
PWV, m/s	11.8 ± 2.5	$10.3 \pm 3.3^*$	0.019	11.2 ± 3	11 ± 3	0.719
AI ₇₅ , %	18 (-1 to 31)	13 (-2 to 31)*	0.032	14 (-9 to 24)	15 (-8 to 24)	0.503
GLS, %	-15.4 ± 3	$-16.6 \pm 2.7^*$	0.043	-15.5 ± 2.9	-15.7 ± 3.2	0.721
GLSR, 1/s	0.77 ± 0.2	$0.89 \pm 0.2^*$	0.038	0.79 ± 0.3	0.82 ± 0.3	0.212

pTw, deg	15.5 ± 4	13.2 ± 6*	0.029	16.2 ± 5	15.0 ± 6	0.313
pUtw velocity, deg/s	- 97 ± 4 9	- 112 ± 52*	0.033	- 100 ± 41	- 98 ± 43	0.576
%dpTw– Utw _{MVO}	31 ± 10	40 ± 14*	0.021	29 ± 18	30 ± 18	0.787
%dpTw–Utw _{PEF}	43 ± 19	53 ± 22	0.018	45 ± 19	50 ± 16	0.874
E/A	0.92 ± 0. 2	0.98 ± 0.3	0.555	0.99 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.679
FMD %	8.9 ± 3	13.2 ± 6*	0.003	8.8 ± 5	11.8 ± 6	0.033

Πίνακας 3: Η επίδραση της αγωγής με λιραγλουτίδη και μετοφορμίνη στην αρτηριακή σκληρία και στην συσταλτικότητα της αριστερής κοιλίας (* p < 0.05; λιραγλουτίδη vs. μετοφορμίνη κατόπιν της θεραπείας).

7.3. Η λιραγλουτίδη μειώνει τα επίπεδα της μηλονικής διαλδεΰδης μετά από 6 μήνες θεραπείας.

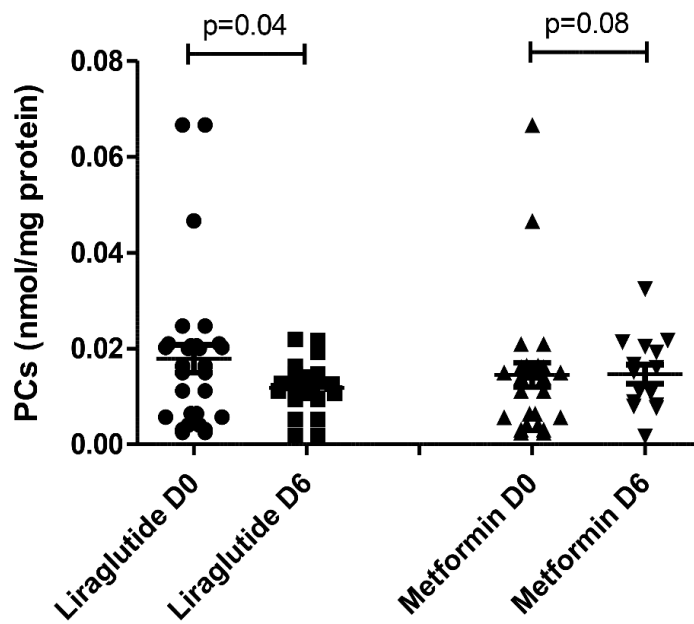
Η ποσοτική μέτρηση της μηλονικής διαλδεΰδης στο πλάσμα έδειξε ότι η μηλονική διαλδεΰδη μειώνεται στατιστικά σημαντικά κατόπιν 6 μηνών θεραπείας με λιραγλουτίδη [0.68 (0.43–2.08) vs 0.92 (0.45–2.45)]. Σε αντιδιαστολή η μετοφορμίνη φαίνεται να μην βελτιώνει αλλά αντίθετα να αυξάνει τα επίπεδα της MDA στο πλάσμα των διαβητικών ασθενών [0.86 (0.1–1.88) vs 0.78 (0.55–1.58)].



Γράφημα 1: Η επίδραση της αγωγής με λιραγλουτίδη και μετφορμίνη στα επίπεδα της MDA (uM)

7.4. Η λιραγλουτίδη μειώνει τα επίπεδα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μετά από 6 μήνες θεραπείας.

Η ποσοτική μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στο πλάσμα έδειξε ότι τα PCs μειώνονται στατιστικά σημαντικά κατόπιν 6 μηνών θεραπείας με λιραγλουτίδη [0.013 (0.008–0.017) vs 0.023 (0.011–0.026)]. Σε αντιδιαστολή η μετφορμίνη φαίνεται να μην βελτιώνει τα επίπεδα των PCs στο πλάσμα των διαβητικών ασθενών [0.013 (0.009–0.017) vs 0.015 (0.006–0.019)]



Γράφημα 2: Η επίδραση της αγωγής με λιραγλουτίδη και μετφορμίνη στα επίπεδα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PCs) (nmol/mg protein)

8. Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη, η θεραπεία με λιραγλουτίδη για 6 μήνες οδήγησε σε σημαντική μείωση της αρτηριακής σκληρίας και του οξειδωτικού στρες με παράλληλη βελτίωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου και της ενδοθηλιακής λειτουργίας που εκτιμήθηκε από το δείκτη FMD σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 χωρίς προηγούμενη θεραπεία. Αυτές οι αλλαγές δεν ήταν εμφανείς μετά τη θεραπεία με μετφορμίνη. Η μείωση του οξειδωτικού στρες συνδέθηκε με βελτιωμένη αρτηριακή ελαστικότητα όπως εκτιμήθηκε από την ταχύτητα παλμικού κύματος (PWV) η οποία με τη σειρά της συσχετίστηκε με βελτιωμένη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου μετά από 6 μήνες θεραπείας.

Μέχρι στιγμής, οι άμεσες επιδράσεις των θεραπειών με βάση τα ανάλογα ινκρετίνης στην μυοκαρδιακή συσταλτικότητα και στην ενδοθηλιακή λειτουργία ήταν αμφιλεγόμενες. Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τις προστατευτικές επιδράσεις του GLP-1 στο μυοκάρδιο. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι η επίδραση στον καρδιακό μεταβολισμό ο οποίος αναγνωρίζεται ως βασικός στόχος στη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας [107]. Τα ανάλογα GLP-1 έχουν αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη και ότι μειώνουν τη φλεγμονώδη απόκριση [108, 109]. Φαίνεται επίσης ότι επάγουν μια σημαντική αύξηση των μεταφορέων γλυκόζης GLUT-2 και GLUT-4, ειδικά στα καρδιομυοκύτταρα [109].

Θεραπεία διάρκειας 3 μηνών με εξενατίδη σε μη δραστήριους ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι βελτιώνει την καρδιακή λειτουργία και μειώνει την αρτηριακή σκληρία [110]. Ωστόσο, σε μια διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο τυχαιοποιημένη μελέτη στην οποία πραγματοποιήθηκε αιμοδυναμική αξιολόγηση μετά από οξεία και χρόνια θεραπεία με ανάλογα GLP1 (έγχυση εξενατίδης έναντι εικονικού φαρμάκου και λιραγλουτίδης έναντι σιταγλιπτίνης ή εικονικού φαρμάκου, αντίστοιχα) αποδείχθηκε ότι η

χορήγηση λιραγλουτίδης για διάστημα 12 εβδομάδων οδήγησε σε ουδέτερα αποτελέσματα όσον αφορά τη μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης. Ωστόσο, η μελέτη αποτελούσε υπο-μελέτη και ο σχεδιασμός του πρωτοκόλλου ήταν προβληματικός. Η δόση θεραπείας δεν ήταν γενικά σταθερή και η οδός χορήγησης ήταν διαφορετική μεταξύ των αγωνιστών GLP1, γεγονός το οποίο μπορεί να επηρέασε την έκβαση της μελέτης [111].

Σε μια ακόμη τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, η λιραγλουτίδη απέτυχε να εμφανίσει όφελος στη συστολική καρδιακή λειτουργία και την ικανότητα άσκησης ασθενών με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης και σταθερή στεφανιαία νόσο. Ωστόσο, η μεγαλύτερη βελτίωση στο κλάσμα εξώθησης στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε στην ομάδα της λιραγλουτίδης κατά τη διάρκεια της περιόδου ανάρρωσης, γεγονός που συμφωνεί με τα αποτελέσματά μας [112].

Παρόλα αυτά, στη βιβλιογραφία γίνεται προηγούμενη αναφορά αυξημένου καρδιακού ρυθμού που σχετίζεται με τη θεραπεία με λιραγλουτίδη, αποτέλεσμα που παρατηρήθηκε επίσης στη μελέτη μας [113]. Η χρονοτροπική επίδραση των αναλόγων GLP-1 πιστεύεται ότι διαμεσολαβείται μέσω των υποδοχέων GLP-1 που βρίσκονται στον φλεβόκομβο [53].

Επιδράσεις της μείωσης του βάρους και στον γλυκαιμικό έλεγχο των ασθενών

Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις της μετφορμίνης στην καρδιακή συσταλτικότητα, παρά τον παρόμοιο γλυκαιμικό έλεγχο με τη λιραγλουτίδη όπως αξιολογήθηκε από τις τιμές της HbA1c μετά τη θεραπεία των ασθενών με λιραγλουτίδη και μετφορμίνη. Συνεπώς, οι παρατηρούμενες αλλαγές στους βιοχημικούς και αγγειακούς δείκτες δεν πρέπει να αποδοθούν στις διαφορές στη γλυκαιμικό προφίλ μετά τη θεραπεία.

Στη μελέτη μας η λιραγλουτίδη προκάλεσε μεγαλύτερη μείωση του βάρους από τη μετφορμίνη. Ωστόσο, η ομάδα ασθενών που έλαβαν λιραγλουτίδη είχε επίσης βελτιωμένη αρτηριακή σκληρία και βελτιωμένη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου. Αυτά τα αποτελέσματα

δείχνουν η λιραγλουτίδη επιφέρει μια συνολική βελτίωση τόσο της καρδιακής λειτουργίας όσο και των ανθρωπομετρικών παραμέτρων των ασθενών.

Επιδράσεις στους δείκτες οξειδωτικού στρες

Η μηλονική διαλδεύδη και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι έγκυροι βιοδείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης και οξειδωσης πρωτεϊνών αντίστοιχα [114]. Η γλυκοζυλίωση έχει αναφερθεί ότι επάγει τον σχηματισμό πρωτεϊνικών καρβονυλίων, δημιουργώντας έτσι ROS και διαιωνίζοντας έναν φαύλο κύκλο οδηγώντας σε διαβητικές επιπλοκές [115]. Οι κυτοκίνες και το νιτρο-οξειδωτικό στρες έχουν άμεση αρνητική ινοτροπική επίδραση και προάγουν την απόπτωση και τη δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας [116]. Επομένως, το αυξημένο οξειδωτικό στρες που οδηγεί σε αγγειακή δυσλειτουργία και ίνωση μπορεί να εξηγήσει τη σχέση μεταξύ αρτηριακής σκληρίας και της πτώσης της καρδιακής συσταλτικότητας [117]. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του οξειδωτικού στρες, της φλεγμονής, της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και του διαβήτη τύπου 2 έχουν μελετηθεί πρόσφατα σε μια πολυκεντρική μελέτη που αφορά τον κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακών παθήσεων. Οι βιοδείκτες της φλεγμονής και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας συσχετίστηκαν θετικά με την πιθανότητα εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 [118].

Σε συμφωνία με τα παραπάνω, σε μία τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη διάρκειας 26 εβδομάδων, συγκρίθηκε η θεραπεία με ινσουλίνη γλαργίνη έναντι της εξενατίδης. Αν και οι δύο παράγοντες βελτίωσαν την υπεργλυκαιμία και την ενδοθηλιακή λειτουργία, η θεραπεία με εξενατίδη ήταν περισσότερο ωφέλιμη για τη διαχείριση του βάρους και όσον αφορά το προφίλ βιοδεικτών της φλεγμονής και της ίνωσης (hs-CRP, MCP-1, ινωδογόνο και ενδοθηλίνη-1, που υποδηλώνουν πιο έντονη αντιφλεγμονώδη δράση) [119].

Στην παρούσα μελέτη, η μείωση των MDA και PCs ήταν μεγαλύτερη μετά τη θεραπεία με λιραγλουτίδη παρά μετά τη θεραπεία με μετφορμίνη. Έτσι, το χαμηλότερο επίπεδο

οξειδωτικού στρες οδήγησε σε μεγαλύτερη βελτίωση της αγγειακής λειτουργίας και της συσταλτικότητας της αριστερής κοιλίας.

9. Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη, η 6μηνη θεραπεία με λιραγλουτίδη είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, αρτηριακή δυσκαμψία, συσταλτικότητας του μυοκαρδίου, και οξειδωτικού στρες από τη μετορμίνη σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία με διαβήτη τύπου 2. Έτσι, σε διαβητικούς ασθενείς με ενδείξεις αρτηριακής σκληρίας και εξασθενημένης καρδιακής συσταλτικότητας, η έγκαιρη στοχευμένη αντιδιαβητική θεραπεία μπορεί να επιβραδύνει την πρόοδο της διαβητικής καρδιακής νόσου.

10. Βιβλιογραφία

1. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus κW, 1999.
2. Bloom A, Hayes TM, Gamble DR, *Register of newly diagnosed diabetic children*. Br Med J, 1975. **3**(5983): p. 580-3.
3. Dudley DJ, *Diabetic-associated stillbirth: incidence, pathophysiology, and prevention*. Clin Perinatol, 2007. **34**(4): p. 611-26, vii.
4. Diabetes C, Complications Trial Research G, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, Rand L, Siebert C, *The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus*. N Engl J Med, 1993. **329**(14): p. 977-86.
5. Weiss JS, Sumpio BE, *Review of prevalence and outcome of vascular disease in patients with diabetes mellitus*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2006. **31**(2): p. 143-50.
6. Nader NS, Kumar S, *Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: where do we stand with drug treatment and behavioral management?* Curr Diab Rep, 2008. **8**(5): p. 383-8.
7. Sharma M, Beckley N, Nazareth I, Petersen I, *Effectiveness of sitagliptin compared to sulfonylureas for type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin: a systematic review and meta-analysis*. BMJ Open, 2017. **7**(10): p. e017260.
8. Paschou SA, Dede AD, Anagnostis PG, Vryonidou A, Morganstein D, Goulis DG, *Type 2 Diabetes and Osteoporosis: A Guide to Optimal Management*. J Clin Endocrinol Metab, 2017. **102**(10): p. 3621-3634.
9. Di Lullo L, Mangano M, Ronco C, Barbera V, De Pascalis A, Bellasi A, Russo D, Di Iorio B, Cozzolino M, *The treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with chronic kidney disease: What to expect from new oral hypoglycemic agents*. Diabetes Metab

- Syndr, 2017. **11 Suppl 1**: p. S295-S305.
10. Cheng JWM, Badreldin HA, Patel DK, Bhatt SH, *Antidiabetic agents and cardiovascular outcomes in patients with heart diseases*. *Curr Med Res Opin*, 2017. **33**(6): p. 985-992.
 11. Mikhail N, *Use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease*. *Postgrad Med*, 2012. **124**(4): p. 138-44.
 12. Lupsa BC, Inzucchi SE, *Diabetes medications and cardiovascular disease: at long last progress*. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2018.
 13. *Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34)*. *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group*. *Lancet*, 1998. **352**(9131): p. 854-65.
 14. Lexis CP, van der Horst IC, Lipsic E, Wieringa WG, de Boer RA, van den Heuvel AF, van der Werf HW, Schurer RA, Pundziute G, Tan ES, Nieuwland W, Willemsen HM, Dorhout B, Molmans BH, van der Horst-Schrivers AN, Wolffenbuttel BH, ter Horst GJ, van Rossum AC, Tijssen JG, Hillege HL, de Smet BJ, van der Harst P, van Veldhuisen DJ, Investigators G-I, *Effect of metformin on left ventricular function after acute myocardial infarction in patients without diabetes: the GIPS-III randomized clinical trial*. *JAMA*, 2014. **311**(15): p. 1526-35.
 15. Agarwal N, Rice SP, Bolusani H, Luzio SD, Dunseath G, Ludgate M, Rees DA, *Metformin reduces arterial stiffness and improves endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome: a randomized, placebo-controlled, crossover trial*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. **95**(2): p. 722-30.
 16. McCoy RG, Irving BA, Soop M, Srinivasan M, Tatpati L, Chow L, Weymiller AJ, Carter RE, Nair KS, *Effect of insulin sensitizer therapy on atherothrombotic and*

- inflammatory profiles associated with insulin resistance*. Mayo Clin Proc, 2012. **87**(6): p. 561-70.
17. Gin H, Freyburger G, Boisseau M, Aubertin J, *Study of the effect of metformin on platelet aggregation in insulin-dependent diabetics*. Diabetes Res Clin Pract, 1989. **6**(1): p. 61-7.
 18. Bhalla RC, Toth KF, Tan E, Bhatta RA, Mathias E, Sharma RV, *Vascular effects of metformin. Possible mechanisms for its antihypertensive action in the spontaneously hypertensive rat*. Am J Hypertens, 1996. **9**(6): p. 570-6.
 19. Landin-Wilhelmsen K, *Metformin and blood pressure*. J Clin Pharm Ther, 1992. **17**(2): p. 75-9.
 20. He H, Zhao Z, Chen J, Ni Y, Zhong J, Yan Z, Li Y, Liu D, Pletcher MJ, Zhu Z, *Metformin-based treatment for obesity-related hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. J Hypertens, 2012. **30**(7): p. 1430-9.
 21. Ladeiras-Lopes R, Fontes-Carvalho R, Bettencourt N, Sampaio F, Gama V, Leite-Moreira A, *Novel therapeutic targets of metformin: metabolic syndrome and cardiovascular disease*. Expert Opin Ther Targets, 2015. **19**(7): p. 869-77.
 22. 2013.www.ama-assn.org/ama/pub/news/news/2013/2013-06-18-new-ama-policies-annual-meeting.page AAAANPoSDoVaAM.
 23. Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI, *Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis*. JAMA, 2013. **309**(1): p. 71-82.
 24. Astrup A, Rossner S, Van Gaal L, Rissanen A, Niskanen L, Al Hakim M, Madsen J, Rasmussen MF, Lean ME, Group NNS, *Effects of liraglutide in the treatment of obesity: a randomised, double-blind, placebo-controlled study*. Lancet, 2009. **374**(9701): p. 1606-16.

25. 2014. www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm427913.htm
FFaw-mdS.
26. 2015] NNCAwncbgpLaM.
27. Neumiller JJ, Sonnett TE, Wood LD, Setter SM, Campbell RK, *Pharmacology, efficacy and safety of liraglutide in the management of type 2 diabetes*. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2010. **3**: p. 215-26.
28. Farag YM, Gaballa MR, *Diabesity: an overview of a rising epidemic*. *Nephrol Dial Transplant*, 2011. **26**(1): p. 28-35.
29. Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ, *Therapies for inter-relating diabetes and obesity - GLP-1 and obesity*. *Expert Opin Pharmacother*, 2014. **15**(17): p. 2487-500.
30. Holst JJ, *The physiology of glucagon-like peptide 1*. *Physiol Rev*, 2007. **87**(4): p. 1409-39.
31. Torekov SS, Kipnes MS, Harley RE, Holst JJ, Ehlers MR, *Dose response of subcutaneous GLP-1 infusion in patients with type 2 diabetes*. *Diabetes Obes Metab*, 2011. **13**(7): p. 639-43.
32. Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger RD, *Intravenous infusion of glucagon-like peptide-1 potently inhibits food intake, sham feeding, and gastric emptying in rats*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005. **288**(6): p. R1695-706.
33. Tang-Christensen M, Larsen PJ, Goke R, Fink-Jensen A, Jessop DS, Moller M, Sheikh SP, *Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats*. *Am J Physiol*, 1996. **271**(4 Pt 2): p. R848-56.
34. Sheikh A, *Direct cardiovascular effects of glucagon like peptide-1*. *Diabetol Metab Syndr*, 2013. **5**(1): p. 47.
35. 2014] IN-UAfwn-pcypLaD.
36. www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-

37. Madsbad S, *Exenatide and liraglutide: different approaches to develop GLP-1 receptor agonists (incretin mimetics)--preclinical and clinical results*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2009. **23**(4): p. 463-77.
38. Klein DJ, Battelino T, Chatterjee DJ, Jacobsen LV, Hale PM, Arslanian S, Group NNS, *Liraglutide's safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics in pediatric type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Diabetes Technol Ther, 2014. **16**(10): p. 679-87.
39. Consoli A, Formoso G, *Do thiazolidinediones still have a role in treatment of type 2 diabetes mellitus?* Diabetes Obes Metab, 2013. **15**(11): p. 967-77.
40. Nauck M, Frid A, Hermansen K, Thomsen AB, Daring M, Shah N, Tankova T, Mitha I, Matthews DR, *Long-term efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride and placebo, all in combination with metformin in type 2 diabetes: 2-year results from the LEAD-2 study*. Diabetes Obes Metab, 2013. **15**(3): p. 204-12.
41. Garber A, Henry R, Ratner R, Garcia-Hernandez PA, Rodriguez-Pattzi H, Olvera-Alvarez I, Hale PM, Zdravkovic M, Bode B, Group L-S, *Liraglutide versus glimepiride monotherapy for type 2 diabetes (LEAD-3 Mono): a randomised, 52-week, phase III, double-blind, parallel-treatment trial*. Lancet, 2009. **373**(9662): p. 473-81.
42. Garber A, Henry RR, Ratner R, Hale P, Chang CT, Bode B, Group L-S, *Liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide 1 analogue, provides sustained improvements in glycaemic control and weight for 2 years as monotherapy compared with glimepiride in patients with type 2 diabetes*. Diabetes Obes Metab, 2011. **13**(4): p. 348-56.
43. Zinman B, Gerich J, Buse JB, Lewin A, Schwartz S, Raskin P, Hale PM, Zdravkovic M, Blonde L, Investigators L-S, *Efficacy and safety of the human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in combination with metformin and thiazolidinedione in*

- patients with type 2 diabetes (LEAD-4 Met+TZD)*. *Diabetes Care*, 2009. **32**(7): p. 1224-30.
44. Pratley R, Nauck M, Bailey T, Montanya E, Cuddihy R, Filetti S, Garber A, Thomsen AB, Hartvig H, Davies M, Group L-D-S, *One year of liraglutide treatment offers sustained and more effective glycaemic control and weight reduction compared with sitagliptin, both in combination with metformin, in patients with type 2 diabetes: a randomised, parallel-group, open-label trial*. *Int J Clin Pract*, 2011. **65**(4): p. 397-407.
45. Pratley RE, Nauck M, Bailey T, Montanya E, Cuddihy R, Filetti S, Thomsen AB, Sondergaard RE, Davies M, Group L-D-S, *Liraglutide versus sitagliptin for patients with type 2 diabetes who did not have adequate glycaemic control with metformin: a 26-week, randomised, parallel-group, open-label trial*. *Lancet*, 2010. **375**(9724): p. 1447-56.
46. Russell-Jones D, Vaag A, Schmitz O, Sethi BK, Lalic N, Antic S, Zdravkovic M, Ravn GM, Simo R, Liraglutide E, Action in Diabetes 5 met SUSG, *Liraglutide vs insulin glargine and placebo in combination with metformin and sulfonylurea therapy in type 2 diabetes mellitus (LEAD-5 met+SU): a randomised controlled trial*. *Diabetologia*, 2009. **52**(10): p. 2046-55.
47. D'Alessio D, Haring HU, Charbonnel B, de Pablos-Velasco P, Candelas C, Dain MP, Vincent M, Pilorget V, Yki-Jarvinen H, Investigators E, *Comparison of insulin glargine and liraglutide added to oral agents in patients with poorly controlled type 2 diabetes*. *Diabetes Obes Metab*, 2015. **17**(2): p. 170-8.
48. Astrup A, Carraro R, Finer N, Harper A, Kunesova M, Lean ME, Niskanen L, Rasmussen MF, Rissanen A, Rossner S, Savolainen MJ, Van Gaal L, Investigators NN, *Safety, tolerability and sustained weight loss over 2 years with the once-daily human GLP-1 analog, liraglutide*. *Int J Obes (Lond)*, 2012. **36**(6): p. 843-54.

49. Wadden TA, Hollander P, Klein S, Niswender K, Woo V, Hale PM, Aronne L, *Weight maintenance and additional weight loss with liraglutide after low-calorie-diet-induced weight loss: The SCALE Maintenance randomized study*. Int J Obes (Lond), 2015. **39**(1): p. 187.
50. Sivertsen J, Rosenmeier J, Holst JJ, Vilsboll T, *The effect of glucagon-like peptide 1 on cardiovascular risk*. Nat Rev Cardiol, 2012. **9**(4): p. 209-22.
51. Montanya E, Sesti G, *A review of efficacy and safety data regarding the use of liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide 1 analogue, in the treatment of type 2 diabetes mellitus*. Clin Ther, 2009. **31**(11): p. 2472-88.
52. Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefler J, Bolz SS, Drucker DJ, Husain M, *Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways*. Circulation, 2008. **117**(18): p. 2340-50.
53. Pyke C, Heller RS, Kirk RK, Orskov C, Reedtz-Runge S, Kaastrup P, Hvelplund A, Bardram L, Calatayud D, Knudsen LB, *GLP-1 receptor localization in monkey and human tissue: novel distribution revealed with extensively validated monoclonal antibody*. Endocrinology, 2014. **155**(4): p. 1280-90.
54. Richter G, Feddersen O, Wagner U, Barth P, Goke R, Goke B, *GLP-1 stimulates secretion of macromolecules from airways and relaxes pulmonary artery*. Am J Physiol, 1993. **265**(4 Pt 1): p. L374-81.
55. Russo GT, Labate AM, Giandalia A, Romeo EL, Villari P, Alibrandi A, Perdichizzi G, Cucinotta D, *Twelve-month treatment with Liraglutide ameliorates Visceral Adiposity Index and common cardiovascular risk factors in type 2 diabetes outpatients*. J Endocrinol Invest, 2015. **38**(1): p. 81-9.
56. Marso SP, Lindsey JB, Stolker JM, House JA, Martinez Ravn G, Kennedy KF, Jensen

- TM, Buse JB, *Cardiovascular safety of liraglutide assessed in a patient-level pooled analysis of phase 2: 3 liraglutide clinical development studies*. *Diab Vasc Dis Res*, 2011. **8**(3): p. 237-40.
57. Inoue M, Sato E, Nishikawa M, Park A, Kira Y, Imada I, Utsumi K, *Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life*. *Current Medicinal Chemistry*, 2003. **10**(23): p. 2495-2505.
58. Young IS, Woodside JV, *Antioxidants in health and disease*. *J Clin Pathol*, 2001. **54**(3): p. 176-86.
59. Li H, Horke S, Forstermann U, *Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention*. *Trends Pharmacol Sci*, 2013. **34**(6): p. 313-9.
60. Tangpong J, Cole MP, Sultana R, Estus S, Vore M, St Clair W, Ratanachaiyavong S, St Clair DK, Butterfield DA, *Adriamycin-mediated nitration of manganese superoxide dismutase in the central nervous system: insight into the mechanism of chemobrain*. *J Neurochem*, 2007. **100**(1): p. 191-201.
61. Iannitti T, Palmieri B, *Antioxidant therapy effectiveness: an up to date*. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2009. **13**(4): p. 245-278.
62. Antus B, *Oxidative Stress Markers in Sputum*. *Oxid Med Cell Longev*, 2016. **2016**: p. 2930434.
63. Kannel WB, *Framingham study insights on diabetes and cardiovascular disease*. *Clin Chem*, 2011. **57**(2): p. 338-9.
64. *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*, 1998. **352**(9131): p. 837-53.
65. Laakso M, *Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes*. *Diabetes*,

1999. **48**(5): p. 937-42.
66. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G, *Oxidative stress and diabetic vascular complications*. Diabetes Care, 1996. **19**(3): p. 257-67.
67. Brownlee M, *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 2001. **414**(6865): p. 813-20.
68. Ceriello A, *New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy*. Diabetes Care, 2003. **26**(5): p. 1589-96.
69. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW, *Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells*. Circ Res, 1994. **74**(6): p. 1141-8.
70. Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ, *NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair*. Pharmacol Rev, 2011. **63**(1): p. 218-42.
71. Zhao K, Huang Z, Lu H, Zhou J, Wei T, *Induction of inducible nitric oxide synthase increases the production of reactive oxygen species in RAW264.7 macrophages*. Biosci Rep, 2010. **30**(4): p. 233-41.
72. Gorin Y,Block K, *Nox as a target for diabetic complications*. Clin Sci (Lond), 2013. **125**(8): p. 361-82.
73. Butler R, Morris AD, Belch JJ, Hill A, Struthers AD, *Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetics with mild hypertension*. Hypertension, 2000. **35**(3): p. 746-51.
74. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO, 3rd, Quyyumi AA, Panza JA, *Xanthine oxidase inhibition with oxypurinol improves endothelial vasodilator function in hypercholesterolemic but not in hypertensive patients*. Hypertension, 1997. **30**(1 Pt 1): p. 57-63.

75. Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, Lapatto R, Nurminen K, Vapaatalo H, Muller DN, Fiebeler A, Ganten U, Ganten D, Luft FC, *Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes*. Hypertension, 2001. **37**(2 Pt 2): p. 414-8.
76. Lu Y, Wahl LM, *Oxidative stress augments the production of matrix metalloproteinase-1, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 through enhancement of NF-kappa B activity in lipopolysaccharide-activated human primary monocytes*. J Immunol, 2005. **175**(8): p. 5423-9.
77. Behl T, Kaur I, Kotwani A, *Role of leukotrienes in diabetic retinopathy*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2016. **122**: p. 1-9.
78. Frostegard J, *Immune mechanisms in atherosclerosis, especially in diabetes type 2*. Front Endocrinol (Lausanne), 2013. **4**: p. 162.
79. Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C, *Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress*. Diabetologia, 2001. **44**(7): p. 834-8.
80. Ceriello A, Quagliaro L, D'Amico M, Di Filippo C, Marfella R, Nappo F, Berrino L, Rossi F, Giugliano D, *Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat*. Diabetes, 2002. **51**(4): p. 1076-82.
81. Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK, Choi JY, Chung MH, Han B, Kim SY, Lee HK, *Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats*. Diabetes, 2001. **50**(12): p. 2837-41.
82. Kamoshima W, Kitamura Y, Nomura Y, Taniguchi T, *Possible involvement of ADP-ribosylation of particular enzymes in cell death induced by nitric oxide-donors in human neuroblastoma cells*. Neurochem Int, 1997. **30**(3): p. 305-11.

83. Son SM, *Reactive oxygen and nitrogen species in pathogenesis of vascular complications of diabetes*. Diabetes Metab J, 2012. **36**(3): p. 190-8.
84. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM, *Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?* Diabetes, 2003. **52**(1): p. 1-8.
85. Wolff SP, Dean RT, *Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes*. Biochem J, 1987. **245**(1): p. 243-50.
86. Tang WH, Martin KA, Hwa J, *Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus*. Front Pharmacol, 2012. **3**: p. 87.
87. Sigala F, Efentakis P, Karageorgiadi D, Filis K, Zampas P, Iliodromitis EK, Zografos G, Papapetropoulos A, Andreadou I, *Reciprocal regulation of eNOS, H2S and CO-synthesizing enzymes in human atheroma: Correlation with plaque stability and effects of simvastatin*. Redox Biol, 2017. **12**: p. 70-81.
88. Marshall S, Garvey WT, Traxinger RR, *New insights into the metabolic regulation of insulin action and insulin resistance: role of glucose and amino acids*. FASEB J, 1991. **5**(15): p. 3031-6.
89. Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP, *The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications*. Biofactors, 1999. **10**(2-3): p. 157-67.
90. Barnes PJ, Karin M, *Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases*. N Engl J Med, 1997. **336**(15): p. 1066-71.
91. Kyriakis JM, Avruch J, *Sounding the alarm: protein kinase cascades activated by stress and inflammation*. J Biol Chem, 1996. **271**(40): p. 24313-6.
92. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M, *Normalizing mitochondrial*

- superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage*. Nature, 2000. **404**(6779): p. 787-90.
93. Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ, *The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus*. Diabetologia, 2000. **43**(5): p. 550-7.
94. Bakker SJ, RG IJ, Teerlink T, Westerhoff HV, Gans RO, Heine RJ, *Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and beta-cell failure?* Atherosclerosis, 2000. **148**(1): p. 17-21.
95. Toborek M, Hennig B, *Fatty acid-mediated effects on the glutathione redox cycle in cultured endothelial cells*. Am J Clin Nutr, 1994. **59**(1): p. 60-5.
96. Dichtl W, Nilsson L, Goncalves I, Ares MP, Banfi C, Calara F, Hamsten A, Eriksson P, Nilsson J, *Very low-density lipoprotein activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells*. Circ Res, 1999. **84**(9): p. 1085-94.
97. Hennig B, Meerarani P, Ramadass P, Watkins BA, Toborek M, *Fatty acid-mediated activation of vascular endothelial cells*. Metabolism, 2000. **49**(8): p. 1006-13.
98. Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S, *Relation Between Antioxidant Enzyme Gene Expression and Antioxidative Defense Status of Insulin-Producing Cells*. Diabetes, 1997. **46**(11): p. 1733-1742.
99. Miwa I, Ichimura N, Sugiura M, Hamada Y, Taniguchi S, *Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy-2-nonenal and other lipid peroxidation products*. Endocrinology, 2000. **141**(8): p. 2767-72.
100. Lee HB, Yu MR, Yang Y, Jiang Z, Ha H, *Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(8 Suppl 3): p. S241-5.
101. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N, *A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress*. Nutr Metab Cardiovasc Dis,

2005. **15**(4): p. 316-28.
102. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, Knight AR, Taylor EL, Oettrich J, Ruskovska T, Gasparovic AC, Cuadrado A, Weber D, Poulsen HE, Grune T, Schmidt HH, Ghezzi P, *Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress*. *Antioxid Redox Signal*, 2015. **23**(14): p. 1144-70.
103. Griesser M, Boeglin WE, Suzuki T, Schneider C, *Convergence of the 5-LOX and COX-2 pathways: heme-catalyzed cleavage of the 5S-HETE-derived di-endoperoxide into aldehyde fragments*. *J Lipid Res*, 2009. **50**(12): p. 2455-62.
104. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R, *Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress*. *Clin Chim Acta*, 2003. **329**(1-2): p. 23-38.
105. Weber D, Davies MJ, Grune T, *Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions*. *Redox Biol*, 2015. **5**: p. 367-80.
106. Osório V, Cardeal Z, *Analytical Methods to Assess Carbonyl Compounds in Foods and Beverages*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2013. **24**(11).
107. Taegtmeier H, Salazar R, *Myocardial metabolism: a new target for the treatment of heart disease?* *Curr Hypertens Rep*, 2004. **6**(6): p. 414-5.
108. Noyan-Ashraf MH, Shikatani EA, Schuiki I, Mukovozov I, Wu J, Li RK, Volchuk A, Robinson LA, Billia F, Drucker DJ, Husain M, *A glucagon-like peptide-1 analog reverses the molecular pathology and cardiac dysfunction of a mouse model of obesity*. *Circulation*, 2013. **127**(1): p. 74-85.
109. Villanueva-Penacarrillo ML, Puente J, Redondo A, Clemente F, Valverde I, *Effect of GLP-1 treatment on GLUT2 and GLUT4 expression in type 1 and type 2 rat diabetic models*. *Endocrine*, 2001. **15**(2): p. 241-8.
110. Scalzo RL, Moreau KL, Ozemek C, Herlache L, McMillin S, Gilligan S, Huebschmann

- AG, Bauer TA, Dorosz J, Reusch JE, Regensteiner JG, *Exenatide improves diastolic function and attenuates arterial stiffness but does not alter exercise capacity in individuals with type 2 diabetes*. J Diabetes Complications, 2017. **31**(2): p. 449-455.
111. Smits MM, Tonneijck L, Muskiet MH, Hoekstra T, Kramer MH, Diamant M, van Raalte DH, *The effects of GLP-1 based therapies on postprandial haemodynamics: Two randomised, placebo-controlled trials in overweight type 2 diabetes patients*. Diabetes Res Clin Pract, 2017. **124**: p. 1-10.
112. Kumarathurai P, Anholm C, Nielsen OW, Kristiansen OP, Molvig J, Madsbad S, Haugaard SB, Sajadieh A, *Effects of the glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide on systolic function in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled crossover study*. Cardiovasc Diabetol, 2016. **15**(1): p. 105.
113. Robinson LE, Holt TA, Rees K, Randevara HS, O'Hare JP, *Effects of exenatide and liraglutide on heart rate, blood pressure and body weight: systematic review and meta-analysis*. BMJ Open, 2013. **3**(1).
114. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P, *Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors*. Clin Chem, 1997. **43**(7): p. 1209-14.
115. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER, *Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins*. Methods Enzymol, 1990. **186**: p. 464-78.
116. Prabhu SD, *Cytokine-induced modulation of cardiac function*. Circ Res, 2004. **95**(12): p. 1140-53.
117. Paterson I, Mielniczuk LM, O'Meara E, So A, White JA, *Imaging heart failure: current and future applications*. Can J Cardiol, 2013. **29**(3): p. 317-28.

118. Odegaard AO, Jacobs DR, Jr., Sanchez OA, Goff DC, Jr., Reiner AP, Gross MD, *Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes*. Cardiovasc Diabetol, 2016. **15**: p. 51.
119. Gurkan E, Tarkun I, Sahin T, Cetinarslan B, Canturk Z, *Evaluation of exenatide versus insulin glargine for the impact on endothelial functions and cardiovascular risk markers*. Diabetes Res Clin Pract, 2014. **106**(3): p. 567-75.
120. Lopes R, Carvalho R, Bettencourt N, Moreira A, *Novel therapeutic targets of metformin: Metabolic syndrome and cardiovascular disease*. Expert Opinion on Therapeutic Targets 19(7):1-9 , 2015