



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»**



Διεύθυνση Προγράμματος: Καθηγητής Νικόλαος Παπαντωνίου

**«Σακχαρώδης διαβήτης κύησης και η επίδρασή του στο
έμβρυο: ο ρόλος του οξειδωτικού στρες»**

*Μεταπτυχιακή εργασία
Τριανταφυλλίδου Πηνελόπη*

**Γ΄ Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών,
Νοσοκομείο «Αττικόν»
Διευθυντής: Καθηγητής Νικόλαος Παπαντωνίου**



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

Γ' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Π. Γ. Ν «Αττικόν»

Διευθοντής: Καθηγητής Νικόλαος Παπαντωνίου

**«Σακχαρώδης διαβήτης κύησης και η επίδρασή του
στο έμβρυο: ο ρόλος του οξειδωτικού στρες»**

*Μεταπτυχιακή εργασία
Τριανταφυλλίδου Πηνελόπη*

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»

Διεύθυνση Προγράμματος: Καθηγητής Νικόλαος Παπαντωνίου

ΑΘΗΝΑ 2017

Αφιέρωση στους γονείς μου

Περιεχόμενα:

- Βιογραφικό σημείωμα σελ. 3

Γενικό μέρος σελ. 7

- Πλακουντοποίηση – ο ρόλος του O2 σελ. 9
- Υποξία και HIF(hypoxia induced factor) σελ. 10
- Μεταφορά μέσω πλακούντα σελ.14
- Μεταβολισμός γλυκόζης και ενδιάμεσος μεταβολισμός σελ. 18
- Ινσουλίνη σελ. 21
- Οξειδωτικό στρες σελ. 24
- Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί σελ. 30
- Μονοπάτια απόπτωσης και επιβίωσης του κυττάρου σελ. 33
- Παχυσαρκία και metaflammation σελ. 39
- Λιπώδης ιστός σελ. 39
- Χαμηλού βαθμού φλεγμονή σελ. 45
- Στρες του ενδοπλασματικού δικτύου σελ. 52
- Φλεγμονόσωμα σελ. 54

Ειδικό Μέρος

- Σκοπός-Υλικό σελ. 61
- Σακχαρώδης διαβήτης σελ. 63
- Μεταβολισμός στο ΣΔ σελ. 67
- Οξειδωτικό στρες σε ΣΔ σελ. 72
- Στρες του ΕΔ στο ΣΔ σελ. 75
- Επιπλοκές στο έμβρυο σελ. 79
- Επιπλοκές στην πλακουντοποίηση (os-no-εμφύτευση-μεταφορά) σελ. 81
- Διαβητική εμβρυοπάθεια σελ. 89
- Σίδηρος σελ. 103
- Μικροσώματα σελ. 105
- Μεταγραφομική σελ. 107
- Μεταβολική μνήμη και εμβρυικός προγραμματισμός σελ. 108
- Επιγενετική σελ. 114
- Νεότερες θεραπείες σελ. 116
- Συμπεράσματα σελ. 118
- Περίληψη σελ. 120

Summary

Βιβλιογραφία σελ. 121

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Βιογραφικά στοιχεία

Όνοματεπώνυμο: Τριανταφυλλίδου Πηνελόπη

Χρονολογία Γεννήσεως: 18 Ιανουαρίου 1978

Τόπος Γεννήσεως: Αθήνα

Υπηκοότητα: Ελληνική

Διεύθυνση κατοικίας: Ακτή Θεμιστοκλέους 124, Πειραιάς ΤΚ 18539

Τηλέφωνα: 6937794887

e-mail: pinelopi30f@gmail.com

ΣΠΟΥΔΕΣ – ΣΤΑΔΙΟΔΡΟΜΙΑ

1996-αποφοίτηση από 3^ο Γενικό Λύκειο Βύρωνα-Βαθμός: Άριστα 19,4

1996-2003 Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών με Πανελλήνιες Εξετάσεις

Βαθμός πτυχίου: Λίαν καλώς 7,59

Ιούλιος 2002: Αγροτικό ιατρείο Τήλου

Υποτροφία

Κληροδότημα Παπαδάκη (μετά από εξετάσεις)

Αγροτική Θητεία

15.09.2003-14.12.2003 Εκπαίδευση στην Παθολογία, Χειρουργική, Καρδιολογία στο Γενικό Νοσοκομείο –Κ.Υ Ικαρίας

15.2.2003-14.12.2004 Αγροτικός ιατρός στο ΓΝ-ΚΥ Ικαρίας – Καθήκοντα ειδικευόμενου στις κλινικές χειρουργικής-παθολογίας-καρδιολογίας-παιδιατρικής

Ειδίκευση Παιδιατρικής

10.06.2005-24.01.2007

Ειδικευόμενη παιδιατρικής στην Παιδιατρική κλινική Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας (Δ/ντρια Ι.Αγορογιάννη)

11.2008 Άδεια Άσκησης Επαγγέλματος στη Γερμανία

15.11.2008-24.01.2009

Universitätsklinikum Freiburg, Kinderkardiologie Angeborene Herzfehler (Professor B. Stiller)

24.01.2009-28.02.2009

Universitätsklinikum Freiburg Neonatologie (Professor R. Henschel)

01.04.2009-30.09.2009

Stadtklinik Baden-Baden Kinderklinik (Professor Rappen)

05.01.2010-05.01.2012

Νοσοκομείο Παίδων «Παναγιώτη και Αγλαΐας Κυριακού»

Ειδικότητα παιδιατρικής (Δ/ντρια Χ. Δράκου)

Εκπαιδευτική άδεια:

01.08.2011-31.12.2011

Universitätsklinikum Freiburg-Neonatologie (Professor R. Henschel)

Απρίλιος 2012 Εξετάσεις Παιδιατρικής –Λήψη Ειδικότητας

01.06.2012-03.10.2012

MEN Νεογνών Π.Ν. Δυτικής Αττικής «Αττικό» (Δ/ντρια : Π. Νικολαΐδου- Π. Μέξη)

Επιστημονικός συνεργάτης με χρέη επιμελητή Β στη MENN

Εξειδίκευση Νεογνολογίας

03.10.2012 -05.06.2015

MEN Νεογνών Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας (Δ/ντης Ι.Λαμπαδαρίδης / Μ.Θεοδωράκη)

Ιατρείο μακροχρόνιας παρακολούθησης νεογνών-follow up (2 χρόνια)

Φεβρουάριος 2015 Εξετάσεις στη νεογνολογία-Τίτλος εξειδίκευσης

Σημερινή Εργασία

03.07.2015-σήμερα

Επικουρική Επιμελήτρια ΜΕΝ Νεογνών Π.Ν. Δυτικής Αττικής «Αττικό» (Δ/ντρια :
Ε.Παπαευαγγέλου-Π.Μέξη)

Λειτουργική υπερηχοκαρδιογραφία νεογνών

Υπεύθυνη προγράμματος καταγραφής λοιμώξεων σε μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών
neoNIN-Neonatal Infection Surveillance Network

Υπεύθυνη προγράμματος καταγραφής λοιμώξεων σχετιζόμενων με καθετήρες και επιτήρησης
χρήσης αντιβιοτικών CLEO Κέντρο Κλινικής επιδημιολογίας και Έκβασης Νοσημάτων

Μεταπτυχιακές σπουδές

30.10.2014-σήμερα Μεταπτυχιακό μάθημα «Κύηση υψηλού κινδύνου», 3^η Μαιευτική και
Γυναικολογική κλινική ΕΚΠΑ, υπεύθυνος προγράμματος: Καθ. Ν.Παπαντωνίου

Διπλωματική εργασία: Σακχαρώδης διαβήτης κύησης και επίδραση του οξειδωτικού στρες στα
έμβρυα

Συνεχιζόμενη εκπαίδευση

06.06.2008 APLS Advanced Pediatric Life Support

05-09.07.2009 Sonographie Grundkurs und Aufbaukurs DEGUM

Σεμινάρια εκμάθησης υπερήχων, βασικό και προχωρημένο επίπεδο, με θεωρητική και πρακτική
άσκηση

Εκπαίδευση στο μητρικό θηλασμό:

2016 διεθνής πιστοποίηση συμβουλου γαλουχίας IBCLC

Εκπαίδευση στην παιδοκαρδιολογία:

22.11.2013-11.04.2014 «Σεμινάρια Μετεκπαιδευτικών Προγραμμάτων Πρακτικής Άσκησης
στην Παιδοκαρδιολογία», Νοσοκομείο Μητέρα, Υπεύθυνη προγράμματος: Α.Τζίφα

Θεωρητική εκπαίδευση στην παιδοκαρδιολογία, παρακολούθηση επεμβατικών καθετηριασμών,
καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων και πρακτική άσκηση υπερήχου καρδιάς

10.01.2016-01.07.2016 εκπαίδευση στα εξωτερικά ιατρεία-Υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος και
μονάδα εντατικής νοσηλείας Ωνασσειού Καρδιοχειρουργικού Κέντρου (Δ/ντης: Σ.Ράμμος)



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Πλακουντοποίηση

Ο πλακούντας αποτελεί το κατεξοχήν ζωτικό όργανο κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, σχηματίζοντας ένα σύνδεσμο μεταξύ μητέρας και εμβρύου. Διαμεσολαβεί την ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών, οξυγόνου και ορμονών μεταξύ μητέρας και εμβρύου και ενεργεί ως ανοσοπροστατευτικός φραγμός. Μετά τη γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώαριο σχηματίζεται η βλαστοκύστη η οποία με τη σειρά της ερχόμενη σε επαφή με το επιθηλιακό στρώμα της μήτρας εμφυτεύεται και αρχίζει η πλακουντοποίηση. Η πλακουντιακή λάχνη αποτελείται από ένα μεσεγγυματικό πυρήνα και περιβάλλεται από κύτταρα στρώματος και βλαστικά κύτταρα (stem cells). Τα κύτταρα αυτά είτε τήκονται μεταξύ τους σχηματίζοντας τη συγκυτιοτροφοβλάστη, είτε διαφοροποιούνται σε εξωλάχνια τροφοβλάστη που απλώνονται γύρω από τον πλακούντα. Όσο απομακρύνονται από τον κεντρικό πυρήνα, τόσο διαφοροποιούνται σε πιο διεϊσδυτικό φαινότυπο. Ανάλογα με τη διαφοροποίηση των κυττάρων σε κυτταροτροφοβλάστη ή εξωλάχνια τροφοβλάστη εκφράζουν διαφορετικά μόρια-δείκτες επιφανείας και εκκρίνουν διαφορετικές κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. (Norwitz et al., 2001).

Η πλακουντοποίηση ξεκινάει με τη διεϊσδυση της τροφοβλάστης στις μητριαίες σπειροειδείς αρτηρίες. Για να εξασφαλιστεί η ικανοποιητική ανάπτυξη του εμβρύου είναι απαραίτητη η επίτευξη ισορροπίας μεταξύ διεϊσδυσης τροφοβλάστης, πολλαπλασιασμού των κυττάρων της τροφοβλάστης, μετανάστευσης, σύντηξης και απόπτωσης (Jauniaux et al., 2001). Προβλήματα στη διεϊσδυση, ανάπτυξη και τη λειτουργικότητα του πλακούντα, έχουν βρεθεί σε πολλές επιπλοκές της εγκυμοσύνης, όπως ανεξήγητη αποβολή, προεκλαμψία, ενδομήτρια καθυστέρησης της αύξησης, πρόωρος τοκετός με άθικτες μεμβράνες και πρόωρη ρήξη των υμένων και θνησιγενές έμβρυο (Khong et al., 1987, Dommissse and Tiltman, 1992, Kim et al., 2002, Smith et al., 2004).

Ο ρόλος του οξυγόνου

Στην αρχή της ζωής οι οργανισμοί κέρδιζαν την ενέργειά τους (με τη μορφή του ATP) μέσω ανοξικής φωτοσύνθεσης, για την οποία το οξυγόνο ήταν τοξικό. Έτσι, τα περισσότερα μεταβολικά μονοπάτια αναπτύχθηκαν κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου της ζωής και στα οποία το οξυγόνο προστέθηκε αργότερα. Τα κυανοβακτήρια άρχισαν να παράγουν οξυγόνο από τη φωτοσύνθεση, γεγονός που αύξησε την ατμοσφαιρική τάση του οξυγόνου και ευνόησε τους οργανισμούς που αργότερα εξελίχθηκαν σε ευκαριωτικά κύτταρα με μιτοχόνδρια, ικανά να χρησιμοποιήσουν το οξυγόνο ώστε να παράγουν ενέργεια με πιο αποτελεσματικό τρόπο (Naviaux, 2012).

Στους ανθρώπους, οι ενδοαγγειακοί κυτταροτροφοβλάστες διεϊσδύουν και αρχικά φράσσουν τα μητριαία σπειροειδή αρτηριόλια έτσι ώστε τελικά πηγαίνει ελάχιστο ή και καθόλου αίμα από τη μητρική κυκλοφορία στο μεσολάχνιο χώρο (βύσματα τροφοβλάστης). Η αναστροφή αυτής της διαδικασίας γίνεται περίπου την 11η εβδομάδα της κύησης που ξεκινάει η επανασυρραγγοποίηση των αρτηριολίων και ξεκινάει η ροή του μητρικού αίματος (Burton et al., 1999). Οι εξωλάχνιες κυτταροτροφοβλάστες αντικαθιστούν το μητρικό ενδοθήλιο και τα σπειροειδή αρτηριόλια, αναδιαμορφώνονται, με δραματική αύξηση της διαμέτρου τους και της ενδοτικότητάς τους, ενώ δεν είναι πια ευαίσθητες σε αγγειοενεργά μόρια της μητρικής κυκλοφορίας. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με τη διεύρυνση και εξάπλωση του αγγειακού δικτύου της μήτρας, προκαλούν την

αύξηση κατά 12 φορές της ροής του αίματος στην εγκυμονούσα μήτρα σε σχέση με τη μη-εγκυμονούσα μήτρα (Martin, 1965) .

Μετρήσεις της τάσης του οξυγόνου σε κύηση 8-10 εβδομάδων κατέδειξε μερική πίεση οξυγόνου στον πλακούντα 17,9mmHg σημαντικά πιο χαμηλή από ταυτόχρονη μέτρηση στο ενδομήτριο 39,6mm Hg (Rodesch et al., 1992). Οι αντίστοιχες μετρήσεις σε κύηση 12-13 εβδομάδων δείχνουν σταδιακή εξομάλυνση της διαφοράς, γεγονός που συνάδει με την απομάκρυνση των τροφοβλαστικών βυσμάτων.

Το 1987 οι Hustin et Schaaps (Hustin and Schaaps, 1987) ανέφεραν ότι η μητρική ροή στο IVS (intravillous space) δεν έχει πλήρως εγκατασταθεί μέχρι την 11-12^η εβδομάδα της κύησης, γεγονός που επιβεβαιώθηκε πολύ αργότερα με τη χρήση του Doppler (Foidart et al., 1992, Coppens et al., 1996).

Ο πλακούντας στην αρχή της κύησης διαθέτει ελάχιστη προστασία έναντι των οξειδωτικών βλαβών – άρα είναι εξαιρετικά επιρρεπής στο οξειδωτικό στρες- αφού τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση του χαλκού και του ψευδαργύρου και η μιτοχονδριακή υπεροξειδική δισμουτάση, εκφράζονται στην συγκυτιοτροφοβλάστη μετά τις 8-9 εβδομάδες κύησης (Watson et al., 1997). Η έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων αυξάνεται σημαντικά μετά την απομάκρυνση των βυσμάτων της τροφοβλάστης και τη σταδιακή αύξηση της μερικής τάσης του οξυγόνου (Jauniaux et al., 2000)..

Η αποκατάσταση της μητρικής αιματικής ροής είναι σταδιακή, ξεκινώντας από την περιφέρεια του πλακούντα και εξαπλώνεται σιγά σιγά προς το κέντρο (Jauniaux et al., 2003). Η αλλαγή από ένα περιβάλλον υποξίας σε ένα νορμοξικό διεγείρει τη διαφοροποίηση της τροφοβλάστης. Ωστόσο, αν η αλλαγή αυτή επέλθει πολύ νωρίς, έχει σαν αποτέλεσμα πρόωμη έκθεση του πλακούντα και του εμβρύου σε οξειδωτικό στρες και συνδέεται με πρόωμες αποβολές (Hustin et al., 1990).

Οι διαδικασίες διαφοροποίησης και απόπτωσης καθοδηγούνται από αυξητικούς παράγοντες (πχ VEGF) και ορμόνες οι οποίοι με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από τη μερική πίεση οξυγόνου και τον παράγοντα που σχετίζεται με την υποξία (hypoxia –induced factor HIF). Συνεπώς η υποξία αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της μορφογένεσης και της λειτουργίας του πλακούντα.

Συμπερασματικά, ενώ κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου η χαμηλή τάση του οξυγόνου είναι φυσιολογική και μάλιστα απαραίτητη για τη φυσιολογική πλακουντοποίηση, η παρουσία υποξίας σε πιο προχωρημένα στάδια της κύησης, είναι παθολογική και συσχετίζεται με διάφορες επιπλοκές.

HIF

Η τροφοβλάστη φαίνεται ότι έχει κάποιους μηχανισμούς με τους οποίους μπορεί να αισθάνεται τις αλλαγές στη μερική τάση του οξυγόνου και να ανταποκρίνεται ανάλογα σε αυτές (Caniggia and Winter, 2002). Αν και ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει ακόμα διαλευκανθεί, υπάρχουν στοιχεία για την εμπλοκή διαφόρων βιοχημικών μονοπατιών μεταξύ των οποίων και η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Σε συνθήκες υποξίας, η τροφοβλάστη αναγνωρίζει την τάση του οξυγόνου και ενεργοποιεί ενδοκυττάρια μονοπάτια ελέγχοντας την έκφραση γονιδίων. Τα μονοπάτια αυτά συχνά χρησιμοποιούν οξειδωτικά ευαίσθητους μεταγραφικούς παράγοντες, με τον παράγοντα που επάγεται από την υποξία (HIF) να είναι ο πιο καλά μελετημένος στην τροφοβλάστη.

Οι HIF είναι μια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων που μεσολαβούν την απάντηση του κυττάρου στις αλλαγές στο κυτταρικό οξυγόνο. Τα πιο γνωστά μέλη της οικογένειας είναι οι HIF1, HIF2 και HIF3 αλλά υπάρχουν και άλλα. Αποτελούνται από διμερή α-υπομονάδα, που όταν επιβιώσουν σε συνθήκες υποξίας, συνδέονται στον πυρήνα με την β-υπομονάδα. Το σύνολο αυτό συνδέεται και με άλλους συμπαράγοντες και προσδένεται σε γονίδια-στόχους σε μια περιοχή που είναι υπεύθυνη για την απάντηση στην υποξία (Rajakumar and Conrad, 2000). Οι HIF μεσολαβούν στην έκφραση γονιδίων που έχουν κεντρικό ρόλο στην ερυθροποίηση, την αγγειογένεση, τη μεταφορά γλυκόζης και τη γλυκόλυση (Safran and Kaelin, 2003, Rocha, 2007)(Wenger and Gassmann, 1999). Ο HIF-1 έχει γενικό ρόλο στην ομοίωση ενώ οι HIF-2 και HIF-3 έχουν ειδικούς ρόλους (Semenza, 1985). Και οι 2 πρωτεΐνες, HIF-1a και HIF-2a εκφράζονται στον πλακούντα.

Στο 1^ο τρίμηνο εντοπίζονται στη συγκυτιοτροφοβλάστη, τη λαχνική κυτταροτροφοβλάστη και το εμβρυοπλακουντιακό αγγειακό ενδοθήλιο (Rajakumar and Conrad, 2000) (Genbacev et al., 2001), γεγονός που συνδέεται με τη χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου κατά το πρώτο τρίμηνο, αλλά η συγκέντρωσή τους πέφτει όσο αυξάνεται η ηλικία της κύησης (Caniggia and Winter, 2002) (Caniggia et al., 2000).

Υπό φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνωσης η α υπομονάδα υδροξυλιώνεται σε συγκεκριμένες θέσεις. Οι υδροξυλάσες που είναι υπεύθυνες για αυτή την αντίδραση (ονομάζονται PHD) έχουν σαν απαραίτητο συμπαράγοντα το δισθενή σίδηρο. Το γεγονός ότι οι υδροξυλάσες εξαρτώνται από το οξυγόνο (μέσω του σιδήρου) σημαίνει ότι η αντίδραση υδροξυλίωσης ενεργεί σαν « αισθητήρας-οξυγόνου». (Ivan et al., 2001); (Zhu and Bunn, 2001, Huang et al., 1998, Srinivas et al., 1999, Huang and Bunn, 2003, Chan et al., 2005, Jaakkola et al., 2001, Mole et al., 2002, Masson et al., 2001). Αφού υδρολυθεί ο HIF1a μπορεί να συνδεθεί με άλλη πρωτεΐνη, την VHL (von Hippel-Lindau tumor suppressor gene product) και έτσι διευκολύνεται η πρωτεόλυση της αρχικής πρωτεΐνης HIF-1a.(Lisztwan et al., 1999, Cockman et al., 2000, Ohh et al., 2000, Salceda and Caro, 1997, Tanimoto et al., 2000, Kallio et al., 1999) Μια δεύτερη αναστολή του παράγοντα σε φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνου, συμβαίνει με την πρόσδεση του παράγοντα που αναστέλλει τον HIF(FIH1) σε συγκεκριμένες θέσεις της πρωτεΐνης. (Lando et al., 2002a, b) Ο HIF εξαρτά τη δράση του από το δισθενή σίδηρο και άρα από το μοριακό οξυγόνο. Συνεπώς, κάτω από συνθήκες νορμοξίας ο HIF1a καταστρέφεται και απενεργοποιείται, ενώ σε συνθήκες υποξίας επιβιώνει και μπορεί να δράσει.

Η καταστολή του HIF1a σε συνθήκες φυσιολογικής οξυγόνωσης φαίνεται να παραβλάπτεται στην προεκλαμψία (Rajakumar et al., 2003). Παρομοίως, άλλοι ερευνητές αναφέρουν αυξημένη έκφραση των επαγόμενων από τον HIF1a γονιδίων όπως ο VEGF σε εγκυμοσύνες που επιπλέκονται με προεκλαμψία και ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (Helske et al., 2001).

Εκτός από την υποξία, ο HIF-1a επάγεται και από άλλους παράγοντες όπως ορμόνες, κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες πολλοί από τους οποίους εκφράζονται στον πλακούντα ή κυκλοφορούν σε υψηλές συγκεντρώσεις στη μητρική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Όπως φαίνεται τόσο από μελέτες σε ζώα όσο και σε κυτταρικές σειρές, η προγεστερόνη, τα οιστρογόνα, η προσταγλανδίνη E2, η αγγειοτενσίνη II, η θρομβίνη, ο παράγοντας που ενεργοποιείται από τα αιμοπετάλια, ο TGFI, η ενδοθηλίνη I, ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας EGF, το μηχανικό στρες, η ιντερλευκίνη 1 IL1, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων TNF, η ινσουλίνη και ο αυξητικός παράγοντας που ομοιάζει στην ινσουλίνη IGF-1 IGF-II έχουν σαν αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση του HIF-1a. Ωστόσο η επαγωγή αυτή είναι

πολύ μικρότερη από αυτή της υποξίας. Συνεπώς η απάντηση στους αυξητικούς παράγοντες εξαρτάται από τις συνθήκες οξυγόνωσης. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε και μια σχέση μεταξύ της φλεγμονής (TNF, IL1) και ενεργοποίησης του HIF-1a.

Η πρωτεϊνική έκφραση του HIF1 ρυθμίζεται ανεξάρτητα από την υποξία, μέσω της κινάσης 3 της φωσφατίδουλινοσιτόλης (PI3K) και/ή την μέσω μιτογόνων ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση (MAPK). (Jiang et al., 2001, Fukuda et al., 2003, Richard et al., 2000). Ειδικά το μονοπάτι της MAPK, είναι γνωστό ότι έχει εξέχοντα ρόλο στη μετάδοση μηνυμάτων που αφορούν σε ένα πλήθος κυτταρικών διεργασιών, όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απάντηση στο στρες (Kita et al., 2003). Στους ανθρώπινους τροφοβλάστες:

- το μονοπάτι του PI3K ενεργοποιείται από την ιντερλευκίνη 12,
- ενώ το μονοπάτι της MAPK μεσολαβεί τις δράσεις της ινσουλίνης (όπως θα δούμε παρακάτω), του IGFII, της πρωτεΐνης που συνδέει τον IGFII, της λεπτίνης, της ενδοθελίνης, της GnRH και του EGF. Επίσης το μονοπάτι της MAPK μπορεί να ενεργοποιηθεί από τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου σε συνθήκες υποξίας.

Ο HIF-1 σταθεροποιείται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνου, υπό την επίδραση των παραπάνω παραγόντων. Ωστόσο, η σταθεροποίηση του HIF-1 από μόνη της δεν εξασφαλίζει και τη λειτουργικότητά του. Η ενεργοποίηση του HIF-1 προϋποθέτει διαφορετικά στάδια όπως μεταμεταγραφική φωσφορυλίωση του, μετανάστευση στον πυρήνα, ετεροδιμερισμό, πρόσδεση στο DNA, στρατολόγηση οργάνο-ειδικών μεταγραφικών συμπαραγόντων και ενεργοποιητών των γονιδίων-στόχων τα οποία με τη σειρά τους βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο της συγκέντρωσης σε οξυγόνο, αυξητικών παραγόντων, ορμονών, κυτταροκινών, θρεπτικών στοιχείων και συνδέσεων ενδοκυτταρικών μονοπατιών.

Όσον αφορά στη δράση του HIF είναι ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε ότι κάποια από τα γονίδια-στόχους του, εμπλέκονται στην ίδια την ενεργοποίησή του, όπως ο IGFII και ο TGFβ. Ο HIF κατά τη διάρκεια της πλακουντοποίησης, έχει ρόλο στη διείσδυση και μετανάστευση της τροφοβλάστης, στην αγγειογένεση του πλακούντα και τη μεταφορά ουσιών μέσω του πλακούντα.

Η δράση του HIF στην πλακουντοποίηση:

A) Διείσδυση και μετανάστευση τροφοβλάστης

Κεντρικό ρόλο στη διείσδυση και την μετανάστευση της τροφοβλάστης έχουν οι ενεργοποιητές του πλασμογόνου τύπου ουροκινάσης (urokinase type plasminogen activator uPA) και οι υποδοχείς τους. Ο ρόλος τους είναι να καταλύουν το ανενεργό ζυμογόνο και πλασμινογόνο σε ενεργή πλασμίνη, η οποία με τη σειρά της, ενεργοποιεί τις μεταλλοπρωτεάσες να αποδομήσουν στοιχεία της εξωκυττάριας ουσίας, γεγονός απαραίτητο στη διείσδυση και τη διαμόρφωση του φθαρτού. Η παραπάνω διαδικασία αναστέλλεται με τους αναστολείς των μεταλλοπρωτεασών (TIMP) και τον αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI). Παράλληλα το σύστημα του uPA διεγείρει τη μετανάστευση μέσω των μονοπατιών MAPK και PI3K (Liu et al., 2003, Meade et al., 2007). Φαίνεται ότι υπάρχει κάποια συσχέτιση του της υποξίας και του HIF με το σύστημα uPA.

Ένας αυξητικός παράγοντας που ενέχεται στην πλακουντοποίηση είναι ο IGFII (insulin-like growth factor). Ο IGFII φαίνεται ότι προάγει τη μετανάστευση στα ανθρώπινα εξωλάχια τροφοβλαστικά κύτταρα (EVT cells), αυξάνει τον πολλαπλασιασμό στα κυτταροτροφοβλαστικά κύτταρα (CTB cells) και μειώνει την απόπτωσή τους (Irving and Lala, 1995, Hills et al., 2004, Forbes et al., 2008). Ο IGFII επάγεται από τον HIF (η αύξησή του στο πρώτο τρίμηνο συνδέεται

με την υποξία του πρώτου τριμήνου) ενώ η βιοδιαθεσιμότητά του ρυθμίζεται από τις πρωτεΐνες που συνδέουν τον IGF (IGFBP) οι οποίες επίσης ρυθμίζονται από τον HIF (Feldser et al., 1999). Οι αυξητικοί παράγοντες μεταμόρφωσης TGF-β θεωρούνται κύριοι ρυθμιστές των κυτταροτροφοβλαστικών κυττάρων. Πιστεύεται ότι εμποδίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διείσδυση (Bischof, 2001). Ο TGF-β προάγεται από την υποξία και τον HIF και μειώνει τη δραστηριότητα του uPA, ενώ ταυτόχρονα διεγείρει τον TIMP και τον PAI. Φαίνεται λοιπόν η αλληλεπίδραση όλων των παραπάνω παραγόντων.

B) Αγγειογένεση του πλακούντα

Ο πλακούντας είναι ένα όργανο μεταφοράς θρεπτικών ουσιών, αναπνευστικών αερίων και αποβλήτων. Συνεπώς η ανάπτυξη του αγγειακού του δικτύου είναι καίριας σημασίας για τη σωστή λειτουργία του. Η σημασία των αγγείων του πλακούντα έχει πρώτη φορά αναγνωριστεί από τον Αριστοτέλη στο «Περί ζώων γενέσεως 340 πΧ » :

Ἔχει δὲ τὴν αὐξήσιν τὰ ζωοτοκούμενα τῶν ἐμβρύων ὥσπερ ἐλέχθη πρότερον διὰ τῆς τοῦ ὀμφαλοῦ προσφύσεως. ἐπεὶ γὰρ ἔνεστιν ἐν τοῖς ζώοις καὶ ἡ θρεπτικὴ δύναμις τῆς ψυχῆς, ἀφήσιν εὐθὺς οἶον ρίζαν τὸν ὀμφαλὸν εἰς τὴν ὑστέραν. ἔστι δὲ ὁ ὀμφαλὸς ἐν κελύφει φλέβες, τοῖς μὲν μείζουσι πλείους οἶον βοῖ καὶ τοῖς τοιοῦτοις, τοῖς δὲ μέσοις δύο, μία δὲ τοῖς ἐλαχίστοις. διὰ δὲ τούτου λαμβάνει τὴν τροφὴν αἱματικὴν·

εἰς τοῦτο γὰρ προεκτίθεται τοῖς ἐμβρύοις ἡ φύσις τὴν αἱματικὴν τροφὴν τῆς ὑστέρας ὥσπερ εἰς μαστούς.....

Ένα από τα κύρια στάδια της πλακουντοποίησης είναι η ανάπτυξη του πλούσιου και εξειδικευμένου αγγειακού του δικτύου. Ο σχηματισμός των αγγείων του πλακούντα λαμβάνει μέρος σε δύο στάδια 1^ο: στο τέλος της τρίτης εβδομάδας της κύησης, με το σχηματισμό αγγειακού δικτύου από το πολυδύναμο μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται σε ενδοθηλιακά και 2^ο: στο τέλος της τέταρτης εβδομάδας, όπου τα το αρχικό αγγειακό δίκτυο επεκτείνεται και επανασχηματίζεται με επιμήκυνση και διακλάδωση (Charnock-Jones and Burton, 2000). Η διαδικασία αυτή ενορχηστρώνεται με διάφορους αγγειογενετικούς παράγοντες όπως οι vascular endothelial growth factor (VEGF), placental growth factor (PlGF), angiopoietins (ANG), fibroblast growth factor 2 (FGF2), and the insulin/insulin-like growth factors (INS/IGF) system. Η έκφραση των παραγόντων αυτών υπόκειται σε στενή ρύθμιση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης η οποία αποδίδεται κυρίως στα τροφοβλαστικά κύτταρα, τα κύτταρα Hofbauer και τα λεία μυϊκά κύτταρα (Burton et al., 2010)

Το υποξικό περιβάλλον του πλακούντα ρυθμίζει τον αγγειακό μετασχηματισμό των κυτταροτροφοβλαστικών κυττάρων. Οι ενδοθηλιακοί αγγειακοί αυξητικοί παράγοντες (VEGF) έχουν κεντρικό ρόλο στην αγγειογένεση. Οι VEGF επάγονται από την υποξία και αποτελούν γονίδια-στόχους του HIF. Επίσης, οι αγγειοποιητίνες επηρεάζονται από τη συγκέντρωση οξυγόνου. Η διαλυτή μορφή του υποδοχέα του VEGF (sFlt-1) επάγεται επίσης από την υποξία και τον HIF-1 και βρίσκεται αυξημένη στον πλακούντα σε περιπτώσεις προεκλαμψίας (Cowden Dahl et al 2005, Zhang et al 2001, Rajakumar 2009). Το 2008 οι Kanasaki et al έδειξαν ότι η έλλειψη του COMT (κατεχολαμίνη-ο-μεθυλτρανφεράση) και της επαγόμενης από αυτό 2-μεθυλοιστραδιόλης, συνεπάγονται αύξηση του HIF και ακολούθως αύξηση του διαλυτού υποδοχέα του VEGF, τα οποία οδηγούν σε δυσλειτουργία της αγγειογένεσης, πλακουντιακή ανεπάρκεια και τέλος προεκλαμψία σε ποντίκια.

Γ)Μεταφορά μέσω πλακούντα και HIF

Η μεταφορά γλυκόζης επάγεται από την υποξία και είναι καίρια για την εμβρυοπλακουντιακή ανάπτυξη. Φαίνεται ότι η υποξία διεγείρει τον HIF ο οποίος με τη σειρά του επάγει τους μεταφορείς της γλυκόζης GLUT1.(Hayashi et al 2004)

Αν και μόνο από έμμεσα στοιχεία, φαίνεται ότι η υποξία εμπλέκεται και στη μεταφορά του σιδήρου μέσω του πλακούντα. Η τρανσφερίνη που είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του σιδήρου επάγεται από τον HIF σε συνθήκες υποξίας σε κύτταρα ηπατώματος. (Rofls et al 1997).

Μεταφορά μέσω πλακούντα

Ο πλακούντας εκτός από το οξυγόνο μεταφέρει στο έμβryo θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την αύξηση και ανάπτυξή του. Η μεταφορά αυτή γίνεται με τρεις τρόπους: διάχυση μέσω κλίσης συγκέντρωσης, με ενεργή μεταφορά μέσω υποδοχέων και ενδοκύττωση/εξωκύττωση. (Sibley et al., 2010) Η έκφραση, δραστηριότητα και συγγένεια των μορίων μεταφοράς είναι καίριας σημασίας για τη λειτουργία του πλακούντα ως θρεπτικού οργάνου (Jansson et al., 1999, Jansson and Powell, 2013).

Η συγκυτιοτροφοβλάστη είναι το μεταφορικό επιθήλιο του ανθρώπινου πλακούντα αποτελώντας την επιφάνεια ανταλλαγής των ουσιών. Επιπλέον είναι και πηγή πλακουντιακής ορμονικής παραγωγής. Τα στρώματα που παρεμβάλλονται ανάμεσα στις δύο κυκλοφορίες (μητρική και εμβρυική) είναι δύο: το εμβρυικό ενδοθήλιο και η συγκυτιοτροφοβλάστη. Το εμβρυικό ενδοθήλιο αποτελεί ένα συνεχές, επιτρέποντας την ανεμπόδιστη ροή μορίων με το μέγεθος της γλυκόζης και των αμινοξέων που περνάνε από τα κενά μεταξύ των κυττάρων αλλά όχι μεγαλύτερων μορίων, όπως των ανοσοσφαιρινών. Η συγκυτιοτροφοβλάστη αποτελείται από δύο πολωμένες κυτταρικές μεμβράνες : τη μικρολαχνώδη (MVM) και τη βασική κυτταρική μεμβράνη (BM), που είναι το πραγματικό εμπόδιο για τα μόρια όπως η γλυκόζη και τα αμινοξέα.

Η κυτταρική σειρά που μεσολαβεί μεταξύ μητρικής και εμβρυικής κυκλοφορίας είναι κατάλληλα διαμορφωμένη ώστε να δέχεται σήματα τόσο από τη μητέρα όσο και από το έμβryo και να ρυθμίζει έτσι τη μεταφορά ουσιών. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται « αίσθηση θρεπτικών ουσιών του πλακούντα» placenta nutrient sensing. Για τη ρύθμιση της μεταφορά των ουσιών εκφράζονται στις μεμβράνες (μικρολαχνώδη και βασικοκυτταρική) πολλοί μεταφορείς για γλυκόζη, αμινοξέα, ιόντα και ιχνοστοιχεία.

Μεταφορά γλυκόζης:

Το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία στην ινσουλίνη η οποία αυξάνει την αναβολική δράση της ινσουλίνης ώστε να υπάρχουν αποθέματα για το δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης (Lappas et al., 2011) (Catalano et al., 1992, Knopp et al., 1981).

Με την πάροδο του χρόνου η ραγδαία ανάπτυξη του εμβρύου αυξάνει τις ανάγκες του για θρεπτικά υλικά και ο αναβολικός μεταβολισμός της γλυκόζης μετατρέπεται σε καταβολικό. Η γλυκόζη είναι η κύρια πηγή ενέργειας τόσο για τον πλακούντα όσο και το έμβryo. Το δεύτερο και το τρίτο τρίμηνο της κύησης επισυμβαίνει μια στροφή στην αντίσταση στην ινσουλίνη, που έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης από τους ινσουλινοευαίσθητους ιστούς της μητέρας. Διευκολύνεται έτσι η διαπλακουντιακή μεταφορά γλυκόζης (30-50γρ γλυκόζης την ημέρα). Πρόκειται για μεταφορά με βάση τη διαφορά συγκέντρωσης- διάχυση- διευκολυνόμενη από μεταφορείς (GLUT) (Augustin, 2010).Υπάρχουν διάφορες ισομορφές των μεταφορέων που

εκφράζονται σε διάφορους ιστούς του σώματος και στον πλακούντα. Όταν η γλυκόζη διασχίζει τη συγκυτιοτροφοβλάστη περνάει από τα κενά μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων που επενδύουν τα εμβρυικά αγγεία. Συνεπώς ο πλακουντιακός φραγμός για τη γλυκόζη είναι οι δυο μεμβράνες της συγκυτιοτροφοβλάστης. Οι μεταφορείς γλυκόζης που εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα (υψηλής συγγένειας GLUT-3) χρησιμεύουν στην κάλυψη των ενεργειακών αναγκών των ίδιων των κυττάρων, σε περιπτώσεις χαμηλών επιπέδων γλυκόζης. Ο πλακούντας ως μεταβολικά πολύ ενεργός ιστός χρησιμοποιεί ο ίδιος μεγάλο μέρος της γλυκόζης που προέρχεται από τη μητέρα. Μόνο το 40-50% της εισερχόμενης γλυκόζης καταλήγει στο έμβρυο. Ο μεταβολισμός της γλυκόζης στον πλακούντα γίνεται κατά κύριο λόγο (80%) με αναερόβιες συνθήκες μετατρέποντας τη σε γαλακτικό οξύ το οποίο στη συνέχεια εισέρχεται στη μητρική και εμβρυική κυκλοφορία ή αποθηκεύεται ως γλυκογόνο, κυρίως στα πλακουντιακά ενδοθηλιακά κύτταρα και τα περικύτταρα (Desoye et al., 1992, Desoye and Shafir, 1994, Jones and Desoye, 1993). Ο μεταβολισμός της γλυκόζης στον πλακούντα προκαλεί πολλαπλές μεταβολές σε μεταβολικά μονοπάτια. Συνεπώς, αύξηση στη διαθεσιμότητα της γλυκόζης όπως συμβαίνει στο ΣΔ έχει σαν αποτέλεσμα πολλές κυτταρικές αλλαγές όπως ενεργοποίηση της γλυκόλυσης και συνάθροιση μεταβολικών ενδιάμεσων μορίων στον πλακούντα.

Η γλυκόζη και το γαλακτικό οξύ μεταφέρονται κατά την κλίση συγκέντρωσης μέσω μιας πρωτεΐνης μεταφοράς που διευκολύνει την κίνηση χωρίς την κατανάλωση επιπλέον ενέργειας. Σε διαβήτη τύπου I έχει βρεθεί αυξημένη δραστηριότητα και έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης (Basta et al., 2002).

Σε πειραματόζωα η έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης Slc2a3/GLUT3 μειώνεται μετά από μητρική υποθρεψία ενώ του Slc2a1/GLUT1 αυξάνεται (Lesage et al., 2002, Coan et al., 2010, Belkacemi et al., 2011). Αλλαγές στη διατροφή της μητέρας, αλλάζουν την απαντητικότητα διαφορών τύπων υποδοχέων. Σε ποντίκια, διατροφή της μητέρας με δίαιτα με αυξημένα λίπη αυξάνει τη μητρο-εμβρυική κάθαρση γλυκόζης (Jones et al., 2009, Sferruzzi-Perri et al., 2013). Οι αλλαγές αυτές συσχετίζονται με αυξημένη έκφραση των Slc2a1/GLUT1 και Slc2a3/GLUT3 στον πλακούντα. Σε αρουραίους με δίαιτα υψηλή σε λίπη και αλλαγμένα επίπεδα ινών αυξάνει επίσης την έκφραση των Slc2a1/GLUT1 και Slc2a3/GLUT3 στον πλακούντα (Lin et al., 2011). Έκθεση σε υποξικό περιβάλλον σε ποντίκια αυξάνει επίσης τη μητρική κάθαρση γλυκόζης (Higgins et al., 2016).

Μεταφορά αμινοξέων

Τα αμινοξέα διακινούνται ενάντια στην κλίση συγκέντρωσης και χρειάζονται πρωτεΐνες μεταφορείς και κατανάλωση ενέργειας. Τα δύο κύρια συστήματα μεταφοράς αμινοξέων είναι το σύστημα A και το σύστημα L. Το σύστημα A είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά των μη-απαραίτητων αμινοξέων, τα οποία όμως χρειάζονται για τη μεταφορά των απαραίτητων. Συνεπώς το σύστημα A είναι καίριας σημασίας για τη μεταφορά τόσο των απαραίτητων όσο και των μη-απαραίτητων αμινοξέων. Το σύστημα L είναι μια αντλία που χρησιμεύει στη μεταφορά των απαραίτητων αμινοξέων συμπεριλαμβανομένης της λευκίνης. Μητρικές ορμόνες όπως η ινσουλίνη, η λεπτίνη ο IGF-I αλλά και το σύστημα mTOR (mammalian target of rapamycin) είναι σημαντικοί διεγέρτες της μεταφοράς αμινοξέων. Αντίθετα η κορτιζόλη μειώνει την μεταφορά αμινοξέων μέσω του πλακούντα (Anastasiou et al., 1998). Τέλος το σύστημα β είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά της ταυρίνης. Σε έμβρυα με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης έχει βρεθεί μειωμένη συγκέντρωση του συστήματος L και β στον πλακούντα.

Μεταφορά λιπών

Κατά την εμβρυική ζωή το έμβρυο αναπτύσσεται ραγδαία και έχει ανάγκη από σημαντικά ποσά λιπαρών οξέων και απαραίτητων n-3/ -6 λιπαρών οξέων και δεκοσανοξικού οξέος, ιδιαιτέρως αφού τα λιπαρά οξέα είναι δομικά στοιχεία των μεμβρανών και πρόδρομες ουσίες βιοενεργών μορίων όπως προσταγλανδίνες, προστακυκλίνες, λευκοτρίνια αλλά προσφέρουν και ενέργεια. Κατά το πρώτο ήμισυ της εγκυμοσύνης παρατηρείται αποθήκευση του λίπους (αναβολική φάση) και στο δεύτερο ήμισυ κινητοποίηση αυτού (καταβολική φάση). Στο τέλος της εγκυμοσύνης το συνολικό ποσοστό του οξειδωμένου μητρικού λίπους είναι μειωμένο, ενώ οι κυκλοφορούσες στον ορό τριακυλογλυκερόλες (TAGs) τα φωσφολιπίδια, μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα και η γλυκερόλη είναι αυξημένα. Αυτό δείχνει ότι η κινητοποίηση συμβαίνει για τη μεταφορά των λιπαρών οξέων στο έμβρυο. Στη διαδικασία αυτή εμπλέκονται η ινσουλίνη και οι πλακουντιακές ορμόνες (Diderholm et al., 2005, Lesser and Carpenter, 1994, Sivan et al., 1998). Στην αρχή της εγκυμοσύνης τα αυξημένα οιστρογόνα, η προγεστερόνη και η αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη έχουν ως αποτέλεσμα την αποθήκευση των λιπών και την παρεμπόδιση της λιπόλυσης. Στο τέλος της εγκυμοσύνης η υπερινσουλιναιμία η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλούν κινητοποίηση των αποθηκών και άρα υπερτριγλυκεριδαιμία (Sivan et al., 1998). Σε παχυσαρκία και ΣΔΚ η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι πιο έντονη. Στον πλακούντα υπάρχουν 3 μονοπάτια που ρυθμίζουν τη μεταφορά των λιπαρών οξέων :

- 1) ο ρυθμός της πρόσληψης λιπαρών οξέων από τη μητέρα
- 2) η δυνατότητα εστεροποίησης/ αποθήκευσης
- 3) η δραστηριότητα κινητοποίησης προς εξαγωγή.

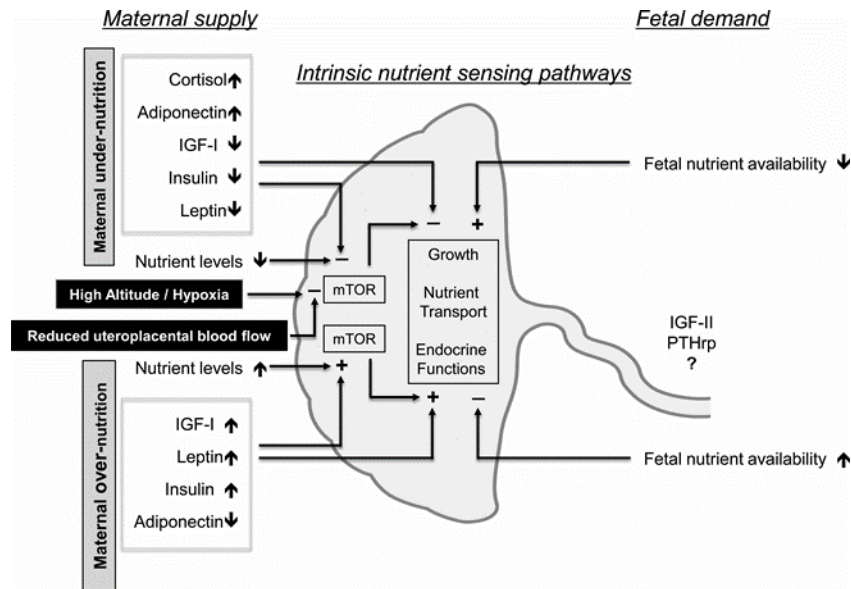
Οι μητρικές λιποπρωτεΐνες είναι η κύρια πηγή των ελευθέρων λιπαρών οξέων του εμβρύου. Ένζυμα όπως η λιποπρωτεϊνική λιπάση και η ενδοθηλιακή λιπάση βρίσκονται στη μικρολαχνώδη στοιβάδα και απελευθερώνουν ελεύθερα λιπαρά οξέα από τις μητρικές λιποπρωτεΐνες. Αυτά με τη σειρά τους μεταφέρονται δια των μεταφορέων των λιπαρών οξέων της πλασματικής μεμβράνης (plasma membrane fatty acid transporters) και των συνδετικών πρωτεϊνών λιπαρών οξέων του κυτταροπλάσματος (cytosolic fatty acid binding proteins).

Ο ρόλος των ορμονών

Σε περιπτώσεις διαιτητικού περιορισμού μειώνονται τα κυκλοφορούντα επίπεδα του IGF-I, της λεπτίνης και της ινσουλίνης και αυξάνονται τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης (δες κεφάλαιο αδιποκυτταροκίνες). Αντίθετα, σε περιπτώσεις υπερθερμιδικής διαίτας και παχυσαρκίας, αυξάνεται η IGF-I, λεπτίνη, ινσουλίνη και μειώνεται η αδιπονεκτίνη. Οι IGF-I ινσουλίνη και λεπτίνη δρουν ανασταλτικά στους μεταφορείς αμινοξέων. Συνεπώς, φαίνεται ότι η υπάρχει μια άμεση συσχέτιση της επάρκειας θρεπτικών ουσιών στη μητέρα και της μεταφοράς μέσω του πλακούντα. Επιπλέον σε περιπτώσεις στρες και μητρικής υποθρεψίας αυξάνεται η μητρική κορτιζόλη γεγονός που μπορεί να συμβάλει στη μειωμένη μεταφορά αμινοξέων και ως εκ τούτου στην υποθρεψία του εμβρύου.

Τα τροφοβλαστικά κύτταρα έχουν μια σειρά από σηματοδοτικά μονοπάτια που αναγνωρίζουν τις τροφικές συνθήκες όπως το μονοπάτι της AMP κίνησης, το σηματοδοτικό μονοπάτι που απαντά στα αμινοξέα (AAR), το mTOR σύμπλεγμα, το μονοπάτι της συνθετάσης του γλυκογόνου-3 και της εξοζαμίνης. Τα παραπάνω λειτουργούν σαν αισθητήρες θρεπτικών ουσιών και μεταβάλλουν ανάλογα τον κυτταρικό μεταβολισμό. Από αυτά το πιο σημαντικό για τη μεταφορά μέσω του πλακούντα είναι το mTOR. Το mTOR είναι μια κίνηση σερίνης/θρεονίνης που ρυθμίζει την κυτταρική αύξηση, πολλαπλασιασμό και μεταβολισμό σε απάντηση στις συγκεντρώσεις γλυκόζης, ελεύθερων λιπαρών οξέων, αμινοξέων, ATP οξυγόνου και αυξητικών παραγόντων. Με

τη σειρά του το mTOR είναι θετικός ρυθμιστής του συστήματος A και L. Το mTOR ενεργοποιείται με την ινσουλίνη τη λεπτίνη και τον IGF-I ενώ καταστέλλεται με την κορτιζόλη.

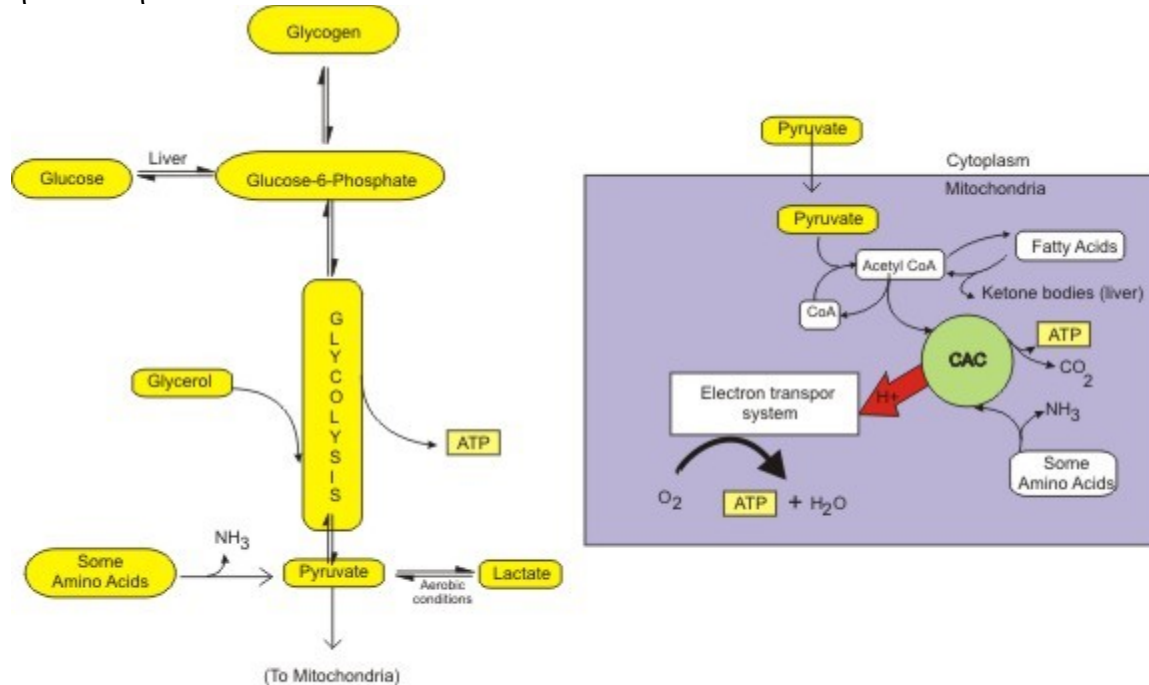


Σχήμα1 από (Jansson and Powell, 2013)

Ο πλακούντας αφομοιώνει μητρικά και εμβρυικά τροφικά σήματα με πληροφορίες από ενδογενείς αισθητήρες θρέψης όπως το σηματοδοτικό μονοπάτι του mammalian target of rapamycin (mTOR). Η διεργασία που ονομάζεται πλακουντιακή θρεπτική αισθητικότητα placenta nutrient sensing έχει σαν αποτέλεσμα μια συντονισμένη απάντηση συμπεριλαμβανομένης της μεταβολής της ανάπτυξης του πλακούντα, τη μεταφορά των θρεπτικών ουσιών μέσω του πλακούντα και ενδοκρινών λειτουργιών ώστε να επιτευχθεί μια ισορροπία μεταξύ των αναγκών του εμβρύου και της μητρικής προσφοράς.

Ενδιάμεσος μεταβολισμός

Στα θηλαστικά υπάρχουν τρεις κύριες τάξεις θρεπτικών ουσιών: οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες και τα λίπη τα οποία αποδομούνται και επανασυντίθενται από τις υπομονάδες τους. Μετά την απορρόφηση από το έντερο, τα σάκχαρα, τα αμινοξέα και μερικές τριακυλογλυκερόλες κατευθύνονται στο ήπαρ. Ανάλογα με τις αναλογίες των θρεπτικών ουσιών και την κατάσταση του οργανισμού (νηστεία/μεταγευματικά) ενεργοποιούνται στο ήπαρ διαφορετικές ομάδες ενζύμων. Για παράδειγμα, σε αφθονία αμινοξέων, προωθείται η διάσπαση των αμινοξέων και η γλυκονεογένεση, ενώ σε επάρκεια σακχάρων, ενεργοποιείται ο καταβολισμός των σακχάρων και η σύνθεση λιπών.



Summary of Energy Production

Σχήμα 2 Από_Boumphreyfr 2009

Μονοπάτια παραγωγής ενέργειας : Η γλυκόζη και το γλυκογόνο πρώτα μετατρέπονται σε 6-φωσφορική γλυκόζη και μετά μπαίνουν στο μονοπάτι της γλυκόλυσης από το οποίο ανάλογα με τις συνθήκες (αερόβιες ή αναερόβιες) παράγεται αντίστοιχη ενέργεια με τη μορφή ATP.

Μεταβολισμός γλυκόζης

Η γλυκόζη εισέρχεται στα ηπατοκύτταρα μέσω του μεταφορέα γλυκόζης GLUT2.

Η γλυκόζη είναι κεντρικό μόριο προσφοράς ενέργειας στον οργανισμό αλλά και δομικό στοιχείο και πρόδρομη ουσία για το σχηματισμό άλλων δομικών συστατικών του κυττάρου. Μετά την είσοδό της στα κύτταρα, η γλυκόζη αρχικά μετατρέπεται σε 6-φωσφορική γλυκόζη και μετά μπορεί να ακολουθήσει διάφορους δρόμους:

- Να συνεχίσει σε 6-σφωσφορική φρουκτόζη και να μπει στην οδό των πεντοζών
- να προχωρήσει στη δημιουργία πυροσταφυλικού οξέος και ακετυλο CoA μέσω της γλυκόλυσης, το οποίο υφίσταται αερόβιο μεταβολισμό, στον κύκλο του Krebs ή αναερόβιο

μεταβολισμό με παραγωγή γαλακτικού οξέος ή να σχηματίσει λιπαρά οξέα και χοληστερόλη

- να συνθέσει γλυκογόνο

Οδός των φωσφορικών πεντοζών

Μετατρέπει εξόζες σε πεντόζες και αναγεννά το NADPH. Η 6-φωσφορική γλυκόζη σε μια πρώτη οξειδωτική φάση αναγεννά 2 μόρια NADPH και σχηματίζει την 6-φωσφορική ριβουλόζη. Ακολούθως, σε μια δεύτερη μη-οξειδωτική φάση, παράγει ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού που χρησιμοποιούνται για το σχηματισμό νουκλεοτιδίων και αρωματικών αμινοξέων. Αποτελεί ένα βασικό δρόμο παραγωγής NADPH και συνεπώς μέσω της αναγωγικής του ιδιότητας συμβάλει στην καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες των κυττάρων. (Το NADPH μέσω της αναγωγάσης της γλουταθειόνης αναγεννά τη γλουταθειόνη η οποία μέσω της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης μετατρέπει το H₂O₂ σε H₂O).

Γλυκόλυση

Πρόκειται για το βασικό καταβολικό δρόμο της γλυκόζης, όπου μέσω διαδοχικών αντιδράσεων, ένα μόριο γλυκόζης μετατρέπεται σε ένα μόριο πυροσταφυλικού οξέος. Κατά τη διαδικασία αυτή παράγονται διάφορα ενδιάμεσα προϊόντα μεταβολισμού που συνδέονται με αναβολικά κυρίως μονοπάτια. Έτσι η γλυκόλυση συνδέεται με τη γλυκονεογένεση, το μεταβολισμό των λιπιδίων (σύνθεση), τον κύκλο του κιτρικού οξέος και από εκεί τη σύνθεση αμινοξέων, νουκλεοτιδίων και τετραπυρρολών. Αφού σχηματιστεί το πυροσταφυλικό οξύ μεταβολίζεται περαιτέρω. Έτσι, σε αναερόβιες συνθήκες παράγεται γαλακτικό οξύ με μικρή παραγωγή ενέργειας, ενώ σε αερόβιες συνθήκες εισέρχεται στον κύκλο του Krebs με παραγωγή 36 μορίων ATP ανά μόριο γλυκόζης. Ο μεταβολισμός της γλυκόζης προϋποθέτει την είσοδο της γλυκόζης στο κύτταρο και την ύπαρξη και λειτουργία όλων των εμπλεκόμενων ενζύμων.

Αμινοξέα

Τα αμινοξέα εισερχόμενα στα ηπατοκύτταρα έχουν επίσης διάφορους πιθανούς δρόμους:

- χρησιμοποιούνται για την ανανέωση των πρωτεϊνών του ήπατος
- μπαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος και από εκεί διοχετεύονται στους περιφερικούς ιστούς για σύνθεση ιστικών πρωτεϊνών
- μπαίνουν στα μονοπάτια βιοσύνθεσης νουκλεοτιδίων, ορμονών, αζωτούχων ενώσεων στο ήπαρ και άλλους ιστούς
- υφίστανται απαμίνωση και εισέρχονται στον κύκλο της ουρίας
- Μετατρέπονται σε πυροσταφυλικό οξύ και από εκεί:

1. σχηματίζουν γλυκόζη μέσω γλυκονεογένεσης
2. μετατρέπονται σε ακετυλο CoA το οποίο είτε σχηματίζουν λιπαρά οξέα, είτε μπαίνουν στον κύκλο του Krebs παράγοντας ενέργεια ή μέσω γλυκονεογένεσης γλυκόζη.

Παράλληλα, τα αμινοξέα των μυών απαμινώνονται και μέσω της αμινοτρανσφοράς της αλανίνης μετατρέπονται σε αλανίνη, η οποία οδηγείται στο ήπαρ και παράγει γλυκόζη. Ο κύκλος της αλανίνης έχει σημασία για τη διατήρηση των επιπέδων της γλυκόζης μεσογευματικά.

Μεταβολισμός των λιπιδίων

Τα λιπαρά οξέα στο ηπατοκύτταρο μπορούν να έχουν την εξής τύχη:

- Να μετατραπούν σε ηπατικά λιπίδια
- Να μετατραπούν σε φωσφολιπίδια και τριακυλογλυκερόλες των πρωτεϊνών του πλάσματος και να μεταφερθούν σε άλλους ιστούς και το λίπος προς αποθήκευση

- Να συνδεθούν με αλβουμίνη και να μεταφερθούν στους γραμμωτούς μύες και την καρδιά για

παραγωγή ενέργειας

- Να υποστούν β-οξειδωση παράγοντας NADH και ακετυλοCoA. Κατόπιν το ακετυλο CoA μπορεί

1. να μπει στον κύκλο του Krebs παράγοντας ενέργεια
2. να σχηματίσει κετονικά σώματα, ακετοξικό και β-υδροξυβουτυρικό, που χρησιμοποιούνται από την καρδιά και τον εγκέφαλο ως πηγή ενέργειας σε περιόδους νηστείας
3. να χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση χοληστερόλης, χολικών αλάτων και στεροειδών ορμονών

Ενδιάμεσος μεταβολισμός στο λιπώδη ιστό και τους μύες

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ο λιπώδης ιστός αποτελεί το 15% της μάζας σώματος ενός ενήλικα. Περίπου το 65% αποτελείται από τριακυλογλυκερόλες. Στα λιποκύτταρα:

- μετατρέπεται η γλυκόζη σε λιπαρά οξέα και αυτά σχηματίζουν τριακυλογλυκερόλες που αποθηκεύονται σε λιποσφαίρια
- αποθηκεύονται τα λιπαρά οξέα που έχουν παραχθεί στο ήπαρ και μεταφέρονται ως VLDL
- αποθηκεύονται τα λιπαρά οξέα που φτάνουν από το έντερο ως χυλομικρά
- όταν υπάρχει ανάγκη σε ενέργεια διασπώνται οι τριακυλογλυκερόλες απελευθερώνοντας λιπαρά οξέα. Η διάσπαση αυτή ευνοείται από την επινεφρίνη (μέσω αύξησης του κυκλικού AMP) και μειώνεται από την ινσουλίνη.
- Δεν είναι δυνατή η χρήση της γλυκερόλης που προέρχεται από τη διάσπαση των τριακυλογλυκεριδίων για εκ νέου σύνθεσή τους γιατί στερούνται του ενζύμου κινάση της γλυκερόλης. Αντ' αυτού φωσφορική γλυκερόλη παράγεται με γλυκονεογένεση από το πυροσταφυλικό με τη δράση της καρβοξυκινάσης του πυροσταφυλικού (η καρβοξυκινάση του καρβοξυλικού επάγεται από τον PPAR γ και έτσι συμβάλλει στην αναγέννηση των τριακυλογλυκεριδίων και άρα την απομάκρυνση των ελευθέρων λιπαρών οξέων από το πλάσμα).

Στους μύες :

- σε κατάσταση ηρεμίας βασική πηγή ενέργειας είναι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα κετονικά σώματα που αποδομούνται σε ακετυλο CoA και μπαίνουν στον κύκλο του Krebs παράγουν ενέργεια.
- Σε κατάσταση μέτριας διέγερσης χρησιμοποιείται γλυκόζη για παραγωγή ενέργειας
- σε κατάσταση έντονης δραστηριότητας διασπάται επιπλέον το γλυκογόνο των μυών παράγοντας γαλακτικό οξύ. Η ζύμωση του γαλακτικού οξέος προσφέρει πιο γρήγορη πηγή ενέργειας από την οξειδωτική φωσφορυλίωση της γλυκόζης και επάγεται με την επινεφρίνη. Ωστόσο, η συσσώρευση γαλακτικού οξέος οδηγεί σε οξέωση και κόπωση
- Τέλος σε καταστάσεις έντονης δραστηριότητας παράγεται ATP από την μετατροπή της φωσφοκρεατίνης σε κρεατίνη
- Σε περίοδο ανάληψης από την άσκηση, μέσω του κύκλου του Cori, επιστρέφει γλυκόζη στους μύες σχηματίζοντας γλυκογόνο

Υποδοχείς γλυκόζης

GLUT2

Διαμεμβρανικοί μεταφορείς γλυκόζης με κύρια εντόπιση στο ήπαρ και το πάγκρεας και βασικό χαρακτηριστικό ότι η δράση τους είναι ανεξάρτητη από την ύπαρξη ινσουλίνης. Υπάρχουν επίσης στον υποθάλαμο ενώ έχουν και κάποιο ρόλο στην επαναρρόφηση της γλυκόζης στο νεφρό. Σε μη

ελεγχόμενο ΣΔ στην κύηση η ανάπτυξη του νευρικού σωλήνα και της καρδιάς εξαρτάται από τους GLUT2.

GLUT4

Διαμεμβρανικοί μεταφορείς γλυκόζης που εξαρτώνται από τη δράση της ινσουλίνης για την είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα. Βρίσκονται στους γραμμωτούς μύες, στην καρδιά, στο λίπος και τον ιππόκαμπο.

Ινσουλίνη

Η ρύθμιση της ομοιοστασίας της γλυκόζης στον οργανισμό γίνεται μέσω ορμονικών συστημάτων με κεντρικό ρυθμιστή την ινσουλίνη. Η ινσουλίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που συντίθεται στα β κύτταρα στα νησίδια του Langerhans στην εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος. Βρίσκεται σε ανενεργή μορφή σαν εξαμερές, ενώ ενεργή είναι η μονομερής μορφή της. Το υπεύθυνο για τη σύνθεση γονίδιο είναι το INS με ένα πλήθος promoters/ενισχυτές αλλά και ανασταλτές αυτού να ρυθμίζουν την έκφρασή του. Αρχικά, συντίθεται ένα πολυπεπτιδίο η προ-προ ινσουλίνη η οποία μέσω του οδηγού πεπτιδίου οδηγείται στο ενδοπλασματικό δίκτυο όπου αυτό αποκόπτεται για να σχηματιστεί η προ ινσουλίνη. Το C πεπτιδίο απελευθερώνεται σε αναλογία 1:1 με την ινσουλίνη και καθώς δεν απομακρύνεται τελείως από το ήπαρ, έχει χρόνο ημιζωής 30 λεπτών. Η μέτρησή του χρησιμοποιείται ως ένας δείκτης της έκκρισης της ινσουλίνης. Μετά από μια σειρά αναδιπλώσεων και αποκοπής του πολυπεπτιδίου C με τη συμβολή ενζυμικών συστημάτων (κονβερτάσες της προορμόνης και καρβοξυπεπτιδάση E) σχηματίζεται το μόριο της ινσουλίνης το οποίο και αποθηκεύεται σε κοκκία. Εξωκύττωση των κοκκίων και απελευθέρωση της ορμόνης στην περιφέρεια προκαλείται μέσω μεταβολικών σημάτων αλλά και διέγερση του παρασυμπαθητικού.

Το κύριο ερέθισμα αποτελεί η γλυκόζη του αίματος. Η γλυκόζη καθώς εισέρχεται στα β κύτταρα του παγκρέατος μέσω των GLUT2 υποδοχέων υφίσταται γλυκόλυση κ μέσω παραγωγής ATP (\uparrow ATP/ADP) ενεργοποιεί τους υποδοχείς σουλφονουρίας και προκαλεί επαναπόλωση της μεμβράνης και είσοδο ιόντων Ca^{2+} . Έτσι ενεργοποιείται η φωσφολιπάση C και προκαλείται εκ νέου είσοδος ιόντων Ca^{2+} με τελικό αποτέλεσμα την έκκριση της αποθηκευμένης ινσουλίνης. Άλλα ερεθίσματα που προάγουν την απελευθέρωση της ινσουλίνης είναι: η αργινίνη, η λευκίνη, απέκκριση ακετυλοχολίνης κατά τη διέγερση του παρασυμπαθητικού (μέσω ερεθισμού της φωσφολιπάσης C), η σουλφονουρία, η χολοκυστοκίνη, incretins glucagon-like peptide-1 (GLP-1), glucose dependent insulinotropic peptide (GIP). Επειδή στην έκκριση ινσουλίνης εμπλέκονται και εντερικά πεπτιδία και ορμόνες η απάντηση στη χορήγηση γλυκόζης είναι καλύτερη όταν αυτή γίνει από το στόμα παρά όταν γίνει ενδοφλέβια.

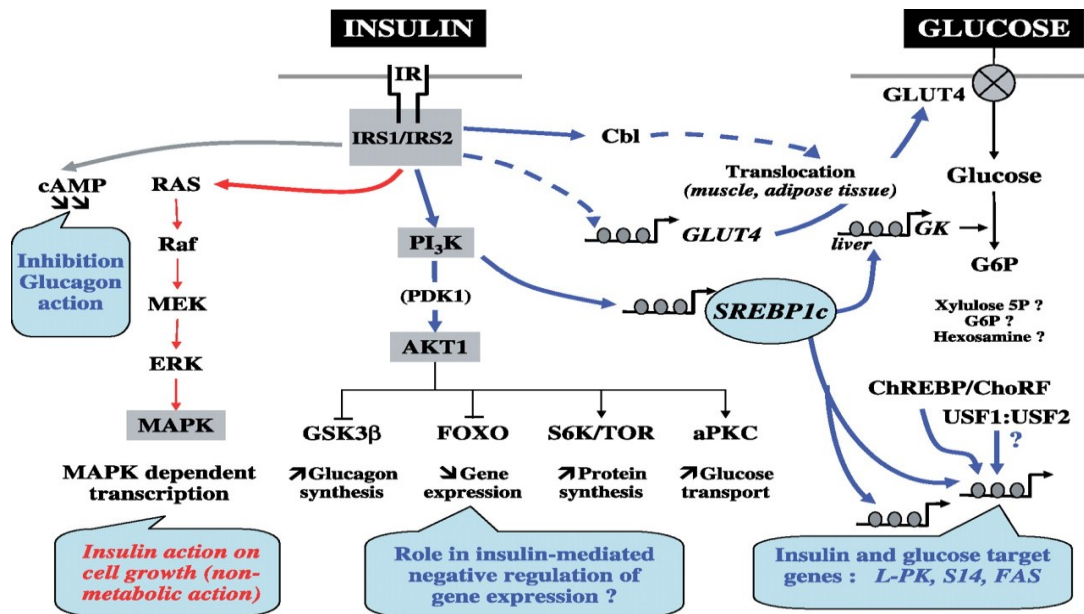
Διαταραχή της έκκρισης ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη φαίνεται στη δοκιμασία χορήγησης γλυκόζης (OGTT test).

Αντίθετα, μείωση της έκκρισης της ινσουλίνης προκαλούν οι ορμόνες του στρες κυρίως η νοερεπινεφρίνη (οι α αδρενεργικοί υποδοχείς αναστέλλουν και οι β αδρενεργικοί υποδοχείς διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης).

Μετά από διέγερση με γλυκόζη διακρίνονται δύο φάσεις έκκρισης ινσουλίνης. Η πρώτη 10-15λεπτά μετά, οφείλεται στην απελευθέρωση της προσχηματισμένης ινσουλίνης και η δεύτερη, μετά από 2 ώρες, στην έκκριση νεοσυντεθείσας ινσουλίνης.

Δράση της ινσουλίνης στα κύτταρα

Η ινσουλίνη για να δράσει στα κύτταρα πρέπει πρώτα να συνδεθεί με τον υποδοχέα της (INSR). Ο υποδοχέας της ινσουλίνης αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες (2α και 2β-διαμεμβρανικές) και έχει δράση τυροσινικής κινάσης. Μετά την πρόσδεση της ινσουλίνης, η β υπομονάδα του υποδοχέα αυτοφωσφορυλιώνεται στη θέση της τυροσίνης και φωσφορυλιώνει άλλες πρωτεΐνες. Η φωσφορυλιωμένη β υπομονάδα (insulin receptor substrate) IRS ενεργοποιεί περαιτέρω ενδοκυττάριας κινάσες και φωσφατάσες προκαλώντας τη δράση της ινσουλίνης. (Lehninger principles of biochemistry)



Σχήμα 3 από (Desvergne et al., 2006)

Η δράση της ινσουλίνης και της γλυκόζης στη γονιδιακή έκφραση:

1. Η μείωση των ενδοκυττάριας επιπέδων του cAMP αντιμάχεται τη δράση της γλυκαγόνης
2. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού RAS/ERK/MAPK οδηγεί στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται κυρίως στην ανάπτυξη του κυττάρου
3. Η ενεργοποίηση της κινάσης της φωσφατυδιλινοσιτόλης3 PI3K διαμεσολαβεί τη δράση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό, μέσω ενεργοποίησης του Akt και ενεργοποίηση της έκφρασης του SREBP-1c. (το τελευταίο θεωρείται κύριος σταθμός στη δράση της ινσουλίνης). Επίσης, η ενεργοποίηση του Akt/PKB μονοπατιού εμποδίζει την ενεργότητα των μεταγραφικών παραγόντων αγκύλης FOXO.
4. Η ινσουλίνη βοηθάει τη μεταφορά των GLUT4 στην επιφάνεια, σε μύες και λιπώδη ιστό αλλά όχι στο ήπαρ (μέσω Cbl ενώ η έκφραση των GLUT2 στο ήπαρ εξαρτάται από τους FOXO μεταγραφικούς παράγοντες). Η SREBP-1 αυξάνει τη γλυκοκινάση στο ήπαρ και άρα το μεταβολισμό της γλυκόζης. Τόσο η SREBP-1 όσο και η γλυκόζη ενεργοποιούν γονίδια στόχους. Η 5-φωσφορική ξυλόζη, η 6-φωσφορική γλυκόζη και η εξοζαμίνη είναι μεταβολίτες της γλυκόζης οι οποίοι δρουν σαν σηματοδότες μεταγραφής στο κύτταρο.

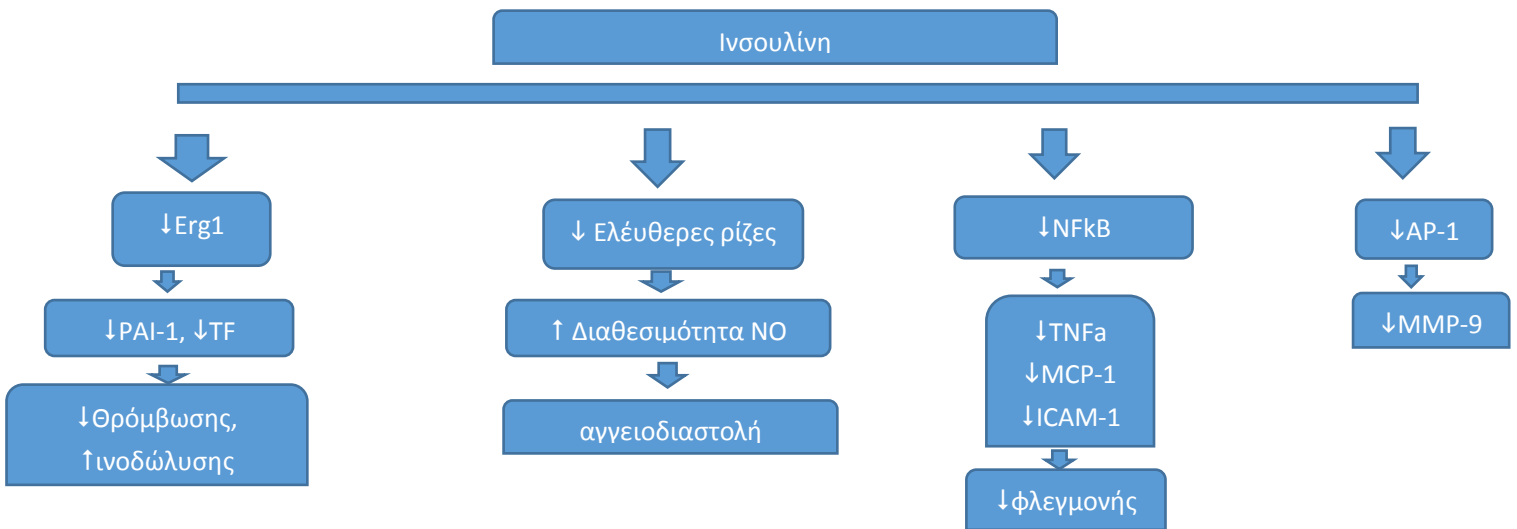
(Desvergne et al., 2006)

Η ινσουλίνη είναι βασική αναβολική ορμόνη του οργανισμού με βασικό στόχο την πρόσληψη

γλυκόζης από τα κύτταρα και την αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή τριγλυκεριδίων και γλυκογόνου

- Αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τους περιφερικούς ιστούς μέσω της ενεργοποίησης του μεταφορέα γλυκόζης GLUT4 (μύες, λίπος)
- αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από το ήπαρ μέσω αύξησης έκφρασης της γλυκοκινάσης
- αυξάνει τη σύνθεση γλυκογόνου στο ήπαρ και τους μύες μέσω αύξησης της συνθετάσης του γλυκογόνου
- μειώνει την αποδόμηση του γλυκογόνου στο ήπαρ και τους μύες μέσω μείωσης της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου
- αυξάνει τη γλυκόλυση και την παραγωγή ακετυλο CoA στο ήπαρ και τους μύες μέσω αύξησης της φωσφοφρουκτοκινάσης 1 και συμπλόκου δευδρογενάσης του πυροσταφυλικού
- αυξάνει τη σύνθεση λιπαρών οξέων στο ήπαρ μέσω αύξησης της καρβοξυλάσης του ακετυλο CoA
- αυξάνει τη σύνθεση τριγλυκεριδίων στο λιπώδη ιστό μέσω αύξησης της λιπάσης των λιποπρωτεϊνών. Στα κύτταρα του λιπώδους ιστού η ινσουλίνη προάγει την λιπογένεση προκαλώντας την εισαγωγή της γλυκόζης και των λιποπρωτεϊνών που προέρχονται από τα λιπαρά οξέα και επάγωντας τον ADD-1/SREBP-1c, που ρυθμίζει γονίδια για την προώθηση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και της λιπογένεσης όχι μόνο στα κύτταρα του λιπώδους ιστού, αλλά και στα ηπατοκύτταρα. Η ινσουλίνη μπορεί επίσης να ρυθμίσει τη μεταγραφή μέσω μεταγραφικών παραγόντων φουρκέτας FOXO
- προάγει τη διαφοροποίηση των πρώιμων σε ώριμα κύτταρα του λιπώδους ιστού

Οι μη μεταβολικές επιδράσεις της ινσουλίνης περιλαμβάνουν την μείωση της παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και ορισμένων προφλεγμονωδών μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο πυρηνικός παράγοντας (NF)-κB, η ενεργοποιός πρωτεΐνη 1 (activating protein-1 - AP-1) και τα προϊόντα των γονιδίων που ρυθμίζονται από τους παράγοντες αυτούς. Έτσι η ινσουλίνη έχει ένα συνολικό αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα και επιπλέον έχει αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα, όπως αντικατοπτρίζεται από την ελάττωση της παραγωγής των ROS.



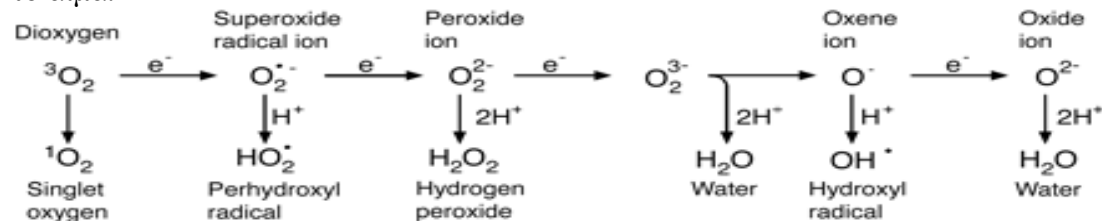
Σχήμα 4 εξωμεταβολικές δράσεις ινσουλίνης

Η ινσουλίνη σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις είναι κατασταλτική για τη μεταγραφή των προφλεγμονωδών NFκB και της χημειοκίνης MCP-1 (Aljada et al., 2001). Στην ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση της εμπλέκονται και η αύξηση της IκappaB, η μειωμένη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου, p47(phox) υπομονάδα, μείωση του plasma soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) και του plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) και μείωση των early growthresponse-1 (Egr-1) και plasma concentration of tissue factor (TF). Η αντιφλεγμονώδης δράση φαίνεται ότι έχει και μακροχρόνια αποτελέσματα στην αθηροσκλήρυνση και τις επιπλοκές της (Dandona et al., 2001) (Aljada et al., 2002) (Dandona et al., 2003) (Garg et al., 2006).

Οξειδωτικό στρες

Με την εμφάνιση των κυανοβακτηρίων στη γη που άρχισαν να παράγουν οξυγόνο από τη φωτοσύνθεση, ευνοήθηκαν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που διέθεταν μιτοχόνδρια και μπορούσαν να καταναλώσουν οξυγόνο για την παραγωγή ενέργειας. Το οξυγόνο κατά την τέλεια καύση με οργανικές ενώσεις παράγει νερό και διοξείδιο του άνθρακα και μεγάλες ποσότητες ATP. Ενέργεια παράγεται και από την αναερόβια καύση οργανικών ενώσεων αλλά σε πολύ μικρότερες ποσότητες γι' αυτό και το οξυγόνο είναι απαραίτητο για την επιβίωση των ανώτερων πολυκύτταρων οργανισμών. Η ενέργεια απελευθερώνεται από τη μεταφορά ηλεκτρονίων από αναγωγικά σώματα (τα οποία οξειδώνονται) στο οξυγόνο, προκαλώντας έτσι ένα αναγωγικό περιβάλλον. Οι οργανικές ενώσεις του κυττάρου: γλυκόζη, αμινοξέα και λιπαρά οξέα διασπώνται αρχικά σε ακέτυλο-συνένζυμο A, το οποίο εισερχόμενο στα μιτοχόνδρια μπαίνει στον κύκλο του Krebs υφίσταται μετατροπή σε τρικαρβοξυλικές ενώσεις. Η ενέργεια που απελευθερώνεται μεταφέρεται μέσω των NAD, FAD στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων η οποία μέσω της αντλίας πρωτονίων δημιουργεί ηλεκτροχημική κλίση πίεσης στη μιτοχονδριακή μεμβράνη (μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό δυναμικό). Τελικά, η συνθετάση της ATP λαμβάνει τα πρωτόνια και παράγει ATP από ADP+P. Ταυτόχρονα το μοριακό οξυγόνο υφίσταται τετρασθενή αναγωγή (προσλαμβάνει ηλεκτρόνια) και όταν συναντάται με ιόντα H⁺ σχηματίζει νερό.

Ωστόσο στη φύση δε συμβαίνει πάντα τετρασθενής αναγωγή του οξυγόνου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το 1-2% του οξυγόνου που βρίσκεται στα μιτοχόνδρια ανάγεται μερικώς. Αυτή η σταδιακή αναγωγή του οξυγόνου με ένα ηλεκτρόνιο κάθε φορά σχηματίζει τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS reactive oxygen species). Φυσιολογικά, τα μιτοχόνδρια δρουν σαν αντιοξειδωτική δεξαμενή. Ωστόσο όταν το δυναμικό των πρωτονίων υπερβεί ένα όριο τότε διεγείρει την οξειδάση του NADPH η οποία συμβάλλει στη δημιουργία ελευθέρων ριζών. Όταν τα μιτοχόνδρια δεν μπορούν πλέον να απορροφήσουν το φορτίο του οξυγόνου, αυξάνεται το φορτίο οξυγόνου στους ιστούς, άρα μειώνεται η δυνατότητα των ιστών να εξάγουν οξυγόνο από το αίμα.



Σχήμα 5(Rodriguez and Redman, 2005)

Σχηματισμός διαφόρων ελεύθερων ριζών οξυγόνου από το O₃ με μεταφορά ενέργειας και σταδιακή απώλεια ηλεκτρονίων.

Κάποιες από αυτές τις δραστικές μορφές οξυγόνου έχουν έντονη χημική αντιδραστικότητα και ονομάζονται ελεύθερες ρίζες. Ελεύθερες ρίζες ονομάζονται οι ενώσεις οι οποίες, αν και μπορούν να είναι αυθύπαρκτες, επειδή φέρουν ελεύθερα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα είναι έντονα αντιδραστικές. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν με άλλα μόρια και να προκαλέσουν δομικές και λειτουργικές μεταβολές σε αυτά. Συγκεκριμένα αντιδρούν με λιποπρωτεΐνες, κυτταρικές μεμβράνες, λιπίδια, DNA, αμινοξέα, και άλλα μόρια. Το υπεροξείδιο είναι από τις πιο συχνά απαντούμενες ελεύθερες ρίζες, ενώ η ρίζα του υδροξυλίου από τις πιο ισχυρές.

Η ρίζα του υδροξυλίου είναι ισχυρά εξαρτώμενη από το μη δεσμευμένο με πρωτεΐνη σίδηρο NTBI.

NO, RNS

Η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου παράγεται από το ένζυμο συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου το οποίο έχει τρεις ισομορφές.

- Νευρική nNO που εκφράζεται στους νευρώνες
- επαγωγίμη iNO που εκφράζεται στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, ηπατοκυττάρων, μακροφάγων και νευροενδοκρινικό σύστημα
- ενδοθηλιακή eNO που εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα

Οι iNO, eNO διεγείρονται από την οξειδωτική κατάσταση του κυττάρου, κυτταροκίνες, ορμόνες και τροφικά στοιχεία. Συγκεκριμένα, η συνθετάση του NO καταλύει την αντίδραση:

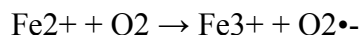


Το μονοξείδιο του NO έχει διάφορες λειτουργίες όπως αγγειοδιαστολή, ενεργοποίηση μακροφάγων, έκφραση γονιδίων και απόπτωση. Όμως το NO μπορεί να αντιδράσει με θεικές ομάδες πρωτεϊνών προκαλώντας νιτροξυλίωση και σχηματισμό ελευθέρων ριζών αζώτου, όπως ο περοξυνιτρίτης και η ελεύθερη ρίζα του NO. Συνεπώς το φορτίο ελευθέρου οξυγόνου καθορίζει κατά πόσο το NO δρα σαν προστατευτικό ή καταστροφικό μόριο.

Τα μεταβατικά βαρέα μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός εμπλέκονται επίσης στο οξειδωτικό στρες.

Ειδικά ο σίδηρος αντιδρώντας με το οξυγόνο και το υπεροξείδιο του υδρογόνου δημιουργεί ρίζες υδροξυλίου μέσω της αντίδρασης Fenton και Harber Weiss. Η αντίδραση Fenton ενεργοποιεί την υπεροξειδωση των λιπών.

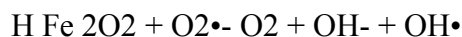
Auto oxidation of Fe²⁺:

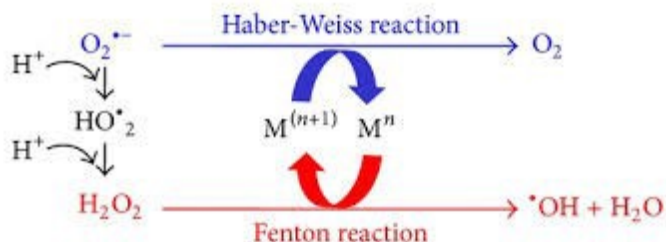


Fenton reaction:



Haber-Weiss reaction:





Σχήμα 6 από (Ayala et al., 2014)

Η ανηγμένη μορφή των μεταβατικών μετάλλων αντιδρά μέσω της αντίδρασης Fenton με το υπεροξειδίο του υδρογόνου οδηγώντας στο σχηματισμό υδροξυλίου. Η ελεύθερη ρίζα του υπεροξειδίου αντιδρά με την οξειδωμένη μορφή του μεταβατικού μετάλλου μέσω της αντίδρασης Haber-Weiss προς παραγωγή της ανηγμένης μορφής κλείνοντας τον κύκλο.

Οξειδωτικό stress ονομάζεται η κατάσταση ανισορροπίας μεταξύ γένεσης προ-οξειδωτικών ουσιών και δυνατότητας εξουδετέρωσής τους από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στη πρόωγη γήρανση και σε μία λίστα από κοινές ασθένειες (περίπου 100) κάποιες εκ των οποίων είναι η αρτηριακή υπέρταση, έμφραγμα, εγκεφαλικό, νόσος του Parkinson, νόσος του Alzheimer, κολίτιδα, παγκρεατίτιδα, παχυσαρκία, διαβήτης, χρόνια βρογχίτιδα, ρευματοειδής αρθρίτιδα, AIDS και ορισμένες μορφές καρκίνου.



Σχήμα 7 από (Ilie and Margină, 2012)

Η συμβολή του οξειδωτικού στρες στην παθογένεση διαφόρων ασθενειών

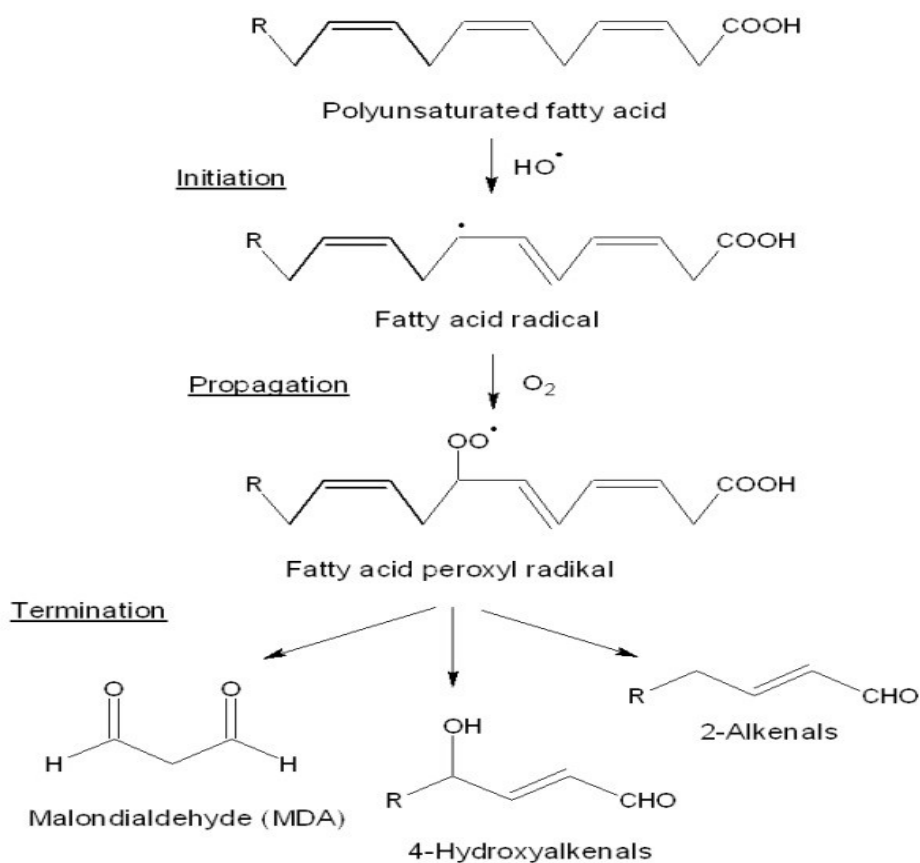
Δράση ελευθέρων ριζών

1) Υπεροξείδωση λιπαρών οξέων

Λίπη και έλαια οξειδώνονται αποκτώντας χαρακτηριστική οσμή, όψη και γεύση. Το πιο ισχυρό

οξειδωτικό μόριο είναι η ρίζα του υδροξυλίου. Η ρίζα του υδροξυλίου επιτίθεται στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών προκαλώντας αυτό-πολλαπλασιαζόμενη οξείδωση. Συνδεδεμένες διένες και MDA, παραπροϊόντα της υπεροξείδωσης των λιπών, αυξάνονται σε παχυσαρκία, μεταβολικό σύνδρομο και ΣΔΙΙ. Στο πρώτο βήμα της αντίδρασης μειώνεται ένα άτομο υδρογόνου από τη ρίζα του μεθυλίου από ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ. Επειδή το άτομο του υδρογόνου έχει ένα ηλεκτρόνιο η μείωση αυτή αφήνει ένα ασύζευκτο άτομο υδρογόνου στον άνθρακα του -CH-, ο διπλός δεσμός στο λιπαρό οξύ μειώνει τον δεσμό C-H στο άτομο άνθρακα adjacent στον άλλο διπλό δεσμό και διευκολύνει την απομάκρυνσή του. Τότε η πολυακόρεστη αλυσίδα των λιπαρών οξέων στη λιπιδιακή μεμβράνη είναι ευάλωτη στην πρόκληση υπεροξείδωσης.

Τα τρία στάδια της υπεροξείδωσης είναι η έναρξη, ο πολλαπλασιασμός και ο τερματισμός. Οι ελεύθερες ρίζες Hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$), alkoxy radical ($\text{RO}\bullet$), peroxy radical ($\text{ROO}\bullet$), and $\text{HO}_2\bullet$ μπορούν να αφαιρέσουν ένα άτομο υδρογόνου από τα πολυακόρεστα λίπη αλλά όχι τα H_2O_2 ή το O_2 .



Σχήμα 8 από (Mimica-Dukić et al., 2012)

Τα στάδια της υπεροξείδωσης των λιπών από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Στην αρχική φάση μια ενεργή ρίζα που έχει σχηματιστεί κατά την αντίδραση του Fenton αποσπά ένα άτομο υδρογόνου σε α θέση σχετικά με το διπλό δεσμό του πολυακόρεστου λιπαρού οξέος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ρίζας λιπαρού οξέος, ιδιαιτέρως ασταθούς, με μικρή διάρκεια ζωής που σταθεροποιείται αποσπώντας υδρογόνο από άλλο χημικό μόριο ή αντιδρώντας με O_3

προς γένεση διαφόρων ελευθέρων ριζών, όπως τις υπεροξειλικές ρίζες λιπαρού οξέος. Στο στάδιο του τερματισμού οι υπεροξυλικές ρίζες μετατρέπονται σε συστατικά που δεν είναι πια ελεύθερες ρίζες -υδροκαρβονύλια, αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες και πολυμερή λιπιδίων- κάποια εκ των οποίων είναι βλαπτικά για το κύτταρο.

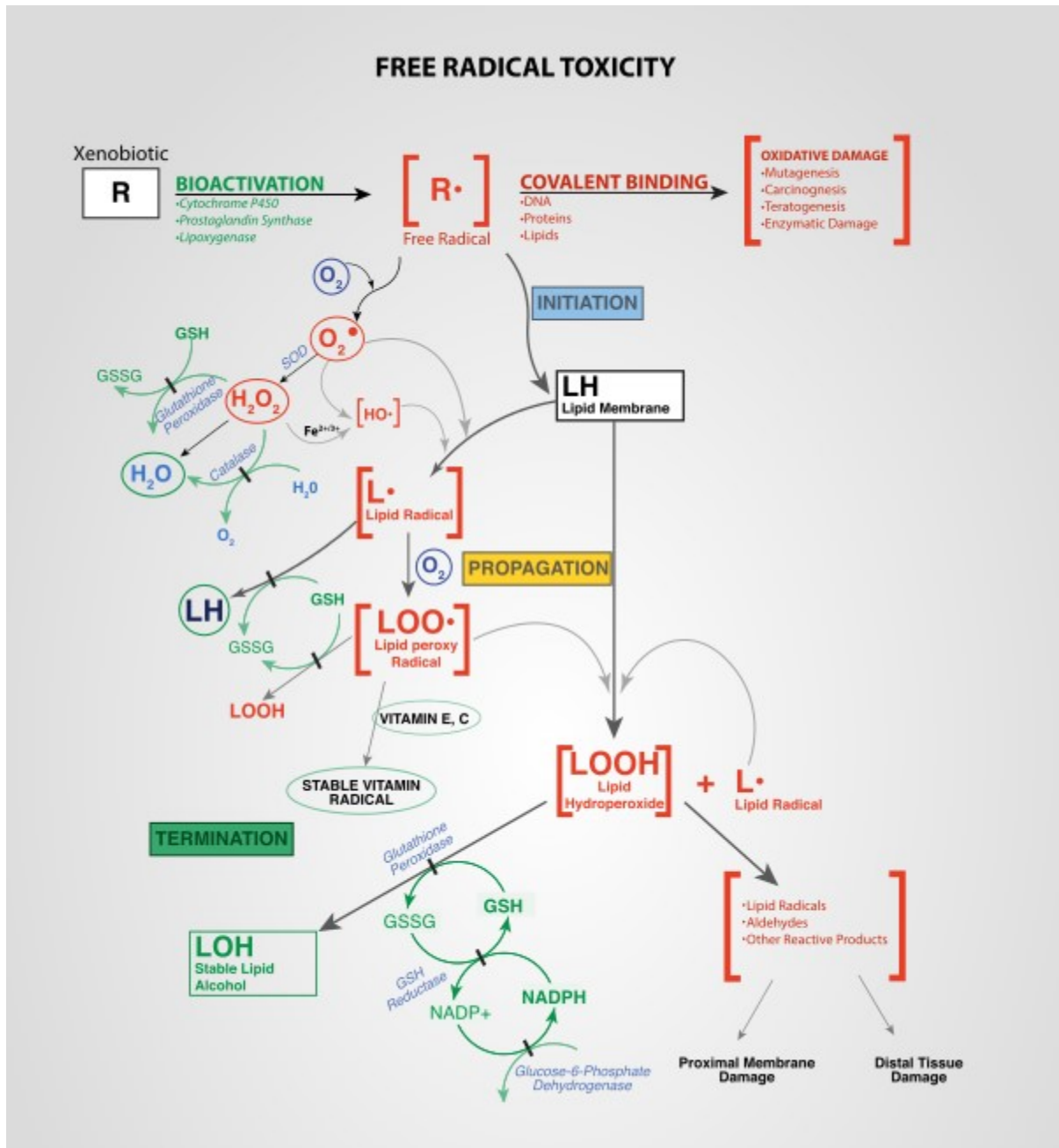
Προϊόντα αυτής της αντίδρασης μπορεί να είναι διάφορα λιπο-υπεροξειδία και κυκλικά υπεροξειδία. Τα υπεροξειδία των λιπών σε φυσιολογικές συνθήκες είναι σταθερά μόρια. Η αποσύνθεση των υπεροξειδίων των λιπών καταλύεται από μεταβατικά βαρέα μέταλλα. Για παράδειγμα, τα ιονισμένα σύμπλοκα σιδήρου μπορούν μέσω της αντίδρασης Fenton να προκαλέσουν αποδόμηση των υπεροξειδίων των λιπών. Το ίδιο και η αιμοσφαιρίνη και τα κυτοχρώματα (αν και δε λαμβάνουν άμεσα μέρος στην αντίδραση Fenton, οι αιμοπρωτεΐνες απελευθερώνουν χυλικό σίδηρο. Η φερριτίνη και η αιμοσιδηρίνη είναι αποτελεσματικές στη διέγερση της υπεροξειδωσής των λιπών ενώ η καταλάση λιγότερο αποτελεσματική.

Τα ανηγμένα βαρέα μέταλλα Fe^{+2} , Cu^{+} , αντιδρούν με τα υπεροξειδία των λιπών ($LOOH$) προς ρίζα αλκοξυλίου.



Στην αντίδραση αυτή, τα οξειδωμένα βαρέα μέταλλα [Fe^{+3} , Cu^{+2}] αντιδρούν αργά με τα υπεροξειδία προς σχηματισμό ρίζας αλκοξυλίου ή περοξειδίου. Τόσο η ρίζα αλκοξυλίου όσο και η ρίζα υπεροξειδίου μπορούν να ενεργοποιήσουν την αλυσιδωτή αντίδραση αφαιρώντας άτομα υδρογόνου. Τα οξειδωτικά μεταλλικά ιόντα Ca^{2+} , Pb^{2+} and Al^{3+} μπορούν να επηρεάσουν το ρυθμό της υπεροξειδωσής των λιπών. Ο ρυθμός υπεροξειδωσής των λιπών αυξάνεται από τη διέγερση από άλατα σιδήρου στη μεμβράνη. Η προσθήκη ιόντων σιδήρου σε κάθε παρασκεύασμα μπορεί να διεγείρει την αντίδραση υπεροξειδωσής από την αποδόμηση του υδροπεροξειδίου των λιπών προς δημιουργία υπεροξειδική και αλκοξυλικής ρίζας ($LO_2\cdot$), ($LO\cdot$).

Η σταθερά χρόνου είναι 1.5×10^3 /mol/L per second, μεγαλύτερη από τη σταθερά για την αντίδραση ιόντων σιδήρου με H_2O_2 (76 /mol/L per second). Ο σίδηρος και ο χαλκός στα βιολογικά συστήματα προσκολλώνται στα βιολογικά μόρια σε θέσεις σχηματισμού ριζών OH προκαλώντας βλάβη σε λίπη, πρωτεΐνες και DNA. Στη λιπιδιακή μεμβράνη το στάδιο του πολλαπλασιασμού της υπεροξειδωσής δε σταματάει παρά μόνο αν η αντίδραση φτάσει στο πρωτεϊνικό επίπεδο. Έτσι, *in vivo* η υπεροξειδωσής των λιπών προκαλεί και βλάβη των πρωτεϊνών. Η βλάβη αυτή είναι βιολογικά πιο σημαντική από τη βλάβη των λιπιδίων της μεμβράνης. Τα κύτταρα έχουν μηχανισμούς για να αναγνωρίζουν και να απομακρύνουν της οξειδωμένες πρωτεΐνες.



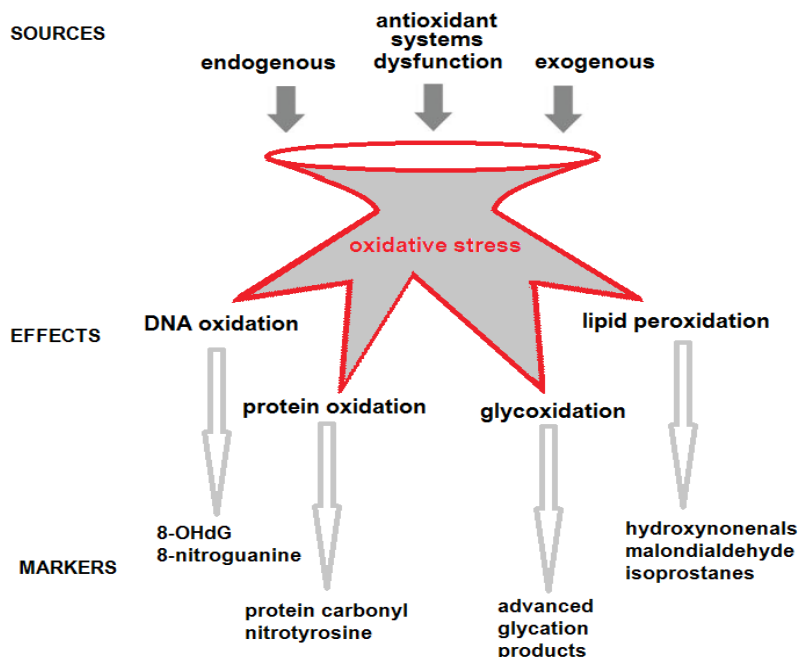
Σχήμα 9 από Dan Cojocari 2016

Απεικόνιση της αλυσίδας έναρξης-διατήρησης και τερματισμού της υπεροξειδωσης των λιπών με τελικά προϊόντα αλκοόλες, αλδεύδες και ρίζες λιπαρών οξέων και οι παράπλευροι δρόμοι αναστολής τους μέσω αδρανοποίησης των ριζών από αντιοξειδωτικά.

2) Βλάβη DNA

3) Βλάβη πρωτεϊνών

Τελικά οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προκαλούν μόνιμη αλλοίωση πρωτεϊνών και DNA με τελικό αποτέλεσμα βλάβη στις λειτουργίες του κυττάρου και ενεργοποίηση μηχανισμών ανάπλασης και τελικά κυτταρικού θανάτου (όταν τα προϊόντα υπεροξειδωσης υπερβούν τις δυνατότητες ανταπόκρισης του κυττάρου).



Σχήμα 10 Σχηματισμός προϊόντων οξείδωσης και δεικτών οξειδωτικού στρες από (Ilie and Margină, 2012)

Αντιοξειδωτική προστασία του κυττάρου

Το κύτταρο έχει αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς προστασίας στη βλάβη μέσω οξείδωσης, οι οποίοι χωρίζονται σε ενζυματικούς και μη-ενζυματικούς/μικρομόρια.

Ενζυματικοί μηχανισμοί:

1. τα κυριότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα ανήκουν στην υπεροξειδογένεια της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) που καταλύουν την οξειδοαναγωγή της ρίζας του υπεροξειδίου είτε σε μοριακό οξυγόνο, είτε σε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου στη συνέχεια αποδομείται από καταλάσες. Η υπεροξειδική δισμουτάση βρίσκεται με διάφορες μορφές στο κύτταρο, συνδεδεμένη με χαλκό, ψευδάργυρο (SOD1) που εδράζεται στο κυτταρόπλασμα, μαγγάνιο (SOD2) στα μιτοχόνδρια, σίδηρο και νικέλιο, ενώ υπάρχει και η εξωκυτταρική υπεροξειδική δισμουτάση SOD3.
2. Καταλάση: Μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο. Περιέχει πορφυρικό δακτύλιο αίμης, άρα μόριο σιδήρου
3. θειική δευδρογενάση
4. γλυκόζη 6-φωσφορική δευδρογενάση (έλλειψή της προκαλεί τη γνωστή αιμόλυση από οξειδωτικό στρες των ερυθρών)

Μη ενζυματικοί μηχανισμοί:

1. γλουταθειόνη (GSH) τριπεπτίδιο που αποτελείται από γ γλουταμίνη, L-κυστεΐνη και γλυκίνη. Η γλουταθειόνη σχηματίζει δισουλφιδικό δεσμό με ένα άλλο μόριο γλουταθειόνης εκχωρώντας έτσι ένα ηλεκτρόνιο το οποίο αποδυναμώνει την ελεύθερη ρίζα. Στη συνέχεια αυτό το μόριο, η οξειδωμένη γλουταθειόνη ανάγεται με την αναγωγή της γλουταθειόνης και NADPH. Ο λόγος

οξειδωμένης/ανηγμένης μορφής της γλουταθειόνης αποτελεί και δείκτη της οξειδωτικής κατάστασης του κυττάρου.

2. τρανσφερρίνη
3. σεουλοπλασμίνη
4. ουρικό οξύ
5. χολερυθρίνη
6. θειορεδοξίνη
7. Βιταμίνες

Βιταμίνη C :αποτοξινώνει από τις ROS, RNS με οξείδωση της ίδιας. Τα προϊόντα της οξείδωσης (ρίζα του ασκορβικού και δεϋδροασκορβική ρίζα) αναγεννώνται από τη γλουταθειόνη και NADPH. Επίσης η βιταμίνη C μειώνει την οξειδωμένη μορφή της βιταμίνης E.

Βιταμίνη E: αποτοξινώνει από τα υδροϋπεροξειδία των λιπών. Μαζί με τη βιταμίνη C αναγεννά τη γλουταθειόνη αντιδρώντας με το λιποϊκό οξύ.

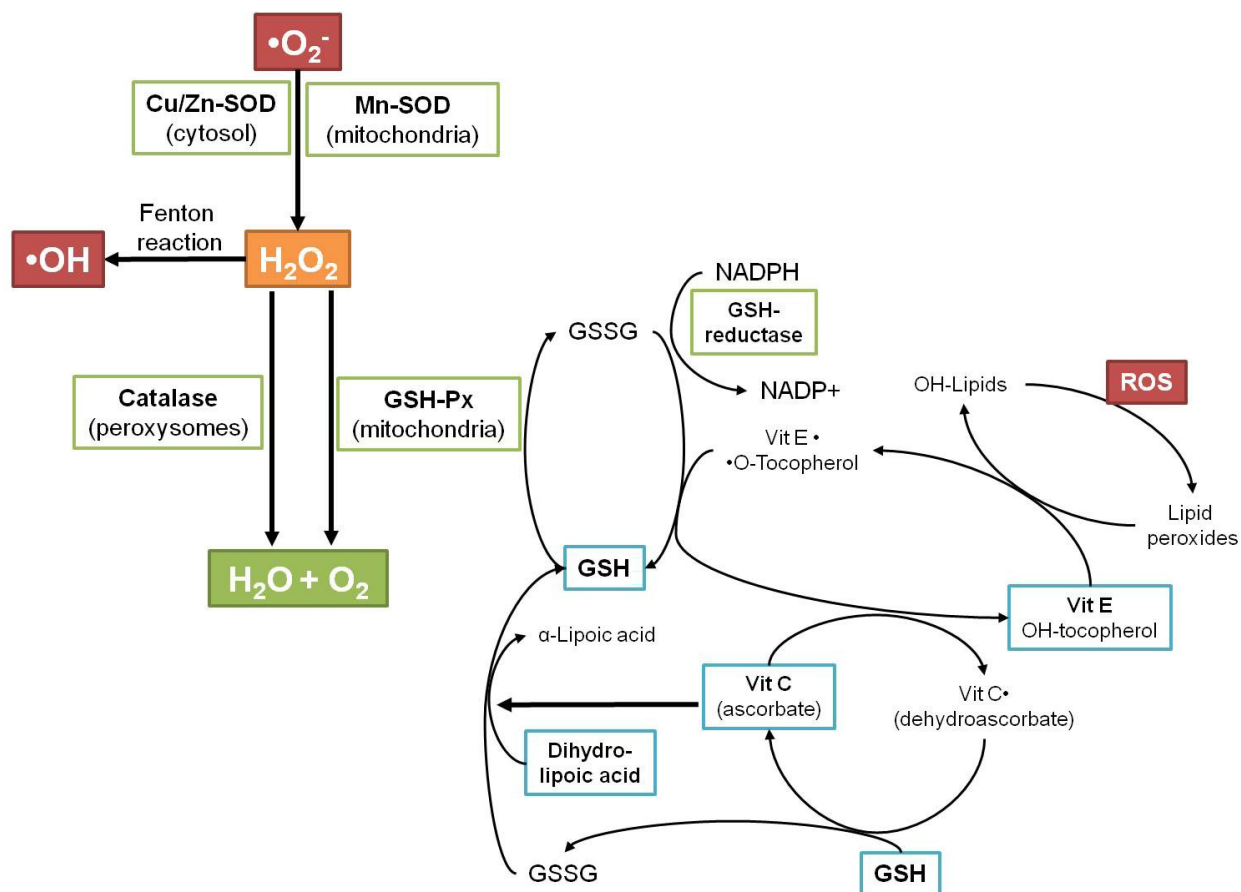
Βιταμίνη A: έχει ποικίλες δράσεις όπως μορφοποίηση της γονιδιακής έκφρασης, κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης. Ανάλογα με την περίπτωση, τα καροτενοειδή (β-καροτένιο, λυκοπένιο και λουτεΐνη) μπορεί να δράσουν μειώνοντας την υπεροξειδωση των λιπών ή και επάγοντάς την.

Το σελήνιο είναι σημαντικός συμπαράγοντας για τη λειτουργία του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, που ενέχεται στην οξείδωση της γλουταθειόνης.

7. φλαβονοειδή (π.χ. κερσετίνη, κεμπερόλη, μυρισετίνη, λουτεολίνη και απιγενίνη) αναστέλλουν την λιπιδική οξείδωση και καθυστερούν τη μείωση των λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών

8. N-Ακετυλοκυστεΐνη (NAC) μετατρέπεται, in vivo, σε L-κυστεΐνη, που χρησιμοποιείται σε υπερπλήρεις ενδοκυτταρικές αποθήκες γλουταθειόνης. Η ομάδα θειόλης στο μόριο NAC επιτρέπει την άμεση αντιοξειδωτική του ικανότητα

9. Η ταυρίνη και το συνένζυμο Q10 είναι ενδογενή αντιοξειδωτικά



Σχήμα 11 από (Lazo-de-la-Vega-Monroy and Fernández-Mejía, 2013)
Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

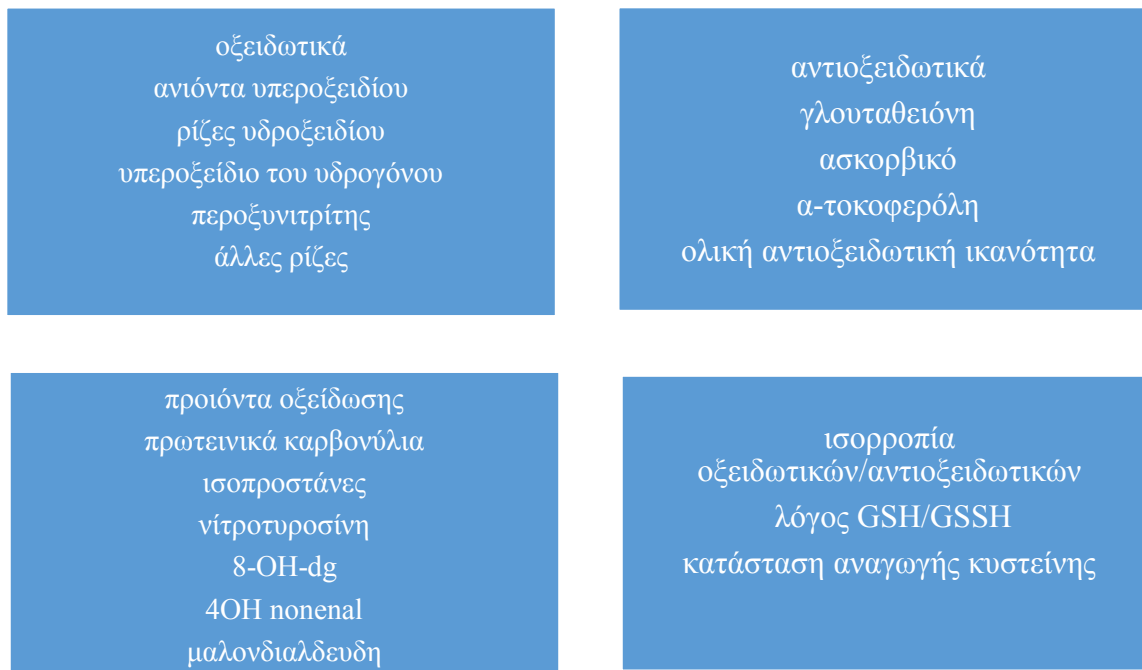
Για την αξιολόγηση αυτής της ισορροπίας έχουν προταθεί διάφοροι δείκτες όπως

- το κλάσμα οξειδωμένης προς ανηγμένης γλουταθειόνης
- δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως δισμουτάση του υπεροξειδίου, καταλάση, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
- δείκτες άμεσης βλάβης δομικών στοιχείων του κυττάρου

1. υπεροξείδωση των λιπών: αλδεϋδες όπως μαλονδιαλδευδη,4 υδρόξυ-2 nonenal, F2 ισοπροστάνες και ισοφουράνες ή νευροφουράνες ανατακλούν την υπεροξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων

2. βλάβη νουκλεϊκών οξέων: προϊόντα οξείδωσης της γουανοσίνης όπως 8OH 2δεοξυγουανοσίνη

3. οξείδωση πρωτεϊνών: προϊόντα οξείδωσης αμινοξέων όπως ορθοτυροσίνη, μετατυροσίνη, νιτροτυροσίνη, γλώροτυροσίνη. Από τους ευρέως χρησιμοποιούμενους δείκτες οξειδωτικού στρες είναι οι πρωτεϊνικές καρβονυλικές ομάδες που προκύπτουν από την οξείδωση των πλαγίων αλύσεων αμινοξέων όπως Lys, Arg, Pro, and Thr, από το σχηματισμό των προσθέτων του Michael μεταξύ καταλοίπων Lys, His, and Cys και α , β -μη κορεσμένων αλδεϋδών σχηματίζοντας προχωρημένα προϊόντα λιποϋπεροξείδωσης ALEs: και γλυκοοξείδωση του μορίου της λυσίνης σχηματίζοντας προχωρημένα προϊόντα γλυκοοξείδωσης AGEs.



Πίνακας 1 μετάφραση από (Dalle-Donne et al., 2006)

Οξειδωτικά-αντιοξειδωτικά- προϊόντα οξείδωσης-δείκτες οξειδωτικού στρες

Μονοπάτια απόπτωσης και επιβίωσης του κυττάρου

Το κύτταρο προσαρμόζεται στο περιβάλλον απαντώντας σε ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια ερεθίσματα. Η απάντηση αυτή είναι αρκετά πολύπλοκη και ρυθμίζεται με καταρράκτες ενδοκυττάριαων σημάτων με θετική και αρνητική τροφοδότηση μεταξύ τους. Μεταβιβαστές των σημάτων αυτών μπορούν να είναι πρωτεΐνες που φωσφορυλιώνουν (κινάσες) και αποωσφορυλιώνουν (φωσφατάσες) άλλες πρωτεΐνες ή λίπη.

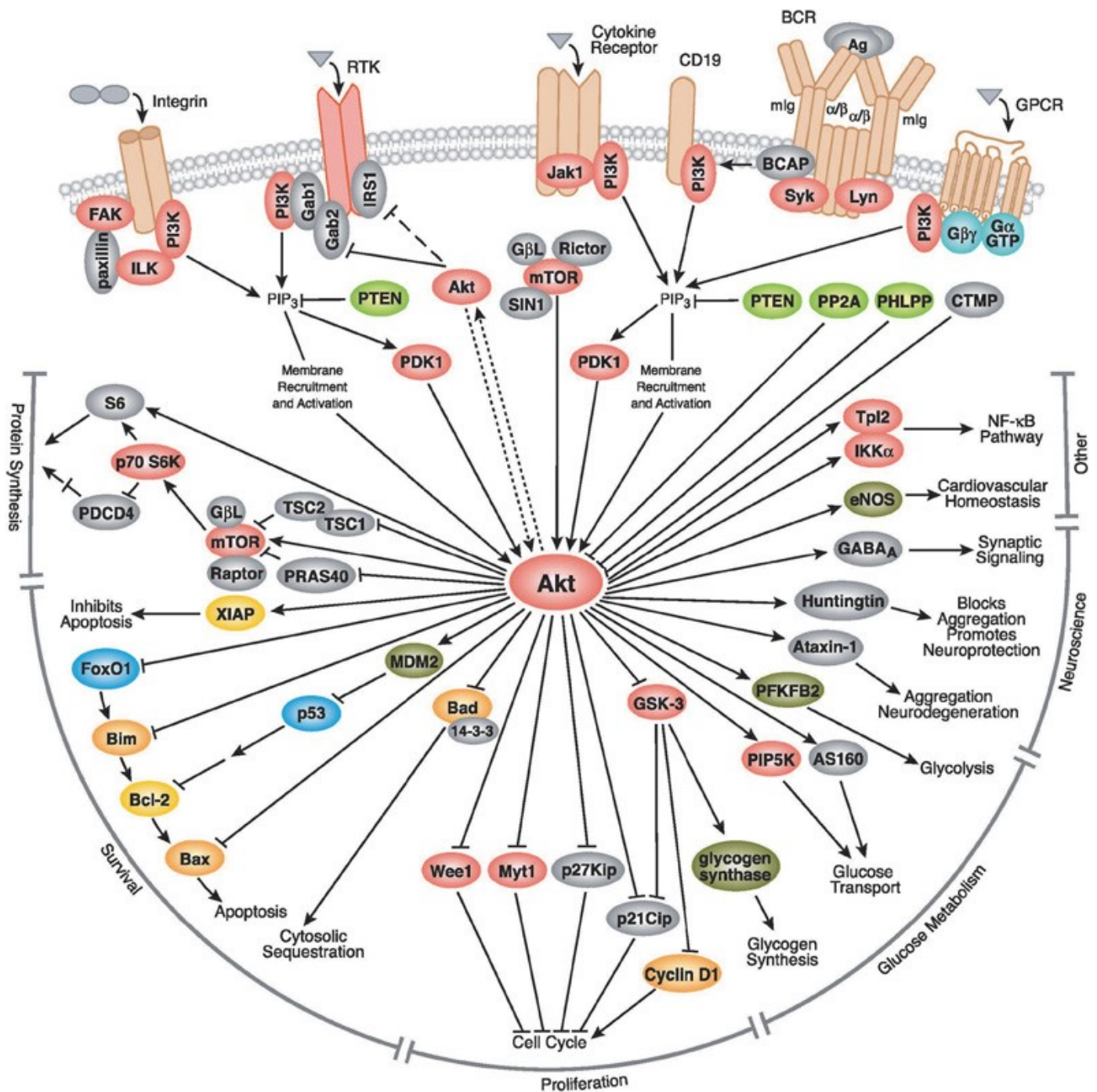
1)PI3K/AKT

Το μονοπάτι PI3K/Akt είναι ένα από τα βασικά σηματοδοτικά μονοπάτια επιβίωσης του κυττάρου. Όπως φαίνεται από το όνομά του κύριες πρωτεΐνες ελέγχου είναι οι PI3K φωσφατυδιλοϊνισιτόλη 3κινάση και η Akt (protein kinase B). Αρχικά εξωκυττάρια ερεθίσματα από αυξητικούς παράγοντες προσδένονται στον υποδοχέα και φωσφορυλιώνουν την PI3K ενεργοποιώντας την. Η ενεργοποιημένη PI3K φωσφορυλιώνει λιπίδια της μεμβράνης σχηματίζοντας την τριφωσφορική φωσφατυδιλοϊνισιτόλη (PIP3) από διφωσφορική φωσφατίδυλοϊνισιτόλη.(Η αντίδραση αυτή αναστέλλεται από το βασικό αναστολέα αυτού του μονοπατιού- το PTEN). Η PIP3 ενεργοποιεί με τη σειρά της την Akt. Στη συνέχεια η Akt ενεργοποιεί και απενεργοποιεί μια σειρά από πρωτεΐνες με συνέπεια την επιβίωση του κυττάρου, τον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική μετανάστευση και την αγγειογένεση. Προβλήματα στο μονοπάτι αυτό συνδέονται με καρκίνο, ΣΔ τύπου II (Osaki et al., 2004).

Η Akt στην ανενεργή μορφή βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και με την ενεργοποίηση του κυττάρου μεταβαίνει στην κυτταρική μεμβράνη για να συνδεθεί με την PIP3. Εκτός από την PIP3 η Akt μπορεί να ενεργοποιηθεί και από άλλα σήματα όπως το θερμικό σοκ, η αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου (μέσω καλμοδουλίνης).

Η ενεργοποιημένη Akt:

- αναστέλλει προαποπτωτικές πρωτεΐνες όπως FOXO3, ASK, BAD, κασπάση 9.
- Ενεργοποιεί το mTOR (μέσω αναστολής του TSC1/2) με αποτέλεσμα την ανταπόκριση στις θρεπτικές ουσίες και την κυτταρική αύξηση.
- Επίσης η ενεργοποίηση του mTOR επάγει τον HIF και αυτός με τη σειρά του τον VEGF και άρα επάγεται η αγγειογένεση
- Επάγει την IKKα η οποία επάγει τον NFκB
- Έχει ρόλο στη μετανάστευση του κυττάρου
- Επάγει τη γλυκόλυση για την παραγωγή ενέργειας ακόμα και παρουσία οξυγόνου (φαινόμενο Warburg) μέσω αυξημένης μεταφοράς στη μεμβράνη του κυττάρου των GLUT1 και GLUT4, αύξησης της εξοκίνησης και έμμεσα μέσω αύξησης του HIF



Σχήμα 12 αναπαραγωγή διαγράμματος με τη ευγενική παραχώρηση της Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com).

Μετά από ενεργοποίηση της PI3K από την ινσουλίνη ή άλλους αυξητικούς παράγοντες ενεργοποιείται η AKT και αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί γονίδια που συμβάλλουν στην

επιβίωση τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση του κυττάρου ενώ απενεργοποιεί γονίδια που συνδέονται με τον κυτταρικό θάνατο.

Απώλεια του PTEN οδηγεί σε υπερ ενεργοποίηση του μονοπατιού και καρκίνο. Η επαγωγή του NFκB οδηγεί στην επαγωγή του TNFα και PPAR που αναστέλλουν τον PTEN. Έτσι με την αναστολή του προκαλείται θετική ανατροφοδότηση του μονοπατιού.

Αρνητικά ανατροφοδότηση του μονοπατιού γίνεται μέσω του mTOR και του FOXO.

2)ASK/JNK/FOXO

Οι MAP κινάσες MAPK αποτελούν μια οικογένεια πρωτεϊνών που διαμεσολαβούν διάφορες κυτταρικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένου και του κυτταρικού θανάτου (Ueda et al., 2002). Ανήκουν σε μια υπεροικογένεια κινασών σερίνης-θρεονίνης που ενεργοποιούνται από εξωκυττάρια ερεθίσματα όπως το οξειδωτικό στρες (Kyosseva, 2004, Torres and Forman, 2003). Τρία διαφορετικά μονοπάτια των MAP κινασών ρυθμίζουν τις ERK, τις JNK και τις p38MAPK. Τα μονοπάτια αυτά ελέγχουν κυτταρικές λειτουργίες όπως η γονιδιακή έκφραση, η μίτωση, η απόπτωση μέσω φωσφορυλίωσης καταλοίπων σερίνης θρεονίνης σε γονίδια στόχους. Το βασικό μοντέλο της λειτουργίας των μονοπατιών MAPK αποτελείται από 3 στάδια με σταδιακή φωσφορυλίωση της MARKKK, ενεργοποίηση και φωσφορυλίωση της MAPKK και ενεργοποίηση και φωσφορυλίωση της MAPK. Άρα αφού τελικά η ενεργοποίηση της MAPK εξαρτάται από την MAPKKK πρέπει να δούμε πως ρυθμίζεται η MAP3K (MAPKKK).

<u>MAPK Pathway Components</u>	
MAPKs	ERK, Fus3, Hog1, JNK, p38
MAPKKs	MEK1, MEK2, SEK1 (MKK4, JNKK)
MAPKKKs	ASK1 (MKKK5), DLK (MUK), MLK3 (SPRK), PAK, TAK1, Tpl2 (Cot)
Proximal Substrates	Grb2, SOS
GTP-binding proteins	Ras, Rac, Cdc42
Mitogens	EGF, Estradiol, Insulin, Thrombin, PDGF, Thyroid Hormone

Σχήμα 13 από Alizay31 2014

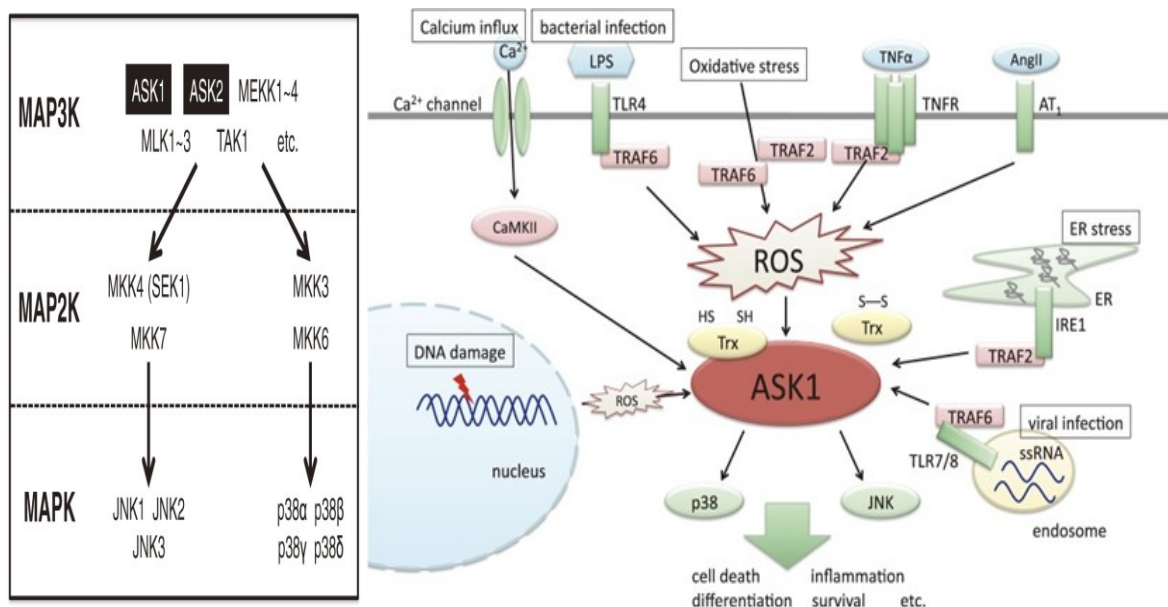
Συστατικά του καταρράκτη των MAPK κινασών από το εξωκυττάρια ερεθίσματα που ενεργοποιούν τις πρωτείνες που συνδέουν το GTP και κατόπιν ενεργοποιούν με τη σειρά τις MAP3K-MAP2K-MAPK

Έχουν βρεθεί 14 διαφορετικές MAPK3 ανάμεσα στις οποίες η ASK1. Η απόπτωση μέσω ASK1 εμπλέκεται στην παθογένεση διαφόρων ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες όπως το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η ισχαιμική καρδιοπάθεια και η νόσος Alzheimer (Widmann et al., 1999, Kyriakis and Avruch, 2001). Πρόσφατα, φάνηκε ότι η ενεργοποίηση της ASK1 μετά από έκθεση σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον επάγει την ενδοθηλιακή γήρανση. Η ASK1 εμπλέκεται στον καρκίνο, το διαβήτη, τις νευροεκφυλιστικές νόσους και τα καρδιαγγειακά νοσήματα.

Φυσιολογικά η ASK1 αναστέλλεται από την αντιοξειδωτική θειορεδοξίνη. Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, οι ενεργές ρίζες οξυγόνου διαρρηγνύουν το δεσμό θειορεδοξίνης-ASK και έτσι ενεργοποιείται η πρωτεΐνη μέσω ολιγομερισμού. Άλλα μονοπάτια ενεργοποίησης της ASK1 είναι το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και η εισροή ιόντων ασβεστίου.

Η ενεργοποίηση της ASK1 ακολούθως προκαλεί ενεργοποίηση της JNK (c-Jun N-terminal kinase) και τις εξαρτώμενες από την p38 πρωτεϊνικές κινάσες.

Στις MAPK ανήκουν οι JNK και οι p38. Το μονοπάτι του, JNK εκJUN, είναι ειδικό για τα σήματα στρες και οδηγεί στην απόπτωση. Η JNK έχουν 3 ισομορφές JNK1, JNK2, JNK3 και κωδικοποιούνται από 3 γονίδια. Ενώ οι JNK1 JNK2 εκφράζονται σε όλα τα κύτταρα οι JNK3 είναι ειδικές για το νευρικό ιστό. Οι μοριακοί στόχοι των JNK περιλαμβάνουν μεταγραφικούς παράγοντες όπως οι AP-1 (κυρίως οι cJun, JunB, ATF2), οι παράγοντες της οικογένειας FOXO αλλά και μη μεταγραφικοί παράγοντες όπως οι Bcl-2 πρωτεΐνες που συνδέονται στενά με τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.



Σχήμα 14 από (Hayakawa et al., 2012)

Η ASK είναι μια MAP3K που ενεργοποιείται από τις ελεύθερες ρίζες και το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί τη MAPK JNK που ευθύνεται για τη φλεγμονή και την p38 που σχετίζεται με τον κυτταρικό θάνατο. Φυσιολογικά η ASK αναστέλλεται από τη θειορεδοξίνη. Όταν όμως η θειορεδοξίνη οξειδωθεί λύεται ο δεσμός τους και η ASK ενεργοποιείται.

Η οικογένεια FOXO είναι μια ομάδα μεταγραφικών παραγόντων της υποομάδας O με τριτοταγή δομή αγκύλης που συνδέονται σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA και αποτελείται από 3 λειτουργικά ενεργά μέλη (FoxO1a, FoxO3a, FoxO4). Οι πρωτεΐνες FoxO είναι εξελικτικά διατηρημένοι μεταγραφικοί παράγοντες γονιδίων που εμπλέκονται στην απόπτωση, το σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου και την επιδιόρθωση του DNA. Αλληλεπιδρούν με μια συγκεκριμένη αλληλουχία του DNA (5'-AAAA(C/T)AAA-3') μορφοποιώντας τη γονιδιακή έκφραση των γονιδίων στόχων. Οδηγούν τα κύτταρα που έχουν εκτεθεί σε στρες σε απόπτωση ρυθμίζοντας τα υπεύθυνα γονίδια όπως το Bim, TRAIL, Fas ligand και το TRADD. Έχει φανεί μάλιστα ότι κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ενεργοποιούνται και καταστέλλονται διαφορετικοί υπότυποι των FOXO σαν απάντηση του πλακούντα στο οξειδωτικό στρες (Kajihara et al., 2006, Tran et al., 2002, Lam et al., 2006).

Όταν φωσφορυλιώνονται οι FoxO από το JNK αθροίζονται στον πυρήνα και αυξάνεται η μεταγραφική τους δραστηριότητα (Essers et al., 2004). Οι πρωτεΐνες FOXO3 δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες και προκαλούν υπερέκφραση του TRADD και συνεπώς ενεργοποίηση της κασπάσης 8 και τέλος απόπτωση του κυττάρου.

Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι παίζουν κατασταλτικό ρόλο σε διάφορους καρκίνους όπως και ότι γενετικές ποικιλομορφίες επιδρούν στη μακροβιότητα του ανθρώπου.

Αντίθετα όταν φωσφορυλιώνονται από πρωτεΐνες, όπως οι Akt/PKB στο μονοπάτι της κινάσης της φωσφοϊνοσιτόλης 3 (PI3K) απενεργοποιούνται και μένουν στο κυτταρόπλασμα.

Συμπερασματικά μετά από ενεργοποίηση από το οξειδωτικό στρες ενεργοποιείται η κινάση ASK-1, οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την p38 και JNK. Η JNK ενεργοποιεί cJUN, FOXO3 που έχουν σαν αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, η ενεργοποιημένη από το οξειδωτικό στρες ASK-1 αναστέλλει την πρωτεΐνη επιβίωσης Akt (που σε φυσιολογικές συνθήκες απενεργοποιεί τους FOXO3).

3)Ras/ERK

Άλλο μονοπάτι MAPK κινασών είναι αυτό του Ras/ERK. Διάφορα μιτογόνα ερεθίσματα όπως η ινσουλίνη (αλλά και αυξητικοί παράγοντες όπως GH, EGF, PDGF) προσλαμβάνονται από μεμβρανικούς υποδοχείς και ενεργοποιούν GTPάσες (ανταλλάσσουν GDP με GTP). Μια τέτοια GTPάση είναι η Ras. Αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί την MAPKKK που ονομάζεται Raf και αυτή ενεργοποιεί την MAPKK MEK. Τελικά η MEK ενεργοποιεί την MAPK, που ονομάζεται ERK (extracellular signal regulated kinase), η οποία φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες και λειτουργεί με αυτόν τον τρόπο σαν διακόπτης θέτοντας σε λειτουργία ή απενεργοποιώντας αντίστοιχα τις πρωτεΐνες αυτές και έτσι ελέγχονται πολλές λειτουργίες του κυττάρου όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση. Προβληματική λειτουργία του μονοπατιού Ras/Raf/ERK έχει βρεθεί σε διάφορους καρκίνους όπως επίσης και σε σχιζοφρένεια, σχιζοειδή και διπολική διαταραχή και ημικρανίες.

Παχυσαρκία metaflammation και αντίσταση στην ινσουλίνη

Η αύξηση της παχυσαρκίας αποτελεί μια σύγχρονη επιδημία με περίπου το 35% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας στις ΗΠΑ να εμφανίζουν BMI>30 (Flegal et al., 2012). Οι παχύσαρκες γυναίκες βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν επιπλοκές τις κυήσεις όπως προεκλαμψία, ΣΔΚ, θρομβοεμβολή και να εμφανίσουν στη μετέπειτα ζωή τους μεταβολικό σύνδρομο (Sebire et al., 2001, Baeten et al., 2001). Συγκεκριμένα, οι παχύσαρκες γυναίκες έχουν 1,8-3,8 μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν ΣΔΚ κατά την εγκυμοσύνη (Kim et al., 2013).

Νεότερα δεδομένα συνδέουν την παχυσαρκία με την φλεγμονή και την ινσουλινοαντίσταση εξηγώντας έτσι αυτό που εμπειρικά είχε περιγραφεί ως μεταβολικό σύνδρομο. Η παχυσαρκία αυξάνει τον όγκο των λιποκυττάρων. Φαίνεται ότι η αυξημένη προσφορά ενέργειας προκαλεί, μέσω μεταβολικών διεργασιών, χαμηλής έντασης φλεγμονή και το φαινόμενο αυτό έχει περιγραφεί ως metaflammation (metabolically triggered inflammation)(Gregor and Hotamisligil, 2011). Η metaflammation διαφέρει από την οξεία προφλεγμονώδη απάντηση και εκλύεται κυρίως σαν απάντηση σε μεταβολίτες και θρεπτικές ουσίες οδηγώντας σε συστηματική αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι κύριες διαφορές είναι ότι :

- Επάγεται κυρίως από υπερβολική κατανάλωση θρεπτικών ουσιών
- Είναι ήπια και χαμηλής έντασης απάντηση
- Διαφοροποιεί το προφίλ των ανοσοκυττάρων επάγοντας ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον σε ιστούς όπως ο λιπώδης, το ήπαρ και το πάγκρεας
- Διατηρείται στο χρόνο από μεταβολικά κύτταρα όπως τα λιποκύτταρα
- Συνδέεται με μείωση του βασικού μεταβολικού ρυθμού

Η σχέση μεταξύ παχυσαρκίας και φλεγμονής είναι πρόδηλη αφού απώλεια σωματικού βάρους έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση των προφλεγμονωδών παραγόντων. Φαίνεται μάλιστα ότι η ίδια η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσει μέσω της φλεγμονής στην αντίσταση στην ινσουλίνη (Iozzo, 2009).

Λιπώδης Ιστός

Κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης το παρααξονικό μεσόδερμα δίνει γένεση στο κορμικό λίπος ενώ η lateral plate του μεσοδέρματος δίνει γένεση στο λίπος των άκρων γεγονός το οποίο αντανακλά τη σχέση μεταξύ της κατανομής του λίπους και του κινδύνου ανάπτυξης μεταβολικής νόσου στην ενήλικη ζωή.

Ο λιπώδης ιστός είναι μέρος του συνδετικού ιστού και αποτελείται από λιπώδη κύτταρα, στρωματικό αγγειακό κλάσμα (μεσεγχυματικά βλάστοκύτταρα, ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα, προλιποκύτταρα, μακροφάγα, Β κ Τ κύτταρα) και ινοβλάστες. Διακρίνεται σε φαιό λιπώδη ιστό (με εκτεταμένη αγγείωση και πολλά μιτοχόνδρια, στα οποία οφείλει το χρώμα του και πολλές μικρές λιποσταγόνες ανά κύτταρο) και λευκό λιπώδη ιστό WFT (μια μεγάλη λιποσταγόνα). Ο λιπώδης ιστός προέρχεται από διαφοροποίηση πρόδρομων μεσεγχυματικών κυττάρων (σημαντική είναι η παρουσία της BMP4 bone morphogenetic protein 4) σε προλιποκύτταρα και από εκεί μέσω έκφρασης ειδικών μεταγραφικών παραγόντων όπως οι: PPAR γ peroxisome proliferator-activated receptors, C/EBP α CCAAT-enhancer binding proteins. Αρχικά πίστευαν ότι το φαιό λίπος είχε σαν κύρια λειτουργία την παραγωγή ενέργειας μέσω θερμογένεσης και το λευκό λίπος ήταν μόνο αποθήκη ενέργειας. Φαίνεται όμως ότι ο λιπώδης ιστός έχει έντονη μεταβολική δραστηριότητα και εμπλέκεται σε διάφορες λειτουργίες όπως:

- 1) αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Σε περιόδους νηστείας γίνεται διάσπαση σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα κατόπιν εισέρχονται στην κυκλοφορία και μέσω οξειδωσης αποδίδουν ενέργεια.
- 2) σύνθεση λιπαρών οξέων
- 3) λιπόλυση μέσω των ενζύμων: ειδική για το λιπώδη ιστό λιπάση των τριγλυκεριδίων, ορμονοευαίσθητη λιπάση και λιπάση των μονογλυκεριδίων. Η λιπόλυση διεγείρεται από τις κατεχολαμίνες, το νατριουρητικό πεπτίδιο, την αυξητική ορμόνη και αναστέλλεται από την ινσουλίνη.
- 4) γλυκόλυση. Τα λιποκύτταρα διαθέτουν ινσουλινοευαίσθητους υποδοχείς GLUT4 μέσω των οποίων εισέρχεται η γλυκόζη στο κύτταρο, μπαίνει στον κύκλο της γλυκόλυσης και γίνεται γλυκερόλη για το σχηματισμό τριγλυκεριδίων.
- 5) ινσουλίνη: μέσω των ελεύθερων λιπαρών οξέων μειώνεται η κάθαρση της ινσουλίνης και μειώνεται η ευαισθησία των ιστών στην ινσουλίνη με αποτέλεσμα την υπερινσουλιναμία
- 6) ηπατική γλυκονεογένεση μέσω ελευθέρων λιπαρών οξέων
- 7) παραγωγή θερμότητας χωρίς τρόμο μέσω της ειδικής για τα φαιά λιποκύτταρα πρωτεΐνης θερμογενίνης (UCP-1 uncoupling protein 1) κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια. Ενεργοποίηση της θερμογενίνης γίνεται μέσω της νοραδρεναλίνης, των λιπαρών οξέων, ρετινοϊκού οξέος, τριϊωδοθυρονίνης
- 8) παραγωγή λιποκυτταροκίνων: λεπτίνη, αδιπονεκτίνη (βλ. παρακάτω)
- 9) ρύθμιση αγγειακών παραγόντων, ρύθμιση αρτηριακής πίεσης: VEGF, πρωτεΐνες συστήματος ρενίνης-αγγιοτενσίνης
- 10) ρύθμιση πρωτεϊνών εναλλακτικής οδού συμπληρώματος: παράγοντας D (adipsin/ adipocyte trypsin), ASP (acylation stimulating protein) (Η ASP αυξάνεται στην παχυσαρκία και έχει και ενδοκρινή/παρακρινή αναβολικό ρόλο ευνοώντας την αποθήκευση των τριγλυκεριδίων και αναστέλλοντας τη λιπόλυση, ενώ εμπλέκεται και στο μεταβολισμό της γλυκόζης και την έκκριση ινσουλίνης)
- 11) ρύθμιση πρωτεϊνών συστήματος πήξης-ινωδόλυσης: PAI/αναστολέας ινωδόλυσης. Αυξάνεται στην παχυσαρκία και προδιαθέτει σε θρομβώσεις.
- 12) παραγωγή/ρύθμιση φλεγμονωδών παραγόντων: IL1, IL6, IL10, TGFβ, TNFα
- 13) μεταβολισμός των οστών: παραγωγή οστεοπροτεγερίνης
- 14) μόνωση και στήριξη εσωτερικών οργάνων

Ο ρόλος του PPAR στο μεταβολικό σύνδρομο

Οι PPAR είναι μεταγραφικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την ωρίμανση των λιποκυττάρων και την έκφραση πρωτεϊνών που παίρνουν μέρος στο μεταβολισμό και την αποθήκευση των λιπιδίων. Στο λιπώδη ιστό, η χρόνια φλεγμονή έχει σαν αποτέλεσμα τη μεταβολή στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται σε φλεγμονώδη απάντηση αλλά και τη φυσική ανοσία.

Οι PPARs συνδέονται με την κυτταρική μεμβράνη και έχουν σαν κύριο έργο τη ρύθμιση της αποθήκευσης και του μεταβολισμού των λιπαρών οξέων μέσω σύνδεσης με ενδογενείς ή συνθετικούς συνδέτες-ligand ρυθμίζοντας διεργασίες του ενδιάμεσου μεταβολισμού. Προς το παρόν περιγράφονται τρεις ισομορφές του παράγοντα PPARα, PPARβ/δ, PPARγ.

Στο ήπαρ η οξειδωση των λιπαρών οξέων ρυθμίζεται μέσω έκφρασης του PPARα γονιδίου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ο μεταβολισμός των λιπών στο ήπαρ αποτελείται κυρίως από τη β-

οξειδωση στα μιτοχόνδρια. Ωστόσο, σε συνθήκες υπερπροσφοράς λιπαρών οξέων που υπερβαίνει τη δυνατότητα των μιτοχονδρίων να χειριστούν το φορτίο, τα λιπαρά οξέα μεταβολίζονται μέσω ω-οξειδωσης σε δικαρβονικά οξέα τα οποία στη συνέχεια διασπώνται στα υπεροξειδοσώματα. Η αύξηση των λιπαρών οξέων προκαλεί αύξηση της έκφρασης του PPARα και συνεπώς το μεταβολισμό των λιπιδίων στα μικροσώματα (ω-οξειδωση), στα μιτοχόνδρια και τα υπεροξειδοσώματα. Σε περίπτωση κορεσμού των μιτοχονδρίων ή ανεπάρκειας τους, αναλαμβάνουν τα μικροσώματα και μέσω ω-οξειδωσης παράγουν δικαρβονικά οξέα. Όταν αυξάνεται η συγκέντρωση των δικαρβονικών οξέων, αναστέλλονται έτη περαιτέρω τα μονοπάτια οξειδωσης και έτσι απελευθερώνονται τα μη-μεταβολισμέ να λιπαρά οξέα και τα παράγωγά τους στο αίμα, αυξάνοντας τη συγκέντρωσή τους (Fuentes et al., 2013).

PPARγ

Οι PPARγ αν και εκφράζονται σε πολλούς ιστούς δρουν κατ' εξοχήν στα λιποκύτταρα προάγοντας τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των λιποκυττάρων καθώς και την αποθήκευση των λιπαρών οξέων. Δρουν επίσης και ως μόρια ρυθμιστές της φλεγμονής και της ανοσίας. Ποντίκια knock-out για PPARγ εμφανίζουν μείωση του αριθμού των λιποκυττάρων και ηπατική αντοχή στην ινσουλίνη. Η ενεργοποίηση του PPARγ αυξάνει την έκφραση και τη μετάβαση των υποδοχέων γλυκόζης στην επιφάνεια των κυττάρων GLUT1 και GLUT4. Επίσης αυξάνει την ηπατική και μυϊκή πρόσληψη γλυκόζης, άρα συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Οι PPARγ άρα αυξάνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειώνουν την έκφραση του TNFα και αυξάνουν την έκφραση της αδιπονεκτίνης. Το PPAR-g κατέχει κεντρικό ρόλο στη φυσιολογική αγγειακή λειτουργία (Beyer et al 2008) και τη διαφοροποίηση την καταγωγή των λαβυρινθωδών τροφοβλαστών (Schaiff et al 2000) τα οποία μαζί με το εμβρυικό ενδοθήλιο σχηματίζουν την επιφάνεια ανταλλαγής με το μητρικό αίμα, βασικής σημασίας για την καλή πρόοδο της εγκυμοσύνης. (Parast et al 2009). Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι βλάβη στην έκφραση τη λειτουργία του PPAR-g συνεισφέρουν κατά ένα μέρος στην παθοφυσιολογία των παθολογικών κυήσεων (McCarthy et al., 2013).

Το PPAR-g είναι κύριος ρυθμιστής τόσο του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων λόγω της εμπλοκής του στη ρύθμιση της λιπογένεσης και των διακυτταρικών σημάτων της ινσουλίνης που τελικά ελέγχουν την ομοιόσταση της γλυκόζης (Tontonoz et al 1994). Στο ΣΔΚ, η έκφραση του PPAR-g παραβλάπεται οδηγώντας σε αλλαγές στην ευαισθησία στην ινσουλίνη (Arck et al 2010). Μια πρόσφατη μελέτη των Heude et al υποθέτει ότι πολυμορφισμοί του PPARg, Pro12Ala and C1431T, μπορεί να έχουν ένα ρόλο στην επιδεκτικότητα ανάπτυξης ΣΔ (Heude et al 2011).

PPARα

Πυρηνικοί υποδοχείς που ρυθμίζουν την έκφραση πρωτεϊνών και ενζύμων που μετέχουν στη φλεγμονή και το μεταβολισμό. Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση των υποδοχέων εμποδίζει τη φλεγμονή στο λιπώδη ιστό και η ταυτόχρονη ενεργοποίηση των PPARα και PPARγ ενισχύει τη δράση της αδιπονεκτίνης, αυξάνοντας τους υποδοχείς αδιπονεκτίνης γεγονός που βοηθάει στην καταπολέμηση της αντοχής στην ινσουλίνη που προκαλείται από την παχυσαρκία. Οι PPARα μειώνουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως TNFα μέσω των NF-kB, AP1 μονοπατιών. Επίσης αυξάνουν την έκφραση της αδιπονεκτίνης, έχει δράση αντιδιαβητική, αντιφλεγμονώδη, αντι-αθηρωσκληρωτική και προστατευτική κατά της δυσλιπιδαιμίας. Μειώνουν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα και αυξάνουν την HDL-c μέσω αύξησης της απολιποπρωτεΐνης I και II.

PPARβ/δ

Πρόκειται για υποδοχείς με έκφραση σε όλους τους ιστούς και δράση λιγότερο μελετημένη από τις άλλες υποομάδες. Ποντίκια knockout για PPARβ/δ εμφανίζουν φαινότυπο παχυσαρκίας όταν τρέφονται με δίαιτα αυξημένων λιπαρών οξέων και είναι πιο ευαίσθητα σε χημική ηπατοτοξικότητα από τις “άγριες” μορφές. Φαίνεται ότι οι PPARβ/δ προσφέρουν κάποιας μορφής προστασία του ηπατοκυττάρου από τη βλάβη ενώ η δράση αυτή επάγεται από τους ενδοκυττάρια μόρια όπως 4-HNEhydroxynonenal (που παράγεται από την υπεροξειδωση λιπαρών οξέων). Επίσης φαίνεται ότι εμπλέκεται και στη φλεγμονή μειώνοντας την έκφραση χημειοattractants MCP1, MCP3, MCP5, IL1, INFγ, μειώνοντας τη διεπιθηλιακή μετανάστευση των μακροφάγων κα (Barish et al., 2008).

Αδιποκυτταροκίνες

Πρόκειται για πρωτεΐνες που παράγονται από τον λιπώδη ιστό και έχουν δράση παρακρινή και ενδοκρινή. (λεπτίνη, αδιπονεκτίνη, adipocyte fatty acid-binding protein (AFABP), retinol binding protein 4 (RBP4), ρεζιστίνη, βισφατίνη, βασπίνη, χεμερίνη, απελίνη, ομεντίνη, NAMPT, SERPINA12, προγκραντουλίνη, FGF-21, TIMP1, LCN2, AZGP1)

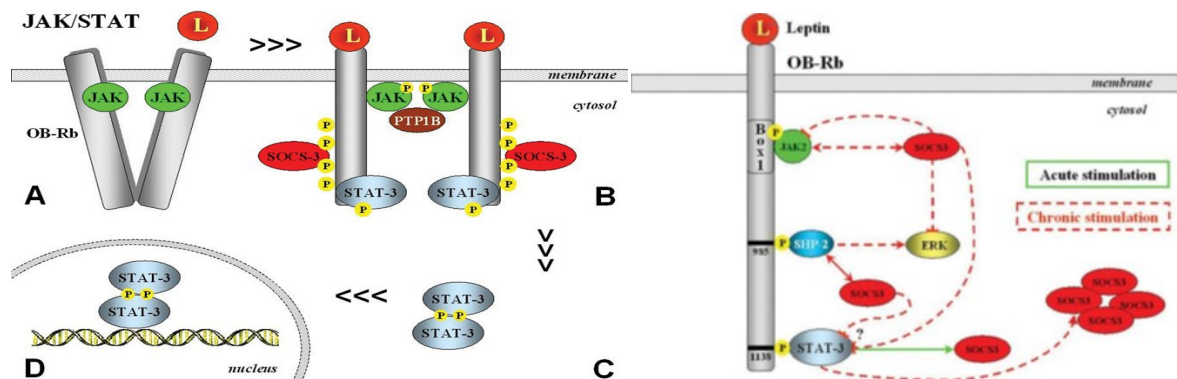
Αδιποκυτταροκίνη	Δράση
Λεπτίνη	Εγκέφαλο: μείωση όρεξης πάγκρεας: αύξηση ινσουλίνης ήπαρ: παραγωγή γλυκόζης μύες: κατανάλωση γλυκόζης αύξηση γονιμότητας οστά: remodeling και προαγωγή επιμετάλλωσης άμυνα: προφλεγμονώδης δράση στην παχυσαρκία αυξημένη λεπτίνη και αντίσταση στη λεπτίνη
Αδιπονεκτίνη	Αύξηση ευαισθησίας στην ινσουλίνη αντιαθηρογόνο αντιφλεγμονώδης Μύες: αύξηση πρόσληψης λιπαρών οξέων, αύξηση β οξειδωσης, αύξηση πρόσληψης γλυκόζης Ήπαρ: αύξηση γλυκόλυσης, μείωση γλυκονεογένεσης, μείωση σύνθεσης λιπαρών οξέων
Ρεζιστίνη	Ενεργειακή ομοιόσταση
Βισφατίνη	Ινσουλινομιμητική δράση
Απελίνη	Αγγειογενετικός παράγοντας
Γκρελίνη	Αύξηση της όρεξης λιπογένεση αύξηση λιπώδους ιστού
Βασπίνη	Ινσουλινοευαίσθητη δράση

Λεπτίνη

Πρόκειται για μια πεπτική ορμόνη MB 16kD που συγκαταλέγεται στις αδιποκυτταροκίνες. Παράγεται κυρίως από το λιπώδη ιστό, σε αναλογία με τη λιπώδη μάζα, με βασική λειτουργία την ειδοποίηση του υποθαλάμου για τον κορεσμό σε ενέργεια. Η ορμόνη κωδικοποιείται από το γονίδιο Ob στο χρωμόσωμα 7 και ήταν η πρώτη αδιποκυτταροκίνη που ανακαλύφθηκε το 1995. Παράγεται, όπως αναφέρθηκε κυρίως από τα λιπώδη κύτταρα, αλλά και σε μικρότερες ποσότητες από τον πλακούντα, το γαστρικό βλεννογόνο, το μυελό των οστών, το επιθήλιο του μαστικού αδένου, τους σκελετικούς μύες, την υπόφυση, τον υποθάλαμο και τα οστά. Κυκλοφορεί σε ελεύθερη και δεσμευμένη σε πρωτεΐνες μορφή, η αναλογία των οποίων καθορίζεται από τη φάση κορεσμού του οργανισμού (νήστεως-μεταγευματικά) και καθορίζει τη βιοδιαθεσιμότητα και ίσως την αντίσταση στη λεπτίνη.

Η δράση της μεσολαβείται από ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται σχεδόν σε κάθε ομάδα κυττάρων εξ ου και η πλειοτροπική δράση της. Οι υποδοχείς της λεπτίνης Ob-R εμφανίζουν δομική ομοιότητα με την οικογένεια των υποδοχέων κυτταροκινών class I. Πρόκειται για διαμεμβρανικούς υποδοχείς με χαρακτηριστικές περιοχές καταλοίπων κυστεΐνης και περιοχές fibronectin III. Οι υποδοχείς χωρίζονται σε διάφορες ισομορφές (OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd, OB-Re, OB-Rf). Μετά τη σύνδεση με τον υποδοχέα το σύμπλοκο υποδοχέα-λεπτίνης ενδοκυττάρωνεται μέσω οχημάτων επενδεδυμένων με κλαθρίνη και σχηματίζει ενδοσώματα. Κατόπιν οι υποδοχείς είτε θα αποδομηθούν, είτε θα ανακυκλωθούν και θα ξαναγυρίσουν στην κυτταρική μεμβράνη. Σε φυσιολογικές συνθήκες μόνο το 5- 25% των υποδοχέων βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου ενώ οι υπόλοιποι βρίσκονται στα ενδοσώματα. Ανάλογα με την ισομορφή του υποδοχέα επικρατεί διαφορετικός ρυθμός ανακύκλωσης και είναι και αυτή μια πιθανή εξήγηση της αντίστασης στην λεπτίνη.

Το κύριο ενδοκυττάριο μονοπάτι που ενεργοποιεί η λεπτίνη είναι το JAK/STAT (Janus Kinases/Signal Transducers and Activators of transcription)



Σχήμα 15 από Gema Frühbeck 2006 Μηχανισμός ενεργοποίησης λεπτίνης μέσω του μονοπατιού JAK/STAT (φωσφορυλίωση σε θέση τυροσίνης, ομοδιμερή, αποχωρισμός από υποδοχέα και μετακίνηση στον πυρήνα)

Σχήμα 16 Προτεινόμενος μηχανισμός αντίστασης στην ινσουλίνη: μετά από παρατεταμένη διέγερση των υποδοχέων από τη λεπτίνη, αναστολή της JAK2 και του ERK μέσω των SOCS3.

Οι υποδοχείς OB-R είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς κυτταροκινών, με μια περιοχή πλούσια σε προλίνη (box1) που είναι απαραίτητο για τη διαδραστικότητα και την ενεργοποίηση του JAK. Οι

υποδοχείς OB-Rb έχουν, εκτός από το BOX1 και μια άλλη περιοχή box2 που χρησιμεύουν για τη σύνδεση με STAT. Με τη σύνδεση 1:1 λεπτίνης -υποδοχέα σχηματίζονται τετραμερή σύμπλοκα λεπτίνης-υποδοχέα. Τα δύο μονομερή φωσφορυλιώνονται σε ένα κατάλοιπο τυροσίνης από μια κινάση Janus/JAK. Τα κατάλοιπα (P)-Tyr αποτελούν θέσεις πρόσδεσης για πρωτεΐνες που είναι αναμεταδότες σήματος και ενεργοποιητές μεταγραφής (signal transducers and activators of transcription STAT). Στη συνέχεια, οι προσδεμένες πρωτεΐνες φωσφορυλιώνονται και αυτές από τη JAK, διμερίζονται, ενεργοποιούνται και μετακινούνται στον πυρήνα, όπου λειτουργούν σαν μεταγραφικοί παράγοντες γονιδίων όπως η προοπιομελανοκορτίνη (ανορεξιογόνος ουσία που δρα στον υποθάλαμο). Ανάλογα με τα κατάλοιπα τυροσίνης που φωσφορυλιώνονται ενεργοποιούνται άλλα μονοπάτια

Tyr985->ενεργοποίηση Ras/Raf/ERK(extracellular signal regulated kinase)

Tyr1077ήTyr138->σύνδεση STAT5

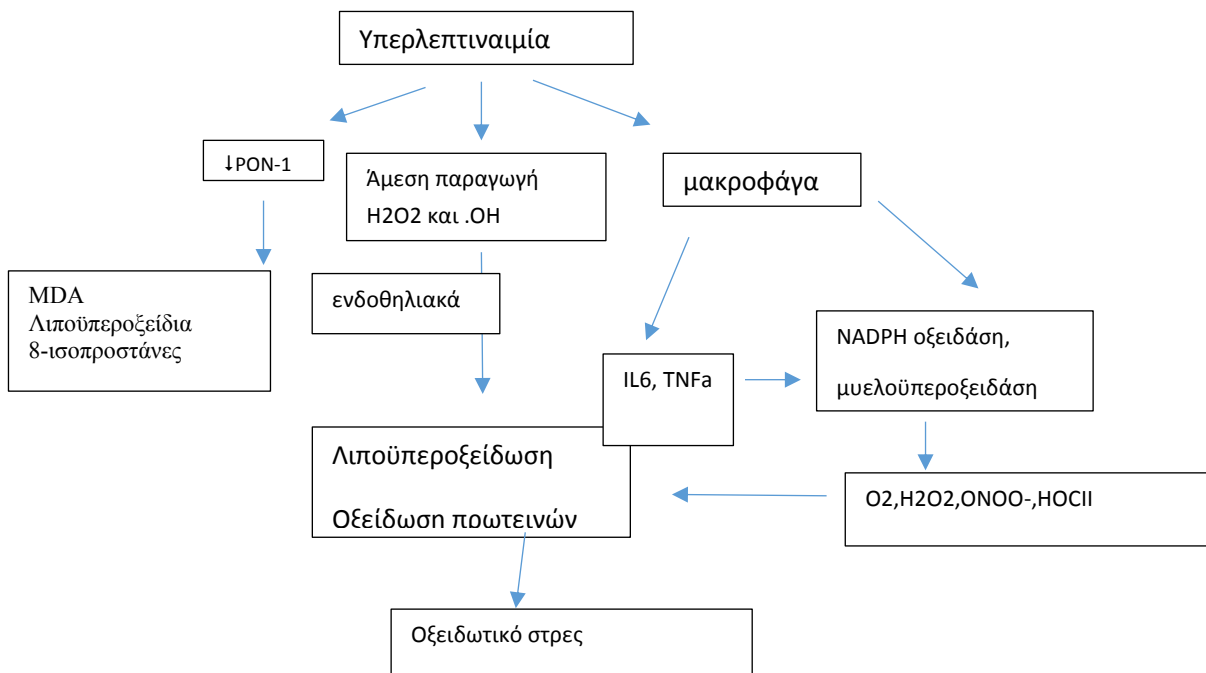
Tyr1138μόνο ->STAT1, STAT3

Ανάμεσα στα μεταγραφικά προϊόντα των STAT είναι και οι πρωτεΐνες SOCS (suppressor of cytokine signaling) που χρησιμεύουν σαν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της δράσης της λεπτίνης εμποδίζοντας τη φωσφορυλίωση του υποδοχέα. Πιθανολογείται μάλιστα η εμπλοκή της υπερέκκρισης της SOCS3 στην ανοχή στη λεπτίνη σε υπερλεπτιναιμία.

Άλλος μηχανισμός δράσης της λεπτίνης είναι μέσω του καταρράκτη MAPK (mitogen -activated protein kinase). Είτε με πρώτο βήμα την ενεργοποίηση JAK είτε ανεξάρτητα από αυτήν φωσφορυλιώνονται περιοχές SH2 ενεργοποιείται το Ras/Raf μονοπάτι με τελικά προϊόντα μεταγραφής c-fos και erg-1 που εμπλέκονται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση.

Επίσης η λεπτίνη ενεργοποιεί την εξαρτώμενη από το AMP πρωτεϊνική κινάση που ρυθμίζει πολλές πτυχές του μεταβολισμού.

Η λεπτίνη για τη δράση της χρησιμοποιεί πολλά στοιχεία του μονοπατιού της ινσουλίνης στρατολογώντας κατάλοιπα IRS και τον καταρράκτη MAPK, ενώ ενεργοποιεί την πρωτεΐνη Akt συμβάλλοντας στην κυτταρική αύξηση και επιβίωση του κυττάρου.



Σχήμα 17 Αντοχή στη λεπτίνη- Υπερλεπτιναιμία :Στην παχυσαρκία παρατηρείται αύξηση της λεπτίνης αλλά και αντοχή στη δράση της λεπτίνης. (Αυτό είναι και ο λόγος που χορήγηση λεπτίνης δεν είχε τα επιθυμητά αποτελέσματα σε παχύσαρκους ασθενείς). Η κυκλοφορούσα λεπτίνη είναι δείκτης της αντοχής στη λεπτίνη ενώ η αντοχή στη λεπτίνη είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αντίσταση στην ινσουλίνη και καρδιαγγειακά συμβάματα.

Συνδεδετική πρωτεΐνη της ρετινόλης 4 (RBP4-Retinol Binding Protein 4)

Πρόκειται για πρωτεΐνη προερχόμενη από το λιπώδη ιστό και αποτελεί την πρωτεΐνη μεταφοράς της ρετινόλης (βιταμίνης Α) από το ήπαρ στους περιφερικούς ιστούς. Μάλλον δρα αντίθετα στην ευαισθησία στην ινσουλίνη και αυξάνεται στην κύηση.

Ομεντίνη παράγεται σε σπλαγγικό λιπώδη ιστό και ενισχύει την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Μειώνεται στην παχυσαρκία, την ινσουλινοαντοχή και το ΣΔ ΙΙ. Είναι αντιφλεγμονώδης παράγοντας, αντιαθηρογόνος και αντιδιαβητικός παράγοντας και η έλλειψή του συσχετίζεται με αθηρογόνο πλάκα και αρτηριακή σκληρότητα και προτείνεται ως πιθανός δείκτης αλλά και θεραπευτικός παράγοντας σε διαβήτη και μεταβολικό σύνδρομο.

Φετουΐνη Α είναι γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ. Πρόκειται για αναστολέα της φωσφορυλίωσης της τυροσινικής κινάσης του υποδοχέα της ινσουλίνης. Ο βιολογικός της ρόλος είναι ο οστικός μετασχηματισμός και ο μεταβολισμός του ασβεστίου. Έχει βρεθεί αυξημένη σε ΣΔ ΙΙ (αυξημένη συγκέντρωση σε ινσουλινοαντοχή) και αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο συμπεριλαμβανομένων και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων . Επίσης συσχετίζεται με γνωστές αδιποκίνες που εμπλέκονται στην ινσουλινοαντίσταση και την αθηρογένεση.

Νεοφατίνη 1 εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό και τα β κύτταρα του παγκρέατος. Εμπλέκεται στο μεταβολισμό της γλυκόζης και την αντίσταση στην ινσουλίνη.

Οστεοπροτεγερίνη: μεταβολισμός ασβεστίου και δείκτης βλάβης ενδοθηλίου

Φλεγμονή-low grade inflammation

TNF α

- Πρόκειται για μια κυτταροκίνη της οξείας φάσης της φλεγμονής που εκκρίνεται κυρίως από τα μακροφάγα αλλά και από πολλά άλλα κύτταρα, μεταξύ των οποίων και τα λιποκύτταρα. Ο TNF α ασκεί τη δράση του μέσω δύο υποδοχέων: TNFR1 και TNFR2. Μετά τη σύνδεση του μορίου, ο υποδοχέας σχηματίζει τριμερή και υφίσταται μεταβολές που αποσυνδέουν μια ανασταλτική πρωτεΐνη και ευνοούν τη σύνδεση της πρωτεΐνης TRADD-ενδιάμεσης πρωτεΐνης που επιτρέπει τη σύνδεση περαιτέρω μορίων. Η πρωτεΐνη TRADD (tumor necrosis factor receptor type1 – associated death domain protein) είναι μια δομή θανάτου που αλληλεπιδρά με τον TNF μέσω του TRAF2 και μεσολαβεί στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Ο TNF δρα κυρίως μέσω τριών κύριων ενδοκυττάρων μονοπατιών.
- IKK/NF κ B: ενεργοποιείται η IKK ισχυρή κινάση η οποία στη συνέχεια φωσφορυλιώνει την ανασταλτική πρωτεΐνη του NF κ B οπότε αυτός ελευθερώνεται κ μεταβαίνει στον πυρήνα να ολοκληρώσει τις μεταγραφικές του δραστηριότητες (φλεγμονή και αντιαποπτωτικά γονίδια)

- MAPK/JNK μονοπάτι: ενεργοποίηση της οικογένειας των MAPκινασών – συμπεριλαμβανομένης και της ASK1 –ενεργοποιούν με τη σειρά τους το μονοπάτι JNK (ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων που εμπλέκονται στην κυτταρική διαφοροποίηση και είναι γενικά προ-αποπτωτικοί)
- μονοπάτι των κασπασών που ενεργοποιεί την απόπτωση-κυτταρικό θάνατο

TNFα και ανοχή στην ινσουλίνη

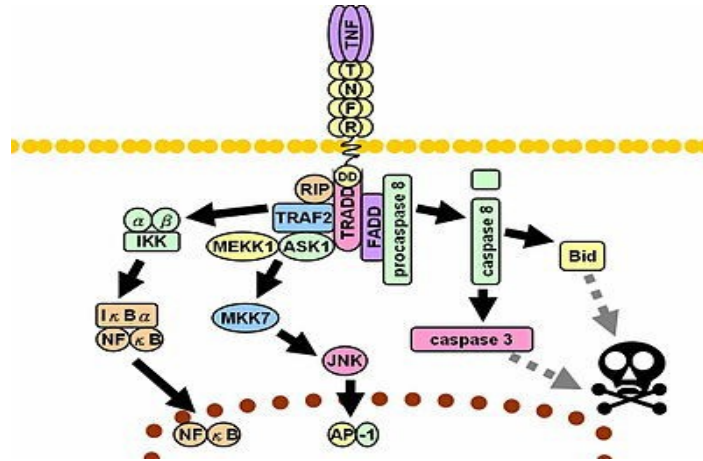
- Συγκεκριμένα ο TNFα προάγει την ανοχή στην ινσουλίνη μέσω φωσφορυλίωσης των καταλοίπων σερίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης, μπλοκάροντας έτσι τη μεταγωγή του ενδοκυττάριου σήματος. Σε αυτή τη φωσφορυλίωση λαμβάνουν μέρος οι πρωτεΐνες MAPK και ο αναστολέας της kBκινάσης.
- Παράλληλα, ο TNFα προάγει την υπερέκφραση του PTP1B μορίου που σε φυσιολογικές συνθήκες δρα σαν αρνητικός παλίνδρομος ρυθμιστής της ινσουλίνης.
- Καταστέλλει την έκφραση του PPAR-γ και της C/EBPα (CCAAT/enhancer binding protein) που είναι απαραίτητες για την έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης GLUT4 ενώ παράλληλα μειώνεται και η παραγωγή αδιπονεκτίνης
- Αλλάζει τη σύσταση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, προάγοντας την παραγωγή κεραμιδίων.

TNFα και μεταβολισμός λιπών

από κλινικές μελέτες σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία και σε θεραπεία με anti-TNF φαίνεται να υπάρχει θετική συσχέτιση των επιπέδων TNF και VLDL, τριγλυκεριδίων και ολικής χοληστερόλης και αρνητική συσχέτιση TNF και HDL.

- Μειώνει την πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων και προάγει την ηπατική de novo λιπογένεση
- προάγει τη λιπόλυση
- μειώνει τη δραστηριότητα ενζύμων που σχετίζονται με το μεταβολισμό των λιπών
- ρυθμίζει το μεταβολισμό της χοληστερόλης
- ρυθμίζει την παραγωγή άλλων αδιποκυτταροκινών

Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών NF-kB και JNK αυξάνεται η δράση του TNFα. Ο δεσμός μεταξύ TNFα, παχυσαρκίας και αντίστασης στην ινσουλίνη αναγνωρίστηκε όταν βρέθηκε σε παχύσαρκους αύξηση του TNF στο λιπώδη ιστό και όταν ανταγωνιστές του TNFα προκάλεσαν αύξηση στην ευαισθησία στην ινσουλίνη (Hotamisligil et al., 1995). Μείωση του σωματικού βάρους προκαλεί μείωση στον TNFα και αναστροφή της αντίστασης στην ινσουλίνη.(Dandona et al., 1998)



Σχήμα 18 από Subclavian 2010

Ο TNFα μετά τη σύνδεση του στον υποδοχέα σχηματίζει σύμπλοκο με του παράγοντες TRADD, TRAF, FADD και αυτό με τη σειρά του ενεργοποιεί : τον NF-κB

Με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση γονιδίων φλεγμονής, το μονοπάτι MAPK-JNK, και την ενεργοποίηση των κασπασών με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο.

IL6

Ο λιπώδης ιστός παράγει το 30% της προφλεγμονώδους αυτής κυτταροκίνης ενώ το σπλαχνικό λίπος εκκρίνει αναλογικά μεγαλύτερα ποσά από το υποδόριο λίπος ενισχύοντας την άποψη ότι το σπλαγχνικό λίπος συνδέεται στενά με τη φλεγμονή. Η IL6 συνδέεται επίσης με :

- αντίσταση στην ινσουλίνη
- αυξημένο λιπώδη ιστό
- αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων ελευθέρων λιπαρών οξέων (που συνάδουν με τη λιπολυτική δράση της κυτταροκίνης)
- ενδοκυττάρια μεταφορά σήματος της ινσουλίνης στα ηπατοκύτταρα, σκελετικούς μύες και λιπώδη ιστό
- ενώ αναστέλλει την παραγωγή αδιπονεκτίνης

Ο ρόλος των λιπαρών οξέων στη φλεγμονή

Η ροή των λιπαρών οξέων από τα λιποκύτταρα στους σκελετικούς μύες και άλλους ιστούς μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα

- το σχηματισμό ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης
- την ενδομυοκυτταρική συνάθροιση τριγλυκεριδίων
- και την παραγωγή τοξικών μεταβολιτών (λιπο-ακετυλο συνένζυμο A, διακυλογλυκερόλη και κεραμίδια) και μεταβολικών ενδιάμεσων που αντανάκλουν την οξειδωτική βλάβη τα οποία εμπλέκονται στον ενδοκυττάριο καταρράκτη της ινσουλίνης.

Επίσης η οξείδωση των λιπών αυξάνεται συστηματικά και τοπικά πχ στο μυοκάρδιο και τους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ σε κατάσταση ινσουλινοαντίστασης και στεάτωσης.

Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν το ρόλο του κυτταρικού οξειδωτικού στρες στην κυτταρική δυσλειτουργία που προκαλείται από τα λιπαρά οξέα. Η τοπική παραγωγή των ενεργών ριζών οξυγόνου μέσα στο λιπώδη ιστό πιθανώς ενεργοποιεί τη λιποτοξικότητα και την αντοχή στην ινσουλίνη απευθείας στη θέση απελευθέρωσης των λιπαρών οξέων. Η οξειδωτική βλάβη επιτείνεται από την υπεροξείδωση των λιποαποθηκών και με τη σειρά της βλάπτει τη

μιτοχονδριακή λειτουργία και την ινσουλινοευαισθησία και προκαλεί φλεγμονή στα όργανα στόχους.

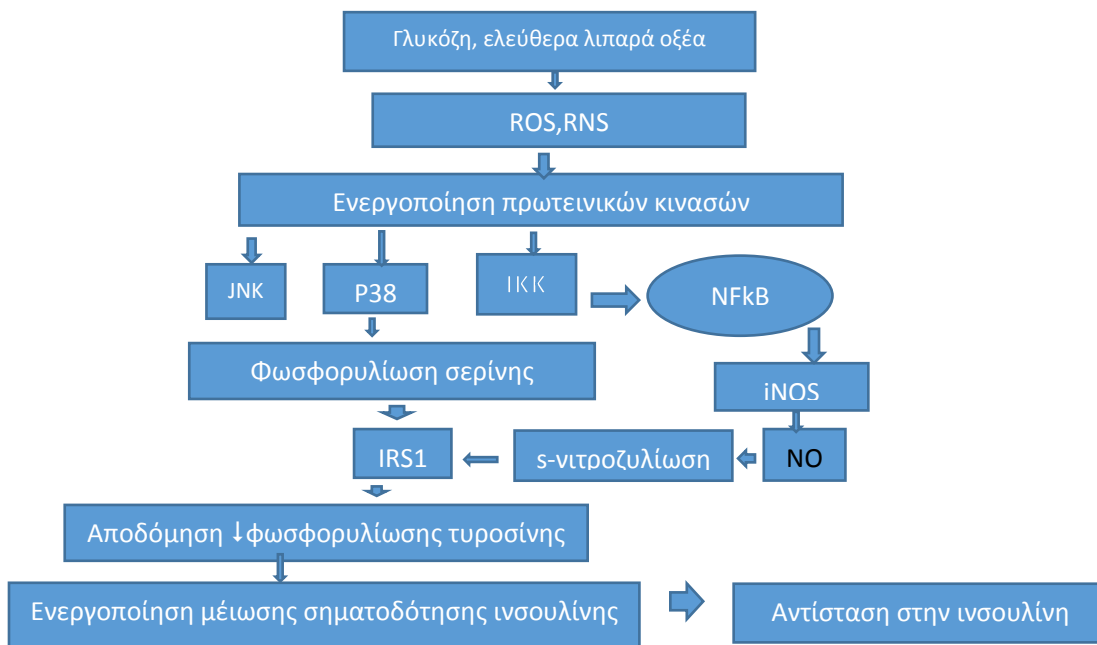
Μονοπάτι του κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από το NO

Υπερβολική παραγωγή του NO οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο μέσω βλάβης του DNA και στρες του ενδοπλασματικού δικτύου. Η βλάβη του DNA προκαλεί κυτταρικό θάνατο μέσω απόπτωσης που ενεργοποιείται από την p53 ή από το μονοπάτι του PARP που έχει σαν αποτέλεσμα την εξάντληση των αποθεμάτων σε NAD⁺ και ATP. Αν και τα υψηλά επίπεδα του NO προκαλούν καταστροφή του DNA, μικρότερα επίπεδα NO προκαλούν στρες του ενδοπλασματικού δικτύου χωρίς καταστροφή του DNA, σε κάποια κύτταρα με αναπτυγμένο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπως τα παγκρεατικά κύτταρα. Το NO προκαλεί εξάντληση των ενδοπλασματικών ιόντων Ca που έχει σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο και οδηγεί σε απόπτωση μέσω επαγωγής του CHOP και ενεργοποίησης του JNK και της κασπάσης 12. (βλέπε παρακάτω) (Oyadomari and Mori, 2004)

Αντίσταση στην ινσουλίνη

Στην παχυσαρκία οι θρεπτικές ουσίες προκαλούν διέγερση των kinase Janus kinase JNK και των Ικβ κινάσων IKK οδηγώντας στη φωσφορυλίωση σε θέση σερίνης του IRS και αναστολή του καταρράκτη του υποδοχέα της ινσουλίνης οδηγώντας έτσι στην αντίσταση στην ινσουλίνη.

Μελέτες με knockout ποντίκια έδειξαν ότι η ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη αποτράπηκε σε ποντίκια με απώλεια του IKK2 και της JNK1, ενώ απώλεια του καταστολέα του σήματος κυτταροκινών SOCS1 ή του PPAR γ προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη. (Cildir et al., 2013) (Osborn and Olefsky, 2012).



Σχήμα 19 Η αυξημένη προσφορά θρεπτικών ουσιών (γλυκόζης και ελευθέρων λιπαρών οξέων) προκαλούν αύξηση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αζώτου. Αυτές με τη σειρά τους ενεργοποιούν μια σειρά από ενδοκυττάριας κινάσες (JNK, p38, IKK) . Οι κινάσες αυτές προκαλούν φωσφορυλίωση σε θέση σερίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης και έτσι αυξάνουν την αποδόμηση του αλλά και εμποδίζουν τη φωσφορυλίωση του σε θέση τυροσίνης που είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του. Συνεπώς παραβλάπεται το ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης και είναι αυτό που εκφράζεται ως αντίσταση στην ινσουλίνη. Παράλληλα ενεργοποιείται και το μονοπάτι του NFκΒ που αυξάνοντας τη σύνθεση του NO προκαλεί έτη περαιτέρω νιτροζυλίωση του υποδοχέα της ινσουλίνης συνεισφέροντας στην ινσουλινοαντίσταση.

Φαίνεται ότι στην παχυσαρκία υπάρχει διήθηση του λιπώδη ιστού από μακροφάγα (μέσω monocyte chemoattractant protein 1 MCP1) και μια στροφή των μακροφάγων -λεμφοκυττάρων να παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (αντί των αντιφλεγμονωδών) η οποία διαμεσολαβείται από τη δράση της νορεπινεφρίνης/επινεφρίνης, του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, της κορτιζόλης, και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα.

Η διέγερση νορεπινεφρίνης έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του NF-κΒ κυρίως σε μακροφάγα, σπλαγχνικό λίπος και ενδοθήλιο και ακόλουθη διέγερση των TLR με έκκριση πρωτεϊνών οξείας φάσης ιδίως στο λιπώδη ιστό και τα αγγεία (οπού και κυρίως είναι εμφανείς οι αλλοιώσεις του μεταβολικού συνδρόμου). Ο λιπώδης ιστός είναι επιρρεπής στη φλεγμονή λόγω της πλούσιας αγγείωσης και νεύρωσης που διαθέτει καθώς και λόγω της σύνθεσης σε αυτόν προφλεγμονωδών ουσιών όπως IL-6, TNF-α, λεπτίνης, ρεζιστίνης, αδιπονεκτίνης και πρωτεϊνών οξείας φάσης.

Η κορτιζόλη, ο IL-6, η 11β υδροξυστεροειδική δευδρογεναση1 και η ενεργειακή υπερφόρτωση ευνοούν τη συγκέντρωση λίπους ενώ η δράση του συμπαθητικού, ο TNF, η λεπτίνη ευνοούν τη λιπόλυση. Οι κατεχολαμίνες και οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες αναστέλλουν τη λιποπρωτεϊνική λιπάση και άρα τη σύνθεση του λίπους. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα επίσης μέσω της δράσης τους στον εγκέφαλο διεγείρουν την έκκριση κορτικοτροπίνης και έτσι ευνοούν το στρες.

Με βάση καινούργια δεδομένα η υπερεπάρκεια τροφικών παραγόντων όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μέσω πρόσδεσης σε θέσεις αναγνώρισης προτύπων (χρήσιμες στην άμυνα εναντίων μικροοργανισμών) ενεργοποιούν τη φλεγμονή και κατόπιν προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη. Έτσι:

-υποομάδες των Toll-like-receptors (διαμεμβρανικές πρωτεΐνες αναγνώρισης προτύπων) έχουν συγγένεια με το λιπίδιο A των λιποπολυσακχαριδίων και τα κορεσμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Από μελέτες φαίνεται ότι οι TLR2 και TLR4 έχουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη αντοχής στην ινσουλίνη στην υπερφαγία.

-Οι Nod-like receptors NLR (κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες αναγνώρισης προτύπων) έχουν συγγένεια με πρότυπα αναγνώρισης μικροβίων αλλά και δομών που προκύπτουν από την καταστροφή του ίδιου του οργανισμού (PAMP, DAMP). Μια υποομάδα αυτών των υποδοχέων όταν ενεργοποιηθεί από αυτά τα προϊόντα μεταβολισμού σχηματίζει το φλεγμονόσωμα (inflammasome). Πρόκειται για ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλεγμα που σχετίζεται με τη φλεγμονή και φαίνεται να έχει κίριο ρόλο στη φλεγμονή που σχετίζεται με την παχυσαρκία αλλά και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Συγκεκριμένα, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, το κεραμίδιο και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ενεργοποιούν το φλεγμονόσωμα το οποίο με τη σειρά του προκαλεί αρνητική ρύθμιση των υποδοχέων ινσουλίνης αλλά και ενεργοποίηση των προφλεγμονωδών

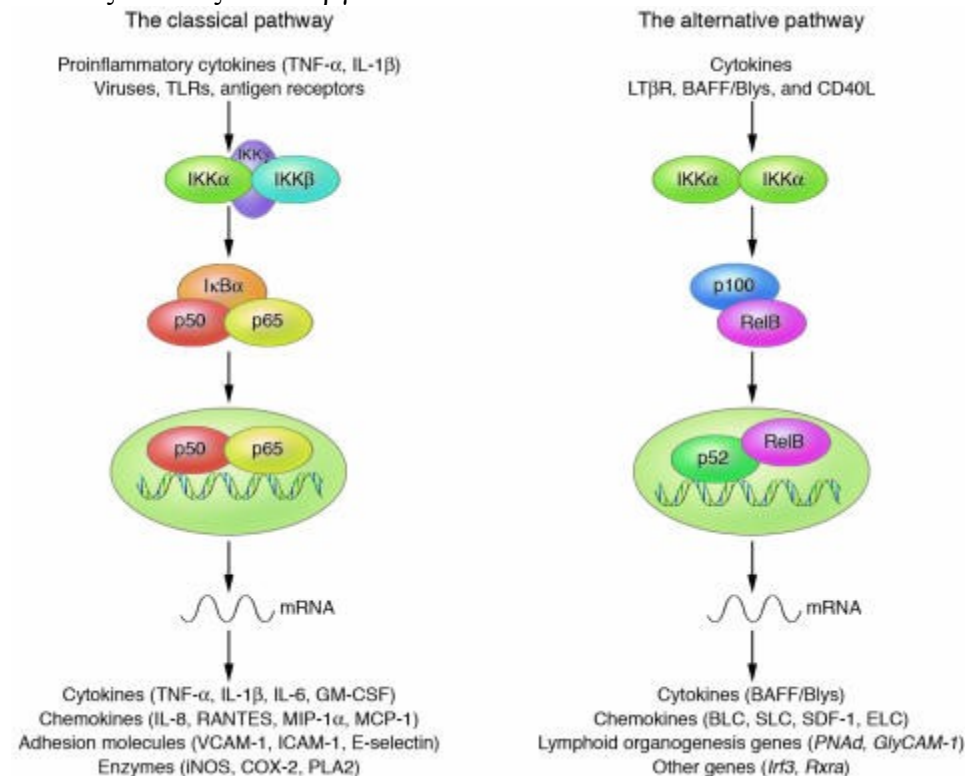
κυτοκινών IL1b,IL18 που ενεργοποιούν τον κυτταρικό θάνατο από φλεγμονή (pyroptosis) (βλέπε παρακάτω). Όμοια ο IL1b προκαλεί απενεργοποίηση της κινάσης τυροσίνης (και άρα της δράσης της ινσουλίνης) και κυτταρικό θάνατο στα β-κύτταρα του παγκρέατος.

-Οι υποδοχείς των ελευθέρων λιπαρών οξέων είναι G πρωτεΐνες που μετά την ενεργοποίησή τους διαταράσσουν την ενδοκυττάρια ισορροπία του ασβεστίου και συνεπώς διαταράσσουν και την έκκριση ινσουλίνης μετά από διέγερση με γλυκόζη στα β κύτταρα του παγκρέατος.

Τρία είναι τα κύρια ενδοκυττάρια μονοπάτια μέσω των οποίων τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (και άρα η υπερπροσφορά ενέργειας) προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη.

Α)Το μονοπάτι IKK/NF-κB

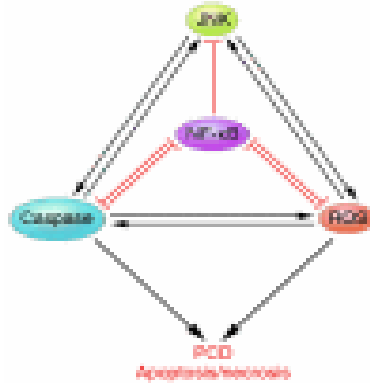
Το μονοπάτι IκBκινάσης/Nf-κB (IKK/NF-κB) έχει κεντρικό ρόλο σε μια σειρά φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών. Κύρια λειτουργία του Nf-κB είναι η υποβοήθηση της επιβίωσης του κυττάρου μέσω διέγερσης γονιδίων στόχων τα προϊόντα των οποίων είναι ανασταλτές της αποπτωτικής διαδικασίας. Ο NF-κB εμποδίζει την προγραμματισμένη νέκρωση επίσης μέσω διέγερσης γονιδίων που κωδικοποιούν αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες. Η οικογένεια των NF-κB αποτελείται από 5 μέλη. Όλα έχουν μια κοινή περιοχή η οποία μεσολαβεί στη σύνδεση με το DNA, το διμερισμό και την αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη IκB. Οι IκB δρουν ανασταλτικά στον NF-κB αφού συνδέονται μαζί του και κρατάνε τα διμερή του NFκB στο κυτταρόπλασμα. Υπάρχουν δύο δρόμοι ενεργοποίησης του NF-κB: ο κανονικός και ο μη κανονικός, ανάλογα με το ποιες κινάσες τον ενεργοποιούν.



Σχήμα 20 από (Luo et al., 2005): ανάλογα με ποιες υπομονάδες χρειάζονται για την ενεργοποίηση του ο NF-κB ενεργοποιεί διαφορετικά γονίδια στο κανονικό και το μη –κανονικό μονοπάτι.

Διάφορα ερεθίσματα όπως κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αλλά και λιποπολυσακχαρίτες μικροβίων προκαλούν ενεργοποίηση του IKK το οποίο με τη σειρά του

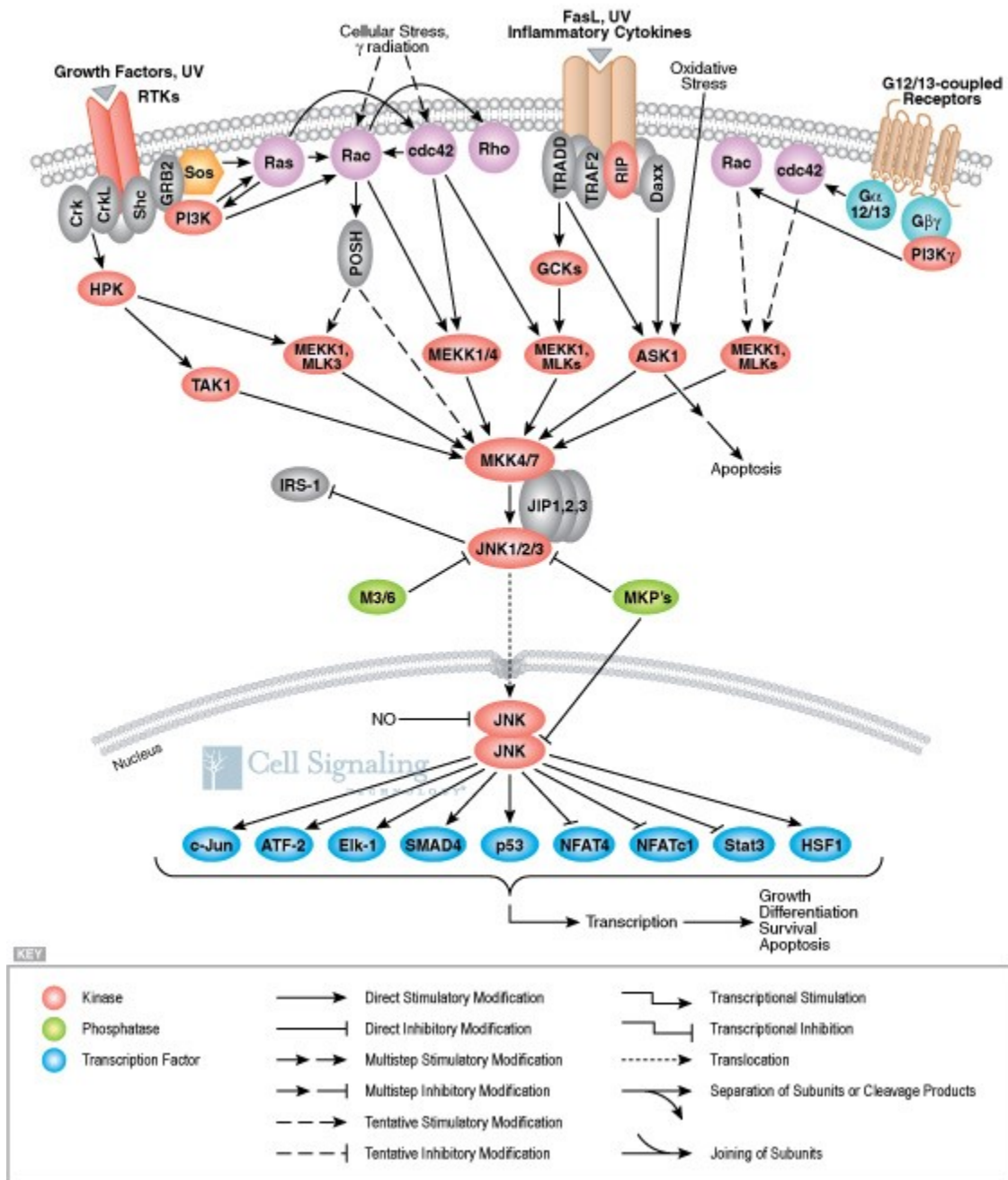
φωσφορυλιώνει τον αναστολέα του NF-κΒ, προκαλώντας την αποδόμηση του, ώστε να απελευθερωθεί ο NF-κΒ και να μεταφερθεί στον πυρήνα του κυττάρου και εκεί να ενεργοποιήσει τη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή (όπως κυταροκίνες, αυξητικούς παράγοντες, χημειοκίνες, μόρια προσκόλλησης, προ- και αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες). Επίσης ο IKK αναστέλλει την ενδοκυττάρια μεταφορά σήματος από τον υποδοχέα ινσουλίνης συμβάλλοντας στην ινσουλινοαντίσταση.



Σχήμα 21 από (Luo et al., 2005)

Στο παραπάνω σχήμα φαίνεται ο έλεγχος της κυτταρικής επιβίωσης ή του θανάτου από την αλληλεπίδραση μεταξύ NF-κΒ και JNK. Υπάρχει θετική παλίνδρομη ρύθμιση μεταξύ ελευθέρων ριζών και κασπασών, κασπασών και JNK και μεταξύ JNK και ελευθέρων ριζών. Αντίθετα υπάρχει αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση μεταξύ NF-κΒ και κασπασών και NF-κΒ και ελευθέρων ριζών. Ο NF-κΒ λειτουργεί βοηθητικά στην επιβίωση του κυττάρου σαν μεταγραφικός παράγοντας που επάγει την έκφραση αντιαποπτωτικών γονιδίων όπως αυτών των μελών της Bcl-2 οικογένειας και αναστολέων των κασπασών και αντιοξειδωτικών γονιδίων. Η ενεργοποίηση του NF-κΒ έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της παρατεταμένης ενεργοποίησης του JNK (κυρίως μέσω αναστολής της συγκέντρωσης ελευθέρων ριζών). Αναστολή του NF-κΒ ευοδώνει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο που μπορεί να είναι αποπτωτικός ή νεκρωτικός (Luo et al., 2005).

Το μονοπάτι NF-κΒ ρυθμίζει την παραγωγή των προφλεγμονωδών κυταροκινών, την στρατολόγηση των λευκοκυττάρων και την επιβίωση του κυττάρου και είναι κυρίως μέτοχος στην φλεγμονώδη απάντηση. Ωστόσο οι αντιαποπτωτικές λειτουργίες του, μπορεί να δράσουν ενάντια στη φλεγμονή, όπως στην περίπτωση της επιβίωσης των επιθηλιακών κυττάρων και της ακεραιότητας του βλεννογόνιου φραγμού, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί τη φλεγμονώδη απάντηση μέσω συνεχούς ενεργοποίησης των λευκοκυττάρων. Αντίθετα, ο NF-κΒ ευνοεί τη λευκοκυτταρική απόπτωση σε συγκεκριμένο πλαίσιο, γεγονός που συμβάλλει στην αναστολή της φλεγμονής. Έτσι είναι φανερό ότι ο NF-κΒ μετέχει στη ρύθμιση της φλεγμονής μέσω διαφόρων μηχανισμών επηρεάζοντας το μέγεθος και τη διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης (Lawrence, 2009).



Σχήμα 22 Αναπαραγωγή μετά από ευγενική παραχώρηση της Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com).

Β) Η απόκριση μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών/στρες του ενδοπλασματικού δικτύου

Το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι ένα οργανίδιο του κυττάρου που βασικό σκοπό έχει την τροποποίηση των πρωτεϊνών, μέρος της οποίας είναι και η ορθή αναδίπλωσή τους στο χώρο, και την περαιτέρω διακίνησή τους, καθώς επίσης και τη σύνθεση λιπιδίων και στερολών. Για την επιτέλεση του σκοπού αυτού είναι πλούσιο σε ασβέστιο-εξαρτώμενες πρωτεΐνες συνοδούς-και ως εκ τούτου πλούσιο σε ασβέστιο- όπως η GRP78/BIP ανήκει στις πρωτεΐνες του θερμικού σοκ), η

GRP94 και η καλρετικουλίνη. Σε περίπτωση κάποιας κυτταρικής διαταραχής που προκαλείται από γεγονότα όπως η στέρηση γλυκόζης, διαταραχές αερίων αίματος, μειωμένο ενδοκυττάριο ασβέστιο αλλά και μόλυνση του κυττάρου από ιό, προκαλείται και διαταραχή της λειτουργίας του ενδοπλασματικού δικτύου άρα κ της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών. Προκαλείται έτσι συσσώρευση μη ορθώς αναδιπλωμένων πρωτεϊνών και η κατάσταση αυτή ονομάζεται στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (Kaufman, 1999) και η προσπάθεια του κυττάρου να αντιρροπήσει τη βλάβη απόκριση των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών γίνεται με τέσσερις τρόπους.

- 1) Η πρώτη απάντηση είναι η μείωση της μεταγραφής των πρωτεϊνών ώστε να μειωθεί το φορτίο της σύνθεσης πρωτεϊνών και άρα η περαιτέρω συσσώρευση νέων μη αναδιπλούμενων πρωτεϊνών. (Harding et al., 2002) Στη λειτουργία αυτή συμβάλει η πρωτεΐνη PERK (proteinkinase R-endoplasmic reticulum kinase) που φωσφορυλιώνει την υπομονάδα του eukaryotic translation initiating factor 2 καθιστώντας τον ανενεργό και έτσι προκαλείται καθολική καταστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης.
- 2) Η δεύτερη απάντηση είναι η ευόδωση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες – χαπερόνες του ενδοπλασματικού δικτύου όπως η BiP/GRP78 και η GRP94, ένζυμα, συμπεριλαμβανόμενης της δισουλφιδικής ισομεράσης των πρωτεϊνών (PDI) και της πεπτιδύλ-προλυλ-ισομεράσης και δομικών στοιχείων του ενδοπλασματικού δικτύου συμπεριλαμβανόμενης της ενδοπλασματικής ασβέστιο-ΑΤΡάσης 2 (SERCA2) ώστε να αυξηθεί η συνολική δυνατότητα αναδίπλωσης πρωτεϊνών. Παράλληλα εκφράζονται και γονίδια υπεύθυνα για ανάρρωση της μεταγραφής, μεταφορά αμινοξέων, βιοσύνθεση γλουταθειόνης και προστασία έναντι του οξειδωτικού στρες. (Kozutsumi et al., 1988, Caspersen et al., 2000, Kopito, 1997). Σε μεταγενέστερο στάδιο, συστατικά του ER-associated degradation (ERAD), όπως το ενδοπλασματικού δικτύου ER degradation-enhancing α -mannosidase-like protein (EDEP) αυξάνουν την έκφρασή του ώστε να αποδομήσουν και ώστε να εξαφανιστούν οι λάθος αναδιπλωμένες πρωτεΐνες, μέσω του συστήματος ουμπικιτίνης-πρωτεοσώματος.
- 3) Η τρίτη αφορά την ενεργοποίηση του NF- κ B μεταγραφικού παράγοντα που μεσολαβεί ανοσολογικές και αντιαποπτωτικές απαντήσεις. Το μονοπάτι αυτό ονομάζεται απάντηση υπερφόρτωσης του ενδοπλασματικού δικτύου (ER overload response EOR) γιατί διεγείρεται από τη συσσώρευση μεμβρανικών πρωτεϊνών στο ΕΔ. Πιστεύεται ότι το στρες προκαλεί απελευθέρωση ασβεστίου από το ΕΔ και επακόλουθη παραγωγή αντιδραστικών μορφών οξυγόνου που ενεργοποιούν το NF- κ B μέσω αποδόμησης του I κ B. Η φωσφορυλίωση του eIF2 α είναι απαραίτητη για την επαγωγή του NF- κ B (Jiang et al., 2003).
- 4) Η τέταρτη απάντηση είναι η απόπτωση που συμβαίνει όταν οι λειτουργίες του ΕΔ έχουν υποστεί τέτοια βλάβη και οι προσπάθειες ομοίωσης έχουν αποτύχει ώστε ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος προστατεύει τον οργανισμό, εξουδετερώνοντας τα κατεστραμμένα κύτταρα (Oyadomari et al., 2002).

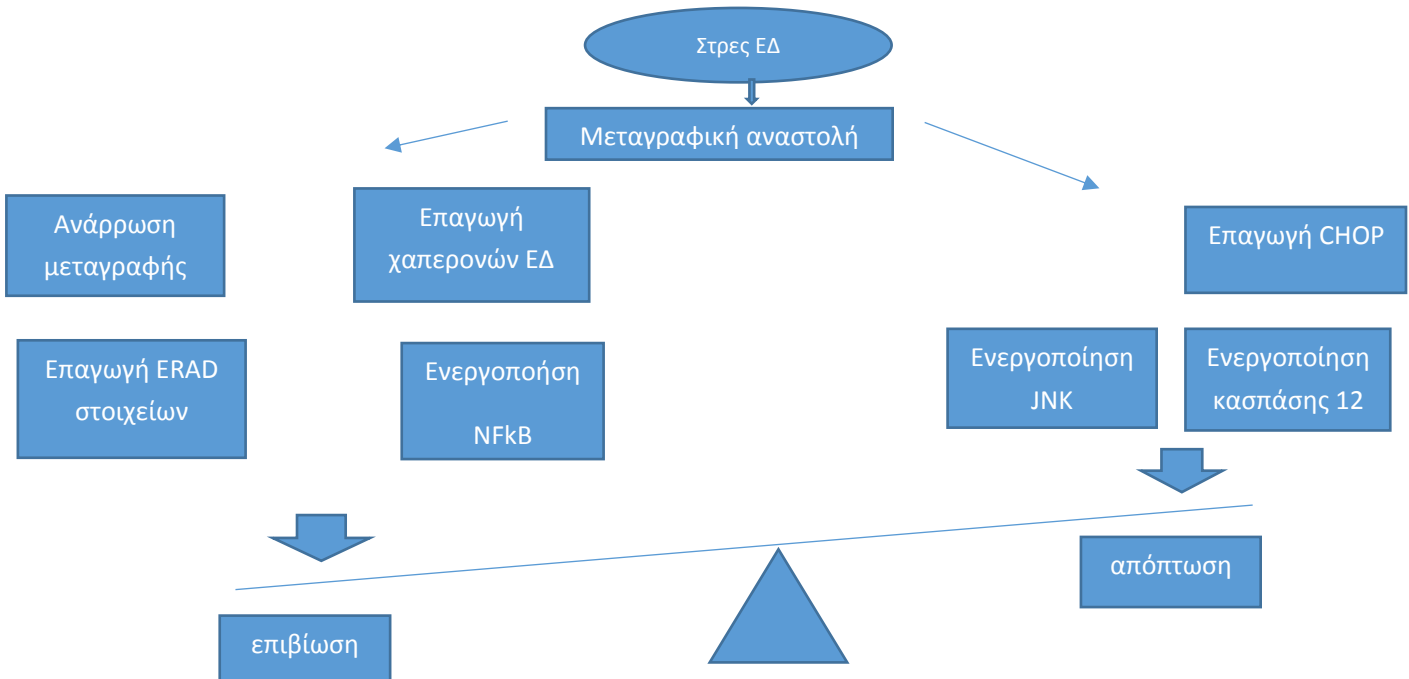
Για τις λειτουργίες αυτές είναι υπεύθυνες πρωτεΐνες-υποδοχείς όπως παγκρεατική κινάση ενδοπλασματικού δικτύου (PERK), ο ενεργοποιημένος μεταγραφικός παράγοντας 6 (ATF6), το inositol-requiring enzyme 1 που σε φυσιολογικές συνθήκες μένουν ανενεργές μέσω της GRP78/RIB. Σε λιπώδες ήπαρ και σκελετικούς μύες παχύσαρκων ατόμων η αύξηση των προσφερόμενων ελευθέρων λιπαρών οξέων προκαλεί ερέθισμα στρες ενδοπλασματικού δικτύου.

Η απόπτωση κατά το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου συνδέεται με τρία κύρια μονοπάτια

1. ενεργοποίηση μεταγραφής του παράγοντα CHOP (C/EBP homologous protein)
2. ενεργοποίηση του JNK μονοπατιού (cJUN NH₂-terminal-kinase) μέσω του συμπλόκου Ire1-TNF και ASK1

3. κασπάση12

Τελικά και τα τρία αυτά μονοπάτια οδηγούν στην ενεργοποίηση της κασπάσης 3 και την απόπτωση του κυττάρου.



Σχήμα 23 Προτεινόμενο σχήμα απάντησης στο ER stress.

Σε μια αρχική φάση, λαμβάνει χώρα μείωση της μεταγραφής ώστε να μειωθεί το φορτίο του ενδοπλασματικού δικτύου.

Σε επόμενο στάδιο, ενεργοποιούνται διάφορες ομάδες γονιδίων σαν μια μακροχρόνια προσαρμογή στο στρες του ενδοπλασματικού δικτύου. Η σύνδεση των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το στρες ξεφεύγουν από τη γενική καταστολή της μεταγραφής. Για να ανταπεξέλθουν στο φόρτο των μη αναδιπλούμενων πρωτεϊνών, επάγονται χαπερόνες του ενδοπλασματικού δικτύου αρχικά για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών και αν και αυτή η απάντηση είναι ανεπαρκής τα συστατικά του ERAD ενεργοποιούνται ώστε να εξαφανίσουν τις μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες. Παράλληλα, επάγονται διάφορα γονίδια που εμπλέκονται στην ανακατασκευή του ενδοπλασματικού δικτύου, όπως αυτά που ενέχονται στην είσοδο αμινοξέων, τη βιοσύνθεση της γλουταθειόνης και την προστασία από την οξείδωση. Ταυτόχρονα, ενεργοποιείται ο NFκΒ για να ενεργοποιήσει την ανοσολογική και αντι-αποπτωτική απάντηση.

Τέλος σε σοβαρό στρες του ενδοπλασματικού δικτύου που επιτείνεται ενεργοποιούνται τα μονοπάτια της απόπτωσης, όπως το CHOP, η JNK κίνηση και η κασπάση-12.

Η απόφαση ανάμεσα στην επιβίωση ή την απόπτωση εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών σημάτων(Oyadomari and Mori, 2004)

Γ)Το φλεγμονόσωμα

Τα φλεγμονοσώματα είναι οδηγές πλατφόρμες σηματοδότησης που αναγνωρίζουν παθογόνους μικροοργανισμούς αλλά και στείρα ερεθίσματα και ενεργοποιούν τις έντονα προφλεγμονώδεις

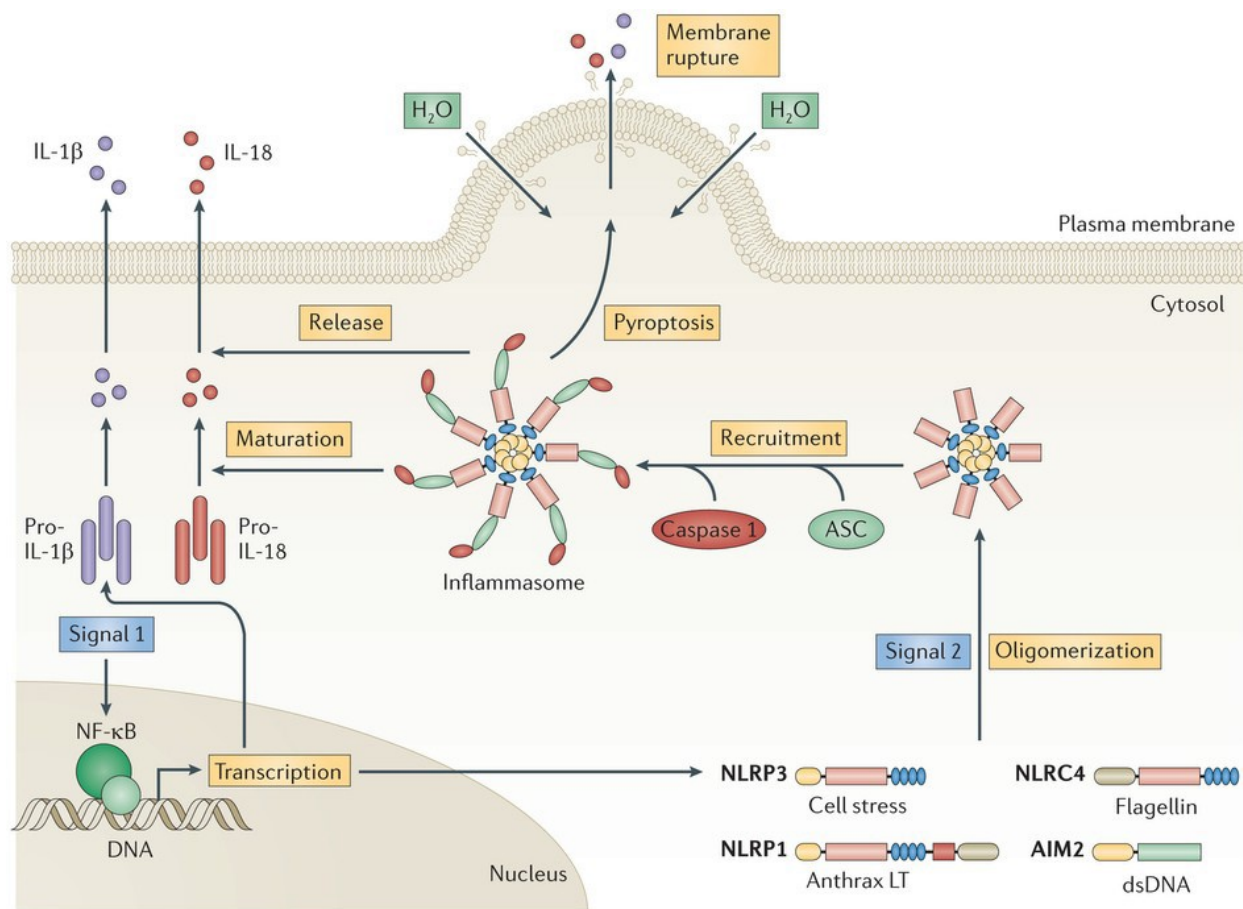
κυτταροκίνες IL1 και IL18. Οι υποδοχείς της φυσικής άμυνας ελέγχουν τον εξωκυττάριο και τον ενδοκυττάριο χώρο για σημάδια λοίμωξης, βλάβης ή άλλα κυτταρικά ερεθίσματα. Τα φλεγμονοσώματα είναι ένα σύνολο πολυμερικών συμπλεγμάτων πρωτεϊνών που αποτελούνται από:

- Το μόριο- αισθητήρα του φλεγμονοσώματος, συνήθως ένας Nod-like-receptor
- Ένα συνδετικό μόριο, η πρωτεΐνη ASC που συνδέεται με τον αισθητήρα συνήθως μέσω μιας περιοχής πυρίνης
- Την κασπάση 1

Τα φλεγμονοσώματα που έχουν περιγραφεί έως τώρα περιέχουν ένα μόριο NOD-like receptor (NLR) ως αισθητήρα, (NLRP1,NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12, NLRC4).Οι NLRP έχουν συνήθως τριμερή δομή: Ένα αμινοτελικό άκρο με death-fold domain, ένα κεντρικό τμήμα και ένα καρβοξυτελικό πλούσιο σε λευκίνη τμήμα. Το κεντρικό τμήμα έχει δραστικότητα ATPάσης και έχει ρόλο στον ολιγομερισμό των πρωτεϊνών ενώ το άκρο των λευκινών έχει ρυθμιστικό ρόλο και εμπλέκεται στη σύνδεση με τα μόρια σύνδεσης. Το αμινοτελικό άκρο αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη ASC ή την κασπάση 1.

Η πρωτεΐνη ASC έχει δύο περιοχές με death fold domain : μια περιοχή πυρίνης και μια περιοχή στρατολόγησης και ενεργοποίησης της κασπάσης(CARD). Η ASC αλληλεπιδρά με το υπόλοιπο φλεγμονόσωμα μέσω της περιοχής πυρίνης. Η αλληλεπίδραση αυτή ενεργοποιεί τη συνάθροιση των ASC σε πολυμερή. Μέσω της περιοχής CARD, η ASC έρχεται σε στενή επαφή με την προκασπάση 1 και προκαλεί το σχηματισμό ετεροτετραμερών κασπάσης 1 και την ενεργοποίησή της. Η ενεργή πλέον κασπάση 1, προκαλεί πρωτεόλυση σε διάφορες πρωτεΐνες ενεργοποιώντας τις, όπως η προ IL1 και προ IL18 (μη κανονικό μονοπάτι έκκρισης IL1, IL18).

Έτσι αν ένα μόριο που δρα σαν ερέθισμα πχ τα ελεύθερα λιπαρά οξέα ή οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, διεγείρουν τους υποδοχείς TLR (Toll like receptor), ενεργοποιείται ο NF-kB και αυτός με τη σειρά του διεγείρει τον NLR και ενεργοποιεί τη μεταγραφή των προκυτταροκινών proIL1b και proIL18. Οι NLR ολιγομερίζονται, συνδέονται με την ASC και την κασπάση 1, σχηματίζοντας το φλεγμονόσωμα και οι προ IL1,IL18 πρωτεολύονται σχηματίζοντας τις IL1και IL18. Συνεπώς οι ισχυρές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL1, IL18 ρυθμίζονται σε δύο σημεία ελέγχου: στο επίπεδο της μεταγραφής από τον NFkB και στο επίπεδο της ωρίμανσης και έκκρισης από την κασπάση1. Η ενεργοποίηση των κυτταροκινών της οικογένειας IL1β οδηγεί στη στρατολόγηση και ενεργοποίηση άλλων ανοσοκυττάρων, όπως τα ουδετερόφιλα στο σημείο της φλεγμονής (Latz et al.).



Nature Reviews | Neuroscience

Σχήμα 24 (Walsh et al., 2014)

Σε απάντηση σε προσβολές από παθογόνα ή από τον ίδιο τον ξενιστή, ενεργοποιείται ένας αριθμός από ενδοκυττάρια υποδοχείς –όπως NOD-, LRR- και υποδοχείς που περιλαμβάνουν περιοχές πυρίνης (NLRP1), NLRP3, NLRP5, κασπάση, υποδοχείς που περιλαμβάνουν περιοχές στρατολόγησης CARD- NLRC4 και AIM2 –οι οποίοι είναι ικανοί να σχηματίσουν φλεγμονοσώματα. Το πρωτογενές ερέθισμα (σήμα 1) δρα μέσω του NFκB μονοπατιού, γεγονός το οποίο συνήθως προηγείται του σχηματισμού του συμπλέγματος του φλεγμονοσώματος αυξάνοντας την έκφραση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών pro-IL-1b και NLRP3.

Αφού γίνει η σύνδεση στον υποδοχέα ή η ενζυματική ενεργοποίηση μέσα στο κυτταρόπλασμα (σήμα 2), οι κυτταροπλασματικοί υποδοχείς ολιγομερίζονται ώστε να σχηματίσουν μια βάση για την κασπάση 1. Για κάποια συμπλέγματα, η στρατολόγηση της κασπάσης 1 προϋποθέτει μια επιπρόσθετη συνδετική πρωτεΐνη, την ASC (πρωτεΐνη που σχετίζεται με την απόπτωση και συμπεριλαμβάνει περιοχή στρατολόγησης CARD). Η κασπάση 1, μέσω της δραστηριότητας πρωτεάσης ρυθμίζει την ωρίμανση και την απελευθέρωση των IL-1b IL-18 αλλά και πυροδοτεί τον πυροπρωτικό κυτταρικό θάνατο. Για κάποια συμπλέγματα φλεγμονοσώματος, είναι γνωστό το άμεσο ερέθισμα, ενώ για κάποια άλλα (όπως το NLRP3), η ενεργοποίησή του έχει συσχετιστεί με μια πλειάδα φυσιολογικών ερεθισμάτων, συμπεριλαμβανομένων της εισροής ιόντων, των ενεργών ριζών οξυγόνου, της μιτοχondριακής δυσλειτουργίας, τη ρήξη του ενδοσώματος, dsDNA, double-stranded DNA και της θανάσιμης τοξίνης (Walsh et al., 2014).

Φαίνεται ότι στο ΣΔΠ υπάρχει ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3 στα μυελοειδή κύτταρα ενώ θεραπεία με αντιδιαβητικά τύπου μετφορμίνης τη μετριάζουν (Lee et al., 2013)(Black, 2006)(Oliver et al., 2010)(Esser et al., 2014).



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ-ΥΛΙΚΟ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι καταγραφή των νεότερων δεδομένων για την παθοφυσιολογία του σακχαρώδη διαβήτη κύησης (ΣΔΚ) και την επίδρασή του στα έμβρυα τόσο όσον αφορά στις άμεσες επιπλοκές του στην έκβαση της παρούσας κύησης, όσο και στις απώτερες επιδράσεις του στην μετέπειτα εξέλιξη του εμβρύου σε ενήλικο οργανισμό αλλά και πιθανές επιδράσεις στην επόμενη γενιά. Μεγαλύτερη έμφαση δίδεται στις απώτερες επιδράσεις οι οποίες συσχετίζονται με μοριακούς μηχανισμούς και βιοχημικά μονοπάτια με την επίδραση στου οξειδωτικού στρες στο αναπτυσσόμενο έμβρυο.

Για το σκοπό αυτό γίνεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας μέχρι της παρούσης (Ιούλιος 2016) σε βάσεις δεδομένων επιστημονικών εργασιών PubMed, Google Scholar, Medline, Research Gate. Στην αναζήτηση χρησιμοποιήθηκαν οι λέξεις κλειδιά : gestational diabetes mellitus, offspring, placenta, oxidative stress, epigenetics, ER stress.

Από την ανασκόπηση προέκυψαν 390 βιβλιογραφικές αναφορές (372 ξενόγλωσσες, 18 ελληνικές) και 26 συγγράμματα (15 ξενόγλωσσα, 11 ελληνικά).

Σακχαρώδης Διαβήτης

Στο σύνολο των διαβητικών ασθενών περίπου το 10% πάσχει από ΣΔ τύπου I – ινσουλινοεξαρτώμενο IDDM και το 90% από ΣΔ II- μη ινσουλινοεξαρτώμενο NIDDM.

Στο ΣΔ τύπου II υπάρχει ανεπάρκεια του παγκρέατος στην έκκριση ινσουλίνης (μετά από διέγερση με γλυκόζη δεν παρατηρείται η πρώτη φάση της έκκρισης ινσουλίνης) και αντοχή των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης.

Με τον όρο ΣΔ κύησης εννοούμε μια διαταραχή στην ομοιόσταση της γλυκόζης σε εγκύους χωρίς προϋπάρχοντα ΣΔ (τύπου I ή τύπου II) και εμφανίζεται σε συχνότητα 3-6% και σε ειδικούς πληθυσμούς 12-15%, ενώ υπάρχει η πρόβλεψη ότι το 2030 θα φτάσει το 30%. Πρόκειται για αδυναμία των παγκρεατικών κυττάρων να υπερπαραγάγουν ινσουλίνη ώστε να ανταπεξέλθουν στη φυσιολογική αντίσταση στην ινσουλίνη που παρουσιάζεται στην κύηση -που είναι πιο εκσεσημασμένη στις παχύσαρκες γυναίκες.

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου I

Η βασική βλάβη είναι η έλλειψη έκκρισης ινσουλίνης λόγω εξάντλησης/καταστροφής των β παγκρεατικών κυττάρων. Η παθογένεια θεωρείται αυτοάνοσης αρχής. Είναι μια ασθένεια που συχνά πρωτοδιαγιγνώσκεται κατά τη διάρκεια ενός επεισοδίου υπεργλυκαιμίας, κέτωσης και αφυδάτωσης. Συνήθως πρωτοεμφανίζεται στην παιδική και εφηβική ηλικία ενώ σπάνια διαγιγνώσκεται κατά την κύηση. Σε περίπτωση που εμφανιστεί στην κύηση, αυτό συμβαίνει με τη μορφή ενός επεισοδίου ανεξήγητου κώματος. Η εγκυμοσύνη πυροδοτεί διαιτητική και μεταβολική απορρύθμιση σε ασθενείς με υποθάλπτοντα ΣΔΙ.

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II

Σύμφωνα με την Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρία -2010 η διάγνωση του ΣΔ μπαίνει με τα ακόλουθα κριτήρια:

- Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) = 6,5%
- Γλυκόζη πλάσματος νηστείας => 126mg/dl
- Σε δοκιμασία φόρτισης γλυκόζης με 75gr γλυκόζης (OGTT), γλυκόζη πλάσματος στις 2 ώρες = 200mg/dl

• Τυχαία μέτρηση γλυκόζης πλάσματος = 200mg/dl σε ασθενή με συμπτώματα υπεργλυκαιμίας
Κατά την πορεία της νόσου αρχικά μειώνεται η ανταπόκριση στην αυξημένη γλυκόζη των παγκρεατικών κυττάρων ενώ βασικό ρόλο στην παθογένεια έχει η ανάπτυξη αντοχής στην ινσουλίνη. Είναι νόσος με αυξημένη επίπτωση σε οικογένειες και θεωρείται κληρονομούμενη.

(HOMA-IR δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη), HOMA-B(δείκτης έκκρισης ινσουλίνης)

HOMA (homeostatic model assessment) =δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη και παγκρεατικής λειτουργίας

$HOMA\ IR = \frac{\gamma\lambda\upsilon\kappa\omicron\zeta\eta \chi \text{ ινσουλίνη}}{405} \text{ (mg/dl)}$

$HOMA -\beta = \frac{(360 \times \text{ινσουλίνη})}{(\gamma\lambda\upsilon\kappa\omicron\zeta\eta - 63)} \% \text{ (mg/dl)}$

Αν και οι φυσιολογικές τιμές εξαρτώνται από το φύλο και την εθνικότητα σε γενικές γραμμές :

IR = 0-5-1,4 θεωρείται φυσιολογικό

Τιμές IR <1 βέλτιστες και

Τιμές IR >1,9 αρχόμενη αντίσταση στην ινσουλίνη και

IR >2,9 βαριά αντίσταση στην ινσουλίνη

Σακχαρώδης Διαβήτης Κύησης (ΣΔΚ)

Ως διαβήτης κύησης ορίζεται μια διαταραχή ανοχής της γλυκόζης διαφορετικού βαθμού, με έναρξη ή πρώτη διαπίστωση κατά την κύηση. Διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης παρατηρείται στο 3-10% των κυήσεων και σακχαρώδης διαβήτης κύησης στο 2-3%. Ο σακχαρώδης διαβήτης της κύησης αποτελεί το 90% των περιπτώσεων του σακχαρώδη διαβήτη κατά τη διάρκεια της κύησης, ενώ ο προϋπάρχων σακχαρώδης διαβήτης τύπου II και τύπου I το 8% και 2% αντίστοιχα. Σύμφωνα με τις συστάσεις της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρίας του 2016 οι γυναίκες με παράγοντες κινδύνου (έλλειψη φυσικής άσκησης, εθνικότητα με υψηλή επίπτωση ΣΔ, HDL-C<35mg/dl, TG>250mg/dl, υπέρταση>140/90mmHg ή υπό θεραπεία, σοβαρή παχυσαρκία, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, πρώτου βαθμού συγγενής με ΣΔ, HbA1c >5,7%) ελέγχονται για αδιάγνωστο ΣΔΙΙ σύμφωνα με τα κριτήρια του ΣΔΙΙ. Οι γυναίκες που δεν πάσχουν, ελέγχονται με δοκιμασία ανοχής στη χορήγηση γλυκόζης (OGTT) την 22-24^η εβδομάδα κύησης. Διενεργείται καμπύλη σακχάρου μετά από χορήγηση 75γρ γλυκόζης, μετά από νηστεία 8 ωρών. Όρια για τη διάγνωση ΣΔ κύησης είναι:

- Σάκχαρο αίματος νηστείας >92mg/dl
- Μετά από 1 ώρα από τη χορήγηση γλυκόζης > 180 mg/dl
- Μετά από 2 ώρες από τη χορήγηση γλυκόζης >153mg/dl

Εναλλακτικά, η διάγνωση γίνεται σε δύο στάδια.

Χορήγηση 50γρ γλυκόζης χωρίς να έχει προηγηθεί νηστεία και σε περίπτωση που η γλυκόζη >140mg/dl χορήγηση 100γρ γλυκόζης (εδώ έχει προηγηθεί νηστεία). ΣΔΚ επιβεβαιώνεται σε αυτό το τεστ μετά από:

- Σάκχαρο αίματος νηστείας >96-105 mg/dl
- 1ώρα μετά τη χορήγηση γλυκόζης >180-190 mg/dl
- 2 ώρες μετά τη χορήγηση >155-165 mg/dl
- 3ώρες μετά τη χορήγηση >140-145 mg/dl

Μελέτη HAPO (Hyperglycemia and advanced pregnancy outcomes)

Μετά από τα αποτελέσματα της μελέτης HAPO, η οποία έδειξε ότι η υπεργλυκαιμία κατά την εγκυμοσύνη έχει ανεπιθύμητα αποτελέσματα με γραμμικό τρόπο (χωρίς να έχει οριστεί κάποιο κατώτατο όριο), ακολουθούνται πιο αυστηροί θεραπευτικοί στόχοι κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Συνοπτικά γλυκαιμικοί στόχοι κατά την εγκυμοσύνη σύμφωνα με την Αμερικανική Διαβητολογική εταιρία είναι:

Σε ασθενείς με προϋπάρχοντα διαβήτη:

- Σάκχαρο αίματος νηστείας <90mg/dl
- 1 ώρα μεταγευματικά <130-140mg/dl
- 2 ώρες μεταγευματικά <120 mg/dl

Σε ασθενείς με ΣΔ Κύησης

- Σάκχαρο αίματος νηστείας <95mg/dl
- 1 ώρα μεταγευματικά <140mg/dl
- 2 ώρες μεταγευματικά <120 mg/dl

Σε κάθε περίπτωση, επιθυμητή HbA1c<6-6,5% (καλύτερα <6% μετά το μέσο της κύησης) και ο στόχος να επιτυγχάνεται χωρίς επεισόδια υπογλυκαιμίας.

ΣΔ και κύηση

Στην έγκυο γυναίκα κάθε γεύμα πυροδοτεί μια σειρά από ορμονικές λειτουργίες που τελικά αυξάνουν τη γλυκόζη αίματος και δευτερογενώς την παραγωγή ινσουλίνης, γλυκαγόνης, σωματομεδίνης και κατεχολαμινών. Αυτές οι μεταβολές εξασφαλίζουν μια συνεχή αλλά όχι υπερβολική παροχή γλυκόζης στην έγκυο και το έμβρυο. Συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό μια έγκυος γυναίκα αναπτύσσει πολύ πιο ευκολά υπογλυκαιμία (65-75mg/dl) μεταξύ των γευμάτων και κατά τη διάρκεια του ύπνου και αυτό συμβαίνει εξαιτίας της άντλησης γλυκόζης από το έμβρυο κατά τη νηστεία, διαμέσω του πλακούντα. Όσο προχωράει η εγκυμοσύνη και αυξάνονται οι ανάγκες του εμβρύου, τόσο επιτείνονται αυτές οι μεσογευματικές υπογλυκαιμίες.

Η εγκυμοσύνη από μόνη της χαρακτηρίζεται από διαφοροποίηση του ανοσολογικού προφίλ συγκρινόμενη με την κατάσταση εκτός εγκυμοσύνης. Η ανοσιακή διαταραχή αυτή είναι σημαντική για τη φυσιολογική εμφύτευση, διείσδυση και πλακουντοποίηση. Πιθανολογείται ότι είναι απαραίτητη μια τοπική προφλεγμονώδης κατάσταση στη μήτρα για την εμφύτευση (Mor et al., 2011). Αντίθετα, η περίοδος μετά την εμφύτευση χαρακτηρίζεται από μια ανασοκαταστολή (ευνοείται η TH2 απάντηση) προκειμένου να μη γίνει απόρριψη του εμβρύου (Wegmann et al., 1993). Η φυσιολογική εγκυμοσύνη χαρακτηρίζεται από μια κατάσταση αντίστασης στην ινσουλίνη με 50% μείωση της κάθαρσης γλυκόζης μέσω ινσουλίνης, και περίπου 250% αύξηση της παραγωγής ινσουλίνης προκειμένου να διατηρηθεί η μητρική ευγλυκαιμία (Catalano et al., 1999)

Από μελέτες φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ ΣΔΚ και εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου στους απογόνους. Τα βασικά συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου (παχυσαρκία, υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη) μελετήθηκαν σε μελέτη κοόρτης παιδιών με φυσιολογικό και μεγάλο για την ηλικία κύησης βάρος γέννησης σε ηλικία 6,7,9 και 11 ετών σε κύησεις με και χωρίς ΣΔΚ. Βρέθηκε ότι τα παιδιά γυναικών με ΣΔΚ και υψηλό για την ηλικία κύησης βάρος έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου στην παιδική ηλικία. Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου στις άλλες ομάδες ήταν παρόμοια με εκείνη των λευκών ενηλίκων (4,8%) 1988–1994 National Health and Nutrition Examination Survey.

Επίσης βρέθηκε ότι τα παιδιά παχύσαρκων γυναικών χωρίς ΣΔΚ εμφάνισαν μεγαλύτερη πιθανότητα μεταβολικού συνδρόμου (Boney et al., 2005).

ΣΔ και παχυσαρκία

Η παχυσαρκία θεωρείται από πολλούς σύγχρονη επιδημία και συνδέεται με την ανάπτυξη ΣΔΠ καθώς και με το ΣΔ κύησης. Ορίζεται με βάση το δείκτη μάζας σώματος BMI

$BMI = \frac{BΣ(kg)}{ύψος(m^2)}$

BMI < 25 φυσιολογικός

BMI = 25-30 υπέρβαρος

Αδιποκυτταροκίνες και ΣΔΚ

Σε γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη κύησης έχουν μελετηθεί γονίδια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη αντοχής στην ινσουλίνη (Αδιποκυτταροκίνες, χημειοκίνες, υποδοχείς οιστρογόνων) στο υποδόριο και λευκό λιπώδη ιστό και στον πλακούντα. Βρέθηκε αυξημένη έκφραση λεπτίνης στο

σπλαχνικό λιπώδη ιστό όπως και αυξημένες συγκεντρώσεις προ φλεγμονωδών κυτταροκινών καθώς και μειωμένες συγκεντρώσεις οιστρογονικών υποδοχέων σε γυναίκες με ΣΔΚ.

Η παχυσαρκία συνδέεται με σχετική αντίσταση στη λεπτίνη και η παιδική παχυσαρκία συνδέεται με ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη II στην ενήλικη ζωή. Επίσης, τα παιδιά μητέρων με ΣΔΚ εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο παχυσαρκίας. Σε μελέτη παιδιών μητέρων με ΣΔΚ βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της τιμής της λεπτίνης σε ηλικία 9 ετών και του δείκτη μάζας σώματος, της ινσουλίνης νηστείας και του θηλυκού γένους (Furukawa et al., 2004).

Μεταβολικό σύνδρομο

Ουσιαστικά, ο όρος μεταβολικό σύνδρομο αναφέρεται σε ένα σύνολο διαταραχών που προδιαθέτουν σε καρδιαγγειακά συμβάματα.

- Διαταραχή μεταβολισμού των λιπιδίων-αθηρογόνος δυσλιπιδαιμία
- Διαταραχή μεταβολισμού της γλυκόζης-αντίσταση στην ινσουλίνη
- Κεντρικού τύπου παχυσαρκία
- προφλεγμονώδης και προθρομβωτική κατάσταση

Διαγνωστικά κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου

- ATP III 2004
- WHO clinical criteria for metabolic syndrome
- AACE clinical criteria for diagnosis of the insulin resistance syndrome

Table 1. Definitions of metabolic syndrome

	NCEP ATP III (2005 revision)	WHO (1998)	EGIR (1999)	IDF (2005)
Absolutely required	None	Insulin resistance* (IGT, IFG, T2D or other evidence of IR)	Hyperinsulinemia ¹ (plasma insulin >75 th percentile)	Central obesity (waist circumference ²): ≥94 cm (M), ≥80 cm (F)
Criteria	Any three of the five criteria below	Insulin resistance or diabetes, plus two of the five criteria below	Hyperinsulinemia, plus two of the four criteria below	Obesity, plus two of the four criteria below
Obesity	Waist circumference: >40 inches (M), >35 inches (F)	Waist/hip ratio: >0.90 (M), >0.85 (F); or BMI >30 kg/m ²	Waist circumference: ≥94 cm (M), ≥80cm (F)	Central obesity already required
Hyperglycemia	Fasting glucose ≥100 mg/dl or Rx	Insulin resistance already required	Insulin resistance already required	Fasting glucose ≥100 mg/dl
Dyslipidemia	TG ≥150 mg/dl or Rx	TG ≥150 mg/dl or HDL-C: <35 mg/dl (M), <39 mg/dl (F)	TG ≥177 mg/dl or HDL-C <39 mg/dl	TG ≥150 mg/dl or Rx
Dyslipidemia (second, separate criteria)	HDL cholesterol: <40 mg/dl (M), <50 mg/dl (F); or Rx			HDL cholesterol: <40 mg/dl (M), <50 mg/dl (F); or Rx
Hypertension	>130 mmHg systolic or >85 mmHg diastolic or Rx	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg or Rx	>130 mmHg systolic or >85 mmHg diastolic or Rx
Other criteria		Microalbuminuria ³		

*IGT, impaired glucose tolerance; IFG, impaired fasting glucose; T2D, type 2 diabetes; IR, insulin resistance; other evidence includes euglycemic clamp studies.

¹Urinary albumin excretion of ≥20 µg/min or albumin-to-creatinine ratio of ≥30 mg/g.

²Reliable only in patients without T2D.

³Criteria for central obesity (waist circumference) are specific for each population; values given are for European men and women.

Rx, pharmacologic treatment.

Πίνακας 2 από (Huang, 2009) Κριτήρια διάγνωσης μεταβολικού συνδρόμου

Μεταβολισμός στο ΣΔ

Στο ΣΔ υπάρχει ανεπάρκεια ινσουλίνης (άρα επικρατεί η δράση της γλυκαγόνης). Λόγω έλλειψης ινσουλίνης υπάρχει αδυναμία εισόδου της γλυκόζης στους ινσουλινοεξαρτώμενους ιστούς, λίπος και μύες. Συνεπώς αναστέλλεται η γλυκόλυση και η λιπογένεση ενώ διεγείρεται η γλυκογονόλυση, η λιπόλυση, η κετογένεση και η γλυκονεογένεση. Το ήπαρ γίνεται όργανο παραγωγής γλυκόζης. Άρα η αδυναμία εισόδου στα κύτταρα και η αυξημένη παραγωγή γλυκόζης οδηγούν στην αύξηση της γλυκόζης στο αίμα. Παράλληλα, ενισχύεται η λιπόλυση με παραγωγή ακέτυλο-CoA και το ακέτυλο CoA που παράγεται δε μπορεί να οξειδωθεί πλήρως, επειδή ο λόγος NADH/NAD⁺ είναι υψηλός και έτσι συσσωρεύεται με παραγωγή κατιονικών σωμάτων.

Βασικά προβλήματα στο ΣΔ τύπου II εκτός από την υπεργλυκαιμία και την κέτωση (που είναι σπάνια) είναι οι απώτερες επιπλοκές της μακροχρόνιας υπεργλυκαιμίας. Συγκεκριμένα:

- αυτόνομη νευροπάθεια (διάρροια, ανικανότητα)
- διαβητικό πόδι (περιφερική νευροπάθεια και ισχαιμία, έλκη κάτω άκρων, ακρωτηριασμοί)
- αμφιβληστροειδοπάθεια (μείωση οπτικής οξύτητας και τύφλωση)
- μακροαγγειοπάθεια (στεφανιαία νόσος καρδιάς και περιφερική αγγειοπάθεια)
- νεφροπάθεια(χρόνια νεφρική ανεπάρκεια)

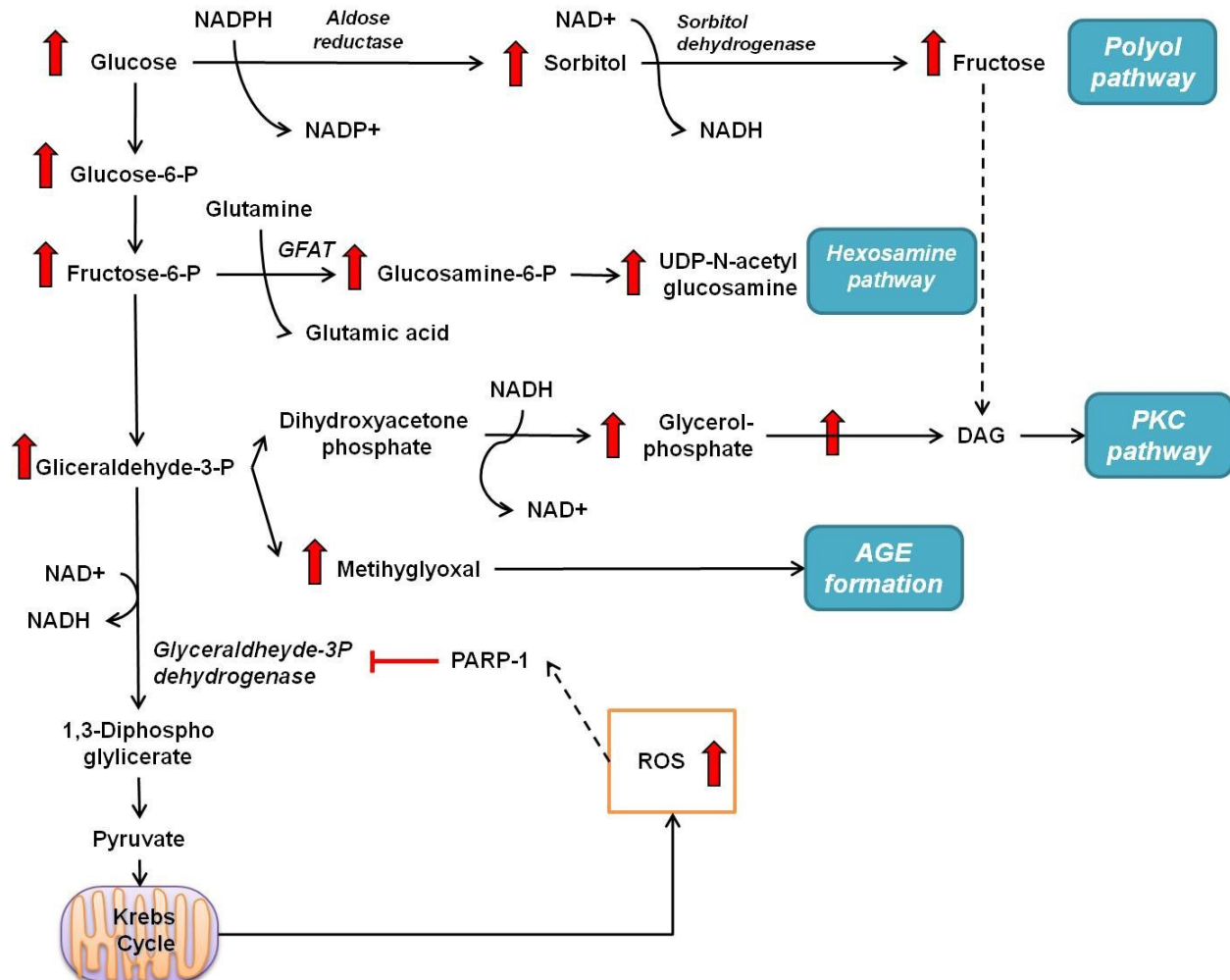
Θεωρείται ότι οι απώτερες επιπλοκές του ΣΔ είναι αποτέλεσμα τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης, οξειδωτικού στρες και χρόνιας χαμηλής έντασης φλεγμονής (low grade inflammation).

Οι βλάβες της υπεργλυκαιμίας:

Η αυξημένη προσφορά γλυκόζης στο κύτταρο έχει σαν συνέπεια την αυξημένη γλυκόλυση και την ενεργοποίηση των παράπλευρων μονοπατιών (βλέπε εισαγωγή). Συνεπώς η υπεργλυκαιμία μπορεί να έχει σαν συνέπεια την

1. αύξηση παραγωγής υπεροξειδίου του οξυγόνου στα μιτοχόνδρια -αύξηση ελευθέρων ριζών οξυγόνου
2. ενεργοποίηση του ενζύμου PARP1(ένζυμο που εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση του κυττάρου καθώς και στην επιδιόρθωση του DNA) το οποίο με τη σειρά του αναστέλλει τη γλυκεριναλγευδη-3 φωσφορική δευδρογενάση GADPH. Η αύξηση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεύδης οδηγεί σε:

1. ενεργοποίηση του μονοπατιού των προχωρημένων προϊόντων γλυκοζυλίωσης AGEs
2. χρόνια αύξηση της διακυλογλυκερόλης οδηγεί σε ενεργοποίηση των διαφόρων ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C-PKC
3. αύξηση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης (πρόδρομη ουσία) και μέσω αυτής ενεργοποίηση του μονοπατιού της εξοζαμίνης
4. τελικά αυξάνεται και η αρχική ουσία η γλυκόζη και ενεργοποιείται το μονοπάτι των πολυολών καταναλώνοντας NADPH



Σχήμα 25 από (Lazo-de-la-Vega-Monroy and Fernández-Mejía, 2013)
Σύνοψη των μονοπατιών μεταβολισμού γλυκόζης σε υπεργλυκαιμία

Μονοπάτι των προχωρημένων προϊόντων γλυκοζύλιωσης AGEs

- τα προχωρημένα προϊόντα γλυκοζύλιωσης προέρχονται από
- ενδοκυττάρια αυτό-οξειδωση της γλυκόζης σε γλυοξάλη
 - αποσύνθεση των προϊόντων Amadori σε 3-δεόξυ-γλυκοσονικό
 - μη ενζυματική αποσύνδεση του φωσφόρου από φωσφορική γλυκεραλδεϋδη και φωσφορική διυδροξυακετονη προς σχηματισμό μεθόξυγλυοξάλης
 - Τα ενεργά αυτά μόρια κατόπιν αντιδρούν με αμινομάδες ένδο- και εξωκυττάρων πρωτεϊνών σχηματίζοντας προχωρημένα προϊόντα γλυκοζύλιωσης.

Ο σχηματισμός των AGEs προκαλεί βλάβη στα κύτταρα με τους εξής μηχανισμούς:

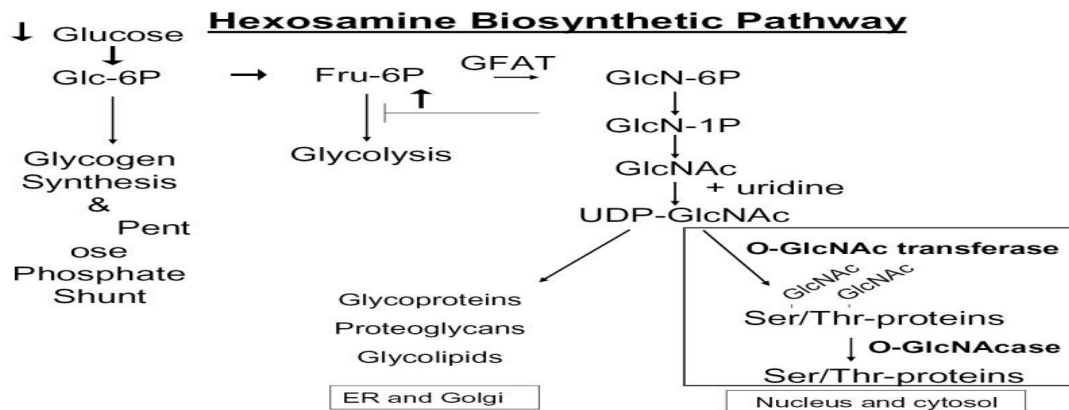
- οι ενδοκυττάρια πρωτεΐνες που τροποποιούνται από τα AGEs έχουν διαταραγμένη λειτουργία
- Τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας που έχουν τροποποιηθεί από τα AGEs αλληλεπιδρούν απρόβλεπτα με άλλα συστατικά της θεμέλιας ουσίας προκαλώντας ενεργοποίηση υποδοχέων (ιντεγκρινών)

- οι τροποποιημένες από τα AGEs πρωτεΐνες του πλάσματος συνδέονται με τους υποδοχείς RAGEs σε κύτταρα όπως τα μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Η σύνδεση αυτή :

1. προκαλεί παραγωγή ελεύθερων ριζών και ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C.
2. Ενεργοποιεί το μονοπάτι NF-kB
3. ενεργοποιεί τη NADPH οξειδάση
4. διαταράσσει την ενδοκυττάρια μεταφορά σήματος του MAPK μονοπατιού

Παθοφυσιολογικά επακόλουθα είναι

- αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων
- αυξημένη αγγειακή σκληρότητα
- παρεμπόδιση της αγγειοδιαστολής που σχετίζεται με το NO
- οξείδωση της LDL
- απελευθέρωση κυτταροκίνων από τα συνδεδεμένα κύτταρα (μακροφάγα, ενδοθηλιακά, λεία μυϊκά των αγγείων)
- επίταση του οξειδωτικού στρες



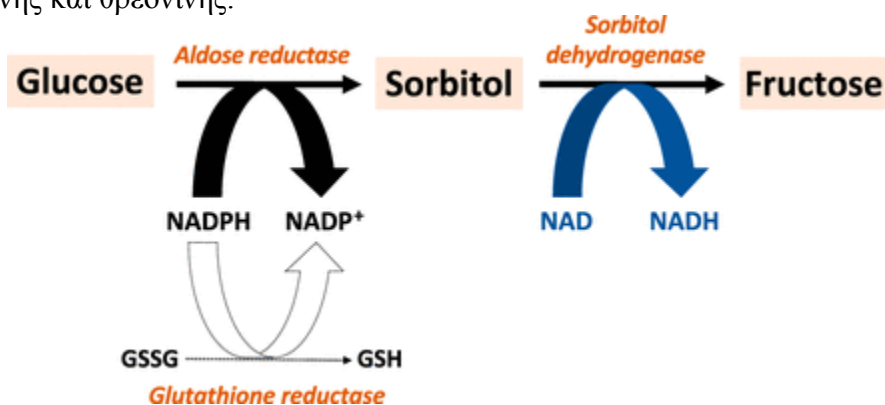
Σχήμα 26 (Buse, 2006)

Το βιοσυνθετικό μονοπάτι της εξοζαμίνης: Η αυξημένη γλυκόζης και αναστολή της γλυκόλυσης προκαλεί αύξηση της 6-P-φρουκτόζης η οποία παρουσία του ενζύμου GFAT προκαλεί γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών και άλλων μορίων με αποτέλεσμα την παραγωγή γλυκοπρωτεϊνών, πρωτεογλυκανών και γλυκολιπιδίων. Τα προϊόντα αυτά αλλάζουν κυρίως την εξωκυττάρια ουσία.

Μονοπάτι της εξοζαμίνης

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ο ενδοκυττάριος μεταβολισμός της γλυκόζης περιλαμβάνει τη γλυκόλυση και σε μικρότερο ποσοστό το μονοπάτι των πεντοζών. Όταν όμως η συγκέντρωση της ενδοκυττάριας γλυκόζης υπερβεί ένα όριο, τότε αυξάνεται και η 6-φωσφορική φρουκτόζη και ενεργοποιείται το ένζυμο-κλειδί του μονοπατιού της εξοζαμίνης το GFAT (μετατρέπει την 6 φωσφορική φρουκτόζη σε 6φωσφορική γλυκοζαμίνη. Η 6φωσφορική γλυκοζαμίνη έχει σαν τελικό μεταβολίτη UDP-N-ακετυλογλυκοζαμίνη που χρησιμεύει σαν μόριο γλυκοζυλίωσης πρωτεϊνών και λιπιδίων. Συγκεκριμένα ένζυμα οι O-Glc-N ακετυλοτρανσφεράσες

χρησιμοποιούνται για την μετα-μεταγραφική τροποποίηση πρωτεϊνών και την γλυκοζυλίωσή τους σε θέσεις σερίνης και θρεονίνης.



Σχήμα 27 από Rudo F. Maranga, M. Faadiel Essop 2016

Μονοπάτι της σορβιτόλης: Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης παράγουν αυξημένη σορβιτόλη και φρουκτόζη. Η μετατροπή γλυκόζης σε σορβιτόλη καταναλώνει NADPH, μειώνοντας τη διαθεσιμότητα της για αναγωγή της γλουταθειόνης. Συνεπώς, μειώνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου.

Μονοπάτι των πολυολών (ή μονοπάτι της ρεδουκτάσης της σορβιτόλης-αλδόζης)

Το μονοπάτι των πολυολών συνίσταται από δύο κύρια ένζυμα : την ρεδουκτάση της αλδόζης που μετατρέπει τη γλυκόζη σε σορβιτόλη και την αφυδρογονάση της σορβιτόλης που μετατρέπει τη σορβιτόλη σε φρουκτόζη. Η ρεδουκτάση της αλδόζης που είναι και το πρώτο ένζυμο του μονοπατιού έχει χαμηλή συγγένεια για τη γλυκόζη και το μονοπάτι ενεργοποιείται μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Κατά την ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού, καταναλώνεται NADPH και έτσι αυξάνεται εμμέσως το οξειδωτικό φορτίο (αφού το NADPH είναι συμπαράγοντας στην αναγέννηση της γλουταθειόνης και συνεπώς την αποφόρτιση από τις ρίζες οξυγόνου).

Μονοπάτι διακυλογλυκερόλης-πρωτεϊνικής κινάσης C

Η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) ανήκει σε μια οικογένεια ενζύμων –κινασών, που εμπλέκονται στη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών, προκαλώντας φωσφορυλίωση σε θέσεις υδροξυλίου σε κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης. Οι PKC ενεργοποιούνται από σήματα όπως η διακυλογλυκερόλη και τα ιόντα ασβεστίου και κατόπιν ενεργοποιούν ενδοκυττάρια σήματα.

Η οικογένεια των PKC αποτελείται από δεκαπέντε ισοένζυμα που διακρίνονται ανάλογα με τα σήματα ενεργοποίησης σε:

- κλασσικές- απαιτούν διακυλογλυκερόλη, ιόντα ασβεστίου και φωσφολιπίδια για την ενεργοποίησή τους
- νεότερες-απαιτούν διακυλογλυκερόλη αλλά όχι ιόντα ασβεστίου για ενεργοποίηση
- άτυπες-δεν απαιτούν ούτε διακυλογλυκερόλη, ούτε ιόντα ασβεστίου (χρειάζονται όμως φωσφατίδυλοσερίνη)

Μετά την ενεργοποίησή τους οι PKC μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα μέσω των RACK πρωτεϊνών (membrane-bound receptor for activated protein kinase C). Οι PKC είναι γνωστές για τη μακροχρόνια ενεργοποίησή τους. Παραμένουν ενεργές ακόμα και όταν το κύμα των ιόντων

ασβεστίου έχει φύγει. Πιθανολογείται ότι αυτό επιτυγχάνεται μέσω παραγωγής διακυλογλυκερόλης από τη φωσφατυδιλοϊνισιτόλη μέσω μιας φωσφολιπάσης, ενώ ρόλο στη μακροχρόνια ενεργοποίηση έχουν και τα λιπαρά οξέα.

Σε ένα διαβητικό περιβάλλον η υπεργλυκαιμία προκαλεί μακροχρόνια αύξηση της διακυλογλυκερόλης σαν ενδιάμεσο μεταβολίτη της γλυκόλυσης. Επίσης οι ελεύθερες ρίζες αναστέλλουν το γλυκολυτικό ένζυμο δευδρογενάση της 3φωσφορικής γλυκεραλδεύδης αυξάνοντας έτσι τις PKC.

Ο αυξημένος μεταβολισμός της γλυκόζης, λόγω της ενδοκυττάριας υπεργλυκαιμίας οδηγεί σε υπερπαραγωγή των NADH και FADH, που χρησιμοποιούνται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων για να παράγουν ATP. Όταν το NADH είναι σε υπερβολικά μεγάλη συγκέντρωση, προκαλείται μια αύξηση στη διαβάθμιση μιτοχονδριακών πρωτονίων και τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στο οξυγόνο παράγοντας σουπεροξειδίο. Πιστεύεται ότι το προερχόμενο από τα μιτοχόνδρια σουπεροξειδίο προκαλεί αυξημένη σύνθεση διακυλογλυκερόλης (DAG) και επακόλουθη ενεργοποίηση της PKC.

Άλλη αιτία αύξησης των PKC στο διαβήτη είναι η αλληλεπίδραση των AGEs με τους υποδοχείς τους (RAGEs).

Μετά την ενεργοποίησή τους προκαλούν:

- ενεργοποίηση της NADPH οξειδάσης - αύξηση ROS
- ενεργοποίηση του NF-kB-αύξηση ROS, μεταγραφή προφλεγμονωδών παραγόντων MCP1 αλλά και μορίων προσκόλλησης του ενδοθηλίου VCAM, ICAM ενισχύοντας τη φλεγμονή του ενδοθηλίου και σχηματίζοντας αφρώδη κύτταρα
- αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου
- έκφραση του αυξητικού ενδοθηλιακού παράγοντα VEGF
- αύξηση της αλληλεπίδρασης λευκοκυττάρων-ενδοθηλίου, φλεγμονή
- κυτταρική αύξηση
- επέκταση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας
- απόπτωση
- μείωση της δραστηριότητας του eNOS άρα μείωση του NO (μείωση της αγγειοδιαστολής)
- αύξηση παραγωγής ενδοθηλίνης (αγγειοσύσπαση)
- αύξηση κυκλοξυγενάσης 2 που συνεπάγεται αύξηση της θρομβοξάνης A2 και μείωση προστακυκλίνης

Λιπώδης ιστός στο ΣΔ

Στο λευκό λίπος παρουσιάζεται αυξημένο οξειδωτικό στρες λόγω ύπαρξης της NOX4 (NADPH oxidase 4) συνθετάσης στα λιπώδη κύτταρα που δρα σαν αισθητήρας οξυγόνου και μετατρέπει το οξυγόνο σε ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών με τη σειρά της διεγείρει την NADPH συνθετάση και δρα σαν χημειοattractant (μέσω αύξησης της MCP-1 και μέσω παραπροϊόντων της υπεροξειδωσής των λιπών) στα μακροφάγα με συνακόλουθη διήθηση του λιπώδη ιστού και δημιουργία φλεγμονής.

Σε καλλιέργειες λιποκυττάρων, αυξημένα επίπεδα ελευθέρων λιπαρών οξέων, μέσω ενεργοποίησης της NADPH οξειδάσης, αυξάνουν το οξειδωτικό στρες και αυτό με τη σειρά του επιδρά στη ρύθμιση έκφρασης αδιποκυτταροκινών όπως η αδιπονεκτίνη, PAI-1, IL6, MCP-1. Παράλληλα, σε παχύσαρκα ποντίκια θεραπεία με αναστολείς της οξειδάσης του NADPH μειώνει το οξειδωτικό στρες στο λιπώδη ιστό και αυτό αντανακλάται σε ρύθμιση της έκφρασης των αδιποκινών, βελτίωση του διαβήτη, της υπερλιπιδαιμίας και της ηπατικής στεάτωσης.

Οι Lappas et al μελέτησαν υποδόριο και σπλαγχνικό λιπώδη ιστό από λεπτόσωμες, υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες με και χωρίς ΣΔΚ με ποσοτική RT-PCR για να βρουν το βαθμό έκφρασης διαφόρων μονοπατιών. Σε προϋπάρχουσα παχυσαρκία και σε γυναίκες με ΣΔΚ βρέθηκε μειωμένη έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην πρόσληψη λιπαρών οξέων και ενδοκυττάριας μεταφοράς (LPL, FATP2, FATP6, FABPpm and ASCL1), βιοσύνθεσης τριγλυκεριδίων (MGAT1,7 MGAT2 and DGAT1), λιπογένεσης (FASN) και λιπόλυσης (PNPLA2, HSL and MGLL). Επίσης βρέθηκε μειωμένη γονιδιακή έκφραση στους μεταγραφικούς παράγοντες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπών (LXRα, PPARα, PPARδ, PPARγ, RXRα και SREBP1c). Επίσης, η γονιδιακή έκφραση λιποκυτταροκινών όπως TNFα, IL-1β και λεπτίνης ήταν αυξημένη στο λιπώδη ιστό των παχύσαρκων και των γυναικών με ΣΔΚ. Λειτουργικές μελέτες in vitro έδειξαν ότι αυτές οι αδιποκυτταροκίνες μειώνουν τη γονιδιακή έκφραση των LPL, FATP2, FATP6, ASCL1, PNPLA2, PPARδ, PPARγ και RXRα. (Lappas, 2014).

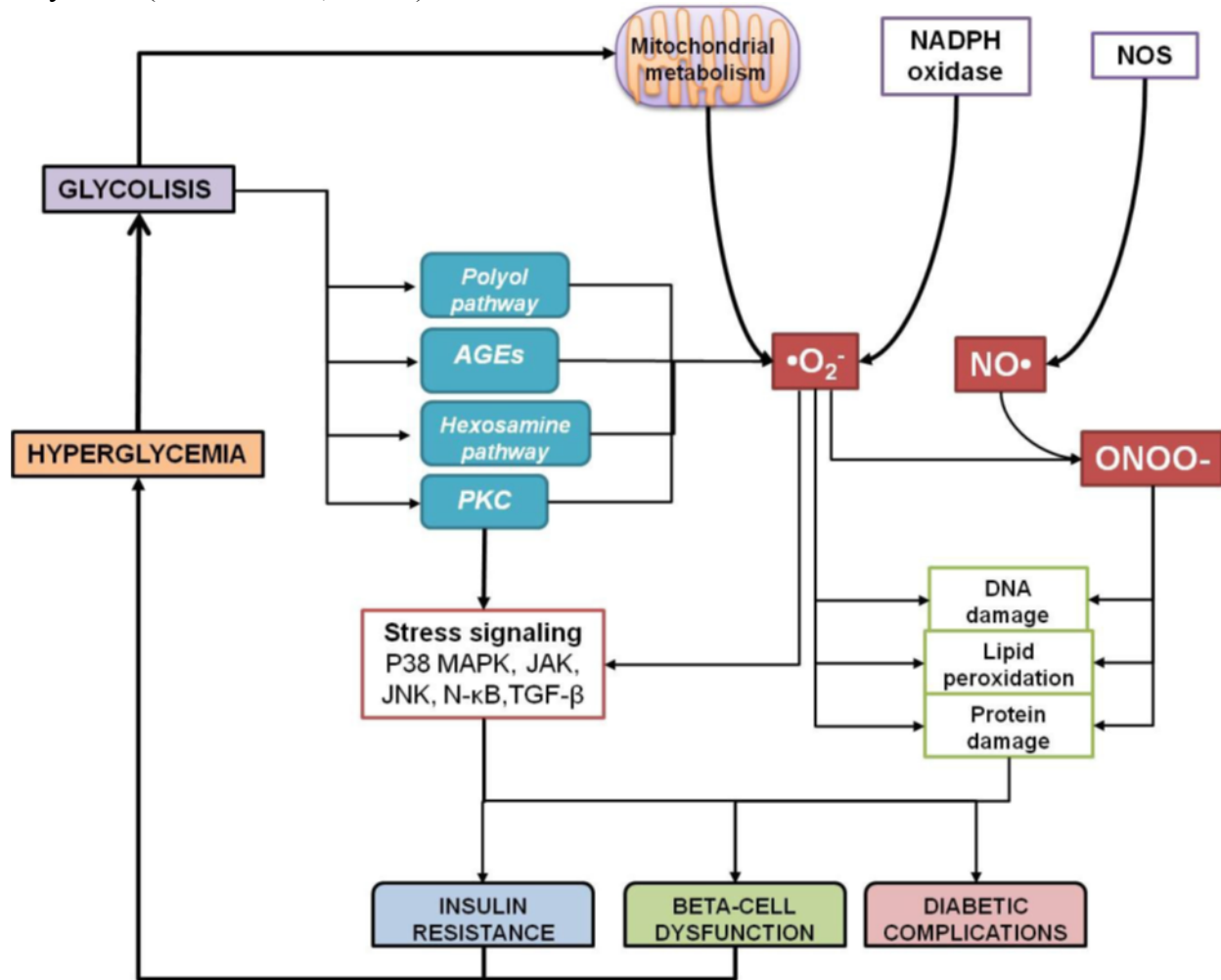
Οξειδωτικό στρες και ΣΔ

Έχει βρεθεί (Leal et al., 2011) ότι οι αλλαγές στην ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με την πρόοδο της εγκυμοσύνης. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης το οξειδωτικό στρες έχει κεντρικό ρόλο στην μητρο-εμβρυική επικοινωνία και είναι σημαντικό για την ανάπτυξη του εμβρύου και των ιστών του. Διαβήτη της μητέρας, περιγεννητική υποξία, ισχαιμία, καθώς και φλεγμονώδεις/λοιμώδεις καταστάσεις αποτελούν πυροδοτικούς μηχανισμούς απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών οριοθετώντας έτσι ένα δυσμενές ενδομήτριο περιβάλλον το οποίο διαταράσσει την ανάπτυξη του εμβρύου. Καταστάσεις που ευοδώνουν το οξειδωτικό στρες, είναι κοινό χαρακτηριστικό σε εγκυμοσύνες επιπλεγμένες με ανώμαλο βάρος εμβρύου (αυξημένο ή μειωμένο), πρόωρο τοκετό, υποθρεψία, υπερπροσφορά θρεπτικών ουσιών, λοίμωξη και φλεγμονή (Buonocore et al., 2000, Buonocore et al., 2002, Cooke, 1994).

Όταν η παραγωγή ελευθέρων ριζών υπερβαίνει την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου ενεργοποιούνται μεταγραφικοί παράγοντες όπως ο NF-kB ο ενεργοποιητής της πρωτεΐνης 1 και ο HIF οι οποίοι φωσφορυλιώνουν τον υποδοχέα της ινσουλίνης, καθιστώντας τον ανενεργό, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο αντίσταση στην ινσουλίνη. Η απενεργοποίηση των καταλοίπων του υποδοχέα της ινσουλίνης IRS-1 οδηγεί στην μειωμένη μετακίνηση διαμεμβρανικών πρωτεϊνών μεταφοράς όπως ο μεταφορέας γλυκόζης GLUT4 που εξαρτάται από την ινσουλίνη, άρα μειώνεται η πρόσληψη γλυκόζης από το κύτταρο. Οι ελεύθερες ρίζες μειώνουν και απευθείας τη μεταγραφή του GLUT4 (Lappas et al., 2012). Συνεπώς αυξάνεται η εξωκυττάρια συγκέντρωση γλυκόζης. Η κλίση συγκέντρωσης γλυκόζης οδηγεί στην είσοδο γλυκόζης στα κύτταρα μέσω των ινσουλινοανεξάρτητων μεταφορέων GLUT1 GLUT3. Τελικά αυξάνεται και η ενδοκυττάρια συγκέντρωση γλυκόζης προκαλώντας έτι περαιτέρω δημιουργία ελευθέρων ριζών σχηματίζοντας ένα φαύλο κύκλο.

Στο σακχαρώδη διαβήτη, παρατηρείται υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών από την οξείδωση της γλυκόζης, από την ενζυματική γλυκοζυλίωσή των πρωτεϊνών και την περαιτέρω οξείδωση αυτών των προϊόντων. Η μεγάλη παραγωγή των ελευθέρων ριζών και η ταυτόχρονη ανεπάρκεια των ενζυμικών αντιοξειδωτικών συστημάτων καταλήγουν στην καταστροφή κυτταρικών οργανυλίων και ενζύμων, στην υπεροξείδωση των λιπών και στην ανάπτυξη αντοχής στην ινσουλίνη.

- Υπεργλυκαιμία
 - Ενζυματική γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών
 - αυξημένα ελεύθερα λιπαρά οξέα
- αποτυχία της πρόσληψης της γλυκόζης με την βοήθεια ινσουλίνης από τα μυϊκά και λιπώδη κύτταρα προκαλεί την αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα. Συνεπώς, η προσλαμβανόμενη ποσότητα γλυκόζης από ιστούς μη εξαρτώμενους από την ινσουλίνη αυξάνεται. (Perrone et al., 2016b)



Σχήμα 28 (Lazo-de-la-Vega-Monroy and Fernández-Mejía, 2013)

Οι βλάβες της υπεργλυκαιμίας. Η υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί τα παράπλευρα μονοπάτια της πολυόλης, της εξοζαμίνης, της διακυλογλυκερόλης-πρωτεϊνικής κινάσης c και των προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης. Όλα τα προηγούμενα αυξάνουν τις ενεργές ρίζες οξυγόνου αυξάνοντας έτσι το οξειδωτικό στρες, και οι ROS μαζί με το μονοπάτι της πρωτεϊνικής κινάσης C ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες που συνδέονται με το στρες και την απόπτωση, προκαλώντας αντίσταση στην ινσουλίνη, απόπτωση βήτα παγκρεατικών κυττάρων και αγγειακές βλάβες. Ταυτόχρονα το οξειδωτικό και το νιτρικό στρες ενισχύουν τις παραπάνω βλάβες.

Σακχαρώδης διαβήτης και στρες του ενδοπλασματικού δικτύου

Το στρες του ΕΔ προκαλεί διαβήτη

Το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και η απάντηση των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών έχουν σημαντικό ρόλο στη επιβίωση και λειτουργία των παγκρεατικών κυττάρων. Η συσσώρευση της μη ορθώς αναδιπλωμένης ανενεργούς ινσουλίνης στα παγκρεατικά νησιδιακά κύτταρα στο ΣΔΙ προκαλεί χρόνια στρες του ΕΔ (Hotamisligil, 2010, Harding and Ron, 2002). Υπερβολική ενεργοποίηση του PERK και έλλειψη του P58IPK (αναστολέα του PERK) προκαλούν απόπτωση των β κυττάρων του παγκρέατος (Zhao and Ackerman, 2006). Η παχυσαρκία προκαλεί στρες του ΕΔ στους περιφερικούς ιστούς που οδηγεί στη φωσφορυλίωση του υποδοχέα της ινσουλίνης σε θέσεις σερίνης μέσω ενεργοποίησης του IRE- JNK μονοπατιού προκαλώντας αντίσταση στην ινσουλίνη και συνεπώς ΣΔΙΙ (Ozcan et al., 2004).

Η υπεργλυκαιμία προκαλεί στρες ΕΔ

Το ΕΔ χρειάζεται ενέργεια προκειμένου να αναδιπλώνει πρωτεΐνες συνεπώς είναι ευαίσθητο στις διακυμάνσεις συγκέντρωσης της γλυκόζης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκτίθενται συνέχεια σε διακυμάνσεις της συγκέντρωσης των θρεπτικών ουσιών. Είναι δυναμικά, μεταβολικά ενεργά κύτταρα, με υψηλό όγκο πρωτεϊνικής σύνθεσης γεγονός που τα προδιαθέτει σε στρες ΕΔ. Ειδικά τα ενδοθηλιακά κύτταρα, δεν μπορούν να ανεχτούν επί μακρόν έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης και συνεπώς σε ένα διαβητικό περιβάλλον βρίσκονται σε στρες ΕΔ. Ωστόσο δεν έχει διευκρινιστεί κατά πόσο η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου ως απάντηση σε υπεργλυκαιμία είναι δευτερογενής σε αυξημένο οξειδωτικό στρες και παράπλευρη αύξηση του στρες του ΕΔ ή το ανάποδο.

Το ΕΔ διατηρεί ένα οξειδωτικό περιβάλλον που ευνοεί την αναδίπλωση των πρωτεϊνών και την ωρίμανση. Η αύξηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης και άρα της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης σε απάντηση στην υπεργλυκαιμία μπορεί να προκαλέσει συσσώρευση ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Zhang and Kaufman, 2008). Στην προσπάθειά του να μειώσει τη συσσώρευση των ελευθέρων ριζών, το μονοπάτι του PERK ενεργοποιεί αντιοξειδωτικά προγράμματα (όπως τη γλουταθειόνη) μέσω ενεργοποίησης του ATF και του NRF2. Σε περίπτωση που η υπεργλυκαιμία αλλοιώσει το μονοπάτι του PERK, ανεπαρκεί η αντιοξειδωτική απάντηση, άρα αυξάνονται οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Ένα ένζυμο του ΕΔ, η παραοξονάση2 (PON2) μειώνει τη γένεση των ROS στο ΕΔ και έτσι μετριάζει το μέσω οξειδωτικού στρες προκαλούμενο στρες του ΕΔ και μειώνει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων (Kim et al., 2011)

Επίσης σε στρες του ΕΔ αυξάνονται οι πρωτεΐνες αναδίπλωσης όπως η GRP78 η οποία είναι ευαίσθητη στη συγκέντρωση γλυκόζης. Επαγωγείς του ΕΔ στρες όπως η थाψιγαργίνη και η τινικαμικίνη επάγουν την GRP78 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Παράλληλα η GRP78 προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. (Wu et al., 2009)

Η οξειδάση του NADPH, κύρια πηγή των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενεργοποιείται παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων γλυκόζης με παράλληλη μείωση της δημιουργίας NO (Aljofan and Ding, 2010). Η ενεργοποίηση των NOX1/NOX2 που παράγουν υπεροξειδικά ανιόντα, μετά από έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης οδηγεί στο σχηματισμό καταστροφικών επιπέδων ROS που μπορεί να μετατρέψει NO σε ONOO- προκαλώντας αποσύνδεση του eNOS. Από την άλλη, η ενεργοποίηση του NOX4 (προστατευτικό και παράγει H₂O₂) οδηγεί σε ελεγχόμενη παραγωγή ROS παίζοντας σημαντικό ρόλο στη

κυτταρική σηματοδότηση στο ενδοθήλιο και την αγγειοδιαστολή (Brandes et al.). Η ενεργοποίηση της οξειδάσης του NADPH (NOX1/NOX2) μπορεί να συνδέσει το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και το οξειδωτικό στρες με την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων που επάγεται από την έκθεση σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης (Li et al., 2010).

Η ενεργοποίηση του NOX2 και το οξειδωτικό στρες επεξηγούν περαιτέρω την επαγωγή του CHOP/GADD153 το οποίο με τη σειρά του επάγει την απόπτωση. Υπάρχουν αναφορές που υποθέτουν ότι η επαγωγή του CHOP όπως και η απόπτωση ως απάντηση στο στρες του ενδοπλασματικού δικτύου είναι μειωμένη στα ποντίκια με ανεπάρκεια NOX2 αποτρέποντας έτσι τη νεφρική δυσλειτουργία. Αυτό μπορεί να είναι αλήθεια για τα ενδοθηλιακά κύτταρα που εκτίθενται σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης όπου η ενεργοποίηση του NOX2 φαίνεται ότι επάγει την απόπτωση πιθανώς μέσω ενεργοποίησης της μεσολαβούμενης από το CHOP απάντησής στο στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (Morgan et al., 2008). Ο σχηματισμός ελευθέρων ριζών μετά από έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης διαρρηγνύει την ομοιόσταση του ασβεστίου οδηγώντας σε εκροή ασβεστίου από τον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου (Ding and Triggler, 2010). Οι ενδο-ενδοπλασματικές συγκεντρώσεις των ιόντων ασβεστίου είναι κρίσιμες αφού πολλές πρωτεΐνες-χαπερόνες του ενδοπλασματικού δικτύου εξαρτώνται από τα ιόντα ασβεστίου για τη δράση τους. Έτσι μείωση της ενδο-ενδοπλασματικής συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου βλάπτει τη διαδικασία αναδίπλωσης των πρωτεϊνών οδηγώντας σε ER στρες που δεν επιλύεται και άρα οδηγώντας το κύτταρο στην απόπτωση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα που εκτίθενται σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, διευρυμένη ομοιόσταση ασβεστίου, εξαιτίας των ριζών οξυγόνου, μπορούν να προκαλέσουν μια αποπτωτική απάντηση που επάγεται από μεσολαβητές του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (Bishara and Ding, 2010). Επιπρόσθετα αύξηση της συγκέντρωσης των ενδοκυττάρων ιόντων ασβεστίου διεγείρει την δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια μέσω διάφορων μηχανισμών (Malhotra and Kaufman, 2007).

Αυξημένο φορτίο ιόντων ασβεστίου στα μιτοχόνδρια δημιουργεί ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ως παραπροϊόν της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων και μεσολαβεί την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c και την απόπτωση. Τα ιόντα ασβεστίου διεγείρουν επίσης τον κύκλο του Krebs στα ενδοθηλιακά κύτταρα συνεπώς και την κατανάλωση οξυγόνου άρα και την δημιουργία ROS (Garrido et al., 2006, Wan et al., 1989). Η διέγερση της eNOS από τα ιόντα ασβεστίου μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων NO τα οποία αλληλεπιδρούν με το υπεροξειδικό ανιόν σχηματίζοντας ONOO-, άρα οξειδώνοντας το BH4 και επάγοντας την αποδέσμευση του eNOS.

Αγγειακή βλάβη σχετιζόμενη με την υπεργλυκαιμία

Η αυξημένη ενδοκυττάρια γλυκόζη προκαλεί ενεργοποίηση της PKC και επακόλουθη αύξηση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου μέσω της NADPH οξειδάσης και της p66Shc συνδετικής πρωτεΐνης. Η αύξηση του οξειδωτικού στρες προκαλεί ραγδαία απενεργοποίηση του NO οδηγώντας στο σχηματισμό του προ-οξειδωτικού ONOO- το οποίο ευθύνεται για τη νιτροζυλίωση των πρωτεϊνών.

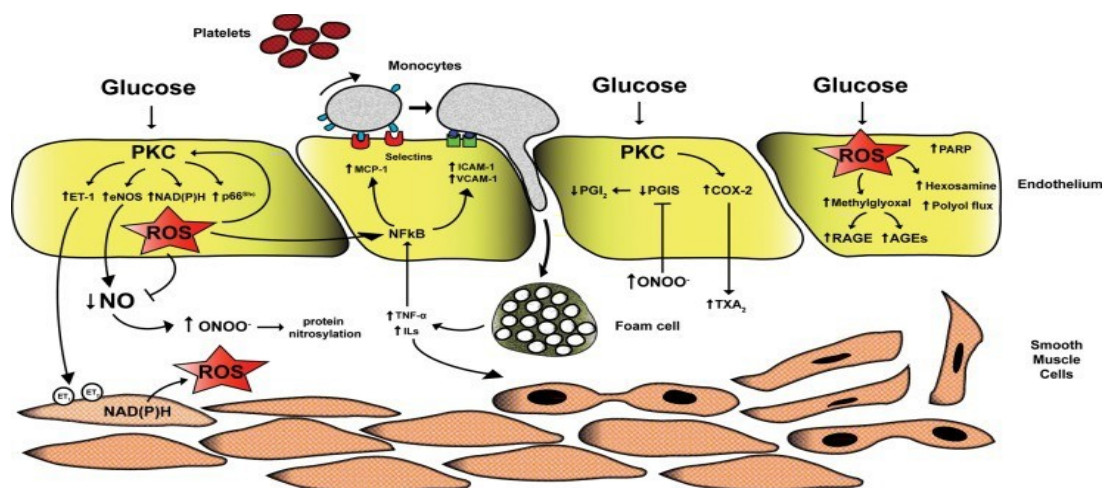
Η μειωμένη διαθεσιμότητα του NO οφείλεται επίσης σε εξαρτώμενη από την PKC απορρύθμιση της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO.

Συγκεκριμένα, η PKC ενεργοποιεί την δράση ενζύμων και έτσι την αποσύζευξη του eNOS που συνεπάγεται περαιτέρω συσσώρευση των ελευθέρων ριζών.

Παράλληλα, η υπεργλυκαιμία μειώνει τη δραστηριότητα του eNOS μειώνοντας τη φωσφορυλίωση σε σερίνη1177 (που δρα ενεργοποιητικά). Συνεπώς η έλλειψη του NO σε συνδυασμό με την επαγόμενη από την υπεργλυκαιμία ενεργοποίηση της PKC προκαλούν αυξημένη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1 ET-1 ευνοώντας τη αγγειοσυστολή και τη συσσώρευση αιμοπεταλίων.

Συσσώρευση των υπεροξειδίων ανιόντων επάγει την αυξημένη έκφραση προφλεγμονωδών γονιδίων όπως MCP-1, VCAM-1 και ICAM-1 μέσω ενεργοποίησης του NF-kB μονοπατιού. Όλα τα παραπάνω οδηγούν στην προσκόλληση των μονοκυττάρων, κύλιση και διαπίδυση με σχηματισμό αφρώδων κυττάρων στην υπο-ενδοθηλιακή στοιβάδα.

Από τα αφρώδη κύτταρα εκκρίνονται φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που διατηρούν την φλεγμονή στα αγγεία καθώς και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων επιταχύνοντας τη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης.



Εικόνα 1 Από (Paneni et al., 2013b)

Σχηματική απεικόνιση της αγγειακής βλάβης από την υπεργλυκαιμία. Η δράση της PKC, των ελευθέρων ριζών οξυγόνου, των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης. Τα παραπάνω προκαλούν αύξηση του NFkB και των VCAM, ICAM, θρομβοξάνης A2 με τελικό αποτέλεσμα την αθηρωματική βλάβη.

Παράλληλα, αυξάνεται η κυκλοξυγενάση 2 και η σύνθεση της θρομβοξάνης 2 και απενεργοποιούνται οι προσταγλανδίνες λόγω αυξημένης νιτροζυλίωσης. Άρα επιτείνεται η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Επίσης, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αυξάνουν τη σύνθεση των μεταβολιτών της γλυκόζης, μεθυλγλυκοξαλικών οδηγώντας στην ενεργοποίηση του AGE/RAGE μονοπατιού καθώς και των μονοπατιών της γλυκοζαμίνης και της πολυόλης (Paneni et al., 2013a).

Στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία τα AGEs σχηματίζουν διάφορα μόρια όπως λιπίδια, κολλαγόνο, λαμινίνη, ελαστίνη και βιτρονεκτίνη. Ο σχηματισμός των μορίων αυτών αλλάζει τη σύσταση της θεμέλιας ουσίας και αυξάνει η σκληρότητα της. Ενεργοποιείται επίσης ο υποδοχέας του TGFb διεγείροντας την κυτταρική ανάπτυξη και οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.

Οι AGEs συνδεδεμένοι με τους υποδοχείς τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούν έναν καταρράκτη ενδοκυττάρων σημάτων ενεργοποιώντας την οξειδάση του NADPH και αυξάνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, p21RAS, MAPK. Οι υποδοχείς των AGEs διεγείρουν επίσης την p38MAPK Rac/Cdc. Ο κύριος στόχος των RAGEs είναι ο NF-κB ο οποίος εισέρχεται στον πυρήνα και επάγει τη μεταγραφή πρωτεϊνών όπως η ενδοθηλίνη-1, ο ICAM-1, E-σελεκτίνη και ο ιστικός παράγοντας.

Τα προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης και οι υποδοχείς τους συνδέονται με μόρια όπως HMGB1 και S100 καλγκρανδουλίνη ενεργοποιώντας μονοπάτια της φλεγμονής.

Οι AGEs μειώνουν τη διαθεσιμότητα σε NO, μειώνοντας τη δραστηριότητα της συνθετάσης του NO και εξαντλώντας τα αποθέματά του.

Παράλληλα, ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα επάγοντας την έκφραση των υποδοχέα «καθαρισμού» των μακροφάγων (MSR), υποδοχείς κλάσης A και υποδοχείς CD36 οδηγώντας σε αυξημένη πρόσληψη της οξειδωμένης LDL και σχηματισμό αφρωδών κυττάρων (Goldin et al., 2006).

Η συσχέτιση του ΣΔΚ με το μεταβολικό σύνδρομο, οδήγησε στην έρευνα και άλλων καταστάσεων που προδιαθέτουν σε μεταβολικό σύνδρομο όπως οι πολυκυστικές ωοθήκες. Βρέθηκε μάλιστα ότι το αίμα του ομφαλίου λώρου νεογνών με ΣΔΚ και νεογνών μητέρων με πολυκυστικές ωοθήκες έχει συγκρίσιμα επίπεδα AGEs και τελικών προϊόντων οξειδωσης και στις δύο καταστάσεις σημαντικά υψηλότερα από τους μάρτυρες. (Boutzios et al., 2013).

Έχει δειχθεί ότι υψηλή γλυκόζη προκαλεί απόπτωση στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω σταδιακής ενεργοποίησης του JNK και της κασπάσης-3. Έρευνες υποθέτουν ότι η κασπάση-12, μεσολαβητής της απόπτωσης στο στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, μπορεί να ενεργοποιήσει την κασπάση-3. Σε πειράματα που εμπόδισαν την ενεργοποίηση της JNK και της κασπάσης-3 σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων που εκτέθηκαν σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης παρατηρήθηκε μειωμένη απόπτωση προκαλούμενη από την υπεργλυκαιμία (Ho et al., 2000).

Επιπλέον, θεραπεία με βιταμίνη C (αντιοξειδωτικό) μειώνει τα επίπεδα του JNK σε κύτταρα που έχουν εκτεθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Η απάντηση του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου σε περίπτωση ενεργοποίησης της JNK κασπάσης 12, η αυξημένη παραγωγή ριζών οξυγόνου σε (ενδοθηλιακά κύτταρα που αποπίπτουν) κύτταρα που εκτίθενται σε γλυκόζη μέσω ενεργοποίησης του JNK και της κασπάσης 3 και την αντιστροφή του φαινομένου σε περίπτωση παρεμπόδισης του JNK/κασπάσης 3 ή σε περίπτωση θεραπείας με αντιοξειδωτικά, υποδεικνύουν ότι το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου κατέχει ιδιαίτερο ρόλο στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου στο διαβήτη.

Ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNFα), γνωστός ενεργοποιητής του JNK μονοπατιού και επαγωγέας της απόπτωσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενεργοποιείται από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου (Chen et al., 2004). Ο TNFα μπορεί με τη σειρά του να ενεργοποιήσει την παραγωγή εκ νέου ριζών οξυγόνου και να μειώσει τη δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (Zhang et al., 2009a). Η ενεργοποίηση του TNFα και η σύνδεσή της με τον υποδοχέα TNFR1 στρατολογεί τον TRAF2 οδηγώντας στη μετέπειτα ενεργοποίηση του NFκB, JNK και των κασπασών που με τη σειρά τους αποφασίζουν για τον θάνατο ή την επιβίωση του κυττάρου. Αυξημένα επίπεδα TRAF2 έχουν βρεθεί σε κύτταρα που εκτίθενται σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης (Zhang et al., 2011). Ο TRAF2 είναι απαραίτητος για την απάντηση των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών που μεσολαβείται από τον IRE1 και μπορεί να είναι σημαντικός παράγοντας για το ρόλο του στρες του ενδοθηλιακού δικτύου στην ενδοθηλιακή βλάβη στο διαβήτη.

Παράλληλα, η p58IPK εμποδίζει την PERK, άρα εμποδίζει και την eIF2a φωσφορυλίωση και επαναφέρει την ομοιόσταση του ενδοπλασματικού δικτύου σε κύτταρα σε στρες.

p58IPK transfection συνοδεύεται από σημαντικά μειωμένη απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων στον αμφιβληστροειδή, μειώνοντας τόσο το mRNA όσο και τα επίπεδα πρωτεΐνης του CHOP και του TNFα σε αμφιβληστροειδή διαβητικών ποντικών, μειώνοντας έτσι και τη διαρροή αγγείων του αμφιβληστροειδή (Yang et al., 2011). Στην περίπτωση β παγκρεατικών κυττάρων, παρατεταμένη έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε αυξημένες συγκεντρώσεις γλυκόζης ενδέχεται να μειώσει την p58IPK οδηγώντας σε μεσολαβούμενη από το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου ενδοθηλιακή βλάβη (Ladiges et al., 2005).

Ενδοθηλιακή απάντηση στην ινσουλίνη στο διαβήτη –ο ρόλος του ER stress

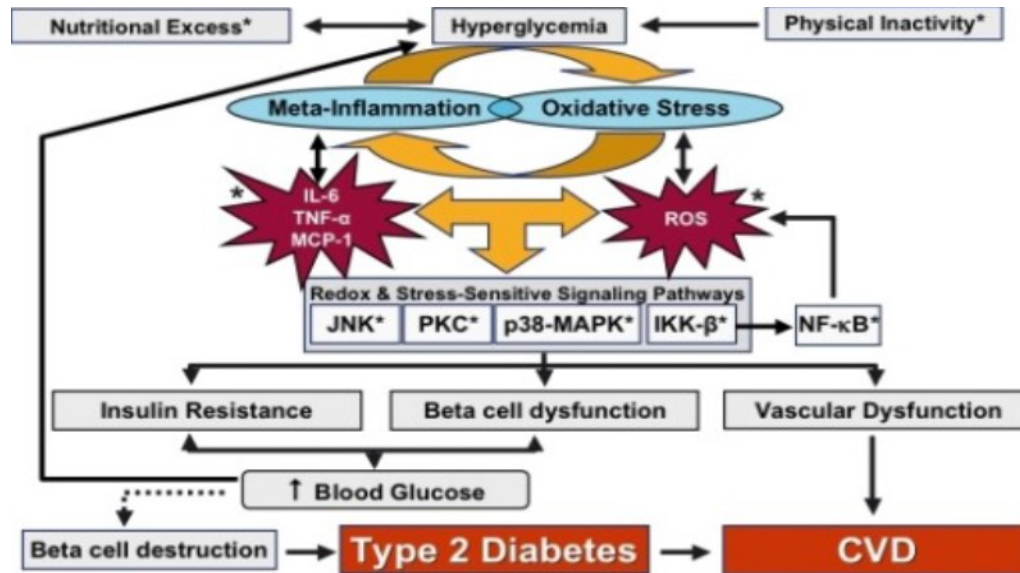
Η αντίσταση του κυττάρου στην ινσουλίνη είναι εκλεκτική όσον αφορά στη φύση και το βαθμό της μεταβολικής, μιτοχόνου, υπέρ της επιβίωσης και αγγειακής δράσης της ινσουλίνης (Roopima et al., 2006). Η προστατευτική δράση της ινσουλίνης συμπεριλαμβάνει τη δυνατότητά της να προστατεύει ενάντια στην απόπτωση και να διεγείρει την παραγωγή του NO. Αύξηση των αναγκών σε πρωτεϊνική αναδίπλωση, μεταφοράς σημάτων (όπως του ασβεστίου) και οξειδωτικού στρες αυξάνει την απάντηση των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών (UPR), οδηγώντας σε μεταγραφή γονιδίων που μεσολαβούν στη φλεγμονή. Η αυξημένη γλυκόζη μπορεί να ενισχύσει περαιτέρω την UPR και τη φλεγμονή, συμβάλλοντας σε αντίσταση στην ινσουλίνη και απόπτωση. Η αντίσταση στην ινσουλίνη που συνδέεται με το ER stress των ενδοθηλιακών κυττάρων μπορεί να ενισχύσει σήματα που προκαλούν φλεγμονή και συμβάλλουν στην αποδιοργάνωση του μεταβολισμού που σχετίζεται με το ΣΔΙΙ και την αγγειακή νόσο. Η JNK και η IκB κινάση (IKK) ενεργοποιούνται (μέσω ενός μονοπατιού ανεξάρτητη από το IRE-1-a) επιπρόσθετα στα προφλεγμονώδη γονίδια, σαν απάντηση στο ER stress (Eizirik et al., 2008). Η ενεργοποιημένη JNK φωσφορυλιώνει κατάλοιπα σερίνης στον IRS-1, καθιστώντας τον με αυτόν τον τρόπο ανενεργό, καθώς και όλο το ενδοκυττάριο μονοπάτι της ινσουλίνης. Αυτό με τη σειρά του οδηγεί στην αντίσταση στην ινσουλίνη μέσω ελλαττωματικής ενδοκυττάριας σηματοδότησης(οδηγώντας σε μείωση της ενεργοποίησης της AKT και μειωμένη παραγωγή NO (Taniguchi et al., 2006).

Απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων ως επακόλουθο της υπεργλυκαιμίας-ο ρόλος του ER stress

Σε περιπτώσεις που το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου δεν επιλύεται με κάποιον μηχανισμό τότε οι μεσολαβητές που εμπλέκονται σε αυτό οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση. Παρόλα αυτά το σημείο στο οποίο ενεργοποιείται ο «αποπτωτικός διακόπτης» δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί. Η απάντηση του ενδοπλασματικού δικτύου σε μη αναδιπλούμενες πρωτεΐνες (προσαρμογή, συναγεργμός και απόπτωση) μεσολαβείται κυρίως μέσω της IRE1 (Xu et al., 2005). Η ενεργοποίηση της IRE1 οδηγεί στην ενεργοποίηση της XBP1(προσαρμογή) του παράγοντα που σχετίζεται με τον TNF-TRAF2 (συναγεργμός μέσω NFκB) και των μονοπατιών JNK και p53 MAPK (απόπτωση μέσω ASK1 και κασπάσης-12) . Η έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης και το επαγόμενο από τη γλυκόζη οξειδωτικό στρες στα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούν την ASK1 (Yokoi et al., 2006). Η ASK1 μπορεί να προκαλέσει ανεπάρκεια του NO (ορόσημο της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στο διαβήτη) μέσω ρύθμισης της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (eNO) (Yamashita et al., 2007). Η ενεργοποίηση της ASK1 που μεσολαβείται από το οξειδωτικό στρες προκαλεί παλίνδρομη ρύθμιση της αντι

αποπτωτικής Bcl-2, διάσπαση του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης και ενεργοποίηση του καταρράκτη της κασπάσης (Yoon et al., 2002).

Το μονοπάτι CHOP/GADD153 ενεργοποιεί την απόπτωση μέσω μείωσης του Bcl-2. Το Bcl-2 είναι γνωστό ότι είναι μειωμένο σε ενδοθηλιακά κύτταρα που εκτίθενται σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης γεγονός που οδηγεί στην αύξηση των ενδοκυττάρων AGE (χαρακτηριστικό της ενδοθηλιακής βλάβης στο διαβήτη)(Risso et al., 2001, Giardino et al., 1996). Συνεπώς η διαμόρφωση των επιπέδων του ASK1 Bcl-2 και ο συσχετισμός του με το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου έχει κεντρικό ρόλο στο διαβήτη.



Εικόνα 2 από (Lamb and Goldstein, 2008)

Η χρόνια υπεργλυκαιμία προκαλεί ένα θετικό ανατροφοδοτικό μηχανισμό μεταξύ διάμεσων τη φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες όπως των TNFα, MCP-1, Il6 και των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Τα παραπάνω ενεργοποιούν σηματοδοτικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν τα JNK, PKC, p38, MAPK, IKK-NFκB. Η ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσλειτουργία των β κυττάρων του παγκρέατος και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων κλείνει το φαύλο κύκλο της υπεργλυκαιμίας και αν αφηθεί χωρίς θεραπεία καταλήγει σε ΣΔΙΙ και καρδιαγγειακή νόσο.

Επιπλοκές διαβήτη σε έμβρυο

Αλλαγές σε εγκυμοσύνη

Παράλληλα, τα επίπεδα των πλακουντιακών στεροειδών και πεπτιδικών ορμονών (πχ οιστρογόνα, προγεστερόνη και χοριονική σωματοτροπίνη) αυξάνονται γραμμικά κατά τη διάρκεια του δευτέρου και τρίτου τριμήνου της κύησης. Επειδή οι ορμόνες αυτές συμβάλουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη, χρειάζεται μεγαλύτερη έκκριση ινσουλίνης κατά τη σίτιση όσο προχωράει η εγκυμοσύνη. Στο τρίτο τρίμηνο τα μέσα επίπεδα ινσουλίνης κατά τη διάρκεια του 24ώρου είναι κατά 50% υψηλότερα από αυτά στη μη εγκυμονούσα γυναίκα.

Εμβρυική υπερινσουλιναιμία-μακροσωμία

Εάν η παγκρεατική απάντηση μέσω έκκρισης ινσουλίνης είναι ανεπαρκής τότε επισυμβαίνει μητρική και εμβρυική υπογλυκαιμία. Συνήθως εκφράζεται με επαναλαμβανόμενα μεταγενετικά επεισόδια υπεργλυκαιμίας. Τα επεισόδια αυτά είναι η κυριότερη αιτία της αυξημένης ανάπτυξης του εμβρύου. Ταυτόχρονα η αιχμή της μητρικής και εμβρυικής υπεργλυκαιμίας συνοδεύεται με κατά ριπές εμβρυική υπερινσουλιναιμία. Η εμβρυική υπερινσουλιναιμία με τη σειρά της προκαλεί εκτεταμένη αποθήκευση ενέργειας που έχει σαν αποτέλεσμα την εμβρυική μακροσωμία. Η κατανάλωση ενέργειας για αυτούς τους σκοπούς συνοδεύεται με τη μετατροπή γλυκόζης σε λίπος προκαλεί εξάντληση των επιπέδων οξυγόνου στο έμβρυο. Αυτά τα επεισόδια εμβρυικής υποξίας συνοδεύονται με αιχμές στην έκκριση κατεχολαμινών οι οποίες με τη σειρά τους συνεπάγονται υπέρταση, καρδιακό ανασχηματισμό (remodeling) και υπερτροφία, ενεργοποίηση της ερυθροποιητίνης, υπερπλασία της ερυθρής κυτταρικής σειράς και αύξηση του αιμοτοκρίτη. Πολυκυτταραιμία (Hb>65%) συμβαίνει σε 5-10% των νεογνών διαβητικών μητέρων. Τα ευρήματα αυτά σχετίζονται με το επίπεδο του γλυκαιμικού ελέγχου και μεσολαβούνται από τη μειωμένη μερική πίεση οξυγόνου. Πολυερυθραιμία στο νεογνό μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα υπεργλοιότητας, κακής κυκλοφορίας και υπερχολερυθριναιμίας.

Κύρια επιπλοκή του διαβήτη που συνδέεται με συμβάματα κατά την περιγεννητική περίοδο είναι η μακροσωμία του εμβρύου (Mitanchez, 2010). Αδυναμία επίτευξης ικανοποιητικού ελέγχου των επιπέδων της γλυκόζης αίματος κατά τη διάρκεια της κύησης συνεπάγεται διαταραχές στο μητρικό μεταβολισμό και διαταραγμένη εμβρυογένεση.(Simpson et al., 1983). Η μητρική υπεργλυκαιμία θεωρείται ο κύριος τερατογόνος παράγοντας ενώ η κετοναίμία, η υπογλυκαιμία και η αύξηση των ελευθέρων ριζών έχουν επίσης ενοχοποιηθεί για τερατογένεση. (Eriksson et al., 2003). Η μακροσωμία εμβρύων γυναικών με ΣΔΚ ορίζεται χρησιμοποιώντας διαφορετικά κριτήρια, όπως βάρος γέννησης μεγαλύτερο από την 90^η εκατοστιαία θέση, βάρος γέννησης πάνω από 4000gr ή/και εκτιμήσεις νεογνικής παχυσαρκίας βασιζόμενη σε μετρήσεις σωματομετρικών μεγεθών. Εκτός από το να επηρεάζει τη μάζα σώματος, ο ΣΔΚ αλλάζει τη σύνθεση του σώματος προκαλώντας παχυσαρκία. (Catalano et al., 1995).

Τα αποτελέσματα της μελέτης HAPO επιβεβαίωσαν τη σχέση μεταξύ γλυκόζης, βάρους γέννησης και παχυσαρκίας υπογραμμίζοντας το ρόλο της ινσουλίνης. Οι πρώιμες εργασίες του Petersen έδειξαν ότι η ινσουλίνη είναι ο κύριος αναβολικός παράγοντας για την ενδομήτρια ανάπτυξη. (Santra et al., 2003). Πολλαπλές μελέτες επιβεβαίωσαν τη σχέση μεταξύ ινσουλίνης ομφαλίου αίματος και εμβρυικής μακροσωμίας τόσο στην αρχή όσο και στο τέλος της εγκυμοσύνης.(Milner and Hill, 1984).

Όταν η παχυσαρκία συνδυάζεται με το ΣΔΚ, επιπρόσθετοι μηχανισμοί διευκολύνουν την εμβρυική παχυσαρκία που σχετίζεται με υπερπροσφορά θρεπτικών στοιχείων στην κυκλοφορία της μητέρας όπως ελευθέρα λιπαρά οξέα και αμινοξέα (Jarvie et al., 2010).

Αλλοιωμένος μεταβολισμός γλυκόζης

Η δραστηριότητα του βιοσυνθετικού μονοπατιού της εξοξαμίνης αυξάνεται στα έμβρυα διαβητικών γυναικών, γεγονός που συμβάλει στο προκαλούμενο από την υπεργλυκαιμία οξειδωτικό στρες (Horal et al., 2004). Η αυξημένη γλυκολυτική εισροή μπορεί να διεγείρει την εισροή γλυκόζης μέσα από το μονοπάτι της εξοξαμίνης στο οποίο η δφωσφορική φρουκτόζη και η γλουταμίνη μετατρέπονται σε 6 φωσφορική γλυκοζαμίνη και γλουταμικό αντίστοιχα.

Οξειδωτικό στρες-αντιοξειδωτικά ένζυμα και πλακούντας

Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (total antioxidant capacity TAC) θεωρείται μέτρο της ικανότητας απορρόφησης των ελευθέρων ριζών οξυγόνου ή της ικανότητας του δείγματος να εμποδίζει την οξειδωτική αντίδραση. Ωστόσο δεν αντανακλά πάντα όλα τα κύρια αντιοξειδωτικά. Σε κάποιες εργασίες δε φαίνονται διαφορές στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μητρικού πλάσματος μεταξύ γυναικών με ΣΔΚ και μαρτύρων (Biri et al., 2006). Όταν όμως η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα διορθώθηκε για το ουρικό οξύ (το οποίο είναι ο κύριος ρυθμιστής της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας), τότε φάνηκε σαφώς μειωμένη στις γυναίκες με ΣΔΚ σε σχέση με τους μάρτυρες τόσο στο δεύτερο όσο και στο τρίτο τρίμηνο της κύησης.

Ο πλακούντας στο ΣΔΚ σχετίζεται με αυξημένη έκφραση της οξειδάσης της ξανθίνης, μαλονυλοναδελικό οξύ, πρωτεϊνικό καρβονύλιο. Ομοίως η έκκριση 8-ισοπραστάνης είναι αυξημένη σε πλακούντες γυναικών με ΣΔΚ συγκριτικά με μάρτυρες (Coughlan et al., 2004).

Οι συγκεντρώσεις των ενεργών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος (προϊόν υπεροξειδωσής των λιπών) είναι αυξημένες στο φθαρτό, τον πλακούντα και τα έμβρυα αλλά η υπεροξειδωση των λιπών είναι μεγαλύτερη στον φθαρτό από τον πλακούντα και πάλι μεγαλύτερη στον πλακούντα από τα έμβρυα γεγονός που δείχνει τον προστατευτικό ρόλο του πλακούντα στο οξειδωτικό στρες. Δεδομένα από έρευνες της Lappas et al δείχνουν ότι ο πλακούντας σε ΣΔΚ έχει μικρότερη ικανότητα να ανταποκριθεί στο οξειδωτικό στρες. Για να ανταπεξέλθει στις ανάγκες ο πλακούντας σε ΣΔΚ αυξάνει τη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αν και αναφέρεται μειωμένη δραστηριότητα καταλάσης σε πλακούντες ΣΔΚ σε άλλες έρευνες έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση καταλάσης και GSR mRNA σε σχέση με μάρτυρες. Επίσης η δραστηριότητα υπεροξειδικής δισμουτάσης είναι μεγαλύτερη σε πλακούντα ΣΔΚ (Lappas et al., 2010). Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερης σημασίας αφού το ένζυμο αυτό έχει επιλεκτική συγκέντρωση στα τροφοβλαστικά κύτταρα μέσα στον πλακούντα και έτσι υπηρετούν ως ένα αντιοξειδωτικό στην εμβρυομητρική επιφάνεια.

Ο σχετικός λόγος CuZnSOD προς 8-ισοπραστάνη ή προς πρωτεϊνικό καρβονύλιο είναι χαμηλότερος σε πλακούντες ΣΔΚ υποδηλώνοντας ότι η αύξηση της υπεροξειδικής δισμουτάσης δεν επαρκεί για να αντιμετωπιστεί το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο (Wang and Walsh, 2001).

Επίσης αυξημένα είναι τα επίπεδα του TXNIP (thioredoxin reacting protein πρωτεΐνη που αντιδρά με τη θειορεδοξίνη και εμπλέκεται στην απάντηση στο οξειδωτικό στρες, σε πλακούντες ποντικών με ΣΔΚ (Yu et al., 2008).

Μελέτες στα μιτοχόνδρια πλακούντων γυναικών με ΣΔΚ κατέδειξαν την ευεργετική επίδραση του ασκορβικού οξέος στην υπεροξειδωση των λιπών. Το ασκορβικό και η α-τοκοφερόλη του πλακούντα εμποδίζουν την απελευθέρωση των υπεροξειδίων των λιπών από τα μιτοχόνδρια (Milczarek et al., 2000).

Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες στην παθοφυσιολογία του ΣΔΚ στον πλακούντα επιτείνεται από το πλήθος των αντιοξειδωτικών ουσιών οι οποίες αυξάνονται στο ΣΔΚ. Ωστόσο υπάρχουν αρκετά δεδομένα που δείχνουν ότι ο μητρικός διαβήτης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης επάγει το οξειδωτικό στρες στο νεογνό και είναι υπεύθυνος για διάφορες βιοχημικές διαταραχές στο έμβρυο (Myatt and Cui, 2004, Ryu et al., 2007).

Πριν το σχηματισμό του πλακούντα και παρά το υποξικό περιβάλλον κατά τα πρώτα στάδια της οργανογένεσης, υπάρχει αύξηση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, όπως φαίνεται από τα υψηλά επίπεδα ισοπραστάνης και πρωτεϊνικών καρβονυλίων σε έμβρυα διαβητικών αρουραίων (Viana et al., 2000, Cederberg et al., 2001)

NO

Παρότι η μείωση της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO συνδέεται με την ενδοθηλιακή βλάβη στο ΣΔ, η αύξηση της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO μπορεί να προκληθεί επίσης από υπερβολική αύξηση του NO σε ΣΔ οδηγώντας επίσης σε αλλαγές στη συγκέντρωση του NO. Η παραγωγή του NO είναι αυξημένη στον πλακούντα, πλακουντιακές φλέβες και αρτηρίες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας σε ασθενείς με ΣΔΚ. (Sobrevia et al., 1995) (von Mandach et al., 2003) αν και κάποιες άλλες μελέτες δεν βρίσκουν διαφορές. Επίσης η συγκέντρωση της συνθετάσης του NO (NOS) μεταβάλλεται. Έχει βρεθεί αυξημένη iNOS στον πλακούντα και αυξημένη eNOS στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας σε ΣΔΚ (Schonfelder et al., 1996, San Martin and Sobrevia, 2006).

Παρατηρήθηκε έκφραση της οξειδάσης του NADPH (NOX1) σε συγκυτιοτροφοβλάστη, στο ενδοθήλιο των λαχνών και σε στρωματιά κύτταρα του πλακούντα (Cui et al., 2006). Η οξειδάση του NADPH θεωρείται ότι αποτελεί την κύρια ενζυματική πηγή των υπεροξειδίων του πλακούντα. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση της οξειδάσης της ξανθίνης (XO) εκφράζεται στον πλακούντα. Έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της ενεργής οξειδάσης της ξανθίνης είναι υψηλότερα σε αίμα ομφαλίου λώρου που λαμβάνεται από έμβρυα γυναικών με ΣΔΚ δείχνοντας έτσι τον αυξημένο σχηματισμό ελευθέρων ριζών οξυγόνου σε αυτά.

Η αύξηση αυτή των ROS μαζί με την ανεπαρκή αντιοξειδωτική δραστηριότητα και τα αυξημένα επίπεδα των ελευθέρων νιτρικών ριζών έχουν σαφώς ενοχοποιηθεί για τις εμβρυϊκές ανωμαλίες (Eriksson, 2009, Jawerbaum and Gonzalez, 2005).

Εμφύτευση

Μεταλλοπρωτεάσες

Η ανάπτυξη του πλακούντα προϋποθέτει κατάλληλη διείσδυση της τροφοβλάστης και ανάπλαση των ιστών, διαδικασίες που εμπλέκουν μεταλλοπρωτεάσες MMP (πρωτεάσες που αποδόμουν διάφορα συστατικά στοιχεία της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας). Μέλη της οικογένειας των μεταλλοπρωτεασών περιλαμβάνουν τις κολλαγενάσες, γελατινάσες, στρωματολυσίνες, και μεμβρανώδεις μεταλλοπρωτεάσες. Το οξειδωτικό στρες είναι ισχυρός ενεργοποιητής των μεταλλοπρωτεασών. Τόσο οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου όσο και το NO διαρρηγνύουν δεσμούς κυστεΐνης που κρατούν σε ανενεργή κατάσταση τις πρόδρομες μορφές των μεταλλοπρωτεασών οδηγώντας σε ενεργοποίηση διαφόρων μεταλλοπρωτεασών όπως οι γελατινάσες, οι MMP-2 και οι MMP-9 (Maeda et al., 1998, Pustovrh et al., 2005). Το H₂O₂ επιτείνει την δραστηριότητα των MMP στη μητρική πλευρά του πλακούντα και στο έμβρυο, όπως φαίνεται σε μελέτες σε διαβητικά ποντίκια (Pustovrh et al., 2005). Αντίθετα η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) μειώνει τη δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεασών στη μητρική και εμβρυϊκή πλευρά του πλακούντα σε διαβητικά ποντίκια και το αντιοξειδωτικό N-ακετυλ-κυστεΐνη μειώνει τη δραστηριότητα του MMP-9 στον ανθρώπινο πλακούντα.

Φυσιολογική πλακουντοποίηση προϋποθέτει διείσδυση των μητρικών σπειροειδών αρτηριών της τροφοβλάστης, δημιουργία υψηλής ροής-χαμηλής αντίστασης μητροπλακουντιακής κυκλοφορίας. Η διείσδυση της τροφοβλάστης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως κυτταροκίνες και αυξητικοί παράγοντες, συνδετικά μόρια, μεταλλοπρωτεάσες και μερική τάση του οξυγόνου (Lunghi et al., 2007, Whitley and Cartwright, 2010). Όπως έχουμε αναφέρει το οξειδωτικό στρες και το στρες από νιτρικά επηρεάζει τους παραπάνω παράγοντες και άρα και την πλακουντοποίηση. Βεβαίως η δυνατότητα της τροφοβλάστης να διεισδύει στη μήτρα εξαρτάται από την παραγωγή NO κατά την εμφύτευση και κατά τη διάρκεια της διαμόρφωσης των

μητροπλακουντιακών αρτηριών (Thaler and Epel, 2003, Kaufmann et al., 2003). Το NO που προέρχεται από την τροφοβλάστη φαίνεται ότι χρησιμεύει στη διαστολή των αγγείων και τη δεκτικότητα της μήτρας στη διείσδυση της τροφοβλάστης. Ο ρόλος του eNOS στην τροφοβλάστη υπογραμμίζεται από την παρουσία αυτής της συνθετάσης στη λαχνώδη και λαβυρινθώδη κυτταροτροφοβλάστη, το εμβρυοπλακουντιακό ενδοθήλιο, κυτταρικές σειρές αγκυρωδών λαχνών και τη διεισδυτική κυτταροτροφοβλάστη (Valdes et al., 2009). Ωστόσο η υπερπαραγωγή του NO μπορεί επίσης να προκαλέσει απόπτωση της τροφοβλάστης αν και αυτή σχετίζεται περισσότερο με το NO που παράγεται από την iNOS (Yuan et al., 2009). Πράγματι, η iNOS ο ισότυπος που σχετίζεται κυρίως με την υπερπαραγωγή του NO- εκφράζεται επίσης στο πλακουντιακό μικροαγγειακό ενδοθήλιο, τη συγκυτιοτροφοβλάστη και την κυτταροτροφοβλάστη και συσχετίζεται με αλλοιώσεις στην εμβρυοπλακουντιακή κυκλοφορία σε παθολογικές συνθήκες (Escudero and Sobrenia, 2008). Επίσης η νιτροζυλίωση των μεταλλοπρωτεασών στο άκρο της μεταναστευτικής τροφοβλάστης έχει συσχετιστεί με την έκφραση του iNOS και σχετίζεται με τη διαδικασία της διείσδυσης της τροφοβλάστης (Harris et al., 2008). Τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι η διείσδυση της τροφοβλάστης και ο ανασχηματισμός των μητροπλακουντιακών αρτηριών είναι διαδικασίες με υψηλή συσχέτιση με το επαγόμενο από την υπεργλυκαιμία οξειδωτικό και νιτρικό στρες.

Αγγειογένεση σε ΣΔΚ

Αφού η έκφραση των αγγειογενετικών παραγόντων, όπως και της ίδιας της αγγειογενετικής διαδικασίας βρίσκονται υπό τον έλεγχο της γλυκόζης, της ινσουλίνης και της υποξίας (Hadjipanayi and Schilling, 2013, Brocato et al., 2014, Chen and Zheng, 2014, Cvitic et al., 2014), η αγγειογένεση στο επίπεδο της εμβρυοπλακουντιακής μονάδας θα είναι ευάλωτη στις μεταβολές ενός διαβητικού περιβάλλοντος, όπως στο ΣΔΚ ή στον προϋπάρχοντα ΣΔ. Εκτός από την ενεργοποίηση αγγειογενετικών παραγόντων, η ενεργοποίηση των ERS και UPR μονοπατιών (Paridaens et al., 2014) και της δυσλιπιδαιμίας (Oh et al., 2016), συμβάλλει στη φυσιολογική και παθογενετική αγγειογένεση του ανθρώπινου πλακούντα.

Επειδή ο πλακούντας είναι το όργανο μέσω του οποίου γίνεται ανταλλαγή αναπνευστικών αερίων, θρεπτικών ουσιών και αποβλήτων μεταξύ της μητέρας και του εμβρύου, θεωρείται ότι η ανάπτυξη του πλακουντιακού αγγειακού δικτύου διαδραματίζει ένα κεντρικό ρόλο, εξασφαλίζοντας επαρκή διαπλακουντιακή ανταλλαγή και συνεπώς καθορίζοντας το βάρος του εμβρύου στη γέννηση. (Reynolds and Redmer, 1995, Wulff et al., 2003, Kaufmann et al., 2004).

Για την ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου όπως είδαμε είναι απαραίτητη η κατάλληλη χρονική και ποσοτική παρουσία διαφόρων αυξητικών και μεταγραφικών παραγόντων. Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, (όπως συμβαίνει κατά την εγκυμοσύνη με ΣΔΚ, αλλά και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις), επηρεάζεται η πλακουντιακή έκφραση διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων (Pereira et al., 2015)

Τελικά, ο πλακούντας σε ΣΔΚ έχει διαταραχές τόσο στην έμφύτευση όσο και τα την πρόοδο της κύησης, με εμφανή παθολογοανατομικά ευρήματα ανωριμότητα χοριακών λαχνών, ινική νέκρωση και χοριοαγγείωση με αποτέλεσμα υποξία εμβρύου και παρουσία εμπύρηνων ερυθρών. (Daskalakis et al., 2008)

Ets(E26 transformation specific oncogene homologue 1)

Ο μεταγραφικός παράγοντας Ets1 αυξάνεται με την υποξία και την παρουσία ROS και ρυθμίζει την αγγειογένεση και τη διείσδυση συνεπώς έχει κεντρικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία του πλακούντα (Wilson et al., 2005a, Oikawa et al., 2001a). Γενικά τα μέλη της

οικογένειας των Ets συνδέονται με κυτταρικές λειτουργίες όπως η απόπτωση και η κυτταρική διαφοροποίηση (Teruyama et al., 2001) (Ramirez et al.). Άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες όπως ο Nrf2 διεγείρουν τον Ets1 σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο μαζί του που συσχετίζεται με το ARE (antioxidant response element) (Wilson et al., 2005b). Σε συνθήκες υποξίας ο HIF αυξάνει επίσης την έκφραση του Ets1 (Oikawa et al., 2001b). Ο Ets1 επάγεται από το οξειδωτικό στρες και αυτός με τη σειρά του επάγει τον VEGF και αλληλεπιδρά με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο HIF ρυθμίζοντας την έκφραση του υποδοχέα του VEGF 2 (Hashiya et al., 2004, Elvert et al., 2002). Αντίστροφα, ο VEGF επάγει την έκφραση του Ets1 σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας και μετά ενώνεται στον υποκινητή της αγγειοποιητίνης 2 αυξάνοντας την έκφρασή της και αποσταθεροποιεί τα αγγεία για την αγγειογένεση (Hasegawa et al., 2004). Ο Ets1 αυξάνει την έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης της θεμέλιας ουσίας MMP9 και του uPA που όπως είδαμε έχουν κεντρικό ρόλο στην διείσδυση (Dittmer, 2003).

Kruppel-like –factor 8 (KLF-8)

Ο Kruppel-like –factor 8 (KLF-8) είναι παράγοντας που διευκολύνει την κυτταρική διαφοροποίηση και την αγγειογένεση (Wang et al., 2007). Έχει κυρίως μελετηθεί σε καρκίνους και η δράση του φαίνεται να έχει σημασία για τη διείσδυση και τη μετάσταση (Wang et al., 2007). Κατάσταση υποξίας επαναιμάτωσης φαίνεται να μειώνει την έκφραση και τον συνεντοπισμό του KLF8 που έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση του MMP9 και άρα της διείσδυσης της τροφοβλάστης (Yang et al., 2014). Η υποξία-επαιμάτωση οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών οι οποίες ρυθμίζουν τις πρωτεϊνικές κινάσες C PKC (Klann et al., 1998). Αφού οι KLF8 αποτελούν σημείο δέσμευσης για τον PKC και ο KLF8 επηρεάζει τη MMP9, φαίνεται ότι η ρύθμιση της MMP9 είναι εξαρτώμενη από την PKC. Σε προεκλαμπτικούς πλακούντες έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση του KLF και της MMP9.

Ο KLF8 έχει ένα ρόλο στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων μέσω 3T3-L1 δρώντας ως υποκινητής του PPARγ (Lee et al., 2012) που είναι κεντρικός μεσολαβητής της πλακουντιακής αγγειογένεσης.

NFκB

Ο NFκB είναι ίσως ο πιο μελετημένος μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με οξειδωτικό στρες. Οι ελεύθερες ρίζες αυξάνουν τον NFκB οδηγώντας στην αύξηση των παραγόντων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση (Shono et al., 1996, Tan et al., 2009). Προσθήκη H₂O₂ σε ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλεί αυξημένη έκφραση του VEGFR2 mRNA μέσω αύξησης του NFκB. Αντίστροφα ο NFκB επάγεται από αγγειογενετικούς παράγοντες όπως ο VEGF (Gonzalez-Pacheco et al., 2006).

Ο NFκB μπορεί να επηρεάσει την αγγειογένεση και μέσω της ρύθμισης κυτταροκινών όπως η IL8 και η IL6 (Bonavia et al., 2012, Wani et al., 2011). Το H₂O₂ αυξάνει τα επίπεδα του NFκB στο κύτταρο και αυξάνει τη δέσμευση του NFκB στο DNA οδηγώντας σε αύξηση παραγωγής των IL8 και το σχηματισμό σωληνόμορφων αγγειακών σχηματισμών (Shono et al., 1996). Οι κυτταροκίνες μπορεί να ρυθμίσουν την αγγειογένεση δρώντας απ' ευθείας στην κυτταρική ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση και έμμεσα μέσω επαγωγής και δευτερευόντων κυτταροκινών και αγγειογενετικών παραγόντων (Tartour et al., 2011).

Ο NFκB βρίσκεται αυξημένος σε παχύσαρκα πρόβατα και σε παχύσαρκες γυναίκες (Zhu et al., 2010, Saben et al., 2014).

NF –E2-related factor 2 (Nrf2)

Ο NF –E2-related factor 2 (Nrf2) είναι μεταγραφικός παράγοντας που εμπλέκεται στη ρύθμιση της μη μιτοχονδριακής και μιτοχονδριακής άμυνας στο οξειδωτικό στρες (Jaiswal, 2004, Ducluzeau et al., 2011). Ο Nrf2 συνεργάζεται με την Keltch-like-ECH-associated protein 1 (Keap-1) και συνδέονται με την απάντηση στο οξειδωτικό στρες σε ιστούς όπως τα λιποκύτταρα και τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος (Chartoumpakis and Kensler, 2013, Garbin et al., 2009). Αυξημένη έκφραση του Nrf2 έχει συσχετιστεί με προεκλαμψία και ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (Kweider et al., 2012). Ο Nrf2 συσχετίζεται με το προαγγειογενετικό δυναμικό των ενδοθηλιακών κυττάρων και επάγεται σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Πιστεύεται ότι η προαγγειογενετική δράση του Nrf2 επιτυγχάνεται μέσω τροποποίησης γνωστών παραγόντων όπως ο VEGF σαν απάντηση στο οξειδωτικό στρες. Σε πλακούντες γυναικών με προεκλαμψία και έμβρυα με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης βρέθηκε προβληματική αύξηση του Nrf2 και μειωμένα επίπεδα VEGF καθώς και αυξημένα επίπεδα 4υδρόξυ nonenal (δείκτης οξειδωτικού στρες)(Florczyk et al., 2014, Zhang et al., 2013b)

specifity protein 1(Sp1) και η specifity protein 3 (Sp3)

Οι specifity protein 1(Sp1) και η specifity protein 3 (Sp3) είναι πρωτεΐνες ψευδαργύρου με άφθονη έκφραση στους περισσότερους τύπους κύτταρων των θηλαστικών και σχετίζονται με επαγωγή πρωτεϊνών μέσω σύνδεσης στους υποκινητές σε περιοχές GC. Έχει βρεθεί συσχέτιση τους με τη ρύθμιση του VEGFR2 σε όγκους παγκρέατος (Xie et al., 2004, Higgins et al., 2006). Επίσης, ο Sp3 συνδέεται με τη ρύθμιση του VEGF, ενώ ο Sp1 συνδέεται με τη ρύθμιση αναστολέων των μεταλλοπρωτεασών TIMP-2, που τελικά ρυθμίζουν τη διεύθυνση της τροφοβλάστης και τον αγγειακό μετασχηματισμό(Pages, 2007).

πρωτεΐνες STAT-3 (signal transducer and activator of transcription 3)

Οι πρωτεΐνες STAT-3 (signal transducer and activator of transcription 3) ανήκουν σε μια ομάδα μεταγραφικών παραγόντων που ρυθμίζουν την παραγωγή κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. Το σηματοδοτικό μονοπάτι JAK-STAT αποτελείται από 3 συνιστώσες.

- Υποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια JanusKinase (JAK)
- Δύο μεταφορείς σημάτων Signal Transducer and Activator of Transcription STAT proteins

Ερεθίσματα όπως κυτταροκίνες, ιντερλευκίνες, ιντερφερόνες και αυξητικοί παράγοντες προσδένονται στον υποδοχέα αυξάνουν τη δραστηριότητα κινάσης που έχει και αυτός φωσφορυλιώνει κατάλοιπα τυροσίνης στο μόριο του δημιουργώντας θέσεις πρόσδεσης με τις STAT οι οποίες ενεργοποιημένες μεταβαίνουν στον πυρήνα και μεταγράφουν γονίδια που αφορούν στον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την ανοσία, την απόπτωση και την ογκογένεση.

Φαίνεται ότι ο STAT-3 απαντά στις ενεργές ρίζες αζώτου και ρυθμίζει την κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό (Platt et al., 2005). Επίσης εμπλέκονται στην απόσβεση του οξειδωτικού στρες στο μιτοχόνδριο (Yang et al., 2013b). Ο STAT-3 απαντά στα ερεθίσματα όπως το οξειδωτικό στρες και οι κυτταροκίνες με ρύθμιση του VEGF, των MMP2, MMP9 και uPA (Busch et al., 2009). Αντίστροφα ενεργοποίηση του STAT-3 επάγεται από τον TNFα και έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση του STAT-3 σε γυναίκες με προεκλαμψία και σχετίζεται με μειωμένη διεύθυνση τροφοβλάστης (Aye et al., 2014, Weber et al.) .

Αγγειοδιαστολή πλακουντιακών αγγείων μέσω CGRP

Η πρωτεΐνη CGRP (calcitonin gene related peptide) είναι μέλος της οικογένειας των πεπτιδίων καλτσιτονίνης. Παράγεται στους κεντρικούς και τους περιφερικούς νευρώνες και δρα ως ισχυρό αγγειοδιασταλτικό, ενώ κατέχει επίσης κεντρικό ρόλο στην αλγαισθησία. Σε μελέτες πειραματοζώων βρέθηκε μειωμένη ισχύ της αγγειοδιαστολής των χοριοδικών αγγείων τόσο σε LGA όσο και σε IUGR έμβρυα με παράλληλη αλλαγή των επιπέδων αντιοξειδωτικών ενζύμων NOX-4, SOD-1 and GPx-1. (Schneider et al., 2015)

Μεταφορά μέσω πλακούντα

Η μητρική παχυσαρκία και ο διαβήτης είναι δύο κλινικές οντότητες που σχετίζονται με αυξημένη προσφορά θρεπτικών ουσιών στον πλακούντα. Η υπερπροσφορά των θρεπτικών στοιχείων έχει σαν συνέπεια την υπέρμετρη αύξηση του εμβρύου. Όσον αφορά στη μεταφορά των αμινοξέων φαίνεται να αυξάνεται η δραστηριότητα του συστήματος A αλλά όχι του συστήματος L στη μικρολαχνώδη μεμβράνη του πλακούντα σε παχύσαρκες εγκύους που γέννησαν μεγάλα βρέφη στη Σουηδία. Επιπλέον σε μελέτη στη Σουηδία η δραστηριότητα του συστήματος A μεταφοράς αμινοξέων σε γυναίκες με τύπου I διαβήτη (ανεξάρτητα από το βάρος του βρέφους) καθώς και η μεταφορά του αμινοξέος λευκίνη σε γυναίκες με ΣΔΚ φαίνεται αυξημένη. Ωστόσο σε πληθυσμιακές μελέτες η δραστηριότητα του συστήματος A φαίνεται μειωμένη και η δραστηριότητα του συστήματος L χωρίς μεταβολή σε εγκυμοσύνες διαβήτη τύπου I και έμβρυα αυξημένου βάρους. Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται σε μεθοδολογικά προβλήματα. Η δραστηριότητα του συστήματος μεταφοράς της γλυκόζης φαίνεται αυξημένη σε γυναίκες με διαβήτη τύπου I.

Πρέπει να γίνει κατανοητό ότι ο επαρκής γλυκαιμικός έλεγχος στη μητέρα δεν αποτρέπει τη εμφάνιση υπεργλυκαιμίας στο έμβryo. Και αυτό συμβαίνει γιατί η εμβρυική υπερινσουλιναμία διεγείρει το μεταβολισμό της γλυκόζης στο έμβryo, αυξάνει την κλίση συγκέντρωσης και συνεπώς την υποκλοπή γλυκόζης από τη μητέρα (Nolan and Proietto, 1994). Το αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες στο μεταβολισμό γλυκόζης του πλακούντα δεν είναι πλήρως γνωστό. Ωστόσο σε μη διαβητικούς ιστούς, υπάρχουν αρκετά δεδομένα που δείχνουν ότι το οξειδωτικό στρες ρυθμίζει την πρόσληψη γλυκόζης που εξαρτάται από τους μεταφορείς GLUT1 και/ή GLUT3. Έτσι υποθέτουμε ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να επηρεάζει θετικά ή αρνητικά τη μεταφορά γλυκόζης στον πλακούντα άρα να επηρεάζει και το ποσό γλυκόζης που προσλαμβάνεται από το έμβryo. Πλακούντες από μη διαβητικά άτομα παρουσιάζουν μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης σε απάντηση σε HX/XO, η οποία όμως αποκαθίσταται σε συν-επίθεση με αντιοξειδωτικά. Αντίθετα, σε διαβητικούς πλακούντες η HX/XO δεν έχει καμία επίδραση στην πρόσληψη γλυκόζης.

Η υπερέκφραση της θειορεδοξίνης 1 μειώνει το οξειδωτικό στρες στον πλακούντα ποντικών και επιτείνει την κυτταρική αύξηση, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα γλυκόζης (μέσω αύξησης της έκφρασης του GLUT1 (Umekawa et al., 2008). Ο μητρικός ΣΔΚ, αλλά όχι η παχυσαρκία, συνδέεται με μειωμένα επίπεδα IRS-1 και GLUT4 στον πλακούντα. Αντίθετα από το μητρικό λιπώδη ιστό και τους μύες, η πρωτεϊνική έκφραση του p85 PI3K ήταν μειωμένη. Συμπερασματικά σε εγκυμοσύνες που επιπλέκονται με ΣΔΚ υπάρχει ελλαττωματική έκφραση του μονοπατιού της ινσουλίνης στον υποδοχέα και στο επίπεδο μετά τον υποδοχέα. (Colomiere et al., 2009). Το οξειδωτικό στρες φαίνεται ότι μειώνει την έκφραση των IRS-1 και GLUT4, μέσω πρωτεϊνικής αποδόμησης (IRS-1) και μείωσης της γονιδιακής έκφρασης (GLUT4). Τα παραπάνω υποθέτουν ότι οι αλλαγές που σχετίζονται με τον ΣΔΚ στους μητρικούς ιστούς και τον πλακούντα είναι αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες.

Επίσης οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, που έχουν εκτός από την προφλεγμονώδη και προ οξειδωτική επίδραση στον πλακούντα, είναι αυξημένες σε εγκυμοσύνες με ΣΔΚ (Lappas et al., 2004). Έχουν δε σαν αποτέλεσμα, την αύξηση της ινσουλινικής σηματοδότησης μέσω GLUT4 και άρα την πρόσληψη γλυκόζης από τον πλακούντα, ενώ στον λιπώδη ιστό προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη στο λιπώδη ιστό καθιστά τη γλυκόζη διαθέσιμη για πρόσληψη από τον πλακούντα και συνεπώς περισσότερη γλυκόζη διαθέσιμη για μεταφορά στην εμβρυική κυκλοφορία γεγονός που έχει σαν αποτέλεσμα μεγάλου βάρους γέννησης νεογνών.

Μεταβολισμός των λιπαρών οξέων στον πλακούντα.

Το οξειδωτικό στρες στις γυναίκες με ΣΔΚ προάγει τη φλεγμονή. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες δρουν με το ενδοκρινικό πρότυπο, αυξάνοντας την πρόσληψη λιπαρών οξέων από τη ΜΥΜ(, την εξωκυττάρια λιπόλυση των τριγλυκεριδίων και/ή την αποθήκευση των λιπαρών οξέων. Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν σε μεγαλύτερη μεταφορά λιπαρών οξέων στην εμβρυική κυκλοφορία. Επιπρόσθετα οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες μπορούν να αυξήσουν την οξείδωση των λιπαρών οξέων γεγονός που παίζει ρόλο στη χρήση τους ως πηγή ενέργειας. Οι λιποκυτταροκίνες μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν την δραστηριότητα του NF-kB. Η αυξημένη διαθεσιμότητα των λιπών στο έμβρυο έχει τόσο άμεσα (μεγαλύτερου βάρους γέννησης μωρά) όσο και πιο μακροχρόνια αποτελέσματα (παχυσαρκία/διαβήτης σε ενήλικο ζωή).

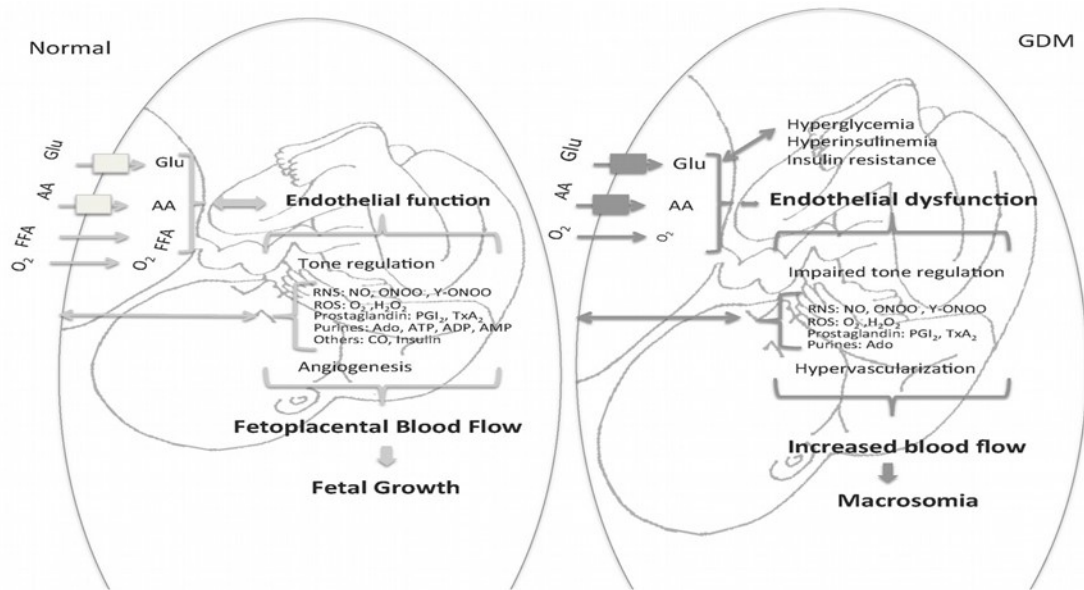
Η δραστηριότητα της πλακουντιακής λιποπρωτεϊνικής λιπάσης αναφέρεται αυξημένη σε ΣΔΙ και σχετίζεται με εμβρυική υπερτροφία. Επιπλέον, αναφέρεται ότι η πρωτεϊνική έκφραση της FABP1 βρίσκεται αυξημένη σε πλακούντες γυναικών τόσο με ΣΔΚ όσο και με ΣΔΙ οι οποίες γέννησαν μωρά με μεγάλο βάρος γέννησης. Συνολικά τα παραπάνω ευρήματα υποθέτουν μια αύξηση στη δυνατότητα μεταφοράς αμινοξέων, γλυκόζης και λιπιδίων μέσω του πλακούντα, στο έμβρυο στη μητρική παχυσαρκία και το διαβήτη, που σχετίζεται με εμβρυική υπερτροφία. Ωστόσο δεν είναι τόσο σταθερά όσο στα IUGR έμβρυα, ιδίως όσον αφορά στη μεταφορά των αμινοξέων. Είναι γνωστό ότι η κυκλοφορούσα αδιπνεκτίνη συσχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με το BMI, αντιπροσωπεύοντας ένα σημαντικό στοιχείο θρέψης που φέρει πληροφορίες για το μητρική θρεπτική κατάσταση. Τα περισσότερα δεδομένα δείχνουν ότι η δυνατότητα μεταφοράς ελεύθερων λιπαρών οξέων και πιθανώς γλυκόζης μέσω του πλακούντα αυξάνεται σε διαβητικές μητέρες ιδίως σε περιπτώσεις εμβρυικής υπερτροφίας. Έτσι οι διαθέσιμες πληροφορίες από την ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης και από την εμβρυική υπερτροφία σε ανθρώπους βρίσκονται σε γενική συμφωνία με το μοντέλο της μητρικής επάρκειας για τη ρύθμιση της πλακουντιακής μεταφοράς.

Ο υποδοχέας της οξειδωμένης LDL που ομοιάζει με λεκτίνη (OLR1) είναι ο κύριος φορέας υπεύθυνος για την πρόσληψη της οξειδωτικά τροποποιημένης LDL από τον πλακούντα. Η πρωτεϊνική έκφραση του υποδοχέα OLR1 είναι αυξημένη στον πλακούντα ΣΔΚ. Η απολιποπρωτεΐνη D είναι αντιοξειδωτικό συστατικό της HDL και βρίσκεται επίσης αυξημένη σε πλακούντα ΣΔΚ (Navarro et al., 2010). Τα τροφοβλαστικά κύτταρα και τα κύτταρα των λαχνών είναι θετικά για την πρωτεΐνη ApoD συνεπώς έχουν ένα ρόλο ηθμού στη διήθηση προϊόντων υπεροξειδωσης των λιπών στην εμβρυοπλακουντιακή μονάδα. Αυτό συνάδει με τα αυξημένα επίπεδα αραχιδονικού οξέος και δεκοσανοξικών οξέων που παρατηρούνται σε πλακούντες ΣΔΚ (Bitsanis et al., 2006).

Φλεγμονώδη κύτταρα

Στον πλακούντα εδράζονται μακροφάγα, γνωστά ως κύτταρα του Hofbauer που χαρακτηρίζονται από το αντιφλεγμονώδες προφίλ τους και χρησιμεύουν για την εντόπιση αλλοιώσεων του

μικροπεριβάλλοντος του πλακούντα. Σε περιπτώσεις υπεργλυκαιμίας, παρατηρήθηκε μια ανισορροπία μεταξύ προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών δεικτών στα μακροφάγα. Η υψηλή γλυκόζη ενεργοποιεί γονίδια που ανήκουν στα μονοπάτια της TLR (Toll like receptor)-εξαρτώμενης φλεγμονής και τα μακροφάγα του πλακούντα παράγουν περισσότερες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Επίσης ενεργοποιείται το οξειδωτικό στρες από τον HIF. Η αλλαγή του προφίλ των μακροφάγων του πλακούντα από αντιφλεγμονώδες σε προφλεγμονώδες έχει σημαντική επίδραση στο έμβρυο. (Sisino et al., 2013)



Εικόνα 3 από (Escudero et al., 2013)

Στη φυσιολογική εγκυμοσύνη τα θρεπτικά στοιχεία όπως η γλυκόζη και τα αμινοξέα μεταφέρονται με ειδικούς μεταφορείς ενώ τα λιποδιαλυτά στοιχεία και το O₂ με απλή διάχυση. Η μεταφορά αυτή βρίσκεται σε ισορροπία προσφοράς-ζήτησης και εξαρτάται από την ενδοθηλιακή λειτουργία του πλακούντα. Η ενδοθηλιακή λειτουργία εξαρτάται από 1) τη σύνθεση και έκκριση αγγειοενεργών μορίων όπως ριζών νιτρικού και οξειδωτικού στρες, προστακυκλίνης, θρομβοξάνης, αδενοσίνης και ATP, ADP, AMP και άλλων παραγόντων όπως CO και ινσουλίνης 2) την ικανότητα αγγειογένεσης από τα προϋπάρχοντα αγγεία. Έτσι επηρεάζεται η εμβρυοπλακουντιακή ροή αίματος. Σε περίπτωση ΣΔΚ υπάρχει αυξημένη προσφορά γλυκόζης, υπερινσουλιναίμια και αντίσταση στην ινσουλίνη στη μητέρα. Η αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης οδηγεί σε κατανάλωση οξυγόνου και αύξηση RNS, ROS, προσταγλανδινών και πουρινών (αδενοσίνης) στην εμβρυοπλακουντιακή κυκλοφορία επηρεάζοντας τη ροή αίματος. Επιπλέον η υποξία προκαλεί αγγειογένεση και κλείνει ένα φαύλο κύκλο. Οι παραπάνω μεταβολές είναι εμφανείς σε μελέτες Doppler. Τελικά η αυξημένη προσφορά θρεπτικών στοιχείων και η αυξημένη κυκλοφορία προκαλεί μακροσωμία του εμβρύου.

Διαβητική εμβρυοπάθεια

Κάθε χρόνο γεννιούνται στις ΗΠΑ περίπου 150000 νεογνά (3% όλων των ζώντων γεννήσεων) με τουλάχιστον μία σοβαρή συγγενή ανωμαλία (Sever et al., 1993). Τα νεογνά μητέρων με ΣΔ έχουν συγγενείς ανωμαλίες σε ποσοστό 6-10% (Feig and Palda, 2002). Σύμφωνα με το National Health and Nutrition Examination Survey, που διενεργήθηκε μεταξύ 1988–1994 στις ΗΠΑ εκτιμάται ότι το 1,1% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας 20-39 ετών πάσχουν από ΣΔ τύπου Ι ή ΣΔ τύπου ΙΙ και με βάσει τις εκτιμήσεις θα διπλασιαστεί το 2013 συνεπώς περίπου 8000 νεογνά γεννιούνται κάθε χρόνο στις ΗΠΑ με συγγενείς ανωμαλίες που οφείλονται στο διαβήτη (Harris et al., 1998). Σύμφωνα με τη Διεθνή Ομοσπονδία για το Διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF) ο επιπολασμός του ΣΔ στην Ελλάδα για το 2014 εκτιμάται στο 7,04% (IDF, 2014).

Ο έλεγχος της γλυκαιμίας μειώνει τα ποσοστά των συγγενών ανωμαλιών. Ακόμα όμως και σε γυναίκες με καλή συμμόρφωση και ιατρική φροντίδα η ευγλυκαιμία είναι δύσκολο να επιτευχθεί και να διατηρηθεί. Ένα άλλο εμπόδιο είναι ότι οι περισσότερες γυναίκες δεν επιζητούν συμβουλευτική πριν τη σύλληψη ενώ οι περισσότερες εγκυμοσύνες δεν είναι προγραμματισμένες (Holing et al., 1998).

Ο βασικός λόγος που μελετώνται τα βιοχημικά μονοπάτια που οδηγούν στη διαβητική εμβρυοπάθεια είναι να βρούμε έναν τρόπο θεραπευτικής παρέμβασης. Υπάρχει μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση της σύνδεσης του οξειδωτικού στρες και της μητρικής υπεργλυκαιμίας. Τα μοριακά μονοπάτια που εμπλέκονται στην κυτταρική απάντηση στο στρες είναι πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι για την πρόληψη της διαβητικής εμβρυοπάθειας. Η υπερβολική απόπτωση είναι το κύριο γεγονός στην πρόκληση των συγγενών διαμαρτιών της διάπλασης και μπορεί να περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα όργανα με τελικό αποτέλεσμα την αναπηρία ή το θάνατο (Eriksson et al., 2000).

Τόσο κλινικές παρατηρήσεις όσο και μελέτες σε πειραματόζωα συμφωνούν ότι το κύριο χαρακτηριστικό στη δυσμορφολογία από τον διαβήτη αφορά οργανική αγενεσία ή ατελή ανάπτυξη. Τα πιο σημαντικά συστήματα που προσβάλλονται είναι το κεντρικό νευρικό σύστημα, το καρδιαγγειακό, το γαστρεντερικό, το κρανιοπροσωπικό, το ουρογεννητικό και το σκελετικό (Eriksson et al., 2000).

Επειδή οι νευρικές πτυχές και η καρδιά αναπτύσσονται νωρίς στην εμβρυογένεση, βρίσκονται πιο συχνά ανωμαλίες σε αυτά τα συστήματα. Συγκεκριμένα στο κεντρικό νευρικό σύστημα οι δυσπλασίες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε υποπλασία του μεσεγκεφάλου και του τελεγκέφαλου και η αποτυχία σύγκλεισης του νευρικού σωλήνα τόσο κρανιακά όσο και ουρίαια. Η αποτυχία σύγκλεισης του νευρικού σωλήνα ραχιαία έχει σαν αποτέλεσμα την δισχιδή ράχη, συχνό πρόβλημα σε διαβητική εμβρυοπάθεια (Zhao and Reece, 2005, Northrup and Volcik, 2000).

Υπάρχουν πειραματικά μοντέλα που υποστηρίζουν το συμπέρασμα ότι οι συγγενείς ανωμαλίες κατά τη διάρκεια της μητρικής υπεργλυκαιμίας είναι το αποτέλεσμα διαταραχής στην ισορροπία μεταξύ ενδοκυττάρων ενεργών ριζών οξυγόνου και ενδογενούς δυνατότητας αντιοξειδωτικής προστασίας. Συνεπώς οι εμβρυονικές ανωμαλίες υπό συνθήκες υπεργλυκαιμίας είναι το αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες. Η βλάβη που προκαλείται στη μητέρα από τον διαβήτη σχετίζεται με το βαθμό σχηματισμού ελευθέρων ριζών και είναι πιο εκτεταμένη σε μητέρες με σοβαρό διαβήτη (σάκχαρο αίματος >250mg/dl) απ'ότι σε μητέρες με ήπιο διαβήτη (σάκχαρο αίματος <250mg/dl) (Jawerbaum and Gonzalez, 2005).

Το οξειδωτικό στρες στην υπεργλυκαιμία διεγείρει την απόπτωση σε μια ποικιλία κυτταρικών τύπων. Η μητρική υπεργλυκαιμία αυξάνει την κυτταρική απόπτωση στο έμβρυο. Η απόπτωση είναι πιο εμφανής στα νευροεπιθηλιακά κύτταρα που είναι ιδιαίτερος ευάλωτα στη βλάβη από υπεργλυκαιμία. Στην απόπτωση που επάγεται από υπεργλυκαιμία ενέχονται η ενεργοποίηση του καταρράκτη της κασπάσης, και οι αναστολές της κασπάσης που εμποδίζουν την απόπτωση λόγω υπεργλυκαιμίας και συνεπώς προλαμβάνουν τις γενετικές ανωμαλίες που εμφανίζονται στο σακχαρώδη διαβήτη. Οι κασπάσες ταξινομούνται σαν κασπάσες έναρξης που δίνουν το ερέθισμα για την απόπτωση και κασπάσες δράσης που εκτελούν την απόπτωση καθαυτή και αποτελούν και δείκτες απόπτωσης. Έχουμε αναγνωρίσει την κασπάση 8 ως την κασπάση έναρξης στη διαβητική εμβρυοπάθεια καθώς και την cleaved κασπάση 3 ως ένα δείκτη απόπτωσης. Αν και πολλαπλές μελέτες υποθέτουν ότι ο υπερβολικός κυτταρικός θάνατος, τουλάχιστον στο κεντρικό νευρικό σύστημα, μπορεί να συμβάλλει την ανώμαλη ανάπτυξη των δομών του εμβρύου σε διαβητικά πειραματόζωα, ερευνάται ακόμα ο τρόπος με τον οποίο το οξειδωτικό στρες επάγει την απόπτωση στη διαβητική εμβρυοπάθεια.

Κατά τη διάρκεια της πρώιμης οργανογένεσης η απόπτωση είναι απαραίτητη, ωστόσο για να λειτουργήσει σωστά, προϋποθέτει ένα συγκεκριμένο πρότυπο χώρου και χρόνου, ενώ η αύξηση των ROS συσχετίζεται με υπερβολική απόπτωση σε διαβητικά πειραματικά μοντέλα (Chappell et al., 2009). Οι συγγενείς ανωμαλίες παρατηρούνται κυρίως σε κήσεις με προϋπάρχοντα σακχαρώδη διαβήτη, αν και μπορεί να βρεθούν και σε ΣΔΚ, πιθανά στα πλαίσια ενός προϋπάρχοντα ΣΔ που διαγνώστηκε για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Correa et al., 2008).

Η ανάπτυξη των οργάνων εμπεριέχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση. Υπέρ του δέοντος κυτταρικός θάνατος έχει παρατηρηθεί στη ραχιαία περιοχή του νευρικού σωλήνα και συσχετίζεται με τις βλάβες του νευρικού σωλήνα που συμβαίνουν στη διαβητική εμβρυοπάθεια (Sun et al., 2005).

Ο σχηματισμός του νευρικού σωλήνα (νευριδίωση) συμβαίνει κατά τη 3-6^η εβδομάδα της κύησης στα ανθρώπινα έμβρυα. Η νευριδίωση ξεκινά με το σχηματισμό του νευρικού εξωδέρματος το οποίο σχηματίζει τις νευρικές πτυχές. Οι νευρικές πτυχές μεγαλώνουν ραχιαία και πλευρικά και τελικά ενώνονται στη ραχιαία μέση γραμμή κατά μήκος του άξονα του σώματος για να σχηματίσουν το νευρικό σωλήνα (Sadler, 2005). Στη διαβητική εμβρυοπάθεια η διαδικασία αυτή παραβλάπτεται προκαλώντας ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα όπως τη δισχιδή ράχη και την ανεγκεφαλία (Loeken, 2005). Μελέτες με διαβητικά τρωκτικά είχαν παρόμοια αποτελέσματα.

Ο σχηματισμός της καρδιάς είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που εμπλέκει διάφορους ιστούς. Οι κόλποι, οι κοιλίες και το κοιλιακό διάφραγμα προέρχονται από το μυοκάρδιο ενώ το μεμβρανώδες διάφραγμα στο κολποκοιλιακό κανάλι και οι χώροι εξόδου προέρχονται από το ενδοκάρδιο (Loeken, 2005). Η πιο συχνή ανωμαλία των κοιλιών είναι το σύνδρομο υποπλαστικής αριστεράς κοιλίας. Συνδέεται με τον περιορισμό της ανάπτυξης του μυοκαρδίου κατά τη διάρκεια της πρώιμης καρδιογένεσης. Ελλείματα στο σχηματισμό των σχηματισμών που προέρχονται από το ενδοκάρδιο σχετίζονται με τα καρδιακά προσκεφάλαια, δομές που σχηματίζονται κατά την πρώιμη εμβρυογένεση στην κολποκοιλιακή συμβολή και στο bulbus cordis (χώρος εξόδου), ως αποτέλεσμα παραγωγής εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Markwald et al., 1996). Κατά το σχηματισμό των καρδιακών προσκεφαλαίων, τα ενδοκαρδιακά (ενδοθηλιακά) κύτταρα διαφοροποιούνται σε μεσεγχυματικά κύτταρα. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως ενδοθηλιακός-μεσεγχυματικός μετασχηματισμός EMT. Τα παραπάνω μεσεγχυματικά κύτταρα μεταναστεύουν στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία να γεμίσουν τα κενά και μα προάγουν την ανάπτυξη των

καρδιακών δομών. Τα καρδιακά προσκεφάλαια μεγαλώνουν το ένα απέναντι στο άλλο και τελικά συγχωνεύονται σχηματίζοντας ένα συνεχές διάφραγμα. Μετά τη σύντηξη, το ενδοκάρδιο υπόκειται σε δραματικό ανασχηματισμό ώστε να συνενωθεί με το πρωτογενές κολπικό, το κοιλιακό διάφραγμα και να σχηματίσει τις βαλβίδες (Person et al., 2005).

Στα έμβρυα των διαβητικών μητέρων, η πρόωμη ανάπτυξη των καρδιακών προσκεφαλαίων αναστέλλεται.

Στην αναπτυσσόμενη καρδιά, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός σε αρχικά στάδια και η απόπτωση σε μεταγενέστερα συσχετίζεται με καρδιακές ανωμαλίες στα έμβρυα διαβητικών μητέρων. Επίσης, σε μητρική υπεργλυκαιμία, παραβλάπτονται η κυτταρική διαφοροποίηση και μετανάστευση των ενδοκαρδιακών κυττάρων. Η ανάπτυξη του χώρου εξόδου της καρδιάς προϋποθέτει μετανάστευση κυττάρων από τη νευρική ακρολοφία στη ραχιαία επιφάνεια του νευρικού σωλήνα. Αυτά τα νευρικά κύτταρα συνεισφέρουν σημαντικά στο διαχωρισμό του χώρου εξόδου και το σχηματισμό των μεγάλων αγγείων : αορτή και πνευμονική αρτηρία (Zhao, 2012, Brown and Baldwin, 2006). Διαταραχή στην ανάπτυξη του χώρου εξόδου μπορεί να οφείλεται σε ανεπαρκή μετανάστευση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας που προκαλείται από αυξημένη απόπτωση.

Η ανάπτυξη των κρανιακών δομών, επίσης προϋποθέτει τη μετανάστευση κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας στον πρόσθιο νευρικό σωλήνα κατά την πρόωμη οργανογένεση (Chai and Maxson, 2006)

Στην κρανιοπροσωπική περιοχή, ανωμαλίες στη δομή του προσώπου μπορεί να σχετίζονται με τη δυσμορφογένεση των χόνδρων (Tanigawa et al., 1991).

Κεντρικό νευρικό σύστημα	Κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες	καρδιαγγειακά	σκελετικά
Ανεγκεφαλία	μικροσωμία	Ανωμαλίες αρτηριακού κορμού	Αγενεσία ιερού
Εγκεφαλοκλήλη	μακροσωμία	Μετάθεση μεγάλων αγγείων	Υποπλασία ιερού
εξεγκεφαλία	υπερωισχιστία	Τερταλογία Fallot	Ανωμαλίες άκρων
μικροκεφαλία	χειλεοσχιστία	Μεσοκοιλιακή επικοινωνία	Ανωμαλίες σπονδύλων
υδροκεφαλία	μικροωτία	Δυσπλασία πνευμονικής βαλβίδος	Caudal regression
ολοπροσεγκεφαλία	μικρογναθία	Ανοικτός αρτηριακός πόρος	
Δισχιδής ράχη	κρανιοσυνοστέωση	Υποπλαστική αριστερά κοιλία	
	Ανωμαλίες οφθαλμών	Στένωση αρτηριακού τόξου	
		Μεσοκολπική επικοινωνία	
		ετεροταξία	

Οι συγγενείς ανωμαλίες, κυρίως ελλείματα σε καρδιά και νευρικό σωλήνα, επάγονται τόσο σε χημικά επαγόμενο όσο και σε γενετικά πειραματικά μοντέλα διαβήτη (Jawerbaum and White,

2010). Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι μεταβολές στην εμβρυονική και την εμβρυοπλακουντική ανάπτυξη σε πειραματικά μοντέλα διαβήτη, έχουν συσχετισθεί με αύξηση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου σε ενδομήτριους ιστούς. Υπάρχουν ενδείξεις από αυξημένα επίπεδα ελευθέρων ριζών σε εμβρυονικούς ιστούς, έμβρυα, και πλακούντα σε πειραματόζωα με διαβήτη που έχει προκληθεί χημικά με στρεπτοζοτοκίνη και αλλοξάνη (Jawerbaum and Gonzalez, 2006, Mink et al., 2007, Eriksson et al., 2003).

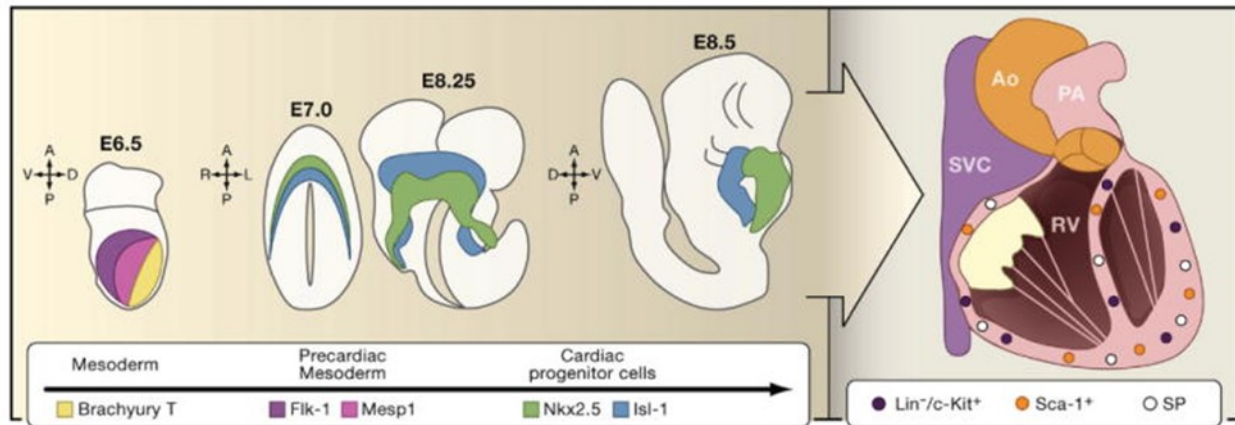
A) Νευρικός Σωλήνας

Ο ΣΔΚ επάγεται κυρίως στο τρίτο τρίμηνο και η διάγνωση γίνεται 24-28 ΕΚ ωστόσο έχουν βρεθεί αυξημένες ρίζες οξυγόνου σε αμνιακό υγρό γυναικών με ΣΔΚ από τις 15 ΕΚ. Συνεπώς ο κίνδυνος για τερατογένεση σε διαβήτη που προϋπάρχει της κύησης και μπορεί να επηρεάσει το ΣΔΚ μόνο στις περιπτώσεις εκείνες που η παθολογία υπάρχει από το πρώτο τρίμηνο πιθανά ως ένα αποτέλεσμα ενδομήτριων ελευθέρων ριζών από βλάβη από περοξυνιτρίτη και εντοπίζεται στο νευρικό σωλήνα και την αναπτυσσόμενη καρδιά εμβρύων διαβητικών αρουραίων κατά τη διάρκεια της πρώιμης οργανογένεσης (Eriksson et al., 2003, Jawerbaum et al., 2005).

Η νευρογένεση από τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα αποτελεί ένα καλό μοντέλο για την κατανόηση των ανωμαλιών της νευρικής γραμμής κατά την υπεργλυκαιμία. Οι Yang et al μελέτησαν εμβρυικά βλαστικά κύτταρα σε καλλιεργητικά μέσα με διαφορετικές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Αυτά που βρέθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης είχαν δείκτες αυξημένου στρες ενδοπλασματικού δικτύου (CHOP). Αυτά που βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις, διατήρησαν την πολυδυναμικότητα τους και την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται σε κύτταρα της νευρικής γραμμής. Αντίθετα, σε αυτά που ήταν σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, παρατηρήθηκε αναστολή της διαφοροποίησης σε νευρικά βλαστικά κύτταρα (που εκφράζουν το δείκτη επιφανείας Sox1 and nestin), νευρικά κύτταρα (Tuj1 +) και κύτταρα της γλοίας (GFAP+). Επίσης το υπεργλυκαιμικό περιβάλλον καθυστέρησε τη διαφοροποίηση σε κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας. (Yang et al., 2016).

Η περιφερική νευροπάθεια είναι μια συχνή επιπλοκή του ΣΔ και συχνό σύμπτωμα ο νευροπαθητικός πόνος που έχει περιφερική και κεντρικού τύπου συνιστώσα. Στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού βρίσκεται το τμήμα II της φαιάς ουσίας των οπίσθιων κεράτων που είναι υπεύθυνη για την αλγαισθητική πληροφορία του προσώπου. Οι Nguyen et al μελέτησαν νευρώνες της φαιάς ουσίας των οπίσθιων κεράτων του ΝΜ σε ποντίκια με στρεπτοζοτοκίνη προκαλούμενο ΣΔ και του απογόνου των θηλέων ποντικών. Η εισαγωγή διαφόρων συγκεντρώσεων γλυκίνης, γ αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και γλουταμικού δεν είχε διαφορές στη νευρική ώση στους ΣΔ σε σχέση με τους μάρτυρες. Επίσης η εισαγωγή γλυκίνης και γλουταμικού προκάλεσε παρόμοια ρεύματα στους απογόνους των υγιών και τους απογόνους των διαβητικών ποντικών. Ωστόσο η απάντηση στο GABA ήταν σημαντικά αυξημένη στους απογόνους διαβητικών ποντικών σε σχέση με τους μάρτυρες. Φαίνεται ότι η φαιά ουσία των οπισθίων κεράτων του ΝΜ που είναι υπεύθυνη για τον πόνο είναι πιο ευαίσθητη σε GABA ερεθίσματα σε απογόνους διαβητικών μητέρων. (Nguyen et al., 2015)

B) Καρδιά



Εικόνα 4 από (Wu et al., 2008) Τα κύτταρα της αναπτυσσόμενης καρδιάς από κύτταρα του μεσοδέρματος μετατρέπονται σε προκαρδιακό μεσόδερμα και εκφράζουν διαφορετικούς δείκτες επιφανείας. Όπως αυτά τα πρώιμα κύτταρα φτάνουν στην πρόσθια και πλάγια πλάκα του μεσοδέρματος αφοσιώνονται αποκλειστικά και μη αναστρέψιμα στη δημιουργία των καρδιακών προγεννητορικών κυττάρων όταν εκφράζουν τους δείκτες επιφανείας Nkx2.5 ή Isl-1. Σύγκλιση κατά τη μέση γραμμή των πλαγίων πλακών του μεσοδέρματος και διαφοροποίηση αυτών των δύο κυτταρικών πληθυσμών σχηματίζει τον Nkx2.5 εμβρυονικό καρδιακό σωλήνα και το Isl-1 φαρυγγικό μεσόδερμα. Όπως η ανάπτυξη της καρδιάς προχωράει από τα εμβρυονικά στάδια στην τελική της μορφή αποκτά τη μορφολογία των τεσσάρων κοιλοτήτων και τη σύνδεση με το αγγειακό σύστημα. Στην ενήλικη καρδιά βρίσκονται διάφοροι κυτταρικοί πληθυσμοί υπολείμματα των καρδιακών βλαστικών κυττάρων όπως τα side population κύτταρα και τα κύτταρα που εκφράζουν τους δείκτες επιφανείας c-kit ή Sca-1. (Wu et al., 2008).

Οι Yang et al μελέτησαν τις επιπτώσεις του μητρικού διαβήτη στα Sca1 θετικά καρδιακά προγεννητορικά κύτταρα. Ο μητρικός διαβήτης προκαλεί εξαρτώμενη από τη κασπάση 3 απόπτωση στα Sca1 θετικά καρδιακά προγεννητορικά κύτταρα. Το ίδιο αποτέλεσμα υπάρχει in vitro σε καλλιέργεια σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον (αλλά όχι σε όμοιας ωσμωτικότητας με μαννιτόλη) και μάλιστα με δόσοεξαρτώμενο και χρόνο εξαρτώμενο τρόπο. Τόσο ο μητρικός διαβήτης όσο και η υπεργλυκαιμία in vitro ενεργοποιούν τους προαποπτωτικούς παράγοντες FOXO3 μέσω φωσφορυλίωσης σε θέση θρεονίνη32. Απώλεια του FOXO3 καταργεί την απόπτωση των sca1+ κυττάρων (Yang et al., 2017).

Παρατηρείται μειωμένη έκφραση της GPX σε έμβρυα αρουραίων με ΣΔΚ και εμβρυοπάθεια συγκρινόμενα με αυτά που δεν έχουν εμβρυοπάθεια και αυτή η αλλαγή εντοπίζεται στην αναπτυσσόμενη καρδιά (Wentzel et al., 2008).

Ο ρόλος του TGFβ στη αναπτυσσόμενη καρδιά

Η κριτική περίοδος έκθεσης σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον για την πρόκληση διαβητικής εμβρυοπάθειας είναι στις 2-8 εβδομάδες για τον άνθρωπο και αντιστοιχεί στις 8,5 με 12,5 ημέρες στο ποντίκι (Smoak, 2004).

Οι μεταγραφικοί αυξητικοί παράγοντες TGFβ έχουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της εμβρυικής καρδιάς στα πρώιμα εμβρυονικά στάδια και κυρίως στο σχηματισμό των καρδιακών προσκεφαλαίων. Οι συνδέτες του TGFβ ενώνονται με τον υποδοχέα II του TGFβ στην κυτταρική επιφάνεια, φωσφορυλιώνοντας τον και έτσι ενεργοποιώντας τον και στη συνέχεια στρατολογούν και φωσφορυλιώνουν τον υποδοχέα I του TGFβ. Αυτός με τη σειρά του προκαλεί τη

φωσφορυλίωση των Smad2 Smad3 πρωτεϊνών, διευκολύνοντας τη μετανάστευσή τους στον πυρήνα όπου ρυθμίζουν τη μεταγραφή των γονιδίων στόχων του TGFβ.

Ο μητρικός διαβήτης καταστέλλει τη σηματοδότηση του TGFβ εμποδίζοντας έτσι τον παραπάνω καταρράκτη. Ο TGFβ1 είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών του χώρου εξόδου της καρδιάς. Επιπρόσθετα, απώλεια του TGFβ2 σε knock out ποντίκια οδηγεί σε ελλείματα του χώρου εξόδου, ενώ απώλεια του TGFβ2 σε ποντίκια οδηγεί σε ελλείματα των καρδιακών προσκεφαλαίων και μεσοκοιλιακά ελλείματα (Zhao, 2010, Sanford et al., 1997, Compton et al., 2007). Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν οφέλη από τη χρήση αντιοξειδωτικών για την πρόληψη διαβητικής εμβρυοπάθειας με τη μορφή των ελλειμάτων νευρικού σωλήνα και καρδιακών ανωμαλιών (Al Ghafli et al., 2004)

Ο Wang et al έδειξαν ότι τα επίπεδα οξειδωτικού στρες όπως φαίνονται από τα επίπεδα του 4υδροξυνοπενάλ και της μαλονδιαλδεΐδης σε εμβρυικές καρδιές από διαβητικές μητέρες ήταν αυξημένα σε σχέση με τους μάρτυρες. Αν σε αυτά τα έμβρυα υπερέκφρασουμε το αντιοξειδωτικό SOD1 τότε τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες είναι συγκρίσιμα στις ομάδες. Άρα η υπερέκφραση του SOD1 εμποδίζει το οξειδωτικό στρες.

Επίσης, τα επίπεδα της πρωτεΐνης και του mRNA του TGFβ1 και TGFβ3 ήταν χαμηλότερα στα έμβρυα διαβητικών μητέρων ενώ τα επίπεδα του TGFβ2 δεν είχαν μεγάλη διαφορά. Επίσης η υπερέκφραση του SOD1 αποκαθιστούσε τα επίπεδα. Όμοια τα επίπεδα των πρωτεϊνών του καταρράκτη TβRII, Smad2, Smad2 βρέθηκαν μειωμένα σε εμβρυικές καρδιές διαβητικών μητέρων και αποκαταστάθηκαν με υπερέκφραση του SOD1. Τέλος ο μητρικός διαβήτης είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων πρωτεϊνών 3 γονιδίων στόχων του TGF snail homolog 2 (*Snai2*), connective tissue growth factor (*CTGF*) and growth differentiation factor 1 (*GDF1*).

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν μια σχέση του μητρικού διαβήτη με το οξειδωτικό στρες και την προκαλούμενη από αυτόν εμβρυική καρδιοπάθεια και τον TGFβ (Wang et al., 2015b).

Οι Bohuslavona et al μελέτησαν ολόκληρα έμβρυα με μικροσυστοιχίες γονιδιακής έκφρασης όπου είχαν επιλεγεί 11 γονίδια για ανάλυση χρονικής έκφρασης σε καρδιές διαβητικών εμβρύων. Η πλειοψηφία των επιλεγμένων γονιδίων είχαν μειωμένη έκφραση σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα HIF1a στις καρδιές που είχαν εκτεθεί σε διαβήτη σε χρονική περίοδο κρίσιμη για την ανάπτυξη διαβητικής εμβρυοπάθειας. Επίσης βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα καρδιακής VEGFa που μπορεί να προκαλεί μεταβολές που οδηγούν σε διαβητική εμβρυοπάθεια (Bohuslavona et al., 2015).

Γ) Μάτια

Η υπεργλυκαιμία επηρεάζει την ενεργότητα σημαντικών σηματοδοτικών μονοπατιών που είναι κρίσιμα για την εμβρυογένεση στα ποντίκια, όπως η υποξία (HIF1a), PDGFRa, Wnt-βκατενίνη GSK3β, β-catenin και το Wnt-planar cell polarity (PCP) (Vangl2, Daam1, Wnt5a, etc.) μονοπάτι (Pavlinkova et al., 2009). Υπάρχουν δύο κύρια Wnt μονοπάτια:

- το κανονικό που σταθεροποιεί τη β κατενίνη
- το μη κανονικό Wnt-planar cell polarity (PCP) που επανοργανώνει τον κυτταροσκελετό της ακτινομυκίνης και που είναι υπεύθυνο για την κυτταρική πολικότητα και τον ευθιασμό κατά τη διάρκεια της ιστικής μορφογένεσης (Chen et al., 2008)

Η υπεργλυκαιμία έχει βρεθεί ότι προκαλεί μείωση των στοιχείων του μη κανονικού μονοπατιού όπως η Dishevelled-associated activator of morphogenesis 1 (Daam1) και ο Vangl2. Η Daam1 είναι μια φορμίνη που έχει κάρδιο λόγο στον πολυμερισμό της ακτίνης και της αναδιοργάνωσης του κυτταροσκελετού και εκφράζεται ισχυρά σε ορισμένα όργανα κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης του ποντικού συμπεριλαμβανομένων της ανάπτυξης του ματιού, του νευρικού

σολήνα και της καρδιάς. Τα Daam1(gt/gt) and Daam1(gt/+) έμβρυα αναπτύσσουν οφθαλμικές ανωμαλίες (ανοφθαλμία ή μικροφθαλμία) που ομοιάζουν εκείνες που παρατηρούνται στη διαβητική εμβρυοπάθεια. Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η εμβρυονική έκθεση σε υπεργλυκαιμία in vitro μειώνει την έκφραση γονιδίων του Wnt-PCP μονοπατιού και οδηγούν σε αλλοιώσεις της οργάνωσης του κυτταροσκελετού, του κυτταρικού σχήματος και της κυτταρικής

Παθογενετικοί μηχανισμοί διαβητικής τερατογένεσης

A) οξειδωτικό στρες

Η διαβητική εμβρυοπάθεια συσχετίζεται με την αναστολή της δράσης του GAPDH και της γονιδιακής του έκφρασης που έχει σαν αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή ROS στο έμβryo (Wentzel et al., 2003), μια επίδραση που αποκαθίσταται με τη θεραπεία με το αντιοξειδωτικό NAC.

Η ενίσχυση του οξειδωτικού στρες μέσω εξάντλησης της γλουταθειόνης (Sakamaki et al., 1999, Trocino et al., 1995, Jenkinson et al., 1986), μέσω έκθεσης σε ξανθίνη που προκαλεί σχηματισμό ROS ή με θεραπεία με αντιμυκίνη (Jenkinson et al., 1986), που διεγείρει την παραγωγή υπεροξειδίου, αυξάνει σημαντικά τις εμβρυονικές ανωμαλίες.

Το κύτταρο προσπαθεί να ανταπεξέλθει στο αυξημένο οξειδωτικό στρες με την ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Η ομοιόσταση του κυττάρου και η προστασία του από το οξειδωτικό στρες βασίζεται στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που διαθέτει κυρίως τα buffer θειόλης τη γλουταθειόνη και τη θειορεδοξίνη (Sen, 2000). Φυσιολογικά το ενδοκυττάριο περιβάλλον βρίσκεται σε μια κατάσταση υψηλής αναγωγής που επιτυγχάνεται με υψηλές συγκεντρώσεις γλουταθειόνης και θειορεδοξίνης. Με την παραγωγή των ελευθέρων ριζών η γλουταθειόνη οξειδώνεται σε οξειδωμένη γλουταθειόνη GSSG. Τα επίπεδα 8-oxo-dG ήταν σημαντικά αυξημένα σε πλακούντες από δυσπλαστικά και μη δυσπλαστικά έμβρυα.

Εκτός από τα buffer θειόλης υπάρχουν και αντιοξειδωτικά ένζυμα που μετατρέπουν τις τοξικές ελεύθερες ρίζες σε μη τοξικά προϊόντα (Mates and Sanchez-Jimenez, 1999). Σε έμβρυα αρουραίων που έχουν διατηρηθεί σε διαβητικές συνθήκες και τους αμνιακούς σάκους τους, έχουν βρεθεί σημαντικά μειωμένες συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών ενζύμων και των αντίστοιχων mRNA όπως της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της καταλάσης. Τα επίπεδα των mRNA των αντιοξειδωτικών είναι αντιστρόφως ανάλογα της αύξησης των συγγενών ανωμαλιών σε συνθήκες μητρικού διαβήτη (Ornoy et al., 1999, Zaken et al., 2001). Σε πειραματόζωα HK 17H, οι πλακούντες από φυσιολογικά έμβρυα διαβητικών μητέρων είχαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών βιταμινών (C, E) καθώς και αντιοξειδωτικών ιχνοστοιχείων όπως το σελήνιο (συμπαράγοντας στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και τη ρεδοκτάση της θειορεδοξίνης) συγκριτικά με τους μάρτυρες. Οι πλακούντες από έμβρυα με δυσπλασίες διαβητικών μητέρων είχαν ακόμα μεγαλύτερη μείωση αντιοξειδωτικών. Μελέτη που χρησιμοποίησε διαγονιδιακά transgenic έμβρυα ποντικών που υπερέκφραζαν την SOD έδειξε υψηλότερη δραστηριότητα της SOD και μειωμένο ρυθμό δυσμορφολογίας δεδομένου του μητρικού διαβήτη σε σχέση με τους μάρτυρες που είχαν φυσιολογικά γονίδια SOD στις ίδιες συνθήκες (Hagay et al., 1995). Οι μελέτες αυτές δείχνουν τη σημασία των αντιοξειδωτικών ενζύμων στην προστασία του εμβρύου σε οξειδωτικό στρες που προκαλείται από υπεργλυκαιμία.

Δείκτες οξειδωτικού στρες και παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου ήταν σε υψηλότερα επίπεδα στις διαβητικές από τους μάρτυρες. Τα επίπεδα TBARS(ολική αντιοξειδωτική ικανότητα) ήταν σημαντικά αυξημένα σε δυσπλαστικά έμβρυα από τα μη δυσπλαστικά διαβητικών μητέρων με χαμηλότερα αυτά των μαρτύρων. Τα επίπεδα της δισουλφιδικής γλουταθειόνης βρέθηκαν

σημαντικά αυξημένα σε πλακούντες διαπλαστικών εμβρύων σε σχέση με τα μη δυσπλαστικά και αυτά ήταν υψηλότερα από των μαρτύρων. Ο λόγος GSH/GSSG είναι ισχυρός δείκτης παραγωγής ελευθέρων ριζών στο κύτταρο και δείχνει την ικανότητα του κυττάρου να ανταποκρίνεται στο οξειδωτικό στρες. Τόσο η GSH όσο και ο λόγος GSH/GSSH βρέθηκε σημαντικά μειωμένος σε πλακούντες δυσπλαστικών εμβρύων σε κυήσεις με ΣΔΚ.

Οι επιδράσεις των ROS ,μπορούν να μεταδωθούν με διάφορους παράγοντες μέσα στο κύτταρο όπως την p66Scc, ένα μέλος της οικογένειας ShcA που επίσης περιλαμβάνει τις p46Shc p52Shc (Pellegrini et al., 2005). Σε αντίθεση με τις άλλες πρωτεΐνες της οικογένειας η p66Shc είναι ειδικός στόχος των ελευθέρων ριζών και σημαντικός αναμεταδότης του σήματος του οξειδωτικού στρες που οδηγεί στην απόπτωση (Graiani et al., 2005). Η p66Shc ενεργοποιείται μέσω φωσφορυλίωσης σε κατάλοιπο σερίνης στη θέση 36(S36) στην CH2περιοχή. Στοχευμένη απώλεια του p66Shc γονιδίου στα ποντίκια αυξάνει την αντοχή στο οξειδωτικό στρες και μειώνει την απόπτωση (Migliaccio et al., 1999). Η αποπτωτική επίδραση της p66Shc μπορεί να περιλαμβάνει τη λειτουργική ενεργοποίηση ή/και την μεταγραφική ρύθμιση των Bax Bim (Pacini et al., 2004). Μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν ότι η p66Shc έχει κεντρικό ρόλο στις επιπλοκές του διαβήτη. Οι Yang et al έδειξαν ότι η p66Shc διαφοροποιείται σε μοντέλα διαβητικής εμβρυοπάθειας.

B) NO-νιτρικό στρες

Η συγκέντρωση του NO σχετίζεται στενά με την οργανογένεση. Η λεπτίνη, η προσταγλανδίνη E2 (PGE2), η 15δεοξυΔ12,14 προσταγλανδίνη J2(15dPGJ2) και η ενδοθηλίνη1 μπορούν να ρυθμίσουν αρνητικά την εμβρυονική παραγωγή του NO (White et al., 2007). Ποντίκια knockout για iNO και διαβήτη κύησης έχουν σημαντικά λιγότερες εμβρυικές ανωμαλίες και μειωμένο οξειδωτικό στρες (Sugimura et al., 2009). Στα ίδια ποντίκια βρέθηκε μειωμένη και τερατογένεση που επάγεται από τις ROS (Kasarinovic et al., 2004).

Το οξειδωτικό και το νιτρικό στρες παίζουν σημαντικό ρόλο στην οργανογένεση λόγω της δυνατότητάς τους να ρυθμίζουν την κυτταρική επιβίωση, την απόπτωση, τη διαφοροποίηση και την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Έτσι τόσο τα χαμηλά , όσο και τα υψηλά επίπεδα NO μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένη ανάπτυξη των εμβρυονικών ιστών, πιθανώς λόγω ακατάλληλης ρύθμισης των αποπτωτικών γεγονότων, που οφείλουν να συμβαίνουν σε συγκεκριμένο χωρικό και χρονικό περιορισμό ώστε να επιτρέψουν τη δημιουργία οργάνων (Plachta et al., 2003, Lee and Juchau, 1994). Το συγκεκριμένο μοντέλο έκφρασης της συνθετάσης του NO κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης υποστηρίζει το ρόλο του ως μορφογόνο (Young et al., 2002, Topel et al., 1998, Bloch et al., 1999). Κατά τη διάρκεια της εμβρυονικής και εμβρυικής ανάπτυξης, έχει βρεθεί ότι το NO σχετίζεται με τη (Masson et al., 2001) ρύθμιση της διαφοροποίησης κυτταρικών τύπων (πχ καρδιομυοκύτταρα και νευρωνικά κύτταρα) και του σχηματισμού οργάνων (πχ μορφογένεση των πνευμονικών διακλαδώσεων, κεφαλική μορφογένεση, ανάπτυξη της καρδιάς και νεφρογένεση) (Tain et al., 2010, Peunova and Enikolopov, 1995, Feng et al., 2002, Bloch et al., 1999). Η εμβρυακή αύξηση επίσης ρυθμίζεται από το NO, ενώ παρεμποδίζεται σε παρουσία αναστολέων του NO.(Neerhof et al., 2011).

Το νιτρικό στρες μπορεί να προκαλέσει διαβητική εμβρυοπάθεια, μεταξύ άλλων , και μέσω ενεργοποίησης του JNK μονοπατιού.

Επίσης τα επίπεδα NOx ήταν αυξημένα σε μη δυσπλαστικά έμβρυα διαβητικών μητέρων σε σχέση με τους μάρτυρες γεγονός που υποδηλώνει οξειδωτικό στρες και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Γ) Λιποϋπεροξειδωση

Σε απογόνους διαβητικών πειραματοζώων έχουν βρεθεί υψηλότερα επίπεδα 8-ισοπροστανής (Wentzel et al., 1999) και έχουν τη δική του τερατογόνο δράση (Wentzel and Eriksson, 2002), γεγονός που υποστηρίζει το δεσμό μεταξύ οξειδωτικού στρες και αυξημένης συχνότητας δυσμορφιών σε έμβρυα που εκτέθηκαν σε διαβητικό περιβάλλον.

Δείκτες υπεροξειδωσης των λιπών όπως 8-ισο-προσταγλανδίνη E2 και μαλονδιαλδεύδη (Decsi et al., 2002, Li et al., 2005) βρίσκονται δραματικά αυξημένοι σε έμβρυα που έχουν καλλιεργηθεί in vitro σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας όπως επίσης και σε διαβητικούς ασθενείς.

Δ) Πρωτεϊνική κινάση C PKC

Όπως έχουμε δει παραπάνω, οι PKC είναι κινάσες σερίνης/θρεονίνης που χωρίζονται σε διάφορες ισομορφές. Η ειδικότητα του υποστρώματος για κάθε μέλος της οικογένειας συνεπάγεται σύνδεση σε συγκεκριμένη πρωτεΐνη αγκυροβόλησης της μεμβράνης και περιορισμό του σε συγκεκριμένο διαμέρισμα του κυττάρου, όπως η κυτταρική μεμβράνη, ο κυτταροσκελετός, το μιτοχόνδριο ή ο πυρήνας (Dempsey et al., 2000). Οι PKC εμπλέκονται σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες όπως πολλαπλασιασμός, μετανάστευση, απόπτωση και διαφοροποίηση. Το μονοπάτι της διακυλογλυκερόλης-PKC έχει ενοχοποιηθεί στη διαβητική εμβρυοπάθεια. Η μητρική υπεργλυκαιμία διεγείρει την παραγωγή της διακυλογλυκερόλης στα εμβρυονικά κύτταρα η οποία με τη σειρά της διεγείρει την ενεργοποίηση της PKC. Κάποιες ισομορφές PKC (α,β,δ) αυξάνονται ενώ κάποιες άλλες (ε, ξ) μειώνονται στη διαβητική εμβρυοπάθεια. Η αναστολή της ενεργοποίησης κάποιων ισομορφών των PKC συνδέεται με μείωση της συχνότητας συγγενών ανωμαλιών (Hiramatsu et al., 2002, Zhiyong et al., 2008).

Σε πειραματικά μοντέλα σε πειραματόζωα και κυτταροκαλλιέργειες βρέθηκε παρατεταμένη ενεργοποίηση των PKC από την υπεργλυκαιμία. Φαρμακολογική αναστολή των PKCα,β,δ έχει σαν αποτέλεσμα σημαντική μείωση της διαβητικής εμβρυοπάθειας με τη μορφή βλαβών του νευρικού σωλήνα (Cao et al., 2011). Απώλεια του Pkca γονιδίου σε PKCa Knockout ποντίκια αναστέλλει σημαντικά την ενεργοποίηση της κασπάσης και την απόπτωση που οδηγεί στις βλάβες αυτές.

Τα στοιχεία δείχνουν ότι κυρίως ενεργοποιητής της PKC στο διαβήτη είναι το οξειδωτικό στρες. Διαγονιδιακή υπερέκφραση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) μειώνει τη φωσφορυλίωση των PKC α, βII,δ από το διαβήτη και το σχηματισμό βλαβών νευρικού σωλήνα (Li et al., 2011). Επίσης, η ενεργοποίηση της PKC επάγει την υπεροξειδωση των λιπών και συνεπώς αυξάνει το βαθμό του οξειδωτικού στρες σε έμβρυα που εκτίθενται σε υπεργλυκαιμικές συνθήκες. Άρα οι PKC και το οξειδωτικό στρες έχουν αμοιβαία επαγωγή (θετική ανατροφοδότηση).

Ε) Προσταγλανδίνες

Ο μεταβολισμός των φωσφολιπιδίων ξεκινάει από τις φωσφολιπάσες PLs. A, C, D. Η φωσφολιπάση A2 του κυτταροπλάσματος διασπά το αραχιδονικό οξύ από την κυτταρική μεμβράνη. Στο κυτταρόπλασμα το αραχιδονικό οξύ μπορεί να μπει σε δύο κύρια μονοπάτια:

- Να μετατραπεί σε προσταγλανδίνη E2 (PGE2) από την κυκλοοξυγενάση2 (COX2)
- Να μετατραπεί σε ισοπροστανή (όπως η 8-iso-PGF2, 8-isoPGF2a) από υπεροξειδωση που σχετίζεται με τις ελεύθερες ρίζες (Kaiser et al., 1990)

Στα έμβρυα διαβητικών μητέρων τα επίπεδα των προσταγλανδινών μειώνονται δραματικά ενώ αυξάνονται τα επίπεδα των ισοπροστανών. Η μείωση των προσταγλανδινών μπορεί να οφείλεται στη μείωση της έκφρασης και της δραστηριότητας της κυκλοοξυγενάσης, υποθέτοντας μια στροφή του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος προς την παραγωγή ισοπροστανών. Οι ισοπροστανές

αυτές έχουν βλαπτικές ιδιότητες σε πειραματόζωα διαβητικών μητέρων ενώ οι προσταγλανδίνες έχουν προστατευτικές ιδιότητες σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας. (Wentzel et al., 1999).

Η διαιτητική πρόσληψη αραχιδονικού οξέος φαίνεται ότι δρα προστατευτικά στη βλάβη που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία σε εγκυμονούντα ποντίκια (Pinter et al., 1986, Reece et al., 1996) και σε έμβρυα που καλλιεργούνται σε υπεργλυκαιμικές συνθήκες. Φαίνεται ότι η εξωγενής χορήγηση του αραχιδονικού οξέος αντικαθιστά το ενδογενές που έχει φύγει από τα κύτταρα και με αυτόν τον τρόπο διορθώνει και σταθεροποιεί τη δομή και τη λειτουργία της μεμβράνης.

Μια ανωμαλία που συμβαίνει στη διαβητική εμβρυοπάθεια είναι ο διαταραγμένος μεταβολισμός των φωσφολιπιδίων κυρίως η λιποϋπεροξειδωση. Διαιτητική υποστήριξη με αραχιδονικό οξύ ή μυοϊνσιτόλη σε διαβητικές μητέρες σε πειραματόζωα φαίνεται να μειώνει τις συγγενείς ανωμαλίες.

ΣΤ)ASK1/JNK/FOXO3

Η ενεργοποίηση της ASK ενεργοποιεί την JNK $\frac{1}{2}$ κινάση η οποία ακολούθως ενεργοποιεί προαποπτωτικά σήματα που έχουν κεντρικό ρόλο στη διαβητική εμβρυοπάθεια. Η ίδια η ASK1 ενεργοποιείται από το οξειδωτικό στρες σε συνθήκες διαβητικής εμβρυοπάθειας. (Li et al., 2012) Απώλεια του γονιδίου ASK1 ή θεραπεία με θειορεδοξίνη βελτιώνει την απόπτωση που προκαλείται από το μητρικό διαβήτη και μειώνει τις βλάβες του νευρικού σωλήνα στα έμβρυα.

Θεραπεία με αναστολείς του JNK $\frac{1}{2}$ (SP600125) εμποδίζει τη διαβητική εμβρυοπάθεια. (Wada and Penninger, 2004, Essers et al., 2004). Οι JNK ενεργοποιούνται τόσο από εξωγενή όσο και ενδογενή αύξηση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Σε μελέτες βρέθηκε ότι σε περιπτώσεις μητρικού διαβήτη που υπερεκφράζεται το μονοπάτι JNK $\frac{1}{2}$ (σαν αποτέλεσμα ενεργοποίησης του ASK1) αυτό μπορεί να αναχαιτιστεί μέσω υπερέκφρασης της SOD1 (αντιοξειδωτικό) γεγονός που υποθέτει ότι το οξειδωτικό στρες προκαλεί την ενεργοποίηση του JNK $\frac{1}{2}$ μονοπατιού. (Wang et al., 2015a) Οι μελέτες του Wang et al έδειξαν τη σημασία του μονοπατιού ASK-JNK $\frac{1}{2}$ στη διαβητική εμβρυοπάθεια. Σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας, η ASK φωσφορυλιώνεται και μέσω αποδέσμευσης από την οξειδωμένη θειορεδοξίνη ενεργοποιείται.

Το μονοπάτι ASK1-JNK προκαλεί αλλά και επάγεται από το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου. Ο μητρικός διαβήτης αυξάνει το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και το μονοπάτι ASK1-JNK αφού είναι κύριο κομμάτι της απάντησης των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι αναστολή του στρες του ΕΔ σε έμβρυα σε διαβητικό περιβάλλον μειώνουν τους δείκτες του στρες του ΕΔ, μειώνουν την απόπτωση και μειώνουν την απόπτωση στο αναπτυσσόμενο νευρικό σύστημα και συνεπώς μειώνονται οι βλάβες του νευρικού σωλήνα.

Το στρες του ΕΔ ενεργοποιεί την JNK1/2. Ωστόσο αναστολή της JNK1/2 αποτρέπει το στρες του ΕΔ και την απόπτωση σε παγκρεατικά κύτταρα (Verma et al., 2013). Συνεπώς φαίνεται μια αμφίδρομη σχέση στρες ΕΔ και JNK1/2 στην παθογένεση της διαβητικής εμβρυοπάθειας.

Επίσης η φωσφορυλίωση της ASK1 εισάγει την απάντηση των μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών (UPR) και το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, τα οποία επάγουν τη διαβητική εμβρυοπάθεια μέσω πρόκλησης δυσλειτουργίας των βήτα κυττάρων και απόπτωσης. (Li et al., 2012, Li et al., 2013, Yang et al., 2013a, Wang et al., 2015d, Saitoh et al., 1998, Ozcan et al., 2004).

Η ενεργοποιημένη ASK1 προκαλεί την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα FOXO3a (Forkhead transcription factor 3a) ο οποίος αυξάνει την έκφραση του προαποπτωτικού παράγοντα TRADD (Yang et al., 2013a). Έχει βρεθεί ότι απώλεια του FoxO3 γονιδίου μειώνει την απόπτωση

και τον κίνδυνο για ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα σε διαβητική έμβρυα (Greer and Brunet, 2005, Yang et al., 2013a).

Z) Bax:Bcl2

Όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι η μητρική υπεργλυκαιμία αυξάνει την απόπτωση στο έμβρυο (Reece et al., 2005, Forsberg et al., 1998). Η απόπτωση εντοπίζεται κυρίως στα νευροεπιθηλιακά κύτταρα που είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη βλάβη από υπεργλυκαιμία (Sun et al., 2005). Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει το γεγονός ότι η υπερβολική απόπτωση, τουλάχιστον στο νευρικό σύστημα, συμβάλλει στη διαταραχή των ανατομικών δομών στα έμβρυα διαβητικών πειραματοζώων (Moley, 2001, Fine et al., 1999). Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι ένα κυτταρικό γεγονός που ρυθμίζεται με ακρίβεια και μπορεί να προκληθεί από εξωκυττάρια σήματα ή άλλα ερεθίσματα σε φυσιολογικές ή σε παθολογικές καταστάσεις (Evan et al., 1995). Στις περισσότερες περιπτώσεις η απόπτωση χαρακτηρίζεται από τη συμπύκνωση της χρωματίνης, αποδόμηση (θρυμματισμό) του DNA και το σχηματισμό των αποπτοσωμάτων (Evan et al., 1995, Yuan et al., 2003). Οι ενδοκυττάριοι παράγοντες που ενεργοποιούνται κατά την απόπτωση είναι μέλη της οικογένειας το Bcl-2 κυρίως οι Bax και Bim. Η απόπτωση που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία εμπεριέχει την διαταραγμένη ρύθμιση των μελών της οικογένειας των Bcl-2 πρωτεϊνών και την ενεργοποίηση της κασπάσης, κρίσιμα στάδια στο μιτοχονδριακό αποπτωτικό μονοπάτι. Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία αυξάνει την αναλογία Bax:Bcl2 η οποία σχετίζεται με την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c και την ενεργοποίηση της κασπάσης 3 στα εμβρυονικά κύτταρα (Kang et al., 2003). Η αύξηση της έκφρασης του Bax και της απελευθέρωσης κυτοχρώματος c και ενεργοποίηση της κασπάσης 3 είναι χαρακτηριστικά στα εμβρυονικά κύτταρα που αποπίπτουν κάτω από υπεργλυκαιμικές συνθήκες (Sun et al., 2005, Reece et al., 2005).

Οι Bax και Bak σχηματίζουν έναν πόρο στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, επιτρέποντας στο κυτόχρωμα c να εισέλθει στο κυτταρόπλασμα και να ενεργοποιήσει την απόπτωση (Antignani and Youle, 2006). Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης αυξάνονται τα ενδοκυττάρια επίπεδα έκφρασης των Bax, Bim. (Willis and Adams, 2005). Η Bax ενεργοποιείται από την Bid όταν η Bid έχει διασπαστεί από πρωτεάσες σερίνης θρεονίνης όπως η κασπάση 8. Οι ενεργοποιημένοι Bax εισέρχονται στο μιτοχόνδριο όπου σχηματίζουν ένα διαμεμβρανικό κανάλι με το Bak (άλλο μέλος της οικογένειας του Bcl-2) (Cory et al., 2003)

Στη διαβητική εμβρυοπάθεια η κασπάση 8 διασπά τη Bid σε tBid και διεγείρει την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Ο Bim φωσφορυλιώνεται και μεταναστεύει στο μιτοχόνδριο όπου βοηθάει στη διάνοιξη του Bax/Bak καναλιού που έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση του κυτοχρώματος C.

Το κυτόχρωμα c συνδέεται με τον apoptosis protease-activating factor-1 (Apaf-1) και το σύμπλεγμα ενεργοποιεί την κασπάση 9 σχηματίζοντας το αποπτόσωμα. Η ενεργοποιημένη κασπάση 9 ενεργοποιεί με τη σειρά της τις κασπάσες-τελεστές όπως την κασπάση 3,6 και 7 και στη συνέχεια άλλους παράγοντες που οδηγούν στο διαμελισμό του DNA και τον κυτταρικό θάνατο (Ferraro et al., 2003).

H)TRADD/FADD

Ο μητρικός διαβήτης αυξάνει την έκφραση του TRADD (Tumor necrosis factor Receptor type1 Associated Death Domain) και η απώλεια του γονιδίου FoxO3a βελτιώνει την υπερέκφραση αυτή γεγονός που δείχνει ότι το TRADD είναι υπεύθυνο για το παραπάνω φαινόμενο. Ο TRADD αλληλεπιδρά με το σύμπλεγμα IRE-ASK1 και το FADD (Fas Associated Death Domain).

In vivo μελέτες έδειξαν ότι έλλειψη του FADD αποτρέπει το μονοπάτι ενεργοποίησης του ER stress μέσω του IRE σε διαβήτη και μειώνει την πιθανότητα βλάβης του νευρικού σωλήνα. Στα ίδια πειραματόζωα μειώθηκε η μεταφορά στα μιτοχόνδρια της προαποπτωτικών μελών της Bcl-2 οικογένειας, που προκαλούν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στον διαβήτη και μειώθηκε και η ενεργοποίηση των κασπασών.

In vitro μελέτες έδειξαν ότι η υπερέκφραση του TRADD προκαλεί μη ορθά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών και στρες του ΕΔ, πριν την ενεργοποίηση των κασπασών 3 και 8, και απόπτωση. Μειωμένη έκφραση του FADD κατέστειλε τη βλάβη από τη υπεργλυκαιμία ή από την υπερέκφραση του TRADD και τα επακόλουθά της όπως την απόπτωση. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι το TRADD μετέχει στη σηματοδότηση μέσω IRE1a και επάγει την απάντηση UPR και το στρες του ΕΔ, καθώς και ότι η σχέση TRADD και FADD είναι απαραίτητη για το στρες του ΕΔ που παρατηρείται στο διαβήτη ή/ και στο υπεργλυκαιμικό περιβάλλον. (Wang et al., 2015c)

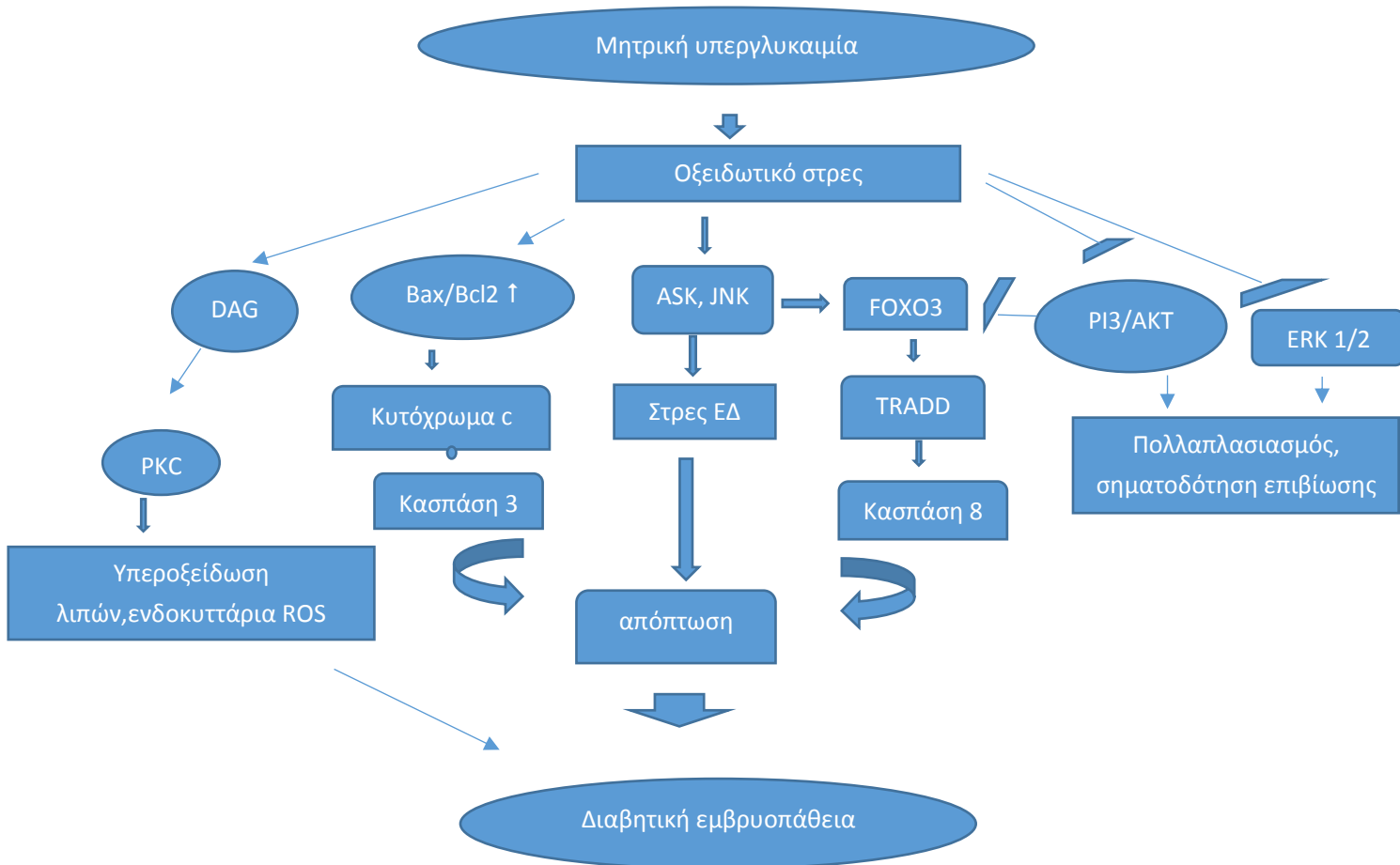
Θ) IRE/PERK

Το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και η οφειλόμενη στην κασπάση 8 απόπτωση είναι δύο αλληλοσυνδεόμενα αιτιολογικά γεγονότα στη βλάβη του νευρικού σωλήνα σε διαβητικές κυήσεις. Το μονοπάτι του IRE μεσολαβεί την προαποπτωτική διαδικασία στο στρες του ΕΔ. Ένα σύνολο μοριακών χαπερονών που βρίσκονται στο ΕΔ, όπως συνδετικές πρωτεΐνες των ανοσοσφαιρινών (BiP) και η καλνεξίνη, είναι κρίσιμο για τη διατήρηση της ομοιόστασης του ΕΔ. Υπάρχουν μόρια-αισθητήρες των μη ορθά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών, κυρίως η IRE1 (inositol-requiring protein-1a) και η PERK (protein kinase RNA-like ER kinase) που μεσολαβούν στη σηματοδότηση του προ-αποπτωτικού μονοπατιού στο ΕΔ. (Szegezdi et al., 2006). Πειραματικά δεδομένα σε έμβρυα που εκτέθηκαν σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον δείχνουν διεύρυνση/»πρήξιμο» των αυλών του ΕΔ στα νευροεπιθηλιακά κύτταρα και αυξημένους δείκτες στρες ΕΔ. (Li et al., 2013). Ο μητρικός διαβήτης ενεργοποιεί την IRE1 και την PERK (Li et al., 2013). Ενεργοποίηση της IRE1 οδηγεί στο μάτισμα του RNA της XBP1 (X-box binding protein) και το σχηματισμό ενός μεταγραφικού ενεργοποιητή. Επίσης η ενεργοποίηση της PERK οδηγεί στη φωσφορυλίωση του eIFa (eukaryotic initiation factor 2^a) που οδηγεί στην αναβάθμιση του αποπτωτικού παράγοντα CHOP (C/EBP-homologous protein). (Li et al., 2013).

Διαταραγμένη επαγωγή των μεταγραφικών παραγόντων, όπως το paired box (PAX)-3 και του peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) d, συσχετίστηκε με την πρόκληση ανωμαλιών τόσο στο νευρικό σωλήνα όσο και στην καρδιά, τις πιο συχνές συγγενείς ανωμαλίες στο μητρικό διαβήτη σε ανθρώπους και πειραματόζωα (Loeken, 2006, Kumar et al., 2007, Higa et al., 2007)

Ι) ERK ½

Έχει βρεθεί ότι σε περιπτώσεις διαβητικής εμβρυοπάθειας μειώνεται η δράση της ERK ½ (αλλιώς κλασική MAPK). Η δραστηριότητα της Akt επίσης μειώνεται σε διαβητική εμβρυοπάθεια. Η Akt είναι ο κυρίως μεσολαβητής στο μονοπάτι της κινάσης της φωσφατιδυλοinosιτόλης 3 PI3K που είναι ο κεντρικός ρυθμιστής του mTOR (mammalian Target of Rapamycin). Η μείωση του Akt σε μητρικό διαβήτη οδηγεί στην ενεργοποίηση του FOXO3a και ακολούθως όπως είδαμε και πριν στην ενεργοποίηση του TRADD και της κασπάσης 8 οδηγώντας στη διαβητική εμβρυοπάθεια (Reece et al., 2002).



Σχήμα 29

Σύνοψη των μηχανισμών πρόκλησης διαβητικής εμβρυοπάθειας μέσω οξειδωτικού στρες

Κ)Η βλάβη του DNA μέσω του οξειδωτικού στρες και διαβητική εμβρυοπάθεια

Όπως έχουμε δει προηγουμένως το οξειδωτικό στρες προκαλεί βλάβη του DNA συγκεκριμένα μπορεί να επάγει περίπου 10000 μεταλλάξεις στο DNA ανά κύτταρο, ανά ημέρα. Για τη διατήρηση της σταθερότητας του γενετικού υλικού το κύτταρο έχει αναπτύξει το DNA damage response (DDR) και το DNA επιδιορθωτικό μονοπάτι που αναγνωρίζουν-εντοπίζουν τη βλάβη και επάγουν την επιδιόρθωση του DNA. Το DDR αποτελείται από δύο μονοπάτια

α) Ataxia-telan-giectasia mutated (ATM)-Checkpoint 2 (ATM-Chk2) που ενεργοποιείται κυρίως σε απάντηση σε τομή στη διπλή έλικα . Το ενεργοποιημένο σύστημα λειτουργεί σαν κινάση και φωσφορυλιώνει κατάλοιπα γονιδίων ανάμεσα στα οποία και Chk2, p53, και της ιστόνης H2A.X(Yan et al., 2014, Friedberg, 2003)

β) ATR-Rad3-related (ATR)-Checkpoint 1 (Chk1) (ATR-Chk1) που ενεργοποιείται με την ακτινοβολία UV, IR, μεθυλμεθανοσουλφονικό (MMS) και τη μιτομυκίνη (MMC) σε απάντηση στη στασιμότητα αναδιπλασιασμού ελίκων και βλάβης του DNA και προκαλεί φωσφορυλίωση του Chk1 σε θέση σερίνης. Αυτή με τη σειρά της ενισχύει τη δραστηριότητα κινάσης και φωσφορυλιώνει άλλα κατάλοιπα οδηγώντας σε σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου και

επιδιόρθωση της βλάβης. Και τα δύο συστήματα ενεργοποιούνται από το οξειδωτικό στρες. Οι Daoyin Dong et al (Dong et al., 2015b) βρήκαν ότι ο μητρικός διαβήτης in vitro επάγει βλάβη του DNA μέσω αύξησης της φωσφορυλίωσης της ιστόνης H2A.X, της ενεργοποίησης της σηματοδότησης του DDR και των επακόλουθων downstream effector p53. Συνεπώς η φωσφορυλίωση της ιστόνης H2A.X αποτελεί έναν από τους πρώιμους δείκτες βλάβης του DNA και είναι σημαντική για τη διαρκή στρατολόγηση των διαφόρων σημείων ελέγχου και των πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για την επιδιόρθωση στο σημείο βλάβης του DNA).

Συγκεκριμένα σε νευρικά βλαστικά κύτταρα που εκτέθηκαν σε μητρικό σακχαρώδη διαβήτη βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα της p-H2.X και μάλιστα με δόσοεξαρτώμενη σχέση με τη γλυκόζη του περιβάλλοντος, μείωση των επιπέδων της p-H2.X σε συνθήκες υπερέκφρασης της υπεροξειδικής δισμουτάσης (αντιοξειδωτικό), αύξηση της φωσφορυλίωσης των γονιδίων Chk1Chk2 που επίσης αντιστρέφονταν με υπερέκφραση της SOD1, αύξηση της p53 (σαν αποτέλεσμα της φωσφορυλίωσης Chk1Chk2) η οποία αντιστρέφονταν με υπερέκφραση της SOD1.

Μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν ότι ο διαβήτης προκαλεί βλάβη σε μια σειρά από κύτταρα και ιστούς συμπεριλαμβανομένων των λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων, λευκοκυττάρων, ερυθροκυττάρων, νησιδιακών κυττάρων και του σπλαγγχνικού λιπώδους ιστού (Blasiak et al., 2004, Song et al., 2007, Jones et al., 2014). Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι τα επίπεδα των δεικτών βλάβης του DNA από το οξειδωτικό στρες όπως η 8-οξοπροσταγλανδίνη είναι αυξημένα στο νεφρικό φλοιό, τον όρχι και τα σπυραγγώδη σώματα. (Dong et al., 2015a).

Τα τελομερίδια, η φυσιολογική απόληξη των γραμμικών χρωμοσωμάτων, είναι ζωτικής σημασίας για σταθερότητα του γονιδιώματος και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Εάν τα αποθέματα σε μήκος των τελομεριδίων είναι ανεπαρκή, αυτός είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την εκδήλωση εκφυλιστικών νοσημάτων και οργανικής δυσλειτουργίας. Επίσης τα τελομερή συμβάλλουν στην κίνηση των χρωμοσωμάτων κατά τη διάρκεια της γαμετογένεσης, κυρίως στη μείωση, συνεπώς η διασφάλιση του μήκους τους είναι απαραίτητη για την ορθή δημιουργία γαμετών.

Η ομοιοστάση των τελομεριδίων αναφέρεται στη διατήρηση του μήκους των τελομεριδίων κατά την αντιγραφή του DNA.

Υπάρχει μια σχέση μεταξύ σακχαρώδη διαβήτη και απώλεια μήκους των τελομερών. Σε μελέτες βρέθηκε μειωμένη έκφραση της τελομεράσης και μειωμένη έκφραση του γονιδίου TERC (human telomerase reverse transcriptase) σε διαβητικούς πλακούντες όχι όμως και σε λευκοκύτταρα ομφαλίου αίματος. Φαίνεται ότι ο μη ελεγχόμενος διαβήτης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης προκαλεί διαταραχή της ομοιοστάσης τελομεριδίων-τελομεράσης στα τροφοβλαστικά κύτταρα γεγονός που μπορεί να εξηγήσει τον αυξημένο κίνδυνο για μεταβολικά νοσήματα στην ενήλικη ζωή των απογόνων σαν αποτέλεσμα εμβρυϊκού προγραμματισμού. Το γεγονός ότι οι αλλαγές αυτές δεν φάνηκαν στα λευκοκύτταρα του ομφαλίου αίματος μπορεί να εξηγηθεί από διαφορετικούς μηχανισμούς ομοιοστάσης των τελομερών στο εμβρυϊκό αίμα (Biron-Shental et al., 2016).

Αντίθετα ο πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας PIGF-2 ήταν σημαντικά μειωμένος σε πλακούντες εμβρύων διαβητικών μητέρων σε σχέση με τους μάρτυρες ανεξάρτητα από δυσπλασίες.

Άλλοι παράμετροι

Τα πλακουντιακά επίπεδα του διαλυτού παράγοντα sFlt-1 βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα σε πλακούντες διαβητικών εμβρύων ανεξάρτητα από τυχόν δυσπλασίες.

Οι Ejdesjö A μελέτησαν κυήσεις με ΣΔ που προκλήθηκε με στρεπτοζοτοκίνη σε ποντίκια άγριου τύπου και σε Knockout για RACE (υποδοχείς των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης). Βρέθηκε ότι ο μητρικός διαβήτης προκάλεσε μεγαλύτερη εμβρυακή απορρόφηση και ανωμαλίες (προσώπου, νευρικού σωλήνα) στα άγριου τύπου σε σχέση με τα RAGE knockout. Τα επίπεδα της γλυκόζης πλάσματος της μητέρας και της μεθυλγλυοξάλης και της εμβρυικής N-καρβοξυμεθυλ-λυσίνης ήταν συγκρίσιμα. Ωστόσο ο μητρικός διαβήτης προκάλεσε αυξημένη ηπατική ισοπροστάνη-8-ισο PGF2 (δείκτης οξειδωτικού στρες) και εμβρυική ενεργοποίηση του NFκB μόνο στα ποντίκια άγριου τύπου (Ejdesjö et al., 2016).

Το μονοπάτι του Nrf2 αποτελεί ένα βασικό μηχανισμό άμυνας στο οξειδωτικό στρες. Οι Dong et al μελέτησαν τον ενεργοποιητή του μονοπατιού του Nrf2, βινυλσουλφόνη, ως πιθανό προστατευτικό παράγοντα στην διαβητική εμβρυοπάθεια. Καλλιεργήθηκαν έμβρυα ποντικού σε φυσιολογικό και σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον με και χωρίς βινυλσουλφόνη. Στο πιο υπεργλυκαιμικό περιβάλλον η προσθήκη βινυλσουλφόνης προκάλεσε μεγαλύτερη αναστολή των ανωμαλιών νευρικού σωλήνα και μείωση των δεικτών του οξειδωτικού στρες (λιπουπεροξειδία, 4υδροξυονέναιλ και νιτροτυροσίνη-τροποποιημένες πρωτεΐνες) και μείωση των δεικτών του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (μέσω αναστολής των: φωσφορυλιωμένη PERK, IRE1a, eIF2a, αύξησης του CHOP, XBP1, BiP). Επίσης η προσθήκη βινυλσουλφόνης καταργεί την διάσπαση των κασπασών 3 και 8 (δείκτες απόπτωσης). Συνεπώς, η βινυλσουλφόνη μπορεί να θεωρηθεί μια πιθανή θεραπεία στη διαβητική εμβρυοπάθεια. (Dong et al., 2016a)

Υπερ-ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης Cβ3 και γ1 σημαίνει διαταραγμένο μεταβολισμό φωσφολιπιδίων. Εξετάσεις μεταβολώματος αποκαλύπτουν σημαντικές αλλαγές στο προφίλ του μεταβολισμού των φωσφολιπιδίων. Ανάμεσα στα υπόλοιπα, παρατηρήθηκε :

- αύξηση των επιπέδων της διφωσφονικής φωσφατίδυλοινωσιτόλης PIP2
- ενεργοποίηση του τελεστή της PIP2, PTEN ενεργοποίηση της Akt
- μείωση του mTOR

Η αναστολή των φωσφολιπασών C και του PTEN καταστέλλει την υπερπαραγωγή ενεργών ριζών και η αναστολή των PLC εμποδίζει τον θρυμματισμό των μιτοχονδρίων στα νευρικά εμβρυονικά κύτταρα που καλλιεργούνται σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης. (Cao et al., 2016).

Οξειδωτικό στρες και σίδηρος σε ΣΔΚ

Η χορήγηση συμπληρωμάτων σιδήρου αυξάνει τα αποθέματα σιδήρου στις μητέρες με αναιμία. Ωστόσο η χορήγηση συμπληρωμάτων σιδήρου έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση διαβήτη κύησης στις γυναίκες και αυξημένου οξειδωτικού στρες κατά την κύηση. Είναι σημαντικό να διαχωρίζεται η αναιμία από τις ανεπαρκείς αποθήκες σιδήρου και να μη θεωρούνται συνώνυμα ακόμα και σε χαμηλού εισοδήματος γυναίκες σε αναπαραγωγική ηλικία, ώστε η χορήγηση σιδήρου να γίνεται εκεί που είναι πραγματικά αναγκαία. (Zhuang et al., 2014).

Υψηλές δόσεις σιδήρου (αντίστοιχες με 60 mg/d σε ανθρώπους) μπορούν να προκαλέσουν υπεροξειδωση λιπών σε πειραματόζωα in vitro. Φαρμακευτικές δόσεις συμπληρωμάτων σιδήρου (περίπου 10x συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης ή παραπάνω σε συμπληρώματα από του στόματος ή απευθείας ενέσιμος σίδηρος ή προσθήκη σε καλλιεργητικό μέσο) για σύντομο ή μεγάλο χρονικό διάστημα προκαλεί βλάβη στο DNA. (Scholl, 2005).

Τα β παγκρεατικά κύτταρα είναι ευαίσθητα στο οξειδωτικό στρες. Φαίνεται ότι το οξειδωτικό στρες που σχετίζεται με το σίδηρο μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη διαβήτη κύησης. (Zein et al., 2014).

Πιθανολογείται ότι η χορήγηση σιδήρου προκαλεί σακχαρώδη διαβήτη μέσω υπεροξειδωσής των λιπών της βλάβης του DNA. Ο μη δεσμευμένος με την τρανσφερίνη σίδηρος σχετίζεται θετικά με την αντίσταση στην ινσουλίνη στα λιποκύτταρα. Ο διαιτητικά χορηγούμενος σίδηρος αίμης, αλλά όχι και η χορήγηση του σιδήρου που δε σχετίζεται με την αίμη, καθώς και τα συμπληρώματα σιδήρου έδειξαν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη (Domellöf et al., 2013, Bowers et al., 2011). Κάθε 1mg χορήγησης σιδήρου αίμης αυξάνει την πιθανότητα του ΣΔΚ κατά 51% (Qiu et al., 2011). Άλλη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων σιδήρου (μέση ημερήσια δόση 136mg/d) αύξησε τις πιθανότητες εμφάνισης ΣΔΚ κατά 2,3 φορές για τις μη-αναιμικές γυναίκες σε σύγκριση με τη χορήγηση χαμηλών δόσεων σιδήρου (μέση ημερήσια δόση 36mg/d) (Helin et al., 2012). Έχει βρεθεί ότι γυναίκες με ΣΔΚ έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σιδήρου σε σχέση με τους μάρτυρες. Άλλη μελέτη που έγινε στην Ελλάδα έδειξε ότι οι υψηλές τιμές φερριτίνης συσχετίστηκαν με κύσεις με ΣΔΚ και επιπλοκές κύησης όπως IUGR και προωρότητα (Lao et al., 2001, Soubasi et al., 2010)

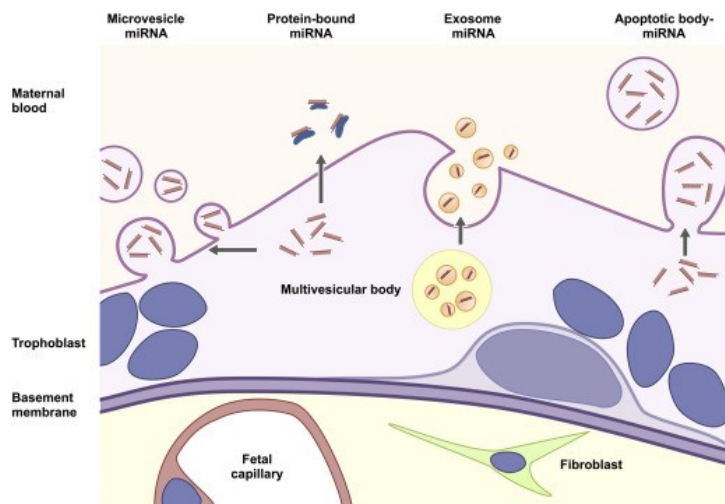
Υπάρχουν ωστόσο και μελέτες που δεν επιβεβαίωσαν αυτή τη συσχέτιση (Chan et al., 2009, Kinnunen et al., 2016). Επίσης οι γονιδιακοί πολυμορφισμοί της κληρονομικής αιμοχρωμάτωσης C282Y που σημαίνει συσσώρευση υπερβάλλοντος σιδήρου ή άλλων αιμοσφαιρινοπαθειών με αυξημένο φορτίο σιδήρου (πχ θαλασσαιμία, δρεπανοκυτταρική αναιμία) σχετίζονται με σακχαρώδη διαβήτη κύησης (Cauza et al., 2005, Bencaiova et al.).

Πιο τοξικός θεωρείται ο μη δεσμευμένος με την τρανσφερίνη σίδηρος (NPBI). Αντίστροφα ο ενδοερυθροκυτταρικός μη δεσμευμένος με τρανσφερίνη σίδηρος αποτελεί δείκτη υποξίας (Buonocore et al., 1998). Συνολικά η απελευθέρωση του NPBI στο πλάσμα, μετά από ασφυξία και οξέωση αποτελεί δείκτη οξειδωτικού στρες (Buonocore and Perrone, 2004, Ciccoli et al., 2003). Ο NPBI οδηγεί στην κατάλυση του υπεροξειδικού ανιόντος, του περοξειδίου του υδρογόνου και τη γένεση καταστροφικών ριζών υδροξυλίου. Η παρουσία ελεύθερου σιδήρου αυξάνει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών και πιθανά προκαλούν ιστική καταστροφή. Ο NPBI του πλάσματος μπορεί να διαφύγει στον εγκέφαλο δια μέσω ενός προβληματικού φραγμού. Όταν ο NPBI εισέρχεται στον εξωκυττάριο χώρο, η πρόσληψή του από τα κύτταρα αυξάνεται από το ενδοκυττάριο ασβέστιο και παραδόξως από την αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση σιδήρου. Ειδικά τα διαφοροποιούμενα ολιγοδενδροκύτταρα είναι ιδιαίτερος εύλωτα στη βλάβη από τις ελεύθερες ρίζες επειδή είναι πλούσιες σε σίδηρο επειδή τον χρειάζονται για τη διαφοροποίηση (Ozawa et al., 1994). Μια μελέτη in vivo και ex vivo σε μοντέλα αρουραίων με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης δείχνει ότι οι καθυστερήσεις στη διαφοροποίηση των ολιγοδενδροκυττάρων και τη μυελινοποίηση οφείλονται στην αύξηση της μορφογενετικής πρωτεΐνης των οστών 4 (BMP4) που συμβαίνει λόγω του οξειδωτικού στρες. Όταν αυξάνεται η έκφραση της BMP4 στα ολιγοδενδροκύτταρα, διαταράσσεται η διαφοροποίηση. Στη φυσιολογική μυελινοποίηση παρατηρείται κατάργηση της σηματοδότησης της BMP4. (Reid et al., 2012)

Μικροσωματίδια

Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε ότι μόνο το 1,2% κωδικοποιεί πρωτεΐνες, γεγονός το οποίο έθεσε ερωτήσεις για τη λειτουργία του υπόλοιπου γονιδιώματος. Τώρα γνωρίζουμε ότι το 80% του γονιδιώματος χρησιμεύει για τουλάχιστον μια βιοχημική λειτουργία μέσα στο κύτταρο. Ένα μέρος αυτού του 80% αποτελεί μια οικογένεια μη-κωδικοποιού-ρυθμιστικού RNA, και σημαντικό μέλος των οποίων είναι τα microRNAs(miRNAs). Τα miRNAs ανιχνεύονται σε διάφορους ιστούς και βιολογικά υγρά. Στα βιολογικά υγρά, τα miRNAs μπορούν να είναι συνδεδεμένα με πρωτεΐνες ή να εγκλείονται σε οχήματα λιπιδίων όπως τα εξοσώματα (Iltis et al., 2016).

Τα μικροσωματίδια αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό από μικρά σωματίδια που καλύπτονται από μεμβράνη που απελευθερώνονται από διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς που ενεργοποιούνται ή αποπύπτουν. Η δημιουργία των μικροσωματιδίων είναι μια καλή ρυθμιζόμενη διαδικασία, αν και τα σωματίδια ποικίλλουν σε μέγεθος, σύνθεση και λειτουργία. Αν και παλαιότερα πιστευόταν ότι πρόκειται για απλά συγκρίματα χωρίς ιδιαίτερη λειτουργία, νεότερα δεδομένα δείχνουν σημαντικούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που ενορχηστρώνονται από μικροσωματίδια σε αγγειακές νόσους που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Αυτά τα σωματίδια έχουν ενοχοποιηθεί μεταξύ των άλλων στην παθογένεση της θρόμβωσης, της φλεγμονής της αθηροσκλήρυνσης και του αγγειακού κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Εκτός από τα μικροσωματίδια, η ενεργοποίηση του ενδοκυτταρικού –λυσοσωματικού κυτταρικού συστήματος κυκλοφορούντων κυττάρων επάγει την απελευθέρωση μικρών σωματιδίων που ονομάζονται εξοσώματα που μπορούν επίσης να συμμετέχουν στην αγγειακή δυσλειτουργία.



Σχήμα 30 από (Iltis et al.)

Ο σχηματισμός των εξοκυττάρων microRNAs που προέρχονται από τους ανθρώπινους τροφοβλάστες. Τα microRNAs μπορούν να απελευθερωθούν από το στρώμα των τροφοβλαστών κυττάρων σε διάφορες μορφές.

- Περιβεβλημένα μικροσωματίδια
- Περιβεβλημένα αποπτωτικά σωματίδια
- Εγκυστωμένα νανοσωματίδια με μορφή εξοσώματος
- Συνδεδεμένα με πρωτεΐνη RNA

Τα εξοσώματα σχηματίζονται εκβλασταίνοντας από ενδοαυλικές «φυσαλίδες» σχηματίζοντας πολυκυψελιδωτά σωματίδια. Τα πολυκυψελιδωτά σωματίδια τήκονται με τη μεμβράνη του κυττάρου και απελευθερώνουν τα ενδοαυλικές «φυσαλίδες» τους ως εξοσώματα στον εξωκυττάριο χώρο. Αντίθετα τα μικροσωματίδια παράγονται απευθείας με εκβλάστηση και αποχωρισμό των μεμβρανικών «φυσαλίδων» από την πλασματική μεμβράνη. Τα αποπτωτικά σωματίδια προέρχονται από κύτταρα που βρίσκονται σε αποπτωτική κατακρήμνιση και σχηματισμό κυστιδίων που περιβάλλονται από μεμβράνη.

Το μεταβολικό σύνδρομο συνδέεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Τα κυκλοφορούντα μικροσωματίδια MP εμπλέκονται στην παθογένεση της αθηρογένεσης και αυξάνονται στις καρδιαγγειακές νόσους. Οι Helal και συνεργάτες μελέτησαν τα επίπεδα και την κυτταρική τους προέλευση σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο και τα συσχέτισαν με ανθρωπομετρικούς παράγοντες και δείκτες του οξειδωτικού στρες. Βρέθηκαν αυξημένα μικροσωματίδια annexin V-positive MP (TMP), μικροσωματίδια από αιμοπετάλια (PMP), από ενδοθηλιακά κύτταρα (EMP) και ερυθροκύτταρα. Οι δείκτες του οξειδωτικού στρες (υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και *disprostaglanin F*) συνδέονταν ανεξάρτητα με τα επίπεδα του TMP και PMP ενώ οι δείκτες της φλεγμονής όχι. (Helal et al., 2011)

Κατά τη διάρκεια της πλακουντοποίησης η κυτταρική διαφοροποίηση, μετανάστευση, απόπτωση και αγγειογένεση συνδέεται με ειδικά miRNAs και η διαταραχή της έκφρασής τους συνδέεται με παθολογία της κύησης και επιπλοκές. (Lycoudi et al., 2015). Μελέτη που συνέκρινε τα επίπεδα κυκλοφορούντων εξοσωμάτων σε φυσιολογικές κύσεις και σε ΣΔΚ σε διάφορες ηλικίες κύησης βρήκε ότι τα επίπεδα των εξοσωμάτων αυξάνονται κατά τη διάρκεια της κύησης τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε ΣΔΚ. Ωστόσο η αύξηση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε κύσεις με ΣΔΚ. (2,2, 1,5 και 1,8 φορές μεγαλύτερη σε κάθε ηλικία κύησης σε σχέση με τους μάρτυρες. Τα εξοσώματα που απομονώθηκαν σε κύσεις ΣΔΚ αυξήσαν σε σημαντικό βαθμό την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών από ενδοθηλιακά κύτταρα (Salomon et al., 2016).

Τα micro RNA (miRNA) είναι μικρά μη-κωδικοποιά RNA που καταστέλλουν τη γονιδιακή έκφραση σε ένα μετα-μεταγραφικό επίπεδο και έχουν εξέχοντα ρόλο στην ανάπτυξη της εμβρυϊκής καρδιάς. Σε καθολικές μελέτες χαρτογράφησης οι Dong et al βρήκαν 149 χαρτογραφημένα miRNAs τροποποιημένα σε περιπτώσεις διαβήτη προϋπάρχοντος της κύησης. Αναλύσεις με βιοπληροφορική έδειξαν ότι η πλειονότητα από το σύνολο των 2111 πιθανών γονιδίων στόχων των miRNA σχετίζεται με μονοπάτια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη της καρδιάς, συμπεριλαμβανομένων των STAT, IGF1 και μεταγραφικών παραγόντων *Cited2*, *Zeb2*, *Mef2c*, *Smad4* and *Ets1*. Υπερέκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων αντιστρέφει τη διαφοροποίηση αυτή των miRNAs γεγονός που δείχνει ότι το οξειδωτικό στρες είναι υπεύθυνο γι' αυτή την αλλοίωση (Dong et al., 2016b).

Μεταγραφομική Transcriptomics

Η ινσουλίνη ρυθμίζει πολλές κυτταρικές λειτουργίες, αλλά ακόμα δεν έχει καταγραφεί το πλήρες αποτέλεσμα της ανεπάρκειας ινσουλίνης στις κυτταρικές λειτουργίες. Οι Dutta et al εφάρμοσαν φασματοσκοπία μάζας- βασιζόμενοι σε μη στοχευμένη μεταβολομική προσέγγιση, και βρήκαν διαφοροποίηση σε 330 μεταβολίτες του πλάσματος που αντιπροσωπεύουν 33 μεταβολικά μονοπάτια κατά τη διάρκεια 8ωρης αποχής από την ινσουλίνη σε άτομα με ΣΔ τύπου I. Σε αυτά τα μονοπάτια ανήκουν αυτά που είναι γνωστό ότι επηρεάζονται από την ινσουλίνη, όπως ο μεταβολισμός της γλυκόζης, των αμινοξέων, των λιπαρών οξέων και ο κύκλος του Krebs και ανοσολογικές απαντήσεις καθώς και άλλα που δεν ήταν τόσο γνωστό ότι επηρεάζονταν όπως ο μεταβολισμός της προσταγλανδίνης, του αραχιδονικού οξέος, των λευκοτριενίων, νευροδιαβιβαστών, νουκλεοτιδίων και αντιφλεγμονωδών διεργασιών. Εργασίες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν δείξει την επίδραση της μεταβολής της ανοχής στη γλυκόζη και της ευαισθησίας στην ινσουλίνη στους μεταβολίτες του πλάσματος και των ούρων. Μελέτες με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό μη στοχευμένου μεταβολομικού προφίλ σε ανθρώπινο ορό δεν κατάφεραν να κάνουν διάκριση ανάμεσα σε άτομα με διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (προδιαβήτης) και αυτά με φυσιολογική απάντηση στη γλυκόζη (Zhang et al., 2009b). Αντίθετα χρησιμοποιώντας υψηλής ευκρίνειας υγρή χρωματογραφία ultra-performance liquid chromatography quadruple timeofflight mass spectrometry (UPLC-ToF MS) βρέθηκαν αλλαγές που διαφοροποιούν το προφίλ του μεταβολώματος μεταξύ ατόμων με φυσιολογικά και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (Zhao et al., 2010).

Οι αναδύομενες αυτές τεχνολογίες διευκόλυναν τους ερευνητές στην αναγνώριση βιοδεικτών που μπορούν να προβλέψουν τον κίνδυνο έναρξης του διαβήτη και βοηθούν στην ανάπτυξη στρατηγικών για την πρόληψη της ασθένειας και των επιπλοκών της.

Η σημαντική συμφωνία μεταξύ του μεταβολώματος και των μονοπατιών που βασίζονται στο μεταγράφημα των σκελετικών μυών, υποστηρίζει ακόμα περισσότερο την υπόθεση ότι οι μεταβολίτες του πλάσματος είναι τα χημικά «αποτυπώματα» των κυτταρικών γεγονότων. Αν και η θεραπεία με ινσουλίνη ομαλοποιεί τη γλυκόζη του πλάσματος και πολλούς άλλους μεταβολίτες, υπάρχουν 71 μεταβολίτες και 24 μονοπάτια που διαφέρουν σε άτομα που δεν έχουν διαβήτη και άτομα με ΣΔ I υπό θεραπεία με ινσουλίνη. Η επιβεβαίωση των γνωστών μονοπατιών που μεταβάλλονται από την ινσουλίνη με τη χρήση ενός δείγματος αίματος προσφέρει σιγουριά για την παρούσα προσέγγιση. Η έρευνα του μέλλοντος οφείλει να εστιάσει σε νέο-ανακαλυφθέντα μονοπάτια που επηρεάζονται από την έλλειψή της ινσουλίνης και τη συστηματική θεραπεία με ινσουλίνη για να καθορίσει τη συμβολή τους στη θνητότητα και νοσηρότητα του ΣΔI ανεξάρτητα από τη θεραπεία (Dutta et al., 2012).

Στη μελέτη του μεταγραφώματος λόγω της πολυπλοκότητας των διαφόρων μονοπατιών έχει εμπλακεί η τεχνολογία της πληροφορικής και ο σχεδιασμός πολύπλοκων μοντέλων ανάλυσης αποτελεσμάτων. Οι πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις έχουν σημαντικό ρόλο στις σύμπλοκες ασθένειες. Για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων αυτών οι Li et al ανέλυσαν το μεταγράφημα μονοκύτταρων του περιφερικού αίματος με στρατηγική πολλαπλών μεθόδων. (Li et al., 2016) σχεδίασαν ένα ιστοειδικό ιντεράκτομα (T2Di) και αναγνώρισαν 429 μοριακές «υπογραφές» που σχετίζονται με συμπτώματα και νοσηρότητα του ΣΔII, που κυρίως εμπλέκονται στη φλεγμονή, την λιπογένεση, την φωσφορυλίωση πρωτεϊνών και την ορμονική έκκριση. Εκτός από αποτελέσματα που εξηγούνταν μέσω της μελέτης DIAGRAM (πολυεθνική συνεργασία που μελέτησε γενετικούς τόπους που εμπλέκονται στο ΣΔII σε διαφορετικούς πληθυσμούς), οι «υπογραφές» του ιστοειδικού ιντερακτώματος εμπλουτίστηκαν σε παθογενετικά κυτταρο-ειδικά

ρυθμιστικά στοιχεία που σχετίζονται με την εμβρυική ανάπτυξη, την ανοσία και την έκφραση γενετικών τόπων ποσοτικών χαρακτηριστικών. Επίσης, αναγνωρίστηκαν οι μοριακοί στόχοι παλιών αντιδιαβητικών φαρμάκων και προτάθηκαν νέοι. Οι υπογραφές αυτές επικυρώθηκαν με ανεξάρτητη μέθοδο με ηλεκτρονικούς υπολογιστές και με δεδομένα έκφρασης από νησίδια του παγκρέατος, μύες και ήπαρ με μοριακές υπογραφές από ανεξάρτητη μελέτη κοόρτης. Έτσι συνδυάζοντας την προηγούμενη γνώση με τα νέα στοιχεία σχεδιάστηκε ένα μοντέλο ιντερακτώματος που εξηγεί σε πολλαπλά επίπεδα τα ρυθμιστικά μονοπάτια στον ΣΔΙΙ.

Μεταβολική μνήμη και εμβρυικός προγραμματισμός

Στα τέλη της δεκαετίας του 1980 ο επιδημιολόγος και κλινικός David Barker βρήκε μια απρόσμενη σχέση μεταξύ του μικρού βάρους γέννησης, που είναι δείκτης κακής θρέψης κατά τη διάρκεια της κύησης και αυξημένου κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου στην ενήλικη ζωή. Ο Barker και οι συνεργάτες του, έχοντας ως βάση διάφορες εργασίες, υπέθεσαν ότι η έκθεση σε δυσμενές εμβρυικό περιβάλλον ακολουθούμενη από υπερπροσφορά τροφής κατά την περιγεννητική περίοδο μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες ασθένειες τη ενήλικης ζωής (Barker et al., 1989, Barker et al., 2010, Barker and Osmond, 1986). Η υπόθεση αυτή ονομάστηκε «εμβρυική προέλευση των ασθενειών του ενήλικα» και προβλέπει ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες και κυρίως η διατροφή δρουν στην αρχή της ζωής, προγραμματίζοντας κινδύνους που θα εκφραστούν αργότερα. Μάλιστα βρήκε ότι το σχήμα και το μέγεθος του πλακούντα μπορεί να είναι σημαντικό για την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου και το ενδομήτριο περιβάλλον επηρεάζει την ανάπτυξη λεμφώματος ή και καρκίνου των πνευμόνων στους απογόνους. Οι αντίπαλοι της υπόθεσης του Barker ισχυρίζονταν ότι η θρέψη κατά την εμβρυική ζωή μπορούσε μόνο να υποτεθεί σαν έμμεσο συμπέρασμα από το μέγεθος του εμβρύου ή του νεογνού και ότι πολλές επιδημιολογικές μελέτες υπόκεινται σε διάφορους συγχυτικούς παράγοντες όπως το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο που επηρεάζουν τόσο την ενδομήτριο όσο και την ενήλικη περιβάλλον.

Πρόσφατα επιδημιολογικά στοιχεία από μελέτες μακροχρόνιας παρακολούθησης σε άτομα που εκτέθηκαν σε ποικίλου βαθμού ασιτία κατά τη διάρκεια του Ολλανδικού λιμού το 1944-1945(4)αποτέλεσαν την επιβεβαίωση της υπόθεσης Barker, δείχνοντας ότι τα άτομα που εκτέθηκαν κατά την εμβρυική ζωή στο λιμό έπασχαν σε μεγαλύτερα ποσοστά από παχυσαρκία, ΣΔ τύπου ΙΙ, γνωσιακά ελλείματα και καρδιαγγειακές νόσους καθώς και ότι απεβίωναν σε μικρότερη ηλικία ως ενήλικες (Barker and Osmond, 1986, Barker et al., 2012, de Rooij et al., 2010).

Επίσης, η μελέτη κοόρτης των γεννήσεων της στο Ελσίνκι της Φινλανδίας μεταξύ 1934 και 1944 Φινλανδίας ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ του σχήματος και του μεγέθους του πλακούντα και μελλοντικής στεφανιαίας νόσου (Sferruzzi-Perri et al., 2013) (Sferruzzi-Perri and Camm, 2016). Έτσι, παρά την αρχική αμφισβήτηση, η υπόθεση του Barker επιβεβαιώθηκε από μια σειρά μελετών, σε διάφορους ανθρώπινους πληθυσμούς καθώς και σε πειραματόζωα, που έδειξαν ότι η έκθεση σε ενδομήτρια προσβολή, οδηγεί, παράλληλα με τις μεταβολικές και καρδιαγγειακές νόσους και σε άλλες χρόνιες καταστάσεις όπως ο καρκίνος, το άσθμα και τα νευροαναπτυξιακά προβλήματα (Hanson and Gluckman, 2008, McMillen and Robinson, 2005, Rees et al., 2008) (McMillen and Robinson, 2005, Susser and St Clair, 2013).

Τα παραπάνω αποτελέσματα προκάλεσαν μια επαναστατική στροφή στη θεώρηση των ανθρωπίνων χαρακτηριστικών και ασθενειών με εστίαση στον προγραμματισμό κατά την ενδομήτρια ζωή. Εμβρυικός προγραμματισμός συμβαίνει όταν το φυσιολογικό πρότυπο

εμβρυικής ανάπτυξης διαταράσσεται από μια μη φυσιολογική διέγερση ή προσβολή σε κάποιο κρίσιμο στάδιο της ενδομήτριας ζωής. Εγκυμοσύνες που επιπλέκονται με διαβήτη, SGA ή LGA έμβρυα, προ-εκλαμψία και καταστάσεις όπως υποξία και οξειδωτικό στρες σχετίζονται με εμβρυικό προγραμματισμό. Η εμβάθυνση στην ιδέα του εμβρυικού προγραμματισμού, εστιάζει στις διαδικασίες της αναπτυξιακής πλαστικότητας η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες εξασφαλίζει τους μηχανισμούς ομοιόστασης για την εξασφάλιση απαραίτητων θρεπτικών ουσιών για τα ευγενή όργανα εις βάρος των υπολοίπων (υπόθεση του ισχνού φαινοτύπου)(Hales and Barker, 2001). Αυτές οι αλλαγές στον φαινότυπο μπορεί να μονιμοποιηθούν και να δημιουργήσουν αναντιστοιχία σε ένα διαφορετικό περιβάλλον στην ενήλικη ζωή που να οδηγήσει στις μεταβολικές νόσους της ενήλικης ζωής. Το τελευταίο φαινόμενο γέννησε όρους όπως «μεταβολικός προγραμματισμός» και « αναπτυξιακή πλαστικότητα».

Νεότερες θεωρήσεις του φαινομένου του εμβρυικού προγραμματισμού ισχυρίζονται ότι δεν είναι απαραίτητη η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης για την αλλαγή των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Σύμφωνα με τα παραπάνω ανάλογα με το χρόνο που συμβαίνει η αλλαγή του ενδομήτριου περιβάλλοντος οι φαινοτυπική έκφραση στους απογόνους εμπίπτουν σε ένα συνεχές με τη μια άκρη του να βρίσκεται στην τερατογένεση και την άλλη στην προδιάθεση για χρόνιες ασθένειες στην ενήλικη ζωή (Gluckman et al., 2005). Όταν οι διαφοροποιήσεις του ενδομήτριου περιβάλλοντος είναι μέσα στα πλαίσια του αποδεκτού τότε το έμβρυο μπορεί προγραμματίσει μια σειρά από αλλαγές στην έκφραση του γονιδιώματος του με σκοπό να έχει τη βέλτιστη προσαρμογή σε αυτές. Οι αλλαγές αυτές ονομάζονται προσαρμοστικές και προβλεπτικές προληπτικές απαντήσεις (Bateson, 2001). Το έμβρυο με βάση το ενδομήτριο περιβάλλον προσαρμόζει τους μηχανισμούς ομοιόστασης του ώστε να μπορεί να ανταπεξέλθει όταν βρεθεί σε παρόμοιες συνθήκες εξωμήτρια. Αυτό θα του έδινε ένα δαρβινικού τύπου πλεονέκτημα επιβίωσης. Το πρόβλημα είναι πιο μεγάλο όταν υπάρχει αναντιστοιχία μεταξύ του αναμενόμενου και του πραγματικού εξωμήτριου περιβάλλοντος. Κάτι τέτοιο συμβαίνει σε κυήσεις που επιπλέκονται με διαβήτη ή παχυσαρκία (ενδομήτρια υπερπροσφορά θρεπτικών ουσιών) και σε πλακουντιακή ανεπάρκεια ή υποσιτισμό (ενδομήτρια ένδεια θρεπτικών ουσιών.)

Καθοριστικό στοιχείο της εμβρυικής ανάπτυξης είναι η παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου μέσω του πλακούντα, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στη συσχέτιση βάρους γέννησης των νεογνών και μεγέθους πλακούντα (Fowden et al., 2006). Ο πλακούντας υπόκειται σε διαφορετικά περιβαλλοντικά ερεθίσματα που σχετίζονται με τη συνολική προσφορά τροφής, μακρο- και μικρο-θρεπτικών ουσιών, αποστροφή σε τροφές , ελλιπής ενημέρωση σχετικά με τις βλαβερές επιπτώσεις φθινά επεξεργασμένων τροφών που είναι πλούσια σε σάκχαρα και λίπη (Vaughan et al., 2013). Επίσης η διαθεσιμότητα του οξυγόνου μπορεί να είναι χαμηλή εξαιτίας καπνίσματος, αναιμίας της μητέρας, απόφραξη του ομφαλίου λώρου, κακής πλακουντοποίησης και υψηλού υψομέτρου διαβίωσης (Zamudio, 2003, Tissot van Patot et al., 2010, Hutter et al., 2010). Η παροχή θρεπτικών ουσιών αλλάζει τον ίδιο τον πλακούντα όπως είδαμε παραπάνω και αυτές οι αλλαγές έχουν καθοριστικό ρόλο στην αναπτυξιακή πλαστικότητα. Το αγγειακό δίκτυο και η τροφοβλάστη εμπλέκονται στη συνολική πλακουντιακή μεταφορά. Συνεπώς διαφοροποιήσεις στην αγγειογένεση του πλακούντα, έκφραση των μορίων μεταφοράς στην τροφοβλάστη, επίπεδο δραστηριότητας των ενζύμων και παραγωγή ορμονών συμβαίνουν σε εγκυμοσύνες που επιπλέκονται με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, προεκλαμψία και διαβήτη.

Θρεπτικά συστατικά

Στο ΣΔΚ το έμβρυο προσαρμόζεται στην αυξημένη προσφορά γλυκόζης, αμινοξέων και λιπιδίων με αύξηση της ενδογενούς παραγωγής ινσουλίνη και υπερπλασία των κυττάρων του παγκρέατος.

Άλλες αναβολικές ορμόνες όπως ο IGF-1 βρίσκονται αυξημένες σε πλακούντες γυναικών με ΣΔΚ (Grissa et al., 2010).

Στο ΣΔΚ η εμβρυική αύξηση ρυθμίζεται από την αλληλεπίδραση των θρεπτικών ουσιών και των αναβολικών ορμονών που φαίνεται ότι είναι υπεύθυνοι για την εμφάνιση μακροσωμίας και παχυσαρκίας του βρέφους. Ο συνδυασμός των παραπάνω πιθανολογείται ότι προκαλεί μόνιμη βλάβη στο εμβρυικό πάγκρεας κατά τη διάρκεια ενός «ευαίσθητου παραθύρου» της ανάπτυξης με αποτελέσματα που δεν είναι εμφανή παρά μόνο κατά την ενήλικη ζωή.(Poston, 2010).

Αντίσταση στην ινσουλίνη

Πειραματικά μοντέλα με αρουραίους μελέτησαν εγκυμοσύνες με παχυσαρκία προκαλούμενη από υπερφαγία και μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη και ινσουλινοαντίσταση. Οι ενήλικοι απόγονοι των κυήσεων αυτών, εμφάνισαν μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, υπερφαγία και συγκέντρωση λίπους. Επίσης βρέθηκε διαταραγμένη έκφραση μορίων-κλειδίων για το μονοπάτι της ινσουλίνης στο ήπαρ. Συγκεκριμένα η έκφραση της πρωτεΐνης IRS1(υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης insulin receptor substrate) ήταν μειωμένη, ενώ βρέθηκε αύξηση στη φωσφορυλίωση στη θέση ser307 (ανασταλτικό σήμα για τη δράση της ινσουλίνης). Οι παραπάνω αλλαγές αποτελούν τις βασικές διαδικασίες κατά την ανάπτυξη ανοχής στην ινσουλίνη (Samuelsson et al., 2008).

Υποθάλαμος

Άλλο ενδιαφέρον στοιχείο είναι το εύρημα ότι η εμβρυική υπερινσουλιναιμία μπορεί να προκαλέσει μόνιμες διαταραχές στους νευρωνικά κυκλώματα του υποθαλάμου που είναι υπεύθυνα για την ενεργειακή ισορροπία και την όρεξη.(Plagemann et al., 1999).

Αδικοκίνες

Την τελευταία δεκαετία όλο και περισσότερο έδαφος κερδίζει η θεωρία της μεταβολικής ρύθμισης μέσω των αδιποκυτταροκινών. Αν και αρχικά μελετήθηκαν εκτενώς στις κυήσεις που επιπλέκονται με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης ο ρόλος τους φαίνεται ότι είναι σημαντικός σε κάθε κύηση. Έτσι έχει βρεθεί αυξημένη λεπτίνη στο ομφάλιο αίμα οι τιμές της οποίας μάλιστα είναι ανάλογες με το βάρος γέννησης και τον εμβρυικό λιπώδη ιστό. Ωστόσο οι τιμές της λεπτίνης της μητρικής κυκλοφορίας είναι πολύ μεγαλύτερες και δε συμβαδίζουν με τις τιμές στο ομφαλικό αίμα (Schubring et al., 1997). Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι η λεπτίνη του ομφαλίου αίματος προέρχεται και αντανακλά τη θρεπτική κατάσταση του εμβρύου. Στο ΣΔΚ τα δεδομένα δείχνουν αύξηση των επιπέδων λεπτίνης στο ομφάλιο αίμα σε σχέση με τους μάρτυρες (Ortega-Senovilla et al., 2011). Τα ίδια αποτελέσματα βρέθηκαν και σε πειράματα με πρόβατα, όπου τα επίπεδα του mRNA της λεπτίνης από το εμβρυικό λιπώδη ιστό είχαν θετική συσχέτιση με την υπερινσουλιναιμία (Forhead and Fowden, 2009).

Οι αδιποκυτταροκίνες και οι κυτταροκίνες επηρεάζουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω της ικανότητάς τους να μεσολαβούν στη μετάδοση των ενδοκυττάρων σημάτων της ινσουλίνης και έχουν επίσης ρυθμιστικό ρόλο στη φλεγμονή(Greenberg and McDaniel, 2002) και έχει βρεθεί συσχέτιση πολλών αδιποκυτταροκινών με ΣΔ στην κύηση.(Vrachnis et al., 2012b)

Όσον αφορά στην αδιπονεκτίνη βρέθηκε μείωση των επιπέδων της στο ομφάλιο αίμα μητέρων με ΣΔΚ σε σχέση με τους μάρτυρες (Ortega-Senovilla et al., 2011). Σε υγιείς ενήλικες η αδιπονεκτίνη αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη στους περιφερικούς ιστούς και δρα ως σήμα πείνας. Τα μειωμένα επίπεδα σε μητέρες και έμβρυα που εκτίθενται σε ΣΔΚ υποδεικνύουν μείωση των ανορεξιογόνων μηνυμάτων στον υποθάλαμο και αύξηση στην αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η αδιπονεκτίνη που παράγεται από τον ενεργοποιημένο λιπώδη ιστό, δρα σαν ευαισθητοποιητής στην ινσουλίνη, αντιαθηρογόνο και αντιφλεγμονώδη ορμόνη (Diez and Iglesias, 2003). Κάποιες μελέτες έδειξαν ότι γυναίκες με ΣΔΚ έχουν μειωμένη συγκέντρωση αδιπονεκτίνης και αυξημένα επίπεδα TNFα IL6 (Meller et al., 2006) Οι Lin et al υποθέτουν ότι αυτό συμβαίνει επειδή οι TNFα IL6 μειώνουν την έκφραση της αδιπονεκτίνης (Lihn et al., 2003).

Η λεπτίνη, που παράγεται στον πλακούντα και στο λιπώδη ιστό ρυθμίζει την πρόσληψη βάρους μέσω ρύθμισης του νευροπεπτιδίου Υ στον υποθάλαμο και τον μεταβολισμό των λιπιδίων (Halaas et al., 1995). Οι Ategbro et al (Ategbro et al., 2006) βρήκαν υψηλά επίπεδα λεπτίνης σε μητέρες με ΣΔΚ ενώ βρήκαν μειωμένα επίπεδα λεπτίνης στα μακροσωμικά τους νεογνά. Η λεπτίνη ως προφλεγμονώδη παράγοντας μπορεί να συνεισφέρει στη φλεγμονώδη διαδικασία στο ΣΔΚ. Αντίθετα τα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης στα μακροσωμικά νεογνά φαίνεται ότι συμβάλλουν στην πρόσληψη βάρους αυτών των νεογνών και στην ανάπτυξη παχυσαρκίας όπως δείχνουν μελέτες από τρωκτικά και ανθρώπους (Montague et al., 1998).

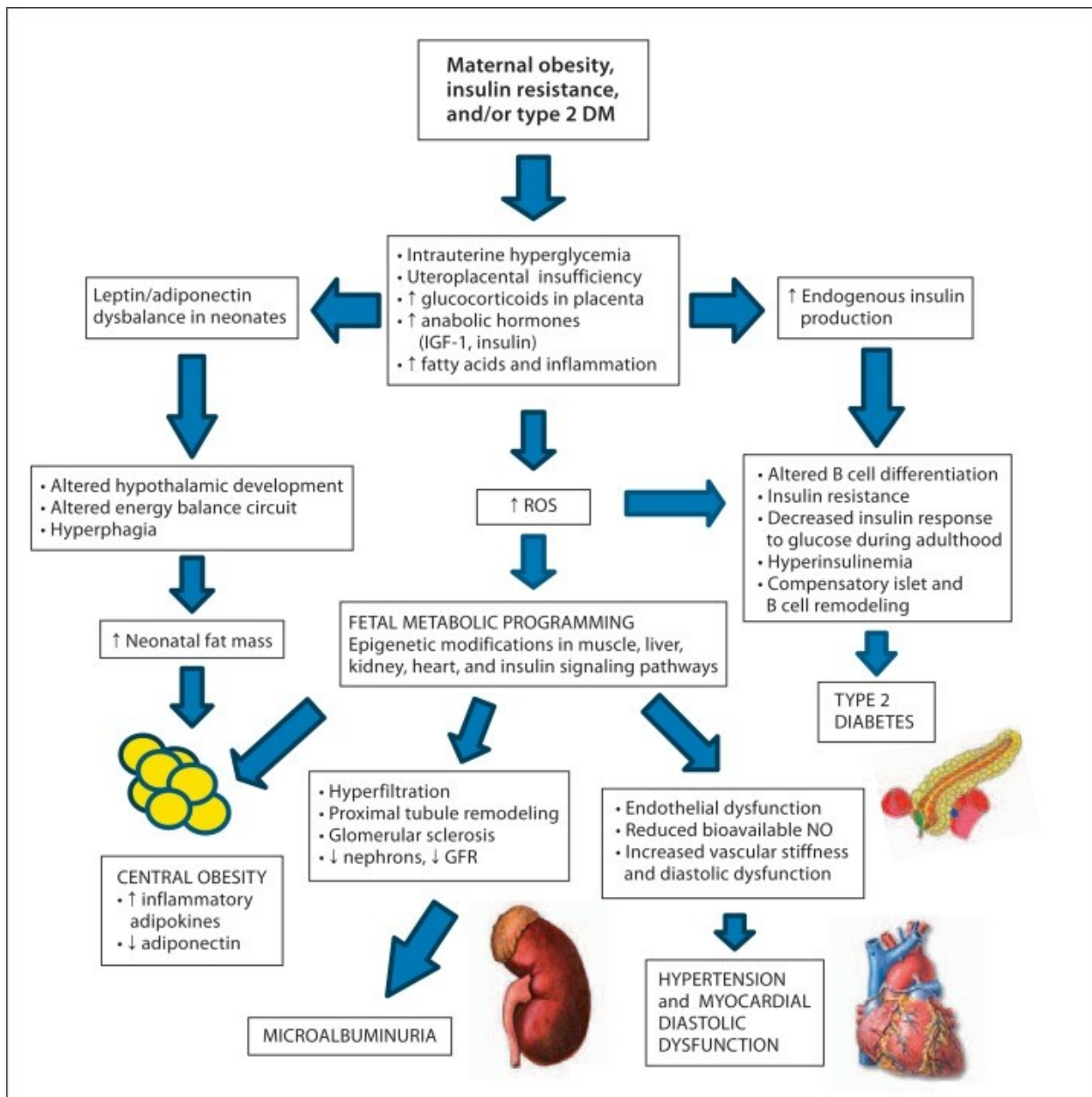
Αγγειοτενσίνη

Παράλληλα μελετώντας τις καρδιαγγειακές παραμέτρους του μεταβολικού συνδρόμου βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα αγγειοτενσίνης II σε νεογνά μητέρων με ΣΔΚ σε σχέση με του μάρτυρες καθώς και αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη (μετρημένη με το δείκτη HOMA)(Zhang et al., 2013a)

Άλλοι παράμετροι ΜΣ

Σε παιδιά μητέρων με ΣΔΚ βρέθηκαν αυξημένοι δείκτες του μεταβολικού συνδρόμου όπως ελεύθερα λιπαρά οξέα, χοληστερόλη και περίμετρος μέσης. Αν και σε κανένα παιδί δε βρέθηκε αυξημένη γλυκόζη νηστείας ο δείκτης HOMA ήταν επηρεασμένος. Πιο συχνή ήταν η αύξηση των τριγλυκεριδίων ενώ τα τριγλυκερίδια και η περίμετρος της μέσης ήταν ισχυροί προβλεπτικοί παράγοντες για την ανάπτυξη ινσουλινοαντοχής.

Σύμφωνα με την υπόθεση της «μεταβολικής μνήμης» αυτές οι διαφοροποιήσεις μπορεί να προκαλέσουν μόνιμη αύξηση του κινδύνου για αυξημένη πρόσληψη τροφής, αύξηση σωματικού βάρους, παχυσαρκία και διαβητογόνο κατάσταση των απογόνων κατά την ενήλικη ζωή (Yessoufou and Moutairou, 2011). Ένα παράδειγμα μεταβολικής μνήμης κατέδειξε ο Franke et al με μελέτη νεογέννητων αρουραίων από διαβητικές μητέρες που είχαν διαφοροποίηση στους νευρώνες του υποθαλάμου σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Η βλάβη των νευρώνων φαίνεται ότι αποφεύγεται αν αποκαταστήσουμε τα επίπεδα γλυκόζης των διαβητικών αρουραίων στην εγκυμοσύνη (Franke et al., 2005). Αυτό το μεταβολικό imprinting μπορεί να δημιουργήσει ένα διαγενεαλογικό αποτέλεσμα κατά το οποίο τα παιδιά έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να έχουν αυξημένο βάρος σώματος ή παχυσαρκία μετά τη γέννηση. Επίσης εάν το παιδί είναι θήλυ έχει μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσει διαβήτη κύησης και έτσι να εκθέσει και την επόμενη γενιά στον ίδιο κίνδυνο (Perrone et al., 2016a).



Εικόνα 4 από (Garcia-Vargas et al., 2012)

Μητρικός ΣΔΚ και καρδιο-νεφρικό σύνδρομο σε απογόνους. Η ανισορροπία της λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στο νεογνό μητέρας με ΣΔΚ επηρεάζει τη νευροανάπτυξη του κέντρου όρεξης-κορεσμού στον υποθάλαμο προκαλώντας υπερφαγία. Ο διαβήτης κατά τη διάρκεια της κύησης προκαλεί φλεγμονώδη απάντηση στο επίπεδο του πλακούντα. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που δημιουργούνται στο μικροπεριβάλλον του πλακούντα επάγουν διεγερτική ή ανασταλτική απάντηση στη μεταγραφή γονιδίων που έχει σαν αποτέλεσμα την επιγενετική αναδιαμόρφωση της χρωματίνης σε γονίδια διαφόρων οργάνων μεταξύ των οποίων το πάγκρεας, τα νεφρά η καρδιά και οι μύες. Η μελλοντική ανάπτυξη καρδιονεφρικού συνδρόμου μεσολαβείται από τις αλλαγές στο μεταγράφομα και την παρουσία επίμονων στρεσογόνων ερεθισμάτων στη μετέπειτα ζωή του απογόνου.

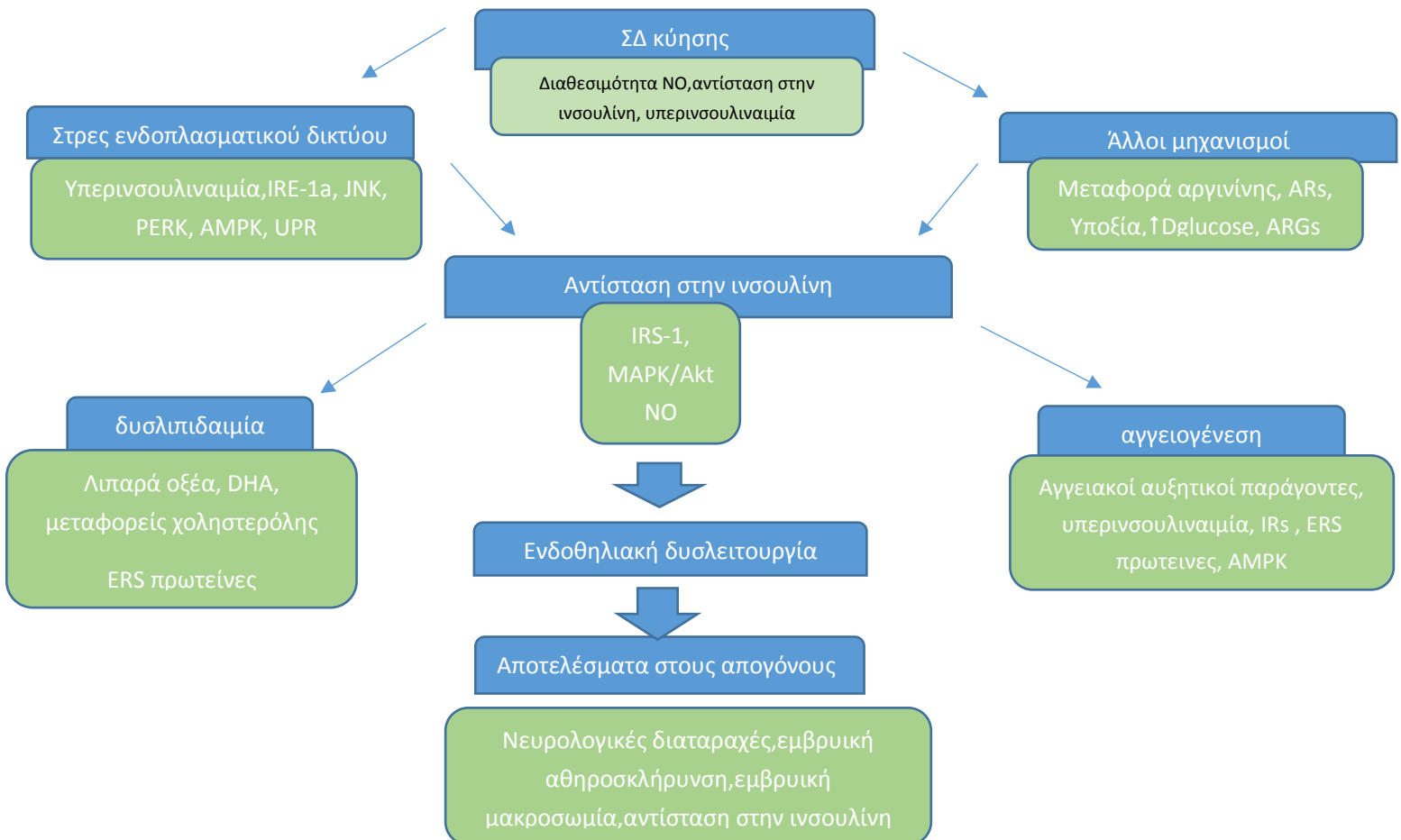
Φαίνεται ότι οι ενήλικοι απόγονοι των γυναικών με ΣΔΚ υπό δίαιτα και με ΣΔ I ανήκουν σε κατηγορία υψηλού κινδύνου για εμφάνιση παχυσαρκίας και μεταβολικού συνδρόμου. Η ενδομήτρια υπεργλυκαιμία σε συνδυασμό με τη γενετική προδιάθεση και άλλους παράγοντες συνεισφέρουν στη παθογένεση της παχυσαρκίας και του μεταβολικού συνδρόμου (Clausen et al., 2009).

Η επίπτωση του καρδιονεφρικού συνδρόμου σε εφήβους κυμαίνεται περίπου στο 4% και φτάνει στο 30% σε εφήβους με δείκτη μάζας σώματος >95^η εκατοστιαίας θέσης (Cook et al., 2003)

Μελέτες που αφορούν στη συσχέτιση μητρικού ΣΔΚ και ΑΠ στους απογόνους έχουν αμφίσημα αποτελέσματα. Η μελέτη κοόρτης της Ιερουσαλήμ δε βρίσκει ισχυρή συσχέτιση ΣΔΚ και συστολικής ΑΠ (βρίσκεται ωστόσο συσχέτιση ΔΜΣ και διαστολικής ΑΠ) (Tsadok et al., 2011)

Μελέτες αδερφών στους ινδιάνους Pima βρήκαν συσχέτιση του ΣΔΚ και της μετέπειτα εμφάνισης ΣΔ τύπου II στους απογόνους. (Dabelea et al., 2000). Αντίστοιχα αυξημένη επίπτωση (8πλάσια) εμφάνισης ΣΔ τύπου II ή προδιαβήτη βρέθηκε σε απογόνους γυναικών με ΣΔ (ΣΔΚ ή προϋπάρχοντα ΣΔ) (Clausen et al., 2008).

Παράλληλα έχει βρεθεί δυσλιπιδαιμία (αυξημένη ολική και LDL χοληστερόλη), ενδοθηλιακή φλεγμονή (αυξημένοι δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης όπως VCAM, ICAM, PAI-1, E-selectin, IGF) και διαφοροποίηση στους δείκτες του NO, οξειδωτικού στρες στα νεογνά μητέρων με ΣΔ και οι αλλαγές αυτές σχετίζονται με τα επίπεδα της υπεργλυκαιμίας. (Vrachnis et al., 2012a)



Σχήμα 31 Συσχέτιση ΣΔΚ και αντίστασης στην ινσουλίνη, ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και απώτερων αποτελεσμάτων στους απογόνους

Έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση του IRS1 και GLUT4 και αυξημένη έκφραση της PI3K p85 στους ιστούς. Εάν ενωθεί μόνο η υποομάδα p85 της PI3K στον υποδοχέα της ινσουλίνης IRS1 τότε δεν συνδέεται το πλήρες σύμπλοκο που αποτελείται από ετεροδιμερή p85/p110. Συνεπώς η αύξηση του p85 προκαλεί μείωση της μετάδοσης του σήματος μέσω του μονοπατιού PI3K-IRS. Μια έρευνα που μελέτησε τις μακροπρόθεσμες αλλαγές στη μετάδοση του ενδοκυττάριου σήματος της ινσουλίνης στους σκελετικούς μύες μετά από κύηση με ΣΔ (102) έδειξε αυξημένα επίπεδα TNF α , μειωμένη αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα της ινσουλίνης και μειωμένη φωσφορυλίωση του IRS σε θέση σερίνης (που εκφράζουν την ενεργότητα της ενδοκυττάριας δράσης της ινσουλίνης) ένα χρόνο μετά την κύηση. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη άπαξ και αρχίζει κατά την κύηση, είναι μια μακροχρόνια κατάσταση.

Επιγενετική

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί αφορούν αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση χωρίς να περιλαμβάνουν αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων του DNA. Οι αλλαγές αυτές περιλαμβάνουν:

- μεθυλίωση του DNA
- μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις ιστονών
- διαδικασία αποσιώπησης γονιδίων που μεσολαβεί από μη-κωδικοποιά RNA

και μπορούν να μεταφερθούν από τη μια γενιά στην άλλη (μιτωτική κληρονομικότητα) ή να μεταφερθούν δια μέσου των γενεών (μειωτική κληρονομικότητα). Περιβαλλοντικά ερεθίσματα μπορούν να προκαλέσουν επιγενετικές αλλαγές, με επακόλουθη επίδραση στην έκφραση του φαινοτύπου που μπορεί να μεταφερθεί στους απογόνους (Fernandez-Morera et al., 2010, Nistala et al., 2011).

Οι ερευνητές μπόρεσαν να αποκρυπτογραφήσουν τις επιγενετικές τροποποιήσεις που εμπλέκονται στη σιωπηρή μεταγραφή γονιδίων σημαντικών γονιδίων που προκαλούν διαβήτη κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής.

Ο Pdx-1 είναι μεταγραφικός παράγοντας παγκρέατος και δωδεκαδακτύλου που ρυθμίζει την ανάπτυξη του παγκρέατος και τη διαφοροποίηση των β κυττάρων. Ο pdx-1 πρωτοπεριγράφηκε στην παθολογία μονογονικών μορφών διαβήτη τύπου MODY4. Ο καταρράκτης γεγονότων που ξεκινάει από την ενδομήτριο ζωή και συνεχίζει έως την ενηλικίωση ξεκινάει με την απώλεια ενός υποκινητή του γονιδίου Pdx-1, την στρατολόγηση της αποακετυλάσης 1 της ιστόνης (HDAC1) και τον συν-καταστολέα Sin3A, και η αποακετυλίωση των ιστονών H3 και H4. Μετά τη γέννηση, η ιστόνη3λυσίνη4 (H3K4) απομεθυλιώνεται και η ιστόνη3λυσίνη9(H3K9) μεθυλιώνεται. Ακολουθεί η αύξηση στη μεθυλίωση της περιοχής του υποκινητή του γονιδίου Pdx-1 και η επακόλουθη άμβλυνση της μεταγραφής του και η ανάπτυξη του διαβήτη στην ενήλικη ζωή.

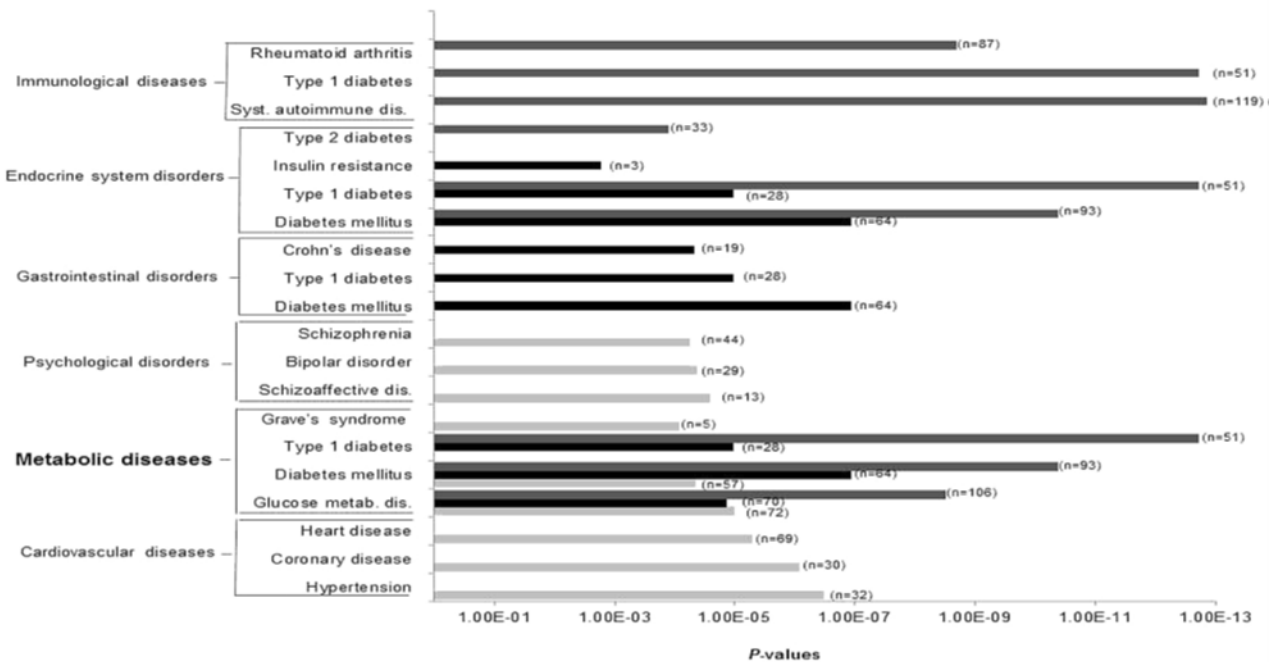
Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι αλλαγές αυτές είναι αναστρέψιμες σε τρωκτικά που εκτέθηκαν στον ανταγωνιστή του HDAC1 μόνο κατά τη διάρκεια της νεογνικής ζωής (Park et al., 2008).

Ο ΣΔΚ δε σχετίζεται συχνά με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, αντίθετα από ότι συμβαίνει μητέρες με διαβήτη που προϋπήρχε της εγκυμοσύνης. Ωστόσο η υπεργλυκαιμία και η προφλεγμονώδης κατάσταση που σχετίζεται με το ΣΔΚ μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες στη μητροπλακουντιακή μονάδα. Σε αυτήν την περίπτωση τόσο ο ΣΔΚ όσο και η μητροπλακουντιακή ανεπάρκεια μοιράζονται τον ίδιο καταρράκτη μεταγραφικών γεγονότων

όπως φαίνεται σε πειραματικά μοντέλα, τα οποία δίνουν μοντέλα ερμηνείας του εμβρυικού προγραμματισμού.

Μια πρόσφατη μελέτη σε ανθρώπους έδειξε μια συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της μεθυλίωσης του DNA στο γονίδιο της λεπτίνης στον πλακούντα και της γλυκόζης στις 2 ώρες στο τεστ ανοχής στο γλυκόζη(OGTT) όταν αυτό γίνεται στις 24-28ΕΚ. Στην ίδια μελέτη, το ποσοστό της μεθυλίωσης του DNA στον πλακούντα ήταν αμετάτρεπτα συσχετιζόμενος με τα επίπεδα του mRNA στον πλακούντα και τα επίπεδα της λεπτίνης του ορού (Miehle et al., 2012).

Οι Ruchat και συν μελέτησαν τη μεθυλίωση του DNA σε πλακούντα και ομφάλιο αίμα απογόνων γυναικών με ΣΔΚ για να δουν την πιθανή συμβολή της επιγενετικής στο ΣΔΚ. Η μελέτη έγινε σε >485000 σημεία CpG και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με “ευφυή ανάλυση μονοπατιών « με τη χρήση σύνθετων συστημάτων βιοπληροφορικής (ingenuity pathway analysis) ώστε να βρεθούν τα μεταβολικά μονοπάτια που επηρεάζονται στο ΣΔΚ. Βρέθηκε ότι 3271 και 3758 γονίδια σε πλακούντα και ομφάλιο αίμα αντίστοιχα είναι πιθανώς διαφορεικά μεθυλιωμένα σε δείγματα απογόνων ΣΔΚ κήσεων και των μαρτύρων και πάνω από το 25% ήταν κοινό και στους δύο ιστούς. Ο μέσος όρος της μεθυλίωσης του DNA διαφέρει μεταξύ των δύο ομάδων 5,7-3,2% και 3,4-1,9% για τον πλακούντα και τον ομφάλιο λώρο αντίστοιχα. Τα γονίδια αυτά εμπλέκονται σε μονοπάτια μεταβολικών νόσων. Ανάμεσα στα διαφορεικά μεθυλιωμένα γονίδια ,326 στον πλακούντα και 117 στον ομφάλιο λώρο συσχετίζονται με το βάρος γέννησης.



Σχήμα 32 ingenuity pathway analysis IPA: οι πιο σημαντικές ασθένειες και διαταραχές που σχετίζονται με μονοπάτια άλλων κοινών νόσων και διαταραχών επιγενετικά. Στήλες με ανοικτό γκριζό :IPA αποτελέσματα που λαμβάνονται από διαφορεικά μεθυλιωμένα γονίδια του πλακούντα (P<0.01 n=781). Στήλες με μαύρο χρώμα:IPA αποτελέσματα που λαμβάνονται από διαφορεικά μεθυλιωμένα γονίδια στον ομφάλιο λώρο (P<0.01, n=758). Στήλες με γκριζό χρώμα:IPA αποτελέσματα που λαμβάνονται από διαφορεικά μεθυλιωμένα γονίδια κοινά και στα στους δύο ιστούς (P<0.05, n=1029) όπου n=αριθμός γονιδίων που εμπλέκονται σε κάθε νόσο/διαταραχή. (Ruchat et al., 2013)

Νεότερες Θεραπείες

Πριν από την εισαγωγή της ινσουλίνης στη θεραπεία του διαβήτη, η εμβρυική και μητρική θνητότητα ήταν στο 70% και 40% αντίστοιχα, ενώ με την εισαγωγή της μειώθηκαν στο 12% περίπου (Rubin and Murphy, 1958). Μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν έναν ισχυρό δεσμό μεταξύ μητρικών επιπέδων γλυκόζης και συγγενών ανωμαλιών του εμβρύου (Rose et al., 1988). Αλλά μεταβολικά παραπροϊόντα του διαβήτη όπως τα κετονικά σώματα, τα προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης, τα αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσού μπορεί να έχουν συνεργικό αποτέλεσμα στη διαταραχή της εμβρυικής ανάπτυξης (Horton and Sadler, 1983). Η τερατογόνος δράση της υπεργλυκαιμίας φαίνεται από κλινικές μελέτες που επιτεύχθηκαν φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης και μειώθηκαν οι συγγενείς ανωμαλίες (Persson, 2001, Fuhrmann et al., 1984). Η κύρια προσπάθεια για να περιορίσουμε τις ανεπιθύμητες επιδράσεις του προϋπάρχοντάς και του διαβήτη κύησης είναι να περιοριστεί η υπεργλυκαιμία. Γλυκαιμικός έλεγχος επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους όπως καταγραφή των επιπέδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (αντανακλά τα επίπεδα γλυκόζης των τελευταίων 4-6 εβδομάδων), με μεμονωμένες μετρήσεις γλυκόζης αίματος ή με συσκευή συνεχούς καταγραφής. Αν και υπάρχουν προτεινόμενα όρια για την κύηση που αναφέρθηκαν παραπάνω δεν υπάρχει ομοφωνία για τον τρόπο παρακολούθησης (πόσο συχνά πρέπει να γίνεται η καταγραφή του σακχάρου αίματος και της HbA1c). Προς το παρόν η θεραπεία του ΣΔΚ περιλαμβάνει ένα φάσμα από παρεμβάσεις από διαιτητικές παρεμβάσεις και ήπια άσκηση, μέχρι τη χορήγηση ινσουλίνης (με μορφή ταχείας, ενδιάμεσης και αργής δράσης ή και αντλία ινσουλίνης).

Είναι όμως εμφανές ότι ακόμα και αν πετύχουμε το επιθυμητό αποτέλεσμα όσον αφορά στον έλεγχο της γλυκαιμίας, ο κίνδυνος των επιπλοκών σε κύηση με ΣΔΚ δεν απαλείφεται παραμένοντας μεγαλύτερος από αυτόν των υγιών γυναικών. Μια σημαντική παράμετρος είναι ότι αν και όπως είδαμε πολλές από τις επιπλοκές του ΣΔ, κυρίως οι πιο σοβαρές όπως η εμβρυοπάθεια, επισυμβαίνουν στην αρχή της κύησης κατά το στάδιο της εμβρυογένεσης. Για την αποφυγή των επιπλοκών αυτών είναι απαραίτητος ο οικογενειακός προγραμματισμός με επίτευξη φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης αίματος πριν ακόμα από τη σύλληψη. Δυστυχώς, ο στόχος αυτός δεν μπορεί να επιτευχθεί αφού ακόμα και σήμερα οι περισσότερες κυήσεις δεν είναι προγραμματισμένες. Συνεπώς πρέπει να βρούμε νέους τρόπους αντιμετώπισης των επιπλοκών του ΣΔ κατά τη διάρκεια της κύησης.

Οι νεότερες έρευνες, κυρίως σε πειραματικά μοντέλα αλλά και η εξέλιξη της μεταγραφομικής έφεραν νέα δεδομένα στην παθοφυσιολογία του ΣΔΚ διερευνώντας τις αλλαγές που συμβαίνουν στα κυτταρικά μονοπάτια. Συνεπώς, στόχος των νεότερων θεραπειών είναι να ελέγξουν τα προβληματικά μονοπάτια αυτά. Οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί στον έλεγχο παραγωγής ελευθέρων ριζών, την ενίσχυση της μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας του κυττάρου και τον έλεγχο της απόπτωσης. Πιθανά εργαλεία αποτελούν τα διάφορα είδη αντιοξειδωτικά (βιταμίνες, κουρκουμίνη), οι αναστολείς των διαφόρων μορφών της PKC, η 4PBA, η θειορεδοξίνη και οι αναστολείς της κασπάσης.

Όπως έχουν δείξει μελέτες, υπάρχει πιθανή σύνδεση μεταξύ επαγόμενου από την υπεργλυκαιμία στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και ενδοθηλιακής κυτταρικής διαταραχής. Δεδομένης της σχέσης μεταξύ οξειδωτικού στρες και στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, πιθανή θεραπεία πρώτης γραμμής θα μπορούσε να είναι η χρήση βιολογικά γνωστών και φαρμακολογικά διαθέσιμων αντιοξειδωτικών. Η Θειορεδοξίνη-1 ένα εκτενώς μελετημένο αντιοξειδωτικό, ρυθμιστής της κυτταρικής ανάπτυξης και αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη, αλληλεπιδρά και εμποδίζει την δραστηριότητα της ASK1 (Samuel et al., 2010). Η ASK 1 είναι από τους κύριους ρυθμιστές της σχετιζόμενης με το ER stress αποπτωτικής απάντησης. Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι το

οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία οφείλεται κυρίως στην επαγωγή της πρωτεΐνης που εμποδίζει τη θειορεδοξίνη (TXNIP thioredoxin inhibitory protein). Η TXNIP είναι ενδογενής αναστολέας της θειορεδοξίνης και οδηγεί σε παρεμπόδιση της αντιοξειδωτικής της δράσης.

Συμπληρώματα διατροφής με ψευδάργυρο (σε ανθρώπους και πειραματόζωα) φαίνεται να βελτιώνουν το οξειδωτικό στρες που προκαλείται σε διαβητική καρδιομυοπάθεια. Οι Kumar et al μελέτησαν τη χορήγηση ψευδαργύρου για την πρόληψη της διαβητικής καρδιακής εμβρυοπάθειας. Στις *in vivo* μελέτες βρέθηκε σημαντική μείωση στα προϊόντα λιπούπεροξειδωσης, υπεροξειδικά ανιόντα και οξειδωμένης γλουταθειόνης και μια αύξηση της ανηγμένης γλουταθειόνης, του νιτρικού οξειδίου και της υπεροξειδικής δισμουτάσης στις καρδιές των αναπτυσσόμενων εμβρύων. Επίσης βελτιώθηκε η μείωση της έκφρασης της μεταλλοθειονείνης στα έμβρυα των διαβητικών μητέρων που λάμβαναν ψευδάργυρο. Πυρηνικές μικροσκοπικές μελέτες έδειξαν αύξηση του φωσφόρου, ασβεστίου και ψευδαργύρου και μείωση του σιδήρου στις αναπτυσσόμενες εμβρυϊκές καρδιές. Στις μελέτες *in vitro* βρέθηκε σημαντική αύξηση της κυτταρικής απόπτωσης και του σχηματισμού ελευθέρων ριζών σε καρδιακά κύτταρα σε έμβρυα που εκτέθηκαν σε αυξημένη γλυκόζη ενώ η χορήγηση ψευδαργύρου μείωσε αυτών (Kumar et al., 2012).

Αντίστοιχα μελέτες με πειραματόζωα έδειξαν ότι συμπλήρωμα διατροφής με χαλκό σε διαβητικά πειραματόζωα μείωσε τους δείκτες του οξειδωτικού στρες, μείωσε την ευρεία μεθυλίωση του DNA και βελτίωσε το μέγεθος του πλακούντα και των εμβρύων.(Ergaz et al., 2014)

Παράλληλα βρέθηκε ανταπόκριση στη λουτεΐνη σε κλινική μελέτη διαβητικών εγκύων που έλαβαν θεραπεία με λουτεΐνη (σε σύγκριση με τους μάρτυρες) και τα νεογνά τους με μείωση των δεικτών του οξειδωτικού στρες.(Lorenzoni et al., 2013)

Οι Gao et al μελέτησαν ενήλικα πειραματόζωα διαβητικών μητέρων προκειμένου να δουν την ανοχή τους στην καρδιακή καταπόνηση. Στη μελέτη αυτή η καρδιακή δομή και λειτουργία ήταν παρόμοια στους απογόνους διαβητικών μητέρων και τους μάρτυρες. Όμως σε απάντηση στην ισχαιμία/ επαναιμάτωση οι απόγονοι διαβητικών μητέρων εμφάνισαν αυξημένο μέγεθος εμφράγματος, καρδιακή δυσλειτουργία και απόπτωση του μυοκαρδίου σε σχέση με τους μάρτυρες όπως και αυξημένη ενεργοποίηση των μονοπατιών του μιτοχονδριακού στρες και του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και του οξειδωτικού στρες. Μοριακή ανάλυση έδειξε ότι η προβληματική ανοχή στην ισχαιμία του μυοκαρδίου, οφείλεται στην αμβλυμμένη απάντηση του μονοπατιού IRS-1/Akt. Όταν στις διαβητικές μητέρες χορηγήθηκε μελατονίνη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης υπήρξε σημαντική βελτίωση στην ανοχή στη μυοκαρδιακή ισχαιμία στους απογόνους (Gao et al., 2016).

Σε μελέτες σε υπερσιτισμένα ποντίκια που έπασχαν από ΣΔΠ η χορήγηση μεθορμίνης φάνηκε να έχει αποτέλεσμα αφού βελτίωσε την γλυκαιμία νηστείας, την ανοχή στη γλυκόζη, τα επικόλουθα του οξειδωτικού στρες, την απόπτωση και τις βλάβες του νωτιαίου σωλήνα (Wu et al., 2015).

Οι Gui et al μελέτησαν τη δυσλειτουργία των εμβρυϊκών ενδοθηλιακών προγεννητορικών κυττάρων ECFC σε εγκυμονούσες γυναίκες με ΣΔ. Βρήκαν ότι τα εμβρυϊκά ECFC στο ΣΔΚ σχημάτιζαν λιγότερες αποικίες σε καλλιέργειες, είχαν μειωμένο πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και σχηματισμό αυλών από τους μάρτυρες. Χορήγηση βιταμίνης D βελτίωσε σημαντικά τη δυσλειτουργία των εμβρυϊκών ECFC διαβητικών μητέρων αλλά και των ECFC υγιών μητέρων που αργότερα εκτέθηκαν σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον (Gui et al., 2015).

Συμπεράσματα

Το οξυγόνο είναι βασικό συστατικό της ζωής αφού μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης έδωσε την απαραίτητη ενέργεια για την ανάπτυξη των πολυκύτταρων ευκαρυωτικών οργανισμών. Από τη γέννηση της ζωής του ανθρώπου, κατά την πλακουντοποίηση το οξυγόνο έχει ρυθμιστικό ρόλο στη σωστή λειτουργία της, μέσω του ελέγχου της αγγειογένεσης. Ωστόσο οι οξειδοαναγωγές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο, κάτω από παθολογικές συνθήκες, όπως είναι η υποξία και η υπεργλυκαιμία, μπορεί να οδηγήσουν σε εκτροπή των παραπροϊόντων των μιτοχονδρίων με υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αζώτου (οξειδωτικό στρες). Οι ενώσεις αυτές φέρουν ένα ή παραπάνω ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην περιφερική τους στοιβάδα, γεγονός που τις κάνει ιδιαιτέρως δραστικές. Αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες είναι η καταστροφή κυτταρικών στοιχείων όπως πρωτεΐνες, λίπη και DNA και η επαγωγή μεταγραφικών παραγόντων (πχ NFκB) ώστε να θέσει το κύτταρο σε εφαρμογή τους μηχανισμούς άμυνας για την αντιμετώπιση του στρες αυτού, με ταυτόχρονη επαγωγή της φλεγμονής. Οι ενδογενείς αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του κυττάρου, ενζυμικοί και μη ενζυμικοί, αναλαμβάνουν να περιορίσουν το οξειδωτικό στρες. Παράλληλα με το οξειδωτικό στρες και σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας, παραβλάπεται ο μηχανισμός ορθής αναδίπλωσης των πρωτεϊνών μετά τη μεταγραφή, γεγονός απαραίτητο για τη σωστή τους λειτουργία (η βλάβη συμβαίνει στο ενδοπλασματικό δίκτυο και ονομάζεται στρες του ενδοπλασματικού δικτύου). Σε περίπτωση που τα ερεθίσματα είναι πολλά και το κύτταρο δεν μπορεί να ανταπεξέλθει στη βλάβη, ενεργοποιούνται τα μονοπάτια του κυτταρικού θανάτου (απόπτωση, πυρόπτωση).

Σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας, όπως συμβαίνει στο σακχαρώδη διαβήτη (προϋπάρχοντα ή κύησης), υπάρχει αυξημένο οξειδωτικό στρες που παραβλάπτει όλα τα στάδια της κύησης από την πλακουντοποίηση έως την οργανογένεση και την κυτταρική αύξηση. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υπεργλυκαιμία προκαλούν εκτροπή του ενδιάμεσου μεταβολισμού και παραγωγή τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης, αύξηση της διακυλογλυκερόλης και της πρωτεϊνικής κινάσης C. Η εκτροπή αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την εξάντληση των NADPH και την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μονοπατιών με συνέπεια την αύξηση του οξειδωτικού στρες και την παθολογική έκφραση του NO. Ο σακχαρώδης διαβήτης εκτός από την υπεργλυκαιμία, προκαλεί και αυξημένη προσφορά αμινοξέων και ελεύθερων λιπαρών οξέων στο έμβryo. Τα παραπάνω έχουν ως επακόλουθα την ενεργοποίηση της φλεγμονής, προβληματική αγγειοδιαστολή και την αγγειακή βλάβη με τη μορφή πρώιμης αθηρογενετικής βλάβης. Η ενεργοποίηση ενδιάμεσων του μεταβολισμού, η αύξηση λιποκυτταροκινών, η αύξηση αυξητικών παραγόντων και των αναστολέων τους καθώς και βλάβη στο επίπεδο των μεταλλοπρωτεασών έχουν σαν αποτέλεσμα παθολογικές αλλαγές στην εμφύτευση, αγγειογένεση και μεταφορά μέσω του πλακούντα. Αφού ο πλακούντας αποτελεί το σύνδεσμο του εμβρύου με τα θρεπτικά στοιχεία και είναι το όργανο που είναι υπεύθυνο για την ανάπτυξη του εμβρύου είναι κατανοητό ότι με τον τρόπο αυτό παραβλάπεται η ομαλή ανάπτυξη του εμβρύου. Ωστόσο, ο πλακούντας δεν είναι απλά ένας ηθμός αλλά έχει ενεργό ρόλο στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες στο έμβryo και παράγει ο ίδιος αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες που βοηθάνε στην ανάπτυξη του εμβρύου.

Σε συνθήκες σακχαρώδη διαβήτη κατά την κύηση υπάρχει αυξημένη προσφορά γλυκόζης στο έμβryo που συνοδεύεται από αυξημένο οξειδωτικό στρες (όπως φαίνεται από μελέτες που δείχνουν αυξημένους δείκτες οξειδωτικού στρες σε πλακούντες και ομφάλιο αίμα εμβρύων σε ΣΔΚ). Το οξειδωτικό στρες, η υπεργλυκαιμία, το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου δρουν ως σήματα ενεργοποίησης ενδοκυττάρων μονοπατιών. Συγκεκριμένα, ενεργοποιούνται τα μονοπάτια της απόπτωσης (ASK1, JNK, FOXO3, Bax/Bim) ενώ αναστέλλονται μονοπάτια

κυτταρικής επιβίωσης πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης (PI3K, Akt, mTOR, MAPK-ERK, κατενίνη). Κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης είναι απαραίτητη η απρόσκοπτη και χρονικά ελεγχόμενη λειτουργία της απόπτωσης και η μετανάστευση κυτταρικών πληθυσμών. Παράλληλα παραβλάπτονται οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA. Βλάβες ή υπερλειτουργία απόπτωσης έχουν σαν αποτέλεσμα βλάβη στην οργανογένεση συνεπώς δυσμορφολογία. Φαίνεται ότι οι παραπάνω μηχανισμοί εμπλέκονται στις βλάβες του νευρικού σωλήνα, τις συγγενείς καρδιοπάθειες και τις άλλες δυσμορφολογίες που παρατηρούνται στο ΣΔ κατά την κύηση.

Με μελέτες μεταγραφομικής, που μελετώνται τα συστατικά διαφόρων κυτταρικών μονοπατιών, έχουν βρεθεί αλλαγές σε μονοπάτια που είναι υπεύθυνα για το μεταβολισμό, την ανοσία, τη φλεγμονή και εμπλέκονται στην παθογένεση διαφόρων νόσων της ενήλικης ζωής σε κύσεις με ΣΔΚ. Ακόμα λοιπόν και σε περιπτώσεις που η βλάβη δεν επέρχεται τόσο νωρίς στην κύηση, ώστε να επηρεάσει την οργανογένεση βλέπουμε ότι το έμβρυο επηρεάζεται σε κυτταρικό επίπεδο. Τελευταία φαίνεται ότι τα μικροσώματα εμπλέκονται στο μεταβολικό σύνδρομο και βρίσκονται και αυτά αυξημένα σε περιπτώσεις ΣΔΚ. Μελέτες επιγενετικής έχουν δείξει ότι υπάρχουν διαφορές στη μεθυλίωση γονιδίων που λαμβάνουν μέρος σε αυτά τα μονοπάτια γεγονός που δείχνει ότι οι αλλαγές αυτές έχουν έναν πιο μόνιμο χαρακτήρα. Τα παραπάνω εξηγούν τις βασικές αρχές του εμβρυικού προγραμματισμού: πώς δηλαδή το ενδομήτριο περιβάλλον -στη συγκεκριμένη περίπτωση η υπεργλυκαιμία και το οξειδωτικό στρες - επιδρούν στο έμβρυο, αλλάζοντας το μεταβολισμό του, προκειμένου να ανταποκριθεί στη νέα συνθήκη και ο προγραμματισμός αυτός το ακολουθεί στη μετέπειτα ζωή του προκαλώντας σε βάθος χρόνου τις μεταβολικές νόσους της ενήλικης ζωής (μεταβολικό σύνδρομο, καρδιαγγειακές νόσοι, υπέρταση, ΣΔΙΙ). Οι ίδιες οι γυναίκες με ΣΔΚ έχουν αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν ΣΔΙΙ σε επόμενα χρόνια και αυξημένες πιθανότητες ΣΔΚ σε επόμενη κύηση. Οι απόγονοί της, όπως είδαμε, έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου αλλά (και ίσως και άλλων νόσων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες αφού εκτέθηκαν σε αυτό ενδομήτρια) και σε περίπτωση που είναι θήλαα εμφάνισης ΣΔΚ σε επικείμενη κύηση (αφού θα υπάρχει διαταραχή στην ευαισθησία στην ινσουλίνη).

Είναι σημαντικό να καταλάβουμε πως μια μεταβολική νόσος που συχνά μάλιστα μπορεί να είναι και αδιάγνωστη όπως ο διαβήτης της κύησης, αφού δεν έχει κλινικά σημεία στην έγκυο, μπορεί να βλάψει εκτός από την ίδια την ασθενή και το έμβρυο που κυοφορεί, με αποτέλεσμα άμεσες επιπλοκές που παρουσιάζονται κατά την κύηση και την πρώιμη περιγεννητική περίοδο (υπογλυκαιμία, υπασβεσταιμία, υπερερυθραιμία, μακροσωμία, τραυματικό τοκετό), αλλά και αψότερες επιπλοκές καθώς επίσης και να επηρεάσουν τις επόμενες γενιές μέσω της επιγενετικής. Η έγκαιρη διάγνωση του ΣΔΚ και η αποτελεσματική αντιμετώπισή του είναι επιτακτική αφού έχει επίδραση στην υγεία ατόμων σε 3 γενεές - με αντίστοιχο κοινωνικοοικονομικό αντίκτυπο.

Σκοπός της μελέτης του ΣΔ κατά την κύηση είναι η κατανόηση των παθολογικών μονοπατιών που ενεργοποιούνται και έχουν σαν αποτέλεσμα είτε την διαβητική εμβρυοπάθεια είτε την εκτροπή του εμβρυικού προγραμματισμού. Στόχος είναι να βρούμε εναλλακτικές μεθόδους (εκτός από τον έλεγχο της γλυκαιμίας που είναι απαραίτητος) για να περιορίσουμε τις παραπάνω βλάβες. Το ερευνητικό πεδίο είναι ακόμα ανοικτό τόσο στη διαλεύκανση των πολύπλοκων και συχνά αλληλεξαρτώμενων μονοπατιών, όσο και στις πιθανές θεραπευτικές παρεμβάσεις (με αντιοξειδωτικούς, αντιαποπτωτικούς παράγοντες) αλλά και στην εύρεση δεικτών χρήσιμων στην κλινική πράξη (πρώιμη εκδήλωση μεταβολικού συνδρόμου).

Περίληψη

Το οξυγόνο μπορεί να έχει επιβλαβή δράση σε παθολογικές καταστάσεις (όπως υποξία-επαναιμάτωση, υπεργλυκαιμία) μέσω υπερβολικής παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS). Οι ROS είναι τοξικές για το κύτταρο γιατί προκαλούν των λιπών, των πρωτεϊνών και του DNA. Παραγωγή ROS που υπερβαίνει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς του κυττάρου οδηγεί σε οξειδωτικό στρες (OS). Το OS σε συνδυασμό με την υπεργλυκαιμία, οδηγούν σε προβληματική αναδίπλωση των πρωτεϊνών του κυττάρου, γνωστό ως στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (ERS). OS, ERS, υπεργλυκαιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη οδηγούν σε παθολογικό μεταβολισμό της γλυκόζης και ενεργοποίηση κυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών που επάγουν τη φλεγμονή και την απόπτωση.

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας στις δυτικές κοινωνίες και υπολογίζεται ότι επηρέασε περίπου το 14% του ελληνικού πληθυσμού το 2014. Φυσιολογικά ο πλακούντας προστατεύει το έμβρυο από το οξειδωτικό στρες, αλλά σε περιπτώσεις ΣΔ διαταράσσεται η εμφύτευση, η αγγειογένεση και μεταφορά ουσιών. ΣΔ στην αρχή της κύησης μπορεί να έχει οδηγήσει σε τερατογένεση μέσω υπερβολικής απόπτωσης και προβληματικής μετανάστευσης κυττάρων. Μονοπάτια που προάγουν την απόπτωση όπως ASK1, JNK, FOXO3, Bax/Bim διεγείρονται και αυτά που προάγουν την επιβίωση και τη μετανάστευση όπως PI3K, Akt, mTOR, MAPK-ERK καταστέλλονται.

Μελέτες μεταβολομική και επιγενετικής έχουν δείξει αλλοιωμένα σηματοδοτικά μονοπάτια και διαφορική μεθυλίωση γονιδίων σε περιπτώσεις ΣΔΚ. Οι αλλαγές αυτές εξηγούν τη μεταβολική μνήμη που οδηγεί από την εμβρυική υπεργλυκαιμία στις νόσους της ενηλίκου ζωής των απογόνων. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη ώστε να διαλευκανθούν οι μοριακές και κυτταρικές διαταραχές στο ΣΔΚ και να βρεθούν νεότερες θεραπείες και κλινικοί βιοχημικοί δείκτες.

Summary

Oxygen can act as a deterrent in cases of cell pathology (ex hypoxia, hyperglycemia) by excess production of reactant oxygen species (ROS). ROS are toxic for the cell through lipid, protein and DNA peroxidation. Overproduction of ROS that overcomes the antioxidant mechanisms of the cell leads to oxidative stress OS. OS and hyperglycemia contribute to unfolded protein response, endoplasmic reticulum stress (ERS). OS, hyperglycemia, insulin resistance and ERS lead to alteration of glycolysis metabolism and activation of cellular signaling pathways (mainly protein and lipid kinase) that trigger inflammation and apoptosis.

Diabetes mellitus is a major health burden in modern societies and is estimated to affect 14% of Greek population in 2014. Placenta protects the embryo from excess OS in cases of DM but has altered function caused by impaired implantation, angiogenesis/vasculogenesis and altered transfer of nutrients. Periconceptional diabetes mellitus can lead to dysmorphogenesis by excess apoptosis and impaired migration as a result of OS, ERS and inflammation. Signaling pathways such as ASK1, JNK, FOXO3, Bax/Bim that trigger apoptosis are upregulated, though prosurvival pathways, as PI3K, Akt, mTOR, MAPK-ERK are downregulated.

Metabolomic and epigenetic studies have shown altered signaling pathways and diaphoric methylation in cases of GDM. These changes can explain the concept of metabolic memory leading from in utero hyperglycemia to metabolic disease of adult life.

Further research is needed to elucidate metabolic and cellular alteration that take place in DGM in order to find novel therapies and possible biomarkers.

Βιβλιογραφία

- AL GHAFLI, M. H., PADMANABHAN, R., KATAYA, H. H. & BERG, B. 2004. Effects of alpha-lipoic acid supplementation on maternal diabetes-induced growth retardation and congenital anomalies in rat fetuses. *Mol Cell Biochem*, 261, 123-35.
- ALJADA, A., GHANIM, H., MOHANTY, P., KAPUR, N. & DANDONA, P. 2002. Insulin inhibits the pro-inflammatory transcription factor early growth response gene-1 (Egr)-1 expression in mononuclear cells (MNC) and reduces plasma tissue factor (TF) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 1419-22.
- ALJADA, A., GHANIM, H., SAADEH, R. & DANDONA, P. 2001. Insulin inhibits NFkappaB and MCP-1 expression in human aortic endothelial cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 450-3.
- ALJOFAN, M. & DING, H. 2010. High glucose increases expression of cyclooxygenase-2, increases oxidative stress and decreases the generation of nitric oxide in mouse microvessel endothelial cells. *J Cell Physiol*, 222, 669-75.
- ANASTASIOU, E., LEKAKIS, J. P., ALEVIZAKI, M., PAPAMICHAEL, C. M., MEGAS, J., SOUVATZOGLOU, A. & STAMATELOPOULOS, S. F. 1998. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care*, 21, 2111-5.
- ANTIGNANI, A. & YOULE, R. J. 2006. How do Bax and Bak lead to permeabilization of the outer mitochondrial membrane? *Curr Opin Cell Biol*, 18, 685-9.
- ATEGBO, J. M., GRISSA, O., YESSOUFOU, A., HICHAMI, A., DRAMANE, K. L., MOUTAIROU, K., MILED, A., GRISSA, A., JERBI, M., TABKA, Z. & KHAN, N. A. 2006. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab*, 91, 4137-43.
- AUGUSTIN, R. 2010. The protein family of glucose transport facilitators: It's not only about glucose after all. *IUBMB Life*, 62, 315-33.
- AYALA, A., MU, #XF1, OZ, M. F., ARG, #XFC & ELLES, S. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 31.
- AYE, I. L., LAGER, S., RAMIREZ, V. I., GACCIOLI, F., DUDLEY, D. J., JANSSON, T. & POWELL, T. L. 2014. Increasing maternal body mass index is associated with systemic inflammation in the mother and the activation of distinct placental inflammatory pathways. *Biol Reprod*, 90, 23.
- BAETEN, J. M., BUKUSI, E. A. & LAMBE, M. 2001. Pregnancy complications and outcomes among overweight and obese nulliparous women. *Am J Public Health*, 91, 436-40.
- BARISH, G. D., ATKINS, A. R., DOWNES, M., OLSON, P., CHONG, L. W., NELSON, M., ZOU, Y., HWANG, H., KANG, H., CURTISS, L., EVANS, R. M. & LEE, C. H. 2008. PPARdelta regulates multiple proinflammatory pathways to suppress atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 4271-6.
- BARKER, D. J., LARSEN, G., OSMOND, C., THORNBURG, K. L., KAJANTIE, E. & ERIKSSON, J. G. 2012. The placental origins of sudden cardiac death. *Int J Epidemiol*, 41, 1394-9.
- BARKER, D. J. & OSMOND, C. 1986. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, 1, 1077-81.
- BARKER, D. J., THORNBURG, K. L., OSMOND, C., KAJANTIE, E. & ERIKSSON, J. G. 2010. The surface area of the placenta and hypertension in the offspring in later life. *Int J Dev Biol*, 54, 525-30.
- BARKER, D. J., WINTER, P. D., OSMOND, C., MARGETTS, B. & SIMMONDS, S. J. 1989. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*, 2, 577-80.
- BASTA, G., LAZZERINI, G., MASSARO, M., SIMONCINI, T., TANGANELLI, P., FU, C., KISLINGER, T., STERN, D. M., SCHMIDT, A. M. & DE CATERINA, R. 2002. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation*, 105, 816-22.
- BATESON, P. 2001. Fetal experience and good adult design. *Int J Epidemiol*, 30, 928-34.
- BELKACEMI, L., JELKS, A., CHEN, C. H., ROSS, M. G. & DESAI, M. 2011. Altered placental development in undernourished rats: role of maternal glucocorticoids. *Reprod Biol Endocrinol*, 9, 1477-7827.

- BENCAIOVA, G., KRAFFT, A., BURKHARDT, T. & ZIMMERMANN, R. *Hemoglobinopathies, body iron stores and gestational diabetes mellitus*, Haematologica. 2005 Aug;90(8):1138-9.
- BIRI, A., ONAN, A., DEVRIM, E., BABACAN, F., KAVUTCU, M. & DURAK, I. 2006. Oxidant status in maternal and cord plasma and placental tissue in gestational diabetes. *Placenta*, 27, 327-32.
- BIRON-SHENTAL, T., LIBERMAN, M., ELBAZ, M., LAISH, I., SHARONY, R. & AMIEL, A. 2016. Telomere homeostasis in placentas from pregnancies with uncontrolled diabetes. *Placenta*, 44, 13-8.
- BISCHOF, P. 2001. Endocrine, paracrine and autocrine regulation of trophoblastic metalloproteinases. *Early Pregnancy*, 5, 30-1.
- BISHARA, N. B. & DING, H. 2010. Glucose enhances expression of TRPC1 and calcium entry in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 298, 23.
- BITSANIS, D., GHEBREMESKEL, K., MOODLEY, T., CRAWFORD, M. A. & DJAHANBAKHCH, O. 2006. Gestational diabetes mellitus enhances arachidonic and docosahexaenoic acids in placental phospholipids. *Lipids*, 41, 341-6.
- BLACK, P. H. 2006. The inflammatory consequences of psychologic stress: relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II. *Med Hypotheses*, 67, 879-91.
- BLASIAK, J., ARABSKI, M., KRUPA, R., WOZNIAK, K., ZADROZNY, M., KASZNICKI, J., ZURAWSKA, M. & DRZEWSKI, J. 2004. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res*, 554, 297-304.
- BLOCH, W., FLEISCHMANN, B. K., LORKE, D. E., ANDRESSEN, C., HOPS, B., HESCHELER, J. & ADDICKS, K. 1999. Nitric oxide synthase expression and role during cardiomyogenesis. *Cardiovasc Res*, 43, 675-84.
- BOHUSLAVOVA, R., SKVOROVA, L., CERYCHOVA, R. & PAVLINKOVA, G. 2015. Gene expression profiling of changes induced by maternal diabetes in the embryonic heart. *Reprod Toxicol*, 57, 147-56.
- BONAVIA, R., INDA, M. M., VANDENBERG, S., CHENG, S. Y., NAGANE, M., HADWIGER, P., TAN, P., SAH, D. W., CAVEENE, W. K. & FURNARI, F. B. 2012. EGFRvIII promotes glioma angiogenesis and growth through the NF-kappaB, interleukin-8 pathway. *Oncogene*, 31, 4054-66.
- BONEY, C. M., VERMA, A., TUCKER, R. & VOHR, B. R. 2005. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*, 115, e290-6.
- BOUTZIOS, G., LIVADAS, S., PIPERI, C., VITORATOS, N., ADAMOPOULOS, C., HASSIAKOS, D., IAVAZZO, C. & DIAMANTI-KANDARAKIS, E. 2013. Polycystic ovary syndrome offspring display increased oxidative stress markers comparable to gestational diabetes offspring. *Fertil Steril*, 99, 943-50.
- BOWERS, K., YEUNG, E., WILLIAMS, M. A., QI, L., TOBIAS, D. K., HU, F. B. & ZHANG, C. 2011. A prospective study of prepregnancy dietary iron intake and risk for gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34, 1557-63.
- BRANDES, R. P., TAKAC, I. & SCHRODER, K. *No superoxide--no stress?: Nox4, the good NADPH oxidase!*, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Jun;31(6):1255-7. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.226894.
- BROCATO, J., CHERVONA, Y. & COSTA, M. 2014. Molecular responses to hypoxia-inducible factor 1alpha and beyond. *Mol Pharmacol*, 85, 651-7.
- BROWN, C. B. & BALDWIN, H. S. 2006. Neural crest contribution to the cardiovascular system. *Adv Exp Med Biol*, 589, 134-54.
- BUONOCORE, G. & PERRONE, S. 2004. Biomarkers of hypoxic brain injury in the neonate. *Clin Perinatol*, 31, 107-16.
- BUONOCORE, G., PERRONE, S., LONGINI, M., TERZUOLI, L. & BRACCI, R. 2000. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res*, 47, 221-4.
- BUONOCORE, G., PERRONE, S., LONGINI, M., VEZZOSI, P., MARZOCCHI, B., PAFFETTI, P. & BRACCI, R. 2002. Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life. *Pediatr Res*, 52, 46-9.
- BUONOCORE, G., ZANI, S., PERRONE, S., CACIOTTI, B. & BRACCI, R. 1998. Intraerythrocyte nonprotein-bound iron and plasma malondialdehyde in the hypoxic newborn. *Free Radic Biol Med*, 25, 766-70.
- BURTON, G. J., JAUNIAUX, E. & CHARNOCK-JONES, D. S. 2010. The influence of the intrauterine environment on human placental development. *Int J Dev Biol*, 54, 303-12.
- BURTON, G. J., JAUNIAUX, E. & WATSON, A. L. 1999. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd collection revisited. *Am J Obstet Gynecol*, 181, 718-24.
- BUSCH, S., RENAUD, S. J., SCHLEUSSNER, E., GRAHAM, C. H. & MARKERT, U. R. 2009. mTOR mediates human trophoblast invasion through regulation of matrix-remodeling enzymes and is associated with serine phosphorylation of STAT3. *Exp Cell Res*, 315, 1724-33.

- BUSE, M. G. 2006. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*, 290, E1-E8.
- CANIGGIA, I., MOSTACHFI, H., WINTER, J., GASSMANN, M., LYE, S. J., KULISZEWSKI, M. & POST, M. 2000. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). *J Clin Invest*, 105, 577-87.
- CANIGGIA, I. & WINTER, J. L. 2002. Adriana and Luisa Castellucci Award lecture 2001. Hypoxia inducible factor-1: oxygen regulation of trophoblast differentiation in normal and pre-eclamptic pregnancies--a review. *Placenta*, 23, S47-57.
- CAO, L., LIU, P., GILL, K., REECE, E. A., CHEEMA, A. K. & ZHAO, Z. 2016. Identification of novel cell survival regulation in diabetic embryopathy via phospholipidomic profiling. *Biochem Biophys Res Commun*, 470, 599-605.
- CAO, Y., ZHAO, Z., ECKERT, R. L. & REECE, E. A. 2011. Protein kinase Cbeta2 inhibition reduces hyperglycemia-induced neural tube defects through suppression of a caspase 8-triggered apoptotic pathway. *Am J Obstet Gynecol*, 204, 013.
- CASPERSEN, C., PEDERSEN, P. S. & TREIMAN, M. 2000. The sarco/endoplasmic reticulum calcium-ATPase 2b is an endoplasmic reticulum stress-inducible protein. *J Biol Chem*, 275, 22363-72.
- CATALANO, P. M., DRAGO, N. M. & AMINI, S. B. 1995. Maternal carbohydrate metabolism and its relationship to fetal growth and body composition. *Am J Obstet Gynecol*, 172, 1464-70.
- CATALANO, P. M., HUSTON, L., AMINI, S. B. & KALHAN, S. C. 1999. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*, 180, 903-16.
- CATALANO, P. M., TYZBIR, E. D., WOLFE, R. R., ROMAN, N. M., AMINI, S. B. & SIMS, E. A. 1992. Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression during insulin infusion in normal pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 167, 913-9.
- CAUZA, E., HANUSCH-ENSERER, U., BISCHOF, M., SPAK, M., KOSTNER, K., TAMMAA, A., DUNKY, A. & FERENCI, P. 2005. Increased C282Y heterozygosity in gestational diabetes. *Fetal Diagn Ther*, 20, 349-54.
- CEDERBERG, J., BASU, S. & ERIKSSON, U. J. 2001. Increased rate of lipid peroxidation and protein carbonylation in experimental diabetic pregnancy. *Diabetologia*, 44, 766-74.
- CHAI, Y. & MAXSON, R. E., JR. 2006. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn*, 235, 2353-75.
- CHAN, D. A., SUTPHIN, P. D., YEN, S. E. & GIACCIA, A. J. 2005. Coordinate regulation of the oxygen-dependent degradation domains of hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Mol Cell Biol*, 25, 6415-26.
- CHAN, K. K., CHAN, B. C., LAM, K. F., TAM, S. & LAO, T. T. 2009. Iron supplement in pregnancy and development of gestational diabetes--a randomised placebo-controlled trial. *Bjog*, 116, 789-97.
- CHAPPELL, J. H., JR., WANG, X. D. & LOEKEN, M. R. 2009. Diabetes and apoptosis: neural crest cells and neural tube. *Apoptosis*, 14, 1472-83.
- CHARNOCK-JONES, D. S. & BURTON, G. J. 2000. Placental vascular morphogenesis. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 14, 953-68.
- CHARTOUMPEKIS, D. V. & KENSLER, T. W. 2013. New player on an old field; the keap1/Nrf2 pathway as a target for treatment of type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Curr Diabetes Rev*, 9, 137-45.
- CHEN, D. B. & ZHENG, J. 2014. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation*, 21, 15-25.
- CHEN, J., LI, D., ZHANG, X. & MEHTA, J. L. 2004. Tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis of human coronary artery endothelial cells: modulation by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand pioglitazone. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 9, 35-41.
- CHEN, Y., STUMP, R. J., LOVICU, F. J., SHIMONO, A. & MCAVOY, J. W. 2008. Wnt signaling is required for organization of the lens fiber cell cytoskeleton and development of lens three-dimensional architecture. *Dev Biol*, 324, 161-76.
- CICCOLI, L., ROSSI, V., LEONCINI, S., SIGNORINI, C., PAFFETTI, P., BRACCI, R., BUONOCORE, G. & COMPORTE, M. 2003. Iron release in erythrocytes and plasma non protein-bound iron in hypoxic and non hypoxic newborns. *Free Radic Res*, 37, 51-8.
- CILDIR, G., AKINCILAR, S. C. & TERGAONKAR, V. 2013. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends Mol Med*, 19, 487-500.
- CLAUSEN, T. D., MATHIESEN, E. R., HANSEN, T., PEDERSEN, O., JENSEN, D. M., LAUENBORG, J. & DAMM, P. 2008. High prevalence of type 2 diabetes and pre-diabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care*, 31, 340-6.

- CLAUSEN, T. D., MATHIESEN, E. R., HANSEN, T., PEDERSEN, O., JENSEN, D. M., LAUENBORG, J., SCHMIDT, L. & DAMM, P. 2009. Overweight and the metabolic syndrome in adult offspring of women with diet-treated gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 94, 2464-70.
- COAN, P. M., VAUGHAN, O. R., SEKITA, Y., FINN, S. L., BURTON, G. J., CONSTANCIA, M. & FOWDEN, A. L. 2010. Adaptations in placental phenotype support fetal growth during undernutrition of pregnant mice. *J Physiol*, 588, 527-38.
- COCKMAN, M. E., MASSON, N., MOLE, D. R., JAAKKOLA, P., CHANG, G. W., CLIFFORD, S. C., MAHER, E. R., PUGH, C. W., RATCLIFFE, P. J. & MAXWELL, P. H. 2000. Hypoxia inducible factor- α binding and ubiquitylation by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *J Biol Chem*, 275, 25733-41.
- COLOMIERE, M., PERMEZEL, M., RILEY, C., DESOYE, G. & LAPPAS, M. 2009. Defective insulin signaling in placenta from pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 160, 567-78.
- COMPTON, L. A., POTASH, D. A., BROWN, C. B. & BARNETT, J. V. 2007. Coronary vessel development is dependent on the type III transforming growth factor beta receptor. *Circ Res*, 101, 784-91.
- COOK, S., WEITZMAN, M., AUINGER, P., NGUYEN, M. & DIETZ, W. H. 2003. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 157, 821-7.
- COOKE, R. W. 1994. Factors affecting survival and outcome at 3 years in extremely preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 71, F28-31.
- COPPENS, M., LOQUET, P., KOLLEN, M., DE NEUBOURG, F. & BUYTAERT, P. 1996. Longitudinal evaluation of uteroplacental and umbilical blood flow changes in normal early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 7, 114-21.
- CORREA, A., GILBOA, S. M., BESSER, L. M., BOTTO, L. D., MOORE, C. A., HOBBS, C. A., CLEVES, M. A., RIEHLE-COLARUSSO, T. J., WALLER, D. K. & REECE, E. A. 2008. Diabetes mellitus and birth defects. *Am J Obstet Gynecol*, 199, 31.
- CORY, S., HUANG, D. C. & ADAMS, J. M. 2003. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene*, 22, 8590-607.
- COUGHLAN, M. T., VERVAART, P. P., PERMEZEL, M., GEORGIU, H. M. & RICE, G. E. 2004. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 25, 78-84.
- CUI, X. L., BROCKMAN, D., CAMPOS, B. & MYATT, L. 2006. Expression of NADPH oxidase isoform 1 (Nox1) in human placenta: involvement in preeclampsia. *Placenta*, 27, 422-31.
- CVITIC, S., DESOYE, G. & HIDEN, U. 2014. Glucose, insulin, and oxygen interplay in placental hypervascularisation in diabetes mellitus. *Biomed Res Int*, 145846, 2.
- DABELEA, D., HANSON, R. L., LINDSAY, R. S., PETTITT, D. J., IMPERATORE, G., GABIR, M. M., ROUMAIN, J., BENNETT, P. H. & KNOWLER, W. C. 2000. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes*, 49, 2208-11.
- DALLE-DONNE, I., ROSSI, R., COLOMBO, R., GIUSTARINI, D. & MILZANI, A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem*, 52, 601-23.
- DANDONA, P., ALJADA, A., MOHANTY, P., GHANIM, H., BANDYOPADHYAY, A. & CHAUDHURI, A. 2003. Insulin suppresses plasma concentration of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. *Diabetes Care*, 26, 3310-4.
- DANDONA, P., ALJADA, A., MOHANTY, P., GHANIM, H., HAMOUDA, W., ASSIAN, E. & AHMAD, S. 2001. Insulin inhibits intranuclear nuclear factor kappaB and stimulates IkappaB in mononuclear cells in obese subjects: evidence for an anti-inflammatory effect? *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 3257-65.
- DANDONA, P., WEINSTOCK, R., THUSU, K., ABDEL-RAHMAN, E., ALJADA, A. & WADDEN, T. 1998. Tumor necrosis factor- α in sera of obese patients: fall with weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 2907-10.
- DASKALAKIS, G., MARINOPOULOS, S., KRIELESIS, V., PAPAPANAGIOTOU, A., PAPANTONIOU, N., MESOGITIS, S. & ANTSAKLIS, A. 2008. Placental pathology in women with gestational diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 87, 403-7.
- DE ROOIJ, S. R., WOUTERS, H., YONKER, J. E., PAINTER, R. C. & ROSEBOOM, T. J. 2010. Prenatal undernutrition and cognitive function in late adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 16881-6.
- DECSI, T., MINDA, H., HERMANN, R., KOZARI, A., ERHARDT, E., BURUS, I., MOLNAR, S. & SOLTESZ, G. 2002. Polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocyte membrane lipids of diabetic children. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 67, 203-10.

- DEMPSEY, E. C., NEWTON, A. C., MOCHLY-ROSEN, D., FIELDS, A. P., REYLAND, M. E., INSEL, P. A. & MESSING, R. O. 2000. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 279, L429-38.
- DESOYE, G., HOFMANN, H. H. & WEISS, P. A. 1992. Insulin binding to trophoblast plasma membranes and placental glycogen content in well-controlled gestational diabetic women treated with diet or insulin, in well-controlled overt diabetic patients and in healthy control subjects. *Diabetologia*, 35, 45-55.
- DESOYE, G. & SHAFRIR, E. 1994. Placental metabolism and its regulation in health and diabetes. *Mol Aspects Med*, 15, 505-682.
- DESERGNE, B., MICHALIK, L. & WAHLI, W. 2006. Transcriptional Regulation of Metabolism. *Physiological Reviews*, 86, 465-514.
- DIDERHOLM, B., STRIDSBERG, M., EWALD, U., LINDBERG-NORDEN, S. & GUSTAFSSON, J. 2005. Increased lipolysis in non-obese pregnant women studied in the third trimester. *Bjog*, 112, 713-8.
- DIEZ, J. J. & IGLESIAS, P. 2003. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol*, 148, 293-300.
- DING, H. & TRIGGLE, C. R. 2010. Endothelial dysfunction in diabetes: multiple targets for treatment. *Pflugers Arch*, 459, 977-94.
- DITTMER, J. 2003. The Biology of the Ets1 Proto-Oncogene. *Molecular Cancer*, 2, 29.
- DOMELLÖF, M., THORSODDOTTIR, I. & THORSTENSEN, K. 2013. Health effects of different dietary iron intakes: a systematic literature review for the 5th Nordic Nutrition Recommendations. *Food & Nutrition Research*, 57, 10.3402/fnr.v57i0.21667.
- DOMMISSE, J. & TILTMAN, A. J. 1992. Placental bed biopsies in placental abruption. *Br J Obstet Gynaecol*, 99, 651-4.
- DONG, D., REECE, E. A. & YANG, P. 2016a. The Nrf2 Activator Vinylsulfone Reduces High Glucose-Induced Neural Tube Defects by Suppressing Cellular Stress and Apoptosis. *Reprod Sci*, 23, 993-1000.
- DONG, D., YU, J., WU, Y., FU, N., VILLELA, N. A. & YANG, P. 2015a. Maternal diabetes triggers DNA damage and DNA damage response in neurulation stage embryos through oxidative stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 467, 407-412.
- DONG, D., YU, J., WU, Y., FU, N., VILLELA, N. A. & YANG, P. 2015b. Maternal diabetes triggers DNA damage and DNA damage response in neurulation stage embryos through oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 467, 407-12.
- DONG, D., ZHANG, Y., REECE, E. A., WANG, L., HARMAN, C. R. & YANG, P. 2016b. microRNA expression profiling and functional annotation analysis of their targets modulated by oxidative stress during embryonic heart development in diabetic mice. *Reprod Toxicol*, 65, 365-374.
- DUCLUZEAU, P. H., PRIOU, M., WEITHEIMER, M., FLAMMENT, M., DULUC, L., IACOBASI, F., SOLETI, R., SIMARD, G., DURAND, A., RIEUSSET, J., ANDRIANTSITOHAINA, R. & MALTHIERY, Y. 2011. Dynamic regulation of mitochondrial network and oxidative functions during 3T3-L1 fat cell differentiation. *J Physiol Biochem*, 67, 285-96.
- DUTTA, T., CHAI, H. S., WARD, L. E., GHOSH, A., PERSSON, X.-M. T., FORD, G. C., KUDVA, Y. C., SUN, Z., ASMANN, Y. W., KOCHER, J.-P. A. & NAIR, K. S. 2012. Concordance of Changes in Metabolic Pathways Based on Plasma Metabolomics and Skeletal Muscle Transcriptomics in Type 1 Diabetes. *Diabetes*, 61, 1004-1016.
- EIZIRIK, D. L., CARDOZO, A. K. & CNOP, M. 2008. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev*, 29, 42-61.
- EJDESJO, A., BRINGS, S., FLEMING, T., FRED, R. G., NAWROTH, P. P. & ERIKSSON, U. J. 2016. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) knockout reduces fetal dysmorphogenesis in murine diabetic pregnancy. *Reprod Toxicol*, 62, 62-70.
- ELVERT, G., KAPPEL, A., HEIDENREICH, R., ENGLMEIER, U., LANZ, S., ACKER, T., RAUTER, M., PLATE, K., SIEWEKE, M., BREIER, G. & FLAMME, I. 2002. Cooperative interaction of hypoxia inducible factor (HIF)-2 α and Ets-1 in the transcriptional activation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (Flk-1). *Journal of Biological Chemistry*.
- ERGAZ, Z., GUILLEMIN, C., NEEMAN-AZULAY, M., WEINSTEIN-FUDIM, L., STODGELL, C. J., MILLER, R. K., SZYF, M. & ORNOY, A. 2014. Placental oxidative stress and decreased global DNA methylation are corrected by copper in the Cohen diabetic rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 276, 220-30.
- ERIKSSON, U. J. 2009. Congenital anomalies in diabetic pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med*, 14, 85-93.

- ERIKSSON, U. J., BORG, L. A., CEDERBERG, J., NORDSTRAND, H., SIMAN, C. M., WENTZEL, C. & WENTZEL, P. 2000. Pathogenesis of diabetes-induced congenital malformations. *Ups J Med Sci*, 105, 53-84.
- ERIKSSON, U. J., CEDERBERG, J. & WENTZEL, P. 2003. Congenital malformations in offspring of diabetic mothers--animal and human studies. *Rev Endocr Metab Disord*, 4, 79-93.
- ESCUADERO, C., GONZÁLEZ, M., ACURIO, J., VALENZUELA, F. & SOBREVIA, L. 2013. *The Role of Placenta in the Fetal Programming Associated to Gestational Diabetes*.
- ESCUADERO, C. & SOBREVIA, L. 2008. A hypothesis for preeclampsia: adenosine and inducible nitric oxide synthase in human placental microvascular endothelium. *Placenta*, 29, 469-83.
- ESSER, N., LEGRAND-POELS, S., PIETTE, J., SCHEEN, A. J. & PAQUOT, N. 2014. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 105, 141-50.
- ESSERS, M. A., WEIJZEN, S., DE VRIES-SMITS, A. M., SAARLOOS, I., DE RUITER, N. D., BOS, J. L. & BURGERING, B. M. 2004. FOXO transcription factor activation by oxidative stress mediated by the small GTPase Ral and JNK. *Embo J*, 23, 4802-12.
- EVAN, G. I., BROWN, L., WHYTE, M. & HARRINGTON, E. 1995. Apoptosis and the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol*, 7, 825-34.
- FEIG, D. S. & PALDA, V. A. 2002. Type 2 diabetes in pregnancy: a growing concern. *Lancet*, 359, 1690-2.
- FELDSER, D., AGANI, F., IYER, N. V., PAK, B., FERREIRA, G. & SEMENZA, G. L. 1999. Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha and insulin-like growth factor 2. *Cancer Res*, 59, 3915-8.
- FENG, Q., SONG, W., LU, X., HAMILTON, J. A., LEI, M., PENG, T. & YEE, S. P. 2002. Development of heart failure and congenital septal defects in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 106, 873-9.
- FERNANDEZ-MORERA, J. L., RODRIGUEZ-RODERO, S., MENENDEZ-TORRE, E. & FRAGA, M. F. 2010. The possible role of epigenetics in gestational diabetes: cause, consequence, or both. *Obstet Gynecol Int*, 605163, 31.
- FERRARO, E., CORVARO, M. & CECCONI, F. 2003. Physiological and pathological roles of Apaf1 and the apoptosome. *J Cell Mol Med*, 7, 21-34.
- FINE, E. L., HORAL, M., CHANG, T. I., FORTIN, G. & LOEKEN, M. R. 1999. Evidence that elevated glucose causes altered gene expression, apoptosis, and neural tube defects in a mouse model of diabetic pregnancy. *Diabetes*, 48, 2454-62.
- FLEGAL, K. M., CARROLL, M. D., KIT, B. K. & OGDEN, C. L. 2012. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *Jama*, 307, 491-7.
- FLORCZYK, U., JAZWA, A., MALESZEWSKA, M., MENDEL, M., SZADE, K., KOZAKOWSKA, M., GROCHOT-PRZECZEK, A., VISCARDI, M., CZAUDERNA, S., BUKOWSKA-STRAKOVA, K., KOTLINOWSKI, J., JOZKOWICZ, A., LOBODA, A. & DULAK, J. 2014. Nrf2 regulates angiogenesis: effect on endothelial cells, bone marrow-derived proangiogenic cells and hind limb ischemia. *Antioxid Redox Signal*, 20, 1693-708.
- FOIDART, J. M., HUSTIN, J., DUBOIS, M. & SCHAAPS, J. P. 1992. The human placenta becomes haemochorial at the 13th week of pregnancy. *Int J Dev Biol*, 36, 451-3.
- FORBES, K., WESTWOOD, M., BAKER, P. N. & APLIN, J. D. 2008. Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. *Am J Physiol Cell Physiol*, 294, 9.
- FORHEAD, A. J. & FOWDEN, A. L. 2009. The hungry fetus? Role of leptin as a nutritional signal before birth. *J Physiol*, 587, 1145-52.
- FORSBERG, H., ERIKSSON, U. J. & WELSH, N. 1998. Apoptosis in embryos of diabetic rats. *Pharmacol Toxicol*, 83, 104-11.
- FOWDEN, A. L., WARD, J. W., WOODING, F. P., FORHEAD, A. J. & CONSTANCIA, M. 2006. Programming placental nutrient transport capacity. *J Physiol*, 572, 5-15.
- FRANKE, K., HARDER, T., AERTS, L., MELCHIOR, K., FAHRENKROG, S., RODEKAMP, E., ZISKA, T., VAN ASSCHE, F. A., DUDENHAUSEN, J. W. & PLAGEMANN, A. 2005. 'Programming' of orexigenic and anorexigenic hypothalamic neurons in offspring of treated and untreated diabetic mother rats. *Brain Res*, 21, 276-83.
- FRIEDBERG, E. C. 2003. DNA damage and repair. *Nature*, 421, 436-40.
- FUENTES, E., GUZMAN-JOFRE, L., MOORE-CARRASCO, R. & PALOMO, I. 2013. Role of PPARs in inflammatory processes associated with metabolic syndrome (Review). *Mol Med Rep*, 8, 1611-6.
- FUHRMANN, K., REIHER, H., SEMMLER, K. & GLOCKNER, E. 1984. The effect of intensified conventional insulin therapy before and during pregnancy on the malformation rate in offspring of diabetic mothers. *Exp Clin Endocrinol*, 83, 173-7.

- FUKUDA, R., KELLY, B. & SEMENZA, G. L. 2003. Vascular endothelial growth factor gene expression in colon cancer cells exposed to prostaglandin E2 is mediated by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res*, 63, 2330-4.
- FURUKAWA, S., FUJITA, T., SHIMABUKURO, M., IWAKI, M., YAMADA, Y., NAKAJIMA, Y., NAKAYAMA, O., MAKISHIMA, M., MATSUDA, M. & SHIMOMURA, I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114, 1752-1761.
- GAO, L., ZHAO, Y. C., LIANG, Y., LIN, X. H., TAN, Y. J., WU, D. D., LI, X. Z., YE, B. Z., KONG, F. Q., SHENG, J. Z. & HUANG, H. F. 2016. The impaired myocardial ischemic tolerance in adult offspring of diabetic pregnancy is restored by maternal melatonin treatment. *J Pineal Res*, 61, 340-52.
- GARBIN, U., FRATTA PASINI, A., STRANIERI, C., COMINACINI, M., PASINI, A., MANFRO, S., LUGOBONI, F., MOZZINI, C., GUIDI, G., FACCINI, G. & COMINACINI, L. 2009. Cigarette smoking blocks the protective expression of Nrf2/ARE pathway in peripheral mononuclear cells of young heavy smokers favouring inflammation. *PLoS One*, 4, 0008225.
- GARCIA-VARGAS, L., ADDISON, S. S., NISTALA, R., KURUKULASURIYA, D. & SOWERS, J. R. 2012. Gestational Diabetes and the Offspring: Implications in the Development of the Cardiorenal Metabolic Syndrome in Offspring. *Cardiorenal Medicine*, 2, 134-142.
- GARG, R., CHAUDHURI, A., MUNSCHAUER, F. & DANDONA, P. 2006. Hyperglycemia, insulin, and acute ischemic stroke: a mechanistic justification for a trial of insulin infusion therapy. *Stroke*, 37, 267-73.
- GARRIDO, C., GALLUZZI, L., BRUNET, M., PUIG, P. E., DIDELOT, C. & KROEMER, G. 2006. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death Differ*, 13, 1423-33.
- GENBACEV, O., KRTOLICA, A., KAELIN, W. & FISHER, S. J. 2001. Human cytotrophoblast expression of the von Hippel-Lindau protein is downregulated during uterine invasion in situ and upregulated by hypoxia in vitro. *Dev Biol*, 233, 526-36.
- GIARDINO, I., EDELSTEIN, D. & BROWNLEE, M. 1996. BCL-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation endproducts in bovine endothelial cells. *J Clin Invest*, 97, 1422-8.
- GLUCKMAN, P. D., HANSON, M. A., SPENCER, H. G. & BATESON, P. 2005. Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proc Biol Sci*, 272, 671-7.
- GOLDIN, A., BECKMAN, J. A., SCHMIDT, A. M. & CREAGER, M. A. 2006. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 114, 597-605.
- GONZALEZ-PACHECO, F. R., DEUDERO, J. J., CASTELLANOS, M. C., CASTILLA, M. A., ALVAREZ-ARROYO, M. V., YAGUE, S. & CAMELO, C. 2006. Mechanisms of endothelial response to oxidative aggression: protective role of autologous VEGF and induction of VEGFR2 by H2O2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 291, H1395-401.
- GRAIANI, G., LAGRASTA, C., MIGLIACCIO, E., SPILLMANN, F., MELONI, M., MADEDDU, P., QUAINI, F., PADURA, I. M., LANFRANCONE, L., PELICCI, P. & EMANUELI, C. 2005. Genetic deletion of the p66Shc adaptor protein protects from angiotensin II-induced myocardial damage. *Hypertension*, 46, 433-40.
- GREENBERG, A. S. & MCDANIEL, M. L. 2002. Identifying the links between obesity, insulin resistance and beta-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest*, 3, 24-34.
- GREER, E. L. & BRUNET, A. 2005. FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression. *Oncogene*, 24, 7410-25.
- GREGOR, M. F. & HOTAMISLIGIL, G. S. 2011. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*, 29, 415-45.
- GRISSA, O., YESSOUFOU, A., MRISAK, I., HICHAMI, A., AMOUSSOU-GUENOU, D., GRISSA, A., DJROLO, F., MOUTAIROU, K., MILED, A., KHAIRI, H., ZAOUALI, M., BOUGMIZA, I., ZBIDI, A., TABKA, Z. & KHAN, N. A. 2010. Growth factor concentrations and their placental mRNA expression are modulated in gestational diabetes mellitus: possible interactions with macrosomia. *BMC Pregnancy Childbirth*, 10, 1471-2393.
- GUI, J., ROHRBACH, A., BORNS, K., HILLEMANN, P., FENG, L., HUBEL, C. A. & VON VERSEN-HOYNCK, F. 2015. Vitamin D rescues dysfunction of fetal endothelial colony forming cells from individuals with gestational diabetes. *Placenta*, 36, 410-8.
- HADJIPANAYI, E. & SCHILLING, A. F. 2013. Hypoxia-based strategies for angiogenic induction: the dawn of a new era for ischemia therapy and tissue regeneration. *Organogenesis*, 9, 261-72.

- HAGAY, Z. J., WEISS, Y., ZUSMAN, I., PELED-KAMAR, M., REECE, E. A., ERIKSSON, U. J. & GRONER, Y. 1995. Prevention of diabetes-associated embryopathy by overexpression of the free radical scavenger copper zinc superoxide dismutase in transgenic mouse embryos. *Am J Obstet Gynecol*, 173, 1036-41.
- HALAAS, J. L., GAJIWALA, K. S., MAFFEI, M., COHEN, S. L., CHAIT, B. T., RABINOWITZ, D., LALLONE, R. L., BURLEY, S. K. & FRIEDMAN, J. M. 1995. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 269, 543-6.
- HALES, C. N. & BARKER, D. J. 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*, 60, 5-20.
- HANSON, M. A. & GLUCKMAN, P. D. 2008. Developmental origins of health and disease: new insights. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 102, 90-3.
- HARDING, H. P., CALFON, M., URANO, F., NOVOA, I. & RON, D. 2002. Transcriptional and translational control in the Mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 18, 575-99.
- HARDING, H. P. & RON, D. 2002. Endoplasmic reticulum stress and the development of diabetes: a review. *Diabetes*, 51, S455-61.
- HARRIS, L. K., MCCORMICK, J., CARTWRIGHT, J. E., WHITLEY, G. S. & DASH, P. R. 2008. S-nitrosylation of proteins at the leading edge of migrating trophoblasts by inducible nitric oxide synthase promotes trophoblast invasion. *Exp Cell Res*, 314, 1765-76.
- HARRIS, M. I., FLEGAL, K. M., COWIE, C. C., EBERHARDT, M. S., GOLDSTEIN, D. E., LITTLE, R. R., WIEDMEYER, H. M. & BYRD-HOLT, D. D. 1998. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care*, 21, 518-24.
- HASEGAWA, Y., ABE, M., YAMAZAKI, T., NIIZEKI, O., SHIIBA, K., SASAKI, I. & SATO, Y. 2004. Transcriptional regulation of human angiopoietin-2 by transcription factor Ets-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316, 52-58.
- HASHIYA, N., JO, N., AOKI, M., MATSUMOTO, K., NAKAMURA, T., SATO, Y., OGATA, N., OGIHARA, T., KANEDA, Y. & MORISHITA, R. 2004. In Vivo Evidence of Angiogenesis Induced by Transcription Factor Ets-1. *Ets-1 Is Located Upstream of Angiogenesis Cascade*, 109, 3035-3041.
- HAYAKAWA, R., HAYAKAWA, T., TAKEDA, K. & ICHIJO, H. 2012. Therapeutic targets in the ASK1-dependent stress signaling pathways. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 88, 434-53.
- HELAL, O., DEFOORT, C., ROBERT, S., MARIN, C., LESAVRE, N., LOPEZ-MIRANDA, J., RISERUS, U., BASU, S., LOVEGROVE, J., MCMONAGLE, J., ROCHE, H. M., DIGNAT-GEORGE, F. & LAIRON, D. 2011. Increased levels of microparticles originating from endothelial cells, platelets and erythrocytes in subjects with metabolic syndrome: relationship with oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21, 665-71.
- HELIN, A., KINNUNEN, T. I., RAITANEN, J., AHONEN, S., VIRTANEN, S. M. & LUOTO, R. 2012. Iron intake, haemoglobin and risk of gestational diabetes: a prospective cohort study. *BMJ Open*, 2, 2012-001730.
- HELSKE, S., VUORELA, P., CARPEN, O., HORNIG, C., WEICH, H. & HALMESMAKI, E. 2001. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Reprod*, 7, 205-10.
- HIGA, R., GONZALEZ, E., PUSTOVHR, M. C., WHITE, V., CAPOBIANCO, E., MARTINEZ, N. & JAWERBAUM, A. 2007. PPARdelta and its activator PGI2 are reduced in diabetic embryopathy: involvement of PPARdelta activation in lipid metabolic and signalling pathways in rat embryo early organogenesis. *Mol Hum Reprod*, 13, 103-10.
- HIGGINS, J. S., VAUGHAN, O. R., FERNANDEZ DE LIGER, E., FOWDEN, A. L. & SFERRUZZI-PERRI, A. N. 2016. Placental phenotype and resource allocation to fetal growth are modified by the timing and degree of hypoxia during mouse pregnancy. *J Physiol*, 594, 1341-56.
- HIGGINS, K. J., ABDELRAHIM, M., LIU, S., YOON, K. & SAFE, S. 2006. Regulation of vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in pancreatic cancer cells by Sp proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 345, 292-301.
- HILLS, F. A., ELDER, M. G., CHARD, T. & SULLIVAN, M. H. 2004. Regulation of human villous trophoblast by insulin-like growth factors and insulin-like growth factor-binding protein-1. *J Endocrinol*, 183, 487-96.
- HIRAMATSU, Y., SEKIGUCHI, N., HAYASHI, M., ISSHIKI, K., YOKOTA, T., KING, G. L. & LOEKEN, M. R. 2002. Diacylglycerol production and protein kinase C activity are increased in a mouse model of diabetic embryopathy. *Diabetes*, 51, 2804-10.

- HO, F. M., LIU, S. H., LIAU, C. S., HUANG, P. J. & LIN-SHIAU, S. Y. 2000. High glucose-induced apoptosis in human endothelial cells is mediated by sequential activations of c-Jun NH(2)-terminal kinase and caspase-3. *Circulation*, 101, 2618-24.
- HOLING, E. V., BEYER, C. S., BROWN, Z. A. & CONNELL, F. A. 1998. Why don't women with diabetes plan their pregnancies? *Diabetes Care*, 21, 889-95.
- HORAL, M., ZHANG, Z., STANTON, R., VIRKAMAKI, A. & LOEKEN, M. R. 2004. Activation of the hexosamine pathway causes oxidative stress and abnormal embryo gene expression: involvement in diabetic teratogenesis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 70, 519-27.
- HORTON, W. E., JR. & SADLER, T. W. 1983. Effects of maternal diabetes on early embryogenesis. Alterations in morphogenesis produced by the ketone body, B-hydroxybutyrate. *Diabetes*, 32, 610-6.
- HOTAMISLIGIL, G. S. 2010. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 140, 900-17.
- HOTAMISLIGIL, G. S., ARNER, P., CARO, J. F., ATKINSON, R. L. & SPIEGELMAN, B. M. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 95, 2409-15.
- HUANG, L. E. & BUNN, H. F. 2003. Hypoxia-inducible factor and its biomedical relevance. *J Biol Chem*, 278, 19575-8.
- HUANG, L. E., GU, J., SCHAU, M. & BUNN, H. F. 1998. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 7987-92.
- HUANG, P. L. 2009. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*, 2, 231-237.
- HUSTIN, J., JAUNIAUX, E. & SCHAAPS, J. P. 1990. Histological study of the materno-embryonic interface in spontaneous abortion. *Placenta*, 11, 477-86.
- HUSTIN, J. & SCHAAPS, J. P. 1987. Echographic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 157, 162-8.
- HUTTER, D., KINGDOM, J. & JAEGGI, E. 2010. Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia and its impact on the fetal cardiovascular system: a review. *Int J Pediatr*, 401323, 19.
- ILEKIS, J. V., TSILOU, E., FISHER, S., ABRAHAMS, V. M., SOARES, M. J., CROSS, J. C., ZAMUDIO, S., ILLSLEY, N. P., MYATT, L., COLVIS, C., COSTANTINE, M. M., HAAS, D. M., SADOVSKY, Y., WEINER, C., RYTTING, E. & BIDWELL, G. Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 215, S1-S46.
- ILIE, M. & MARGINĂ, D. 2012. *Trends in the Evaluation of Lipid Peroxidation Processes*.
- ILJAS, J. D., GUANZON, D., ELFEKY, O., RICE, G. E. & SALOMON, C. 2016. Bio-compartmentalization of microRNAs in exosomes during gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 2, 30648-8.
- IOZZO, P. 2009. Viewpoints on the Way to the Consensus Session. *Where does insulin resistance start? The adipose tissue*, 32, S168-S173.
- IRVING, J. A. & LALA, P. K. 1995. Functional role of cell surface integrins on human trophoblast cell migration: regulation by TGF- β , IGF-II, and IGFBP-1. *Exp Cell Res*, 217, 419-27.
- IVAN, M., KONDO, K., YANG, H., KIM, W., VALIANDO, J., OHH, M., SALIC, A., ASARA, J. M., LANE, W. S. & KAELIN, W. G., JR. 2001. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science*, 292, 464-8.
- JAAKKOLA, P., MOLE, D. R., TIAN, Y. M., WILSON, M. I., GIELBERT, J., GASKELL, S. J., VON KRIEGSHEIM, A., HEBESTREIT, H. F., MUKHERJI, M., SCHOFIELD, C. J., MAXWELL, P. H., PUGH, C. W. & RATCLIFFE, P. J. 2001. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science*, 292, 468-72.
- JAISWAL, A. K. 2004. Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression. *Free Radic Biol Med*, 36, 1199-207.
- JANSSON, T. & POWELL, T. L. 2013. Role of placental nutrient sensing in developmental programming. *Clin Obstet Gynecol*, 56, 591-601.
- JANSSON, T., WENNERGREN, M. & POWELL, T. L. 1999. Placental glucose transport and GLUT 1 expression in insulin-dependent diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 180, 163-8.

- JARVIE, E., HAUGUEL-DE-MOUZON, S., NELSON, S. M., SATTAR, N., CATALANO, P. M. & FREEMAN, D. J. 2010. Lipotoxicity in obese pregnancy and its potential role in adverse pregnancy outcome and obesity in the offspring. *Clin Sci*, 119, 123-9.
- JAUNIAUX, E., GREENWOLD, N., HEMPSTOCK, J. & BURTON, G. J. 2003. Comparison of ultrasonographic and Doppler mapping of the intervillous circulation in normal and abnormal early pregnancies. *Fertil Steril*, 79, 100-6.
- JAUNIAUX, E., WATSON, A. & BURTON, G. 2001. Evaluation of respiratory gases and acid-base gradients in human fetal fluids and uteroplacental tissue between 7 and 16 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 184, 998-1003.
- JAUNIAUX, E., WATSON, A. L., HEMPSTOCK, J., BAO, Y. P., SKEPPER, J. N. & BURTON, G. J. 2000. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol*, 157, 2111-22.
- JAWERBAUM, A. & GONZALEZ, E. 2005. The role of alterations in arachidonic acid metabolism and nitric oxide homeostasis in rat models of diabetes during early pregnancy. *Curr Pharm Des*, 11, 1327-42.
- JAWERBAUM, A. & GONZALEZ, E. 2006. Diabetic pregnancies: the challenge of developing in a pro-inflammatory environment. *Curr Med Chem*, 13, 2127-38.
- JAWERBAUM, A., HIGA, R., WHITE, V., CAPOBIANCO, E., PUSTOVRH, C., SINNER, D., MARTINEZ, N. & GONZALEZ, E. 2005. Peroxynitrites and impaired modulation of nitric oxide concentrations in embryos from diabetic rats during early organogenesis. *Reproduction*, 130, 695-703.
- JAWERBAUM, A. & WHITE, V. 2010. Animal models in diabetes and pregnancy. *Endocr Rev*, 31, 680-701.
- JENKINSON, P. C., ANDERSON, D. & GANGOLLI, S. D. 1986. Malformations induced in cultured rat embryos by enzymically generated active oxygen species. *Teratog Carcinog Mutagen*, 6, 547-54.
- JIANG, B. H., JIANG, G., ZHENG, J. Z., LU, Z., HUNTER, T. & VOGT, P. K. 2001. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling controls levels of hypoxia-inducible factor 1. *Cell Growth Differ*, 12, 363-9.
- JIANG, H. Y., WEK, S. A., MCGRATH, B. C., SCHEUNER, D., KAUFMAN, R. J., CAVENER, D. R. & WEK, R. C. 2003. Phosphorylation of the alpha subunit of eukaryotic initiation factor 2 is required for activation of NF-kappaB in response to diverse cellular stresses. *Mol Cell Biol*, 23, 5651-63.
- JONES, C. J. & DESOYE, G. 1993. Glycogen distribution in the capillaries of the placental villus in normal, overt and gestational diabetic pregnancy. *Placenta*, 14, 505-17.
- JONES, D. A., PRIOR, S. L., BARRY, J. D., CAPLIN, S., BAXTER, J. N. & STEPHENS, J. W. 2014. Changes in markers of oxidative stress and DNA damage in human visceral adipose tissue from subjects with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 106, 627-33.
- JONES, H. N., WOOLLETT, L. A., BARBOUR, N., PRASAD, P. D., POWELL, T. L. & JANSSON, T. 2009. High-fat diet before and during pregnancy causes marked up-regulation of placental nutrient transport and fetal overgrowth in C57/BL6 mice. *Faseb J*, 23, 271-8.
- KAISER, E., CHIBA, P. & ZAKY, K. 1990. Phospholipases in biology and medicine. *Clin Biochem*, 23, 349-70.
- KAJIHARA, T., JONES, M., FUSI, L., TAKANO, M., FEROZE-ZAIDI, F., PIRIANOV, G., MEHMET, H., ISHIHARA, O., HIGHAM, J. M., LAM, E. W. & BROSENS, J. J. 2006. Differential expression of FOXO1 and FOXO3a confers resistance to oxidative cell death upon endometrial decidualization. *Mol Endocrinol*, 20, 2444-55.
- KALLIO, P. J., WILSON, W. J., O'BRIEN, S., MAKINO, Y. & POELLINGER, L. 1999. Regulation of the hypoxia-inducible transcription factor 1alpha by the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem*, 274, 6519-25.
- KANG, B. P., FRENCHER, S., REDDY, V., KESSLER, A., MALHOTRA, A. & MEGGS, L. G. 2003. High glucose promotes mesangial cell apoptosis by oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol*, 284, 5.
- KASAPINOVIC, S., MCCALLUM, G. P., WILEY, M. J. & WELLS, P. G. 2004. The peroxynitrite pathway in development: phenytoin and benzo[a]pyrene embryopathies in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Free Radic Biol Med*, 37, 1703-11.
- KAUFMAN, R. J. 1999. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Dev*, 13, 1211-33.
- KAUFMANN, P., BLACK, S. & HUPPERTZ, B. 2003. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*, 69, 1-7.
- KAUFMANN, P., MAYHEW, T. M. & CHARNOCK-JONES, D. S. 2004. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. *Placenta*, 25, 114-26.

- KHONG, T. Y., LIDDELL, H. S. & ROBERTSON, W. B. 1987. Defective haemochorial placentation as a cause of miscarriage: a preliminary study. *Br J Obstet Gynaecol*, 94, 649-55.
- KIM, J. B., XIA, Y. R., ROMANOSKI, C. E., LEE, S., MENG, Y., SHI, Y. S., BOURQUARD, N., GONG, K. W., PORT, Z., GRIJALVA, V., REDDY, S. T., BERLINER, J. A., LUSIS, A. J. & SHIH, D. M. 2011. Paraoxonase-2 modulates stress response of endothelial cells to oxidized phospholipids and a bacterial quorum-sensing molecule. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, 2624-33.
- KIM, S. Y., SAPPENFIELD, W., SHARMA, A. J., WILSON, H. G., BISH, C. L., SALIHU, H. M. & ENGLAND, L. J. 2013. Racial/ethnic differences in the prevalence of gestational diabetes mellitus and maternal overweight and obesity, by nativity, Florida, 2004-2007. *Obesity*, 21, 20025.
- KIM, Y. M., CHAIWORAPONGSA, T., GOMEZ, R., BUJOLD, E., YOON, B. H., ROTMENSCH, S., THALER, H. T. & ROMERO, R. 2002. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in the placental bed in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*, 187, 1137-42.
- KINNUNEN, T. I., LUOTO, R., HELIN, A. & HEMMINKI, E. 2016. Supplemental iron intake and the risk of glucose intolerance in pregnancy: re-analysis of a randomised controlled trial in Finland. *Matern Child Nutr*, 12, 74-84.
- KLANN, E., ROBERSON, E. D., KNAPP, L. T. & SWEATT, J. D. 1998. A role for superoxide in protein kinase C activation and induction of long-term potentiation. *J Biol Chem*, 273, 4516-22.
- KNOPP, R. H., MONTES, A., CHILDS, M., LI, J. R. & MABUCHI, H. 1981. Metabolic adjustments in normal and diabetic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*, 24, 21-49.
- KOPITO, R. R. 1997. ER quality control: the cytoplasmic connection. *Cell*, 88, 427-30.
- KOZUTSUMI, Y., SEGAL, M., NORMINGTON, K., GETHING, M. J. & SAMBROOK, J. 1988. The presence of malformed proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins. *Nature*, 332, 462-4.
- KUMAR, S. D., DHEEN, S. T. & TAY, S. S. 2007. Maternal diabetes induces congenital heart defects in mice by altering the expression of genes involved in cardiovascular development. *Cardiovasc Diabetol*, 6, 34.
- KUMAR, S. D., VIJAYA, M., SAMY, R. P., DHEEN, S. T., REN, M., WATT, F., KANG, Y. J., BAY, B. H. & TAY, S. S. 2012. Zinc supplementation prevents cardiomyocyte apoptosis and congenital heart defects in embryos of diabetic mice. *Free Radic Biol Med*, 53, 1595-606.
- KWEIDER, N., HUPPERTZ, B., WRUCK, C. J., BECKMANN, R., RATH, W., PUFE, T. & KADYROV, M. 2012. A role for Nrf2 in redox signalling of the invasive extravillous trophoblast in severe early onset IUGR associated with preeclampsia. *PLoS One*, 7, 9.
- KYOSSEVA, S. V. 2004. Mitogen-activated protein kinase signaling. *Int Rev Neurobiol*, 59, 201-20.
- KYRIAKIS, J. M. & AVRUCH, J. 2001. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol Rev*, 81, 807-69.
- LADIGES, W. C., KNOBLAUGH, S. E., MORTON, J. F., KORTH, M. J., SOPHER, B. L., BASKIN, C. R., MACAULEY, A., GOODMAN, A. G., LEBOEUF, R. C. & KATZE, M. G. 2005. Pancreatic beta-cell failure and diabetes in mice with a deletion mutation of the endoplasmic reticulum molecular chaperone gene P58IPK. *Diabetes*, 54, 1074-81.
- LAM, E. W., FRANCIS, R. E. & PETKOVIC, M. 2006. FOXO transcription factors: key regulators of cell fate. *Biochem Soc Trans*, 34, 722-6.
- LAMB, R. E. & GOLDSTEIN, B. J. 2008. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *International Journal of Clinical Practice*, 62, 1087-1095.
- LAO, T. T., CHAN, P. L. & TAM, K. F. 2001. Gestational diabetes mellitus in the last trimester - a feature of maternal iron excess? *Diabet Med*, 18, 218-23.
- LAPPAS, M. 2014. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. *Metabolism*, 63, 250-62.
- LAPPAS, M., ANDRIKOPOULOS, S. & PERMEZEL, M. 2012. Hypoxanthine-xanthine oxidase down-regulates GLUT1 transcription via SIRT1 resulting in decreased glucose uptake in human placenta. *J Endocrinol*, 213, 49-57.
- LAPPAS, M., HIDEN, U., DESOYE, G., FROELICH, J., HAUGUEL-DE MOUZON, S. & JAWERBAUM, A. 2011. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*, 15, 3061-100.

- LAPPAS, M., MITTON, A. & PERMEZEL, M. 2010. In response to oxidative stress, the expression of inflammatory cytokines and antioxidant enzymes are impaired in placenta, but not adipose tissue, of women with gestational diabetes. *J Endocrinol*, 204, 75-84.
- LAPPAS, M., PERMEZEL, M. & RICE, G. E. 2004. Release of proinflammatory cytokines and 8-isoprostane from placenta, adipose tissue, and skeletal muscle from normal pregnant women and women with gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 5627-33.
- LATZ, E., XIAO, T. S. & STUTZ, A. *Activation and regulation of the inflammasomes*, Nat Rev Immunol. 2013 Jun;13(6):10.1038/nri3452. doi:10.1038/nri3452.
- LAWRENCE, T. 2009. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1, a001651.
- LAZO-DE-LA-VEGA-MONROY, M.-L. & FERNÁNDEZ-MEJÍA, C. 2013. *Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role Of Vitamins with Antioxidant Actions*.
- LEAL, C. A., SCHETINGER, M. R., LEAL, D. B., MORSCH, V. M., DA SILVA, A. S., REZER, J. F., DE BAIRROS, A. V. & JAQUES, J. A. 2011. Oxidative stress and antioxidant defenses in pregnant women. *Redox Rep*, 16, 230-6.
- LEE, H., KIM, H. J., LEE, Y. J., LEE, M. Y., CHOI, H. & KIM, J. W. 2012. Kruppel-like factor KLF8 plays a critical role in adipocyte differentiation. *PLoS One*, 7, 21.
- LEE, H. M., KIM, J. J., KIM, H. J., SHONG, M., KU, B. J. & JO, E. K. 2013. Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 62, 194-204.
- LEE, Q. P. & JUCHAU, M. R. 1994. Dymorphogenic effects of nitric oxide (NO) and NO-synthase inhibition: studies with intra-amniotic injections of sodium nitroprusside and NG-monomethyl-L-arginine. *Teratology*, 49, 452-64.
- LESAGE, J., HAHN, D., LEONHARDT, M., BLONDEAU, B., BREANT, B. & DUPOUY, J. P. 2002. Maternal undernutrition during late gestation-induced intrauterine growth restriction in the rat is associated with impaired placental GLUT3 expression, but does not correlate with endogenous corticosterone levels. *J Endocrinol*, 174, 37-43.
- LESSER, K. B. & CARPENTER, M. W. 1994. Metabolic changes associated with normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Semin Perinatol*, 18, 399-406.
- LI, G., SCULL, C., OZCAN, L. & TABAS, I. 2010. NADPH oxidase links endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and PKR activation to induce apoptosis. *J Cell Biol*, 191, 1113-25.
- LI, J. W., LEE, H. M., WANG, Y., TONG, A. H., YIP, K. Y., TSUI, S. K., LOK, S., OZAKI, R., LUK, A. O., KONG, A. P., SO, W. Y., MA, R. C., CHAN, J. C. & CHAN, T. F. 2016. Interactome-transcriptome analysis discovers signatures complementary to GWAS Loci of Type 2 Diabetes. *Sci Rep*, 6.
- LI, R., CHASE, M., JUNG, S. K., SMITH, P. J. & LOEKEN, M. R. 2005. Hypoxic stress in diabetic pregnancy contributes to impaired embryo gene expression and defective development by inducing oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 289, 31.
- LI, X., WENG, H., REECE, E. A. & YANG, P. 2011. SOD1 overexpression in vivo blocks hyperglycemia-induced specific PKC isoforms: substrate activation and consequent lipid peroxidation in diabetic embryopathy. *Am J Obstet Gynecol*, 205, 5.
- LI, X., WENG, H., XU, C., REECE, E. A. & YANG, P. 2012. Oxidative stress-induced JNK1/2 activation triggers proapoptotic signaling and apoptosis that leads to diabetic embryopathy. *Diabetes*, 61, 2084-92.
- LI, X., XU, C. & YANG, P. 2013. c-Jun NH2-terminal kinase 1/2 and endoplasmic reticulum stress as interdependent and reciprocal causation in diabetic embryopathy. *Diabetes*, 62, 599-608.
- LIHN, A. S., RICHELSEN, B., PEDERSEN, S. B., HAUGAARD, S. B., RATHJE, G. S., MADSBAD, S. & ANDERSEN, O. 2003. Increased expression of TNF-alpha, IL-6, and IL-8 in HALS: implications for reduced adiponectin expression and plasma levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285, 22.
- LIN, Y., HAN, X. F., FANG, Z. F., CHE, L. Q., NELSON, J., YAN, T. H. & WU, D. 2011. Beneficial effects of dietary fibre supplementation of a high-fat diet on fetal development in rats. *Br J Nutr*, 106, 510-8.
- LISZTWAN, J., IMBERT, G., WIRBELAUER, C., GSTAIGER, M. & KREK, W. 1999. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein is a component of an E3 ubiquitin-protein ligase activity. *Genes Dev*, 13, 1822-33.
- LIU, J., CHAKRABORTY, C., GRAHAM, C. H., BARBIN, Y. P., DIXON, S. J. & LALA, P. K. 2003. Noncatalytic domain of uPA stimulates human extravillous trophoblast migration by using phospholipase C, phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen-activated protein kinase. *Exp Cell Res*, 286, 138-51.

- LOEKEN, M. R. 2005. Current perspectives on the causes of neural tube defects resulting from diabetic pregnancy. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 15, 77-87.
- LOEKEN, M. R. 2006. Advances in understanding the molecular causes of diabetes-induced birth defects. *J Soc Gynecol Investig*, 13, 2-10.
- LOPEZ-ESCOBAR, B., CANO, D. A., ROJAS, A., DE FELIPE, B., PALMA, F., SANCHEZ-ALCAZAR, J. A., HENDERSON, D. & YBOT-GONZALEZ, P. 2015. The effect of maternal diabetes on the Wnt-PCP pathway during embryogenesis as reflected in the developing mouse eye. *Dis Model Mech*, 8, 157-68.
- LORENZONI, F., GIAMPIETRI, M., FERRI, G., LUNARDI, S., MADRIGALI, V., BATTINI, L., BOLDRINI, A. & GHIRRI, P. 2013. Lutein administration to pregnant women with gestational diabetes mellitus is associated to a decrease of oxidative stress in newborns. *Gynecol Endocrinol*, 29, 901-3.
- LUNGHI, L., FERRETTI, M. E., MEDICI, S., BIONDI, C. & VESCE, F. 2007. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endocrinol*, 5, 6.
- LUO, J.-L., KAMATA, H. & KARIN, M. 2005. IKK/NF- κ B signaling: balancing life and death – a new approach to cancer therapy. *Journal of Clinical Investigation*, 115, 2625-2632.
- LYCOUDI, A., MAVRELI, D., MAVROU, A., PAPANTONIOU, N. & KOLIALEXI, A. 2015. miRNAs in pregnancy-related complications. *Expert Rev Mol Diagn*, 15, 999-1010.
- MAEDA, H., OKAMOTO, T. & AKAIKE, T. 1998. Human matrix metalloprotease activation by insults of bacterial infection involving proteases and free radicals. *Biol Chem*, 379, 193-200.
- MALHOTRA, J. D. & KAUFMAN, R. J. 2007. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal*, 9, 2277-93.
- MARKWALD, R., EISENBERG, C., EISENBERG, L., TRUSK, T. & SUGI, Y. 1996. Epithelial-mesenchymal transformations in early avian heart development. *Acta Anat*, 156, 173-86.
- MARTIN, C. B., JR. 1965. Uterine Blood Flow and Placental Circulation. *Anesthesiology*, 26, 447-59.
- MASSON, N., WILLAM, C., MAXWELL, P. H., PUGH, C. W. & RATCLIFFE, P. J. 2001. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. *Embo J*, 20, 5197-206.
- MATES, J. M. & SANCHEZ-JIMENEZ, F. 1999. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci*, 15, D339-45.
- MCCARTHY, F. P., DELANY, A. C., KENNY, L. C. & WALSH, S. K. 2013. PPAR- γ – a possible drug target for complicated pregnancies. *British Journal of Pharmacology*, 168, 1074-1085.
- MCMILLEN, I. C. & ROBINSON, J. S. 2005. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 85, 571-633.
- MEADE, E. S., MA, Y. Y. & GULLER, S. 2007. Role of hypoxia-inducible transcription factors 1 α and 2 α in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression in a human trophoblast cell line. *Placenta*, 28, 1012-9.
- MELLER, M., QIU, C., VADACHKORIA, S., ABETEW, D. F., LUTHY, D. A. & WILLIAMS, M. A. 2006. Changes in placental adipocytokine gene expression associated with gestational diabetes mellitus. *Physiol Res*, 55, 501-12.
- MIEHLE, K., STEPAN, H. & FASSHAUER, M. 2012. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol*, 76, 2-11.
- MIGLIACCIO, E., GIORGIO, M., MELE, S., PELICCI, G., REBOLDI, P., PANDOLFI, P. P., LANFRANCONE, L. & PELICCI, P. G. 1999. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature*, 402, 309-13.
- MILCZAREK, R., KLIMEK, J. & ZELEWSKI, L. 2000. The effects of ascorbate and alpha-tocopherol on the NADPH-dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria. *Mol Cell Biochem*, 210, 65-73.
- MILNER, R. D. & HILL, D. J. 1984. Fetal growth control: the role of insulin and related peptides. *Clin Endocrinol*, 21, 415-33.
- MIMICA-DUKIĆ, N., SIMIN, N., SVIRČEV, E., ORČIĆ, D., BEARA, I., LESJAK, M. & BOŽIN, B. 2012. *The Effect of Plant Secondary Metabolites on Lipid Peroxidation and Eicosanoid Pathway*.
- MINK, P. J., SCRAFFORD, C. G., BARRAJ, L. M., HARNACK, L., HONG, C. P., NETTLETON, J. A. & JACOBS, D. R., JR. 2007. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 85, 895-909.

- MITANCHEZ, D. 2010. Foetal and neonatal complications in gestational diabetes: perinatal mortality, congenital malformations, macrosomia, shoulder dystocia, birth injuries, neonatal complications. *Diabetes Metab*, 36, 617-27.
- MOLE, D. R., PUGH, C. W., RATCLIFFE, P. J. & MAXWELL, P. H. 2002. Regulation of the HIF pathway: enzymatic hydroxylation of a conserved prolyl residue in hypoxia-inducible factor alpha subunits governs capture by the pVHL E3 ubiquitin ligase complex. *Adv Enzyme Regul*, 42, 333-47.
- MOLEY, K. H. 2001. Hyperglycemia and apoptosis: mechanisms for congenital malformations and pregnancy loss in diabetic women. *Trends Endocrinol Metab*, 12, 78-82.
- MONTAGUE, C. T., PRINS, J. B., SANDERS, L., ZHANG, J., SEWTER, C. P., DIGBY, J., BYRNE, C. D. & O'RAHILLY, S. 1998. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Diabetes*, 47, 1384-91.
- MOR, G., CARDENAS, I., ABRAHAMS, V. & GULLER, S. 2011. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci*.
- MORGAN, M. J., KIM, Y. S. & LIU, Z. G. 2008. TNFalpha and reactive oxygen species in necrotic cell death. *Cell Res*, 18, 343-9.
- MYATT, L. & CUI, X. 2004. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol*, 122, 369-82.
- NAVARRO, A., ALONSO, A., GARRIDO, P., GONZALEZ, C., GONZALEZ DEL REY, C., ORDONEZ, C. & TOLIVIA, J. 2010. Increase in placental apolipoprotein D as an adaptation to human gestational diabetes. *Placenta*, 31, 25-31.
- NAVIAUX, R. K. 2012. Oxidative shielding or oxidative stress? *J Pharmacol Exp Ther*, 342, 608-18.
- NEERHOF, M. G., SYNOWIEC, S., KHAN, S. & THAETE, L. G. 2011. Pathophysiology of chronic nitric oxide synthase inhibition-induced fetal growth restriction in the rat. *Hypertens Pregnancy*, 30, 28-36.
- NGUYEN, H. T., BHATTARAI, J. P., PARK, S. J., LEE, J. C., CHO, D. H. & HAN, S. K. 2015. Enhanced GABA action on the substantia gelatinosa neurons of the medullary dorsal horn in the offspring of streptozotocin-injected mice. *J Diabetes Complications*, 29, 629-36.
- NISTALA, R., HAYDEN, M. R., DEMARCO, V. G., HENRIKSEN, E. J., LACKLAND, D. T. & SOWERS, J. R. 2011. Prenatal Programming and Epigenetics in the Genesis of the Cardiorenal Syndrome. *Cardiorenal Med*, 1, 243-254.
- NOLAN, C. J. & PROIETTO, J. 1994. The fetoplacental glucose steal phenomenon is a major cause of maternal metabolic adaptation during late pregnancy in the rat. *Diabetologia*, 37, 976-84.
- NORTHRUP, H. & VOLCIK, K. A. 2000. Spina bifida and other neural tube defects. *Curr Probl Pediatr*, 30, 313-32.
- NORWITZ, E. R., SCHUST, D. J. & FISHER, S. J. 2001. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*, 345, 1400-8.
- OH, M. J., ZHANG, C., LEMASTER, E., ADAMOS, C., BERDYSHEV, E., BOGACHKOV, Y., KOHLER, E. E., BARUAH, J., FANG, Y., SCHRAUFNAGEL, D. E., WARY, K. K. & LEVITAN, I. 2016. Oxidized LDL signals through Rho-GTPase to induce endothelial cell stiffening and promote capillary formation. *J Lipid Res*, 57, 791-808.
- OHH, M., PARK, C. W., IVAN, M., HOFFMAN, M. A., KIM, T. Y., HUANG, L. E., PAVLETICH, N., CHAU, V. & KAEHLIN, W. G. 2000. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat Cell Biol*, 2, 423-7.
- OIKAWA, M., ABE, M., KUROSAWA, H., HIDA, W., SHIRATO, K. & SATO, Y. 2001a. Hypoxia induces transcription factor ETS-1 via the activity of hypoxia-inducible factor-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 289, 39-43.
- OIKAWA, M., ABE, M., KUROSAWA, H., HIDA, W., SHIRATO, K. & SATO, Y. 2001b. Hypoxia Induces Transcription Factor ETS-1 via the Activity of Hypoxia-Inducible Factor-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289, 39-43.
- OLIVER, E., MCGILLICUDDY, F., PHILLIPS, C., TOOMEY, S. & ROCHE, H. M. 2010. The role of inflammation and macrophage accumulation in the development of obesity-induced type 2 diabetes mellitus and the possible therapeutic effects of long-chain n-3 PUFA. *Proc Nutr Soc*, 69, 232-43.
- ORNOY, A., ZAKEN, V. & KOHEN, R. 1999. Role of reactive oxygen species (ROS) in the diabetes-induced anomalies in rat embryos in vitro: reduction in antioxidant enzymes and low-molecular-weight antioxidants (LMWA) may be the causative factor for increased anomalies. *Teratology*, 60, 376-86.
- ORTEGA-SENOVILLA, H., SCHAEFER-GRAF, U., MEITZNER, K., ABOU-DAKN, M., GRAF, K., KINTSCHER, U. & HERRERA, E. 2011. Gestational diabetes mellitus causes changes in the concentrations of adipocyte fatty acid-binding protein and other adipocytokines in cord blood. *Diabetes Care*, 34, 2061-6.
- OSBORN, O. & OLEFSKY, J. M. 2012. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med*, 18, 363-74.

- OYADOMARI, S., ARAKI, E. & MORI, M. 2002. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in pancreatic beta-cells. *Apoptosis*, 7, 335-45.
- OYADOMARI, S. & MORI, M. 2004. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*, 11, 381-9.
- OZAWA, H., NISHIDA, A., MITO, T. & TAKASHIMA, S. 1994. Development of ferritin-containing cells in the pons and cerebellum of the human brain. *Brain Dev*, 16, 92-5.
- OZCAN, U., CAO, Q., YILMAZ, E., LEE, A. H., IWAKOSHI, N. N., OZDELEN, E., TUNCMAN, G., GORGUN, C., GLIMCHER, L. H. & HOTAMISLIGIL, G. S. 2004. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306, 457-61.
- PACINI, S., PELLEGRINI, M., MIGLIACCIO, E., PATRUSSI, L., ULIVIERI, C., VENTURA, A., CARRARO, F., NALDINI, A., LANFRANCONE, L., PELICCI, P. & BALDARI, C. T. 2004. p66SHC promotes apoptosis and antagonizes mitogenic signaling in T cells. *Mol Cell Biol*, 24, 1747-57.
- PAGES, G. 2007. Sp3-mediated VEGF regulation is dependent on phosphorylation by extra-cellular signals regulated kinases (Erk). *J Cell Physiol*, 213, 454-63.
- PANENI, F., BECKMAN, J. A., CREAGER, M. A. & COSENTINO, F. 2013a. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*, 34, 2436-43.
- PANENI, F., BECKMAN, J. A., CREAGER, M. A. & COSENTINO, F. 2013b. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *European Heart Journal*, 34, 2436-2443.
- PARIDAENS, A., LAUKENS, D., VANDEWYNCKEL, Y. P., COULON, S., VAN VLIERBERGHE, H., GEERTS, A. & COLLE, I. 2014. Endoplasmic reticulum stress and angiogenesis: is there an interaction between them? *Liver Int*, 34, 27.
- PARK, J. H., STOFFERS, D. A., NICHOLLS, R. D. & SIMMONS, R. A. 2008. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest*, 118, 2316-24.
- PAVLINKOVA, G., SALBAUM, J. M. & KAPPEN, C. 2009. Maternal diabetes alters transcriptional programs in the developing embryo. *BMC Genomics*, 10, 1471-2164.
- PELLEGRINI, M., PACINI, S. & BALDARI, C. T. 2005. p66SHC: the apoptotic side of Shc proteins. *Apoptosis*, 10, 13-8.
- PERRONE, S., SANTACROCE, A., PICARDI, A. & BUONOCORE, G. 2016a. Fetal programming and early identification of newborns at high risk of free radical-mediated diseases. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 5, 172-181.
- PERRONE, S., SANTACROCE, A., PICARDI, A. & BUONOCORE, G. 2016b. Fetal programming and early identification of newborns at high risk of free radical-mediated diseases. *World J Clin Pediatr*, 5, 172-81.
- PERSON, A. D., KLEWER, S. E. & RUNYAN, R. B. 2005. Cell biology of cardiac cushion development. *Int Rev Cytol*, 243, 287-335.
- PERSSON, B. 2001. Prevention of fetal malformation with antioxidants in diabetic pregnancy. *Pediatr Res*, 49, 742-3.
- PEUNOVA, N. & ENIKOLOPOV, G. 1995. Nitric oxide triggers a switch to growth arrest during differentiation of neuronal cells. *Nature*, 375, 68-73.
- PINTER, E., REECE, E. A., LERANTH, C. Z., GARCIA-SEGURA, M., HOBBS, J. C., MAHONEY, M. J. & NAFTOLIN, F. 1986. Arachidonic acid prevents hyperglycemia-associated yolk sac damage and embryopathy. *Am J Obstet Gynecol*, 155, 691-702.
- PLACHTA, N., TRAISTER, A. & WEIL, M. 2003. Nitric oxide is involved in establishing the balance between cell cycle progression and cell death in the developing neural tube. *Exp Cell Res*, 288, 354-62.
- PLAGEMANN, A., HARDER, T., JANERT, U., RAKE, A., RITTEL, F., ROHDE, W. & DORNER, G. 1999. Malformations of hypothalamic nuclei in hyperinsulinemic offspring of rats with gestational diabetes. *Dev Neurosci*, 21, 58-67.
- PLATT, D. H., BARTOLI, M., EL-REMESSY, A. B., AL-SHABRAWAY, M., LEMTALSI, T., FULTON, D. & CALDWELL, R. B. 2005. Peroxynitrite increases VEGF expression in vascular endothelial cells via STAT3. *Free Radic Biol Med*, 39, 1353-61.
- POORNIMA, I. G., PARIKH, P. & SHANNON, R. P. 2006. Diabetic cardiomyopathy: the search for a unifying hypothesis. *Circ Res*, 98, 596-605.
- POSTON, L. 2010. Developmental programming and diabetes - The human experience and insight from animal models. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 24, 541-52.

- PUSTOVRH, M. C., JAWERBAUM, A., CAPOBIANCO, E., WHITE, V., MARTINEZ, N., LOPEZ-COSTA, J. J. & GONZALEZ, E. 2005. Oxidative stress promotes the increase of matrix metalloproteinases-2 and -9 activities in the fetoplacental unit of diabetic rats. *Free Radic Res*, 39, 1285-93.
- QIU, C., ZHANG, C., GELAYE, B., ENQUOBAHRIE, D. A., FREDERICK, I. O. & WILLIAMS, M. A. 2011. Gestational diabetes mellitus in relation to maternal dietary heme iron and nonheme iron intake. *Diabetes Care*, 34, 1564-9.
- RAJAKUMAR, A. & CONRAD, K. P. 2000. Expression, ontogeny, and regulation of hypoxia-inducible transcription factors in the human placenta. *Biol Reprod*, 63, 559-69.
- RAJAKUMAR, A., DOTY, K., DAFTARY, A., HARGER, G. & CONRAD, K. P. 2003. Impaired oxygen-dependent reduction of HIF-1 α and -2 α proteins in pre-eclamptic placentae. *Placenta*, 24, 199-208.
- RAMIREZ, K., CHANDLER, KATHERINE J., SPAULDING, C., ZANDI, S., SIGVARDSSON, M., GRAVES, BARBARA J. & KEE, BARBARA L. Gene Deregulation and Chronic Activation in Natural Killer Cells Deficient in the Transcription Factor ETS1. *Immunity*, 36, 921-932.
- REECE, E. A., MA, X. D., WU, Y. K. & DHANASEKARAN, D. 2002. Aberrant patterns of cellular communication in diabetes-induced embryopathy. I. Membrane signalling. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 11, 249-53.
- REECE, E. A., MA, X. D., ZHAO, Z., WU, Y. K. & DHANASEKARAN, D. 2005. Aberrant patterns of cellular communication in diabetes-induced embryopathy in rats: II, apoptotic pathways. *Am J Obstet Gynecol*, 192, 967-72.
- REECE, E. A., WU, Y. K., WIZNITZER, A., HOMKO, C., YAO, J., BORENSTEIN, M. & SLOSKEY, G. 1996. Dietary polyunsaturated fatty acid prevents malformations in offspring of diabetic rats. *Am J Obstet Gynecol*, 175, 818-23.
- REES, S., HARDING, R. & WALKER, D. 2008. An adverse intrauterine environment: implications for injury and altered development of the brain. *Int J Dev Neurosci*, 26, 3-11.
- REID, M. V., MURRAY, K. A., MARSH, E. D., GOLDEN, J. A., SIMMONS, R. A. & GRINSPAN, J. B. 2012. Delayed myelination in an intrauterine growth retardation model is mediated by oxidative stress upregulating bone morphogenetic protein 4. *J Neuropathol Exp Neurol*, 71, 640-53.
- REYNOLDS, L. P. & REDMER, D. A. 1995. Utero-placental vascular development and placental function. *J Anim Sci*, 73, 1839-51.
- RICHARD, D. E., BERRA, E. & POUYSSEGUR, J. 2000. Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1 α in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 275, 26765-71.
- RISSO, A., MERCURI, F., QUAGLIARO, L., DAMANTE, G. & CERIELLO, A. 2001. Intermittent high glucose enhances apoptosis in human umbilical vein endothelial cells in culture. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281, E924-30.
- ROCHA, S. 2007. Gene regulation under low oxygen: holding your breath for transcription. *Trends Biochem Sci*, 32, 389-97.
- RODESCH, F., SIMON, P., DONNER, C. & JAUNIAUX, E. 1992. Oxygen measurements in endometrial and trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet Gynecol*, 80, 283-5.
- RODRIGUEZ, R. & REDMAN, R. 2005. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 3175-3176.
- ROSE, B. I., GRAFF, S., SPENCER, R., HENSLEIGH, P. & FAINSTAT, T. 1988. Major congenital anomalies in infants and glycosylated hemoglobin levels in insulin-requiring diabetic mothers. *J Perinatol*, 8, 309-11.
- RUBIN, A. & MURPHY, D. P. 1958. Studies in human reproduction. III. The frequency of congenital malformations in the offspring of nondiabetic and diabetic individuals. *J Pediatr*, 53, 579-85.
- RUCHAT, S. M., HOUDE, A. A., VOISIN, G., ST-PIERRE, J., PERRON, P., BAILLARGEON, J. P., GAUDET, D., HIVERT, M. F., BRISSON, D. & BOUCHARD, L. 2013. Gestational diabetes mellitus epigenetically affects genes predominantly involved in metabolic diseases. *Epigenetics*, 8, 935-43.
- RYU, S., KOHEN, R., SAMUNI, A. & ORNOY, A. 2007. Nitroxide radicals protect cultured rat embryos and yolk sacs from diabetic-induced damage. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 79, 604-11.
- SABEN, J., LINDSEY, F., ZHONG, Y., THAKALI, K., BADGER, T. M., ANDRES, A., GOMEZ-ACEVEDO, H. & SHANKAR, K. 2014. Maternal obesity is associated with a lipotoxic placental environment. *Placenta*, 35, 171-7.
- SADLER, T. W. 2005. Embryology of neural tube development. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 15, 2-8.
- SAFRAN, M. & KAELIN, W. G., JR. 2003. HIF hydroxylation and the mammalian oxygen-sensing pathway. *J Clin Invest*, 111, 779-83.

- SAITOH, M., NISHITOH, H., FUJII, M., TAKEDA, K., TOBIUME, K., SAWADA, Y., KAWABATA, M., MIYAZONO, K. & ICHIJO, H. 1998. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. *Embo J*, 17, 2596-606.
- SAKAMAKI, H., AKAZAWA, S., ISHIBASHI, M., IZUMINO, K., TAKINO, H., YAMASAKI, H., YAMAGUCHI, Y., GOTO, S., URATA, Y., KONDO, T. & NAGATAKI, S. 1999. Significance of glutathione-dependent antioxidant system in diabetes-induced embryonic malformations. *Diabetes*, 48, 1138-44.
- SALCEDA, S. & CARO, J. 1997. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem*, 272, 22642-7.
- SALOMON, C., SCHOLZ-ROMERO, K., SARKER, S., SWEENEY, E., KOBAYASHI, M., CORREA, P., LONGO, S., DUNCOMBE, G., MITCHELL, M. D., RICE, G. E. & ILLANES, S. E. 2016. Gestational Diabetes Mellitus Is Associated With Changes in the Concentration and Bioactivity of Placenta-Derived Exosomes in Maternal Circulation Across Gestation. *Diabetes*, 65, 598-609.
- SAMUEL, S. M., THIRUNAVUKKARASU, M., PENUMATHSA, S. V., KONERU, S., ZHAN, L., MAULIK, G., SUDHAKARAN, P. R. & MAULIK, N. 2010. Thioredoxin-1 gene therapy enhances angiogenic signaling and reduces ventricular remodeling in infarcted myocardium of diabetic rats. *Circulation*, 121, 1244-55.
- SAMUELSSON, A. M., MATTHEWS, P. A., ARGENTON, M., CHRISTIE, M. R., MCCONNELL, J. M., JANSEN, E. H., PIERSMA, A. H., OZANNE, S. E., TWINN, D. F., REMACLE, C., ROWLERSON, A., POSTON, L. & TAYLOR, P. D. 2008. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*, 51, 383-92.
- SAN MARTIN, R. & SOBREVIA, L. 2006. Gestational diabetes and the adenosine/L-arginine/nitric oxide (ALANO) pathway in human umbilical vein endothelium. *Placenta*, 27, 1-10.
- SANFORD, L. P., ORMSBY, I., GITTENBERGER-DE GROOT, A. C., SARIOLA, H., FRIEDMAN, R., BOIVIN, G. P., CARDELL, E. L. & DOETSCHMAN, T. 1997. TGFbeta2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGFbeta knockout phenotypes. *Development*, 124, 2659-70.
- SANTRA, D., SAWHNEY, H., AGGARWAL, N., MAJUMDAR, S. & VASISHTA, K. 2003. Lipid peroxidation and vitamin E status in gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol Res*, 29, 300-4.
- SCHNEIDER, D., HERNANDEZ, C., FARIAS, M., UAUY, R., KRAUSE, B. J. & CASANELLO, P. 2015. Oxidative stress as common trait of endothelial dysfunction in chorionic arteries from fetuses with IUGR and LGA. *Placenta*, 36, 552-8.
- SCHOLL, T. O. 2005. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *Am J Clin Nutr*, 81, 1218S-1222S.
- SCHONFELDER, G., JOHN, M., HOPP, H., FUHR, N., VAN DER GIET, M. & PAUL, M. 1996. Expression of inducible nitric oxide synthase in placenta of women with gestational diabetes. *Faseb J*, 10, 777-84.
- SCHUBRING, C., KIESS, W., ENGLARO, P., RASCHER, W., DOTSCH, J., HANITSCH, S., ATTANASIO, A. & BLUM, W. F. 1997. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab*, 82, 1480-3.
- SEBIRE, N. J., JOLLY, M., HARRIS, J. P., WADSWORTH, J., JOFFE, M., BEARD, R. W., REGAN, L. & ROBINSON, S. 2001. Maternal obesity and pregnancy outcome: a study of 287,213 pregnancies in London. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25, 1175-82.
- SEMENZA, G. L. 1985. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol*, 88, 1474-80.
- SEN, C. K. 2000. Cellular thiols and redox-regulated signal transduction. *Curr Top Cell Regul*, 36, 1-30.
- SEVER, L., LYNBERG, M. C. & EDMONDS, L. D. 1993. The impact of congenital malformations on public health. *Teratology*, 48, 547-9.
- SFERRUZZI-PERRI, A. N. & CAMM, E. J. 2016. The Programming Power of the Placenta. *Front Physiol*, 7.
- SFERRUZZI-PERRI, A. N., VAUGHAN, O. R., HARO, M., COOPER, W. N., MUSIAL, B., CHARALAMBOUS, M., PESTANA, D., AYYAR, S., FERGUSON-SMITH, A. C., BURTON, G. J., CONSTANCIA, M. & FOWDEN, A. L. 2013. An obesogenic diet during mouse pregnancy modifies maternal nutrient partitioning and the fetal growth trajectory. *Faseb J*, 27, 3928-37.
- SHONO, T., ONO, M., IZUMI, H., JIMI, S. I., MATSUSHIMA, K., OKAMOTO, T., KOHNO, K. & KUWANO, M. 1996. Involvement of the transcription factor NF-kappaB in tubular morphogenesis of human microvascular endothelial cells by oxidative stress. *Mol Cell Biol*, 16, 4231-9.

- SIBLEY, C. P., BROWNBILL, P., DILWORTH, M. & GLAZIER, J. D. 2010. Review: Adaptation in placental nutrient supply to meet fetal growth demand: implications for programming. *Placenta*, 31, 12.
- SIMPSON, J. L., ELIAS, S., MARTIN, A. O., PALMER, M. S., OGATA, E. S. & RADVANY, R. A. 1983. Diabetes in pregnancy, Northwestern University series (1977-1981). I. Prospective study of anomalies in offspring of mothers with diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*, 146, 263-70.
- SISINO, G., BOUCKENOOGHE, T., AURIENTIS, S., FONTAINE, P., STORME, L. & VAMBERGUE, A. 2013. Diabetes during pregnancy influences Hofbauer cells, a subtype of placental macrophages, to acquire a pro-inflammatory phenotype. *Biochim Biophys Acta*, 12, 19.
- SIVAN, E., HOMKO, C. J., WHITTAKER, P. G., REECE, E. A., CHEN, X. & BODEN, G. 1998. Free fatty acids and insulin resistance during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 2338-42.
- SMITH, G. C., CROSSLEY, J. A., AITKEN, D. A., PELL, J. P., CAMERON, A. D., CONNOR, J. M. & DOBBIE, R. 2004. First-trimester placentation and the risk of antepartum stillbirth. *Jama*, 292, 2249-54.
- SMOAK, I. W. 2004. Hyperglycemia-induced TGFbeta and fibronectin expression in embryonic mouse heart. *Dev Dyn*, 231, 179-89.
- SOBREVIA, L., CESARE, P., YUDILEVICH, D. L. & MANN, G. E. 1995. Diabetes-induced activation of system y+ and nitric oxide synthase in human endothelial cells: association with membrane hyperpolarization. *J Physiol*, 489, 183-92.
- SONG, F., JIA, W., YAO, Y., HU, Y., LEI, L., LIN, J., SUN, X. & LIU, L. 2007. Oxidative stress, antioxidant status and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed Type 2 diabetes. *Clin Sci*, 112, 599-606.
- SOUBASI, V., PETRIDOU, S., SARAFIDIS, K., TSANTALI, C., DIAMANTI, E., BUONOCORE, G. & DROSSOU-AGAKIDOU, V. 2010. Association of increased maternal ferritin levels with gestational diabetes and intra-uterine growth retardation. *Diabetes Metab*, 36, 58-63.
- SRINIVAS, V., ZHANG, L. P., ZHU, X. H. & CARO, J. 1999. Characterization of an oxygen/redox-dependent degradation domain of hypoxia-inducible factor alpha (HIF-alpha) proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 260, 557-61.
- SUGIMURA, Y., MURASE, T., OYAMA, K., UCHIDA, A., SATO, N., HAYASAKA, S., KANO, Y., TAKAGISHI, Y., HAYASHI, Y., OISO, Y. & MURATA, Y. 2009. Prevention of neural tube defects by loss of function of inducible nitric oxide synthase in fetuses of a mouse model of streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 52, 962-71.
- SUN, F., KAWASAKI, E., AKAZAWA, S., HISHIKAWA, Y., SUGAHARA, K., KAMIHIRA, S., KOJI, T. & EGUCHI, K. 2005. Apoptosis and its pathway in early post-implantation embryos of diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*, 67, 110-8.
- SUSSER, E. & ST CLAIR, D. 2013. Prenatal famine and adult mental illness: interpreting concordant and discordant results from the Dutch and Chinese Famines. *Soc Sci Med*, 97, 325-30.
- SZEGEZDI, E., LOGUE, S. E., GORMAN, A. M. & SAMALI, A. 2006. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*, 7, 880-5.
- TAIN, Y. L., HSIEH, C. S., LIN, I. C., CHEN, C. C., SHEEN, J. M. & HUANG, L. T. 2010. Effects of maternal L-citrulline supplementation on renal function and blood pressure in offspring exposed to maternal caloric restriction: the impact of nitric oxide pathway. *Nitric Oxide*, 23, 34-41.
- TAN, B. K., ADYA, R., CHEN, J., FARHATULLAH, S., HEUTLING, D., MITCHELL, D., LEHNERT, H. & RANDEVA, H. S. 2009. Metformin decreases angiogenesis via NF-kappaB and Erk1/2/Erk5 pathways by increasing the antiangiogenic thrombospondin-1. *Cardiovasc Res*, 83, 566-74.
- TANIGAWA, K., KAWAGUCHI, M., TANAKA, O. & KATO, Y. 1991. Skeletal malformations in rat offspring. Long-term effect of maternal insulin-induced hypoglycemia during organogenesis. *Diabetes*, 40, 1115-21.
- TANIGUCHI, C. M., EMANUELLI, B. & KAHN, C. R. 2006. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 7, 85-96.
- TANIMOTO, K., MAKINO, Y., PEREIRA, T. & POELLINGER, L. 2000. Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1 alpha by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *Embo J*, 19, 4298-309.
- TARTOUR, E., PERE, H., MAILLIERE, B., TERME, M., MERILLON, N., TAIEB, J., SANDOVAL, F., QUINTIN-COLONNA, F., LACERDA, K., KARADIMOU, A., BADOUAL, C., TEDGUI, A., FRIDMAN, W. H. & OUDARD, S. 2011. Angiogenesis and immunity: a bidirectional link potentially relevant for the monitoring of antiangiogenic therapy and the development of novel therapeutic combination with immunotherapy. *Cancer Metastasis Rev*, 30, 83-95.

- TERUYAMA, K., ABE, M., NAKANO, T., IWASAKA-YAGI, C., TAKAHASHI, S., YAMADA, S. & SATO, Y. 2001. Role of transcription factor Ets-1 in the apoptosis of human vascular endothelial cells. *J Cell Physiol*, 188, 243-52.
- THALER, C. D. & EPEL, D. 2003. Nitric oxide in oocyte maturation, ovulation, fertilization, cleavage and implantation: a little dab'll do ya. *Curr Pharm Des*, 9, 399-409.
- TISSOT VAN PATOT, M. C., MURRAY, A. J., BECKEY, V., CINDROVA-DAVIES, T., JOHNS, J., ZWERDLINGER, L., JAUNIAUX, E., BURTON, G. J. & SERKOVA, N. J. 2010. Human placental metabolic adaptation to chronic hypoxia, high altitude: hypoxic preconditioning. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 298, 28.
- TOPEL, I., STANARIUS, A. & WOLF, G. 1998. Distribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase in the developing rat brain: an immunohistochemical study. *Brain Res*, 788, 43-8.
- TORRES, M. & FORMAN, H. J. 2003. Redox signaling and the MAP kinase pathways. *Biofactors*, 17, 287-96.
- TRAN, H., BRUNET, A., GRENIER, J. M., DATTA, S. R., FORNACE, A. J., JR., DISTEFANO, P. S., CHIANG, L. W. & GREENBERG, M. E. 2002. DNA repair pathway stimulated by the forkhead transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein. *Science*, 296, 530-4.
- TROCINO, R. A., AKAZAWA, S., ISHIBASHI, M., MATSUMOTO, K., MATSUO, H., YAMAMOTO, H., GOTO, S., URATA, Y., KONDO, T. & NAGATAKI, S. 1995. Significance of glutathione depletion and oxidative stress in early embryogenesis in glucose-induced rat embryo culture. *Diabetes*, 44, 992-8.
- TSADOK, M. A., FRIEDLANDER, Y., PALTIEL, O., MANOR, O., MEINER, V., HOCHNER, H., SAGY, Y., SHARON, N., YAZDGERDI, S., SISCOVICK, D. & ELCHALAL, U. 2011. Obesity and blood pressure in 17-year-old offspring of mothers with gestational diabetes: insights from the Jerusalem Perinatal Study. *Exp Diabetes Res*, 906154, 24.
- UEDA, S., MASUTANI, H., NAKAMURA, H., TANAKA, T., UENO, M. & YODOI, J. 2002. Redox control of cell death. *Antioxid Redox Signal*, 4, 405-14.
- UMEKAWA, T., SUGIYAMA, T., KIHIRA, T., MURABAYASHI, N., ZHANG, L., NAGAO, K., KAMIMOTO, Y., MA, N., YODOI, J. & SAGAWA, N. 2008. Overexpression of thioredoxin-1 reduces oxidative stress in the placenta of transgenic mice and promotes fetal growth via glucose metabolism. *Endocrinology*, 149, 3980-8.
- VALDES, G., KAUFMANN, P., CORTHORN, J., ERICES, R., BROSNIHAN, K. B. & JOYNER-GRANTHAM, J. 2009. Vasodilator factors in the systemic and local adaptations to pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*, 7, 1477-7827.
- VAUGHAN, O. R., SFERRUZZI-PERRI, A. N., COAN, P. M. & FOWDEN, A. L. 2013. Adaptations in placental phenotype depend on route and timing of maternal dexamethasone administration in mice. *Biol Reprod*, 89.
- VERMA, G., BHATIA, H. & DATTA, M. 2013. JNK1/2 regulates ER-mitochondrial Ca²⁺ cross-talk during IL-1beta-mediated cell death in RINm5F and human primary beta-cells. *Mol Biol Cell*, 24, 2058-71.
- VIANA, M., ARUOMA, O. I., HERRERA, E. & BONET, B. 2000. Oxidative damage in pregnant diabetic rats and their embryos. *Free Radic Biol Med*, 29, 1115-21.
- VON MANDACH, U., LAUTH, D. & HUCH, R. 2003. Maternal and fetal nitric oxide production in normal and abnormal pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 13, 22-7.
- VRACHNIS, N., ANTONAKOPOULOS, N., ILIODROMITI, Z., DAFOPOULOS, K., SIRISTATIDIS, C., PAPPAS, K. I., DELIGEOROGLU, E. & VITORATOS, N. 2012a. Impact of maternal diabetes on epigenetic modifications leading to diseases in the offspring. *Exp Diabetes Res*, 538474, 22.
- VRACHNIS, N., BELITSOS, P., SIFAKIS, S., DAFOPOULOS, K., SIRISTATIDIS, C., PAPPAS, K. I. & ILIODROMITI, Z. 2012b. Role of adipokines and other inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus and previous gestational diabetes mellitus. *Int J Endocrinol*, 549748, 9.
- WADA, T. & PENNINGER, J. M. 2004. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. *Oncogene*, 23, 2838-49.
- WALSH, J. G., MURUVE, D. A. & POWER, C. 2014. Inflammasomes in the CNS. *Nat Rev Neurosci*, 15, 84-97.
- WAN, B., LANOUE, K. F., CHEUNG, J. Y. & SCADUTO, R. C., JR. 1989. Regulation of citric acid cycle by calcium. *J Biol Chem*, 264, 13430-9.
- WANG, F., REECE, E. A. & YANG, P. 2015a. Advances in revealing the molecular targets downstream of oxidative stress-induced pro-apoptotic kinase signaling in diabetic embryopathy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 213, 125-134.
- WANG, F., REECE, E. A. & YANG, P. 2015b. Oxidative stress is responsible for maternal diabetes-impaired transforming growth factor beta signaling in the developing mouse heart. *American journal of obstetrics and gynecology*, 212, 650.e1-650.e11.

- WANG, F., WENG, H., QUON, M. J., YU, J., WANG, J. Y., HUEBER, A. O. & YANG, P. 2015c. Dominant negative FADD dissipates the proapoptotic signalosome of the unfolded protein response in diabetic embryopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 309, 29.
- WANG, F., WU, Y., GU, H., REECE, E. A., FANG, S., GABBAY-BENZIV, R., ABERDEEN, G. & YANG, P. 2015d. Ask1 gene deletion blocks maternal diabetes-induced endoplasmic reticulum stress in the developing embryo by disrupting the unfolded protein response signalosome. *Diabetes*, 64, 973-88.
- WANG, X., ZHENG, M., LIU, G., XIA, W., MCKEOWN-LONGO, P. J., HUNG, M.-C. & ZHAO, J. 2007. Krüppel-Like Factor 8 Induces Epithelial to Mesenchymal Transition and Epithelial Cell Invasion. *Cancer Research*, 67, 7184-7193.
- WANG, Y. & WALSH, S. W. 2001. Increased superoxide generation is associated with decreased superoxide dismutase activity and mRNA expression in placental trophoblast cells in pre-eclampsia. *Placenta*, 22, 206-12.
- WANI, A. A., JAFARNEJAD, S. M., ZHOU, J. & LI, G. 2011. Integrin-linked kinase regulates melanoma angiogenesis by activating NF-kappaB/interleukin-6 signaling pathway. *Oncogene*, 30, 2778-88.
- WATSON, A. L., PALMER, M. E., JAUNIAUX, E. & BURTON, G. J. 1997. Variations in expression of copper/zinc superoxide dismutase in villous trophoblast of the human placenta with gestational age. *Placenta*, 18, 295-9.
- WEBER, M., KUHN, C., SCHULZ, S., SCHIESSL, B., SCHLEUSSNER, E., JESCHKE, U., MARKERT, U. R. & FITZGERALD, J. S. *Expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and its activated forms is negatively altered in trophoblast and decidual stroma cells derived from preeclampsia placentae*, *Histopathology*. 2012 Mar;60(4):657-62. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04063.x. Epub 2011 Dec 27.
- WEGMANN, T. G., LIN, H., GUILBERT, L. & MOSMANN, T. R. 1993. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*, 14, 353-6.
- WENTZEL, P., EJDESJO, A. & ERIKSSON, U. J. 2003. Maternal diabetes in vivo and high glucose in vitro diminish GAPDH activity in rat embryos. *Diabetes*, 52, 1222-8.
- WENTZEL, P. & ERIKSSON, U. J. 2002. 8-Iso-PGF(2alpha) administration generates dysmorphogenesis and increased lipid peroxidation in rat embryos in vitro. *Teratology*, 66, 164-8.
- WENTZEL, P., GARESKOG, M. & ERIKSSON, U. J. 2008. Decreased cardiac glutathione peroxidase levels and enhanced mandibular apoptosis in malformed embryos of diabetic rats. *Diabetes*, 57, 3344-52.
- WENTZEL, P., WELSH, N. & ERIKSSON, U. J. 1999. Developmental damage, increased lipid peroxidation, diminished cyclooxygenase-2 gene expression, and lowered prostaglandin E2 levels in rat embryos exposed to a diabetic environment. *Diabetes*, 48, 813-20.
- WHITE, V., GONZALEZ, E., PUSTOVRH, C., CAPOBIANCO, E., MARTINEZ, N., DO PORTO, D. F., HIGA, R. & JAWERBAUM, A. 2007. Leptin in embryos from control and diabetic rats during organogenesis: a modulator of nitric oxide production and lipid homeostasis. *Diabetes Metab Res Rev*, 23, 580-8.
- WHITLEY, G. S. & CARTWRIGHT, J. E. 2010. Cellular and molecular regulation of spiral artery remodelling: lessons from the cardiovascular field. *Placenta*, 31, 465-74.
- WIDMANN, C., GIBSON, S., JARPE, M. B. & JOHNSON, G. L. 1999. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol Rev*, 79, 143-80.
- WILLIS, S. N. & ADAMS, J. M. 2005. Life in the balance: how BH3-only proteins induce apoptosis. *Curr Opin Cell Biol*, 17, 617-25.
- WILSON, L. A., GEMIN, A., ESPIRITU, R. & SINGH, G. 2005a. ets-1 is transcriptionally up-regulated by H2O2 via an antioxidant response element. *Faseb J*, 19, 2085-7.
- WILSON, L. A., GEMIN, A., ESPIRITU, R. & SINGH, G. 2005b. ets-1 is transcriptionally up-regulated by H2O2 via an antioxidant response element. *The FASEB journal*, 19, 2085-2087.
- WU, H. L., LI, Y. H., LIN, Y. H., WANG, R., LI, Y. B., TIE, L., SONG, Q. L., GUO, D. A., YU, H. M. & LI, X. J. 2009. Salvianolic acid B protects human endothelial cells from oxidative stress damage: a possible protective role of glucose-regulated protein 78 induction. *Cardiovasc Res*, 81, 148-58.
- WU, S. M., CHIEN, K. R. & MUMMERY, C. 2008. Origins and fates of cardiovascular progenitor cells. *Cell*, 132, 537-43.
- WU, Y., WANG, F., FU, M., WANG, C., QUON, M. J. & YANG, P. 2015. Cellular Stress, Excessive Apoptosis, and the Effect of Metformin in a Mouse Model of Type 2 Diabetic Embryopathy. *Diabetes*, 64, 2526-36.

- WULFF, C., WEIGAND, M., KREIENBERG, R. & FRASER, H. M. 2003. Angiogenesis during primate placentation in health and disease. *Reproduction*, 126, 569-77.
- XIE, K., WEI, D., SHI, Q. & HUANG, S. 2004. Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Rev*, 15, 297-324.
- XU, C., BAILLY-MAITRE, B. & REED, J. C. 2005. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest*, 115, 2656-64.
- YAMASHITA, T., YAMAMOTO, E., KATAOKA, K., NAKAMURA, T., MATSUBA, S., TOKUTOMI, Y., DONG, Y. F., ICHIJO, H., OGAWA, H. & KIM-MITSUYAMA, S. 2007. Apoptosis signal-regulating kinase-1 is involved in vascular endothelial and cardiac remodeling caused by nitric oxide deficiency. *Hypertension*, 50, 519-24.
- YAN, S., SORRELL, M. & BERMAN, Z. 2014. Functional interplay between ATM/ATR-mediated DNA damage response and DNA repair pathways in oxidative stress. *Cell Mol Life Sci*, 71, 3951-67.
- YANG, H., LIU, R., CUI, Z., CHEN, Z. Q., YAN, S., PEI, H. & LI, B. 2011. Functional characterization of 58-kilodalton inhibitor of protein kinase in protecting against diabetic retinopathy via the endoplasmic reticulum stress pathway. *Mol Vis*, 17, 78-84.
- YANG, P., LI, X., XU, C., ECKERT, R. L., REECE, E. A., ZIELKE, H. R. & WANG, F. 2013a. Maternal hyperglycemia activates an ASK1-FoxO3a-caspase 8 pathway that leads to embryonic neural tube defects. *Sci Signal*, 6, 2004020.
- YANG, P., SHEN, W. B., REECE, E. A. & CHEN, X. 2016. High glucose suppresses embryonic stem cell differentiation into neural lineage cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 472, 306-12.
- YANG, P., YANG, W. W., CHEN, X., KAUSHAL, S., DONG, D. & SHEN, W. B. 2017. Maternal diabetes and high glucose in vitro trigger Sca1+ cardiac progenitor cell apoptosis through FoxO3a. *Biochem Biophys Res Commun*, 482, 575-581.
- YANG, Y., DUAN, W., JIN, Z., YI, W., YAN, J., ZHANG, S., WANG, N., LIANG, Z., LI, Y., CHEN, W., YI, D. & YU, S. 2013b. JAK2/STAT3 activation by melatonin attenuates the mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Pineal Res*, 55, 275-86.
- YANG, Z., BAI, B., LUO, X., XIAO, X., LIU, X., DING, Y., ZHANG, H., GAO, L., LI, J. & QI, H. 2014. Downregulated Kruppel-like factor 8 is involved in decreased trophoblast invasion under hypoxia-reoxygenation conditions. *Reprod Sci*, 21, 72-81.
- YESSOUFOU, A. & MOUTAIROU, K. 2011. Maternal diabetes in pregnancy: early and long-term outcomes on the offspring and the concept of "metabolic memory". *Exp Diabetes Res*, 218598, 21.
- YOKOI, T., FUKUO, K., YASUDA, O., HOTTA, M., MIYAZAKI, J., TAKEMURA, Y., KAWAMOTO, H., ICHIJO, H. & OGIHARA, T. 2006. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates cellular senescence induced by high glucose in endothelial cells. *Diabetes*, 55, 1660-5.
- YOON, S. O., KIM, M. M., PARK, S. J., KIM, D., CHUNG, J. & CHUNG, A. S. 2002. Selenite suppresses hydrogen peroxide-induced cell apoptosis through inhibition of ASK1/JNK and activation of PI3-K/Akt pathways. *Faseb J*, 16, 111-3.
- YOUNG, S. L., EVANS, K. & EU, J. P. 2002. Nitric oxide modulates branching morphogenesis in fetal rat lung explants. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 282, L379-85.
- YU, Y., SINGH, U., SHI, W., KONNO, T., SOARES, M. J., GEYER, R. & FUNDELE, R. 2008. Influence of murine maternal diabetes on placental morphology, gene expression, and function. *Arch Physiol Biochem*, 114, 99-110.
- YUAN, B., OHYAMA, K., TAKEICHI, M. & TOYODA, H. 2009. Direct contribution of inducible nitric oxide synthase expression to apoptosis induction in primary smooth chorion trophoblast cells of human fetal membrane tissues. *Int J Biochem Cell Biol*, 41, 1062-9.
- YUAN, J., LIPINSKI, M. & DEGTAREV, A. 2003. Diversity in the mechanisms of neuronal cell death. *Neuron*, 40, 401-13.
- ZAKEN, V., KOHEN, R. & ORNOY, A. 2001. Vitamins C and E improve rat embryonic antioxidant defense mechanism in diabetic culture medium. *Teratology*, 64, 33-44.
- ZAMUDIO, S. 2003. The placenta at high altitude. *High Alt Med Biol*, 4, 171-91.
- ZEIN, S., RACHIDI, S. & HININGER-FAVIER, I. 2014. Is oxidative stress induced by iron status associated with gestational diabetes mellitus? *J Trace Elem Med Biol*, 28, 65-9.
- ZHANG, F., XIAO, X., LIU, D., DONG, X., SUN, J. & ZHANG, X. 2013a. Increased cord blood angiotensin II concentration is associated with decreased insulin sensitivity in the offspring of mothers with gestational diabetes mellitus. *J Perinatol*, 33, 9-14.

- ZHANG, H., ZHANG, J., UNGVARI, Z. & ZHANG, C. 2009a. Resveratrol improves endothelial function: role of TNF α and vascular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 29, 1164-71.
- ZHANG, K. & KAUFMAN, R. J. 2008. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*, 454, 455-62.
- ZHANG, X., WANG, Y., HAO, F., ZHOU, X., HAN, X., TANG, H. & JI, L. 2009b. Human serum metabonomic analysis reveals progression axes for glucose intolerance and insulin resistance statuses. *J Proteome Res*, 8, 5188-95.
- ZHANG, Y., SHI, H., SUN, G., LI, S., XU, X., YE, C., LI, X. & WANG, S. 2011. High glucose induces dysfunction and apoptosis in endothelial cells: is the effect of high glucose persistence more important than concentration? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 119, 225-33.
- ZHANG, Z., WANG, Q., MA, J., YI, X., ZHU, Y., XI, X., FENG, Y. & JIN, Z. 2013b. Reactive oxygen species regulate FSH-induced expression of vascular endothelial growth factor via Nrf2 and HIF1 α signaling in human epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep*, 29, 1429-34.
- ZHAO, L. & ACKERMAN, S. L. 2006. Endoplasmic reticulum stress in health and disease. *Curr Opin Cell Biol*, 18, 444-52.
- ZHAO, X., FRITSCHKE, J., WANG, J., CHEN, J., RITTIG, K., SCHMITT-KOPPLIN, P., FRITSCHKE, A., HARING, H. U., SCHLEICHER, E. D., XU, G. & LEHMANN, R. 2010. Metabonomic fingerprints of fasting plasma and spot urine reveal human pre-diabetic metabolic traits. *Metabolomics*, 6, 362-374.
- ZHAO, Z. 2010. Cardiac malformations and alteration of TGF β signaling system in diabetic embryopathy. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 89, 97-105.
- ZHAO, Z. 2012. Endoplasmic reticulum stress in maternal diabetes-induced cardiac malformations during critical cardiogenesis period. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 95, 1-6.
- ZHAO, Z. & REECE, E. A. 2005. Experimental mechanisms of diabetic embryopathy and strategies for developing therapeutic interventions. *J Soc Gynecol Investig*, 12, 549-57.
- ZHIYONG, Z., WU, Y. K. & REECE, E. A. 2008. Demonstration of the essential role of protein kinase C isoforms in hyperglycemia-induced embryonic malformations. *Reprod Sci*, 15, 349-56.
- ZHU, H. & BUNN, H. F. 2001. Signal transduction. How do cells sense oxygen? *Science*, 292, 449-51.
- ZHU, M. J., DU, M., NATHANIELSZ, P. W. & FORD, S. P. 2010. Maternal obesity up-regulates inflammatory signaling pathways and enhances cytokine expression in the mid-gestation sheep placenta. *Placenta*, 31, 387-91.
- ZHUANG, T., HAN, H. & YANG, Z. 2014. Iron, Oxidative Stress and Gestational Diabetes. *Nutrients*, 6, 3968.