



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

ΦΡΑΓΚΟΥΛΗ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ
PhD ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2018

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

ΦΡΑΓΚΟΥΛΗ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ

A.M.: 71506

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΠΕΡΡΕΑ, Καθηγήτρια Πειραματικής Παθοβιοχημείας, Ιατρική Σχολή ,
ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΠΕΡΡΕΑ, Καθηγήτρια Πειραματικής Παθοβιοχημείας, Ιατρική Σχολή ,
ΕΚΠΑ

ΕΥΡΥΚΛΕΙΑ ΛΙΑΝΙΔΟΥ, Καθηγήτρια Αναλυτική Χημείας-Κλινικής Χημείας, Τμήμα
Χημείας ΕΚΠΑ

ΧΡΗΣΤΟΣ ΒΕΡΥΚΟΚΟΣ, Αγγειοχειρουργός Επίκουρος Καθηγητής, Ιατρική Σχολή,
ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

1/3/2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα από τα βασικότερα προβλήματα υγείας, που αντιμετωπίζει αυτή τη στιγμή η ανθρωπότητα, καθώς πρόκειται για μια σύνθετη, πολυπαραγοντική, χρόνια ασθένεια, η οποία σε βάθος χρόνου, οδηγεί σε επέκταση της συσσώρευσης λιπώδους ιστού και διευκόλυνση της λιπογένεσης, που σημαίνει την αύξηση του αριθμού των λιποκυττάρων.

Σύμφωνα με τις έρευνες των τελευταίων χρόνων, η παχυσαρκία είναι μια κατάσταση η οποία μπορεί να συσχετιστεί με το οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες φαίνεται ότι μπορεί να προκαλέσει την αύξηση στον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων λιποκυττάρων, τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων καθώς και την αύξηση του μεγέθους των ώριμων λιποκυττάρων και των λιποκινών που παράγονται, όπως η βασπίνη (vaspin), η οποία έχει κερδίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών μετά την παρατήρηση ότι η έκφρασή της στο λιπώδη ιστό σχετίζεται με επιδείνωση μεταβολικών παραμέτρων για την παχυσαρκία. Συγχρόνως, η εξήγηση της εμφάνισης διαβήτη τύπου II, λόγω οξειδωτικού στρες που σχετίζεται με την υπεργλυκαιμία, και καθορίζει τη ρύθμιση της έκφρασης των συνθετασών του μονοξειδίου του αζώτου και επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών αζώτου, αποτέλεσε ένα επιπλέον σημείο ενδιαφέροντος.

Με βάση τα παραπάνω, στην παρούσα εργασία, έγινε προσπάθεια συσχέτισης της βασπίνης (vaspin), με το δείκτη μάζας σώματος καθώς και των επιπέδων της χοληστερόλης, στην προσπάθεια να υπάρξει μια πιθανή συσχέτιση των τιμών αυτών, που στο μέλλον να μπορεί να βοηθήσει σε μια πιθανή θεραπευτική προσέγγιση της παχυσαρκίας. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς του ιατρείου παχυσαρκίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών «ΛΑΙΚΟ». Το δείγμα αποτελούσαν από 52 γυναίκες (65%) και 28 άντρες (35%). Στο δείγμα αυτό συμπεριλαμβάνονται 8 φυσιολογικές γυναίκες και 7 φυσιολογικοί άνδρες (η έννοια του φυσιολογικού δείγματος σχετίζεται με το φυσιολογικό βάρος, τις φυσιολογικές τιμές στους βιοχημικούς δείκτες και στην απουσία παθολογικής νόσου). Έγινε μέτρηση των δεικτών του βιοχημικού και ηπατικού προφίλ, παρ' όλα αυτά χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές της γλυκόζης, της ολικής χοληστερόλης και του δείκτη μάζας σώματος BMI. Ακολούθως μετρήθηκε η βασπίνη (vaspin) με τη βοήθεια ανοσοπροσδιορισμού τύπου ELISA SANDWICH . Με βάση τα

αποτελέσματα, φαίνεται ότι υπάρχει μια ασθενής αρνητική γραμμική σχέση μεταξύ BMI και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης, μια ασθενής θετική γραμμική σχέση μεταξύ ηλικίας και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης, μια μέτρια θετική γραμμική σχέση μεταξύ γλυκόζης και BMI, ασθενής αρνητική γραμμική σχέση μεταξύ γλυκόζης και χοληστερόλης, ασθενής θετική γραμμική σχέση μεταξύ BMI και χοληστερόλης, θετική γραμμική σχέση μεταξύ ηλικίας και χοληστερόλης, θετική γραμμική σχέση μεταξύ τελικής συγκέντρωσης βασπίνης και χοληστερόλης. Προκύπτει λοιπόν το συμπέρασμα ότι, οι τιμές της γλυκόζης κυμαίνονται από οριακά αυξημένες, συγκριτικά με το κατώτερο φυσιολογικό, έως πολύ αυξημένες και αυτό σε συνδυασμό με τις υψηλές τιμές BMI, συσχετίζει το οξειδωτικό στρες με την παχυσαρκία. Τέλος, φαίνεται ότι τα επίπεδα βασπίνης και ολικής χοληστερόλης μπορούν να συσχετιστούν και να αποτελέσει αυτό αντικείμενο για περαιτέρω έρευνα.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: ΠΑΘΟΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: παχυσαρκία, οξειδωτικό στρες, βασπίνη, χοληστερόλη

ABSTRACT

Obesity is one of the major health problems currently faced by humanity, as it is a multifactorial and chronic complex, which in the long run leads to an extension of fat accumulation and facilitates lipogenesis that leads to an increasing number of adipocytes.

According to recent research, obesity is a condition that can be associated with oxidative stress that can cause an increase in adipocyte precursor proliferation, differentiation of adipocytes and increase in size of mature adipocytes and adipokines produced. For instance, vaspin has gained the interest of researchers after the observation that its expression in adipose tissue is associated with worsening metabolic parameters of obesity. At the same time, the explanation of the occurrence of diabetes type II - due to oxidative stress associated with hyperglycemia, and determining the regulation of the expression of monoxide synthases and inducing the production of free radicals of nitrogen- has been an additional point of interest.

Based on the above, attempts were made to correlate vaspin, body mass index (BMI) and cholesterol levels in an attempt to establish a possible correlation of these values, which in the future could help in a possible therapeutic approach to obesity. The participants for this research, were chosen from "LAIKO" hospital, obesity department in Athens. The sample consisted of 52 women (65%) and 28 men (35%). This sample includes 8 normal women and 7 normal men (the control sample is related to normal weight, physiological values in biochemical markers and absence of pathological disease). Serum glucose and cholesterol levels were determined in addition with BMI. Serum vaspin was measured with the ELISA SANDWICH METHOD. As a result, there is a weak negative linear relationship between BMI and final vaspin concentration, a weak positive linear relationship between age and final vaspin concentration, linear relationship between glucose

and BMI, weak negative linear relationship between glucose and cholesterol, weak positive linear relationship between BMI and cholesterol), positive linear relationship between age and cholesterol), positive linear relationship between final vaspin and cholesterol concentration.

As a conclusion, BMI and glucose values, ranging from marginal, elevated, to higher, lead us to the conclusion of the association of oxidative stress with obesity. It also appears that the relationship between vaspin and total cholesterol can be correlated and be the subject of further research.

SUBJECT AREA: Pathobiochemistry

KEYWORDS: obesity, oxidative stress, vaspin, cholesterol

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, εκπονήθηκε στο εργαστήριο της Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών σε συνεργασία με το Ιατρείο παχυσαρκίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών «ΛΑΙΚΟ» κα επιχειρεί να αξιολογήσει την κατάσταση της παχυσαρκίας και του οξειδωτικού στρες.

Ολοκληρώνοντας αυτή την προσπάθεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, κυρία Ευρύκλεια Λιανίδου για τη βοήθειά της και την αφοσίωσή της στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα της «ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ». Θα ήθελα να εκφράσω ολόψυχα την ευγνωμοσύνη μου στην Καθηγήτρια κ. Δέσποινα Περρέα, γιατί υπομονητικά πρόσφερε την πολύτιμη βοήθειά της με την επίβλεψη της μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας μου. Η υποστήριξη, η απόλυτη κατανόηση και η καθοδήγησή της συνέβαλαν αποφασιστικά στην αποπεράτωση της.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω το Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής Αθηνών κ. Τεντολούρη, για τη βοήθειά του κατά τη διάρκεια του στην προσέγγιση των ασθενών κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας και συζήτησης μαζί τους. Το προσωπικό του εργαστηρίου «Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, διδα Δασκαλοπούλου Αφροδίτη, κ. Τσακιρόπουλο Νικόλαο και κ. Τσακιρόπουλο Παναγιώτη για τη βοήθειά τους.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στις συμφοιτήτριές μου, Μέλλιου Σοφία, Χριστίνα Μουντάκη, Δανάη Φακίτσα για τη συμπαράστασή τους σε κάθε δυσκολία, αυτά τα 2 χρόνια.

Στον Άγγελο μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ, ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΚΑΙ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ.	13
1.2 ΕΠΙΠΤΩΣΗ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	14
1.3 ΕΥΡΩΠΗ	14
1.4 ΕΛΛΑΔΑ	15
1.5 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ	15
1.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ.....	16
1.6.1 Πρόσληψη ενέργειας	16
1.6.2 Κατανάλωση ενέργειας	17
1.6.3 Θερμιδικός Διαχωρισμός.....	17
1.6.4 Λιπογένεση	17
1.7 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ.....	17
1.8 ΣΥΝΟΔΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	18
1.8.1 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.....	19
1.8.2 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.	20
1.9 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ	21
1.10. ΛΙΠΟΚΙΝΕΣ	22
1.11 ΒΑΣΠΙΝΗ	25
1.11.1 Εισαγωγή	25
1.11.2 Σύσταση – Θέσεις παραγωγής.....	25
1.11.3 Μηχανισμός δράσης	26
1.11.4 Βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα κυκλοφορούντα επίπεδα βασπίνης..	27
1.11.5 Ρόλος στην πρόσληψη τροφής και τον μεταβολισμό γλυκόζης.....	27
1.11.6 Ρόλος στην παχυσαρκία και άλλες μεταβολικές διαταραχές	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	31
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ, ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ, ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	31
2.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	31
2.1.1 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	41
2.1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ	42
2.1.3 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ	43

2.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	46
2.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	48
2.3.1 Βιοδείκτες Οξειδωτικού Στρες	48
2.3.2 Οξειδωτικό στρες σε διάφορες παθήσεις	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	53
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	58
ΣΚΟΠΟΣ.....	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	59
Π Ε Ι Ρ Α Μ Α Τ Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ	59
5.1 ΛΗΨΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ-ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	59
5.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ	61
5.2.1. ΜΕΘΟΔΟΣ-ΥΛΙΚΑ.....	61
5.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	84
Σ Υ Ζ Η Τ Η Σ Η.....	88
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....	91
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	94
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	97

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Κατάταξη ενηλίκων ανάλογα με το δείκτη σωματικής μάζας με βάση τον BMI και παρουσίαση μεγέθους του κινδύνου συνοδών νοσημάτων, που αντιστοιχεί σε κάθε επίπεδο. (WHO 2000)

Πίνακας 2: Διαγνωστικά κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults JAMA 285(19), 2486-2497. 2001(Τροποποιημένος

Πίνακας 3: Σχηματική αναπαράσταση των αντιδράσεων που καταλύονται από τα κυριότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Οι αντιδράσεις παρουσιάζονται προς την κατεύθυνση που οδηγεί σε απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου

Πίνακας 4: Ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά

Πίνακας 5: Κατηγορίες ερωτήσεων ερωτηματολογίου

Πίνακας 6: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Πίνακας 7: Στοιχεία αποκλεισμού

Πίνακας 8: Στατιστικά δεδομένα τιμών μέτρησης

Πίνακας 9: Στοιχεία ασθενών

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Διάγραμμα των συντελεστών του θετικού ενεργειακού ισοζυγίου και της εναπόθεσης λίπους, με ένδειξη των σημείων δράσης της γενετικής προδιάθεσης (Bouchard C et al: Genetics of human)

Σχήμα 2: Προτεινόμενος ρόλος της βασπίνης στην πρόσληψη τροφής και τον γλυκαιμικό έλεγχο

Σχήμα 3: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-CHOL

Σχήμα 4: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-GLU

Σχήμα 5: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΡΟΣ

Σχήμα 6: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΥΨΟΣ

Σχήμα 7: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΗΛΙΚΙΑ

Σχήμα 8: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΟΠΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

Σχήμα 9: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΣΠΙΝΗ

Σχήμα 10: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΣΠΙΝΗ ΧΩΡΙΣ ΑΡΑΙΩΣΗ

Σχήμα 11: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-BMI

Σχήμα 12: Απεικόνιση (πίτα) αναλογιών των δύο φύλων

Σχήμα 13 Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Σχήμα 14: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Σχήμα 15: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-BMI

Σχήμα 16: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΗΛΙΚΙΑΣ

Σχήμα 17: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΓΛΥΚΟΖΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Σχήμα 18: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΓΛΥΚΟΖΗΣ- BMI

Σχήμα 19: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΦΥΛΟΥ- BMI

Σχήμα 20: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΡΟΛΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Σχήμα 21: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ-ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Σχήμα 22: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ- BMI

Σχήμα 23: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ- ΗΛΙΚΙΑΣ

Σχήμα 24: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ-ΒΑΣΠΙΝΗΣ

Σχήμα 25 Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- ΒΑΣΠΙΝΗΣ (controls)

Σχήμα 26: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- ΓΛΥΚΟΖΗΣ (controls)

Σχήμα 27: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- CHOL (controls)

Σχήμα 28: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ- CHOL (controls)

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Προσαγωγά και απαγωγά σήματα μεταξύ ΚΝΣ και περιφέρειας.

Εικόνα 2: Το λιποκύτταρο ως ενδοκρινές όργανο.

Εικόνα 3: Δομή βασπίνης στο χώρο

Εικόνα 4: Σχηματισμός ενεργών ριζών οξυγόνου και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί των κυττάρων

Εικόνα 5: Σχηματισμός της 8-υδροξυγουανίνης

Εικόνα 6: Προϊόντα που σχηματίζονται μετά από την επίδραση ROS και RNS στα αμινοξέα τυροσίνη και φαιτυλαλανίνη.

Εικόνα 7: Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικού

Εικόνα 8: Συσχέτιση παχυσαρκία και οξειδωτικού στρες

Εικόνα 9: Μηχανισμοί που ρυθμίζουν την οξειδωτική / αντιοξειδωτική ισορροπία στην παχυσαρκία

Εικόνα 10: Τεχνική ELISA

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα από τα βασικότερα προβλήματα υγείας, που αντιμετωπίζει αυτή τη στιγμή η ανθρωπότητα. Πρόκειται για μια σύνθετη, πολυπαραγοντική, χρόνια νόσο, που εξαρτάται από περιβαλλοντολογικά (κοινωνικά και πολιτιστικά), γενετικά, φυσιολογικά, μεταβολικά και ψυχολογικά αίτια. Η επίπτωση της νόσου αγγίζει τους χαρακτήρες της πανδημίας, χωρίς γεωγραφικούς περιορισμούς, καθώς το πρόβλημα παρατηρείται σε σημαντικά ποσοστά και στις αναπτυσσόμενες χώρες.(1)

Η παχυσαρκία ορίζεται ως μία κατάσταση άθροισης υπερβάλλοντος σωματικού λίπους, σε βαθμό τέτοιο ώστε να επηρεάζει την υγεία, οδηγώντας σε ελάττωση του προσδόκιμου επιβίωσης και / ή σε αυξημένα συνοδά προβλήματα υγείας(2, 3).

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ, ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΚΑΙ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ.

Η παχυσαρκία ορίζεται ως μία κατάσταση άθροισης υπερβάλλοντος σωματικού λίπους(2). Επειδή η άμεση μέτρηση του λίπους είναι δύσκολη, στην καθημερινή πρακτική, η τρέχουσα σταθερά για την αναφορά στατιστικών στοιχείων σχετιζόμενων με το βάρος, αποτελεί ο δείκτης σωματικής μάζας (Body Mass Index-BMI). Ο δείκτης σωματικής μάζας είναι μία σχέση βάρους, προσαρμοσμένη ως προς το ύψος, που εκφράζεται σε βάρος (kg) προς ύψος (m) στο τετράγωνο (kg/m^2) (πίνακας 1). Με βάση το BMI, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) το 1997 και το Εθνικό Ίδρυμα Υγείας των ΗΠΑ (National Institutes of Health – NIH) το 1998 ταξινόμησαν την παχυσαρκία σε διάφορα επίπεδα βαρύτητας (2, 4). Ο BMI αποτελεί το πιο χρήσιμο εργαλείο σε επίπεδο πληθυσμιακών μετρήσεων, καθώς είναι ο ίδιος για τα δύο φύλα και για όλες τις ηλικίες, ωστόσο δε διακρίνει το βάρος το οφειλόμενο στη μυϊκή μάζα από αυτό που οφείλεται στο λίπος (5).

Πίνακας 1: Κατάταξη ενηλίκων ανάλογα με το δείκτη σωματικής μάζας με βάση τον BMI και παρουσίαση μεγέθους του κινδύνου συνοδών νοσημάτων, που αντιστοιχεί σε κάθε επίπεδο. (WHO 2000)

Κατάταξη Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας με βάση το BMI (kg/m ²)		
ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	BMI	ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΣΥΝΟΔΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ
ΛΙΠΟΒΑΡΟΣ	<18.50	Χαμηλός (αλλά αυξημένος κίνδυνος άλλων κλινικών προβλημάτων)
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ	18.50–24.99	Μέσος
ΥΠΕΡΒΑΡΟΣ	25.00–29.99	Αυξημένος
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΑΞΗΣ I	30.00–34.99	Μέτριος
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΑΞΗΣ II	35.00–39.99	Σοβαρός
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΑΞΗΣ III	>40.00	Πολύ σοβαρός

1.2 ΕΠΙΠΤΩΣΗ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η αύξηση του ρυθμού επίπτωσης της παχυσαρκίας είναι προφανής στις Δυτικές χώρες, όπου η παχυσαρκία είναι παρούσα για δεκαετίες, αλλά σήμερα είναι επίσης ιδιαίτερα αισθητή σε λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες, οι οποίες προηγουμένως δεν αντιμετώπιζαν προβλήματα με υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς (2). Η παχυσαρκία στον αναπτυσσόμενο κόσμο αντανάκλα τις βαθιές αλλαγές τα τελευταία 20 με 30 χρόνια, που έχουν δημιουργήσει ένα περιβάλλον, που προωθεί την καθιστική ζωή και την κατανάλωση τροφών με μεγάλη περιεκτικότητα σε λίπη και θερμίδες, που συνολικά ονομάζεται μεταβατική διατροφή (6).

1.3 ΕΥΡΩΠΗ

Στην Ευρώπη η παχυσαρκία είναι σχετικά συχνή, ιδιαίτερα μεταξύ των γυναικών των νοτιοανατολικών χωρών. Από τα στοιχεία, που δημοσίευσε η επιτροπή μελέτης της παχυσαρκίας του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας για τον Ευρωπαϊκό χώρο, φαίνεται ότι η επίπτωση της παχυσαρκίας κυμαίνεται από 5,4% μέχρι 26% για τους άνδρες και φθάνει το 35,6% για τις γυναίκες. Σε τουλάχιστον οκτώ χώρες,

το ποσοστό παχυσαρκίας ξεπερνά το 20 % του πληθυσμού, με κορυφαία την Ελλάδα με ποσοστό 30,3 % για τους άνδρες και 26,4% για τις γυναίκες. Σε τουλάχιστον οκτώ χώρες, το ποσοστό παχυσαρκίας ξεπερνά το 20 % του πληθυσμού, με κορυφαία την Ελλάδα με ποσοστό 30,3 % για τους άνδρες και 26,4% για τις γυναίκες (7).

1.4 ΕΛΛΑΔΑ

Στη χώρα μας, το 2006 ο Καπάνταης και οι συνεργάτες του, δημοσίευσαν την πρώτη εθνική επιδημιολογική μελέτη για την παχυσαρκία, στην οποία παρατηρείται ποσοστό συνολικά και για τα δύο φύλα στο 22.5% (στους άνδρες 26.0% και στις γυναίκες 18.2%) (8). Το ποσοστό είναι εντυπωσιακό, όμως γίνεται ακόμα πιο εντυπωσιακό, αν συγκριθεί με τα αποτελέσματα της EUROSTAT πέντε χρόνια νωρίτερα, όπου το ποσοστό της παχυσαρκίας στους άνδρες υπολογίζεται στο 9.7% και στις γυναίκες στο 10.0% (8, 9). Όμως, το πρόβλημα δείχνει να μην μπορεί να περιορισθεί, καθώς ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας προέβλεπε ότι για το 2010 το ποσοστό παχυσαρκίας στον ενήλικο πληθυσμό θα άγγιζε στη χώρα το 30.3%, κατατάσσοντας μας στην κορυφαία θέση για τον ευρωπαϊκό χώρο. Η επιβεβαίωση δόθηκε μετά την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων έρευνας που πραγματοποιήθηκε από το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας σε Ευρωπαϊκό επίπεδο και διεξήχθη στην Ελλάδα από την Ελληνική Εταιρεία Παχυσαρκίας για το χρονικό διάστημα 2010-2011,(μέγεθος πληθυσμού: 5700 παιδιά από όλο τον ελλαδικό χώρο) αναφορικά με την παιδική παχυσαρκία ,όπου φάνηκε ότι ο επιπολασμός της παιδικής παχυσαρκίας στη Ελλάδα είναι ο πιο υψηλός στην Ευρώπη και το ¼ των παιδιών ηλικίας 7-10 ετών εμφάνιζαν κοιλιακή παχυσαρκία (10).

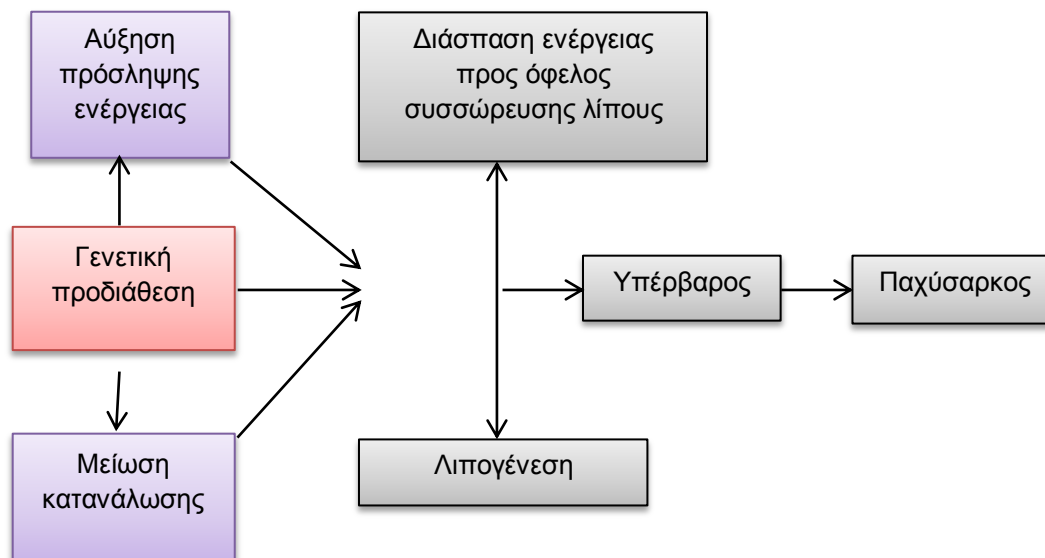
1.5 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η παχυσαρκία προκαλείται από μια μακροχρόνια διαταραχή στην ενεργειακή ισορροπία μεταξύ της πρόσληψης και της κατανάλωσης ενέργειας, γεγονός που οδηγεί σε θετικό ενεργειακό ισοζύγιο. Όταν η πρόσληψη ενέργειας σε βάθος χρόνου υπερέχει της κατανάλωσης, η προκαλούμενη ανισορροπία οδηγεί σε επέκταση της συσσώρευσης λιπώδους ιστού και διευκόλυνση της λιπογένεσης, που σημαίνει την αύξηση του αριθμού των λιποκυττάρων. Η αιτιολογία της

παχυσαρκίας είναι περίπλοκη και πολυπαραγοντική, καθώς πλήθος βιολογικών και συμπεριφεριολογικών παραγόντων μπορεί να επηρεάσει την ενεργειακή ισορροπία (11-13). Την προηγούμενη δεκαετία παρατηρήθηκε μια αξιοπρόσεκτη αύξηση στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών, που ρυθμίζουν την ενεργειακή ομοιόσταση, των μοριακών μεσολαβητών της ενεργειακής ομοιόστασης στον εγκέφαλο και την περιφέρεια και της γενετικής της παχυσαρκίας (14-17).

1.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ.

Η ενεργειακή ισορροπία στο ανθρώπινο σώμα επιτυγχάνεται με την πρόσληψη και κατανάλωση ενέργειας, το καταμερισμό των θρεπτικών στοιχείων και τη λιπογένεση. Ένα θετικό ενεργειακό ισοζύγιο αν και μικρό, όταν παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα, μπορεί να οδηγήσει σε τεράστια συσσώρευση λίπους. Πολλαπλοί φυσιολογικοί μηχανισμοί δρουν, ώστε να εξισορροπήσουν την πρόσληψη με την κατανάλωση ενέργειας, ώστε το βάρος του σώματος να διατηρηθεί σταθερό σε βάθος χρόνου (σχήμα 1).



Σχήμα 1: Διάγραμμα των συντελεστών του θετικού ενεργειακού ισοζυγίου και της αναπόθεσης λίπους, με ένδειξη των σημείων δράσης της γενετικής προδιάθεσης (Bouchard C et al: Genetics of human) (16)

1.6.1 Πρόσληψη ενέργειας - η συνολική πρόσληψη ενέργειας αντικατοπτρίζει την ενέργεια, που μπορεί να μεταβολισθεί στο σώμα και η οποία προσλαμβάνεται

από την υγρή και στερεή τροφή. Την πιο πλούσια πηγή ενέργειας αποτελεί το λίπος, με 9 kcal/gr και ακολουθούν οι υδατάνθρακες και οι πρωτεΐνες.

1.6.2 Κατανάλωση ενέργειας - η κατανάλωση ενέργειας καθορίζεται από τρία βασικά μέρη. Το βασικό μεταβολικό ρυθμό, το μεταβολικό ρυθμό ανάπαυσης, το θερμικό αποτέλεσμα διάσπασης των τροφών (διαιτητική θερμογένεση) και τη φυσική δραστηριότητα. Αδρά στον ενήλικο πληθυσμό, η κατανάλωση ενέργειας οφείλεται κατά 60% στο βασικό μεταβολισμό και το μεταβολισμό ανάπαυσης, σε ποσοστό 10% συμβάλλει το θερμικό αποτέλεσμα των τροφών ενώ το υπόλοιπο 30% οφείλεται στη φυσική δραστηριότητα.

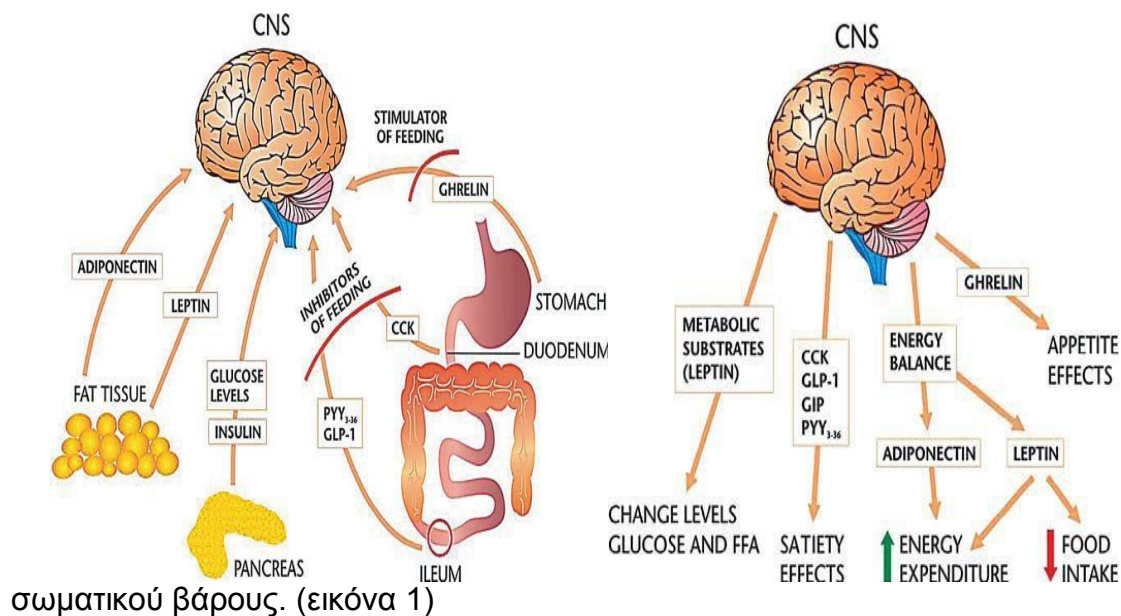
1.6.3 Θερμιδικός Διαχωρισμός - ο θερμιδικός ή ενεργειακός διαχωρισμός αναδεικνύεται ως ένας καθοριστικός παράγοντας μακροπρόθεσμης ενεργειακής ισορροπίας. Κάτω από συνθήκες θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, άτομα που πιθανώς έχουν τάση να αυξήσουν το βάρος τους καταμερίζουν περισσότερη ενέργεια για αποθήκευση στο λιπώδη ιστό. Σε αντίθεση τα άτομα που έχουν μειωμένη τάση για αύξηση του βάρους, καταμερίζουν περισσότερη ενέργεια για οξειδωση στους γραμμωτούς μύες ή σε άλλους ιστούς.

1.6.4 Λιπογένεση - Η διαφοροποίηση των λιποκυττάρων, ή λιπογένεση, είναι μια συντονισμένη διαδικασία. Αλλαγές στη λιπώδη μάζα προέρχονται από αλλαγές στον αριθμό ή/και το μέγεθος των λιποκυττάρων. Οι αλλαγές των λιποκυττάρων επιτυγχάνονται μέσω μιας σύμπλοκης αλληλεπίδρασης του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των προλιποκυττάρων, η οποία στηρίζεται σε σήματα που προέρχονται, τόσο από το ενδοκρινικό σύστημα όσο και από τα ίδια τα προλιποκύτταρα. Η ισορροπία μεταξύ των σημάτων ενεργοποιεί και καθορίζει τη λιπογένεση (18, 19).

1.7 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ.

Κύριος ρυθμιστής της ενεργειακής ομοιόστασης αποτελεί ο εγκέφαλος, αν και πολλαπλά συστήματα οργάνων συμμετέχουν στην όλη διαδικασία(20, 21). Μοριακοί σηματοδότες που παράγονται και κυκλοφορούν στην περιφέρεια, όπως η λεπτίνη, η ινσουλίνη και η γκρελίνη έχουν σύνδεση με υποθαλαμικούς νευροπεπτιδικούς νευρώνες, παρέχοντας πληροφορίες στον εγκέφαλο. Το σωματικό βάρος ρυθμίζεται από το κεντρικό νευρικό σύστημα, το οποίο

αντιλαμβάνεται τη μεταβολική κατάσταση του σώματος από μία μεγάλη ομάδα χημικών και νευρικών σημάτων (15). Η επεξεργασία των σημάτων λαμβάνει χώρα, κυρίως, αλλά όχι αποκλειστικά, στον υποθάλαμο. Ο υποθάλαμος είναι η δομή, που γενικά θεωρείται ως η πιο ευαίσθητη στους χειρισμούς, που τροποποιούν την όρεξη και τη συμπεριφορά πρόσληψης τροφής. Οι υποθαλαμικές αμίνες, οι ορμόνες και οι νευροδιαβιβαστές συμμετέχουν σε ένα πολύπλοκο δίκτυο συστημάτων, που επηρεάζουν τον τρόπο πρόσληψης και το μεταβολισμό των τροφών. Διέγερση μερικών εξ' αυτών των συστημάτων οδηγεί σε αύξηση της κατανάλωσης τροφής ενώ διέγερση άλλων καταλήγει σε μείωση της πρόσληψης και αποθήκευσης. Κατά συνέπεια, διαταραχές ενός ή περισσοτέρων εκ των συστημάτων αυτών σχετίζονται με μεταβολές του



Εικόνα 1: Προσαγωγά και απαγωγά σήματα μεταξύ ΚΝΣ και περιφέρειας. (PITOMBO, Cid et al. Obesity Surgery Principles and Practices. USA: The McGraw-Hill, 2008, τροποποιημένη)

1.8 ΣΥΝΟΔΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Ένα πλήθος νοσηρών καταστάσεων συνοδεύει τη νοσογόνο παχυσαρκία. Ο αριθμός και η σοβαρότητα των συνοδών νοσημάτων σχετίζεται με την ηλικία, τη διάρκεια και το μέγεθος της παχυσαρκίας, το οικογενειακό ιστορικό και κάποιους άλλους λιγότερο χαρακτηριστικούς παράγοντες κινδύνου, η φύση των οποίων πιθανότατα έχει γενετική βάση. Οι βασικές αλλαγές, που πυροδοτούν την παχυσαρκία, έχουν ακόμα πιο μακροπρόθεσμες επιπτώσεις σχεδόν σε κάθε

όργανο του σώματος. Οι μηχανισμοί πρόκλησης για την πλειονότητα των συνοδών νοσημάτων έχουν διαπιστωθεί αλλά ακόμα δεν έχουμε καταλήξει σε μια ενιαία θεωρία, γεγονός που καθιστά την αιτιολογία σε σχέση με τη συσχέτιση αβέβαιη. Ανάλογα με το κάθε σύστημα παρατηρούμε τα κάτωθι συνοδά νοσήματα (22).

1.8.1 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.

Αρτηριακή υπέρταση

Αυξημένες τιμές αρτηριακής πίεσης παρατηρούνται στο 38% των ασθενών με νοσογόνο παχυσαρκία, εκ των οποίων το 45% παραμένουν αδιάγνωστο (23). Η μελέτη Framingham, στις αρχές της δεκαετίας του 1960, έδειξε ότι μια αύξηση κατά 15% στο σωματικό βάρος έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση στη συστολική αρτηριακή πίεση κατά 18%(24). Μεταβολές στα νατριοουρητικά πεπτίδια, δομικές αλλαγές των νεφρών, ορμονικοί παράγοντες και γενετικές αλλαγές στους β-αδρενεργικούς υποδοχείς αποτελούν τους μεσολαβητές, που έχουν ενοχοποιηθεί για την υπέρταση, που προκαλείται από την παχυσαρκία (25, 26).

Στεφανιαία νόσος

Η νοσογόνος παχυσαρκία (και ιδιαίτερα η κεντρική παχυσαρκία) (27) σχετίζεται με ένα επιταχυνόμενο ρυθμό αθηροσκλήρωσης των στεφανιαίων αγγείων, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο θανατηφόρων και μη θανατηφόρων εμφραγμάτων, όπως δείχθηκε από μελέτες [Framingham Heart Study (28) και η Nurses' Health Study (29)]

Μεταβολικό σύνδρομο

Η Εθνική Επιτροπή του Προγράμματος Θεραπείας της Χοληστερόλης των ΗΠΑ, το 2001, δημοσίευσε τα κριτήρια προσδιορισμού του μεταβολικού συνδρόμου, μιας κλινικά αναγνωρισμένης οντότητας, που σχετίζεται με αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα. Κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου αποτελούν οι τιμές τριγλυκεριδίων του αίματος, HDL, αρτηριακής πίεσης και σακχάρου νηστείας, χωρίς λήψη φαρμακευτικής αγωγής. Απαιτείται η παρουσία, τουλάχιστον, τριών στοιχείων από τα παρακάτω, για να επιβεβαιώσουμε την ύπαρξη του μεταβολικού συνδρόμου (30).(πίνακας 2)

Πίνακας 2: Διαγνωστικά κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults JAMA 285(19), 2486-2497. 2001 (Τροποποιημένος)

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΚΡΙΤΗΡΙΟ
Κοιλιακή παχυσαρκία (περίμετρος)	>102 cm άνδρες, >88 cm γυναίκες
Τριγλυκερίδια	>150 mg/dL
HDL cholesterol	<40 mg/dL άνδρες, <50 mg/dL γυναίκες
Αρτηριακή Υπέρταση	>130/85mmHg
Σάκχαρο νηστείας	>110 mg/dL

Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου στη νοσογόνο παχυσαρκία παρατηρείται σε ποσοστό 50% ανεξάρτητα από το BMI. Αυτό, υποδηλώνει ότι το υπερβάλλον βάρος δεν είναι η αιτία του μεταβολικού συνδρόμου, αλλά μάλλον μια εκδήλωση της νόσου (31).

Αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια

Ανεξάρτητα από την επίδραση της αρτηριακής υπέρτασης η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο αριστερής κοιλιακής υπερτροφίας, ειδικά του έκκεντρου τύπου.(32) Αρχικά, παρατηρείται ελάττωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου(33) ενώ σε 2η φάση επηρεάζεται η συστολική και η διαστολική λειτουργία. Όλα αυτά, όμως, μπορούν να αναστραφούν μέσω της απώλειας βάρους, όπως δείχνουν διάφορες μελέτες (34-39).

1.8.2 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.

Σακχαρώδης διαβήτης

Η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II (ΣΔ II) είναι στενά συνδεδεμένοι. Η επίπτωση του σακχαρώδη διαβήτη στους παχύσαρκους ασθενείς είναι 30%, εκ των οποίων το 33% είναι αδιάγνωστοι και το 50% δεν λαμβάνει θεραπεία (23). Αντιστρόφως, η παχυσαρκία είναι ο πρωτεύον παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΣΔ II και το 90 % των ασθενών με ΣΔ είναι παχύσαρκοι (40).(πίνακας 2)

Τα στοιχεία από την Εθνική Έρευνα για τον Έλεγχο της Υγείας και της Διατροφής (NHANES III) μεταξύ των ετών 1988-1994, η οποία διεξήχθη στο Ηνωμένο Βασίλειο, ανέδειξε ότι ο σχετικός κίνδυνος για ΣΔ σε άτομα με $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ είναι περίπου 50% ενώ με $BMI \geq 40 \text{ kg/m}^2$ είναι περισσότερο από 90%. Η κεντρική παχυσαρκία, ανεξαρτήτως του BMI, είναι επίσης ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη ΣΔ II και αυτό μπορεί να καθιστά τη μέτρηση της αναλογίας περιμέτρου μέσης προς περίμετρο γοφών ένα πολύ καλό μέτρο για τη πρόβλεψη του ΣΔ II (41). Κατ' ουσία, όλοι οι ενήλικες με νοσογόνο παχυσαρκία έχουν μετρήσιμη διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης (OGTT) (42) και το 36% των ατόμων με διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης θα εμφανίζουν αληθή σακχαρώδη διαβήτη τα επόμενα 10 χρόνια (43, 44).

Δυσλιπιδαιμία (υπερχοληστερολαιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία, μεταβολή της σχέσης HDL/LDL)

Σε ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία οι διάφορες μορφές δυσλιπιδαιμίας εμφανίζονται σε ποσοστό, που κυμαίνεται μεταξύ 40 και 50% (40). Η παχυσαρκία συνδέεται αναπόσπαστα με αυξημένες τιμές τριγλυκεριδίων, οφειλόμενες κατά κύριο λόγο στην αυξημένη ηπατική σύνθεση των VLDL (Very Low Density Lipoproteins). Μείωση της HDL και μη φυσιολογικός διαχωρισμός της LDL με συνοδό αύξηση αυτής, είναι επίσης κοινά στα παχύσαρκα άτομα. Η σχέση HDL/LDL μειώνεται και η σχέση ολικής χοληστερόλης προς HDL μειώνεται. Οι αλλαγές αυτές φαίνονται να σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και ο συνδυασμός όλων αυτών (λιπιδαιμικό profile), αποτελεί το θεμέλιο λίθο της αθηροσκλήρυνσης (45-47). (εικόνα 3)

Υπερπαραθυρεοειδισμός

Ο υπερπαραθυρεοειδισμός είναι συχνός στους ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία, χωρίς βέβαια να είναι δυνατό μέχρι τώρα να εξηγηθεί, απόλυτα, η αιτία της αύξησης των επιπέδων παραθορμόνης στους ασθενείς αυτούς (48).

1.9 ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ

Ο λιπώδης ιστός αποτελεί ένα ενδοκρινές όργανο με αποθηκευτικές ιδιότητες, το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή ενέργειας ο οποίος αποτελεί έναν χώρο

εναποθήκευσης περίσσειας ενέργειας υπό μορφή τριγλυκεριδίων (49-51). Ο ιστός αυτός αποτελείται από λιποκύτταρα, ινοβλάστες, ινοβλαστικά πρόδρομα λιποκύτταρα, ενδοθηλιακά και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (52) και είναι υπεύθυνο για τη παραγωγή ορμονών και κυτοκινών (λιποκίνες, λιποκυτοκίνες), οι οποίες με τη σειρά τους είναι υπεύθυνες για την παρακρινή, ενδοκρινή, αυτοκρινή δράση σε όλο το σώμα. Σε φυσιολογικές και πολύ περισσότερο σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις οι λιποκίνες ενεργοποιούν την παραγωγή ενεργών ελεύθερων ριζών (ROS) και κατ' επέκταση του οξειδωτικού στρες (OS), καθώς και τη μη φυσιολογική παραγωγή άλλων λιποκινών (53).

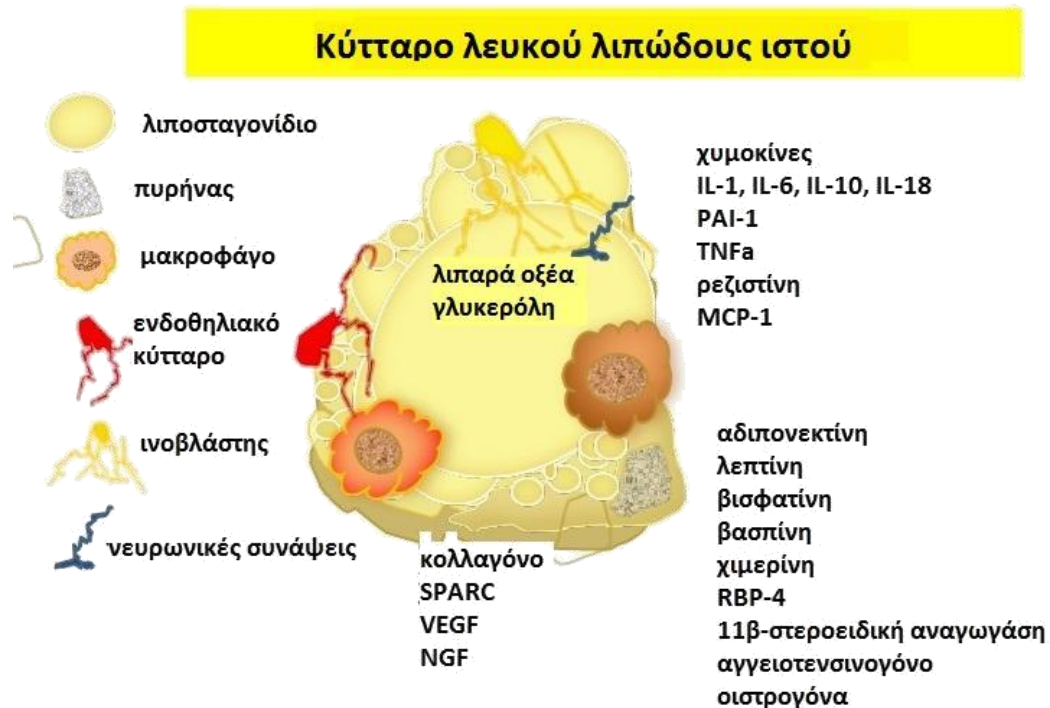
1.10. ΛΙΠΟΚΙΝΕΣ

Οι λιποκίνες αποτελούν μια κατηγορία βιολογικώς δραστικών ουσιών, οι οποίες μεταβολίζονται στο ενδοκρινές όργανο του λιπώδη ιστού όπως ήδη αναφέρθηκε.

Οι λιποκίνες συμμετέχουν σε διάφορες μεταβολικές διαδικασίες όπως η ρύθμιση της όρεξης, η αντίσταση στην ινσουλίνη αλλά και η έκκριση ινσουλίνης, η ενεργειακή δαπάνη η καρδιαγγειακή λειτουργία και η φλεγμονή(50, 51, 54, 55).

Η ανάπτυξη φλεγμονής του λιπώδους ιστού επάγει μεταβολικά σήματα που κινητοποιούν ένα αθηρογόνο και διαβητογόνο πρότυπο έκκρισης κυτταροκινών (51, 55, 56)(Εικόνα 3). Η αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών λιποκινών μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην συντήρηση της φλεγμονώδους διαδικασίας (51, 56) και να προκαλέσει ινσουλινοαντίσταση στο ήπαρ, τους μύες και άλλα όργανα στόχους (57, 58). Συνεπώς, η εναπόθεση σπλαχνικού λίπους, μέσω μεταβολών στην έκκριση των λιποκινών, μπορεί τουλάχιστον ως ένα βαθμό, να εξηγήσει τις μεταβολικές συνέπειες της συσσώρευσης ενδοκοιλιακού λίπους και την επακόλουθη αύξηση του κινδύνου της καρδιαγγειακής νόσου στην παχυσαρκία. Φαίνεται ότι οι παραγόμενες από το λευκό λιπώδη ιστό κυτταροκίνες λειτουργούν ως διαμεσολαβητές μεταξύ εξωγενών παραγόντων που σχετίζονται με την παχυσαρκία (διατροφή, τρόπος ζωής) και των μοριακών γεγονότων που οδηγούν στο μεταβολικό σύνδρομο και φλεγμονώδεις καταστάσεις (58).

Στην παχυσαρκία, η δυσλειτουργία των λιποκυττάρων αποτελεί μια από τα κύριες διαταραχές που προκαλεί η αύξηση του σωματικού βάρους και λίπους και την συνδέει παθογενετικά με διάφορα προβλήματα υγείας όπως αυξημένο κίνδυνο ινσουλινοαντίστασης, ΣΔ II, λιπώδους ήπατος, υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, αθηροσκλήρωσης, άνοιας, νόσων των αεροφόρων οδών και ορισμένων τύπων καρκίνου (80, 81, 83).



Εικόνα 2: Το λιποκύτταρο ως ενδοκρινές όργανο. Το κύτταρο του λευκού λιπώδους ιστού παράγει λιποκίνες οι οποίες παρεμβαίνουν στον μεταβολισμό του σώματος

ΓΝΩΣΤΕΣ ΛΙΠΟΚΙΝΕΣ:

ΛΕΠΤΙΝΗ

Η λεπτίνη μειώνει τη σύνθεση ορεξιογόνων και αυξάνει τη σύνθεση ανορεξιογόνων πεπτιδίων στον υποθάλαμο μειώνοντας έτσι την όρεξη (59). Τα επίπεδα της λεπτίνης είναι συνήθως αυξημένα στους παχύσαρκους και τους διαβητικούς ασθενείς γεγονός που αποδίδεται σε αντίσταση στη λεπτίνη που αναπτύσσεται στα άτομα αυτά (60).

ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Παράγεται αποκλειστικά από τον λευκό λιπώδη ιστό και είναι η πρωτεΐνη που εκκρίνεται σε μεγαλύτερες ποσότητες απ'αυτόν(61, 62). Τα επίπεδά της μεταβάλλονται αντιστρόφως ανάλογα με το βαθμό της αντίστασης στην ινσουλίνη. Σε αντίθεση με άλλες λιποκίνες η συγκέντρωση αδιπονεκτίνης ορού ελαττώνεται στην παχυσαρκία, το ΣΔ ΙΙ και άλλες καταστάσεις στις οποίες παρατηρείται αντίσταση στην ινσουλίνη(61, 62).

ΒΙΣΦΑΤΙΝΗ

Αρχικά θεωρήθηκε ότι μιμείται τη δράση της ινσουλίνης μέσω σύνδεσης με τους υποδοχείς της και έτσι ασκεί υπογλυκαιμική δράση, εμποδίζοντας την απελευθέρωση γλυκόζης από τα ηπατοκύτταρα και διεγείροντας την πρόσληψη της στους περιφερικούς ιστούς (63). Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι εκτός από τα λιποκύτταρα παράγεται επίσης από ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και πολυμορφοπύρρηνα και σήμερα θεωρείται ότι έχει κυρίως προφλεγμονώδεις δράσεις (64).

ΡΕΖΙΣΤΙΝΗ

Είναι αυξημένη τόσο στην γενετικά καθορισμένη όσο και στην παχυσαρκία που προκαλείται από αυξημένη πρόσληψη τροφής (65) και πιθανολογείται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη. Υπερέκφραση ρεζιστίνης σε επίμυες οδήγησε σε δυσανοχή γλυκόζης, υπερινσουλιναίμια και αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων (66).

ΑΠΕΛΙΝΗ

Εκφράζεται στο λιπώδη ιστό αλλά και στο κεντρικό νευρικό σύστημα και συγκεκριμένα στον υποθάλαμο καθώς και σε πολλούς περιφερικούς ιστού (67). Η απελίνη φαίνεται να εμπλέκεται στην ρύθμιση της ομοιοστασίας της πρόσληψης /αποβολής υγρών σώματος αλλά και του καρδιαγγειακού συστήματος, την πρόσληψη τροφής, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση (67).

Την τελευταία δεκαετία έγινε ξεκάθαρο ότι ο λιπώδης ιστός εκκρίνει πολλά περισσότερα μόρια συμπεριλαμβανομένων προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών

όπως παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNFα), τροποποιητικό αυξητικό παράγοντα β (TGF-β) και ιντερφερόνη-γ, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ιντερλευκίνες (IL)-1,-6,-8,-10, αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1), ινωδογόνο, απποσφαιρίνη, σχετιζόμενες με την αγγειοποιητίνη πρωτεΐνες, μεταλλοθειονίνη, παράγοντα 3 του συμπληρώματος, πρωτεΐνη αμυλοειδούς, ανανταμίδη και 2 –AG καθώς και χημειοταξίνες όπως μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη (MCP-1), προγρανουλίνη και φλεγμονώδη πρωτεΐνη των μακροφάγων 1α (49, 51, 55-57, 68)

1.11 ΒΑΣΠΙΝΗ (VASPIN)

1.11.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες αναζήτησης νέων λιποκινών. Στα πλαίσια της ερευνητικής αυτής προσπάθειας, η προερχόμενη από τον σπλαγχνικό λιπώδη ιστό σερπίνη (βασπίνη) (vaspin) έχει κερδίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών μετά την παρατήρηση ότι η έκφρασή της στο λιπώδη ιστό σχετίζεται με επιδείνωση μεταβολικών παραμέτρων για την παχυσαρκία στους επίμυες (69).

Η βασπίνη θεωρείται από πολλές ερευνητικές ομάδες ως ένα πολλά υποσχόμενο από θεραπευτικής άποψης στόχο. Χορήγηση βασπίνης σε παχύσαρκους επίμυες βελτιώνει την ανοχή γλυκόζης, την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μεταβάλλει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ινσουλινοαντίσταση (69).

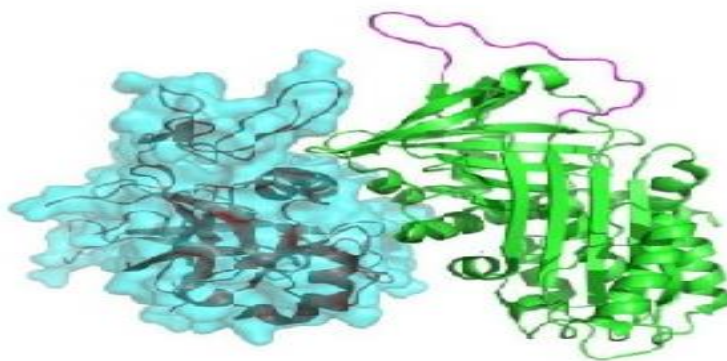
Η βασπίνη ως αναστολέας της πρωτεάσης της σερίνης, αποτελεί κι αυτή μια λιποκίνη, η οποία βρίσκεται στο λιπώδη ιστό. Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι εμποδίζει την έκφραση ICAM-1 που επάγεται από τον TNF-α, μέσω της ανασταλτικής επίδρασής στο μόριο NF-KB (70).

1.11.2 Σύσταση – Θέσεις παραγωγής

Η βασπίνη ταυτοποιήθηκε σα σερπίνη A12 και ανήκει στην οικογένεια των αναστολέων της πρωτεάσης της σερίνης. Η ανθρώπινη βασπίνη αποτελείται από 395 αμινοξέα (71, 72).(εικόνα 4)

Το γονίδιο της βασπίνης στον άνθρωπο έχει βρεθεί να εκφράζεται στον λιπώδη ιστό(73)τον στόμαχο (74)το πάγκρεας και το ήπαρ (75).

Σε αδύνατα άτομα το mRNA της βασπίνης στο σπλαγχνικό και υποδόριο λιπώδη ιστό είναι μη ανιχνεύσιμο, ενώ η πιθανότητα ανίχνευσης του στο σπλαγχνικό λιπώδη ιστό αυξάνεται από τα υπέρβαρα στα παχύσαρκα άτομα καθώς και σε ασθενείς με ΣΔ2 και έχει σχετισθεί με τον BMI, το ποσοστό σωματικού λίπους και τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος μετά το τεστ ανεκτικότητας της γλυκοζης, ενώ δεν σχετίστηκε με την έκφραση της βασπίνης στο υποδόριο λίπος (73). Περαιτέρω ανάλυση της έκφρασης του mRNA της βασπίνης σε λιποκύτταρα και αγγειακά κύτταρα του στρώματος αποκάλυψε έκφραση της βασπίνης στα κύτταρα του στρώματος καθώς και σε προλιποκύτταρα και ώριμα λιποκύτταρα ανθρώπινου λιπώδους ιστού(76)



Εικόνα 3: Δομή βασπίνης στο χώρο(69)

1.11.3 Μηχανισμός δράσης

Οι σερπίνες αναστέλλουν την πρωτεάση της σερίνης με έναν μοναδικό μηχανισμό «αυτοκτονίας». Περιέχουν μια αντιδρώσα κεντρική αγκύλη (Reactive Centre Loop – RCL) που παίζει ρόλο ψευδοπροστρώματος για την πρωτεάση-στόχο. Η αλληλουχία των αμινοξέων της αγκύλης καθορίζει ποια πρωτεάση της σερίνης θα ανασταλεί από την σερπίνη. Η πρόσδεση της πρωτεάσης στο σύμπλεγμα RCL

επάγει αλλαγές στη στερεοτακτική διάταξη της σερπίνης, η οποία έτσι προκαλεί αποδόμηση της πρωτεΐνης και απενεργοποίησή της (69).

1.11.4 Βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα κυκλοφορούντα επίπεδα βασπίνης

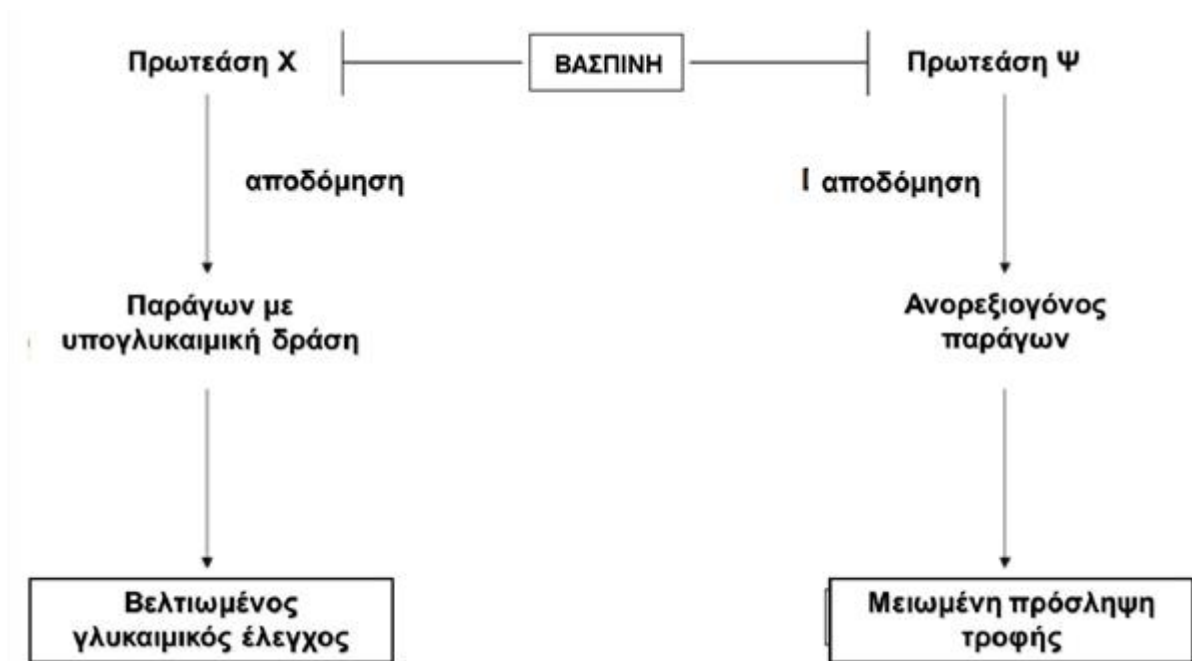
Τα επίπεδα της βασπίνης φαίνεται ότι επηρεάζονται από μια πληθώρα βιολογικών παραγόντων. Αναφορικά με το φύλο, Διάφορες ερευνητικές ομάδες βρήκαν ένα φυλετικό διμορφισμό της κυκλοφορούσας βασπίνης, με τα υψηλότερα επίπεδα να συναντώνται σε αδύνατα, υγιή θήλεα άτομα σε σχέση με τα άρρενα(77, 78). Μια πιθανή εξήγηση γι αυτό είναι η ανασταλτική δράση των ανδρογόνων ή ακόμη και η ευεργετική δράση των οιστρογόνων στην έκφραση του γονιδίου της βασπίνης(75). Δεδομένα που προκύπτουν από ερευνητικές μελέτες, φαίνεται να επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση του φύλου με τα επίπεδα της βασπίνης στον ορό, καθώς όπως φαίνεται, μετά την ήβη στα θήλεα, τα επίπεδα βασπίνης στον ορό τους αρχίζουν να υπερέχουν έναντι των επιπέδων στα άρρενα(75). Επιπλέον, βρέθηκε ότι σε αδύνατα υγιή άτομα με φυσιολογική ανοχή γλυκόζης η συγκέντρωση της βασπίνης ορού σχετίζεται θετικά με την ηλικία(77, 79)

Τα επίπεδα της βασπίνης στον ορό ακολουθούν μια νυχθημερινή διακύμανση, με μεγιστοποίηση νωρίς το πρωί και ναδίρ στο μέσο του απογεύματος, ακολουθούμενο από αύξηση κατά τη διάρκεια της νύχτας(80). Η διακύμανση αυτή επηρεάζεται σαφώς από τα γεύματα, με σημαντική πτώση των επιπέδων βασπίνης μεταγευματικά(80). Τα επίπεδα βασπίνης δεν διέφεραν μεταξύ υγιών και ατόμων που έπασχαν από ΧΝΑ και υπόκειντο σε αιμοκάθαρση, γεγονός ενδεικτικό ότι, σε αντίθεση με την αδιπνονεκτίνη, τη λεπτίνη και τη βισφατίνη, που αποβάλλονται από τους νεφρούς, για τη βασπίνη η νεφρική οδός δεν αποτελεί την κύρια οδό απέκκρισης(79)

1.11.5 Ρόλος στην πρόσληψη τροφής και τον μεταβολισμό γλυκόζης

Όπως αναφέρθηκε, τα επίπεδα της βασπίνης είναι αυξημένα σε κατάσταση νηστείας και μειώνονται μεταγευματικά(80), σε αναλογία με τα επίπεδα της γκρελίνης και αντίστροφα από τα επίπεδα της γλυκόζης και της ινσουλίνης. Αυτοί οι συσχετισμοί οδήγησαν στην διατύπωση της υπόθεσης ότι η βασπίνη πιθανώς διαδραματίζει κάποιον ρόλο στην πρόσληψη της τροφής και την ρύθμιση του

μεταβολισμού. Σε συμφωνία με αυτή την υπόθεση βρέθηκε ότι η βασπίνη εκφράζεται στον υποθάλαμο διαφόρων μοντέλων τρωκτικών(74, 81) και ανιχνεύεται στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό υγιών ατόμων(74). Επιπλέον, τόσο η κεντρική όσο και η περιφερική χορήγηση μείωσε οξέως την πρόσληψη τροφής σε επίμυες(74, 81) εύρημα που επιβεβαιώθηκε και σε μοντέλα αρουραίων(81). Όλα τα ανωτέρω συνηγορούν ότι, η βασπίνη είναι μια λιποκίνη που διεγείρει ανορεξικά μεταβολικά μονοπάτια στον υποθάλαμο, όπου η ελάττωση των επιπέδων mRNA του νευροπεπτιδίου Υ σε συνδυασμό με την αύξηση των επιπέδων mRNA της προοπιομελανοκορτίνης (POMC) διαμεσολαβούν την αναστολή πρόσληψης τροφής(81). Παρότι ο μηχανισμός μέσω του οποίου η βασπίνη ρυθμίζει την διατροφική συμπεριφορά δεν είναι σαφής, έχει προταθεί ότι η βασπίνη αναστέλλει μια πρωτεάση η οποία αποδομεί κάποιον αντιορεξιογόνο παράγοντα(74) (σχήμα 2).



Σχήμα 2: Προτεινόμενος όλος της βασπίνης στην πρόσληψη τροφής και τον γλυκαιμικό έλεγχο. Η βασπίνη αναστέλλοντας μια άγνωστη επί του παρόντος πρωτεάση Χ προλαμβάνει την αποδόμηση κάποιου υποτιθέμενου παράγοντα με υπογλυκαιμική δράση με συνέπεια βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου. Με αντίστοιχο μηχανισμό, η αναστολή μιας πρωτεάσης Ψ αποτρέπει την αποδόμηση κάποιου ανορεξιογόνου παράγοντα, προκαλώντας μειωμένη όρεξη και συνεπώς μειωμένη πρόσληψη τροφής.

1.11.6 Ρόλος στην παχυσαρκία και άλλες μεταβολικές διαταραχές

Συνολικά η βασπίνη θεωρείται μια λιποκίνη που επάγει την ευαισθησία στην ινσουλίνη(69, 82). Όπως προαναφέρθηκε, η χορήγηση ανασυνδυασμένης βασπίνης σε επίμυες(69, 74), βελτίωσε την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την ανοχή γλυκόζης και επανέφερε στο φυσιολογικό την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ινσουλινική αντίσταση, όπως της λεπτίνης, ρεζιστίνης, αδιπονεκτίνης, του παράγοντα νέκρωσης όγκου -α (TNF-α) και του μεταφορέα γλυκόζης-4 (GLUT-4)(69),δημιουργώντας προσδοκίες ότι η ανασυνδυασμένη βασπίνη ή παράγοντες που θα μιμούνται τη δράση της (ανάλογα βασπίνης) μπορεί να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για την αντιμετώπιση του μεταβολικού συνδρόμου και των νοσημάτων που σχετίζονται μ' αυτό.

Η έκφραση της βασπίνης έχει σχετισθεί με τον ΔΜΣ, το ποσοστό σωματικού λίπους και τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος σε OGTT(73). Τα επίπεδα της στον ορό έχουν αναφερθεί αυξημένα, πιθανώς σε μια προσπάθεια αντιστάθμισης από τον οργανισμό, σε ασθενείς με παχυσαρκία και άλλα μεταβολικά νοσήματα που σχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη(50, 73, 77, 83). Ακόμη και στα παιδιά, τα επίπεδα βασπίνης ορού φαίνονται να αυξάνονται με την επιδείνωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, ενώ ελαττώθηκαν οξέως σε εφήβους με αντίσταση στην ινσουλίνη που υποβλήθηκαν σε διέγερση με γλυκόζη, ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι παχυσαρκίας(75). Ενδιαφέρον προξενεί επίσης το γεγονός ότι η συσχέτιση των επιπέδων βασπίνης ορού με το φύλο και τον ΔΜΣ χάνεται σε παχύσαρκα άτομα με χρόνια μεταβολικά και καρδιαγγειακά νοσήματα(84, 85), ενώ το ίδιο συμβαίνει και ανάμεσα στην κυκλοφορούσα βασπίνη και παραμέτρους παχυσαρκίας και ευαισθησίας στην ινσουλίνη σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χρόνια αιμοκάθαρση(79). Από την άλλη, η κυκλοφορούσα βασπίνη συσχετίσθηκε ισχυρά με τα επίπεδα λεπτίνης ορού, στηρίζοντας την άποψη ότι τα επίπεδα βασπίνης αντανακλούν τον όγκο της λιπώδους μάζας στο σώμα(77) (109). Ο πολυμορφισμός rs2236242 του γονιδίου της βασπίνης έχει σχετισθεί με την εμφάνιση ΣΔ2 σε ανθρώπους(86) (120). Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι ο γονότυπος AA σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ ανεξάρτητα από την ύπαρξη παχυσαρκίας και πρότειναν το γονίδιο της βασπίνης σαν υποψήφιο για διαταραγμένο μεταβολισμό της γλυκόζης(86). Η χορήγηση μετορμίνης ή

συνδυασμού μετφορμίνης/ροσιγλιταζόνης μείωσε σημαντικά τα επίπεδα βασπίνης σε ασθενείς με ΣΔ2 που δεν είχαν λάβει προηγουμένως αντιδιαβητική αγωγή (50, 87). Στις μελέτες αυτές, ο βελτιωμένος μεταβολισμός της γλυκόζης και η βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη ήταν οι ισχυρότεροι παράγοντες πρόβλεψης των μεταβολών των επιπέδων βασπίνης ορού. Υπέρβαρες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) έχουν υψηλότερα επίπεδα βασπίνης ορού από υγιείς μάρτυρες(83) (114). Η λήψη γλυκόζης στις γυναίκες αυτές αυξάνει την έκκριση βασπίνης από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό, ενώ κι εδώ η χορήγηση μετφορμίνης ελαττώνει τα επίπεδα της λιποκίνης στον ορό(83). Με βάση αυτά τα δεδομένα, πιθανολογείται θετικός ρόλος της βασπίνης στην γονιμότητα μέσω μείωσης της ινσουλινικής αντίστασης (88).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ, ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ, ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

2.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Η ύλη αποτελείται από άτομα και μόρια τα οποία περιέχουν ζεύγη ηλεκτρονίων τοποθετημένα σε στοιβάδες. Κάθε ζεύγος κινείται σε καθορισμένη περιοχή που ονομάζεται ατομικό ή μοριακό τροχιακό αντίστοιχα. Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε μόριο ή άτομο στοιχείου ή χημικής ένωσης που περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η δημιουργία της προκαλείται είτε με την προσθήκη είτε με την απώλεια ενός ηλεκτρονίου από την εξωτερική ηλεκτρονιακή στοιβάδα(89). Η πιο απλή ελεύθερη ρίζα είναι το άτομο του υδρογόνου που αποτελείται από ένα πρωτόνιο και ένα ηλεκτρόνιο. Κατά την απεικόνιση, τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια παριστάνονται συνήθως με μία τελεία πάνω και δεξιά ή αριστερά από τον χημικό τύπο της ελεύθερης ρίζας. Τα ηλεκτρόνια κάθε ζεύγους περιστρέφονται γύρω από τον εαυτό τους σε αντίθετες κατευθύνσεις (spin). Το γεγονός αυτό προσδίδει σταθερότητα και διατηρεί το άτομο ή μόριο σε χαμηλή ενεργειακή κατάσταση καθιστώντας το λιγότερο δραστικό. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια της εξωτερικής στοιβάδας μένουν ασύζευκτα περιστρέφονται προς την ίδια κατεύθυνση με αποτέλεσμα το άτομο ή μόριο να βρίσκεται σε μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση, να εμφανίζει αστάθεια και να έχει μεγαλύτερη τάση να αντιδράσει με άλλα μόρια. Η έντονη έλξη που ασκεί ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στα ηλεκτρόνια γειτονικών ατόμων ή μορίων προκαλεί χημικές αντιδράσεις με επακόλουθο την μεταφορά ηλεκτρονίων. Οι αντιδράσεις αυτές λέγονται οξειδοαναγωγικές (redox). Οξειδωση χαρακτηρίζεται η απώλεια ηλεκτρονίων από ένα άτομο ενώ αναγωγή η προσάρτησή τους σε αυτό.

Τα προϊόντα εκείνα που δημιουργούνται με αυτόν τον τρόπο ονομάζονται ελεύθερες ρίζες ή παράγοντες οξειδωσης. Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από το οξυγόνο (ΔΜΟ) ή (ROS), αποτελούν την πιο σημαντική ομάδα ελεύθερων ριζών που υπάρχει στους ζώντες οργανισμούς. Ένα χαρακτηριστικό των ελεύθερων ριζών είναι η τάση τους να προσφέρουν τα ηλεκτρόνιά τους σε άλλα μόρια, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την οξειδωτική τους καταστροφή(72).

Το μοριακό οξυγόνο παίζει ουσιαστικό ρόλο σε πολλές μεταβολικές διαδικασίες που σχετίζονται με την αερόβιο ζωή. Ένα μέρος του ωστόσο αντιδρά με ηλεκτρόνια, παράγοντας ελεύθερες ρίζες που μπορεί να αποβούν καταστροφικές για τα κύτταρα. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως το «παράδοξο του οξυγόνου».

Στην κατάσταση αυτή οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά δραστικές και ασταθείς και εισέρχονται σε αντιδράσεις με οργανικά ή ανόργανα στοιχεία: πρωτεΐνες, υδρογονάνθρακες, λιπίδια και ιδιαίτερα με μόρια «κλειδιά» των μεμβρανών και των νουκλεϊκών οξέων. Επιπλέον δίνουν το έναυσμα για αυτοκαταλυτικές αντιδράσεις, ενώ και τα μόρια με τα οποία αντιδρούν μετατρέπονται επίσης σε ελεύθερες ρίζες με αποτέλεσμα να επεκτείνεται η αλυσίδα των βλαβών(51). Οι σημαντικότερες ρίζες οξυγόνου είναι το υπεροξειδίο (O_2^-), το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το υδροξύλιο (OH^-), καθώς και το μονήρες οξυγόνο (1O_2). Ο σχηματισμός ενεργών ριζών οξυγόνου και οι κύριοι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί των βιολογικών συστημάτων απεικονίζονται στην εικόνα 2. Οι αντιδράσεις που καταλύονται από τα κύρια αντιοξειδωτικά ένζυμα απεικονίζονται στον πίνακα 3. Επίσης στο σχήμα 4 απεικονίζονται συγκεντρωτικά όλα τα οξειδωτικά μονοπάτια.

Μονοξειδίο του αζώτου (NO)

Το μονοξειδίο του αζώτου (NO), είναι μια ελεύθερη ρίζα, που συντίθεται από L-αργινίνη μέσω της συνθάσης του NO. Η χημεία του είναι περίπλοκη. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να αντιδρά άμεσα και ευθέως με συμπλέγματα μετάλλων, ελεύθερες ρίζες ή λιπίδια(90). Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, λαμβάνουν χώρα άλλες έμμεσες αντιδράσεις, που μεσολαβούνται από ενεργές ρίζες του μονοξειδίου του αζώτου και του υπεροξυνιτρώδους(91).

Μονήρες οξυγόνο(1O_2)

Η οξειδωτική ικανότητα του οξυγόνου αυξάνεται μετά τη μετακίνηση του ενός από τα δυο ασύζευκτα ηλεκτρόνια του, σε μία άλλη στοιβάδα σχηματίζοντας το μονήρες οξυγόνο (1O_2)(92). Το μονήρες οξυγόνο (1O_2), το οποίο έχει μεγάλη ικανότητα αντίδρασης με άλλες ουσίες, δημιουργείται από την ενέργεια του φωτός και την παρουσία ορισμένων χρωμάτων, καθώς επίσης και με τη βοήθεια των

ενζύμων. Αφαιρώντας ένα ηλεκτρόνιο από άλλες ενώσεις με τις οποίες αντιδρούν, τις μετατρέπουν σε ελεύθερες ρίζες(92).

Σουπεροξειδίο ($O_2^{\cdot-}$)

Μετά τη μετάβαση του οξυγόνου στην διεγερμένη μορφή του μονήρους οξυγόνου, η αναγωγή του με ένα ηλεκτρόνιο γίνεται ευκολότερα παράγοντας το σουπεροξειδίο ($O_2^{\cdot-}$)(93).

Το σουπεροξειδίο είναι ανιόν και επειδή έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο είναι ελεύθερη ρίζα και έχει παραμαγνητικές ιδιότητες.

Ο ρόλος του είναι σημαντικός διότι από αυτό παράγονται πολλές δραστικές μορφές οξυγόνου. Η μεταφορά του ασύζευκτου ηλεκτρονίου του σουπεροξειδίου μπορεί να γίνει σε πολλά υποστρώματα καθώς και σε ένα άλλο μόριο του σουπεροξειδίου. Σε περιβάλλον με ουδέτερο p H, δύο μόρια σουπεροξειδίου σχηματίζουν το υπεροξειδίο του υδρογόνου. (H_2O_2)(93).

Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2)

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) είναι δραστική μορφή του οξυγόνου χωρίς να είναι ελεύθερη ρίζα(94). Δεν έχει ασύζευκτα ηλεκτρόνια και δεν έχει ηλεκτρικό φορτίο. Για το λόγο αυτό διαπερνά ελεύθερα την κυτταρική μεμβράνη. Έχει μεγαλύτερη σταθερότητα από το σουπεροξειδίο και μπορεί να δράσει σε μεγαλύτερη απόσταση από τον τόπο παραγωγής του. Προέρχεται από την αναγωγή του οξυγόνου με δύο ηλεκτρόνια.

Στα βιολογικά συστήματα το υπεροξειδίο του υδρογόνου παράγεται υπό την επίδραση των ενζύμων. Η παραγωγή του γίνεται στις βιοχημικές αντιδράσεις που καταλύονται κυρίως από σουπεροξειδική δυσμουτάση, αλλά και από οξειδάση του ουρικού, οξειδάση της γλυκόζης και οξειδάση των D-αμινοξέων(95).

Το H_2O_2 απομακρύνεται από αντιοξειδωτικά ενζυμικά συστήματα, όπως τις καταλάσες, τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης και τις υπεροξειδοξίνες (peroxiredoxins).

Αρχικά μελετήθηκε το υπεροξειδίο του υδρογόνου ως τοξικός παράγων, λόγω ότι μεγάλες συγκεντρώσεις του προκαλούν κυτταρόσταση, απόπτωση ή/και νέκρωση

σε καλλιέργειες κυττάρων(96). Πρόσφατες μελέτες τεκμηρίωσαν την συσχέτιση της διέγερσης παραγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου με την παρουσία αυξητικών παραγόντων, κυτταροκινών και άλλων μορίων. Αυξημένη παραγωγή H_2O_2 (ή ROS γενικά) έχει διαπιστωθεί μετά από επίδραση του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (VEGF)(97), του PDGF(98), του TGF- β (99, 100), της ενδοθηλίνης-1 (endothelin-1)(101), της αγγειοτενσίνης II(102), του TNF- α (103), της βραδυκινίνης(104), της θρομβίνης(105), της ισταμίνης(106), της IFN- γ και της IL 1(107). Διαπιστώθηκε ενεργή συμμετοχή του H_2O_2 στην οξειδοαναγωγική μεταβίβαση σημάτων στα κύτταρα(108), στην κυτταρική γήρανση(109), στις διαδικασίες της αγγειογένεσης(110), σε κακοήθεις νεοπλασίες(111) κ.α. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσοποιητική απάντηση εναντίον διαφόρων παθογόνων οργανισμών και στην φαγοκυττάρωση. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου με την ικανότητα του να οξειδώνει της ομάδες -SH των πρωτεϊνών, ρυθμίζει την ενεργότητα διαφόρων ενζύμων.

Υδροξυλική ρίζα (OH \cdot)

Η υδροξυλική ρίζα είναι η δραστική μορφή του οξυγόνου με τη μεγαλύτερη οξειδωτική ικανότητα(89). Είναι εξαιρετικά τοξική, επειδή μπορεί να οξειδώσει σχεδόν όλα τα βιομόρια που βρίσκονται πολύ κοντά στον τόπο παραγωγής της.

Η αφαίρεση υδρογόνου από τα λιπίδια των μεμβρανών (RH) έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ριζών με κέντρο τον άνθρακα (R \cdot) και την έναρξη της λιπιδικής υπεροξειδωσης.

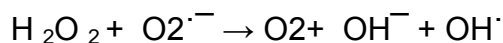
Η παραγωγή της υδροξυλικής ρίζας γίνεται υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο νερό (ραδιόλυση ή ιοντισμού του νερό).

Ο Fenton έδειξε ότι το αναγωγικό αντιδραστήριο Fe^{2+} στην παρουσία του H_2O_2 μπορούσε να οξειδώσει μερικές οργανικές ενώσεις(112). Η παραγωγή της υδροξυλικής ρίζας από το υπεροξείδιο του υδρογόνου με τη βοήθεια του σιδήρου γίνεται στην αντίδραση Fenton:



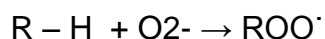
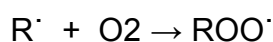
Τα ιόντα του σιδήρου είναι στενά συνδεδεμένα με πρωτεΐνες όπως είναι η φερριτίνη.

Ο σίδηρος και γενικότερα τα μέταλλα διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό ριζών του υδροξυλίου από υπεροξειδίο του υδρογόνου και ανιόν σουπεροξειδίο καταλύοντας την αντίδραση:



Υπεροξειδικές ρίζες (ROO[·])

Οι υπεροξειδικές ρίζες (ROO[·]) σχηματίζονται από τη αντίδραση του οξυγόνου με οργανικές ελεύθερες ρίζες ή από την αντίδραση των οργανικών ενώσεων με σουπεροξειδίο.



Οι υπεροξειδικές ρίζες (ROO[·]) αφαιρούν άτομα υδρογόνου από τα λιπίδια και προωθούν τη λιπιδική υπεροξειδωση(113). Με αυτόν τον τρόπο καταστρέφουν τις κυτταρικές μεμβράνες.

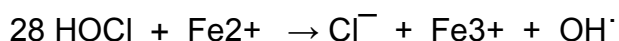
Η διάσπαση του δεσμού οξυγόνου-οξυγόνου (O-O) οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, οι οποίες είναι πολύ πιο τοξικές από τις υπεροξειδικές ρίζες (ROO[·]). Ιόντα μεταβατικών μετάλλων στην αναγωγική τους μορφή (Fe²⁺ και Cu⁺) καταλύουν την διάσπαση των ROOH και παράγουν αλκοξυλικές ρίζες (RO[·]):

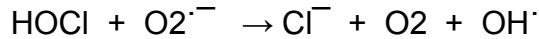


Η διάσπαση αυτή είναι παρόμοια με την αντίδραση Haber Weiss και Fenton. Τελικό προϊόν της λιπιδικής υπεροξειδωσης είναι η μαλονική διαλδεΰδη (MDA) που είναι ένας καλός δείκτης του οξειδωτικού στρες.

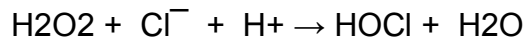
Υποχλωριώδες οξύ (HOCl)

Το υποχλωριώδες οξύ (HOCl) είναι ένα ασθενές οξύ με πολύ μεγάλη χημική δραστηριότητα. Ο Candeiias το 1993 έδειξαν ότι από το HOCl με την παρουσία σιδήρου και σουπεροξειδίου παράγεται η ισχυρή ρίζα του υδροξυλίου(114).



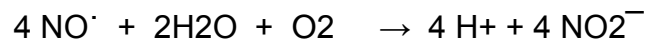


Τα ουδετερόφιλα περιέχουν ένα ένζυμο την μυελοπεροξειδάση(115) η οποία βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Όταν γίνεται η ενεργοποίησή τους για την έναρξη της φαγοκυττάρωσης η μυελοπεροξειδάση καταλύει την αντίδραση σχηματισμού του HOCl από H₂O₂ και Cl⁻.



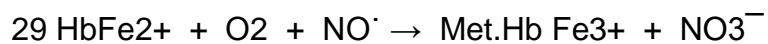
Μονοξειδίο του αζώτου

Το NO[·] είναι άχρωμο αέριο, διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες. Δεν έχει ηλεκτρικό φορτίο είναι σταθερό και διαχέεται γρήγορα μέσα στα κύτταρα αλλά και μεταξύ των κυττάρων. Το NO[·] έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και επομένως είναι ελεύθερη ρίζα. Μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο σχηματίζοντας NO₂⁻.



Το 1998, οι R. Furchgott και L. Ignarro τιμήθηκαν με βραβείο Nobel όταν έδειξαν, ότι το μονοξειδίο του αζώτου είναι ο ενδοθηλιακός αγγειοδιασταλτικός παράγον (EDRF)^{41,42}. Το NO[·] παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, από κύτταρα του εγκεφάλου και από τα φαγοκύτταρα με την αντίδραση μετατροπής της L αργινίνης σε L-κίτρουλλίνη. Τα ένζυμα που καταλύουν την αντίδραση αυτή είναι οι συνθάσες του οξειδίου του αζώτου (NOS)(116). Η κατάλυση της οξειδωσης γίνεται με δύο διαδοχικές αντιδράσεις.

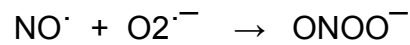
Στα αγγεία το NO[·] αντιδρά αμέσως με την οξυαιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων και σχηματίζει μεθαιμοσφαιρίνη και NO₃⁻.



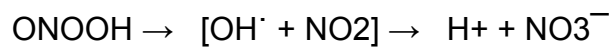
Έτσι η αιμοσφαιρίνη στα ερυθροκύτταρα και σε μικρότερο βαθμό η μυοσφαιρίνη στο μυϊκό ιστό εξουδετερώνουν κατά κάποιο τρόπο το NO[·] που παράγεται τοπικά.

Όταν το NO[·] παράγεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονής ή ενός τραύματος, ενώνεται με το O₂⁻, που παράγεται παράλληλα με

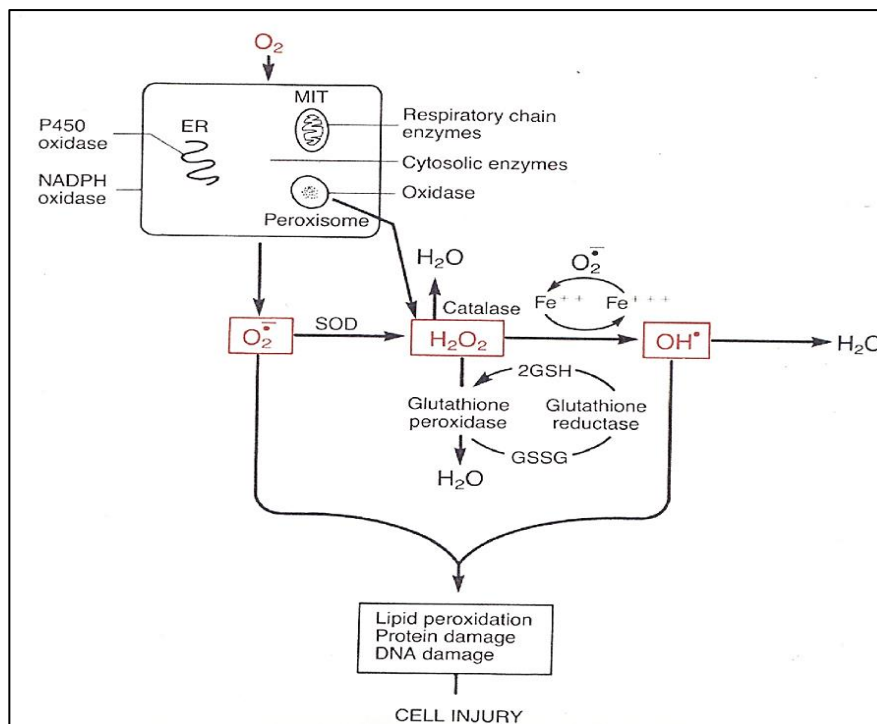
αυτό, και σχηματίζει το υπεροξυνιτρώδες (ONOO^-) που είναι μια άλλη ελεύθερη ρίζα και ισχυρό οξειδωτικό φορτίο(116).



Το υπεροξυνιτρώδες οξύ (ONOOH , $\text{pK}_a=6,8$) αποσυντίθεται γρήγορα σε pH 7,4 και 37°C και σχηματίζει ενδιάμεσα προϊόντα που έχουν κυτταροτοξική δράση παρόμοια με την υδροξυλική ρίζα.



Υπάρχουν πειράματα που δείχνουν ότι το NO μπορεί και να έχει προστατευτικό ρόλο εναντίον της τοξικής δράσης του σουπεροξειδίου(106).



Εικόνα 4. Σχηματισμός ενεργών ριζών οξυγόνου και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί των κυττάρων

Πίνακας 3: Σχηματική αναπαράσταση των αντιδράσεων που καταλύονται από τα κυριότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Οι αντιδράσεις παρουσιάζονται προς την κατεύθυνση που οδηγεί σε απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου.(Qo: οξειδωμένη κινόνη, QH₂: ανηγμένη κινόνη, GSSG: οξειδωμένη γλουταθειόνη, GSH ανηγμένη γλουταθειόνη, T(SS): οξειδωμένη θειοοξειδάση, T(SH)₂: ανηγμένη θειοοξειδάση)

Ένζυμο	Καταλυόμενη αντίδραση
Δισμουτάση του υπεροξειδίου	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Κατάλαση	$2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$
Διαφοράση	$Q^o + NAD(P)H + H^+ \rightarrow QH_2 + NAD(P)^+$
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης	$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2 H_2O$
Αναγωγάση της γλουταθειόνης	$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP^+$
Αναγωγάση της θειοοξειδάσης	$T(SS) + NADPH + H^+ \rightarrow T(SH)_2 + NADP^+$

ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.

Ελεύθερες ρίζες παράγονται συνεχώς σαν διαδικασία της φυσιολογικής αερόβιας ζωής στον ανθρώπινο οργανισμό προερχόμενες τόσο από ενδογενείς όσο και από εξωγενείς πηγές. Αναφορικά με τις ενδογενείς πηγές, παρατηρείται παραγωγή σε όλα τα κυτταρικά διαμερίσματα τα οποία χρησιμοποιούν οξυγόνο για την λειτουργία τους. Οι κύριες πηγές παραγωγής ΔΜΟ σε επίπεδο κυττάρου είναι:

i. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση

Οξειδωτική φωσφορυλίωση είναι η θεμελιώδης διαδικασία παραγωγής ενέργειας στο κύτταρο που διεξάγεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και θεωρείται η σημαντικότερη ενδογενής πηγή ΔΜΟ(117).

Κατά την διάρκειά της, το O₂ ανάγεται σε H₂O μέσω της οξείδωσης του NADH και της μεταφοράς ηλεκτρονίων διαμέσου των συμπλεγμάτων I-IV της

αναπνευστικής αλυσίδας. Η ενέργεια που εκλύεται καταλήγει στον σχηματισμό ATP.

Η παραγωγή ΔΜΟ στα μιτοχόνδρια αποτελεί παραπροϊόν του βασικού κυτταρικού μεταβολισμού. Υπολογίζεται ότι το 1-3% των ηλεκτρονίων που μετέχουν στην αναπνευστική αλυσίδα «διαφεύγουν» και σχηματίζουν σουπεροξειδίο, το οποίο θεωρείται η «πρωταρχική» ελεύθερη ρίζα. Αυτή στη συνέχεια μπορεί να αντιδράσει με άλλα μόρια είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω ενζυμικών ή μεταλλοκαταλυόμενων αντιδράσεων για να σχηματίσει «δευτερογενείς» ρίζες(118)

ii. Το σύστημα των NADPH οξειδασών (NOX).

Οι NADPH οξειδάσες είναι μια οικογένεια ενζύμων που αποτελείται μέχρι σήμερα από 7 γνωστά ισόμορφα και είναι κατανεμημένες σε μια ποικιλία ιστών. Πρόκειται για πρωτεΐνες συνδεδεμένες σε μεμβράνες που πρωταρχικό ρόλο έχουν να καταλύουν την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου μεταφέροντας ηλεκτρόνια και να παράγουν σουπεροξειδίο ως κύριο προϊόν.



Με αυτό τον τρόπο συμμετέχουν σε διαδικασίες όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, η αύξηση, ο πολλαπλασιασμός, η απόπτωση, η μετανάστευση, η ρύθμιση του κυτταροσκελετού, η σύσπασση. Οι διάφορες isoμορφές διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την κατανομή στους ιστούς, την δομή του κύριου τμήματος, τις υπομονάδες και τον τρόπο ενεργοποίησης(119, 120)

Η NOX2 isoμορφή, αποτελεί την κύρια φαγοκυτταρική NADPH οξειδάση με βασικό ρόλο την παραγωγή σουπεροξειδίου για την καταστροφή των βακτηρίων. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις εμφανίζεται και σε άλλους ιστούς όπως στα μυοκαρδιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, στους νευρώνες, στα β-κύτταρα του παγκρέατος.

Η NOX1 βρίσκεται στο επιθήλιο του κόλον καθώς και σε άλλα επιθήλια, στο ενδοθήλιο, στις λείες μυϊκές ίνες, στους ινοβλάστες και στη μικρογλοία. Η NOX3 στο έσω ους, η NOX4 στους νεφρούς και σε όλα τα κύτταρα των

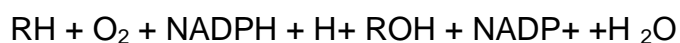
αγγείων, ινοβλάστες, οστεοκλάστες, νευρώνες και η NOX5 στο λεμφικό ιστό και τους όρχεις. Στο θυρεοειδή αδένια έχουν ανιχνευθεί οι DUOX1 και DUOX2 (dual oxidase 1 και 2) που παρουσιάζουν δομικές ομοιότητες και δράση ανάλογη με τις NOX. Ενεργοποιούνται από το Ca²⁺ όπως η NOX5. Η έκφραση των NADPH οξειδασών ρυθμίζεται σε επίπεδο μεταγραφής τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις(121).

iii. Υπεροξειδιοσώματα (Peroxisomes).

Αποτελούν κυτταρικά σωματίδια που περιέχουν εξειδικευμένα ένζυμα υπεύθυνα για οξειδωτικές αντιδράσεις, ιδιαίτερα την β-οξειδωση της μακράς αλυσίδας των λιπαρών οξέων και επομένως συνιστούν ενδογενή πηγή ΔΜΟ, κυρίως υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Όμως τα μικρά αυτά μεμβρανικά κυστίδια εκτός από τις οξειδάσες περιέχουν και καταλάση που αποδομεί το υπεροξειδίο διατηρώντας την οξειδοαναγωγική τους ισορροπία. Όταν καταστραφούν ή μειωθεί το αντιοξειδωτικό τους αποθεματικό, απελευθερώνουν τις ελεύθερες ρίζες στο κυτταρόπλασμα(122)

iv. Το σύστημα του κυτοχρώματος CYP450.

Η δράση των ενζύμων του κυτοχρώματος αποτελεί μία σημαντική πηγή παραγωγής ROS στο κύτταρο. Η πιο κοινή αντίδραση που καταλύεται από το CYP450 είναι μια αντίδραση μονοοξυγενάσης κατά την οποία ένα άτομο O₂ οξειδώνει το υπόστρωμα (RH) ενώ το άλλο ανάγεται σε H₂O μέσω του NADPH σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Ωστόσο η ολοκληρωμένη διεξαγωγή της παραπάνω αντίδρασης υπολείπεται για τα περισσότερα ένζυμα του κυτοχρώματος και συμβαίνει να καταναλώνεται αναλογικά περισσότερο O₂ σε σύγκριση με το υπόστρωμα με αποτέλεσμα την παραγωγή ROS(123)

v. Το ενδοπλασματικό δίκτυο.

Το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι ένας κυτταρικός σχηματισμός απαραίτητος για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών μέσω θειολικών δεσμών. Το γεγονός αυτό απαιτεί την ενεργοποίηση καταλυτών που κατευθύνουν κατάλληλα τις

αντιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών αλλά ευνοούνται σε ένα σχετικά οξειδωτικό περιβάλλον(124, 125). Έχει εκτιμηθεί πως η παραγωγή του 25% των ΔΜΟ του κυττάρου προέρχεται από τον σχηματισμό δισφουλφιδικών δεσμών κατά την αναδίπλωση των πρωτεϊνών(126)

vi. Δράση ενζύμων.

Πρόκειται για οξειδάσες και οξυγενάσες όπως η λιποξυγενάση, η μυελοπεροξειδάση, οι μονοοξυγενάσες η συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου, η ξανθινική οξειδάση που γεννούν ΔΜΟ κατά την εξέλιξη του ενζυματικού τους κύκλου(127)

vii. Αυτοοξειδωση βιομορίων.

Σε αυτά ανήκουν οι κατεχολαμίνες, οι θειόλες, το τετραϋδροφολικό και η αιμοσφαιρίνη που μπορούν να αυτοοξειδωθούν σχηματίζοντας σουπεροξειδίο(128-130)

ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται διάφοροι, ετερογενείς παράγοντες όπως είναι η ατμοσφαιρική ρύπανση(131), ο καπνός του τσιγάρου(132), η ηλιακή και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία(133, 134), αλλά και η άσκηση(135) Πολλά φάρμακα, επίσης, ευθύνονται για την παραγωγή ελευθέρων ριζών αλλά και άλλες ξενοβιοτικές ουσίες όπως τοξίνες, εντομοκτόνα και το αλκοόλ. Η διατροφή μπορεί επίσης να παίξει σημαντικό ρόλο(89, 136, 137).

2.1.1 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ

Οι ελεύθερες ρίζες έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση της ζωής στη γη όταν, με την μεσολάβηση ελευθέρων ριζών, σχηματίστηκαν τα πρώτα αμινοξέα και νουκλεοτίδια από ανόργανα συστατικά πριν 3.5-4.000.000 χρόνια(138). Στη συνέχεια η παραγωγή του οξυγόνου ως προϊόν μεταβολισμού των κυανοβακτηρίων και η τοξική του δράση στους αναερόβιους οργανισμούς αποτέλεσε πίεση επιλογής για την ανάπτυξη μηχανισμών εξουδετέρωσης, για την εξέλιξη σε πολυκύτταρες δομές, με κύρια πηγή ενέργειας τα μιτοχόνδρια και παράλληλα οδήγησε την ζωή από τα βάθη των ωκεανών στην επιφάνεια της γης με κύρια πηγή ενέργειας τα

μιτοχόνδρια και παράλληλα οδήγησε την ζωή από τα βάθη των ωκεανών στην επιφάνεια της γης(139, 140).

2.1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ

Σήμερα αναγνωρίζεται πως η δράση των ΔΜΟ ασκεί ενεργό ρόλο εκτός από τις παθολογικές καταστάσεις και σε φυσιολογικές συνθήκες(141) όπως φαίνεται παρακάτω:

Πολλοί τύποι κυττάρων παράγουν ΔΜΟ σε ελεγχόμενες συγκεντρώσεις όταν διεγείρονται από κυτοκίνες, αναπτυξιακούς παράγοντες και ορμόνες όπως η ιντερλευκίνη-1β (IL-1), η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), η ιντερλευκίνη-3 (IL-3), ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF-α), η αγγειοτενσίνη II (ANGII), ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF), ο αυξητικός νευρικός παράγοντας (NGF), ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (TGF-1), ο αυξητικός παράγοντας των λευκών και των ινοβλαστών (GM-CSF) (FGF-2)(99).

Το γεγονός αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα πως η έναρξη και η λειτουργία αρκετών ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών εξαρτώνται από την δράση των ΔΜΟ, που λειτουργούν σε πολλαπλά σημεία του σηματοδοτικού καταρράκτη. Άρα διαδραματίζουν ένα πολύ σημαντικό φυσιολογικό ρόλο σαν δευτερογενείς αγγελιοφόροι(142, 143). Η πιο έντονη επίδραση των ΔΜΟ στη σηματοδότηση έχει παρατηρηθεί στα μονοπάτια της πρωτεϊνικής κινάσης MAPK (mitogen-activated protein kinase)(144).

Αυξητικοί παράγοντες όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας(EGF), ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), συνδέονται σε υποδοχείς, που είναι τυροσινικές κινάσες (RTKs). Οι υποδοχείς αυτοί είναι υπεύθυνοι για την μεταφορά της πληροφορίας από έξω προς το κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών των πρωτεϊνικών κινάσων mitogen-activated protein kinases (MAPKs)(145). Στα κύτταρα, με εξαίρεση τα φαγοκύτταρα, η σύνδεση του παράγοντα στον υποδοχέα προκαλεί την γένεση ΔΜΟ. Το ίδιο συμβαίνει και με κυτοκίνες όπως ο TNF-α, IL-1 η ιντερφερόνη-γ (IFNγ) που συνδέονται σε κανάλια ιόντων ή G proteins(146). Οι ΔΜΟ που

παράγονται από τις παραπάνω οδούς αποτελούν μεσολαβητές για πολύ σημαντικές κυτταρικές διαδικασίες όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση (programmed cell death). Άλλες κινάσες, οι κινάσες της οικογένειας Src (Src Kinases) και ανάμεσά τους η Janus κινάση (JAK) ενεργοποιούνται επίσης από τις ΔΜΟ και προκαλούν την έναρξη στα MAPK, NF-κB, and PI3K σηματοδοτικά μονοπάτια(147).

Οι φωσφατάσες της πρωτεϊνικής τυροσίνης είναι άμεσοι στόχοι των ΔΜΟ και η παροδική αδρανοποίησή τους οδηγεί σε μεταβολή του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και της σηματοδότησης στο κύτταρο(148). Η υπεροικογένεια TGF-β περιλαμβάνει κινάσες σερίνης/θρεονίνης. Η TGF-β1 διεγείρει την παραγωγή ΔΜΟ σε μια ποικιλία κυττάρων και αναστέλλει την ανάπτυξή τους(149). Η Akt διεγείρει τη ανάπτυξη και αναστέλλει την απόπτωση. Συνδέεται στην κυτταρική μεμβράνη με την PI3K. Ενεργοποίηση του VEGF από τις ΔΜΟ πραγματοποιείται μέσω της οδού PI3K/Akt(150). Οι κινάσες σερίνης/θρεονίνης των οικογενειών ERKs, οι c-jun-NH2-terminal kinases (JNKs), οι p38 MAPK και οι BMAPK-1 της υπεροικογένειας MAPK, επίσης ρυθμίζονται από τις ΔΜΟ(151). Στα μονοπάτια των MAPKs που όπως προαναφέρθηκε μεσολαβούν οι ΔΜΟ περιλαμβάνονται και πυρηνικοί μεταγραφικοί παράγοντες όπως ο NF-κB που ενέχεται σε φλεγμονώδεις διαδικασίες, ο AP-1 που είναι σημαντικός για την αύξηση και την διαφοροποίηση, ο p53 που η αδρανοποίησή του συνδέεται με πολλούς καρκίνους καθώς επιτρέπει την ανεξέλεγκτη κυτταρική διαίρεση, ο NFAT που ρυθμίζει το σχηματισμό κυτοκινών, την αύξηση των μυών, την αγγειογένεση και την λιπογένεση, και ο HIF-1 που ελέγχει την έκφραση γονιδίων σχετιζόμενων με τον καρκίνο(144).

2.1.3 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ

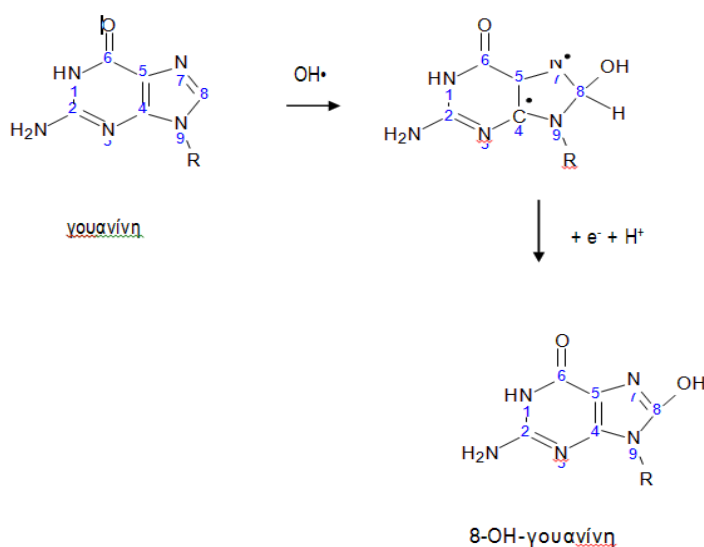
Σε υψηλές συγκεντρώσεις οι ΔΜΟ οξειδώνουν καίριες κυτταρικές δομές όπως:

DNA

Η ρίζα του OH• είναι γνωστό πως αντιδρά με όλα τα τμήματα του μορίου του DNA προσβάλλοντας τόσο τις αζωτούχες βάσεις της πουρίνης και της

πυριμιδίνης όσο και τον ιστό της δεοξυριβόζης(152). Η πιο μελετημένη βλάβη στο DNA είναι ο σχηματισμός της 8-υδροξυγουανίνης (8-OH-G).

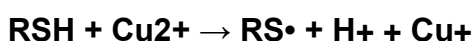
Το OH• μπορεί να προστεθεί στη βάση του DNA γουανίνη, στις θέσεις 4, 5 ή 8 του πουρινικού δακτυλίου. Η προσθήκη OH• στη θέση C8 οδηγεί στο σχηματισμό της 8-υδροξυγουανίνης (εικόνα 3), ο προσδιορισμός της οποίας χρησιμοποιείται ως δείκτης για την πρόκληση βλαβών στο DNA από ελεύθερες ρίζες(153). Επιπλέον, οι ROS προκαλούν συνήθως στο DNA μονόκλωνες και δίκλωνες θραύσεις.



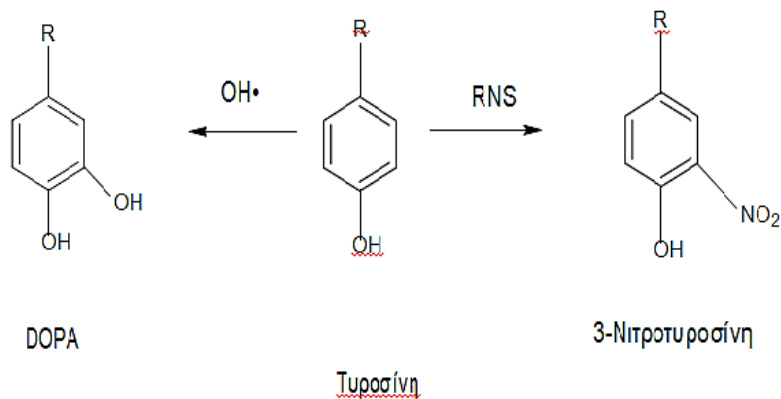
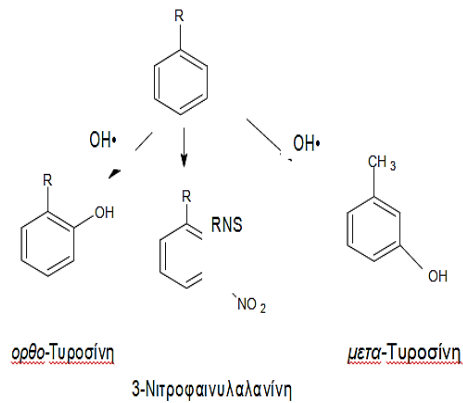
Εικόνα 5: Σχηματισμός της 8-υδροξυγουανίνης. Προσθήκη μιας OH• στον C8 της γουανίνης οδηγεί στο σχηματισμό της ρίζας της 8-υδροξυγουανίνης, η οποία στη συνέχεια οξειδώνεται σε 8υδροξυγουανίνη.

Πρωτεΐνες

Οι πλευρικές αλυσίδες όλων των αμινοτελικών άκρων των πρωτεϊνών ιδιαίτερα όσων περιέχουν κυστεΐνη και μεθειονίνη είναι ευαίσθητες στην οξείδωση από τις ROS/RNS(154). Οι σουλφυδρυλικές (-SH) ομάδες της κυστεΐνης οξειδώνονται σε θειολικές ρίζες (RS•) μετά από την προσβολή των ROS/RNS με την συμμετοχή ιόντων μεταβατικών μετάλλων



Με την δράση του OH• και των RNS στην τυροσίνη και την φαινυλαλανίνη παράγονται διάφορα προϊόντα:(εικόνα 4)

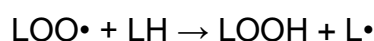
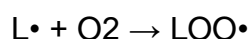
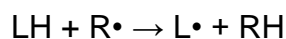


Εικόνα 6: Προϊόντα που σχηματίζονται μετά από την επίδραση ROS και RNS στα αμινοξέα τυροσίνη και φαινουλαανίνη. DOPA: Διυδροξυφαινουλαανίνη.

Λιπίδια

Θεωρούνται η πιο ευαίσθητη κατηγορία βιολογικών μακρομορίων στην οξειδωτική προσβολή. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης εύκολα υποκύπτουν στην δράση των ROS(155). Η λιπιδιακή υπεροξειδωση μπορεί να προκαλέσει σημαντικές βλάβες επειδή την αρχική οξείδωση ακολουθεί μια αυτο-αναπαραγόμενη αλυσίδα αντιδράσεων(156, 157). Η λιπιδιακή υπεροξειδωση ξεκινάει με την οξείδωση ενός λιπαρού οξέος (LH) από μια ρίζα ($R\cdot$) με αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας λιπιδιακής ρίζας ($L\cdot$). Η λιπιδιακή ρίζα μπορεί να αντιδράσει με μοριακό οξυγόνο (O_2) και να σχηματιστεί μια ρίζα περοξυλίου ($LOO\cdot$). Οι ρίζες περοξυλίου προκαλούν μια κυκλική αλυσίδα αντιδράσεων κατά τις

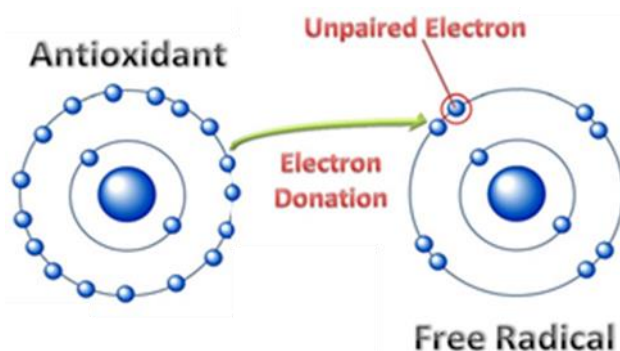
οποίες μπορούν να οξειδωθούν περισσότερα μόρια PUFA και να σχηματιστούν λιπιδιακά υπεροξειδία (LOOH) που μπορούν να διασπαστούν σε πιο δραστικά μόρια, ιδιαίτερα σε αλδεΐδες (RCHO)



Κύρια προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης είναι η μαλονδυαλδεΐδη (MDA) και η 4-υδροξυ-τρανς-2-νονενάλη.

2.2 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Η έκθεση στις ελεύθερες ρίζες οδήγησε τους οργανισμούς στην ανάπτυξη αμυντικών μηχανισμών. Αυτοί μπορεί να είναι προληπτικοί, επιδιορθωτικοί, να αποτελούν φυσική άμυνα ή να είναι αντιοξειδωτικές ουσίες(158). Σαν αντιοξειδωτικό μπορεί να χαρακτηριστεί οποιοδήποτε συστατικό που όταν βρίσκεται σε χαμηλότερη συγκέντρωση συγκριτικά με ένα προς οξείδωση υπόστρωμα, αναστέλλει ή επιβραδύνει σημαντικά την οξείδωση του υποστρώματος(89). Η δράση των αντιοξειδωτικών εκφράζεται με την παρεμπόδιση της οξείδωσης των ευαίσθητων βιολογικών μορίων από τις ελεύθερες ρίζες ή με τον περιορισμό του σχηματισμού ελευθέρων ριζών. Δηλαδή, τα αντιοξειδωτικά δρουν προσφέροντας στις ελεύθερες ρίζες το ηλεκτρόνιο ή το υδρογόνο που τους λείπει και τις αδρανοποιούν (Εικόνα 5) ή ενεργοποιούν τα ενδογενή αμυντικά συστήματα των οργανισμών.



Εικόνα 7: Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικού

Μετά την αντίδραση, τα αντιοξειδωτικά μετατρέπονται σε ρίζες, οι οποίες όμως δεν είναι δραστικές. Η αντιοξειδωτική άμυνα εμφανίζει διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ιστών και κυτταρικών τύπων (εικόνα 7). Επιπλέον τα αντιοξειδωτικά μπορούν να διακριθούν σε ενδογενή και εξωγενή καθώς υπάρχουν ουσίες με αντιοξειδωτική δράση που λαμβάνονται με την τροφή. Επιπλέον, ανάλογα με τη χημική τους φύση μπορούν να διαχωριστούν σε ενζυμικά και μη ενζυμικά.

Πίνακας 4: Ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	
ΜΕΓΑΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ	ΜΙΚΡΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ
<p><u>Ένζυμα:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Δισμουτάση του υπεροξειδίου • Καταλάση • Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης • Περοξυρεδοξίνες • Θειορεδοξίνες 	<p><u>Λιποδιαλυτά</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Τοκοφερόλη (βιταμίνη E). • Καροτενοειδή. • Ουβικινόνη • Πολυφαινόλες.
<p><u>Μη ενζυμικά (πρωτεΐνες)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Αλβουμίνη. • Σερουλοπλασμίνη. • Τρανσφερίνη. • Απποσφαιρίνη. 	<p><u>Υδατοδιαλυτά</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C). • Ουρικό οξύ . • Πολυφαινόλες. • Χολερυθρίνη • Φλαβονοειδή (κατεχίνες, ανθοκυανιδίνες, φλαβόνες)

2.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται κάθε απορύθμιση της ισορροπίας μεταξύ προοξειδωτικών και αντιοξειδωτικών συστημάτων, όπου τα προοξειδωτικά υπερισχύουν. Οφείλεται είτε σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, είτε σε ανεπάρκεια αντιοξειδωτικών μηχανισμών(90).

Στους αερόβιους οργανισμούς, η παραγωγή ROS είναι μια συνεχής διαδικασία, από την οποία μπορούν να επιβιώνουν λόγω του ότι έχουν αναπτύξει αντιοξειδωτική άμυνα. Το οξειδωτικό στρες, εισήχθη στη διαδικασία έρευνας στην οξειδοαναγωγική βιολογία και στην ιατρική το 1985(91). Από τότε, η οξειδοαναγωγική βιολογία ως τομέας έρευνας, έχει αναπτυχθεί σε διάφορους κλάδους, ξεκινώντας από αυτόν της χημείας, ραδιοβιολογίας μέσω της βιοχημείας, φυσιολογίας κυττάρου(92). Η έννοια του οξειδωτικού στρες προκύπτει από τους συνδυασμούς δύο όρων του (i) αερόβιου μεταβολισμού ως σταθεροποιημένης οξειδοαναγωγικής ισορροπίας και (ii) των σχετικών πιθανών στελεχών στην ισορροπία όπως υποδηλώνεται από τον όρο, στρες, που προκαλεί αποκρίσεις βιολογικού στρες(92).

2.3.1 Βιοδείκτες Οξειδωτικού Στρες

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν εξαιρετικά ελάχιστο χρόνο ημίσειας ζωής με αποτέλεσμα η απευθείας μέτρηση τους σε κλινικό περιβάλλον να είναι αδύνατη(91, 159). Για το λόγο αυτό η καταγραφή τους πραγματοποιείται έμμεσα με τον προσδιορισμό βιοδεικτών που προκύπτουν είτε από την μέτρηση σταθερών παραγώγων που σχηματίζουν οι ελεύθερες ρίζες κατά την αντίδρασή τους με τους κυτταρικούς στόχους, είτε από την μέτρηση ενζύμων που μετέχουν στις οξειδοαναγωγικές διαδικασίες ή ενζυμικών προϊόντων(160). Προς το παρόν οι βιοδείκτες που έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορα νοσήματα, καθώς και οι μέθοδοι προσδιορισμού τους, ποικίλουν από μελέτη σε μελέτη καθιστώντας δύσκολη την συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων. Επιπλέον η αξιοπιστία ορισμένων βιοδεικτών δεν έχει κατοχυρωθεί. Τα κύρια προβλήματα που συχνότερα παρουσιάζουν οι μέθοδοι ανίχνευσης του οξειδωτικού στρες στο σύνολό τους, είναι η χαμηλή ειδικότητα για το συγκεκριμένο υπόστρωμα μέτρησης, η έλλειψη επαρκούς ευαισθησίας για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ενός βιοδείκτη σε υγιείς ώστε να είναι

δυνατή η θέσπιση ορίων αναφοράς, το γεγονός ότι η ουσία που μετράται μπορεί να μην είναι ειδικό παράγωγο συγκεκριμένης ρίζας ή ότι η συγκέντρωσή της μπορεί να επηρεάζεται από εξωγενείς παράγοντες όπως η δίαιτα. Τέλος ο βαθμός παρεμβατικότητας μιας μεθόδου μπορεί να την καθιστά δύσκολη για κλινική εφαρμογή(161).

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι βιοδείκτες οξειδωσης των λιπιδίων είναι οι: μαλονδουαλδεΰδη (Malondialdehyde-MDA), η 4- υδροξυ-2-νονενάλη (4-hydroxy-2-nonenal-HNE), οι αντιδρώσες-ουσίες με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (Thiobarbituric acid reactive substances-TBARS) και τα ισοπροστάνια (F2-isoprostanes).

Η **MDA** είναι μία κετοαλδεΰδη που παράγεται από την οξειδωση των ακόρεστων λιπιδίων σαν παραπροϊόν του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Συνδεεται με ελεύθερες αμινομάδες πρωτεϊνών, κυρίως με υπολείμματα λυσίνης μέσω της αντίδρασης Michael, σχηματίζοντας τροποποιημένα παράγωγα πρωτεΐνης που αλλοιώνουν τις βιολογικές της ιδιότητες(162).

Η **HNE** είναι μια πολύ τοξική αλδεΰδη που δημιουργείται από την επίθεση των ελεύθερων ριζών στα ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Αντιδρά με πρωτεΐνες, πεπτίδια, φωσφολιπίδια και νουκλεϊκά οξέα επιδεικνύοντας σαφή κυτταροτοξική και μεταλλαξιογόνο δράση ενώ επηρεάζει και σηματοδοτικές οδούς(163).

Τα **TBARS** είναι μια τροποποιημένη μέθοδος που προσδιορίζει κυρίως την MDA χρησιμοποιώντας το θειοβαρβιτουρικό οξύ(161).

Τα **F2-ισοπροστάνια** (F2-IsoPs) είναι μια μεγάλη οικογένεια 64 σύνθετων μορίων τύπου προσταγλανδίνης που περιέχουν ένα F-δακτύλιο προστανίου. Σχηματίζονται in vivo από την οξειδωση του αραχιδονικού οξέος και στη συνέχεια αποδομούνται και απελευθερώνονται στην συστηματική κυκλοφορία από τις φωσφολιπάσες για να απεκκριθούν στα ούρα σαν ελεύθερα ισοπροστάνια. Λόγω της σταθερότητας τους θεωρούνται ένας ακριβής και αξιόπιστος τρόπος μέτρησης της λιπιδιακής οξειδωσης σε πραγματικές συνθήκες(161).

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ DNA

Αρκετές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί για να προσδιοριστεί η οξειδωτική βλάβη στις βάσεις του DNA. Η ουσία που συνήθως προσδιορίζεται είναι η 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανোসίνη (8-Oxo-2'-deoxyguanosine-8OHdG)(153, 164). Καμία μέθοδος ωστόσο δεν μπορεί να προσδιορίσει την ακριβή εντόπιση της βλάβης στο DNA ούτε είναι εφικτή η χρησιμοποίηση όλων των ιστών για την εξαγωγή του και συνήθως χρησιμοποιείται DNA που απομονώνεται από λεμφοκύτταρα ή λευκοκύτταρα(165).

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (protein carbonyls- CO) δημιουργούνται από την οξείδωση αμινοξέων των πλάγιων αλυσίδων (λυσίνης, αργινίνης, προλίνης, θρεονίνης) των πρωτεϊνών που αντιδρούν με α,β-ακόρεστες αλδεΐδες και υδατάνθρακες σχηματίζοντας τελικά προϊόντα προχωρημένης λιπιδικής και γλυκοτελικής οξείδωσης (ALEs Advanced Lipid peroxidation End products και AGEs Advanced Glycation End products). Η μέτρησή τους αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο για την εκτίμηση της οξείδωσης των πρωτεϊνών τόσο στο εργαστήριο όσο και σε πραγματικές συνθήκες επειδή η χημική τους σταθερότητα επιτρέπει την άμεση μέτρηση αλλά και την αποθήκευση(161, 166, 167)

2.3.2 Οξειδωτικό στρες σε διάφορες παθήσεις

Η παρουσία του οξειδωτικού στρες έχει διαπιστωθεί σε οξείες και χρόνιες παθήσεις. Ωστόσο αντικείμενο διερεύνησης αποτελεί η αιτιοπαθογενετική συσχέτιση μεταξύ τους (161).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Η οξειδωτική προσβολή που προκαλεί μόνιμες τροποποιήσεις του γενετικού υλικού είναι ένα σημαντικό βήμα προς την μεταλλαξιογένεση και στην συνέχεια την καρκινογένεση και την γήρανση. Η ύπαρξη οξειδωτικών βλαβών σε περιοχές του DNA έχει τεκμηριωθεί σε διάφορους καρκινικούς όγκους. Η οξειδωτική βλάβη του DNA καταλήγει σε αναστολή ή επαγωγή της μεταγραφής στο επίπεδο του κυττάρου, σε επαγωγή σηματοδοτικών μονοπατιών, σε λάθη μεταγραφής και αστάθεια του γονιδιώματος τα οποία συνδέονται με την καρκινογένεση (168).

ΚΑΡΔΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Το οξειδωτικό στρες συμμετέχει σε μια σειρά νόσων του καρδιαγγειακού όπως η αθηροσκλήρωση(169), η στεφανιαία νόσος, η υπέρταση(170), καρδιομυοπάθειες, καρδιακή υπερτροφία και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια(171). Εκτός από την άμεση προσβολή φωσφολιπιδίων και πρωτεϊνών του μυοκαρδιακού κυττάρου που προκαλεί διαταραχές της διαπερατότητας, διάσπαση μεμβρανών, τροποποιήσεις πρωτεϊνών, βλάβη οργανυλίων, από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προκαλείται και αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου είτε με απευθείας δράση τους σε πρωτεΐνες συνδεδεμένες με το ασβέστιο είτε έμμεσα από τη λιπιδιακή υπεροξειδωση της μεμβράνης(171).

ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Η παθογένεση της νόσου συνδέεται κυρίως με το σχηματισμό ελεύθερων ριζών στο σημείο της φλεγμονής. Αυξημένα επίπεδα ισοπροστανίων και προσταγλανδινών έχουν διαπιστωθεί στον ορό και το αρθρικό υγρό των ασθενών. Οξειδωτικές συνθήκες συνδέονται με μεταλλάξεις της πρωτεΐνης p53 στο αρθρικό υγρό(172), ενώ και τα T-λεμφοκύτταρα του υγρού εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα ανηγμένης γλουταθειόνης (173). Επίσης σηματοδοτικά μονοπάτια ρυθμιζόμενα από το οξειδοαναγωγικό περιβάλλον προκαλούν ανώμαλη έκφραση μορίων προσκόλλησης (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1, ICAM-2) και μετανάστευση μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων στο αρθρικό υγρό(174).

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Η υπεργλυκαιμία επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών και το οξειδωτικό στρες θεωρείται ένα από τα κύρια αίτια των διαβητικών επιπλοκών. Πηγές προέλευσης είναι τα μιτοχόνδρια με παραγωγή σουπεροξειδίου από το σύμπλεγμα II της αναπνευστικής αλυσίδας αντι του I και III σε φυσιολογικές συνθήκες(175), οι NAD(P)H οξειδάσες στο αγγειακό δίκτυο και τα νεφρικά κύτταρα που αποτελούν έναν φορέα διαβητικών επιπλοκών (176), η ξανθινική οξειδάση ανάλογα με τον ιστό στον οποίο βρίσκεται (177), οι λιποξυγενάσες που διασπούν το αραχιδονικό οξύ ενώ και η αυτοοξειδωση της γλυκόζης

προτείνεται ως πιθανός μηχανισμός(178). Ακόμη η υπεργλυκαιμία σχετίζεται με την ρύθμιση της έκφρασης των συνθετασών του μονοξειδίου και την παραγωγή ελεύθερων ριζών αζώτου(179). Να σημειωθεί ότι στο διαβήτη έχει παρατηρηθεί εξάλειψη αντιοξειδωτικών όπως των βιταμινών E και C(180).

Η ινσουλίνη συνδέεται με τους υποδοχείς της στα όργανα στόχους. Ο ενεργοποιημένος υποδοχέας χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα πρωτεΐνες (IRS1, IRS2) τις οποίες φωσφορυλιώνει για να ενεργοποιηθούν διαφορετικοί μηχανισμοί που οδηγούν στη μεταβολική δράση της ινσουλίνης. Η φωσφορυλίωση της IRS1 σε θέση τυροσίνης διεγείρει τις δράσεις της ινσουλίνης ενώ αν συμβεί σε θέση σερίνης μπορεί είτε να ευοδώσει είτε να τερματίσει την δράση της. Η κατεύθυνση της ισορροπίας μεταξύ των δύο οδών επηρεάζεται από παράγοντες όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, ο TNFα και το οξειδωτικό στρες που επιδρούν αρνητικά στον IRS1(181).

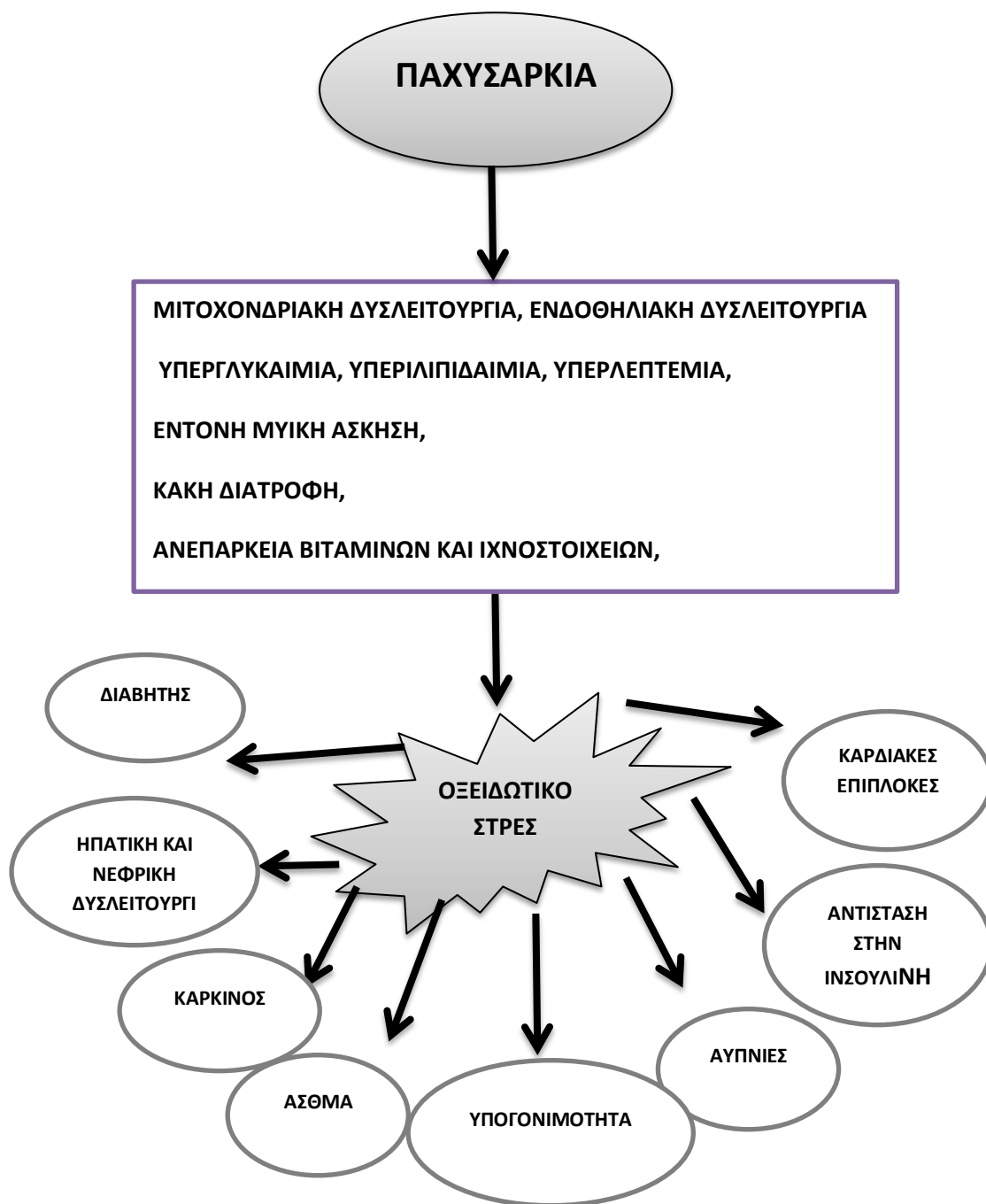
Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη. Σήμερα θεωρείται πως ένα από τα σημαντικά αίτια πρόκλησής του αποτελούν επαγόμενα από το οξειδωτικό στρες ελλείμματα στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και την μιτοχονδριακή β-οξειδωση, που οδηγούν στη συσσώρευση ενδοκυττάρων τριγλυκεριδίων στο μυϊκό ιστό και το ήπαρ και στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη(182). Στην πορεία τα β-κύτταρα του παγκρέατος αδυνατούν να αντιμετωπίσουν τις αυξημένες ανάγκες λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη με αποτέλεσμα να παρατηρείται διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη και μεταγευματική υπεργλυκαιμία. Τα β-κύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξειδωτική προσβολή γιατί περιέχουν χαμηλή ποσότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η καταλάση, η σουπεροξειδική δισμουτάση και η οξειδάση της γλουταθειόνης(183, 184). Δεν αποτελεί λοιπόν έκπληξη ότι το οξειδωτικό στρες προκαλεί βλάβη στα μιτοχόνδρια των β-κυττάρων και παρεμποδίζει την έκκριση της ινσουλίνης(185).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Πολλοί μηχανισμοί έχουν συσχετιστεί με τη δημιουργία οξειδωτικού στρες κατά την παχυσαρκία(186). Το οξειδωτικό στρες και η προ-φλεγμονώδεις διαδικασίες συσχετίζονται ισχυρά. Κατά την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, πολλά κύτταρα του συστήματος αυτού, παράγουν ελεύθερες ρίζες (ROS) (ΔΜΟ) και την ίδια στιγμή, οι ελεύθερες ρίζες (ROS) (ΔΜΟ) ενεργοποιούν τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος(186).

Επιδημιολογικές, κλινικές και μελέτες σε πειραματόζωα, έχουν καταγράψει το ρόλο του οξειδωτικού στρες στην παθογένεση της παχυσαρκίας και τη συσχέτισή της με παράγοντες κινδύνου και παθήσεις που έχουν ήδη αναφερθεί (187). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να ενεργοποιήσει την παχυσαρκία, μέσω της διέγερσης εναπόθεσης λευκού λιπώδους ιστού και μεταβάλλοντας την πρόσληψη τροφής (187). Τα αποτελέσματα μετά τη μελέτη κυτταροκαλλιιεργιών και πειραματικών δεδομένων σε πειραματόζωα, έδειξαν ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει αύξηση στον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων λιποκυττάρων, τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων και αύξηση του μεγέθους των ώριμων λιποκυττάρων (188-190). Οι ενεργές ελεύθερες ρίζες φαίνεται να εμπλέκονται στον έλεγχο του σωματικού βάρους, μέσω της επίδρασης που ασκούν στον υποθάλαμο , επηρεάζοντας έτσι τους νευρώνες του υποθαλάμου, οι οποίοι ελέγχουν τον κορεσμό και την αίσθηση πείνας (191). Επίσης η παχυσαρκία ως παθογόνος κατάσταση προκαλεί οξειδωτικό στρες μέσω πολλαπλών βιοχημικών μηχανισμών, όπως η δημιουργία υπεροξειδίου από οξειδάσες NADPH (NOX), αυτοοξειδωση γλυκεραλδεΐδης, ενεργοποίηση πρωτεϊνική κινάση C (PKC)(187, 192). Άλλοι παράγοντες που συσχετίζουν την παχυσαρκία με το οξειδωτικό στρες είναι η υπερλεπτιναιμία(193) και η δυσλειτουργία ιστού(192),η χαμηλή αντιοξειδωτική αντίσταση(194) και η χρόνια φλεγμονή(53, 195).(εικόνα 6),(εικόνα 7)



Εικόνα 8: Συσχέτιση παχυσαρκία και οξειδωτικού στρες(195)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η υψηλή εναπόθεση λίπους σχετίζεται αυστηρά με την οξειδοαναγωγική ανισορροπία. Το νεανικό υπέρβαρο και η παχυσαρκία έχουν συνδεθεί με υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες(196, 197). τα παχύσαρκα άτομα παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα oxLDL(οξειδωμένη μορφή LDL), AAOPs(πρωτεϊνικά προϊόντα αποτέλεσμα οξειδωσης) και TBAR (δραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος) από ό, τι τα άτομα ελέγχου(198). Σε ενήλικες, ο ΔΜΣ, το συνολικό σωματικό λίπος και η

περιφέρεια της μέσης έχουν αποδειχθεί ότι συσχετίζονται θετικά με τα επίπεδα F2-ισοπροπανίου στα ούρα και αντιστρόφως συσχετίζονται με τη δραστηριότητα PON1(παραοξονάση ορού)(199-201). Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα επίπεδα της F2-ισοπροστάνης μπορούν να προβλέψουν την απώλεια της συνολικής λιπώδους πρόσληψης με την πάροδο του χρόνου: μια έντονη σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των ισοπροστασών F2 των ούρων και της αύξησης του σωματικού βάρους κατά τη διάρκεια μιας πενταετούς περιόδου παρακολούθησης αποδείχθηκε σε μελέτη, η οποία συσχέτιζε την αγγειακής ανθεκτικότητα στην αντίσταση ινσουλίνης, την γήρανση και τη σύσταση σώματος (202). Αυτή η αντίστροφη συσχέτιση έχει ερμηνευθεί ως μια θετική φυσιολογική απόκριση για την αντιμετώπιση της πλεονάζουσας λιπώδους τάσης και / ή μιας καταβολικής απόκρισης στη φλεγμονή. Σε ποντικούς, η προκαλούμενη από τη διατροφή παχυσαρκία αυξάνει το εγκεφαλικό οξειδωτικό στρες(203) και η παχυσαρκία που προκαλείται από τη διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά συσχετίζεται επίσης με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και αυξημένο οξειδωτικό στρες στους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ (204). Πειραματόζωα που διατηρούνται σε διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά εμφανίζουν αυξημένους δείκτες οξειδώσεως λιπιδίων και πρωτεϊνών, καθώς και αυξημένους δείκτες απόπτωσης (205).

Παρά την ισχυρή συσχέτιση μεταξύ παχυσαρκίας και οξειδωτικού στρες, κανένας από τους προαναφερθέντες δείκτες δεν αποτελεί πρόβλεψη για την ανάπτυξη της παχυσαρκίας, αλλά αυτοί οι βιοδείκτες μπορούν να προβλέψουν την ανάπτυξη και εξέλιξη του μεταβολικού συνδρόμου και καρδιαγγειακής νόσου στους υπέρβαρους και παχύσαρκους ανθρώπους. Έχει βρεθεί μια θετική συσχέτιση μεταξύ δεικτών οξειδωτικού στρες και δεικτών φλεγμονής, υπεργλυκαιμίας και υπερλιπιδαιμίας.(εικόνα 9). Σε νεαρά υπέρβαρα παχύσαρκα άτομα, τα AOPP συσχετίζονται θετικά με την κεντρική παχυσαρκία, τα τριγλυκερίδια και την ινσουλίνη και συσχετίζονται αρνητικά με τη σχέση γλυκόζης προς ινσουλίνη και HDL-χοληστερόλη, γεγονός που υποδηλώνει αυξημένο μεταβολικό κίνδυνο σε αυτόν τον πληθυσμό (206, 207). F2-ισοπροστάνια συνδέονται θετικά με τις κυκλοφορούντες προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η πρωτεΐνη-1 (MCP-1) και η ιντερλευκίνη-6

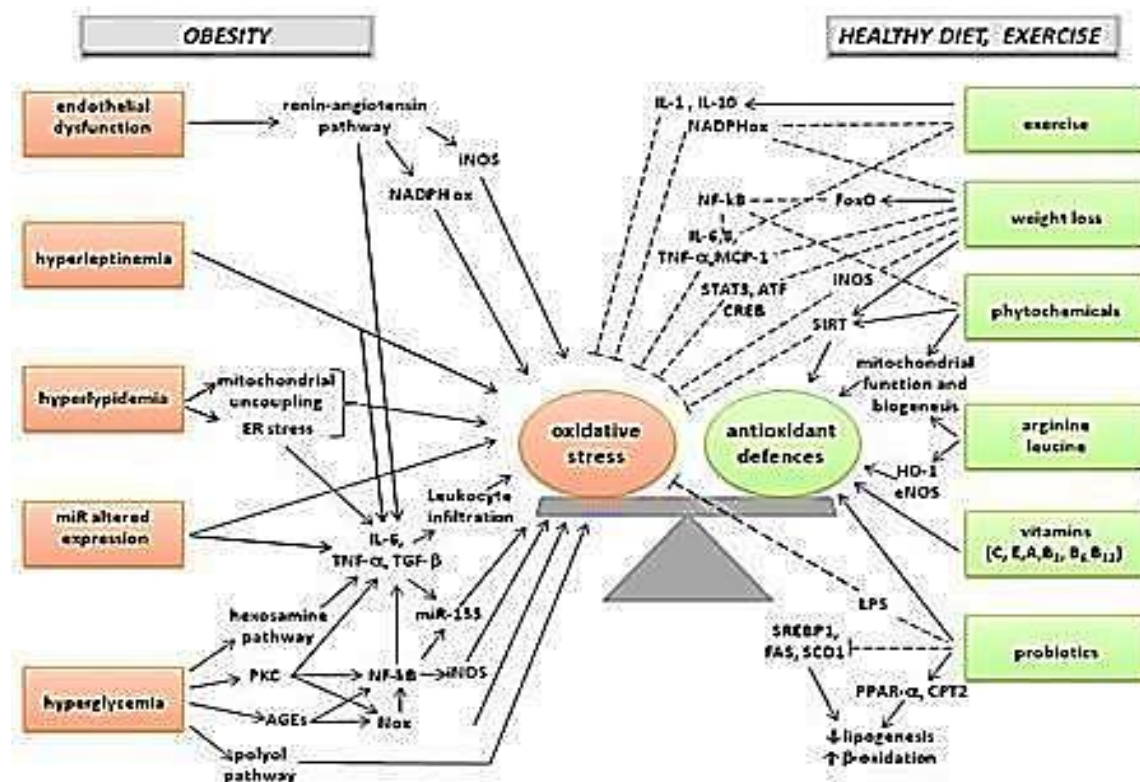
(IL-6) μονοκυττάρων που αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες του διαβήτη και της καρδιαγγειακής νόσου (208-210). Υψηλά επίπεδα στον ορό του μορίου 8-OHdG έχουν βρεθεί σε προ-διαβητικά άτομα (211) Τα αυξημένα επίπεδα AGE του ορού προβλέπουν συνολική και καρδιαγγειακή θνησιμότητα σε γυναίκες με διαβήτη τύπου II (212).

Οι τροποποιημένες αντιοξειδωτικές άμυνες παρατηρούνται επίσης στους παχύσαρκους ανθρώπου(213), ωστόσο, η σχέση μεταξύ BMI, σωματικού λίπους και αντιοξειδωτικής άμυνας εξακολουθεί να είναι ανοικτή ερώτηση. Πράγματι, δεν έχει γίνει κανένας συσχετισμός ή σύνδεση με παθήσεις που σχετίζονται με την παχυσαρκία, αντί της παχυσαρκίας καθαυτή (214, 215).

Αυτό δεν είναι απίθανο να συμβαίνει, δεδομένου ότι τα διάφορα αντιοξειδωτικά ένζυμα δρουν σε μία λεπτή χρονική σειρά και στην αρχή της παχυσαρκίας, οι ιστοί προσπαθούν να εξουδετερώσουν το οξειδωτικό στρες (που προκαλείται από τα αυξημένα κυκλοφορούντα λιπαρά οξέα) αυξάνοντας την έκφραση και τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, τα οποία προοδευτικά θα εξαντληθούν, καθώς εμφανίζεται η παχυσαρκία. Τα αποδεικτικά στοιχεία αλλαγής αντιοξειδωτικής άμυνας στην παχυσαρκία προκύπτουν από αρκετές ερευνητικές, κλινικές και in vitro μελέτες. Σε πληθυσμιακό δείγμα 3042 ενηλίκων από την Αττική στην Ελλάδα βρέθηκε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ σπλαχνικού λίπους και TAC(ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας), ανεξάρτητα από άλλες μεταβλητές (όπως φύλο, ηλικία, κάπνισμα, σωματική δραστηριότητα και διατροφικές συνήθειες) (194). Συνεπώς, μια μελέτη που διεξήχθη για να προσδιορίσει κατά πόσο η παχυσαρκία επιδεινώνει τις ανωμαλίες των λιποπρωτεϊνών και το οξειδωτικό στρες στους ηλικιωμένους άνδρες ή όχι, έδειξε ότι τα TAC και οι βιταμίνες C και E ήταν χαμηλότερες, ενώ τα υδροϋπεροξειδία και οι καρβονυλικές πρωτεΐνες ήταν υψηλότερες σε νεαρούς και παλαιούς παχύσαρκους ασθενείς σε σύγκριση με τους αντίστοιχα “controls”. Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες επιδεινώθηκε σε ηλικιωμένους ενήλικες (216). Αναφορικά με τα ένζυμα που δρουν στο οξειδωτικό στρες, έχει αναφερθεί ότι τα ένζυμα SOD, καταλάση και GPx έχουν συσχετιστεί αντιστρόφως με το ΔΜΣ, τόσο σε παχύσαρκα παιδιά όσο και σε ενήλικες (217, 218). Σε παχύσαρκες γυναίκες, η δραστηριότητα GPx στον ορό αυξήθηκε σημαντικά μετά από μείωση βάρους (219). Από την άλλη

πλευρά, έχει αναφερθεί ότι σοβαρά παχύσαρκοι ασθενείς με μεγαλύτερη αντίσταση στην ινσουλίνη έχουν μεγαλύτερη δραστικότητα GPx από ό, τι τα αντίστοιχα “controls”(220).

Οι ανεπάρκειες στα μέταλλα και στις βιταμίνες μπορούν επίσης να συμβάλουν στην εξασθένηση των αντιοξειδωτικών αμυντικών (221, 222). Η κακή κατάσταση σεληνίου και ψευδαργύρου έχει αναφερθεί σε παχύσαρκα παιδιά και εφήβους, ειδικά σε παιδιά με κεντρική λιπώδη κατάσταση, (223, 224), ενώ οι παχύσαρκοι ασθενείς παρουσιάζουν ανεπάρκειες μαγνησίου, σεληνίου, σιδήρου και ψευδαργύρου (225). Χαμηλά επίπεδα καροτενοειδών, βιταμίνης C και E, που σχετίζονται με την αύξηση του ΔΜΣ, έχουν βρεθεί στην Ευρώπη, τις ΗΠΑ (226-228). Η μελέτη ανάπτυξης του κινδύνου στεφανιαίας νόσου σε νεαρούς ενήλικες (CARDIA) ανέφερε μια ισχυρή αντίστροφη σχέση μεταξύ του ΔΜΣ και του αθροίσματος των καροτενοειδών ορού (α-καροτένιο, β-καροτένιο, β-κρυπτοξανθίνη, ζεαξανθίνη / λουτεΐνη) (229).



Εικόνα 9. Μηχανισμοί που ρυθμίζουν την οξειδωτική / αντιοξειδωτική ισορροπία στην παχυσαρκία. Στην αριστερή πλευρά παρουσιάζονται μηχανισμοί που υποκρύπτουν το οξειδωτικό στρες στην παχυσαρκία και τις επιπλοκές που σχετίζονται με την παχυσαρκία, ενώ στη δεξιά πλευρά παρουσιάζονται στρατηγικές που βελτιώνουν το αντιοξειδωτικό του σώματος (220).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΚΟΠΟΣ

Σύμφωνα με τις έρευνες των τελευταίων χρόνων, η παχυσαρκία φαίνεται ότι είναι μια κατάσταση η οποία μπορεί να συσχετιστεί με το οξειδωτικό στρες/ σε καταστάσεις έντονου στρες παρατηρείται αύξηση στον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων λιποκυττάρων, τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων και αύξηση του μεγέθους των ώριμων λιποκυττάρων και των λιποκινών που παράγονται. Από τις λιποκίνες, η βασπίνη (vaspin), έχει κερδίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών μετά την παρατήρηση ότι η έκφρασή της στο λιπώδη ιστό σχετίζεται με επιδείνωση μεταβολικών παραμέτρων για την παχυσαρκία. Συγχρόνως, η εξήγηση της εμφάνισης διαβήτη τύπου II, λόγω οξειδωτικού στρες που σχετίζεται με την υπεργλυκαιμία, αποτέλεσε ένα επιπλέον σημείο ενδιαφέροντος

Ο σκοπός της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι η προσπάθεια συνεκτίμησης της παχυσαρκίας και του οξειδωτικού στρες. Υπό το πρίσμα των δεδομένων, η παρούσα εργασία έχει ως στόχο την κατάθεση εναλλακτικής πρότασης για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες, στην ευαίσθητη ομάδα των παχύσαρκων ατόμων, πέρα από τις μεθόδους και τα πρωτοκόλλα που μέχρι στιγμής εφαρμόζονται. Για το λόγο αυτό έγινε προσπάθεια συσχέτισης της παχυσαρκίας και του οξειδωτικού στρες με τη βοήθεια των δεικτών της γλυκόζης και της βασπίνης (vaspin) και ολικής χοληστερόλης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Π Ε Ι Ρ Α Μ Α Τ Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ

5.1 ΛΗΨΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ-ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής μεταπτυχιακής εργασίας στηρίζεται στη συγκέντρωση δεδομένων πρωτογενών και δευτερογενών ασθενών. Τα πρωτογενή δεδομένα προέρχονται από τους ίδιους τους ασθενείς με τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου και με την καταγραφή ανθρωπομετρικών στοιχείων μετά από κατάλληλες μετρήσεις (μεζούρα, παχύμετρο) (πίνακας 4), (πίνακας 5) τα οποία θα βοηθήσουν στη διεξαγωγή συμπερασμάτων και τα δευτερογενή δεδομένα προέρχονται πάλι από τους ασθενείς, αλλά αφορούν στα αποτελέσματα που προκύπτουν από τα δεδομένα των βιοχημικών δεικτών και της συγκέντρωσης της βασπίνης (vaspin) μετά από αιμοληψία. Οι ασθενείς ενημερώθηκαν για τη συμμετοχή τους στην παρούσα εργασία και όλοι έδωσαν τη συγκατάθεσή τους τόσο για την αιμοληψία όσο και για τη «συνέντευξη». Πρέπει να σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι τα προσωπικά δεδομένα των ασθενών δε θα δημοσιοποιηθούν σεβόμενοι τους κανόνες βιοηθικής.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς του τμήματος παχυσαρκίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών «ΛΑΙΚΟ». Στους ασθενείς έγινε αιμοληψία, αφού είχε προηγηθεί 12ώρη νηστεία το προηγούμενο βράδυ. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν 15 εθελοντές φυσιολογικοί, τόσο αναφορικά με το βάρος όσο και με τα επίπεδα γλυκόζης. Η αιμοληψία έγινε την προγραμματισμένη ημέρα επίσκεψης στο Ιατρείο παχυσαρκίας. Κατά την αιμοληψία χρησιμοποιήθηκαν 5 ml φλεβικού αίματος. Για την επιλογή των ασθενών που συμμετείχαν, καθορίστηκαν κριτήρια αποκλεισμού, προκειμένου το δείγμα συλλογής να είναι όσο γίνεται πιο ομοιογενές (πίνακας 6). Μέρος της ληφθείσας ποσότητας χρησιμοποιήθηκε για ένα πλήρη βιοχημικό έλεγχο, στο βιοχημικό εργαστήριο του εργαστηρίου «πειραματικής χειρουργικής και χειρουργικής έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών. Έγιναν λοιπόν μετρήσεις των επιπέδων CHOL(mg/dl), TRG(mg/dl), HDL(mg/dl), LDL(mg/dl), αλκαλικής φωσφατάσης (IU/L), ουρίας(mg/dl), ουρικού οξέος(mg/dl), κρεατινίνης(mg/dl), γλυκόζης(mg/dl), ολικών

λευκωμάτων(g/dl), αλβουμίνης(g/dl). Το υπόλοιπο μέρος της ληφθείσας ποσότητας του αίματος φυγοκεντρήθηκε στις 30000 rpm για 10 min. Συλλέχτηκε ο ορός και διατηρήθηκε στους -80°C , προκειμένου να μπορέσει να γίνει σε δεύτερο χρόνο η μέτρηση της βασπίνης (vaspin) με ELISA SANDWICH με τη χρήση των κατάλληλων kit, όπως θα περιγραφεί πιο κάτω.

Πίνακας 5: Κατηγορίες ερωτήσεων ερωτηματολογίου

ΤΥΠΟΙ ΕΡΩΤΗΣΕΩΝ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ (ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ, ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ,ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ)
ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ (ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ, ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑΣ, ΣΤΗΘΑΓΧΗ)
ΤΡΟΠΟΣ ΖΩΗΣ (ΑΝΑΦΟΡΙΚΑ ΜΕ ΑΓΧΟΣ)
ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΥΠΝΟΥ
ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ-ΑΣΚΗΣΗ
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ
ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΛΚΟΟΛ
ΛΗΨΗ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

Πίνακας 6: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ
ΗΛΙΚΙΑ
ΒΑΡΟΣ
ΥΨΟΣ
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΚΑΡΠΟΥ (ΔΕΞΙΑ-ΑΡΙΣΤΕΡΑ)
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΑ (ΔΕΞΙΑ-ΑΡΙΣΤΕΡΑ)
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΜΕΣΗΣ
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΓΟΦΩΝ
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΜΗΡΩΝ
ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΤΑΡΣΟΥ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ-ΔΕΞΙΑ)
ΟΒΕΛΙΑΙΑ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΔΙΚΕΦΑΛΟΣ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΤΡΙΚΕΦΑΛΟΣ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΥΠΟΩΜΟΠΛΑΤΗ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΥΠΕΡΛΑΓΟΝΙΟΣ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΚΟΙΛΙΑΚΟΣ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΜΗΡΟΣ ΔΕΞΙΑ)
ΠΑΧΟΣ ΠΤΥΧΗΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΣΤΗΘΟΣ ΔΕΞΙΑ)

Πίνακας 7: Στοιχεία αποκλεισμού

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ Ι
ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ
ΚΟΚΟΗΘΕΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ
ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ
ΧΡΟΝΙΑ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ
ΑΛΛΕΡΓΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ
ΟΞΕΙΑ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ
ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΑΙΜΑΤΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ ΤΟΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ ΧΡΟΝΟ
ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΕΣ
ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΥΠΟ ΑΓΩΓΗ
ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ
ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ
ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΗΠΑΤΟΣ
ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΝΕΦΡΩΝ
ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ
ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΩΝ
ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ
ΝΕΙΖΟΝΕΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ
ΛΗΨΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ
ΛΗΨΗ ΨΥΧΟΤΡΟΠΩΝ ΟΥΣΙΩΝ
ΧΡΟΝΙΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ(ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ...)

5.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ

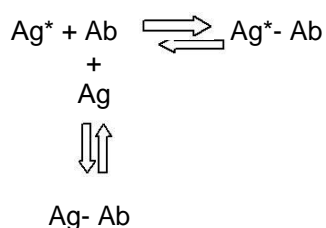
5.2.1. ΜΕΘΟΔΟΣ-ΥΛΙΚΑ

Για το πείραμα και τη διεξαγωγή του χρησιμοποιήθηκε ο ανοσοπροσδιορισμός τύπου ELISA SANDWICH (εικόνα 8). Η ELISA είναι μια βιοχημική τεχνική που χρησιμοποιείται κυρίως στην ανοσολογία για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της παρουσίας ενός αντισώματος ή ενός αντιγόνου σε ένα δείγμα. Η ποιοτική ανάλυση παρέχει απλά ενδείξεις για την ύπαρξη θετικού ή αρνητικού αποτελέσματος σε ένα δείγμα. Η ποσοτική ανάλυση στηρίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης ή οπτικής πυκνότητας του δείγματος και στη σύγκριση αυτής με μια πρότυπη καμπύλη, προκειμένου να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του αντιγόνου ή του αντισώματος στο δείγμα. Η ELISA βασίζεται στην ειδική δέσμευση αντιγόνου (Ag) και αντισώματος (Ab). Αρχή της μεθόδου είναι το αντιγόνο με το αντίσωμα να συνδέονται με τρόπο ειδικό και αμφίδρομο και να σχηματίζουν ένα σύμπλοκο το οποίο μπορεί να διαχωριστεί από τα υπόλοιπα ελεύθερα

μόρια που περιέχονται στο εξεταζόμενο δείγμα. Η αντίδραση ακολουθεί το νόμο της δράσης-αντίδρασης



Μια ανάλογη ισορροπία αποκαθίσταται και μεταξύ ενός επισημασμένου αντιγόνου Ag^* και του αντισώματος Ab

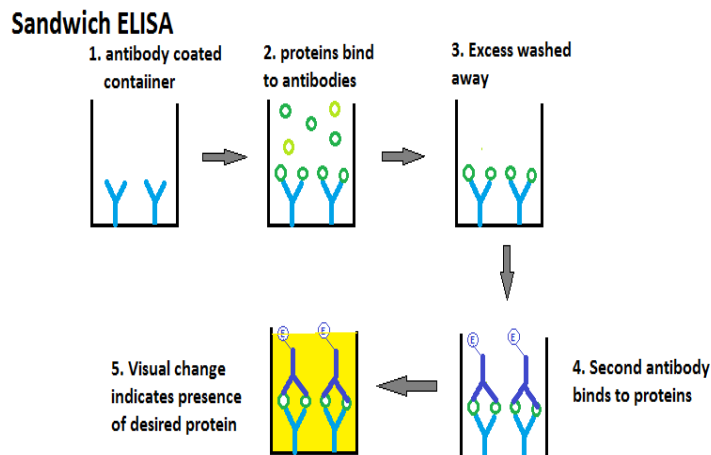


Οι μέθοδοι ELISA διακρίνονται σε ανταγωνιστικές και μη ανταγωνιστικές. Στη μη ανταγωνιστική μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε γνωστή και ως sandwich, ο επισημασμένος ιχνηθέτης είναι το αντίσωμα. Το αντιγόνο προσροφάται καταρχήν σε ένα μη επισημασμένο αντίσωμα, που είναι καθηλωμένο συνήθως σε μια στερεή επιφάνεια και μετά προστίθεται το ίδιο επισημασμένο αντίσωμα. Το αποτέλεσμα της αντίδρασης είναι ευθέως ανάλογο προς τη συγκέντρωση της ουσίας που μετράμε στο δείγμα. Στην ELISA η επισήμανση πραγματοποιείται με τη σύνδεση ενός ενζύμου στο προς ιχνηθέτηση αντιγόνο ή αντίσωμα. Ο προσδιορισμός του συνδεδεμένου ενζύμου απαιτεί την προσθήκη του υποστρώματος για τη μέτρηση μιας καταλυτικής αντίδρασης ενζύμου-υποστρώματος. Τέτοια υποστρώματα ονομάζονται χρωμογόνα υποστρώματα. Μια μικρή σχετικά ποσότητα ενζύμου, μπορεί να προκαλέσει τη μετατροπή σε σύντομο χρόνο μεγάλης ποσότητας υποστρώματος σε έγχρωμο προϊόν. Η παραγωγή αυτού του προϊόντος σταματάει με την προσθήκη συγκεκριμένου αντιδραστήριου συνήθως οξυ και μετράται η απορρόφησή του με τη βοήθεια ειδικού φωτομέτρου.

ΣΤΑΔΙΑ ELISA SANDWICH

1. Το αντίσωμα υπάρχει καθηλωμένο στο πλακίδιο εργασίας
2. Προσθήκη αντιγόνου. Επώαση. Πλύση για να απομακρυνθεί το μη δεσμευμένο αντίσωμα.

3. Προσθήκη αντισώματος συνδεδεμένου με ένζυμο. Επώαση και πλύση για να απομακρυνθεί ότι δε δεσμεύτηκε.
4. Προσθήκη υποστρώματος TMB. Επώαση, παραγωγή έγχρωμου προϊόντος και προσθήκη διαλύματος τερματισμού.
5. Μέτρηση απορρόφησης(230).



Εικόνα 10: Τεχνική ELISA

ΥΛΙΚΑ

Για τη μέτρηση των επιπέδων της βασπίνης χρησιμοποιήθηκαν δύο kit VASPIN ELISA, human VASPIN ,lot 05031413 της εταιρείας MEDIAGNOST (Aspenhastr. 25 D-72770 Reutlingen, Germany), προκειμένου να μπορέσουμε να καλύψουμε τη μέτρηση των δειγμάτων εις διπλούν. Το συγκεκριμένο kit περιέχει το “plate” τιτλοδότησης. 96 κελιών, 5 standards βασπίνης λυοφιλοποιημένα, συγκεντρώσεων 10,75, 200, 500, 1000 pg/ml, στα οποία έγινε ανασύσταση με τη χρήση 750 μl “Dilution buffer”. Επίσης εμπεριέχονται controls ανθρώπινης βασπίνης επίσης λυοφιλοποιημένα, στα οποία η ανασύσταση θα γίνει με τη χρήση 250 μl “Dilution buffer”. Η χρήση των συγκεκριμένων controls κατά τη μέτρηση θα επιβεβαιώσει το κατά πόσο λειτούργησε σωστά η διαδικασία, μιας και οι αναμενόμενες τιμές απορρόφησης δίνονται από τον κατασκευαστή. 12 ml συζευγμένου αντισώματος (βιοτινυλιωμένη anti-vaspin), 12 ml ενζύμου υπεροξειδάσης της ραπανίδος συζευγμένου με στρεπταβιδίνη, 50 ml διάλυμα έκπλυσης (για το

οποίο ακολούθησε αραίωση 1/20 με απεσταγμένο νερό), υπόστρωμα ενζύμου υπεροξειδάσης της ραπανίδος (3,3', 5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη) 12 ml και τέλος 12 ml διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης (H₂SO₄).

ΜΕΘΟΔΟΣ

-Αρχικά μεταφέρουμε τα αντιδραστήρια και τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (20-25^o C).

-Γίνεται αραίωση των δειγμάτων και το controls του kit 1:4 (70 μl δείγματος σε 210 μl dilution buffer)

-Προσθήκη 100 μl dilution buffer στα στα φρεάτια A1 και A2 του «πιάτου» μικροτιτλοδότησης (plate), χρησιμοποιώντας τα έτσι ως «τυφλά» δείγματα

-Προσθήκη 100 μl του κάθε standard εις διπλούν (C1-D2)

-Προσθήκη 100 μl των controls (E2-, H2)

-Προσθήκη 100 μl από κάθε δείγμα στα υπόλοιπα φρεάτια (A3-H12)

-Καλύπτουμε το plate και το αφήνουμε να επωαστεί σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 1ώρα.

-Μετά την επώαση, ξεπλένουμε την πλάκα μικροτιτλοδότησης προσθέτοντας 300 μl διαλύματος πλύσης σε κάθε φρεάτιο. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και συνεχίζουμε τη διαδικασία άλλες 4 φορές. Μετά το τελικό ξέπλυμα, στεγνώνουμε πολύ καλά αναποδογυρίζοντας το plate χτυπώντας το δυνατά πάνω σε διηθητικό χαρτί.

- Προσθέτουμε 100 μl διάλυμα συζευγμένου αντισώματος σε κάθε φρεάτιο.

-Καλύπτουμε το plate και το αφήνουμε να επωαστεί σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα.

-Συνεχίζουμε τη διαδικασία ξεπλύματος όπως ήδη περιγράφηκε πιο πάνω

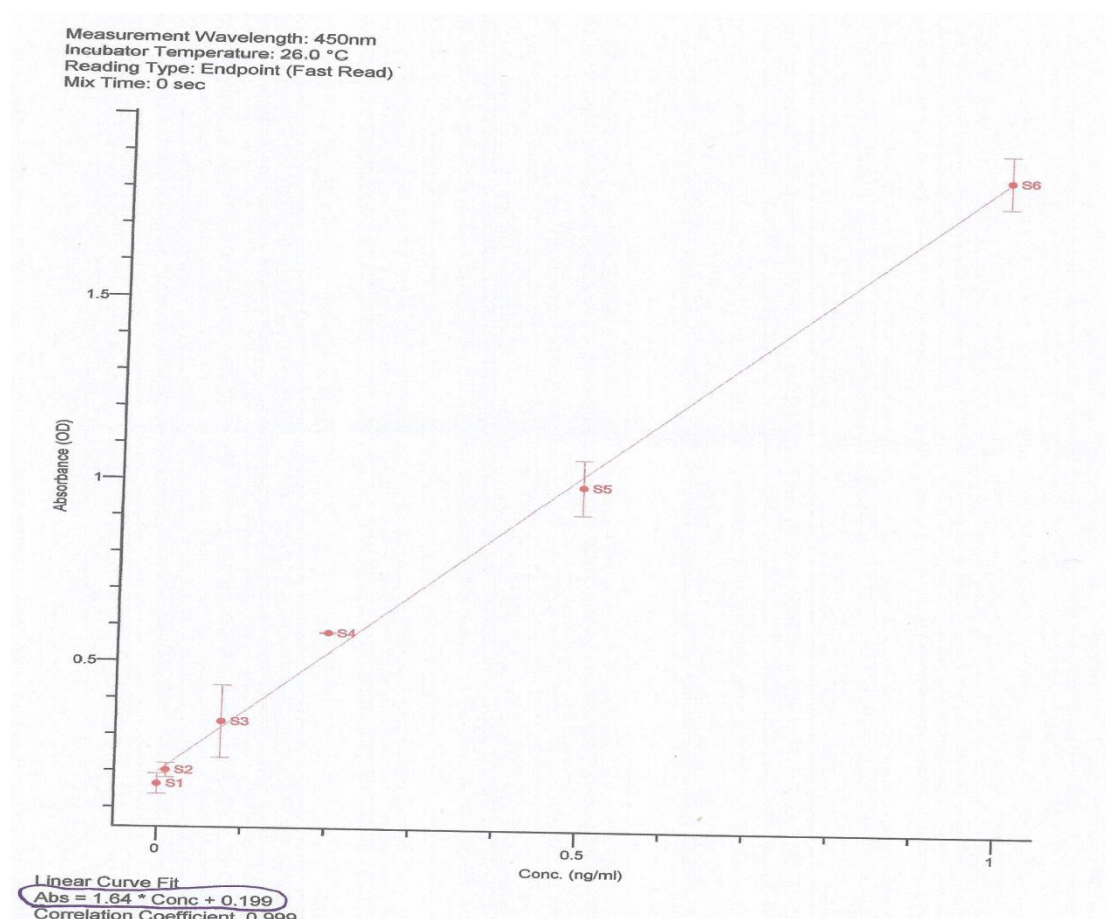
- Προσθέτουμε 100 μl συζευγμένου ενζύμου σε κάθε φρεάτιο

-Ακολουθεί επώαση του plate για 1 ώρα.

- Συνεχίζουμε τη διαδικασία ξεπλύματος όπως ήδη περιγράφηκε πιο πάνω
- Προσθήκη 100 μl υποστρώματος ενζύμου σε κάθε φρεάτιο.
- Επώαση για 30 λεπτά σε σκοτεινό θάλαμο
- Προσθήκη 100 μl διαλύματος τερματισμού(H_2SO_4)
- Τοποθετούμε το plate σε φωτόμετρο BIORAD MODEL 680 ακολουθούμε το πρόγραμμα 4 –parameter στα 450 nm

Η εξίσωση που προκύπτει από την καμπύλη μετά τη μέτρηση της απορρόφησης είναι

$$OD = 1.64 * C + 0.199$$



Παρατηρήσεις:

➤ Το εύρος των συγκεντρώσεων των controls είναι : control 1 : 1.24-1.87 ng/ml

control 2 : .2.74-4.12 ng/ml

➤ Η αραίωση που ακολουθήθηκε στα δείγματα ήταν 1:4

5.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

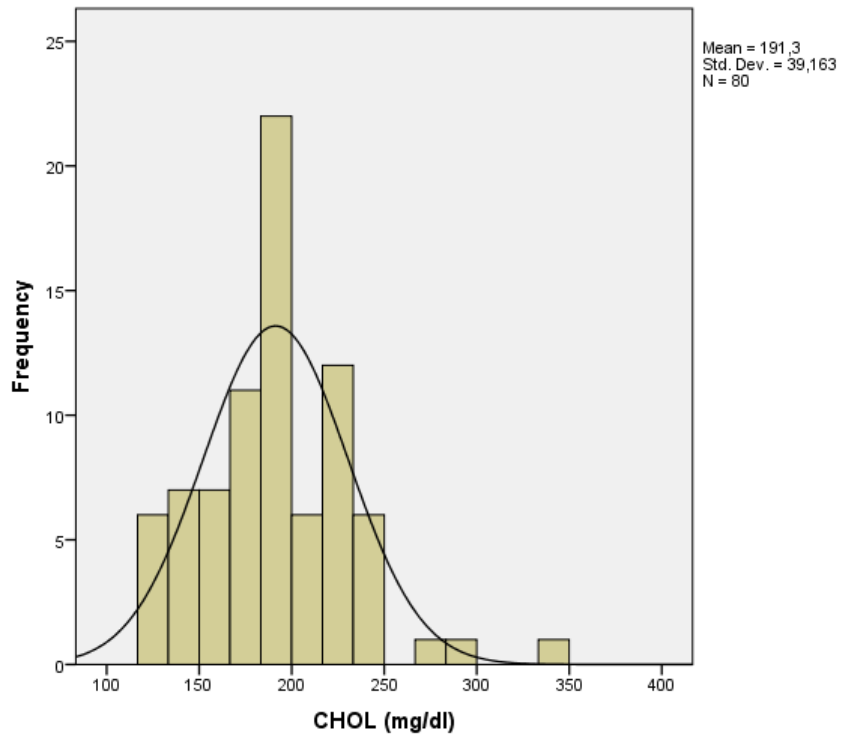
Α. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το δείγμα αποτελείται από 52 γυναίκες (65%) και 28 άνδρες (35%). Δίνονται για όλες τις υπόλοιπες ποσοτικές μεταβλητές τα εξής μέτρα: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέγιστη και ελάχιστη τιμή.

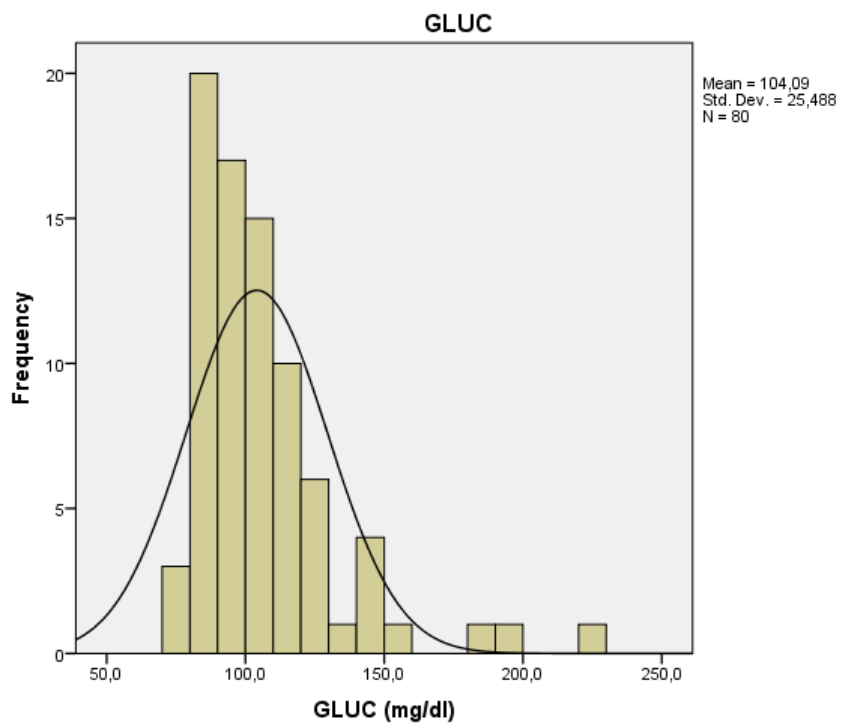
Πίνακας 8. Στατιστικά δεδομένα τιμών μέτρησης

	GLUC(mg/dl)	ΒΑΡΟΣ (kg)	ΥΨΟΣ (m)	ΗΛΙΚΙΑ (έτη)	MEAN OD	CONC ng/ml	CONC X4 (ng/ml)	BMI (kg/m ²)	CHOL (mg/dl)
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	104.088	100.351	168.28	51.1	0.63556	0.26561	1.06245	35.3833	191.3
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	25.4882	23.0431	9.147	11.141	0.7098	0.432825	1.731302	7.39569	39.163
ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΤΙΜΗ	70	55	147	26	0.162	-0.023	-0.092	21.26	120
ΜΕΓΙΣΤΗ ΤΙΜΗ	220	159	191	77	3.303	1.893	7.572	55.63	350

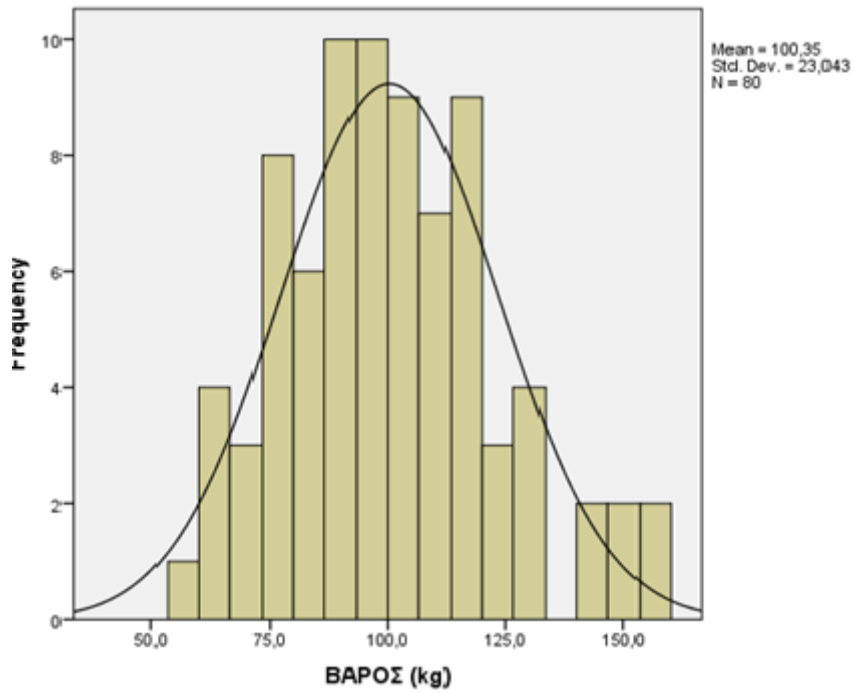
Στη συνέχεια, δίνεται η περιγραφική ανάλυση του δείγματος με γραφικές μεθόδους: για τις ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ιστογράμματα συχνοτήτων ενώ για την ποιοτική μεταβλητή κυκλικό διάγραμμα. Στις μεταβλητές γλυκόζη, ύψος, OD, conc ng/ml, τελική συγκέντρωση βασπίνης και BMI παρατηρείται σημαντική απόκλιση από την κανονική κατανομή.



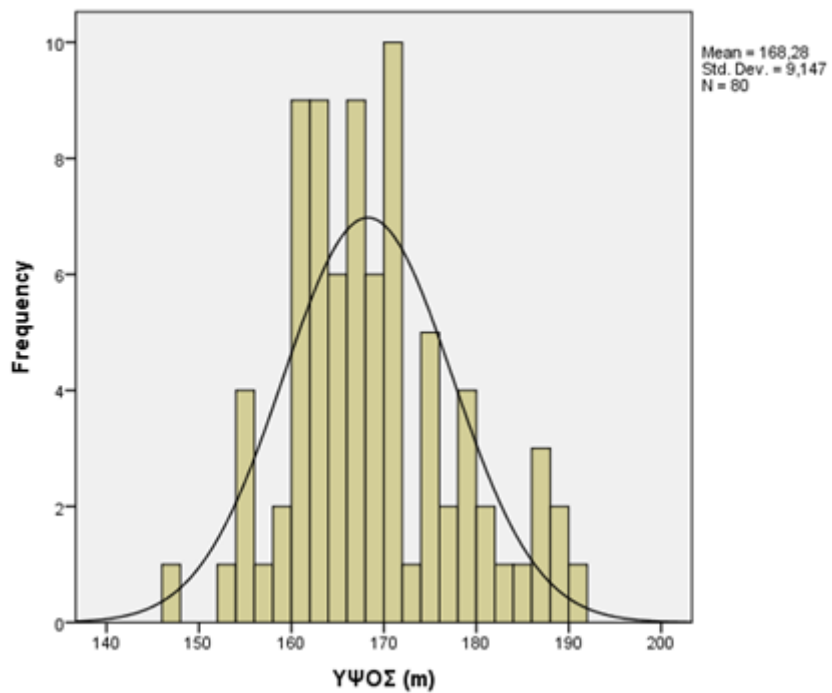
Σχήμα 3: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-CHOL



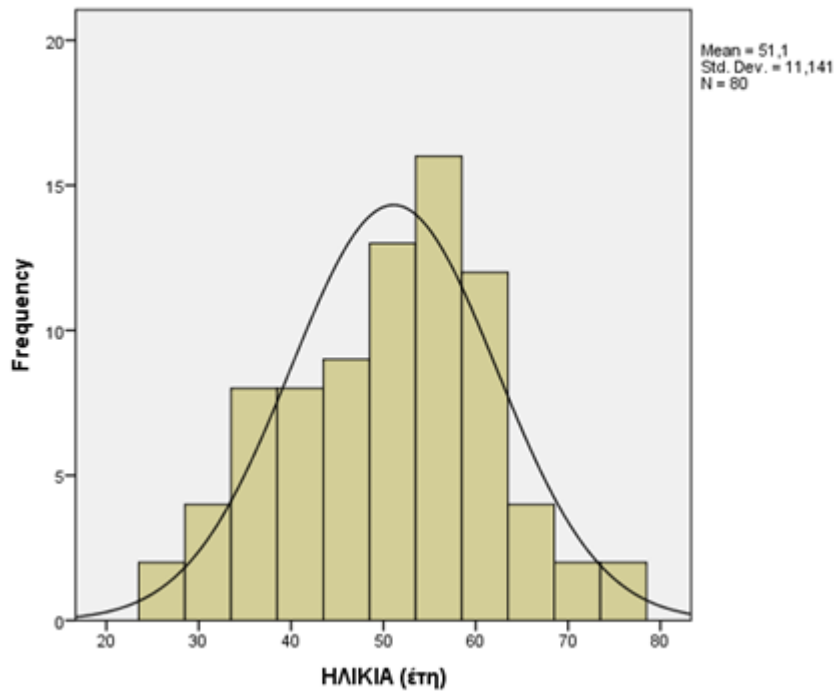
Σχήμα 4: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-GLU



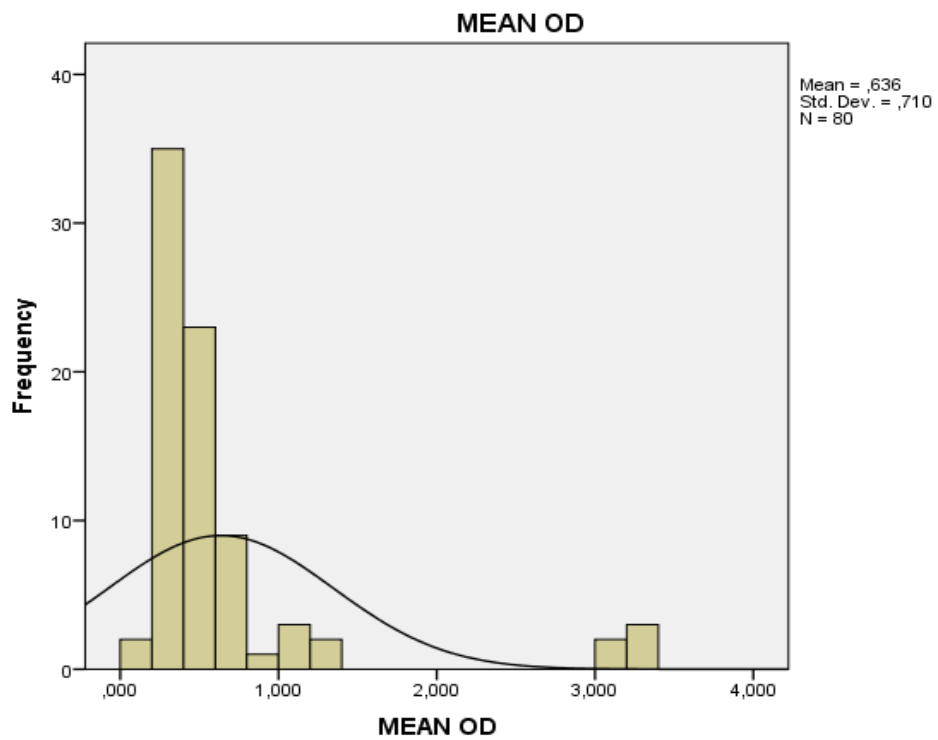
Σχήμα 5: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΡΟΣ



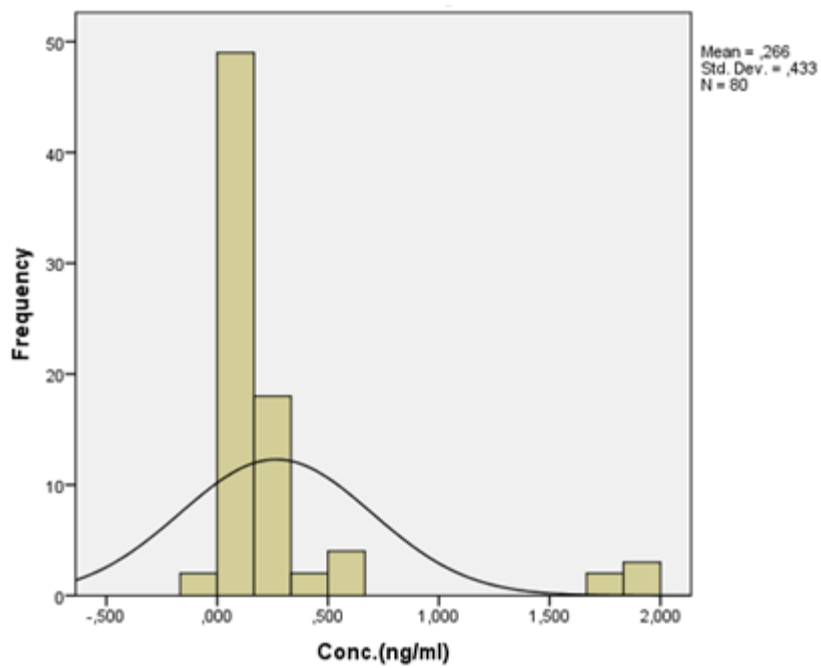
Σχήμα 6: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΥΨΟΣ



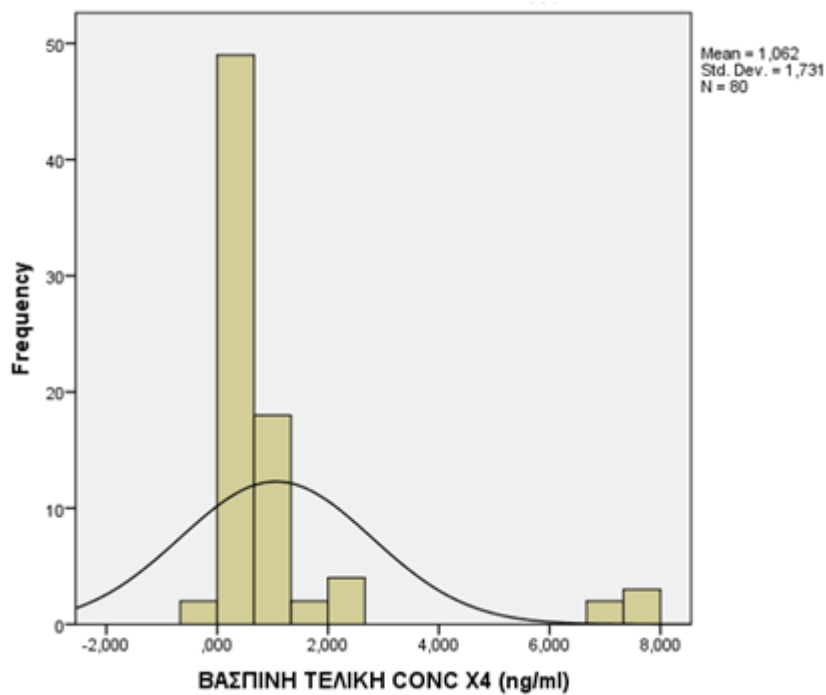
Σχήμα 7: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΗΛΙΚΙΑ



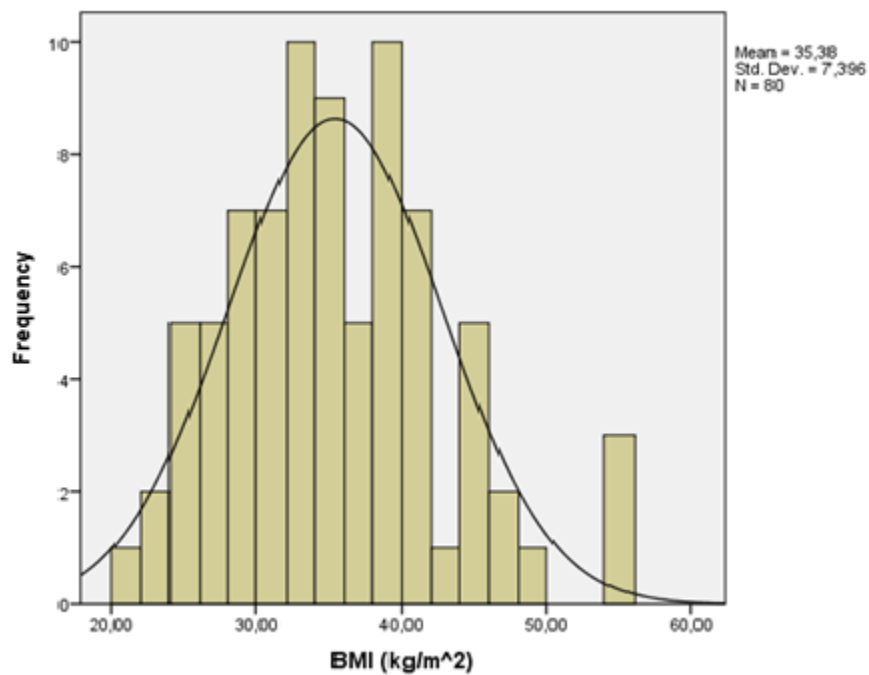
Σχήμα 8: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΟΠΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ



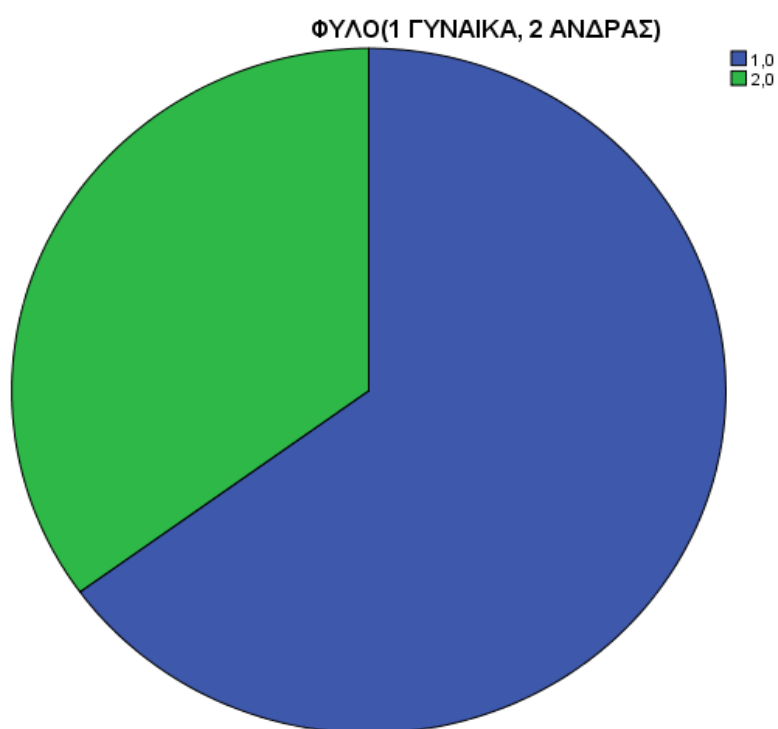
Σχήμα 9: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΣΠΙΝΗ (αραίωση 1/4)



Σχήμα 10: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-ΒΑΣΠΙΝΗ (πριν την αραίωση)



Σχήμα 11: Απεικόνιση συχνότητας (επίπεδα τιμών)-BMI

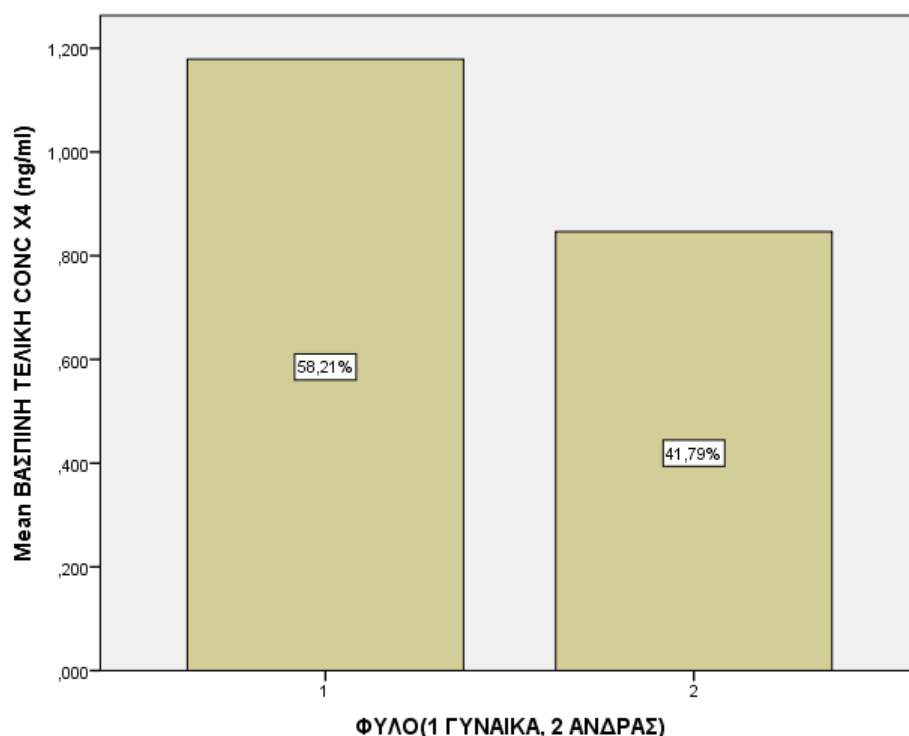


Σχήμα 12: Απεικόνιση (πίτα) αναλογιών των δύο φύλων

B. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ

Για τις ζητούμενες συσχετίσεις μεταβλητών έχει γίνει γραφική απεικόνιση με ραβδόγραμμα ως προς το φύλο (για ποσοτική με ποιοτική μεταβλητή) ή διάγραμμα διασποράς (για δύο ποσοτικές μεταβλητές). Στη συνέχεια, έχουν δοθεί τα αριθμητικά αποτελέσματα ως προς την ύπαρξη ή μη συσχέτισης από τους παραμετρικούς ελέγχους για κάθε ζεύγος μεταβλητών και αν έχει χρειαστεί και το αποτέλεσμα από τον αντίστοιχο μη παραμετρικό έλεγχο, καθώς και η ερμηνεία τους.

1. ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ – ΦΥΛΟ

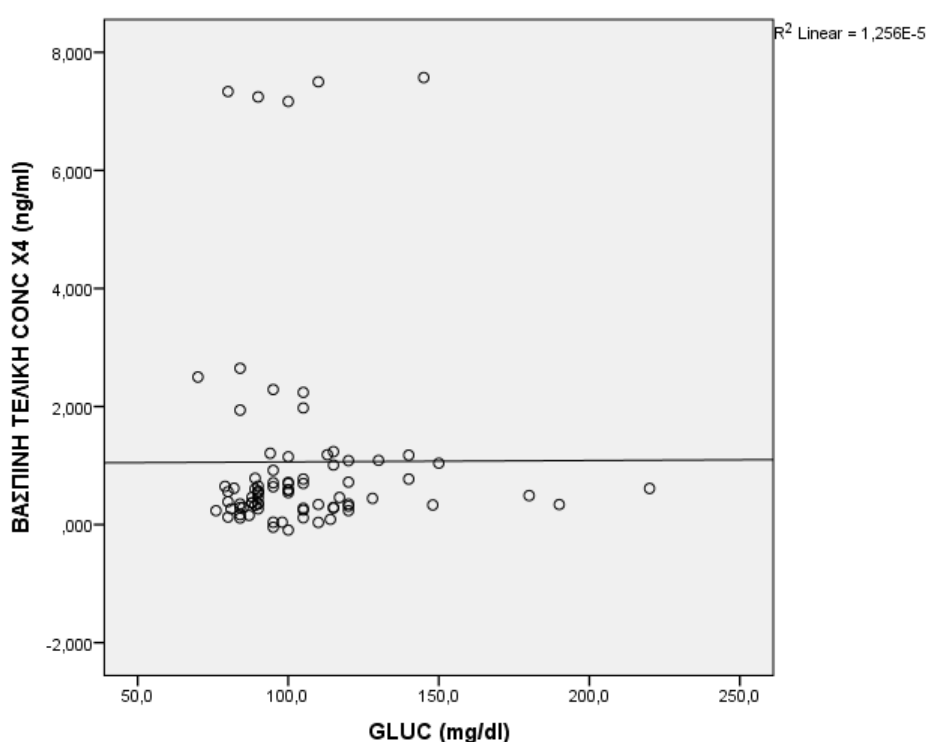


Σχήμα 13: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Πραγματοποιήθηκε T-test (Independent samples test) για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Η μέση τιμή για την τελική συγκέντρωση βασπίνης για τις γυναίκες είναι 1.17885 ng/ml ενώ για τους άνδρες 0.84629 ng/ml. Τα αποτελέσματα $t = 0.818$ με $p\text{-value} = 0.416$ από τον παραμετρικό έλεγχο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο

σημαντικότητας 95% **δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση της τελικής συγκέντρωσης βασπίνης ως προς το φύλο**. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούν και τα αποτελέσματα $t = -0.449$ με $p\text{-value} = 0.653$ από το μη παραμετρικό έλεγχο Mann - Whitney. (Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο δειγμάτων προς σύγκριση θεωρείται πιο αξιόπιστο το αποτέλεσμα του μη παραμετρικού ελέγχου).

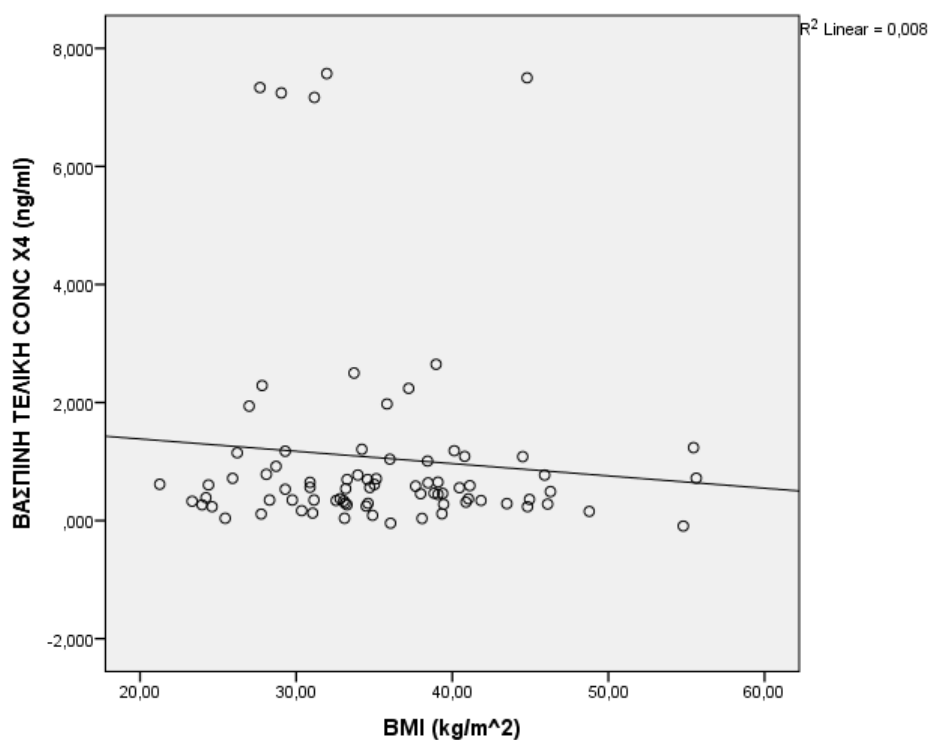
2. ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ – ΓΛΥΚΟΖΗ



Σχήμα 14: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.004$ με $p\text{-value} = 0.975$ από τον παραμετρικό έλεγχο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει απουσία γραμμικής σχέσης μεταξύ γλυκόζης και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο μεταβλητών θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$).

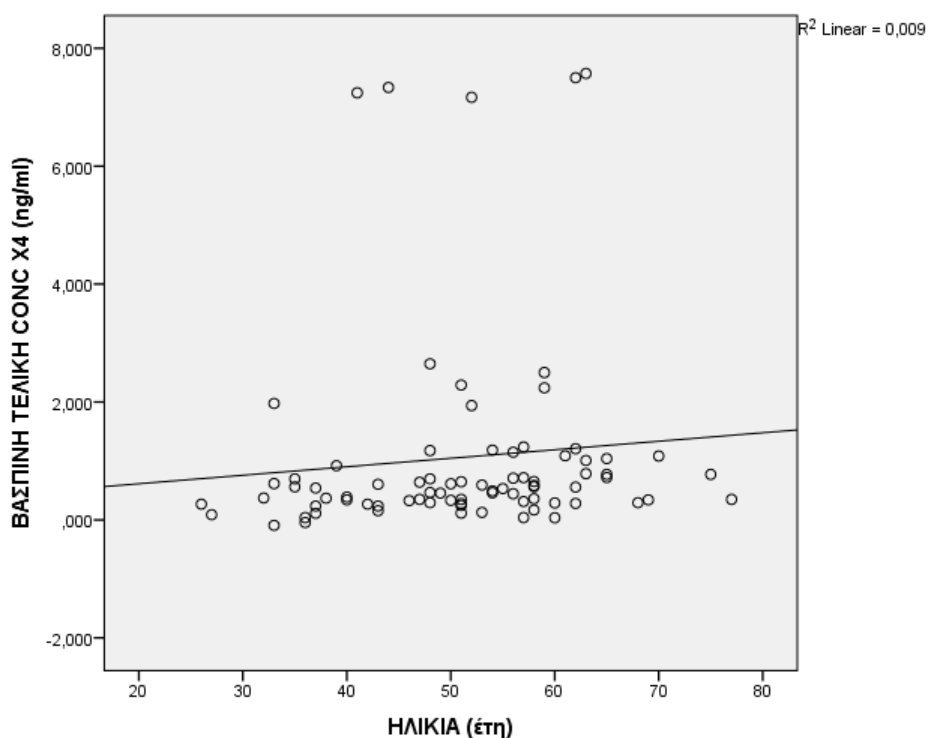
3. ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ – BMI



Σχήμα 15: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-BMI

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = -0.089$ με $p\text{-value} = 0.432$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει μια ασθενής αρνητική γραμμική σχέση μεταξύ BMI και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο μεταβλητών θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$).

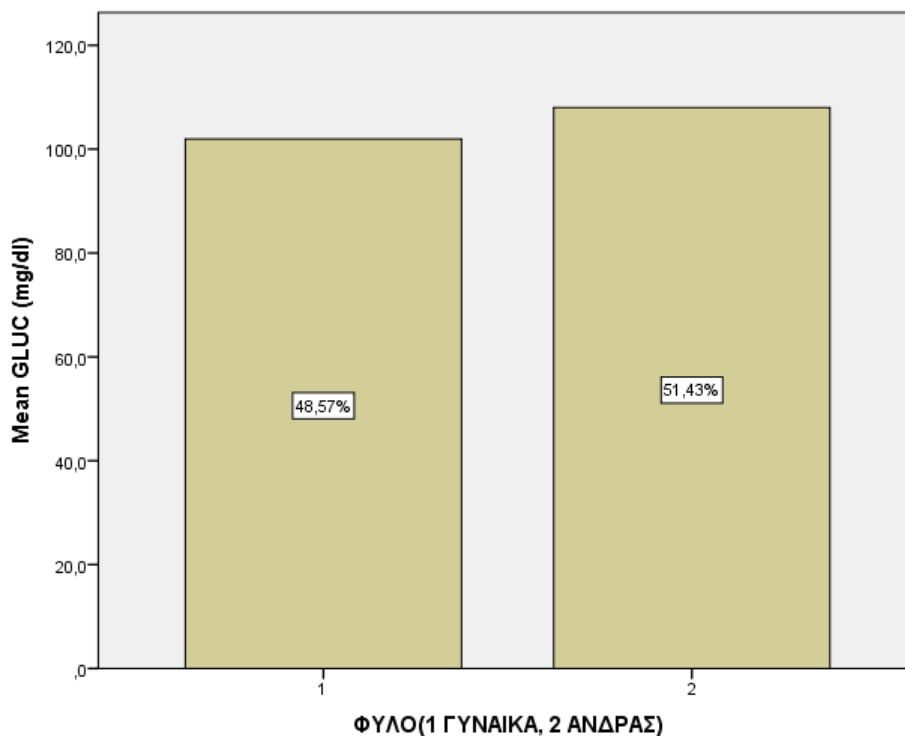
4. ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ – ΗΛΙΚΙΑ



Σχήμα 16: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ-ΗΛΙΚΙΑΣ

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.093$ με $p\text{-value} = 0.413$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει μια ασθενής θετική γραμμική σχέση μεταξύ ηλικίας και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της τελικής συγκέντρωσης της βασπίνης θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$).

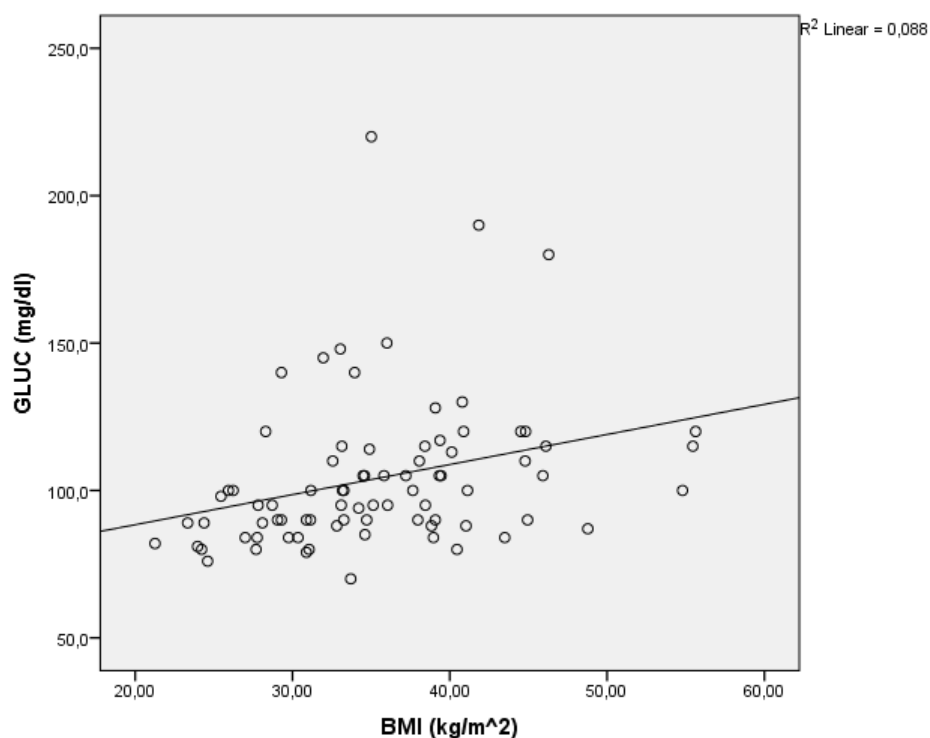
5. ΓΛΥΚΟΖΗ – ΦΥΛΟ



Σχήμα 17: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΓΛΥΚΟΖΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Πραγματοποιήθηκε T-test (Independent samples test) για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Η μέση τιμή για τη γλυκόζη για τις γυναίκες είναι 101.981 ενώ για τους άνδρες 108. Τα αποτελέσματα $t = -1.008$ με $p\text{-value} = 0.317$ από τον παραμετρικό έλεγχο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση της γλυκόζης ως προς το φύλο**. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούν και τα αποτελέσματα $t = -1.441$ με $p\text{-value} = 0.15$ από το μη παραμετρικό έλεγχο Mann - Whitney. (Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο δειγμάτων προς σύγκριση θεωρείται πιο αξιόπιστο το αποτέλεσμα του μη παραμετρικού ελέγχου).

6. ΓΛΥΚΟΖΗ – BMI

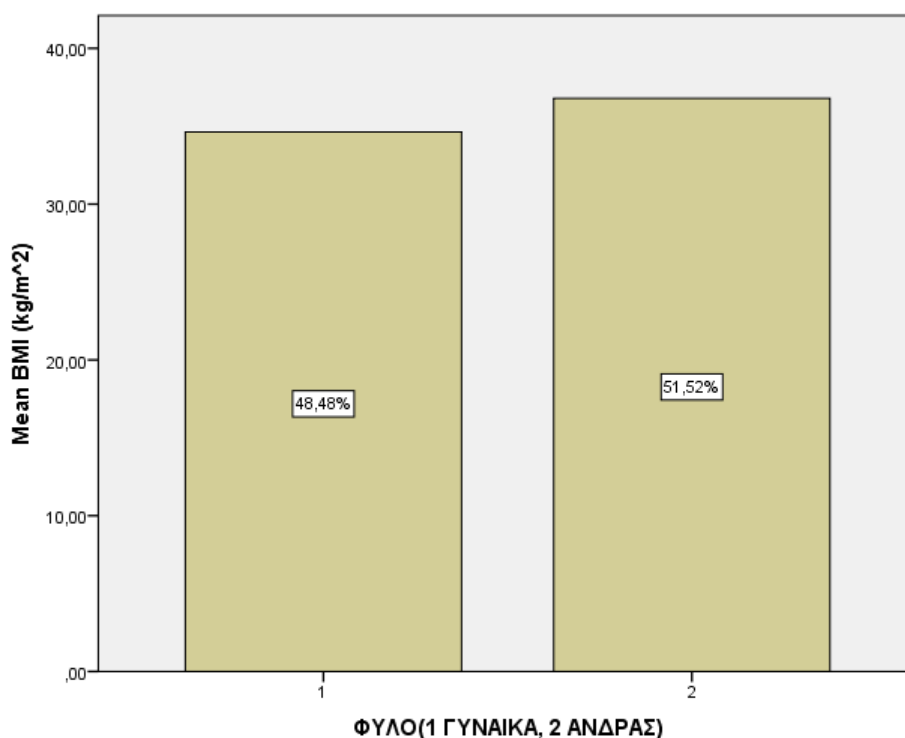


Σχήμα 18: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΓΛΥΚΟΖΗΣ- BMI

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.296$ με $p\text{-value} = 0.008$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει μέτρια θετική γραμμική σχέση μεταξύ γλυκόζης και BMI**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο μεταβλητών θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$). Με εφαρμογή της ανάλυσης παλινδρόμησης προτείνεται το ακόλουθο μοντέλο πρόβλεψης της γλυκόζης από την τιμή BMI:

$$\text{γλυκόζη} = 67.974 + 1.021 * \text{BMI}$$

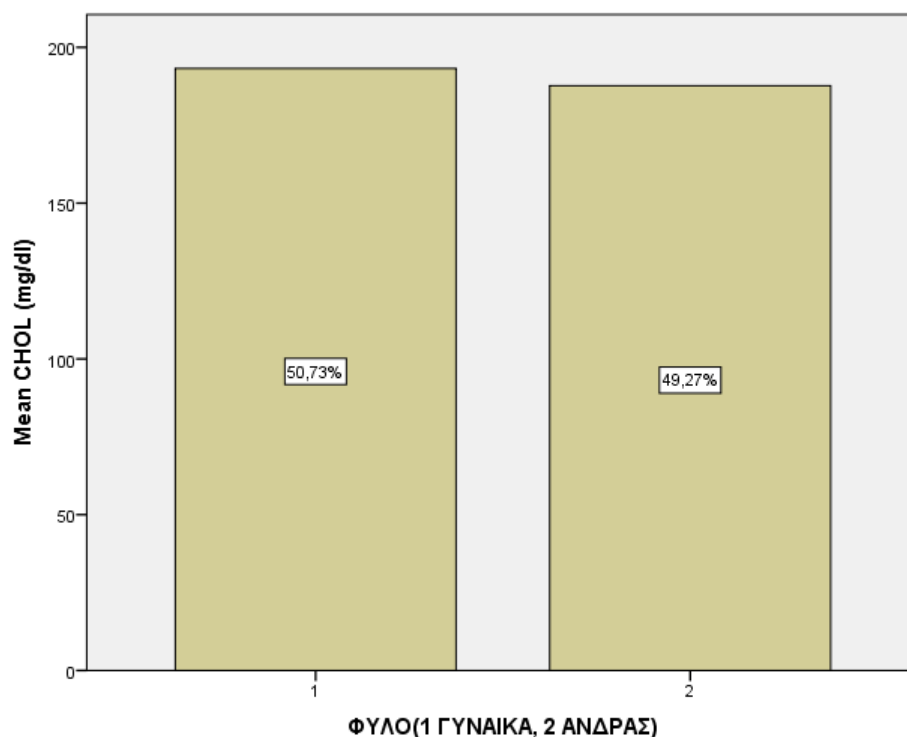
7. ΦΥΛΟ – BMI



Σχήμα 19: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΦΥΛΟΥ- BMI

Πραγματοποιήθηκε T-test (Independent samples test) για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Η μέση τιμή για BMI για τις γυναίκες είναι 34.6246 ενώ για τους άνδρες 36.7923. Τα αποτελέσματα $t = -1.255$ με $p\text{-value} = 0.213$ από τον παραμετρικό έλεγχο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση BMI ως προς το φύλο**. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούν και τα αποτελέσματα $t = -0.59$ με $p\text{-value} = 0.555$ από το μη παραμετρικό έλεγχο Mann - Whitney. (Επειδή παραβιάζονται οριακά οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο δειγμάτων προς σύγκριση θεωρείται πιο αξιόπιστο το αποτέλεσμα του μη παραμετρικού ελέγχου).

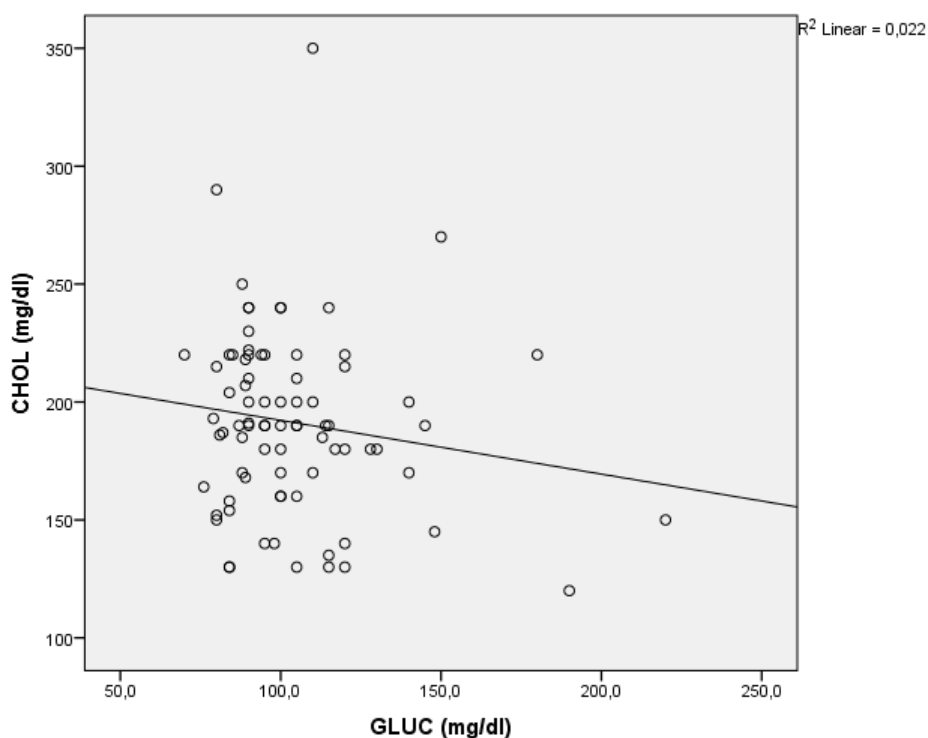
8. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ – ΦΥΛΟ



Σχήμα 20: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΡΟΛΗΣ-ΦΥΛΟΥ

Πραγματοποιήθηκε T-test (Independent samples test) για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Η μέση τιμή της χοληστερόλης για τις γυναίκες είναι 193.25 ενώ για τους άνδρες 187.68. Τα αποτελέσματα $t = 0.604$ με $p\text{-value} = 0.547$ από τον παραμετρικό έλεγχο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση της χοληστερόλης ως προς το φύλο**. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούν και τα αποτελέσματα $t = -0.182$ με $p\text{-value} = 0.856$ από το μη παραμετρικό έλεγχο Mann - Whitney. (Επειδή παραβιάζονται οριακά οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο δειγμάτων προς σύγκριση θεωρείται πιο αξιόπιστο το αποτέλεσμα του μη παραμετρικού ελέγχου).

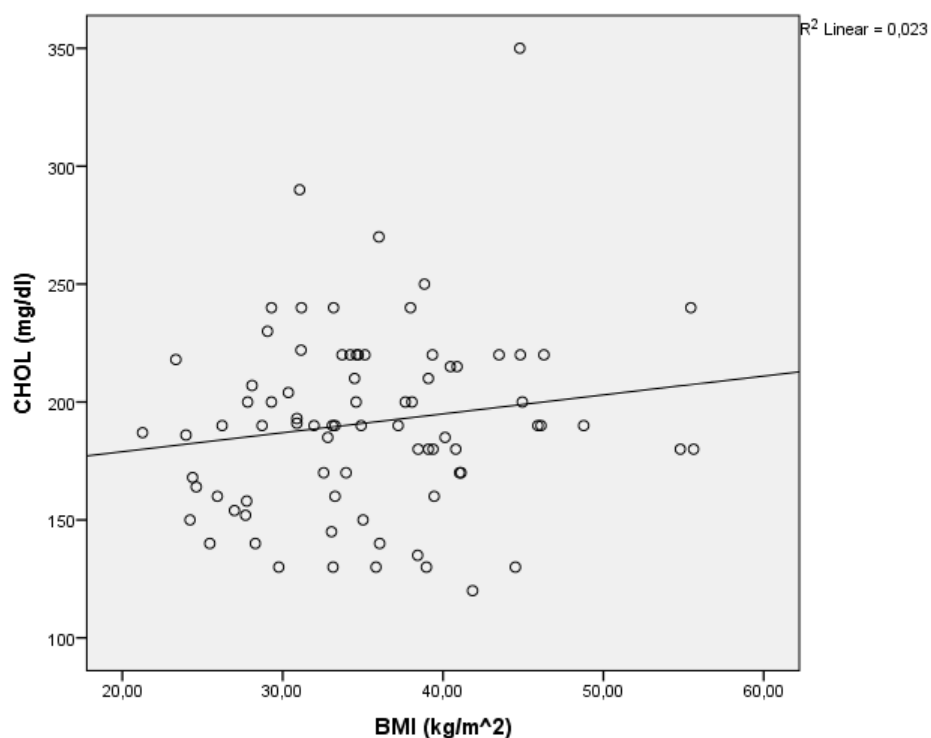
9. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ – ΓΛΥΚΟΖΗ



Σχήμα 21: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ-ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = -0.148$ με $p\text{-value} = 0.189$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει ασθενής αρνητική γραμμική σχέση μεταξύ γλυκόζης και χοληστερόλης**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της γλυκόζης θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$).

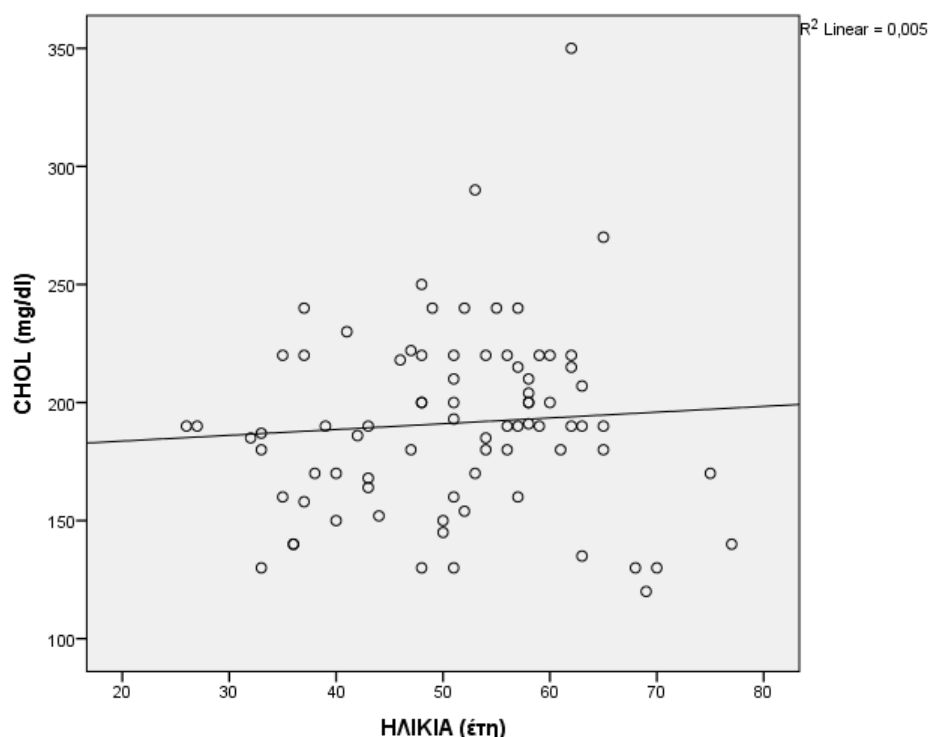
10. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ – BMI



Σχήμα 22: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ- BMI

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.151$ με $p\text{-value} = 0.18$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει ασθενής θετική γραμμική σχέση μεταξύ BMI και χοληστερόλης**. (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της μεταβλητής BMI θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα είναι μεγάλο $N \geq 30$).

11. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ – ΗΛΙΚΙΑ



Σχήμα 23: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ- ΗΛΙΚΙΑΣ

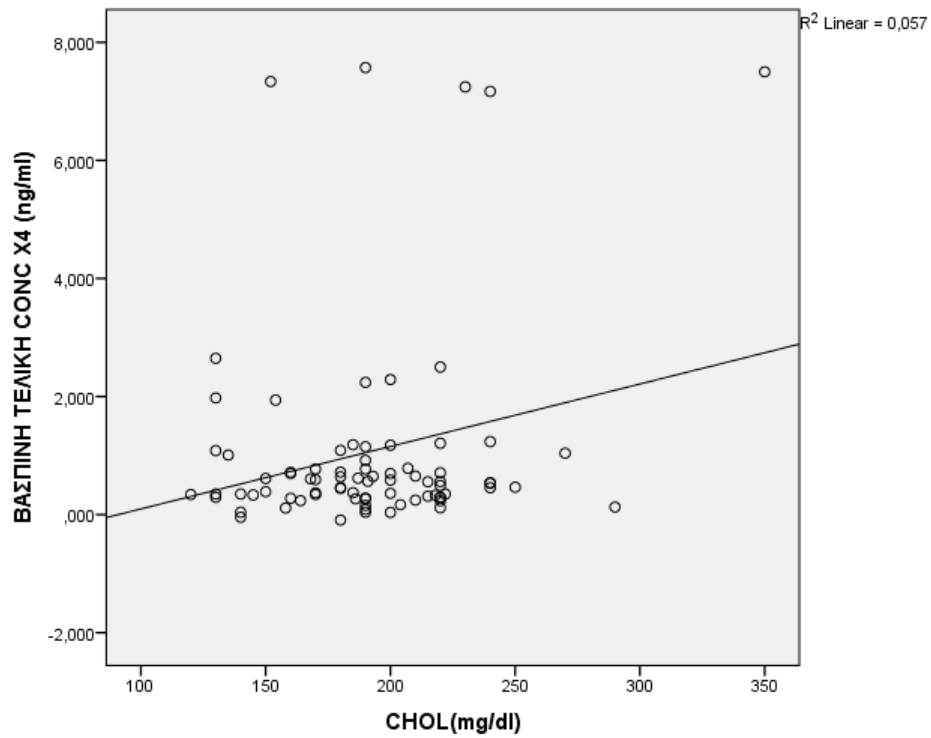
Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.07$ με $p\text{-value} = 0.539$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει ασθενής θετική γραμμική σχέση μεταξύ ηλικίας και χοληστερόλης.**

12. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ - ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.239$ με $p\text{-value} = 0.033$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει μέτρια θετική γραμμική σχέση μεταξύ τελικής συγκέντρωσης βασπίνης και χοληστερόλης.** (Αν και παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της τελικής συγκέντρωσης βασπίνης θεωρείται το αποτέλεσμα αξιόπιστο καθώς το δείγμα

είναι μεγάλο $N \geq 30$). Με εφαρμογή της ανάλυσης παλινδρόμησης προτείνεται το ακόλουθο μοντέλο πρόβλεψης της τελικής συγκέντρωσης βασπίνης (vasprin) από την τιμή της χοληστερόλης:

$$\text{τελική συγκέντρωση βασπίνης} = -0.962 + 0.011 * \text{χοληστερόλη}$$

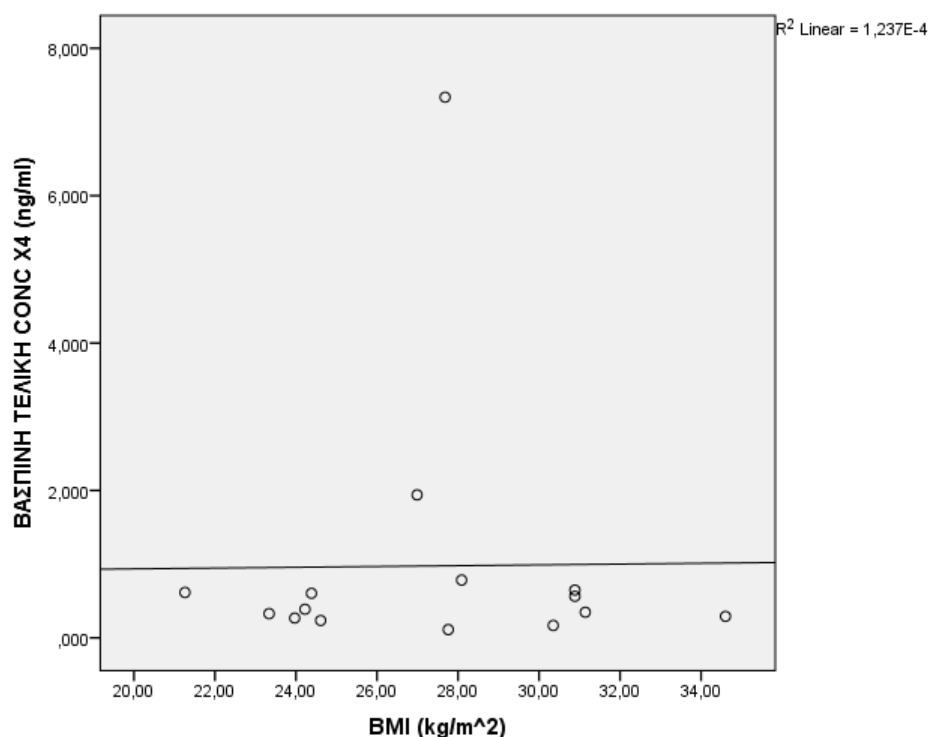


Σχήμα 24: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ-ΒΑΣΠΙΝΗΣ

Σχετικά με τη στατιστική επεξεργασία δεδομένων συσχετιζόμενων με του φυσιολογικούς εθελοντές κατεγράφησαν τα παρακάτω:

ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ – BMI

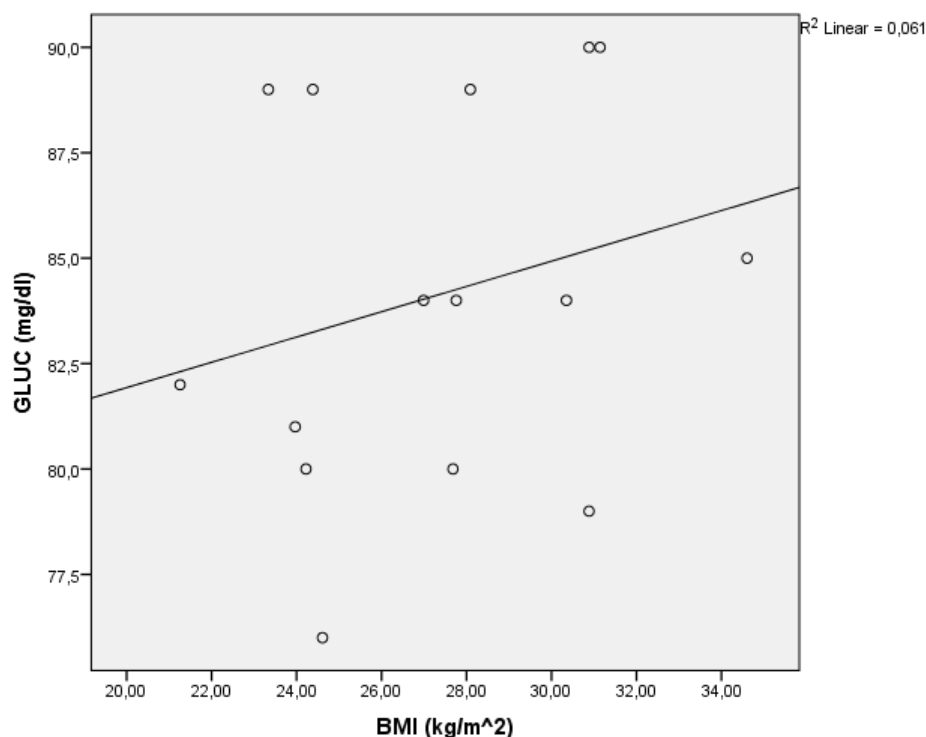
Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.011$ με $p\text{-value} = 0.969$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% υπάρχει απουσία γραμμικής σχέσης μεταξύ BMI και τελικής συγκέντρωσης βασπίνης, η οποία είναι μη στατιστικά σημαντική. Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο μεταβλητών, υπολογίσθηκε και ο αντίστοιχος μη παραμετρικός έλεγχος. Με βάσει τον έλεγχο αυτό προκύπτει το ίδιο συμπέρασμα.



Σχήμα 25: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- ΒΑΣΠΙΝΗΣ (controls)

ΓΛΥΚΟΖΗ – BMI

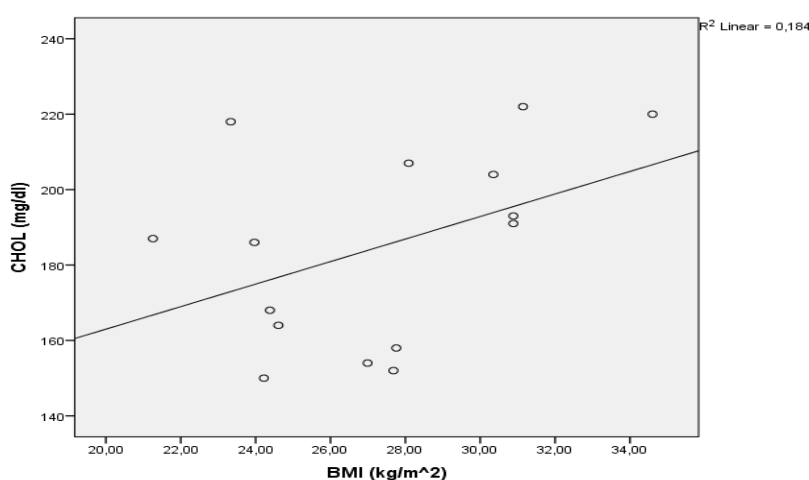
Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.248$ με $p\text{-value} = 0.373$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει μέτρια γραμμική σχέση μεταξύ BMI και γλυκόζης, η οποία είναι μη στατιστικά σημαντική**. Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας των δύο μεταβλητών, υπολογίσθηκε και ο αντίστοιχος μη παραμετρικός έλεγχος. Με βάση τον έλεγχο αυτό **προκύπτει το ίδιο συμπέρασμα**.



Σχήμα 26: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- ΓΛΥΚΟΖΗΣ (controls)

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ – BMI

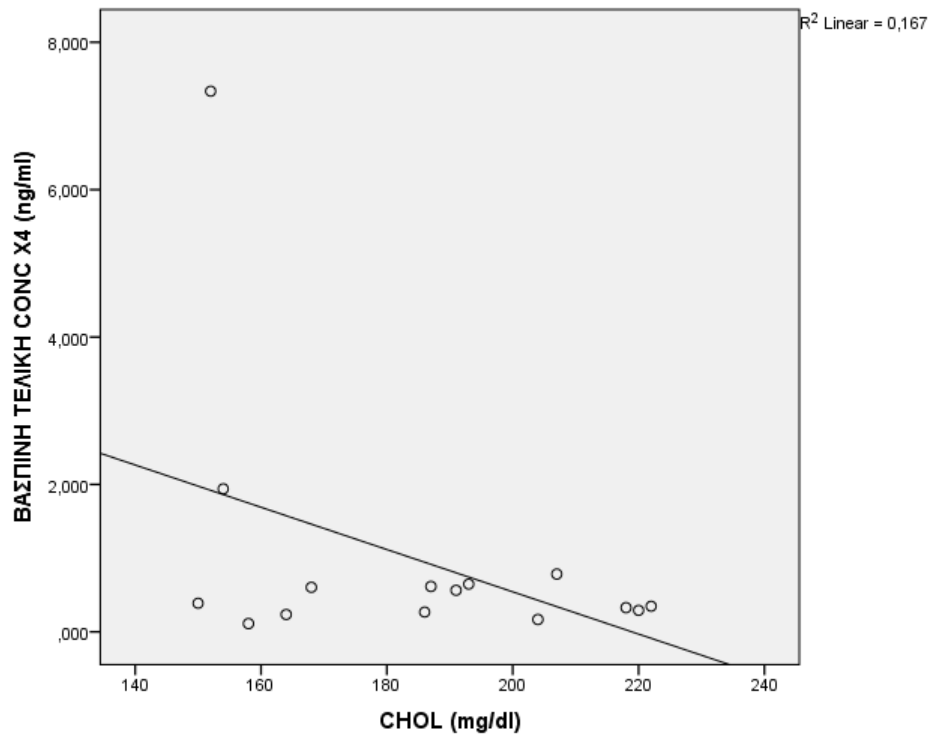
Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = 0.428$ με $p\text{-value} = 0.111$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει ισχυρή θετική γραμμική σχέση μεταξύ BMI και γλυκόζης, η οποία είναι μη στατιστικά σημαντική**. Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της μεταβλητής BMI, υπολογίσθηκε και ο αντίστοιχος μη παραμετρικός έλεγχος. Με βάση τον έλεγχο αυτό **προκύπτει το ίδιο συμπέρασμα**.



Σχήμα 27: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης BMI- CHOL (controls)

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ - ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΣΠΙΝΗΣ

Υπολογίσθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών. Τα αποτελέσματα $r = -0.409$ με $p\text{-value} = 0.13$ οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 95% **υπάρχει ισχυρή αρνητική γραμμική σχέση μεταξύ τελικής συγκέντρωσης βασπίνης και χοληστερόλης, η οποία είναι μη στατιστικά σημαντική**. Επειδή παραβιάζονται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του παραμετρικού ελέγχου λόγω της μη κανονικότητας της τελικής συγκέντρωσης βασπίνης, υπολογίσθηκε και ο αντίστοιχος μη παραμετρικός έλεγχος. Με βάση τον έλεγχο αυτό **υπάρχει ασθενής αρνητική γραμμική σχέση, η οποία είναι μη στατιστικά σημαντική**.



Σχήμα 28: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης ΒΑΣΠΙΝΗΣ- CHOL (controls)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα συμπεράσματα που μπορούν να εξαχθούν ως αποτέλεσμα των πειραματικών δεδομένων και της στατιστικής επεξεργασίας είναι τα ακόλουθα:

ΒΑΣΠΙΝΗ-ΗΛΙΚΙΑ

Παρατηρήθηκε μια σχετική συσχέτιση της ηλικία με τη βασπίνη (vaspin). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί, καθώς με το πέρασμα του χρόνου, η ανακατανομή του λίπους αλλάζει και παρατηρείται απώλεια περιφερικού υποδόριου λίπους και συσσώρευση κεντρικού λίπους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα της αύξηση του αριθμού των λιποκυττάρων και κατ' επέκταση και των λιποκινών, όπως και της βασπίνης (vaspin) (231). Μια άλλη πιθανή ερμηνεία της σχετιζόμενης με την ηλικία αύξησης των επιπέδων της βασπίνης στο πλάσμα είναι η θετική ανάδραση λόγω της ρύθμισης προς τα κάτω ή της αντίστασης των υποδοχέων βασπίνης με την ηλικία (232). Σε όλα τα παραπάνω να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τελευταίες έρευνες, τα υψηλά επίπεδα βασπίνης στο πλάσμα όσο αυξάνεται η ηλικία, μπορεί να έχουν πολυάριθμα ευεργετικά αποτελέσματα ειδικά σε φλεγμονές, καθώς η βασπίνη φαίνεται να καταστέλλει την έκφραση αρκετών φλεγμονωδών παραγόντων, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF) –α(69, 233).

ΒΑΣΠΙΝΗ-ΓΛΥΚΟΖΗ-BMI

Φαίνεται ότι τα επίπεδα της βασπίνης δεν μπορούν να συσχετιστούν με τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα. Παρ' όλα αυτά, οι τιμές της γλυκόζης για τους παχύσαρκους ασθενείς φαίνεται ότι είναι υψηλά, αν σκεφτούμε ότι τα φυσιολογικά είναι 70-115 mg/dl. Οι παχύσαρκοι ασθενείς εμφανίζουν προδιάθεση διαβήτη ή διαβήτη τύπου II. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη. Σήμερα θεωρείται πως ένα από τα σημαντικά αίτια πρόκλησής του αποτελούν επαγόμενα από το οξειδωτικό στρες ελλείμματα στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και την μιτοχονδριακή β-οξειδωση, που οδηγούν στη συσσώρευση ενδοκυττάρων τριγλυκεριδίων στο μυϊκό ιστό και το ήπαρ και στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη(182). Στην πορεία τα β-κύτταρα του παγκρέατος αδυνατούν να αντιμετωπίσουν τις αυξημένες ανάγκες λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη με αποτέλεσμα να παρατηρείται διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη και μεταγευματική υπεργλυκαιμία. Τα β-κύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξειδωτική προσβολή γιατί περιέχουν χαμηλή ποσότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η καταλάση, η σουπεροξειδική δισμουτάση και η οξειδάση της γλουταθειόνης(183, 184). Δεν αποτελεί λοιπόν έκπληξη ότι το οξειδωτικό στρες προκαλεί βλάβη στα μιτοχόνδρια των β-κυττάρων και παρεμποδίζει την έκκριση της ινσουλίνης(185). Στο μέλλον, η συσχέτιση των επιπέδων της βασπίνης(vaspin) με το σακχαρώδη διαβήτη, θα μπορούσε να γίνει μέσω της συσχέτισης των επιπέδων της με τα επίπεδα ινσουλίνης και HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance index: μοντέλο ομοιοστατικής αξιολόγησης - Δείκτης αντίστασης ινσουλίνης)(77)

ΒΑΣΠΙΝΗ-ΦΥΛΟ

Σχετικά με τα επίπεδα βασπίνης συγκριτικά με τα δύο φύλα, δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση μιας και λόγω των κριτηρίων αποκλεισμού, εξαιρέθηκαν οι περιπτώσεις ασθενών με καρδιαγγειακά

νοσήματα και στεφανιαία αρτηριοσκλήρωση, όπου σύμφωνα με έρευνες παρατηρείται μια διαφοροποίηση σε άντρες και γυναίκες, αντίστοιχα στα επίπεδα βασπίνης(234), όπως επίσης και γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, στις οποίες τα επίπεδα βασπίνης ορού και λιπώδους ιστού παρατηρούνται σημαντικά αυξημένα και μειωμένα με θεραπεία με μετφορμίνη σύμφωνα με τη μείωση στην αντίσταση στην ινσουλίνη(235, 236). Επίσης Στην πλειοψηφία του το δείγμα αποτελούνταν από γυναίκες, ως εκ τούτου, δε θα μπορούσε να εξαχθεί στατιστικά σημαντικό συμπέρασμα. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι η ανομοιογένεια του δείγματος σχετίζεται με το γεγονός ότι οι ασθενείς που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν ασθενείς του ιατρείου παχυσαρκίας, το οποίο στατιστικά έχει μεγαλύτερη επίσκεψη από γυναίκες, σε μια προσπάθεια απώλειας βάρους. Παρ' όλα αυτά φαίνεται γενικότερα ότι οι γυναίκες αναλογικά έχουν μεγαλύτερο BMI από τους άντρες. Η αντίληψη του άγχους εξασθενεί τη θετική επίδραση της κορτιζόλης και τις αρνητικές επιδράσεις της λεπτίνης και της 5-HT στην όρεξη μέσω αλλαγών στο κυκλοφορικό επίπεδο. Οι γυναίκες αντιλαμβάνονται περισσότερο το άγχος και εμφανίζουν σημαντικά εξασθενημένες αλλαγές στα ορμονικά επίπεδα και την όρεξη που μπορεί να είναι ο παράγοντας που συμβάλλει στην παχυσαρκία. Ο αυξημένος ΔΜΣ στις γυναίκες παρά τη μειωμένη όρεξη αξίζει περισσότερες μελέτες(237, 238).

ΒΑΣΠΙΝΗ-CHOL

Τα στατιστικά δεδομένα, μας οδηγούν στην υπόθεση της πιθανής συσχέτισης της βασπίνης με την ελεύθερη χοληστερόλη. Φαίνεται ως ένα σχετικό νέο δεδομένο και χρήζει έρευνας, μιας και οι έρευνες μέχρι αυτό το σημείο προσεγγίζουν συσχέτιση μεταξύ της βασπίνης και των τριγλυκεριδίων ή της OX-LDL (239).

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

BMI	Body Mass Index
WHO	World Health Organization
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
MD	Mellitus Diabetes
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
TC	Total Cholesterol
AOPPs	Advanced Oxidation Protein Products
TAC	Total Antioxidant Capacity
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
ROS	Reactive Oxygen Species
OS	Oxidative Stress
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alpha
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
TGF-β	Transforming Growth Factor beta
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
CRP-C	C-Reactive Protein
IL-1	Interleukin-1
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor-1
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
NF-κB	Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
RCL	Reactive Center Loop
XNA	Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια
POMC	Pro-opiomelanocortin
GLUT-4	Glucose Transporter type 4
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase

RTK	Receptor Tyrosine Kinase
HOMA-IR	Homeostatic model assessment
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΟΡΩΝ	
BMI	Δείκτης μάζας σώματος ΔΜΣ
WHO	Παγκόσμιος οργανισμός υγείας ΠΟΥ
ΚΝΣ	κεντρικό νευρικό σύστημα
HDL	υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
LDL	χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
MD	σακχαρώδης διαβήτης ΣΔ
OGTT	διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη
TC	ολική χοληστερόλη
AOPPs	πρωτεϊνικά προϊόντα οξειδωσης
TAC	ολική αντιοξειδωτική ικανότητα
VLDL	πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
ROS	ελεύθερες ρίζες ΔΜΟ
OS	οξειδωτικό στρες
TNF-a	παράγοντας νέκρωσης
VEGF	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
TGF-b	αυξητικός τροποποιητικός παράγοντας
PDGF	Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας
CRP-C	C αντιδρώσα πρωτεΐνη
IL-1	ιντερελευκίνη 1
PAI-1	ενεργοποιητής πλασμινογόνου
MCP-1	μονοκυτταρική χημειοκακτική πρωτεΐνη
NF-KB	μεταγραφικός παράγοντας NF-KB
RCL	ενεργή κεντρική θηλιά
ΧΝΑ	χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
POMC	προοπιομελανοκορτινη

GLUT-4	μεταφορέας γλυκόζης
PCOS	σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών
MAPK	μιτογόνως κινάση
RTK	τυροσινική κινάση
HOMA-IR	μοντέλο ομοιοστατικής αξιολόγησης - Δείκτης αντίστασης ινσουλίνης
ELISA	Ανοσοπροσροφητική ενζυμική μέθοδος

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 8: Στοιχεία ασθενών

A/A	ΦΥΛΟ(1 ΓΥΝΑΙΚΑ, 2 ΑΝΔΡΑΣ)	GLUC (mg/dl)	ΒΑΡΟΣ (kg)	ΥΨΟΣ (cm)	ΗΛΙΚΙΑ	MEAN OD	Conc. (ng/ml)	CHOL (mg/dl)
X3	2	113	130	180	54	0,686	0,296	185
X4	1	140	75	160	48	0,682	0,294	200
X5	2	70	94	167	59	1,227	0,625	220
X6	2	190	119,5	169	69	0,339	0,085	120
X7	1	105	114	170	51	0,313	0,069	160
X8	2	115	119	176	63	0,614	0,252	135
X9	2	115	105	178	68	0,32	0,073	130
X10	1	90	109	167	58	0,467	0,163	210
X11	1	117	113,8	170	54	0,389	0,115	180
X12	2	148	95,5	170	50	0,335	0,083	145
X13	2	115	152,8	166	57	0,708	0,309	240
X14	1	84	133,2	175	60	0,317	0,072	220
X15	1	114	95	165	27	0,236	0,022	190
X16	1	87	128	162	43	0,264	0,039	190
X17	1	220	106	174	50	0,451	0,153	150
X18	2	100	105	167	58	0,439	0,146	200
X19	1	95	94,6	162	36	0,181	-0,011	140
X20	2	120	142	178	37	0,297	0,059	220
X21	2	120	100	188	77	0,343	0,087	140
X22	1	84	81	165	51	0,342	0,087	130
X23	1	130	98	155	61	0,646	0,272	180
X24	2	100	97	171	37	0,421	0,135	240
X25	1	94	92	164	62	0,696	0,302	220
X26	1	88	84	160	32	0,352	0,093	185
X27	2	110	110	170	60	0,214	0,009	200
X28	1	95	90	153	47	0,462	0,16	180
X29	1	145	87	165	63	3,303	1.887 'H	190
X30	1	110	119	163	62	3,274	1.869 'H	350
X31	1	115	121	162	62	0,315	0,07	190
X32	2	120	159	189	70	0,645	0,271	130
X33	2	150	109	174	65	0,626	0,26	270
X34	2	120	157	168	65	0,495	0,18	180
X35	1	90	75,3	161	41	3,169	1.806 'H	230
X36	1	90	98,4	172	26	0,309	0,067	190
X37	1	100	79,4	175	57	0,494	0,179	160
X38	1	88	130	178	38	0,351	0,092	170
X39	1	105	94	162	33	1,012	0,494	130
X40	1	105	93	164	48	0,486	0,174	200

X41	1	110	86,5	163	40	0,339	0,085	170
X42	1	100	95	169	35	0,485	0,174	160
X43	1	88	120,3	176	48	0,39	0,116	250
X44	1	105	125	165	65	0,517	0,193	190
X45	1	80	101	158	62	0,428	0,139	215
X46	2	105	143,5	191	51	0,247	0,029	220
X47	2	100	151	166	33	0,162	-0.023 ²	180
X48	1	105	105	168	59	1,121	0,56	190
X49	1	98	55	147	36	0,216	0,01	140
X50	1	128	109	167	56	0,381	0,111	180
X51	2	95	82	169	39	0,577	0,23	190
X52	1	95	72,1	161	51	1,14	0,572	200
X53	2	90	116,5	161	58	0,347	0,09	200
X54	1	100	106,6	161	53	0,443	0,148	170
X55	1	95	84,4	155	56	0,491	0,177	220
X56	2	90	115	182	35	0,43	0,14	220
X57	1	80	79,5	163	53	0,251	0,032	290
X58	1	84	92,4	154	48	1,288	0,662	130
X59	1	100	77,8	158	52	3,138	1.787 ^H	240
X60	1	105	90,5	162	51	0,299	0,061	210
X61	1	90	75	160	55	0,418	0,133	240
X62	1	100	63	155	56	0,672	0,287	190
X63	1	180	118,5	160	54	0,402	0,123	220
X64	2	140	110	180	75	0,516	0,193	170
X65	1	120	114	167	57	0,327	0,078	215
X66	1	90	92,4	156	49	0,387	0,114	240
X67	1	95	91,2	166	57	0,216	0,01	190
X68	2	80	80	170	44	3,207	1.829 ^H	152
X69	2	90	108	187	58	0,431	0,141	191
X70	1	76	63	160	43	0,296	0,059	164
X71	1	80	70	170	40	0,358	0,097	150
X72	2	90	90	170	47	0,343	0,087	222
X73	2	81	73,4	175	42	0,309	0,067	186
X74	1	84	78	170	52	0,997	0,485	154
X75	1	85	100	170	48	0,32	0,073	220
X76	1	89	68	167	43	0,448	0,151	168
X77	2	84	105	186	58	0,268	0,042	204
X78	1	82	60	168	33	0,453	0,154	187
X79	1	89	62	163	46	0,334	0,082	218
X80	2	84	95	185	37	0,246	0,028	158
X81	1	79	108	187	51	0,465	0,162	193
X82	2	89	90	179	63	0,522	0,196	207

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* (London, England). 2005;366(9492):1197-209. Epub 2005/10/04. doi: 10.1016/s0140-6736(05)67483-1. PubMed PMID: 16198769.
2. Organization. WWH. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. 2000, Geneva Switzerland,(894).
3. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise in management of obesity and overweight. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28 Suppl 4:59-63. Epub 2013/11/28. doi: 10.1111/jgh.12407. PubMed PMID: 24251706.
4. Kiernan M, Winkleby MA. Identifying patients for weight-loss treatment: an empirical evaluation of the NHLBI obesity education initiative expert panel treatment recommendations. *Archives of internal medicine*. 2000;160(14):2169-76. Epub 2000/07/25. PubMed PMID: 10904460.
5. Zeng Q, He Y, Dong S, Zhao X, Chen Z, Song Z, et al. Optimal cut-off values of BMI, waist circumference and waist:height ratio for defining obesity in Chinese adults. *The British journal of nutrition*. 2014;112(10):1735-44. Epub 2014/10/11. doi: 10.1017/s0007114514002657. PubMed PMID: 25300318.
6. Drewnowski A, Popkin BM. The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutrition reviews*. 1997;55(2):31-43. Epub 1997/02/01. PubMed PMID: 9155216.
7. Infobase WG. Estimated Obesity(BMI \geq 30 kg/m²) Prevalence, Both Sexes, Aged +15. 2010.
8. Kapantais E TT, Ioannidis I et al. First national epidemiological survey on the prevalence of obesity and abdominal fat distribution in Greek adults. *Ann Nutr Metab*. 2006;50:330-8. .
9. database. WE. Prevalence of Obesity and Overweight. 2004.
10. Maria Hassapidou TT, Evangelia Makri, Ioannis Pagkalos, Ioannis Kaklamanos,, Efthymios Kapantais AA, Antonis Polymeris and Konstantinos Tziomalos. Prevalence and geographic variation of abdominal obesity in 7- and 9-year-old children in Greece; World Health Organization Childhood Obesity Surveillance Initiative 2010. *BMC Public Health*. 2017;17:126:1-9. doi: DOI 10.1186/s12889-017-4061-x.
11. Jebb SA. Aetiology of obesity. *British medical bulletin*. 1997;53(2):264-85. Epub 1997/01/01. PubMed PMID: 9246836.
12. Roberts SB, Savage J, Coward WA, Chew B, Lucas A. Energy expenditure and intake in infants born to lean and overweight mothers. *The New England journal of medicine*. 1988;318(8):461-6. Epub 1988/02/25. doi: 10.1056/nejm198802253180801. PubMed PMID: 3340127.
13. Griffiths M, Payne PR, Stunkard AJ, Rivers JP, Cox M. Metabolic rate and physical development in children at risk of obesity. *Lancet* (London, England). 1990;336(8707):76-8. Epub 1990/07/14. PubMed PMID: 1975323.
14. Bessesen DH, Faggioni R. Recently identified peptides involved in the regulation of body weight. *Seminars in oncology*. 1998;25(2 Suppl 6):28-32. Epub 1998/06/13. PubMed PMID: 9625380.
15. Bray GA. Treatment for obesity: a nutrient balance/nutrient partition approach. *Nutrition reviews*. 1991;49(2):33-45. Epub 1991/02/01. PubMed PMID: 2017319.

16. Perusse L, Despres JP, Lemieux S, Rice T, Rao DC, Bouchard C. Familial aggregation of abdominal visceral fat level: results from the Quebec family study. *Metabolism: clinical and experimental*. 1996;45(3):378-82. Epub 1996/03/01. PubMed PMID: 8606647.
17. Wilding JP. Neuropeptides and appetite control. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2002;19(8):619-27. Epub 2002/07/31. PubMed PMID: 12147141.
18. Gregoire FM. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Experimental biology and medicine (Maywood, NJ)*. 2001;226(11):997-1002. Epub 2001/12/18. PubMed PMID: 11743135.
19. MacDougald OA, Mandrup S. Adipogenesis: forces that tip the scales. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2002;13(1):5-11. Epub 2001/12/26. PubMed PMID: 11750856.
20. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71. Epub 2000/04/15. doi: 10.1038/35007534. PubMed PMID: 10766253.
21. Barsh GS, Schwartz MW. Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nature reviews Genetics*. 2002;3(8):589-600. Epub 2002/08/03. doi: 10.1038/nrg862. PubMed PMID: 12154382.
22. PITOMBO Cea. *Obesity Surgery Principles and Practices*. The McGraw-Hill. 2008.
23. Residori L, Garcia-Lorda P, Flancbaum L, Pi-Sunyer FX, Laferrere B. Prevalence of co-morbidities in obese patients before bariatric surgery: effect of race. *Obesity surgery*. 2003;13(3):333-40. Epub 2003/07/05. doi: 10.1381/096089203765887615. PubMed PMID: 12841889.
24. Kannel WB, Brand N, Skinner JJ, Jr., Dawber TR, McNamara PM. The relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension. The Framingham study. *Annals of internal medicine*. 1967;67(1):48-59. Epub 1967/07/01. PubMed PMID: 6028658.
25. El-Atat F, Aneja A, McFarlane S, Sowers J. Obesity and hypertension. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2003;32(4):823-54. Epub 2004/01/09. PubMed PMID: 14711064.
26. Hall JE, Crook ED, Jones DW, Wofford MR, Dubbert PM. Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. *The American journal of the medical sciences*. 2002;324(3):127-37. Epub 2002/09/21. PubMed PMID: 12240710.
27. Alexander JK. Obesity and coronary heart disease. *The American journal of the medical sciences*. 2001;321(4):215-24. Epub 2001/04/20. PubMed PMID: 11307863.
28. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983;67(5):968-77. Epub 1983/05/01. PubMed PMID: 6219830.
29. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, et al. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *The New England journal of medicine*. 1990;322(13):882-9. Epub 1990/03/29. doi: 10.1056/nejm199003293221303. PubMed PMID: 2314422.
30. . EPoDEJ. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 2001(285):2486-97.
31. Lee WJ, Chen HH, Wang W, Wei PL, Lin CM, Huang MT. Metabolic syndrome in obese patients referred for weight reduction surgery in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 2003;102(7):459-64. Epub 2003/10/01. PubMed PMID: 14517583.
32. Messerli FH. Cardiovascular effects of obesity and hypertension. *Lancet (London, England)*. 1982;1(8282):1165-8. Epub 1982/05/22. PubMed PMID: 6122945.

33. Garavaglia GE, Messerli FH, Nunez BD, Schmieder RE, Grossman E. Myocardial contractility and left ventricular function in obese patients with essential hypertension. *The American journal of cardiology*. 1988;62(9):594-7. Epub 1988/09/15. PubMed PMID: 3414551.
34. Alpert MA, Lambert CR, Terry BE, Cohen MV, Mukerji V, Massey CV, et al. Interrelationship of left ventricular mass, systolic function and diastolic filling in normotensive morbidly obese patients. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 1995;19(8):550-7. Epub 1995/08/01. PubMed PMID: 7489025.
35. Alpert MA, Lambert CR, Terry BE, Cohen MV, Mulekar M, Massey CV, et al. Effect of weight loss on left ventricular diastolic filling in morbid obesity. *The American journal of cardiology*. 1995;76(16):1198-201. Epub 1995/12/01. PubMed PMID: 7484913.
36. Alpert MA, Terry BE, Mulekar M, Cohen MV, Massey CV, Fan TM, et al. Cardiac morphology and left ventricular function in normotensive morbidly obese patients with and without congestive heart failure, and effect of weight loss. *The American journal of cardiology*. 1997;80(6):736-40. Epub 1997/10/07. PubMed PMID: 9315579.
37. Kanoupakis E, Michaloudis D, Fraidakis O, Parthenakis F, Vardas P, Melissas J. Left ventricular function and cardiopulmonary performance following surgical treatment of morbid obesity. *Obesity surgery*. 2001;11(5):552-8. Epub 2001/10/12. doi: 10.1381/09608920160556715. PubMed PMID: 11594094.
38. Karason K, Wallentin I, Larsson B, Sjostrom L. Effects of obesity and weight loss on left ventricular mass and relative wall thickness: survey and intervention study. *BMJ (Clinical research ed)*. 1997;315(7113):912-6. Epub 1997/11/15. PubMed PMID: 9361540; PubMed Central PMCID: PMCPMC2127625.
39. Sugerman HJ, Baron PL, Fairman RP, Evans CR, Vetrovec GW. Hemodynamic dysfunction in obesity hypoventilation syndrome and the effects of treatment with surgically induced weight loss. *Annals of surgery*. 1988;207(5):604-13. Epub 1988/05/01. PubMed PMID: 3377570; PubMed Central PMCID: PMCPMC1493489.
40. Bethesda. Obesity Education Initiative Expert Panel on the Identification eatooaoia. *Clinical*

110

guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. . MD, NIH publication 1998:98-4083.

41. Rosenthal AD, Jin F, Shu XO, Yang G, Elasy TA, Chow WH, et al. Body fat distribution and risk of diabetes among Chinese women. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2004;28(4):594-9. Epub 2004/02/11. doi: 10.1038/sj.ijo.0802597. PubMed PMID: 14770196.
42. Burstein R, Epstein Y, Charuzi I, Suessholz A, Karnieli E, Shapiro Y. Glucose utilization in morbidly obese subjects before and after weight loss by gastric bypass operation. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 1995;19(8):558-61. Epub 1995/08/01. PubMed PMID: 7489026.
43. Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Speizer FE, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Archives of internal medicine*. 2001;161(14):1717-23. Epub 2001/08/04. PubMed PMID: 11485504.
44. Manson JE, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Hankinson SE, et al. Body weight and mortality among women. *The New England journal of medicine*. 1995;333(11):677-85. Epub 1995/09/14. doi: 10.1056/nejm199509143331101. PubMed PMID: 7637744.

45. Gleysteen JJ. Results of surgery: long-term effects on hyperlipidemia. *The American journal of clinical nutrition*. 1992;55(2 Suppl):591s-3s. Epub 1992/02/01. PubMed PMID: 1733134.
46. Sjostrom CD, Lissner L, Wedel H, Sjostrom L. Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obesity research*. 1999;7(5):477-84. Epub 1999/10/06. PubMed PMID: 10509605.
47. Brolin RE, Bradley LJ, Wilson AC, Cody RP. Lipid risk profile and weight stability after gastric restrictive operations for morbid obesity. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. 2000;4(5):464-9. Epub 2000/11/15. PubMed PMID: 11077320.
48. Hamoui N, Kim K, Anthone G, Crookes PF. The significance of elevated levels of parathyroid hormone in patients with morbid obesity before and after bariatric surgery. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)*. 2003;138(8):891-7. Epub 2003/08/13. doi: 10.1001/archsurg.138.8.891. PubMed PMID: 12912749.
49. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2548-56. Epub 2004/06/08. doi: 10.1210/jc.2004-0395. PubMed PMID: 15181022.
50. Gulcelik NE, Usman A, Gurlek A. Role of adipocytokines in predicting the development of diabetes and its late complications. *Endocrine*. 2009;36(3):397-403. Epub 2009/09/26. doi: 10.1007/s12020-009-9234-7. PubMed PMID: 19779867.
51. Bluher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2009;117(6):241-50. Epub 2009/04/10. doi: 10.1055/s-0029-1192044. PubMed PMID: 19358089.
52. Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2011;12(11):722-34. Epub 2011/09/29. doi: 10.1038/nrm3198. PubMed PMID: 21952300.
53. Fernandez-Sanchez A, Madrigal-Santillan E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-Gonzalez A, Esquivel-Chirino C, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International journal of molecular sciences*. 2011;12(5):3117-32. Epub 2011/06/21. doi: 10.3390/ijms12053117. PubMed PMID: 21686173; PubMed Central PMCID: PMC3116179.
54. Kralisch S, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Adipokines and adipocyte targets in the future management of obesity and the metabolic syndrome. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2007;7(1):39-45. Epub 2007/02/03. PubMed PMID: 17266636.
55. Bays HE. "Sick fat," metabolic disease, and atherosclerosis. *The American journal of medicine*. 2009;122(1 Suppl):S26-37. Epub 2009/01/06. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.10.015. PubMed PMID: 19110085.
56. Bluher M. The inflammatory process of adipose tissue. *Pediatric endocrinology reviews : PER*. 2008;6(1):24-31. Epub 2008/09/23. PubMed PMID: 18806722.
57. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 1999;107(2):119-25. Epub 1999/05/13. doi: 10.1055/s-0029-1212086. PubMed PMID: 10320052.
58. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008;9(5):367-77. Epub 2008/04/11. doi: 10.1038/nrm2391. PubMed PMID: 18401346; PubMed Central PMCID: PMC3116179.
59. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annual review of physiology*. 2000;62:413-37. Epub 2000/06/09. doi: 10.1146/annurev.physiol.62.1.413. PubMed PMID: 10845097.

60. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical chemistry*. 2004;50(9):1511-25. Epub 2004/07/22. doi: 10.1373/clinchem.2004.032482. PubMed PMID: 15265818.
61. Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine*. 2010;37(1):11-32. Epub 2010/10/22. doi: 10.1007/s12020-009-9278-8. PubMed PMID: 20963555.
62. Trujillo ME, Scherer PE. Adiponectin--journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *Journal of internal medicine*. 2005;257(2):167-75. Epub 2005/01/20. doi: 10.1111/j.1365-2796.2004.01426.x. PubMed PMID: 15656875.
63. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science (New York, NY)*. 2005;307(5708):426-30. Epub 2004/12/18. doi: 10.1126/science.1097243. PubMed PMID: 15604363.
64. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2007;178(3):1748-58. Epub 2007/01/24. PubMed PMID: 17237424.
65. Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, et al. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2006;114(10):544-8. Epub 2006/12/21. doi: 10.1055/s-2006-948309. PubMed PMID: 17177135.
66. Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(2):224-31. Epub 2004/07/16. doi: 10.1172/jci20785. PubMed PMID: 15254589; PubMed Central PMCID: PMC1449745.
67. Castan-Laurell I, Dray C, Attane C, Duparc T, Knauf C, Valet P. Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine*. 2011;40(1):1-9. Epub 2011/07/05. doi: 10.1007/s12020-011-9507-9. PubMed PMID: 21725702.
68. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006;444(7121):875-80. Epub 2006/12/15. doi: 10.1038/nature05487. PubMed PMID: 17167476.
69. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(30):10610-5. Epub 2005/07/21. doi: 10.1073/pnas.0504703102. PubMed PMID: 16030142; PubMed Central PMCID: PMC1180799.
70. Phalitakul S, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Vaspin prevents TNF-alpha-induced intracellular adhesion molecule-1 via inhibiting reactive oxygen species-dependent NF-kappaB and PKCtheta activation in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Pharmacological research*. 2011;64(5):493-500. Epub 2011/06/21. doi: 10.1016/j.phrs.2011.06.001. PubMed PMID: 21683791.
71. Gettins PG. Serpin structure, mechanism, and function. *Chemical reviews*. 2002;102(12):4751-804. Epub 2002/12/12. PubMed PMID: 12475206.
72. Law RH, Zhang Q, McGowan S, Buckle AM, Silverman GA, Wong W, et al. An overview of the serpin superfamily. *Genome biology*. 2006;7(5):216. Epub 2006/06/02. doi: 10.1186/gb-2006-7-5-216. PubMed PMID: 16737556; PubMed Central PMCID: PMC1779521.
73. Kloting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schon MR, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes.

- Biochemical and biophysical research communications. 2006;339(1):430-6. Epub 2005/11/22. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.11.039. PubMed PMID: 16298335.
74. Kloting N, Kovacs P, Kern M, Heiker JT, Fasshauer M, Schon MR, et al. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia*. 2011;54(7):1819-23. Epub 2011/04/06. doi: 10.1007/s00125-011-2137-1. PubMed PMID: 21465327.
75. Korner A, Neef M, Friebe D, Erbs S, Kratzsch J, Dittrich K, et al. Vaspin is related to gender, puberty and deteriorating insulin sensitivity in children. *International journal of obesity (2005)*. 2011;35(4):578-86. Epub 2010/09/22. doi: 10.1038/ijo.2010.196. PubMed PMID: 20856257.
76. Fain JN, Buehrer B, Bahouth SW, Tichansky DS, Madan AK. Comparison of messenger RNA distribution for 60 proteins in fat cells vs the nonfat cells of human omental adipose tissue. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008;57(7):1005-15. Epub 2008/06/17. doi: 10.1016/j.metabol.2008.02.019. PubMed PMID: 18555844.
77. Youn BS, Kloting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57(2):372-7. Epub 2007/11/10. doi: 10.2337/db07-1045. PubMed PMID: 17991760.
78. von Loeffelholz C, Mohlig M, Arafat AM, Isken F, Spranger J, Mai K, et al. Circulating vaspin is unrelated to insulin sensitivity in a cohort of nondiabetic humans. *European journal of endocrinology*. 2010;162(3):507-13. Epub 2009/12/03. doi: 10.1530/eje-09-0737. PubMed PMID: 19952124.
79. Seeger J, Ziegelmeier M, Bachmann A, Lossner U, Kratzsch J, Bluher M, et al. Serum levels of the adipokine vaspin in relation to metabolic and renal parameters. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(1):247-51. Epub 2007/10/25. doi: 10.1210/jc.2007-1853. PubMed PMID: 17956947.
80. Jeong E, Youn BS, Kim DW, Kim EH, Park JW, Namkoong C, et al. Circadian rhythm of serum vaspin in healthy male volunteers: relation to meals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(4):1869-75. Epub 2010/02/17. doi: 10.1210/jc.2009-1088. PubMed PMID: 20156923.
81. Brunetti L, Di Nisio C, Recinella L, Chiavaroli A, Leone S, Ferrante C, et al. Effects of vaspin, chemerin and omentin-1 on feeding behavior and hypothalamic peptide gene expression in the rat. *Peptides*. 2011;32(9):1866-71. Epub 2011/08/23. doi: 10.1016/j.peptides.2011.08.003. PubMed PMID: 21855588.
82. Wada J. [Vaspin and insulin resistance]. *Rinsho byori The Japanese journal of clinical pathology*. 2008;56(8):705-11. Epub 2008/09/20. PubMed PMID: 18800627.
83. Tan BK, Heutling D, Chen J, Farhatullah S, Adya R, Keay SD, et al. Metformin decreases the adipokine vaspin in overweight women with polycystic ovary syndrome concomitant with improvement in insulin sensitivity and a decrease in insulin resistance. *Diabetes*. 2008;57(6):1501-7. Epub 2008/04/01. doi: 10.2337/db08-0127. PubMed PMID: 18375437.
84. Aust G, Richter O, Rohm S, Kerner C, Hauss J, Kloting N, et al. Vaspin serum concentrations in patients with carotid stenosis. *Atherosclerosis*. 2009;204(1):262-6. Epub 2008/10/14. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.08.028. PubMed PMID: 18848328.
85. Handisurya A, Riedl M, Vila G, Maier C, Clodi M, Prikoszovich T, et al. Serum vaspin concentrations in relation to insulin sensitivity following RYGB-induced weight loss. *Obesity surgery*. 2010;20(2):198-203. Epub 2009/06/10. doi: 10.1007/s11695-009-9882-y. PubMed PMID: 19506980.
86. Kempf K, Rose B, Illig T, Rathmann W, Strassburger K, Thorand B, et al. Vaspin (SERPINA12) genotypes and risk of type 2 diabetes: Results from the MONICA/KORA studies. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of*

- Endocrinology [and] German Diabetes Association. 2010;118(3):184-9. Epub 2008/08/30. doi: 10.1055/s-2008-1081499. PubMed PMID: 18726871.
87. Kadoglou NP, Kapelouzou A, Tsanikidis H, Vitta I, Liapis CD, Sailer N. Effects of rosiglitazone/metformin fixed-dose combination therapy and metformin monotherapy on serum vaspin, adiponectin and IL-6 levels in drug-naive patients with type 2 diabetes. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2011;119(2):63-8. Epub 2010/10/30. doi: 10.1055/s-0030-1265174. PubMed PMID: 21031343.
 88. Campos DB, Palin MF, Bordignon V, Murphy BD. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *International journal of obesity (2005)*. 2008;32(2):223-31. Epub 2007/10/10. doi: 10.1038/sj.ijo.0803719. PubMed PMID: 17923861.
 89. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1986;246(2):501-14. Epub 1986/05/01. PubMed PMID: 3010861.
 90. Szabo C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*. 2007;6(8):662-80. Epub 2007/08/02. doi: 10.1038/nrd2222. PubMed PMID: 17667957.
 91. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *European journal of biochemistry*. 1993;215(2):213-9. Epub 1993/07/15. PubMed PMID: 7688300.
 92. Schweitzer C, Schmidt R. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical reviews*. 2003;103(5):1685-757. Epub 2003/05/15. doi: 10.1021/cr010371d. PubMed PMID: 12744692.
 93. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*. 1993;49(3):481-93. Epub 1993/07/01. PubMed PMID: 8221017.
 94. C. W. Jones JHC. *Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives*. Royal Society of Chemistry. 1999.
 95. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free radical biology & medicine*. 1988;5(5-6):363-9. Epub 1988/01/01. PubMed PMID: 2855736.
 96. Davies KJ. The broad spectrum of responses to oxidants in proliferating cells: a new paradigm for oxidative stress. *IUBMB life*. 1999;48(1):41-7. Epub 2000/05/03. doi: 10.1080/713803463. PubMed PMID: 10791914.
 97. Abid MR, Tsai JC, Spokes KC, Deshpande SS, Irani K, Aird WC. Vascular endothelial growth factor induces manganese-superoxide dismutase expression in endothelial cells by a Rac1-regulated NADPH oxidase-dependent mechanism. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2001;15(13):2548-50. Epub 2001/10/20. doi: 10.1096/fj.01-0338fje. PubMed PMID: 11641265.
 98. Kreuzer J, Viedt C, Brandes RP, Seeger F, Rosenkranz AS, Sauer H, et al. Platelet-derived growth factor activates production of reactive oxygen species by NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells through Gi1,2. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2003;17(1):38-40. Epub 2002/11/09. doi: 10.1096/fj.01-1036fje. PubMed PMID: 12424219.
 99. Thannickal VJ, Day RM, Klinz SG, Bastien MC, Larios JM, Fanburg BL. Ras-dependent and -independent regulation of reactive oxygen species by mitogenic growth factors and TGF-beta1. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2000;14(12):1741-8. Epub 2000/09/07. PubMed PMID: 10973923.
 100. Sharma K, Cook A, Smith M, Valancius C, Inscho EW. TGF-beta impairs renal autoregulation via generation of ROS. *American journal of physiology Renal physiology*. 2005;288(5):F1069-77. Epub 2005/01/13. doi: 10.1152/ajprenal.00345.2004. PubMed PMID: 15644487.

101. Duerrschmidt N, Wippich N, Goettsch W, Broemme HJ, Morawietz H. Endothelin-1 induces NAD(P)H oxidase in human endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2000;269(3):713-7. Epub 2000/03/18. doi: 10.1006/bbrc.2000.2354. PubMed PMID: 10720482.
102. Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, Savoie F, Arnal JF, Michel JB. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2000;20(3):645-51. Epub 2000/03/11. PubMed PMID: 10712386.
103. Deshpande SS, Angkeow P, Huang J, Ozaki M, Irani K. Rac1 inhibits TNF-alpha-induced endothelial cell apoptosis: dual regulation by reactive oxygen species. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2000;14(12):1705-14. Epub 2000/09/07. PubMed PMID: 10973919.
104. Sundqvist T. Bovine aortic endothelial cells release hydrogen peroxide. *Journal of cellular physiology*. 1991;148(1):152-6. Epub 1991/07/01. doi: 10.1002/jcp.1041480118. PubMed PMID: 1860894.
105. Holland JA, Meyer JW, Chang MM, O'Donnell RW, Johnson DK, Ziegler LM. Thrombin stimulated reactive oxygen species production in cultured human endothelial cells. *Endothelium : journal of endothelial cell research*. 1998;6(2):113-21. Epub 1999/02/04. PubMed PMID: 9930645.
106. David-Dufilho M, Brunet A, Privat C, Devynck MA. Analysis of agonist-evoked nitric oxide release from human endothelial cells: role of superoxide anion. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2001;28(12):1015-9. Epub 2002/03/21. PubMed PMID: 11903306.
107. Matsubara T, Ziff M. Increased superoxide anion release from human endothelial cells in response to cytokines. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1986;137(10):3295-8. Epub 1986/11/15. PubMed PMID: 3021851.
108. Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1999;39:67-101. Epub 1999/05/20. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.39.1.67. PubMed PMID: 10331077.
109. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(17):7915-22. Epub 1993/09/01. PubMed PMID: 8367443; PubMed Central PMCID: PMC47258.
110. Colavitti R, Pani G, Bedogni B, Anzevino R, Borrello S, Waltenberger J, et al. Reactive oxygen species as downstream mediators of angiogenic signaling by vascular endothelial growth factor receptor-2/KDR. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(5):3101-8. Epub 2001/11/24. doi: 10.1074/jbc.M107711200. PubMed PMID: 11719508.
111. Brad L.Upham K-SK, Hye-Youn Cho and James E.Trosko. Hydrogen peroxide inhibits gap junctional intercellular communication in glutathione sufficient but not glutathione deficient cells. *Carcinogenesis* 1997;vol.18 37-42.
112. Goldstein S, Meyerstein D, Czapski G. The Fenton reagents. *Free radical biology & medicine*. 1993;15(4):435-45. Epub 1993/10/01. PubMed PMID: 8225025.
113. Mattson MP. Membrane Lipid Signaling in Aging and Age-Related Disease 2003.
114. Candeias LP, Patel KB, Stratford MR, Wardman P. Free hydroxyl radicals are formed on reaction between the neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid. *FEBS letters*. 1993;333(1-2):151-3. Epub 1993/10/25. PubMed PMID: 8224156.
115. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of leukocyte biology*. 2005;77(5):598-625. Epub 2005/02/04. doi: 10.1189/jlb.1204697. PubMed PMID: 15689384.
116. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *The Biochemical journal*. 2001;357(Pt 3):593-615. Epub 2001/07/21. PubMed PMID: 11463332; PubMed Central PMCID: PMC47258.

117. Cadenas E. Mitochondrial free radical production and cell signaling. *Molecular aspects of medicine*. 2004;25(1-2):17-26. Epub 2004/03/31. doi: 10.1016/j.mam.2004.02.005. PubMed PMID: 15051313.
118. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*. 2005;12(10):1161-208. Epub 2005/05/17. PubMed PMID: 15892631.
119. Krause KH. Aging: a revisited theory based on free radicals generated by NOX family NADPH oxidases. *Experimental gerontology*. 2007;42(4):256-62. Epub 2006/11/28. doi: 10.1016/j.exger.2006.10.011. PubMed PMID: 17126513.
120. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature reviews Immunology*. 2004;4(3):181-9. Epub 2004/03/25. doi: 10.1038/nri1312. PubMed PMID: 15039755.
121. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews*. 2007;87(1):245-313. Epub 2007/01/24. doi: 10.1152/physrev.00044.2005. PubMed PMID: 17237347.
122. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*. 2004;266(1-2):37-56. Epub 2005/01/14. PubMed PMID: 15646026.
123. Zangar RC, Davydov DR, Verma S. Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450. *Toxicology and applied pharmacology*. 2004;199(3):316-31. Epub 2004/09/15. doi: 10.1016/j.taap.2004.01.018. PubMed PMID: 15364547.
124. Hwang C, Sinskey AJ, Lodish HF. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science (New York, NY)*. 1992;257(5076):1496-502. Epub 1992/09/11. PubMed PMID: 1523409.
125. van der Vlies D, Makkinje M, Jansens A, Braakman I, Verkleij AJ, Wirtz KW, et al. Oxidation of ER resident proteins upon oxidative stress: effects of altering cellular redox/antioxidant status and implications for protein maturation. *Antioxidants & redox signaling*. 2003;5(4):381-7. Epub 2003/09/19. doi: 10.1089/152308603768295113. PubMed PMID: 13678525.
126. Tu BP, Weissman JS. Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences. *The Journal of cell biology*. 2004;164(3):341-6. Epub 2004/02/06. doi: 10.1083/jcb.200311055. PubMed PMID: 14757749; PubMed Central PMCID: PMC2172237.
127. Holmstrom KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2014;15(6):411-21. Epub 2014/05/24. doi: 10.1038/nrm3801. PubMed PMID: 24854789.
128. Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In vivo (Athens, Greece)*. 1999;13(3):295-309. Epub 1999/08/25. PubMed PMID: 10459507.
129. Bindoli A, Rigobello MP, Deebble DJ. Biochemical and toxicological properties of the oxidation products of catecholamines. *Free radical biology & medicine*. 1992;13(4):391-405. Epub 1992/10/01. PubMed PMID: 1398218.
130. Winterbourn CC. Free-radical production and oxidative reactions of hemoglobin. *Environmental health perspectives*. 1985;64:321-30. Epub 1985/12/01. PubMed PMID: 3007097; PubMed Central PMCID: PMC21568600.
131. Lodovici M, Bigagli E. Oxidative stress and air pollution exposure. *Journal of toxicology*. 2011;2011:487074. Epub 2011/08/24. doi: 10.1155/2011/487074. PubMed PMID: 21860622; PubMed Central PMCID: PMC2155788.
132. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *International journal of environmental research and public health*. 2009;6(2):445-62. Epub 2009/05/15. doi:

- 10.3390/ijerph6020445. PubMed PMID: 19440393; PubMed Central PMCID: PMCPmc2672368.
133. Liebel F, Kaur S, Ruvolo E, Kollias N, Southall MD. Irradiation of skin with visible light induces reactive oxygen species and matrix-degrading enzymes. *The Journal of investigative dermatology*. 2012;132(7):1901-7. Epub 2012/02/10. doi: 10.1038/jid.2011.476. PubMed PMID: 22318388.
134. Poljsak B, Dahmane R. Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology research and practice*. 2012;2012:135206. Epub 2012/04/17. doi: 10.1155/2012/135206. PubMed PMID: 22505880; PubMed Central PMCID: PMCPmc3299230.
135. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32(9):1576-81. Epub 2000/09/20. PubMed PMID: 10994907.
136. Bailey SM, Pietsch EC, Cunningham CC. Ethanol stimulates the production of reactive oxygen species at mitochondrial complexes I and III. *Free radical biology & medicine*. 1999;27(7-8):891-900. Epub 1999/10/09. PubMed PMID: 10515594.
137. Mohanty P, Ghanim H, Hamouda W, Aljada A, Garg R, Dandona P. Both lipid and protein intakes stimulate increased generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;75(4):767-72. Epub 2002/03/28. PubMed PMID: 11916766.
138. Line MA. The enigma of the origin of life and its timing. *Microbiology (Reading, England)*. 2002;148(Pt 1):21-7. Epub 2002/01/10. doi: 10.1099/00221287-148-1-21. PubMed PMID: 11782495.
139. Raymond J, Segre D. The effect of oxygen on biochemical networks and the evolution of complex life. *Science (New York, NY)*. 2006;311(5768):1764-7. Epub 2006/03/25. doi: 10.1126/science.1118439. PubMed PMID: 16556842.
140. Lindahl SG. Oxygen and life on earth: an anesthesiologist's views on oxygen evolution, discovery, sensing, and utilization. *Anesthesiology*. 2008;109(1):7-13. Epub 2008/06/27. doi: 10.1097/ALN.0b013e31817b5a7e. PubMed PMID: 18580166.
141. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. 2002;82(1):47-95. Epub 2002/01/05. doi: 10.1152/physrev.00018.2001. PubMed PMID: 11773609.
142. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Annals of internal medicine*. 1994;120(3):227-37. Epub 1994/02/01. PubMed PMID: 8273987.
143. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2005;10:1881-96. Epub 2005/03/17. PubMed PMID: 15769673.
144. Sun Y, Oberley LW. Redox regulation of transcriptional activators. *Free radical biology & medicine*. 1996;21(3):335-48. Epub 1996/01/01. PubMed PMID: 8855444.
145. Mulder KM. Role of Ras and Mapks in TGFbeta signaling. *Cytokine & growth factor reviews*. 2000;11(1-2):23-35. Epub 2000/03/10. PubMed PMID: 10708950.
146. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24(5):287-96. Epub 1997/05/01. PubMed PMID: 9178107.
147. Abe J, Berk BC. Fyn and JAK2 mediate Ras activation by reactive oxygen species. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(30):21003-10. Epub 1999/07/20. PubMed PMID: 10409649.
148. Salmeen A, Barford D. Functions and mechanisms of redox regulation of cysteine-based phosphatases. *Antioxidants & redox signaling*. 2005;7(5-6):560-77. Epub 2005/05/14. doi: 10.1089/ars.2005.7.560. PubMed PMID: 15890001.

149. Shaw M, Cohen P, Alessi DR. The activation of protein kinase B by H₂O₂ or heat shock is mediated by phosphoinositide 3-kinase and not by mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase-2. *The Biochemical journal*. 1998;336 (Pt 1):241-6. Epub 1998/11/10. PubMed PMID: 9806907; PubMed Central PMCID: PMCPMC1219864.
150. Gopalakrishna R, Jaken S. Protein kinase C signaling and oxidative stress. *Free radical biology & medicine*. 2000;28(9):1349-61. Epub 2000/08/05. PubMed PMID: 10924854.
151. Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological reviews*. 2001;81(2):807-69. Epub 2001/03/29. doi: 10.1152/physrev.2001.81.2.807. PubMed PMID: 11274345.
152. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environmental health perspectives*. 1994;102 Suppl 10:5-12. Epub 1994/12/01. PubMed PMID: 7705305; PubMed Central PMCID: PMCPMC1566996.
153. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*. 2004;142(2):231-55. Epub 2004/05/25. doi: 10.1038/sj.bjp.0705776. PubMed PMID: 15155533; PubMed Central PMCID: PMCPMC1574951.
154. Stadtman ER. Role of oxidant species in aging. *Current medicinal chemistry*. 2004;11(9):1105-12. Epub 2004/05/12. PubMed PMID: 15134509.
155. Siems WG, Grune T, Esterbauer H. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life sciences*. 1995;57(8):785-9. Epub 1995/01/01. PubMed PMID: 7637552.
156. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation research*. 1999;424(1-2):83-95. Epub 1999/03/05. PubMed PMID: 10064852.
157. Wang M, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, de Andrade M, Li D. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 1996;5(9):705-10. Epub 1996/09/01. PubMed PMID: 8877062.
158. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors (Oxford, England)*. 1997;6(4):391-7. Epub 1997/01/01. PubMed PMID: 9388304.
159. Forkink M, Smeitink JA, Brock R, Willems PH, Koopman WJ. Detection and manipulation of mitochondrial reactive oxygen species in mammalian cells. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1797(6-7):1034-44. Epub 2010/01/27. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.01.022. PubMed PMID: 20100455.
160. Mendes Arent A, de Souza LF, Walz R, Dafre AL. Perspectives on molecular biomarkers of oxidative stress and antioxidant strategies in traumatic brain injury. *BioMed research international*. 2014;2014:723060. Epub 2014/04/02. doi: 10.1155/2014/723060. PubMed PMID: 24689052; PubMed Central PMCID: PMCPMC3943200.
161. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical chemistry*. 2006;52(4):601-23. Epub 2006/02/18. doi: 10.1373/clinchem.2005.061408. PubMed PMID: 16484333.
162. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free radical biology & medicine*. 1996;20(5):707-27. Epub 1996/01/01. PubMed PMID: 8721615.
163. Siems W, Grune T. Intracellular metabolism of 4-hydroxynonenal. *Molecular aspects of medicine*. 2003;24(4-5):167-75. Epub 2003/08/02. PubMed PMID: 12892994.
164. Griffiths HR, Moller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, Collins A, et al. Biomarkers. *Molecular aspects of medicine*. 2002;23(1-3):101-208. Epub 2002/06/25. PubMed PMID: 12079771.

165. Collins AR, Cadet J, Moller L, Poulsen HE, Vina J. Are we sure we know how to measure 8-oxo-7,8-dihydroguanine in DNA from human cells? *Archives of biochemistry and biophysics*. 2004;423(1):57-65. Epub 2004/03/03. PubMed PMID: 14989265.
166. Winterbourn CC, Buss IH. Protein carbonyl measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Methods in enzymology*. 1999;300:106-11. Epub 1999/01/27. PubMed PMID: 9919514.
167. Levine RL, Wehr N, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2000;99:15-24. Epub 2000/07/26. doi: 10.1385/1-59259-054-3:15. PubMed PMID: 10909073.
168. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000;21(3):361-70. Epub 2000/02/26. PubMed PMID: 10688856.
169. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free radical biology & medicine*. 2000;28(12):1717-25. Epub 2000/08/18. PubMed PMID: 10946213.
170. Romero JC, Reckelhoff JF. State-of-the-Art lecture. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 1999;34(4 Pt 2):943-9. Epub 1999/10/16. PubMed PMID: 10523389.
171. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovascular research*. 1992;26(7):641-55. Epub 1992/07/01. PubMed PMID: 1423428.
172. Firestein GS, Echeverri F, Yeo M, Zvaifler NJ, Green DR. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in rheumatoid arthritis synovium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(20):10895-900. Epub 1997/10/06. PubMed PMID: 9380731; PubMed Central PMCID: PMCPMC23522.
173. Maurice MM, Nakamura H, van der Voort EA, van Vliet AI, Staal FJ, Tak PP, et al. Evidence for the role of an altered redox state in hyporesponsiveness of synovial T cells in rheumatoid arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1997;158(3):1458-65. Epub 1997/02/01. PubMed PMID: 9013992.
174. Cunnane G, Fitzgerald O, Beeton C, Cawston TE, Bresnihan B. Early joint erosions and serum levels of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 3, and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2001;44(10):2263-74. Epub 2001/10/23. PubMed PMID: 11665967.
175. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000;404(6779):787-90. Epub 2000/04/28. doi: 10.1038/35008121. PubMed PMID: 10783895.
176. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2003;14(8 Suppl 3):S221-6. Epub 2003/07/23. PubMed PMID: 12874435.
177. Butler R, Morris AD, Belch JJ, Hill A, Struthers AD. Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetics with mild hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2000;35(3):746-51. Epub 2000/03/18. PubMed PMID: 10720589.
178. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003;52(3):581-7. Epub 2003/02/28. PubMed PMID: 12606496.
179. Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation research*. 2001;88(2):E14-22. Epub 2001/02/07. PubMed PMID: 11157681.
180. VanderJagt DJ, Harrison JM, Ratliff DM, Hunsaker LA, Vander Jagt DL. Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clinical biochemistry*. 2001;34(4):265-70. Epub 2001/07/07. PubMed PMID: 11440725.

181. Lawlor MA, Alessi DR. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? *Journal of cell science*. 2001;114(Pt 16):2903-10. Epub 2001/11/01. PubMed PMID: 11686294.
182. Rosca MG, Mustata TG, Kinter MT, Ozdemir AM, Kern TS, Szweda LI, et al. Glycation of mitochondrial proteins from diabetic rat kidney is associated with excess superoxide formation. *American journal of physiology Renal physiology*. 2005;289(2):F420-30. Epub 2005/04/09. doi: 10.1152/ajprenal.00415.2004. PubMed PMID: 15814529.
183. Grankvist K, Marklund SL, Taljedal IB. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *The Biochemical journal*. 1981;199(2):393-8. Epub 1981/11/01. PubMed PMID: 7041886; PubMed Central PMCID: PMCpMc1163382.
184. Malaisse WJ, Malaisse-Lagae F, Sener A, Pipeleers DG. Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1982;79(3):927-30. Epub 1982/02/01. PubMed PMID: 7038690; PubMed Central PMCID: PMCpMc345866.
185. Kaneto H, Kajimoto Y, Fujitani Y, Matsuoka T, Sakamoto K, Matsuhisa M, et al. Oxidative stress induces p21 expression in pancreatic islet cells: possible implication in beta-cell dysfunction. *Diabetologia*. 1999;42(9):1093-7. Epub 1999/08/14. doi: 10.1007/s001250051276. PubMed PMID: 10447521.
186. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free radical biology & medicine*. 2000;28(10):1456-62. Epub 2000/08/06. PubMed PMID: 10927169.
187. Savini I, Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *International journal of molecular sciences*. 2013;14(5):10497-538. Epub 2013/05/24. doi: 10.3390/ijms140510497. PubMed PMID: 23698776; PubMed Central PMCID: PMCpMc3676851.
188. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(12):1752-61. Epub 2004/12/16. doi: 10.1172/jci21625. PubMed PMID: 15599400; PubMed Central PMCID: PMCpMc535065.
189. Lee H, Lee YJ, Choi H, Ko EH, Kim JW. Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(16):10601-9. Epub 2009/02/25. doi: 10.1074/jbc.M808742200. PubMed PMID: 19237544; PubMed Central PMCID: PMCpMc2667747.
190. Higuchi M, Dusing GJ, Peshavariya H, Jiang F, Hsiao ST, Chan EC, et al. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and Forkhead box O1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem cells and development*. 2013;22(6):878-88. Epub 2012/10/03. doi: 10.1089/scd.2012.0306. PubMed PMID: 23025577; PubMed Central PMCID: PMCpMc3585477.
191. Horvath TL, Andrews ZB, Diano S. Fuel utilization by hypothalamic neurons: roles for ROS. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2009;20(2):78-87. Epub 2008/12/17. doi: 10.1016/j.tem.2008.10.003. PubMed PMID: 19084428.
192. Serra D, Mera P, Malandrino MI, Mir JF, Herrero L. Mitochondrial fatty acid oxidation in obesity. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;19(3):269-84. Epub 2012/08/21. doi: 10.1089/ars.2012.4875. PubMed PMID: 22900819; PubMed Central PMCID: PMCpMc3691913.
193. Beltowski J. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2012;39(2):168-78. Epub 2011/10/07. doi: 10.1111/j.1440-1681.2011.05623.x. PubMed PMID: 21973116.

194. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papademetriou L, Economou M, et al. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2007;17(8):590-7. Epub 2006/08/12. doi: 10.1016/j.numecd.2006.05.007. PubMed PMID: 16901682.
195. Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, et al. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(11):4476-9. Epub 2007/09/06. doi: 10.1210/jc.2007-0778. PubMed PMID: 17785362.
196. Warolin J, Coenen KR, Kantor JL, Whitaker LE, Wang L, Acra SA, et al. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy Black and White American youth. *Pediatric obesity*. 2014;9(1):43-52. Epub 2013/01/09. doi: 10.1111/j.2047-6310.2012.00135.x. PubMed PMID: 23296459; PubMed Central PMCID: PMC3775931.
197. Tran B, Oliver S, Rosa J, Galassetti P. Aspects of inflammation and oxidative stress in pediatric obesity and type 1 diabetes: an overview of ten years of studies. *Experimental diabetes research*. 2012;2012:683680. Epub 2012/10/25. doi: 10.1155/2012/683680. PubMed PMID: 23093953; PubMed Central PMCID: PMC3475317.
198. D'Archivio M, Annuzzi G, Vari R, Filesi C, Giacco R, Scaccocchio B, et al. Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *European journal of clinical investigation*. 2012;42(1):70-8. Epub 2011/06/18. doi: 10.1111/j.1365-2362.2011.02558.x. PubMed PMID: 21679180.
199. Keaney JF, Jr., Larson MG, Vasani RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23(3):434-9. Epub 2003/03/05. doi: 10.1161/01.atv.0000058402.34138.11. PubMed PMID: 12615693.
200. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Bicchiera V. HDL-paraoxonase and membrane lipid peroxidation: a comparison between healthy and obese subjects. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2010;18(6):1079-84. Epub 2009/10/17. doi: 10.1038/oby.2009.338. PubMed PMID: 19834469.
201. Aslan M, Horoz M, Sabuncu T, Celik H, Selek S. Serum paraoxonase enzyme activity and oxidative stress in obese subjects. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej*. 2011;121(6):181-6. Epub 2011/06/23. PubMed PMID: 21694681.
202. Kanaya AM, Wassel CL, Stoddard PJ, Harris TB, Cummings SR, Kritchevsky SB, et al. F2-isoprostanes and adiposity in older adults. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2011;19(4):861-7. Epub 2010/10/16. doi: 10.1038/oby.2010.243. PubMed PMID: 20948516; PubMed Central PMCID: PMC3196361.
203. Freeman LR, Zhang L, Nair A, Dasuri K, Francis J, Fernandez-Kim SO, et al. Obesity increases cerebrocortical reactive oxygen species and impairs brain function. *Free radical biology & medicine*. 2013;56:226-33. Epub 2012/11/03. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.577. PubMed PMID: 23116605; PubMed Central PMCID: PMC34038352.
204. Yuzefovych LV, Musiyenko SI, Wilson GL, Rachek LI. Mitochondrial DNA damage and dysfunction, and oxidative stress are associated with endoplasmic reticulum stress, protein degradation and apoptosis in high fat diet-induced insulin resistance mice. *PLoS one*. 2013;8(1):e54059. Epub 2013/01/24. doi: 10.1371/journal.pone.0054059. PubMed PMID: 23342074; PubMed Central PMCID: PMC3546973.
205. Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease. *The Journal of cell biology*. 2012;197(7):857-67. Epub 2012/06/27. doi:

- 10.1083/jcb.201110131. PubMed PMID: 22733998; PubMed Central PMCID: PMC3384412.
206. Krzystek-Korpacka M, Patryn E, Boehm D, Berdowska I, Zielinski B, Noczynska A. Advanced oxidation protein products (AOPPs) in juvenile overweight and obesity prior to and following weight reduction. *Clinical biochemistry*. 2008;41(12):943-9. Epub 2008/05/27. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.04.024. PubMed PMID: 18501708.
207. Codoner-Franch P, Tavaréz-Alonso S, Murria-Estal R, Tortajada-Girbes M, Simo-Jorda R, Alonso-Iglesias E. Elevated advanced oxidation protein products (AOPPs) indicate metabolic risk in severely obese children. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2012;22(3):237-43. Epub 2010/08/17. doi: 10.1016/j.numecd.2010.06.002. PubMed PMID: 20708392.
208. Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez JA. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *Journal of physiology and biochemistry*. 2012;68(4):701-11. Epub 2012/02/22. doi: 10.1007/s13105-012-0154-2. PubMed PMID: 22351038.
209. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation*. 2005;111(11):1448-54. Epub 2005/03/23. doi: 10.1161/01.cir.0000158483.13093.9d. PubMed PMID: 15781756.
210. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama*. 2001;286(3):327-34. Epub 2001/07/24. PubMed PMID: 11466099.
211. Al-Aubaidy HA, Jelinek HF. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *European journal of endocrinology*. 2011;164(6):899-904. Epub 2011/03/26. doi: 10.1530/eje-11-0053. PubMed PMID: 21436346.
212. Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, Torjesen PA, Hanssen KF, et al. Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia*. 2007;50(7):1409-17. Epub 2007/05/05. doi: 10.1007/s00125-007-0687-z. PubMed PMID: 17479244.
213. Nikolaidis MG, Kerksick CM, Lamprecht M, McAnulty SR. Redox biology of exercise. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012;2012:407978. Epub 2012/10/11. doi: 10.1155/2012/407978. PubMed PMID: 23050039; PubMed Central PMCID: PMC3459320.
214. Brown LA, Kerr CJ, Whiting P, Finer N, McEneny J, Ashton T. Oxidant stress in healthy normal-weight, overweight, and obese individuals. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2009;17(3):460-6. Epub 2009/01/10. doi: 10.1038/oby.2008.590. PubMed PMID: 19131942.
215. Stefanovic A, Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Bogavac-Stanojevic N, Bujisic N. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;79(1):156-63. Epub 2007/09/14. doi: 10.1016/j.diabres.2007.07.019. PubMed PMID: 17850913.
216. Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, Merzouk SA, Berrouguet AY, Tessier C, et al. Effects of the association of aging and obesity on lipids, lipoproteins and oxidative stress biomarkers: a comparison of older with young men. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2011;21(10):792-9. Epub 2010/06/18. doi: 10.1016/j.numecd.2010.02.007. PubMed PMID: 20554180.
217. Viroonudomphol D, Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Phonrat B, Supawan V, Vudhivai N, et al. Erythrocyte antioxidant enzymes and blood pressure in relation to overweight and obese Thai in Bangkok. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*. 2000;31(2):325-34. Epub 2000/12/29. PubMed PMID: 11127334.

218. Mittal PC, Kant R. Correlation of increased oxidative stress to body weight in disease-free post menopausal women. *Clinical biochemistry*. 2009;42(10-11):1007-11. Epub 2009/04/04. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.03.019. PubMed PMID: 19341720.
219. Bougoulia M, Triantos A, Koliakos G. Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. *Hormones (Athens, Greece)*. 2006;5(3):192-9. Epub 2006/09/05. PubMed PMID: 16950753.
220. Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sanchez L, Garcia-Almeida JM, Garcia-Serrano S, Garcia-Arnes J, et al. Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2009;17(2):240-6. Epub 2008/11/22. doi: 10.1038/oby.2008.536. PubMed PMID: 19023278.
221. Via M. The malnutrition of obesity: micronutrient deficiencies that promote diabetes. *ISRN endocrinology*. 2012;2012:103472. Epub 2012/03/31. doi: 10.5402/2012/103472. PubMed PMID: 22462011; PubMed Central PMCID: PMC3313629.
222. Strauss RS. Comparison of serum concentrations of alpha-tocopherol and beta-carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *National Health and Nutrition Examination Survey. The Journal of pediatrics*. 1999;134(2):160-5. Epub 1999/02/05. PubMed PMID: 9931523.
223. Ortega RM, Rodriguez-Rodriguez E, Aparicio A, Jimenez-Ortega AI, Palmeros C, Perea JM, et al. Young children with excess of weight show an impaired selenium status. *International journal for vitamin and nutrition research Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernährungsforschung Journal international de vitaminologie et de nutrition*. 2012;82(2):121-9. Epub 2012/10/16. doi: 10.1024/0300-9831/a000101. PubMed PMID: 23065837.
224. Weisstaub G, Hertrampf E, Lopez de Romana D, Salazar G, Bugueno C, Castillo-Duran C. Plasma zinc concentration, body composition and physical activity in obese preschool children. *Biological trace element research*. 2007;118(2):167-74. Epub 2007/09/18. doi: 10.1007/s12011-007-0026-8. PubMed PMID: 17873359.
225. Kaidar-Person O, Person B, Szomstein S, Rosenthal RJ. Nutritional deficiencies in morbidly obese patients: a new form of malnutrition? Part B: minerals. *Obesity surgery*. 2008;18(8):1028-34. Epub 2008/05/08. doi: 10.1007/s11695-007-9350-5. PubMed PMID: 18461424.
226. Schleicher RL, Carroll MD, Ford ES, Lacher DA. Serum vitamin C and the prevalence of vitamin C deficiency in the United States: 2003-2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *The American journal of clinical nutrition*. 2009;90(5):1252-63. Epub 2009/08/14. doi: 10.3945/ajcn.2008.27016. PubMed PMID: 19675106.
227. Harnroongroj T, Jintaridhi P, Vudhivai N, Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Phonrat B, et al. B vitamins, vitamin C and hematological measurements in overweight and obese Thais in Bangkok. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. 2002;85(1):17-25. Epub 2002/06/22. PubMed PMID: 12075716.
228. Reitman A, Friedrich I, Ben-Amotz A, Levy Y. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. *The Israel Medical Association journal : IMAJ*. 2002;4(8):590-3. Epub 2002/08/20. PubMed PMID: 12183861.
229. Andersen LF, Jacobs DR, Jr., Gross MD, Schreiner PJ, Dale Williams O, Lee DH. Longitudinal associations between body mass index and serum carotenoids: the CARDIA study. *The British journal of nutrition*. 2006;95(2):358-65. Epub 2006/02/14. PubMed PMID: 16469154.
230. Richard Goldsby TK, Barbara Osborne, Janis Kuby, . *Immunology*,: Πασχαλίδη 2002.

231. Arai Y, Takayama M, Gondo Y, Inagaki H, Yamamura K, Nakazawa S, et al. Adipose endocrine function, insulin-like growth factor-1 axis, and exceptional survival beyond 100 years of age. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2008;63(11):1209-18. Epub 2008/11/29. PubMed PMID: 19038836.
232. Erickson RR, Dunning LM, Holtzman JL. The effect of aging on the chaperone concentrations in the hepatic, endoplasmic reticulum of male rats: the possible role of protein misfolding due to the loss of chaperones in the decline in physiological function seen with age. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2006;61(5):435-43. Epub 2006/05/25. PubMed PMID: 16720739.
233. Wang YM, Wang WP, Wang LP, Lu QH, Zhou XH. Calorie control increased vaspin levels of serum and periepididymal adipose tissue in diet-induced obese rats in association with serum free fatty acid and tumor necrosis factor alpha. *Chinese medical journal*. 2010;123(7):936-41. Epub 2010/05/26. PubMed PMID: 20497691.
234. Choi SH, Kwak SH, Lee Y, Moon MK, Lim S, Park YJ, et al. Plasma vaspin concentrations are elevated in metabolic syndrome in men and are correlated with coronary atherosclerosis in women. *Clinical endocrinology*. 2011;75(5):628-35. Epub 2011/05/07. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04095.x. PubMed PMID: 21545478.
235. Cinar N, Gulcelik NE, Aydin K, Akin S, Usman A, Gurlek A. Serum vaspin levels in hypothyroid patients. *European journal of endocrinology*. 2011;165(4):563-9. Epub 2011/07/30. doi: 10.1530/eje-11-0180. PubMed PMID: 21798959.
236. Kohan L, Zarei A, Fallahi S, Tabiee O. Association between vaspin rs2236242 gene polymorphism and polycystic ovary syndrome risk. *Gene*. 2014;539(2):209-12. Epub 2014/02/18. doi: 10.1016/j.gene.2014.01.078. PubMed PMID: 24530312.
237. Haque Z, Javed A, Mehmood A, Haque A, Haleem DJ. Gender and stress perception based differences in BMI, hormonal response and appetite in adult Pakistani population. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2014;24(10):705-9. Epub 2014/10/21. doi: 10.2014/jcpsp.705709. PubMed PMID: 25327910.
238. Nevill AM, Metsios GS. The need to redefine age- and gender-specific overweight and obese body mass index cutoff points. *Nutrition & diabetes*. 2015;5:e186. Epub 2015/12/01. doi: 10.1038/nutd.2015.36. PubMed PMID: 26619370; PubMed Central PMCID: PMC4672357.
239. El Dayem SM, Battah AA, El Bohy Ael M, El Shehaby A, El Ghaffar EA. Relationship of plasma level of chemerin and vaspin to early atherosclerotic changes and cardiac autonomic neuropathy in adolescent type 1 diabetic patients. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2015;28(3-4):265-73. Epub 2014/09/12. doi: 10.1515/jpem-2014-0215. PubMed PMID: 25210758.