



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ**

**«Μελέτη των Μοριακών Μηχανισμών που
εμπλέκονται στην Αντίσταση της Ινσουλίνης σε
Λεπτά και Παχύσαρκα Άτομα»**

**ΑΥΓΕΡΗ ΓΑΒΡ. ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2016



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ**

**«Μελέτη των Μοριακών Μηχανισμών που
εμπλέκονται στην Αντίσταση της Ινσουλίνης σε
Λεπτά και Παχύσαρκα Άτομα»**

**ΑΥΓΕΡΗ ΓΑΒΡ. ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2016

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)

Ημερομηνία αίτησης της κ. Αυγέρη Αικατερίνης: 14-9-2007

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 615^α/16-10-2007

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Τσατσούλης Αγαθοκλής, Καθηγητής Παθολογίας –Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέλη

Σπηλιώτη Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών.

Μηλιώνης Χαράλαμπος, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 9-12-2008

«Μελέτη των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην αντίσταση της ινσουλίνης σε λεπτά και παχύσαρκα άτομα»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 788^α/31-5-2016

Γκρέκα –Σπηλιώτη	Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών.
Τσατσούλης Αγαθοκλής	ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Χάλλα Άννα,	Καθηγήτρια Παιδιατρικής με έμφαση στην Εργαστηριακή Διερεύνηση Νοσημάτων Μεταβολισμού των Οστών και άλλων Νοσημάτων Παιδικής ηλικίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μηλιώνης Χαράλαμπος	Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Σιώμου Αικατερίνη,	Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής με έμφαση στην Παιδιατρική Νεφρολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Τίγκας Στυλιανός	Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Ντουνούση Ευαγγελία	Λέκτορας Νεφρολογίας με έμφαση στις Μεταμοσχεύσεις του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 10-6-2016

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μηνάς Πασχόπουλος

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Η Γραμματέας του Τμήματος

ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ



1.ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το κείμενο αυτό αποτελεί τη διδακτορική διατριβή της παιδίατρου Αικατερίνης Γαβρ. Αυγέρη, η οποία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο της Μονάδας Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη, της Παιδιατρικής κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Πατρών, σε συνεργασία με το τμήμα Παθολογίας/Ενδοκρινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ο σκοπός της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής είναι η διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη συνουροτήτων της παχυσαρκίας, όπως η αντίσταση ινσουλίνης και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 σε λεπτόσωμα και παχύσαρκα παιδιά.

Μέρος των πειραματικών αποτελεσμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι υπό δημοσίευση, ως πρωτότυπη εργασία στο διεθνή ιατρικό τύπο, ως ακολούθως:

*Alexia Karvela, Aikaterini Avgeri, George Georgiou, Vicente Barrios, Jesús Argente and Bessie E. Spiliotis. **The adiponectin signaling pathway and Rab5 in adipose tissue and serum adipokine levels of obese children** (in review).*

Πριν συνεχίσω την παρουσίαση της διατριβής, κρίνω απαραίτητο να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους με στήριξαν και με βοήθησαν στο να ολοκληρώσω τη συγκεκριμένη εργασία.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κο Τσατσούλη Αγαθοκλή για την ευκαιρία που μου παρείχε να συνεργαστούμε. Η αμέριστη συμπαράστασή του συνέβαλε ουσιαστικά στην εκπόνηση και την επιτυχή ολοκλήρωση της εργασίας μου. Είναι αναμφισβήτητη τιμή για μένα η συνεργασία μαζί του.

Πυρήνα της έμπνευσης της ιδέας του θέματος, της οργάνωσης και της διεκπεραίωσης αυτής της εργασίας αποτέλεσε η κα Βασιλική Γκρέκα - Σπηλιώτη, στην οποία αξίζουν ιδιαίτερες ευχαριστίες για την άρτια καθοδήγηση και την αμέριστη στήριξη που μου παρείχε. Η πολυετής εμπειρία της, η αγάπη της για την επιστήμη της Ιατρικής και το μοναδικό διδακτικό της ταλέντο αποτέλεσαν για εμένα ανεκτίμητη πηγή γνώσεων και έμπνευσης. Η στήριξη της καθ' όλη τη διάρκεια της επιστημονικής μου πορείας, η άψογη επαγγελματική συνεργασία και καθοδήγησή της, αποτέλεσαν τα απαραίτητα εφόδια της επιστημονικής μου κατάρτισης. Η καθηγήτρια κυρία Σπηλιώτη αποτελεί πρότυπο επιστήμονα με παγκόσμια καταξίωση και εξαιρετική καριέρα στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ελλάδα. Αισθάνομαι υπερήφανη που ανήκω στην ερευνητική της ομάδα.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την υπεύθυνη του εργαστηρίου, κυρία Αλεξία Καρβέλα, για τη βοήθειά της στην εκμάθηση και εφαρμογή της εργαστηριακής μεθοδολογίας, καθώς και την ουσιαστική της συμβολή στην ολοκλήρωση της συγκεκριμένης εργασίας.

Επίσης, ευχαριστώ τον κ. Μηλιώνη Χαράλαμπο για την υποστήριξη και την ενθάρρυνση ως προς την πραγματοποίηση της διδακτορικής μου διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά όλα τα μέλη της επταμελούς επιτροπής, για την στήριξή τους στην παρουσίαση της εργασίας μου και για το χρόνο που αφιέρωσαν για τη διόρθωση του γραπτού μου.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τους υπόλοιπους φοιτητές, που στελεχώνουν το εργαστήριο της Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας για τις πολύτιμες γνώσεις που μοιράστηκαν μαζί μου καθώς και την ευχάριστη συνεργασία που αναπτύξαμε.

Μάιος 2016

Αικατερίνη Γαβρ. Αυγέρη

2. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Πρόλογος.....	2
2. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	6
3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
3.1 Παιδική Παχυσαρκία	12
3.2 Γενετική της Παχυσαρκίας.....	14
3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την παχυσαρκία	15
3.3.1 Ενδοκρινικές Παθήσεις	15
3.3.2 Φαρμακευτική αγωγή.....	16
3.3.3 Ηλικία και φύλο	16
3.3.4 Σύσταση του σώματος	17
3.3.5 Κατάθλιψη.....	17
3.3.6 Μεταβολές του ενδοκρινικού συστήματος.....	18
3.3.7 Σωματική δραστηριότητα	18
3.3.8 Θηλασμός.....	18
3.3.9 Ενεργειακή Πρόληψη.....	19
3.3.10 Διατροφικές συνήθειες των γονέων.....	19
3.3.11 Κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο	20
3.3.12 Διάρκεια του ύπνου και κάπνισμα.....	20
3.4 Επιπτώσεις της παχυσαρκίας.....	23
3.4.1 Αντίσταση στην ινσουλίνη.....	23
3.4.2 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II	24
3.4.3 Μεταβολικό σύνδρομο.....	25
3.4.4 Άλλες επιπτώσεις της παχυσαρκίας	29
3.5 Διαταραχή της ομοιόσταση της γλυκόζης	29
3.5.1 Η ινσουλίνη και η δράση της.....	32
3.5.2 Βιοσύνθεση και έκκριση της ινσουλίνης	33
3.5.3 Σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης.....	36
3.5.4 Αποδόμηση της ινσουλίνης.....	39
3.5.5 Αντίσταση στην ινσουλίνη στο ήπαρ.....	42
3.5.6 Αντίσταση στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες	43
3.5.7 Αντίσταση στην ινσουλίνη στο λιπώδη ιστό.....	43
3.6 Ενεργειακή ομοιόσταση και ΚΝΣ	49
3.7 Λιπώδης ιστός.....	53
3.7.1 Μορφολογία και κατανομή του λιπώδη ιστού.....	53
3.7.2 Λειτουργίες του φαιού και "beige" λιπώδους ιστού	58
3.7.3 Λειτουργίες του λευκού λιπώδους ιστού	62
3.7.3.1 Μεταβολισμός λιπιδίων.....	63
3.7.3.2 Μεταβολισμός γλυκόζης.....	64
3.7.3.3 Ενδοκρινή λειτουργία.....	65
3.8 Λιπώδης ιστός ως ενδοκρινές όργανο	66
3.8.1 Λεπτίνη	67
3.8.2 Ρεζιστίνη	70
3.8.3 Αντιπυροκρίνη.....	72

3.8.4 Βισφατίνη.....	74
3.8.5 Απελίνη	77
3.8.6 Βασπίνη	79
3.8.7 Αδιψίνη.....	79
3.8.8 Ομεντίνη	79
3.8.9 Χεμερίνη	80
3.8.10 Καρτονεκτίνη.....	81
3.8.11 Μεταλλοθειονίνη.....	81
3.8.12 Μονοβουτυρίνη.....	81
3.8.13 Ανδρενομεδουλλίνη.....	81
3.8.14 Γκρελίνη	82
3.8.15 Παράγοντας PAI-1	85
3.8.16 Αγγειοτενσινογόνο	86
3.8.17 RBP-4	87
3.8.18 TNF-α	89
3.8.19 Ιντερλευκίνες.....	91
3.8.20 MCP-1	92
3.8.21 SAA	92
3.8.22 VEGF	93
3.8.23 ZAG	94
3.8.24 Άλλα εκκριτικά προϊόντα του λιπώδους ιστού.....	94
3.9 Το σύστημα των ενδοκανναβινοειδών	95
3.9.1 Τα ενδοκανναβινοειδή.....	97
3.9.2 Ο μεταβολισμός των ενδοκανναβινοειδών	98
3.9.3 Μοριακοί στόχοι και μονοπάτια σηματοδότησης	100
3.9.4 Ο ρόλος των ενδοκανναβινοειδών στη ρύθμιση της πρόληψης τροφής και την ενεργειακή ισορροπία.....	103
4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	110
4.1 Σηματοδοτικό μονοπάτι Αντιγονεκτίνης-Ινσουλίνης στα λιποκύτταρα	111
4.2 Ενεργειακό ισοζύγιο	117
5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	123
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	125
6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	125
6.1 Παιδιά υπό μελέτη	126
6.2 Καλλιέργειες λιποκυττάρων.....	127
6.3 Απομόνωση ολικού RNA	130
6.4 PCR Αντιστροφής Μεταγραφάσης (RT-PCR).....	132
6.5 Απομόνωση πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων και Ανοσοαποτύπωση κατά Westen.....	138
6.6 Λήψη δειγμάτων αίματος και Μετρήσεις στο ορό του αίματος.....	145
6.7 Στατιστική Ανάλυση	147
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	149
7.1 Κλινικά χαρακτηριστικά και βιοχημικό προφίλ των παιδιών	150
7.2 Αποτελέσματα έκφρασης μορίων	153
7.2.1 Μέρος Α- Μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της Αντιγονεκτίνης.....	153

7.2.1.1 Κυκλοφορούντα επιπεδα ΗΜW αντιπνεκτίνης στον ορό του αίματος.....	154
7.2.1.2 Πρωτεϊνική έκφραση της Αντιπνεκτίνης.....	155
7.2.1.3 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>AdipoR1</i>	156
7.2.1.4 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>APPL1</i>	158
7.2.1.5 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>Rab5</i>	160
7.2.1.6 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>Glut4</i>	162
7.2.2 Μέρος Β- Μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της Ινσουλίνης	164
7.2.2.1 Επίπεδα Ινσουλίνης στον ορό αίματος.....	165
7.2.2.2 Δείκτης Ινσουλινοαντίστασης <i>HOMA-IR</i>	166
7.2.2.3 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>Akt2</i>	167
7.2.2.4 Γονιδιακή έκφραση του <i>c-CBL</i>	169
7.2.2.5 Πρωτεϊνική έκφραση του φωσφορυλιωμένου <i>c-CBL</i>	170
7.2.2.6 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>CAP</i>	171
7.2.3 Μέρος Γ- Μόρια που συμμετέχουν στο ενεργειακό ισοζύγιο.....	173
7.2.3.1 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>CB1</i>	174
7.2.3.2 Γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του <i>PPAR-γ</i>	176
7.2.3.3 Πρωτεϊνική έκφραση του φωσφορυλιωμένου <i>PPAR-γ</i>	178
7.3 Συσχετίσεις των κλινικών χαρακτηριστικών των μορίων	179
7.4 Συσχετίσεις της πρωτεϊνικής έκφρασης των μορίων.....	180
8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	181
8.1 Συζήτηση.....	182
8.2 Συμπεράσματα	191
9. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	196
10. SUMMARY	200
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	204

3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. Γενικό Μέρος

Η παχυσαρκία θεωρείται μία παγκόσμια πανδημία και αποτελεί μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στις ανεπτυγμένες χώρες. Εκτός από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, είναι γεγονός ότι τα γονίδια έχουν έναν εξίσου σημαντικό ρόλο σ' αυτή την παθογένεια (Daniels, 2009). Η αναγνώριση των γονιδίων, που οδηγούν στη μονογονιδιακή, συνδρομική και πολυγονιδιακή παχυσαρκία, έχει βοηθήσει στην κατανόηση των μηχανισμών αυτής της ασθένειας.

Παχυσαρκία είναι η πάθηση που προκαλείται από υπερβολική συσσώρευση λίπους στο σώμα. Η αύξηση της ποσότητας του σωματικού λίπους συνεπάγεται βέβαια και αύξηση του σωματικού βάρους. Η παχυσαρκία έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, οδηγώντας σε μείωση του προσδόκιμου ζωής και/ή σε αυξημένα προβλήματα υγείας, όπως καρδιοαγγειακές παθήσεις, σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, αποφρακτική άπνοια ύπνου, ορισμένα είδη καρκίνου, οστεοαρθρίτιδα και άσθμα. Η παχυσαρκία συνήθως οφείλεται σε υπερβολική πρόληψη τροφών, υψηλών σε ενεργειακή πυκνότητα, στην έλλειψη σωματικής άσκησης, σε γενετική προδιάθεση, αλλά και σε ψυχολογικούς παράγοντες. Σε ορισμένες περιπτώσεις, πρωταρχική αιτία αποτελούν τα γονίδια, οι ενδοκρινικές διαταραχές, η λήψη κάποιας φαρμακευτικής αγωγής ή κάποια ψυχιατρική ασθένεια (Daniels, 2009).

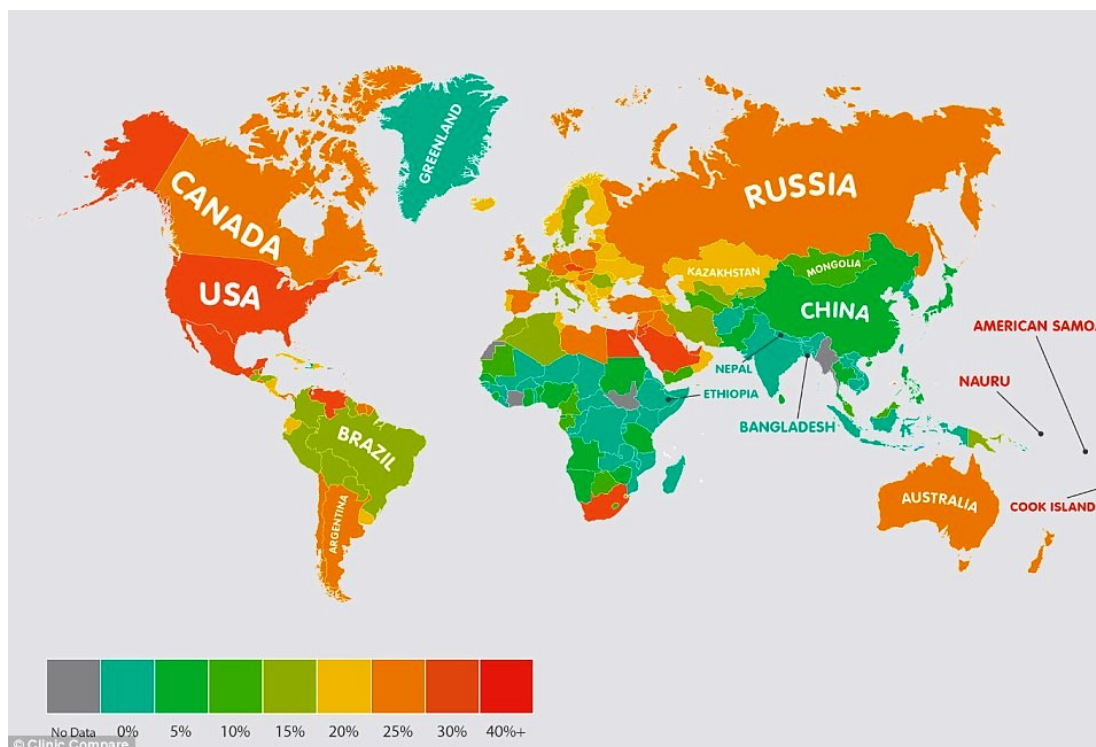
Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η παχυσαρκία προσδιορίζεται από το Δείκτη Μάζας-Σώματος (Body Mass Index, BMI), ο οποίος προκύπτει από τη διαίρεση του σωματικού βάρους (σε κιλά) με το τετράγωνο του ύψους (σε μέτρα) (Must & Anderson, 2006).

$$\text{BMI} = m \text{ (Kg)}/h^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

Πίνακας 1: Ταξινόμηση παχύσαρκων ενηλίκων σύμφωνα με το δείκτη Μάζας-Σώματος.

Ταξινόμηση BMI	BMI
Λιποβαρής	<18.5
Κανονικό Βάρος	18.5 – 24.9
Υπέρβαρος	25 – 29.9
Παχυσαρκία Τύπου I	30 – 34.9
Παχυσαρκία Τύπου II	35 – 39.9
Παχυσαρκία Τύπου III	≥40

Τις δύο τελευταίες δεκαετίες, η παχυσαρκία έχει αναδειχθεί ως πρωτεύον πρόβλημα δημόσιας υγείας, το οποίο παρουσιάζεται κυρίως στις ανεπτυγμένες χώρες, και προσβάλλει εξίσου τους ενήλικες και τα παιδιά. Η παιδική παχυσαρκία αποτελεί ένα σημαντικό και αυξανόμενο πρόβλημα υγείας παγκοσμίως.



Εικόνα 1: Ο Παγκόσμιος Χάρτης της παχυσαρκίας.

Σήμερα, το 17% του συνόλου των παιδιών και των εφήβων στις Ηνωμένες πολιτείες της Αμερικής είναι παχύσαρκα. Η Ελλάδα συγκαταλέγεται ανάμεσα στις 7 Ευρωπαϊκές χώρες (Κύπρος, Τσεχία, Φιλανδία, Γερμανία, Μάλτα, Σλοβακία), οι οποίες έχουν παρόμοια επίπεδα παχύσαρκων και υπέρβαρων ατόμων με τις ΗΠΑ.

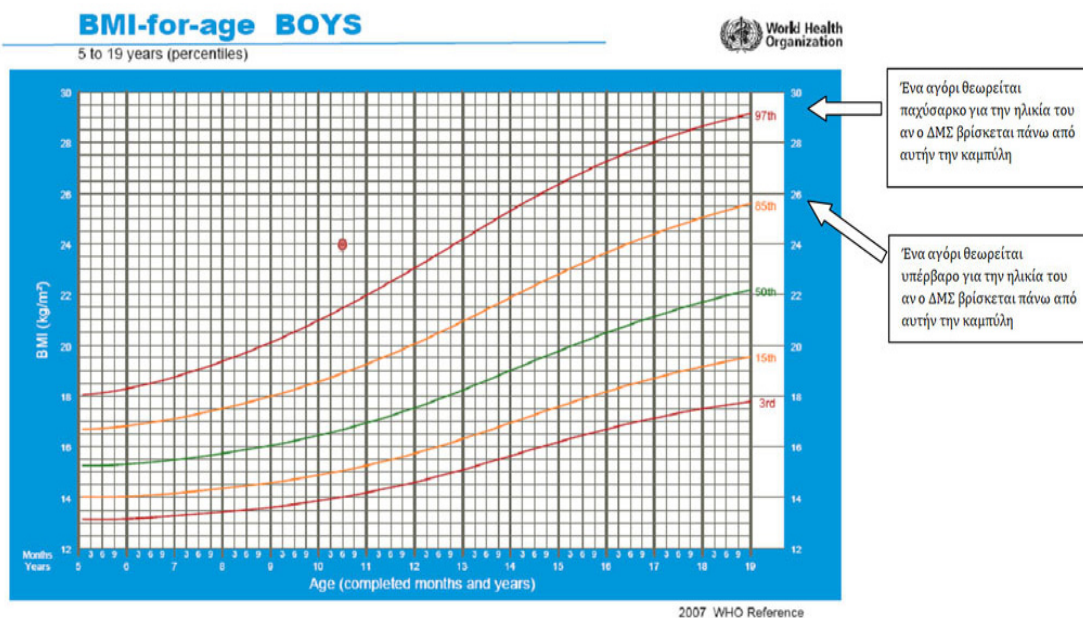
3.1 Παιδική παχυσαρκία

Το φαινόμενο της παχυσαρκίας δεν αφορά μόνο τους ενήλικες, αλλά δυστυχώς και τα παιδιά και τους εφήβους. Οι βασικότερες αιτίες, εκτός από τους κληρονομικούς παράγοντες, είναι η αυξημένη ενεργειακή κατανάλωση, η μειωμένη ενεργειακή δαπάνη, εξαιτίας της καθιστικής ζωής, η υπερκατανάλωση τροφών υψηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα λίπη και αλάτι, και κυρίως η απομάκρυνση από την παραδοσιακή διατροφή, και η στροφή προς το γρήγορο φαγητό (fast-food), το οποίο είναι υψηλής ενεργειακής πυκνότητας (Bowman, Gortmaker, Ebbeling, Pereira, & Ludwig, 2004).

Η παιδική παχυσαρκία είναι ένα σοβαρό πρόβλημα, αφού συνοδεύεται από σοβαρές επιπλοκές, τόσο άμεσες όσο και απώτερες. Επιπλέον είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη τύπου II (ΣΔΙΙ). Είναι πλέον γνωστό ότι ο ΣΔΙΙ και το Μεταβολικό Σύνδρομο έχουν τις ρίζες τους στην παιδική και εφηβική ηλικία. Ο ΣΔΙΙ, νόσος άγνωστη στα παιδιά και τους έφηβους, αυξάνεται με επικίνδυνο ρυθμό, αποτελώντας το 8-45% των νεοδιαγνωσθέντων περιπτώσεων ΣΔ στις ηλικίες αυτές. Ένα μεγάλο ποσοστό παχύσαρκων παιδιών θα εξελιχθούν σε παχύσαρκους ενήλικες και θα αναπτύξουν συνοσυρότητες που θα τους κατατάξουν σε ασθενείς με Μεταβολικό Σύνδρομο (Friedman & Schwartz, 2008).

Ένα ιδιαίτερα ανησυχητικό δεδομένο είναι ο αυξημένος κίνδυνος πρόωρου θανάτου στην ενήλικη ζωή, κυρίως από καρδιαγγειακά νοσήματα, ανεξάρτητα αν ο παχύσαρκος νέος χάσει περιττά κιλά. Προδιαθέτει επίσης, για πρώιμη ήβη, πολυκυστικές ωοθήκες, υπογοναδισμό, υπερλιπιδαιμία, υπέρταση, βρογχικό άσθμα, σύνδρομο άπνοιας στον ύπνο, στεατοηπατίτιδα, χολολιθίαση, σπειραματονεφρίτιδα, μυοσκελετικές παθήσεις και ενδοκράνια υπέρταση. Αξιοσημείωτες είναι και οι ψυχολογικές και κοινωνικές επιπτώσεις της παχυσαρκίας. Χαμηλή αυτοεκτίμηση, κοινωνική απομόνωση, τάση για εξαρτήσεις και αυτοκαταστροφή είναι χαρακτηριστικά που συνοδεύουν συχνά τα παχύσαρκα άτομα (Friedman & Schwartz, 2008).

Σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας του 2007, υπέρβαρα θεωρούνται τα παιδιά με ΔΜΣ μεγαλύτερο της 85ης εκατοστιαίας θέσης (ΕΘ) και παχύσαρκα αυτά, των οποίων ο ΔΜΣ είναι μεγαλύτερος της 95ης ΕΘ για την ηλικία και το φύλο.



Εικόνα 2: Εκατοστιαίες καμπύλες για το δείκτη μάζας σώματος για το κάθε φύλο.

3.2 Γενετική της παχυσαρκίας

Όσον αφορά στη γενετική της παχυσαρκίας, η παχυσαρκία διαχωρίζεται στις εξής μορφές (Bell, Walley, & Froguel, 2005):

α) *Μονογονιδιακή παχυσαρκία*. Οφείλεται στη μετάλλαξη ενός μόνο γονιδίου. Τέτοιου είδους πολυμορφισμοί είναι ικανοί να προκαλέσουν παχυσαρκία σε ένα περιβάλλον, όπου αφθονεί η τροφή. Οι ασθενείς με μονογονιδιακή παχυσαρκία εκδηλώνουν ακραίους φαινοτύπους, με έναρξη της παχυσαρκίας από την παιδική ηλικία, η οποία συχνά συνοδεύεται με διαταραχές της συμπεριφοράς, της ανάπτυξης και του ενδοκρινικού συστήματος. Μελέτες μεγάλων δειγμάτων ανθρώπινου πληθυσμού, οδήγησαν στην ταυτοποίηση πέντε ανθρώπινων γονιδίων παχυσαρκίας: της λεπτίνης, του υποδοχέα της λεπτίνης, της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC), του υποδοχέα της μελανοκορτίνης 4 (MC4R) και της προκονβεργτάσης (PC1). Είναι σημαντικό ότι όλες οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από αυτά τα πέντε γονίδια αποτελούν μέρος του ίδιου μηχανισμού ελέγχου της πρόσληψης τροφής (Boutin & Froguel, 2001).

β) *Συνδρομική παχυσαρκία*. Περιλαμβάνει Μεντελικές διαταραχές, στις οποίες οι ασθενείς είναι κλινικά παχύσαρκοι, και επιπλέον χαρακτηρίζονται από νοητική υστέρηση, δυσμορφίες και συγκεκριμένες αναπτυξιακές διαταραχές οργάνων. Οι πιο συχνές περιπτώσεις παχυσαρκίας που οφείλονται σε σύνδρομο είναι οι παρακάτω: Prader – Willi, Cohen, Alstrom και Bardet – Biedl (Perusse, Chagnon, Weisnagel, & Bouchard, 1999).

γ) *Πολυγονιδιακή παχυσαρκία*. Είναι η πιο συνηθισμένη μορφή παχυσαρκίας, η οποία αφορά την πλειοψηφία των παχύσαρκων παιδιών και ενηλίκων και εκδηλώνεται όταν το γενετικό προφίλ ενός ατόμου είναι επιρρεπές σε ένα περιβάλλον που προάγει την κατανάλωση ενέργειας έναντι των ενεργειακών δαπανών. Η γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία φαίνεται να οφείλεται σε γονίδια που σχετίζονται με τάση για αύξηση βάρους με την πάροδο του χρόνου ή, εναλλακτικά, στην απουσία των γενετικών επιδράσεων, οι οποίες προστατεύουν έναντι της ανάπτυξης ενός θετικού ισοζυγίου. Σύμφωνα με το GWAS (Genome Wide Association Studies), 7 SNPs συσχετίστηκαν με το βάρος, το ΔΜΣ και την περίμετρο μέσης. Αυτά βρίσκονταν μέσα ή κοντά σε γονίδια όπως το FTO, το MC4R, το KCTD15, το MTCH2, το NEGR1 και το BDNF. Πέντε SNPs συσχετίστηκαν με την πρόσληψη τροφής και ήταν μέσα ή κοντά σε γονίδια όπως το SH2B1, το KCTD15, το MTCH2, το NEGR1 και το Σελίδα | 21 BDNF (Bauer et al., 2009).

3.3 Παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας

Όπως προαναφέρθηκε, υπάρχουν αρκετοί παράγοντες που μπορεί να συμβάλλουν θετικά ή αρνητικά στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας. Κάποιοι από αυτούς είναι ενδοκρινικές παθήσεις, λήψη κάποιας φαρμακευτικής αγωγής, ηλικία, φύλο, σύσταση του σώματος, κατάθλιψη, μεταβολές του ενδοκρινικού συστήματος, σωματική δραστηριότητα, θηλασμός, ενεργειακή πρόσληψη, διατροφικές συνήθειες των γονέων, κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο, διάρκεια του ύπνου και κάπνισμα.

3.3.1 Ενδοκρινικές παθήσεις

Σε αυτές τις παθήσεις ανήκουν πρώτον ο **υποθυρεοειδισμός**, ο οποίος σπάνια μπορεί να προκαλέσει σημαντικού βαθμού παχυσαρκία και η διάγνωση επιτυγχάνεται με τον προσδιορισμό της ορμόνης TSH και δεύτερον το **σύνδρομο Cushing**, το οποίο προκαλεί κυρίως κοιλιακή παχυσαρκία, ενώ άλλα σημεία εναπόθεσης λίπους είναι το πρόσωπο και ο τράχηλος. Επιπλέον, οι ενδοκρινικές παθήσεις περιλαμβάνουν το **σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών**, όπου το 50% των γυναικών με αυτό το σύνδρομο είναι υπέρβαρες ή παχύσαρκες. Η ακριβής σχέση της παχυσαρκίας με το σύνδρομο αυτό δεν έχει, πλήρως διευκρινισθεί, όμως η υπερινσουλιαιμία και η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, που συνυπάρχουν στο σύνδρομο, φαίνεται ότι συμμετέχουν στην αιτιοπαθογένεια της παχυσαρκίας (Bray & Gallagher, 1975; Lonn et al., 1996). Η εμμηνόπαυση στις γυναίκες συνεπάγεται ελάττωση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, με αποτέλεσμα να παρατηρείται ανακατανομή του λιπώδους ιστού και αύξηση του σωματικού βάρους (Bray & Gallagher, 1975; Center for Disease Control and Prevention, 2011; Lonn et al., 1996) και ο υπογοναδισμός στους άνδρες οδηγεί σε ελάττωση της τεστοστερόνης, με αποτέλεσμα να παρατηρείται ελάττωση της μυϊκής μάζας του σώματος και αύξηση του λιπώδους ιστού.

Στα παιδιά, οι ενδοκρινικές παθήσεις που προκαλούν παχυσαρκία είναι οι όγκοι του υποθαλάμου (Bray & Gallagher, 1975), η **έλλειψη αυξητικής ορμόνης** (Lonn et al., 1996) και ο **ψευδοϋποθυρεοειδισμός**. Βλάβη στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου προκαλεί υπερφαγία, ενώ παχυσαρκία χωρίς υπερφαγία προκαλείται από βλάβη στο μεσοκοιλιακό πυρήνα. Συμπτώματα πίεσης, όπως κεφαλαλγία, έμετος και διαταραχές στην όραση, είναι δυνατόν να προκληθούν από κάποια βλάβη στον υποθάλαμο (π.χ. τραύμα, όγκος, φλεγμονή, χειρουργική επέμβαση). Η έλλειψη αυξητικής ορμόνης δημιουργεί αύξηση του κεντρικού

σωματικού λίπους, ενώ η θεραπεία υποκατάστασης με αυξητική ορμόνη ελαττώνει κυρίως το σπλαχνικό λίπος. Τέλος, η ενδοκρινική πάθηση του ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμού περιγράφηκε από τον Albright, για πρώτη φορά το 1942. Αυτή η κατάσταση χαρακτηρίζεται από αντίσταση στη δράση της παραθορμόνης (PTH), και οι ασθενείς παρουσιάζουν κλινική εικόνα υπασβεστιαϊσμού, έχουν χαμηλό ανάστημα, στρογγυλό πρόσωπο, οστικές ανωμαλίες και μικρού βαθμού πνευματική καθυστέρηση.

3.3.2 Φαρμακευτική αγωγή

Λαμβάνοντας ο ασθενής μία συγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή, ενδέχεται να οδηγηθεί στην εμφάνιση παχυσαρκίας. Φάρμακα που είναι δυνατόν να προκαλέσουν αύξηση του σωματικού βάρους είναι τα εξής: τα *γλυκοκορτικοειδή* (στεροειδείς ορμόνες, όπως η κορτιζόλη και η κορτικοστερόνη), τα *αντισυλληπτικά* (εκτός από αυτά της νέας γενιάς, τα οποία έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε οιστρογόνα και δεν επηρεάζουν το σωματικό βάρος), η *οξική μεγεστρόλη* (παράγωγο της προγεστερόνης και ενδείκνυται για την ανακουφιστική θεραπεία των προχωρημένων νεοπλασμάτων του μαστού ή του ενδομητρίου), η *κυπροεπαδίνη* (αντιισταμινικό, που μπορεί να υποκινήσει την όρεξη), το *λίθιο* (αυξάνει τη μεταφορά του νατρίου στα νευρικά και μυϊκά κύτταρα, επιδρώντας στον ενδονευρωτικό μεταβολισμό των κατεχολαμινών και χρησιμοποιείται στη θεραπευτική αντιμετώπιση της μανιοκατάθλιψης), η *αμιτριπτυλίνη* (τρικυκλικό αντικαταθλιπτικό με ισχυρές αντιχολινεργικές, αντιισταμινικές και κατασταλτικές ιδιότητες, ενισχύοντας τη δράση των κατεχολαμινών), οι *φαινοθειαζίνες* (αγχολυτικά, τα οποία χρησιμοποιούνται και για την αντιμετώπιση της ναυτίας), το βαλπροϊκό νάτριο (αντιεπιληπτικό), η *ινσουλίνη* (ορμόνη που κρατά τα επίπεδα της γλυκόζης αίματος υπό έλεγχο), τα αντιδιαβητικά και οι β-αναστολείς (αντιυπερτασικά φάρμακα) (Center for Disease Control and Prevention, 2011).

3.3.3 Ηλικία και φύλο

Στις μέρες μας, η πλειοψηφία των ατόμων έχει πλέον πρόσβαση σε ενεργειακά πλούσιες τροφές, με αποτέλεσμα ο υπερπολασμός του υπερβάλλοντος βάρους και της παχυσαρκίας να κλιμακώνονται και να οδηγούν σε μια παγκόσμια επιδημία παχυσαρκίας. Το σωματικό βάρος αυξάνεται με την ηλικία, φθάνοντας στα υψηλότερα επίπεδα του στην ηλικία των 60-65 ετών, ενώ στη συνέχεια μειώνεται, με περισσότερα από τα 2/3 του πληθυσμού πάνω από την ηλικία των 65 ετών να έχουν δείκτη μάζας-σώματος (BMI) πάνω από 25 kg/m².

Στα νεογνά, κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους, το λίπος αυξάνεται στο 25% της σύστασης του σώματος, ενώ μέχρι την ηλικία των δέκα ετών μειώνεται στο 15%. Στην προεφηβική ηλικία, η διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα αρχίζει να γίνεται εμφανής, με τα κορίτσια να παρουσιάζουν αύξηση του σωματικού λίπους (25%), ενώ τα αγόρια διατηρούν το ίδιο ποσοστό λίπους (~15%). Μετά την εφηβεία, το ποσοστό λίπους αυξάνεται εξίσου με την ηλικία και στους άνδρες και στις γυναίκες. Στους ενήλικες άνδρες, το φυσιολογικό ποσοστό λίπους αποτελεί το 15-20% της σύστασης του σώματος, ενώ στις ενήλικες γυναίκες το ποσοστό είναι μεγαλύτερο, της τάξης του 24-30%.

3.3.4 Σύσταση του σώματος

Η σύσταση του σώματος αλλάζει κατά τη διάρκεια της ζωής μας. Σύμφωνα με την ηλικία, η ισορροπία μεταξύ λιπώδους και μη λιπώδους μάζας μεταβάλλεται. Η μείωση της μυϊκής μάζας αρχίζει από την ηλικία των 30 ετών, και επιταχύνεται μετά την ηλικία των 60 με μία ταυτόχρονη αύξηση του λιπώδους ιστού. Αυτή η πτώση στη μυϊκή μάζα είναι γνωστή ως *σαρκοπενική παχυσαρκία* (Mokdad et al., 2001). Η ελαττωμένη φυσική δραστηριότητα, η κακή διατροφή (μειωμένη διαιτητική πρόσληψη πρωτεϊνών και αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών και απλών σακχάρων), καθώς και η μειωμένη έκθεση στον ήλιο (που επηρεάζει τη δερματική σύνθεση της βιταμίνης D) είναι μερικοί από τους παράγοντες που θεωρούνται υπεύθυνοι για τις αλλαγές στη σύσταση του ανθρώπινου σώματος (Chang, Beason, Hunleth, & Colditz, 2012).

3.3.5 Κατάθλιψη

Στις μεγαλύτερες ηλικίες, η κατάθλιψη εμφανίζεται εντονότερα και συχνότερα. Σε μία πρόσφατη μετά-ανάλυση 17 μελετών, στην οποία συμμετείχαν 204.507 εθελοντές, βρέθηκε πως υπάρχει σημαντική σύνδεση μεταξύ της κατάθλιψης και της παχυσαρκίας στον γενικό πληθυσμό, η οποία φαίνεται να είναι πιο έντονη στις γυναίκες (de Wit et al., 2010). Η σχέση μεταξύ της κατάθλιψης και της παχυσαρκίας είναι πολύπλοκη. Η κατάθλιψη φαίνεται να έχει σχέση σχήματος U με το BMI, καθώς μπορεί να σχετίζεται με υπερβάλλον, αλλά και με ελλιπές σωματικό βάρος (Polotsky & Polotsky, 2010). Η κατάθλιψη αυξάνει τη συχνότητα της παχυσαρκίας και η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο της κατάθλιψης, προκαλώντας έτσι ένα φαύλο κύκλο. Επιπλέον, το χρόνιο στρες, σε συνδυασμό με θετικό ενεργειακό ισοζύγιο, μπορεί να είναι ένας παράγοντας που συμβάλλει στον αυξημένο κίνδυνο για παχυσαρκία.

3.3.6 Μεταβολές του ενδοκρινικού συστήματος

Πολλαπλοί ενδοκρινικοί άξονες είναι δυνατόν να επηρεαστούν από τη γήρανση, που με τη σειρά τους μπορεί να αυξάνουν τον κίνδυνο για παχυσαρκία. Τα άτομα ηλικίας 80 ετών και άνω, έχουν πέντε φορές περισσότερες πιθανότητες να εκδηλώσουν υποθυρεοειδισμό σε σύγκριση με αυτά των 12-49 ετών. Τα στεροειδή του φύλου μειώνονται και στα δύο φύλα με την πάροδο της ηλικίας, με αποτέλεσμα την κεντρική ανακατανομή του λίπους στις γυναίκες (Polotsky & Polotsky, 2010). Η ολική και η δραστική βιολογικά ελεύθερη τεστοστερόνη στους άνδρες ελαττώνονται μετά από ηλικία των 40 ετών. Η αύξηση της δεσμευτικής των ορμονών του φύλου πρωτεΐνης συμβάλλει στη μείωση της βιοδιαθέσιμης τεστοστερόνης, με αποτέλεσμα την αύξηση του λιπώδους ιστού και τη μείωση της μυϊκής μάζας (Moretti et al., 2005). Η έκκριση της αυξητικής ορμόνης μειώνεται βαθμιαία μετά την ηλικία των 45 και συνοδεύεται με αυξημένη εναπόθεση σπλαχνικού λίπους (Waters, Qualls, Dorin, Veldhuis, & Baumgartner, 2008).

3.3.7 Σωματική δραστηριότητα

Θεωρείται πως οι έφηβοι έχουν γίνει λιγότερο δραστήριοι, και αυτό πιθανόν να ευθύνεται σε κάποιο βαθμό για τις αυξανόμενες τάσεις της παχυσαρκίας. Η πολύωρη παρακολούθηση τηλεόρασης μειώνει αρκετά το χρόνο που μπορεί να διατεθεί για σωματική άσκηση, και συνδέεται άμεσα με την αυξημένη κατανάλωση τροφής. Επιπροσθέτως, η πλέον διαδεδομένη ενασχόληση των παιδιών με τα video-παιχνίδια μεγεθύνει τις πιθανότητες για αύξηση του σωματικού βάρους, και κατ' επέκταση της παραμονής των κιλών αυτών και στην ενήλικη ζωή, οδηγώντας σε δυσκολία απώλειάς τους. Οι όλο και αυξανόμενες απαιτήσεις της σύγχρονης ζωής, το άγχος για την υλοποίηση πολλών πραγμάτων ταυτόχρονα, η πίεση του χρόνου, καθώς και οι πολλές ώρες εργασίες έχουν απομακρύνει κατά πολύ την πλειοψηφία των ανθρώπων από τον υγιεινό τρόπο ζωής (άθληση και σωστή διατροφή), καταφεύγοντας στις γρήγορες και πρόχειρες λύσεις φαγητού με χαμηλής διατροφικής αξίας ουσίες, καθώς και στο κάπνισμα, ως τρόπου διαφυγής από τα καθημερινά προβλήματα, πιστεύοντας πως απομακρύνει στιγμιαία το στρες.

3.3.8 Θηλασμός

Στη βιβλιογραφία, δεν είναι εξακριβωμένο και επαρκώς προσδιορισμένο για το αν η γαλουχία συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης της παχυσαρκίας στην παιδική ηλικία (Butte, 2001). Τα αποτελέσματα πολλών ερευνητών δε συμφωνούν όσον αφορά τον προστατευτικό ρόλο του θηλασμού, ενώ άλλοι έχουν

παρατηρήσει ότι νεογνά που δε θήλασαν ή θήλασαν για μικρότερο χρονικό διάστημα και όχι μεγαλύτερο, παρουσιάζουν μεγαλύτερες πιθανότητες αύξησης βάρους στην μετέπειτα ζωή τους. Τα παιδιά που θηλάζουν σε σχέση με εκείνα που τρέφονται από το μπουκάλι, έχουν διαφορετική ορμονική απόκριση στην τροφή, καθώς η σίτιση με το μπουκάλι προκαλεί μεγαλύτερη απόκριση ινσουλίνης, που πιθανότατα οδηγεί σε πρόωμη αποθήκευση λίπους (Lucas et al., 1980).

3.3.9 Ενεργειακή πρόσληψη

Σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι διαδραματίζουν οι ενεργειακά πυκνές τροφές στην καθημερινή ενεργειακή πρόσληψη. Βάσει κάποιων μελετών, έχει αποδειχθεί ότι οι ευχάριστες ενεργειακά πυκνές τροφές έχουν συνδεθεί με μειωμένο κορεσμό και παθητική "υπερκατανάλωση" λιπών και ζάχαρης (Blundell & Macdiarmid, 1997). Ενώ, τροφές πλούσιες σε όγκο (αυξημένη περιεκτικότητα σε νερό), έχει δειχθεί ότι προωθούν το αίσθημα του κορεσμού, οδηγώντας σε μειωμένη ενεργειακή πρόσληψη (B. J. Rolls et al., 1998).

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί αρκετά η κατανάλωση ζαχαρούχων ροφημάτων, όπως ανθρακούχα ποτά, χυμοί εμπορίου και παγωμένο τσάι, με αποτέλεσμα να συνδέεται με την αύξηση του σωματικού βάρους, τόσο στους ενήλικες, όσο και στα παιδιά. Σε έρευνα που διενεργήθηκε στην Ελλάδα, διαπιστώθηκε ότι το 59,8% παιδιών ηλικίας 4-7 ετών, κατανάλωναν καθημερινά τέτοιου είδους ροφήματα, ενώ αντιθέτως, σημειώθηκε μειωμένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και γαλακτοκομικών προϊόντων (Berkey, Rockett, Field, Gillman, & Colditz, 2004).

Επίσης, μία άλλη ανθυγιεινή διατροφική συνήθεια είναι η κατανάλωση γρήγορου φαγητού (fast-food). Τα άτομα που καταναλώνουν τέτοιου είδους τροφή έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν σημαντικά την συνολική πρόσληψη ενέργειας κατά 500 kcal ημερησίως, συνολικού και κορεσμένου λίπους, υδατανθράκων και πρόσθετης ζάχαρης, σε σχέση με εκείνα που δεν καταναλώνουν (Bowman & Vinyard, 2004).

3.3.10 Διατροφικές συνήθειες των γονέων

Εκτός από την κληρονομικότητα των γονιδίων, οι γονείς εξασφαλίζουν στα παιδιά τους και το περιβάλλον, στο οποίο θα τραφούν. Οι γονείς παρέχουν το φαγητό, αλλά επίσης καθορίζουν και τις διατροφικές επιλογές των παιδιών τους, αφού ασκούν καθοριστική επιρροή, λειτουργώντας ως πρότυπα προς μίμηση. Όταν

συνήθως, και οι δύο γονείς είναι υπέρβαροι, τότε κατά ένα μεγάλο ποσοστό και τα παιδιά τους ίσως να είναι υπέρβαρα. Επομένως, οι διατροφικές συνήθειες των γονέων επηρεάζουν το σωματικό βάρος των παιδιών, καθώς και την τάση τους για εμφάνιση παχυσαρκίας. Επίσης, πολλές φορές οι γονείς υπερσιτίζουν τα παιδιά τους, σερβίροντας μεγάλες μερίδες φαγητού, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πρόσληψη ενέργειας (B. J. Rolls, Roe, & Meengs, 2006).

3.3.11 Κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο

Η παχυσαρκία τείνει να ακολουθεί ένα συγκεκριμένο κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο, καθώς η ασθένεια συνήθως επιβαρύνει ασθενέστερα οικονομικά άτομα και φυλετικές μειονότητες ("U.S. Department of Health and Human Services: Office of Disease Prevention and Health Promotion--Healthy People 2010," 2000). Τα αυξημένα επίπεδα παχυσαρκίας πιθανότατα συνδέονται και με την ελλιπή εκπαίδευση, εκτός του χαμηλού εισοδήματος. Τα τρόφιμα που αποτελούνται από επιπρόσθετα σάκχαρα και λίπη, αντιπροσωπεύουν την οικονομικότερη επιλογή του καταναλωτή, σε σχέση με τα φρούτα, τα λαχανικά, το ψάρι και το άπαχο κρέας.

3.3.12 Διάρκεια του ύπνου και κάπνισμα

Ο ύπνος, καθώς και η διάρκειά του θεωρούνται σημαντικοί παράγοντες για την εμφάνιση παχυσαρκίας. Ο ύπνος φαίνεται να επηρεάζει βασικές ορμόνες για τον μεταβολισμό (λεπτίνη, γρελίνη), οι οποίες καθορίζουν την επιλογή της τροφής, την όρεξη και την κατανάλωση ενέργειας. Η μειωμένη διάρκεια ύπνου αυξάνει τις πιθανότητες για κατανάλωση τροφών πλούσιων σε υδατάνθρακες και θερμίδες, και συνάμα οδηγεί σε μείωση της φυσικής δραστηριότητας, εξαιτίας της κούρασης που προκαλείται στον οργανισμό.

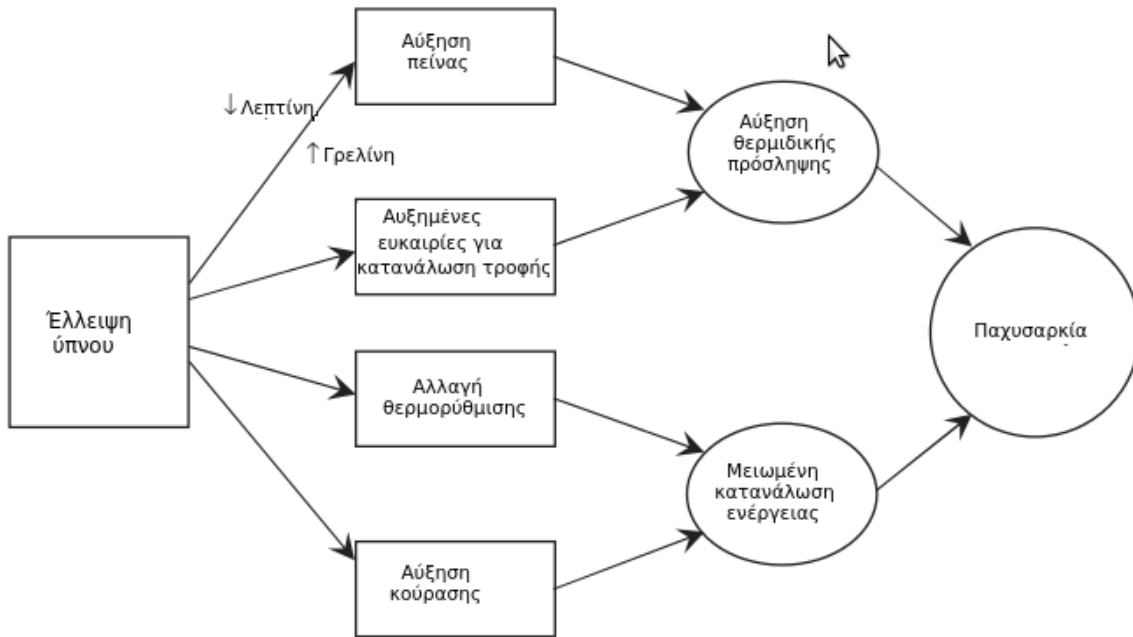
Ο νευροδιαβιβαστής, ορεξίνη, ή αλλιώς υποκρετίνη, επιδρά στο φαινόμενο ύπνου-εγρήγορσης, όπως επίσης και στην όρεξη και την αναζήτηση τροφής. Επιπλέον, σχετίζεται με την λειτουργία διαφόρων ουσιών που προάγουν την παραγωγή της. Για παράδειγμα, η λεπτίνη παράγεται από τα λιποκύτταρα και η γρελίνη εκκρίνεται από το στομάχι πριν τη πρόσληψη τροφής. Η παραγωγή της ορεξίνης αναστέλλεται από την λεπτίνη και ενεργοποιείται από τη γρελίνη και την υπογλυκαιμία (Knutson, 2012).

Σύμφωνα με την Εικόνα 3, η έλλειψη ύπνου μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση παχυσαρκίας, μέσω των εξής πιθανών μηχανισμών:

- Η μειωμένη καταναλισκόμενη ενέργεια είναι δυνατόν να αυξήσει το σωματικό βάρος.
- Οι άνθρωποι που μένουν ξύπνιοι για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, έχουν περισσότερες ευκαιρίες για κατανάλωση φαγητού.
- Οι μεταβολές των ορμονών, που προαναφέρθηκαν, οδηγούν στην πρόσληψη βάρους.

Βέβαια, η κατάσταση της έλλειψης ύπνου θα πρέπει να διαρκέσει χρόνια για να αυξηθεί το σωματικό βάρος. Όμως, υπάρχει και το ενδεχόμενο, η ίδια η παχυσαρκία να είναι το αίτιο της μείωσης των ωρών του ύπνου, αφού δημιουργεί μία σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως οστεοαρθρίτιδα, γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, άσθμα και καρδιακή ανεπάρκεια, που οδηγούν στην αϋπνία, ενώ παράλληλα είναι ο μεγαλύτερος παράγοντας κινδύνου για το σύνδρομο της υπνικής άπνοιας (Patel & Hu, 2008).

Η έλλειψη ύπνου συνδέεται με καρδιομεταβολικές ασθένειες, οι οποίες επίσης σχετίζονται με την παχυσαρκία. Οδηγεί σε μειωμένη χρήση γλυκόζης στον εγκέφαλο, που έχει σαν αποτέλεσμα μειωμένη αντοχή στη γλυκόζη. Επιπλέον, συμβαίνουν αλλαγές σε δύο ακόμη ορμόνες, που σχετίζονται με τον μεταβολισμό της γλυκόζης, την αυξητική ορμόνη και την κορτιζόλη. Παροδική αντίσταση στην ινσουλίνη των μυϊκών κυττάρων είναι δυνατόν να προκληθεί από αυξημένα επίπεδα αυξητικής ορμόνης, οδηγώντας σε μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης, σε αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και σε μεταγενέστερες αυξήσεις στην ινσουλινοαντίσταση σε άλλους ιστούς. Τέλος, αυξημένες συγκεντρώσεις κορτιζόλης κατά τις απογευματινές ώρες μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη το επόμενο πρωί, μία μεταβολή που βλάπτει την ανοχή στη γλυκόζη, με αποτέλεσμα τον περιορισμό του ύπνου (Knutson, 2012).



Εικόνα 3: Πιθανοί μηχανισμοί που οδηγούν στην παχυσαρκία λόγω έλλειψης ύπνου (Patel & Hu, 2008).

Η σχέση μεταξύ καπνίσματος και παχυσαρκίας δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη. Από τη μία, η κατανάλωση ενέργειας αυξάνεται (Hofstetter, Schutz, Jequier, & Wahren, 1986) και η όρεξη μειώνεται (Williamson et al., 1991) με τη νικοτίνη, γεγονός που εξηγεί γιατί οι καπνιστές τείνουν να ζυγίζουν λιγότερο από τους μη καπνιστές, και επιπλέον παρατηρείται αύξηση του σωματικού βάρους με τη διακοπή του καπνίσματος (Εικόνα 4). Επίσης, η κατανομή του σωματικού λίπους φαίνεται ότι επηρεάζεται από το κάπνισμα, και σχετίζεται με την κεντρική παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη (Eliasson, 2003; Houston et al., 2006). Το κάπνισμα πιθανότατα αυξάνει άμεσα την αντίσταση στην ινσουλίνη (Ronnemaa, Ronnemaa, Puukka, Pyorala, & Laakso, 1996), και σχετίζεται με το μεταβολικό σύνδρομο, το διαβήτη τύπου II και την ανοχή στη γλυκόζη.

Επίσης, από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιά, δείχνουν ότι τα κορίτσια είναι πιο ευάλωτα στην εμφάνιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, εξαιτίας της αυξημένης ποσότητας υποδόριου λίπους (26%), που εμφανίζουν σε σχέση με τα αγόρια. Από την ηλικία των 5 ετών, τα κορίτσια ήδη εμφανίζουν μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη, επομένως για την πρόληψη της αντίστασης στην ινσουλίνη και την εξέλιξή της σε διαβήτη, φυλοσύνδετες διαφορές πρέπει να λαμβάνονται υπόψη (M. J. Murphy et al., 2004).

Ο οργανισμός των παιδιών επιδέχεται μεγάλες ορμονικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Εξαιτίας των μεγάλων ποσοτήτων αυξητικής ορμόνης που παράγονται κατά την περίοδο αυτή, η ευαισθησία στην ινσουλίνη μειώνεται φυσιολογικά. Από έρευνες που έχουν διεξαχθεί σε εφήβους, έδειξαν μειωμένη πρωτεόλυση και πρωτεϊνική οξείδωση, οι οποίες πιθανολογείται πως οφείλονται στα αυξημένα επίπεδα του IGF-I (Insulin-like Growth Factor I), και στην ινσουλινοαντίσταση που παρουσίασαν οι έφηβοι αυτοί στην εφηβεία. Η αντίσταση στην ινσουλίνη, που παρουσιάζεται στην εφηβική ηλικία, δείχνει να έχει άμεση συσχέτιση με τα αυξημένα επίπεδα εκκρινόμενης ινσουλίνης (Arslanian & Kalhan, 1996; Hannon, Janosky, & Arslanian, 2006).

3.4.2 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι ένα σύνδρομο, το οποίο προκαλείται από απόλυτη ή σχετική ανεπάρκεια στην έκκριση ινσουλίνης. Αποτέλεσμα της ανεπάρκειας ινσουλίνης είναι οι διαταραχές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των λιπών και των ηλεκτρολυτών. Κύριο χαρακτηριστικό του σακχαρώδους διαβήτη είναι η αύξηση της γλυκόζης στο αίμα, και συχνά η γλυκοζουρία. Τα απώτερα αποτελέσματα των μεταβολικών διαταραχών του είναι οι χρόνιες διαβητικές επιπλοκές, η αμφιβληστροειδοπάθεια, η νεφροπάθεια και η πρόωμη αθηρωμάτωση.

Ο σακχαρώδης διαβήτης διακρίνεται σε *πρωτοπαθή* και *δευτεροπαθή*. Ο **πρωτοπαθής** διακρίνεται σε 3 μεγάλες κατηγορίες:

1. Διαβήτης τύπου 1 (παλιότερα αποκαλούμενο νεανικό διαβήτη)
2. Διαβήτης τύπου 2 (παλιότερα αποκαλούμενο διαβήτη της ώριμης ηλικίας)
3. Διαβήτης κήσεως

Ο **δευτεροπαθής** οφείλεται σε νοσήματα που διακρίνονται σε 5 κατηγορίες:

1. Παγκρεατικά νοσήματα. Χρόνια παγκρεατίτιδα, παγκρεατεκτομή, Ca παγκρέατος, αιμοχρωμάτωση
2. Ενδοκρινικά νοσήματα. Σύνδρομο Cushing, μεγαλακρία, θυρεοτοξίκωση, φαιοχρωμοκύττωμα, γλυκαγόνωμα, αυτοάνοσα πολυαδενικά σύνδρομα
3. Διαβήτης από φάρμακα και τοξίνες. Γλυκοκορτικοειδή και ACTH, θειαζίδες, φαινυτοΐνη, πενταμιδίνη
4. Διαβήτης από ανωμαλίες της ινσουλίνης και των υποδοχέων της. Ελλείμματα του υποδοχέα τύπου A: Ανώμαλη ανταπόκριση του υποδοχέα. Ελλείμματα του υποδοχέα τύπου B: αντισώματα έναντι του υποδοχέα.
5. Διαβήτης συνδυαζόμενος με γενετικά σύνδρομα. Σύνδρομο DIDMOAD (Άποιος διαβήτης, σακχαρώδης διαβήτης, ατροφία οπτικού νεύρου, κώφωση), κυστική ίνωση.

Η κεντρική παχυσαρκία αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Οι ρυθμοί αύξησης του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II από την παιδική ηλικία φαίνεται ότι ακολουθούν τους ρυθμούς αύξησης της παιδικής παχυσαρκίας (Aye & Levitsky, 2003). Στην παθογένεια αυτής της ασθένειας δείχνουν να συντελούν η διαταραχή των β-κυττάρων και η μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη. Τα κύρια όργανα στόχοι της ινσουλίνης είναι το ήπαρ, ο λιπώδης ιστός και οι σκελετικοί μύες. Η διαταραγμένη ανταπόκριση των οργάνων αυτών έχει ως αποτέλεσμα την αντίσταση στην ινσουλίνη. Οπότε, σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης, ο οργανισμός εκκρίνει μεγαλύτερες ποσότητες ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, προκαλώντας υπερινσουλιναίμια. Έτσι, ο οργανισμός είναι δυνατόν να οδηγηθεί στην παθοφυσιολογία του σακχαρώδους διαβήτη τύπου II, όταν η υπερινσουλιναίμια διαταράξει τη φυσιολογική λειτουργία του παγκρέατος.

3.4.3 Μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) είναι ένας συνδυασμός μεταβολικών διαταραχών, οι οποίες αποτελούν ταυτόχρονα και παράγοντες που προάγουν την αθηροσκλήρωση. Για πρώτη φορά, το 1988, ο G. Reaven περιέγραψε τη συνάθροιση των διαταραχών αυτών, την οποία και ονόμασε σύνδρομο X (Reaven,

1997). Σήμερα πιστεύεται ότι στο μεταβολικό σύνδρομο συμπεριλαμβάνονται έξι βασικές καταστάσεις, οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους:

- *Σπλαγχνική παχυσαρκία*
- *Δυσλιπιδαιμία*. Εκδηλώνεται με αύξηση των τριγλυκεριδίων, μείωση της HDL-C, αύξηση των υπολειμμάτων λιποπρωτεϊνών (κυρίως χυλομικρών και VLDL), αύξηση της apo-B, μικρά πυκνά σωματίδια LDL και μικρά σωματίδια HDL. Οι παραπάνω διαταραχές σχετίζονται ισχυρά με την ύπαρξη αντίστασης στην ινσουλίνη.
- *Υψηλή αρτηριακή πίεση*. Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης σχετίζεται ισχυρά με την παχυσαρκία και με την αντίσταση στην ινσουλίνη. Πολλοί ερευνητές ισχυρίζονται ότι η αρτηριακή πίεση διαφέρει από τους υπόλοιπους αμιγώς μεταβολικούς παράγοντες που απαρτίζουν το μεταβολικό σύνδρομο. Ωστόσο, οι περισσότεροι ειδικοί πιστεύουν ότι πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στα κριτήρια διάγνωσης.
- *Αντίσταση στην ινσουλίνη με ή χωρίς διαταραχή ανοχής της γλυκόζης*. Περισσότερο από 80% των ατόμων με ΜΣ έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη. Η τελευταία συσχετίζεται με άλλους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Τα άτομα με αντίσταση στην ινσουλίνη εμφανίζουν διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης (και αργότερα σακχαρώδους διαβήτη), όταν συνυπάρχει διαταραχή στην εκκριτική ικανότητα των β-κυττάρων.
- *Φλεγμονή*. Σύμφωνα με πρόσφατες παρατηρήσεις, το ΜΣ αποτελεί φλεγμονώδη κατάσταση. Τα άτομα με ΜΣ εμφανίζουν πολύ συχνά αύξηση της CRP. Η ενεργοποίηση των μηχανισμών της φλεγμονής πιστεύεται ότι πυροδοτείται από τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, οι οποίες παράγονται στον λιπώδη ιστό.
- *Διαταραχές πηκτικότητας*. Τα άτομα με ΜΣ εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα PAI-1 και ινωδογόνου. Η αύξηση του τελευταίου συσχετίζεται με την αύξηση στα επίπεδα των φλεγμονωδών κυτταροκινών. Κατ' αυτό τον τρόπο, η φλεγμονώδης και η προθρομβωτική κατάσταση που παρατηρούνται στο ΜΣ αλληλεπιδρούν.

Το ΜΣ αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας στο σύγχρονο κόσμο. Στα παιδιά, διαφορετικές μεταβολικές διαταραχές λαμβάνουν χώρα σε σχέση με τις αντίστοιχες των ενηλίκων, οπότε αυτά τα διαφορετικά κριτήρια του ΜΣ επιβεβαιώνουν την ύπαρξή του στην παιδική ηλικία.

Αρκετοί επιστημονικοί οργανισμοί έχουν επιχειρήσει να θεσπίσουν κριτήρια για τη διάγνωση του ΜΣ, μεταξύ των οποίων και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ), (Πίνακας 2Α). Ωστόσο, έχουν επικρατήσει τα αμερικανικά κριτήρια του NCEP-ATP III (National Cholesterol Education Programme–Adult Treatment Panel III), κυρίως λόγω της απλότητας τους (Πίνακας 2Β) (Cook, Weitzman, Auinger, Nguyen, & Dietz, 2003; Goodman, Daniels, Morrison, Huang, & Dolan, 2004; McCarthy, Jarrett, & Crawley, 2001; Weiss & Caprio, 2005).

Πίνακας 2: Κριτήρια διάγνωσης του μεταβολικού συνδρόμου. Α. Σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ και Β. Σύμφωνα με τον NCEP-ATP III.

A: Π.Ο.Υ	Σακχαρώδης διαβήτης
	Διαταραχή ανοχής γλυκόζης
	Διαταραχή γλυκόζης νηστείας
	Αντίσταση στην ινσουλίνη (προσδιοριζόμενη με ευγλυκαιμικό υπερινσουλιναϊκό clamp ¹ ή με το δείκτη HOMA ²)
	BMI > 30 Kg/m ² ή/και WHR ³ > 0.9 (άνδρες) > 0,85 (γυναίκες)
	Αρτηριακή πίεση ≥ 140 (συστολική) ή ≥90 (διαστολική) ή λήψη αντιυπερτασικής αγωγής
	Τριγλυκερίδια νηστείας ≥ 150 mg/dl
	HDL-C < 35 mg/dl (άνδρες) < 40 mg/dl (γυναίκες)
	Απέκκριση λευκωματίνης στα ούρα ≥ 20 μg/min ή η ηλικιακή λευκωματίνης/κρεατινίνης στα ούρα ≥ 30 mg/g
	B: NCEP-ATP III
Κεντρική παχυσαρκία > 102 cm (άνδρες) > 88 cm (γυναίκες)	
Τριγλυκερίδια ≥ 150 mg/dl	

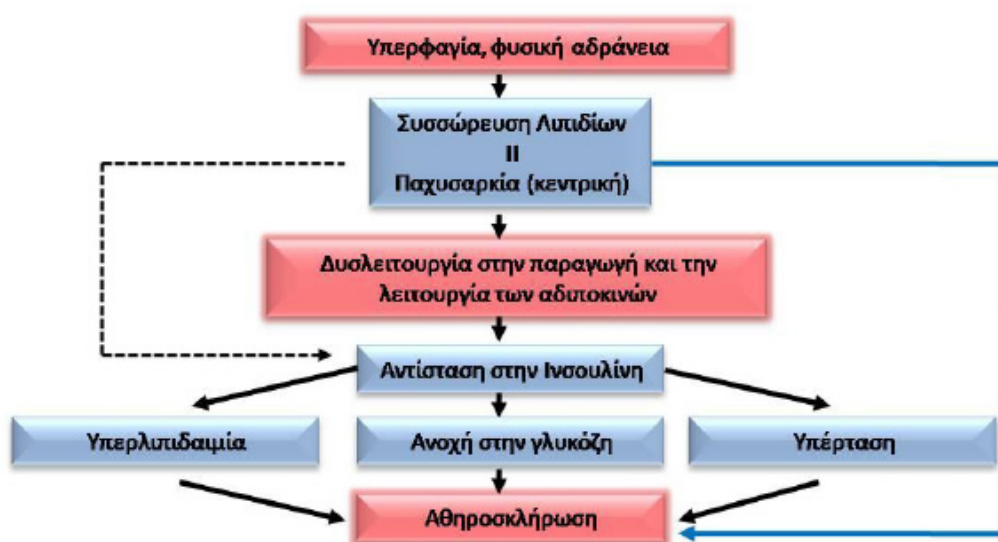
	HDL χοληστερόλη < 40 mg/dl (άνδρες) < 50 mg/dl (γυναίκες)
	Αρτηριακή πίεση ≥ 130 mmHg (συστολική) / ≥ 85 mmHg (διαστολική)
	Γλυκόζη πλάσματος νηστείας ≥ 110 mg/dl

¹Εξειδικευμένη και πολύπλοκη τεχνική προσδιορισμού αντίστασης στην ινσουλίνη υπό υπερινσουλιναϊμικές/ευγλυκαιμικές συνθήκες.

²Δείκτης HOMA (Homeostasis Model Assessment): Ινσουλίνη πλάσματος νηστείας (Μu/ml) x γλυκόζη πλάσματος νηστείας (mmol/dl) / 22,5.

³WHR (Waist to Hip Ratio): Πηλίκo περιφέρειας μέσης προς την περιφέρεια ισχίων.

Οι μεταβολικές αλλαγές, λοιπόν, όπως αύξηση της γλυκόζης, της αρτηριακής πίεσης και των τριγλυκεριδίων, αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς και μείωση της χοληστερόλης, σηματοδοτούν την απαρχή της παχυσαρκίας. Επομένως, είναι σημαντικό να αναγνωρίζονται τα συμπτώματα της παχυσαρκίας άμεσα, με σκοπό την αποτελεσματική πρόληψη και θεραπεία της (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Παθοφυσιολογία του μεταβολικού συνδρόμου.

3.4.4 Άλλες επιπτώσεις της παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία εκτός από τα παραπάνω, έχει σαν αποτέλεσμα και άλλες πολλές παθήσεις-ασθένειες, οι οποίες απλά θα αναφερθούν ονομαστικά, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, στεφανιαία νόσος, χρόνια νεφρική νόσος, υπέρταση, καρκίνος (ορμονοεξαρτώμενες μορφές, όπως καρκίνος του προστάτη, του ενδομητρίου, των ωοθηκών και του μαστού), πεπτιδικά προβλήματα (μη αλκοολική λιπώδης διήθηση, χολολιθίαση και διαταραχές της κινητικότητας του γαστρεντερικού συστήματος), διαταραχές του εμμηνορρυσιακού κύκλου (ανωοθυλακιόρρηξια και υπογονιμότητα), αναπνευστικά προβλήματα (σύνδρομο άπνοιας ύπνου και σύνδρομο παχυσαρκίας-κυψελιδικού υποαερισμού), μυοσκελετικά προβλήματα (δυσμορφίες οστών, οστεοαρθρίτιδα, σκολίωση, τραυματισμοί στην σπονδυλική στήλη) και ψυχολογικές διαταραχές (κατάθλιψη, άγχος).

3.5. Διαταραχή της ομοιόστασης της γλυκόζης

Φυσιολογικά, η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα κατά τις περιόδους νηστείας και μεταγευματικά διατηρείται σε στενό σχετικά εύρος ορίων μεταξύ 60-120 mg/dl. Με αυτές τις συγκεντρώσεις γλυκόζης, εξασφαλίζεται η σταθερή παροχή ενέργειας στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Το πόσο ζωτικός είναι για τον ανθρώπινο οργανισμό ο ρόλος της ομοιοστασίας της γλυκόζης μπορεί εύκολα να γίνει κατανοητό μέσω των παρακάτω δύο ακραίων παραδειγμάτων (Triplitt, 2012):

Παράδειγμα 1: Υπογλυκαιμία σε περιόδους νηστείας. Οι τιμές γλυκόζης μικρότερες από 40 mg/dl θα προκαλούσαν μη αντιστρεπτή βλάβη των κυττάρων του νευρικού ιστού.

Παράδειγμα 2: Μεταγευματική υπεργλυκαιμία. Η υπέρβαση των τιμών της γλυκόζης > 180 mg/dl θα υπερέβαινε το νεφρικό ουδό και θα οδηγούσε σε γλυκοζουρία.

Η ομοιοστασία της γλυκόζης εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ της παραγωγής γλυκόζης από το ήπαρ και της χρησιμοποίησής της, τόσο από ινσουλινοεξαρτώμενους ιστούς, όσο και από μη ινσουλινοεξαρτώμενους ιστούς, όπως ο εγκέφαλος και ο νεφρικός ιστός. Όλοι οι ιστοί καταναλώνουν γλυκόζη, όταν είναι διαθέσιμη, σαν πηγή ενέργειας, αλλά ορισμένοι απαιτούν αποκλειστικά γλυκόζη ή κετονικά σώματα. Οι γλυκόφιλοι ή γλυκοφάγοι ιστοί (εγκέφαλος, μυελώδης μοίρα νεφρών, ερυθρά αιμοσφαίρια, όρχεις) απαιτούν περίπου 160–

225g γλυκόζης ημερησίως. Η συγκέντρωση της κυκλοφορούσας γλυκόζης ευρίσκεται υπό τον έλεγχο των παγκρεατικών ορμονών, γλυκαγόνης και ινσουλίνης. Η ινσουλίνη είναι η βασική ρυθμιστική ορμόνη των τιμών της γλυκόζης σε φυσιολογικά εύρη. Η θαυμαστή ομοιοστασία μεταξύ της παραγωγής και της κατανάλωσης της γλυκόζης επιτυγχάνεται κυρίως μέσω των τριών μηχανισμών (Hers, 1990; Triplitt, 2012):

1. Την ικανότητα του παγκρέατος να εκκρίνει ινσουλίνη, τόσο οξέως, όσο και σε ένα συνεχιζόμενο ρυθμό.
2. Την ικανότητα της ινσουλίνης να αναστέλλει την έξοδο της ηπατικής γλυκόζης και να διευκολύνει την εναπόθεση της γλυκόζης στο ήπαρ (ευαισθησία ινσουλίνης).
3. Την ικανότητα της γλυκόζης να εισέρχεται στα κύτταρα, απουσία ινσουλίνης (ευαισθησία γλυκόζης ή αποτελεσματικότητα γλυκόζης).

Συνοπτικά, η μεταβολική τύχη της γλυκόζης στον ανθρώπινο οργανισμό κατά τη φάση του ενδιάμεσου μεταβολισμού των υδατανθράκων περιλαμβάνει τα εξής (Hers, 1990):

- *Γλυκογονεογένεση*. Βιοσύνθεση του γλυκογόνου από μονάδες γλυκόζης (UPD-γλυκόζη).
- *Γλυκογονόλυση*. Διάσπαση του γλυκογόνου, κυρίως με φωσφορόλυση, στις δομικές του μονάδες. Η γλυκόζη αποδίδεται σαν γλυκόζη-1-P.
- *Γλυκόλυση*. Κύρια μεταβολική οδός οξειδωσης της γλυκόζης στο κυτταρόπλασμα όλων των κυττάρων. Η φωσφορυλιωμένη γλυκόζη μετατρέπεται κυρίως σε πυροσταφυλικό, αποδίδοντας σχετικά μικρή ενέργεια. Η περαιτέρω οξειδωση όμως, του πυροσταφυλικού (αερόβιος γλυκόλυση) στο μιτοχόνδριο μέσω του κύκλου του Krebs και της αναπνευστικής αλυσίδας αποδίδει περισσότερη ενέργεια με τελικά προϊόντα, το CO₂ και H₂O.
- *Γλυκονεογένεση*. Ανασύσταση της γλυκόζης από γαλακτικό, γλυκερόλη, αμινοξέα και μεταβολίτες. Αποτελεί αξιόλογη μεταβολική οδό (ήπαρ και νεφρό) για την μερική κάλυψη των αναγκών σε γλυκόζη, όταν υπάρχει έλλειψή της, αλλά και σε αφθονία γαλακτικού. Γλυκόζη από γαλακτικό σχηματίζεται και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες διατροφής. Γλυκόζη από αμινοξέα και γλυκερόλη σχηματίζεται υπό ιδιαίτερες συνθήκες διατροφής, παθολογικές καταστάσεις, νηστεία κ.α.

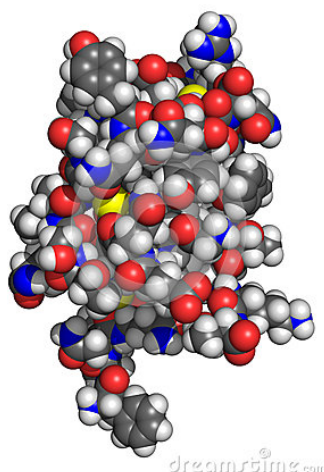
Ανάλογα με την πηγή προέλευσης της γλυκόζης του αίματος, η ομοιοστασία της μπορεί να διαιρεθεί σε πέντε φάσεις (Stumvoll et al., 2001):

- Η *πρώτη φάση* είναι η φάση της απορρόφησης της γλυκόζης, η οποία προέρχεται κυρίως από εξωγενείς υδατάνθρακες. Διαρκεί 3–4 ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης και χαρακτηρίζεται από αύξηση των συγκεντρώσεων της γλυκόζης και της ινσουλίνης και καταστολή της συγκέντρωσης του γλυκογόνου. Είναι η μόνη φάση που το ήπαρ χρησιμεύει σαν απλός χρήστης της γλυκόζης. Η περίσσεια γλυκόζης αποθηκεύεται σαν γλυκογόνο, στο ήπαρ και τους μύς, ή μετατρέπεται σε λιπίδια.
- Με το τέλος της φάσης απορρόφησης, 12 ώρες μετά τη λήψη γεύματος, οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης, της ινσουλίνης και του γλυκογόνου επιστρέφουν στις βασικές τιμές και το ήπαρ παράγει γλυκόζη με αναερόβιο γλυκόλυση από τις αποθήκες του γλυκογόνου. Προτεραιότητα στη χρήση της γλυκόζης έχει ο εγκέφαλος και ακολουθούν τα ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια του αίματος, καθώς και η μυελώδης μοίρα του νεφρού. Η οξείδωση της γλυκόζης στο μυϊκό και λιπώδη ιστό αναστέλλεται στο στάδιο της πυρουβικής δεϋδρογονάσης, προκαλώντας έτσι αυξημένη απελευθέρωση γαλακτικού, πυρουβικού και αλανίνης, που με τη σειρά τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη γλυκονεογένεση. Αυτή είναι η *δεύτερη φάση*, που χαρακτηρίζεται από προσαρμογή του οργανισμού, τέτοια ώστε, κατά τη διάρκεια της νηστείας να εξασφαλίζεται η διατήρηση των πρωτεϊνών, αλλά και η παροχή γλυκόζης στον εγκέφαλο. Αυτή η φάση διαρκεί μέχρι 12 ώρες.
- Μετά τη φάση της κατανάλωσης του αποθηκευμένου ηπατικού γλυκογόνου, αρχίζει πλέον η γλυκονεογένεση για να παραχθεί γλυκογόνο. Η παραγωγή ενέργειας μέσω της γλυκονεογένεσης χαρακτηρίζει την *τρίτη* και την *πρώιμη τέταρτη φάση*, που ξεκινάει από τις 12-48 ώρες μετά την αρχή της νηστείας και φτάνει σε ένα βασικό επίπεδο (plateau) γύρω στην 8^η ημέρα.
- Η παραγωγή κετονικών σωμάτων ωστόσο, σαν πηγή ενέργειας, αρχίζει στην *όψιμη τέταρτη* και *πέμπτη φάση*. Λόγω της έλλειψης έκκρισης ινσουλίνης στην τρίτη φάση, απελευθερώνονται από τους περιφερικούς ιστούς, πρόδρομες ουσίες της γλυκονεογένεσης. Τα παιδιά, λόγω της δυσαναλογίας του μεγέθους του εγκεφάλου τους και των ιστών (π.χ. μύς) που εφοδιάζουν το υπόστρωμα για γλυκονεογένεση, αλλά και οι κυοφορούσες (λόγω του ότι πρέπει να εφοδιάζουν με γλυκόζη και το έμβρυο), βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν υπογλυκαιμία στην τρίτη φάση της γλυκονεογένεσης. Σε προχωρημένη φάση νηστείας,

στην όψιμη τέταρτη και πέμπτη φάση, που τα ηπατικά αποθέματα γλυκογόνου για γλυκονογένεση εξαντλούνται, τότε πλέον τα κετονικά σώματα αναλαμβάνουν να παρέχουν ενέργεια στα εγκεφαλικά κύτταρα.

3.5.1 Η ινσουλίνη και η δράση της

Η ινσουλίνη είναι μία παγκρεατική ορμόνη που ρυθμίζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και δρα σαν αναβολική ορμόνη, αλλά και σαν αυξητικός παράγοντας, ιδιαίτερα στην ενδομήτρια ζωή και την πρώιμη νεογνική περίοδο. Ο αναβολικός ρόλος της ινσουλίνης εκφράζεται μέσω της ενεργοποίησης συστημάτων μεταφοράς και ενεργοποίησης ενζύμων που παρεμβαίνουν στην ενδοκυττάρια χρησιμοποίηση και αποθήκευση γλυκόζης, αμινοξέων και λιπαρών οξέων και μέσω της αναστολής διαδικασιών καταβολισμού του γλυκογόνου, λιπών και πρωτεϊνών (Lumeng, Deyoung, & Saltiel, 2007).



Εικόνα 6: Τρισδιάστατη απεικόνιση του μορίου της ινσουλίνης. Τα άτομα είναι χρωματισμένα με τη γνωστή σύμβαση. Μπλε: Άζωτο, Γκριζο: άνθρακας, Κόκκινο: Οξυγόνο, Λευκό: Υδρογόνο, Κίτρινο: Θείο.

Σε κυτταρικό επίπεδο οι δράσεις της ινσουλίνης, σε συνάρτηση με το χρόνο, ταξινομούνται σε τρεις ομάδες (Lumeng, Deyoung, et al., 2007):

1. Άμεση δράση της ινσουλίνης, που παρουσιάζεται σε δευτερόλεπτα από την προσθήκη της ορμόνης και σχετίζεται με την ενεργοποίηση της γλυκόζης και του συστήματος μεταφοράς ιόντων, καθώς και με την ομοιοπολική διαφοροποίηση (φωσφορυλίωση, αποφωσφορυλίωση) ενζύμων. Η φάση αυτή αντιπροσωπεύει την απελευθέρωση της ινσουλίνης που βρίσκεται αποθηκευμένη στα εκκριτικά κοκκία των β-κυττάρων του

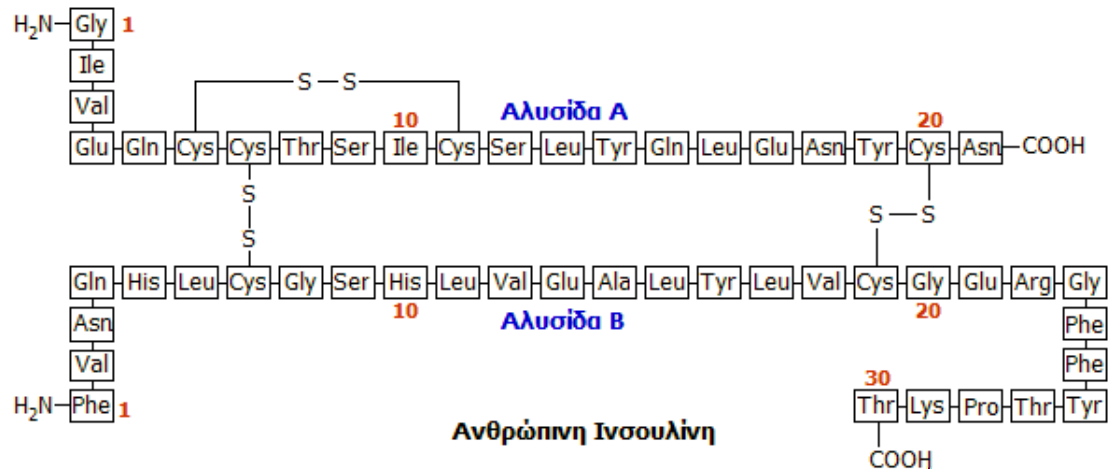
παγκρέατος. Σε μοριακό επίπεδο, η φάση αυτή φαίνεται να συνδέεται με απότομη κυτταροπλασματική αύξηση των ιόντων του Ca^{++} .

2. *Ενδιάμεση δράση της ινσουλίνης*, που σχετίζεται με την επαγωγή των γόνων και την έκφραση των πρωτεϊνών. Η δράση αυτή της ινσουλίνης παρουσιάζεται μετά από 5–60 λεπτά από την προσθήκη της ορμόνης, με το μέγιστο της δράσης να εκδηλώνεται μετά από 3–6 ώρες. Σε μοριακό επίπεδο, η φάση αυτή φαίνεται να συνδέεται με δραστηριοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης.

3. *Μακροπρόθεσμη δράση της ινσουλίνης*, που απαιτεί πολλές ώρες έως και αρκετές ημέρες για να εκδηλωθεί και σχετίζεται με την ενεργοποίηση της σύνθεσης του DNA, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της κυτταρικής διαφοροποίησης. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αυτή η διφασική έκκριση της ινσουλίνης με τη φάση της ταχείας ανόδου (α' φάση) και τη βραδεία φάση ανόδου (β' φάση), αφού ενδιάμεσα παρεμβληθεί ταχεία επάνοδος (εντός 5 λεπτών περίπου) στις βασικές τιμές, σε πολλούς ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II καταργείται, λόγω απουσίας της α' φάσης. Έχει παρατηρηθεί ότι σε παρατεταμένη έκθεση στο ερέθισμα της γλυκόζης, η ινσουλινική απάντηση μειώνεται, είτε λόγω εξουθένωσης των β-κυττάρων, είτε, πιθανότερα, λόγω της άμβλυνσης της ικανότητας αναγνώρισης του ερεθίσματος.

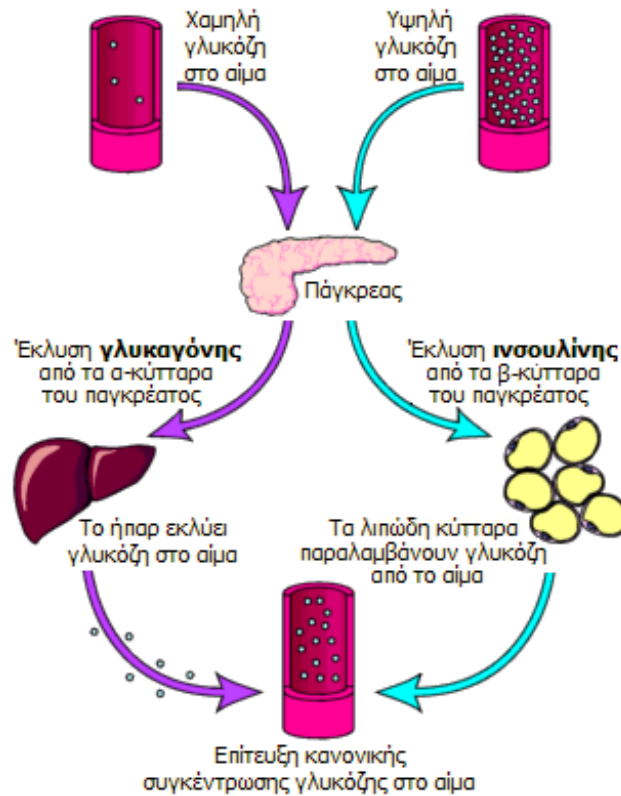
3.5.2 Βιοσύνθεση και έκκριση της ινσουλίνης

Η γενετική πληροφορία για τη σύνθεση της ινσουλίνης μέσα στα β-κύτταρα είναι κωδικοποιημένη αρχικά στο mRNA. Μέσα στα ριβοσώματα, το συγκεκριμένο mRNA μεταγράφεται σε ένα πολυπεπίδιο, την προ-προϊνσουλίνη. Αυτή με τη σειρά της μεταφέρεται γρήγορα μέσα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου η προ-προϊνσουλίνη ενζυματικά διαχωρίζεται σε προ-ινσουλίνη. Η προ-ινσουλίνη, περιέχει τις δύο αλυσίδες A και B που βρίσκονται αργότερα και στο μόριο της ινσουλίνης που συνδέονται με τη C αλυσίδα. Το μόριο αυτό της προ-ινσουλίνης διπλώνεται σε μια τρισδιάστατη δομή, με ένωση της A και B αλυσίδας με δύο δισουλφιδικές γέφυρες και με μία ακόμα δισουλφιδική γέφυρα, που ενώνει δύο αμινοξέα κυστεΐνης στην A αλυσίδα. Το μόριο αυτό ακολούθως, μεταφέρεται μέσα σε κυστίδια της συσκευής Golgi, όπου ενζυματικά αποσπάται η C αλυσίδα, δίνοντας έτσι, γένεση σε δύο μόρια, το C πεπίδιο και την ώριμη πλέον, ενεργή, ινσουλίνη (Fu, Gilbert, & Liu, 2012).



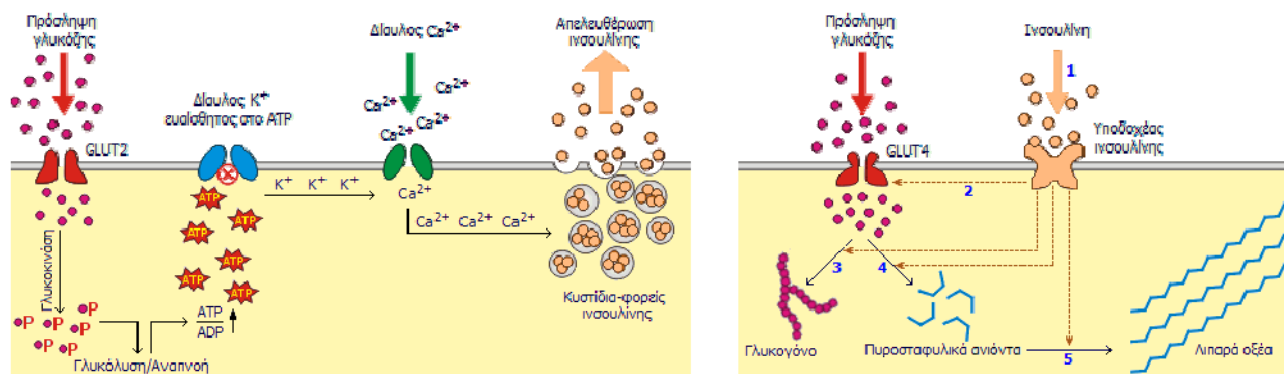
Εικόνα 7: Αμινοξική αλληλουχία της ανθρώπινης ινσουλίνης.

Η ινσουλίνη είναι ένα πολυπεπτιδίο, μοριακού βάρους περίπου 6 kDa, αποτελούμενη από 51 αμινοξέα, τα οποία είναι διατεταγμένα σε δύο αλυσίδες, την Α με 21 αμινοξέα και τη Β αλυσίδα με 30 αμινοξέα (Εικόνα 7). Η έκκριση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα ρυθμίζεται από έναν «ανιχνευτή» (sensor) γλυκόζης, που προφανώς βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των β-κυττάρων. Οι αυξομειώσεις των συγκεντρώσεων στο αίμα της γλυκόζης, των αμινοξέων και των λιπαρών οξέων, ευαισθητοποιούν ανάλογα τον «ανιχνευτή». Η έκλυση όμως, της ινσουλίνης τροποποιείται και από άλλες ορμόνες, την αδρεναλίνη, τη γλυκαγόνη, τη σωματοστατίνη, και σε μικρότερο βαθμό από τις ινκρετίνες. Η γλυκαγόνη, η αδρεναλίνη και σε μικρότερο ποσοστό άλλες ορμόνες, έχουν κυρίως αναβολική δράση, με σκοπό την αποτροπή και την προστασία από τυχόν υπογλυκαιμία. Η γλυκαγόνη δρα προάγοντας την παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ, ενώ η αδρεναλίνη παράγει το ίδιο αποτέλεσμα με παραγωγή γλυκόζης από τους μύς. Η σωματοστατίνη αναστέλλει την απελευθέρωση αυξητικής ορμόνης και την έκκριση ινσουλίνης και γλυκαγόνης (Fu et al., 2012).



Εικόνα 8: Βιολογικός ρόλος της ινσουλίνης.

Ο μηχανισμός έκκρισης της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος έχει ως εξής: Η γλυκόζη από το αίμα μεταφέρεται στο κύτταρο μέσω των μεταφορέων GLUT2. Η γλυκόζη υπόκειται σε γλυκολυτική φωσφορλίωση και εισέρχεται στον αναπνευστικό κύκλο, ενώ παράγεται ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη), στην οποία αποθηκεύεται «χημική ενέργεια» και αυξάνεται ο λόγος ATP/ADP στο κυτταρόπλασμα. Η αύξηση αυτή κλειδώνει τον δίαυλο ιόντων καλίου, αποπολώνοντας την κυτταρική μεμβράνη. Το γεγονός αυτό οδηγεί στη διάνοιξη του διαύλου ιόντων ασβεστίου, και στο κύτταρο εισέρχονται ιόντα ασβεστίου. Η αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου προκαλεί την εξωκυτταρική έκλυση ινσουλίνης από τα κυστίδια παρακαταθήκης της (Εικόνα 9, αριστερά). Στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ινσουλινοεξαρτώμενος ή νεανικός διαβήτης), ο μηχανισμός αυτός δεν υφίσταται, αφού τα β-κύτταρα ουσιαστικά έχουν «αυτοκατασταφεί» (Fu et al., 2012).



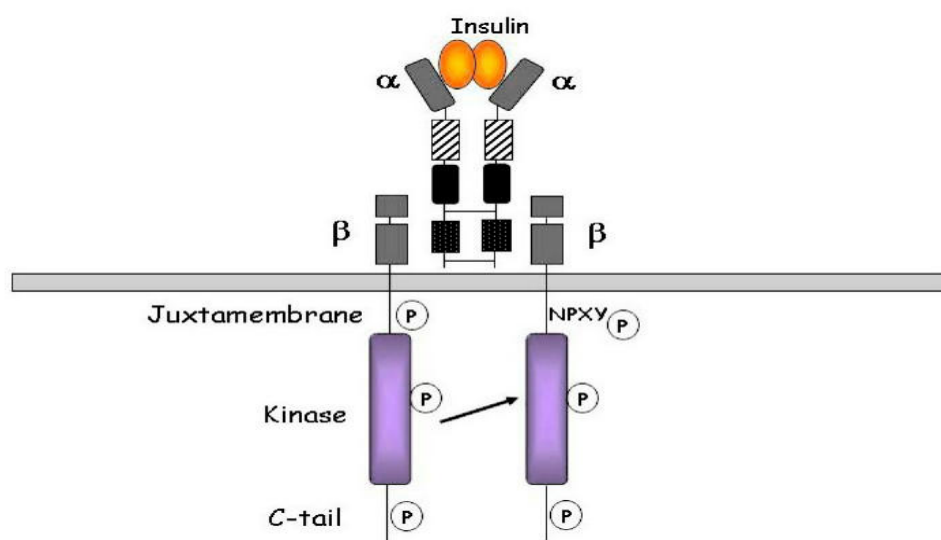
Εικόνα 9: Αριστερά: Μηχανισμός έκκρισης της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Δεξιά: Πρόσληψη γλυκόζης από μυϊκά κύτταρα και λιποκύτταρα και ο μεταβολισμός της.

Δεξιά της Εικόνας 8, περιγράφονται η πρόσληψη γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα και λιποκύτταρα και ο μεταβολισμός της. Μόλις, το μόριο της ινσουλίνης προσδεθεί στους υποδοχείς ινσουλίνης του κυττάρου (1), μέσω χημικών σημάτων από τον υποδοχέα ενεργοποιείται ο μεταφορέας γλυκόζης GLUT4, ο οποίος επιτρέπει την είσοδο γλυκόζης στο κυτταρόπλασμα. Ανάλογα με τη φύση του κυττάρου, ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί σύνθεσης γλυκογόνου (3) και γλυκόλυσης (4). Η εισερχόμενη γλυκόζη υπόκειται σε γλυκόλυση, δηλαδή διασπάται προς πυροσταφυλικά ανιόντα (4), και η εκλυόμενη ενέργεια αποθηκεύεται ως ATP. Στη συνέχεια, τα πυροσταφυλικά ανιόντα χρησιμοποιούνται για τη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων (5). Στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (μη ινσουλινεξαρτώμενος διαβήτης ενηλίκων), τα χημικά σήματα από τη δέσμευση της ινσουλίνης είναι ανεπαρκή και σε προχωρημένα στάδια δεν υφίσταται ούτε ο μηχανισμός παραγωγής της ινσουλίνης. Και στις δύο περιπτώσεις διαβήτη, παύει η πρόσληψη γλυκόζης από τα κύτταρα με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσής της στο αίμα (Fu et al., 2012).

3.5.3 Σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης

Ο υποδοχέας της ινσουλίνης (IR) είναι ένα διλειτουργικό ετεροτετραμερές σύμπλοκο, που αποτελείται από 2 εξωκυττάρειες υπομονάδες α, που προσδέουν την ινσουλίνη και 2 διαμεμβρανικές υπομονάδες β με δραστικότητα τυροσινικής κινάσης. Η σύνδεση της ινσουλίνης με την α υπομονάδα επάγει τη διαφωσφορυλίωση της μία β υπομονάδας, με αποτέλεσμα την αυξημένη καταλυτική δραστηριότητα της κινάσης (Watson, Kanzaki, & Pessin, 2004). Ο υποδοχέας επίσης υφίσταται αυτοφωσφορυλίωση στο άλλο τυροσινικό κατάλοιπο στις παραμεμβρανικές περιοχές και την ενδοκυττάρια ουρά. (εικόνα 10) Ο

ενεργοποιημένος υποδοχέας (IR) φωσφορυλιώνει στη συνέχεια τα κατάλοιπα τυροσίνης στις ενδοκυττάρειες περιοχές που περιλαμβάνουν τα υποστρώματα της οικογένειας του υποδοχέα της ινσουλίνης (IRS1 έως 4), IRS5 / DOK4, IRS / DOK5, Gab-1, Cbl, APS και Shc ισομορφές, και σηματοδοτούν ρυθμιστική πρωτεΐνη (SIRP) (Saltiel & Pessin, 2003). Ορισμένες από αυτές τις πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των IRS και Shc, προσλαμβάνονται σε μια παραμεμβρανική περιοχή του υποδοχέα που περιέχει ένα μοτίβο NPXY, ενώ άλλοι, όπως APS, δεσμεύονται απευθείας στο κύκλωμα ενεργοποίησης. Μετά την φωσφορυλίωση, αυτά τα υποστρώματα αλληλεπιδρούν με μία σειρά δραστικών μορίων ή μορίων-προσαρμογέα που περιέχουν Src πεδία ομολογίας 2 (SH2) και αναγνωρίζουν ειδικά διαφορετικά μοτίβα φωσφοτυροσίνης. Μεταξύ αυτών των υποστρωμάτων, η καλύτερα χαρακτηρισμένη είναι η οικογένεια των πρωτεϊνών IRS.



Εικόνα 10: Η ενεργοποίηση των υποδοχέων της ινσουλίνης. Ο υποδοχέας της ινσουλίνης αποτελείται από 2 εξωκυττάρειες υπομονάδες α που δεσμεύουν την ινσουλίνη και 2 διαμεμβρανικές β υπομονάδες με δραστικότητα κινάσης τυροσίνης. Σύνδεση της ινσουλίνης με την α υπομονάδα επάγει την διαφωσφορυλίωση μίας β υπομονάδας με αποτέλεσμα την αυξημένη καταλυτική δράση της κινάσης. Ο υποδοχέας υφίσταται επίσης αυτοφωσφορυλίωση σε άλλο τυροσινικό τμήμα στις παραμεμβρανικές περιοχές και την ενδοκυττάρια ουρά

Ακόμη και αν οι πρωτεΐνες IRS μοιράζονται υψηλό βαθμό ομολογίας, μελέτες σε ποντίκια knock-out και κυτταρικές γραμμές δείχνουν συγκεκριμένους ρόλους στην ινσουλίνη / ινσουλίνη αυξητικός παράγοντας (IGF) -1. Τα IRS-1 knock-out ποντίκια παρουσιάζουν καθυστερημένη ανάπτυξη και δε φαίνεται να αναπτύσσουν διαβήτη, αλλά εμφανίζουν αντίσταση στην ινσουλίνη στους περιφερικούς ιστούς και παθολογική ανοχή γλυκόζης (Tamemoto et al., 1994). Τα IRS-2 knock-out ποντίκια εμφανίζουν αντίσταση στην ινσουλίνη τόσο στους

περιφερικούς ιστούς και όσο και το ήπαρ και αναπτύσσουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη, μαζί με τη μειωμένη λειτουργία των β-κυττάρων (Withers et al., 1998).

Η διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από την ινσουλίνη διαμεσολαβείται από τη φωσφατιδυλινοσιτολική (PI) κινάση-3. Μετά τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης, οι IRS πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με τη p85 ρυθμιστική υπομονάδα της PI3-κινάσης, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ενζύμου και τη δημιουργία του phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP₃), που ρυθμίζει τον εντοπισμό και τη δραστηριότητα πολυάριθμων πρωτεϊνών (Shepherd, 2005).

Η PI3-κινάση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόσληψη της γλυκόζης και τη μετατόπιση του GLUT4. Η αναστολή του ενζύμου με φαρμακευτικούς αναστολείς εμποδίζει τελείως τη διέγερση της πρόσληψης γλυκόζης από την ινσουλίνη (Okada, Kawano, Sakakibara, Hazeki, & Ui, 1994). Επιπλέον, η υπερέκφραση των κυρίαρχων μορφών της PI3-κινάσης μπορεί να εμποδίσει την πρόσληψη γλυκόζης και τη μετατόπιση του GLUT4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, και η υπερέκφραση ιδιοσυστατικά ενεργών μορφών μπορεί εν μέρει να μιμηθεί τη δράση της ινσουλίνης (Martin et al., 1996; Sharma et al., 1998). Στοχευμένη διαγραφή της p85 ρυθμιστικής υπομονάδας της PI3 κινάσης σε ποντικούς οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη. Αντιστρόφως, γενετική σίγαση της υπομονάδας έχει ως αποτέλεσμα την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη δυσανεξία στη γλυκόζη (Brachmann, Ueki, Engelman, Kahn, & Cantley, 2005). Συλλογικά, οι μελέτες αυτές αποδεικνύουν ότι η PI 3-κινάση είναι απαραίτητη για τη μεταφορά της γλυκόζης που διεγείρεται από την ινσουλίνη.

Η ενεργοποίηση του PIP₃ από την ινσουλίνη έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση διαφόρων πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων κάποιων ενζύμων και των υποστρωμάτων τους, μορίων με δράση προσαρμογέα, και πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού. Μεταξύ αυτών είναι η Ser/Thr PDK1 κινάση, η οποία φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί αρκετές κινάσες, συμπεριλαμβανομένων τις Akt1 έως 3. Η PIP₃ φαίνεται να μεσολαβεί στην μετάθεση της Akt στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, μέσω της PH περιοχής (Corvera & Czech, 1998). Επιπλέον, η πρωτεϊνική κινάση mTOR (mammalian target of rapamycin), έχει πρόσφατα ταυτοποιηθεί ως PDK2 (phosphoinositide-dependent kinase 2), η οποία φωσφορυλιώνει την Ser⁴⁷³ περιοχή στην Akt (Sarbasov, Guertin, Ali, & Sabatini, 2005). Η υπερέκφραση, σε λιποκύτταρα, μίας δεσμευμένης στην κυτταροπλασματική μεμβράνη μορφή της Akt οδήγησε σε μετατόπιση του GLUT4 στη μεμβράνη και αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης (Kohn et al., 1998).

Μελέτες σε knockout ποντίκια όπως επίσης και σε λιποκύτταρα έχουν δείξει ότι η μείωση μόνο της Akt1 δεν αλλοιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη, ενώ η μείωση των επιπέδων της Akt2 μειώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη διαθεσιμότητα της γλυκόζης. Επιπλέον, ο μεταβολικός φαινότυπος ήταν πιο έντονος όταν αμφότερα τα επίπεδα των πρωτεϊνών Akt1 και Akt2 μειώθηκαν, υποδηλώνοντας ότι και οι δύο απαιτούνται για τη σηματοδότηση της ινσουλίνης (Cho et al., 2001).

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ένα ξεχωριστό μονοπάτι σηματοδότησης της ινσουλίνης, στο οποίο η ενεργοποίηση του υποδοχέα ινσουλίνης διεγείρει τη φωσφορυλίωση των πρωτοογκογονιδίων c-Cbl και Cbl-b. Αυτό το βήμα φωσφορυλίωσης απαιτεί την πρόσληψη του Cbl από την πρωτεΐνη προσαρμογέα APS (Baumann et al., 2000). Το APS υπάρχει σαν ένα προσχηματισμένο ομοδιμερές και προσδένεται σε μία β-υπομονάδα του υποδοχέα, έτσι ώστε ένας υποδοχέας να στρατολογεί 2 μόρια APS. Κατά τη σύνδεση με τον υποδοχέα, το APS φωσφορυλιώνεται με αποτέλεσμα την πρόσληψη του Cbl και την επακόλουθη φωσφορυλίωσή του. Η Cbl associated protein (CAP) προσλαμβάνεται από το CBL και συνδέεται με τον υποδοχέα της ινσουλίνης διαμέσου του APS συμπλόκου (J. Liu, Kimura, Baumann, & Saltiel, 2002). Το CAP είναι μια διλειειτουργική πρωτεΐνη προσαρμογέας και η έκφραση της συσχετίζεται με την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Η πρωτεΐνη βρίσκεται κυρίως σε ευαίσθητους στην ινσουλίνη ιστούς, και η έκφραση της είναι αυξημένη μετά την ενεργοποίηση του πυρηνικού υποδοχέα PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ).

3.5.4 Αποδόμηση της ινσουλίνης

Όπως οι περισσότερες ορμόνες-πεπτιδία, η ινσουλίνη κυκλοφορεί στο αίμα σαν ελεύθερη μονομερής ορμόνη, χωρίς δηλαδή να είναι συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Ο όγκος κατανομής πλησιάζει τον όγκο του εξωκυττάριου υγρού, παρόλο που η συγκέντρωση της ινσουλίνης στη λέμφο και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι χαμηλότερη απ' ότι στο αίμα. Υπό βασικές συνθήκες το πάγκρεας εκκρίνει 1 mg ινσουλίνης ημερησίως ή 40 μ g ανά μία ώρα, μέσα στη πυλαία φλέβα, εξασφαλίζοντας έτσι μία συγκέντρωση ινσουλίνης μέσα στο αίμα της πυλαίας της τάξεως των 2-4 ng/ml, συνεπώς με συγκέντρωση στην περιφέρεια περίπου 0.5 ng/ml. Μετά τη λήψη γεύματος, επέρχεται μία γρήγορη αύξηση στην ινσουλίνη της πυλαίας, που ακολουθείται από μία παράλληλη, αλλά μικρότερη αύξηση της ινσουλίνης στην περιφέρεια (Duckworth, Bennett, & Hamel, 1998).

Σε μη διαβητικούς, αλλά και σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη, που δεν συνοδεύεται από επιπλοκές, η ημιζωή στο πλάσμα της ινσουλίνης, η οποία ενίεται ενδοφλέβια είναι περίπου 5–6 λεπτά. Σε ασθενείς που έχουν αναπτύξει αντι-ινσουλινικά αντισώματα, η ημιζωή στο πλάσμα της ινσουλίνης μπορεί να είναι αυξημένη. Παρόλο που η προΐνσουλίνη, που περιέχεται στο πάγκρεας και το ποσό που εκκρίνεται αποτελεί μόνο το 1–3% εκείνου της ινσουλίνης, η προΐνσουλίνη έχει μακρύτερη ημιζωή (περίπου 17 λεπτά), και ως εκ τούτου μπορεί να αντιστοιχεί στο 10–25% της ανοσοαντιδρώσας ινσουλίνης στο πλάσμα. Σε ασθενείς με ινσουλίνωμα, το ποσοστό της προΐνσουλίνης στην κυκλοφορία συνήθως είναι αυξημένο, και μπορεί να φτάνει ακόμα και στο 80%. Επειδή, η προΐνσουλίνη παρουσιάζει μόνο το 2–3% περίπου της ενδογενούς βιοδραστηριότητας της ινσουλίνης, η βιολογικά δραστική συγκέντρωση της ινσουλίνης είναι κατά τι χαμηλότερη από εκείνη που εκτιμάται με ανοσοτεχνικές. Το C πεπτιδίο, το οποίο εκκρίνεται σε ίσες ποσότητες με την ινσουλίνη, έχει επίσης υψηλότερη μοριακή συγκέντρωση στο πλάσμα, εξαιτίας της σημαντικά πιο παρατεταμένης ημιζωής του (περίπου 30 λεπτά). Τα επίπεδα του C πεπτιδίου είναι επίσης αυξημένα σε ασθενείς με όγκους που εκκρίνουν ινσουλίνη (Duckworth et al., 1998).

Τα βασικά σημεία αποδόμησης της ινσουλίνης είναι το *ήπαρ*, οι *νεφροί* και οι *μύες*. Περίπου το 50% της ινσουλίνης, που φτάνει μέσω της πυλαίας φλέβας στο ήπαρ συλλαμβάνεται σε ένα μόνο πέρασμα, χωρίς να μπει ποτέ στη γενική κυκλοφορία. Η ινσουλίνη φιλτράρεται από τα νεφρικά σπειράματα και επαναρροφάται από τα σωληνάρια, που την αποδομούν επίσης. Σοβαρή ανεπάρκεια της νεφρικής λειτουργίας φαίνεται να επηρεάζει σε μεγαλύτερη έκταση το βαθμό εξαφάνισης της κυκλοφορούσας ινσουλίνης, απ' ό,τι η ηπατική νόσος. Αυτό μπορεί εύκολα να γίνει κατανοητό, αν λάβουμε υπόψη το γεγονός ότι το ήπαρ αποδομεί το 60–80% της εκκρινόμενης από τα β-κύτταρα ινσουλίνης. Η πρωτεολυτική αποδόμηση της ινσουλίνης στο ήπαρ εμφανίζεται τόσο στην κυτταρική επιφάνεια, όσο και μετά την εσωτερικοποίηση της ινσουλίνης με τον υποδοχέα της. Ο βαθμός που η εσωτερικοποιημένη ινσουλίνη αποδομείται από το κύτταρο ποικίλλει σημαντικά, και εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο. Στα ηπατοκύτταρα, περισσότερα από το 50% της εσωτερικοποιημένης ινσουλίνης αποδομείται, ενώ στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η περισσότερη από την εσωτερικοποιημένη ινσουλίνη απελευθερώνεται ακέραιη (Duckworth et al., 1998).

Περιληπτικά τα αποτελέσματα της δράσης της ινσουλίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης, των αμινοξέων και των λιπιδίων συνοψίζονται στα εξής (Duckworth et al., 1998):

- Στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Η ινσουλίνη αυξάνει τη μετατροπή της γλυκόζης στο ήπαρ, διευκολύνει την πρόσληψη και την χρησιμοποίησή της από το μυϊκό και λιπώδη ιστό και αναστέλλει την παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ από τα λίπη και τις πρωτεΐνες.
- Στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών. Η ινσουλίνη αυξάνει την πρωτεϊνοσύνθεση, ιδιαίτερα στο μυϊκό ιστό, και αναστέλλει την αποδόμηση των πρωτεϊνών.
- Στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Η ινσουλίνη αυξάνει τη σύνθεση των λιπιδίων και αναστέλλει την αποδόμησή τους και την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό.

Είναι εύκολο επομένως να γίνει αντιληπτό, τι συμβαίνει σε ένδεια ή παντελή έλλειψη ινσουλίνης, όπως στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου I. Η γλυκόζη που προσλαμβάνεται από τις τροφές δεν μπορεί να αποθηκευθεί σαν γλυκογόνο στο ήπαρ ή να προσληφθεί από τα μυϊκά και λιπώδη κύτταρα. Η πλέον έκδηλη συνέπεια των ανωτέρω, είναι η υπεργλυκαιμία, που επιδεινώνεται με την πρόσληψη τροφής. Εφόσον, η γλυκόζη δε μπορεί να χρησιμεύσει σαν πηγή ενέργειας, χρησιμοποιούνται άλλες πηγές ενέργειας. Σε ένδεια της γλυκόζης, ο οργανισμός προχωράει σε αποδόμηση των λιποσποθηκών και δομικών πρωτεϊνών, προκειμένου να εξασφαλιστεί η απαιτούμενη ενέργεια, δημιουργώντας όμως, σοβαρές μεταβολικές διαταραχές που οδηγούν σε οξέωση, κέτωση και σοβαρή απώλεια ύδατος και άλατος (Duckworth et al., 1998).

Ελλείμματα στη δράση της ινσουλίνης στο διαβήτη είναι κοινό χαρακτηριστικό για τις περισσότερες μορφές του, και κατέχουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεια του διαβήτη τύπου II. Το που ακριβώς στον καταρράκτη της δράσης της ινσουλίνης εμφανίζονται αυτά τα ελλείμματα, δεν είναι γνωστό, αλλά ανωμαλίες έχουν περιγραφεί σε πολλά διαφορετικά στάδια, όπως στη σύνδεση στον υποδοχέα της ινσουλίνης, την ενεργοποίηση της κινάσης, την ενεργοποίηση της συνθετάσης του γλυκογόνου και τη μετατόπιση του μεταφορέα γλυκόζης (Duckworth et al., 1998).

Επομένως η θεραπευτική χορήγηση ινσουλίνης μπορεί να αφορά και στους δύο τύπους διαβήτη. Θα πρέπει να υπογραμμιστεί, ότι στους ασθενείς με τύπου II διαβήτη, και πριν τη μετάταξή τους σε ινσουλινοθεραπεία, θα πρέπει να έχουν εξαντληθεί τα περιθώρια τήρησης της σωστής διαιτητικής αγωγής και της μέγιστης δοσολογίας των αντιδιαβητικών δισκίων, καθώς επίσης θα πρέπει να έχει αποκλεισθεί το ενδεχόμενο κάποιας υποβόσκουσας λοίμωξης ή άλλης αιτίας που

απορυθμίζει το μεταβολισμό της γλυκόζης. Αντικειμενική επιβεβαίωση της έλλειψης ανταπόκρισης στα δισκία αποτελεί η απουσία έκκρισης ή και η «νωθρή» ανταπόκριση του C πεπτιδίου μετά από συνδυασμένη ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης και γλιβενκλαμίδης ή γλυκαγόνης (Duckworth et al., 1998).

3.5.5 Αντίσταση στην ινσουλίνη στο ήπαρ

Το ήπαρ παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και αποτελεί τον πρωταρχικό στόχο της ινσουλίνης. Όταν αυξάνεται η γλυκόζη στον οργανισμό, τα β-κύτταρα του παγκρέατος εκκρίνουν ινσουλίνη, η οποία ταξιδεύει απευθείας στο ήπαρ, όπου ενώνεται με τον υποδοχέα της και ενεργοποιεί δύο δράσεις (Lewis, Uffelman, Szeto, & Steiner, 1993; Matsumoto, Han, Kitamura, & Accili, 2006; Naimi et al., 2007) στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής:

- Πρώτον, η ινσουλίνη ενεργοποιεί τη φωσφορυλίωση του FoxO1, εμποδίζοντας το να εισέλθει στον πυρήνα και μειώνοντας την έκφραση των απαιτούμενων γονιδίων για τη γλυκονεογένεση, κυρίως της φωσφοενολπυροσταφυλικής καρβοξυ-κινάσης και της γλυκόζο-6-φωσφατάσης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μειωμένη παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ.
- Δεύτερον, η ινσουλίνη ενεργοποιεί το μεταγραφικό παράγοντα SREBP-1c (Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c), ο οποίος με τη σειρά του αυξάνει τη μεταγραφή των γονιδίων που είναι απαραίτητα για τη βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων (TG), ειδικά της ATP-κιτρικής λυάσης, της ακετυλο-συνενζύμου-A και της συνθετάσης των λιπαρών οξέων, τα οποία σε συνδυασμό, προάγουν τη διαδικασία της *de novo* λιπογένεσης (DNL). Τα τριγλυκερίδια που παράγονται από τη DNL συνδέονται με την απολιποπρωτεΐνη Β, και εξάγονται για αποθήκευση ως πολύ χαμηλού μοριακού βάρους λιποπρωτεΐνες (VLDL). Οι VLD λιποπρωτεΐνες μπορούν στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν και να ενεργοποιήσουν την πρωτεϊνική λιπάση (LPL) στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων στο λιπώδη ή το μυϊκό ιστό (Lewis et al., 1993).

Για λόγους που παραμένουν αδιευκρίνιστοι, οι ασθενείς με αντίσταση στην ινσουλίνη, τυπικά έχουν εκλεκτική ή μεμονωμένη ηπατική αντίσταση στην ινσουλίνη. Αυτό συμβαίνει, διότι έχουν διαταραγμένη ινσουλινο-διαμεσολαβούμενη ομοιόσταση της γλυκόζης (FOX1 μονοπάτι), αλλά αυξημένη ινσουλινο-διαμεσολαβούμενη ηπατική λιπονεογένεση (SREBP-1c μονοπάτι) (Brown & Goldstein, 2008). Η αύξηση της ροής των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA)

διαμέσου του ήπατος διαταράσσει την ηπατική δράση της ινσουλίνης, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής γλυκόζης από το ήπαρ, σύνθεση προφλεγμονωδών κυτοκινών, περίσσεια τριγλυκεριδίων και χαμηλή έκκριση HDL-χοληστερόλης από το ήπαρ (Ginsberg, Zhang, & Hernandez-Ono, 2005). Αυτή η ενδοηπατική συσσώρευση ελεύθερων λιπαρών οξέων και λιπιδίων είναι επίσης καταστροφική για την ηπατική ευαισθησία στην ινσουλίνη, γιατί οδηγεί στη δημιουργία τοξικών μεταβολιτών, που προέρχονται από τα λιπίδια και μειώνουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης (Samuel, Petersen, & Shulman, 2010).

3.5.6 Αντίσταση στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες

Η ινσουλινοαντίσταση στο μυϊκό ιστό γυναικών με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών (ΣΠΩ) έχει αποδοθεί εν μέρει στην αναστολή της τυροσινικής φωσφορυλίωσης του ινσουλινικού υποδοχέα, λόγω αυξημένης σερινικής φωσφορυλίωσης. Μελέτες *in vivo* έδειξαν σημαντική ελάττωση της ινσουλινοεξαρτώμενης μεταφοράς γλυκόζης και ελάττωση της ινσουλινοεξαρτώμενης δραστηριότητας της PI3K (phosphatidylinositol 3-Kinase) σχετικής με το IRS-1 (Insulin Receptor Substrate-1). Εντούτοις, αυτές οι *in vivo* μελέτες δεν ανέδειξαν διαταραχές στο ενδοκυττάριο μονοπάτι της ινσουλίνης, τουλάχιστον στο εγγύς τμήμα που περιλαμβάνει τον υποδοχέα, τα IRS-1/2 και την PI3K (DeFronzo & Tripathy, 2009).

Σε καλλιέργειες σκελετικών μυοκυττάρων από γυναίκες με ΣΠΩ βρέθηκε αυξημένη φωσφορυλίωση του IRS-1 στη σερίνη 312, μεταβολή που πιθανόν ενέχεται στην αναστολή της τυροσινικής φωσφορυλίωσης του μορίου, η οποία είναι απαραίτητη για τη μεταγωγή του ενδοκυττάρου μηνύματος της ινσουλίνης. Επιπλέον, σε μυοκύτταρα γυναικών με ΣΠΩ, η αυξημένη φωσφορυλίωση του IRS-1 στη σερίνη 312 έχει συσχετισθεί με αυξημένη δραστηριότητα της ERK1/2 (Extracellular Regulated Kinase 1/2) στην ενδοκυττάρια οδό, που ελέγχει τη μιτογόνο δράση της ινσουλίνης (DeFronzo & Tripathy, 2009).

3.5.7 Αντίσταση στην ινσουλίνη στο λιπώδη ιστό

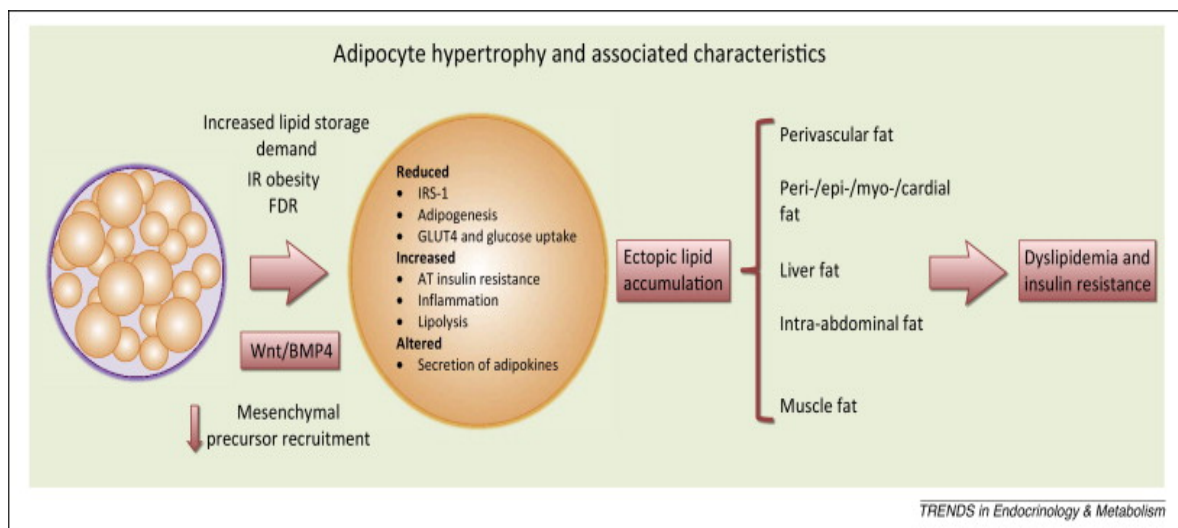
Ο υποδόριος λιπώδης ιστός (Subcutaneous adipose tissue-SAT) είναι η μεγαλύτερη αποθήκη λιπώδους ιστού στους ανθρώπους και επίσης η προτιμώμενη τοποθεσία για την αποθήκευση της περίσσειας του λίπους. Ωστόσο, έχει περιορισμένη δυνατότητα να επεκτείνεται και, όταν γίνεται υπέρβαση της αποθηκευτικής του ικανότητας, το λίπος αποθηκεύεται σε άλλες, περισσότερο επιβλαβείς μεταβολικά, έκτοπες αποθήκες λιπιδίων, όπως η ενδο-κοιλιακή /

σπλαχνική χώρα, το συκώτι, το μυοκάρδιο, η επί / περικαρδιακή και περιαγγειακή περιοχή, και οι σκελετικοί μύες. Η σημασία της ασφαλούς επέκτασης του SAT σε περίσσεια λιπιδίων έχει αποδειχθεί με σαφήνεια σε διάφορα γενετικά τροποποιημένα ζωικά μοντέλα. Για παράδειγμα, η υπερέκφραση της αντιπονεκτίνης στο λιπώδη ιστό ποντικών οδηγεί σε βαθειά υποδόρια παχυσαρκία, αλλά με υπερπλαστικό «υγιή» λιπώδη ιστό, με αποτέλεσμα τα ποντίκια να είναι εξίσου ευαίσθητα στην ινσουλίνη, όπως τα λεπτόσωμα νεογνά τους (J. Y. Kim et al., 2007). Ομοίως, η αναστολή της ανάπτυξης του λιπώδους ιστού σε λιποατροφικά ή λιποδυστροφικά ζωικά μοντέλα οδηγεί σε σημαντική αντίσταση στην ινσουλίνη, έκτοπη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ, και μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη όπως στους ανθρώπους με λιποατροφικό / λιποδυστροφικό διαβήτη (Reitman, Arioglu, Gavrilova, & Taylor, 2000).

Η ικανότητα του ατόμου να επεκτείνει το SAT καθορίζεται τόσο γενετικά όσο και από παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής του στην προεφηβική περίοδο (Spalding et al., 2008). Προς το παρόν, αυτό μπορεί να προσδιοριστεί μόνο έμμεσα, για παράδειγμα, το μέγεθος του κυττάρου του SAT σε σχέση με το ποσοστό λίπους στο σώμα, το δείκτη μάζας σώματος (BMI) ή/και τη συσσώρευση έκτοπου λίπους. Σε αντίθεση με τα αρσενικά, τα θηλυκά φαίνεται να διατηρούν την ικανότητα να προσλαμβάνουν νέα κύτταρα στην περιοχή των μηρών και των γλουτών κατά την ενηλικίωση, γεγονός που είναι σύμφωνο με την μειωμένη συσσώρευση έκτοπου σπλαχνικού λίπους σε παχύσαρκες γυναίκες σε σύγκριση με παχύσαρκους άνδρες (Virtue & Vidal-Puig, 2010).

Η συσχέτιση μεταξύ του αυξημένου σπλαχνικού λίπους, των μεταβολικών επιπλοκών της παχυσαρκίας, και του κινδύνου ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη και καρδιαγγειακής νόσου είναι καλά εδραιωμένη (Despres & Lemieux, 2006; Fox, Despres, Richard, Brette, & Deanfield, 2009). Υπάρχει επίσης μια στενή συσχέτιση μεταξύ των ποσοστών λίπους που συσσωρεύονται στις ποικίλες έκτοπες αποθήκες, υποδεικνύοντας ότι όλες χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση της περίσσειας του λίπους όταν ο SAT δεν είναι σε θέση να αποθηκεύσει περισσότερο (Graner et al., 2013). Αυτός ο διαχωρισμός σε πολλαπλά διαμερίσματα του έκτοπου λιπώδους ιστού ενισχύει τις δυσμενείς μεταβολικές συνέπειες που σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, και εκδηλώνονται στο Μεταβολικό σύνδρομο, όπως για παράδειγμα, την αύξηση της VLDL χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων (TG) και τη μείωση της HDL χοληστερόλης (Boren, Taskinen, Olofsson, & Levin, 2013). Συνεπώς η ποσότητα του έκτοπου λιπώδους ιστού, παρά η ποσότητα του SAT συσχετίζεται με τις μεταβολικές επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένου του βαθμού αντίστασης στην ινσουλίνη και το μελλοντικό κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔ II σε παχύσαρκα άτομα (Neeland et al., 2012).

Η ικανότητα του SAT να φιλοξενήσει περίσσεια λίπους ρυθμίζεται από την ικανότητα των ήδη υπάρχοντων λιποκυττάρων να επεκταθούν (υπερτροφία) ή / και να οδηγήσουν πρόδρομες μορφές κυττάρων σε αδιπογονική διαφοροποίηση (υπερπλασία). Μεγάλες κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η αύξηση του μεγέθους των λιποκυττάρων περιορίζεται σε ένα ανώτερο μέγιστο μέγεθος και ότι η υπερτροφική και όχι η υπερπλαστική παχυσαρκία σχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη δυσλιπιδαιμία. Αδυναμία του λιπώδους ιστού να προσλάβει νέα πρόδρομα λιποκύτταρα (τόσο μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα όσο και δεσμευμένα προλιποκύτταρα) κατά τη διάρκεια του θερμιδικού πλεονάσματος οδηγεί σε μία ακατάλληλη διεύρυνση των ήδη διαθέσιμων λιποκυττάρων και επαγωγή των σχετικών αρνητικών μεταβολικών συνεπειών.



Εικόνα 11: Χαρακτηριστικά της υπερτροφίας των λιποκυττάρων. Η επέκταση των λιποκυττάρων με μη σωστή λειτουργία του υποδόριου λιπώδους ιστού (SAT) προωθεί την έκτοπη συσσώρευση λίπους και το μεταβολικό σύνδρομο.

Πολλές μελέτες, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζωικά μοντέλα, έχουν δείξει ότι η επέκταση των υπερτροφικών λιποκυττάρων του SAT οδηγεί σε μια δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού που σχετίζεται με την αυξημένη ίνωση του ιστού, τη διήθηση και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και των φλεγμονωδών κυττάρων, την αυξημένη λιπόλυση, την τοπική και συστηματική αντίσταση στην ινσουλίνη, και τη διαταραγμένη έκκριση αντιπονεκτίνης (Gustafson et al., 2009). Η περιμετρος μέσης, ένας καλά καθιερωμένος δείκτης της συσσώρευσης έκτοπου σπλαχνικού λίπους και του μελλοντικού κινδύνου

ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2 (Despres & Lemieux, 2006; Neeland et al., 2012), επίσης συσχετίζεται θετικά με το μέγεθος των λιποκυττάρων του SAT.

Σε μια λεπτομερή μελέτη παχύσαρκων ατόμων με και χωρίς αντίσταση στην ινσουλίνη, (Kloting et al., 2010) ανεδείχθη ότι η ινσουλίνο-ευαίσθητη παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από μικρότερα λιποκύτταρα, υψηλότερη έκκριση αντιγονεκτίνης, που αποτελεί δείκτη διαφοροποίησης των λιποκυττάρων, μειωμένη φλεγμονή του λιπώδους ιστού και μειωμένο αριθμό διηθητικών μακροφάγων. Ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης της ευαισθησίας στην ινσουλίνη ήταν ο συνδυασμός της κυκλοφορούσας αντιγονεκτίνης και των μακροφάγων που έχουν διεισδύσει στο λιπώδη ιστό (Kloting et al., 2010).

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η ικανότητα του λιπώδους ιστού να ρυθμίζει την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε ολόκληρο το σώμα δεν είναι συνέπεια της ικανότητάς του να προσλαμβάνει τη γλυκόζη έπειτα από τη διέγερση της ινσουλίνης, καθώς αυτό αντιπροσωπεύει μόνο το 10% περίπου του φορτίου της γλυκόζης (Virtanen et al., 2002). Ωστόσο, η πρόσληψη της γλυκόζης και ο μεταβολισμός της είναι ζωτικής σημασίας για τη φυσιολογική λειτουργία του λιπώδους ιστού. Η γενετική διαγραφή του ινσουλίνο-επαγόμενου μεταφορέα της γλυκόζης GLUT4 από τον λιπώδη ιστό έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη σε ολόκληρο το σώμα σε ποντίκια, όπως συμβαίνει και στη διαγραφή του GLUT4 από το σκελετικό μυ, που είναι ο υπεύθυνος ιστός για τη μεγαλύτερη ινσουλινοεξαρτώμενη πρόσληψη γλυκόζης (Abel et al., 2001).

Είναι ενδιαφέρον, ότι νέοι μη παχύσαρκοι, με ταυτοποιημένο γονότυπο για κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη, χαρακτηρίζονται επίσης από μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη, μικρότερη ποσότητα υποδόριου λιπώδους ιστού, και δείκτες συσσώρευσης έκτοπου λιπώδους ιστού (Scott et al., 2014). Στο σύνολό τους, τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν μια στενή σχέση μεταξύ υπερτροφικής παχυσαρκίας, έκτοπης συσσώρευσης λίπους, και γενετικής προδιάθεσης για διαβήτη τύπου 2.

Η μειωμένη πρωτεΐνη GLUT4 και η παθολογική πρόσληψη και μεταβολισμός της γλυκόζης στα λιποκύτταρα οδηγούν σε λειτουργικές αλλαγές στα λιποκύτταρα, όπως την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων και τη βιοσύνθεση των λιπιδίων και σε μεταβολές των ενδοκρινικών λειτουργιών τους. Ένα παράδειγμα είναι η ρετινόλ-δεσμευτική πρωτεΐνη (RBP4), η οποία αυξάνεται σε άτομα με χαμηλή συγκέντρωση GLUT4 στο λιπώδη ιστό (Graham et al., 2006) και η οποία ασκεί αρνητικές επιδράσεις στην συστηματική ευαισθησία στην ινσουλίνη, προωθώντας εν μέρει τη

φλεγμονή (Norseen et al., 2012). Η έκκριση πολλών άλλων μορίων μπορεί επίσης να μεταβληθεί, συμπεριλαμβανομένης μιας οικογένειας νέων λιπιδίων (διακλαδισμένοι εστέρες λιπαρών οξέων από υδροξυ-λιπαρά οξέα), που πρόσφατα φαίνεται να ασκεί θετική επίδραση στην κυτταρική ευαισθησία στην ινσουλίνη και στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Τα κυκλοφορούντα επίπεδα των λιπιδίων αυτών είναι επίσης στενά συνδεδεμένα με συστηματική ευαισθησία στην ινσουλίνη στους ανθρώπους (Yore et al., 2014).

Είναι ενδιαφέρον ότι, η πρωτεΐνη GLUT4 μειώνεται σημαντικά στα λιποκύτταρα του SAT στα άτομα με διαβήτη τύπου 2 και σε περίπου 30% των ατόμων με γενετική προδιάθεση για διαβήτη τύπου 2, πολύ πριν την εμφάνιση του (Carvalho, Jansson, Nagaev, Wentzel, & Smith, 2001). Έτσι, η υγιής και εύρυθμη λειτουργία του λιπώδους ιστού εξαρτάται καθοριστικά από τη λειτουργική πρόσληψη και μεταβολισμό της γλυκόζης. Τα μειωμένα επίπεδα της πρωτεΐνης GLUT4 που παρατηρούνται στα λιποκύτταρα ασθενών με ΣΔ ΙΙ θα μπορούσαν να αποτελούν ένα πρώιμο ελάττωμα που συμβάλλει στη δυσλειτουργία του SAT και τις επακόλουθες μεταβολές στην έκκριση της αντιγονεκτίνης. Εναλλακτικά, στην υπερτροφική παχυσαρκία, η μειωμένη GLUT4 θα μπορούσε να αποτελεί έναν άλλο δείκτη παθολογικής διαφοροποίησης των προλιποκυττάρων και ενεργοποίησης του PPAR γ . Οι τρέχουσες μελέτες αποσκοπούν στην αποσαφήνιση αυτού του σημαντικού ζητήματος.

Η υπερτροφική παχυσαρκία έχει ως συνέπεια τη χρόνια φλεγμονή του λιπώδους ιστού που ακολουθείται από τη διήθηση και την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και των φλεγμονωδών κυττάρων (Andersson, Gustafson, Hammarstedt, Hedjazifar, & Smith, 2008; Richardson, Smith, & Carter, 2013). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η φλεγμονή του λιπώδους ιστού και η στρατολόγηση των μακροφάγων κυττάρων οδηγούν στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη στην παχυσαρκία. Οι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα προφλεγμονώδη μακροφάγα M1, σε υπερτροφικό περιβάλλον, επηρεάζουν αρνητικά τη λειτουργία των λιποκυττάρων και βλάπτουν τα σηματοδοτικά μονοπάτια της ινσουλίνης στα λιποκύτταρα (Weisberg et al., 2003).

Στον υπερτροφικό λιπώδη ιστό, τα προλιποκύτταρα και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος διασυννομιλούν και επάγουν τη χρόνια φλεγμονή και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, σε κυτταρικό στρες και σε έκκρισης κυτοκινών [π.χ., MCP-1, ιντερλευκίνη-6 (IL-6)], που προωθούν την περαιτέρω διεύθυνση των ανοσοποιητικών κυττάρων στο λιπώδη ιστό. Είναι ενδιαφέρον ότι, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η φλεγμονή είναι επίσης σημαντική για τη λειτουργική

αναδιαμόρφωση των ιστών (Gustafson, Hedjazifar, Gogg, Hammarstedt, & Smith, 2015).

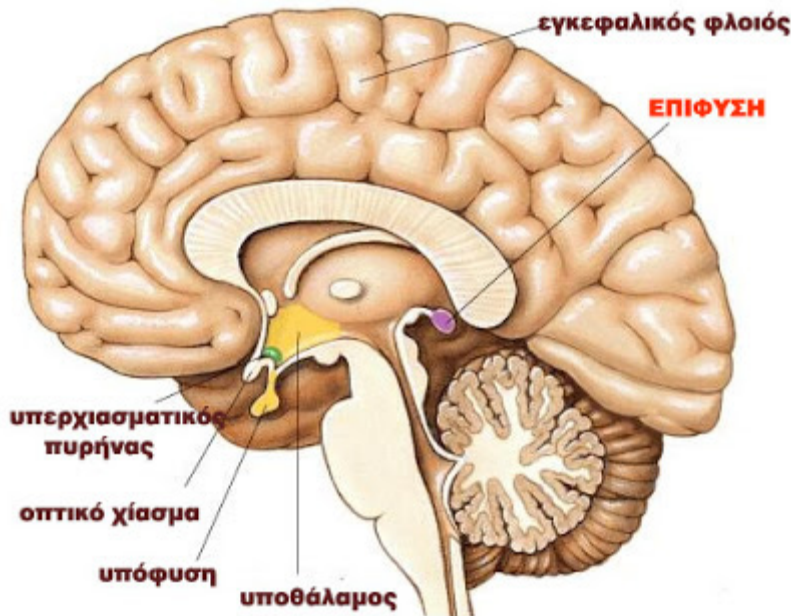
Τα κλασσικά προφλεγμονώδη M1 μακροφάγα συσσωρεύονται στον υπερτροφικό λιπώδη ιστό και απελευθερώνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως ο tumor necrosis factor (TNF α), οι ιντερλευκίνες IL-1 β και IL-6, οι οποίες διεγείρουν τα μονοπάτια της I κ βήτα κινάσης (IKK β) / τον πυρηνικό παράγοντα κάρπα Β (NF- κ B), και της c-Jun N-τερματικής κινάσης (JNK). Οι IKK β και JNK επάγουν τη φωσφορυλίωση της σερίνης στο υπόστρωμα του ειδικού υποδοχέα της ινσουλίνης 1 (IRS-1), που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των IRS πρωτεϊνών και την επακόλουθη σηματοδότηση του υποδοχέα της ινσουλίνης, προωθώντας έτσι την αντίσταση στην ινσουλίνη (Hotamisligil et al., 1996; Lumeng, Bodzin, & Saltiel, 2007).

Στον άπαχο και υγιή λιπώδη ιστό, τα αντι-φλεγμονώδη μακροφάγα M2 κυριαρχούν και παίζουν επίσης κυρίαρχο ρόλο στη διατήρηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη (Gordon, 2007). Επίσης μελέτες σε πειραματόζωα ανέδειξαν το σημαντικό ρόλο των PPARs (γ και δ) στη ρύθμιση του φαινοτύπου των μακροφάγων M2 (Odegaard et al., 2008). Μια πρόσφατη μελέτη έχει δείξει τη σημαντική συσχέτιση μεταξύ της βελτιωμένης ευαισθησίας στην ινσουλίνη και τη μείωση των μακροφάγων στο λιπώδη ιστό ασθενών με ΣΔ II, που λαμβάνουν αγωγή με θειαζολιδινοδιόνες (συνδέτες του PPAR γ) (Korppaka et al., 2013).

Επί του παρόντος, υπάρχουν αρκετές μελέτες σε εξέλιξη που εξετάζουν τις πιθανές θετικές επιδράσεις διαφόρων αντι-φλεγμονωδών μορίων στην αντίσταση στην ινσουλίνη και την ανάπτυξη του διαβήτη τύπου 2. Ωστόσο, η μόνη ομάδα αντι-φλεγμονωδών παραγόντων που έχει μέχρι στιγμής αποδειχθεί ότι έχει θετικά αποτελέσματα είναι τα μη-ακετυλιωμένα σαλικυλικά (π.χ., σαλσαλάτη) (Goldfine et al., 2008; Yuan et al., 2001), τα οποία μπορούν να δοθούν σε υψηλές δόσεις με λιγότερες παρενέργειες από τις ακετυλιωμένες μορφές. Μια υψηλή δόση ενός μη-ακετυλιωμένου σαλικυλικού είναι ικανή να αναστείλει τον άξονα του NP- κ B / IKK β . Αρκετές ανεξάρτητες μελέτες αγωγής με σαλσαλάτη σε προδιαβητικά και παχύσαρκα μη διαβητικά υποκείμενα έχουν δείξει δείκτες μεταβολικής βελτίωσης, όπως αυξημένα επίπεδα αντιπυροκτινής ορού, χαμηλότερη γλυκαιμία, μειωμένη λιπόλυση, μειωμένο C-πεπτιδίο, και μειωμένη δραστηριότητα του NP- κ B στο λιπώδη ιστό (Goldfine et al., 2008; Yuan et al., 2001). Ωστόσο, απαιτούνται τα αποτελέσματα των εν εξελίξει μεγάλων κλινικών μελετών, για να επιβεβαιώσουν τα δυνητικά οφέλη της αντι-φλεγμονώδους θεραπείας στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

3.6 Ενεργειακή ομοιόσταση και ΚΝΣ

Ο εγκέφαλος διαδραματίζει πολλαπλούς ρόλους για τον συντονισμό διάφορων περιφερειακών σημάτων. Ο κύριος ρυθμιστής είναι ο *υποθάλαμος*, ο οποίος καλύπτει ένα μικρό, αλλά σημαντικό τμήμα του εγκεφάλου (Εικόνα 9). Βρίσκεται κάτω από το θάλαμο του εγκεφάλου, ακριβώς πάνω από την υπόφυση. Στον άνθρωπο, έχει περίπου το μέγεθος ενός αμύγδαλου (Dietrich & Horvath, 2013).



Εικόνα 12: Ανατομία εγκεφάλου.

Η σημαντικότερη λειτουργία του υποθαλάμου είναι να συνδέει το νευρικό με το ενδοκρινικό σύστημα μέσω της υπόφυσης, του αδένου που ελέγχει τις λειτουργίες των περισσότερων ενδοκρινών αδένων. Τα νευρικά κύτταρα που συγκροτούν τους πυρήνες του, έχουν διατηρήσει την ικανότητα παραγωγής ορμονών. Με άλλα λόγια, η λειτουργία του υποθαλάμου είναι να μετατρέπει τα νευρικά σήματα που δέχεται από τον εγκέφαλο, σε ορμονικά (Dietrich & Horvath; Leibowitz & Wortley, 2004). Ο υποθάλαμος εκκρίνει ουσίες ορμονικής φύσεως, που ονομάζονται υποθαλαμικοί εκλυτικοί ή ανασταλτικοί παράγοντες, οι οποίες μεταφέρονται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης (αδενούπυση) και ρυθμίζουν τη λειτουργία της. Η μεταφορά γίνεται μέσω ενός αγγειακού δικτύου κατά μήκος του μίσχου της υπόφυσης, του πυλαίου συστήματος, χωρίς να μπαίνουν στην γενική κυκλοφορία. Οι ορμόνες αυτές ονομάζονται υποφυσιοτρόποι και είναι (Leibowitz & Wortley, 2004):

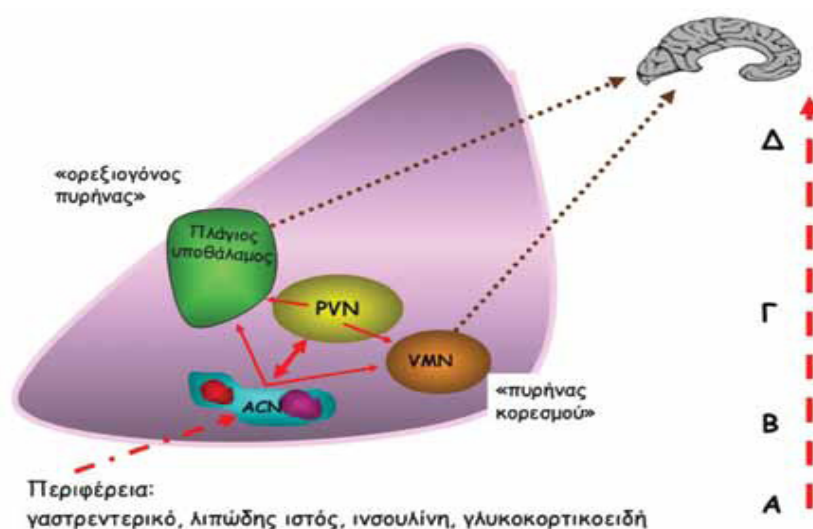
- Η *σωματοεκλυτίνη*, η οποία επάγει την έκκριση της αυξητικής ορμόνης (GH) από την αδενούπόφυση (Growth Hormone Releasing Hormone, GHRH).
- Η *σωματοστατίνη*, που αναστέλλει την έκκριση της αυξητικής ορμόνης από την αδενούπόφυση. Η σωματοστατίνη παράγεται επίσης, από τα κύτταρα D του παγκρέατος και ασκεί ανασταλτική επίδραση στην έκκριση παγκρεατικών και γαστρεντερικών ορμονών.
- Η *θυροεκλυτίνη*, η οποία διεγείρει την έκκριση της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) και παράδοξα της προλακτίνης από την αδενούπόφυση (Thyrotropin Releasing Hormone, TRH).
- Η *γοναδοεκλυτίνη*, που επάγει την έκκριση των γοναδοτροπινών (FSH και LH) από την αδενούπόφυση (Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH).
- Η *κορτικοεκλυτίνη*, η οποία επάγει την έκκριση της φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH) από την αδενούπόφυση (Corticotropin Releasing Hormone, CRH).
- Και, η *ντοπαμίνη*, που αναστέλλει την έκκριση προλακτίνης (PRL) από την αδενούπόφυση.

Ο υποθάλαμος συνθέτει σε νευρικά κύτταρα και άλλες ορμόνες που τις μεταφέρει στον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης (νευροϋπόφυση), απ' όπου και εκκρίνονται. Η μεταφορά γίνεται μέσω της υποθαλαμοϋποφυσιακής οδού, που αποτελείται από νευράξονες. Ο νευράξονας είναι νευρική ίνα, δηλαδή μια επιμήκης λεπτή προέκταση ενός νευρικού κυττάρου, που μεταφέρει μακριά από το σώμα του νευρικού κυττάρου του υποθαλάμου αυτές τις ορμόνες. Οι ορμόνες αυτές ονομάζονται οπίσθιες υποφυσιακές και είναι (Insel, 2010; Meyer-Lindenberg, Domes, Kirsch, & Heinrichs, 2011):

- Η *ωκυτοκίνη*, η οποία προάγει τις συσπάσεις της μήτρας κατά τον τοκετό και βοηθά στο θηλασμό.
- Η *αντιδιουρητική ορμόνη* (Antidiuretic Hormone, ADH, ή αλλιώς βαζοπρεσσίνη), η οποία περιορίζει την αποβολή νερού από τους νεφρούς

Ο υποθάλαμος διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο, όσον αφορά στη ρύθμιση του μεταβολισμού του σώματος, της θερμοκρασίας, του ύπνου, της όρεξης και του κορεσμού, της δίψας, του πόνου και του εμετού. Τα τελευταία χρόνια, έχει γίνει σημαντική πρόοδος στο πεδίο της νευροενδοκρινολογίας και στην κατανόηση της ρύθμισης της όρεξης, ενώ έχουν βρεθεί νευροπεπτιδικές ορμόνες, οι οποίες παράγονται στους πυρήνες του υποθαλάμου και συμμετέχουν στη ρύθμιση της διαδικασίας της πρόσληψης τροφής, μέσω της ορεξιόγону ή της ανορεξιόγону δράσης τους (A. Rolls, Schaich Borg, & de Lecea, 2010).

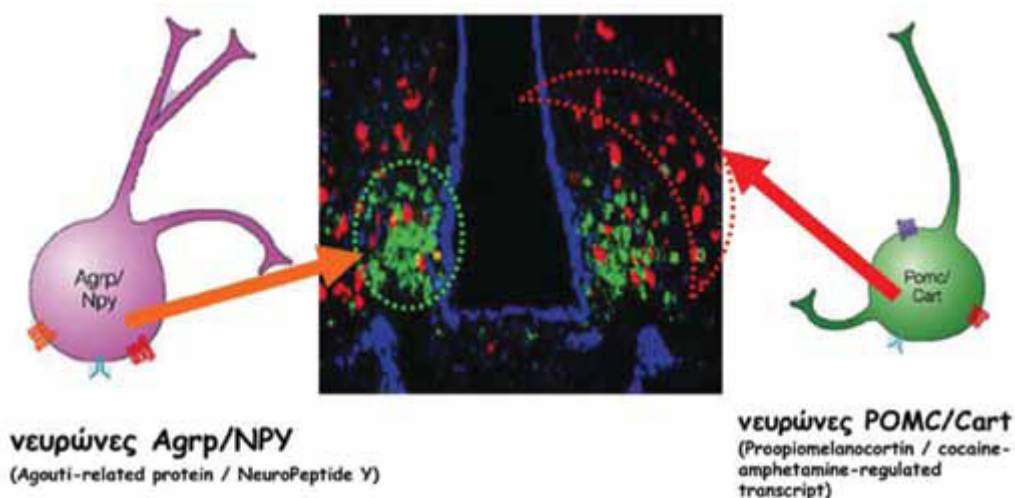
Μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι καταστροφή του μέσω των κοιλιακών πυρήνων του υποθαλάμου, οδηγούσε το ζώο στην υπερκατανάλωση τροφίμων, με αποτέλεσμα την παχυσαρκία, ενώ καταστροφή του πλάγιου των κοιλιακών πυρήνων του υποθαλάμου, οδηγούσε το ζώο σε ανορεξία, με αποτέλεσμα τον θάνατο. Έτσι, συμπεραίνουμε ότι οι μέσοι κοιλιακοί πυρήνες (LH-lateral hypothalamus) ρυθμίζουν την όρεξη ως «κέντρο της πείνας», ενώ οι πλάγιοι VMH (ventromedial hypothalamus) τον κορεσμό ως «κέντρο κορεσμού» (Stellar, 1994). Επίσης, άλλα πειράματα που χρησιμοποίησαν γλυκόζη υποδόρια σε ζώα έδειξαν ότι οι πλάγιοι πυρήνες του υποθαλάμου αντιδρούν στην υπογλυκαιμία, άρα η πτώση της γλυκόζης στο αίμα διεγείρει τα νευρικά κέντρα της πείνας, ενώ η υπεργλυκαιμία διεγείρει τους μέσους κοιλιακούς πυρήνες και προκαλεί το αίσθημα του κορεσμού.



Εικόνα 13: Πυρήνες υποθαλάμου σχετιζόμενοι με τη ρύθμιση ενεργειακού ισοζυγίου

Ο πλάγιος ορεξιογόνος υποθάλαμος και ο μεσοκοιλιακός πυρήνας (κορεσμού) ρυθμίζονται από δύο άλλους κατώτερους υποθαλαμικούς πυρήνες. Τον παρακοιλιακό (Paraventricular nucleus, PVN) και τον τοξοειδή πυρήνα (Arcuate nucleus, ARC). Ο τοξοειδής υποθαλαμικός πυρήνας (ARC) είναι ο ενδιάμεσος σταθμός μεταξύ της περιφέρειας και των πυρήνων του πλάγιου υποθαλαμικού και μεσοκοιλιακού. Βρίσκεται στη βάση του υποθαλάμου και εκτός αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Τα σήματα όρεξης ή κορεσμού της περιφέρειας δρουν σε αντίστοιχους υποδοχείς που βρίσκονται μόνο στον AN. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ο ARC παρουσιάζει δύο υποσύνολα νευρώνων που έχουν αντίθετες επιδράσεις στην σίτιση. Μία από αυτές της ομάδας των νευρώνων εκφράζουν την προ-οπιομελανοκορτίνη (POMC) και την cocaine-amphetamine-regulated transcript

(CART), και κατά τη διέγερση τους, αυτοί οι νευρώνες έχουν ανορεκτικά αποτελέσματα (Cone, 2005). Η πρόδρομος POMC διασπάται σε α -melanocyte-stimulating ορμόνες (α -MSH), η οποία μειώνει την πρόσληψη τροφής, το σωματικό βάρος και αυξάνει την κατανάλωση ενέργειας (M. S. Kim et al., 2000; Yasuda, Masaki, Kakuma, & Yoshimatsu, 2004). Η δεύτερη ομάδα των νευρώνων στον AN οδηγεί σε ορεξιογόνες αποκρίσεις κατά την ενεργοποίησή τους. Αυτοί οι νευρώνες εκφράζουν το νευροπεπίδιο Y (NPY) και την agouti-gene related transcript (AgRP) (Rossi et al., 1998), τα οποία διεγείρουν την πρόσληψη τροφής και τη μείωση των δαπανών ενέργειας (Fekete et al., 2002). Σε γενετικά τροποποιημένα παχύσαρκα τρωκτικά, όπως επίσης και σε νηστικά φυσιολογικά ζώα, η έκφραση του NPY στο επίπεδο του mRNA και σε πρωτεϊνικό επίπεδο είναι αυξημένα στον ARC (Park et al., 2004; Wilding et al., 1993). Συλλογικά, αυτό υποδηλώνει ότι (α) η υπερ-ενεργοποίηση ή δυσλειτουργία των νευρώνων του NPY εμπλέκονται στην εμφάνιση μεταβολικών νοσημάτων, αλλά επίσης και ότι (2) οι νευρώνες NPY μπορούν να αναστείλουν το σύστημα της μελανοκορτίνης. Είναι ενδιαφέρον ότι υποσύνολα νευρώνων POMC περιέχουν τόσο γ -αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και γλουταμικό (Dicken, Tooker, & Hentges, 2012). Υποσύνολα NPY νευρώνων περιέχουν επίσης GABA (Horvath, Bechmann, Naftolin, Kalra, & Leranth, 1997), και το GABA από τους NPY νευρώνες συμμετέχει στην αναστολή των POMC νευρώνων. Αυτή η διαδρομή προς μία μόνο κατεύθυνση από το NPY στα POMC κύτταρα φέρνει στο φως μία ανατομική βάση της ρύθμισης της ενέργειας. Αυτή η νευρολογική αλληλεπίδραση φαίνεται να ευνοεί την τονική αναστολή του σήματος κορεσμού, και επίσης προωθεί τη σίτιση ή την υπερβολική σίτιση, όταν τα τρόφιμα είναι διαθέσιμα σε περίσσεια. Το εύρημα αυτό ενισχύει τον καιρίο ρόλο ενός ακέραιου συστήματος μελανοκορτίνης στον έλεγχο του ενεργειακού ισοζυγίου.



Εικόνα 14: Οι νευρώνες που αυξάνουν την όρεξη είναι σε ανατομικά διαφορετική περιοχή από τους νευρώνες κορεσμού

Επίσης, οι συσπάσεις του κενού στομάχου σε συνδυασμό με την διέγερση του πνευμονογαστρικού νεύρου προκαλούν το αίσθημα της πείνας. Αντιθέτως, η διάταση των τοιχωμάτων του στομάχου, μετά την είσοδο την τροφής, προκαλούν το αίσθημα κορεσμού. Είναι ακόμα γνωστό, ότι η πτώση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος προκαλεί αύξηση του αισθήματος της πείνας, αλλά και του μεταβολισμού, σε αντίθεση με την αύξηση της θερμοκρασίας το καλοκαίρι, που μειώνει την όρεξη, αλλά και τον μεταβολισμό μας. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, έχει βρεθεί πως κάποιος παχύσαρκος δεν επηρεάζεται μόνο από το περιβάλλον του, αλλά η παχυσαρκία του μπορεί να οφείλεται σε γενετική διαταραχή της ρύθμισης του υποθαλάμου, αλλά και μιας ορμόνης, της *λεπτίνης* (Sahu, 2003). Το ίδιο έχει παρατηρηθεί και σε άτομα με διατροφικές διαταραχές όπως ανορεξία και βουλιμία.

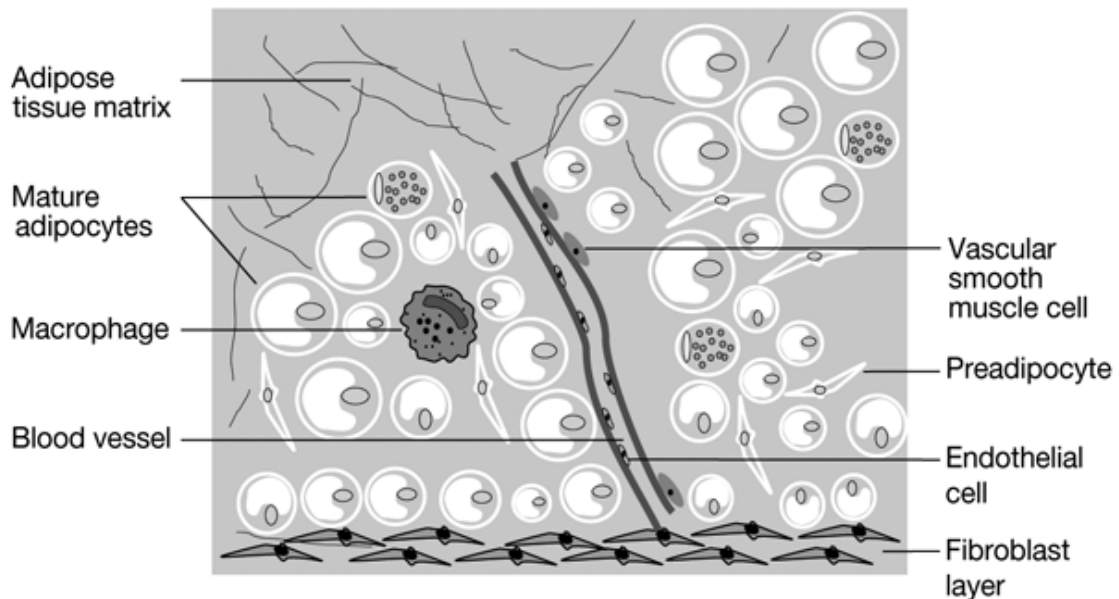
3.7 Λιπώδης ιστός

Ο λιπώδης ιστός κατέχει κεντρικό ρόλο στο ενεργειακό ισοζύγιο του ανθρώπου και αποτελεί, εκτός από χώρο αποθήκευσης των λιπιδίων, τόπο παραγωγής πλήθους πεπτιδικών και μη πεπτιδικών βιοδραστικών μορίων, με ενδοκρινική, παρακρινική και αυτοκρινική δράση. Τα λιποκύτταρα του λιπώδη ιστού αποτελούν χώρο αποθήκευσης των τριγλυκεριδίων και παρέχουν ενέργεια, μέσω της λιπόλυσης. Εκτός από πηγή ενέργειας, ο λιπώδης ιστός παρέχει μηχανική προστασία στα εσωτερικά όργανα από κακώσεις, και συμβάλει στη θερμική απομόνωση των εσωτερικών οργάνων του οργανισμού από το περιβάλλον. Η αυξημένη στιβάδα λιπώδη ιστού, που παρατηρείται στα παχύσαρκα άτομα, είναι και η αιτία για την οποία τα παχύσαρκα άτομα ιδρώνουν ευκολότερα.

3.7.1 Μορφολογία και κατανομή του λιπώδους ιστού

Ο λιπώδης ιστός αποτελείται από ένα σύνολο λιποκυττάρων και από ένα αγγειακό στρώμα, όπου υπάρχουν τα προλιπώδη κύτταρα (προλιποκύτταρα). Ο λιπώδης ιστός είναι ένας τύπος ελεύθερου συνδετικού ιστού, όπου τα λιποκύτταρα του περιβάλλονται από ίνες κολλαγόνου, αιμοφόρα αγγεία και ινοβλάστες. Είναι αξιοσημείωτο ότι μόνο το 1/3 του λιπώδους ιστού περιέχει ώριμα λιποκύτταρα. Τα υπόλοιπα 2/3 αποτελούνται από πρόδρομα προλιπώδη κύτταρα, όπως είναι τα ενδοθηλικά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα των μικρών αγγείων, οι ινοβλάστες και τα μακροφάγα (Εικόνα 14). Ο ανθρώπινος οργανισμός για να διατηρήσει ζωτικές κυτταρικές λειτουργίες, καταναλώνει περισσότερες θερμίδες από τις απαιτούμενες για τις άμεσες μεταβολικές του ανάγκες, και αποθηκεύει τις επιπλέον

θερμίδες ως γλυκογόνο, πρωτεΐνη και λίπος. Σε ορισμένες περιοχές, όπως υποδορίως και στον μεσεντέριο χώρο, ο λιπώδης ιστός οργανώνεται σε ευμεγέθεις οζώδεις σχηματισμούς.

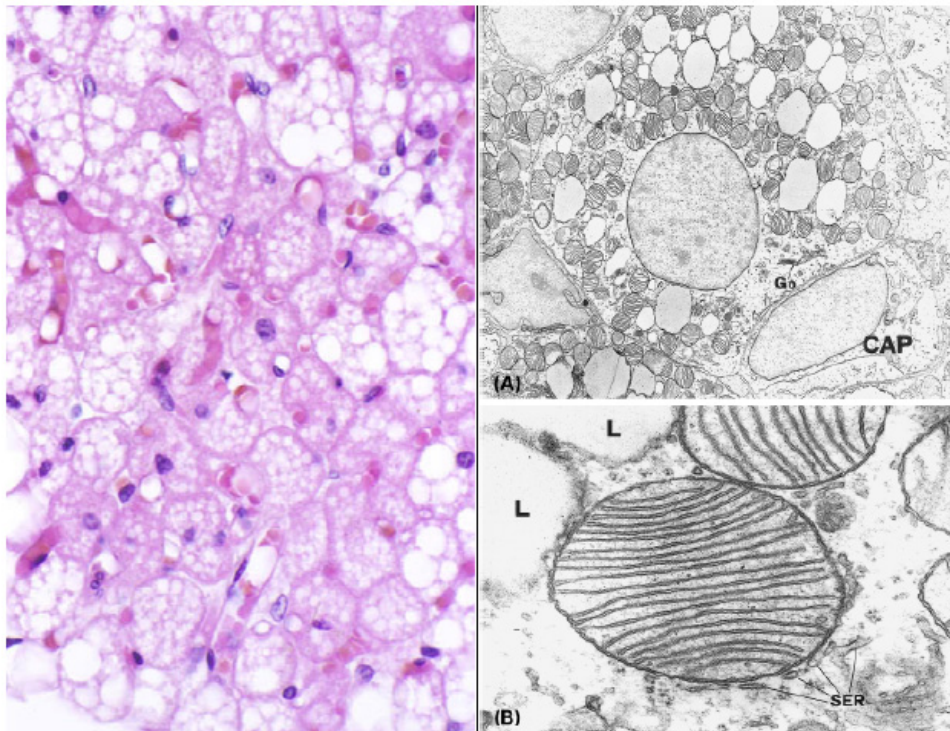


Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση των κυτταρικών στοιχείων και της εξωκυττάριας ουσίας του λιπώδους ιστού.

Θεμελιώδης είναι η διάκριση του λιπώδους ιστού σε σπλαχνικό και υποδόριο. Τόσο ο υποδόριος, όσο και ο σπλαχνικός, αποτελούνται από μικρότερες διακριτές αποθήκες λίπους, καθεμιά από τις οποίες έχει συγκεκριμένες λειτουργίες. Ο υποδόριος λιπώδης ιστός διακρίνεται σε επιπολής και εν τω βάθει στιβάδα. Στο γυναικείο φύλο, η κατανομή του λιπώδους ιστού στις υποδόριες στιβάδες είναι 49% στην επιπολής και 51% στην εν τω βάθει, ενώ στους άνδρες τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 34% και 66%. Ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός υποδιαιρείται βασικά σε οπισθοπεριτοναϊκό και ενδοπεριτοναϊκό, που με τη σειρά του αποτελείται από τον επιπλοϊκό και το μεσεντέριο λιπώδη ιστό. Το ενδοπεριτοναϊκό και οπισθοπεριτοναϊκό διαμέρισμα οριοθετούνται από την πρόσθια επιφάνεια του νεφρού και την οπίσθια επιφάνεια του εντέρου. Στον άνθρωπο, το οπισθοπεριτοναϊκό λίπος αντιπροσωπεύει το 25% του συνολικού λιπώδους ιστού του σπλαχνικού διαμερίσματος (Anghel & Wahli, 2007).

Ο λιπώδης ιστός (AT) μπορεί να θεωρηθεί ένα ετερογενές όργανο με πολλαπλές αποθήκες. Είναι ένας ιστός που με βάση τη λειτουργία του και την μορφολογία του διακρίνεται στο φαιό λιπώδη ιστό και στον λευκό λιπώδη ιστό. Ο φαιός λιπώδης ιστός αποτελείται κυρίως από μεγάλο αριθμό μιτοχονδρίων και τριχοειδών και κύρια λειτουργία του είναι η θερμογένεση που εξειπηρετεί στον

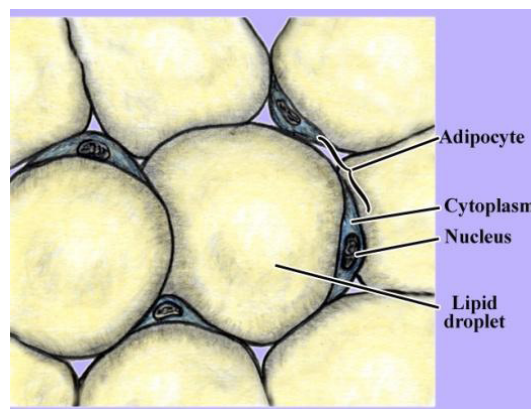
εγκλιματισμό στο κρύο αλλά και στην ρύθμιση του μεταβολικού ρυθμού (Cinti, 2012). Έχει καστανό χρώμα, και περιέχει φαιά λιποκύτταρα, που είναι μικρότερα σε μέγεθος από τα λευκά λιποκύτταρα (20-40 μm), με πολυγωνικό σχήμα, στα οποία ο πυρήνας τους καταλαμβάνει κεντρική θέση, ενώ το κυτταρόπλασμα τους περιέχει πολλά μιτοχόνδρια και μικρές πολυάριθμες λιποσταγόνες διαφορετικού μεγέθους, που εκφράζουν την πρωτεΐνη απόζευξης 1 (UCP1). Χαρακτηριστικό της ιστολογικής δομής των φαιών λιποκυττάρων είναι τα πολυάριθμα μιτοχόνδρια με μακριές ακρολοφίες στο κυτταρόπλασμα, που είναι υπεύθυνα για τις θερμογόνες ιδιότητες, (Nedergaard, Bengtsson, & Cannon, 2007) ενώ το ενδοπλασματικό δίκτυο δεν είναι ανεπτυγμένο (Avram, Avram, & James, 2005; Cinti, 2005) (Εικόνα 16).



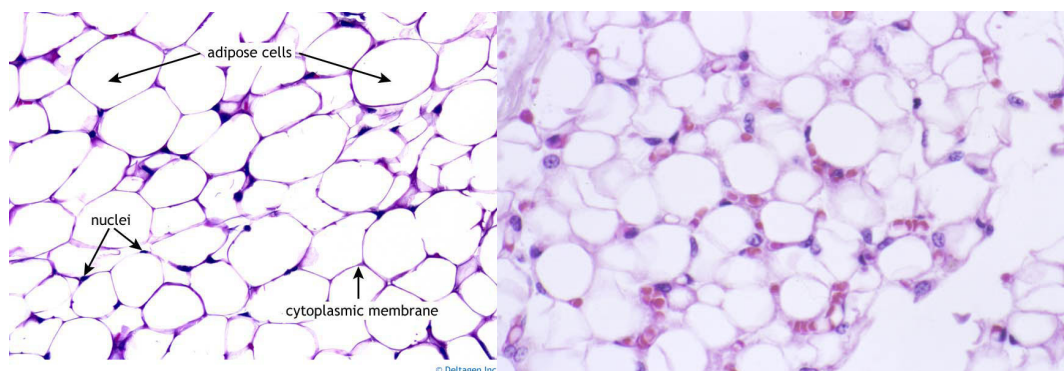
Εικόνα 16: Αριστερά: Ιστολογική απεικόνιση του φαιού λιπώδους ιστού σε φωτονικό μικροσκόπιο. Δεξιά (A): Δομή φαιού λιποκυττάρου. Δεξιά (B): Δομή μιτοχονδρίου σε μεγέθυνση σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. CAP: Τριχοειδές αγγείο, Go: Συσκευή Golgi, L: Λιποσταγόνα, SER: Λείο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Από την άλλη πλευρά ο λευκός λιπώδης ιστός εμπεριέχει μεταξύ άλλων και τα λευκά λιποκύτταρα, όπου το μεγαλύτερο μέρος του κυτταραπλόσματος τους καταλαμβάνεται από την λιποσταγόνα με τον πυρήνα και τα υπόλοιπα στοιχεία βρίσκονται μετατοπισμένα στην περιφέρεια (Cinti, 2012), χαρακτηριστικά τα οποία εξυπηρετούν την αποθήκευση ενέργειας υπό την μορφή τριγλυκεριδίων

(λιποσταγόνα) και τη ρύθμιση του μεταβολισμού όπως θα συζητηθεί παρακάτω. Πιο αναλυτικά, ο λευκός λιπώδης ιστός έχει υποκίτρινη χροιά, και περιέχει λευκά, σφαιρικά λιποκύτταρα, διαμέτρου 30-70 μm , με το κυτταρόπλασμα τους να καταλαμβάνεται από μία μεγάλη μονόχωρη κεντρική λιποσταγόνα, μεγέθους ίσως και μεγαλύτερη από 50 μm , γεγονός που μετατοπίζει τον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα στην περιφέρεια, σχηματίζοντας έτσι μία δομή, που ομοιάζει με δακτύλιο (Εικόνα 17 και 18). Η δομή αυτή αντικατοπτρίζει το σημαντικό λειτουργικό ρόλο που διαδραματίζει το λευκό λιποκύτταρο στην αποθήκευση των λιπιδίων, στην παροχή φραγμού μηχανικής προστασίας, στη θερμορύθμιση και τη λειτουργία του ως ενδοκρινής αδένας. (Wronska & Kmiec, 2012)



Εικόνα 17: Λευκός λιπώδης ιστός. Μετατόπιση πυρήνα και κυτταροπλάσματος από τη λιποσταγόνα.



Εικόνα 18: Ιστολογική απεικόνιση του λευκού λιπώδους ιστού.

Επιπλέον, μια τρίτη κατηγορία λιποκυττάρων μπορεί να βρεθεί ενδιάμεσα του λευκού λιπώδους ιστού, τα λεγόμενα «brite» ή «μπεζ» λιποκύτταρα, τα οποία παρουσιάζουν παραπλήσιες λειτουργικές ικανότητες με τα λιποκύτταρα του φαιού λιπώδους ιστού και ενώ διαθέτουν λιποσταγόνα, έχουν αυξημένο αριθμό μιτοχονδρίων και το χαρακτηριστικό μπεζ χρώμα (Petrovic et al., 2009; Schulz et

al., 2010). Τα Μπεζ λιποκύτταρα, από κοινού με τα καφέ λιποκύτταρα, είναι UCP1 θετικά θερμογόνα κύτταρα με πολυεστιακά σταγονίδια λιπιδίων (J. Wu et al., 2012).

Μπορούν να καθοριστούν σαφείς ανατομικές διαιρέσεις μεταξύ WAT και BAT. Το σπλαχνικό/ενδοκοιλιακό και υποδόριο λίπος αποτελούνται κυρίως από λευκό λιπώδη ιστό, ο οποίος επιπρόσθετα βρίσκεται και σε μικρότερα διαμερίσματα, στην περικαρδιακή περιοχή, τον οπισθο-κογχικό χώρο, εντός του μυελού των οστών και στο πρόσωπο (Gesta, Tseng, & Kahn, 2007; Wronska & Kmiec, 2012). Συγκριτικά ο φαιός λιπώδης ιστός και βρίσκεται κυρίως στο λαιμό και στην υπερκλειδίο περιοχή του ενήλικου ανθρώπου, αλλά και σε διάφορες περιοχές, όπως στη μεσοπλάτια χώρα, τη μασχालιά, γύρω από την κοιλιακή αορτή, το πάγκρεας, τα επινεφρίδια και τους νεφρούς (Cypress et al., 2009). Η εμφάνιση των συστάδων των μπεζ λιποκυττάρων σε ορισμένες αποθήκες WAT επάγεται από ποικίλα ερεθίσματα που περιλαμβάνουν την παρατεταμένη έκθεση στο κρύο και σε β-αδρενεργικούς αγωνιστές, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται «αμαύρωση» (Cousin et al., 1992). Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα σχετικά με την εξέλιξη των διαφόρων κατηγοριών του AT και των υπο-αποθηκών του.

Η διαφοροποίηση των λιποκυττάρων είναι ένα σύνθετο γεγονός, όπου εμπλέκονται πολλοί παράγοντες και διαφορετικά μονοπάτια σηματοδότησης. Δύο μεταγραφικοί παράγοντες, η ενισχυτική πρωτεΐνη-α σύνδεσης σε CCAAT (CCAAT/Enhancer Binding Protein-α, C/EBPα) και ο υποδοχέας γ που ενεργοποιείται από πολλαπλασιαστές των υπεροξυσωμάτων (Peroxisomal Proliferator Activator Receptor-γ, PPAR-γ), εμφανίζονται να έχουν αντιμιτωτική δράση. Αν και η έκφρασή τους αυξάνεται εντυπωσιακά κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης, το μικρό επίπεδο έκφρασης αυτών των παραγόντων στα προλιποκύτταρα ίσως είναι απαραίτητο για να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό που προηγείται της διαφοροποίησης (Otto & Lane, 2005). Σημαντικό ρόλο στη δέσμευση της πρόδρομων βλαστικών κυττάρων προς λευκή αντιπογονική διαφοροποίηση, παίζει η καταστολή της zinc-finger 521 πρωτεΐνης (ZNF521) (Tran, Yamamoto, Gesta, & Kahn, 2008). Η ZNF521 δρα αντίθετα από τον ZNF423, που είναι μεταγραφικός ενεργοποιητής του PPARγ, και αναστέλλει την έκφραση του παράγοντα με την καταστολή του B-cell factor 1 (Ebf1) (Hocking, Chisholm, & James, 2008). Η αντιπογένεση περιλαμβάνει την επακόλουθη ενεργοποίηση αρκετών C/EBP παραγόντων μεταγραφής (C / EBP-β, δ και α), οι οποίοι επάγονται με διαδοχικό τρόπο μαζί με πολυάριθμους μεταγραφικούς συμπαραγόντες. Μία παροδική αύξηση των C/EBP-β και C/EBP-δ προηγείται αυτής του PPARγ.

Στη διατήρηση του φαινοτύπου των προλιποκυττάρων και την αναστολή της αδιπογένεσης φαίνεται ότι αναμειγνύεται ο παράγοντας προλιποκυττάρων -1 (pre-adipocyte factor-1, pref-1). Αυτός εμφανίζεται σε υψηλά επίπεδα στα προλιποκύτταρα ενώ δεν είναι ανιχνεύσιμος στα ώριμα λιποκύτταρα. Κατά τη διαφοροποίηση παρατηρείται μία δραματική μείωση της έκφρασής του και είναι το μόνο γνωστό γονίδιο του οποίου η έκφραση καταστέλλεται εντελώς κατά τη διαδικασία αυτή.

Κατά τη διαδικασία της διαφοροποίησης το σχήμα του κυττάρου μεταπίπτει από αστεροειδές (χαρακτηριστικό σχήμα των ινοβλαστών) σε σφαιρικό, φαινόμενο που αντικατοπτρίζει τις μεταβολές σε συστατικά του κυτταροσκελετού και της εξωκυττάριας ύλης. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι είναι πιθανόν οι αλλαγές αυτές να επηρεάσουν την έκφραση των PPAR- γ ή/και των C/EBP κατά τη διαφοροποίηση, αφού προηγούνται αυτών. Μία πρώιμη εκδήλωση της διαφοροποίησης είναι η μείωση της έκφρασης της τουμπουλίνης, που προηγείται από τις αλλαγές στη μορφολογία και στην έκφραση των ειδικών γονιδίων (Gregoire, Smas, & Sul, 1998).

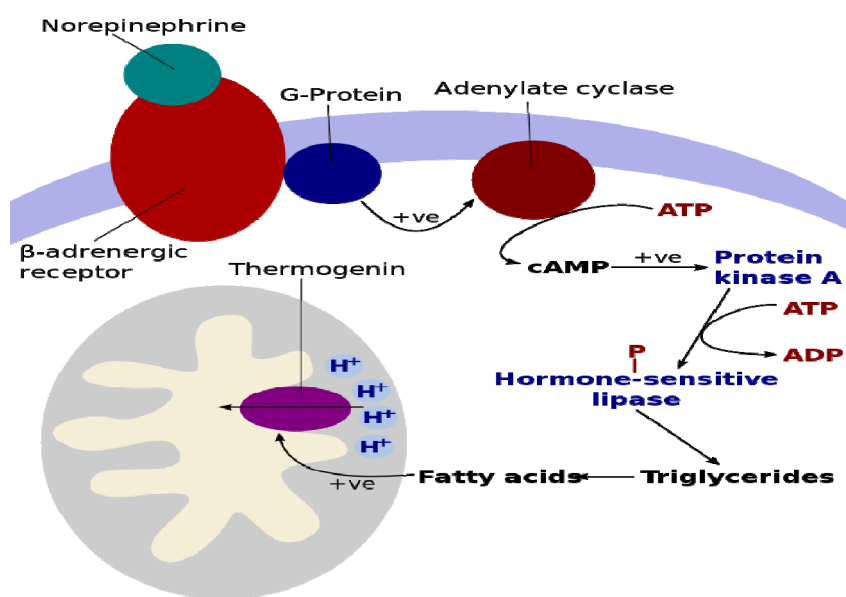
Η ενεργοποίηση του PPAR- γ και της C/EBP- α οδηγεί τα κύτταρα προς την τελική διαφοροποίηση και έκφραση των ειδικών γονιδίων των λιποκυττάρων. Κατά την τελική φάση της διαφοροποίησης τα λιποκύτταρα αυξάνουν τη διαδικασία της λιπογένεσης και αποκτούν ευαισθησία στην ινσουλίνη. Η δραστηριότητα και τα επίπεδα του Mpa των ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των τριγλυκεριδίων αυξάνονται από 10 έως 100 φορές. Επιπλέον αυξάνονται οι μεταφορείς της γλυκόζης (glucose transporter-GLUT), ο αριθμός των υποδοχέων της ινσουλίνης, η αντιγονεκτίνη και η λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Η ενεργοποίηση των PPAR γ οδηγεί επίσης στη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, ρυθμίζει το διαχωρισμό των λιπιδίων στο λιπώδη ιστό, και έχει αντιφλεγμονώδη δράση.

3.7.2 Λειτουργίες του φαιού και "beige" λιπώδους ιστού

Ο *φαιός* λιπώδης ιστός (Brown adipose tissue-BAT) αποτελείται από καφέ λιποκύτταρα, που χαρακτηρίζονται από πολλαπλά, μικρά σταγονίδια λιπιδίων με έναν κεντρικό πυρήνα και έναν υψηλό αριθμό μιτοχονδρίων. Ο BAT είναι ένας ιστός με αυξημένη αγγείωση και νευρώνεται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Τα μιτοχόνδρια του BAT χαρακτηρίζονται από την παρουσία της πρωτεΐνης αποσύνδεσης-1 θερμογενίνη (UCP-1), η οποία δρα κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Όταν ενεργοποιηθεί, η UCP-1 πρωτεΐνη αποσυνδέει

τη σύνθεση του ATP από μιτοχονδριακή αναπνοή, με αποτέλεσμα την παραγωγή θερμότητας, μια διαδικασία που καταναλώνει μεγάλες ποσότητες καυσίμων.

Τα φαιά λιποκύτταρα σηματοδοτούνται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, και ιδιαίτερα από τον υποθάλαμο. Οι α- και β-αδρενεργικοί υποδοχείς της νοραδρεναλίνης (ή αλλιώς νορεπινεφρίνης), η οποία είναι το κύριο σηματοδοτικό μόριο, διεγείρονται από την ίδια την νοραδρεναλίνη, ενεργοποιώντας πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως τη λιπόλυση, τον πολλαπλασιασμό των φαιών λιποκυττάρων, τη μιτοχονδριογένεση και την αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της θερμογενίνης (Sell, Deshaies, & Richard, 2004). Ο BAT, που αποτελεί το κύριο όργανο θερμογένεσης χωρίς τη δημιουργία ρίγους (δηλαδή, η παραγωγή θερμότητας δεν περιλαμβάνει τη σύσπαση των σκελετικών μυών), είναι παρόν στα περισσότερα θηλαστικά και η ωρίμανση του στην περιγεννητική περίοδο ποικίλλει μεταξύ των ειδών, σύμφωνα με την αναπτυξιακή κατάσταση τους κατά τη γέννηση (Tews & Wabitsch, 2011).



Εικόνα 19: Μηχανισμός ενεργοποίησης της διαδικασίας της θερμογένεσης.

Στους ανθρώπους, ο BAT αναπτύσσεται στο έμβρυο κατά τη διάρκεια της κύησης. Έτσι, το ποσοστό της UCP1 αυξάνεται κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, με τη μέγιστη τιμή της κατά τη γέννηση και στη συνέχεια μειώνεται κατά τους πρώτους 9 μήνες ζωής (Tews & Wabitsch, 2011). Στους ενήλικες ο BAT εντοπίζεται υπερκλείδια, στο λαιμό, παρασπονδυλικά και στα επινεφρίδια (Nedergaard et al., 2007). Σύμφωνα με εκτιμήσεις της μάζας του BAT και της δραστηριότητας του από μελέτες, φαίνεται ότι οι άνθρωποι έχουν, κατά μέσον όρο, 50-80 g BAT (Peirce, Carobbio, & Vidal-Puig, 2014). Ποσοτικά, εκτιμάται ότι 50 g

BAT μπορεί να κάψει έως και το 20% της ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης (Rothwell & Stock, 1983). Επομένως, μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι, παρόλο που οι αποθήκες του BAT περιέχουν μικρές ποσότητες, ο ενεργοποιημένος ιστός έχει τη δυνατότητα να συμβάλει ουσιαστικά στην ενεργειακή δαπάνη (Nedergaard et al., 2007).

Είναι γνωστό ότι η δραστηριότητα του BAT βασίζεται κυρίως στο μεταβολισμό των λιπιδίων, μέσω της άμεσης ενεργοποίησης της UCP1 από τα λιπαρά οξέα (Cannon & Nedergaard, 2004). Έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι η χρόνια ενεργοποίηση του αδρενεργικού υποδοχέα $\beta 3$ επάγει σε συνδυασμό την αύξηση της λιπόλυσης, τη *de novo* λιπογένεση και τη β -οξειδωση των λιπαρών οξέων όχι μόνο στο λευκό, αλλά επίσης και στο BAT. Έτσι, η συνεχής υδρόλυση των τριγλυκεριδίων που συζεύγνυται με την επακόλουθη ανασύνθεση τους, απαιτεί μεγάλες ποσότητες ATP, και θα μπορούσε να είναι ένας άλλος σημαντικός μηχανισμός για την αύξηση της θερμογένεσης από τον BAT, εκτός από το ρόλο της ενεργοποίησης της UCP1 σε αυτή τη διαδικασία. (Mottillo et al., 2014) Αυτό μπορεί να συμβάλει στη διάλυση της περίσσειας των λιπιδίων όπως συμβαίνει κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης διέγερσης της λιπόλυσης (π.χ., χρόνια θεραπεία με $\beta 3$ αδρενεργικούς υποδοχείς).

Ο BAT εμφανίζει επίσης ένα πολύ υψηλό ποσοστό πρόσληψης γλυκόζης, ιδιαίτερα κάτω από την ενεργοποίηση του συμπαθητικού (Cannon & Nedergaard, 2004). Είναι ενδιαφέρον ότι η πρόσληψη γλυκόζης από τον BAT είναι κοντά στις τιμές που παρατηρήθηκαν σε μεταστατικούς καρκίνους στους ανθρώπους (Aukema, Vogel, Hoefnagel, & Valdes Olmos, 2010). Αυτός ο ιστός ανταποκρίνεται στην ινσουλίνη με 5-πλάσια αύξηση της πρόσληψης γλυκόζης, ενώ κάτω από έκθεση στο κρύο, η πρόσληψη γλυκόζης 12-πλασιάζεται, διαχέοντας την παραγόμενη ενέργεια με την αύξηση της ροής του αίματος (Orava et al., 2011). Κάτω από αναβολικές συνθήκες που χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα ινσουλίνης, η γλυκόζη στα καφέ λιποκύτταρα μεταβολίζεται για να παρέχει γλυκερόλ-3-φωσφατάση για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων ή ακετυλ- CoA για τη *de novo* σύνθεση λιπαρών οξέων (Cannon & Nedergaard, 2004).

Για να διερευνηθεί ο ρόλος του BAT, και κυρίως της UCP1, πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε UCP1 knock-out ποντίκια. Παραδόξως, δεν παρατηρήθηκε κανένας συγκεκριμένος φαινότυπος σε αυτούς τους ποντικούς, όταν διατηρήθηκαν στους 23° C, εκτός από την αυξημένη ευαισθησία τους στο κρύο (Enerback et al., 1997; Kontani et al., 2005). Σε αντίθεση, όταν εκτρέφονταν κάτω από θερμοκρασιακά ουδέτερες συνθήκες (29°C), τα UCP1 knock-out ποντίκια παρουσίασαν σημαντικά βελτιωμένη μεταβολική ικανότητα

λόγω της παθολογικής θερμογένεσης (Feldmann, Golozoubova, Cannon, & Nedergaard, 2009).

Τα *μπεζ* λιποκύτταρα αποτελούν ένα ξεχωριστό πληθυσμό οξειδωτικών κυττάρων που μοιάζουν με τα καφέ, και έχουν βρεθεί στο λευκό λιπώδη ιστό ανθρώπων και ποντικών, όταν εκτίθεται στο κρύο ή σε συνδέτες του PPAR γ (Sharp et al., 2012; J. Wu et al., 2012). Μελέτες σε τρωκτικά δείχνουν ότι αυτά τα κύτταρα μπορούν να διεγείρονται για να εκφράσουν τους τυπικούς καφέ δείκτες όπως η UCP1 και η PR domain-containing 16 (PRDM16) (Sharp et al., 2012). Ωστόσο, στη μη διεγερμένη κατάσταση μοιάζουν περισσότερο με λευκά λιποκύτταρα, με αμελητέα έκφραση UCP1 και PRDM16. Παρά το γεγονός ότι ρυθμίζονται με διαφορετικό τρόπο, τα *μπεζ* κύτταρα έχουν επίσης την ικανότητα να ενεργοποιούν τη UCP1 και να επάγουν τα γονίδια της οξειδωσης (Kajimura et al., 2009). Ο χαρακτηρισμός τους ως καφέ και *μπεζ* κύτταρα δείχνει ότι αποτελούν διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Τα "πραγματικά" καφέ λιποκύτταρα προκύπτουν από τα πρόδρομα κύτταρα Myf5⁺ των σκελετικών μυών και η μετάβαση από πρόδρομα μυοβλαστικά κύτταρα σε καφέ λιπώδη κύτταρα γίνεται όταν το μεταγραφικό σύμπλοκο των PRDM16 και C/EBP β επάγει την έκφραση του γονιδίου του καφέ λιπώδους ιστού (Kajimura et al., 2009).

Τα *μπεζ* κύτταρα φαίνεται ότι προκύπτουν είτε από διαφοροποίηση των λευκών κυττάρων είτε από έναν πληθυσμό κυττάρων που μοιάζουν με τα λεία μυϊκά και βρίσκονται στο WAT (Long et al., 2014; Rosenwald & Wolfrum, 2014). Έχει βρεθεί μία θετική ρύθμιση των *μπεζ* δεικτών στην υπερκλείδια περιοχή των ανθρώπων, γεγονός που μπορεί να υποδηλώνει ότι τα *μπεζ* και τα καφέ λιποκύτταρα συνεντοπίζονται (Jespersen et al., 2013). Προσπάθειες για να προκληθεί καφέ διαφοροποίηση σε ανθρώπινα προλιποκύτταρα που απομονώθηκαν από υποδόριο, μεσεντέριο και σπλαχνικό λιπώδη ιστό έδειξαν ότι μόνο τα υποδόρια προλιποκύτταρα είχαν τη δυνατότητα να παράγουν UCP1 (Schulz et al., 2010).

Η πιθανότητα ότι ο λιπώδης ιστός θα μπορούσε να μετατραπεί σε ένα οξειδωτικό ιστό παρόμοιο με τον καφέ λιπώδη ιστό (BAT) έχει πρόσφατα προσελκύσει πολύ ενδιαφέρον. Αυτό περιλαμβάνει προσπάθειες να ενεργοποιηθεί ο BAT στους ενήλικες και/ή να ενισχυθεί ο ενδιάμεσος φαινότυπος των λευκών / καφέ λιποκυττάρων (*μπεζ* / *Brite* κύτταρα) κυρίως στον υποδόριο λιπώδη ιστό, που είναι πιθανό να έχει θετικές συστηματικές επιδράσεις στην ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη ρύθμιση του σωματικού βάρους.

3.7.3 Λειτουργίες του λευκού λιπώδους ιστού

Ο λευκός λιπώδης ιστός, ο κυρίαρχος τύπος λιπώδους ιστού στον άνθρωπο, ως κύρια λειτουργία έχει την αποθήκευση ενέργειας υπό τη μορφή τριγλυκεριδίων. Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι εκκρίνει επίσης, ένα μεγάλο αριθμό λιποκυτοκινών, που σχετίζονται με τη διατήρηση ενεργειακής ομοιοστασίας. Για μεγάλο χρονικό διάστημα, ο λιπώδης ιστός θεωρείτο ότι είχε παθητικό, αδρανή ρόλο. Ωστόσο, έρευνες που έγιναν την προηγούμενη δεκαετία, έδειξαν ότι το λιποκύτταρο είναι καθοριστικός παράγοντας για τη διατήρηση του ενεργειακού ισοζυγίου και ότι αυτή η λειτουργία ρυθμίζεται από ορμονικά και νευρωνικά σήματα. Η κινητοποίηση της αποθηκευμένης ενέργειας που βρίσκεται υπό τη μορφή τριακυλγλυκεριδίων μέσα στα λιποκύτταρα, ρυθμίζεται διαμέσου ενδοκρινικών, παρακρινικών και αυτοκρινικών σημάτων. Η αποθηκευμένη αυτή ενέργεια μπορεί να κινητοποιηθεί ταχέως κατά τη διάρκεια αστίας, παρατεταμένης μυϊκής άσκησης, καθώς και σε άλλες περιπτώσεις. Τότε, απελευθερώνονται ελεύθερα λιπαρά οξέα από τις αποθήκες τριγλυκεριδίων του λίπους στην κυκλοφορία, μέσω λιπόλυσης και οξειδωσης, πρωταρχικώς από τον σκελετικό μυ, ώστε να παραχθεί ενέργεια. Αυτές οι λειτουργίες καθιστούν το λιποκύτταρο ικανό να επηρεάσει την μεταβολική δραστηριότητα και άλλων ιστών όπως του εγκεφάλου, του ήπατος και των μυών, μέσω έκκρισης ορμονών και άλλων παραγόντων (Ahima & Flier, 2000; Jazet, Pijl, & Meinders, 2003).

Ο λευκός λιπώδης ιστός πλέον θεωρείται ένα ενδοκρινές και παρακρινές όργανο, που σηματοδοτεί και επηρεάζει τα μεταβολικά μονοπάτια του οργανισμού και παίζει ενεργό ρόλο στη διατήρηση του ενεργειακού ισοζυγίου. Επίσης, εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της παχυσαρκίας, καθώς λειτουργεί ως αποθήκη υψηλών ενεργειακά μορίων, όπως είναι τα λιπαρά οξέα, διοχετεύοντας ενέργεια στον οργανισμό μεταξύ γευμάτων. Τα λευκά λιποκύτταρα συμμετέχουν ενεργά στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, με τη λιποσταγόνα να εξυπηρετεί τη μακροχρόνια αποθήκευση πλούσιων σε ενέργεια ουδέτερων λιπιδίων, κυρίως τριακυλογλυκερολών (τριγλυκεριδίων) και εστέρων χοληστερόλης. Τα λευκά λιποκύτταρα εμφανίζουν επίσης, ενδοκρινή λειτουργία, συνθέτοντας και εκκρίνοντας διάφορα βιοδραστικά μόρια.

Οι τρεις λοιπόν, βασικότερες λειτουργίες των λευκών λιποκυττάρων αφορούν στο μεταβολισμό των λιπιδίων, στο μεταβολισμό της γλυκόζης και στην παραγωγή και έκκριση πεπτιδίων με ποικίλες βιολογικές δράσεις.

3.7.3.1 Μεταβολισμός λιπιδίων

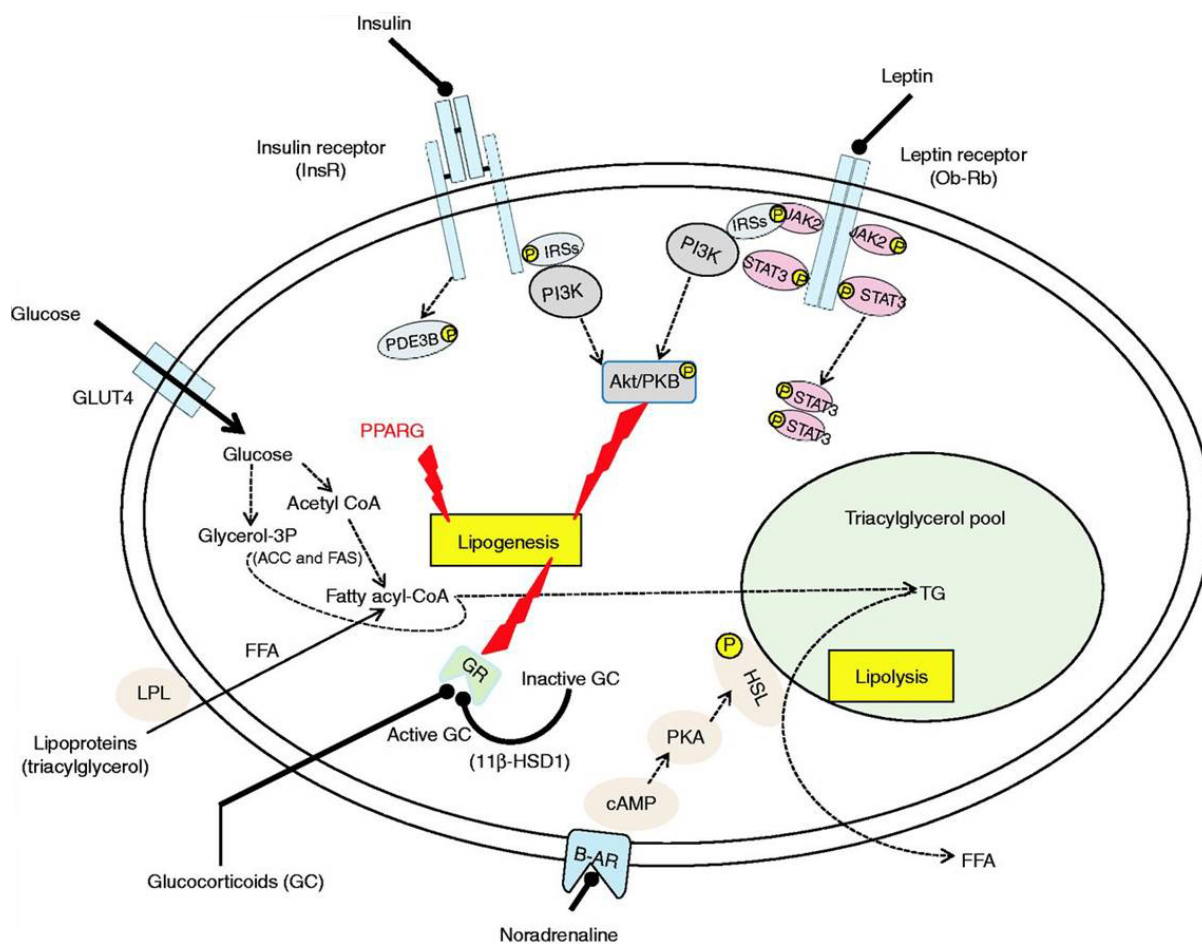
Ύστερα από κάθε γεύμα, τα λιποκύτταρα αποθηκεύουν προσωρινά τα προϊόντα της πέψης με τη μορφή τριγλυκεριδίων, τα οποία συντίθενται στο ίδιο το λιποκύτταρο από τρία μόρια λιπαρών οξέων και ένα μόριο γλυκερόλης, συνδεδεμένα με εστερικό δεσμό, και αποθηκεύονται στη λιποσταγόνα.

Ο μεταβολισμός των λιπιδίων ρυθμίζεται από τρεις βασικές κυτταρικές διεργασίες (Εικόνα 20):

- Την πρόσληψη λιπαρών οξέων
- Τη λιπογένεση (σύνθεση λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων)
- Τη λιπόλυση (υδρόλυση τριγλυκεριδίων)

Καθεμιά από τις παραπάνω μεταβολικές διαδικασίες μεταβάλλεται ανταποκρινόμενη σε εξωκυττάρια ερεθίσματα, όπως η ινσουλίνη, η κορτιζόλη, οι κατεχολαμίνες, η αυξητική ορμόνη, η τεστοστερόνη, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και οι κυτταροκίνες (Large, Peroni, Letexier, Ray, & Beylot, 2004).

Η διαδικασία της λιπόλυσης περιλαμβάνει τη σταδιακή υδρόλυση των τριγλυκεριδίων σε διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, και τελικά γλυκερόλη και λιπαρά οξέα. Συνήθως, η λιπόλυση είναι πλήρης, με προϊόντα τρία μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων και ένα μόριο γλυκερόλης, και καταλύεται από τρία ένζυμα, τη λιπάση των μονογλυκεριδίων (MonoGlyceride Lipase, MGL), που καταλύει την υδρόλυση των μονογλυκεριδίων σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα, την ορμονοευαίσθητη λιπάση (Hormone Sensitive Lipase, HSL), που καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων σε διγλυκερίδια και την υδρόλυση των διγλυκεριδίων σε μονογλυκερίδια, και την ειδική για το λιπώδη ιστό, λιπάση των τριγλυκεριδίων (Adipose Tissue specific Triglyceride Lipase, ATGL), που καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων σε διγλυκερίδια και λιπαρά οξέα. Κατά τη διάρκεια της λιπόλυσης, το μοναδικό ένζυμο που υφίσταται ορμονικό έλεγχο είναι η ορμονοευαίσθητη λιπάση, HSL.

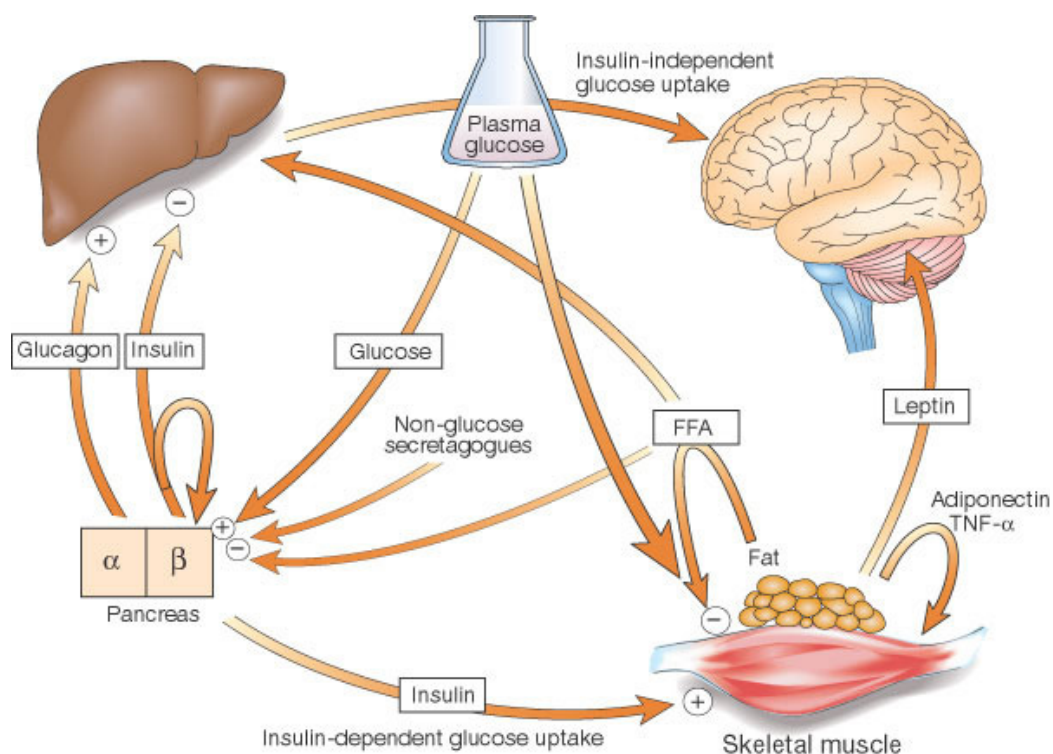


Εικόνα 20: Σχηματική απεικόνιση των βασικών βημάτων της λιπογένεσης και της λιπόλυσης στο λιποκύτταρο (Breton, 2012).

Η διαδικασία της λιπόλυσης υπόκειται στον αυστηρό και άμεσο έλεγχο των κατεχολαμινών, όπου μέσω των β-υποδοχέων τους επάγουν τη διαδικασία, ενώ μέσω των α-υποδοχέων τους την αναστέλλουν, με την ισορροπία αυτών των δύο δράσεων να τείνει τις περισσότερες φορές προς τη λιπόλυση. Επίσης, τα νατριουρητικά πεπτιδία είναι ισχυροί επαγωγείς της λιπόλυσης, ενώ η ινσουλίνη την αναστέλλει.

3.7.3.2 Μεταβολισμός γλυκόζης

Η κύρια ορμόνη που επηρεάζει την πρόσληψη της γλυκόζης από το λιποκύτταρο είναι η ινσουλίνη, όπου μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού PI3-Κίνase-Akt, σηματοδοτεί την εκτόπιση του ινσουλινοεξαρτώμενου μεταφορέα της γλυκόζης, GLUT4, στη μεμβράνη, και την πρόσληψη της γλυκόζης από το κύτταρο.



Εικόνα 21: Πρόσληψη και μεταβολισμός της γλυκόζης από τους ιστούς. Επίδραση της ινσουλίνης στη ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης πλάσματος (Saltiel & Kahn, 2001).

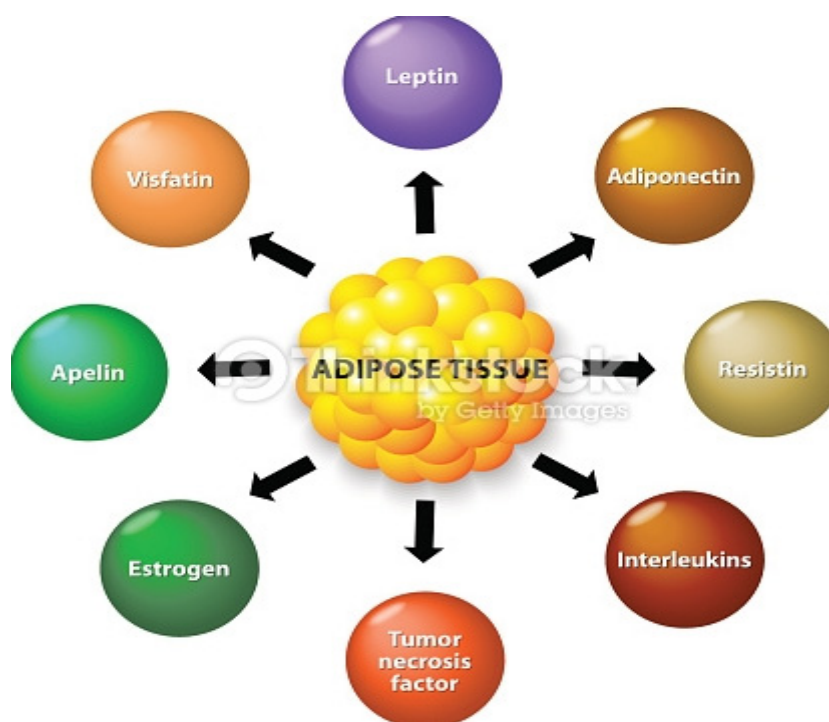
Στα λιποκύτταρα, η γλυκόζη, μέσω της γλυκόλυσης, παρέχει το υπόστρωμα για την *de novo* σύνθεση γλυκερόλης και λιπαρών οξέων, δηλαδή τη λιπογένεση. Κύρια πηγή της γλυκερόλης επίσης, αποτελεί ο μηχανισμός της γλυκερονεογένεσης. Η μεταβολική δράση των λιποκυττάρων επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και σε άλλους ιστούς. Η αυξημένη λιπόλυση των τριγλυκεριδίων επιδρά αρνητικά στην ηπατική κάθαρση της ινσουλίνης, αλλά και στην επαγόμενη από την ινσουλίνη καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης. Ενώ αντίθετα, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα προκαλούν υπεργλυκαιμία και ινσουλινοαντίσταση στους σκελετικούς μύες (Εικόνα 15) (Ducluzeau, Fletcher, Vidal, Laville, & Tavaré, 2002; Saltiel & Kahn, 2001).

3.7.3.3 Ενδοκρινής λειτουργία

Ο λιπώδης ιστός είναι ένα πραγματικό ενδοκρινικό εργοστάσιο το οποίο παράγει και σηματοδοτεί μηνύματα για την όρεξη, τον κορεσμό, την κατανάλωση ενέργειας, την ευαισθησία στην ινσουλίνη, την ενδοκρινή και αναπαραγωγική λειτουργία, τον μεταβολισμό των οστών, την φλεγμονή αλλά και την ανοσία. Συνεπώς, τα λιποκύτταρα αποτελούν πηγή πολλών βιοδραστικών μορίων,

επηρεάζοντας έτσι τη λειτουργία πολλών οργάνων και ιστών, συμπεριλαμβανομένου και του ίδιου του λιπώδους ιστού, με αυτοκρινή, παρακρινή και ενδοκρινή τρόπο. Σημαντικός αριθμός προϊόντων των λιποκυττάρων εισέρχονται στην κυκλοφορία, και έχουν ενδοκρινή δράση, μολονότι οι περισσότεροι παράγοντες που εκκρίνονται από τα λιποκύτταρα ρυθμίζουν το μεταβολισμό αυτών με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο.

Η παραγωγή μεγάλου αριθμού κυτταροκινών από το λιπώδη ιστό, καθώς και η δομική ομοιότητα ορισμένων από τα πρωτεϊνικά προϊόντα του με τις κυτταροκίνες, οδήγησαν στην επικράτηση του όρου «*λιποκίνες*» για τα πεπτιδικά προϊόντα του λιπώδους ιστού (Trayhurn & Beattie, 2001).

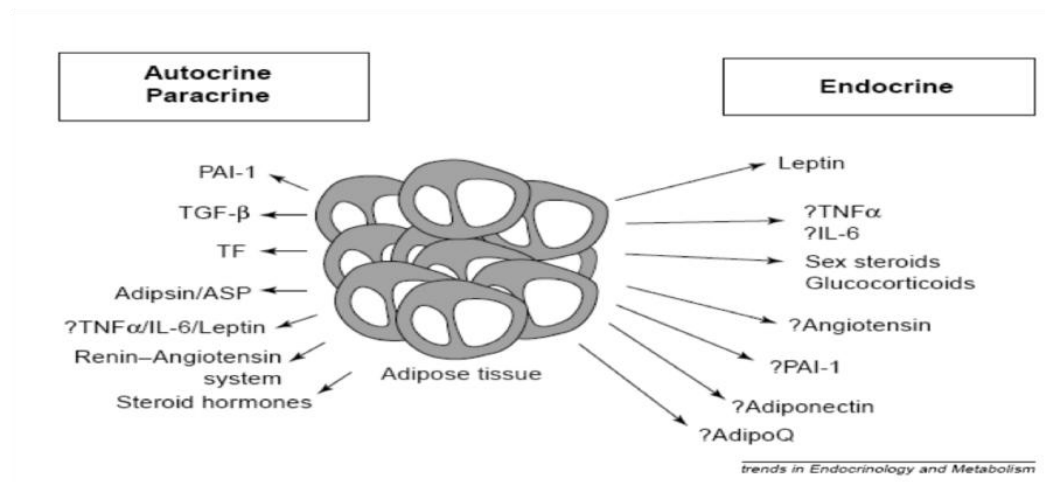


Εικόνα 22: Ενδοκρινής λειτουργία του λιποκυττάρου.

3.8 Λιπώδης ιστός ως ενδοκρινές όργανο

Πρόσφατα, ο λιπώδης ιστός αναγνωρίστηκε ως ένα ενδοκρινές όργανο με παρακρινή και ενδοκρινή δράση, που εκκρίνει αντιποκίνες όπως τη λεπτίνη, την αντιπονεκτίνη και τη ρεζιστίνη, πρωτεΐνες του συμπληρώματος (π.χ. αδιψίνη), πρωτεΐνες οξείας φάσης (π.χ. PAI, CRP) και προφλεγμονώδεις παράγοντες, όπως τον TNFα, την IL-6 και το MCP-1. Όλα τα παραπάνω πεπτιδικά είναι γνωστά και ως *λιποκίνες* και έχουν μία ποικιλία τοπικών, περιφερικών και κεντρικών επιδράσεων. Οι λιποκίνες ίσως λειτουργούν ως ρυθμιστές του μεταβολισμού (λεπτίνη,

λιπονεκτίνη, ρεζιστίνη, απελίνη, ομεντίνη) ή ως ρυθμιστές φλεγμονής (TNF- α , ιντερλευκίνη-6, αδιψίνη, πρωτεΐνη που επάγει την ακετυλίωση, βισφατίνη, ανασταλτικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου τύπου 1) (Huerta, 2006). Με τον όρο λιποκίνες λοιπόν, περιγράφονται όλα τα πρωτεϊνικής φύσεως μόρια, που συντίθενται και εκκρίνονται από τα λιποκύτταρα.



Εικόνα 23: Ενδοκρινείς και παρακρινείς λιποκίνες.

Οι λιποκίνες παρουσιάζουν δομική και λειτουργική ετερογένεια, περιλαμβάνοντας κλασικές κυτταροκίνες, χημειοκίνες, πρωτεΐνες της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος, πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην αγγειακή αιμόσταση, τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, την ομοιόσταση της γλυκόζης, τη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής, αλλά και την αγγειογένεση, καθώς και κάποια νεότερα μόρια.

3.8.1 Λεπτίνη

Η λεπτίνη είναι μία πρωτεϊνική ορμόνη 16 kDa, που ρυθμίζει την ενεργειακή πρόσληψη, συμπεριλαμβανομένης της όρεξης, της πείνας, του μεταβολισμού και της συμπεριφοράς. Κωδικοποιείται από το γονίδιο *ob* (Zhang et al., 1994), ενώ η ετυμολογία της προέρχεται από την ελληνική λέξη «λεπτός». Είναι μία πρωτεΐνη 167 αμινοξέων, με αλληλουχία αμινοτελικού εκκριτικού σήματος 21 αμινοξέων. Η αλληλουχία του σήματος είναι λειτουργική και έχει ως αποτέλεσμα τη μετατόπιση της λεπτίνης στα μικροσώματα, με την επακόλουθη αφαίρεση του σήματος του πεπτιδίου. Επομένως, η λεπτίνη κυκλοφορεί στο αίμα ως πρωτεΐνη 146 αμινοξικών καταλοίπων.

Ο λευκός λιπώδης ιστός είναι η βασική περιοχή σύνθεσης της λεπτίνης, αλλά είναι πλέον εμφανές από πρόσφατες μελέτες ότι παράγεται επίσης, και σε άλλους ιστούς, όπως στον πλακούντα, τις ωοθήκες, τους σκελετικούς μύες, το στομάχι, την υπόφυση και το ήπαρ. Το επίπεδο του *ob* mRNA στο λευκό λιπώδη ιστό και η συγκέντρωση της κυκλοφορούσας λεπτίνης αυξάνονται αξιοσημείωτα στην παχυσαρκία, όπως φαίνεται από μελέτες σε ανθρώπους και αρκετά είδη παχύσαρκων ζώων (Considine et al., 1996; Fruhbeck, Aguado, & Martinez, 1997). Πράγματι, στους ανθρώπους παρατηρείται υψηλή συσχέτιση ανάμεσα στο δείκτη μάζας-σώματος και την κυκλοφορούσα λεπτίνη. Επομένως, όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό του λιπώδους ιστού, τόσο υψηλότερο είναι το επίπεδο της ορμόνης. Επιπλέον, το μέγεθος των λιποκυττάρων φαίνεται να είναι άλλος ένας μείζων καθοριστικός παράγοντας της έκφρασης του γονιδίου της λεπτίνης.

Ο ρόλος της είναι πολλαπλός. Οι δράσεις της αφορούν σε ποικίλους βιολογικούς μηχανισμούς, όπως στην αναπαραγωγή (έναρξη της ήβης στον άνθρωπο), στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απόκριση, στην αιμοποίηση, στην αγγειογένεση, στο σχηματισμό οστού, και στην επούλωση τραυμάτων. Σημαντικότερη, όμως, θεωρείται η δράση της ως ρυθμιστής της ενεργειακής ομοιόστασης και του σωματικού βάρους, αλλά και ως αναστολέας της πρόσληψης τροφής. Δρώντας στους υποδοχείς της στον υποθάλαμο, επάγει την παραγωγή ανορεξιογόνων πεπτιδίων, όπως η προοπιομελανοκορτίνη (POMC) και τα ρυθμιζόμενα από την κοκαΐνη και αμφεταμίνη μετάγραφα (CART), ενώ αναστέλλει την παραγωγή ορεξιογόνων πεπτιδίων, όπως το νευροπεπτίδιο Y και η Agouti-related protein (AgRP).

Επιπροσθέτως, η λεπτίνη ελαττώνει τα ενδοκυττάρια επίπεδα των λιπιδίων στους σκελετικούς μύες, στο ήπαρ και στα β-κύτταρα του παγκρέατος, με αποτέλεσμα να βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Στο ήπαρ, η ευαισθησία στην ινσουλίνη επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης της PI3K, ενώ στους μύες μέσω αναστολής του malonyl-CoA (παράγωγο συνενζύμου A του μαλονικού οξέος), αυξάνοντας τη μεταφορά λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια για να υποστούν β-οξειδωση. Η λεπτίνη έχει επίσης, σημαντική επίδραση στη λειτουργία του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων, καθώς σχετίζεται με τα επίπεδα LH, FSH και ανδρογόνων στην κυκλοφορία.

Όσον αφορά στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης και της φλεγμονής, η λεπτίνη αποτελεί σημαντικό μεσολαβητή φλεγμονωδών διαδικασιών και νόσων με ανοσολογικό υπόβαθρο. Θεωρείται ότι είναι μία φλεγμονώδης λιποκίνη, η οποία εμφανίζει δομική ομοιότητα με άλλες φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη-6, η ιντερλευκίνη-12 και ο παράγοντας διέγερσης αποικιών

κοκκιοκυττάρων (Granulocyte Colony Stimulating Factor, G-CSF). Η παχυσαρκία, καθώς και η παρουσία άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών, πιθανότατα αποτελούν σημαντικούς παράγοντες αύξησης της σύνθεσης της λεπτίνης.

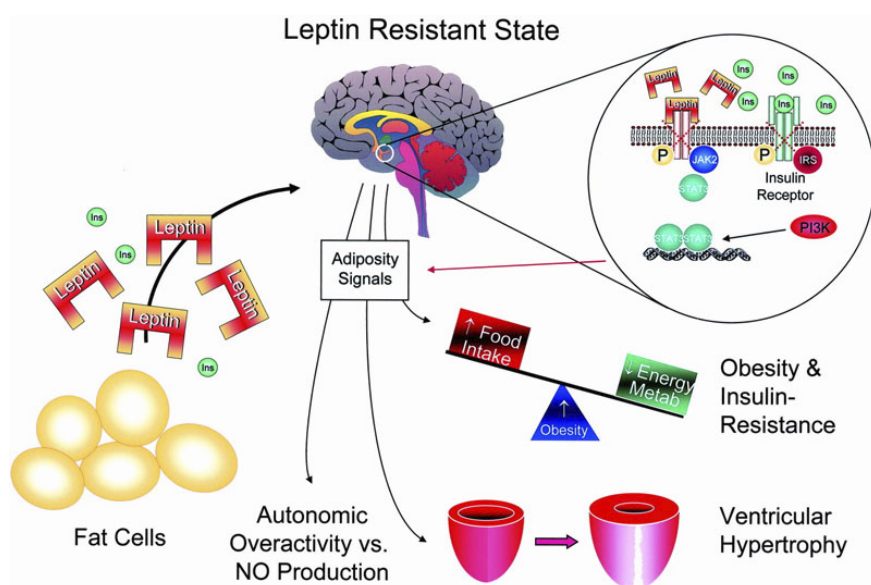
Οι υποδοχείς της λεπτίνης εκφράζονται σε πολλές θέσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως στους υποθαλαμικούς πυρήνες, στον ιππόκαμπο, στο εγκεφαλικό στέλεχος, στην παρεγκεφαλίδα, στην αμυγδαλή, και στη μέλαινα ουσία. Η λεπτίνη φαίνεται πως έχει την ικανότητα μεταβολής της διεγερσιμότητας αυτών των νευρώνων με συναπτικούς και μη συναπτικούς μηχανισμούς. Επίσης, η λεπτίνη μπορεί να επηρεάσει την πλαστικότητα των συνάψεων.

Επιπλέον, η λεπτίνη αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της αναπαραγωγικής λειτουργίας, επηρεάζοντας άμεσα τα όργανα του γεννητικού συστήματος. Όσον αφορά στην οστική διαμόρφωση, η λεπτίνη επιδρά με δύο διαφορετικούς τρόπους. Επιδρώντας στον υποθάλαμο και αυξάνοντας την έκφραση του CART, αναστέλλει τη διαφοροποίηση και ωρίμανση των οστεοκλαστών, και επομένως την απορρόφηση του οστού. Αντίθετα, επιδρώντας στον υποθάλαμο και αυξάνοντας τη διέγερση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, επάγει τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών, μέσω των β-αδρενεργικών υποδοχέων, και την απορρόφηση οστού.

Η λεπτίνη, επιπλέον, λειτουργεί ως ρυθμιστής της αρτηριακής πίεσης, επάγοντας την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή και αντισταθμίζει τη δράση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα την ασήμαντη μεταβολή της αρτηριακής πίεσης μετά από χορήγηση της συγκεκριμένης λιποκίνης. Παρόλα αυτά, μετά από χρόνια χρήση λεπτίνης, πιθανότατα μπορεί να εκδηλωθεί αρτηριακή υπέρταση. Σε χρόνια υπερλεπτιναιμία, λοιπόν, επικρατεί η αγγειοσυσπαστική δράση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος έναντι της αγγειοδιασταλτικής του NO. Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης επηρεάζουν αρνητικά τη λειτουργία του ενδοθηλίου και αυξάνουν το οξειδωτικό stress. Η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και ενδοθηλίνης-1 οδηγούν σε περαιτέρω αύξηση της αρτηριακής πίεσης.

Η πλειοψηφία των υπέρβαρων ατόμων εμφανίζει υψηλά επίπεδα λεπτίνης, τα οποία δεν καταστέλλουν την όρεξη και δεν ελέγχουν το σωματικό βάρος. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται *αντίσταση στη λεπτίνη*, και κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθολογία της παχυσαρκίας (Εικόνα 24). Η μοριακή βάση της αντίστασης δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Έχει παρατηρηθεί ότι μη λειτουργικοί υποδοχείς (π.χ λόγω μεταλλάξεων) συχνά ευθύνονται για το φαινόμενο αυτό (Sader, Nian, & Liu, 2003).

Πολλοί παράγοντες εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκκρισης και της σύνθεσης της λεπτίνης, καθώς ρυθμιστικά στοιχεία πολλών μεταγραφικών παραγόντων έχουν βρεθεί στον υποκινητή του γονιδίου *ob*. Σε γενικές γραμμές, τα επίπεδα της λεπτίνης αυξάνονται ανάλογα με τη μάζα του λιπώδους ιστού. Τα οιστρογόνα, επίσης, αυξάνουν την έκφρασή της, ενώ η τεστοστερόνη την ελαττώνει, με αποτέλεσμα οι άνδρες να εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης από τις γυναίκες. Τα γλυκοκορτικοειδή, η οξεία φλεγμονή και οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες αυξάνουν τη λεπτίνη, ενώ η έκθεση στο κρύο, η νηστεία, το κάπνισμα και η αυξητική ορμόνη την ελαττώνουν. Τα επίπεδα της λεπτίνης επηρεάζονται αρνητικά από τις θυρεοειδικές ορμόνες, τη μελατονίνη, τις θειαζολιδινοδιόνες και την αδρενεργική επαγωγή. Ο βασικότερος ρυθμιστής της λεπτίνης δείχνει να είναι το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, και οι κατεχολαμίνες οδηγούν σε ελάττωση της σύνθεσής της και των επιπέδων της στο αίμα.



Εικόνα 24: Αντίσταση στην λεπτίνη. (Sader et al., 2003)

3.8.2 Ρεζιστίνη

Η ρεζιστίνη ανακαλύφθηκε το 2001 από τον Mitchell A. Lazar και την ομάδα του στην ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου της Πενσυλβάνια των ΗΠΑ. Ονομάστηκε ρεζιστίνη λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη, που εμφάνιζαν ποντίκια που είχαν ενεθεί με αυτή (Αγγλ. resist = Ελλ. αντιστέκομαι). Στον άνθρωπο, το προ-πεπτίδιο της ρεζιστίνης αποτελείται από 108 αμινοξέα (στον ποντικό και τον αρουραίο είναι 114 αμινοξέα), το οποίο έπειτα από επεξεργασία, μετατρέπεται στο ώριμο πεπτίδιο των 92 αμινοξέων. Στο αίμα, η ρεζιστίνη

κυκλοφορεί ως ομοδιμερές με τα δύο ώριμα πεπτίδια να συνδέονται μέσω δισουλφιδικού δεσμού.

Κυκλοφορεί σε δύο μορφές: πιο συχνά ως εξαμερές μεγάλου μοριακού βάρους, και λιγότερο συχνά στην περισσότερη δραστική, χαμηλού μοριακού βάρους, μορφή. Το mRNA που κωδικοποιεί τη ρεζιστίνη εντοπίζεται σε πολλούς ιστούς, όπως ο λιπώδης ιστός, ο υποθάλαμος, τα επινεφρίδια, ο σπλήνας, οι σκελετικοί μύες, το πάγκρεας και ο πεπτικός σωλήνας. Στον άνθρωπο, τα κύτταρα, τα οποία σχετίζονται με τη σύνθεση της είναι τα λιποκύτταρα, τα μυϊκά, τα παγκρεατικά και τα μονοκύτταρα, όπως τα μακροφάγα. Βέβαια, δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως ποιος τύπος κυττάρων είναι κυρίως υπεύθυνος για την παραγωγή και τα υψηλά επίπεδα της κυκλοφορούσας πρωτεΐνης στον άνθρωπο. Η ανθρώπινη ρεζιστίνη εμφανίζει 55% ταυτοσημία ως προς την αντίστοιχη ρεζιστίνη του ποντικού, γεγονός που αποδεικνύει ότι δεν έχει συντηρηθεί ιδιαίτερα κατά την εξελικτική πορεία των ειδών (Kusminski, McTernan, & Kumar, 2005).

Ο ακριβής φυσιολογικός ρόλος της ρεζιστίνης δεν είναι ακόμα γνωστός. Αρχικές μελέτες σε ποντίκια, έδειξαν ότι πιθανότατα υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και της συγκέντρωσης της ρεζιστίνης. Έτσι, η ρεζιστίνη θεωρήθηκε ως ο συνδετικός κρίκος μεταξύ παχυσαρκίας και διαβήτη τύπου II (Steppan et al., 2001). Πρόσφατες μελέτες σε πειραματόζωα κατέδειξαν ως πιθανότερο στόχο δράσης της ρεζιστίνης το ήπαρ, προκαλώντας ηπατική αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, με δευτερεύουσα τη δράση στη περιφέρεια, στους σκελετικούς μύες και στο λιπώδη ιστό. Είναι πλέον γνωστό ότι η δράση της στον άνθρωπο αφορά κυρίως στην ανοσία, τη φλεγμονή και την ινσουλινοαντίσταση (Flier, 2001).

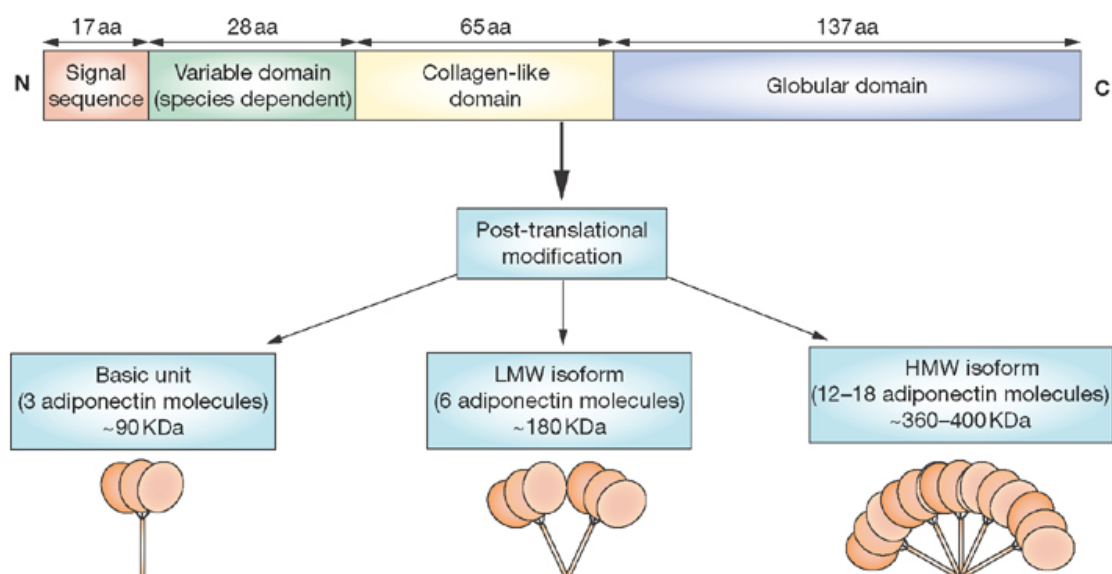
Η ρεζιστίνη επάγει την έκφραση των TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) και IL-6 σε ανθρώπινα μονοκύτταρα του περιφερικού συστήματος, ενώ προκαλεί αρθρίτιδα ενιόμενη σε αρθρώσεις πειραματόζωων. Η φλεγμονώδης δράση της γίνεται διαμέσου της πρωτεΐνης NF- κ B. Η υπερπαραγωγή της ρεζιστίνης από το λιπώδη ιστό ευθύνεται για τα αυξημένα επίπεδα της ουσίας στον ορό, ενώ παραμένει αδιευκρίνιστη η κύρια κυτταρική προέλευσή της, καθώς παράγεται τόσο από λιποκύτταρα, όσο και από προλιποκύτταρα και μακροφάγα.

Η έκφραση της ρεζιστίνης στα ανθρώπινα μονοκύτταρα σε επίπεδο mRNA αυξάνεται σημαντικά υπό την επίδραση φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-6, TNF- α , LPS), ενώ η ιντερφερόνη- γ (IFN- γ) και η λεπτίνη δεν έχουν καμία επίδραση στην έκφραση της ρεζιστίνης. Η αυξητική ορμόνη, τα γλυκοκορτικοειδή και τα ανδρογόνα αυξάνουν τα επίπεδα της λιποκίνης. Αντίθετα, οι θυρεοειδείς ορμόνες, η αδρεναλίνη, η ενεργοποίηση του β 3-αδρενεργικού υποδοχέα και η

ενδοθηλίνη-1 επηρεάζουν αρνητικά την έκφραση και απελευθέρωση της ρεζιστίνης. Η ρύθμισή της εμφανίζει διαφορές μεταξύ ζωικών μοντέλων και ανθρώπων.

3.8.3 Αντιπονεκτίνη

Η αντιπονεκτίνη (αναφέρεται επίσης ως GBP-28, apM1, AdipoQ, Acrp30) είναι μία πρωτεΐνη, η οποία στους ανθρώπους κωδικοποιείται από το γονίδιο *ADIPOQ*, παράγεται από τον λευκό λιπώδη ιστό και έχει πολλές ευεργετικές δράσεις στον οργανισμό. Αποτελείται από μία αμινοτελική σηματοδοτούμενη αλληλουχία (17 αμινοξέων), μία διαφοροποιούμενη περιοχή (28 αμινοξέων), μία περιοχή που ομοιάζει με το κολλαγόνο (65 αμινοξέων) και μία σφαιρική καρβοξυτελική περιοχή (137 αμινοξέων), η οποία ομοιάζει με τον παράγοντα συμπληρώματος C1q (Εικόνα 25). Η λιποκίνη αυτή απαντά σε τέσσερις ισομορφές τόσο σε μορφή πλήρους μήκους ως (1) τριμερές (LMW), (2) εξαμερές (MMW) και (3) υψηλού μοριακού βάρους (HMW) αποτελούμενο από δύο τριμερή συνδεδεμένα με δισουλφιδικό δεσμό, και ως υψηλού μοριακού βάρους 12- έως 18-μερές όσο και ως κλάσμα πρωτεολυτικής διάσπασης στην (4) σφαιροειδή της μορφή (Εικόνα 24).



Εικόνα 25: Δομικές περιοχές της αντιπονεκτίνης. (Goldstein, Scalia, & Ma, 2009)

Η σύνθεση της αντιπονεκτίνης γίνεται κυρίως στα λιποκύτταρα, όμως εκφράζεται και σε σκελετικά μυϊκά κύτταρα, σε μυοκαρδιακά και ενδοθηλιακά. Τα επίπεδά της είναι μειωμένα σε άτομα με σπλαχνική παχυσαρκία, καθώς και σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης. Εκτιμάται πως έχει ποικίλες δράσεις και

διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ευαισθησίας της ινσουλίνης, στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιόστασης, στην αγγειακή επανεργοποίηση, στη φλεγμονή, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στην ανακατασκευή των ινών. Οι δράσεις αυτές επιτυγχάνονται μέσω των υποδοχέων της, ADIPOR1 και ADIPOR2, οι οποίοι αποτελούνται από επτά διαμεμβρανικές αλληλουχίες, και ανήκουν στην οικογένεια των G-συνδεδεμένων πρωτεϊνών (GPCRs). Ο ADIPOR1 υποδοχέας εκφράζεται σε πολλούς ιστούς και ενεργοποιείται κυρίως από την σφαιρική περιοχή. Ο ADIPOR2 υποδοχέας εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ και η ενεργοποίησή του σχετίζεται με την πλήρους μήκους μορφή της αντιγονεκτίνης (Kadowaki & Yamauchi, 2005).

Με τη μέθοδο της έκφρασης κλωνοποιημένων γονιδίων, η *T-cadherin*, αναγνωρίστηκε ως πιθανός υποδοχέας της αντιγονεκτίνης. Οι μεσαίου και μεγάλου μοριακού βάρους αντιγονεκτίνες φαίνεται να ενεργοποιούν τον υποδοχέα αυτόν, δρώντας στην καρδιά, στους λείους μύες και στο ενδοθήλιο των αγγείων, στα οποία εκφράζεται και η *T-cadherin* (Hug et al., 2004).

Η αντιγονεκτίνη έχει αποδειχθεί πως ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αναστέλλει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, που επάγεται από τον TNF- α . Αναστέλλει επίσης, την ενεργοποίηση του NF- κ B στα ενδοθηλιακά κύτταρα και παρεμποδίζει τη λειτουργία των μακροφάγων. Βέβαια, υπάρχουν δεδομένα για το φλεγμονώδη ρόλο κάποιων μορφών της αντιγονεκτίνης. Η υψηλού μοριακού βάρους λιπονεκτίνη ενισχύει την παραγωγή της ιντερλευκίνης-8 σε μακροφάγα, αλλά και η χαμηλού και μεσαίου μοριακού βάρους εμφανίζουν παρόμοιες δράσεις σε μονοκύτταρα.

Η πιο σημαντική δράση της είναι η ρύθμιση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Τα πρώτα στοιχεία της δράσης αυτής προήλθαν από τον Fruebi και την ομάδα τους το 2001, όπου έδειξαν ότι χορήγηση της σφαιροειδούς περιοχής της λιπονεκτίνης σε ποντίκια, μπορούσε να μειώσει τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα μεταγευματικά, καθώς και τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων μέσω β -οξειδωσης των λιπαρών οξέων από τους σκελετικούς μύες. Επίσης, η αντιγονεκτίνη ενεργοποιεί τους μεταγραφικούς παράγοντες Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs), οι οποίοι παίζουν ρόλο στην ευαισθησία της ινσουλίνης και της λιπογένεσης, και ενεργοποιεί και την AMP-κινάση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση των τριγλυκεριδίων στους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ, όπως και την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη στους ιστούς αυτούς και τον οργανισμό γενικότερα. Η AMP-κινάση φαίνεται να συμμετέχει και στην πρόσληψη της γλυκόζης από τα λιποκύτταρα (Fruebis et al., 2001; Tomas et al., 2002; Yamauchi et al., 2002).

Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη ενδέχεται να συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης, παρεμποδίζοντας το σχηματισμό νεόπλαστου έσω χιτώνα μετά από τραυματισμό των αγγείων. Επίσης, περιορίζει την αθηρογένεση στην περίπτωση ανεπαρκούς σύνθεσης της ApoE απολιποπρωτεΐνης. Επομένως, χαμηλά επίπεδα αντιπονεκτίνης αυξάνουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης (T. Kawano et al., 2005).

Τέλος, η αντιπονεκτίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή της δραστηριότητας των μακροφάγων, όχι μόνο στο λιπώδη ιστό, αλλά και σε άλλους ιστούς, όπως το ήπαρ. Η ελαττωμένη σύνθεσή της, που παρατηρείται στην παχυσαρκία, πιθανότατα απορρυθμίζει τον έλεγχο και την αναστολή της έκφρασης φλεγμονωδών κυτταροκινών, και επομένως να οδηγεί σε αυξημένη σύνθεση φλεγμονωδών μεσολαβητών (Neumeier et al., 2006). Πολυμορφισμοί που έχουν χαρακτηριστεί στο γονίδιο της αντιπονεκτίνης και οδηγούν σε μειωμένη έκφρασή της (Hypoadiponectemia) συσχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη, διαβήτη και καρδιοαγγειακές παθήσεις, ενώ πολυμορφισμοί στους υποδοχείς της αντιπονεκτίνης σχετίζονται με το διαβήτη.

3.8.4 Βισφατίνη

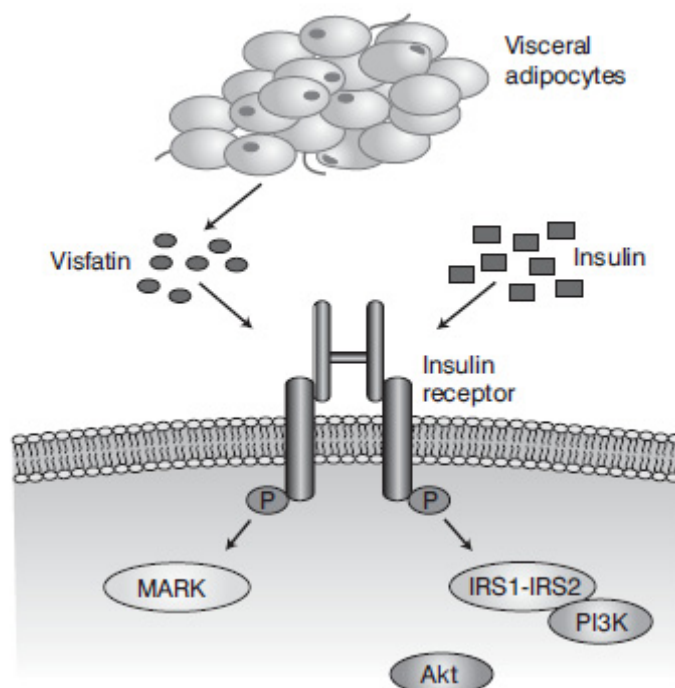
Το 2005 ανακαλύφθηκε ο παράγοντας PBEF (Pre-B cell colony-Encancing Factor), ή αλλιώς Nampt (NicotinAMide PhosphoribosylTranferase), ή πιο απλά βισφατίνη (visfatin, visceral fat), που είναι ένας αυξητικός παράγοντας των πρώιμων β-λεμφοκυττάρων, ο οποίος εκτός από το μυελό των οστών, το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες, εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα και στον σπλαχνικό λιπώδη ιστό, όπου και πήρε το όνομά του. Τα επίπεδα της βισφατίνης φαίνεται να αντιπροσωπεύουν τη μάζα του σπλαχνικού λίπους και είναι αυξημένα κατά την παχυσαρκία.

Είναι μία πρωτεΐνη 52 kDa, και ο ρόλος της φαίνεται να είναι διπτός, δεδομένου ότι δρα τόσο παρακρινικά στο λιπώδη ιστό όσο και ενδοκρινικά στα περιφερικά όργανα. Ειδικότερα, η παρακρινική της δράση στο σπλαχνικό λίπος έγκειται στη διαφοροποίηση των πρόδρομων λιποκυττάρων σε ώριμα, καθώς και στην, μέσω της προαγωγής της μεταφοράς γλυκόζης στα κύτταρα, αύξηση του λίπους που συμβάλλει στην ενίσχυση της λιπογένεσης. Η ενδοκρινική δράσης της βισφατίνης στα περιφερικά όργανα αφορά στην αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Πιο συγκεκριμένα, προωθεί την αύξηση της γλυκόζης στα μυϊκά και λιπώδη κύτταρα, ενώ παράλληλα αναστέλλει τη γλυκονεογένεση στο ήπαρ, μέσω της σύνδεσής της με τον υποδοχέα ινσουλίνης και την ενίσχυση φωσφορυλίωσής

του (Εικόνα 26). Η βισφατίνη, ωστόσο, δε δρα ανταγωνιστικά ως προς την ινσουλίνη, αλλά σαν ινσουλινομιμούμενη πρωτεΐνη, αφού με ενδοφλέβια χορήγησή της μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της γλυκόζης, μη επηρεάζοντας τα επίπεδα της ινσουλίνης. Προσδένεται στον υποδοχέα της ινσουλίνης, σε διαφορετική όμως περιοχή, ενεργοποιεί το μονοπάτι της ινσουλίνης, σηματοδοτώντας την πρόσληψη της γλυκόζης από τα λιποκύτταρα, και με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται η ινσουλινομιμούμενη δράση της (K. G. Murphy & Bloom, 2006). Αξίζει να αναφερθεί ότι μελέτες σε μύες ζώων έδειξαν πως η πλήρης (ομόζυγη) έλλειψη του γονιδίου της βισφατίνης (knock out model) ήταν ασύμβατη με τη ζωή, ενώ τα ετερόζυγα ζώα ήταν μεν βιώσιμα, παρουσίασαν όμως υπεργλυκαιμία.

Στα πλαίσια της ενδοκρινικής της δράσης, μπορεί να ενταχθεί και η συμμετοχή της στη διεργασία της φλεγμονής, όπως τεκμηριώνεται από τα παρακάτω:

- Εκκρίνεται από ενεργοποιημένα β-λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα.
- Διεγείρει τη διαφοροποίηση πρόδρομων β-λεμφοκυττάρων.
- Προάγει την έκκριση της ιντερλευκίνης-6 και της ιντερλευκίνης-8.
- Αυξάνει το χρόνο ζωής των ουδετερόφιλων σε σηπτικές καταστάσεις.



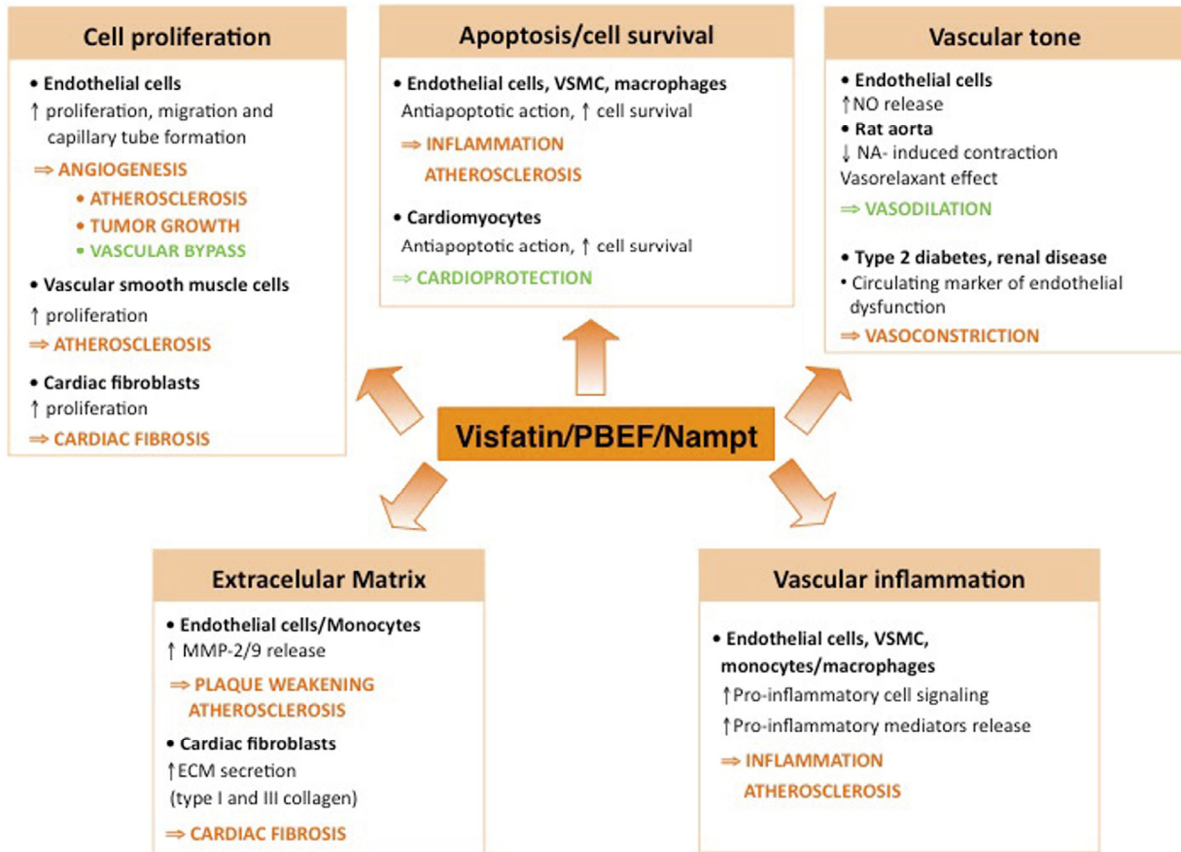
Εικόνα 26: Η βισφατίνη συνδέεται και ενεργοποιεί τον ίδιο υποδοχέα με την ινσουλίνη για την πρόσληψη της γλυκόζης (K. G. Murphy & Bloom, 2006).

Τα επίπεδα της βισφατίνης στην παχυσαρκία παρουσιάζονται σταθερά αυξημένα. Η παχυσαρκία με τη σειρά της, και ειδικότερα η αύξηση του σπλαχνικού λίπους, έχει θεωρηθεί μία κατάσταση «χρόνιας λανθάνουσας φλεγμονής», που συμβάλλει στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη, η οποία προδιαθέτει την εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη τύπου II.

Τα επίπεδα της βισφατίνης βρίσκονται αυξημένα και στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Αυτό μπορεί να υποδηλώνει εξασθένηση της δράσης της στους ιστούς (αντίσταση), αυξημένη αποικοδόμηση ή ακόμη απάντηση του οργανισμού στην υπεργλυκαιμία, υπερινσουλιναίμια και στην αυξημένη κυκλοφορία άλλων λιποκυτταροκινών.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση της βισφατίνης στο πλάσμα σχετίζονται κυρίως με σωματομετρικές παραμέτρους. Η αύξηση του δείκτη μάζας-σώματος (BMI), της περιφέρειας της μέσης και του ποσοστού λίπους στο σώμα φαίνεται να αυξάνουν και τη δική της συγκέντρωση στο πλάσμα. Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί ότι ο λόγος της περιφέρειας της μέσης προς τη περιφέρεια των ισχίων (WHR) δε φαίνεται να συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τις τιμές της στο αίμα. Δε διαπιστώθηκε, επίσης, συσχέτιση μεταξύ της βισφατίνης και διαφόρων παραμέτρων, που αφορούν στην ευαισθησία στην ινσουλίνη, όπως η ινσουλίνη νηστείας, η γλυκόζη νηστείας, καθώς και ο ρυθμός έγχυσης της γλυκόζης στα κύτταρα σε ευγλυκαιμική-υπερινσουλιναίμια κατάσταση (clamp). Επιπλέον, η συγκέντρωσή της είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροφής, την ηλικία, το φύλο, και τέλος από την αναστολή έκκρισης των υπόλοιπων λιποκυτταροκινών.

Είναι απαραίτητο να επισημανθεί η διαφορά μεταξύ της συγκέντρωσης της βισφατίνης στο πλάσμα και της έκφρασης του γονιδίου της στο λιπώδη ιστό. Μπορεί η έκφραση του mRNA να είναι ίδια τόσο στο σπλαχνικό όσο και στο υποδόριο λίπος, ωστόσο, τα επίπεδα της ορμόνης στο πλάσμα καθορίζονται μόνο από την έκφρασή της στο σπλαχνικό λίπος. Ουσίες που επηρεάζουν την έκφραση των άλλων λιποκυτταροκινών φαίνεται πως επηρεάζουν και την έκφραση της βισφατίνης. Πιο συγκεκριμένα, η δεξαμεθαζόνη αυξάνει τα επίπεδα του mRNA της, ενώ η ισοπροτερενόλη, η αυξητική ορμόνη (GH), ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α) και η ιντερλευκίνη-6 προκαλούν τη μείωσή τους με δόσοεξαρτώμενο τρόπο.



Εικόνα 27: Κύριες δράσεις της βισφατίνης (Peiro, Romacho, Carraro, & Sanchez-Ferrer, 2010).

3.8.5 Απελίνη

Η απελίνη είναι μία πρωτεΐνη, η οποία αναγνωρίστηκε ως ενδογενής υποκαταστάτης του ορφανού, ως το 1998, APJ υποδοχέα, όπου σε αυτόν οφείλει και το όνομά της (APJ-endogenous ligand) (Tatemoto et al., 1998). Η λιποκίνη αυτή αρχικά απομονώθηκε ως πεπτίδιο 36 αμινοξέων, που ονομάζεται απελίνη-36 (προ-απελίνη). Η απελίνη εκφράζεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε περιφερικούς ιστούς, όπως η καρδιά, οι πνεύμονες και οι μαζικοί αδένες. Μάλιστα, η εκτεταμένη έκφρασή της στους περιφερικούς ιστούς σχετίζεται με τη σύνθεσή της από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων.

Στον άνθρωπο, το γονίδιο της απελίνης εντοπίζεται στο μεγάλο βραχίονα του Χ χρωμοσώματος και κωδικοποιεί ένα προ-προ-πεπτίδιο 77 αμινοξέων. Όπως προαναφέρθηκε, η απελίνη προέρχεται από την απελίνη-36, ύστερα όμως από μετα-μεταφραστική τροποποίηση μετατρέπεται σε απελίνη-17 και απελίνη-13, όπου είναι τα ενεργά πεπτίδια της απελίνης και εμφανίζουν πιο ισχυρή δράση από την απελίνη-36. Η απελίνη-13 βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο

πλάσμα από ότι η απελίνη-17. Το ένζυμο ACE2 (Angiotensin Converting Enzyme 2) μεταβολίζει την απελίνη, και απενεργοποιεί τις απελίνη-13 και απελίνη-36, διαχωρίζοντας το καρβοξυλικό άκρο της φαινυλαλανίνης από το μόριο της απελίνης-36 και της απελίνης-13, μετατρέποντας τα σε βιολογικά ανενεργά μόρια (O'Carroll, Lolait, Harris, & Pope, 2013).

Τα λιποκύτταρα και το αγγειακό-στρωματικό κλάσμα του λιπώδους ιστού έχουν επίσης αναγνωρισθεί ως πηγές σύνθεσης της απελίνης. Η λιποκίνη εκφράζεται περισσότερο στο λευκό λιπώδη ιστό από ότι στο φαιό. Η σύνθεσή της αυξάνεται κατά τη διαφοροποίηση των προλιποκυττάρων, ενώ εκκρίνεται σε σημαντικά ποσά από τα ώριμα λιποκύτταρα. Επίσης, η έκφραση της απελίνης, καθώς και τα επίπεδά της στο πλάσμα, είναι αυξημένα σε μοντέλα παχυσαρκίας με υπερινσουλιαιμία και υπεργλυκαιμία. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την επίδραση της ινσουλίνης στα επίπεδα της λιποκίνης, αλλά και τη σπουδαιότητα του λιπώδους ιστού ως πηγή της απελίνης πλάσματος (O'Carroll et al., 2013).

Η απελίνη εμφανίζει ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση, ισχυρότερη από τους ανταγωνιστές ασβεστίου, τη νιτρογλυκερίνη και την υδραλαζίνη. Επομένως, έχει υποτασικό αποτέλεσμα, κυρίως προκαλώντας φλεβοδιαστολή. Η αντιυπερτασική δράση της απελίνης οφείλεται σε φωσφορυλίωση της eNOS (ενδοθηλιακή συνθάση του NO) από την PKB/Akt και αύξηση της παραγωγής NO από το ενδοθήλιο. Αντίθετα, άμεση επίδραση της λιποκίνης στα λεία μυϊκά κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος προκαλεί αγγειοσύσπαση. Ακόμα, είναι ρυθμιστής της αγγειογένεσης καθώς τα επίπεδα έκφρασης του APJ είναι αυξημένα σε περιόδους ανάπτυξης των αγγείων, και επίσης σηματοδοτεί και επάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων της ομφαλικής φλέβας (O'Carroll et al., 2013).

Κατατάσσεται μεταξύ των ουσιών με την ισχυρότερη θετική ινότροπη δράση, βελτιώνοντας τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου, ιδιαίτερα στα πρώτα στάδια της καρδιακής ανεπάρκειας. Η απελίνη και ο APJ εκφράζονται στον υπεροπτικό και τον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου, εκεί όπου παράγονται η ωκυτοκίνη και η αντιδιουρητική ορμόνη, διαδραματίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του ισοζυγίου του ύδατος (O'Carroll et al., 2013).

Η απελίνη αποτελεί λιποκίνη, που παράγεται σε σημαντικές ποσότητες από το λιπώδη ιστό, υπερεκφραζόμενη από τα διαφοροποιημένα λιποκύτταρα, χωρίς να παρουσιάζει διαφορές μεταξύ του υποδόριου λιπώδους ιστού και του ενδοκοιλιακού. Πιθανός ρόλος της απελίνης είναι η ρύθμιση της πρόσληψης τροφής με μία κεντρική ανορεκτική δράση αυτής. Όπως, η λεπτίνη, έτσι και η απελίνη, αυξάνει τη θερμοκρασία του σώματος και την κινητική δραστηριότητα,

δράσεις που σε συνδυασμό με την ελαττωμένη πρόσληψη τροφής συμβάλλουν στο αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο. Επίσης, αναστέλλει την επαγόμενη από τη γλυκόζη έκκριση της ινσουλίνης, όπως συμβαίνει και με την λεπτίνη (O'Carroll et al., 2013).

3.8.6 Βασπίνη

Μία ακόμη πρόσφατα αναγνωρισθείσα λιποκίνη, η οποία ανήκει στην οικογένεια των αναστολέων των πρωτεασών σερίνης και έχει ινσουλινοευαισθητοποιό δράση είναι η βασπίνη. Στον άνθρωπο, ανιχνεύεται τόσο στο σπλαχνικό, όσο και στον υποδόριο λιπώδη ιστό, και σχετίζεται θετικά με το δείκτη μάζας-σώματος, καθώς και με την εκατοστιαία περιεκτικότητα του σώματος σε λίπος. Ο μηχανισμός δράσης της βασπίνης δεν είναι ακόμη γνωστός, αλλά είναι πιθανό η επαγωγή της έκφρασής της να σχετίζεται με παραμέτρους παχυσαρκίας, ινσουλινοαντίστασης και μεταβολισμού της γλυκόζης (Heiker, 2014).

3.8.7 Αδιψίνη

Η αδιψίνη είναι μία εκκρινόμενη πρωτεάση σερίνης και ανήκει στις πρωτεΐνες της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος. Οι παράγοντες D (αδιψίνη), C3 και B του συμπληρώματος έχει αποδειχθεί ότι παράγονται και εκκρίνονται από τα λιποκύτταρα. Όταν η αδιψίνη αλληλεπιδρά με τους παράγοντες C3 και B του συμπληρώματος παράγουν την ASP πρωτεΐνη (Acylation-Stimulating Protein), η οποία είναι υπεύθυνη για την αποθήκευση τριγλυκεριδίων στα λιποκύτταρα, διεγείροντας κυρίως, την επανεστεροποίηση των λιπαρών οξέων και τη μεταφορά γλυκόζης, και αναστέλλοντας τη λιπόλυση (Choy, 1992).

Η αδιψίνη, σε καταστάσεις παχυσαρκίας, βρίσκεται αυξημένη. Τα αυξημένα επίπεδά της δεν είναι ακόμη σαφές, αν οφείλονται σε αντίσταση στην ASP, που πιθανότατα θα οδηγούσε σε αποθήκευση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ έναντι του λιπώδους ιστού. Ίσως, η ASP διαδραματίζει ρόλο και στη διέγερση της έκκρισης της ινσουλίνης, αλλά και στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής (Choy, 1992).

3.8.8 Ομεντίνη

Η ομεντίνη είναι μία λιποκίνη, που αναγνωρίστηκε από έναν ευρέως φάσματος διαχωρισμό γονιδίων, τα οποία εκφράζονται στον σπλαχνικό λιπώδη ιστό, και όχι τόσο στον υποδόριο. Προάγει την ινσουλινοευαισθησία στα

ανθρώπινα λιποκύτταρα, αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τα πρόδρομα λιποκύτταρα και επάγει την φωσφορυλίωση της Akt. Ανιχνεύεται περισσότερο στα λεπτά άτομα, και τα επίπεδά της στην κυκλοφορία είναι αντιστρόφως ανάλογα με το δείκτη μάζας-σώματος, την περιφέρεια μέσης, τα επίπεδα της λεπτίνης και την ινσουλινοαντίσταση. Όταν, τα επίπεδα της ομεντίνης είναι ελαττωμένα, συσχετίζονται με αυξανόμενη τάση για παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη και μεταβολικές και καρδιαγγειακές ασθένειες (Ohashi, Shibata, Murohara, & Ouchi, 2014).

3.8.9 Χεμερίνη

Η χεμερίνη είναι μία πρωτεΐνη, όπου στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το RARRES2 (*Retinoic Acid Receptor RESponder protein 2*) γονίδιο. Τα ρετινοειδή ασκούν αρκετές βιολογικές δράσεις, όπως είναι η κυτταρική διαφοροποίηση, και χρησιμοποιούνται στην θεραπεία υπερπολλαπλασιαστικών δερματικών παθήσεων.

Η χεμερίνη είναι μια χημειοτακτική πρωτεΐνη (14 kDa), που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό και δρα συνδεδεμένη στον υποδοχέα της (CMKLR1 ή ChemR23). Εκκρίνεται σε μία αδρανή μορφή ως προχεμερίνη, και ενεργοποιείται μέσω διάσπασης του καρβοξυτελικού άκρου της από πρωτεάσες σερίνης. Ρυθμίζει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και επηρεάζει τη λειτουργία του λιπώδους ιστού με αυτοκρινή και παρακρινή μηχανισμό (Yoshimura & Orpenheim, 2008).

Ο CMKLR1 υποδοχέας της χεμερίνης μειώνει την έκφραση του GLUT4 και της λιπονεκτίνης, ενώ προκαλεί αύξηση της έκφρασης της IL-6 και του υποδοχέα ινσουλίνης. Η χεμερίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταβολική λειτουργία των ώριμων λιποκυττάρων, καθώς επίσης διεγείρει τη φωσφορυλίωση των MAPK, ERK1 και ERK2, που εμπλέκονται στη λιπόλυση. Μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει πως ούτε η χεμερίνη, αλλά ούτε και ο υποδοχέας της, είναι εντόνως εκφρασμένα στο φαιό λιπώδη ιστό, υποδεικνύοντας ότι η χεμερίνη παίζει ρόλο στην αποθήκευση ενέργειας, και όχι στη διαδικασία της θερμογένεσης (Yoshimura & Orpenheim, 2008).

Η χεμερίνη, ίσως θεωρηθεί σημαντική στην παθογένεια της παχυσαρκίας και της αντίστασης στην ινσουλίνη. Επιπλέον, μελέτες δείχνουν να έχει συσχέτιση με το δείκτη μάζας σώματος, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα και την αρτηριακή πίεση.

3.8.10 Καρτονεκτίνη

Η cartonectin (CORS-26) είναι μία νέα λιπονεκτίνη, που ανήκει στη μεγάλη μοριακή οικογένεια C1q/TNF (Zheng et al., 2011). Είναι μία πρωτεΐνη 26 kDa, η οποία περιέχει αλληλουχίες παρόμοιες με το κολλαγόνο, και εκτός από το χόνδρο, όπου αρχικά περιγράφηκε, παράγεται και από τα ώριμα λιποκύτταρα. Ο υποδοχέας και η λειτουργία της καρτονεκτίνης δεν είναι ακόμη γνωστά, και η ανασυνδυσασμένη πρωτεΐνη δεν είναι εμπορικώς διαθέσιμη. Η ανασυνδυσασμένη καρτονεκτίνη επάγει την έκκριση της λιπονεκτίνης και της ρεζιστίνης, και επομένως είναι πιθανόν να εμπλέκεται σε μεταβολικά και ανοσολογικά μονοπάτια (Wolfing et al., 2008).

3.8.11 Μεταλλοθειονίνη

Η μεταλλοθειονίνη είναι μία πρωτεΐνη πλούσια σε κυστεΐνη, που απομονώθηκε από τον νεφρό, το ήπαρ και το έντερο. Είναι μία χαμηλού βάρους πρωτεΐνη (7 kDa) και έχει μεγάλη χημική συγγένεια με τα μέταλλα. Εμπλέκεται στη μεταφορά μετάλλων στο σώμα και για την παραγωγή της είναι απαραίτητη η παρουσία ψευδαργύρου. Η μεταλλοθειονίνη ως μεταλλοσυζευκτική πρωτεΐνη, δεσμεύει διάφορα μέταλλα (π.χ. κάδμιο, χαλκός), και τα σύμπλοκα αυτά μεταφέρονται σε διάφορα όργανα, αποτρέποντας την απορρόφησή τους από τον οργανισμό. Αυτή η λιποκίνη έχει δράση στο οξειδωτικό stress και στην ανοσολογική απόκριση, συμμετέχοντας σε μεταβολικές οδούς (Thirumoorthy et al., 2011).

3.8.12 Μονοβουτυρίνη

Η μονοβουτυρίνη είναι ένα μονογλυκερίδιο του βουτυρικού οξέος, δηλαδή συνδυασμός ενός μορίου γλυκερίνης και ενός μορίου βουτυρικού οξέος. Αποτελεί έναν αγγειοδραστικό παράγοντα με αγγειοδιασταλτική δράση, που εκδηλώνεται κυρίως στα αγγεία της μικροκυκλοφορίας (Wilkison, Choy, & Spiegelman, 1991).

3.8.13 Αδρενομεδουλλίνη

Η αδρενομεδουλλίνη (ADM ή AM) είναι μια πεπτιδική ορμόνη, όπου στους ανθρώπους κωδικοποιείται από το γονίδιο, ADM. Είναι ένα πανταχού εκφραζόμενο πεπτίδιο, που αρχικά απομονώθηκε από το φαιοχρωμοκύτωμα, ένας όγκος του μυελού των επινεφριδίων. Το 1993, ένα δεύτερο πεπτίδιο, το AM2, ανακαλύφθηκε

(Anau, Carbone, Tack, & Depoortere, 2013) και ταυτοποιήθηκε, παρουσιάζοντας παρόμοιες λειτουργίες. Η αδρενομεδουλλίνη αποτελείται από 52 αμινοξέα, έχει ένα ενδομοριακό δεσμό δισουλφιδίου, και εμφανίζει μικρή ομολογία με το CGRP πεπτίδιο, σχετιζόμενο με το γονίδιο της καλσιτονίνης (Calcitonin Gene-Related Peptide). Βρίσκεται στο αίμα σε σημαντική συγκέντρωση, οπότε μπορεί να λειτουργεί σαν ορμόνη για τον έλεγχο της κυκλοφορίας. Η πρόδρομη ορμόνη, που ονομάζεται πρεπροαδρενομεδουλλίνη, έχει μήκος 185 αμινοξέων (Hinson, Karas, & Smith, 2000).

Το mRNA της ανθρώπινης αδρενομεδουλλίνης βρέθηκε να έχει υψηλή έκφραση σε διάφορους ιστούς, καθώς και στο λιπώδη ιστό. Επιτελεί πολλές λειτουργίες, όπως αγγειοδιαστολή, ρύθμιση της έκκρισης ορμονών, επαγωγή της αγγειογένεσης, καθώς έχει και αντιμικροβιακή δράση. Η αντιμικροβιακή της δράση είναι αντιβακτηριακή, καθώς το πεπτίδιο έχει αποδειχθεί ότι σε χαμηλή συγκέντρωση εξοντώνει τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια *E. coli* και *S. aureus*. Επίσης, η αδρενομεδουλλίνη αυξάνει την ανοχή των κυττάρων στο οξειδωτικό stress και την υποξική βλάβη, και παρουσιάζει θετική επίδραση σε κάποιες ασθένειες, όπως υπέρταση, έμφραγμα του μυοκαρδίου, χρόνια αποφρακτική πνευμονική νόσος, και άλλες καρδιαγγειακές παθήσεις. Όμως, μπορεί να θεωρηθεί αρνητικός παράγοντας στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (Zudaire et al., 2006).

Τέλος, οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, TNF-α και LPS, επάγουν ισχυρά την έκφραση της στα λιποκύτταρα. Η έκφρασή της στο λιπώδη ιστό, καθώς και τα επίπεδα πλάσματος, αυξάνουν κατά την παχυσαρκία. Πιθανότατα, ο ρόλος της αδρενομεδουλλίνης, που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, αφορά στην αντιοξειδωτική και αγγειοδιασταλτική δράση της στην αντιμετώπιση των επιπλοκών του μεταβολικού συνδρόμου.

3.8.14 Γκρελίνη

Η γκρελίνη, η «ορμόνη της πείνας», είναι ένα πεπτίδιο που παράγεται στο γαστρεντερικό σωλήνα, και λειτουργεί ως νευροπεπτίδιο στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Εκτός από τη ρύθμιση της πείνας, η γκρελίνη παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κατανομής της ενέργειας. Αυξάνει την όρεξη και προωθεί τη συγκέντρωση ενδοκοιλιακού λίπους. Η γκρελίνη, όχι μόνο διεγείρει τον εγκέφαλο αυξάνοντας την όρεξη, αλλά προωθεί τη συγκέντρωση λιπιδίων στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό, που βρίσκεται στην ενδοκοιλιακή περιοχή. Η λειτουργία της είναι να δίνει σήμα στον εγκέφαλο ότι το σώμα χρειάζεται τροφή. Επομένως, η έκκρισή της

αυξάνεται πριν το φαγητό και μειώνεται μετά. Δεδομένου ότι διεγείροντας την (Avau et al., 2013; J. T. Wu & Kral, 2004) όρεξη προωθείται και μία αύξηση του σωματικού βάρους, η γκρελίνη είναι μάλλον σημαντική στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας.

Ο υποδοχέας της βρίσκεται στα ίδια κύτταρα του εγκεφάλου όπως και ο υποδοχέας της λεπτίνης, όπου αυτή η ορμόνη κορεσμού έχει αντίθετα αποτελέσματα από τη γκρελίνη. Κωδικοποιείται από το γονίδιο GHRL, και πιθανότατα παράγεται κατά τη διάσπαση του πρεπροπεπτιδίου γκρελίνης/ομπεστατίνης. Η πρεπρογκρελίνη αποτελείται από 117 αμινοξέα, διασπάται για να παράγει την προγκρελίνη, και αυτή με τη σειρά της διασπάται για να παραχθεί η γκρελίνη (μη ακετυλιωμένη), η οποία αποτελείται από 28 αμινοξέα και η C-γκρελίνη (ακετυλιωμένη). Η ομπεστατίνη πιστεύεται ότι διασπάται από τη C-γκρελίνη (Avau et al., 2013; Garin, Burns, Kaul, & Carrola, 2013; J. T. Wu & Kral, 2004).

Τα κύτταρα της γκρελίνης βρίσκονται κυρίως στο στομάχι και το δωδεκαδάκτυλο, αλλά επίσης, και στη νήστιδα, τους πνεύμονες, τα παγκρεατικά νησίδια, τις γονάδες, το φλοιό των επινεφριδίων, τον πλακούντα και τα νεφρά. Η γκρελίνη είναι ένας από τους ρυθμιστές της περίπλοκης διαδικασίας της ενεργειακής ομοιόστασης, που ρυθμίζει τόσο την εισροή ενέργειας, προσαρμόζοντας τα σήματα της πείνας, όσο και την παραγωγή ενέργειας, ρυθμίζοντας το ποσοστό της ενέργειας, που χρειάζεται για την παραγωγή ATP, την αποθήκευση λίπους, την αποθήκευση γλυκογόνου, και τη βραχυπρόθεσμη απώλεια θερμότητας. Το καθαρό αποτέλεσμα αυτών των διαδικασιών αντικατοπτρίζεται στο βάρος του σώματος (Avau et al., 2013; Klok, Jakobsdottir, & Drent, 2007; J. T. Wu & Kral, 2004).

Η γκρελίνη αποτελεί έναν ισχυρότατο διεγέρτη για την έκκριση της αυξητικής ορμόνης (GH), και ιδιαίτερα σε καταστάσεις νηστείας τα επίπεδα GH είναι αυξημένα. Πέραν όμως από τη δράση της στην έκκριση της αυξητικής ορμόνης και στη διαδικασία πρόσληψης τροφής, η γκρελίνη φαίνεται ότι έχει και άλλες, μη επαρκώς ερευνηθείσες ακόμη δράσεις στο μεταβολισμό, αλλά και σε ποικίλα συστήματα του οργανισμού. Έτσι, υποδοχείς γκρελίνης έχουν εντοπιστεί σε μία πλειάδα ιστών, όπως τη καρδιά, το σπλήνα, του νεφρούς, το πάγκρεας, τις γονάδες κ.ά. Οι υποδοχείς αυτοί παρουσιάζουν ποικιλομορφία, υποδεικνύοντας την πολυπλοκότητα των δράσεων της γκρελίνης (Avau et al., 2013).

Έχει βρεθεί ότι τόσο τα α- όσο και τα β-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων παράγουν γκρελίνη, συμβάλλοντας στη ρύθμιση της έκκρισης της ινσουλίνης. Εκτός από την κατασταλτική της δράση στην έκκριση ινσουλίνης,

δρα ανασταλτικά και κατά την έκκριση της σωματοστατίνης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας. Ακόμα, αυξάνει την έκκριση γαστρικού οξέος από το στόμαχο, επιδρώντας στο παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα. Η παραγωγή της καταστέλλεται από την λεπτίνη, την αυξητική ορμόνη, μάλλον μέσω μηχανισμού παλίνδρομης ανάδρασης, την ιντερλευκίνη-1β και την πλούσια σε λίπος διαίτα, ενώ αυξάνεται από την πτωχή σε λίπος διαίτα (Avau et al., 2013; J. T. Wu & Kral, 2004).

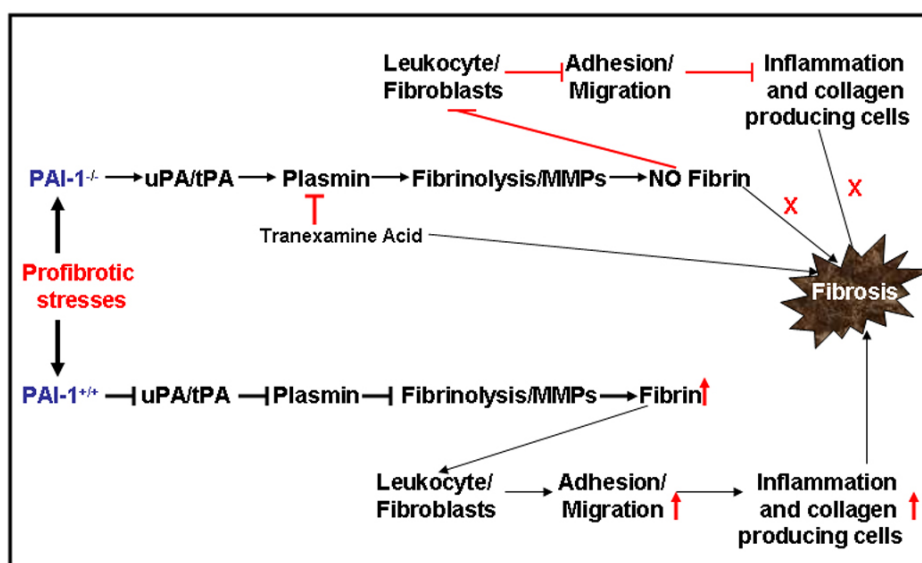
Η γκρελίνη βελτιώνει επίσης, την ενδοθηλιακή λειτουργία και αναστέλλει προαρτηριογόνες αλλαγές στις κυτταρικές καλλιέργειες, ενεργοποιώντας την ενδοθηλιακή ισομορφή της συνθάσης του νιτρικού οξειδίου σε ένα μονοπάτι, που εξαρτάται από διάφορες κινάσες, συμπεριλαμβανομένων των Akt. Στο γαστρεντερικό σωλήνα, προάγει τον εντερικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αναστέλλει την απόπτωση κατά τη διάρκεια φλεγμονωδών καταστάσεων και οξειδωτικού stress. Επιπλέον, καταστέλλει προ-φλεγμονώδεις μηχανισμούς και επάγει αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς σε διάφορες γαστρεντερικές φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως κολίτιδα, βλάβη ισχαιμικής επαναιμάτωσης και σηψαιμία. Μία ακόμη ιδιότητά της είναι η ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης (J. T. Wu & Kral, 2004).

Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, η γκρελίνη επιτελεί πολλαπλές λειτουργίες. Συμμετέχει στη διαδικασία της μάθησης και της μνήμης, όταν τα επίπεδά της είναι αυξημένα. Επίσης, έχει δειχθεί πως η γκρελίνη έχει αντικαταθλιπτικού τύπου ιδιότητες, ενώ παράλληλα επηρεάζει και τη διάρκεια του ανθρώπινου ύπνου, η οποία συνδέεται με την παχυσαρκία. Μικρή διάρκεια ύπνου, σχετίζεται με υψηλά επίπεδα γκρελίνης. Στο αναπαραγωγικό σύστημα, η γκρελίνη έχει ανασταλτικές ιδιότητες στην έκκριση της ορμόνης, γοναδοτροπίνης, με πιθανό αποτέλεσμα τη μειωμένη γονιμότητα. Επιπροσθέτως, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων γκρελίνης και του βάρους γέννησης του νεογνού, ενώ σημαντικές ευεργετικές ιδιότητες ενδέχεται να επιφέρει στο ανοσοποιητικό σύστημα σε καταστάσεις οξέων και χρόνιων φλεγμονών (Avau et al., 2013; J. T. Wu & Kral, 2004).

Είναι απαραίτητο να διευκρινιστεί ότι η γκρελίνη δεν συμβάλλει στην παχυσαρκία, εκτός από την περίπτωση του συνδρόμου Prader-Willi, στο οποίο τα υψηλά επίπεδά της σχετίζονται με την αυξημένη πρόσληψη τροφής. Επίσης, όσοι πάσχουν από νευρική ανορεξία, έχουν αυξημένη συγκέντρωση γκρελίνης στο πλάσμα, σε σχέση με αυτούς που έχουν κανονικό βάρος ή είναι λεπτοί (Alvarez-Castro, Pena, & Cordido, 2012; Avau et al., 2013; J. T. Wu & Kral, 2004).

3.8.15 Παράγοντας PAI-1

Ο παράγοντας PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1) είναι μία πρωτεΐνη, που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο SERPINE1, και δρα ως αναστολέας της πρωτεάσης σερίνης. Κυρίως, παράγεται από το ενδοθήλιο, αλλά επίσης εκκρίνεται και από άλλους τύπους ιστών, όπως ο λιπώδης ιστός. Είναι ένας θρομβωτικός παράγοντας με πολύ σημαντικό ρόλο στην αναστολή της ινωδολύσης, παρεμποδίζοντας τις πρωτεάσες σερίνης tPA (tissue-type Plasminogen Activator) και uPA (urokinase-type Plasminogen Activator) (Cesari, Pahor, & Incalzi, 2010; Ghosh & Vaughan, 2011).

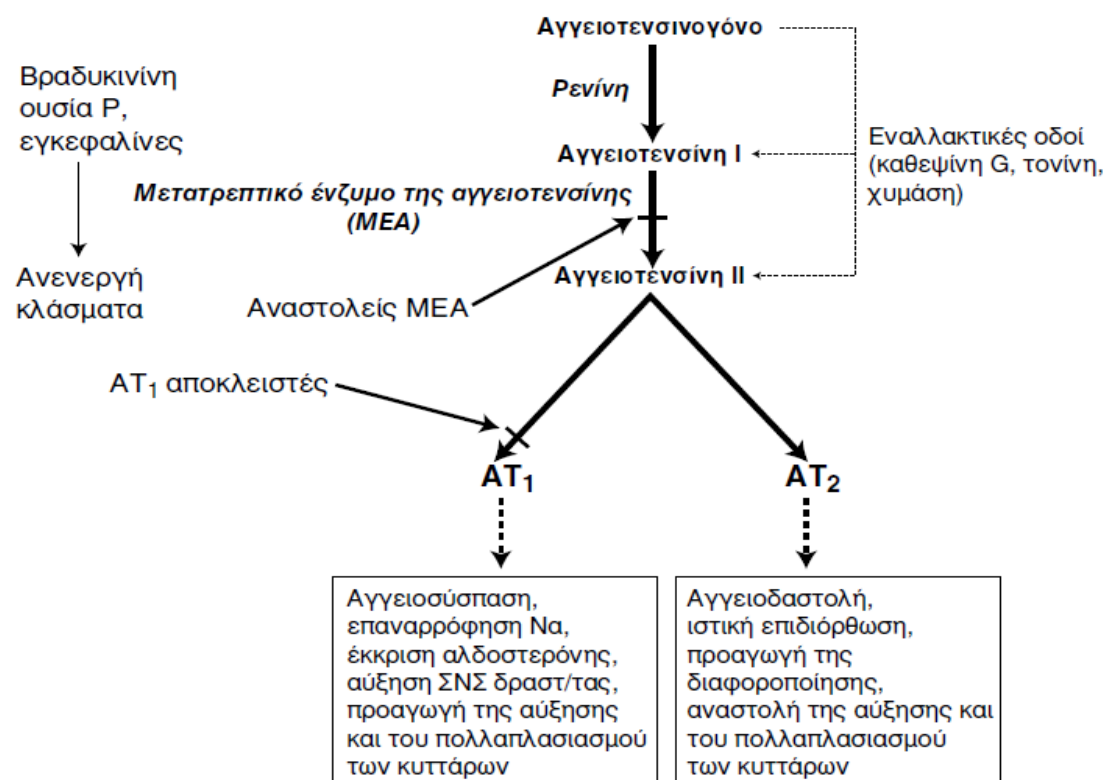


Εικόνα 28: Πιθανός ρόλος του παράγοντα PAI-1 σε επαγόμενη ίνωση (Ghosh & Vaughan, 2011).

Ο PAI-1 εμφανίζει αυξημένα επίπεδα σε διάφορες νοσηρές καταστάσεις, όπως κάποιες μορφές καρκίνου, παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο. Έχει συνδεθεί με την αυξημένη εμφάνιση θρόμβωσης σε ασθενείς αυτών των καταστάσεων. Σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, στις οποίες το ινώδες εναποτίθεται στους ιστούς, ο PAI-1 φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ίνωσης. Πιθανότα, χαμηλότερα επίπεδα του PAI-1 θα οδηγούσαν σε μικρότερη καταστολή της ινωδολύσης, με αποτέλεσμα την ταχύτερη αποικοδόμηση του ινώδους. Επίσης, ο PAI-1 ως παράγοντας θρόμβωσης, συμβάλλει στην αθηρογένεση, αυξάνοντας τον κίνδυνο καρδιοαγγειακών νοσημάτων (Cesari et al., 2010; Ghosh & Vaughan, 2011).

3.8.16 Αγγειοτενσινογόνο

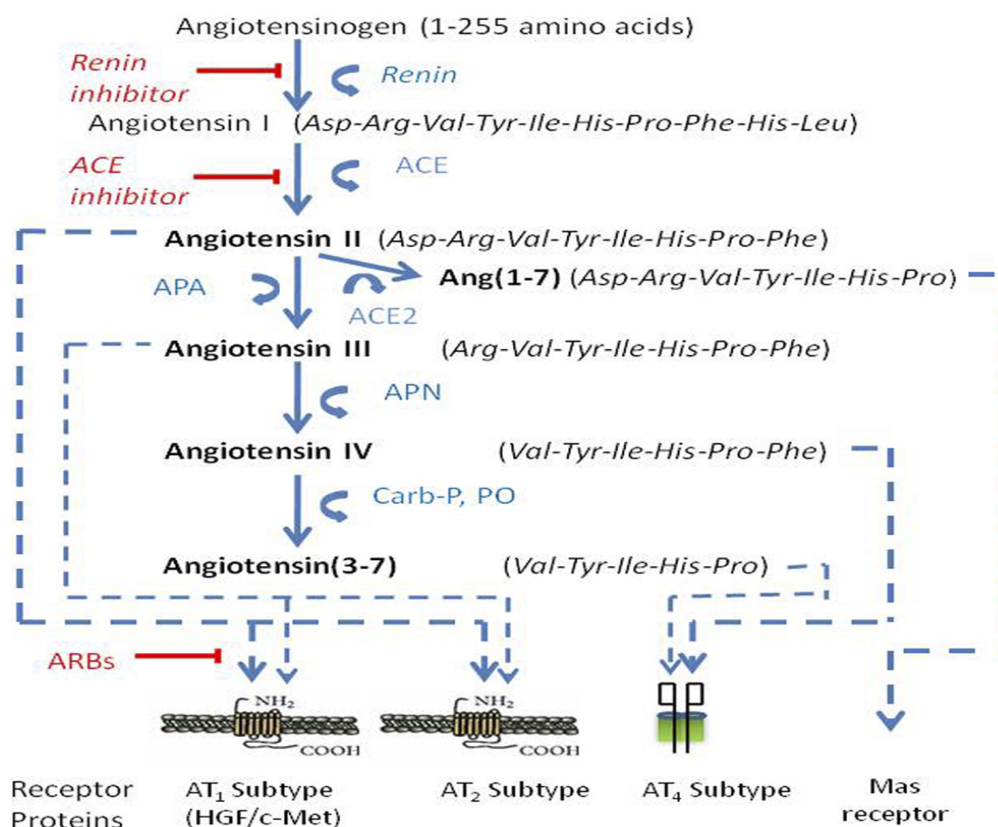
Το αγγειοτενσινογόνο είναι μία α2-σφαιρίνη (γλυκοπρωτεΐνη) που παράγεται ιδιοσυστατικά και απελευθερώνεται στην κυκλοφορία, κυρίως από το ήπαρ. Τα επίπεδα του αγγειοτενσινογόνου στο πλάσμα αυξάνονται με κορτικοστεροειδή πλάσματος, οιστρογόνα και θυρεοειδείς ορμόνες. Το αγγειοτενσινογόνο στον άνθρωπο έχει μήκος 453 αμινοξέων, και είναι επίσης γνωστό ως υπόστρωμα ρενίνης (C. Wu, Lu, Cassis, & Daugherty, 2012).



Εικόνα 29: Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης.

Το αγγειοτενσινογόνο ανήκει στο σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης (RAS), το οποίο εδράζεται στην καρδιά, τον εγκέφαλο, τους νεφρούς και τις αρτηρίες, ασκώντας αυτοκρινείς και παρακρινείς δράσεις. Είναι ενεργό στο λιπώδη ιστό, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Σε μοντέλα ζώων και σε μελέτες *in vivo*, έχει παρατηρηθεί ότι το αγγειοτενσινογόνο σχετίζεται με την παχυσαρκία, την αθηροσκλήρωση και το μεταβολισμό λιποκυττάρων. Τα επίπεδά του σχετίζονται θετικά με τη μάζα του σωματικού λίπους και παράγεται κυρίως από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό. Επίσης, ενδέχεται να είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που δημιουργούν την υπέρταση (C. Wu et al., 2012).

Η αγγειοτενσίνη II, που ανήκει στο σύστημα RAS, προάγει τη λιπογένεση, και έτσι θεωρείται παράγοντας υψηλού κινδύνου για την αύξηση του σωματικού βάρους και την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η αναστολή του RAS θεωρείται σημαντική θεραπευτική προσέγγιση, που βρίσκει εφαρμογή στις καρδιαγγειακές παθήσεις, αφού έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων των TNF- α , CRP και IL-6, και ενδεχομένως θα μπορούσε να εφαρμοστεί με επιτυχία για την πρόληψη του διαβήτη (C. Wu et al., 2012).



Εικόνα 30: Μονοπάτι ρενίνης-αγγειοτενσίνης (Wright, Kawas, & Harding, 2013).

3.8.17 RBP-4

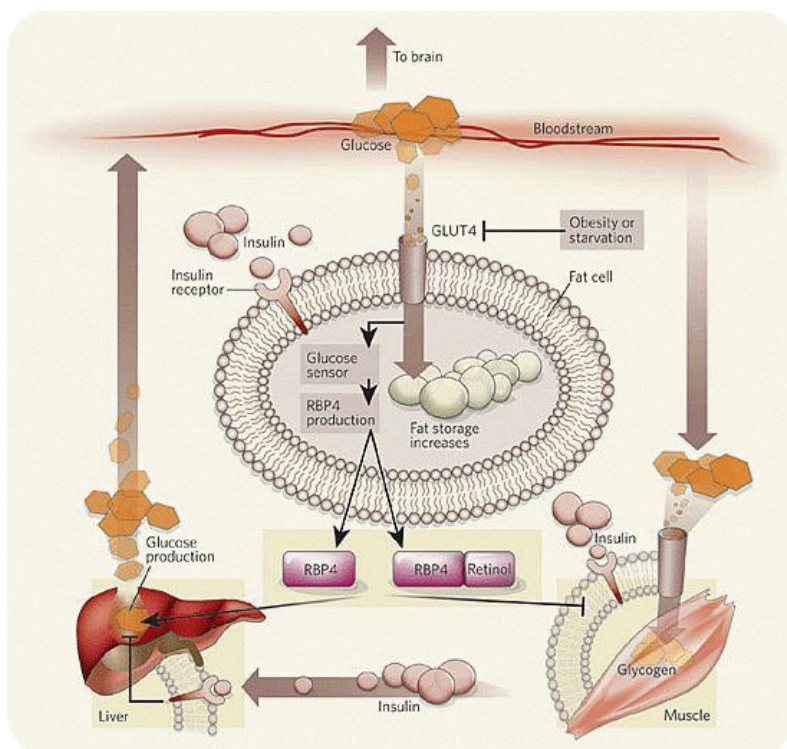
Η RBP-4 (Retinol Binding Protein-4) είναι μία πρωτεΐνη, που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το RBP-4 γονίδιο, ανήκει στην οικογένεια της λιποκαλίνης και παίζει ρόλο στο μεταβολισμό της ρετινόλης (βιταμίνη A). Πρόσφατα, αναγνωρίστηκε ως λιποκίνη, που συμβάλλει στην αντίσταση στην ινσουλίνη, εκκρινόμενη από τα λιποκύτταρα (Yang et al., 2005).

Η πρόσληψη της γλυκόζης από τα λιποκύτταρα και τα μυϊκά κύτταρα γίνεται με τη μεσολάβηση του GLUT4 μεταφορέα γλυκόζης, η έκφραση του οποίου ελαττώνεται στα λιποκύτταρα ατόμων με παχυσαρκία και σακχαρώδη διαβήτη

τύπου II. Η καταστολή της έκφρασης του GLUT4 στο λιπώδη ιστό πειραματόζων προκαλεί σοβαρή αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ αντίθετα η υπερέκφρασή του στο λιπώδη ιστό βελτιώνει τη συστηματική ευαισθησία στην ινσουλίνη. Μάλιστα, παρά το γεγονός ότι ο λευκός λιπώδης ιστός ευθύνεται για 10-20% περίπου της συνολικής κατανάλωσης γλυκόζης, ενώ ο μυϊκός ιστός για το υπόλοιπο, η εκλεκτική απαλοιφή του γονιδίου από το λιπώδη ιστό προκαλεί ίδιου βαθμού ινσουλινοαντίσταση με την απαλοιφή του στο μυϊκό. Οι παραπάνω ενδείξεις οδήγησαν στην αναζήτηση ενός εκκρινόμενου από το λιπώδη ιστό παράγοντα, που προκαλεί το συγκεκριμένο βιολογικό αποτέλεσμα, όταν ο GLUT4 απουσιάζει από το λιπώδη ιστό. Οι μελέτες που ακολούθησαν ανέδειξαν την RBP-4 (Εικόνα 31) (Yang et al., 2005).

Η πρωτεΐνη αυτή αυξάνει, όταν έχει απαλειφεί ο GLUT4, ενώ τα επίπεδά της είναι αυξημένα σε καταστάσεις παχυσαρκίας ή διαβήτη τύπου II. Επιπλέον η υπερέκφραση της RBP4 προκαλεί ινσουλινοαντίσταση, ενώ η απαλοιφή του γονιδίου της βελτιώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και τα επίπεδα.

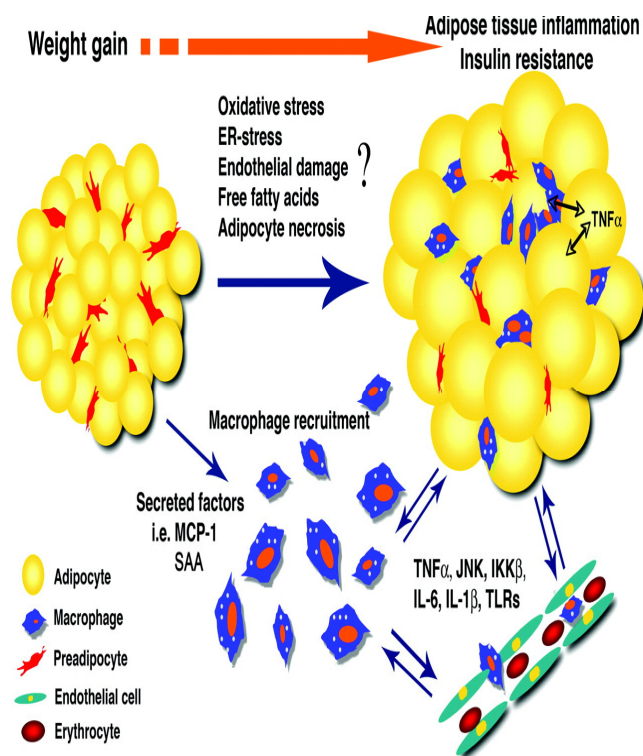
Η χορήγηση του συνθετικού ρετινοειδούς, φερνετινίδη, οδηγεί σε επιστροφή στο φυσιολογικό των επιπέδων της RBP4 στον ορό παχύσαρκων, λόγω διατροφής, πειραματόζων. Ως αποτέλεσμα, βελτιώνεται η ινσουλινοευαισθησία, γεγονός που υποδεικνύει τον πιθανό θεραπευτικό ρόλο της ελάττωσης των επιπέδων της RBP4 ως αντιδιαβητική θεραπεία. Τέλος, τα επίπεδα της RBP4 στο αίμα συσχετίζονται θετικά με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως ο δείκτης μάζας-σώματος, ο λόγος περιφέρειας μέσης-ισχίων, τα επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού, η συστολική αρτηριακή πίεση και αντίστροφα με τα επίπεδα HDL (Yang et al., 2005).



Εικόνα 31: Ο ρόλος της RBP-4 στα λιποκύτταρα, το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες (Muoio & Newgard, 2005).

3.8.18 TNF-α

Τα παχύσαρκα άτομα παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα έκφρασης φλεγμονωδών ορμονών σε σχέση με τα αδύνατα, γεγονός που οδηγεί στην στρατολόγηση και τη μετέπειτα διήθηση μακροφάγων στον ιστό, με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία χρόνιας φλεγμονής. Σε περιπτώσεις παχυσαρκίας, με διαταραγμένο μεταβολισμό λιποκυττάρων και ινσουλινοαντίσταση, το λιποκύτταρο παρουσιάζει υπέρμετρη αύξηση γνωστή και ως υπερτροφία λιπώδους ιστού και η ανάγκη αποθήκευσης της υπέρμετρης ενέργειας οδηγεί στην λιπώδη διήθηση άλλων ιστών όπως το ήπαρ (Εικόνα 32). Ο TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α) ανήκει σε αυτή την ομάδα των φλεγμονωδών ορμονών. Είναι μια πολυδύναμη κυτταροκίνη με διάφορες ανοσολογικές λειτουργίες. Ο TNF-α παράγεται κυρίως, ως διαμεμβρανική πρωτεΐνη 212 αμινοξέων, διατεταγμένων σε σταθερά ομοτριμερή. Η εκκρινόμενη μορφή του ανθρώπινου TNF-α παίρνει ένα τριγωνικό σχήμα πυραμίδας, και ζυγίζει περίπου 17 kDa (Aggarwal, Gupta, & Kim, 2012).



Εικόνα 32: Η φλεγμονή και η υπερτροφία του λιπώδους ιστού στην παχυσαρκία

Αρχικά, περιγράφηκε σαν αιτία νέκρωσης όγκων σε σηπτικά ζώα και συσχετίστηκε με καταστάσεις που προκαλούν καχεξία, όπως ο καρκίνος και η λοίμωξη. Στον άνθρωπο, ο TNF-α συντίθεται και εκκρίνεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα, αλλά και από άλλους τύπους κυττάρων, όπως CD4+ λεμφοκύτταρα, κύτταρα NK (Natural Killer cells), ουδετερόφιλα, μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα, και νευρώνες. Τα επίπεδα του mRNA του TNF-α συσχετίζονται με το δείκτη μάζας-σώματος, το επί τοις εκατό ποσοστό λίπους σώματος και την υπερινσουλιαιμία. Η απώλεια βάρους ελαττώνει τα επίπεδα TNF-α, αλλά η χορήγηση εξουδετερωτικών του TNF-α αντισωμάτων σε διαβητικούς ασθενείς δεν μεταβάλλει τα επίπεδα γλυκόζης ή την ευαισθησία στη ινσουλίνη. Ο TNF-α στη συστηματική κυκλοφορία εκκρίνεται κυρίως, από μακροφάγα που συγκεντρώνονται στο λιπώδη ιστό παχύσαρκων, ενώ τα λιποκύτταρα παράγουν κυρίως, μία μη εκκρινόμενη, συνδεδεμένη στην κυτταρική μεμβράνη μορφή του (Aggarwal et al., 2012).

Διεγείρει τη λιπόλυση, ενώ τα αυξημένα επίπεδα του συσχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη, την υπερινσουλιαιμία και την αρτηριακή υπέρταση. Στις αγγειοπαθητικές διαδικασίες, η κύρια δράση του TNF-α είναι έμμεση και αφορά στην εμπλοκή του στην ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και στην επακόλουθη υπεργλυκαιμία. Επίσης, επηρεάζει την έκφραση και άλλων λιποκινών.

Συγκεκριμένα, αυξάνει την έκφραση λεπτίνης και IL-6, ενώ ελαττώνει την έκφραση και έκκριση της λιπονεκτίνης. Η αυξημένη έκφρασή του στην παχυσαρκία, σε συνδυασμό με την επακόλουθη ελαττωμένη έκφραση της λιπονεκτίνης θεωρείται ότι κατέχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μεταβολικού συνδρόμου. Τέλος, είναι σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη αθηροματικής πλάκας και προάγει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων (Aggarwal et al., 2012).

3.8.19 Ιντερλευκίνες

Οι ιντερλευκίνες (IL) είναι μία μεγάλη ομάδα κυτταροκινών, όπου μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί τουλάχιστον 18. Παράγονται κυρίως από τα λευκοκύτταρα (B- και Tα- λεμφοκύτταρα, μακροφάγα), αλλά και από άλλους κυτταρικούς τύπους, και καθεμία από αυτές δρα σε μια ειδική κατηγορία λευκοκυττάρων, τα οποία εκφράζουν τους κατάλληλους υποδοχείς γι' αυτήν. Επιτελούν ποικίλες λειτουργίες, οι σημαντικότερες από τις οποίες αφορούν την κυτταρική διαίρεση και διαφοροποίηση ή την παραγωγή άλλων κυτταροκινών από τα κύτταρα-στόχους (Fève & Bastard, 2009).

Η IL-1 φαίνεται πως εμπλέκεται στη μεσολάβηση των ανασταλτικών δράσεων της λεπτίνης, που επηρεάζουν την όρεξη, όπως επίσης και στη διεγερτική επίδρασή της στη θερμοκρασία του σώματος, καθώς και στην αναστολή της λιπογένεσης σε τεχνητό περιβάλλον (Fève & Bastard, 2009; Garlanda, Dinarello, & Mantovani, 2013).

Η IL-6 είναι μια πρωτεΐνη, που δρα σαν ανοσοτροποποιητική κυτταροκίνη. Εκφράζεται στο λιπώδη ιστό, αλλά και σε υποθαλαμικούς πυρήνες. Ο λιπώδης ιστός συνεισφέρει σημαντικά στη συνολικά κυκλοφορούσα ποσότητα IL-6, με μεγαλύτερα ποσά να εκκρίνονται από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό σε σχέση με τον υποδόριο της κοιλιακής χώρας. Ο ρόλος της IL-6 στην ανάπτυξη παχυσαρκίας και αγγειακών παθήσεων είναι αμφιλεγόμενος. Ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι η IL-6 συσχετίζεται ισχυρά με την παχυσαρκία και είναι προγνωστικός παράγοντας της ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου και διαβήτη τύπου II, πιθανόν λόγω της διέγερσης της ηπατικής έκφρασης CRP, ινωδογόνου και πρωτεϊνών οξείας φάσης. Επίσης, η IL-6 αναστέλλει τη δράση της ινσουλίνης *in vitro* και *in vivo* σε μυϊκό ιστό, ήπαρ και λιποκύτταρα και συνεισφέρει σημαντικά στη χρόνια φλεγμονώδη κατάσταση και ηπατική ινσουλinoαντίσταση στην παχυσαρκία. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν στοιχεία πως η IL-6, ασκώντας κεντρική δράση ελαττώνει την όρεξη και αυξάνει την

απώλεια βάρους. Γενικά, η IL-6 είναι πιθανό να εμπλέκεται στη συστηματική φλεγμονή, που σχετίζεται με την παχυσαρκία, και επομένως στρατηγικές που στοχεύουν σε ελάττωση των κυκλοφορούντων επιπέδων του παράγοντα αυτού, ενδέχεται να προλαμβάνουν την ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και αγγειοπαθειών, που επάγονται από τη φλεγμονή (El-Kadre & Tinoco, 2013; Feve & Bastard, 2009).

3.8.20 MCP-1

Η MCP-1 (Monocyte Chemoattractant or Chemotactic protein-1) είναι μία χημειοκίνη, που στρατολογεί μονοκύτταρα, T κύτταρα μνήμης, και δενδριτικά κύτταρα στις θέσεις φλεγμονής, παραγόμενα είτε από βλάβη στους ιστούς είτε από κάποια λοίμωξη. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, η πρόδρομη MCP-1 πρωτεΐνη περιέχει ένα πεπτιδίο σήματος 23 αμινοξέων, ενώ η ώριμη MCP-1 πρωτεΐνη έχει μήκος 76 αμινοξέων. Το μοριακό βάρος της MCP-1 είναι περίπου 13 kDa (Deshmane, Kremlev, Amini, & Sawaya, 2009; Panee, 2012).

Εμπλέκεται στην παθογένεση αρκετών ασθενειών, όπως ψωρίαση, ρευματοειδής αρθρίτιδα, παχυσαρκία, διαβήτης τύπου II, καρδιοαγγειακές παθήσεις και αρτηριοσκλήρωση. Επίσης, σχετίζεται με νευροφλεγμονώδεις διαδικασίες του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως επιληψία, εγκεφαλική ισχαιμία, νόσος Alzheimer, πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα και τραυματική εγκεφαλική βλάβη. Κατά την παχυσαρκία, τόσο η κυκλοφορούσα MCP-1, όσο και τα επίπεδα mRNA της στο λιπώδη ιστό, είναι αυξημένα. Η απελευθέρωση της MCP-1, εν μέρει, εξαρτάται από την απελευθέρωση ενδογενούς TNF-α και IL-1β, και επιτελείται από τα μονοπάτια της p38 MAPK και του NF-κB (Deshmane et al., 2009; Panee, 2012).

3.8.21 SAA

Η SAA (Serum Amyloid A) πρωτεΐνη ανήκει στην οικογένεια των απολιποπρωτεϊνών, και σχετίζονται με υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL). Εκφράζεται σε οξεία φάση φλεγμονής της παχυσαρκίας και της αθηροσκλήρωσης και παράγεται κυρίως από το ήπαρ. Αν και σε μεγάλο βαθμό παράγεται από τα ηπατοκύτταρα, πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η SAA παράγεται και από τα λιποκύτταρα, και η συγκέντρωση στον ορό συνδέεται με δείκτη μάζας-σώματος (Faty, Ferre, & Commans, 2012).

Η SAA μειώνει αρκετά την έκφραση του GLUT4 μεταφορέα γλυκόζης στα λιποκύτταρα, και επίσης διεγείρει τη διαδικασία της λιπόλυσης. Επάγει την έκφραση και την έκκριση των φλεγμονοδών πρωτεϊνών, MCP-1, IL-6 και IL-8, ενώ αντίθετα καταστέλλει την έκκριση της λιπονεκτίνης. Τα αυξημένα επίπεδα της σχετίζονται με την ινσουλινοαντίσταση της παχυσαρκίας και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου II (Faty et al., 2012).

3.8.22 VEGF

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) είναι γνωστός ως παράγοντας αγγειακής διαπερατότητας. Είναι μία πρωτεΐνη σήματος, η οποία διεγείρει την αγγειογένεση. Αποκαθιστά την παροχή οξυγόνου στους ιστούς, όταν η κυκλοφορία του αίματος είναι ανεπαρκής. Τα επίπεδα του VEGF είναι αυξημένα στο σακχαρώδη διαβήτη και το βρογχικό άσθμα. Οι κανονικές λειτουργίες που επιτελεί είναι η δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης και μετά από τραυματισμό (Ferrara, 2004).

Υπερέκφραση του VEGF μπορεί να προκαλέσει αγγειακή νόσο στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του ματιού, αλλά και σε άλλα μέρη του σώματος, καθώς και κάποιους τύπους καρκίνου. Φάρμακα, όπως η Bevacizumab (εμπορική ονομασία: Avastin) (Ferrara, Hillan, & Novotny, 2005) και η Ranibizumab (εμπορική ονομασία: Lucentis) (Ferrara, Damico, Shams, Lowman, & Kim, 2006) αναστέλλουν τον VEGF και ελέγχουν ή επιβραδύνουν αυτές τις ασθένειες. Στον άνθρωπο, τα επίπεδα του στην κυκλοφορία αυξάνουν κατά την παχυσαρκία, ειδικά όταν συσσωρεύεται σπλαχνικό λίπος. Ο VEGF παράγεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό σε σχέση με τον υποδόριο, ενώ η έκφρασή του στα λιποκύτταρα επάγεται από την ινσουλίνη.

Ο VEGF που παράγεται στο λιπώδη ιστό προέρχεται σε ποσοστό 8-27% από τα λιποκύτταρα, επομένως στη σύνθεσή του συμμετέχουν και άλλα είδη κυττάρων του ιστού. Παρομοίως με τον VEGF έχουν αναφερθεί και άλλοι αυξητικοί παράγοντες, που παράγονται και εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό. Αυτοί περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, τους HGF (Hepatocyte Growth Factor), TGF-β (Transforming Growth Factor-β) και NGF (Nerve Growth Factor). Τα επίπεδα του HGF στην κυκλοφορία αυξάνουν κατά την παχυσαρκία. Ο λιπώδης ιστός παράγει σημαντικές ποσότητες του παράγοντα αυτού, συγκρίσιμες με αυτές τις λεπτίνης, αν και το μεγαλύτερο ποσοστό (περίπου 96%) προέρχεται από μη λιπώδη κύτταρα. Επίσης, και η παραγωγή του TGF-β συσχετίζεται θετικά με το δείκτη μάζας

σώματος, αλλά και σε αυτή την περίπτωση, το ποσοστό συμμετοχής των λιποκυττάρων έναντι των υπολοίπων κυττάρων του λιπώδους ιστού στη σύνθεση και έκκριση του TGF- β περιορίζεται στο 5% της συνολικής ποσότητας του παράγοντα (Ferrara, 2004).

3.8.23 ZAG

Η ZAG (Zinc- α 2-Glycoprotein) είναι μία γλυκοπρωτεΐνη (40 kDa), όπου στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο AZGP1. Είναι μία διαλυτή πρωτεΐνη, η οποία διεγείρει την λιπόλυση, συντίθεται από συγκεκριμένους κακοήθεις όγκους, και έχει χρησιμοποιηθεί ως καρκινικός δείκτης. Συμμετέχει στην εμφάνιση καχεξίας, μέσω ενεργοποίησης των β 3-αδρενεργικών υποδοχέων. Είναι γνωστό ότι εκφράζεται σε εκκριτικά κύτταρα στο επιθήλιο του πνεύμονα, και πρόσφατα αποδείχθηκε ότι συντίθεται τόσο στο λευκό, όσο και στο φαιό λιπώδη ιστό (Hassan, Waheed, Yadav, Singh, & Ahmad, 2008).

Το 2009, βρέθηκε ότι το κάπνισμα αυξάνει την έκφραση της ZAG, και εξαιτίας αυτού, η διακοπή του καπνίσματος οδηγεί σε αύξηση του σωματικού βάρους (Vanni et al., 2009). Επίσης, τα επίπεδα της αυξάνονται με την έναρξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου II, ο οποίος ευθύνεται για την απώλεια βάρους στη συνέχεια.

Η έκφραση της ZAG στα ανθρώπινα λιποκύτταρα διεγείρεται από τους PPAR γ αγωνιστές και καταστέλλεται από τον TNF- α . Η υπερέκφραση της ZAG αναφέρεται πως αυξάνει τα επίπεδα του mRNA της λιπονεκτίνης, υποδεικνύοντας πιθανή συσχέτιση μεταξύ των δύο λιποκινών.

3.8.24 Άλλα εκκριτικά προϊόντα του λιπώδους ιστού

Τα γλυκοκορτικοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού, της κατανομής και των λειτουργιών του λιπώδους ιστού. Σημαντικό σταθμό στην κατανόηση του ρόλου των γλυκοκορτικοειδών, στις συχνότερες μορφές παχυσαρκίας, αποτέλεσε η ανακάλυψη ότι ο λιπώδης ιστός εκφράζει το ένζυμο *11 β -HSD*. Το συγκεκριμένο ένζυμο καταλύει τη μετατροπή της ανενεργού κυκλοφορούσας κορτιζόνης σε βιολογικά δραστική κορτιζόλη, τοπικά στο λιπώδη ιστό, και ευθύνεται για την επακόλουθη ενίσχυση των ενδοκυττάρων επιπέδων των γλυκοκορτικοειδών. Η έκφρασή του στο λιπώδη ιστό, ειδικά στις σπλαχνικές αποθήκες λίπους, είναι συχνά αυξημένη σε παχύσαρκα άτομα. Παρατηρήσεις σε ζωικά μοντέλα, αποδεικνύουν πως η υπερέκφραση του *11 β -HSD* στο λιπώδη ιστό

οδηγεί στην εμφάνιση όλων των εκδηλώσεων του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ η απαλοιφή του γονιδίου του ενζύμου ελαττώνει τη συσσώρευση σπλαχνικού λίπους, και προστατεύει από την εμφάνιση μεταβολικών δυσλειτουργιών. Τα στοιχεία αυτά υποδεικνύουν το ένζυμο 11β-HSD ως πιθανό θεραπευτικό στόχο για την πρόληψη του μεταβολικού συνδρόμου (Chapman, Holmes, & Seckl, 2013; Vegiopoulos & Herzig, 2007).

Τα ελεύθερα, μη εστεροποιημένα, λιπαρά οξέα (Free Fatty Acids, FFAs) απαντούν σε αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα παχύσαρκων ατόμων, με κύρια πηγή το σπλαχνικό λιπώδη ιστό. Οι συγκεντρώσεις τους ρυθμίζονται κυρίως από τις κατεχολαμίνες, που προάγουν τη λιπόλυση, και την ινσουλίνη, που προάγει τη λιπογένεση. Μέσω της λιπόλυσης, απελευθερώνονται αρκετά μεγάλες ποσότητες ελεύθερων λιπαρών οξέων, ειδικά στην κατάσταση της παχυσαρκίας. Επομένως, τα FFAs θεωρούνται σημαντικά εκκριτικά προϊόντα του λιπώδους ιστού. Τα υψηλά επίπεδα FFAs αποτελούν σήμα για έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα εμμένοντα υψηλά επίπεδα έχουν τοξική δράση και οδηγούν τα β-κύτταρα σε απόπτωση. Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα FFAs εμπλέκονται στην ινσουλινοαντίσταση στους μύες και το ήπαρ, ενδεχομένως μέσω ενδοκυττάρων μεταβολιτών τους (de Ferranti & Mozaffarian, 2008).

Επιπλέον, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα ενδέχεται να συμβάλλουν στον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, που παρατηρείται σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης, προάγοντας το οξειδωτικό stress και αυξάνοντας τα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών, αλλά και επηρεάζοντας τη φυσιολογική λειτουργία των αγγείων (de Ferranti & Mozaffarian, 2008).

3.9 Το σύστημα των ενδοκανναβινοειδών

Δεκαετίες πριν, αναγνωρίστηκε ότι η δαπάνη των μακροθρεπτικών συστατικών και η διατήρηση της διατροφικής πρόσληψης ελέγχονται από πολύπλοκες φυσιολογικές διαδικασίες που περιλαμβάνουν ενδοκρινολογικούς, νευρολογικούς και συμπεριφεριολογικούς παράγοντες. Πιο πρόσφατα βρέθηκε ότι τα ενδοκανναβινοειδή παίζουν καίριο ρόλο στον έλεγχο της πρόσληψης της τροφής και αποτελούν στόχο για το μετριασμό της παχυσαρκίας (Cota, 2007). Οι υποδοχείς των ενδοκανναβινοειδών υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες στον εγκέφαλο, και η ενεργοποίησή τους από ενδογενείς αγωνιστές, αποτελεί μια άλλη πτυχή της συμμετοχής του νευροενδοκρινικού συστήματος στη θερμιδική πρόσληψη (Mackie, 2008). Επιπλέον, μελέτες που χρησιμοποίησαν φαρμακευτικούς ανταγωνιστές των υποδοχέων των ενδοκανναβινοειδών στον

εγκέφαλο έδειξαν αξιοσημείωτη βελτίωση στην απώλεια βάρους και τον έλεγχο της όρεξης στους ανθρώπους, αλλά με ανεπιθύμητες παρενέργειες που περιλαμβάνουν τις καρδιακές παθήσεις και τη κατάθλιψη (Di Marzo & Despres, 2009).

Το ενδογενές κανναβινοειδές σύστημα αποτελεί ένα πολύπλοκο ενδογενές σύστημα μεταγωγής σημάτων το οποίο επηρεάζει ένα σημαντικό αριθμό φυσιολογικών διεργασιών και μεταβολικών δρόμων του ανθρώπινου οργανισμού (Pagotto, Marsicano, Cota, Lutz, & Pasquali, 2006). Απαρτίζεται από τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς των κανναβινοειδών (cannabinoid receptors CB), τα ενδογενή συνδετικά τους μόρια - τα ενδοκανναβινοειδή, τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη σύνθεση και αδρανοποίηση των ενδοκανναβινοειδών καθώς και από τα ενδοκυττάρια μονοπάτια μεταγωγής σήματος που επηρεάζονται από αυτά (De Petrocellis, Cascio, & Di Marzo, 2004).

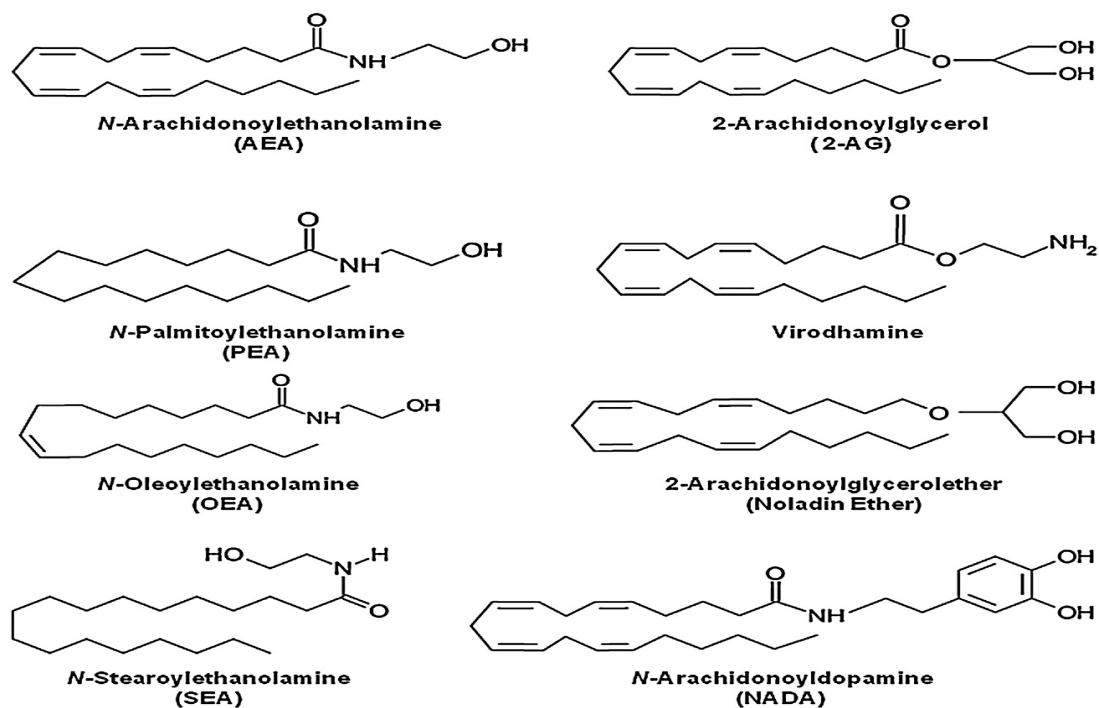
Το ενδογενές κανναβινοειδές σύστημα πήρε το όνομα του από το φυτό *Cannabis sativa* το οποίο είναι γνωστό από την αρχαιότητα για τις ψυχοτρόπες ιδιότητές του. Δεν έχουν περάσει, ωστόσο, πολλά χρόνια από τη στιγμή που ανακαλύφθηκαν τα πρώτα είδη κανναβινοειδών, των ενεργών δηλαδή χημικών συστατικών που βρίσκονται στο φυτό αυτό και ευθύνονται για τις ψυχοδιεγερτικές και άλλες φυσιολογικές ιδιότητες της κάνναβης. Το 1964 η Δ9-τετραϋδροκανναβινόλη (THC), ταυτοποιήθηκε ως το κυρίαρχο ενεργό συστατικό της κάνναβης (Mechoulam & Gaoni, 1965), ενώ μόλις το 1988 ο Devane και συν. περιέγραψαν την παρουσία υποδοχέων υψηλής συγγένειας για τα κανναβινοειδή στον εγκέφαλο επίμυων (Devane, Dysarz, Johnson, Melvin, & Howlett, 1988). Στις αρχές του 1990 κλωνοποιήθηκαν οι υποδοχείς των κανναβινοειδών τύπου 1 και τύπου 2 (CBR1 και CBR2, Cannabinoid Receptors 1 και 2), ενώ λίγο αργότερα ανακαλύφθηκε το πρώτο ενδοκανναβινοειδές, η ανανδαμίδη (arachidonoyl ethanolamide, AEA) (Demuth & Molleman, 2006).

Η πλειοψηφία των δράσεων του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος μεσολαβείται μέσω της διέγερσης των υποδοχέων του από ουσίες με κανναβινομιμητική δράση. Σήμερα μπορούμε να μιλάμε για τρεις κατηγορίες ουσιών με τις δραστικές ιδιότητες της κάνναβης: τα φυτοκανναβινοειδή, τα οποία βρίσκονται στο φυτό της κάνναβης, τα ενδοκανναβινοειδή, τα οποία συντίθενται στον εγκέφαλο και άλλους περιφερικούς ιστούς και τα συνθετικά κανναβινοειδή, τα οποία αποτελούν μόρια με όμοιες λειτουργίες που συντίθενται εργαστηριακά (Pagotto, Vicennati, & Pasquali, 2005).

3.9.1. Τα ενδοκανναβινοειδή

Τα ενδοκανναβινοειδή (eCBs) είναι λιπόφιλοι μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος (AA), και μοιάζουν με άλλους μεταφορείς λιπιδίων όπως οι προσταγλανδίνες και τα λευκοτριένια. Αποτελούν ενδογενείς ουσίες του οργανισμού, ικανές να συνδέονται και να διεγείρουν τους υποδοχείς των κανναβινοειδών με τρόπο ανάλογο με αυτό των φυτικών κανναβινοειδών (Ameri, 1999). Συνδέονται με την αιθανολαμίνη για να σχηματίσουν αμίδια λιπαρών οξέων (FAAS), ή με τη γλυκερίνη για να σχηματίσουν μονοακυλγλυκερόλες (monoacylglycerols, MAGs), N-αραχιδονούλαιθανολαμίνη (AEA ή ανανδαμίδη) και 2 αραχιδονούλ-γλυκερόλη (2-AG - 2-arachidonoyl-glycerol) που αποτελούν τα μέχρι στιγμής καλύτερα μελετημένα και πιο ενεργά μέλη κάθε κατηγορίας, αντίστοιχα (Devane et al., 1992; Mechoulam et al., 1995). Η AEA είναι το αμίδιο που προκύπτει από την ένωση αραχιδονικού οξέος και αιθανολαμίνης, και ονομάστηκε ανανδαμίδη από την σανσκριτική λέξη "ananda", που σημαίνει «ευφορία», «ευδαιμονία», ενώ η 2-AG είναι ο αραχιδονικός εστέρας της γλυκερόλης.

Υπάρχουν επίσης και άλλα ενδογενή FAAS, όπως ο καταστολέας της όρεξης *N*-oleoylethanolamine (OEA), η αντιφλεγμονώδης, αντισπασμωδική και αντιπολλαπλασιαστική *N*-palmitoylethanolamine (PEA) και το immunomodulator *N*-stearoylethanolamine (SEA) (Maccarrone, Pauselli, Di Rienzo, & Finazzi-Agro, 2002). Τα τελευταία αποκαλούνται «eCB-like» μόρια, δεδομένου ότι δεν ενεργοποιούν τους υποδοχείς των κανναβινοειδών (Lambert & Di Marzo, 1999). Επιπλέον, το 2-arachidonoylglycerolether (Hanus, Vannier, & Triller, 2004) και το N-arachidonoyldopamine (NADA) (Bisogno et al., 2000), ανήκουν επίσης στην ολόένα αυξανόμενη οικογένεια των eCBs. Οι χημικές δομές των ουσιών αυτών παρουσιάζονται στην εικόνα 33.

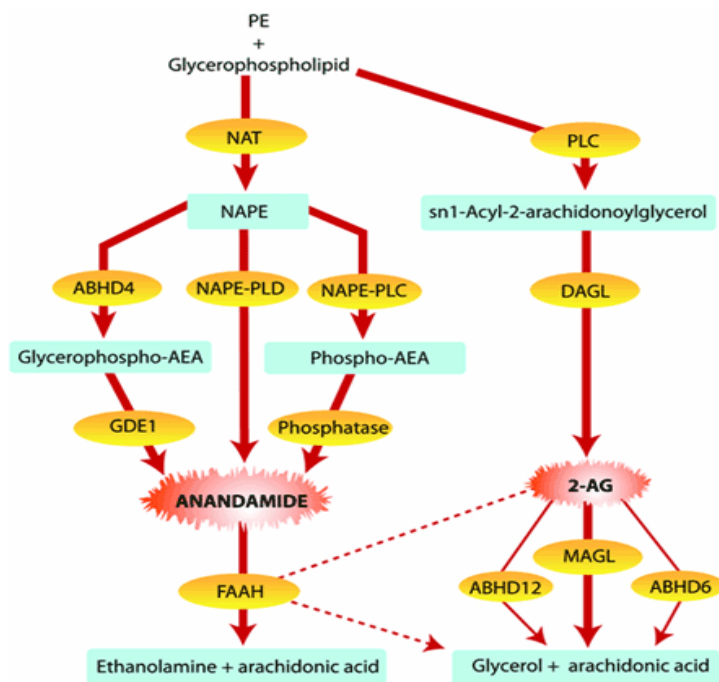


Εικόνα 33. Χημικές δομές των κύριων ενδοκανναβινοειδών.

3.9.2. Ο μεταβολισμός των ενδοκανναβινοειδών

Τα eCBs παράγονται από τις πρόδρομες ουσίες των λιπιδίων που υπάρχουν στο κυτταρικές μεμβράνες όταν και όπου χρειάζεται μετά από φυσιολογικά ή παθολογικά ερεθίσματα. Ωστόσο, η AEA έχει δειχθεί ότι έχει τη δυνατότητα να συσσωρεύεται ενδοκυττάρια στα αδιποσώματα (ή σταγονίδια λιπιδίων) (Oddi et al., 2008), ενώ η 2-AG μπορεί να προ-διαμορφωθεί και να απομονωθεί σε διακριτές ενδοκυτταρικές δεξαμενές μέχρι να χρειαστεί (Alger & Kim, 2011).

Σε επίπεδο νευρικών κυττάρων το αρχικό σήμα για τη σύνθεση των ενδοκανναβινοειδών είναι τα αυξημένα επίπεδα ενδοκυττάριου ασβεστίου Ca^{2+} που προκύπτουν ως αποτέλεσμα της αποπόλωσης της μετασυναπτικής μεμβράνης (Di Marzo, Melck, Bisogno, & De Petrocellis, 1998; Piomelli, 2003). Η αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου στο μετασυναπτικό νευρώνα οδηγεί, μέσω μιας ασβέστιο-εξαρτώμενη τρανσακυλάση (NAT, *N*-acyltransferase), σε αύξηση της δραστηριότητας της φωσφολιπάσης D της *N*-αραχιδοנוύλφωσφατιδυλαιθα-νολαμίνης (NAPE-PLD) και της sn-1 λιπάσης της διακυλγλυκερόλης, των ενζύμων δηλαδή που καταλύουν τη σύνθεση των AEA και 2-AG αντίστοιχα από τα πρόδρομά τους μόρια (De Petrocellis et al., 2004; Wilson & Nicoll, 2002), (εικόνα 28).



Εικόνα 34. Βιοσυνθετικός δρόμος των ενδοκανναβινοειδών.

Τα ενδοκανναβινοειδή χαρακτηρίζονται για το πολύ μικρό χρόνο δράσης τους, καθώς πολύ γρήγορα απομακρύνονται από τους εξωκυττάριους στόχους τους, με χαρακτηριστικό χρόνο ημίσειας ζωής που κυμαίνεται μεταξύ δευτερολέπτων και λίγων λεπτών (De Petrocellis et al., 2004). Η αδρανοποίηση της σηματοδότησης των eCBs επιτυγχάνεται με δύο βήματα: την ταχεία απομάκρυνση τους από τους μοριακούς στόχους και την επακόλουθη υδρόλυση τους από ειδικά ενζυμικά συστήματα. Η ταχεία διάχυση των eCBs μέσω της μεμβράνης του πλάσματος φαίνεται ότι διαμεσολαβείται από έναν εκλεκτικό μεταφορέα, τον eCB μεμβρανικό μεταφορέα (EMT), που είναι υπεύθυνος για την πρόσληψη τόσο της AEA και όσο και της 2-AG από διάφορα κύτταρα (Chicca, Marazzi, Nicolussi, & Gertsch, 2012). Αυτός ο ιδιαίτερος τρόπος της κατ' επίκληση σύνθεσης και της γρήγορης αποδόμησης των ενδοκανναβινοειδών είναι ο λόγος του χαρακτηρισμού τους ως τοπικών νευρορυθμιστών, καθώς όπως φαίνεται τα ενδοκανναβινοειδή δρουν κοντά στο σημείο όπου παράγονται και μόνο. Αποτελεί ακόμα θέμα συζήτησης το κατά πόσον η μεταφορά και η αποδόμηση των eCBs είναι συζευγμένες ή δύο ανεξάρτητες διαδικασίες (Fegley et al., 2004).

Μόλις προσλαμβάνονται από τα κύτταρα, οι AEA και 2-AG μπορούν να αποδομηθούν από τη fatty acid amide υδρολάση (FAAH), η οποία διασπά το δεσμό αμιδίου ή εστέρα, για να απελευθερώσει AA και αιθανολαμίνη ή γλυκερόλη, αντίστοιχα (Merkler, Merkle, Stern, & Fleming, 1996). Ωστόσο, ο κύριος

υπεύθυνος για το μεταβολισμό της 2-AG είναι η μονοακυλογλυκερόλη λιπάση (MAGL) (Dinh et al., 2002). Κατόπιν τα προϊόντα αποδόμησης ανακυκλώνονται μέσα στα φωσφολιπίδια της μεμβράνης, όπου παράγουν *de novo* τα δύο eCBs. Όταν καταστέλλεται η δραστηριότητα των MAGL και FAAH, οι AEA και 2-AG γίνονται υποστρώματα για τις λιποξυγενάσες, την κυκλοοξυγενάση-2 ή το κυτοχρώματο P450, δημιουργώντας οξειδωτική παράγωγα που φέρουν τις δικές τους βιολογικές δραστηριότητες. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η AEA και ενδεχομένως άλλα eCBs μεταφέρονται ενδοκυτταρικά από διακριτούς μεταφορείς, όπως πρωτεΐνες δέσμευσης λιπαρών οξέων και λευκωματίνη. Ως εκ τούτου, η ενδοκυτταρική διακίνηση των eCBs θα μπορούσε να αποτελέσει μια νέα διάσταση στα διαφορετικά μονοπάτια σηματοδότησης των ενώσεων αυτών στο ΚΝΣ και στην περιφέρεια (Kaczocha, Vivieca, Sun, Glaser, & Deutsch).

3.9.3. Μοριακοί στόχοι και τα μονοπάτια σηματοδότησης

Οι AEA και 2-AG ενεργοποιούν διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια συνδεδεμένες (με διαφορετικές συγγένειες) και ενεργοποιώντας δύο καλά χαρακτηρισμένους υποδοχείς των κανναβινοειδών, που έχουν χαρακτηριστεί πλήρως, ο τύπος 1 (CB₁) και ο τύπος 2 (CB₂). Οι υποδοχείς των κανναβινοειδών ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων που είναι συζευγμένοι με G πρωτεΐνες (G protein-coupled receptors, GPCRs) (Solinas, Justinova, Goldberg, & Tanda, 2006). Έχουν χαρακτηριστική διαμόρφωση, με επτά διαμεμβρανικές έλικες να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και τη θέση δέσμευσης των ενδοκανναβινοειδών να βρίσκεται σε μία κοιλότητα που σχηματίζεται από τις διαμεμβρανικές έλικες. Το αμινοτελικό άκρο του υποδοχέα βρίσκεται στην εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης και το καρβοξυτελικό του άκρο στην κυτταροπλασματική πλευρά της.

Στους ανθρώπους, ο CB₁ εντοπίζεται κατά προτίμηση στα τελικά τμήματα των κεντρικών και περιφερικών νευρώνων και τα νευρογλοιακά κύτταρα, αλλά εκφράζεται επίσης και σε περιφερικούς ιστούς όπως η καρδιά, η μήτρα, οι όρχεις, το ήπαρ και το λεπτό έντερο, καθώς και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και στο λιπώδη ιστό (Klein et al., 2003; Maccarrone, Bari, Battista, Di Rienzo, & Finazzi-Agro, 2001; Spoto et al., 2006). Οι περιφερειακοί ιστοί εκφράζουν επίσης το CB₂ υποδοχέα, που κατά κύριο λόγο βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στα λευκοκύτταρα και τον σπλήνα, και σε μικρότερο βαθμό στους μύς, το ήπαρ, το έντερο και τους όρχεις (Q. R. Liu et al., 2009). Είναι ενδιαφέρον ότι ο CB₂ είναι επίσης παρόν στον εγκέφαλο, όπου ρυθμίζεται από διάφορες συνθήκες stress (Viscomi et al., 2009).

Η γνώση της κατανομής των CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την κατανόηση και πρόβλεψη των δράσεων των κανναβινοειδών. Η κατανομή τους έχει χαρτογραφηθεί διεξοδικά στον ενήλικο εγκέφαλο με μεθόδους ποσοτικής αυτοραδιογραφίας, *in situ* υβριδισμού και ανοσοϊστοχημείας. Οι CB1 υποδοχείς, όπως προαναφέρθηκε, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένοι σε διάφορα σημεία του κεντρικού νευρικού συστήματος όπως ο φλοιός, ο ιππόκαμπος, η παρεγκεφαλίδα, τα βασικά γάγγλια, ο υποθάλαμος και αλλού (Wilson & Nicoll, 2002). Η πυκνότητα των CB1 υποδοχέων στις περιοχές αυτές του ΚΝΣ είναι πραγματικά μεγάλη και βρίσκεται σε επίπεδα παρόμοια με αυτά των υποδοχέων του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και του γλουταμινικού οξέος, οι οποίοι μεσολαβούν το μεγαλύτερο βαθμό ανασταλτικής και ευοδωτικής συναπτικής νευροδιαβίβασης (A. C. Howlett et al., 2004), γεγονός που υποδηλώνει το κυρίαρχο ρόλο που φαίνεται να διαδραματίζει ο CB1 υποδοχέας των κανναβινοειδών στη νευρωνική λειτουργία.

Η παρουσία των υποδοχέων στα σημεία αυτά του ΚΝΣ είναι ενδεικτική του ρόλου του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος στη ρύθμιση ενός αριθμού εγκεφαλικών λειτουργιών. Πιο συγκεκριμένα στον ιππόκαμπο το ΕΚΣ έχει ρόλο σε λειτουργίες που σχετίζονται με τη μνήμη και τη μάθηση (Lutz, 2007), στα βασικά γάγγλια και την παρεγκεφαλίδα με την κίνηση (Fernandez-Ruiz & Gonzales, 2005), στον εγκεφαλικό φλοιό με διαδικασίες επεξεργασίας γνωστικών πληροφοριών και στο στέλεχος και το νωτιαίο μυελό με την αντίληψη του πόνου (Pacher, Batkai, & Kunos, 2006). Επιπλέον η εντόπιση των CB1 υποδοχέων στο μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα δείχνει ότι το ΕΚΣ φαίνεται να παίζει ρόλο σε διαδικασίες ανταμοιβής και κινήτρου, ενώ τέλος, είναι πλέον σαφές ότι το ΕΚΣ ρυθμίζει με τρόπο άμεσο κυκλώματα που σχετίζονται με τον έλεγχο της πρόσληψης τροφής τόσο στον υποθάλαμο όσο και στο μεταιχμιακό σύστημα (Solinas et al., 2006).

Οι CB1 και CB2 υποδοχείς, όπως προαναφέρθηκε, είναι μέλη της οικογένειας των συνδεδεμένων με G πρωτεΐνες υποδοχέων και αλληλεπιδρούν με αυτές για την πρόκληση των περισσότερων από τις βιολογικές τους δράσεις. Οι πρωτεΐνες G είναι περιφερικές μεμβρανικές πρωτεΐνες που αποτελούνται από τρεις υπομονάδες α,β και γ. Όταν η πρωτεΐνη βρίσκεται σε ανενεργό μορφή οι τρεις υπομονάδες δημιουργούν σύμπλοκο και η α υπομονάδα είναι ενωμένη με ένα μόριο GDP. Η σύνδεση ενός αγωνιστή στον υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της διαμόρφωσης του στο χώρο και την ενεργοποίησή του. Αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του υποδοχέα είναι η αλλαγή της διαμόρφωσης και της α υπομονάδας της G πρωτεΐνης και κατά συνέπεια η ενεργοποίησή της. Μετά από τη

διέγερση αυτή, η α υπομονάδα απελευθερώνει το GDP, επιτρέποντας τη σύνδεση GTP. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δύο ανεξάρτητων ενεργοποιημένων τμημάτων της πρωτεΐνης G (α υπομονάδα και $\gamma\beta$ σύμπλοκο), το καθένα από τα οποία μπορεί να αλληλεπιδρά με διαφορετικά μόρια-στόχους του κυττάρου. Ο υποδοχέας παραμένει ενεργοποιημένος όσο ο αγωνιστής που τον διέγειρε παραμένει προσκολλημένος σε αυτόν, επιτρέποντας έτσι την ενεργοποίηση πολλών G πρωτεϊνών από τον ίδιο υποδοχέα, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται ενίσχυση του αρχικού σήματος.

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι υποδοχείς των κανναβινοειδών συνδέονται με ανασταλτικές πρωτεΐνες G (τύπου G_i/o - inhibitory). Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι κατά περιπτώσεις και ανάλογα με το σύστημα που μελετάται είναι δυνατόν να συνδέονται τόσο με G_s (stimulating) όσο και με G_i/o πρωτεΐνες, γεγονός χωρίς σαφή ακόμα φυσιολογικό ρόλο (Demuth & Molleman, 2006). Η ενεργοποίηση των CB1 υποδοχέων αλληλεπιδρά με μια σειρά ενδοκυττάρων δρόμων μεταγωγής σήματος μέσω των G_i/o πρωτεϊνών με κύριους στόχους την αδενυλική κυκλάση (AC), τη ρύθμιση διαύλων ιόντων και την ενεργοποίηση διαφόρων κινασών.

Η ρύθμιση του μεμβρανικού ενζύμου της αδενυλικής κυκλάσης (AC) αποτελεί μία από τις πιο γνωστές και μελετημένες δράσεις των κανναβινοειδών, που ήταν γνωστή πριν ακόμα περιγραφούν οι υποδοχείς τους. Η ενεργοποίηση των CB υποδοχέων οδηγεί σε αναστολή της AC, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε ελάττωση της παραγωγής του κυκλικού AMP (cAMP). Το cAMP δρα σαν αλλοστερικός τροποποιητής της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA), προκαλώντας την ενεργοποίησή της. Η ενεργοποιημένη κινάση με τη σειρά της φωσφορυλιώνει διάφορα υποστρώματα (κινάσες, φωσφατάσες, υποδοχείς, διαύλους ιόντων, μεταγραφικούς παράγοντες κλπ.), οδηγώντας είτε στην ενεργοποίησή τους είτε στην απενεργοποίησή τους (Demuth & Molleman, 2006).

Τέλος, η ενεργοποίηση του CB1 υποδοχέα μπορεί να ενεργοποιήσει μια σειρά από ενδοκυττάρια κινάσες όπως οι FAK, PI3-K, ERKs, c-JNK, p38 MAPK, οι οποίες με τη σειρά τους είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν γονίδια διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων και παραγόντων ανάπτυξης (Pagotto et al., 2006).

Το σύμπλοκο των υπομονάδων β και γ όπως προαναφέρθηκε είναι και το ίδιο ενεργό και συμμετέχει και αυτό με τη σειρά του στην ενεργοποίηση επιπλέον ενδοκυττάρων δρόμων, με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση κάποιων διαύλων Ca^{2+} και την ενεργοποίηση διαύλων K^+ .

Ο τερματισμός της λειτουργίας των G πρωτεϊνών γίνεται με την υδρόλυση του συνδεδεμένου στην α υπομονάδα GTP σε GDP από την ίδια την α υπομονάδα. Η διαδικασία αυτή συμβαίνει μετά από ποικίλο αλλά απόλυτα ρυθμιζόμενο χρόνο και έχει ως αποτέλεσμα την επανασύνδεση των τριών υπομονάδων και την επάνοδο της G πρωτεΐνης στην αδρανή της μορφή (Demuth & Molleman, 2006).

Μια σημαντική παρατήρηση που έγινε πρόσφατα είναι ότι ο τρόπος αλληλεπίδρασης του ενεργοποιημένου υποδοχέα με τα διάφορα ενδοκυττάρια συστήματα εξαρτάται και μπορεί να αλλάζει ανάλογα με το είδος του αγωνιστή και το είδος του ιστού.

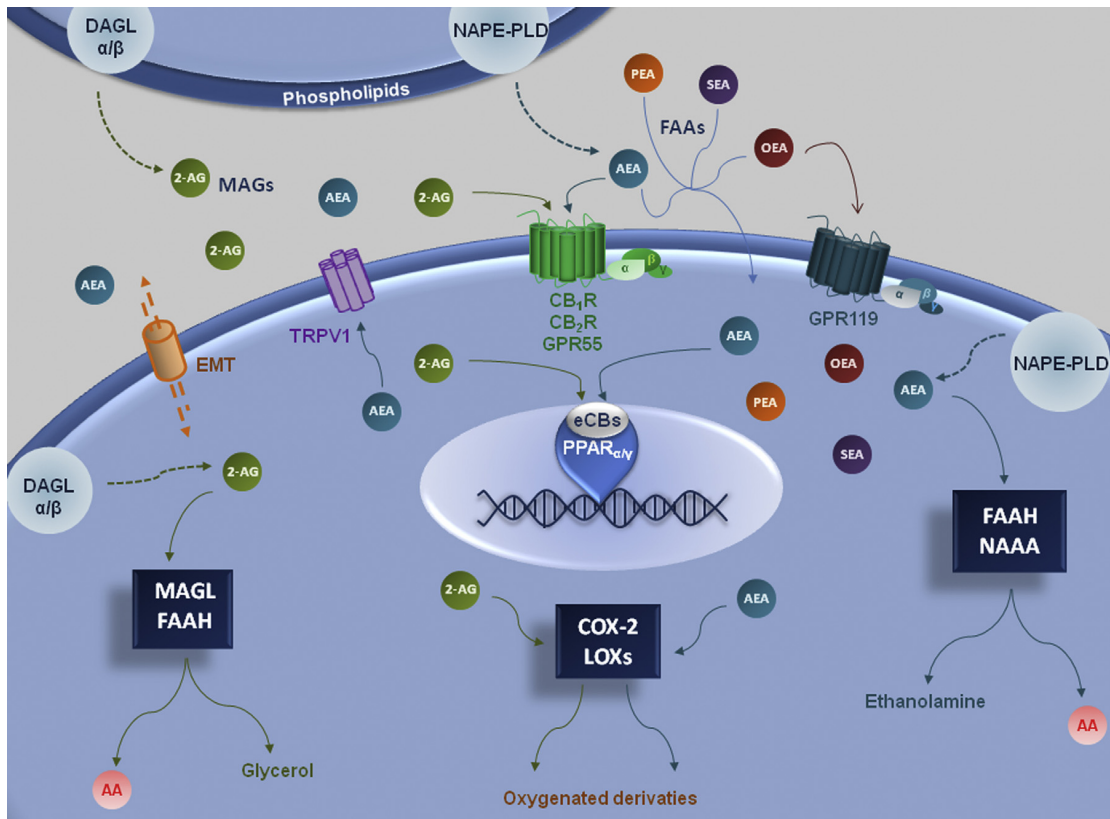
3.9.4. Ο ρόλος των ενδοκανναβινοειδών στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής και την ενεργειακή ισορροπία

Έχει δοθεί μεγάλη προσοχή στο ρόλο των eECs σύστημα για τη διατήρηση της ενεργειακής ισορροπίας, από τη στιγμή που συνθετικές ενώσεις, όπως ο CB₁ ανταγωνιστής / αντίστροφος αγωνιστής SR141716A (rimonabant), έχουν χρησιμοποιηθεί με θετικά αποτελέσματα στη θεραπεία της παχυσαρκίας που προκαλείται από την πρόσληψη τροφής. Πράγματι, αυτές οι ουσίες μειώνουν την πρόσληψη τροφής και αύξηση σωματικού βάρους, όχι μόνο σε ζωικά μοντέλα αλλά και σε ανθρώπους (Cota, 2007; Di Marzo & Despres, 2009). Προγενέστερες μελέτες είχαν δείξει ότι η φαρμακολογική διέγερση των CB₁ με συστηματική χορήγηση φυτικής προέλευσης, συνθετικά, ή ενδογενή κανναβινοειδή, μπορεί να διεγείρει την πρόσληψη τροφής και να έχει αναβολικά αποτελέσματα (Hao, Avraham, Mechoulam, & Berry, 2000). Επιπλέον, χρησιμοποιώντας ποντίκια που στερούνται CB₁, έχει αποδειχθεί ότι οι δράσεις του ECBS στην πρόσληψη τροφής και το σωματικό βάρος εξαρτώνται από την λειτουργική έκφραση και τη δραστηριότητα του CB₁ (Cota, Marsicano, Lutz, et al., 2003).

Στον εγκέφαλο, το eCBs σύστημα ενισχύει το κίνητρο για εύρεση και κατανάλωση τροφής, αλληλεπιδρώντας με τα μεσομεταιχμιακά μονοπάτια που είναι υπεύθυνα για τους μηχανισμούς ανταμοιβής, ενώ ενεργοποιείται «σε απαίτηση» του υποθαλάμου να ρυθμίσει παροδικά τα επίπεδα ή / και τις ενέργειες άλλων ορεξιογόνων και ανορεξιογόνων μεσολαβητών. Τα επίπεδα των eCBs, τόσο στον υποθάλαμο όσο και στο μεταιχμιακό σύστημα του πρόσθιου εγκεφάλου, είναι αυξημένα κατά τη διάρκεια της στέρησης τροφής και χαμηλότερα κατά τη διάρκεια κατανάλωσης τροφίμων (Kirkham, Williams, Fezza, & Di Marzo, 2002). Όταν ενίονται απευθείας στον υποθάλαμο ή στο λοφίδιο του κερκοφόρου πυρήνα (NAc), επάγουν την πρόσληψη τροφής ακόμα και σε κορεσμένα ζώα. Σε συμφωνία με

αυτήν την παρατήρηση, η τοπική χορήγηση *N*-arachidonoylserotonin (αναστολέας του υδρόλυσης των eCBs από FAAH) στο NAc επίσης διεγείρει την πρόσληψη τροφής παράλληλα με την έκφραση του c-Fos στον τοξοειδή πυρήνα (ARC) και τον παρακοιλιακό πυρήνα (PVN), καθώς και στον υποθάλαμο (Soria-Gomez et al.).

Η εξωγενής χορήγηση κανναβινοειδών, μέσω διέγερσης του CB₁ υποδοχέα, αναστέλλει τη γλουταμινεργική σηματοδότηση στους προ-οπιομελανοκορτινικούς (POMC) νευρώνες, μειώνοντας έτσι την απελευθέρωση της μελανοκορτίνης, που είναι ανορεξιογόνος μεσολαβητής (Hentges, Low, & Williams, 2005). Η διαπίστωση αυτή ενισχύεται περαιτέρω από πρόσθετα στοιχεία που δείχνουν ότι η ενδοεγκεφαλοκοιλιακή (icv) χορήγηση CB₁ ανταγωνιστών μπορεί να εξασθενίσει την ορεξιογόνο δράση των ανταγωνιστών της μελανοκορτίνης. Επιπλέον, το AEA (N-arachidonoyl ethanolamine AEA), φαίνεται να αυξάνει την έκκριση του ορεξιογόνου μεσολαβητή νευροπεπτίδιο Y (NPY) (Gamber, Macarthur, & Westfall, 2005). Ωστόσο, το γεγονός ότι ο CB₁ δεν εκφράζεται από τους νευρώνες του υποθαλάμου που εκκρίνουν το NPY, και δεδομένου ότι ο rimonabant είναι σε θέση να μειώσει την πρόσληψη τροφής εξίσου καλά τόσο σε αγρίου τύπου και όσο και σε NPY null-ποντικούς, καθιστά απίθανο το ενδεχόμενο ότι τα ECBS μπορούν να ρυθμίσουν την πρόσληψη τροφής μέσω NPY (Bermudez-Silva, Cardinal, & Cota, 2011). Εντός του παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου (PVN), τα ECBS μπορεί να απελευθερωθούν κατά την ενεργοποίηση της ορεξιογόνου ουσίας των γλυκοκορτικοειδών, η οποία αναστέλλει (μεταξύ άλλων) την ορμόνη κορτικοεκλυτίνη (CRH-Corticotropin Releasing Hormone), που αποτελεί ανορεξιογόνο μεσολαβητή. Σύμφωνα με αυτές τις παρατηρήσεις, τα επίπεδα CRH βρέθηκαν να είναι υψηλότερα σε ποντίκια με ανεπάρκεια CB₁ (Cota, Marsicano, Lutz, et al., 2003). Επιπλέον, οι CB₁ αγωνιστές αναστέλλουν τους νευρώνες της όρεξης, ενώ αυξάνουν τη συγκέντρωση της ορμόνης MCH (melanin concentrating hormone) στους νευρώνες του πλαγίου υποθαλάμου. Είναι ενδιαφέρον ότι, *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι ο CB₁ και οι υποδοχείς ορεξίνης-1 είναι παρόντες ως ετεροδιμερή / ολιγομερή σε ενδοκυτταρικά κυστίδια, και ότι η θεραπεία με rimonabant μπλοκάρει την ενεργοποίηση των ενδοκυττάρων μονοπατιών της ορεξίνης (Ellis, Pediani, Canals, Milasta, & Milligan, 2006).



Εικόνα 35: Επισκόπηση του eCB συστήματος υποδεικνύοντας τους πιο πιθανούς στόχους των eCBs, τα αναβολικά και καταβολικά μονοπάτια τους, και τον ενδοκυτταρικό εντοπισμό τους.

MAGs, Monoacylglycerol; 2-AG, 2-Arachidonoylglycerol; FAAs, Fatty acid amides; AEA, Anandamide; OEA, N-Oleoylethanolamine; SEA, N-stearoylethanolamine; PEA, N-Palmitoylethanolamine; AA, Arachidonic acid; CB1/2, type 1/2 cannabinoid receptors; GPR55/119, G protein-coupled receptor 55/119; TRPV1, transient receptor potential vanilloid 1 channel; EMT, endo-cannabinoid membrane transporter; NAPE-PLD, N-acylphosphatidylethanolamine-selective phospholipase D; DAGL, diacylglycerol lipase; FAAH, fatty acid amide hydrolase; NAAA, N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase; MAGL, monoacylglycerol lipase; COX-2, cyclooxygenase-2; LOXs, lipoxygenases; eCBs, endocannabinoids; PPAR α/γ , Peroxisome proliferator-activated

Η ρύθμιση της έκφρασης κάποιων ανορεξιογόνων και ορεξιογόνων πεπτιδίων από το σύστημα των eCBs στον υποθάλαμο, συχνά αντισταθμίζεται από τις αντίθετες ενέργειες της λεπτίνης, που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό και αποτελεί βασικό παράγοντα στη ρύθμιση της πρόσληψης και κατανάλωσης ενέργειας. Τα επίπεδα των eCBs στον υποθάλαμο φαίνεται να συσχετίζεται αντιστρόφως με τα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα (Di Marzo et al., 2001). Επιπλέον, η λεπτίνη αναστέλλει άμεσα τη σύνθεση των eCBs με τη μείωση τόσο των ενδοκυτταρικών επιπέδων ασβεστίου στους MCH νευρώνες, όσο και τη γλυκοκορτικο-μεσολαβούμενη απελευθέρωση των eCBs στον PVN (Malcher-Lopes et al., 2006). Στο ίδιο πλαίσιο, θα πρέπει να υπενθυμίσουμε ότι στον άνθρωπο η

λεπτίνη μπορεί επίσης να προάγει υδρόλυση των eCBs ενισχύοντας τη γονιδιακή έκφραση και τη δραστηριότητα της υδρολάσης FAAH (fatty acid amide hydrolase), μέσω δέσμευσής σε ένα ξεχωριστό χώρο του υποκινητή της. Μια τέτοια στενή διασυστοιχία μεταξύ του συστήματος των eCBs και της λεπτίνης φαίνεται να επηρεάζει και τη δραστηριότητα του συστήματος ανταμοιβής του εγκεφάλου. Παχύσαρκα ποντίκια με ελαττωματική σηματοδότηση λεπτίνης εμφανίζουν αυξημένη έκφραση του CB1 στις δομές ανταμοιβής του εγκεφάλου (Thanos et al., 2008). Η αλληλεπίδραση μεταξύ του συστήματος των eCBs και της λεπτίνης, είναι αξιοσημείωτη και έξω από το ΚΝΣ, σε μεταβολικά σχετικά όργανα, όπως ο λευκός λιπώδης ιστός (WAT). Πράγματι, αποδείχθηκε ότι η χορήγηση λεπτίνης στον υποθάλαμο μπορεί να αναστείλει την λιπογένεση στο WAT, δεσμεύοντας τη σηματοδότηση της υποθαλαμικής PI3-κινάσης (Buettner et al., 2008).

Έχει αναφερθεί ότι τα λιπαρά οξέα (FA) που ανιχνεύονται στο ΚΝΣ εμφανίζουν μεταβολικά χαρακτηριστικά όπως η ρύθμιση της ενεργειακής δαπάνης και της γλυκόζης του πλάσματος (Jumpertz et al., 2012). Εκτός από τον υποθάλαμο και το σύστημα ανταμοιβής, το eCB σύστημα ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής και την ενεργειακή ισορροπία στο επίπεδο του πνευμονογαστρικού νεύρου, συνδέοντας έτσι τη γαστροεντερική οδό με τους πυρήνες του στελέχους και σχηματίζοντας τον "gut-to-brain" άξονα. Ορμόνες όπως η χολεκυστοκινίνη (CCK-colecistokinin), το πεπτίδιο ΥΥ (PYY), και η γκρελίνη ασκούν σημαντικές λειτουργίες ρυθμίζοντας τη διάρκεια και τον τερματισμό του γεύματος, με την επαγωγή του κορεσμού (Strader & Woods, 2005). Έχει αποδειχθεί ότι, σε προσαγωγούς νευρώνες του πνευμονογαστρικού, αυξάνεται η έκφραση του CB₁ στη διάρκεια της νηστείας και μειώνεται μετά την επανασίτιση, υπό τον έλεγχο της CCK. Είναι ενδιαφέρον ότι η ρύθμιση της προς τα κάτω έκφρασης του CB₁ κατά τη διάρκεια της επανασίτισης εμποδίζεται επίσης με τη χορήγηση της γκρελίνης, η οποία πιθανά μπλοκάρει τη δράση της CCK στην έκφραση του CB₁ (Burdyga, Varro, Dimaline, Thompson, & Dockray, 2010). Εκτός από τη CCK, θα μπορούσε επίσης να υπάρχει ένας πιθανός σύνδεσμος μεταξύ του συστήματος των eCBs και του PYY, αφού η έκφραση του Y2R, ενός υποτύπου του υποδοχέα διαμεσολαβεί την ανορεκτική δράση του PYY.

Μεταξύ των ορμονών του εντέρου, η γκρελίνη είναι γνωστό ότι ασκεί μία ορεξιγόνο δράση. Σε αρουραίους, μια υπο-ανορεξιγόνο δόση του rimonabant είναι σε θέση να καταργήσει την ορεξιγόνο δράση της χορηγούμενης γκρελίνης, αποδεικνύοντας για πρώτη φορά μία διασυστοιχία μεταξύ γκρελίνης και του συστήματος των eCBs (Tucci, Rogers, Korbonits, & Kirkham, 2004). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η απελευθέρωση της γκρελίνης θα μπορούσε να εξαρτάται από την ενεργοποίηση του συστήματος των eCBs, αφού η συστηματική χορήγηση του

rimonabant μειώνει τα κυκλοφορούντα επίπεδα γκρελίνης. Αργότερα, περαιτέρω μελέτες έχουν δείξει ότι η γκρελίνη αυξάνει την υποθαλαμική συγκέντρωση των ECBs, και ότι η χορήγηση CB₁ αγωνιστών ή Μεθανανδαμίδιου (μη υδρολυμένο AEA ανάλογο) σε αρουραίους αυξάνει τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα και την έκκριση της γκρελίνης από τα γαστρικά X/A-like κύτταρα (ονομάζονται κύτταρα X για τις άγνωστες λειτουργίες τους και κύτταρα A-like για την ομοιότητα τους με το A-κύτταρα του παγκρέατος) (Zbucki, Sawicki, Hryniewicz, & Winnicka, 2008). Εκτός από το ρόλο τους στην πρόσληψη τροφής, τα eCBs, στο πρόσθιο εγκέφαλο, ρυθμίζουν την ομοίωση της ενέργειας τροποποιώντας επίσης τη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Πράγματι, έχει αναφερθεί πρόσφατα ότι τα ποντίκια που στερούνται επιλεκτικά την έκφραση του CB₁ σε νευρώνες του πρόσθιου εγκεφάλου και δείχνουν μια μείωση κατά 60% της έκφρασης του υποδοχέα στα συμπαθητικά γάγγλια του τραχήλου, έχουν ένα λεπτόσωμο φαινότυπο και είναι ανθεκτικά στην παχυσαρκία. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της οξειδωσης των λιπιδίων και στη θερμογένεση που προκαλείται από τον αυξημένο συμπαθητικό τόνο (Quarta et al., 2010).

Αντιστρόφως, έχει δειχθεί ότι η ενεργοποίηση του CB₁ διεγείρει την εναπόθεση λίπους διευκολύνοντας τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων, και αυξάνοντας την έκφραση των λιπογενετικών ενζύμων και τη δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (Cota, Marsicano, Lutz, et al., 2003; Muccioli et al., 2010).

Σε συμφωνία με την δράση του συστήματος των EBCs στο λιπώδη ιστό, περιγράφεται ότι η ενεργοποίηση του εκφραζόμενου από τα ηπατοκύτταρα CB₁ μπορεί να επάγει την έκφραση των λιπογενετικών ενζύμων, όπως της ακετυλο συνένζυμο-A καρβοξυλάσης-1 (ACC1) και της συνθάσης των λιπαρών οξέων (FAS), τα οποία με τη σειρά τους αυξάνουν *de novo* σύνθεση των λιπαρών οξέων και ευνοούν την ανάπτυξη της στεάτωσης του ήπατος (Osei-Hyiaman et al., 2008). Επιπλέον οι υποδοχείς PPAR α και γ (peroxisome proliferator-activated receptors) ενεργοποιούνται από τα eCBs για τη ρύθμιση των λιπιδίων και του μεταβολισμού της γλυκόζης, όπως επίσης και για τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις (Pagano, Rossato, & Vettor, 2008).

Πολύ λιγότερο έχει ερευνηθεί ο ειδικός ρόλος του συστήματος των eCBs στους σκελετικούς μύες και το ενδοκρινές πάγκρεας. Μεμονωμένα στο γαστροκνήμιο μυ, έχει αποδειχθεί ότι η φαρμακευτική δέσμευση του CB₁ βελτιώνει τη βασική και την ινσουλινοεπαγώμενη μεταφορά γλυκόζης, ενώ η CB₁ ενεργοποίηση είχε το αντίθετο αποτέλεσμα (Lindborg, Teachey, Jacob, & Henriksen, 2010).

Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την παρουσία των CB₁ και CB₂ υποδοχέων στα παγκρεατικά νησίδια τρωκτικών και ανθρώπων, όπου τα ECBS φαίνεται να παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της ενδοκρινικής έκκρισης (Bermudez-Silva et al., 2008). Αυτή η υπόθεση είχε αρχικά προταθεί από τις *in vitro* μελέτες, στις οποίες παρατηρήθηκε μια υπερέκκριση της βασικής παγκρεατικής ινσουλίνης όταν καλλιέργειες νησιδίων από παχύσαρκους αρουραίους Zucker εκτέθηκαν σε rimonabant για 24 h. Μέχρι στιγμής, τα αποτελέσματα από ανθρώπινες μελέτες είναι αντικρουόμενα, όπου τόσο η ενεργοποίηση όσο και ο αποκλεισμός του CB₁ μπορούν να ρυθμίζουν την έκκριση ινσουλίνης στον παγκρεατικό ιστό (Li et al., 2011).

Εκτός από το ρόλο που διαδραματίζει το eCB σύστημα στη ρύθμιση των ορμονών του γαστρεντερικού και των περιφερειακών οργάνων που συμμετέχουν στον ενεργειακό μεταβολισμό, ολοένα και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι μια άλλη βασική πτυχή της ρύθμισης του μεταβολισμού από το σύστημα των eCBs θα μπορούσε να συνδέεται με τη μικροχλωρίδα (microbiota) του εντέρου, που είναι γνωστό ότι επηρεάζει ολόκληρο το μεταβολισμό του σώματος και το ενεργειακό ισοζυγίου. Ο Muccioli και οι συνεργάτες του έχουν κάνει παρατηρήσεις σε ένα μοντέλο του κυτταρικού επιθηλίου του παχέος κατά τη CB₁ ενεργοποίηση, δείχνοντας ότι η εντερική μικροχλωρίδα ελέγχει τον εντερικό τόνο του συστήματος των eCBs, το οποίο με τη σειρά του διαμορφώνει τη διαπερατότητα του εντέρου (Muccioli et al., 2010).

Πρόσφατα στοιχεία έδειξαν ότι οι CB₁ υποδοχείς είναι παρόντες σε κύτταρα της γλώσσας ποντικού, όπου συνεντοπίζονται κυρίως με τον τύπου-1 υποδοχέα γεύσης-3, έναν υποθετικά γλυκό υποδοχέα. Πράγματι, η φαρμακολογική ενεργοποίηση των τελευταίων υποδοχέων ενισχύει τις νευρικές αποκρίσεις σε γλυκά τρόφιμα, αλλά όχι σε πικρές, αλμυρές, ή ξινές ουσίες. Αυτή η δράση παρατηρήθηκε τόσο *in vivo* και *in vitro* μετά την εφαρμογή του CB₁ αγωνιστών σε απομονωμένα γευστικά κύτταρα (Yoshida et al., 2010). Είναι ενδιαφέρον, ότι πρόσφατες παρατηρήσεις έδειξαν ότι η από του στόματος χορήγηση τροφών πλούσιων σε λίπη κινητοποιεί το σύστημα των EBCs στο εγγύς λεπτό έντερο των αρουραίων (DiPatrizio, Astarita, Schwartz, Li, & Piomelli, 2011), ενώ ενδοδωδεκαδακτυλική έγχυση του rimonabant αναστέλλει την πρόσληψη λίπους. Συνολικά, τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την άποψη ότι το σύστημα των EBCs στο έντερο μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διέγερση λήψης λιπαρών γευμάτων (DiPatrizio et al., 2011), αποτελώντας έτσι μια σημαντική συνιστώσα στο θετικό μηχανισμό ανατροφοδότησης που οδηγεί στην πρόσληψη λίπους. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι ο CB₁ αυξάνει την ανίχνευση των οσμών και την πρόσληψη τροφής σε νηστικούς ποντικούς (Soria-Gomez et al., 2014).

4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Ειδικό Μέρος

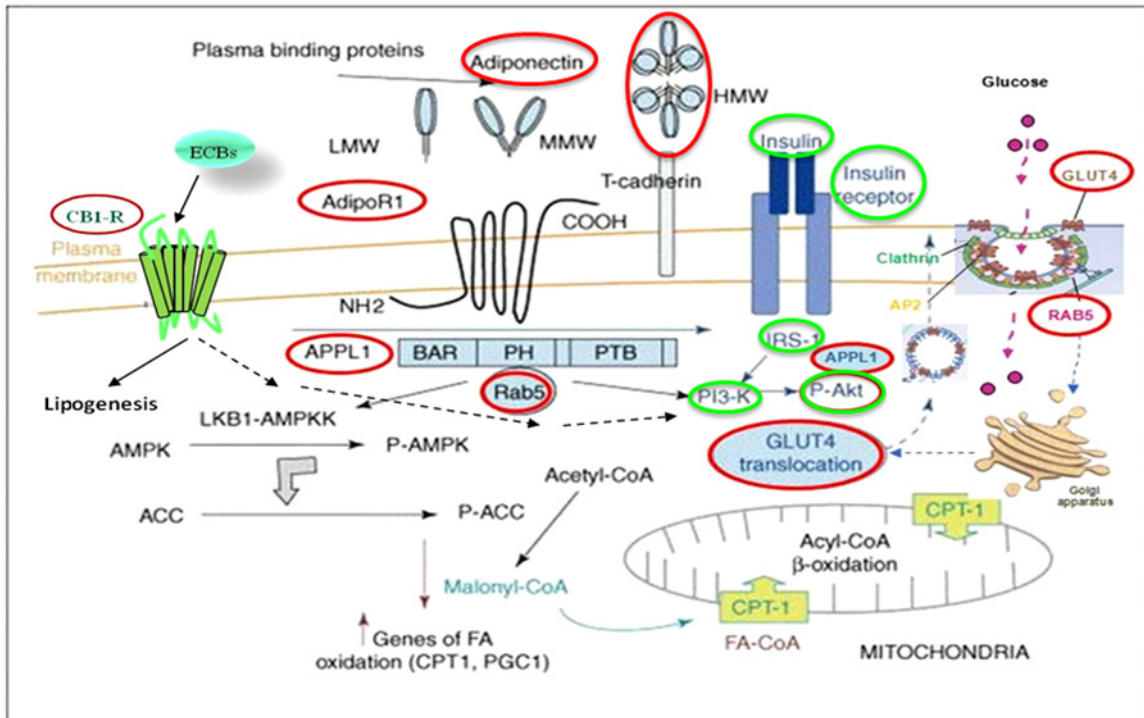
Η παχυσαρκία θεωρείται μία παγκόσμια πανδημία και αποτελεί μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στις ανεπτυγμένες χώρες. Είναι η πάθηση που προκαλείται από υπερβολική συσσώρευση λίπους στο σώμα. Η αύξηση της ποσότητας του σωματικού λίπους συνεπάγεται βέβαια, και αύξηση του σωματικού βάρους. Η παχυσαρκία έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, οδηγώντας σε μείωση του προσδόκιμου ζωής και/ή σε αυξημένα προβλήματα υγείας, όπως καρδιοαγγειακές παθήσεις, σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, αποφρακτική άπνοια ύπνου, ορισμένα είδη καρκίνου, οστεοαρθρίτιδα και άσθμα. Συνήθως, οφείλεται σε υπερβολική πρόληψη τροφών, υψηλών σε ενεργειακή πυκνότητα, στην έλλειψη σωματικής άσκησης, σε γενετική προδιάθεση, αλλά και σε ψυχολογικούς παράγοντες. Το φαινόμενο της παχυσαρκίας δεν αφορά μόνο στους ενήλικες, αλλά δυστυχώς και στα παιδιά και τους εφήβους.

Διάφοροι παράγοντες συνδέονται με το μεταβολισμό και τη λειτουργία του λιπώδους ιστού, και φαίνεται να σχετίζονται με τους μηχανισμούς της παχυσαρκίας, και ιδιαίτερα την ευαισθησία του οργανισμού στην ινσουλίνη και την ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Οι μηχανισμοί, σύμφωνα με τους οποίους αναπτύσσεται η ινσουλινοαντίσταση, δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι, αλλά η ινσουλινοαντίσταση σχετίζεται έντονα με την ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου, καθώς και με τη διαταραγμένη εικόνα των παχύσαρκων ασθενών.

Ο λιπώδης ιστός κατέχει κεντρικό ρόλο στο ενεργειακό ισοζύγιο του ανθρώπου και αποτελεί, εκτός από χώρο αποθήκευσης των λιπιδίων, τόπο παραγωγής πλήθους πεπτιδικών και μη πεπτιδικών βιοδραστικών μορίων, με ενδοκρινική, παρακρινική και αυτοκρινική δράση.

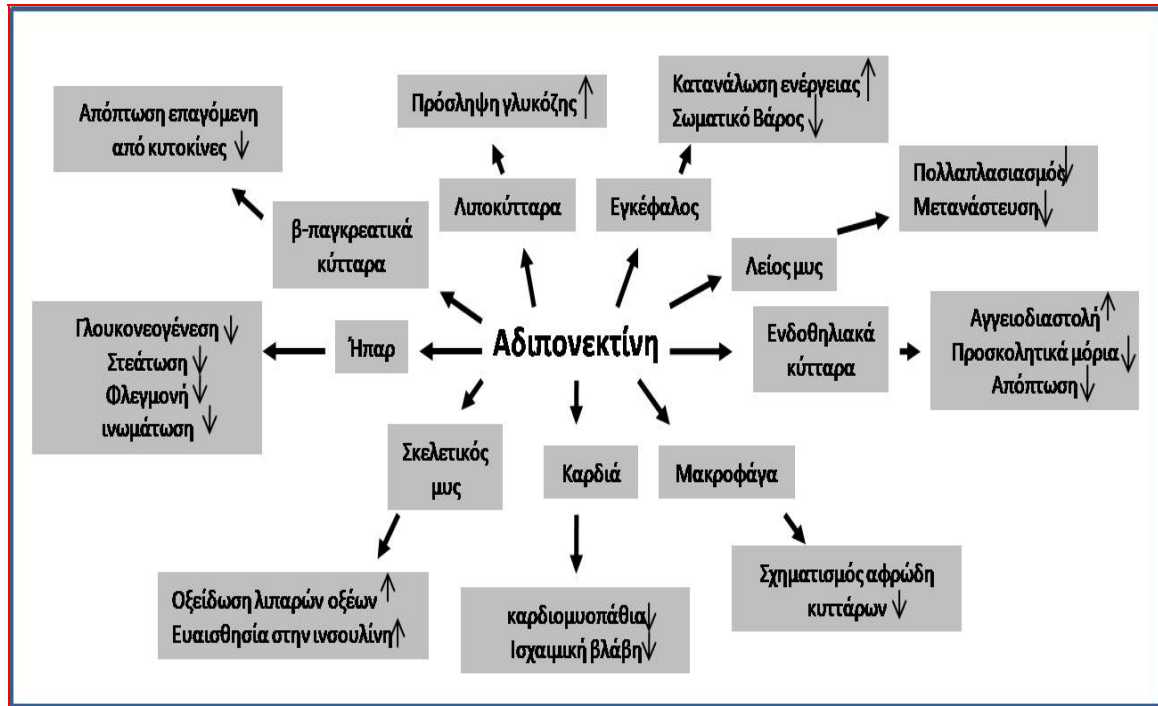
Οι αντιποκίνες, που παράγονται από το λιπώδη ιστό, συμβάλουν στο συντονισμό της λιπογένεσης, στη μετανάστευση των ανοσοποιητικών κυττάρων στο λιπώδη ιστό και στη λειτουργία και το μεταβολισμό των λιποκυττάρων. Ο τρόπος έκκρισης των αντιποκινών αντικατοπτρίζει τη λειτουργία του λιπώδους ιστού και καθορίζει τον κίνδυνο ανάπτυξης μεταβολικών και καρδιαγγειακών διαταραχών που οφείλονται στην παχυσαρκία (Catalan, Gomez-Ambrosi, Rodriguez, Salvador, & Fruhbeck, 2009). Όταν αναπτύσσεται φλεγμονή και δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού, επηρεάζεται ανάλογα και η έκκριση των λιποκινών.

4.1 Σηματοδοτικό μονοπάτι Αντιπονεκτίνης-Ινσουλίνης στα Λιποκύττρα



Εικόνα 36: Σηματοδοτικό μονοπάτι της Αντιπονεκτίνης - Ινσουλίνης στα λιποκύττρα. Με κόκκινο απεικονίζονται τα μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της αντιπονεκτίνης και με πράσινο τα μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης.

Η **αντιπονεκτίνη** παράγεται στο λευκό λιπώδη ιστό και μέσω των υποδοχέων της AdipoR1 και AdipoR2 ασκεί πολλές ευεργετικές δράσεις στον οργανισμό. Αυξάνει την πρόσληψη λιπαρών οξέων (FA) από τα κύτταρα των σκελετικών μυών προάγοντας την β-οξειδωσή τους, μειώνει τη σύνθεση των τριγλυκεριδίων, προάγει την πρόσληψη γλυκόζης στους σκελετικούς μύες αυξάνοντας την έκφραση των GLUT4, αναστέλλει τη σύνθεση των FA και τη γλυκονεογένεση στο ήπαρ, αυξάνει τη φωσφορυλίωση του υποδοχέα της ινσουλίνης και δρα κεντρικά ρυθμίζοντας την όρεξη και την πρόσληψη τροφής (Εικόνα 35).

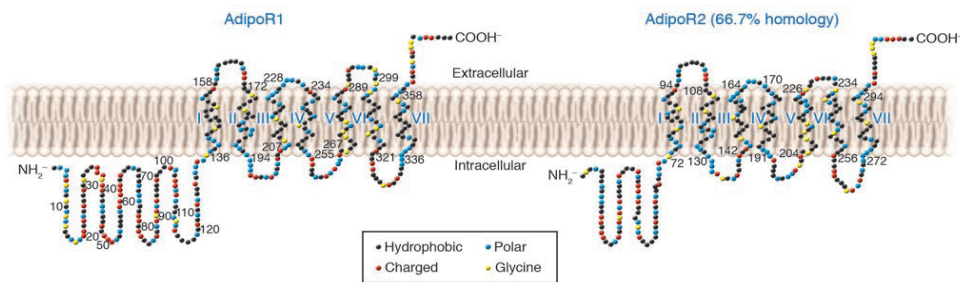


Εικόνα 37: Δράσεις της Αντιπονεκτίνης στον οργανισμό.

Εκκρίνεται κυρίως από το λιπώδη ιστό και στην κυκλοφορία αποτελείται από τουλάχιστον τρεις ισομορφές: τριμερές (~67kDa), εξαμερές (~140kDa) και υψηλού μοριακού βάρους HMW (>300kDa). Κάθε ετεροδιμερές εμφανίζει διαφορετικές βιοχημικές ιδιότητες και παρουσιάζει μοναδικές βιολογικές λειτουργίες (Kadowaki, Yamauchi, & Kubota, 2008). Η HMW αντιπονεκτίνη είναι η πιο ενεργή ολομομερική μορφή της αντιπονεκτίνης και σχετίζεται σαφώς με έναν αριθμό μεταβολικών διαταραχών. Θεωρείται ότι η αντιπονεκτίνη έχει αυξημένη βιολογική δραστηριότητα, συμπεριλαμβάνοντας τη δράση της ινσουλίνης και την καταστολή της απόπτωσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και την ενεργοποίηση της AMP πρωτεϊνικής κινάσης στους μύες (Tonelli et al., 2004). Η HMW αντιπονεκτίνη αποτελεί μία πρόδρομη δεξαμενή της ορμόνης που ενεργοποιείται με τη μικρού μοριακού βάρους αντιπονεκτίνη και είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της δραστηριότητας της AMP κινάσης. Χαμηλές συγκεντρώσεις ολικής αντιπονεκτίνης στον ορό (όχι μόνο της HMW) έχουν παρατηρηθεί στην παχυσαρκία, το ΣΔ II και τις καρδιαγγειακές διαταραχές (Hotta et al., 2000; Wannamethee et al., 2010) και υπάρχουν ενδείξεις συσχέτισης μεταξύ των κυκλοφορούντων επιπέδων ολικής/HMW αντιπονεκτίνης και καρδιακής στεφανιαίας νόσου, ισχαιμικού εγκεφαλικού και περιφερικής αρτηριοπάθειας (Kizer et al., 2011).

Οι δράσεις αυτές της αντιπονεκτίνης επιτυγχάνονται μέσω των υποδοχέων της, AdipoR1 και AdipoR2 (εικόνα 38), οι οποίοι ανήκουν στην οικογένεια των

G-συνδεδεμένων πρωτεϊνών (GPCRs) και αποτελούνται από επτά διαμεμβρανικές αλληλουχίες, κρατώντας το βραχύ καρβοξυτελικό τμήμα εξωκυττάρια και το αμινοτελικό τμήμα στο κυτταρόπλασμα (Yamauchi et al., 2003).



Εικόνα 38: Οι υποδοχείς AdipoR1 και AdipoR2.

Ο **AdipoR1** υποδοχέας εκφράζεται σε πολλούς ιστούς και ενεργοποιείται κυρίως από την σφαιρική περιοχή της αντιπνεκτίνης. Η κύρια έκφρασή του είναι στους σκελετικούς μύες, όπου σχετίζεται με τα μονοπάτια ενεργοποίησης της AMP κινάσης. Ο AdipoR2 υποδοχέας εκφράζεται σε αφθονία στο ήπαρ, όπου συνδέεται με την ενεργοποίηση των μονοπατιών του peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-α (Yamauchi et al., 2003). Οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς AdipoR1 και AdipoR2 αυξάνουν τη μιτοχονδριακή βιογένεση, βελτιώνουν την οξειδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες, αυξάνουν την πρόσληψη γλυκόζης από τα κύτταρα, μειώνουν την ηπατική γλυκονεογένεση, αυξάνουν την παραγωγή λακτάσης στους σκελετικούς μύες και εμποδίζουν τη φλεγμονή και το οξειδωτικό stress, που αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (Yoon et al., 2006). Όπως και η αντιπνεκτίνη, έτσι και οι υποδοχείς της έχουν βρεθεί ελαττωμένοι στην παχυσαρκία, στην αντίσταση στην ινσουλίνη και το ΣΔ II (Yamauchi et al., 2007).

Ο AdipoR1 είναι γνωστό ότι εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο λιπώδη ιστό και ασκεί τη δράση της αντιπνεκτίνης μέσω της αλληλεπίδρασης και της ενεργοποίησης του **APPL1**, μίας πρωτεΐνης προσαρμογέα (Cheng et al., 2007). Πρόκειται για μία πρωτεΐνη, η οποία εντοπίζεται στα ενδοσώματα, κοντά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Μία από τις σημαντικές λειτουργίες του APPL1 φαίνεται να είναι η σύνδεση των υποδοχέων της αντιπνεκτίνης με τα σηματοδοτικά τους μονοπάτια και να διευκολύνει την ινσουλινοεπαγόμενη μεταφορά της γλυκόζης στο λιπώδη ιστό. Το ενδοκυτταρικό τμήμα του υποδοχέα της αντιπνεκτίνης αλληλεπιδρά με το φωσφοτυροσινικό συνδεσμικό τμήμα του APPL1, με αποτέλεσμα τη διαμεσολάβηση του APPL1 στη μετάδοση του σήματος της αντιπνεκτίνης και την ενεργοποίηση της p38 mitogen-activated πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK) και της adenosine monophosphate-activated πρωτεϊνικής κινάσης

(AMPK), που οδηγεί στην αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης και την οξείδωση των λιπαρών οξέων στο λιπώδη ιστό (Deera & Dong, 2009). Επιπλέον το APPL1 συμβάλει στην αντιφλεγμονώδη και προστατευτική δράση της αντιπνεκτίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, δρα σα σηματοδοτικός μεσολαβητής στη διασυνομιλία της αντιπνεκτίνης και της ινσουλίνης, συνδέεται απευθείας με τους μεμβρανικούς υποδοχείς και τις σηματοδοτικές πρωτεΐνες και παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κυττάρων (Mao et al., 2006). Στα λιποκύτταρα, εμπλέκεται στη φωσφορυλίωση του **Akt2** που διαμεσολαβείται από την ινσουλίνη και στη μεταφορά του υποδοχέα της ινσουλίνης-4 (Glut4), από το κυτταρόπλασμα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Saito, Jones, Huang, Czech, & Pilch, 2007).

Όπως έχει προαναφερθεί, ο **GLUT4** (Glucose Transporter type 4), είναι ο μεταφορέας γλυκόζης τύπου 4, ο οποίος επιτρέπει την είσοδο γλυκόζης στο κυτταρόπλασμα, όταν το μόριο της ινσουλίνης προσδεθεί στους υποδοχείς ινσουλίνης του κυττάρου. Ο λιπώδης ιστός και οι σκελετικοί μύες αποτελούν τις πρωταρχικές θέσεις πρόσληψης γλυκόζης μεταγευματικά, και εκφράζουν έντονα το GLUT4. Σε συνθήκες νηστείας, όταν τα κυκλοφορούντα επίπεδα ινσουλίνης είναι χαμηλά, ο GLUT4 βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και ελάχιστα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Watson & Pessin, 2007). Η κατανάλωση ενός γεύματος διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος και ενεργοποιεί έναν καταρράκτη γεγονότων, που καταλήγουν στη μετακίνηση του GLUT4 μεταφορέα προς την κυτταροπλασματική μεμβράνη αυξάνοντας έτσι τη μεταφορά της γλυκόζης από το αίμα μέσα στο κύτταρο ώστε να μεταβολιστεί ή να αποθηκευθεί ως γλυκογόνο. Μεταφέρεται μέσα σε κυστίδια καλυμμένα με κλαθρίνη.

Τα ποντίκια, στα οποία έχει γίνει σίγαση του γονιδίου εμφανίζουν πολλές σοβαρές αναπτυξιακές διατραχές και μια πιο σύντομη διάρκεια ζωής (Brozinick et al., 2001; Katz, Stenbit, Hatton, DePinho, & Charron, 1995). Επιπλέον, ποντίκια με ετερόζυγο μετάλλαξη εμφάνισαν αντίσταση στην ινσουλίνη και προδιάθεση για εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη (Katz et al., 1995). Κατάργηση του GLUT4, ειδικά στους σκελετικούς μύες, οδήγησε σε μη ανοχή στη γλυκόζη και σε σοβαρές βλάβες στη διαμεσολαβούμενη από την ινσουλίνη διάθεση γλυκόζης στους μύς σε ποντίκια ηλικίας μόλις 8 εβδομάδων (Zisman et al., 2000). Επιπρόσθετα κατάργηση του GLUT4 στο λιπώδη ιστό, είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη δευτερευόντων υποτύπων αντίστασης στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες και το ήπαρ, υποδηλώνοντας ότι μια ανεπάρκεια στη μεταφορά γλυκόζης στο λιπώδη ιστό, προκαλεί την απελευθέρωση ενός εκκριτικού παράγοντα που παρεμποδίζει τη δράση της ινσουλίνης και σε άλλους γλυκοζορυθμιστικούς ιστούς (Abel et al.,

2001). Σαφώς, η έκφραση του GLUT4 στους σκελετικούς μύες και το λιπώδη ιστό είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ομοιόστασης της γλυκόζης, ωστόσο, η ελαττωματική έκφραση του GLUT4 δεν μπορεί να εξηγήσει την αντίσταση στην ινσουλίνη που σχετίζεται με την παχυσαρκία και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Banks, Brozinick, Yaspelkis, Kang, & Ivy, 1992; Garvey et al., 1998). Παρόλα αυτά, η γενετική υπερέκφραση του GLUT4 ή η αύξηση της έκφρασης του που παρατηρείται μετά την άσκηση, μπορεί να βελτιώσει την αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται σε διαβητικούς και παχύσαρκους ανθρώπους (Hansen et al., 1995; Ren et al., 1995).

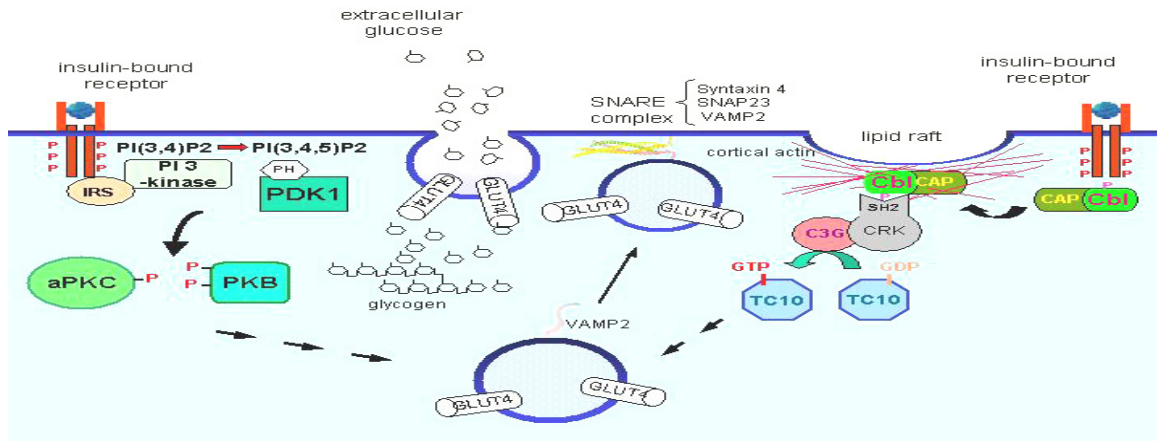
Η ινσουλίνη δε διεγείρει μόνο την εξωκύτωση του GLUT4, αλλά αναστέλλει επίσης και την GLUT4 ενδοκύτωση (Czech & Buxton, 1993). Οι Rab (Ras-related protein) GTPασες είναι πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τη διακίνηση του GLUT4 τόσο προς την εξωκυτάρια μεμβράνη όσο και στα ενδοκυτταρικά μονοπάτια. Ένα μέλος της οικογένειας αυτής είναι η **Rab5** πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο RAB5 και εντοπίζεται σε κυστίδια κλαθρίνης και σε πρώιμα ενδοσωμάτια. Είναι βασικός ρυθμιστής μεταφοράς κυστιδίων στα κύτταρα (Zeigerer et al., 2012) και κατευθύνει το GLUT4 στην αρχή της ενδοκυτταρικής διαδρομής. Η Αντιγονεκτίνη ενεργοποιεί την αλληλεπίδραση μεταξύ του APPL1 και του Rab5 και ρυθμίζει τη διακίνηση του GLUT4 τόσο προς την εξωκυτάρια μεμβράνη όσο και στα ενδοκυτταρικά μονοπάτια. Η σηματοδότηση της ινσουλίνης αναστέλλει τη δράση της Rab5, επιβραδύνοντας τη μεταφορά του GLUT4 στο εσωτερικό του κυττάρου. Επιπλέον, μετά τη διέγερση της ινσουλίνης και την επακόλουθη απομάκρυνση της ορμόνης, η μικροέγχυση αντι-Rab5 σε λιποκύτταρα εμποδίζει τη μετακίνηση του GLUT4 από την κυτταρική επιφάνεια πίσω στο κυτταρόπλασμα (J. Huang, Imamura, & Olefsky, 2001).

Η πρωτεϊνική κινάση B, επίσης γνωστή ως **Akt2**, είναι μια ειδική κινάση σερίνης/θρεονίνης που εμπλέκεται σε ένα μεγάλο και ποικίλο σύνολο κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένης της γλυκόλυσης, της σύνθεσης του γλυκογόνου, της λιπογένεση, την καταστολή της γλυκονεογένεσης, την απόπτωση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Το Akt/PKB μονοπάτι είναι ένα μονοπάτι μεταγωγής σήματος, που προάγει την επιβίωση και την ανάπτυξη σε απόκριση προς εξωκυτταρικά σήματα. Μία από τις πολλές σημαντικές λειτουργίες της Akt2 είναι να διαμεσολαβεί στις μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης και να διεγείρει τη μεταφορά της γλυκόζης (Whiteman, Cho, & Birnbaum, 2002). Η Akt2 αποτελεί ένα δραστικό μόριο PI3-κινάσης και η έκφραση της ισομορφής του υπαγορεύει συγκεκριμένες κυτταρικές ενέργειες *in vivo*. Μελέτες σίγασης του RNA του γονιδίου (Zhou et al., 2004) δείχνουν ότι η Akt2 / PKBβ είναι κύρια για την ινσουλινοδιαμεσολαβούμενη διάθεση της γλυκόζης. Ενώ έχει αποδειχθεί ότι η Akt2

παίζει ουσιαστικό ρόλο στη μεταφορά της γλυκόζης, έχουν αναφερθεί μελέτες όπου η αναστολή της Akt2 δεν προκαλεί μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης. Η Akt2 είναι ένα σημαντικό ρυθμιστικό μόριο για τη μεταφορά γλυκόζης, ωστόσο υπάρχουν και άλλα παράλληλα σηματοδοτικά μονοπάτια όπως η p-38 mitogen activated πρωτεϊνική κινάση (Sweeney et al., 1999), και το CAP / c-Cbl / TC10 μεταγωγικό μονοπάτι (Pessin & Saltiel, 2000).

Με δεδομένο ότι η ενεργοποίηση PI3-κινάσης από μόνη της δεν είναι πλήρως επαρκής για την επίτευξη της ινσουλινοδιαμεσολαβούμενης μεταφοράς γλυκόζης, η ενεργοποίηση ενός ή περισσότερων οδών πιστεύεται ότι είναι απαραίτητη (Εικόνα 34) (Watson & Pessin, 2001). Αυτή η εναλλακτική υπόθεση σηματοδότησης υποστηρίζεται επίσης από το γεγονός ότι η μεταφορά γλυκόζης διεγείρεται από την άσκηση και την υποξία, ανεξάρτητα από οποιαδήποτε ανιχνεύσιμη αλλαγή στην PI3κινάση. Το TC10, που προσδιορίστηκε από τον Chiang et al. (Chiang et al., 2001), σε συνδυασμό με την κανονική οδό της PI3κινάσης, πιστεύεται ότι απαιτούνται ώστε να επιτευχθεί η πλήρης δράση της ινσουλίνης και να δοθεί το σήμα για τη μετατόπιση του GLUT4. Το TC10 είναι μία Rho-like GTPάση που εκφράζεται έντονα στα λιποκύτταρα και τους σκελετικούς μύες (Chiang et al., 2001). Έχει αποδειχθεί ότι οι δράσεις του TC-10 στηρίζονται στον εντοπισμό του στη σχεδία μικρολιπιδίων που είναι πλούσια σε καβεολίνη.

Σε αυτές τις λιπιδικές περιοχές εδράζει το πρωτοογκογονίδιο Cbl και οι πρωτεΐνες προσαρμογής του : CAP (CBL-related protein) και APS (CBL-binding protein). Η **CAP (Catabolite Activator Protein)** είναι μία πρωτεΐνη, η οποία λειτουργεί ως μεταγραφικός ενεργοποιητής. Είναι ικανή να προωθήσει τη μεταγραφή σε διάφορα σημεία, επηρεάζοντας το μεταβολισμό των σακχάρων και των αμινοξέων, την αναδίπλωση πρωτεϊνών και την παραγωγή τοξινών (Lawson et al., 2004). Το Cbl (Casitas B-lineage lymphoma) είναι ένα γονίδιο των θηλαστικών, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη CBL, και εμπλέκεται στην κυτταρική σηματοδότηση και την ουβικιτινίωση πρωτεϊνών. Η ουβικιτινίωση είναι μία μετα-μεταφραστική διαδικασία, η οποία έγκειται στη σηματοδότηση των υποψήφιων για αποικοδόμηση πρωτεϊνών με ουβικιτίνη, και περιλαμβάνει τρεις ενζυμικές ενεργότητες: E1 (εκκινητής ουβικτίνης), E2 (μεταφορέας ουβικτίνης) και E3 (λιγάση ουβικτίνης). Το κυτταρικό ομόλογο της μμοειδούς ρετροϊκής πρωτεΐνης vCbl, το **cCbl**, είναι ένας αρνητικός ρυθμιστής των πρωτεϊνικών κινάσεων τυροσίνης, συζευγμένων με μεμβρανικούς υποδοχείς (de Melker, van der Horst, Calafat, Jansen, & Borst, 2001; Stevens et al., 2014).



Εικόνα 39: Σηματοδοτικά μονοπάτια ινσουλίνης

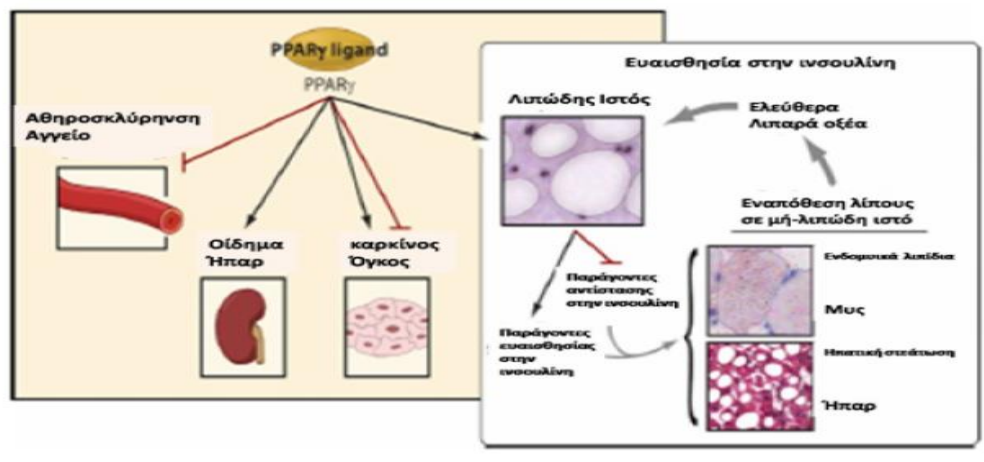
Η δράση της ινσουλίνης μέσω του υποδοχέα της διεγείρει την φωσφορυλίωση της APS και έπειτα της Cbl (J. Liu et al., 2002). Η φωσφορυλιωμένη Cbl δεσμεύεται στη CAP και μεταναστεύει στις **πλούσιες σε καβεολίνες σχεδίες λιπιδίων** όπου το CAP σύμπλοκο προσδένεται στην πρωτεΐνη φλοτιλλίνη (flotillin) (Saltiel & Pessin, 2003). Στη συνέχεια, το Crk / C3G (a guanyl nucleotide exchange factor) σύμπλοκο προσλαμβάνεται σε αυτήν την μικροπεριοχή, οδηγώντας στην ενεργοποίηση του TC10 στα λιποκύτταρα. Χρειάζονται πρόσθετες μελέτες για να αναλυθεί ο ρόλος του μονοπατιού του CAP / c-Cbl / TC10 στη ρύθμιση της διάθεσης της γλυκόζης in vivo.

4.2 Ενεργειακό Ισοζύγιο

Ο στόχος του οργανισμού είναι η ισορροπία μεταξύ πρόσληψης ενέργειας και δαπάνης ενέργειας, ο οποίος εξασφαλίζεται με ένα περίπλοκο σύνολο ορμονικών και νευρωνικών σημάτων.

Η έκφραση της αντιγονεκτίνης ρυθμίζεται σε μεγάλο ποσοστό από το **PPAR-γ** (Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma), έναν πυρηνικό υποδοχέα, που βρίσκεται κυρίως στο λιπώδη ιστό, στο παχύ έντερο και σε μακροφάγα. Ο PPAR-γ είναι ο κύριος ρυθμιστής της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων, παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπιδίων και την ομοιοστάση της γλυκόζης, διαμορφώνει το μεταβολισμό και τη φλεγμονή στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, όπως επίσης και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων ελέγχου (Heikkinen, Auwerx, & Argmann, 2007). Ο PPAR-γ επάγεται κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των προλιποκυττάρων σε ώριμα λιποκύτταρα. Το γεγονός ότι σε ποντίκια που έχει γίνει σίγαση του γονιδίου στερούνται τελείως

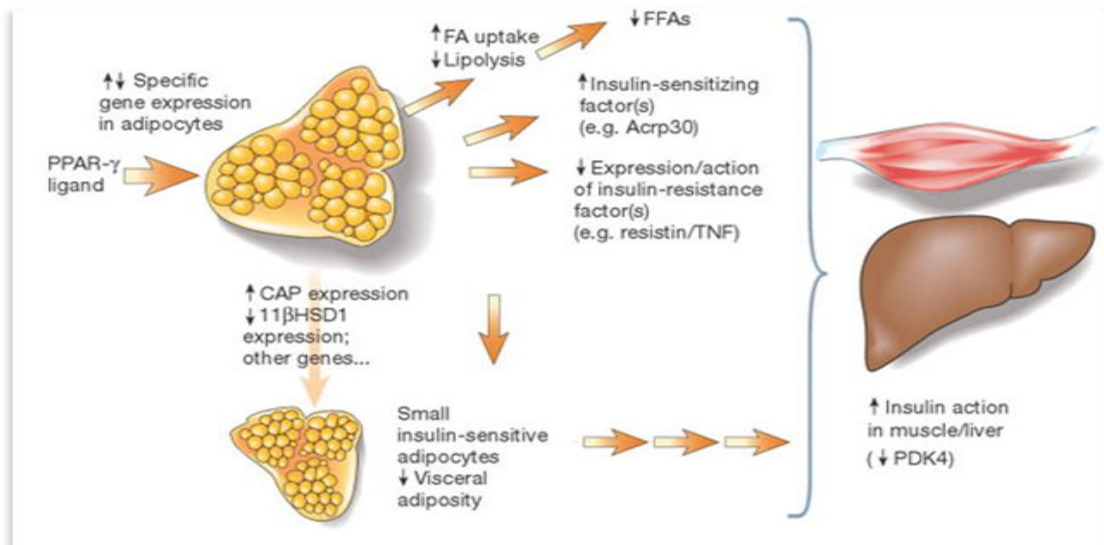
λιπώδους ιστού, καταδεικνύει σαφώς ότι ο PPAR- γ είναι απαραίτητος για τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων (Barak et al., 1999). Επιπλέον ο PPAR- γ ενεργοποιεί άμεσα πολλά γονίδια που εμπλέκονται στην πρόσληψη και την αποθήκευση λιπιδίων και τη διαδικασία της λιπογένεσης από τα λιποκύτταρα (Christodoulides & Vidal-Puig, 2009). Ο PPAR- γ ελέγχει την έκφραση πολυάριθμων παραγόντων, που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό και επηρεάζουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη είτε θετικά (αντιπυρονεκτίνη, λεπτίνη), είτε αρνητικά (ρεζιστίνη, TNF- α). Επιπλέον μπορεί να ρυθμίζει άμεσα την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στην ομοιοστάση της γλυκόζης, όπως για παράδειγμα προάγει την έκφραση του μεταφορέα της γλυκόζης (Glut4) της cCBL associated πρωτεΐνης (CAP) (Ahmadian et al., 2013). Ο PPAR- γ εκφράζεται σε διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, ιδίως σε αντιγονοπαρουσιαστικά, όπως τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα. Σε αυτά τα κύτταρα, ο PPAR- γ δε ρυθμίζει μόνο γονίδια που σχετίζονται με το μεταβολισμό των λιπιδίων, αλλά και γονίδια που συνδέονται με την ανοσία και τη φλεγμονή (Glass & Saijo, 2010; W. Huang & Glass, 2010). Εκτός από μεταβολικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ο PPAR- γ ρυθμίζει επίσης τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση πολλών τύπων καρκινικών κυττάρων, και εκφράζεται σε πολλούς ανθρώπινους όγκους συμπεριλαμβανομένων των πνευμόνων, του μαστού, του παχέος εντέρου, του προστάτη και της ουροδόχου κύστης.



Εικόνα 40: Δράσεις του πυρηνικού υποδοχέα PPAR- γ

Ο PPAR- γ ενεργοποιείται από ενδογενείς παράγοντες του οργανισμού, όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, αλλά και από παράγωγα και προσδέτες, που προέρχονται από το αραχιδονικό οξύ. Επίσης ενεργοποιείται από τις θειαζολιδινεδιόνες που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του Σακχαρώδη διαβήτη

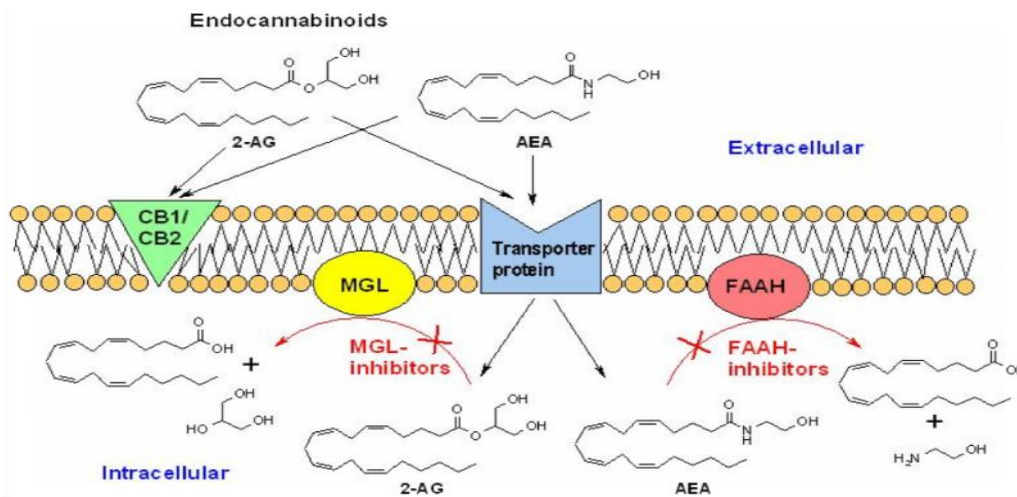
Τύπου II. Η ενεργοποίηση των PPARs από τα ενδοκανναβινοειδή, και ιδιαίτερα του PPAR- γ είναι φυσική, αφού τα ενδοκανναβινοειδή είναι παράγωγα των λιπαρών οξέων. Ο PPAR- γ εμπλέκεται στην παθολογία πολλών ασθενειών, όπως η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η αθηροσκλήρωση και ο καρκίνος. Οι PPAR- γ αγωνιστές, οι θειαζολιδινοεδιόνες (TZDs) έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας και της υπεργλυκαιμίας (Grygiel-Gorniak, 2014; L. Wang et al., 2014). Οι TZDs μπορούν να βελτιώσουν τόσο την ευαισθησία στην ινσουλίνη όσο και τα επίπεδα της HMW αντιπονεκτίνης στο ορό (Rajvani et al., 2004). Εκτός από τη διαθεσιμότητα των αγωνιστών και των συμπαραγόντων, η μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR- γ ρυθμίζεται και από την κατάσταση φωσφορυλίωσης του, παρέχοντας επιπλέον δυνατότητες για καλύτερο συντονισμό. Η φωσφορυλίωση του PPAR- γ σε Ser273 από την cyclin-dependent κινάση 5 (Cdk5) συνδέθηκε πρόσφατα με την παχυσαρκία και επιπλέον έχει δείχθει ότι οι TZDs (θειαζολιδινοεδιόνη, ροζιγλιταζόνη) αναστέλλουν τη Cdk5 διαμεσολαβούμενη φωσφορυλίωση του PPAR- γ στο λιπώδη ιστό (Choi et al., 2010).



Εικόνα 41: Το PPAR- γ βελτιώνει την επικοινωνία του λιπώδους ιστού με άλλους ιστούς όπως το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες

Το **ενδοκανναβινοειδές σύστημα** (EC) είναι μια ομάδα νευροτροποποιητικών λιπιδίων και των υποδοχέων τους στον εγκέφαλο, που εμπλέκονται σε μία ποικιλία φυσιολογικών διεργασιών, όπως είναι η όρεξη, η αίσθηση του πόνου, η διάθεση, και η μνήμη. Αυτό το σύστημα περιλαμβάνει: (Mechoulam & Parker, 2012; Pacher et al., 2006)

- Τα ενδοκανναβινοειδή, όπως η N-αρχιδοναιθολαμίνη, ή αλλιώς ανανδαμίδα (AEA) και η 2-αραχιδονική γλυκερόλη (2AG), τα οποία είναι φυσικοί προσδέτες για τους κανναβινοειδείς υποδοχείς.
- Τους υποδοχείς των ενδοκανναβινοειδών, CB1 και CB2, οι οποίοι βρίσκονται στο κεντρικό και το περιφερειακό νευρικό σύστημα.
- Τα ένζυμα, τα οποία συνθέτουν και αποδομούν τα ενδοκανναβινοειδή, όπως είναι η λιπάση της μονοακυλγλυκερόλης.

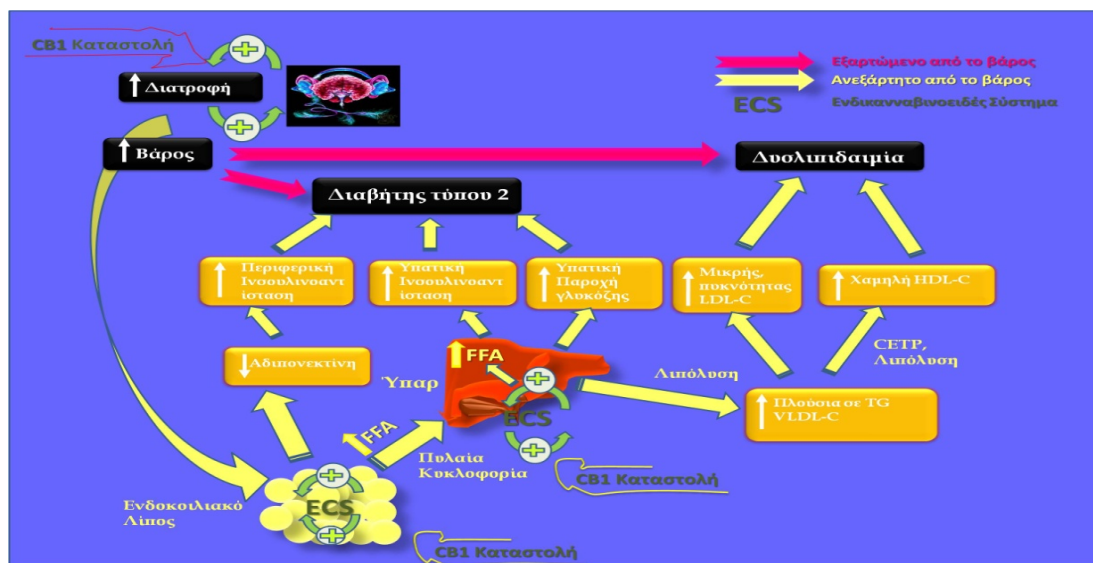


Εικόνα 42: Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα

Το EC είναι ένα καλά δομημένο δίκτυο, όπου μέσω ενεργοποίησης κάποιων μηχανισμών, διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο σε πολλές διεργασίες της φυσιολογίας του οργανισμού. Όμως, ενδέχεται το EC, μέσω αυτών των μηχανισμών, να έχει την ικανότητα να αυξήσει την όρεξη, με αποτέλεσμα να σχετίζεται με την παχυσαρκία και την αύξηση της εναπόθεσης λίπους. Η δράση του στο κεντρικό νευρικό σύστημα σχετίζεται με την παλίνδρομη σηματοδότηση των CB1 υποδοχέων στον προσυναπτικό χώρο, με στόχο την απενεργοποίηση νευροδιαβιβαστικών σημάτων, που εμπλέκονται στο stress. Στο περιφερειακό νευρικό σύστημα, όμως, τα ενδοκανναβινοειδή έχουν παρακρινή και ενδοκρινή δράση, που δε σχετίζεται με τον τρόπο δράσης τους στα νεύρα (Mechoulam & Parker, 2012; Pacher et al., 2006).

Πιο συγκεκριμένα, στην περιφέρεια, η 2-AG προάγει τη λιπογένεση με την ενεργοποίηση της λιποπρωτεϊνικής κινάσης και τη συνθάσης των λιπαρών οξέων και αναστέλλοντας την οξειδωση των λιπαρών οξέων και τη λιπόλυση. Επιπλέον η 2-AG ενισχύει την ινσουλινοαντίσταση στους περιφερικούς ιστούς με τη μείωση της γονιδιακής έκφρασης της αντιπονεκτίνης και την αυξημένη λιπώδη διήθηση των ιστών αυτών.

Πολλές μελέτες δείχνουν ότι στην παχυσαρκία των ενηλίκων, ο CB1 υποδοχέας είναι υπερενεργοποιημένος και/ή τα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών είναι αυξημένα στην κυκλοφορία. Επίσης, ο CB1 φαίνεται ότι ρυθμίζει τη λιποπρωτεϊνική λιπάση, με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται ο μηχανισμός της λιπογένεσης, και να μειώνονται τα επίπεδα του mRNA της λιπονεκτίνης. Ακόμη, ο CB1 ίσως εμπλέκεται στους μηχανισμούς πρόσληψης της γλυκόζης από το κύτταρο, ενώ η ινσουλίνη δείχνει να έχει αρνητική επίδραση στα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών στο λιπώδη ιστό (Pacher et al., 2006; Pagotto et al., 2005).



Εικόνα 43: Δράσεις του συστήματος των ενδοκανναβινοειδών

Την τελευταία δεκαετία έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στη μελέτη των μηχανισμών ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη. Ωστόσο υπάρχουν περιορισμένες αναφορές, όσον αφορά αυτούς τους μοριακούς μηχανισμούς στα παιδιά και τους εφήβους. Η επιδημία της παιδικής παχυσαρκίας αυξάνει σε ανησυχητικά επίπεδα και τα νοσογόνα παχύσαρκα παιδιά έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης σοβαρών επιπλοκών όπως αντίσταση στην ινσουλίνη και ΣΔΙΙ κατά την εφηβεία (Schonbeck et al., 2011). Συνεπώς είναι επιτακτική ανάγκη να διερευνηθούν οι μηχανισμοί που οδηγούν σε αυτή τη νεαρή ηλικία σε αυτές τις μεταβολικές διαταραχές.

5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο κύριος σκοπός αυτής της μελέτης είναι η διερεύνηση της έκφρασης σε πρωτογενείς καλλιέργειες λιποκυττάρων λεπτόσωμων και παχύσαρκων παιδιών και εφήβων των παρακάτω μορίων που εμπλέκονται σε σημαντικά σηματοδοτικά μονοπάτια του λευκού λιπώδους ιστού:

- **CB1**. Υποδοχέας των ενδοκανναβινοειδών-1.
- **Rab5**. Πρωτεΐνη GTPάση.
- **GLUT4**. Μεταφορέας της γλυκόζης τύπου 4.
- **CAP**. Πρωτεΐνη ενεργοποίησης καταβολισμού.
- **cCbl**. Κυτταροπλασματικός υποδοχέας.
- **APPL-1**. Πρωτεΐνη προσαρμογέας.
- **AdipoR1**. Υποδοχέας της αντιπονεκτίνης-1.
- **PPAR-γ**. Πυρηνικός υποδοχέας.
- **Akt/PKB**. Πρωτεϊνική κινάση Β

σε λεπτόσωμα και παχύσαρκα παιδιά και εφήβους.

Και στη συνέχεια να συσχετιστούν με παράγοντες του αίματος όπως η ινσουλίνη και η υψηλού μοριακού βάρους (HMW) αντιπονεκτίνη και άλλους κλινικούς και βιοχημικούς παράγοντες που χαρακτηρίζουν τα παιδιά υπό μελέτη, με σκοπό να εντοπιστούν δείκτες κινδύνου και μεταβολικές διαταραχές στον λιπώδη ιστό σε καταστάσεις παιδικής παχυσαρκίας.

6. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ- ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 Παιδιά υπό μελέτη

Για τη συγκεκριμένη μελέτη, μετά από έγκριση της επιστημονικής επιτροπής του Καραμανδανείου Νοσοκομείου Πατρών και του ΠΠΓΝΠ, έγινε λήψη βιοψιών υποδόριου κοιλιακού λιπώδους ιστού από χειρουργικές επεμβάσεις ρουτίνας, που πραγματοποιήθηκαν στο Καραμανδάνειο Νοσοκομείο. Ελήφθησαν και μελετήθηκαν βιοψίες εφηβικών παιδιών (Στάδιο Εφηβείας Tanner II-V), 28 λεπτόσωμων με δείκτη μάζας σώματος (BMI) κάτω από 85% και 32 παχύσαρκων με BMI πάνω από 95%. Επιπλέον μελετήθηκαν βιοψίες προεφηβικών παιδιών (Στάδιο Εφηβείας Tanner I), οι οποίες είχαν συγκεντρωθεί από το Εργαστήριο Παιδικής Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη του Πανεπιστημίου Πατρών.

Συνολικά μελετήθηκαν συμμετείχαν 96 λεπτόσωμα ($BMI < 85\%$) και 66 παχύσαρκα ($BMI > 95\%$) προεφηβικά (Tanner I) και εφηβικά (Tanner II-V) παιδιά. Στη συνέχεια τα προεφηβικά παιδιά διαχωρίστηκαν σε 2 ηλικιακές ομάδες, **Ομάδα Α:** 2-7 ετών και **Ομάδα Β:** 8-12 ετών. Ο διαχωρισμός αυτός έγινε γιατί σύμφωνα με τη βιβλιογραφία και την παρατήρηση του εργαστηρίου, έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ των προεφηβικών παιδιών προσχολικής ηλικίας και των αντίστοιχων εφηβικών παιδιών σχολικής ηλικίας. Τα παιδιά της σχολικής ηλικίας (6-11 ετών) τείνουν να συμπεριφέρονται όπως οι έφηβοι (12-19 ετών) (Y. Wang, 2012).

Προηγήθηκε λεπτομερής ενημέρωση των ασθενών και των γονέων για τη φύση της μελέτης και δόθηκε ενυπόγραφη συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους σε αυτή.

Σε κάθε ασθενή έγινε λήψη λεπτομερούς ατομικού και οικογενειακού ιστορικού, έλεγχος των σωματομετρικών χαρακτηριστικών (ύψος, βάρος, περίμετρος κοιλίας, περίμετρος ισχίων), πλήρης φυσική εξέταση και προσδιορισμός του σταδίου εφηβείας κατά Tanner. (Πίνακας 13)

Επίσης, έγινε καταγραφή του εργαστηριακού ελέγχου ο οποίος περιελάμβανε: ολική χοληστερόλη (Chol), χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL), υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL), και τριγλυκερίδια (Tg). (Πίνακας 14)

Η μελέτη διεξήχθη στο εργαστήριο Μοριακής Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας του τμήματος Ιατρικής και Παιδιατρικής του Πανεπιστημίου & Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Πατρών με υπεύθυνη την καθηγήτρια Βασιλική Γκρέκα-Σπηλιώτη.

6.2 Καλλιέργειες λιποκυττάρων

Κατά τη διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων ρουτίνας (κρυφορχία, βουβωνοκήλη), ελήφθησαν δείγματα υποδόριου κοιλιακού λιπώδους ιστού (μικρό κομμάτι~1cm), και τοποθετήθηκε σε θρεπτικό υλικό DMEM-F12 με 1% αντιβιοτικό στρεπτομυκίνης/αμπικιλλίνης. Στη συνέχεια ο λιπώδης ιστός μεταφέρθηκε στο εργαστήριο Μοριακής Παιδοενδοκρινολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών για περαιτέρω επεξεργασία και μελέτη.

ΥΛΙΚΑ

Όνομασία υλικού
PBS
BMEM-F12
Αμπικιλλίνη/Στρεπτομυκίνη
10% BSA
Κολλαγενάση τύπου II
10% FCS

Διάλυμα PBS (500ml)	
NaCl [Sigma- Aldrich]	40 gr
KCl [Sigma- Aldrich]	1 gr
Na ₂ HPO ₄ [Sigma- Aldrich]	7,2 gr
KH ₂ PO ₄ [Sigma- Aldrich]	1,2 gr
dH ₂ O [Sigma- Aldrich]	Ως τα 500ml
➤ Διόρθωση pH = 7,4	

Θρεπτικό Υλικό Διαφοροποίησης (500ml)	
Πενικιλίνη	10ml
33 μmol Βιοτίνη [Sigma- Aldrich]	50μl
17μmol D-Panthonate [Sigma- Aldrich]	50μl
10ng/ml Ανθρώπινη τρανφερίνη [Sigma- Aldrich]	500μl
0.2nmol/ml τριοδική-L-θυρονίνη (Triodo-L-Thyronine)[Sigma- Aldrich]	50μl
100nM Υδροκορτιζόνη [Sigma- Aldrich]	18.1μl
500Nm Ανθρώπινη Ινσουλίνη [Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark]	1ml
BMEM-F12	Ως τα 500ml

Πίνακας 1 : Υλικά και διαλύματα για την απομόνωση λιποκυττάρων.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Απομόνωση πρώιμων λιποκυττάρων (προλιποκυττάρων) και επαγωγή για διαφοροποίησή τους σε ώριμα λιποκύτταρα:

- Αρχικά αφαιρέθηκε το θρεπτικό υλικό και έγιναν τρεις (3) πλύσεις του λιπώδους ιστού με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (Phosphate Buffer Saline-PBS-πίνακας 1) για την αφαίρεση υγρών και αίματος από τη βιοψία.



Εικόνα 44: Υποδόριος Λιπώδης Ιστός Παχύσαρκου Προεφηβικού Παιδιού μετά από πλύσεις με PBS

- Στη συνέχεια ο ιστός μεταφέρθηκε σε τρυβλίο, στο οποίο προστέθηκαν 5 ml θρεπτικού υλικού DMEM-F12 με 1% αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη/αμπικικιλίνη (ABS) και 500μl ορού αλβουμίνης από βοοειδές (BSA), που δρα ως αυξητικός παράγοντας.
- Έγινε επεξεργασία του λιπώδους ιστού στο τρυβλίο και αφαιρέθηκε ο συνδετικός ιστός και το δέρμα, με αποστειρωμένα νυστέρια.
- Ο λιπώδης ιστός κόπηκε σε μικρά τεμάχια και μεταφέρθηκε σε σωλήνα τύπου falcon των 15ml, στον οποίο προστέθηκε διάλυμα ενζύμου κολλαγενάσης τύπου II σε συγκέντρωση 2000U/ml.
- Λόγω της φωτοευαισθησίας του ενζύμου της κολλαγενάσης, καλύφθηκε με αλουμινοχαρτό και μεταφέρθηκε σε κινούμενη περιοδικά επιφάνεια στους 37,5°C για 1 ώρα και 30 λεπτά μέχρι να γίνει πλήρης πέψη του ιστού.

- Μετά την πέψη, το γαλακτώδες πλέον υγρό φιλτραρίστηκε με τη βοήθεια κυτταρικού φίλτρου από νάilon με πόρους των 100μM, για την περαιτέρω αφαίρεση συνδετικού ιστού.
- Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε falcon των 15ml, στο οποίο προστέθηκαν 6ml θρεπτικού υλικού με 1% ABS και φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά με ταχύτητα 1000 στροφές το λεπτό, ώστε να διαχωριστούν τα προλιποκύτταρα από τα ώριμα λιποκύτταρα.
- Έπειτα, αναρροφήθηκε προσεκτικά το υπερκείμενο και το ίζημα, με τα προλιποκύτταρα και τα ερυθροκύτταρα, επαναδιαλύθηκε με 10 ml θρεπτικού υλικού, που εμπεριείχε 1% ABS και 10% εμβρυικό ορό βοοειδούς (FCS).
- Μετά την ανάμειξη μεταφέρθηκε σε τρυβλίο των 100 mm², το οποίο τοποθετήθηκε σε επωαστή (Incubator) με συνθήκες: Θερμοκρασία 37°C-5% CO₂, για την ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Την επόμενη ημέρα έγιναν τρεις (3) πλύσεις των προλιποκυττάρων του τρυβλίου με πλήρες θρεπτικό υλικό (DMEM-F12, 1%ABS, 10%FCS) για την αφαίρεση των αιωρούμενων ερυθροκυττάρων. Η καλλιέργεια τοποθετήθηκε εκ νέου στον επωαστή και αφέθηκε να αναπτυχθεί με αναπλήρωση του θρεπτικού υλικού κάθε τρεις(3) ημέρες. Όταν το τρυβλίο έφτανε σε σύγκλιση γινόταν ανάπτυξη υποκαλλιιεργειών σε αναλογία 1:2, με τη χρήση του ενζύμου θρυψίνη σε διάλυμα EDTA.

Όταν η καλλιέργεια βρισκόταν στην υποκαλλιέργεια 3 (passage 3), σε κάποια τρυβλία γινόταν αντικατάσταση του θρεπτικού υλικού με θρεπτικό μέσο διαφοροποίησης (πίνακας 1). Η διαφοροποίηση προάχθηκε περαιτέρω με τη χρήση διαλύματος που περιελάμβανε 0.5mM 3-ισοβούτυλο-1-μεθυλοξανθίνη (IBMX) και 1mg/ml τρογλιταζόνη(Sigma- Aldrich), το οποίο προστέθηκε στην καλλιέργεια για τις πρώτες τρεις ημέρες. Γινόταν αντικατάσταση του θρεπτικού υλικού διαφοροποίησης της καλλιέργειας κάθε τρεις ημέρες, μέχρι τη συμπλήρωση των 16 ημερών ανάπτυξης. Σε αυτό το σημείο τα λιποκύτταρα δημιουργούσαν λιποσταγονίδια και είχαν φτάσει σε τελικό στάδιο διαφοροποίησης, όπως αποδεικνύεται από την οπτικοποίησή τους στο μικροσκόπιο φωτός.

Συλλογή πρώιμων και ώριμων λιποκυττάρων:

Μετά το πέρας της καλλιέργειας και πιο συγκεκριμένα στην υποκαλλιέργεια 3 για τα προλιποκύτταρα και 16 ημέρες μετά την προσθήκη υλικού διαφοροποίησης για τα ώριμα λιποκύτταρα,

- Πραγματοποιούταν δύο (2) πλύσεις με PBS (μόνο στα προλιποκύτταρα).
- Εν συνεχεία γινόταν προσθήκη 1ml PBS και ξύσιμο των πιάτων με ειδική κυτταρική ξύστρα.
- Ακολουθεί μεταφορά σε 1.5ml erpendorf και μετά από φυγοκέντρηση το ίζημα με τα κύτταρα αποθηκεύτηκε σε κατάψυξη στους -70° C.

6.3 Απομόνωση ολικού RNA

Στα απομονωμένα προλιποκύτταρα και λιποκύτταρα, πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA με τη χρήση σετ απομόνωσης RNA για θηλαστικά : 'GenElute™ Mammalian Total RNA Miniprep Kit ', της Sigma–Aldrich Company Hd., Dorset UK (σύμφωνα με της κατευθυντήριες οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας).

ΥΛΙΚΑ

GenElute™ Mammalian Total RNA Miniprep Kit (Sigma – Aldrich)
Lysis Solution
2-Mercaptoethanol (2-ME)
Wash Solution 1
Wash Solution 2
Elution Solution
GenElute Filtration Columns in tubes
GenElute Binding Columns in tubes
Collection tubes, 2.0 ml
Λοιπά Υλικά
70% Ethanol Solution
DNase I (RNase free) [Takara]

Πίνακας 2: Υλικά απομόνωσης ολικού RNA από προλιποκύτταρα και λιποκύτταρα

ΜΕΘΟΔΟΣ

Απομόνωση ολικού RNA:

➤ Από τις καλλιέργειες αποξέστηκε ο κυτταρικός πληθυσμός με τη βοήθεια αποστειρωμένου ξυστηριού σε 1ml PBS. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε με πιπέτα σε 1,5ml erppendorf και φυγοκεντρήθηκε για 1 λεπτό στα 14,000 x g. Αφαιρέθηκε το υπερκείμενο και στο ίζημα προστέθηκαν 250μl Lysis Solution buffer και 2,5μl β-μερκαπτοαιθανόλη, για κάθε δείγμα. Στο σημείο αυτό απαιτήθηκε καλή ανάδευση και φυγοκέντρηση για λίγα δευτερόλεπτα, ώστε να σπάσουν οι μεμβράνες των κυττάρων και να ελευθερωθεί το ολικό RNA.

➤ Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε κολώνες με ειδικό φίλτρο, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 45** (κολώνα χρώματος μπλε) και φυγοκεντρήθηκαν για 2 λεπτά, με σκοπό να απομακρυνθούν τα κυτταρικά θραύσματα και να αποδεκατιστεί το DNA. Το φίλτρο στη συνέχεια απομακρύνθηκε.

➤ Στα δείγματα έπειτα προστέθηκαν 250μl αιθανόλης (70%) και αναδεύθηκαν καλά. Τα δείγματα μαζί με την αιθανόλη μεταφέρθηκαν σε νέες κολώνες δέσμησης του RNA (**Εικόνα 45**) χρώματος κόκκινο και φυγοκεντρήθηκαν για 15 δευτερόλεπτα. Στο σημείο αυτό, το RNA προσδένεται στο φίλτρο της κολώνας.

➤ Ακολουθεί προσθήκη 250μl Wash Solution Buffer 1 και φυγοκέντρηση για 15 δευτερόλεπτα.

➤ Το εκχύλισμα έπειτα απομακρύνθηκε και προστέθηκε προσεκτικά στη μεμβράνη του φίλτρου της κολώνας 80μl DNase (10μl DNase και 70μl DNase Buffer), για 15 λεπτά ώστε να δράσουν οι ενδονουκλεάσες.

➤ Στη συνέχεια, προστέθηκαν 250μl Wash Solution Buffer 1 και έγινε φυγοκέντρηση για 15 δευτερόλεπτα. Απομακρύνοντας το εκχύλισμα, προστέθηκαν 500μl Wash Solution Buffer 2. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 15 δευτερόλεπτα.

➤ Η πλύση με 500μl Wash Solution Buffer 2 επαναλήφθηκε και τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 2 λεπτά. Τέλος, απομακρύνθηκε το νέο εκχύλισμα και προστέθηκαν 50μl Elution Solution Buffer. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 1 λεπτό και συλλέχθηκε το ολικό RNA σε 1.5ml erppendorf, το οποίο αποθηκεύτηκε σε κατάψυξη στους -20° C.



Εικόνα 45: Απομόνωση ολικού RNA με τη χρήση του RNA Extraction Sigma Kit.

*Όλη η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε πάγο.

6.4 PCR Αντίστροφης Μεταγραφάσης (RT-PCR)

Στα προλιποκύτταρα και τα λιποκύτταρα στα οποία έγινε απομόνωση ολικού RNA, μελετήθηκε με τη μέθοδο της **PCR** η m-RNA έκφραση των γονιδίων: υποδοχέας των ενδοκανναβινοειδών-1 (CB1), πρωτεΐνη GTPάση (Rab5), μεταφορέας της γλυκόζης-4 (Glut-4), πρωτεΐνη ενεργοποίησης καταβολισμού (CAP), κυτταροπλασματικός υποδοχέας (cCBL), πρωτεΐνη προσαρμογέας (APPL-1), υποδοχέας της αντιπονεκτίνης-1 (AdipoR1), πυρηνικός υποδοχέας (PPAR-γ), πρωτεϊνική κινάση β (Akt/PKB).

ΥΛΙΚΑ

Master mix I	
5x First Buffer	8μl
0,1M DTT	5μl
25nM dNTP's	1μl
Random Primers	0,25μl
RNAse OUT	0,25μl
dEPC H ₂ O	20,5μl
Συνολικός όγκος	35μl

Master mix II	
5x First Buffer	2μl
dEPC H ₂ O	7μl
Superscript	1μl
Συνολικός όγκος	10μl

Πίνακας 3: Διαλύματα παρασκευής cDNA μέσω RT- PCR.

	CB1	Rab5	Glut4	CAP	cCBL
10x First Buffer (μl)	5	5	5	5	5
25nM dNTP's (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
50 nM MgCl ₂ (μl)	2,5	2	1,5	2	2
Primer forward (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Primer reverse (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
dEPC H ₂ O (μl)	30,5	36	34,5	35	36
Taq Polymerase (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
cDNA (μl)	10	5	7	5	5
Tm (°C)	56	56	54	51	54

	APPL-1	AdipoR1	PPAR-γ	Akt/PKB
10x First Buffer (μl)	5	5	5	5
25nM dNTP's (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5
50 nM MgCl ₂ (μl)	2,5	1,5	2,5	2,5
Primer forward (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5
Primer reverse (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5
dEPC H ₂ O (μl)	35,5	36,5	35,5	35
Taq Polymerase (μl)	0,5	0,5	0,5	0,5
cDNA (μl)	5	5	5	5
Tm (°C)	56	54	54	51

Πίνακας 4: Διαλύματα για PCR στα μόρια: CB1, Rab5, Glut4, CAP, cCBL, APPL-1, AdipoR1, PPAR-γ, Akt σε προλιποκύτταρα και ώριμα λιποκύτταρα.

EKKINHTEΣ (PRIMERS)	
CB1	F: AAGGAGAATGAGGAGAACATCC R: TCAGACGTGTGGATGATGATGC
Rab 5	F: CAGAGGCAAGCAGGTCCTAACA R: ACTGTGTGGGCCAGACAGTCA
Glut 4	F: CTA CT CAGGGCTGACATCAG R: ACACGTAGCTCATGGCTGGA
CAP	F: GAGCTACCAAGACTGTCCCTA R: GTTTGTGTGATCCTTGA ACT CC
APPL-1	F: ATGTTTCGCAGGGAAATGGACAG R: AGACTCAGATCCTAAGGATCCT
AdipoR1	F: CTTTCCCCAAGCTGAAGCTGCA R: AGAACATCCCCAAAACCACCTT
PPAR-γ	F: CTCTCCGTAATGGAAGACCACT R: GAGGTCAGCGGACTCTGGATT
AKT/PKB	F: TGAGCTGTCCCGAGCTAGGT R: AGTCGCTCACACAGTCACCG
B-ACTIN	F: AAGGCCAACCGTGAAAAGATGACC R: ACCGCTCGTTGCCAATAGTGATGA

Πίνακας 5: Primers των μορίων Rab5, CB1, Glut4, CAP, cCBL, APPL-1, AdipoR1, PPAR-γ και β-ACTIN που χρησιμοποιήθηκαν.

[F=forward(πρόσθιο), R=reverse(αντίστροφο)]

1. 95 °C για 5 λεπτά
2. 94 °C για 45 δευτερόλεπτα
3. Tm για 30 δευτερόλεπτα
4. 72 °C για 1 λεπτό
5. Επανάληψη βήμ.2-4 για 35 κύκλους
6. 72 °C για 5 λεπτά
7. 4 °C επ' αόριστο

Πίνακας 6: Πειραματικές συνθήκες PCR που εφαρμόστηκαν για την ανίχνευση των γονιδίων Rab5, CB1, Glut4, CAP, cCBL, APPL-1, AdipoR1, PPAR-γ και β-ACTIN.

Πήκτωμα αγαρόζης 1%	
<i>Αγαρόζη</i>	<i>1,4gr</i>
<i>TBE 0,5x</i>	<i>140ml</i>
<i>Ethidium bromide</i>	<i>2,3μl</i>
TBE 10x, 1000 ml	
<i>Tris-Base</i>	<i>108gr</i>
<i>Boric Acid</i>	<i>55gr</i>
<i>dH₂O</i>	<i>Ως τα 1000ml</i>
Loading Buffer	
<i>Glycerol</i>	<i>3ml</i>
<i>TBE 0,5x</i>	<i>7,5ml</i>
<i>Bromophenol blue</i>	
Μάρτυρας (ladder)	
<i>Loading buffer</i>	<i>30μl</i>
<i>Stock 1Kb/100bp</i>	<i>10μl</i>
<i>dH₂O</i>	<i>60μl</i>

Πίνακας 7: Ρυθμιστικά διαλύματα και υλικά για ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1%.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Μετά την απομόνωση του ολικού RNA ακολούθησε αλυσιδωτή αντίδραση αντιστροφής μεταγραφάσης **RT-PCR** (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction), κατά την οποία κατασκευάστηκε cDNA (συμπληρωματικό DNA) του ολικού RNA. Στη συνέχεια έγινε παραγωγή πολλαπλών αντιγράφων της αλληλουχίας DNA του ενδιαφέροντός μας με ενζυματικό τρόπο, **PCR** (Polymerase Chain Reaction - Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης).

Κατασκευή cDNA από απομονωμένο ολικό RNA:

- Αρχικά παρασκευάστηκε το αρχικό διάλυμα (Master Mix I) του οποίου τα συστατικά φαίνονται στον **Πίνακα 3**.
- Τα 35μl από το παραπάνω διάλυμα αναμίχθηκαν με 5μl RNA και τοποθετήθηκαν στο μηχάνημα της PCR για 3 λεπτά στους 70°C.

➤ Ακολούθησε άμεση μεταφορά των δειγμάτων στον πάγο και παρασκευή του δεύτερου διαλύματος (Master Mix II), του οποίου τα συστατικά φαίνονται στον **Πίνακα 3.**

➤ Στο προηγούμενο διάλυμα προστέθηκαν 10μl από το Master Mix II και εν συνεχεία τα δείγματα επανατοποθετήθηκαν στο μηχάνημα για: 60 λεπτά στους 42°C και 10 λεπτά στους 70°C.

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης :

➤ Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα το οποίο περιείχε το cDNA και όλα τα υλικά που είναι απαραίτητα για την αντιγραφή του. Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε γονίδιο ξεχωριστά φαίνονται αναλυτικά στον **Πίνακα 4.**

➤ Στη συνέχεια, το cDNA αποδιατάχθηκε με θέρμανση στους 94-95°C για 5 λεπτά.

➤ Ακολούθησε ψύξη στους 50-60°C (αναλόγως της Tm των εκκινητών) για 30 δευτερόλεπτα, έτσι ώστε να γίνει υβριδοποίηση των αλυσίδων DNA με τους ειδικούς για το γονίδιο εκκινητές (primers).

➤ Η θερμοκρασία βέλτιστης τήξης των εκκινητών **Tm** (primers) έγινε μετά από δοκιμές των συνθηκών. Για τα μόρια Glut4, cCBL, AdipoR1, PPAR-γ, Akt ήταν 54°C, για τα μόρια Rab5, APPL-1, CB1 ήταν 56°C, ενώ για τα μόρια CAP ήταν 51°C.

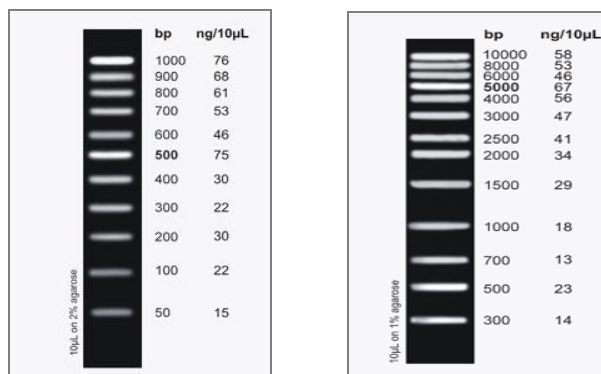
➤ Το μόριο της ACTIN αποτελεί γονίδιο εσωτερικού ελέγχου για την εκτίμηση της ποσότητας του mRNA και της ποιότητας της αντίδρασης σε κάθε δείγμα, και κάθε φορά ελεγχόταν σε σταθερή θερμοκρασία των 52 °C.

➤ Τέλος, το δείγμα επώασθηκε στους 72°C για 5 λεπτά. Το βήμα αυτό απαιτείται για την επιμήκυνση της αλληλουχίας των εκκινητών και την αντιγραφή του DNA. Το παραπάνω βήμα επιτυγχάνεται με τη βοήθεια θερμοανθεκτικών ένζυμων, όπως η Taq Polymerase, και των ολιγονουκλεοτιδίων (dNTP's: ATP, TTP, GTP, CTP) που υπάρχουν στο διάλυμα. Αυτός ο κύκλος βημάτων πραγματοποιήθηκε για 35 - 40φορές (αναλόγως του μορίου που ελεγχόταν). Μετά το πέρας των κύκλων η θερμοκρασία διατηρείτο στους 4 °C επ' αόριστο.

➤ Οι εκκινητές και οι ακριβείς συνθήκες που εφαρμόστηκαν για κάθε γονίδιο στο μηχάνημα της PCR, φαίνονται στους **Πίνακες 5** και **6** αντίστοιχα.

Το αμέσως επόμενο βήμα, μετά την RT-PCR, ήταν η **ηλεκτροφόρηση** των δειγμάτων σε πήκτωμα αγαρόζης 1%. Για να επιτευχθεί αυτό, στα δείγματα προστίθονταν 15μl Loading Buffer. Τα υλικά που απαιτούνται για την παρασκευή του πηκτώματος αγαρόζης παρατίθενται στον **Πίνακα 7.**

- 25μl από το κάθε δείγμα τοποθετείτο στα κελιά του ηλεκτώματος αгарόζης (1%) και ηλεκτροφορούταν, αρχικά σε τάση ρεύματος 80V και εν συνεχεία 120V.
- Στο πρώτο κελί τοποθετούσαμε τον μάρτυρα-DNA ladder 100b ή 1kb (συγκεκριμένων μοριακών βαρών) (**Εικόνα 46**).



Εικόνα 46: Μάρτυρες (ladder) για ηλεκτροφόρηση PCR, 100 bp και 1kb αντίστοιχα.

Με το πέρας της ηλεκτροφόρησης γινόταν λήψη εικόνας του ηλεκτώματος με τη βοήθεια υπεριώδους φωτός (UV) .

- Το βρωμιούχο αιθίδιο που υπάρχει στο πήκτωμα δεσμεύεται στο DNA ενώ εκπέμπει φως στα μήκη κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας. Μέσω αυτού γίνεται ορατό το DNA σε αυτό το φάσμα.

- Η λήψη της φωτογραφίας γινόταν με πρόγραμμα KODAK Digital Science 1D™.

- Τα αρχεία των ληφθέντων εικόνων των ζωνών του DNA επεξεργάζονταν με το ηλεκτρονικό πρόγραμμα Scion Image μέσω του οποίου γινόταν σχετική ποσοτικοποίηση της οπτικής πυκνότητας κάθε ζώνης DNA, από καθένα δείγμα, για το εκάστοτε μόριο.

Εν συνεχεία το σύνολο δεδομένων μεταφέρονταν και επεξεργάζονταν σε φύλλο εργασίας του προγράμματος Excel 2007. Η γονιδιακή έκφραση κάθε μορίου διορθωνόταν με τη γονιδιακή έκφραση της β-ακτίνης. Η β-ακτίνη ως δομικό στοιχείο του κυτταροσκελετού θεωρείται πως έχει αμετάβλητη από τις συνθήκες έκφρασης, οπότε λειτουργεί ως εσωτερικός μάρτυρας της γονιδιακής έκφρασης. Συνεπώς, η τελική μέτρηση για κάθε μόριο προέκυπτε από τη σχέση: (οπτική πυκνότητα ζώνης μορίου-γονιδίου / οπτική πυκνότητα ζώνης ακτίνης δείγματος) * 100%.

6.5 Απομόνωση πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων και Ανοσοαποτύπωση κατά Western

Σε απομονωμένα ολικά εκχυλίσματα πρωτεϊνών από το στάδιο των προλιποκυττάρων και λιποκυττάρων των παιδιών, πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western, μελέτη της πρωτεϊνικής έκφρασης των μορίων: υποδοχέας των ενδοκανναβοειδών-1 (CB1), πρωτεΐνη GTPάση (Rab5), μεταφορέας της γλυκόζης-4 (Glut-4), πρωτεΐνη ενεργοποίησης καταβολισμού (CAP), φωσφορυλιωμένος κυτταροπλασματικός υποδοχέας (phospho-cCBL), πρωτεΐνη προσαρμογέας (APPL-1), υποδοχέας της αντιπνεκτίνης-1 (AdipoR1), αντιπνεκτίνη (Adiponectin) πυρηνικός υποδοχέας (PPAR-γ) και φωσφορυλιωμένος (phosphor-PPAR-γ), πρωτεϊνική κινάση β (Akt/PKB)

ΥΛΙΚΑ

2XSDS (Sample Buffer)	
Απιονισμένο νερό	3,5ml
0.5M Tris-HCl	2,5ml
100% Glycerol	2,0ml
20% SDS	2,0ml
Bromophenol blue	

Πίνακας 8: Διάλυμα SDS Sample Buffer.

Πήκτωμα πακεταρίσματος 4% - δόση για πάχος 1,5mm	
Απιονισμένο νερό	3,075ml
0,5 M Tris-HCl pH 6,8	1,25ml
20% (w/v) SDS	0,025ml
Acrylamide/Bis-Acrylamide (30% / 0,8% w/v)	0,67ml
10% (w/v) ammonium persulfate-APS	0,025ml
TEMED	0,010ml

Πήκτωμα διαχωρισμού - δόση για πάχος 1,5mm				
	7%	10%	12%	15%
Απιονισμένο νερό	5,1ml	4,1ml	3,4ml	2,4ml
1,5 M Tris-HCl pH 8,8	2,5ml	2,5ml	2,5 ml	2,5ml
20% (w/v) SDS	0,05ml	0,05ml	0,05 ml	0,05ml
Acrylamide/Bis-Acrylamide (30% / 0,8% w/v)	2,3ml	3,3ml	4,0 ml	5,0ml
10% (w/v) ammonium persulfate-APS	0,05ml	0,05ml	0,05 ml	0,05ml
TEMED	0,010ml	0,010ml	0,010ml	0,010ml

Πίνακας 9: Υλικά για παρασκευή πήκτωματος πακεταρίσματος (Stacking gel) 4% και πήκτωματος διαχωρισμού (Seperating gel) των πρωτεϊνών κατά την ανοσοαποτύπωση κατά Western.

*Οι καταλύτες APS και TEMED λόγω των ιδιοτήτων τους τοποθετούνταν τελευταίοι στο πήκτωμα.

*Το APS παρασκευαζόταν κάθε φορά που γινόταν ηλεκτροφόρηση.

Running buffer 10x, 1000ml	
Tris-Base	30gr
Glycine	144gr
SDS	5gr
dH ₂ O	Μέχρι τα 1000ml
Trasfer buffer 10x, 1000ml	
Tris-Base	30gr
Glycine	144gr
dH ₂ O	Μέχρι τα 1000ml
TBS 10x , pH 7.5 ,1000ml	
Tris-Base	60,55gr
NaCl	87,66gr
dH ₂ O	Μέχρι τα 1000ml
TBS – Tween 1x, 1000ml	
TBS 10x	100ml
Tween 20	1ml
dH ₂ O	900ml
Ponceau 10x	
Ponceau	2gr
Trichloroacetic acid	30gr
Sulfosalicylic acid	30gr

Πίνακας 10: Ρυθμιστικά διαλύματα για την ανοσοαποτύπωση κατά Western.

Διάλυμα Blocking 10% , 50ml	
Άπαχο γάλα	5ml
TBS - Tween	45ml
*Sodium Azide 20%	50μl
Πρώτα Αντισώματα 10ml	
CB1(1:250)	40μl anti-CB1 σε 10ml blocking
Rab5(1:200)	50μl anti-Rab5 σε 10ml blocking
Glut 4(1:200)	50μl anti-Glut 4 σε 10ml blocking
CAP(1:200)	50μl anti-CAP σε 10ml blocking
Phospho-cCBL(1:200)	50μl anti-phospho-cCBL σε 10ml blocking
Adiponectin(1:500)	20μl anti-Adiponectin σε 10ml blocking
AdipoR1(1:250)	40μl anti-AdipoR1 σε 10ml blocking

APPL-1(1:500)	20μl anti-APPL-1 σε 10ml blocking
Phospho-PPAR-γ (1:200)	50μl anti-phospho-PPAR-γ σε 10ml blocking
PPAR-γ(1:200)	50μl anti-PPAR-γ σε 10ml blocking
Akt (1:1000)	10μl anti-Akt σε 10ml blocking
β-Tubulin (1:500)	20μl anti-β tubulin σε 10ml blocking
Δεύτερα Αντισώματα 10 ml συγκέντρωσης 1:500	
Anti-rabbit	20μl anti-rabbit σε 10ml blocking χωρίς Sodium Azide
Δεύτερα Αντισώματα 10 ml συγκέντρωσης 1:1000	
Anti-mouse	10μl anti-mouse σε 10ml blocking χωρίς Sodium Azide
Anti-rabbit	10μl anti-rabbit σε 10ml blocking χωρίς Sodium Azide
Δεύτερα Αντισώματα 10 ml συγκέντρωσης 1:2000	
Anti-rabbit	5μl anti-rabbit σε 10ml blocking χωρίς Sodium Azide

*Η προσθήκη Sodium Azide 20% γινόταν μόνο κατά την παρασκευή πρωτογενούς αντισώματος.

Πίνακας 11: Διάλυμα Blocking 10% και διαλύματα πρώτων και δευτέρων αντισωμάτων για την επώαση της μεμβράνης νιτροκυτταρίνης στη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western σε προλιποκύτταρα και ώριμα λιποκύτταρα.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Απομόνωση πρωτεϊνών:

Τα απομονωθέντα προλιποκύτταρα και ώριμα λιποκύτταρα λύθηκαν με σκοπό να απομονωθούν οι πρωτεΐνες. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 50μl SDS Sample Buffer (**Πίνακας 8**) και 2,5μl β-μερκαπτοαιθανόλης.

➤ Το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε περιέχει ανιοντικό απορρυπαντικό SDS (Sodium Dodecyl Sulphate), το οποίο δεσμεύεται στις πρωτεΐνες και αποτελεί ισχυρό αποδιατακτικό παράγοντα. Η β-μερκαπτεθανόλη διασπά τους δισουλφιδικούς δεσμούς (S-S) των πρωτεϊνών.

➤ Τα θραύσματα των κυττάρων στη συνέχεια βράστηκαν για 5 λεπτά έτσι ώστε να επιτευχθεί πλήρης αποδιάταξη των μορίων.

Ανοσοαποτύπωση κατά Western:

Τα δείγματα με τις πρωτεΐνες μετά τη φυγοκέντρωση τοποθετήθηκαν σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου και ηλεκτροφορήθηκαν.

➤ Η τεχνική αυτή ονομάζεται SDS-PAGE και στηρίζεται στο γεγονός ότι τα κύτταρα έχουν ήδη λυθεί με τη χρήση απορρυπαντικού SDS, οπότε οι πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης διαχωρίζονται βάσει του μοριακού τους μεγέθους, καθώς όλα τα μόρια έχουν κοινό ανιοντικό φορτίο. Στο συγκεκριμένο είδος ηλεκτροφόρησης χρησιμοποιείται ως μέσο διαχωρισμού το ακρυλαμίδιο το οποίο δημιουργεί τρισδιάστατα πολυμερή δίκτυα σε μια ευρεία κλίμακα. Το πήκτωμα (gel) σχηματίζεται με πολυμερισμό των μονομερών ακρυλαμιδίου, που οδηγεί στη δημιουργία αλυσίδων πολυακρυλαμιδίου. Στις αλυσίδες αυτές ενσωματώνονται κατά διαστήματα μόρια NN-μεθυλεν-bis-ακρυλαμιδίου, τα οποία λόγω της δομής τους μπορούν να ενσωματωθούν σε δύο διαφορετικές αλυσίδες και έτσι να δημιουργηθεί πλέγμα. Ο πολυμερισμός του ακρυλαμιδίου είναι ένα παράδειγμα καταλυτικής δράσης των ελευθέρων ριζών. Η κατάλυση γίνεται μέσω μίας βάσης, της NNN'N'-τετραμεθυλαιθυλενοδιαμίνη (TEMED), με τη βοήθεια ελευθέρων ριζών που δημιουργούνται χημικά με υπερθειικά ιόντα ($S_2O_3^{2-}$), χάρη στην παρουσία ενός δεύτερου καταλύτη, του υπερθειικού άλατος του αμμωνίου [Ammonium Persulphate (APS)].

➤ Το πήκτωμα ακρυλαμιδίου/bis-ακρυλαμιδίου διακρίνεται σε δύο επιμέρους μέρη: στο πρώτο τμήμα ή πήκτωμα πακεταρίσματος (stacking gel) το οποίο έχει σταθερό ποσοστό ακρυλαμιδίου (4%) και είναι ανεξάρτητο από το μέγεθος των προς ανάλυση πρωτεϊνών, και στο δεύτερο τμήμα ή πήκτωμα διαχωρισμού (separating gel) του οποίου το ποσοστό ακρυλαμιδίου εξαρτάται από το μοριακό μέγεθος των προς διαχωρισμό πρωτεϊνών. Η σύσταση των πηκτωμάτων πολυακρυλαμιδίου τίθενται στον **Πίνακα 9**. Στον **Πίνακα 12** παρουσιάζονται οι βέλτιστοι συσχετισμοί μεταξύ της συγκέντρωσης ακρυλαμιδίου των πηκτών διαχωρισμού και των αντιστοίχων μοριακών βαρών (σε KDa) των προς διαχωρισμό πρωτεϊνών. Στα πειράματά μας η επιθυμητή συγκέντρωση πολυακρυλαμιδίου ήταν 10%.

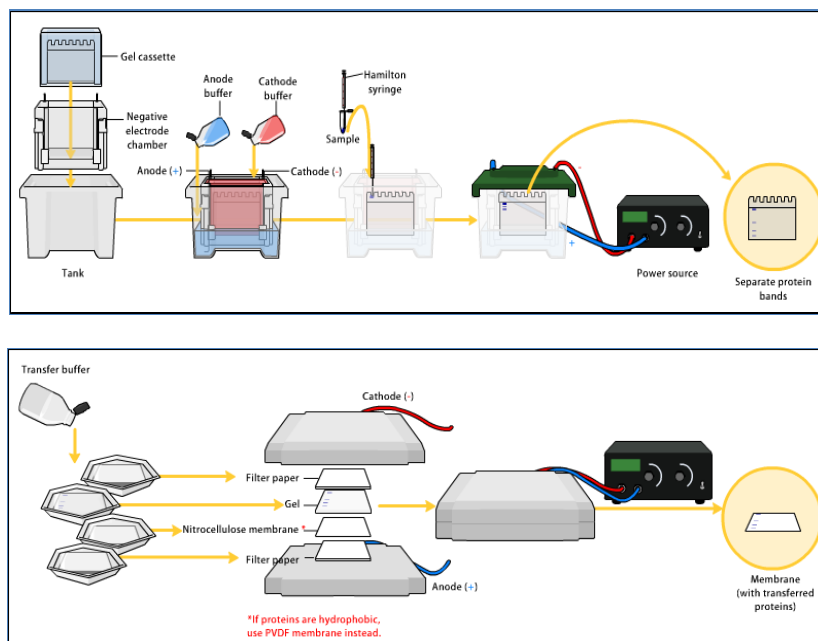
Συγκέντρωση πηκτής	Εύρος MB σε KDa
7%	36-75
10%	16-68
15%	12-43

Πίνακας 12: Βέλτιστοι συσχετισμοί συγκέντρωσης ακρυλαμιδίου των πηκτών διαχωρισμού και αντιστοίχων μοριακών βαρών (σε KDa) των προς διαχωρισμό πρωτεϊνών.

Τα δείγματα φορτώθηκαν με την επιθυμητή ποσότητα στα κελιά της πηκτής. Μαζί με τα δείγματα φορτώθηκαν και 10μl ladder (μάρτυρας με γνωστά μοριακά μεγέθη).

Στη συνέχεια εφαρμόστηκε τάση ρεύματος 80V για όση ώρα οι πρωτεΐνες βρίσκονταν στο πήκτωμα πακεταρίσματος και 120V αφότου πέρασαν στο πήκτωμα διαχωρισμού. Στην ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε Running Buffer 1x (**Πίνακας 10**) ως ρυθμιστικό διάλυμα.

Μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφόρησης, οι πρωτεΐνες μεταφέρθηκαν και καθλώθηκαν από το πήκτωμα σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης μέσω μεταφοράς (transfer), διάρκειας 1ώρας και 20 λεπτών, υπό σταθερής έντασης ρεύμα 300mA. Το ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς που χρησιμοποιήθηκε είναι το Transfer Buffer 1x (**Πίνακας 10**).



Εικόνα 47: Σχηματική απεικόνιση διαδικασίας SDS-PAGE ηλεκτροφόρησης (πάνω) και μεταφοράς πρωτεϊνών σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης (κάτω) κατά τη διάρκεια της ανοσοαποτύπωσης κατά Western.

Πριν την επώαση με το αντίσωμα, η μεμβράνη επώαστηκε με διάλυμα "μπλοκαρίσματος" των μη ειδικών θέσεων πρόσδεσης των αντισωμάτων (διάλυμα 'blocking') για 1 ώρα, το οποίο περιείχε άπαχο γάλα σε μορφή σκόνης διαλυμένο σε TBS –Tween 1x (**Πίνακας 11**). Οι μεμβράνες έπειτα υβριδοποιήθηκαν με ειδικά πρωτογενή αντισώματα. Στη συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα εξής πρωτογενή αντισώματα:

- **Anti-CB1** συγκέντρωσης 1:250 (Rabbit polyclonal antibody, Sigma)
- **Anti-Rab5** 1:200 (Rabbit polyclonal antibody, Abcam)
- **Anti-Glut4** 1:200 (Rabbit polyclonal antibody, Millipore)
- **Anti-CAP** 1:200 (Rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz)
- **Anti-phospho-cCBL** 1:200 (Rabbit polyclonal antibody, Upstate)
- **Anti-Adiponectin** 1:500 (Rabbit polyclonal antibody, Chemicon)
- **Anti-AdipoR1** 1:250 (Rabbit polyclonal antibody, Alpha Diagnostics)
- **Anti-APPL-1** 1:500 (Rabbit polyclonal antibody, Abcam)
- **Anti-phospho-PPAR-γ** 1:200 (Rabbit polyclonal antibody, Upstate)
- **Anti-PPAR-γ** 1:200 (Mouse polyclonal antibody, Upstate)
- **Anti-Akt** 1:1000 (Rabbit polyclonal antibody, Upstate)
- **Anti-β-Tubulin** 1:500 (Mouse monoclonal antibody, Upstate).

Η επώαση της μεμβράνης με τα πρωτογενή αντισώματα πραγματοποιήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας, σε κινούμενη επιφάνεια και σε θερμοκρασία δωματίου. Τα πρωτογενή αντισώματα ήταν αραιωμένα σε διάλυμα 'blocking', παρουσία αζιδίου του νατρίου (Sodium Azide) 20% το οποίο εμποδίζει την ανάπτυξη μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Μετά από την ολονύκτια επώαση ακολουθήθηκαν 3 5λεπτες πλύσεις με TBS-Tween και επώαση για 1ώρα σε κινούμενη επιφάνεια με τα δευτερογενή αντισώματα, τα οποία ήταν συνδεδεμένα με ένζυμο υπεροξειδάσης. Η επώαση επίσης έγινε σε κινούμενη επιφάνεια και θερμοκρασία δωματίου. Για τα ανωτέρω πρωτογενή αντισώματα χρησιμοποιήθηκαν τα εξής δευτερογενή αντισώματα:

- **Anti-rabbit** 1:500 (Upstate) για τα μόρια CB1, phospho-PPAR-γ
- **Anti-rabbit** 1:1000 (Upstate) για τα μόρια Rab5, Glut4, CAP, phospho-cCBL
- **Anti-rabbit** 1:2000 (Upstate) για τα μόρια Adiponectin, AdipoR1, APPL-1
- **Anti-mouse** 1:1000 (Upstate) για τα μόρια PPAR-γ, Akt, β- Tubulin.

Η αραιώση των δευτερογενών αντισωμάτων έγινε με διάλυμα 'blocking', απουσία Sodium Azide 20%, καθώς το τελευταίο καταστρέφει το ένζυμο της υπεροξειδάσης. Ακολουθήθηκαν 3 10λεπτες πλύσεις με TBS -Tween.

Εν συνεχεία, έγινε ανίχνευση εκπεμπόμενου σήματος σε φωτογραφικό φιλμ με τη χρήση αντιδραστηρίου ECL (H_2O_2 και luminol) (GE Healthcare).

Η ανίχνευση βασίζεται στο φαινόμενο της ενισχυμένης χημειοφωταύγειας. Πιο συγκεκριμένα, η αποτύπωση του σήματος στηρίζεται στο γεγονός ότι το δευτερογενές αντίσωμα φέρει προσδεμένο το ένζυμο της υπεροξειδάσης, το οποίο με την επίδραση διαλύματος H_2O_2 σε αλκαλικό περιβάλλον καταλύει την οξείδωση του luminol. Η μέγιστη εκπομπή φωτονίων λαμβάνει χώρα σε μήκος κύματος 428nm και παρουσιάζει μέγιστη τιμή στα 5-20 λεπτά μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων. Η ανίχνευση επιτυγχάνεται με έκθεση σε φωτογραφικό φιλμ, ευαίσθητο στο μπλε φως. Ο χρόνος έκθεσης του φιλμ εξαρτάται από την ένταση και την ποιότητα του σήματος τα οποία και ρυθμίστηκαν με δοκιμές για το κάθε αντίσωμα.

Τέλος, έγινε σχετική ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων με τη χρήση του ηλεκτρονικού προγράμματος Scion Image. Η πρωτεϊνική έκφραση κάθε μορίου διορθώθηκε με την πρωτεϊνική έκφραση της β -Τουμπουλίνης. Η β -Τουμπουλίνη ως δομικό στοιχείο του κυτταροσκελετού θεωρείται πως έχει αμετάβλητη από τις συνθήκες έκφραση, οπότε λειτουργεί ως εσωτερικός μάρτυρας της πρωτεϊνικής έκφρασης. Συνεπώς, η τελική μέτρηση για κάθε μόριο προέκυψε από τη σχέση: (οπτική πυκνότητα ζώνης μορίου-γονιδίου / οπτική πυκνότητα ζώνης β -Τουμπουλίνης δείγματος) * 100%.

6.6 Λήψη δειγμάτων αίματος και μετρήσεις στον ορό του αίματος

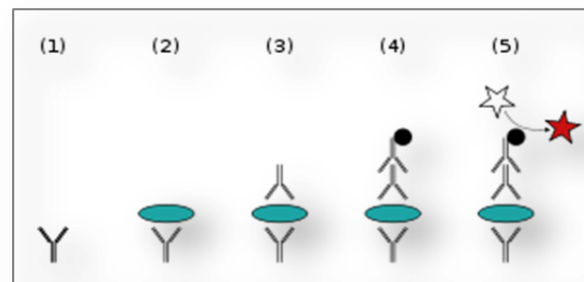
Στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα παιδιά που επιλέχθηκαν για τη μελέτη, ελήφθησαν γενική αίματος και βιοχημικός έλεγχος. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε κατάσταση νηστείας (8 π.μ.) και έγιναν οι εξής μετρήσεις: γλυκόζη νηστείας, ινσουλίνη, ολική χοληστερόλη, LDL και HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια

Στο πλάσμα που συλλέχθηκε εκτιμήθηκαν τα επίπεδα της γλυκόζης με μετρήσεις της εξοκινάσης της γλυκόζης σε φωτόμετρο. Επιπλέον στον ορό του αίματος των λεπτόσωμων και παχύσαρκων παιδιών μετρήθηκαν με τη μέθοδο της

ELISA (Enzyme-linked immunoabsorbent assay) τα επίπεδα της Ινσουλίνης και η ΗΜW Αντιπινεκτίνη.

Τα επίπεδα της ινσουλίνης μετρήθηκαν με το κιτ ELISA (Linco Research Inc., St. Charles, MO, USA) το οποίο είχε κατώτερο όριο μέτρησης τα 2 $\mu\text{U}/\text{ml}$, (σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας).

Η ΗΜW ισομορφή της Αντιπινεκτίνης μετρήθηκε στον ορό των παιδιών με τη μέθοδο της ELISA (Alpco diagnostics, Windham, USA respectively) με κιτ που είχε κατώτερο επίπεδο ευαισθησίας για την Αντιπινεκτίνη 0.075 ng/ml .



Εικόνα 48: Διαδικασία της ELISA: (1) Συγκεκριμένο αντίσωμα 'αγκιστρώνεται' σε σταθερή επιφάνεια (κελί του sandwich της ELISA) (2) Προθήκη δείγματος. (3) Προσθήκη αντισώματος που ανιχνεύει το αντιγόνο και συνδέεται και με ειδικό ένζυμο (4) Προσθήκη υποστρώματος και πραγματοποίηση ενζυμικής αντίδρασης που δίνει ανιχνεύσιμο προϊόν.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Η ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) είναι μια βιοχημική μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για να ανιχνεύσει την παρουσία ενός αντισώματος ή ενός αντιγόνου σε ένα δείγμα του ενδιαφέροντός μας.

ELISA για Ινσουλίνη και ΗΜW Αντιπινεκτίνη σε πλάσμα.

- Αρχικά ο ορός τοποθετήθηκε σε τρυβλία 96 θέσεων τα οποία είχαν προσδεμένο το ειδικό αντίσωμα ανίχνευσης
- Τα δείγματα φορτώθηκαν στα τρυβλία εις διπλούν, ενώ αντίστοιχα τοποθετήθηκαν και δείγματα αυξανόμενων συγκεντρώσεων της υπό μελέτης ορμόνης για τη δημιουργία τυπικής καμπύλης, όπως και δύο δείγματα γνωστής συγκέντρωσης ως ενδογενείς μάρτυρες σωστής λειτουργίας της τεχνικής.

- Τα δείγματα επωάστηκαν με μια σειρά αντιδραστηρίων εξασφαλίζοντας έτσι την πρόσδεση της ορμόνης στο τρυβλίο και τη μετέπειτα πρόσδεσή της με το ειδικό αντίσωμα.
- Το σύμπλοκο ορμόνης-αντισώματος αντιδρά με το ένζυμο της στρεπταβιδίνης, με αποτέλεσμα το διάλυμα να αποκτά χρώμα.
- Η αντίδραση διακόπηκε με αντίστοιχο διάλυμα οξέος (π.χ. 7,7% H₂SO₄)
- Έγινε μέτρηση της οπτικής πυκνότητας σε φωτόμετρο στα 450nm εντός 30 λεπτών. Η συγκέντρωση της ορμόνης στον ορό υπολογίστηκε από την εξίσωση που αποδίδει η τυπική καμπύλη αφού αφαιρέθηκε η οπτική απορρόφηση σκευασμού (διόρθωση λ : 540nm ή 570nm).

* Στις μετρήσεις της ΗΜW Αντιπινεκτίνης προηγείται αντίδραση των 2 δειγμάτων του ορού με ένζυμο (2 ώρες στους 37°C) για την αφαίρεση των εξαμερών και τριμερών ισομορφών της αντιπινεκτίνης από το δείγμα.

Ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR υπολογίστηκε με την εξίσωση HOMA-IR (mmol/l X mU/ml) = γλυκόζη νηστείας (mmol/l) x ινσουλίνη νηστείας (mU/ml)]/22.5.(Matthews et al., 1985)

6.7 Στατιστική Ανάλυση

Όλα τα δεδομένα ομαδοποιήθηκαν σε σχέση με:

- Την ηλικία
- το στάδιο εφηβείας (κατά Tanner για την ανάπτυξη του στήθους στα κορίτσια και κατά Prader για τον όγκο των όρχεων στα αγόρια)
- Τις καμπύλες του ΔΜΣ% (Δείκτη Μάζας Σώματος-εικόνα 6).

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Κλινικά χαρακτηριστικά και βιοχημικό προφίλ των παιδιών

Στη συγκεκριμένη μελέτη συμμετείχαν 96 λεπτόσωμα (BMI < 85%) και 66 παχύσαρκα (BMI>95%) προεφηβικά (Tanner I) και εφηβικά (Tanner II-V) παιδιά. Τα σωματομετρικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των παιδιών που συμμετείχαν στη μελέτη φαίνονται στον **Πίνακα 13 και 14**.

Πίνακας 13	Προεφηβικά Ομάδα A		Προεφηβικά Ομάδα B		Εφηβικά Ομάδα Γ	
	Λεπτόσωμα (n=43)	Παχύσαρκα (n=15)	Λεπτόσωμα (n=25)	Παχύσαρκα (n=19)	Λεπτόσωμα (n=28)	Παχύσαρκα (n=32)
Φύλο(Θ ¹ /Α ²)	4/39	1/14	9/16	4/15	11/17	9/23
Στάδιο Tanner	I	I	I	I	II-IV	II-IV
Ηλικία (yrs)	3.28 ± 1.63	3.68 ± 1.9	10.12 ± 1.93	10.32 ± 1.46	12.84 ± 1.63	11.88 ± 1.46
BMI (%)	39.56±26.02	95.27±5.16 ^α	56.68±1.94	94.67±3.22 ^α	68±17.63	100.36±11.31 ^α
WC (%)	51.59±38.72	81.81±29.91 ^α	69.79±27.73	82.47±32.25 ^α	80.76±24.67 ^β	93.41±15.55 ^β
BW: AGA ³	18	13	20	14	21	21
BW: SGA ⁴	14	0	1	4	2	3
BW: LGA ⁵	6	2	3	1	4	5
Οικογενειακό Ιστορικό DMII	10	4	9	7	8	9
Παχυσαρκία	2	2	6	8	10	12

Συντομεύσεις: ¹Θήλυ, ²Άρρεν, ³appropriate for gestational age, ⁴small for gestational age, ⁵large for gestational age

α p≤0,046 Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο Δείκτη μάζας σώματος (BMI%) μεταξύ παχύσαρκων και λεπτόσωμων παιδιών της κάθε ηλικιακής ομάδας.

β p≤0,039 Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην Περίμετρο Μέσης επί τις εκατό στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά παιδιά των ομάδων A και B σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ.

Δεν ανεδείχθησαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά το φύλο, το βάρος γέννησης και το οικογενειακό ιστορικό για σακχαρώδη διαβήτη ή παχυσαρκία.

Πίνακας 14	Προεφηβικά Ομάδα Α		Προεφηβικά Ομάδα Β		Εφηβικά Ομάδα Γ	
	Λεπτόσωμα (n=43)	Παχύσαρκα (n=15)	Λεπτόσωμα (n=25)	Παχύσαρκα (n=19)	Λεπτόσωμα (n=28)	Παχύσαρκα (n=32)
Γλυκόζη (mg/dl)	83.03±7.72	90.5±7.65	87.06±12.73	90.46±9.11	94.29±9.06	94.55±8.71
Ολική Χοληστερόλη (mg/dl)	143.73±25.92	146.93±25.99	145.91±25.66	147.47±25,72	140.54±27.52	140.41±25.23
HDL (mg/dl)	46.59±10.18*	53.6±12.31	58.01±14.22	58.42±13.46	53.32±13.14	54.64±14.7
LDL (mg/dl)	85.43±19.41	80.82±16.01	74.76±15.33	83.92±12.54	70.54±16.31#	75.12±18.58
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	70.51±24.8	63.79±25.96	67.76±19.75	54.61±15.16	56.26±17.16	62.62±19.31

***p=0,015** Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της HDL χοληστερόλης στα λεπτόσωμα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α σε σχέση με τα μεγαλύτερα λεπτόσωμα της ομάδας Β.

#p=0,021 Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της LDL χοληστερόλης στα λεπτόσωμα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α σε σχέση με τα εφηβικά λεπτόσωμα της ομάδας Γ.

Δεν ανεδείχθησαν στατιστικά σημαντικά διαφορές όσον αφορά τη γλυκόζη νηστείας, την ολική χοληστερόλη και τα Τριγλυκερίδια των παιδιών, τα οποία ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων.

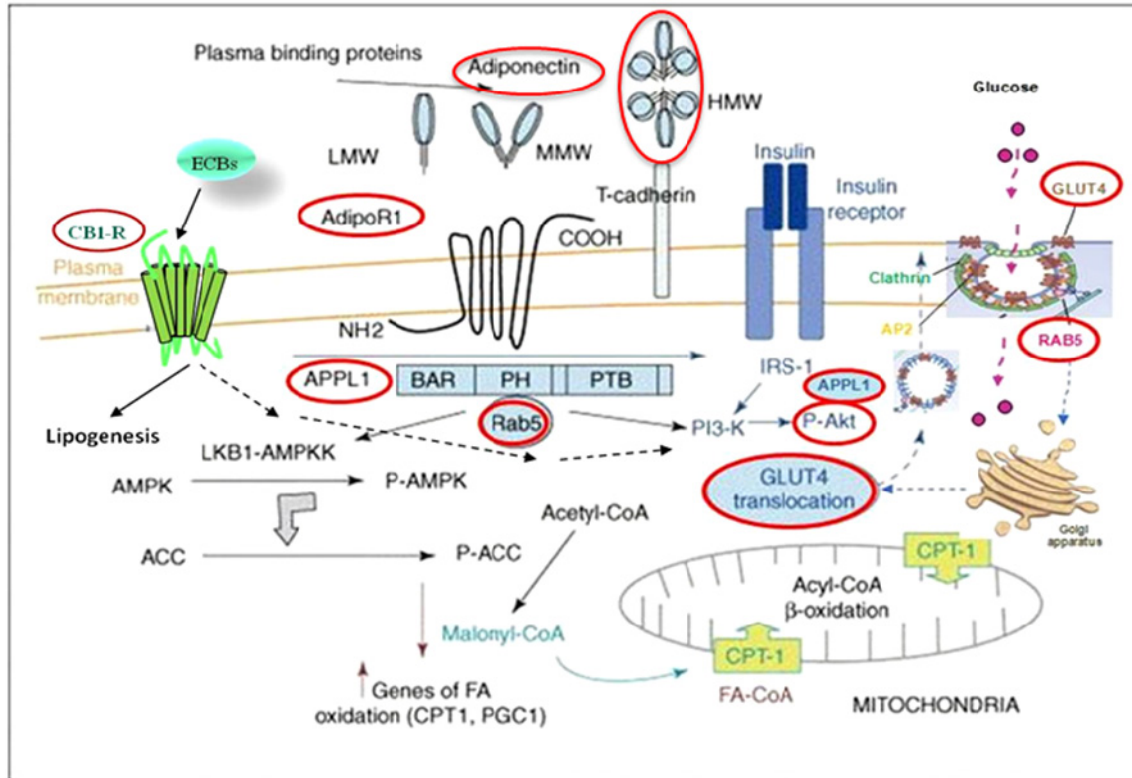
Τα προεφηβικά παιδιά χωρίστηκαν σε 2 ηλικιακές ομάδες, μικρά και μεγάλα προεφηβικά, επειδή τα αποτελέσματα των διαφόρων πρωτεϊνών στο σηματοδοτικό μονοπάτι Αντιπονεκτίνης-Ινσουλίνης παρουσίασαν διαφορές στα πιο μικρά προεφηβικά παιδιά σε σχέση με τα μεγαλύτερα προεφηβικά. Επίσης η μορφολογία και το μέγεθος των λιποκυττάρων στα μικρά προεφηβικά παιδιά ήταν παρόμοια στα λεπτόσωμα και τα παχύσαρκα, ενώ στα μεγάλα προεφηβικά παιδιά από την ηλικία των 7 ετών και άνω, παρατηρήθηκε μεταβολή στη μορφολογία των λιποκυττάρων των παχύσαρκων προεφηβικών παιδιών, με αύξηση του μεγέθους τους και αρχόμενη υπερτροφία των λιποκυττάρων στα μεγάλα παχύσαρκα προεφηβικά παιδιά σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα.

Είναι γνωστό ότι στην ηλικία των 6 ετών υπάρχει μία «φυσιολογική» αύξηση στην εναπόθεση λίπους των παιδιών και μία «φυσιολογική» αύξηση του βάρους. Σύμφωνα με μελέτες η μέση παιδική ηλικία εκτόξευσης της ανάπτυξης έχει αναγνωρισθεί σαφώς στα αγόρια στην ηλικία των 7 ετών και στα κορίτσια στην ηλικία των 6,7 ετών. Η συνολική ανάπτυξη των προεφηβικών παιδιών φαίνεται να ακολουθεί κυκλική πορεία με μεσοδιάστημα τα 2.2 έτη στα αγόρια και 2.1 έτη στα κορίτσια. Αυτοί οι αναπτυξιακοί κύκλοι φαίνεται να συνεχίζονται μέχρι την έναρξη της εφηβείας (Butler, McKie, & Ratcliffe, 1990).

Η επιτάχυνση της προεφηβικής ανάπτυξης είναι ένα φαινόμενο της πρώιμης παιδικής ηλικίας, που εκφράζεται από μια ήπια παροδική επιτάχυνση της ταχύτητας ανάπτυξης μεταξύ πέντε και οκτώ ετών. Φαίνεται να είναι πιο έντονο στα αγόρια παρά στα κορίτσια. Είναι πιθανόν να προκαλείται από τη λειτουργική ωρίμανση των επινεφριδίων («αδρεναρχή») που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ανδρογόνων κατά τη διάρκεια αυτής της ηλικίας. Επιπλέον η αυξημένη έκκριση της αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση σε αυτό το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα είναι πολύ πιθανό να αλληλεπιδρά και να παίζει σημαντικό ρόλο. Παρά το γεγονός ότι η επιτάχυνση της προεφηβικής ανάπτυξης δεν μπορεί να ερμηνευθεί ως ένα πρώτο βήμα της εφηβείας, ορισμένα πρόσθετα βιοχημικά γεγονότα υποδηλώνουν θεμελιώδεις αλλαγές στον οργανισμό (Muhl, Herkner, & Swoboda, 1992). Για το λόγο αυτό εάν ένα παιδί γίνεται υπέρβαρο στην ηλικία των 6-7 ετών είναι πολύ σημαντικό να επέμβουμε ώστε να διατηρηθεί η ενεργειακή ομοιόσταση και να μην έχει τις απώτερες επιπλοκές της παχυσαρκίας.

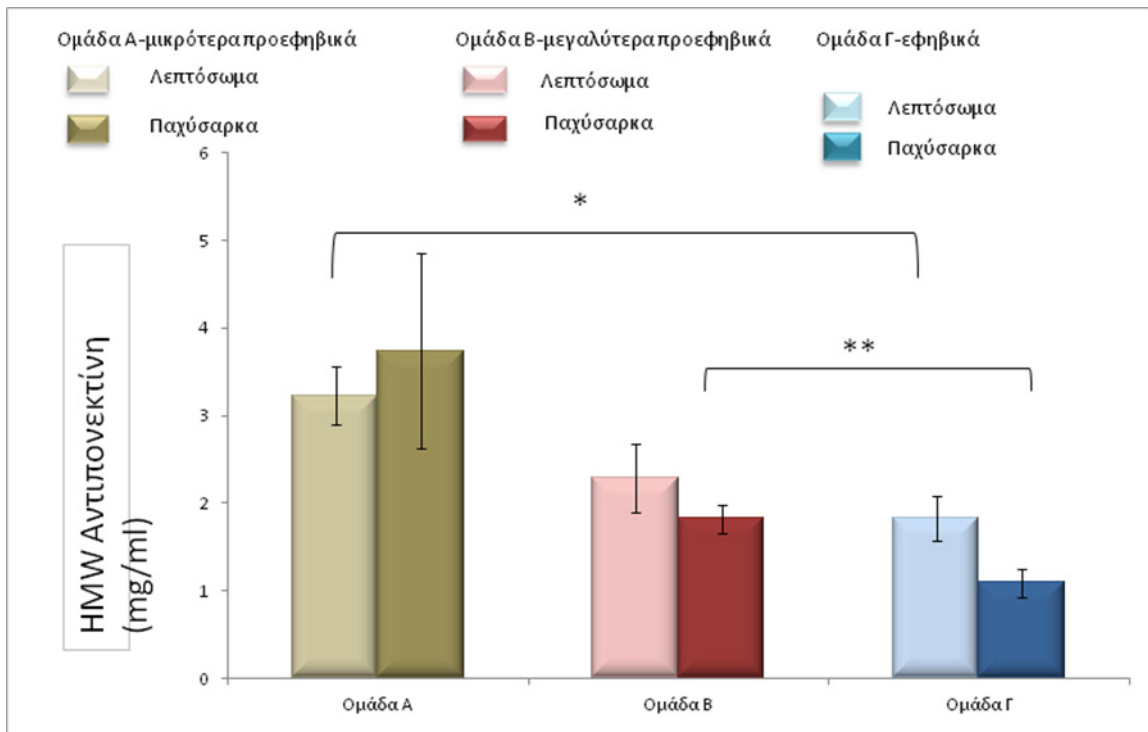
7.2 Αποτελέσματα έκφρασης μορίων

7.2.1 Μέρος Α - Μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της Αντιπνεκτίνης



7.2.1.1 Κυκλοφορούντα επίπεδα HMW Αντιπυονεκτίνης στον ορό του αίματος

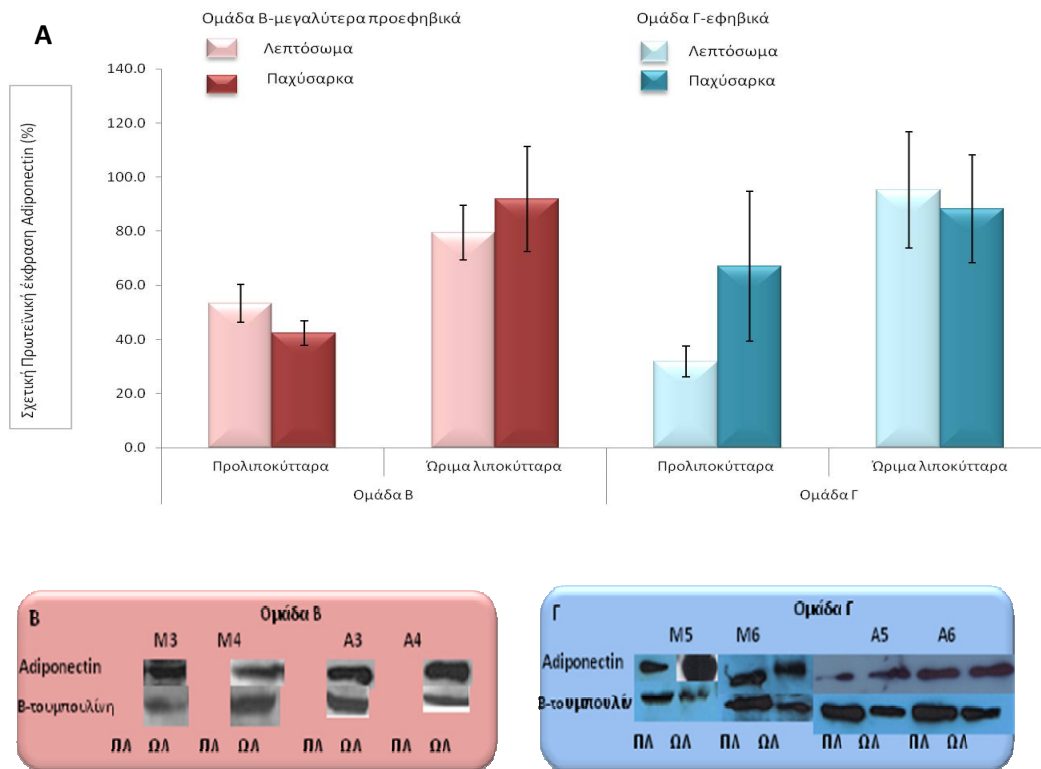
Μελετήθηκαν τα επίπεδα της HMW αντιπυονεκτίνης στο ορό αίματος των λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών. Η μέτρηση των επιπέδων της HMW αντιπυονεκτίνης με τη μέθοδο ELISA έδειξε: α) σημαντική μείωση στα λεπτόσωμα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α (* $p=0,02$) και β) σημαντική μείωση στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Β (** $p<0,039$) (Σχήμα 1).



Σχήμα 1: HMW Αντιπυονεκτίνη σε λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά (ομάδες Α & Β) και εφηβικά παιδιά (Ομάδα Γ). Η HMW Αντιπυονεκτίνη στον ορό ήταν α) σημαντικά μειωμένη στα λεπτόσωμα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α κα β) σημαντικά μειωμένη στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της Ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά της Ομάδα Β.

7.2.1.2 Πρωτεϊνική έκφραση Αντιπνεκτίνης (Λιπνεκτίνης)

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση της Αντιπνεκτίνης στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασης της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Σχήμα 2).

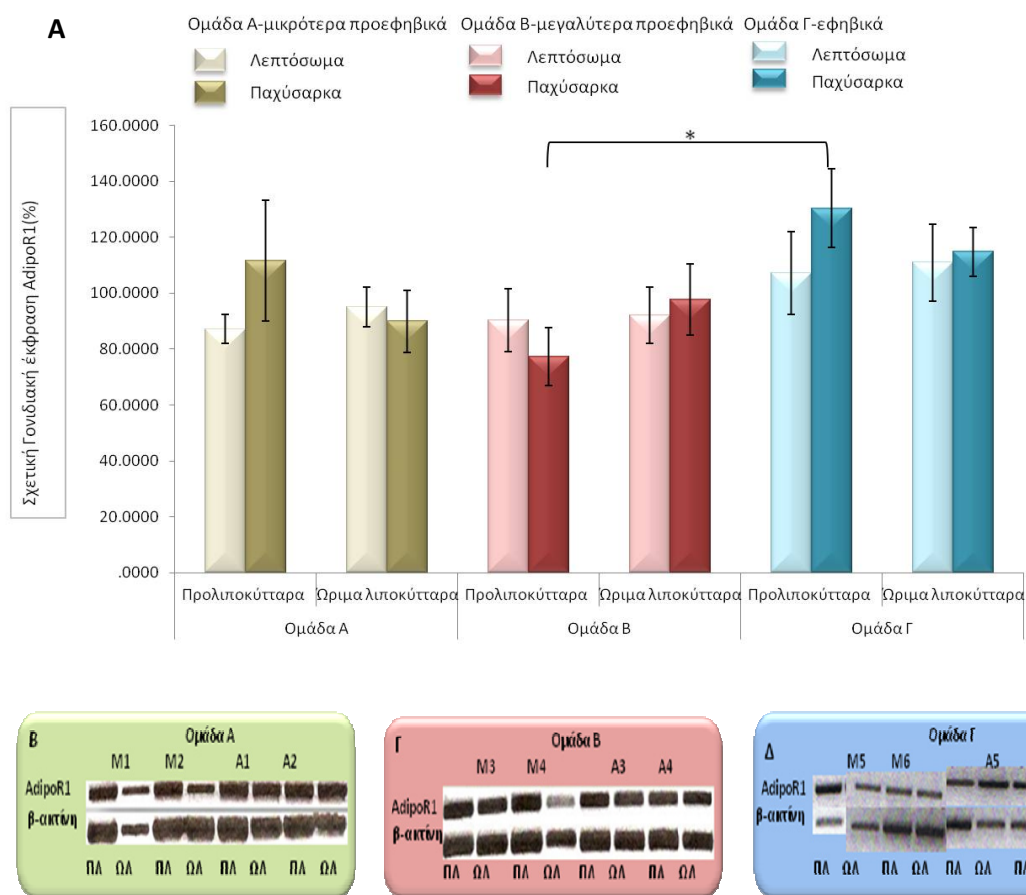


Σχήμα 2: Πρωτεϊνική έκφραση της Αντιπνεκτίνης και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (Α, Β & Γ). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (Α) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.1.3 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση AdipoR1

Γονιδιακή έκφραση του AdipoR1

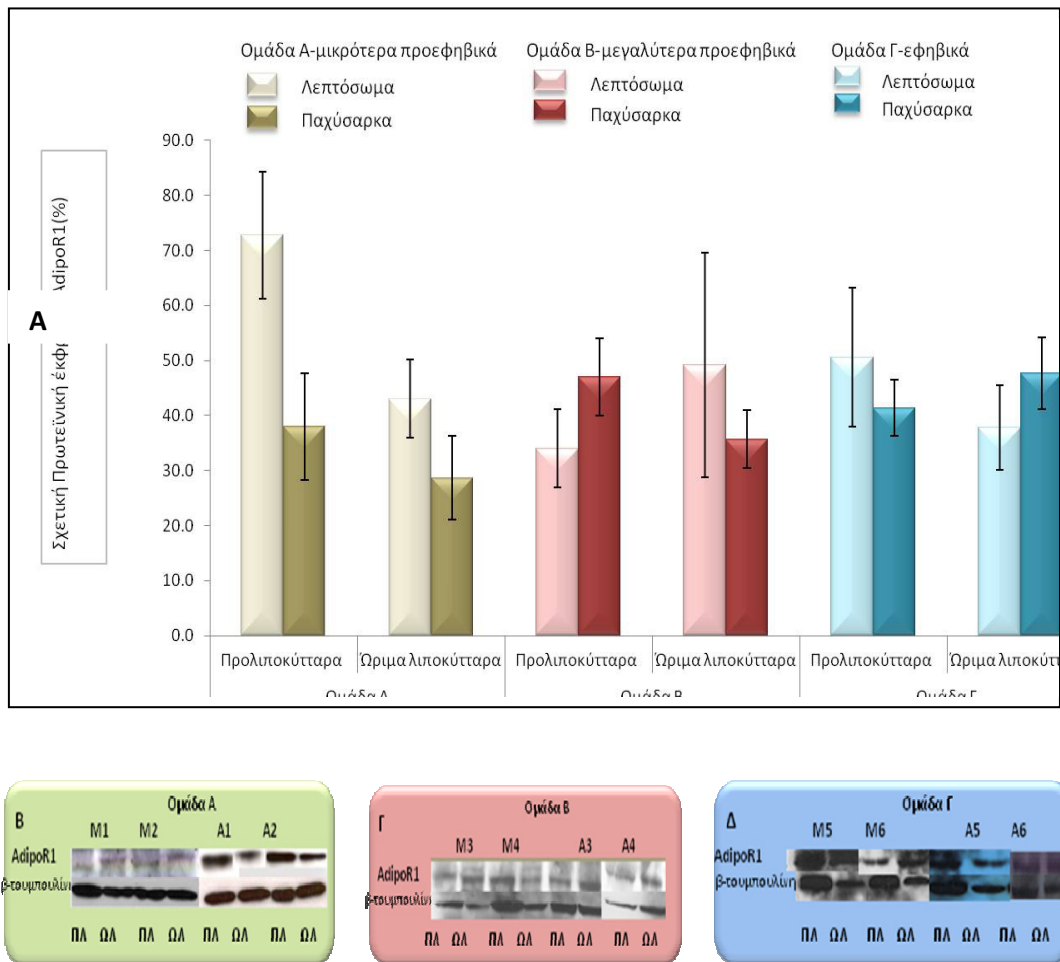
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του AdipoR1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έδειξε σημαντική αύξηση στα προλιποκύτταρα των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα παχύσαρκα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Β (* $p=0,017$) (Σχήμα 3).



Σχήμα 3: Γονιδιακή έκφραση του AdipoR1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR (**Α,Β,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**Α**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR έδειξε ότι ο AdipoR1 είναι αυξημένος στα προλιποκύτταρα (ΠΛ) των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά (* $p=0,017$).

Πρωτεϊνική έκφραση του AdipoR1

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του AdipoR1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Σχήμα 4).

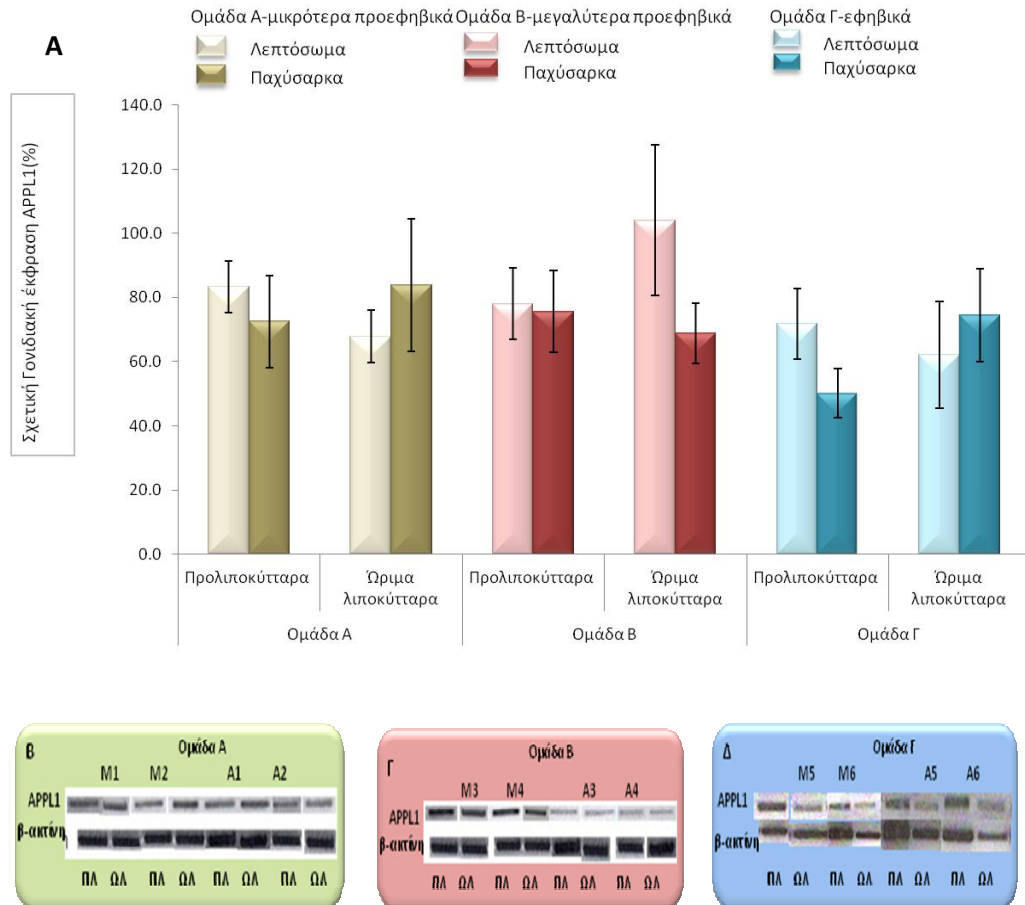


Σχήμα 4: Πρωτεϊνική έκφραση του AdipoR1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A,B,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.1.4 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση APPL-1

Γονιδιακή έκφραση του APPL-1

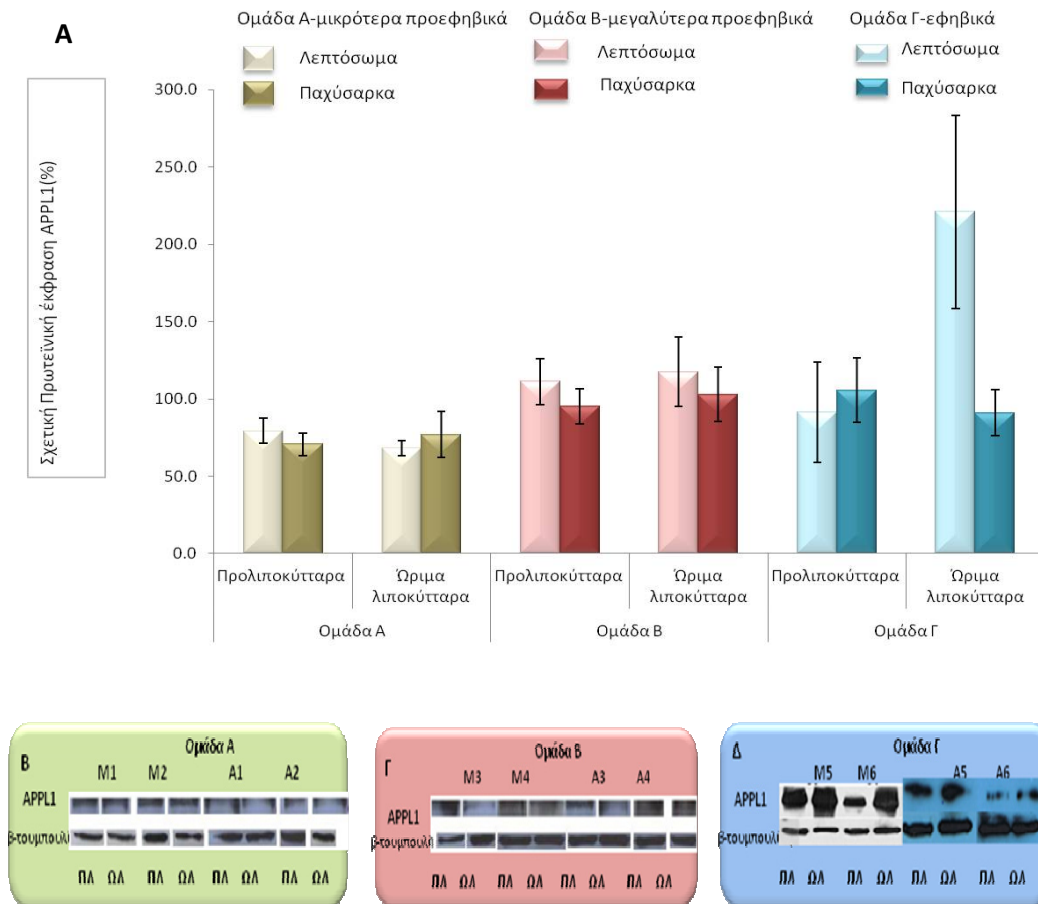
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του APPL-1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. (Σχήμα 5).



Σχήμα 5: Γονιδιακή έκφραση του APPL-1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR (**A,B,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πρωτεϊνική έκφραση του APPL-1

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του APPL-1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Σχήμα 6).

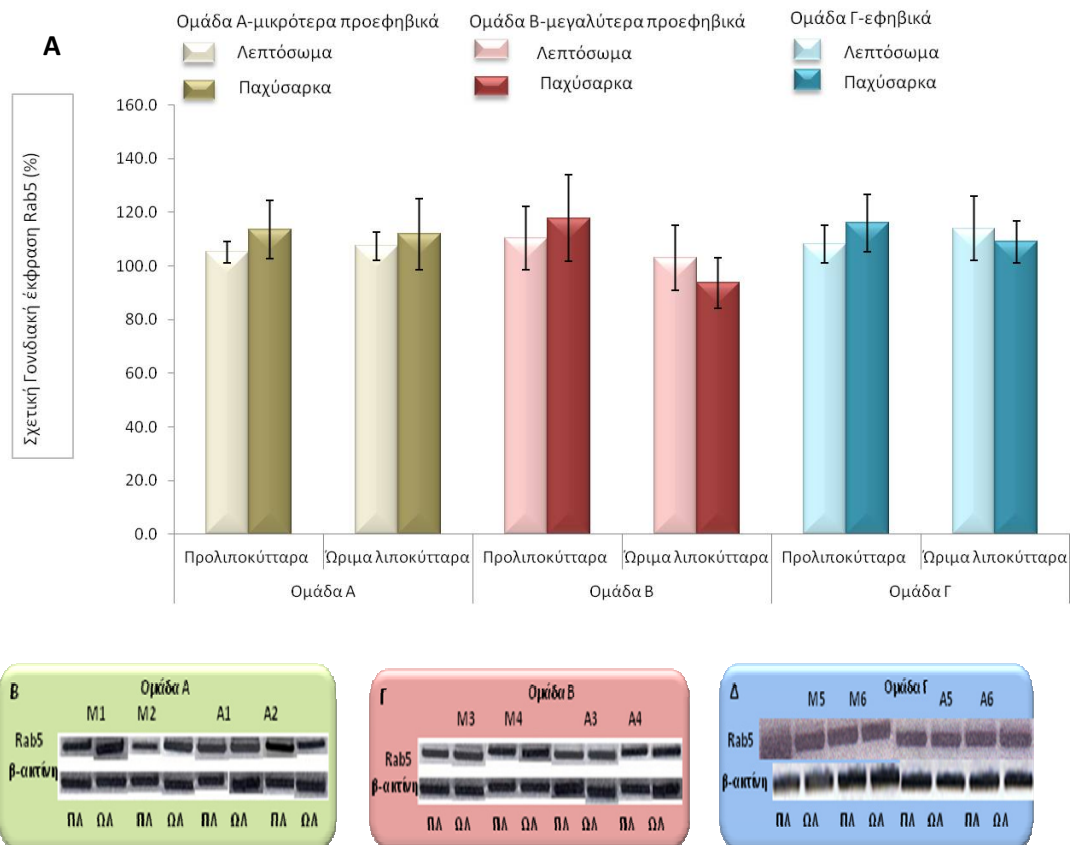


Σχήμα 6: Πρωτεϊνική έκφραση του APPL-1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A, B, Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.1.5 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση Rab5

Γονιδιακή έκφραση του Rab5

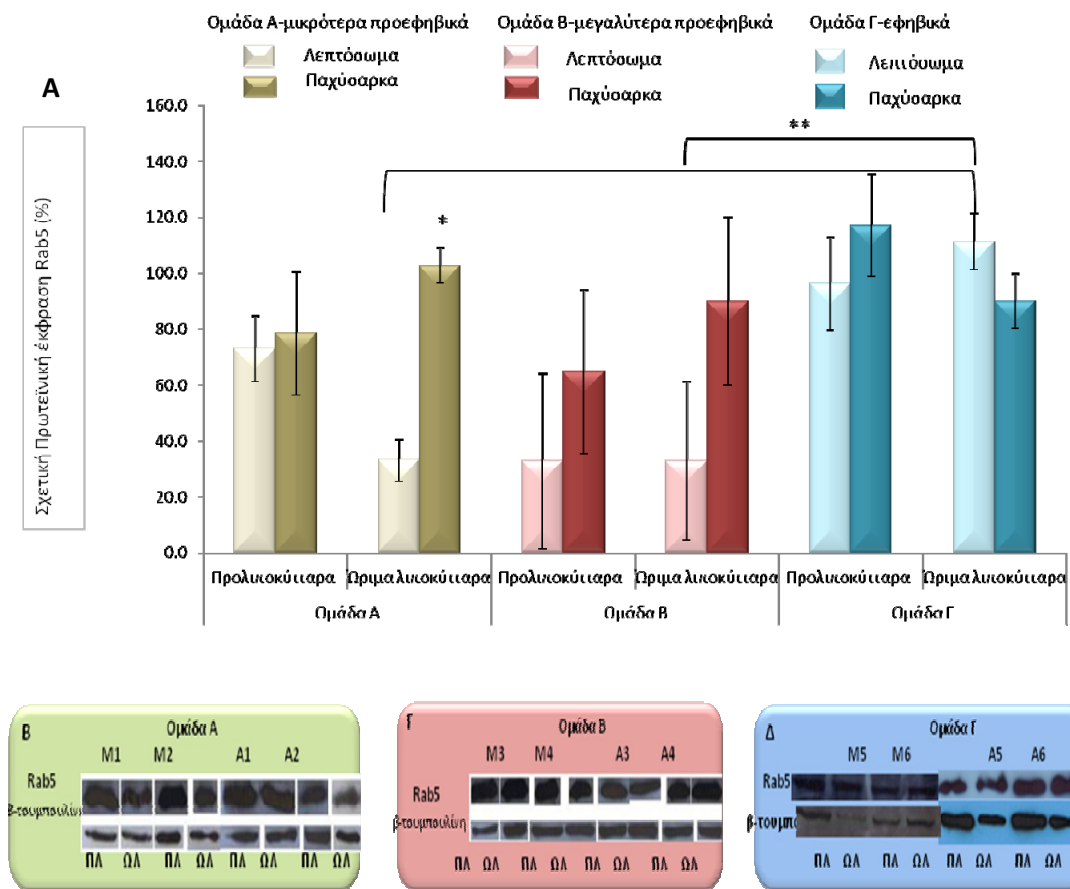
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του Rab5 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 7).**



Σχήμα 7: Γονιδιακή έκφραση του Rab5 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A,B,Γ & Δ)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πρωτεϊνική έκφραση του Rab5

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έδειξε: α) σημαντική αύξηση στα ώριμα λιποκύτταρα των παχύσαρκων μικρότερων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Α σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους (* $p=0,008$), β) σημαντική αύξηση στα ώριμα λιποκύτταρα των λεπτόσωμων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προεφηβικά παιδιά και των δύο ηλικιακών ομάδων (Α & Β) (** $p<0,047$) (Σχήμα 8).

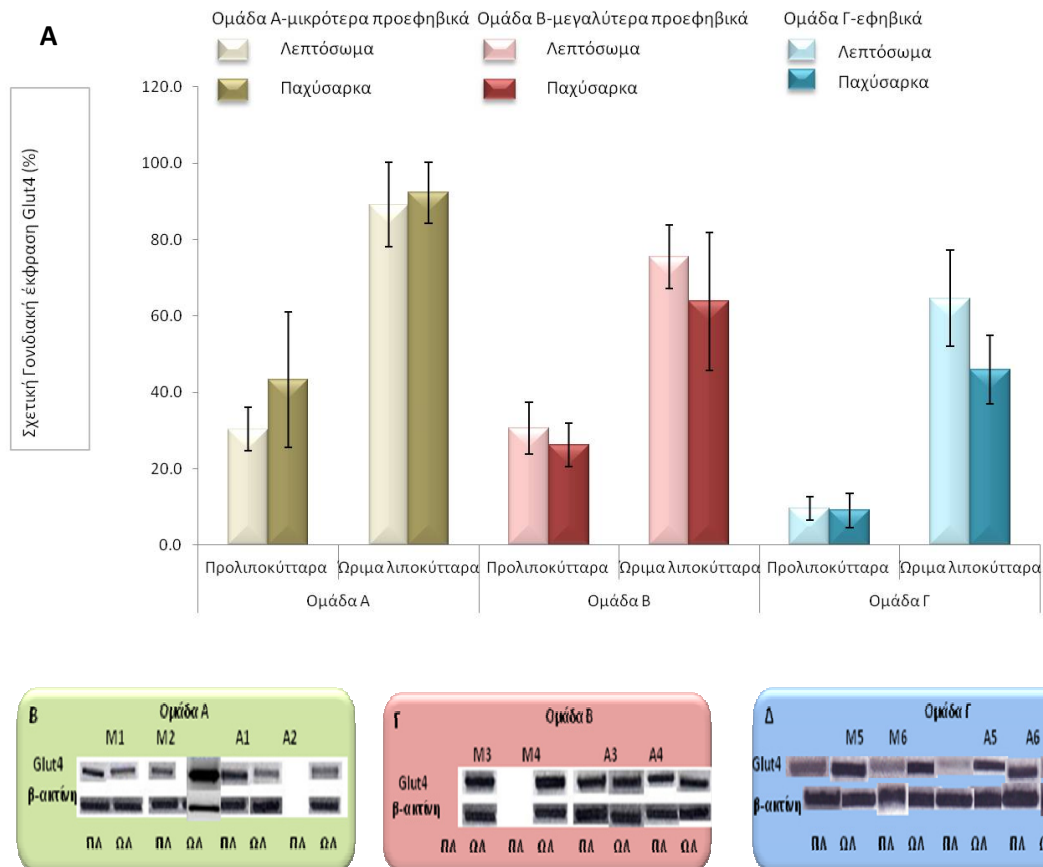


Σχήμα 8: Πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (Α, Β, Γ & Δ). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (Α) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI έδειξε ότι, σε πρωτεϊνικό επίπεδο, το Rab5 είναι : (α) αυξημένο στα ώριμα λιποκύτταρα (ΩΛ) των παχύσαρκων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Α σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους (* $p=0,08$) και (β) αυξημένο στα ΩΛ των λεπτόσωμων εφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προεφηβικά παιδιά και των δύο ηλικιακών ομάδων (** $p<0,047$).

7.2.1.6 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση Glut4

Γονιδιακή έκφραση του Glut4

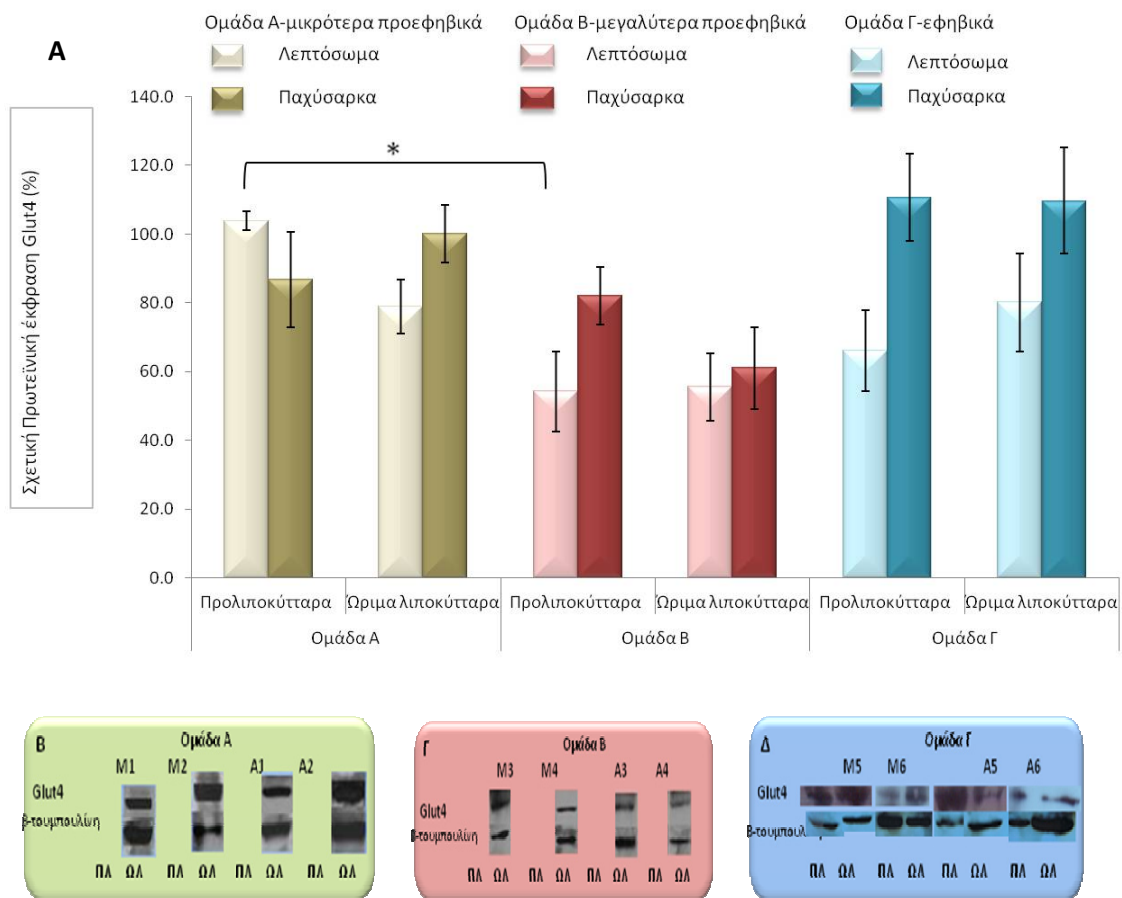
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του Glut4 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 9).**



Σχήμα 9: Γονιδιακή έκφραση του Glut4 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A,B,Γ & Δ)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

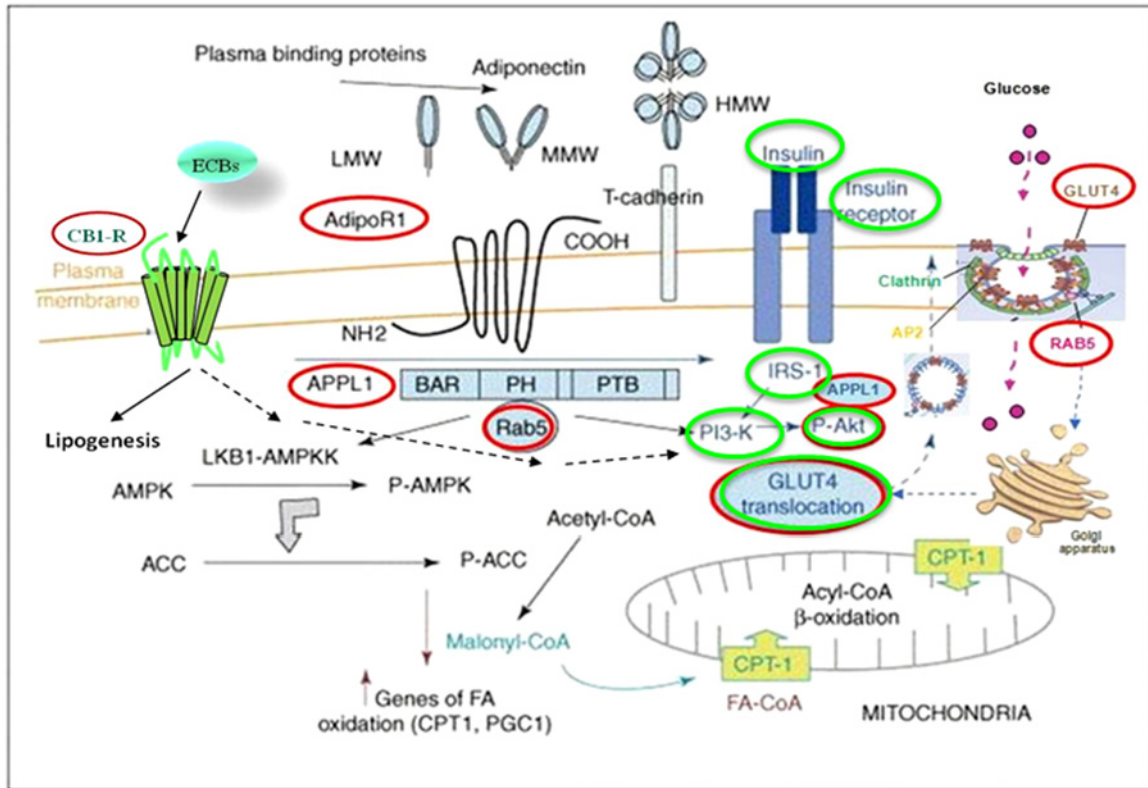
Πρωτεϊνική έκφραση του Glut4

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του Glut4 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έδειξε σημαντική μείωση στα προλιποκύτταρα των λεπτόσωμων μεγαλύτερων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Β σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α (* $p=0,037$) (Σχήμα 10).



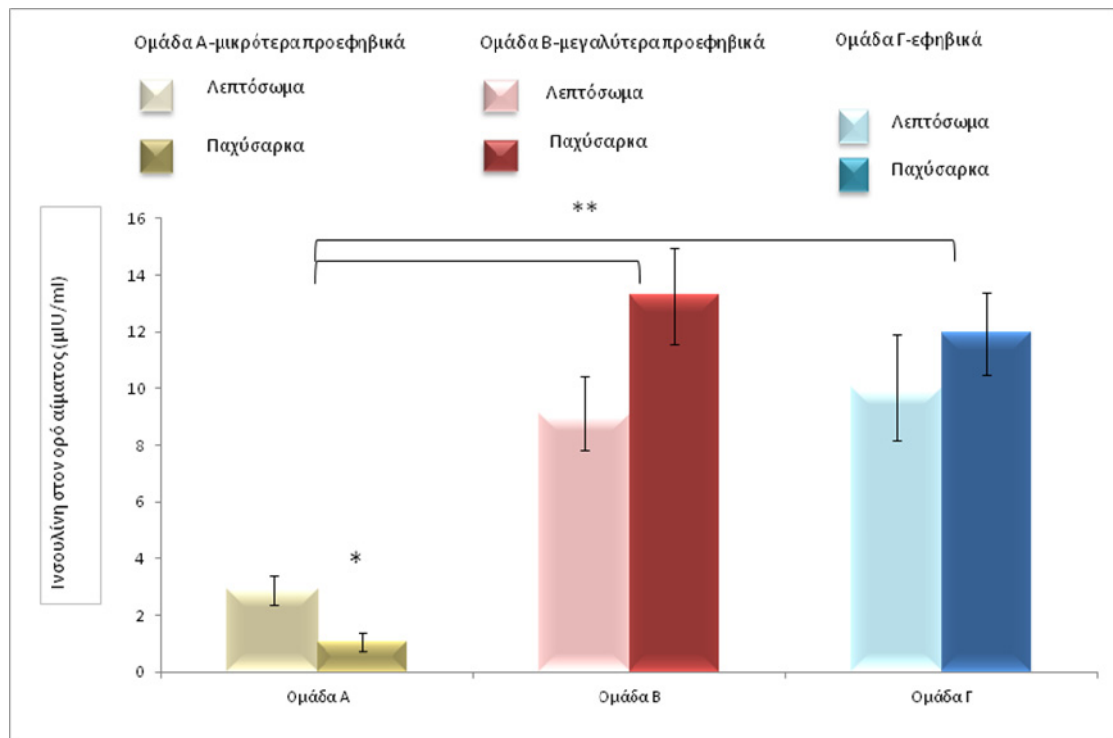
Σχήμα 10: Πρωτεϊνική έκφραση του Glut4 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**Α, Β, Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**Α**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI έδειξε ότι το Glut4 είναι μειωμένο στα ΠΛ των λεπτόσωμων μεγαλύτερων προεφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά (* $p=0,037$).

7.2.2 Μέρος Β - Μόρια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της Ινσουλίνης



7.2.2.1 Επίπεδα Ινσουλίνης στον ορό αίματος

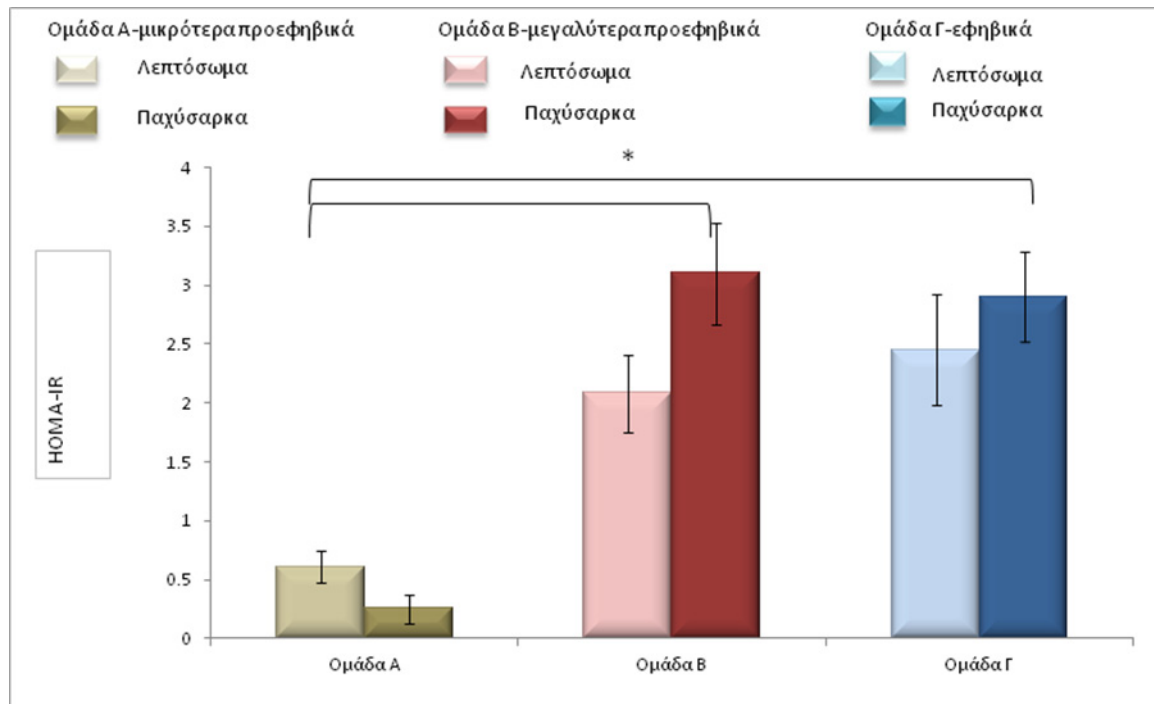
Μελετήθηκαν τα επίπεδα ινσουλίνης στο ορό αίματος των λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών. Η μέτρηση των επιπέδων ινσουλίνης με τη μέθοδο ELISA έδειξε: α) τάση μείωσης στα παχύσαρκα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους ($*p=0,076$) και β) σημαντική αύξηση στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά των Ομάδων Β και Γ σε σχέση με τα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α ($**p<0,022$) (**Σχήμα 11**).



Σχήμα 21: Ινσουλίνη σε λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά (ομάδες Α & Β) και εφηβικά παιδιά (Ομάδα Γ). Η ινσουλίνη στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένη στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά (Ομάδες Β & Γ) σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά (Ομάδα Α).

7.2.2.2 Δείκτης Ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR

Υπολογίστηκε ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης (HOMA-IR) στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά και των τριών ηλικιακών ομάδων. Ο δείκτης HOMA-IR έδειξε: σημαντική αύξηση στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά των Ομάδων Β και Γ σε σχέση με τα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α (* $p < 0,02$) (**Σχήμα 12**).

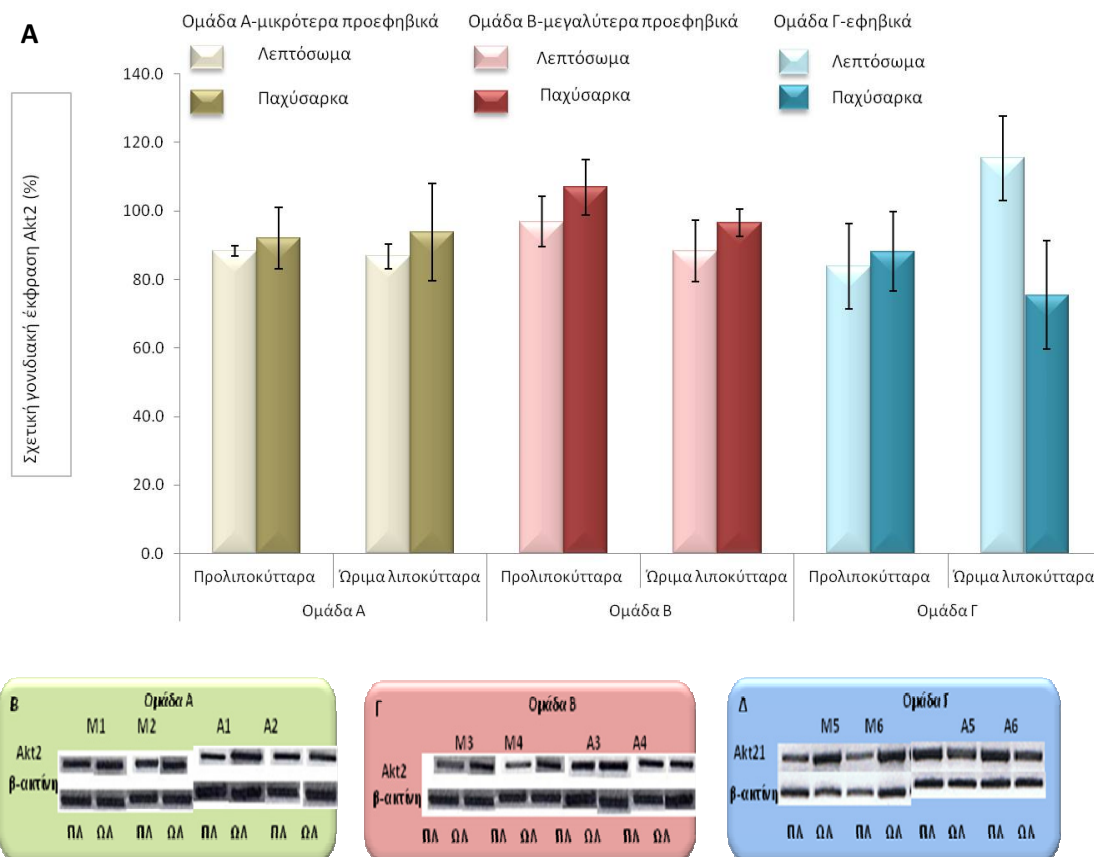


Σχήμα 12: Δείκτης ινσουλινοαντίστασης (HOMA-IR) σε λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά (ομάδες Α & Β) και εφηβικά παιδιά (Ομάδα Γ). Ο HOMA-IR ήταν σημαντικά αυξημένος στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά (Ομάδες Β & Γ) σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά (Ομάδα Α).

7.2.2.3 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση Akt2

Γονιδιακή έκφραση του Akt2

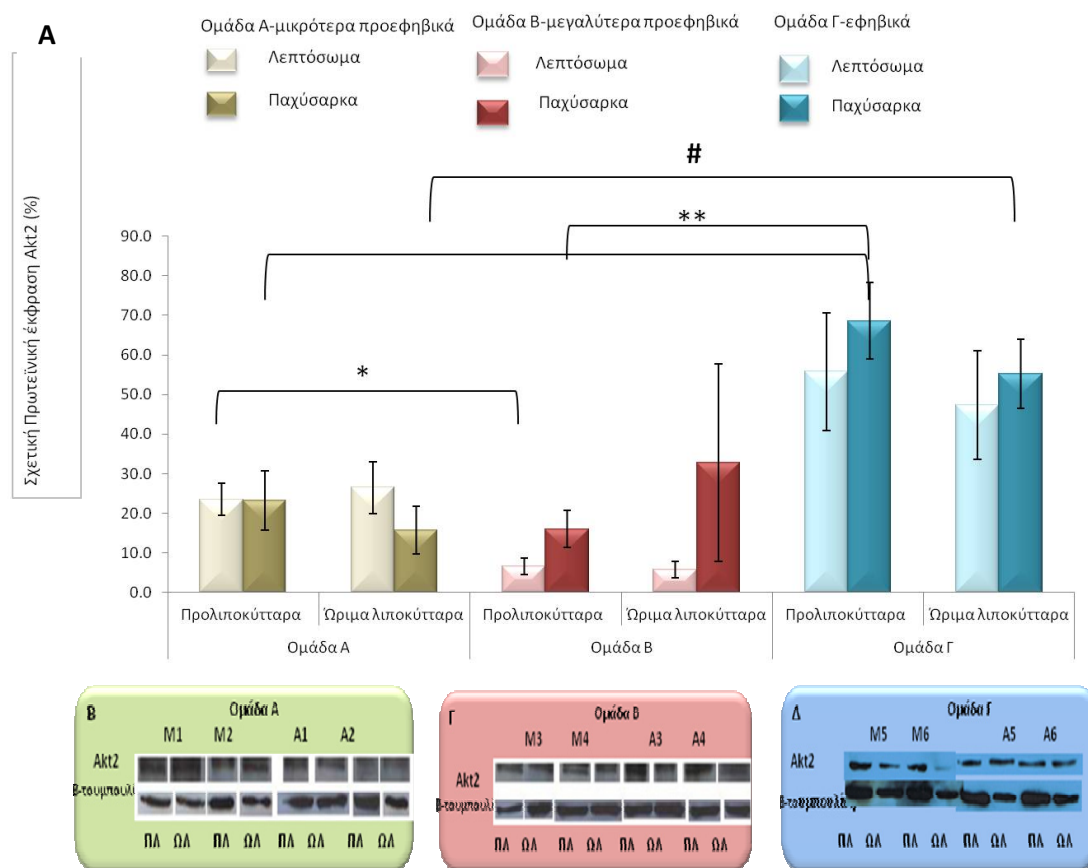
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του Akt στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 13).**



Σχήμα 13: Γονιδιακή έκφραση του Akt και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A,B,Γ & Δ)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πρωτεϊνική έκφραση του Akt2

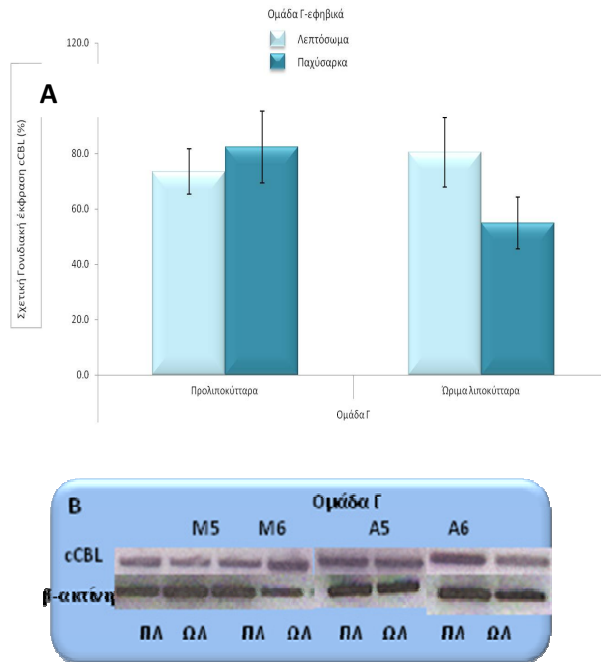
Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του Akt στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έδειξε: α) σημαντική μείωση στα προλιποκύτταρα των λεπτόσωμων μεγαλύτερων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Β σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α ($*p=0,024$), β) σημαντική αύξηση στα προλιποκύτταρα των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προεφηβικά παιδιά και των δύο ηλικιακών ομάδων (Ομάδα Α & Β) ($**p<0,035$) και γ) σημαντική αύξηση στα ώριμα λιποκύτταρα των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της Ομάδας Γ σε σύγκριση με τα παχύσαρκα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α ($\#p=0,041$) (**Σχήμα 14**).



Σχήμα 14: Πρωτεϊνική έκφραση του Akt και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**Α, Β, Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**Α**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI έδειξε ότι το Akt είναι (α) μειωμένο στα ΠΛ των λεπτόσωμων μεγαλύτερων προεφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά ($*p=0,024$), (β) αυξημένο στα ΠΛ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα παχύσαρκα προεφηβικά και των δύο ηλικιακών ομάδων ($**p<0,035$) και (γ) αυξημένο στα ΩΛ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών σε σύγκριση με τα μικρότερα προεφηβικά παιδιά ($\#p=0,041$).

7.2.2.4 Γονιδιακή έκφραση cBL

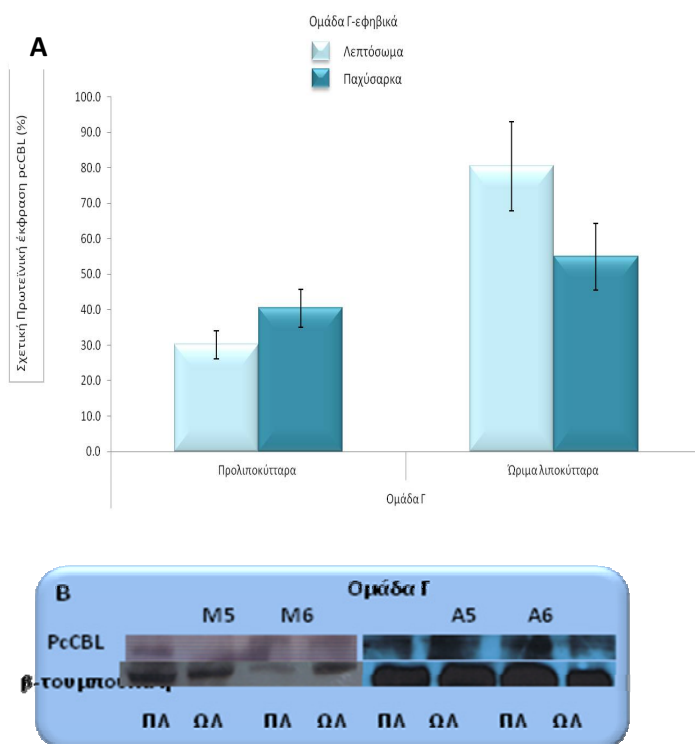
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του cBL στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 15).**



Σχήμα 15: Γονιδιακή έκφραση του cBL και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A & B)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.2.5 Πρωτεϊνική έκφραση φωσφορυλιωμένου cBCL

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του φωσφορυλιωμένου cBCL (pcCBL) στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασης της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 16).**

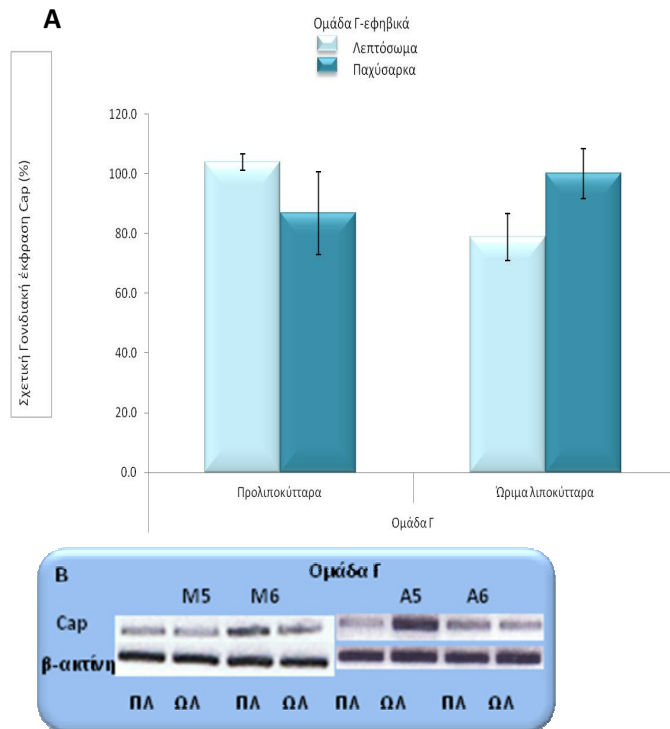


Σχήμα 16: Πρωτεϊνική έκφραση του cBCL και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A & B)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.2.6 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση Car

Γονιδιακή έκφραση του Car

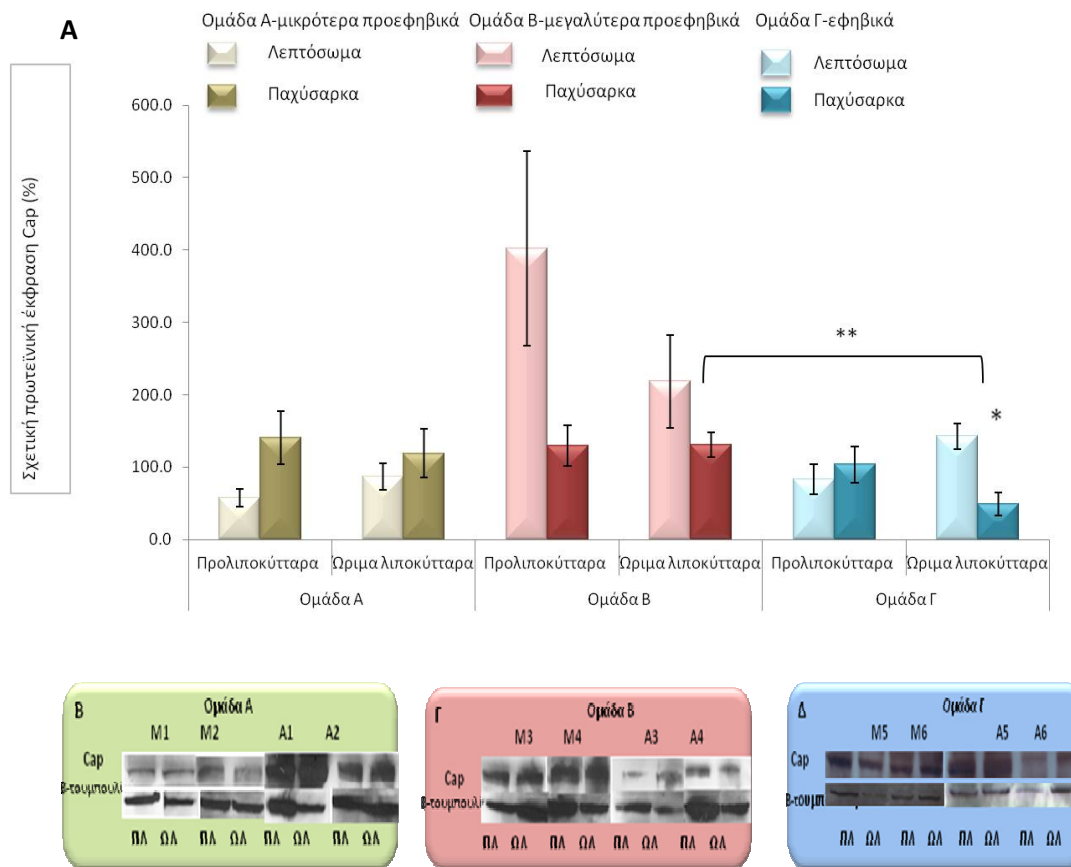
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του Car στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 17)**.



Σχήμα 17: Γονιδιακή έκφραση του Car και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(A & B)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(A)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

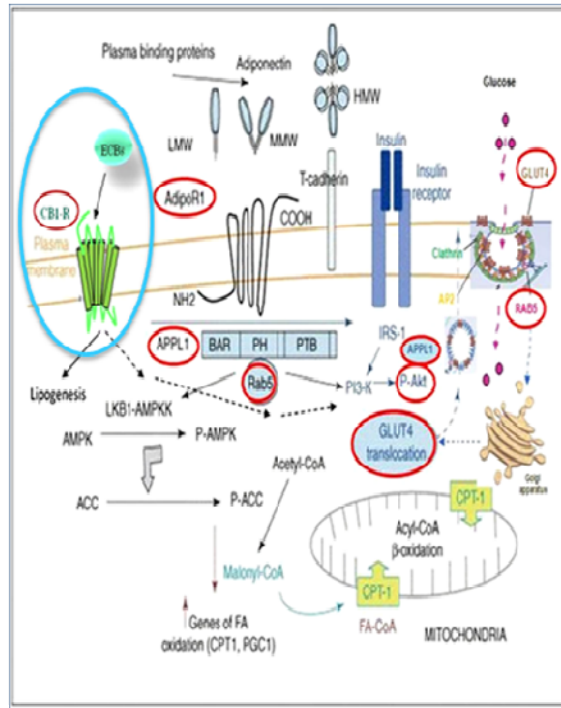
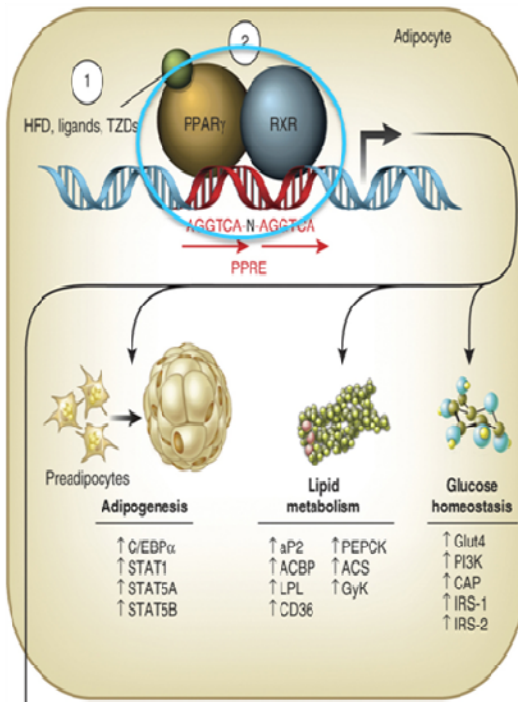
Πρωτεϊνική έκφραση του Car

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του Car στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έδειξε : α) σημαντική μείωση στα ώριμα λιποκύτταρα των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους (* $p=0,038$) και β) τάση μείωσης στα ώριμα λιποκύτταρα των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά (** $p=0,057$) (**Σχήμα 18**).



Σχήμα 18: Πρωτεϊνική έκφραση του Car και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A,B,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI έδειξε ότι, σε πρωτεϊνικό επίπεδο το Car : (α) είναι μειωμένο στα ΩΛ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους (* $p=0,038$) και (β) τείνει να μειωθεί στα ΩΛ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών σε σχέση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά (** $p=0,057$).

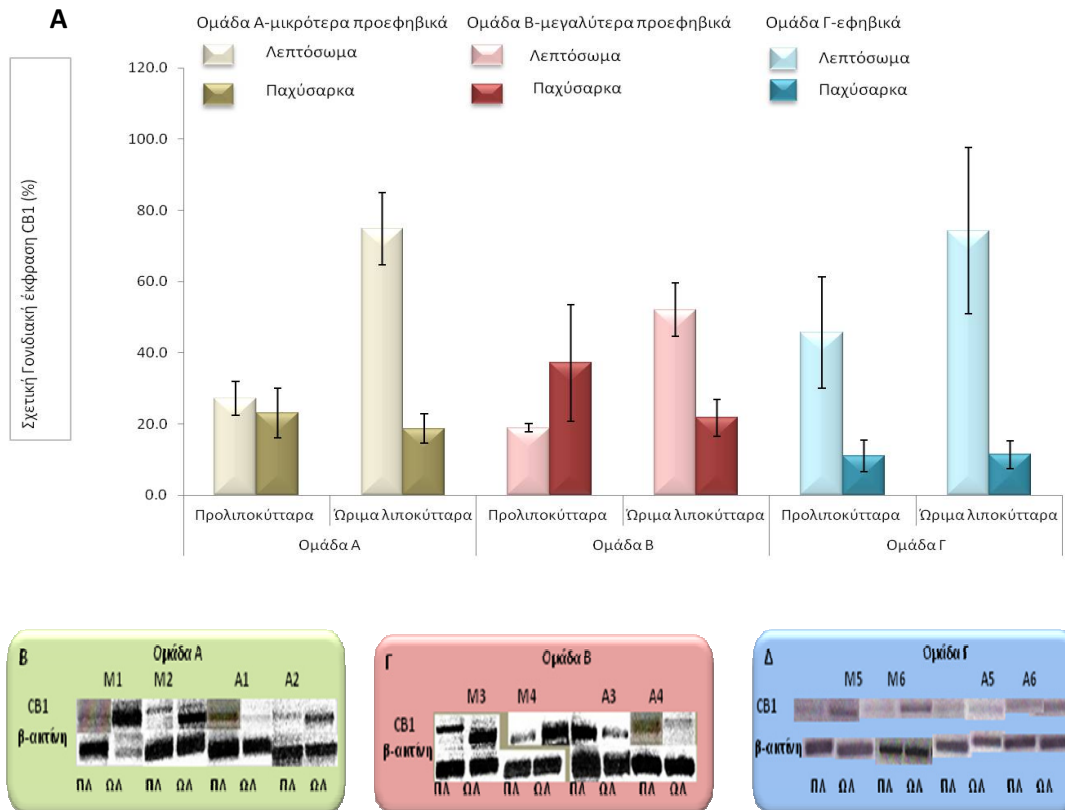
7.2.3 Μέρος Γ - Μόρια που συμμετέχουν στο ενεργειακό ισοζύγιο



7.2.3.1 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση CB1

Γονιδιακή έκφραση του CB1

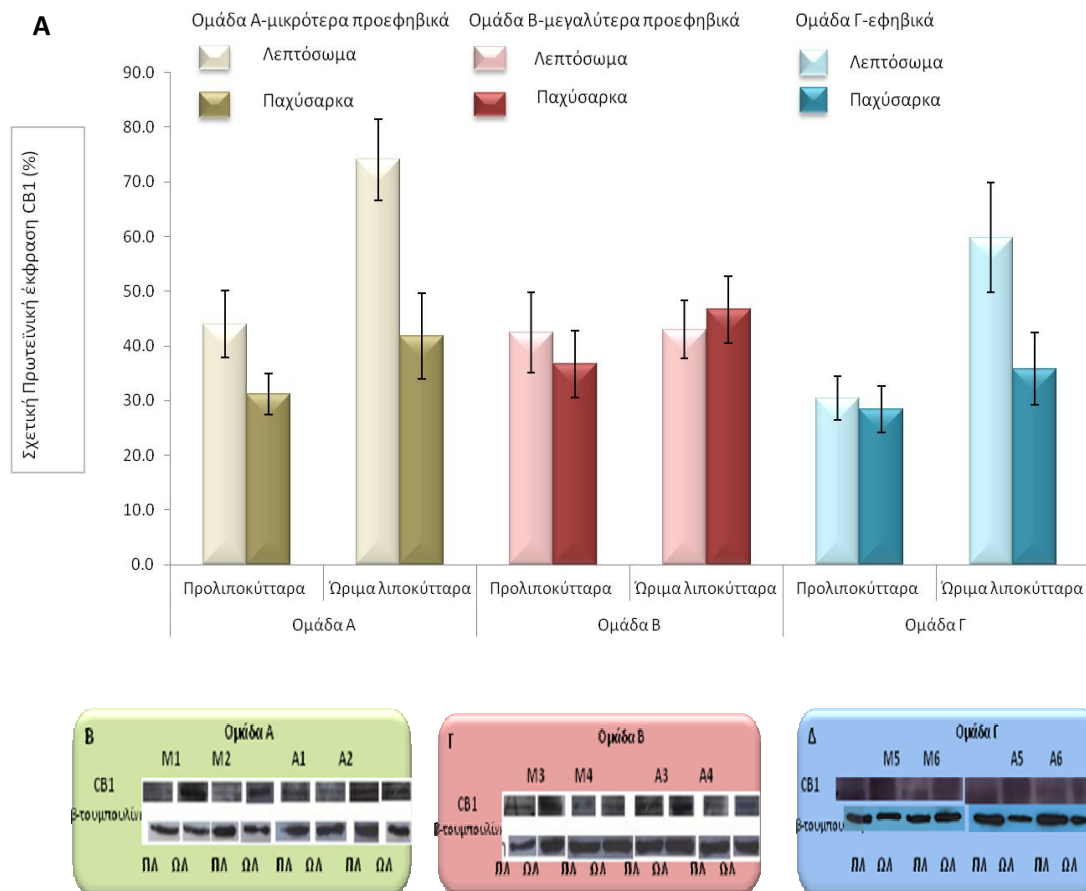
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του CB1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. **(Σχήμα 19).**



Σχήμα 19: Γονιδιακή έκφραση του CB1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR **(Α, Β, Γ & Δ)**. Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. **(Α)** Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πρωτεϊνική έκφραση του CB1

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του CB1 στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (**Σχήμα 20**).

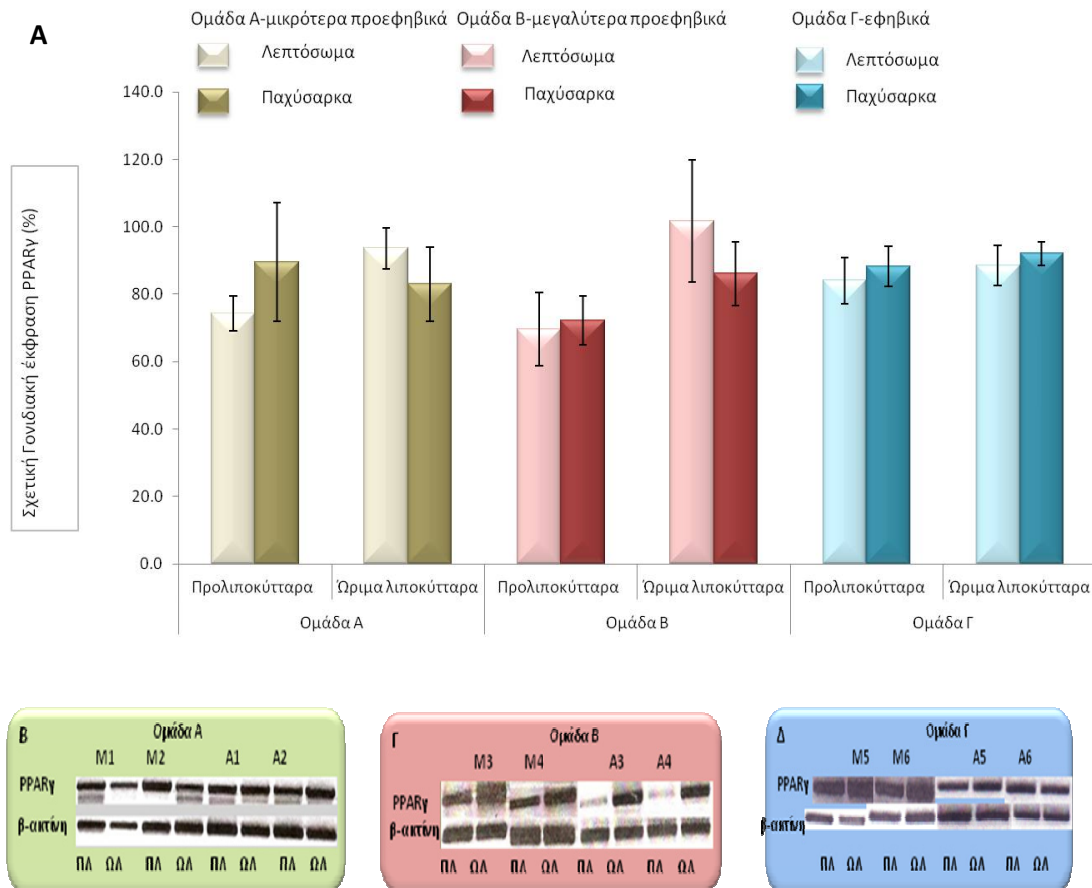


Σχήμα 20: Πρωτεϊνική έκφραση του CB1 και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A,B,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.3.2 Γονιδιακή & πρωτεϊνική έκφραση PPAR γ

Γονιδιακή έκφραση του PPAR γ

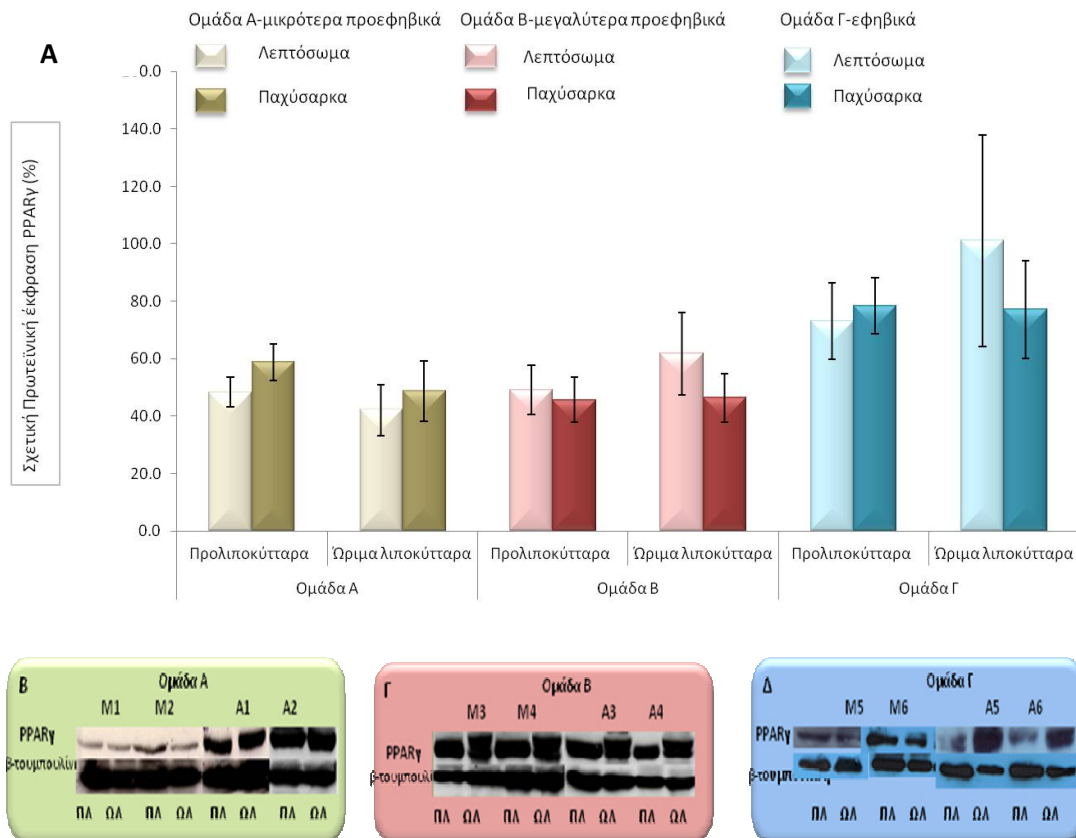
Μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του PPAR γ στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. (Σχήμα 21).



Σχήμα 21: Γονιδιακή έκφραση του PPAR γ και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με RT-PCR (**A,B,Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της RT-PCR σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της RT-PCR δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πρωτεϊνική έκφραση του PPAR γ

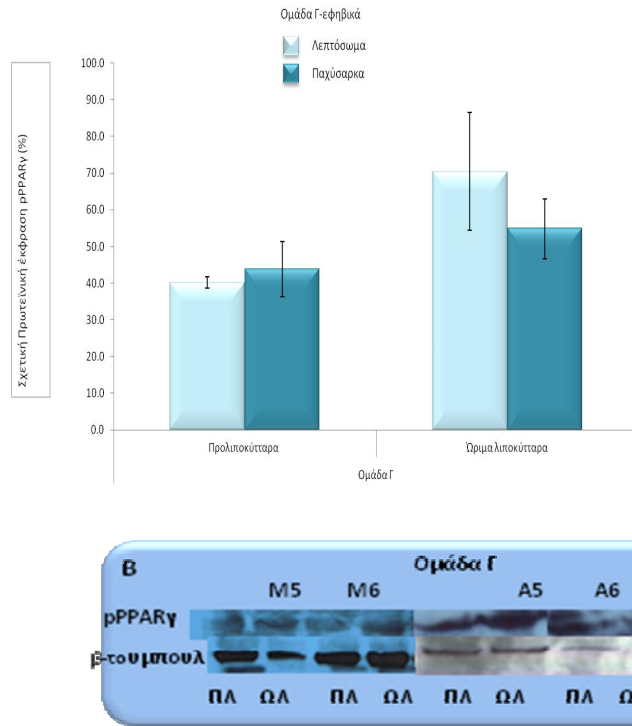
Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του PPAR γ στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής του με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Σχήμα 22).



Σχήμα 22: Πρωτεϊνική έκφραση του PPAR γ και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A, B, Γ & Δ**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M1 και M2) και δύο παχύσαρκα (A1 και A2) παιδιά της ομάδας Α, σε δύο λεπτόσωμα (M3 και M4) και δύο παχύσαρκα (A3 και A4) παιδιά της ομάδας Β και σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.2.3.3 Πρωτεϊνική έκφραση φωσφορυλιωμένου PPAR γ

Μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση του φωσφορυλιωμένου PPAR γ (pPPAR γ) στα λεπτόσωμα και παχύσαρκα εφηβικά παιδιά. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασής της με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (**Σχήμα 20**).



Σχήμα 20: Πρωτεϊνική έκφραση του pPPAR γ και διαφορές μεταξύ λεπτόσωμων και παχύσαρκων εφηβικών παιδιών με ανοσοαποτύπωση κατά Western (WI) (**A & B**). Αντιπροσωπευτικές ζώνες της WI σε δύο λεπτόσωμα (M5 και M6) και δύο παχύσαρκα (A5 και A6) παιδιά της ομάδας Γ. (**A**) Η ποσοτικοποίηση με μέτρηση πυκνότητας της WI δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7.3 Συσχετίσεις των κλινικών χαρακτηριστικών των μορίων

Όσον αφορά το μονοπάτι της αντιγονεκτίνης και τα κλινικά χαρακτηριστικά των λεπτόσωμων παιδιών, η πρωτεϊνική έκφραση της αντιγονεκτίνης και του AdipoR1 δεν ανέδειξε καμία συσχέτιση. Ωστόσο η πρωτεϊνική έκφραση της APPL1 παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση επίσης με την LDL ($r=-0,367$, $p=0,050$) αλλά και την ολική χοληστερόλη ($r=-0,442$, $p=0,016$) και θετική συσχέτιση με το BMI SDS ($r=0,469$, $p=0,012$) και την περίμετρο κοιλίας ($r=0,611$, $p=0,000$). Παρομοίως η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 στα λεπτόσωμα παιδιά συσχετίστηκε θετικά με το BMI SDS ($r=0,498$, $p=0,026$) και την περίμετρο κοιλίας ($r=0,623$, $p=0,003$) αλλά επιπλέον και με τα επίπεδα στον ορό της ινσουλίνης ($r=0,601$, $p=0,006$) και τον δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR ($r=0,619$, $p=0,005$).

Επιπρόσθετα η πρωτεϊνική έκφραση του CAP συσχετίστηκε θετικά με την HDL ($r=0,503$, $p=0,020$). Επιπλέον η έκφραση του PPAR- γ έδειξε θετική συσχέτιση με το BMI SDS ($r=0,399$, $p=0,029$), με τη φωσφορυλιωμένη ισομορφή του να σχετίζεται αρνητικά με την ινσουλίνη ($r=-0,806$, $p=0,29$) και το δείκτη HOMA-IR ($r=0,829$, $p=0,041$). Τέλος η φωσφορυλιωμένη ισομορφή του c-CBL συσχετίστηκε αρνητικά με την περίμετρο μέσης (%) ($r=-0,885$, $p=0,046$).

Τα μονοπάτια αυτά στα παχύσαρκα παιδιά έδειξαν μία αρνητική σχέση της πρωτεϊνικής έκφρασης της αντιγονεκτίνης με την LDL ($r=-0,571$, $p=0,026$), την οποία παρουσίασε και η πρωτεϊνική έκφραση του AdipoR1 υποδοχέα ($r=-0,619$, $p=0,001$) και αντίστοιχα αρνητική συσχέτιση και με την ολική χοληστερόλη ($r=-0,476$, $p=0,011$). Επίσης τα παχύσαρκα παιδιά έδειξαν μία θετική συσχέτιση της πρωτεϊνικής έκφρασης της akt2 με την περίμετρο κοιλίας ($r=0,518$, $p=0,028$) και αρνητική με την LDL ($r=-0,512$, $p=0,043$) και την ολική χοληστερόλη ($r=-0,602$, $p=0,011$). Επιπλέον η πρωτεϊνική έκφραση του GLUT4 έδειξε θετική σχέση με το BMI SDS ($r=0,451$, $p=0,046$) και αυτή του CB1 αρνητική με την ολική χοληστερόλη ($r=-0,378$, $p=0,047$). Τέλος η βασική μορφή του PPAR- γ συσχετίστηκε αρνητικά στα παχύσαρκα παιδιά με την LDL ($r=-0,520$, $p=0,011$) και η φωσφορυλιωμένη ισομορφή του με την ολική χοληστερόλη ($r=-0,917$, $p=0,010$).

7.4 Συσχετίσεις της πρωτεϊνικής έκφρασης των μορίων

Στα λεπτόσωμα παιδιά, η πρωτεϊνική έκφραση της αντιπονεκτίνης συσχετίσθηκε θετικά με τη γονιδιακή έκφραση του cCBL ($r=0,096$, $p=0,004$) και αρνητικά με τη γονιδιακή έκφραση της Akt2 ($r=-0,527$, $p=0,043$). Ενώ η πρωτεϊνική έκφραση του υποδοχέα AdipoR1 έδειξε μία οριακά θετική συσχέτιση με την πρωτεϊνική έκφραση του υποδοχέα Glut4 ($r=0,431$, $p=0,051$) και του CB1 ($r=0,063$, $p=0,053$). Επιπλέον η πρωτεϊνική έκφραση του APPL-1 συσχετίσθηκε θετικά με την πρωτεϊνική έκφραση της Akt2 ($r=0,773$, $p=0,000$) και αρνητικά με τη γονιδιακή έκφραση του cCBL ($r=-0,928$, $p=0,023$). Επίσης η πρωτεϊνική έκφραση της Akt2 συσχετίσθηκε θετικά με την πρωτεϊνική έκφραση του CB1 ($r=0,527$, $p=0,021$).

Η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 στα λεπτόσωμα παιδιά έδειξε αρνητική συσχέτιση τόσο με την υψηλού μοριακού βάρους αντιπονεκτίνη ($r=-0,647$, $p=0,003$), όσο και με τη γονιδιακή έκφραση της Akt2 ($r=-0,659$, $p=0,020$) και του υποδοχέα Glut4 ($r=-0,606$, $p=0,028$). Η πρωτεϊνική έκφραση του Glut4 συσχετίζεται θετικά με την πρωτεϊνική έκφραση του Cb1 ($r=0,496$, $p=0,005$) και αρνητικά με τη γονιδιακή έκφραση της Akt2 ($r=-0,469$, $p=0,021$).

Στα παχύσαρκα παιδιά αντίστοιχα η πρωτεϊνική έκφραση της αντιπονεκτίνης παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με την πρωτεϊνική έκφραση του APPL1 ($r=-0,688$, $p=0,019$), ενώ η πρωτεϊνική έκφραση του υποδοχέα της AdipoR1 συσχετίσθηκε θετικά με την πρωτεϊνική έκφραση των APPL-1 ($r=0,553$, $p=0,014$), Glut4 ($r=0,490$, $p=0,033$), PPAR- γ ($r=0,517$, $p=0,010$) και CB1 ($r=0,405$, $p=0,04$). Επιπλέον η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 έδειξε αρνητική συσχέτιση με τη φωσφορυλιωμένη μορφή του cCBL ($r=-0,951$, $p=0,049$) και με τη γονιδιακή έκφραση του cCBL ($r=-0,853$, $p=0,015$) και του PPAR γ ($r=-0,576$, $p=0,031$).

Η πρωτεϊνική έκφραση του Cap έδειξε θετική συσχέτιση με τη γονιδιακή έκφραση του Glut4 ($r=0,651$, $p=0,041$) και του CB1 ($r=0,877$, $p=0,010$) και αρνητική συσχέτιση τόσο με τη γονιδιακή έκφραση του c-CBL ($r=-0,860$, $p=0,028$) όσο και με την πρωτεϊνική έκφραση του PPAR γ ($r=-0,599$, $p=0,011$). Επιπρόσθετα η πρωτεϊνική έκφραση του GLUT4 έδειξε θετική σχέση με τη γονιδιακή έκφραση του cCBL ($r=0,793$, $p=0,019$) και αυτή του CB1 με τη γονιδιακή έκφραση του Akt2 ($r=0,607$, $p=0,008$). Η πρωτεϊνική έκφραση του PPAR- γ έδειξε αρνητική συσχέτιση με τη γονιδιακή έκφραση του cCBL ($r=0,758$, $p=0,018$), με τη φωσφορυλιωμένη ισομορφή του να παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την πρωτεϊνική έκφραση του CB1 ($r=0,886$, $p=0,019$).

8.ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

8.1 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας παγκοσμίως (Miller, Rosenbloom, & Silverstein, 2004). Πρόκειται για ένα σημαντικό παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης διαταραγμένης ανοχής στη γλυκόζη, αντίσταση στην ινσουλίνη, σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και δυσλιπιδαιμίας/καρδιαγγειακών προβλημάτων ακόμα και κατά την περίοδο της εφηβείας.

Η μελέτη αυτή προσφέρει καινούριες πληροφορίες για την έκφραση των μορίων αντιγονεκτίνη, AdipoR1, APPL-1, Akt-2, Rab5, c-CBL, CAP, Glut4, CB1 και PPAR- γ σε λεπτόσωμα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά και των διαφορών που παρουσίασαν στην έκφρασή τους σε σχέση με τα αντίστοιχα παχύσαρκά τους.

Η Αντιγονεκτίνη (Adiponectin) είναι μία πρωτεϊνική ορμόνη που παράγεται στο λιπώδη ιστό και συμμετέχει κυρίως στη ρύθμιση των επιπέδων της γλυκόζης και στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων. Αποτελεί μία σημαντική αντιποκίνη, η οποία ασκεί πολλά ευεργετικά αποτελέσματα σε ποικίλους ιστούς, μία διαδικασία που συνδέεται στενά με τον πολυμερισμό της (Lin & Li, 2011). Ειδικότερα, ελαττώνει τη γλυκονεογένεση, αυξάνει την πρόσληψη και χρησιμοποίηση γλυκόζης στους σκελετικούς μύες, αυξάνει τον καταβολισμό των λιπαρών οξέων μέσω της β οξειδωσης καθώς και την κάθαρση των τριγλυκεριδίων και αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Yamauchi et al., 2002). Ελαττωμένη συγκέντρωση αντιγονεκτίνης στην κυκλοφορία έχει συσχετιστεί με ανάπτυξη μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος και αυξημένο κίνδυνο ΣΔ τύπου 2 (Fang & Sweeney, 2006). Επιπλέον υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η αντιγονεκτίνη ασκεί καρδιοπροστατευτική δράση δεδομένου ότι έχει ευνοϊκή επίδραση τόσο στις διαδικασίες που σχετίζονται με την καρδιακή ανακατασκευή όσο και στα αγγεία (Otsuka et al., 2006). Τέλος υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι τα επίπεδα της αντιγονεκτίνης στην κυκλοφορία παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με τον κίνδυνο εμφάνισης κακοηθειών που σχετίζονται με την παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη όπως τον καρκίνο του ενδομητρίου, του μαστού, του προστάτη, του παχέος εντέρου, του στομάχου και τη λευχαιμία (Wolk et al., 2001).

Στο λιπώδη ιστό η αντιγονεκτίνη, σε συνδυασμό με τον υποδοχέα της AdipoR1, συγκροτεί ένα σύστημα το οποίο σχετίζεται με σημαντικές συνοσηρότητες της παχυσαρκίας όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, η δυσλιπιδαιμία και η καρδιαγγειακή νόσος (Heiker, Kosel, & Beck-Sickingler). Το APPL1, η πρωτεΐνη προσαρμογέας, αποτελεί ένα από τα ενδοκυττάρια συστατικά στο αμινοτελικό άκρο του AdipoR1 και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο διαμεσολαβώντας στην ινσουλίνο-ευαισθητοποιό δράσης της αντιγονεκτίνης στους μύες (Mao et al., 2006) και τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Cheng

et al., 2007). Μελέτες στους ενήλικες έχουν δείξει ότι το APPL1 έχει άμεση επίδραση στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης στα κύτταρα. Αποτυχία του APPL1 να συνδεθεί επαρκώς στους υποδοχείς AdipoRs, βλάπτει την επαγόμενη από την αντιπνεκτίνη μετατόπιση του Glut4 στην πλασματική μεμβράνη και την επακόλουθη πρόσληψη της γλυκόζης από το λιποκύτταρο (Buechler, Wanninger, & Neumeier, 2010). Η καταστολή του APPL1 από ανεπαρκή RNAi ινσουλίνη, είχε ως αποτέλεσμα τη διέγερση και ενεργοποίηση της Akt και επιπλέον τη μετατόπιση του GLUT4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη στα μυϊκά κύτταρα L6 και τα λιποκύτταρα 3T3-L1 (Saito et al., 2007). Επιπλέον, η υπερέκφραση του APPL1 σε ήπαρ ποντικού αναστέλλει την ινσουλινο-διαμεσολαβούμενη παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ και ανακουφίζει το διαβήτη, ενώ καταστολή της έκφρασης APPL1 σε ήπαρ ποντικού οδηγεί σε δυσανεξία στη γλυκόζη (Cheng et al., 2009).

Στην παρούσα μελέτη, η πρωτεϊνική έκφραση της αντιπνεκτίνης, του υποδοχέα της AdipoR1 και της πρωτεΐνης προσαρμογέα APPL1 δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των λεπτόσωμων και παχύσαρκων παιδιών που μελετήθηκαν. Μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ενήλικες παχύσαρκους έχουν δείξει ότι η αντιπνεκτίνη και κατά συνέπεια ο υποδοχέας της AdipoR1 μειώνεται σε περιπτώσεις ινσουλινοαντίστασης, διαβήτη και αθηροσκλήρυνσης (J. Kawano & Aoga, 2009). Το γεγονός ότι στα παιδιά, ακόμα και σε αυτά που διανύουν την εφηβεία δεν μεταβάλλεται η έκφραση αυτών των μορίων, πιθανόν να αντικατοπτρίζει την σημαντικότητα τους κατά την ανάπτυξη της παιδικής ηλικίας και την ανάγκη του οργανισμού να προσαρμοστεί κατά την παχυσαρκία.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η θετική συσχέτιση του APPL1 με το BMI SDS καθώς και με την περίμετρο κοιλιάς. Ίδιες συσχετίσεις με το APPL1 παρουσιάζει και η Akt, γεγονός που αντικατοπτρίζεται και στη θετική τους συσχέτιση στην πρωτεϊνική έκφρασή τους.

Πολλαπλά δεδομένα υποδηλώνουν ότι το APPL1 θα μπορούσε να λειτουργήσει ως πλατφόρμα ενορχήστρωσης πολλαπλών οδών σηματοδότησης (Deera & Dong, 2009). Τα επίπεδα της αντιπνεκτίνης και του APPL-1 ρυθμίζουν το ποσό της ενέργειας που δαπανάται στο λιπώδη ιστό (Heiker et al., 2010). Ενεργώντας ως πρωτεΐνη-προσδέτης, το APPL1 διευκολύνει τη μετατόπιση του LKB1 από τον πυρήνα στο κυτοσόλιο, όπου φωσφορυλιώνει την AMP-stimulated protein kinase (AMPK) σε απάντηση στη διέγερση της αντιπνεκτίνης (Fang et al., 2010). Το APPL1, μετά από τη σηματοδότηση της αντιπνεκτίνης, μεσολαβεί επίσης στην ενεργοποίηση της p38 mitogen-activated-protein kinase (MAPK), σχηματίζοντας το σύμπλοκο TAK1 / MKK3 /p38 MAPK (Xin, Zhou, Reyes, Liu, & Dong, 2010). Αλληλεπιδρώντας με τον TRB3, έναν ενδογενή αναστολέα της Akt,

έχει δειχθεί ότι το APPL1 ενισχύει τη δραστηριότητα της Akt, που διεγείρεται από την ινσουλίνη (Cheng et al., 2009).

Η AMPK αποτελεί τον κύριο αισθητήρα της κυτταρικής ενεργειακής κατάστασης (Hardie, 2007), και η ενεργοποίηση της AMPK διαμέσου της αντιπνεκτίνης στους σκελετικούς μυς αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης, την οξείδωση των λιπαρών οξέων, και την παραγωγή γαλακτικού (Yamauchi et al., 2002). Η p38 MAPK, η οποία ενεργοποιείται από μια ποικιλία εξωκυτταρικών ερεθισμάτων, όπως το μεταβολικό στρες, ρυθμίζει διάφορες κυτταρικές διαδικασίες, όπως η φλεγμονή, η κυτταρική διαφοροποίηση και ανάπτυξη και η απόπτωση των κυττάρων (Ono & Han, 2000). Στα C₂C₁₂ μυοκύτταρα, η διαμεσολαβούμενη από την αντιπνεκτίνη οξείδωση των λιπαρών οξέων και η πρόσληψη της γλυκόζης δεν γίνεται αποκλειστικά και μόνο με την ενεργοποίηση της AMPK, αλλά και με την ενεργοποίηση της MAPK p38 (Yamauchi et al., 2003).

Επιπλέον έχει αποδειχτεί ότι η μετατόπιση του GLUT4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, που ενεργοποιείται από την αντιπνεκτίνη πραγματοποιείται εν μέρει μέσω ενεργοποίησης των AMPK και p38 MAPK, ενώ το υπόλοιπο πραγματοποιείται μέσω της μικρής Rab5 GTPάσης. Η Αντιπνεκτίνη ενεργοποιεί την αλληλεπίδραση μεταξύ του APPL1 και του Rab5, ενώ η παρεμπόδιση αυτής της αλληλεπίδρασης, έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της μετακίνησης του GLUT4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, μετά από τη σηματοδότηση της αντιπνεκτίνης (Mao et al., 2006). Η ενεργοποίηση της MAPK p38 από την αντιπνεκτίνη αναστέλλεται από την υπερέκφραση των κυρίαρχων αρνητικών Rab5, υποδεικνύοντας ότι η ενεργοποίηση της p38 MAPK από την αντιπνεκτίνη πραγματοποιείται εν μέρει μέσω της σύνδεσης APPL1-Rab5 (Mao et al., 2006).

Όσον αφορά τη GTPάση Rab5, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του Rab5 στα ώριμα λιποκύτταρα των νεότερων παχύσαρκων παιδιών της ομάδας A σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα τους, σε μία ίσως πιθανή προσπάθεια διατήρησης της ομαλής σηματοδότησης σε αυτή την τόσο ευαίσθητη ηλικία. Επιπλέον τάση αύξησης παρουσιάζουν και τα παχύσαρκα παιδιά της ομάδας B, ενώ στα εφηβικά παιδιά βλέπουμε ότι η έκφραση του μορίου αυξάνεται σημαντικά στα λεπτόσωμα όταν αυτά συγκριθούν με τα επίπεδα των λεπτόσωμων προεφηβικών παιδιών της ομάδας A και B. Επίσης η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 συσχετίσθηκε θετικά με το BMI SDS και την περίμετρο κοιλιάς, αλλά και με τα επίπεδα της ινσουλίνης. Οπότε η αύξηση αυτή μπορεί να εξυπηρετεί θετικά τη «φυσιολογική» αντίσταση στην ινσουλίνη που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η φυσιολογική αντίσταση στην ινσουλίνη της εφηβείας συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης (Hannon et al., 2006) και

από αυξημένη πρωτεόλυση και πρωτεϊνική οξειδωση (Arslanian & Kalhan, 1996), σε συνάφεια με αυξημένη εναπόθεση λίπους, η οποία είναι απαραίτητη για την αυξημένη σωματική ανάπτυξη κατά τη διάρκεια της εφηβείας (Roemmich & Rogol, 1999). Για τους παραπάνω λόγους η αύξηση ενός μορίου διαμεσολαβητή, όπως το Rab5 μπορεί να βοηθά την διατήρηση της ινσουλινο-ευαισθησίας/αντίστασης εντός «φυσιολογικών» για την εφηβεία επιπέδων εξυπηρετώντας την ομαλή ενδοκυττάρια σηματοδότηση και μετατόπιση του GLUT4.

Επιπρόσθετα η πρωτεϊνική κινάση B / Akt αποτελεί μία πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης, της οποίας η σηματοδότηση παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και το μεταβολισμό του κυττάρου (Manning & Cantley, 2007). Η Akt αποτελεί ένα από τα κρίσιμα μόρια στην οδό σηματοδότησης ινσουλίνης, και η ενεργοποίηση της ρυθμίζει το μεταβολισμό της γλυκόζης στους ινσουλινοευαίσθητους ιστούς (Cho et al., 2001; Jiang et al., 2003). Είναι σαφές ότι η σηματοδότηση της Akt διαδραματίζει έναν κεντρικό ρόλο στην ινσουλινοεπαγόμενη πρόσληψη γλυκόζης στους μυς και το λιπώδη ιστό, ενώ αναστέλλει την απελευθέρωση γλυκόζης από ηπατοκύτταρα. Το αποτέλεσμα της δράσης της ινσουλίνης και η επακόλουθη πρόσληψη της γλυκόζης στους περιφερικούς ιστούς επιτυγχάνεται μέσω της ενεργοποίησης του συμπλόκου Akt / PKB και της ικανότητάς του να μετατοπίζει τον υποδοχέα GLUT4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, διευκολύνοντας έτσι την πρόσληψη γλυκόζης. Η σύνδεση της ινσουλίνης στους πρωτεϊνικούς υποδοχείς της επιφανείας του κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα την επακόλουθη φωσφορυλίωση της τυροσίνης και την ενεργοποίηση της phosphatidylinositol 3-kinase /PI3 κινάσης, που οδηγεί στην ενεργοποίηση του συμπλόκου Akt / PKB (Mora, Komander, van Aalten, & Alessi, 2004). Κατά την ενεργοποίηση του Akt / PKB φωσφορυλιώνεται η AS160, οδηγώντας στη μείωση της δραστηριότητας των Rab-GAP και τη μετακίνηση του GLUT-4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη που έχει ως τελικό αποτέλεσμα την πρόσληψη γλυκόζης (K. F. Howlett, Sakamoto, Garnham, Cameron-Smith, & Hargreaves, 2007; Kohn, Summers, Birnbaum, & Roth, 1996).

Η παρατηρούμενη αύξηση των πρωτεϊνικών επιπέδων της πρωτεϊνικής κινάσης B (Akt) στα εφηβικά παχύσαρκα παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά της ομάδας Α και Β φαίνεται να συμβάλει περαιτέρω στη διατήρηση της ινσουλινοευαισθησίας κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Όπως έχει αναφερθεί η Akt διαμεσολαβεί στις μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης και διεγείρει τη πρόσληψη της γλυκόζης. Η αύξηση των επιπέδων της Akt στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά πιθανά να αποτελεί έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη που προκαλείται τόσο στην

εφηβεία, όσο και στην παχυσαρκία και προδιαθέτει για την ανάπτυξη υπερτροφικών λιποκυττάρων και δυσλιπιδαιμίας.

Ενώ η οδός PI3K είναι απαραίτητη για την πρόσληψη της γλυκόζης που διεγείρεται από την ινσουλίνη, αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτό το μονοπάτι από μόνο του είναι ανεπαρκές για την πρόσληψη της γλυκόζης. Ένα δεύτερο μονοπάτι σηματοδότησης της ινσουλίνης που εμπλέκεται στην μεταφορά γλυκόζης στο κύτταρο είναι το μονοπάτι Cbl / TC10. Η πρόσδεση της ινσουλίνης στον υποδοχέα της έχει ως αποτέλεσμα την αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα της και την επακόλουθη φωσφορυλίωση του cCBL μέσω της πρωτεΐνης προσαρμογέα APS. Η φωσφορυλίωση του cCBL συσχετίζεται με την έκφραση της Cbl-associated protein (CAP). Η CAP αλληλεπιδρά με το cCbl μέσω του C-terminal SH3 τομέα (Kimura, Baumann, Chiang, & Saltiel, 2001; Ribon, Printen, Hoffman, Kay, & Saltiel, 1998). Μετά τη φωσφορυλίωση το σύμπλοκο CAP/cCbl μεταναστεύει προς τις πλούσιες σε καβεολίνη σχεδίες λιπιδίων (Baumann et al., 2000; Kimura et al., 2001). Αυτό οδηγεί στη δημιουργία του συμπλόκου Crk / C3G σε αυτή τη μικροπεριοχή της πλασματικής μεμβράνης και την ενεργοποίηση της μικρής G πρωτεΐνης TC10 (Chiang et al., 2001). Τόσο η μετατόπιση του συμπλόκου CAP / cCbl, όσο και η ενεργοποίηση της TC10 έχει αποδειχθεί ότι λειτουργούν ανεξάρτητα από το μονοπάτι της PI 3-κινάσης και, το πιο σημαντικό, φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας για την ινσουλινοεπαγόμενη μεταφορά του GLUT4 (Baumann et al., 2000; Chiang et al., 2001).

Πιθανόν και για τους παραπάνω λόγους να μην παρατηρήθηκε καμία στατιστική διαφορά στα επίπεδα του cCBL και του φωσφορυλιωμένου cCBL μεταξύ των παχύσαρκων και λεπτόσωμων παιδιών της κάθε ηλικιακής ομάδας. Αξιοσημείωτη όμως είναι η μειωμένη πρωτεϊνική έκφραση της Cap στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα τους, παραθέτοντας τις μεταβολές που μπορεί να προκαλέσει η παχυσαρκία στους λεπτούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς της σηματοδότησης της ινσουλίνης. Μία τέτοια μείωση πιθανόν να αποτελεί έναν επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης παθολογικής αντίστασης στην ινσουλίνη και ΣΔII κατά την εφηβεία σε έναν ήδη επιβαρυσμένο οργανισμό. Επιπλέον παρατηρείται μείωση των επιπέδων του Cap στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα μεγαλύτερα παχύσαρκα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Β, γεγονός που καταδεικνύει την προσπάθεια διατήρησης των επιπέδων Cap στην προεφηβεία. Η πιθανή ύπαρξη ενός αντιρροπιστικού προστατευτικού μηχανισμού ενάντια στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη στην νεαρή ηλικία των μεγαλύτερων προεφηβικών παχύσαρκων παιδιών φαίνεται όμως να «καταργείται» κατά τη διάρκεια τη εφηβείας και μπορεί να αποτελεί έναν επιπλέον επιβαρυντικό παράγοντα για την ανάπτυξη σακχαρώδη

διαβήτη τύπου II κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Ωστόσο, αν και παρατηρείται μείωση του Cap, το cCBL δε μεταβάλλεται, ούτε η βασική, ούτε η φωσφορυλιωμένη του μορφή. Οπότε η μείωση του Cap, παρ' όλη την αρνητική του συσχέτιση με το cCBL, φαίνεται να μην επηρεάζει τα πρωτεϊνικά επίπεδα αυτού και πιθανόν το τελικό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του cCBL.

Επιπρόσθετα, σημαντική φαίνεται να είναι η διατήρηση των επιπέδων του μεταφορέα της γλυκόζης τύπου 4 (Glut 4) που δε φαίνεται να παρουσίασε καμία στατιστική διαφορά στα παχύσαρκα και λεπτόσωμα παιδιά όλων των ηλικιακών ομάδων. Ο ινσουλινοεπαγώμενος μεταφορέας Glut4, παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην κατανομή της γλυκόζης στους περιφερικούς ιστούς. Μελέτες έχουν δείξει ότι η παχυσαρκία που οφείλεται σε δίαιτα υψηλών λιπαρών, οδηγεί σε καταστολή της έκφρασης του Glut4 στους σκελετικούς μύες (Kahn & Pedersen, 1993). Άλλες πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η γονιδιακή έκφραση του Glut4 στο λιπώδη ιστό είναι σημαντικά μειωμένη στους ασθενείς με ΣΔ II σε σύγκριση με τους υγιείς, ενώ δε διαπιστώθηκε τέτοια σημαντική διαφορά μεταξύ των παχύσαρκων και των λεπτόσωμων ασθενών. Οι αλλαγές που διαπιστώθηκαν στην έκφραση του Glut4 στο λιπώδη ιστό σχετίζονται περισσότερο με την ινσουλινοαντίσταση και το ΣΔ II, σε σύγκριση με την παχυσαρκία (Kouidhi et al., 2011). Η διατήρηση βέβαια των επιπέδων του Glut4 στα παιδιά της μελέτης δεν αποκλείει πιθανές μεταβολές στην μετατόπιση του στην πλασματική μεμβράνη και στην επακόλουθη πρόσληψη της γλυκόζης, αλλά πιθανόν αντικατοπτρίζει την δυναμικότητα του λιποκυττάρου να ανταποκριθεί θετικά και αντιρροπιστικά κατά της παχυσαρκίας στην παιδική ηλικία.

Προφανώς υπάρχουν προστατευτικοί μηχανισμοί ώστε η έκκριση της ινσουλίνης να ενεργοποιεί τις διαφορετικές οδούς και μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ομαλή μετακίνηση του Glut4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και την επαρκή πρόσληψη της γλυκόζης από το αίμα στο λιποκύτταρο.

Ένας ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας της ανάπτυξης και σηματοδότησης των λιποκυττάρων είναι και ο παράγοντας PPAR γ . Όπως έχει περιγραφεί ο PPAR γ είναι ένα μέλος των μεταγραφικών παραγόντων που ανήκει στην υποοικογένεια των PPARs και εκφράζεται κυρίως στο λιπώδη ιστό. Θεωρείται ότι είναι ένας θετικός ρυθμιστής της γονιδιακής έκφρασης αντιγονεκτίνης. Στοχευμένη διαγραφή του PPAR γ στο λιπώδη ιστό ποντικών οδηγεί σε αξιοσημείωτη υπερτροφία των λιποκυττάρων, αύξηση των επιπέδων των ελεύθερων λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα και σε μείωση των επιπέδων της αντιγονεκτίνης (He et al., 2003). Ο PPAR γ αυξάνει τα επίπεδα της αντιγονεκτίνης και την έκκριση της, διεγείροντας την έκφραση των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη συναρμολόγηση

και την έκκριση της αντιπνεκτίνης όπως οι Erol-La και DsbA-L. Η ενεργοποίηση του PPAR γ αυξάνει τα επίπεδα έκφρασης του Erol-La στα ώριμα λιποκύτταρα. Επιπλέον ο PPAR γ αυξάνει τα κυτταρικά επίπεδα του DsbA-L, που αποτελεί ένα πολυλειτουργικό παράγοντα που συμβάλει στον πολυμερισμό και την έκκριση της αντιπνεκτίνης (M. Liu et al., 2008; Qiang, Wang, & Farmer, 2007).

Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα (ECS) αποτελεί σύστημα σηματοδότησης, το οποίο διανέμεται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε περιφερικούς ιστούς, και εμπλέκεται σε φυσιολογικές διαδικασίες που σχετίζονται με την πρόσληψη τροφής και την ενεργειακή ομοιόσταση, κυρίως διαμέσου του υποδοχέα των κανναβινοειδών τύπου 1 (CB1). Κλινικές μελέτες και μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι ο αποκλεισμός του υποδοχέα CB1 έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια βάρους, βελτιώνει τους καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου και την αντίσταση στην ινσουλίνη και επιφέρει μεταβολικά οφέλη. Ως εκ τούτου, όλα αυτά τα στοιχεία, δίνουν έμφαση στο ενδεχόμενο ο αποκλεισμός του υποδοχέα CB1 να αποτελεί θεραπευτική στρατηγική για την παχυσαρκία.

Στους παχύσαρκους σε σχέση με τους λεπτόσωμους, έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα ενδοκανναβινοειδών στους περιφερειακούς ιστούς και το πλάσμα. Πρόσφατες κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η παχυσαρκία συνδέεται με αυξημένα επίπεδα 2-αραχιδονικής γλυκερόλης (2AG) στο σπλαχνικό λίπος, έναν ιστό που παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου, υποδεικνύοντας μία θετική συσχέτιση μεταξύ της συσσώρευσης σπλαχνικού λίπους και των κυκλοφορούντων επιπέδων 2AG. Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς με ΣΔ II έχουν αυξημένα επίπεδα ενδοκανναβινοειδών στο πλάσμα (Blüher et al., 2006; Matias et al., 2006). Ωστόσο, αυτές οι αυξήσεις των ενδοκανναβινοειδών έχουν διαπιστωθεί επίσης και σε άλλες διατροφικές διαταραχές, όπως η νευρική ανορεξία και η βουλιμία. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, τα αυξημένα επίπεδα μπορεί να είναι αποτέλεσμα των μειωμένων κυκλοφορούντων επιπέδων λεπτίνης (Monteleone et al., 2005). Μία πρόσφατη μελέτη σε υγιείς λεπτόσωμους ανθρώπους έχει δείξει διαφορές μεταξύ των φύλων στα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών στο πλάσμα. Όντως τα κυκλοφορούντα επίπεδα του 2AG είναι υψηλότερα στους άντρες σε σχέση με τις γυναίκες, όπως επίσης υπάρχει και μία ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της 2AG και των επιπέδων των τριγλυκεριδίων. Στις γυναίκες, αυτοί οι συγγραφείς έχουν παρατηρήσει συσχέτιση μεταξύ της κυκλοφορούσης ανανδαμίδης (AEA) και της παχυσαρκίας και των παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου (Fanelli et al., 2011).

Η αύξηση των ενδοκανναβινοειδών μπορεί να οφείλεται και σε μεταβολές άλλων ενζύμων που συνδέονται με το σύστημα των ενδοκανναβινοειδών (ECS).

Για παράδειγμα, αυξημένα επίπεδα ενδοκανναβινοειδών μπορεί να οφείλονται στην αναστολή του ενζύμου των ενδοκανναβινοειδών fatty acid hydrolase (FAAH), με δεδομένο ότι έχει παρατηρηθεί η προς τα κάτω ρύθμιση της γονιδιακής του έκφρασης και μείωση της δραστηριότητας του στο λιπώδη ιστό και το ήπαρ (Engeli et al., 2005; Osei-Hyiaman et al., 2005). Η ινσουλίνη μπορεί να συμμετέχει επίσης σε αυτή την ενζυμική ρύθμιση, αφού έχει διαπιστωθεί ότι η ινσουλίνη μειώνει τα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών και διεγείρει την έκφραση του FAAH στο λιπώδη ιστό μη παχύσαρκων ασθενών, και ως εκ τούτου τα αυξημένα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών στην παχυσαρκία μπορεί να οφείλονται στη ινσουλινοαντίσταση (Murdolo et al., 2007).

Επιπλέον, η έκφραση των υποδοχέων CB1 μεταβάλλεται στην παχυσαρκία. Στην πραγματικότητα, οι αυξημένες συγκεντρώσεις των ενδοκανναβινοειδών μπορεί να υπερδιεγείρουν τους υποδοχείς CB1 με έναν παθοφυσιολογικό μηχανισμό που συμβάλει στην παχυσαρκία (Blüher et al., 2006; Engeli, 2008; Engeli et al., 2005). Ωστόσο, σε μελέτες ζώων και σε κλινικές δοκιμές, έχει παρατηρηθεί εξίσου αύξηση και μείωση της γονιδιακής έκφρασης του υποδοχέα CB1 στα περιφερικά όργανα. Παχύσαρκα ποντίκια παρουσιάζουν αυξημένη γονιδιακή έκφραση του CB1 στο λιπώδη ιστό, το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες (Bensaid et al., 2003; Osei-Hyiaman et al., 2005) και η ίδια αύξηση έχει επίσης παρατηρηθεί στο λιπώδη ιστό στην παχυσαρκία των ανθρώπων (Murdolo et al., 2007; Pagano et al., 2007). Παρ'όλα αυτά, άλλες μελέτες δεν έδειξαν διαφορές στη γονιδιακή έκφραση του CB1 στο σπλαχνικό και στο υποδόριο λιπώδη ιστό, ούτε μειωμένη έκφραση του CB1 στην παχυσαρκία (Engeli et al., 2005; Kempf et al., 2007).

Κλασσικές μελέτες που χρησιμοποιούν ανταγωνιστές του υποδοχέα του CB1, δείχνουν να έχουν καλύτερο αποτέλεσμα στα παχύσαρκα τρωκτικά σε σχέση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους (Judge, Zhang, & Scarpace, 2009; Ravinet Trillou et al., 2003). Αυτή η αυξημένη ευαισθησία των παχύσαρκων ζώων μπορεί να εξηγηθεί από την υψηλότερη ευαισθησία στην αποτελεσματικότητα των ανταγωνιστών του CB1, που οφείλεται στη δυσλειτουργία και την υπερενεργοποίηση του συστήματος των ενδοκανναβινοειδών. Οι ανταγωνιστές του CB1 έχει διαπιστωθεί ότι έχουν αξιολογικά μεταβολικά οφέλη (Kunos & Tam, 2011). Σύμφωνα με τα παραπάνω, ο φαρμακευτικός αποκλεισμός της σηματοδότησης του CB1, αποτελεί μία ενδιαφέρουσα προσέγγιση για την ανάπτυξη νέων θεραπειών απέναντι στην παχυσαρκία. Συνεπώς, κάποιοι ανταγωνιστές του υποδοχέα CB1 και αντίστροφοι αγωνιστές έχουν μελετηθεί ως φάρμακα έναντι της παχυσαρκίας τα τελευταία χρόνια.

Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τον πρωτεϊνικό υποδοχέα PPAR- γ και τον υποδοχέα των ενδοκανναβινοειδών CB1. Τα δύο αυτά μόρια παίζουν σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό της λιπογένεσης (Cota, Marsicano, Tschöp, et al., 2003; Koh et al., 2009), η οποία είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων σε ώριμα λιποκύτταρα. Πιθανόν ο ρόλος τους είναι αρκετά σημαντικός και δε μεταβάλλεται η συγκέντρωσή τους σε συνάρτηση με την παχυσαρκία σε αυτή την ευαίσθητη ηλικία.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η θετική συσχέτιση της πρωτεϊνικής έκφρασης του CB1 με την πρωτεϊνική έκφραση του Glut4 και της Akt2. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μίας μελέτης, όπου εξετάστηκε αν η ενεργοποίηση του CB1 επηρεάζει τη δράση της ινσουλίνης στα λιποκύτταρα, φαίνεται ότι το ενδοκανναβινοειδές σύστημα αυξάνει την ευαισθησία στην απάντηση στην ινσουλίνη, παρά ρυθμίζει άμεσα τη μεταφορά του Glut4 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ή τη φωσφορυλίωση της Akt2 (Motaghedi & McGraw, 2008).

Τέλος στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η ινσουλίνη και ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR αυξάνονται με την ηλικία και είναι σημαντικά αυξημένα στα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη μείωση της υψηλού μοριακού βάρους αντιγονεκτίνης (HMW) πιθανόν να εξυπηρετεί την προετοιμασία των μεγαλύτερων παιδιών για την ανάπτυξη της «φυσιολογικής» ινσουλινοαντίστασης που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Ωστόσο η HMW αντιγονεκτίνη, που θεωρείται η ινσουλινοευαισθητοποιός βιοενεργή ισομορφή της Αντιγονεκτίνης, έδειξε σημαντική μείωση στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα εφηβικά παιδιά της ομάδας Β. Πιθανόν η παχυσαρκία να συμβάλει αρνητικά στην ενεργό ισομορφή της αντιγονεκτίνης και αυτό να αντικατατοπτρίζει έναν πιθανό επιβαρυντικό μηχανισμό για την ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και μεταβολικού συνδρόμου στα παιδιά αυτά.

8.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΜΕΡΟΣ Α Συμπεράσματα

- I.** Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της πρωτεϊνικής έκφραση της αντιγονεκτίνης, του υποδοχέα της AdipoR1, της πρωτεΐνης προσαρμογέα APPL1 και του μεταφορέα της γλυκόζης Glut4 στα λιποκύτταρα των λεπτόσωμων και παχύσαρκων παιδιών και εφήβων. Το γεγονός αυτό πιθανόν να αντικατοπτρίζει την σημαντικότητα τους κατά την ανάπτυξη της παιδικής ηλικίας και την ανάγκη του οργανισμού να προσαρμοστεί και να διατηρήσει αμετάβλητα τα επίπεδα αυτά κατά της παχυσαρκίας.
- II.** Η σημαντική μείωση της HMW Αντιγονεκτίνης στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά πιθανά να αποτελεί ένα επιβαρυντικό μηχανισμό για μεταβολικές διαταραχές.
- III.** Η σημαντική αύξηση της GTPάσης Rab5 στα ώριμα λιποκύτταρα των μικρότερων παχύσαρκων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Α σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα τους, πιθανόν να αποτελεί έναν προστατευτικό μηχανισμό για τη διατήρηση της ομαλής σηματοδότησης της ινσουλίνης σε αυτή την ευαίσθητη ηλικία.
- IV.** Η σημαντική αύξηση του Rab5 στα λεπτόσωμα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ μπορεί να συμβάλλει θετικά στη διατήρηση της «φυσιολογικής» αντίστασης στην ινσουλίνη που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της εφηβείας.

ΜΕΡΟΣ Β Συμπεράσματα

- I.** Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η ινσουλίνη και ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR αυξάνονται με την ηλικία και είναι σημαντικά αυξημένα στα μεγαλύτερα προεφηβικά και εφηβικά παιδιά, γεγονός που πιθανόν να εξυπηρετεί την προετοιμασία των μεγαλύτερων παιδιών για την ανάπτυξη της «φυσιολογικής» ινσουλινοαντίστασης που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της εφηβείας.
- II.** Η αύξηση των πρωτεϊνικών επιπέδων της πρωτεϊνικής κινάσης Β (Akt2) στα εφηβικά παχύσαρκα παιδιά της ομάδας Γ σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά της ομάδας Α πιθανά να αποτελεί έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό προστασίας υπέρ της ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη που προκαλείται «φυσιολογικά» τόσο στην εφηβεία, όσο και υπέρμετρα στην παχυσαρκία.

III. Η μειωμένη πρωτεϊνική έκφραση της Cap στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμα τους, αλλά και σε σχέση με τα μεγαλύτερα παχύσαρκα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Β σε συνδυασμό με την αύξηση του δείκτη HOMA-IR, ίσως να αντικατοπτρίζει την κατάργηση της «προστασίας» που πιθανόν παρουσιάζουν τα μεγαλύτερα παχύσαρκα προεφηβικά παιδιά, και μπορεί να αποτελούν έναν επιπλέον επιβαρυντικό παράγοντα για την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II κατά τη διάρκεια της εφηβείας.

ΜΕΡΟΣ Γ Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της πρωτεϊνικής έκφραση του υποδοχέα των ενδοκανναβινοειδών CB1 και του μεταγραφικού παράγοντα PPAR γ στα λιποκύτταρα των λεπτόσωμων και παχύσαρκων παιδιών και εφήβων. Επειδή τα δύο αυτά μόρια παίζουν σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων σε ώριμα λιποκύτταρα και πιθανόν να αντικατοπτρίζει την ανάγκη του οργανισμού να προσαρμοστεί και να διατηρήσει αμετάβλητα τα επίπεδα αυτά κατά της παχυσαρκίας.

Όλα τα παραπάνω μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα παιδιά φαίνεται να διατηρούν κάποιους μηχανισμούς προστασίας και μπορούν ακόμα να διατηρούν αμετάβλητα σημαντικά μόρια όπως η αντιγονεκτίνη, ο υποδοχέας της AdipoR1, το APPL1, το c-CBL, το Glut4, το PPAR γ και το CB1. Ενώ επιπρόσθετα καταφέρνουν να αυξήσουν την έκφραση του Rab5 και της Akt στα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ, πιθανώς απεικονίζοντας έναν αντιρροπιστικό προστατευτικό μηχανισμό, ώστε να διατηρηθεί η ινσουλινοευαισθησία στα παιδιά αυτά που πάσχουν από παχυσαρκία και ταυτόχρονα εμφανίζουν τη «φυσιολογική ινσουλινοαντίσταση της εφηβείας». Ένας πιθανόν επιβαρυντικός παράγοντας του μηχανισμού ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη και Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου II μπορεί να αποτελεί η μείωση της HMW αντιγονεκτίνης και των επιπέδων έκφρασης της CAP στα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά της ομάδας Γ, αλλά το σύνολο των μεταβολών που παρατηρήθηκαν στα παιδιά και ιδιαίτερα στα μεγαλύτερα παχύσαρκα εφηβικά παιδιά φαίνεται να ενορχηστρώνουν ένα συνδυασμό αντιρροπιστικών μεταβολών ώστε να διατηρηθεί η ομοιόσταση των λιποκυττάρων.

Σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε μικρά γουρουνάκια, οι ερευνητές ήθελαν να διερευνήσουν τις μεταβολικές και κυτταρικές μεταβολές που επάγονται από την παιδική παχυσαρκία. Χρησιμοποίησαν 10 μικρά γουρουνάκια 4 μηνών και τα παρακολούθησαν από την προεφηβεία μέχρι την ενηλικίωση. Τα ζώα χωρίστηκαν σε 2 ομάδες, στην πρώτη ομάδα υπεριστιζονταν με δίαιτα δυτικού

τύπου και στη δεύτερη ομάδα ακολουθούσαν μία ισορροπημένη ανθρώπινη διατροφή. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη που προκλήθηκαν από τον υπερσιτισμό των ποντικών κατά την ανάπτυξή τους και την εφηβεία, δε σχετίζονται με τις μεταβολικές μεταβολές που παρατηρούνται στους παχύσαρκους ενήλικες. Αυξημένες συγκεντρώσεις του IGF-1 και μεταβολές στην έκφραση του PPAR α και PPAR γ μπορεί να βοηθούν αυτά τα νέα γουρουνάκια να ρυθμίσουν τη γλυκαιμία και την τριγλυκεριδαιμία και να διατηρήσουν υψηλή ευαισθησία στην ινσουλίνη (Sebert et al., 2005).

Τελικά Συμπεράσματα

(1) Η παρούσα μελέτη προσφέρει καινούργιες πληροφορίες όσον αφορά τη φυσιολογική λειτουργία του λιπώδους ιστού στα λεπτόσωμα παιδιά και των επιπλοκών της παχυσαρκίας, στο μοριακό επίπεδο, από την παιδική ηλικία.

(2) Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα παιδιά μάλλον διαθέτουν μηχανισμούς προστασίας έναντι των επιπλοκών της παχυσαρκίας, ωστόσο κατά τη διάρκεια της εφηβείας φαίνεται ότι εμφανίζονται πιθανόν τα πρώτα σημεία των επιπλοκών στα λιποκύτταρα των παχύσαρκων εφήβων.

(3) Περαιτέρω μελέτες διερεύνησης της ενδοκυττάριας θέσης και ενεργότητας των μορίων που μελετήθηκαν καθώς και άλλων μονοπατιών που έχει φανεί ότι μεταβάλλονται σε παχύσαρκους ενήλικες είναι απαραίτητες ώστε να διευκρινιστούν επαρκώς και λεπτομερώς οι μηχανισμοί ανάπτυξης ινσουλινοαντίστασης και ΣΔ II στα παχύσαρκα παιδιά ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια του σημαντικού αναπτυξιακού σταδίου της εφηβείας, ώστε να αντιμετωπιστεί η μάστιγα της παχυσαρκίας και να προληφθούν εγκαίρως οι θανατηφόρες συνοσυρότητες της.

9. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η παχυσαρκία θεωρείται μία παγκόσμια πανδημία και έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Δυστυχώς, το φαινόμενο της νοσογόνου παχυσαρκίας δεν αφορά μόνο τους ενήλικες, αλλά και τα παιδιά και τους εφήβους.

Σκοπός/μεθοδολογία: Αναπτύχθηκαν πρωτογενείς καλλιέργειες πρώιμων και ώριμων λιποκυττάρων από βιοψίες υποδόριου κοιλιακού λιπώδους ιστού χειρουργικών επεμβάσεων ρουτίνας 96 λεπτόσωμων παιδιών [δείκτη μάζας σώματος, ($\Delta\text{M}\Sigma$) $<85\%$], και 66 παχύσαρκων παιδιών ($\Delta\text{M}\Sigma\geq 95\%$). Τα παιδιά αυτά διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες: την προεφηβική (ομάδα Α, παιδιά ηλικίας 2-7 ετών και ομάδα Β, παιδιά ηλικίας 8-12 ετών) και την εφηβική ($\text{Tάννερ}>I$). Στα απομονωμένα λιποκύτταρα, πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA και ολικών πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων. Με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφάσης PCR (RT-PCR), μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση και με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western, μελετήθηκε η πρωτεϊνική έκφραση των εξής μορίων: CB1, Rab5, GLUT4, CAP, cCbl, APPL-1, AdipoR1, αντιπονεκτίνη, PPAR- γ , Akt/PKB. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν λήψεις δειγμάτων αίματος και έγιναν οι εξής μετρήσεις στον ορό του αίματος: Γλυκόζη νηστείας, Ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια.

Αποτελέσματα: Η μελέτη έδειξε ότι: **(1)** Δεν ανεδείχθησαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα κλινικά χαρακτηριστικά και το βιοχημικό προφίλ των παιδιών. **(2)** Η πρωτεϊνική έκφραση του Rab5 έδειξε: α) σημαντική αύξηση στα ώριμα λιποκύτταρα ($\Omega\Lambda$) των παχύσαρκων μικρότερων προεφηβικών της ομάδας Α σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους, β) σημαντική αύξηση στα $\Omega\Lambda$ των λεπτόσωμων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προεφηβικά παιδιά και των δύο ηλικιακών ομάδων (Α&Β). **(3)** Η πρωτεϊνική έκφραση της Akt2 έδειξε: α) σημαντική μείωση στα προλιποκύτταρα (ΠΛ) των λεπτόσωμων μεγαλύτερων προεφηβικών παιδιών της ομάδας Β σε σχέση με τα αντίστοιχα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α, β) σημαντική αύξηση στα ΠΛ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προεφηβικά παιδιά και των δύο ηλικιακών ομάδων (Ομάδα Α&Β) και γ) σημαντική αύξηση στα $\Omega\Lambda$ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της Ομάδας Γ σε σύγκριση με τα παχύσαρκα μικρότερα προεφηβικά παιδιά της ομάδας Α. **(4)** Η πρωτεϊνική έκφραση του Cap έδειξε : α) σημαντική μείωση στα $\Omega\Lambda$ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα λεπτόσωμά τους και β) τάση μείωσης στα $\Omega\Lambda$ των παχύσαρκων εφηβικών παιδιών της ομάδας Γ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μεγαλύτερα προεφηβικά παιδιά της

ομάδας Β. **(5)** Δεν ανεδείχθησαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των λεπτόσωμων και παχύσαρκων προεφηβικών και εφηβικών παιδιών για τα μόρια: Αντιπονεκτίνη, AdipoR1, APPL1, cCBL, Glut4, CB1 και PPARγ.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη προσφέρει καινούργιες πληροφορίες όσον αφορά τη φυσιολογική λειτουργία του λιπώδους ιστού στα λεπτόσωμα παιδιά και των επιπλοκών της παχυσαρκίας, στο μοριακό επίπεδο, από την παιδική ηλικία. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα παιδιά μάλλον διαθέτουν μηχανισμούς προστασίας έναντι των επιπλοκών της παχυσαρκίας, ωστόσο κατά τη διάρκεια της εφηβείας φαίνεται ότι εμφανίζονται πιθανόν τα πρώτα σημεία των επιπλοκών στα λιποκύτταρα των παχύσαρκων εφήβων.

10. SUMMARY

SUMMARY

Study of the Molecular Mechanisms Involved in Insulin Resistance in Lean and Obese Individuals

Katerina Avgeri

Introduction: Obesity is considered a global pandemic and has adverse effects on human health. Unfortunately, the phenomenon of morbid obesity concerns not only adults, but also children and teenagers.

Aim/methodology: Primary cultures of pre- and mature adipocytes were developed from routine surgical biopsies of subcutaneous abdominal adipose tissue from 96 healthy lean children [Body Mass Index (BMI) <85%] and 66 obese children (BMI \geq 95%). These children were divided into three groups: prepubertal (Group A: 2mos-7yr, Group B: 8-12yrs) and pubertal (Tanner II-IV). Total RNA and whole cell extracts were extracted from the adipocytes. The gene expression was studied with Reverse transcriptase PCR and the protein expression with western immunoblotting of the following molecules: CB1, Rab5, GLUT4, CAP, cCbl, APPL-1, AdipoR1, adiponectin, PPAR- γ , Akt/PKB. Finally, fasting blood samples were taken and at the serum the following were determined: fasting glucose, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides.

Results: According to our study: **(1)** No differences were observed as far as clinical and biochemical profile of the children is concerned. **(2)** The protein expression of Rab5 was *a)* significantly increased in the mature adipocytes of the younger obese prepubertal children of group A in comparison to their respective lean, *b)* significantly increased in the mature adipocytes of lean pubertal children of group C when compared to the lean prepubertal children of both groups A & B. **(3)** The protein expression of Akt2 was: *a)* significantly decreased in the preadipocytes of the older lean prepubertal children of group B in comparison to the younger lean prepubertal children of group A, *b)* significantly increased in the preadipocytes of the obese adolescents (group C) in comparison to the obese prepubertal children of both groups (A & B) and *c)* significantly increased in the mature adipocytes of the obese pubertal children of group C when compared to younger obese prepubertal children of group A. **(4)** The protein expression of Cap was: *a)* significantly decreased in the mature adipocytes of the obese pubertal children of group C in comparison to their respective lean, *b)* tended to decrease in the

mature adipocytes of the obese pubertal children of group C in comparison to the older obese prepubertal children of group B. **(5)** No differences were observed in the expression of Adiponectin, AdipoR1, APPL1, cCBL, Glut4, CB1 and PPAR γ between the lean and obese prepubertal and pubertal children.

Conclusions: This current study provides new information for the physiological function of adipose tissue in lean children and for the complications of obesity at the molecular level of adipose tissue during childhood. The results indicate that children have protective mechanisms against the complications of obesity, but during puberty, the adipocytes of obese adolescents seem to be affected.

11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abel, E. D., Peroni, O., Kim, J. K., Kim, Y. B., Boss, O., Hadro, E., Kahn, B. B. (2001). Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*, *409*(6821), 729-733. doi:10.1038/35055575
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., & Kim, J. H. (2012). Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*, *119*(3), 651-665. doi:10.1182/blood-2011-04-325225 [pii] 10.1182/blood-2011-04-325225
- Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*, *11*(8), 327-332. doi:S1043-2760(00)00301-5 [pii]
- Ahmadian, M., Suh, J. M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A. R., Downes, M., & Evans, R. M. (2013). PPARgamma signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat Med*, *19*(5), 557-566. doi:nm.3159 [pii] 10.1038/nm.3159
- Alger, B. E., & Kim, J. (2011). Supply and demand for endocannabinoids. *Trends Neurosci*, *34*(6), 304-315. doi:S0166-2236(11)00040-3 [pii] 10.1016/j.tins.2011.03.003
- Alvarez-Castro, P., Pena, L., & Cordido, F. (2012). Ghrelin in obesity, physiological and pharmacological considerations. *Mini Rev Med Chem*, *13*(4), 541-552. doi:MRMC-Epub-20120827-8 [pii]
- Ameri, A. (1999). The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol*, *58*(4), 315-348. doi:S0301-0082(98)00087-2 [pii]
- Andersson, C. X., Gustafson, B., Hammarstedt, A., Hedjazifar, S., & Smith, U. (2008). Inflamed adipose tissue, insulin resistance and vascular injury. *Diabetes Metab Res Rev*, *24*(8), 595-603. doi:10.1002/dmrr.889
- Anghel, S. I., & Wahli, W. (2007). Fat poetry: a kingdom for PPAR gamma. *Cell Res*, *17*(6), 486-511. doi:cr200748 [pii] 10.1038/cr.2007.48
- Arslanian, S. A., & Kalhan, S. C. (1996). Protein turnover during puberty in normal children. *Am J Physiol*, *270*(1 Pt 1), E79-84.
- Aukema, T. S., Vogel, W. V., Hoefnagel, C. A., & Valdes Olmos, R. A. (2010). Prevention of brown adipose tissue activation in 18F-FDG PET/CT of breast cancer patients receiving neoadjuvant systemic therapy. *J Nucl Med Technol*, *38*(1), 24-27. doi:jnmt.109.065557 [pii]10.2967/jnmt.109.065557
- Avau, B., Carbone, F., Tack, J., & Depoortere, I. (2013). Ghrelin signaling in the gut, its physiological properties, and therapeutic potential. *Neurogastroenterol Motil*, *25*(9), 720-732. doi:10.1111/nmo.12193
- Avram, A. S., Avram, M. M., & James, W. D. (2005). Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol*, *53*(4), 671-683. doi:S0190-9622(05)01640-3 [pii]10.1016/j.jaad.2005.05.015
- Aye, T., & Levitsky, L. L. (2003). Type 2 diabetes: an epidemic disease in childhood. *Curr Opin Pediatr*, *15*(4), 411-415.

- Banks, E. A., Brozinick, J. T., Jr., Yaspelkis, B. B., 3rd, Kang, H. Y., & Ivy, J. L. (1992). Muscle glucose transport, GLUT-4 content, and degree of exercise training in obese Zucker rats. *Am J Physiol*, *263*(5 Pt 1), E1010-1015.
- Barak, Y., Nelson, M. C., Ong, E. S., Jones, Y. Z., Ruiz-Lozano, P., Chien, K. R., Evans, R. M. (1999). PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*, *4*(4), 585-595. doi:S1097-2765(00)80209-9 [pii]
- Bauer, F., Elbers, C. C., Adan, R. A., Loos, R. J., Onland-Moret, N. C., Grobbee, D. E., van der Schouw, Y. T. (2009). Obesity genes identified in genome-wide association studies are associated with adiposity measures and potentially with nutrient-specific food preference. *Am J Clin Nutr*, *90*(4), 951-959. doi:ajcn.2009.27781 [pii]10.3945/ajcn.2009.27781
- Baumann, C. A., Ribon, V., Kanzaki, M., Thurmond, D. C., Mora, S., Shigematsu, S., Saltiel, A. R. (2000). CAP defines a second signalling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. *Nature*, *407*(6801), 202-207. doi:10.1038/35025089
- Bell, C. G., Walley, A. J., & Froguel, P. (2005). The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet*, *6*(3), 221-234. doi:nrg1556 [pii]10.1038/nrg1556
- Bensaid, M., Gary-Bobo, M., Esclangon, A., Maffrand, J. P., Le Fur, G., Oury-Donat, F., & Soubrie, P. (2003). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol*, *63*(4), 908-914.
- Berkey, C. S., Rockett, H. R., Field, A. E., Gillman, M. W., & Colditz, G. A. (2004). Sugar-added beverages and adolescent weight change. *Obes Res*, *12*(5), 778-788. doi:12/5/778 [pii]10.1038/oby.2004.94
- Bermudez-Silva, F. J., Cardinal, P., & Cota, D. (2011). The role of the endocannabinoid system in the neuroendocrine regulation of energy balance. *J Psychopharmacol*, *26*(1), 114-124. doi:0269881111408458 [pii]10.1177/0269881111408458
- Bermudez-Silva, F. J., Suarez, J., Baixeras, E., Cobo, N., Bautista, D., Cuesta-Munoz, A. L., Rodriguez de Fonseca, F. (2008). Presence of functional cannabinoid receptors in human endocrine pancreas. *Diabetologia*, *51*(3), 476-487. doi:10.1007/s00125-007-0890-y
- Bisogno, T., Melck, D., Bobrov, M., Gretskaya, N. M., Bezuglov, V. V., De Petrocellis, L., & Di Marzo, V. (2000). N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem J*, *351 Pt 3*, 817-824.
- Blüher, M., Engeli, S., Kloting, N., Berndt, J., Fasshauer, M., Batkai, S., Stumvoll, M. (2006). Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes*, *55*(11), 3053-3060. doi:55/11/3053 [pii]10.2337/db06-0812
- Blundell, J. E., & Macdiarmid, J. I. (1997). Passive overconsumption. Fat intake and short-term energy balance. *Ann N Y Acad Sci*, *827*, 392-407.

- Boren, J., Taskinen, M. R., Olofsson, S. O., & Levin, M. (2013). Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. *J Intern Med*, *274*(1), 25-40. doi:10.1111/joim.12071
- Boutin, P., & Froguel, P. (2001). Genetics of human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, *15*(3), 391-404. doi:10.1053/beem.2001.0153S1521690X01901538 [pii]
- Bowman, S. A., Gortmaker, S. L., Ebbeling, C. B., Pereira, M. A., & Ludwig, D. S. (2004). Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics*, *113*(1 Pt 1), 112-118.
- Bowman, S. A., & Vinyard, B. T. (2004). Fast food consumption of U.S. adults: impact on energy and nutrient intakes and overweight status. *J Am Coll Nutr*, *23*(2), 163-168.
- Brachmann, S. M., Ueki, K., Engelman, J. A., Kahn, R. C., & Cantley, L. C. (2005). Phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit deletion and regulatory subunit deletion have opposite effects on insulin sensitivity in mice. *Mol Cell Biol*, *25*(5), 1596-1607. doi:25/5/1596 [pii]10.1128/MCB.25.5.1596-1607.2005
- Bray, G. A., & Gallagher, T. F., Jr. (1975). Manifestations of hypothalamic obesity in man: a comprehensive investigation of eight patients and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, *54*(4), 301-330.
- Breton, C. (2012). The hypothalamus-adipose axis is a key target of developmental programming by maternal nutritional manipulation. *J Endocrinol*, *216*(2), R19-31. doi:JOE-12-0157 [pii]10.1530/JOE-12-0157
- Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (2008). Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab*, *7*(2), 95-96. doi:S1550-4131(07)00382-8 [pii]10.1016/j.cmet.2007.12.009
- Brozinick, J. T., Jr., McCoid, S. C., Reynolds, T. H., Nardone, N. A., Hargrove, D. M., Stevenson, R. W., Gibbs, E. M. (2001). GLUT4 overexpression in db/db mice dose-dependently ameliorates diabetes but is not a lifelong cure. *Diabetes*, *50*(3), 593-600.
- Buechler, C., Wanninger, J., & Neumeier, M. (2010). Adiponectin receptor binding proteins--recent advances in elucidating adiponectin signalling pathways. *FEBS Lett*, *584*(20), 4280-4286. doi:10.1016/j.febslet.2010.09.035
- Buettner, C., Muse, E. D., Cheng, A., Chen, L., Scherer, T., Poci, A., Rossetti, L. (2008). Leptin controls adipose tissue lipogenesis via central, STAT3-independent mechanisms. *Nat Med*, *14*(6), 667-675. doi:nm1775 [pii]10.1038/nm1775
- Burdyga, G., Varro, A., Dimaline, R., Thompson, D. G., & Dockray, G. J. (2010). Expression of cannabinoid CB1 receptors by vagal afferent neurons: kinetics and role in influencing neurochemical phenotype. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, *299*(1), G63-69. doi:ajpgi.00059.2010 [pii]10.1152/ajpgi.00059.2010

- Butler, G. E., McKie, M., & Ratcliffe, S. G. (1990). The cyclical nature of prepubertal growth. *Ann Hum Biol*, *17*(3), 177-198.
- Butte, N. F. (2001). The role of breastfeeding in obesity. *Pediatr Clin North Am*, *48*(1), 189-198.
- Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*, *84*(1), 277-359. doi:10.1152/physrev.00015.200384/1/277 [pii]
- Carvalho, E., Jansson, P. A., Nagaev, I., Wentzel, A. M., & Smith, U. (2001). Insulin resistance with low cellular IRS-1 expression is also associated with low GLUT4 expression and impaired insulin-stimulated glucose transport. *FASEB J*, *15*(6), 1101-1103.
- Catalan, V., Gomez-Ambrosi, J., Rodriguez, A., Salvador, J., & Fruhbeck, G. (2009). Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert Opin Pharmacother*, *10*(2), 239-254. doi:10.1517/14656560802618811
- Center for Disease Control and Prevention, C. (2011). Ten great public health achievements--worldwide, 2001-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, *60*(24), 814-818. doi:mm6024a4 [pii]
- Cesari, M., Pahor, M., & Incalzi, R. A. (2010). Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc Ther*, *28*(5), e72-91. doi:CDR171 [pii]10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x
- Chang, S. H., Beason, T. S., Hunleth, J. M., & Colditz, G. A. (2012). A systematic review of body fat distribution and mortality in older people. *Maturitas*, *72*(3), 175-191. doi:S0378-5122(12)00150-8 [pii]10.1016/j.maturitas.2012.04.004
- Chapman, K., Holmes, M., & Seckl, J. (2013). 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiol Rev*, *93*(3), 1139-1206. doi:93/3/1139 [pii]10.1152/physrev.00020.2012
- Cheng, K. K., Iglesias, M. A., Lam, K. S., Wang, Y., Sweeney, G., Zhu, W., Xu, A. (2009). APPL1 potentiates insulin-mediated inhibition of hepatic glucose production and alleviates diabetes via Akt activation in mice. *Cell Metab*, *9*(5), 417-427. doi:S1550-4131(09)00091-6 [pii]10.1016/j.cmet.2009.03.013
- Cheng, K. K., Lam, K. S., Wang, Y., Huang, Y., Carling, D., Wu, D., Xu, A. (2007). Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. *Diabetes*, *56*(5), 1387-1394. doi:db06-1580 [pii]10.2337/db06-1580
- Chiang, S. H., Baumann, C. A., Kanzaki, M., Thurmond, D. C., Watson, R. T., Neudauer, C. L., Saltiel, A. R. (2001). Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. *Nature*, *410*(6831), 944-948. doi:10.1038/3507360835073608 [pii]
- Chicca, A., Marazzi, J., Nicolussi, S., & Gertsch, J. (2012). Evidence for bidirectional endocannabinoid transport across cell membranes. *J Biol Chem*, *287*(41), 34660-34682. doi:M112.373241 [pii]10.1074/jbc.M112.373241

- Chiolero, A., Faeh, D., Paccaud, F., & Cornuz, J. (2008). Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *Am J Clin Nutr*, *87*(4), 801-809. doi:87/4/801 [pii]
- Cho, H., Mu, J., Kim, J. K., Thorvaldsen, J. L., Chu, Q., Crenshaw, E. B., 3rd, Birnbaum, M. J. (2001). Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta). *Science*, *292*(5522), 1728-1731. doi:10.1126/science.292.5522.1728292/5522/1728 [pii]
- Choi, J. H., Banks, A. S., Estall, J. L., Kajimura, S., Bostrom, P., Laznik, D., Spiegelman, B. M. (2010). Anti-diabetic drugs inhibit obesity-linked phosphorylation of PPARgamma by Cdk5. *Nature*, *466*(7305), 451-456. doi:nature09291 [pii]10.1038/nature09291
- Choy, L. N., Rosen, B. S., Spiegelman, B. M. (1992). Adipsin and an endogenous pathway of complement from adipose cells. *J Biol Chem*, *267*(18), 12736-12741.
- Christodoulides, C., & Vidal-Puig, A. (2009). PPARs and adipocyte function. *Mol Cell Endocrinol*, *318*(1-2), 61-68. doi:S0303-7207(09)00497-3 [pii]10.1016/j.mce.2009.09.014
- Cinti, S. (2005). The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, *73*(1), 9-15. doi:S0952-3278(05)00054-2 [pii]10.1016/j.plefa.2005.04.010
- Cinti, S. (2012). The adipose organ at a glance. *Dis Model Mech*, *5*(5), 588-594. doi:5/5/588 [pii]10.1242/dmm.009662
- Cone, R. D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat Neurosci*, *8*(5), 571-578. doi:nn1455 [pii]10.1038/nn1455
- Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., et al. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*, *334*(5), 292-295. doi:10.1056/NEJM199602013340503
- Cook, S., Weitzman, M., Auinger, P., Nguyen, M., & Dietz, W. H. (2003). Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med*, *157*(8), 821-827. doi:10.1001/archpedi.157.8.821157/8/821 [pii]
- Corvera, S., & Czech, M. P. (1998). Direct targets of phosphoinositide 3-kinase products in membrane traffic and signal transduction. *Trends Cell Biol*, *8*(11), 442-446. doi:S0962-8924(98)01366-X [pii]
- Cota, D. (2007). CB1 receptors: emerging evidence for central and peripheral mechanisms that regulate energy balance, metabolism, and cardiovascular health. *Diabetes Metab Res Rev*, *23*(7), 507-517. doi:10.1002/dmrr.764
- Cota, D., Marsicano, G., Lutz, B., Vicennati, V., Stalla, G. K., Pasquali, R., & Pagotto, U. (2003). Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes Relat Metab Disord*, *27*(3), 289-301. doi:10.1038/sj.ijo.08022500802250 [pii]

- Cota, D., Marsicano, G., Tschop, M., Grubler, Y., Flachskamm, C., Schubert, M., Pagotto, U. (2003). The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest*, *112*(3), 423-431. doi:10.1172/JCI17725112/3/423 [pii]
- Cousin, B., Cinti, S., Morroni, M., Raimbault, S., Ricquier, D., Penicaud, L., & Casteilla, L. (1992). Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J Cell Sci*, *103* (Pt 4), 931-942.
- Cypess, A. M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A. B., Kahn, C. R. (2009). Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med*, *360*(15), 1509-1517. doi:360/15/1509 [pii]10.1056/NEJMoa0810780
- Czech, M. P., & Buxton, J. M. (1993). Insulin action on the internalization of the GLUT4 glucose transporter in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem*, *268*(13), 9187-9190.
- Daniels, S. R. (2009). Complications of obesity in children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*, *33* Suppl 1, S60-65. doi:ijo200920 [pii]10.1038/ijo.2009.20
- de Ferranti, S., & Mozaffarian, D. (2008). The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem*, *54*(6), 945-955. doi:clinchem.2007.100156 [pii]10.1373/clinchem.2007.100156
- de Melker, A. A., van der Horst, G., Calafat, J., Jansen, H., & Borst, J. (2001). c-Cbl ubiquitinates the EGF receptor at the plasma membrane and remains receptor associated throughout the endocytic route. *J Cell Sci*, *114*(Pt 11), 2167-2178.
- De Petrocellis, L., Cascio, M. G., & Di Marzo, V. (2004). The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol*, *141*(5), 765-774. doi:10.1038/sj.bjp.0705666sj.bjp.0705666 [pii]
- de Wit, L., Luppino, F., van Straten, A., Penninx, B., Zitman, F., & Cuijpers, P. (2010). Depression and obesity: a meta-analysis of community-based studies. *Psychiatry Res*, *178*(2), 230-235. doi:S0165-1781(09)00170-X [pii]10.1016/j.psychres.2009.04.015
- Deepa, S. S., & Dong, L. Q. (2009). APPL1: role in adiponectin signaling and beyond. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *296*(1), E22-36. doi:90731.2008 [pii]10.1152/ajpendo.90731.2008
- DeFronzo, R. A., & Tripathy, D. (2009). Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *32* Suppl 2, S157-163. doi:32/suppl_2/S157 [pii]10.2337/dc09-S302
- Demuth, D. G., & Molleman, A. (2006). Cannabinoid signalling. *Life Sci*, *78*(6), 549-563. doi:S0024-3205(05)00672-7 [pii]10.1016/j.lfs.2005.05.055
- Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S., & Sawaya, B. E. (2009). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res*, *29*(6), 313-326. doi:10.1089/jir.2008.0027

- Despres, J. P., & Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, *444*(7121), 881-887. doi:nature05488 [pii]10.1038/nature05488
- Devane, W. A., Dysarz, F. A., 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S., & Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*, *34*(5), 605-613.
- Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, *258*(5090), 1946-1949.
- Di Marzo, V., & Despres, J. P. (2009). CB1 antagonists for obesity--what lessons have we learned from rimonabant? *Nat Rev Endocrinol*, *5*(11), 633-638. doi:10.1038/nrendo.2009.197
- Di Marzo, V., Goparaju, S. K., Wang, L., Liu, J., Batkai, S., Jarai, Z., Kunos, G. (2001). Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*, *410*(6830), 822-825. doi:10.1038/3507108835071088 [pii]
- Di Marzo, V., Melck, D., Bisogno, T., & De Petrocellis, L. (1998). Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci*, *21*(12), 521-528. doi:S0166-2236(98)01283-1 [pii]
- Dicken, M. S., Tooker, R. E., & Hentges, S. T. (2012). Regulation of GABA and glutamate release from proopiomelanocortin neuron terminals in intact hypothalamic networks. *J Neurosci*, *32*(12), 4042-4048. doi:32/12/4042 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.6032-11.2012
- Dietrich, M. O., & Horvath, T. L. (2013). Hypothalamic control of energy balance: insights into the role of synaptic plasticity. *Trends Neurosci*, *36*(2), 65-73. doi:S0166-2236(12)00220-2 [pii] 10.1016/j.tins.2012.12.005
- Dinh, T. P., Carpenter, D., Leslie, F. M., Freund, T. F., Katona, I., Sensi, S. L., Piomelli, D. (2002). Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *99*(16), 10819-10824. doi:10.1073/pnas.152334899
- DiPatrizio, N. V., Astarita, G., Schwartz, G., Li, X., & Piomelli, D. (2011). Endocannabinoid signal in the gut controls dietary fat intake. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *108*(31), 12904-12908. doi:1104675108 [pii] 10.1073/pnas.1104675108
- Duckworth, W. C., Bennett, R. G., & Hamel, F. G. (1998). Insulin degradation: progress and potential. *Endocr Rev*, *19*(5), 608-624. doi:10.1210/edrv.19.5.0349
- Ducluzeau, P. H., Fletcher, L. M., Vidal, H., Laville, M., & Tavaré, J. M. (2002). Molecular mechanisms of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Diabetes Metab*, *28*(2), 85-92. doi:MDOI-DM-04-2002-28-2-1262-3636-101019-ART1 [pii]
- El-Kadre, L. J., & Tinoco, A. C. (2013). Interleukin-6 and obesity: the crosstalk between intestine, pancreas and liver. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, *16*(5), 564-568. doi:10.1097/MCO 0b013e32836410e600075197-201309000-00012 [pii]
- Eliasson, B. (2003). Cigarette smoking and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis*, *45*(5), 405-413. doi:10.1053/pcad.2003.00103S0033062003000112 [pii]

- Ellis, J., Pediani, J. D., Canals, M., Milasta, S., & Milligan, G. (2006). Orexin-1 receptor-cannabinoid CB1 receptor heterodimerization results in both ligand-dependent and -independent coordinated alterations of receptor localization and function. *J Biol Chem*, *281*(50), 38812-38824. doi:M602494200 [pii]10.1074/jbc.M602494200
- Enerback, S., Jacobsson, A., Simpson, E. M., Guerra, C., Yamashita, H., Harper, M. E., & Kozak, L. P. (1997). Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature*, *387*(6628), 90-94. doi:10.1038/387090a0
- Engeli, S. (2008). Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *J Neuroendocrinol*, *20 Suppl 1*, 110-115. doi:JNE1683 [pii]10.1111/j.1365-2826.2008.01683.x
- Engeli, S., Bohnke, J., Feldpausch, M., Gorzelniak, K., Janke, J., Batkai, S., Jordan, J. (2005). Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes*, *54*(10), 2838-2843. doi:54/10/2838 [pii]
- Fanelli, F., Di Lallo, V. D., Belluomo, I., De lasio, R., Baccini, M., Casadio, E., Pagotto, U. (2011). Estimation of reference intervals of five endocannabinoids and endocannabinoid related compounds in human plasma by two dimensional-LC/MS/MS. *J Lipid Res*, *53*(3), 481-493. doi:jlrm021378 [pii] 10.1194/jlr.M021378
- Fang, X., Palanivel, R., Cresser, J., Schram, K., Ganguly, R., Thong, F. S., Sweeney, G. (2010). An APPL1-AMPK signaling axis mediates beneficial metabolic effects of adiponectin in the heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *299*(5), E721-729. doi:ajpendo.00086.2010 [pii] 10.1152/ajpendo.00086.2010
- Fang, X., & Sweeney, G. (2006). Mechanisms regulating energy metabolism by adiponectin in obesity and diabetes. *Biochem Soc Trans*, *34*(Pt 5), 798-801. doi:BST0340798 [pii]
- Faty, A., Ferre, P., & Commans, S. (2012). The acute phase protein Serum Amyloid A induces lipolysis and inflammation in human adipocytes through distinct pathways. *PLoS One*, *7*(4), e34031. doi:10.1371/journal.pone.0034031 PONE-D-11-15643 [pii]
- Fegley, D., Kathuria, S., Mercier, R., Li, C., Goutopoulos, A., Makriyannis, A., & Piomelli, D. (2004). Anandamide transport is independent of fatty-acid amide hydrolase activity and is blocked by the hydrolysis-resistant inhibitor AM1172. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(23), 8756-8761. doi:10.1073/pnas.04009971010400997101 [pii]
- Fekete, C., Sarkar, S., Rand, W. M., Harney, J. W., Emerson, C. H., Bianco, A. C., & Lechan, R. M. (2002). Agouti-related protein (AGRP) has a central inhibitory action on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis; comparisons between the effect of AGRP and neuropeptide Y on energy homeostasis and the HPT axis. *Endocrinology*, *143*(10), 3846-3853. doi:10.1210/en.2002-220338
- Feldmann, H. M., Golozoubova, V., Cannon, B., & Nedergaard, J. (2009). UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice

- exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metab*, 9(2), 203-209. doi:S1550-4131(08)00421-X [pii]10.1016/j.cmet.2008.12.014
- Fernandez-Ruiz, J., & Gonzales, S. (2005). Cannabinoid control of motor function at the basal ganglia. *Handb Exp Pharmacol*(168), 479-507.
- Ferrara, N. (2004). Vascular endothelial growth factor as a target for anticancer therapy. *Oncologist*, 9 Suppl 1, 2-10.
- Ferrara, N., Damico, L., Shams, N., Lowman, H., & Kim, R. (2006). Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina*, 26(8), 859-870. doi:10.1097/01.iae.0000242842.14624.e700006982-200610000-00002 [pii]
- Ferrara, N., Hillan, K. J., & Novotny, W. (2005). Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun*, 333(2), 328-335. doi:S0006-291X(05)01134-4 [pii]10.1016/j.bbrc.2005.05.132
- Feve, B., & Bastard, J. P. (2009). The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 5(6), 305-311. doi:nrendo.2009.62 [pii]10.1038/nrendo.2009.62
- Flier, J. S. (2001). Diabetes. The missing link with obesity? *Nature*, 409(6818), 292-293. doi:10.1038/35053251
- Fox, K. A., Despres, J. P., Richard, A. J., Brette, S., & Deanfield, J. E. (2009). Does abdominal obesity have a similar impact on cardiovascular disease and diabetes? A study of 91,246 ambulant patients in 27 European countries. *Eur Heart J*, 30(24), 3055-3063. doi:ehp371 [pii]10.1093/eurheartj/ehp371
- Friedman, R. R., & Schwartz, M. B. (2008). Public policy to prevent childhood obesity, and the role of pediatric endocrinologists. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 21(8), 717-725.
- Fruebis, J., Tsao, T. S., Javorschi, S., Ebbets-Reed, D., Erickson, M. R., Yen, F. T., Lodish, H. F. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(4), 2005-2010. doi:10.1073/pnas.041591798041591798 [pii]
- Fruhbeck, G., Aguado, M., & Martinez, J. A. (1997). In vitro lipolytic effect of leptin on mouse adipocytes: evidence for a possible autocrine/paracrine role of leptin. *Biochem Biophys Res Commun*, 240(3), 590-594. doi:S0006-291X(97)97716-0 [pii]10.1006/bbrc.1997.7716
- Fu, Z., Gilbert, E. R., & Liu, D. (2012). Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev*, 9(1), 25-53. doi:CDR-EPUB-20120912-1 [pii]
- Gamber, K. M., Macarthur, H., & Westfall, T. C. (2005). Cannabinoids augment the release of neuropeptide Y in the rat hypothalamus. *Neuropharmacology*,

- 49(5), 646-652. doi:S0028-3908(05)00166-8
[pii]10.1016/j.neuropharm.2005.04.017
- Garin, M. C., Burns, C. M., Kaul, S., & Cappola, A. R. (2013). Clinical review: The human experience with ghrelin administration. *J Clin Endocrinol Metab*, *98*(5), 1826-1837. doi:jc.2012-4247 [pii]10.1210/jc.2012-4247
- Garlanda, C., Dinarello, C. A., & Mantovani, A. (2013). The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*, *39*(6), 1003-1018. doi:S1074-7613(13)00515-3 [pii]10.1016/j.immuni.2013.11.010
- Garvey, W. T., Maianu, L., Zhu, J. H., Brechtel-Hook, G., Wallace, P., & Baron, A. D. (1998). Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. *J Clin Invest*, *101*(11), 2377-2386. doi:10.1172/JCI1557
- Gesta, S., Tseng, Y. H., & Kahn, C. R. (2007). Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, *131*(2), 242-256. doi:S0092-8674(07)01272-X [pii]10.1016/j.cell.2007.10.004
- Ghosh, A. K., & Vaughan, D. E. (2011). PAI-1 in tissue fibrosis. *J Cell Physiol*, *227*(2), 493-507. doi:10.1002/jcp.22783
- Ginsberg, H. N., Zhang, Y. L., & Hernandez-Ono, A. (2005). Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res*, *36*(3), 232-240. doi:S0188-4409(05)00006-8 [pii]10.1016/j.arcmed.2005.01.005
- Glass, C. K., & Saijo, K. (2010). Nuclear receptor transrepression pathways that regulate inflammation in macrophages and T cells. *Nat Rev Immunol*, *10*(5), 365-376. doi:nri2748 [pii]10.1038/nri2748
- Goldfine, A. B., Silver, R., Aldhahi, W., Cai, D., Tatro, E., Lee, J., & Shoelson, S. E. (2008). Use of salsalate to target inflammation in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes. *Clin Transl Sci*, *1*(1), 36-43. doi:10.1111/j.1752-8062.2008.00026.x
- Goldstein, B. J., Scalia, R. G., & Ma, X. L. (2009). Protective vascular and myocardial effects of adiponectin. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, *6*(1), 27-35. doi:ncpcardio1398 [pii]10.1038/ncpcardio1398
- Goodman, E., Daniels, S. R., Morrison, J. A., Huang, B., & Dolan, L. M. (2004). Contrasting prevalence of and demographic disparities in the World Health Organization and National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III definitions of metabolic syndrome among adolescents. *J Pediatr*, *145*(4), 445-451. doi:S0022-3476(04)00380-4 [pii]10.1016/j.jpeds.2004.04.059
- Gordon, S. (2007). Macrophage heterogeneity and tissue lipids. *J Clin Invest*, *117*(1), 89-93. doi:10.1172/JCI30992
- Graham, T. E., Yang, Q., Bluher, M., Hammarstedt, A., Ciaraldi, T. P., Henry, R. R., Kahn, B. B. (2006). Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med*, *354*(24), 2552-2563. doi:354/24/2552 [pii]10.1056/NEJMoa054862

- Graner, M., Siren, R., Nyman, K., Lundbom, J., Hakkarainen, A., Pentikainen, M. O., Taskinen, M. R. (2013). Cardiac steatosis associates with visceral obesity in nondiabetic obese men. *J Clin Endocrinol Metab*, *98*(3), 1189-1197. doi:10.1210/jc.2012-3190 [pii]10.1210/jc.2012-3190
- Gregoire, F. M., Smas, C. M., & Sul, H. S. (1998). Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev*, *78*(3), 783-809.
- Grygiel-Gorniak, B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications--a review. *Nutr J*, *13*, 17. doi:10.1186/1475-2891-13-17 [pii]10.1186/1475-2891-13-17
- Gustafson, B., Gogg, S., Hedjazifar, S., Jenndahl, L., Hammarstedt, A., & Smith, U. (2009). Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *297*(5), E999-E1003. doi:10.1152/ajpendo.00377.2009 [pii]10.1152/ajpendo.00377.2009
- Gustafson, B., Hedjazifar, S., Gogg, S., Hammarstedt, A., & Smith, U. (2015). Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab*, *26*(4), 193-200. doi:10.1016/j.tem.2015.01.006 [pii]10.1016/j.tem.2015.01.006
- Hannon, T. S., Janosky, J., & Arslanian, S. A. (2006). Longitudinal study of physiologic insulin resistance and metabolic changes of puberty. *Pediatr Res*, *60*(6), 759-763. doi:10.1203/01.pdr.0000246097.73031.27 [pii]10.1203/01.pdr.0000246097.73031.27
- Hansen, P. A., Gulve, E. A., Marshall, B. A., Gao, J., Pessin, J. E., Holloszy, J. O., & Mueckler, M. (1995). Skeletal muscle glucose transport and metabolism are enhanced in transgenic mice overexpressing the Glut4 glucose transporter. *J Biol Chem*, *270*(4), 1679-1684.
- Hanus, C., Vannier, C., & Triller, A. (2004). Intracellular association of glycine receptor with gephyrin increases its plasma membrane accumulation rate. *J Neurosci*, *24*(5), 1119-1128. doi:10.1523/JNEUROSCI.4380-03.2004 [pii]10.1523/JNEUROSCI.4380-03.2004
- Hao, S., Avraham, Y., Mechoulam, R., & Berry, E. M. (2000). Low dose anandamide affects food intake, cognitive function, neurotransmitter and corticosterone levels in diet-restricted mice. *Eur J Pharmacol*, *392*(3), 147-156. doi:10.1016/S0014299900000595 [pii]10.1016/S0014299900000595
- Hardie, D. G. (2007). AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *8*(10), 774-785. doi:10.1038/nrm2249 [pii]10.1038/nrm2249
- Hassan, M. I., Waheed, A., Yadav, S., Singh, T. P., & Ahmad, F. (2008). Zinc alpha 2-glycoprotein: a multidisciplinary protein. *Mol Cancer Res*, *6*(6), 892-906. doi:10.1158/1541-7786.MCR-07-2195 [pii]10.1158/1541-7786.MCR-07-2195
- He, W., Barak, Y., Hevener, A., Olson, P., Liao, D., Le, J., Evans, R. M. (2003). Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor gamma knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(26), 15712-15717. doi:10.1073/pnas.2536828100 [pii]10.1073/pnas.2536828100

- Heiker, J. T. (2014). Vaspin (serpinA12) in obesity, insulin resistance, and inflammation. *J Pept Sci*, *20*(5), 299-306. doi:10.1002/psc.2621
- Heiker, J. T., Kosel, D., & Beck-Sickinger, A. G. (2010). Molecular mechanisms of signal transduction via adiponectin and adiponectin receptors. *Biol Chem*, *391*(9), 1005-1018. doi:10.1515/BC.2010.104
- Heikkinen, S., Auwerx, J., & Argmann, C. A. (2007). PPARgamma in human and mouse physiology. *Biochim Biophys Acta*, *1771*(8), 999-1013. doi:S1388-1981(07)00061-3 [pii]10.1016/j.bbali.2007.03.006
- Hentges, S. T., Low, M. J., & Williams, J. T. (2005). Differential regulation of synaptic inputs by constitutively released endocannabinoids and exogenous cannabinoids. *J Neurosci*, *25*(42), 9746-9751. doi:25/42/9746 [pii]10.1523/JNEUROSCI.2769-05.2005
- Hers, H. G. (1990). Mechanisms of blood glucose homeostasis. *J Inherit Metab Dis*, *13*(4), 395-410.
- Hinson, J. P., Kapas, S., & Smith, D. M. (2000). Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*, *21*(2), 138-167. doi:10.1210/edrv.21.2.0396
- Hocking, S. L., Chisholm, D. J., & James, D. E. (2008). Studies of regional adipose transplantation reveal a unique and beneficial interaction between subcutaneous adipose tissue and the intra-abdominal compartment. *Diabetologia*, *51*(5), 900-902. doi:10.1007/s00125-008-0969-0
- Hofstetter, A., Schutz, Y., Jequier, E., & Wahren, J. (1986). Increased 24-hour energy expenditure in cigarette smokers. *N Engl J Med*, *314*(2), 79-82. doi:10.1056/NEJM198601093140204
- Horvath, T. L., Bechmann, I., Naftolin, F., Kalra, S. P., & Leranth, C. (1997). Heterogeneity in the neuropeptide Y-containing neurons of the rat arcuate nucleus: GABAergic and non-GABAergic subpopulations. *Brain Res*, *756*(1-2), 283-286. doi:S0006-8993(97)00184-4 [pii]
- Hotamisligil, G. S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M. F., & Spiegelman, B. M. (1996). IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science*, *271*(5249), 665-668.
- Hotta, K., Funahashi, T., Arita, Y., Takahashi, M., Matsuda, M., Okamoto, Y., Matsuzawa, Y. (2000). Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *20*(6), 1595-1599.
- Houston, T. K., Person, S. D., Pletcher, M. J., Liu, K., Iribarren, C., & Kiefe, C. I. (2006). Active and passive smoking and development of glucose intolerance among young adults in a prospective cohort: CARDIA study. *BMJ*, *332*(7549), 1064-1069. doi:bmj.38779.584028.55 [pii]10.1136/bmj.38779.584028.55
- Howlett, A. C., Breivogel, C. S., Childers, S. R., Deadwyler, S. A., Hampson, R. E., & Porrino, L. J. (2004). Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*, *47 Suppl 1*, 345-358. doi:S0028390804002205 [pii]10.1016/j.neuropharm.2004.07.030

- Howlett, K. F., Sakamoto, K., Garnham, A., Cameron-Smith, D., & Hargreaves, M. (2007). Resistance exercise and insulin regulate AS160 and interaction with 14-3-3 in human skeletal muscle. *Diabetes*, *56*(6), 1608-1614. doi:db06-1398 [pii]10.2337/db06-1398
- Huang, J., Imamura, T., & Olefsky, J. M. (2001). Insulin can regulate GLUT4 internalization by signaling to Rab5 and the motor protein dynein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *98*(23), 13084-13089. doi:10.1073/pnas.241368698241368698 [pii]
- Huang, W., & Glass, C. K. (2010). Nuclear receptors and inflammation control: molecular mechanisms and pathophysiological relevance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *30*(8), 1542-1549. doi:30/8/1542 [pii]10.1161/ATVBAHA.109.191189
- Huerta, M. G. (2006). Adiponectin and leptin: potential tools in the differential diagnosis of pediatric diabetes? *Rev Endocr Metab Disord*, *7*(3), 187-196. doi:10.1007/s11154-006-9017-x
- Hug, C., Wang, J., Ahmad, N. S., Bogan, J. S., Tsao, T. S., & Lodish, H. F. (2004). T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(28), 10308-10313. doi:10.1073/pnas.04033821010403382101 [pii]
- Insel, T. R. (2010). The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron*, *65*(6), 768-779. doi:S0896-6273(10)00176-5 [pii]10.1016/j.neuron.2010.03.005
- Jazet, I. M., Pijl, H., & Meinders, A. E. (2003). Adipose tissue as an endocrine organ: impact on insulin resistance. *Neth J Med*, *61*(6), 194-212.
- Jespersen, N. Z., Larsen, T. J., Peijs, L., Dagaard, S., Homoe, P., Loft, A., Scheele, C. (2013). A classical brown adipose tissue mRNA signature partly overlaps with brite in the supraclavicular region of adult humans. *Cell Metab*, *17*(5), 798-805. doi:S1550-4131(13)00154-X [pii]10.1016/j.cmet.2013.04.011
- Jiang, Z. Y., Zhou, Q. L., Coleman, K. A., Chouinard, M., Boese, Q., & Czech, M. P. (2003). Insulin signaling through Akt/protein kinase B analyzed by small interfering RNA-mediated gene silencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(13), 7569-7574. doi:10.1073/pnas.13326331001332633100 [pii]
- Judge, M. K., Zhang, Y., & Scarpace, P. J. (2009). Responses to the cannabinoid receptor-1 antagonist, AM251, are more robust with age and with high-fat feeding. *J Endocrinol*, *203*(2), 281-290. doi:JOE-09-0210 [pii]10.1677/JOE-09-0210
- Jumpertz, R., Guijarro, A., Pratley, R. E., Mason, C. C., Piomelli, D., & Krakoff, J. (2012). Associations of fatty acids in cerebrospinal fluid with peripheral glucose concentrations and energy metabolism. *PLoS One*, *7*(7), e41503. doi:10.1371/journal.pone.0041503PONE-D-12-03258 [pii]

- Kaczocha, M., Vivieca, S., Sun, J., Glaser, S. T., & Deutsch, D. G. (2011). Fatty acid-binding proteins transport N-acyl ethanolamines to nuclear receptors and are targets of endocannabinoid transport inhibitors. *J Biol Chem*, *287*(5), 3415-3424. doi:M111.304907 [pii]10.1074/jbc.M111.304907
- Kadowaki, T., & Yamauchi, T. (2005). Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*, *26*(3), 439-451. doi:26/3/439 [pii]10.1210/er.2005-0005
- Kadowaki, T., Yamauchi, T., & Kubota, N. (2008). The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett*, *582*(1), 74-80. doi:S0014-5793(07)01224-0 [pii]10.1016/j.febslet.2007.11.070
- Kahn, B. B., & Pedersen, O. (1993). Suppression of GLUT4 expression in skeletal muscle of rats that are obese from high fat feeding but not from high carbohydrate feeding or genetic obesity. *Endocrinology*, *132*(1), 13-22. doi:10.1210/endo.132.1.8419118
- Kajimura, S., Seale, P., Kubota, K., Lunsford, E., Frangioni, J. V., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2009). Initiation of myoblast to brown fat switch by a PRDM16-C/EBP-beta transcriptional complex. *Nature*, *460*(7259), 1154-1158. doi:nature08262 [pii]10.1038/nature08262
- Katz, E. B., Stenbit, A. E., Hatton, K., DePinho, R., & Charron, M. J. (1995). Cardiac and adipose tissue abnormalities but not diabetes in mice deficient in GLUT4. *Nature*, *377*(6545), 151-155. doi:10.1038/377151a0
- Kawano, J., & Arora, R. (2009). The role of adiponectin in obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *J Cardiometab Syndr*, *4*(1), 44-49. doi:CMS030 [pii]10.1111/j.1559-4572.2008.00030.x
- Kawano, T., Saito, T., Yasu, T., Nakamura, T., Namai, K., Tamemoto, H., Ishikawa, S. E. (2005). Close association of hypo adiponectinemia with arteriosclerosis obliterans and ischemic heart disease. *Metabolism*, *54*(5), 653-656. doi:S0026049505000090 [pii]10.1016/j.metabol.2004.12.009
- Kempf, K., Hector, J., Strate, T., Schwarzloh, B., Rose, B., Herder, C., Algenstaedt, P. (2007). Immune-mediated activation of the endocannabinoid system in visceral adipose tissue in obesity. *Horm Metab Res*, *39*(8), 596-600. doi:10.1055/s-2007-984459
- Kim, J. Y., van de Wall, E., Laplante, M., Azzara, A., Trujillo, M. E., Hofmann, S. M., Scherer, P. E. (2007). Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J Clin Invest*, *117*(9), 2621-2637. doi:10.1172/JCI31021
- Kim, M. S., Small, C. J., Stanley, S. A., Morgan, D. G., Seal, L. J., Kong, W. M., Bloom, S. R. (2000). The central melanocortin system affects the hypothalamo-pituitary thyroid axis and may mediate the effect of leptin. *J Clin Invest*, *105*(7), 1005-1011. doi:10.1172/JCI8857
- Kimura, A., Baumann, C. A., Chiang, S. H., & Saltiel, A. R. (2001). The sorbin homology domain: a motif for the targeting of proteins to lipid rafts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *98*(16), 9098-9103. doi:10.1073/pnas.15125289898/16/9098 [pii]

- Kirkham, T. C., Williams, C. M., Fezza, F., & Di Marzo, V. (2002). Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol*, *136*(4), 550-557. doi:10.1038/sj.bjp.0704767
- Kizer, J. R., Arnold, A. M., Benkeser, D., Ix, J. H., Djousse, L., Ziemann, S. J., Mukamal, K. J. (2011). Total and high-molecular-weight adiponectin and risk of incident diabetes in older people. *Diabetes Care*, *35*(2), 415-423. doi:dc11-1519 [pii]10.2337/dc11-1519
- Klein, T. W., Newton, C., Larsen, K., Lu, L., Perkins, I., Nong, L., & Friedman, H. (2003). The cannabinoid system and immune modulation. *J Leukoc Biol*, *74*(4), 486-496. doi:10.1189/jlb.0303101jlb.0303101 [pii]
- Klok, M. D., Jakobsdottir, S., & Drent, M. L. (2007). The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*, *8*(1), 21-34. doi:OBR270 [pii]10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x
- Kloting, N., Fasshauer, M., Dietrich, A., Kovacs, P., Schon, M. R., Kern, M., Bluher, M. (2010). Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *299*(3), E506-515. doi:ajpendo.00586.2009 [pii]10.1152/ajpendo.00586.2009
- Knutson, K. L. (2012). Does inadequate sleep play a role in vulnerability to obesity? *Am J Hum Biol*, *24*(3), 361-371. doi:10.1002/ajhb.22219
- Koh, Y. J., Park, B. H., Park, J. H., Han, J., Lee, I. K., Park, J. W., & Koh, G. Y. (2009). Activation of PPAR gamma induces profound multilocularization of adipocytes in adult mouse white adipose tissues. *Exp Mol Med*, *41*(12), 880-895. doi:10.3858/emm.2009.41.12.094
- Kohn, A. D., Barthel, A., Kovacina, K. S., Boge, A., Wallach, B., Summers, S. A., Roth, R. A. (1998). Construction and characterization of a conditionally active version of the serine/threonine kinase Akt. *J Biol Chem*, *273*(19), 11937-11943.
- Kohn, A. D., Summers, S. A., Birnbaum, M. J., & Roth, R. A. (1996). Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J Biol Chem*, *271*(49), 31372-31378.
- Kontani, Y., Wang, Y., Kimura, K., Inokuma, K. I., Saito, M., Suzuki-Miura, T., Yamashita, H. (2005). UCP1 deficiency increases susceptibility to diet-induced obesity with age. *Aging Cell*, *4*(3), 147-155. doi:ACE157 [pii]10.1111/j.1474-9726.2005.00157.x
- Koppaka, S., Kehlenbrink, S., Carey, M., Li, W., Sanchez, E., Lee, D. E., Hawkins, M. (2013). Reduced adipose tissue macrophage content is associated with improved insulin sensitivity in thiazolidinedione-treated diabetic humans. *Diabetes*, *62*(6), 1843-1854. doi:db12-0868 [pii]10.2337/db12-0868
- Kouidhi, S., Berrhouma, R., Rouissi, K., Jarboui, S., Clerget-Froidevaux, M. S., Seugnet, I., Elgaaied, A. B. (2011). Human subcutaneous adipose tissue Glut 4 mRNA expression in obesity and type 2 diabetes. *Acta Diabetol*, *50*(2), 227-232. doi:10.1007/s00592-011-0295-8

- Kunos, G., & Tam, J. (2011). The case for peripheral CB(1) receptor blockade in the treatment of visceral obesity and its cardiometabolic complications. *Br J Pharmacol*, *163*(7), 1423-1431. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01352.x
- Kusminski, C. M., McTernan, P. G., & Kumar, S. (2005). Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)*, *109*(3), 243-256. doi:CS20050078 [pii]10.1042/CS20050078
- Lambert, D. M., & Di Marzo, V. (1999). The palmitoylethanolamide and oleamide enigmas : are these two fatty acid amides cannabimimetic? *Curr Med Chem*, *6*(8), 757-773.
- Large, V., Peroni, O., Letexier, D., Ray, H., & Beylot, M. (2004). Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes Metab*, *30*(4), 294-309. doi:MDOI-DM-04-2004-30-4-1262-3636-101019-ART1 [pii]
- Lawson, C. L., Swigon, D., Murakami, K. S., Darst, S. A., Berman, H. M., & Ebright, R. H. (2004). Catabolite activator protein: DNA binding and transcription activation. *Curr Opin Struct Biol*, *14*(1), 10-20. doi:10.1016/j.sbi.2004.01.012S0959440X04000132 [pii]
- Leibowitz, S. F., & Wortley, K. E. (2004). Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides*, *25*(3), 473-504. doi:10.1016/j.peptides.2004.02.006S0196978104000786 [pii]
- Lewis, G. F., Uffelman, K. D., Szeto, L. W., & Steiner, G. (1993). Effects of acute hyperinsulinemia on VLDL triglyceride and VLDL apoB production in normal weight and obese individuals. *Diabetes*, *42*(6), 833-842.
- Li, C., Bowe, J. E., Huang, G. C., Amiel, S. A., Jones, P. M., & Persaud, S. J. (2011). Cannabinoid receptor agonists and antagonists stimulate insulin secretion from isolated human islets of Langerhans. *Diabetes Obes Metab*, *13*(10), 903-910. doi:10.1111/j.1463-1326.2011.01422.x
- Lin, H., & Li, Z. (2011). Adiponectin self-regulates its expression and multimerization in adipose tissue: an autocrine/paracrine mechanism? *Med Hypotheses*, *78*(1), 75-78. doi:S0306-9877(11)00498-1 [pii]10.1016/j.mehy.2011.07.063
- Lindborg, K. A., Teachey, M. K., Jacob, S., & Henriksen, E. J. (2010). Effects of in vitro antagonism of endocannabinoid-1 receptors on the glucose transport system in normal and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes Obes Metab*, *12*(8), 722-730. doi:DOM1227 [pii]10.1111/j.1463-1326.2010.01227.x
- Liu, J., Kimura, A., Baumann, C. A., & Saltiel, A. R. (2002). APS facilitates c-Cbl tyrosine phosphorylation and GLUT4 translocation in response to insulin in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol*, *22*(11), 3599-3609.
- Liu, M., Zhou, L., Xu, A., Lam, K. S., Wetzel, M. D., Xiang, R., Liu, F. (2008). A disulfide-bond A oxidoreductase-like protein (DsbA-L) regulates adiponectin multimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(47), 18302-18307. doi:0806341105 [pii]10.1073/pnas.0806341105
- Liu, Q. R., Pan, C. H., Hishimoto, A., Li, C. Y., Xi, Z. X., Llorente-Berzal, A., Uhl, G. R. (2009). Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue

- expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav*, 8(5), 519-530. doi:GBB498 [pii]10.1111/j.1601-183X.2009.00498.x
- Long, J. Z., Svensson, K. J., Tsai, L., Zeng, X., Roh, H. C., Kong, X., Spiegelman, B. M. (2014). A smooth muscle-like origin for beige adipocytes. *Cell Metab*, 19(5), 810-820. doi:S1550-4131(14)00130-2 [pii]10.1016/j.cmet.2014.03.025
- Lonn, L., Johansson, G., Sjostrom, L., Kvist, H., Oden, A., & Bengtsson, B. A. (1996). Body composition and tissue distributions in growth hormone deficient adults before and after growth hormone treatment. *Obes Res*, 4(1), 45-54.
- Lucas, A., Sarson, D. L., Blackburn, A. M., Adrian, T. E., Aynsley-Green, A., & Bloom, S. R. (1980). Breast vs bottle: endocrine responses are different with formula feeding. *Lancet*, 1(8181), 1267-1269. doi:S0140-6736(80)91731-6 [pii]
- Lumeng, C. N., Bodzin, J. L., & Saltiel, A. R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*, 117(1), 175-184. doi:10.1172/JCI29881
- Lumeng, C. N., Deyoung, S. M., & Saltiel, A. R. (2007). Macrophages block insulin action in adipocytes by altering expression of signaling and glucose transport proteins. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292(1), E166-174. doi:00284.2006 [pii]
- Lutz, B. (2007). The endocannabinoid system and extinction learning. *Mol Neurobiol*, 36(1), 92-101. doi:10.1007/s12035-007-8004-x
- Maccarrone, M., Bari, M., Battista, N., Di Rienzo, M., & Finazzi-Agro, A. (2001). Endogenous cannabinoids in neuronal and immune cells: toxic effects, levels and degradation. *Funct Neurol*, 16(4 Suppl), 53-60.
- Maccarrone, M., Pauselli, R., Di Rienzo, M., & Finazzi-Agro, A. (2002). Binding, degradation and apoptotic activity of stearoylethanolamide in rat C6 glioma cells. *Biochem J*, 366(Pt 1), 137-144. doi:10.1042/BJ20020438BJ20020438 [pii]
- Mackie, K. (2008). Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *J Neuroendocrinol*, 20 Suppl 1, 10-14. doi:JNE1671 [pii]10.1111/j.1365-2826.2008.01671.x
- Malcher-Lopes, R., Di, S., Marcheselli, V. S., Weng, F. J., Stuart, C. T., Bazan, N. G., & Tasker, J. G. (2006). Opposing crosstalk between leptin and glucocorticoids rapidly modulates synaptic excitation via endocannabinoid release. *J Neurosci*, 26(24), 6643-6650. doi:26/24/6643 [pii]10.1523/JNEUROSCI.5126-05.2006
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2007). AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, 129(7), 1261-1274. doi:S0092-8674(07)00775-1 [pii]10.1016/j.cell.2007.06.009
- Mao, X., Kikani, C. K., Riojas, R. A., Langlais, P., Wang, L., Ramos, F. J., Dong, L. Q. (2006). APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol*, 8(5), 516-523. doi:ncb1404 [pii]10.1038/ncb1404

- Martin, S. S., Haruta, T., Morris, A. J., Klippel, A., Williams, L. T., & Olefsky, J. M. (1996). Activated phosphatidylinositol 3-kinase is sufficient to mediate actin rearrangement and GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, *271*(30), 17605-17608.
- Matias, I., Gonthier, M. P., Orlando, P., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Cervino, C., Di Marzo, V. (2006). Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab*, *91*(8), 3171-3180. doi:10.1210/jc.2005-2679 [pii]
- Matsumoto, M., Han, S., Kitamura, T., & Accili, D. (2006). Dual role of transcription factor FoxO1 in controlling hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism. *J Clin Invest*, *116*(9), 2464-2472. doi:10.1172/JCI27047
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, *28*(7), 412-419.
- McCarthy, H. D., Jarrett, K. V., & Crawley, H. F. (2001). The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0-16.9 y. *Eur J Clin Nutr*, *55*(10), 902-907. doi:10.1038/sj.ejcn.1601240
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N. E., Schatz, A. R., . . . et al. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*, *50*(1), 83-90. doi:10.1016/0006-2952(95)00109-D [pii]
- Mechoulam, R., & Gaoni, Y. (1965). A Total Synthesis of Δ^1 -Tetrahydrocannabinol, the Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc*, *87*, 3273-3275.
- Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2012). The endocannabinoid system and the brain. *Annu Rev Psychol*, *64*, 21-47. doi:10.1146/annurev-psych-113011-143739
- Merkler, D. J., Merkler, K. A., Stern, W., & Fleming, F. F. (1996). Fatty acid amide biosynthesis: a possible new role for peptidylglycine alpha-amidating enzyme and acyl-coenzyme A: glycine N-acyltransferase. *Arch Biochem Biophys*, *330*(2), 430-434. doi:10.1006/abbi.1996.0272 [pii]
- Meyer-Lindenberg, A., Domes, G., Kirsch, P., & Heinrichs, M. (2011). Oxytocin and vasopressin in the human brain: social neuropeptides for translational medicine. *Nat Rev Neurosci*, *12*(9), 524-538. doi:10.1038/nrn3044 [pii]
- Miller, J., Rosenbloom, A., & Silverstein, J. (2004). Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, *89*(9), 4211-4218. doi:10.1210/jc.2004-028489 [pii]
- Mokdad, A. H., Bowman, B. A., Ford, E. S., Vinicor, F., Marks, J. S., & Koplan, J. P. (2001). The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA*, *286*(10), 1195-1200. doi:10.1001/jama.286.10.1195 [pii]
- Monteleone, P., Matias, I., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Maj, M., & Di Marzo, V. (2005). Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa.

Neuropsychopharmacology, 30(6), 1216-1221. doi:1300695
[pii]10.1038/sj.npp.1300695

- Mora, A., Komander, D., van Aalten, D. M., & Alessi, D. R. (2004). PDK1, the master regulator of AGC kinase signal transduction. *Semin Cell Dev Biol*, 15(2), 161-170. doi:S1084-9521(03)00127-7 [pii]
- Moretti, C., Frajese, G. V., Guccione, L., Wannenes, F., De Martino, M. U., Fabbri, A., & Frajese, G. (2005). Androgens and body composition in the aging male. *J Endocrinol Invest*, 28(3 Suppl), 56-64.
- Motaghedi, R., & McGraw, T. E. (2008). The CB1 endocannabinoid system modulates adipocyte insulin sensitivity. *Obesity (Silver Spring)*, 16(8), 1727-1734. doi:oby2008309 [pii]10.1038/oby.2008.309
- Mottillo, E. P., Balasubramanian, P., Lee, Y. H., Weng, C., Kershaw, E. E., & Granneman, J. G. (2014). Coupling of lipolysis and de novo lipogenesis in brown, beige, and white adipose tissues during chronic beta3-adrenergic receptor activation. *J Lipid Res*, 55(11), 2276-2286. doi:jlrm050005 [pii]10.1194/jlr.M050005
- Muccioli, G. G., Naslain, D., Backhed, F., Reigstad, C. S., Lambert, D. M., Delzenne, N. M., & Cani, P. D. (2010). The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol*, 6, 392. doi:msb201046 [pii]10.1038/msb.2010.46
- Muhl, A., Herkner, K. R., & Swoboda, W. (1992). [The mid-growth spurt--a pre-puberty growth spurt. Review of its significance and biological correlations]. *Pediatr Padol*, 27(5), 119-123.
- Muoio, D. M., & Newgard, C. B. (2005). Metabolism: A is for adipokine. *Nature*, 436(7049), 337-338. doi:436337a [pii]10.1038/436337a
- Murdolo, G., Kempf, K., Hammarstedt, A., Herder, C., Smith, U., & Jansson, P. A. (2007). Insulin differentially modulates the peripheral endocannabinoid system in human subcutaneous abdominal adipose tissue from lean and obese individuals. *J Endocrinol Invest*, 30(8), RC17-21. doi:3973 [pii]10.1007/BF03347440
- Murphy, K. G., & Bloom, S. R. (2006). Are all fats created equal? *Nat Med*, 12(1), 32-33. doi:nm0106-32 [pii]10.1038/nm0106-32
- Murphy, M. J., Metcalf, B. S., Voss, L. D., Jeffery, A. N., Kirkby, J., Mallam, K. M., & Wilkin, T. J. (2004). Girls at five are intrinsically more insulin resistant than boys: The Programming Hypotheses Revisited--The EarlyBird Study (EarlyBird 6). *Pediatrics*, 113(1 Pt 1), 82-86.
- Must, A., & Anderson, S. E. (2006). Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. *Int J Obes (Lond)*, 30(4), 590-594. doi:0803300 [pii]10.1038/sj.ijo.0803300
- Naimi, M., Gautier, N., Chaussade, C., Valverde, A. M., Accili, D., & Van Obberghen, E. (2007). Nuclear forkhead box O1 controls and integrates key signaling pathways in hepatocytes. *Endocrinology*, 148(5), 2424-2434. doi:en.2006-1411 [pii]10.1210/en.2006-1411

- Nedergaard, J., Bengtsson, T., & Cannon, B. (2007). Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293(2), E444-452. doi:00691.2006 [pii]10.1152/ajpendo.00691.2006
- Neeland, I. J., Turer, A. T., Ayers, C. R., Powell-Wiley, T. M., Vega, G. L., Farzaneh-Far, R., de Lemos, J. A. (2012). Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. *JAMA*, 308(11), 1150-1159. doi:1360863 [pii]10.1001/2012.jama.11132
- Neumeier, M., Weigert, J., Schaffler, A., Wehrwein, G., Muller-Ladner, U., Scholmerich, J., Buechler, C. (2006). Different effects of adiponectin isoforms in human monocytic cells. *J Leukoc Biol*, 79(4), 803-808. doi:jl.b.0905521 [pii]10.1189/jlb.0905521
- Norseen, J., Hosooka, T., Hammarstedt, A., Yore, M. M., Kant, S., Aryal, P., Kahn, B. B. (2012). Retinol-binding protein 4 inhibits insulin signaling in adipocytes by inducing proinflammatory cytokines in macrophages through a c-Jun N-terminal kinase- and toll-like receptor 4-dependent and retinol-independent mechanism. *Mol Cell Biol*, 32(10), 2010-2019. doi:MCB.06193-11 [pii]10.1128/MCB.06193-11
- O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. (2013). The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrinol*, 219(1), R13-35. doi:JOE-13-0227 [pii]10.1530/JOE-13-0227
- Oddi, S., Fezza, F., Pasquariello, N., De Simone, C., Rapino, C., Dainese, E., Maccarrone, M. (2008). Evidence for the intracellular accumulation of anandamide in adiposomes. *Cell Mol Life Sci*, 65(5), 840-850. doi:10.1007/s00018-008-7494-7
- Odegaard, J. I., Ricardo-Gonzalez, R. R., Red Eagle, A., Vats, D., Morel, C. R., Goforth, M. H., Chawla, A. (2008). Alternative M2 activation of Kupffer cells by PPARdelta ameliorates obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab*, 7(6), 496-507. doi:S1550-4131(08)00113-7 [pii]10.1016/j.cmet.2008.04.003
- Ohashi, K., Shibata, R., Murohara, T., & Ouchi, N. (2014). Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends Endocrinol Metab*, 25(7), 348-355. doi:S1043-2760(14)00056-3 [pii]10.1016/j.tem.2014.03.009
- Okada, T., Kawano, Y., Sakakibara, T., Hazeki, O., & Ui, M. (1994). Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. Studies with a selective inhibitor wortmannin. *J Biol Chem*, 269(5), 3568-3573.
- Ono, K., & Han, J. (2000). The p38 signal transduction pathway: activation and function. *Cell Signal*, 12(1), 1-13. doi:S0898-6568(99)00071-6 [pii]
- Orava, J., Nuutila, P., Lidell, M. E., Oikonen, V., Noponen, T., Viljanen, T., Virtanen, K. A. (2011). Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. *Cell Metab*, 14(2), 272-279. doi:S1550-4131(11)00261-0 [pii]10.1016/j.cmet.2011.06.012

- Osei-Hyiaman, D., DePetrillo, M., Pacher, P., Liu, J., Radaeva, S., Batkai, S., Kunos, G. (2005). Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*, *115*(5), 1298-1305. doi:10.1172/JCI23057
- Osei-Hyiaman, D., Liu, J., Zhou, L., Godlewski, G., Harvey-White, J., Jeong, W. I., Kunos, G. (2008). Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. *J Clin Invest*, *118*(9), 3160-3169. doi:10.1172/JCI34827
- Otsuka, F., Sugiyama, S., Kojima, S., Maruyoshi, H., Funahashi, T., Matsui, K., Ogawa, H. (2006). Plasma adiponectin levels are associated with coronary lesion complexity in men with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, *48*(6), 1155-1162. doi:S0735-1097(06)01735-9 [pii]10.1016/j.jacc.2006.05.054
- Otto, T. C., & Lane, M. D. (2005). Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, *40*(4), 229-242. doi:X46284785127J2R7 [pii]10.1080/10409230591008189
- Pacher, P., Batkai, S., & Kunos, G. (2006). The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev*, *58*(3), 389-462. doi:58/3/389 [pii]10.1124/pr.58.3.2
- Pagano, C., Pilon, C., Calcagno, A., Urbanet, R., Rossato, M., Milan, G., Vettor, R. (2007). The endogenous cannabinoid system stimulates glucose uptake in human fat cells via phosphatidylinositol 3-kinase and calcium-dependent mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab*, *92*(12), 4810-4819. doi:jc.2007-0768 [pii]10.1210/jc.2007-0768
- Pagano, C., Rossato, M., & Vettor, R. (2008). Endocannabinoids, adipose tissue and lipid metabolism. *J Neuroendocrinol*, *20 Suppl 1*, 124-129. doi:JNE1690 [pii]10.1111/j.1365-2826.2008.01690.x
- Pagotto, U., Marsicano, G., Cota, D., Lutz, B., & Pasquali, R. (2006). The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev*, *27*(1), 73-100. doi:er.2005-0009 [pii]10.1210/er.2005-0009
- Pagotto, U., Vicennati, V., & Pasquali, R. (2005). The endocannabinoid system and the treatment of obesity. *Ann Med*, *37*(4), 270-275. doi:MQ5760402V13R055 [pii]10.1080/07853890510037419
- Pajvani, U. B., Hawkins, M., Combs, T. P., Rajala, M. W., Doebber, T., Berger, J. P., Scherer, P. E. (2004). Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem*, *279*(13), 12152-12162. doi:10.1074/jbc.M311113200M311113200 [pii]
- Panee, J. (2012). Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*, *60*(1), 1-12. doi:S1043-4666(12)00264-5 [pii]10.1016/j.cyto.2012.06.018

- Park, E. S., Yi, S. J., Kim, J. S., Lee, H. S., Lee, I. S., Seong, J. K., Yoon, Y. S. (2004). Changes in orexin-A and neuropeptide Y expression in the hypothalamus of the fasted and high-fat diet fed rats. *J Vet Sci*, 5(4), 295-302. doi:200412295 [pii]
- Patel, S. R., & Hu, F. B. (2008). Short sleep duration and weight gain: a systematic review. *Obesity (Silver Spring)*, 16(3), 643-653. doi:oby2007118 [pii]10.1038/oby.2007.118
- Peirce, V., Carobbio, S., & Vidal-Puig, A. (2014). The different shades of fat. *Nature*, 510(7503), 76-83. doi:nature13477 [pii]10.1038/nature13477
- Peiro, C., Romacho, T., Carraro, R., & Sanchez-Ferrer, C. F. (2010). Visfatin/PBEF/Nampt: A New Cardiovascular Target? *Front Pharmacol*, 1, 135. doi:10.3389/fphar.2010.00135
- Perusse, L., Chagnon, Y. C., Weisnagel, J., & Bouchard, C. (1999). The human obesity gene map: the 1998 update. *Obes Res*, 7(1), 111-129.
- Pessin, J. E., & Saltiel, A. R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest*, 106(2), 165-169. doi:10.1172/JCI10582
- Petrovic, N., Walden, T. B., Shabalina, I. G., Timmons, J. A., Cannon, B., & Nedergaard, J. (2009). Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J Biol Chem*, 285(10), 7153-7164. doi:M109.053942 [pii]10.1074/jbc.M109.053942
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci*, 4(11), 873-884. doi:10.1038/nrn1247 [pii]
- Polotsky, H. N., & Polotsky, A. J. (2010). Metabolic implications of menopause. *Semin Reprod Med*, 28(5), 426-434. doi:10.1055/s-0030-1262902
- Qiang, L., Wang, H., & Farmer, S. R. (2007). Adiponectin secretion is regulated by SIRT1 and the endoplasmic reticulum oxidoreductase Ero1-L alpha. *Mol Cell Biol*, 27(13), 4698-4707. doi:MCB.02279-06 [pii]10.1128/MCB.02279-06
- Quarta, C., Bellocchio, L., Mancini, G., Mazza, R., Cervino, C., Brulke, L. J., Pagotto, U. (2010). CB(1) signaling in forebrain and sympathetic neurons is a key determinant of endocannabinoid actions on energy balance. *Cell Metab*, 11(4), 273-285. doi:S1550-4131(10)00070-7 [pii]10.1016/j.cmet.2010.02.015
- Ravinet Trillou, C., Arnone, M., Delgorge, C., Gonalons, N., Keane, P., Maffrand, J. P., & Soubrie, P. (2003). Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284(2), R345-353. doi:10.1152/ajpregu.00545.2002 [pii]
- Reaven, G. M. (1997). Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. *Nutrition*, 13(1), 65; discussion 64, 66. doi:S0899900797806375 [pii]

- Reitman, M. L., Arioglu, E., Gavrilova, O., & Taylor, S. I. (2000). Lipoatrophy revisited. *Trends Endocrinol Metab*, *11*(10), 410-416. doi:S1043-2760(00)00309-X [pii]
- Ren, J. M., Marshall, B. A., Mueckler, M. M., McCaleb, M., Amatruda, J. M., & Shulman, G. I. (1995). Overexpression of Glut4 protein in muscle increases basal and insulin-stimulated whole body glucose disposal in conscious mice. *J Clin Invest*, *95*(1), 429-432. doi:10.1172/JCI117673
- Ribon, V., Printen, J. A., Hoffman, N. G., Kay, B. K., & Saltiel, A. R. (1998). A novel, multifunctional c-Cbl binding protein in insulin receptor signaling in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol*, *18*(2), 872-879.
- Richardson, V. R., Smith, K. A., & Carter, A. M. (2013). Adipose tissue inflammation: feeding the development of type 2 diabetes mellitus. *Immunobiology*, *218*(12), 1497-1504. doi:S0171-2985(13)00097-1 [pii]10.1016/j.imbio.2013.05.002
- Roemmich, J. N., & Rogol, A. D. (1999). Hormonal changes during puberty and their relationship to fat distribution. *Am J Hum Biol*, *11*(2), 209-224. doi:10.1002/(SICI)1520-6300(1999)11:2<209::AID-AJHB9>3.0.CO;2-G [pii]10.1002/(SICI)1520-6300(1999)11:2<209::AID-AJHB9>3.0.CO;2-G
- Rolls, A., Schaich Borg, J., & de Lecea, L. (2010). Sleep and metabolism: role of hypothalamic neuronal circuitry. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, *24*(5), 817-828. doi:S1521-690X(10)00076-X [pii]10.1016/j.beem.2010.08.002
- Rolls, B. J., Castellanos, V. H., Halford, J. C., Kilara, A., Panyam, D., Pelkman, C. L., Thorwart, M. L. (1998). Volume of food consumed affects satiety in men. *Am J Clin Nutr*, *67*(6), 1170-1177.
- Rolls, B. J., Roe, L. S., & Meengs, J. S. (2006). Larger portion sizes lead to a sustained increase in energy intake over 2 days. *J Am Diet Assoc*, *106*(4), 543-549. doi:S0002-8223(06)00015-0 [pii]10.1016/j.jada.2006.01.014
- Ronnemaa, T., Ronnemaa, E. M., Puukka, P., Pyorala, K., & Laakso, M. (1996). Smoking is independently associated with high plasma insulin levels in nondiabetic men. *Diabetes Care*, *19*(11), 1229-1232.
- Rosenwald, M., & Wolfrum, C. (2014). The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte*, *3*(1), 4-9. doi:10.4161/adip.262322013ADIPOCYTE122R [pii]
- Rossi, M., Kim, M. S., Morgan, D. G., Small, C. J., Edwards, C. M., Sunter, D., Bloom, S. R. (1998). A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology*, *139*(10), 4428-4431. doi:10.1210/endo.139.10.6332
- Rothwell, N. J., & Stock, M. J. (1983). Luxuskonsumtion, diet-induced thermogenesis and brown fat: the case in favour. *Clin Sci (Lond)*, *64*(1), 19-23.
- Sader, S., Nian, M., & Liu, P. (2003). Leptin: a novel link between obesity, diabetes, cardiovascular risk, and ventricular hypertrophy. *Circulation*, *108*(6), 644-646. doi:10.1161/01.CIR.0000081427.01306.7D108/6/644 [pii]

- Sahu, A. (2003). Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol*, 24(4), 225-253. doi:S0091302203000475 [pii]
- Saito, T., Jones, C. C., Huang, S., Czech, M. P., & Pilch, P. F. (2007). The interaction of Akt with APPL1 is required for insulin-stimulated Glut4 translocation. *J Biol Chem*, 282(44), 32280-32287. doi:M704150200 [pii]10.1074/jbc.M704150200
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806. doi:10.1038/414799a414799a [pii]
- Saltiel, A. R., & Pessin, J. E. (2003). Insulin signaling in microdomains of the plasma membrane. *Traffic*, 4(11), 711-716. doi:119 [pii]
- Samuel, V. T., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2010). Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet*, 375(9733), 2267-2277. doi:S0140-6736(10)60408-4 [pii]10.1016/S0140-6736(10)60408-4
- Sarbassov, D. D., Guertin, D. A., Ali, S. M., & Sabatini, D. M. (2005). Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*, 307(5712), 1098-1101. doi:307/5712/1098 [pii]10.1126/science.1106148
- Schaffer, J. E. (2003). Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol*, 14(3), 281-287. doi:10.1097/01.mol.0000073508.41685.7f
- Schonbeck, Y., Talma, H., van Dommelen, P., Bakker, B., Buitendijk, S. E., Hirasing, R. A., & van Buuren, S. (2011). Increase in prevalence of overweight in Dutch children and adolescents: a comparison of nationwide growth studies in 1980, 1997 and 2009. *PLoS One*, 6(11), e27608. doi:10.1371/journal.pone.0027608
- Schulz, T. J., Huang, T. L., Tran, T. T., Zhang, H., Townsend, K. L., Shadrach, J. L., Tseng, Y. H. (2010). Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(1), 143-148. doi:1010929108 [pii]10.1073/pnas.1010929108
- Scott, R. A., Fall, T., Pasko, D., Barker, A., Sharp, S. J., Arriola, L., Wareham, N. J. (2014). Common genetic variants highlight the role of insulin resistance and body fat distribution in type 2 diabetes, independent of obesity. *Diabetes*, 63(12), 4378-4387. doi:db14-0319 [pii]10.2337/db14-0319
- Sebert, S. P., Lecannu, G., Kozlowski, F., Siliart, B., Bard, J. M., Krempf, M., & Champ, M. M. (2005). Childhood obesity and insulin resistance in a Yucatan mini-piglet model: putative roles of IGF-1 and muscle PPARs in adipose tissue activity and development. *Int J Obes (Lond)*, 29(3), 324-333. doi:0802823 [pii]10.1038/sj.ijo.0802823
- Sell, H., Deshaies, Y., & Richard, D. (2004). The brown adipocyte: update on its metabolic role. *Int J Biochem Cell Biol*, 36(11), 2098-2104. doi:10.1016/j.biocel.2004.04.003S1357272504001554 [pii]

- Sharma, P. M., Egawa, K., Huang, Y., Martin, J. L., Huvar, I., Boss, G. R., & Olefsky, J. M. (1998). Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase activity by adenovirus-mediated gene transfer and its effect on insulin action. *J Biol Chem*, *273*(29), 18528-18537.
- Sharp, L. Z., Shinoda, K., Ohno, H., Scheel, D. W., Tomoda, E., Ruiz, L., Kajimura, S. (2012). Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells. *PLoS One*, *7*(11), e49452. doi:10.1371/journal.pone.0049452 PONE-D-12-17813 [pii]
- Shepherd, P. R. (2005). Mechanisms regulating phosphoinositide 3-kinase signalling in insulin-sensitive tissues. *Acta Physiol Scand*, *183*(1), 3-12. doi:APS1382 [pii]10.1111/j.1365-201X.2004.01382.x
- Solinas, M., Justinova, Z., Goldberg, S. R., & Tanda, G. (2006). Anandamide administration alone and after inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) increases dopamine levels in the nucleus accumbens shell in rats. *J Neurochem*, *98*(2), 408-419. doi:JNC3880 [pii]10.1111/j.1471-4159.2006.03880.x
- Soria-Gomez, E., Bellocchio, L., Reguero, L., Lepousez, G., Martin, C., Bendahmane, M., . . . Marsicano, G. (2014). The endocannabinoid system controls food intake via olfactory processes. *Nat Neurosci*, *17*(3), 407-415. doi:nn.3647 [pii]10.1038/nn.3647
- Spalding, K. L., Arner, E., Westermark, P. O., Bernard, S., Buchholz, B. A., Bergmann, O., Arner, P. (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, *453*(7196), 783-787. doi:nature06902 [pii]10.1038/nature06902
- Spoto, B., Fezza, F., Parlongo, G., Battista, N., Sgro, E., Gasperi, V., Maccarrone, M. (2006). Human adipose tissue binds and metabolizes the endocannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Biochimie*, *88*(12), 1889-1897. doi:S0300-9084(06)00163-5 [pii]10.1016/j.biochi.2006.07.019
- Stellar, E. (1994). The physiology of motivation. 1954. *Psychol Rev*, *101*(2), 301-311.
- Steppan, C. M., Bailey, S. T., Bhat, S., Brown, E. J., Banerjee, R. R., Wright, C. M., Lazar, M. A. (2001). The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, *409*(6818), 307-312. doi:10.1038/35053000
- Stevens, B. M., Folts, C. J., Cui, W., Bardin, A. L., Walter, K., Carson-Walter, E., Noble, M. (2014). Cool-1-mediated inhibition of c-Cbl modulates multiple critical properties of glioblastomas, including the ability to generate tumors in vivo. *Stem Cells*, *32*(5), 1124-1135. doi:10.1002/stem.1644
- Strader, A. D., & Woods, S. C. (2005). Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*, *128*(1), 175-191. doi:S0016508504019936 [pii]
- Stumvoll, M., Wahl, H. G., Loblein, K., Becker, R., Volk, A., Renn, W., Haring, H. (2001). A novel use of the hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique to estimate insulin sensitivity of systemic lipolysis. *Horm Metab Res*, *33*(2), 89-95. doi:10.1055/s-2001-12403
- Sweeney, G., Somwar, R., Ramlal, T., Volchuk, A., Ueyama, A., & Klip, A. (1999). An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase prevents insulin-stimulated

- glucose transport but not glucose transporter translocation in 3T3-L1 adipocytes and L6 myotubes. *J Biol Chem*, 274(15), 10071-10078.
- Tamemoto, H., Kadowaki, T., Tobe, K., Yagi, T., Sakura, H., Hayakawa, T., et al. (1994). Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature*, 372(6502), 182-186. doi:10.1038/372182a0
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 251(2), 471-476. doi:S0006-291X(98)99489-X [pii]10.1006/bbrc.1998.9489
- Tews, D., & Wabitsch, M. (2011). Renaissance of brown adipose tissue. *Horm Res Paediatr*, 75(4), 231-239. doi:000324806 [pii]10.1159/000324806
- Thanos, P. K., Ramalhete, R. C., Michaelides, M., Piyis, Y. K., Wang, G. J., & Volkow, N. D. (2008). Leptin receptor deficiency is associated with upregulation of cannabinoid 1 receptors in limbic brain regions. *Synapse*, 62(9), 637-642. doi:10.1002/syn.20531
- Thirumoorthy, N., Shyam Sunder, A., Manisenthil Kumar, K., Senthil Kumar, M., Ganesh, G., & Chatterjee, M. (2011). A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World J Surg Oncol*, 9, 54. doi:1477-7819-9-54 [pii]10.1186/1477-7819-9-54
- Tomas, E., Tsao, T. S., Saha, A. K., Murrey, H. E., Zhang Cc, C., Itani, S. I., Ruderman, N. B. (2002). Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(25), 16309-16313. doi:10.1073/pnas.222657499222657499 [pii]
- Tonelli, J., Li, W., Kishore, P., Pajvani, U. B., Kwon, E., Weaver, C., Hawkins, M. (2004). Mechanisms of early insulin-sensitizing effects of thiazolidinediones in type 2 diabetes. *Diabetes*, 53(6), 1621-1629. doi:53/6/1621 [pii]
- Tran, T. T., Yamamoto, Y., Gesta, S., & Kahn, C. R. (2008). Beneficial effects of subcutaneous fat transplantation on metabolism. *Cell Metab*, 7(5), 410-420. doi:S1550-4131(08)00114-9 [pii]10.1016/j.cmet.2008.04.004
- Trayhurn, P., & Beattie, J. H. (2001). Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc*, 60(3), 329-339. doi:S0029665101000362 [pii]
- Triplitt, C. L. (2012). Examining the mechanisms of glucose regulation. *Am J Manag Care*, 18(1 Suppl), S4-10. doi:44183 [pii]
- Tucci, S. A., Rogers, E. K., Korbonits, M., & Kirkham, T. C. (2004). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol*, 143(5), 520-523. doi:10.1038/sj.bjp.0705968sj.bjp.0705968 [pii]
- U.S. Department of Health and Human Services: Office of Disease Prevention and Health Promotion--Healthy People 2010. (2000). *Nasnewsletter*, 15(3), 3.
- Vanni, H., Kazeros, A., Wang, R., Harvey, B. G., Ferris, B., De, B. P., Crystal, R. G. (2009). Cigarette smoking induces overexpression of a fat-depleting gene

- AZGP1 in the human. *Chest*, 135(5), 1197-1208. doi:chest.08-1024 [pii]10.1378/chest.08-1024
- Vegiopoulos, A., & Herzig, S. (2007). Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Mol Cell Endocrinol*, 275(1-2), 43-61. doi:S0303-7207(07)00210-9 [pii]10.1016/j.mce.2007.05.015
- Virtanen, K. A., Lonroth, P., Parkkola, R., Peltoniemi, P., Asola, M., Viljanen, T., Nuutila, P. (2002). Glucose uptake and perfusion in subcutaneous and visceral adipose tissue during insulin stimulation in nonobese and obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(8), 3902-3910. doi:10.1210/jcem.87.8.8761
- Virtue, S., & Vidal-Puig, A. (2010). Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective. *Biochim Biophys Acta*, 1801(3), 338-349. doi:S1388-1981(09)00286-8 [pii]10.1016/j.bbali.2009.12.006
- Viscomi, M. T., Oddi, S., Latini, L., Pasquariello, N., Florenzano, F., Bernardi, G., Maccarrone, M. (2009). Selective CB2 receptor agonism protects central neurons from remote axotomy-induced apoptosis through the PI3K/Akt pathway. *J Neurosci*, 29(14), 4564-4570. doi:29/14/4564 [pii]10.1523/JNEUROSCI.0786-09.2009
- Wang, L., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Blunder, M., Liu, X., Malainer, C., Atanasov, A. G. (2014). Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma): a review. *Biochem Pharmacol*, 92(1), 73-89. doi:S0006-2952(14)00424-9 [pii]10.1016/j.bcp.2014.07.018
- Wang, Y. (2012). Disparities in pediatric obesity in the United States. *Adv Nutr*, 2(1), 23-31. doi:10.3945/an.110.000083000083 [pii]
- Wannamethee, S. G., Welsh, P., Whincup, P. H., Sawar, N., Thomas, M. C., Gudnarsson, V., & Sattar, N. (2010). High adiponectin and increased risk of cardiovascular disease and mortality in asymptomatic older men: does NT-proBNP help to explain this association? *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 18(1), 65-71. doi:10.1097/HJR.0b013e32833b09d9
- Waters, D. L., Qualls, C. R., Dorin, R. I., Veldhuis, J. D., & Baumgartner, R. N. (2008). Altered growth hormone, cortisol, and leptin secretion in healthy elderly persons with sarcopenia and mixed body composition phenotypes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 63(5), 536-541. doi:63/5/536 [pii]
- Watson, R. T., Kanzaki, M., & Pessin, J. E. (2004). Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev*, 25(2), 177-204. doi:10.1210/er.2003-0011
- Watson, R. T., & Pessin, J. E. (2001). Transmembrane domain length determines intracellular membrane compartment localization of syntaxins 3, 4, and 5. *Am J Physiol Cell Physiol*, 281(1), C215-223.
- Watson, R. T., & Pessin, J. E. (2007). GLUT4 translocation: the last 200 nanometers. *Cell Signal*, 19(11), 2209-2217. doi:S0898-6568(07)00178-7 [pii]10.1016/j.cellsig.2007.06.003

- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W., Jr. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, *112*(12), 1796-1808. doi:10.1172/JCI19246112/12/1796 [pii]
- Weiss, R., & Caprio, S. (2005). The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, *19*(3), 405-419. doi:S1521-690X(05)00041-2 [pii]10.1016/j.beem.2005.04.009
- Whiteman, E. L., Cho, H., & Birnbaum, M. J. (2002). Role of Akt/protein kinase B in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, *13*(10), 444-451. doi:S1043276002006628 [pii]
- Wilding, J. P., Gilbey, S. G., Bailey, C. J., Batt, R. A., Williams, G., Ghatei, M. A., & Bloom, S. R. (1993). Increased neuropeptide-Y messenger ribonucleic acid (mRNA) and decreased neurotensin mRNA in the hypothalamus of the obese (ob/ob) mouse. *Endocrinology*, *132*(5), 1939-1944. doi:10.1210/endo.132.5.7682936
- Wilkison, W. O., Choy, L., & Spiegelman, B. M. (1991). Biosynthetic regulation of monobutyrin, an adipocyte-secreted lipid with angiogenic activity. *J Biol Chem*, *266*(25), 16886-16891.
- Williamson, D. F., Madans, J., Anda, R. F., Kleinman, J. C., Giovino, G. A., & Byers, T. (1991). Smoking cessation and severity of weight gain in a national cohort. *N Engl J Med*, *324*(11), 739-745. doi:10.1056/NEJM199103143241106
- Wilson, R. I., & Nicoll, R. A. (2002). Endocannabinoid signaling in the brain. *Science*, *296*(5568), 678-682. doi:10.1126/science.1063545296/5568/678 [pii]
- Withers, D. J., Gutierrez, J. S., Towery, H., Burks, D. J., Ren, J. M., Previs, S., White, M. F. (1998). Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*, *391*(6670), 900-904. doi:10.1038/36116
- Wolfing, B., Buechler, C., Weigert, J., Neumeier, M., Aslanidis, C., Schoelmerich, J., & Schaffler, A. (2008). Effects of the new C1q/TNF-related protein (CTRP-3) "cartonectin" on the adipocytic secretion of adipokines. *Obesity (Silver Spring)*, *16*(7), 1481-1486. doi:oby2008206 [pii]10.1038/oby.2008.206
- Wolk, A., Gridley, G., Svensson, M., Nyren, O., McLaughlin, J. K., Fraumeni, J. F., & Adam, H. O. (2001). A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control*, *12*(1), 13-21.
- Wright, J. W., Kawas, L. H., & Harding, J. W. (2013). A Role for the Brain RAS in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *4*, 158. doi:10.3389/fendo.2013.00158
- Wronska, A., & Kmiec, Z. (2012). Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)*, *205*(2), 194-208. doi:10.1111/j.1748-1716.2012.02409.x
- Wu, C., Lu, H., Cassis, L. A., & Daugherty, A. (2012). Molecular and Pathophysiological Features of Angiotensinogen: A Mini Review. *N Am J Med Sci (Boston)*, *4*(4), 183-190.
- Wu, J., Bostrom, P., Sparks, L. M., Ye, L., Choi, J. H., Giang, A. H., Spiegelman, B. M. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse

- and human. *Cell*, 150(2), 366-376. doi:S0092-8674(12)00595-8 [pii]10.1016/j.cell.2012.05.016
- Wu, J. T., & Kral, J. G. (2004). Ghrelin: integrative neuroendocrine peptide in health and disease. *Ann Surg*, 239(4), 464-474. doi:00000658-200404000-00006 [pii]
- Xin, X., Zhou, L., Reyes, C. M., Liu, F., & Dong, L. Q. (2010). APPL1 mediates adiponectin-stimulated p38 MAPK activation by scaffolding the TAK1-MKK3-p38 MAPK pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 300(1), E103-110. doi:ajpendo.00427.2010 [pii]10.1152/ajpendo.00427.2010
- Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Kadowaki, T. (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 423(6941), 762-769. doi:10.1038/nature01705nature01705 [pii]
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*, 8(11), 1288-1295. doi:10.1038/nm788nm788 [pii]
- Yamauchi, T., Nio, Y., Maki, T., Kobayashi, M., Takazawa, T., Iwabu, M., Kadowaki, T. (2007). Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med*, 13(3), 332-339. doi:nm1557 [pii]10.1038/nm1557
- Yang, Q., Graham, T. E., Mody, N., Preitner, F., Peroni, O. D., Zabolotny, J. M., Kahn, B. B. (2005). Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 436(7049), 356-362. doi:nature03711 [pii]10.1038/nature03711
- Yasuda, T., Masaki, T., Kakuma, T., & Yoshimatsu, H. (2004). Hypothalamic melanocortin system regulates sympathetic nerve activity in brown adipose tissue. *Exp Biol Med (Maywood)*, 229(3), 235-239.
- Yoon, M. J., Lee, G. Y., Chung, J. J., Ahn, Y. H., Hong, S. H., & Kim, J. B. (2006). Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Diabetes*, 55(9), 2562-2570. doi:55/9/2562 [pii]10.2337/db05-1322
- Yore, M. M., Syed, I., Moraes-Vieira, P. M., Zhang, T., Herman, M. A., Homan, E. A., Kahn, B. B. (2014). Discovery of a class of endogenous mammalian lipids with anti-diabetic and anti-inflammatory effects. *Cell*, 159(2), 318-332. doi:S0092-8674(14)01223-9 [pii]10.1016/j.cell.2014.09.035
- Yoshida, R., Ohkuri, T., Jyotaki, M., Yasuo, T., Horio, N., Yasumatsu, K., Ninomiya, Y. (2010). Endocannabinoids selectively enhance sweet taste. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(2), 935-939. doi:0912048107 [pii] 10.1073/pnas.0912048107
- Yoshimura, T., & Oppenheim, J. J. (2008). Chemerin reveals its chimeric nature. *J Exp Med*, 205(10), 2187-2190. doi:jem.20081736 [pii]10.1084/jem.20081736

- Yuan, M., Konstantopoulos, N., Lee, J., Hansen, L., Li, Z. W., Karin, M., & Shoelson, S. E. (2001). Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science*, *293*(5535), 1673-1677. doi:10.1126/science.1061620293/5535/1673 [pii]
- Zbucki, R. L., Sawicki, B., Hryniewicz, A., & Winnicka, M. M. (2008). Cannabinoids enhance gastric X/A-like cells activity. *Folia Histochem Cytobiol*, *46*(2), 219-224. doi:068431210P217537 [pii]10.2478/v10042-008-0033-4
- Zeigerer, A., Gilleron, J., Bogorad, R. L., Marsico, G., Nonaka, H., Seifert, S., Zerial, M. (2012). Rab5 is necessary for the biogenesis of the endolysosomal system in vivo. *Nature*, *485*(7399), 465-470. doi:nature11133 [pii] 10.1038/nature11133
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, *372*(6505), 425-432. doi:10.1038/372425a0
- Zheng, Q., Yuan, Y., Yi, W., Lau, W. B., Wang, Y., Wang, X., Ma, X. L. (2011). C1q/TNF-related proteins, a family of novel adipokines, induce vascular relaxation through the adiponectin receptor-1/AMPK/eNOS/nitric oxide signaling pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *31*(11), 2616-2623. doi:10.1161/ATVBAHA.111.231050 ATVBAHA.111.231050 [pii]
- Zhou, Q. L., Park, J. G., Jiang, Z. Y., Holik, J. J., Mitra, P., Semiz, S., Czech, M. P. (2004). Analysis of insulin signalling by RNAi-based gene silencing. *Biochem Soc Trans*, *32*(Pt 5), 817-821. doi:BST032081 [pii]10.1042/BST0320817
- Zisman, A., Peroni, O. D., Abel, E. D., Michael, M. D., Mauvais-Jarvis, F., Lowell, B. B., Kahn, B. B. (2000). Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat Med*, *6*(8), 924-928. doi:10.1038/78693
- Zudaire, E., Martinez, A., Garayoa, M., Pio, R., Kaur, G., Woolhiser, M. R., Cuttitta, F. (2006). Adrenomedullin is a cross-talk molecule that regulates tumor and mast cell function during human carcinogenesis. *Am J Pathol*, *168*(1), 280-291. doi:S0002-9440(10)62090-1 [pii]10.2353/ajpath.2006.050291