



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ
ΣΤΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ**

**ΧΡΗΣΤΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ
ΣΤΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ**

**ΧΡΗΣΤΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021

«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 του κου Χρήστου Κωνσταντίνου: 29-9-2010

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 695^α/2-11-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Τίγκας Στυλιανός, Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Τσατσούλης Αγαθοκλής, Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Παπαδόπουλος Γεώργιος, Καθηγητής Γεωργικής Χημείας και Φυσικής ΤΕΙ Ηπείρου

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 7-12-2010

«Διερεύνηση του ρόλου της φλεγμονής στο σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 955^α/2-2-2021

1. Τσατσούλης Αγαθοκλής, Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Παπαδόπουλος Γεώργιος, τ. Καθηγητής Γεωργικής Χημείας και Φυσικής ΤΕΙ Ηπείρου
3. Λυμπερόπουλος Ευάγγελος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Τίγκας Στυλιανός, Αναπληρωτής Καθηγητής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Κωνσταντινίδης Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Πνευμονολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Ντουνούση Ευαγγελία, Επίκουρη Καθηγήτρια Νεφρολογίας με έμφαση στις Μεταμοσχεύσεις του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
7. Χατζημιχαήλ Ελευθερία, Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 30-03-2021

Ιωάννινα 10-5-2021

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



Η Γραμματέας του Τμήματος

ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέπων της διατριβής μου, Διευθυντή του Τμήματος Ενδοκρινολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Στυλιανό Τίγκα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγηση και την στήριξη στο πρόσωπό μου. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Ομότιμο Καθηγητή Ενδοκρινολογίας κ. Τσατσούλη Αγαθοκλή ο οποίος αποτέλεσε χρήσιμο συμβουλάτορα και πρότυπο στην ερευνητική μου σταδιοδρομία. Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Παπαδόπουλου Γεώργιο για την πολύτιμη καθοδήγηση και τις εύστοχες επισημάνσεις στη διάρκεια υλοποίησης της διδακτορικής διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παθολογίας Ευάγγελο Λυμπερόπουλο, τον Επίκουρο Καθηγητή Πνευμονολογίας Κωνσταντινίδη Αθανάσιο, την Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας Χατζημιχαήλ Ελευθερία και την Επίκουρη Καθηγήτρια Νεφρολογίας Ντουνούση Ευαγγελία για τις πολύτιμες επισημάνσεις τους στην ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω να εκφράσω στον Μοριακό Βιολόγο κ. Βαρθολομάτο Γεώργιο και στον Χημικό κ. Καραμούτσιο Αχιλλέα για την ανεκτίμητη βοήθεια που μου πρόσφεραν κατά την διενέργεια του πειραματικού μέρους της μελέτης.

Συγχρόνως, οφείλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον αδερφό μου Καρδιολόγο Γεώργιο Χρήστου για την πολυδιάστατη βοήθεια που μου πρόσφερε το χρονικό διάστημα που ασχολήθηκα με την διδακτορική έρευνα. Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω το υπόλοιπο οικογενειακό μου περιβάλλον μου για τη συμπαράστασή του σε όλη την πορεία διενέργειας της διδακτορικής μου διατριβής.

Αντί προλόγου

«Οι παχέες σφόδρα ταχυθάνατοι γίνονται»
Ιπποκράτης, Αφορισμοί

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ	1
Η ΟΡΜΟΝΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	1
ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	1
ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ.....	3
ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ	3
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ, ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	7
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	7
ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΜΣ	8
Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΣ ΣΤΟ ΠΕΡΑΣΜΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ.....	9
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ.....	12
ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ.....	12
ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ.....	13
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ.....	14
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΥΓΙΕΙΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΙ (ΜΥΠ)	16
1. Γενικά στοιχεία	16
2. Προτεινόμενα κριτήρια για τον προσδιορισμό των ΜΥΠ.....	17
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ	19
ΕΙΔΗ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟΥ	20
1. Λευκός λιπώδης ιστός.....	20
2. Φαίος λιπώδης ιστός	21
3. Μπεζ λιπώδης ιστός.....	22
ΥΠΟΞΙΑ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ	23
ΛΙΠΟΚΙΝΕΣ.....	24
1. Γενικά στοιχεία	24
2. Αδιπονεκτίνη.....	24
3. Λεπτίνη	26
4. Ρεζιστίνη	27
5. Πρωτεΐνη δέσμησης της ρετινόλης-4 (Retinol binding protein 4, RBP4).....	28
6. Απελίνη	28
7. Ομεντίνη.....	29
8. Παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-α).....	29

ΟΡΙΣΜΟΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	30
ΧΡΟΝΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	31
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ	32
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ-ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ	33
1. Φαγοκυττάρωση.....	33
2. Αντιγονοπαρουσίαση	34
3. Έκκριση χημικών μεταβολιτών	34
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ	35
ΧΗΜΕΙΟΤΑΚΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ	36
1. Μακροφάγα τύπου M1.....	36
2. Μακροφάγα M2	38
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ Τ ΣΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	39
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ	41
1. Ουδετερόφιλα.....	41
2. Λεμφοκύτταρα	42
3. Μονοκύτταρα.....	44
4. Ηωσινόφιλα.....	44
5. Βασεόφιλα.....	45
ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	45
ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΩΣΗ Η ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ.....	47
ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	48
1. Γενικά στοιχεία	48
2. Κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14 ⁺ CD16 ⁻ ή Mon1)	50
3. Ενδιάμεσος υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14 ⁺ CD16 ⁺ ή Mon2)	50
4. Μη κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14 ⁺ CD16 ⁺ ή Mon3).....	52
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	55
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	55
ΜΕΡΟΣ Α.....	57
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	57
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	59
ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	60
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ	61
1. Πρώτη ομάδα	61
2. Δεύτερη ομάδα.....	61
3. Τρίτη ομάδα	61
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ	62

ΜΕΘΟΔΟΙ.....	63
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ	63
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	64
1. Βασικές αρχές της μεθόδου της κυτταρομετρίας ροής	64
2. Εφαρμογές της κυτταρομετρίας ροής	65
3. Χρησιμοποιούμενα υλικά	66
4. Επεξεργασία του δείγματος αίματος	67
5. Απομόνωση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων.....	68
6. Προσδιορισμός του απόλυτου αριθμού των μονοκυττάρων.....	69
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	69
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	71
1. Σύγκριση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (κατ' απόλυτο αριθμό) μεταξύ των τριών κατηγοριών ασθενών	71
2. Παράγοντες που σχετίζονται με τους υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων στους ΜΥΦΒ	72
3. Παράγοντες που σχετίζονται με τους υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων στους παχύσαρκους ασθενείς	72
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ.....	78
1. Μονοκύτταρα και παχυσαρκία	78
2. Μονοκύτταρα και ΜΣ.....	79
3. Μονοκύτταρα και αθηροσκλήρωση.....	82
ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ.....	83
1. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και παχυσαρκία	83
2. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και ΜΣ.....	85
3. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αντίσταση στην ινσουλίνη	86
4. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αρτηριακή πίεση.....	87
5. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και λιποπρωτεΐνες	87
6. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αθηροσκλήρωση	88
ΜΕΡΟΣ Β.....	89
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	89
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	90
ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	91
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ	92

1. Πρώτη ομάδα	92
2. Δεύτερη ομάδα.....	92
3. Τρίτη ομάδα	92
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ	93
ΜΕΘΟΔΟΙ.....	94
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ	94
ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ.....	95
ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΡΕΖΙΣΤΙΝΗΣ.....	95
1. Βασικές αρχές της μεθόδου	95
2. Χρησιμοποιούμενα υλικά	96
3. Διαδικασία παρασκευής του αντιδραστηρίου	97
4. Διαδικασία χημικής ανάλυσης.....	98
5. Διαδικασία υπολογισμού των αποτελεσμάτων	99
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	100
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	101
1. Ρεζιστίνη ορού και υποπληθυσμοί λευκών αιμοσφαιρίων στους ΜΥΦΒ vs παχύσαρκους	101
2. Τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι ενός παράγοντα τουΜΣ	101
3. Επίπεδα ρεζιστίνης ορού ανάλογα με την γλυκόζη του ορού.....	102
4. Αναλύσεις συσχετίσεων.....	102
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	105
ΡΕΖΙΣΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	105
1. Ρεζιστίνη και δείκτες προσδιορισμού της παχυσαρκίας	105
2. Ρεζιστίνη και μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι	106
3. Ρεζιστίνη και φλεγμονή	106
4. Ρεζιστίνη και λευκά αιμοσφαίρια	107
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	108
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	109
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ.....	111
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ.....	113
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1.** Οι πορείες σηματοδότησης που επάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία και εμπλέκονται στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη. 6
- Εικόνα 2.** Κατανομή του λιπώδους ιστού στον ανθρώπινο οργανισμό. 23
- Εικόνα 3.** Η παχυσαρκία επάγει τη φλεγμονώδη διαδικασία στο λιπώδη ιστό, στο ήπαρ και στους σκελετικούς μύες.. 40
- Εικόνα 4.** Η κατανομή των 3 υποπληθυσμών των μονοκυττάρων ανάλογα με την έκφραση που εμφανίζουν στην επιφάνεια τους στους δείκτες CD14 και CD16. 53
- Εικόνα 5.** Η μέθοδος της κυτταρομετρίας ροής. 64
- Εικόνα 6.** Βήματα για την απομόνωση των μονοκυττάρων με τη χρήση της κυτταρομετρίας ροής.. 69
- Εικόνα 7.** Προσδιορισμός των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων με τη βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής σε ένα μεταβολικώς υγιές φυσιολογικού σωματικού βάρους άτομο, ένα μεταβολικώς υγιές παχύσαρκο άτομο και ένα μεταβολικά μη υγιές παχύσαρκο άτομο. 73
- Εικόνα 8.** Διαδικασία αραιώσεων του δείγματος. 98
- Εικόνα 9.** Πρότυπη καμπύλη. Συσχέτιση μεταξύ της μέσης οπτικής πυκνότητας (άξονας Y) και της συγκέντρωσης ρεζιστίνης του ορού. 100

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση του γενικού ενήλικου πληθυσμού με βάση τον ΔΜΣ	14
Πίνακας 2. Σύγκριση των κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ ΜΥΦΒ, ΜΥΠ και ΜΜΥΠ και παχύσαρκων συνολικά.	74
Πίνακας 3. Σύγκριση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων μεταξύ ΜΥΦΒ, ΜΥΠ και ΜΜΥΠ.	75
Πίνακας 4. Σύσχετιση των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (απόλυτοι αριθμοί) με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους στους παχύσαρκους ασθενείς.	76
Πίνακας 5. Multiple linear regression analysis στους παχύσαρκους ασθενείς. Ο Mon2A είναι η εξαρτημένη μεταβλητή και η παρουσία ξεχωριστά κάθε παράγοντα του ΜΣ είναι οι ανεξάρτητες διακριτές μεταβλητές.	77
Πίνακας 6. Επίπεδα ρεζιστίνης ορού και υποπληθυσμοί των λευκών αιμοσφαιρίων σε ΜΥΦΒ και παχύσαρκους (ΜΥΠ, ΜΜΥΠ).	103
Πίνακας 7. Δημογραφικές, σωματομετρικές και εργαστηριακές παράμετροι στους ΜΥΦΒ και στους παχύσαρκους (ΜΥΠ, ΜΜΥΠ) ασθενείς.	104

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Συντομογραφίες στην Ελληνική γλώσσα

ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση ΔΓΝ: Διαταραχή γλυκόζης νηστείας ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος

ΛΛΙ: Λευκός λιπώδης ιστός ΜΑΠ: Μέση αρτηριακή πίεση

ΜΜΥΠ: Μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκοι ΜΣ: Μεταβολικό σύνδρομο

ΜΥΠ: Μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι

ΜΥΦΒ: Μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού σωματικού βάρους ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση

ΣΔΤ2: Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 ΦΓΝ: Φυσιολογική γλυκόζη νηστείας ΦΛΙ: Φαίος λιπώδης ιστός

Συντομογραφίες στην Αγγλική γλώσσα και μετάφραση στην Ελληνική γλώσσα

ApoB: Apolipoprotein B, απολιποπρωτεΐνη Β

CAP1: Adenylyl cyclase-associated protein 1, αδενυλική κυκλάση πρωτεΐνη 1 CD: Cluster of differentiation, σύμπλεγμα διαφοροποίησης

CRP: C-reactive protein, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

eGFR: Estimated Glomerular Filtration Rate, υπολογιζόμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης

ELISA: Enzyme linked Immunosorbent Assay, δοκιμασία ενζυμο-συζευγμένης ανοσοπροσρόφησης

HbA1c: Hemoglobin A1C, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

HDL-C: High density lipoprotein, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

HLA-DR: Human Leukocyte Antigen-DR, ανθρώπινο λευκοκυτταρικό αντιγόνο-DR

HOMA: Homeostatic model assessment, δείκτης ομοιοστατικού μοντέλου αντίστασης στην ινσουλίνη hsCRP: High sensitivity C-reactive protein, υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη IL: Interleukin, ιντερλευκίνη

IMT: Intima-Media Thickness, πάχος μέσου-έσω χιτώνα καρωτίδων

IRF: Interferon regulatory factor, ρυθμιστικός παράγοντας της ιντερφερόνης JNK: c-Jun N-terminal kinase, c-Jun N-τελική κινάση

LDL-C: Low density lipoprotein, χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη LPS: Lipopolysaccharide, λιποπολυσακχαρίτης

LTB4: Leukotriene B4 receptor 2, υποδοχέας 2 του λευκοτριενίου B4

MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1, χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων- 1

MHC: Major histocompatibility complex, μείζων σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας

MonA: Absolute count of monocytes, απόλυτος αριθμός μονοκυττάρων MonΣ: Relative count of monocytes, σχετικός αριθμός μονοκυττάρων Mon1: Classical monocytes, κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων Mon2: Intermediate monocytes, ενδιάμεσος υποπληθυσμός μονοκυττάρων

Mon3: Non classical monocytes, μη κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων NF-κB: Nuclear factor-κB, πυρηνικός παράγοντας-κάππα Β

NHANES: National Health And Nutrition Examination Survey, εθνική έρευνα για την υγεία και την διατροφή

NK κύτταρα: Natural Killer cells, φυσικά φονικά κύτταρα NO: Nitric Oxide, νιτρικό οξείδιο

NLR: NOD Like Receptors, NOD like υποδοχείς

PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, πρωτεϊνική μετατροπή σουμπτιλίσιν/κεξίνη 9

PPAR-γ: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, ενεργοποιημένοι υποδοχείς πολλαπλασιασμού των υπεροξεισωματίων-γ

ROS: Reactive oxygen species, ενεργές μορφές οξυγόνου

RBP4: Retinol binding protein 4, πρωτεΐνη δέσμευσης της ρετινόλης 4

SOCS: Suppressors of cytokine signalling, καταστολείς της σηματοδότησης των κυτταροκινών

STATs: Signal transducers and activators of transcription, μετατροπείς σημάτων και ενεργοποιητές μεταγραφής

TC: Total cholesterol, ολική χοληστερόλη T_H: T helper cells, T βοηθητικά κύτταρα TLR: Toll like receptor, Toll like υποδοχείς

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α , παράγοντας νέκρωσης των όγκων- α Tregs: Regulatory T cell, T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα

TRG: Triglycerides, τριγλυκερίδια

UCP1: Uncoupling protein 1, πρωτεΐνη αποσύζευξης 1

VEGF-A: Vascular endothelial growth factor A, αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας A

VLDL: Very low density lipoprotein, πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη WHO: World Health Organisation, Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Η ΟΡΜΟΝΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η ινσουλίνη προέρχεται από τη λατινική λέξη *insula* (νησί) και ανακαλύφθηκε το 1921 από τους Frederick Banting και Charles Best [1]. Αποτελεί ένα πεπτίδιο που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των λιπών και των πρωτεϊνών του οργανισμού. Διαθέτει χρόνο ημίσειας ζωής 3-5 λεπτά και σε καταστάσεις νηστείας οι τιμές της κυμαίνονται από 5-20 $\mu\text{U/ml}$. Όσον αφορά τη χημική της δομή, αποτελείται από 2 πολυπεπτιδικές αλυσίδες που ενώνονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η πρωτεϊνική της δομή αποτελείται από 51 αμινοξέα (21 από αυτά βρίσκονται στην αλυσίδα A και 30 βρίσκονται στη αλυσίδα B).

Πρόκειται για μία αναβολική ορμόνη που εκκρίνεται από τα κύτταρα β του παγκρέατος (νησιδία του Langerhans) ως απάντηση σε καταστάσεις υπεργλυκαιμίας και ο καταβολισμός της πραγματοποιείται στο ήπαρ, στους νεφρούς, στους περιφερικούς ιστούς και στον πλακούντα. Αρχικά, τα κύτταρα β του παγκρέατος παράγουν ένα πρόδρομο μόριο, την ορμόνη προϊνσουλίνη και στη συνέχεια η πραγματοποιηθείσα αποκοπή μέσω ειδικών ενζύμων (προκομβερτασών) οδηγεί στη δημιουργία της ορμόνης ινσουλίνης και του πεπτιδίου C. Η ινσουλίνη δρα τοπικά σε όλους τους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού (κυρίως στο ήπαρ, στους μυς και στο λιπώδη ιστό). Διευκολύνει την πρόσληψη της γλυκόζης από τα κύτταρα (όχι όμως από τα ηπατικά ή του εγκεφάλου) και ρυθμίζει τα επίπεδα γλυκόζης στην κυκλοφορία του αίματος σε συνεργασία με την ορμόνη γλυκαγόνη που εκκρίνεται από τα α κύτταρα του παγκρέατος [2].

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης ορίζεται ως η μειωμένη ικανότητα της ινσουλίνης να επάγει την πρόσληψη της γλυκόζης από τους περιφερικούς ιστούς. Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι ζωτικής σημασίας για την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας και σακχαρώδη

διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2). Πρόκειται για μια πολυπαραγοντική κατάσταση στην οποία η αυξημένη πρόσληψη τροφής προκαλεί αυξημένη φλεγμονή, μεταβολές στο μεταβολισμό των λιπιδίων και αλλαγές στη μικροβιακή χλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος (δυσβίωση) [3].

Υπό φυσιολογικές συνθήκες η λήψη γλυκόζης, αμινοξέων και ελεύθερων λιπαρών οξέων οδηγεί στην έκκριση ινσουλίνης. Συγκεκριμένα, αμέσως μετά την κατάποση η ινσουλίνη απελευθερώνεται από τα παγκρεατικά β κύτταρα, με τη συγκέντρωσή της να κορυφώνεται εντός 10 λεπτών και να εξαφανίζεται εντός περίπου 20 λεπτών. Αυτή η πρώτη φάση απόκρισης της ινσουλίνης οδηγεί σε ενίσχυση της πρόσληψης γλυκόζης και σε αναστολή της παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ. Στη συνέχεια ακολουθεί η δεύτερη φάση της απόκρισης στη δράση της ινσουλίνης που αρχίζει μέσα στα πρώτα 15-20 λεπτά και κορυφώνεται εντός 20-40 λεπτών [3]. Στα άτομα που είναι ανθεκτικά στη δράση της ινσουλίνης παρατηρείται μη φυσιολογική απόκριση των κυττάρων β στην πρόσληψη γλυκόζης με αποτέλεσμα την αρχική απώλεια της έκκρισης της ινσουλίνης κατά την πρώτη φάση ακολουθούμενη από μια αυξημένη έκκριση στη δεύτερη φάση που οδηγεί σε υπερινσουλιναιμία. Με τη συνεχή υπερφόρτωση του οργανισμού με τροφή τελικά τα β κύτταρα οδηγούνται σε έκπτωση της λειτουργίας τους. Μ' αυτόν τον τρόπο η χρόνια υπεργλυκαιμία οδηγεί σε αυξημένα βασικά επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα αλλά σε μειωμένη απόκριση των β κυττάρων στη διέγερση με γλυκόζη [4].

Παράλληλα, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα οδηγούν σε αύξηση των βασικών επιπέδων ινσουλίνης ενώ σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις οδηγούν σε αναστολή της έκκρισης ινσουλίνης από τα κύτταρα β , ως απόκριση στην αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης. Μ' αυτόν τον τρόπο τα 2 αυτά φαινόμενα, γνωστά ως γλυκοτοξικότητα και λιποτοξικότητα, επάγουν τη δυσλειτουργία των κυττάρων β σε περιπτώσεις αντίστασης στην ινσουλίνη [5]. Η γλυκοτοξικότητα και η λιποτοξικότητα οδηγούν σε μια εξελικτική διεργασία, από την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, στην εμφάνιση προδιαβήτη και στη συνέχεια σε σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2). Πολλές από τις επιπλοκές του ΣΔΤ2, όπως η καρδιαγγειακή νόσος, η αμφιβληστροειδοπάθεια και η νευροπάθεια, μπορούν να αποδοθούν στην παρατεταμένη υπεργλυκαιμία και συνεπώς ο κίνδυνος για την εμφάνισή τους μπορεί να αρχίσει στο στάδιο του προδιαβήτη [6].

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Ως μια πρώτη προσπάθεια για τον υπολογισμό της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης θεωρήθηκε η δοκιμασία ανοχής στην ινσουλίνη (insulin-tolerance test) που πραγματοποιήθηκε το 1929 από τους Norgaard και Thaysen [7]. Στη συνέχεια ακολούθησαν 2 δοκιμασίες καταστολής της ινσουλίνης (insulin-suppression test) από τον Shen και τον Harano [8]. Η πιο αξιόπιστη από τις μεθόδους αυτές είναι η τεχνική της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής «καθήλωσης» (euglycemic hyperinsulinemic clamp technique), η οποία περιγράφηκε από τον DeFronzo το 1979 και αποτελεί το «χρυσό πρότυπο» (gold standard) των μεθόδων υπολογισμού της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης [8]. Παρόλα αυτά, η συγκεκριμένη δοκιμασία απαιτεί ολονύκτια παρακολούθηση στο εξειδικευμένο κέντρο έρευνας και το άγχος που βιώνει το άτομο μπορεί να τροποποιήσει τα αποτελέσματα των μετρήσεων.

Άλλες αξιόπιστες τεχνικές είναι αυτή του minimal model που περιγράφηκε από τον Bergman και η τεχνική CIGMA (continuous infusion of glucose with model assessment) που περιγράφηκε από τον Hosker [9]. Μειονέκτημα των παραπάνω μεθόδων είναι οι πολλές τεχνικές απαιτήσεις που υπάρχουν για τη σωστή διενέργειά τους. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι πολύ πιο εύκολα εφαρμόσιμες για τον υπολογισμό με ακρίβεια της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης. Μερικές από αυτές είναι ο δείκτης HOMA (homeostasis model assessment-insulin resistance index), ο δείκτης QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index), ο λόγος γλυκόζης/ινσουλίνη νηστείας και η από του στόματος δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (oral glucose tolerance test ή OGTT).

ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Οι διάφορες μεταβολικές παθήσεις συνδέονται με χαμηλής έκτασης φλεγμονή που προάγει την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης μέσω αναστολής της σηματοδότησης της ινσουλίνης. Η σύνδεση της ινσουλίνης με τον υποδοχέα της στην επιφάνεια των κυττάρων οδηγεί στην έναρξη ενός πολύπλοκου καταρράκτη σηματοδότησης. Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση των μορίων υποδοχέα ινσουλίνης οδηγεί στη φωσφορυλίωση και διέγερση αρκετών μορίων που περιλαμβάνουν τον ίδιο τον υποδοχέα

της ινσουλίνης, υποστρωμάτων του υποδοχέα ινσουλίνης 1-4 (IRS-1-4, insulin receptors substrate), την πρωτεΐνη SHC και την πρωτεΐνη Grb-2 (Growth factor receptor-bound protein 2) και τελικά την ενεργοποίηση 2 διαφορετικών πορειών σηματοδότησης. Η πορεία της PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) πρωτεϊνικής κινάσης B (PKB ή AKT) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση της πρόσληψης γλυκόζης από τους σκελετικούς μύς και τα λιποκύτταρα, στη σύνθεση γλυκογόνου, στη λιπογένεση και την καταστολή παραγωγής της ηπατικής γλυκόζης. Παράλληλα, η ενεργοποίηση της πορείας της πρωτεϊνικής κινάσης MAPK (Ras-mitogen activated protein kinase) ρυθμίζει την δράση της ινσουλίνης όσον αφορά τη μιτογένεση και την κυτταρική ανάπτυξη [10].

Η φλεγμονώδης σηματοδότηση μπορεί να παρέμβει στη δράση της ινσουλίνης μέσω διαφόρων μεταγραφικών μηχανισμών. Πρώτον, οι ενεργοποιούμενες από το στρες σερινικές κινάσες, όπως οι JNK και οι IKKb, φωσφορυλιώνουν τους υποδοχείς ινσουλίνης και τα πρωτεϊνικά υποστρώματα σε ανασταλτικές θέσεις, οδηγώντας σε μειορύθμιση τη σηματοδότησης της ινσουλίνης [11]. Συνεπακόλουθα, έχει παρατηρηθεί ότι η κατάργηση της φλεγμονώδους σηματοδότησης με χρήση σαλικυλικών, τα οποία αναστέλλουν την IKKb, αποτρέπει την ανασταλτική φωσφορυλίωση του IRS-1, αποκαθιστώντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη [12]. Επίσης, οι μεταγραφικοί παράγοντες NF-κB και AP-1 ρυθμίζουν την έκφραση αρκετών γονιδίων που επηρεάζουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Για παράδειγμα, οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές επάγουν την έκφραση των καταστολέων της σηματοδότησης των κυτταροκινών [suppressor of cytokine signalling (SOCS)] που δεσμεύονται στον υποδοχέα της ινσουλίνης και εξασθενίζουν την ικανότητά τους για φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών IRS-1 και IRS-2 [13].

Αντιστρόφως, η κινάση NF-κB καταστέλλει την έκφραση διαφόρων συστατικών της πορείας σηματοδότησης της ινσουλίνης, συμπεριλαμβανομένου του τύπου 4 μεταφορέα της γλυκόζης (GLUT4), του IRS-1 και της πρωτεϊνικής κινάσης AKT [14]. Παράλληλα, η σηματοδότηση της πορείας JNK μπορεί να ρυθμίζει την έκφραση των κυτταροκινών, προκαλώντας σταθεροποίηση των mRNAs που κωδικεύουν τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες [15]. Επίσης, τα φλεγμονώδη σήματα μπορούν να επηρεάσουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω ρύθμισης της έκφραση διάφορων microRNA. Για παράδειγμα, η σηματοδότηση των μικροβιακών υποδοχέων TLR4 καταστέλλει την έκφραση του microRNA-223, το οποίο ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση διαφόρων φλεγμονωδών γονιδίων [16].

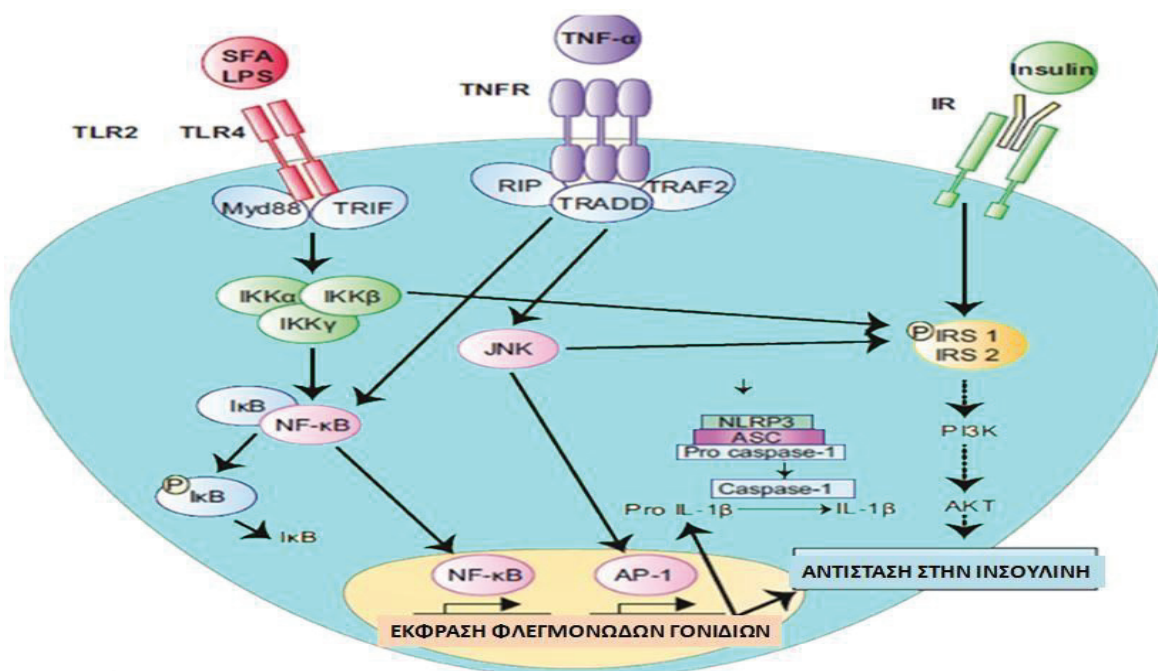
Η φλεγμονή μπορεί έμμεσα να επηρεάσει τη δράση της ινσουλίνης μέσω ρύθμισης διαφόρων μεταβολικών πορειών. Έτσι δημιουργούνται «δεύτεροι αγγελιοφόροι», όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που προάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη. Για παράδειγμα, ο TNF-α διεγείρει τη λιπόλυση των λιποκυττάρων συμβάλλοντας σε αυξημένες συγκεντρώσεις ελεύθερων λιπαρών οξέων στον ορό, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη. Επιπρόσθετα, η φλεγμονώδης σηματοδότηση επάγει την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στην επεξεργασία λιπιδίων, συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων που συνθέτουν το κεραμίδιο, ένα σφιγγολιπίδιο που αναστέλλει την ενεργοποίηση της ινσουλίνης από την κινάση AKT [17]. Οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές διεγείρουν επίσης την de novo ηπατική λιπογένεση, συμβάλλοντας έτσι στη στεάτωση και στα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων στον ορό. Επιπλέον, εάν οι ποσότητες των παραγόμενων κυτταροκινών είναι αρκετά μεγάλες μπορούν να επεκταθούν έξω από το λιπώδη ιστό και να επιδεινώσουν την αντίσταση στην ινσουλίνη στους περιφερικούς ιστούς, όπως στους μυς και στο ήπαρ [18].

Στα παχύσαρκα άτομα η ενεργοποίηση της σηματοδότηση της JNK και κινάσης NF-κB πραγματοποιείται μέσω διαφόρων μηχανισμών. Για παράδειγμα, ο TNF-α επάγει τη φλεγμονώδη σηματοδότηση μέσω της κλασικής ενεργοποίησης των υποδοχέων της στην κυτταρική επιφάνεια [18]. Εναλλακτικά, η φλεγμονώδης διεργασία μπορεί να ξεκινήσει ενεργοποιώντας τους υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRS), οι οποίοι περιλαμβάνουν τους Toll Like Receptors (TLRs) και τους υποδοχείς τύπου NOD (NLRs). Οι PRRs ανιχνεύουν εξωγενή παθογόνα μοριακά πρότυπα (PAMPs), συμπεριλαμβανομένης της λιποπολυσακχαρίδης (LPS) που προέρχεται από τα μικρόβια, της πεπτιδογλυκάνης και του βακτηριακού DNA καθώς και ενδογενή μοριακά πρότυπα (DAMP), όπως τα κορεσμένα λιπαρά οξέα [19], το ATP και τις πρωτεΐνες που εκκρίνονται σε στρεσογόνες καταστάσεις (heat shock proteins). Επίσης, οι TLR4 διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη της φλεγμονώδους διεργασίας στα μακροφάγα που επάγεται από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα.

Το φλεγμονόσωμα είναι πολυπρωτεϊνικό ολιγομερές υπεύθυνο για την ενεργοποίηση φλεγμονωδών αποκρίσεων. Συγκεκριμένα, προάγει την ωρίμανση και έκκριση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1β και IL-18 [20]. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η παχυσαρκία συνδέεται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος στο λιπώδη ιστό. Τα σχετιζόμενα με την παχυσαρκία μοριακά πρότυπα PAMP και DAMP φαίνεται να οδηγούν στην ενεργοποίηση ενός πολυπρωτεϊνικού συμπλόκου, του NLRP3

φλεγμονομοσώματος [21]. Η ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος οδηγεί σε ενεργοποίηση της πρωτεΐνης κασπάση 1 που επάγει την ωρίμανση της προ-IL-1β και της προ-IL-18.

Επίσης, η μεσολάβηση της φλεγμονώδους σηματοδότησης μπορεί να διεγερθεί με κυτταρικά ερεθίσματα, όπως τον ROS (Reactive oxygen species), το ενδοπλασματικό στρες, την υποξία και τη λιποτοξικότητα, τα οποία μπορούν όλα να ενισχυθούν σε καταστάσεις παχυσαρκίας όπου υπάρχει αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης.



Εικόνα 1. Οι πορείες σηματοδότησης που επάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία και εμπλέκονται στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων TLR2, TLR4 και TNFR οδηγεί στην ενεργοποίηση της σηματοδότησης μέσω των NF-κB και JNK κινασών. Οι κινάσες σερίνης IKKb και JNK φωσφορυλιώνουν τους υποδοχείς ινσουλίνης IRS-1 και IRS-2, αναστέλλοντας την σηματοδότηση της ινσουλίνης. Επιπλέον, η ενεργοποίηση της κινάσης IKKb οδηγεί στην φωσφορυλίωση και αποικοδόμηση του αναστολέα του NF-κB (IκB) επιτρέποντας την μετατόπιση του NF-κB στην περιοχή του πυρήνα. Ομοίως, η ενεργοποίηση του JNK οδηγεί στον σχηματισμό του AP-1 μεταγραφικού παράγοντα. Στην περιοχή του κυτταρικού πυρήνα οι NF-κB και AP-1 ενεργοποιούν γονίδια φλεγμονής που συμβάλλουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη με παρακρινικό τρόπο.

ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ, ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1988 από τον Reaven GM και αποτελεί μια συνάθροιση καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου που προδιαθέτουν τα άτομα στην ανάπτυξη ΣΔΤ2 και σε αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας [22]. Έκτοτε έχουν προταθεί πολλοί ορισμοί, με πλέον πρόσφατο τον εναρμονισμένο ορισμό σύμφωνα με τον οποίο πρέπει να πληρούνται τουλάχιστον 3 από τους εξής 5 παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου:

- Αυξημένη περιφέρεια μέσης με συγκεκριμένα κριτήρια ανάλογα με τον εκάστοτε πληθυσμό και χώρα.
- Τριγλυκερίδια ≥ 150 mg / dL.
- HDL-C < 40 mg / dL στους άνδρες και < 50 mg / dL στις γυναίκες.
- Συστολική αρτηριακή πίεση ≥ 130 mm Hg ή διαστολική αρτηριακή πίεση ≥ 85 mm Hg.
- Γλυκόζη νηστείας > 100 mg (συμπεριλαμβανομένων και ατόμων που λαμβάνουν φάρμακα για την αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας, της υπέρτασης και της υπεργλυκαιμίας) [23].

Η κεντρική υποκείμενη παθοφυσιολογική διαταραχή του συνδρόμου θεωρείται ότι είναι η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, η οποία έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλει το μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων.

Στους ασθενείς με ΜΣ παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα ελευθέρων λιπαρών οξέων που αποτελούν προφλεγμονώδη κατάσταση στον οργανισμό, αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και τροποποιήσεις στο προφίλ των διαφόρων λιποκινών [24]. Η μη αλκοολική λιπώδης ηπατική νόσος, το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών, η αποφρακτική υπνική άπνοια, η σεξουαλική δυσλειτουργία, ο καρκίνος, η υπερουριχαιμία, η αυξημένη πηκτικότητα του αίματος (αυξημένα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου PAI-1, αυξημένα επίπεδα του ινωδογόνου κ.α) και η

μικρολευκωματινουρία είναι μερικές από τις διαταραχές που συνδέονται με το ΜΣ. Επίσης, ένα κοινό στοιχείο είναι η παρατηρούμενη αντίσταση στη δράση της ορμόνης λεπτίνης και η συνεπακόλουθη υπερλεπτιναιμία [25].

Παράλληλα, σημαντική θέση κατέχει στην παθογένεια του ΜΣ η προκαλούμενη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη αθηροσκληρωτικών αλλοιώσεων στα αγγεία. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η σπλαχνική παχυσαρκία συνδέονται με την αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία, της οποίας κύριαρχα στοιχεία είναι τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων, τα χαμηλά επίπεδα HDL-C και τα αυξημένα επίπεδα μικρών και πυκνών σωματιδίων χοληστερόλης LDL. Συγχρόνως, έχει παρατηρηθεί θετική συσχέτιση μεταξύ του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου και της ύπαρξης του ΜΣ. Επίσης, αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας παρατηρείται και με την αύξηση των παραγόντων κινδύνου που απαρτίζουν τον ορισμό του ΜΣ [26]. Σημαντική είναι η αντιμετώπιση των παραγόντων κινδύνου, όπως η τροποποίηση του τρόπου ζωής μέσω αλλαγών στις διατροφικές συνήθειες και την εντατικοποίηση της σωματικής δραστηριότητας καθώς και η κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή.

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΜΣ

Ο επιπολασμός του ΜΣ στο γενικό πληθυσμό εξαρτάται από τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τον ορισμό του, την ηλικία, το φύλο, την εθνικότητα και το περιβάλλον του πληθυσμού που μελετάται. Αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα της δημόσιας υγείας που λαμβάνει την μορφή επιδημίας, επηρεάζοντας τόσο τις πλούσιες χώρες του δυτικού κόσμου όσο και τις αναπτυσσόμενες χώρες. Η ανησυχητική αυξητική τάση της επίπτωσης του ΜΣ σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες [27] πηγάζει από την υιοθέτηση του δυτικού προτύπου διαβίωσης που συνδέεται με μειωμένη σωματική δραστηριότητα και δίαιτα αυξημένη σε θερμίδες [28]. Έχει παρατηρηθεί ότι η συχνότητα εμφάνισης του ΜΣ αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας [29]. Συγκεκριμένα, στους άνδρες παρατηρείται από την τρίτη δεκαετία της ζωής αύξηση της επίπτωσης, με μεγαλύτερη επίπτωση την πέμπτη δεκαετία ενώ στις γυναίκες υπάρχει μια χρονική καθυστέρηση και η αύξηση της επίπτωσης παρατηρείται μετά την ηλικία των 50 ετών [30].

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, σύμφωνα με το εθνικό πρόγραμμα NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey), το ποσοστό εμφάνισης του ΜΣ κυμαίνεται στο 22,5%, με πιά αυξημένη επίπτωση στους μεξικάνικης καταγωγής πολίτες

[31]. Οι ευρωπαϊκές μελέτες αναφέρουν ότι τα ποσοστά επικράτησης του ΜΣ κυμαίνονται από 10-26%. Τα ποσοστά στην Ινδία κυμαίνονται μεταξύ 7,9-46,5%, οι μελέτες στο Ιράν δείχνουν ποσοστά 24% στους άνδρες και 42% στις γυναίκες ενώ οι μελέτες στην Τουρκία αναφέρονται ποσοστά 27% στους άνδρες και 38,5% στις γυναίκες [32]. Η Ιαπωνία εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης, με επιπολασμό που κυμαίνεται στο 8,1% στους άνδρες και στο 9,9% στις γυναίκες [33]. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι οι αστικοί πληθυσμοί εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης ΜΣ από τους αγροτικούς πληθυσμούς [34].

Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΣ ΣΤΟ ΠΕΡΑΣΜΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ

Το 1922 ο Maranon G. και το 1923 ο Kylin E. εισήγαγαν τον όρο «σύνδρομο υπέρτασης, υπεργλυκαιμίας και υπερουριχαιμίας» [35], [36]. Το 1956 ο Vague J. συνέδεσε την «ανδρικού τύπου» παχυσαρκία με την εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας, διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη, υπερουριχαιμία και αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα [37]. Το 1961 ο Avogaro και ο Cripaldi χρησιμοποίησαν τον όρο «πολυμεταβολικό σύνδρομο» [38] ενώ το 1988 ο Reaven GM. εισήγαγε τον όρο «σύνδρομο X» που είχε ως βασικά στοιχεία την ύπαρξη αντίστασης στην ινσουλίνη, την υπερινσουλιναιμία, την υπεργλυκαιμία, τη χαμηλή HDL-C, την αυξημένη VLDL-C και την αρτηριακή υπέρταση [39]. Η παχυσαρκία δεν συμπεριλήφθηκε ως μέρος του Συνδρόμου X καθώς θεωρήθηκε ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη και όχι η παχυσαρκία ήταν ο κοινός παρονομαστής. Ακολούθως, το 1989 ο NM. Karlan προσέθεσε στα βασικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου την κεντρική παχυσαρκία (αύξηση του σπλαχνικού και υποδορίου λίπους) και όρισε τη θανατηφόρο τετράδα που αποτελούνταν από την κεντρική παχυσαρκία, την αντίσταση στην ινσουλίνη, την υπερτριγλυκεριδαιμία και την αρτηριακή υπέρταση [40]. Ακολούθησαν οι De Fronzo και Ferrannini καθώς και ο Haffner που εισήγαγαν τον όρο «σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη» αναφερόμενοι στο ΜΣ [41].

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) διατύπωσε για πρώτη φορά το 1998 ορισμό για το ΜΣ που περιλάμβανε τη μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, τη μειωμένη γλυκόζη νηστείας ή το ΣΔΤ2 ή/και την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης (χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της υπερινσουλιναιμικής ευγλυκαιμικής παγίωσης), μαζί με 2 ή περισσότερους επιπρόσθετους παράγοντες. Επιπλέον παράγοντες ήταν η αρτηριακή

υπέρταση (ΑΠ \geq 160/90 mm Hg), τα αυξημένα τριγλυκερίδια πλάσματος (\geq 150 mg/dl) και/ή χαμηλή HDL-C ($<$ 35 mg/dl για τους άνδρες και $<$ 39 mg/dl για τις γυναίκες), η κεντρική παχυσαρκία [δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) $>$ 30 kg/m ή λόγος μέσης προς ισχίο $>$ 0,90 για τους άνδρες και $>$ 0,85 για τις γυναίκες] και/ή μικρολευκωματινουρία [42]. Η δυσχέρεια της εφαρμογής της μεθόδου της υπερινσουλιαιμικής ευγλυκαιμικής παγίωσης ως εξέταση ρουτίνας και η αμφισβήτηση του ρόλου της μικρολευκωματινουρίας και του λόγου περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίου οδήγησαν σε αναθεώρηση του ορισμού.

Το 1999 η ευρωπαϊκή ομάδα ειδικών για την μελέτη της αντίστασης στην ινσουλίνη (EGIR) χρησιμοποίησε τον όρο «σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη» εξαιρώντας τους ασθενείς με ΣΔΤ2. Η αντίσταση στην ινσουλίνη ορίστηκε ως το επίπεδο της ινσουλίνης νηστείας πάνω από το 75^ο εκατοστημόριο για τις τιμές στο γενικό πληθυσμό. Επίσης, συμπεριλήφθηκε η παχυσαρκία (ορίστηκε ως περιφέρεια μέσης \geq 94 cm για τους άνδρες και \geq 80 cm για τις γυναίκες), η αρτηριακή υπέρταση (\geq 140/90 mm Hg) και η δυσλιπιδαιμία (τριγλυκερίδια \geq 180 mg/dl ή HDL-C \leq 39 mg/dl) [43].

Το 2001 ως «Μεταβολικό Σύνδρομο» ονομάστηκε η συνάθροιση διαφόρων καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου από Ειδική Επιτροπή Θεραπείας των Ενηλίκων (Adult Treatment Panel – ATP III) του Εθνικού Προγράμματος Επιμόρφωσης για τη χοληστερόλη (National Cholesterol Education Program – NCEP) [44]. Τα κριτήρια που χρησιμοποίησε συμπεριλάμβαναν 3 τουλάχιστον από τους εξής καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου: παχυσαρκία (περιφέρεια μέσης \geq 102 cm στους άνδρες και \geq 88 cm στις γυναίκες), γλυκόζη νηστείας $>$ 110 mg/dL, τριγλυκερίδια \geq 150 mg/dL και HDL-C $<$ 40 mg/dL καθώς και αρτηριακή πίεση \geq 130/ 85 mm Hg.

Το 2003 η Αμερικανική Εταιρεία των Κλινικών Ενδοκρινολόγων (AACE) τροποποίησε τα κριτήρια ATP III, αναβαθμίζοντας εκ νέου τη σημασία της αντίστασης στην ινσουλίνη ως θεμέλιο λίθο στην παθοφυσιολογία του συγκεκριμένου συνδρόμου [45]. Η Διεθνής Ομοσπονδία Διαβήτη (IDF) το 2005 δημιούργησε έναν κλινικά χρήσιμο ορισμό για τον εντοπισμό ατόμων από οποιαδήποτε χώρα με υψηλό κίνδυνο καρδιαγγειακής νοσηρότητας και ΣΔΤ2. Η κεντρική παχυσαρκία (ΔΜΣ ανάλογα με την εκάστοτε εθνοτική ομάδα) ήταν απαραίτητη προϋπόθεση για την ύπαρξη του συνδρόμου. Επιπλέον, ο ορισμός απαιτούσε την παρουσία τουλάχιστον 2 από τους εξής 4 παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου: τριγλυκερίδια \geq 150 mg/dL, HDL-C $<$ 40 mg/dL στους άνδρες ή $<$ 50 mg/dL στις γυναίκες, συστολική αρτηριακή πίεση \geq 130 mmHg ή διαστολική

αρτηριακή πίεση ≥ 85 mmHg και γλυκόζη νηστείας > 100 mg/dl, συμπεριλαμβανομένου του ΣΔΤ2 και εκείνων των ατόμων με προηγηθείσα διάγνωση ή θεραπεία για οποιασδήποτε από τις προηγούμενες παθήσεις [46].

Το 2005 η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία και το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος (American Heart Association/National Heart Lung and Blood Institute ή AHA/NHLBI) πρότειναν επίσης κριτήρια για τη διάγνωση του ΜΣ. Τα αναθεωρημένα αυτά κριτήρια βασίστηκαν στα κριτήρια ATP III και απαιτούσαν την ύπαρξη τουλάχιστον 3 από τα ακόλουθα 5 κριτήρια: αυξημένη περιφέρεια μέσης (≥ 102 cm στους άνδρες και ≥ 88 cm στις γυναίκες), τριγλυκερίδια ≥ 150 mg/dL και HDL-C < 40 mg/dL στις άνδρες και < 50 mg/dL στις γυναίκες, αυξημένη αρτηριακή πίεση $\geq 130/85$ mm Hg και αυξημένη γλυκόζη νηστείας > 100 mg/dL [47]. Το κριτήριο της περιφέρειας μέσης τροποποιήθηκε ανάλογα με την εκάστοτε μελετούμενη εθνοτική ομάδα όπως και στα κριτήρια της IDF. Το 2009 θεσπίστηκαν παγκοσμίως εναρμονισμένα κριτήρια που σχετίζονταν με την κατανομή του λιπώδους ιστού ανάλογα με την εκάστοτε εθνικότητα [23].

Γεγονός είναι ότι αμφότεροι οι ορισμοί περιέχουν τα 4 βασικά κλινικά χαρακτηριστικά του ΜΣ, δηλαδή την υπεργλυκαιμία, τη δυσλιπιδαιμία, την κεντρική παχυσαρκία και την υπέρταση. Παρόλα αυτά, το τελευταίο διάστημα η έννοια του ΜΣ τίθεται από την επιστημονική κοινότητα διαρκώς σε αμφισβήτηση σχετικά με το εάν αποτελεί μια ανεξάρτητη και αυτοτελή κλινική οντότητα [48].

Το 2012 προτάθηκε ο όρος «Κυκλοφορικό Σύνδρομο» ως μετεξέλιξη του ΜΣ. Σ' αυτό τον ορισμό εκτός από τα κλασικά κριτήρια του ΜΣ προστέθηκαν και άλλοι παράγοντες κινδύνου, όπως η μικρολευκωματουρία, η κάθαρση κρεατινίνης, η δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας και η αορτική ακαμψία [49]. Οι δείκτες αυτοί θεωρείται ότι είναι παθοφυσιολογικά τα αποτελέσματα της υποκλινικής φλεγμονής, του οξειδωτικού στρες, της υπερπηκτικότητας και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που απορρέουν από το ΜΣ και την αρτηριοσκλήρυνση.

Το 2014 προτάθηκε η μετονομασία του ΜΣ σε «Υπερινσουλιναϊμικό Σύνδρομο» μιας και παρατηρήθηκε ότι τα άτομα με ΜΣ εμφάνιζαν σε μεγάλο ποσοστό υπερινσουλιναϊμία [50]. Τέλος, το 2015 εμφανίσθηκε νέα πρόταση μετονομασίας του συνδρόμου σε «Νόσος του Συμπαθητικού Συστήματος» μιας και η αυξημένη συμπαθητική δραστηριότητα ευοδώνει τη λιπόλυση, τη νεογλυκογένεση, την έκκριση ινσουλίνης, την αγγειοσύσπαση και την ινσουλινοαντίσταση [51].

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Η παχυσαρκία ορίζεται ως η κλινική κατάσταση στην οποία παρατηρείται ανώμαλη ή υπερβολική συσσώρευση λίπους που μπορεί να βλάψει την υγεία [52]. Αποτελεί μια παγκόσμια επιδημία που επιβαρύνει τη δημόσια υγεία με σημαντικές επιπτώσεις όσον αφορά τη νοσηρότητα, τη θνησιμότητα και το κόστος της υγειονομικής περίθαλψης. Πρόκειται για μια χρόνια σύνθετη κατάσταση που προκαλείται από την αλληλεπίδραση γενετικών, περιβαλλοντικών, μεταβολικών και συμπεριφορικών παραγόντων. Έχει παρατηρηθεί ότι ο καθιστικός τρόπος ζωής, η έλλειψη συστηματικής άσκησης και η υψηλής θερμιδικής αξίας διατροφή συμβάλλουν στη συσσώρευση σπλαχνικού λίπους [53]. Η δίαιτα πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και πρωτεΐνη οδηγεί σε επαγωγή του οξειδωτικού στρες και της προφλεγμονώδους κατάστασης στο πλάσμα και στα περιφερικά μονοκύτταρα του αίματος [54]. Παρατηρήθηκε επίσης ότι ο περιορισμός της θερμιδικής πρόσληψης στα παχύσαρκα άτομα και η νηστεία στα άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος οδήγησε σε μείωση του οξειδωτικού στρες και των μεσολαβητών της φλεγμονής [55].

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Κατά τα τελευταία 30 χρόνια έχει παρατηρηθεί παγκοσμίως μια ανησυχητική αύξηση του παχύσαρκου πληθυσμού με διπλασιασμό του ποσοστού της παιδικής παχυσαρκίας (6-11 ετών) και τριπλασιασμό του ποσοστού της εφηβικής παχυσαρκίας (12-19 ετών) [56]. Το 2016 παρατηρήθηκε παγκοσμίως ότι πάνω από 300 εκατομμύρια παιδιά και έφηβοι ηλικίας 5-19 ετών ήταν υπέρβαρα ή παχύσαρκα [52]. Στο παρελθόν η παχυσαρκία αποτελούσε κυρίως πρόβλημα των οικονομικά ανεπτυγμένων χωρών. Παρόλα αυτά, τα τελευταία έτη παρατηρείται ανησυχητική αύξηση του επιπολασμού στις ασθενέστερες οικονομικά χώρες και ιδιαίτερα στις αστικές περιοχές. Τα άτομα που είναι παχύσαρκα παγκοσμίως είναι περισσότερα από τα λιποβαρή, εκτός από τις περιοχές της υποσαχάριας Αφρικής και της Ασίας. Το 2015 ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) συσχετίστηκε με 4 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως που αντιπροσωπεύουν το 7,1% των θανάτων από οποιαδήποτε αιτία.

Το 2017 υπολογίστηκε ότι 603,7 εκατομμύρια ενήλικες ήταν παχύσαρκοι παγκοσμίως, γεγονός που αντιστοιχεί στο 12% των ενηλίκων [57].

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Ο δείκτης μάζας σώματος είναι ένας απλός δείκτης που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των υπέρβαρων και παχύσαρκων ενηλίκων. Ορίζεται από το βάρος ενός ατόμου σε χιλιόγραμμα διαιρούμενο με το τετράγωνο του ύψους του σε μέτρα (kg/m^2). Για τους ενήλικες ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization) ορίζει το υπερβολικό βάρος και την παχυσαρκία ως εξής: Το υπερβολικό βάρος αντιστοιχεί σε $\Delta\text{ΜΣ} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ενώ στην παχυσαρκία είναι ο $\Delta\text{ΜΣ} \geq 30 \text{ kg/m}^2$. Αποτελεί το πιο χρήσιμο εργαλείο υπολογισμού της παχυσαρκίας μιας και είναι το ίδιο και για τα δύο φύλα και για όλες τις ηλικίες των ενηλίκων. Παρόλα αυτά θα πρέπει να θεωρείται ένας αδρός δείκτης επειδή μπορεί να μην αντιστοιχεί στον ίδιο βαθμό κατανομής του λιπώδους ιστού σε διαφορετικά άτομα.

Ένας άλλος σωματομετρικός δείκτης που σχετίζεται με την εύρεση κεντρικής (κοιλιακής) παχυσαρκίας είναι η περίμετρος της μέσης (> 94 εκατοστά στους άνδρες και > 80 εκατοστά στις γυναίκες). Επίσης, ο λόγος περίμετρος μέσης/περίμετρος ισχίων ($\geq 0,90$ στους άνδρες και $\geq 0,85$ στις γυναίκες) αναδεικνύει τη σχετική κατανομή του λιπώδους ιστού στους ενήλικες. Ο αυξημένος αυτός λόγος (apple shape) συνδέεται με τον ανδρικό σωματότυπο. Αντίθετα, η περιφερική κατανομή λίπους παρατηρείται κυρίως στις γυναίκες (pear shape). Σχετίζεται ισχυρά με τη σπλαχνική ή κοιλιακή παχυσαρκία και συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων, όπως καρδιαγγειακών παθήσεων και ΣΔΤ2 [58].

Ο προσδιορισμός της λιπώδους μάζας μπορεί να γίνει με τη μέθοδο της λιπομέτρησης: α) με τη χρήση δερματοπτυχόμετρου ή β) με τη βοήθεια της βιοηλεκτρική εμπέδησης. Επίσης, ο προσδιορισμός του σπλαχνικού λίπους μπορεί να γίνει με τη βοήθεια αξονικής ή μαγνητικής τομογραφίας. Παράλληλα, για την εκτίμηση της κοιλιακής παχυσαρκίας εφαρμόζεται η μέτρηση της απορρόφησης με ακτίνες X διπλής ενέργειας (DEXA), η μέθοδος της υδροπυκνομετρίας, η μέθοδος της αεροπυκνομετρίας, η μέτρηση του ολοσωματικού νερού καθώς και η μέτρηση του ολοσωματικού καλίου [59].

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση του γενικού ενήλικου πληθυσμού με βάση τον ΔΜΣ

ΔΙΑΓΝΩΣΗ	ΤΑΞΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	ΔΜΣ (kg/m ²)
Ελλιποβαρής		< 18,5
Φυσιολογικός		18,5-24,9
Υπέρβαρος		25-29,9
Παχύσαρκος	I	30-34,9
Παχύσαρκος	II	35-39,9
Ακραία παχύσαρκος	III	≥ 40

ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Παρόλο που στο παρελθόν η παχυσαρκία θεωρούνταν σύμβολο πλούτου και γονιμότητας, στη σύγχρονη εποχή τείνει να συνδεθεί με κοινωνικό στιγματισμό και μειονεκτήματα στην αγορά εργασίας. Έχει εμπεδωθεί πλέον ότι αποτελεί παράγοντα υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη διαφόρων μεταβολικών και καρδιαγγειακών παθήσεων, όπως την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, το ΣΔΤ2, τη στεάτωση του ήπατος και την αθηροσκλήρωση [60]. Κοινό γνώρισμα αυτών των μεταβολικών επιπλοκών είναι η ύπαρξη χαμηλού βαθμού φλεγμονής που χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα στην κυκλοφορία του αίματος προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών (π.χ. IL-6, TNF-α, CCL2, CCL5) καθώς και αυξημένη συσσώρευση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. μακροφάγων και λεμφοκυττάρων) στο λιπώδη ιστό [61]. Δεδομένου ότι οι λιποκίνες εκκρίνονται στην κυκλοφορία, αυτή η τοπική φλεγμονή που προκαλείται από την παχυσαρκία στο λιπώδη ιστό μεταφέρεται και σε άλλες θέσεις του σώματος, από τον καρδιαγγειακό ιστό έως τα κυκλοφορούντα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος [62].

Η παχυσαρκία συνδέεται με τις παρακάτω νοσολογικές οντότητες:

- Ινσουλινοαντίσταση και ΣΔΤ2.
- Φλεβική ανεπάρκεια και οιδήματα στα κάτω άκρα: Οφείλονται στην αύξηση της πίεσης πλήρωσης των κοιλιών της καρδιάς και στην ανεπάρκεια των βαλβίδων των φλεβών των κάτω άκρων.

- Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία: Αποδίδεται στα χαμηλά επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου.
- Υπέρταση: Η υψηλή αρτηριακή πίεση οφείλεται αφενός στην αύξηση της καρδιακής παροχής, αφετέρου στην αύξηση της συστηματικής αγγειακής αντίστασης.
- Σύνδρομο υπνικής άπνοιας: Οφείλεται στη διαταραχή του λόγου αερισμού-αιμάτωσης, ιδίως σε ύπτια θέση κατάκλισης.
- Πνευμονική υπέρταση: Αποδίδεται στον αγγειόσπασμο των πνευμονικών αγγείων, λόγω της κυψελιδικής υποξίας που υφίσταται στο σύνδρομο υπνικής άπνοιας [63] και στην υπερτροφία των λείων μυικών ινών του τοιχώματος των πνευμονικών αγγείων [64].
- Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο: Η συσχέτιση της παχυσαρκίας με το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο αποδίδεται στην ύπαρξη προφλεγμονώδους και προθρομβωτικής κατάστασης.
- Στεφανιαία νόσος: Η παχυσαρκία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.
- Καρδιακή ανεπάρκεια: Ο αυξημένος ΔΜΣ προδιαθέτει σε καρδιακή ανεπάρκεια μέσω ανάπτυξης υπέρτασης, ΣΔΤ2 και στεφανιαίας νόσου.
- Αρρυθμίες: Τα παχύσαρκα άτομα έχουν αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη αρρυθμιών και αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, ακόμη και σε απουσία καρδιακής δυσλειτουργίας [65].
- Καρκίνος: Υπάρχει σύνδεση της παχυσαρκίας με την εμφάνιση κακοήθων νεοπλασμάτων στο παχύ έντερο, στο μαστό, στη μήτρα, τον οισοφάγο κ.α.
- Ψυχική σφαίρα: Η παχυσαρκία συνδέεται με δυσθυμία, κατάθλιψη, αυτοκτονικό ιδεασμό και χαμηλή αυτοεκτίμηση.
- Μυοσκελετικό σύστημα: Η παχυσαρκία συνδέεται με την εμφάνιση οστεοαρθρίτιδας, ουρικής αρθρίτιδας, πλατυποδίας, οσφυαλγίας, ραχιαλγίας και κηλών στους μεσοσπονδύλιους δίσκους.
- Γαστρεντερικό σύστημα: Η παχυσαρκία σχετίζεται με την εμφάνιση διαφραγματοκήλης, γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης, οισοφαγίτιδας, χολολιθίασης, λιπώδους ήπατος, στεατοηπατίτιδας και κίρρωσης ήπατος.

- Ενδοκρινικό σύστημα: Η παχυσαρκία συνδέεται με την εμφάνιση συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών, διαταραχών της περιόδου και υπερτρίχωσης.
- Γενετήσιο σύστημα: Η παχυσαρκία σχετίζεται με την εμφάνιση προβληματικής σεξουαλικής λειτουργίας, ανικανότητας και διαταραχών στη γονιμότητα.
- Δερματολογικά προβλήματα: Η παχυσαρκία συνδέεται με την εμφάνιση δερματικών λοιμώξεων και ακμής.

ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΥΓΙΕΙΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΙ (ΜΥΠ)

1. Γενικά στοιχεία

Η έννοια των ΜΥΠ περιγράφηκε για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1980 με βασικό χαρακτηριστικό τους το $\Delta\text{ΜΣ} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ [66]. Παρά το αυξημένο σωματικό λίπος η συγκεκριμένη υποκατηγορία παχύσαρκων φαίνεται να εμφανίζει ευνοϊκό μεταβολικό προφίλ με βασικά χαρακτηριστικά την ινσουλινοευαισθησία και την έλλειψη αρτηριακής υπέρτασης. Ταυτόχρονα, εμφανίζει και ευνοϊκό προφίλ όσον αφορά τους δείκτες φλεγμονής, τις λιπιδαιμικές, ανοσολογικές και ορμονικές παραμέτρους (χαμηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων, hsCRP, IL-6, MCP-1 και ApoB καθώς και αυξημένα επίπεδα αδιπονεκτίνης και HDL-C) [67]. Οι παράγοντες και οι μηχανισμοί που συνδέονται με την έκφραση του προστατευτικού προφίλ σε αυτήν την υποκατηγορία παχύσαρκων ατόμων παραμένουν ακόμη άγνωστοι.

Είναι ενδιαφέρουσα η παρατήρηση σε πληθυσμιακές μελέτες ότι η τάση συσσώρευσης λίπους στις κεντρικές και περιφερικές λιποαποθήκες του οργανισμού συσχετίζεται ισχυρά με το γενετικό υπόβαθρο [68] και συνεπώς συγκεκριμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των ΜΥΠ πιθανώς να σχετίζονται με την κληρονομικότητα [69], συμπεριλαμβανομένης και της κατανομής του σωματικού λίπους. Τα υψηλότερα επίπεδα ινσουλινοευαισθησίας στους ΜΥΠ μπορεί να οφείλονται εν μέρει στις χαμηλότερες ποσότητες σπλαχνικού λίπους παρά την παρουσία μεγάλων ποσοτήτων συνολικού σωματικού λίπους. Συγκεκριμένα, τα ΜΥΠ άτομα παρουσιάζουν μικρότερη εναπόθεση λίπους στους σκελετικούς μύες και στην περιοχή του ήπατος, μικρότερα και πιο ινσουλινοευαίσθητα λιποκύτταρα καθώς και αυξημένη εναπόθεση λιπώδους ιστού υποδορίως [70].

Επίσης, ο τρόπος ζωής φαίνεται να διαδραματίζει βασικό ρόλο στην εμφάνιση του ευνοϊκού αυτού μεταβολικού προφίλ. Επιπρόσθετα, οι ΜΥΠ εμφανίζουν χαμηλά ποσοστά έκτοπης εναπόθεσης λίπους και μικρό πάχος του μέσου-έσω χιτώνα των καρωτίδων (IMT) [71]. Συγχρόνως, εμφανίζουν διήθηση του λευκού λιπώδους ιστού (ΛΛΙ) από μικρότερο αριθμό μακροφάγων και μικρότερο αριθμό σχηματισμών των μακροφάγων σε σχήμα στεφάνης (crown like structures) στον λιπώδη ιστό σε σχέση με τους μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκους [72].

Δεν είναι ξεκάθαρο αν οι ΜΥΠ μπορούν να διατηρήσουν την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης που εμφανίζουν καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους ή απλώς αντιπροσωπεύουν χρονικά μια πρώιμη έκφραση της παχυσαρκίας [73]. Πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι πρόκειται για μια μεταβατική κατάσταση, πριν δηλαδή την εμφάνιση των καρδιαγγειακών επιπλοκών που συνδέονται με την παχυσαρκία. Επίσης, πρόσφατα παρατηρήθηκε ότι τα ΜΥΠ άτομα βρίσκονται σε χαμηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο από ό,τι τα υπόλοιπα παχύσαρκα άτομα αλλά εμφανίζουν υψηλότερο κίνδυνο από τα άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος [74].

Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι τα ΜΥΠ άτομα συνδέονται με νόσους της χοληδόχου κύστης, όπως η χολολιθίαση, με οστεοαρθρίτιδα, άσθμα, καρδιομυοπάθεια και με διάφορες μορφές καρκίνου [75]. Επίσης, μέσω των μακροχρόνιων μελετών παρατήρησης υπάρχουν ενδείξεις ότι η μεταβολικά υγιής παχυσαρκία είναι μια παροδική κατάσταση με σταδιακή μείωση του επιπολασμού με την πάροδο των ετών [76]. Για παράδειγμα, είναι συχνό το φαινόμενο επαγγελματίες παλαιστές του Sumo να μετατρέπονται από ΜΥΠ σε παχύσαρκους με ΜΣ μετά την απόσυρσή από την ενεργό δράση [77].

2. Προτεινόμενα κριτήρια για τον προσδιορισμό των ΜΥΠ

Διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν διατυπώσει κριτήρια που θεωρούν ότι καλύπτουν το φάσμα των ανθρωπομετρικών και αιματολογικών χαρακτηριστικών αυτής της υποκατηγορίας παχυσάρκων αλλά ως στιγμή δεν υπάρχουν κοινά αποδεκτές κατευθυντήριες οδηγίες [78]. Το ακριβές ποσοστό των ΜΥΠ κυμαίνεται από 6–40 % ανάλογα με το πόσο αυστηρά είναι τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται. Μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναγνώρισε πάνω από 30 διαφορετικούς ορισμούς των ΜΥΠ

καθιστώντας δυσχερή την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και οριστικά συμπεράσματα δύσκολο να εξαχθούν. Ανάλογα με τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διάκριση των ΜΥΠ ατόμων παρατηρούνται επαναλαμβανόμενα χαρακτηριστικά, όπως τα χαμηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων πλάσματος, απολιποπρωτεΐνης-B (Apo-B), ινσουλίνης νηστείας, φερριτίνης και ο χαμηλός λόγος τριγλυκεριδίων/HDL-C.

Οι περισσότερες μελέτες περιγράφουν τους ΜΥΠ ως άτομα με ΔΜΣ ≥ 30 kg/m² που δεν πάσχουν από μεταβολικά νοσήματα, όπως ΣΔΤ2, δυσλιπιδαιμία και υπέρταση [79]. Τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα κριτήρια για τον προσδιορισμό των ΜΥΠ είναι τα εξής:

- ✓ Χρήση της υπερινσουλιναιμικής ευγλυκαιμικής παγίωσης [80].
- ✓ Το ανώτερο τεταρτημόριο σχετικά με το ποσοστό διάθεσης της γλυκόζης [81].
- ✓ Το ανώτερο τεταρτημόριο του δείκτη ευαισθησίας στην ινσουλίνη ύστερα από του στόματος δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη [82].
- ✓ Λιγότεροι από δύο από τους ακόλουθους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου: συστολική αρτηριακή πίεση ≥ 130 mmHg, διαστολική αρτηριακή πίεση ≥ 85 mmHg, τριγλυκερίδια ≥ 150 mg/dL, γλυκόζη νηστείας ≥ 100 mg/dL, δείκτης HOMA ≥ 5 , hsCRP ≥ 0.1 mg/L, HDL-C < 40 mg/dL στους άνδρες και < 50 mg/dL στις γυναίκες [83].
- ✓ Λιγότερο από τρία από τα κριτήρια που απαρτίζουν τον ορισμό του ΜΣ [84].
- ✓ Άτομα με ΔΜΣ ≥ 30 mmHg και HDL-C < 40 mg/dL χωρίς να πάσχουν από ΣΔΤ2 και υπέρταση [85].

Διάφοροι δείκτες φλεγμονής (CRP και λευκοκυττάρωση) έχουν προταθεί για να συμπεριληφθούν στα κριτήρια ορισμού των ΜΥΠ [86]. Ένας επιπλέον δείκτης που εμφανίζει αυξημένη σημαντικότητα στον προσδιορισμό των ΜΥΠ είναι η περιεκτικότητα του ήπατος σε λιπώδη ιστό. Συγκεκριμένα, ο επιπολασμός της μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου εμφανίζεται σημαντικά χαμηλότερος σε ΜΥΠ άτομα σε σύγκριση με μεταβολικά μη υγιή παχύσαρκα άτομα (ΜΜΥΠ) [87]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η κατηγοριοποίηση των ΜΥΠ ατόμων αναφέρεται μόνο σε μεταβολικές ή καρδιαγγειακές επιπλοκές χωρίς να γίνεται σύνδεση με μη μεταβολικές επιπλοκές της παχυσαρκίας, όπως ορθοπεδικά προβλήματα, πνευμονικές επιπλοκές κ.α.

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ

Ο λιπώδης ιστός αποτελείται από μια ποικιλία κυτταρικών τύπων, συμπεριλαμβανομένων των λιποκυττάρων, των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (μακροφάγα και λεμφοκύτταρα), των προλιποκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα λιποκύτταρα του λιπώδους ιστού θεωρούνται ότι αποτελούν λειτουργικά ενδοκρινικά όργανα [88]. Τα ώριμα λιποκύτταρα προέρχεται από πρόδρομα μεσεγχυματικά κύτταρα υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων ενεργοποίησης, όπως τους PPAR-γ υποδοχείς. Προσλαμβάνουν στο εσωτερικό τους γλυκόζη και λιπαρά οξέα, τα οποία απελευθερώνονται από τις λιποπρωτεΐνες με τη δράση του ενζύμου λιποπρωτεϊνική λιπάση. Στο εσωτερικό του λιποκυττάρου πραγματοποιείται η εστεροποίηση με γλυκερόλη προς παραγωγή τριγλυκεριδίων (η γλυκερόλη διαθέτει 3 υδροξύλια, κάθε ένα εκ των οποίων εστεροποιείται με ένα λιπαρό οξύ), τα οποία απελευθερώνονται με τη μορφή λιπαρών οξέων και γλυκερόλης.

Παράλληλα, τα λιποκύτταρα διαθέτουν την ιδιότητα να εκκρίνουν διάφορες λιποκίνες, όπως την αδιπονεκτίνη, τη λεπτίνη και τη ρεζιστίνη, καθώς και να λαμβάνουν μέρος στο μηχανισμό της πήξης και τον αγγειακό τόνο με την έκκριση διαφόρων πεπτιδίων, όπως το PAI-1 και το αγγειοτενσινογόνο [88]. Συγχρόνως, λαμβάνουν μέρος και στη φυσική ανοσία με την έκκριση σε μικρές ποσότητες διαφόρων κυτταροκινών, όπως του TNF-α, της IL-6 και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων- 1 (MCP-1). Η κύρια λειτουργία του λιπώδους ιστού είναι η αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή λίπους. Δευτερεύοντες ρόλοι είναι η μηχανική προστασία των οστών, των εσωτερικών οργάνων καθώς και η θερμομόνωση του σώματος [88].

Ο σπλαχνικός και υποδόριος λιπώδης ιστός είναι οι δύο πιο μεγάλοι ιστοί αποθήκευσης λίπους. Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των λιποκυττάρων, της ύπαρξης διαταραχής στην ανοχή της γλυκόζης και της κατάστασης υπερινσουλιναϊμίας [89]. Επίσης, το ποσοστό των λιποκυττάρων μικρού μεγέθους είναι αυξημένο στην περιοχή του υποδόριου και του σπλαχνικού λιπώδους ιστού σε μη διαβητικά σε σχέση με τα διαβητικά παχύσαρκα άτομα [90]. Παράλληλα, η αύξηση της σπλαχνικής λιπώδους μάζας απορρέει κυρίως από την υπερτροφία των λιποκυττάρων (αυξημένο μέγεθος λιποκυττάρων) ενώ αντίθετα η υπερπλασία των λιποκυττάρων (αυξημένος αριθμός λιποκυττάρων) παρατηρείται καθ' υπεροχήν στον υποδόριο λιπώδη ιστό.

Έχει παρατηρηθεί ότι η επέκταση του σπλαχνικού λιπώδους ιστού συνδέεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης αντίστασης στην δράση της ινσουλίνης σε σχέση με την επέκταση του υποδόριου λιπώδους ιστού [91]. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι τα μεταβολικά μη υγιή φυσιολογικού βάρους άτομα εμφανίζουν αυξημένη υπερτροφία των λιποκυττάρων στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό σε σύγκριση με τα άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος που δεν διαθέτουν καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Συγχρόνως, τα παχύσαρκα άτομα χωρίς επιβαρυντικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισαν μικρότερο μέγεθος λιποκυττάρων (15% μικρότερο μέγεθος) από τα αντίστοιχα μεταβολικά μη υγιή παχύσαρκα άτομα [92]. Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι η τοπική φλεγμονώδης διαδικασία και η ευαισθησία στον κυτταρικό θάνατο αυξάνονται στις λιποαποθήκες που διαθέτουν λιποκύτταρα μεγαλύτερου μεγέθους [93].

ΕΙΔΗ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟΥ

1. Λευκός λιπώδης ιστός

Ο ΛΛΙ αποτελεί το κυρίαρχο είδος λιπώδους ιστού στο ανθρώπινο σώμα και ως κύριο ρόλο έχει την αποθήκευση ενέργειας καθώς και την αποδέσμευση της σε καταστάσεις αυξημένων αναγκών. Περιλαμβάνει μικρό αριθμό μιτοχονδρίων και διαθέτει μεγάλα σε μέγεθος λιποσταγονίδια [94]. Εντοπίζεται κυρίως στον υποδόριο ιστό, στην κοιλιακή χώρα (σπλαχνικό λίπος), στην περιοχή του μηρού, των ισχίων, στα άνω άκρα και στην οσφυϊκή χώρα, διαθέτοντας εκτεταμένο αγγειακό και νευρικό δίκτυο. Η μεγάλη εναπόθεση του οδηγεί στην καθ' υπερβολήν σπλαχνική εντόπιση του, αποκαλούμενη επίσης κοιλιακή ή κεντρική παχυσαρκία. Σε καταστάσεις παχυσαρκίας η υπερτροφία των λιποκυττάρων είναι χαρακτηριστικό της διεύρυνσης του ΛΛΙ και συνδέεται τυπικά με διάφορες μεταβολικές διαταραχές και αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔΤ2, ανεξάρτητα από τη συνολική λιπώδη μάζα [95].

Επίσης, στα παχύσαρκα άτομα η δυσλειτουργική αγγειογένεση στην περιοχή του λιπώδους ιστού οδηγεί σε τοπική ιστική υποξία. Ακολουθεί αύξηση της έκκρισης προφλεγμονωδών χημειοκινών και κυτταροκινών, οι οποίες προάγουν τη διήθηση του ΛΛΙ από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Η αδυναμία αποτελεσματικής αποθήκευσης της περίσσειας ενέργειας στον ΛΛΙ οδηγεί τον οργανισμό σε κατάσταση μεταβολικού στρες. Αυτό πραγματοποιείται μέσω απελευθέρωσης των μη

εστεροποιημένων λιπαρών οξέων που εναποτίθενται έκτοπα στους σκελετικούς μύες, στο ήπαρ και το πάγκρεας, παρεμποδίζοντας βασικές πορείες σηματοδότησης, όπως αυτή της ινσουλίνης [96].

2. Φαιός λιπώδης ιστός

Σε αντίθεση με τα λιποκύτταρα του ΛΛΙ που αποτελούνται από ένα και μόνο λιποσταγονίδιο, τα λιποκύτταρα του φαιού λιπώδους ιστού (ΦΛΙ) περιέχουν πολυάριθμα και μικρότερα λιποσταγονίδια. Επίσης, περιέχουν πολύ μεγαλύτερο αριθμό μιτοχονδρίων που περιέχουν σίδηρο και ευθύνονται για το φαιό χρώμα του λιπώδους ιστού [97]. Παράλληλα, ο ΦΛΙ διαθέτει πιο ανεπτυγμένο τριχοειδικό αγγειακό δίκτυο από το ΛΛΙ για την τροφοδοσία των διαφόρων ιστών με οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά καθώς και για τη μεταφορά της παραγόμενης θερμότητας σε όλο τον ανθρώπινο οργανισμό. Ο ΦΛΙ παρατηρείται κυρίως στην περιαγγειακή, επικαρδιακή, υπερεπινεφριδιακή, υπερωμοπλατιαία χώρα καθώς και στην περινεφρική, περιπαγκρεατική και περιηπατική χώρα.

Σε αντίθεση με το ΛΛΙ, ο ΦΛΙ είναι μεταβολικά ενεργός ιστός και πρωτέων ρόλος των φαιών λιποκυττάρων είναι η παραγωγή θερμότητας. Σε όλα τα κύτταρα πραγματοποιείται στην περιοχή των μιτοχονδρίων η οξειδωτική φωσφορυλίωση για την παραγωγή ενέργειας με την ροή πρωτονίων διά μέσου της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, που προκύπτει από τις καύσεις και την συνεπαγόμενη ροή ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα ($O_2 + 4 e^- + 4H^+ \rightarrow 2 H_2O$). Στο ΦΛΙ η πρωτεΐνη UCP-1 (Uncoupling Protein-1) ή θερμογενίνη βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και παίζει βασικό ρόλο στην μη τρομώδη θερμογένεση και στη μετατροπή της προσλαμβανόμενης ενέργειας σε θερμότητα μέσω της διεργασίας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Συγκεκριμένα, στα φαιά λιποκύτταρα η πρωτεΐνη UCP-1 αποσυνδέει (uncoupling) την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από τη σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και η αύξηση της οξείδωσης των καυσίμων μορίων προάγει την απώλεια ενέργειας μέσω θερμότητας [98].

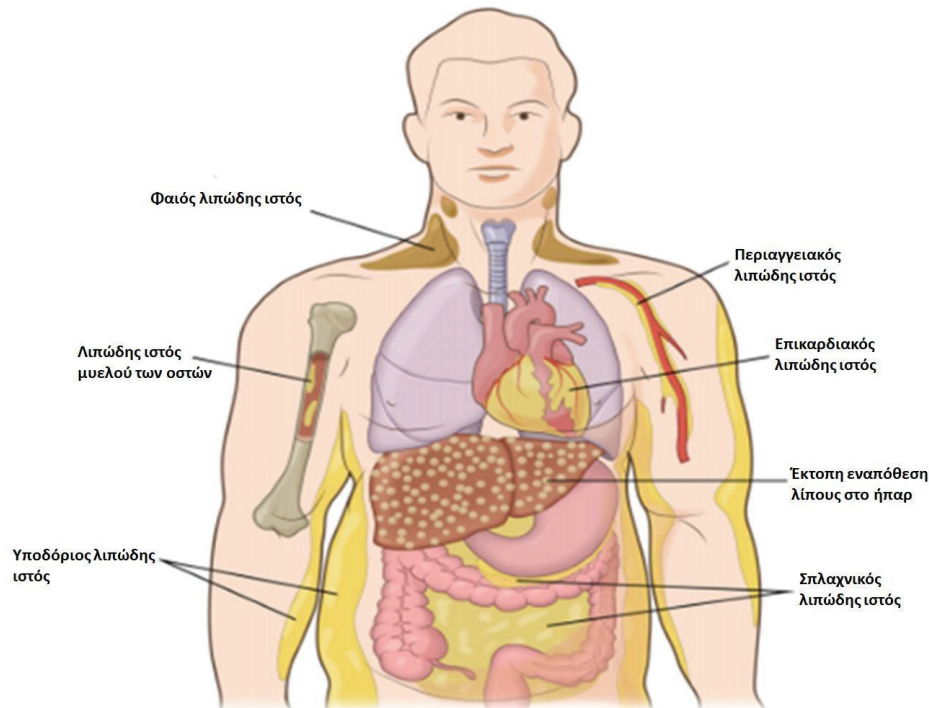
Ο ΦΛΙ παρατηρείται σε μεγάλες ποσότητες στη βρεφική ηλικία. Όσο αυξάνει η ηλικία παρατηρείται μείωση της ανάγκης για τη μη τρομώδη θερμορύθμιση και σταδιακά μειώνονται τα μιτοχόνδρια. Η κατανόηση της λειτουργίας και της χρησιμότητας του ΦΛΙ μπορεί να οδηγήσει δυνητικά σε θεραπευτικές προσεγγίσεις. Συγκεκριμένα, η

επεκτασιμότητα του λιπώδους ιστού που προκαλείται από τα δυσλειτουργικά λιποκύτταρα του ΛΛΙ μπορεί να αναστραφεί με την αρωγή των οξειδωτικών και αντιλιποτοξικών ιδιοτήτων που διαθέτουν τα λιποκύτταρα του ΦΛΙ.

3. Μπεζ λιπώδης ιστός

Ενώ ο ΦΛΙ προέρχεται από την κυτταρική σειρά που συνδέεται με το μυογονικό παράγοντα 5 (Myf5), ο ΛΛΙ διαφοροποιείται κυρίως από τα Myf5-αρνητικά προγονικά κύτταρα. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε μια νέα ενδιάμεση μορφή λιπώδους ιστού που φαίνεται ότι προέρχεται από την ίδια κυτταρική σειρά με αυτήν του ΛΛΙ. Πρόκειται για τον μπεζ λιπώδη ιστό τα λιποκύτταρα του οποίου είναι ικανά να εκφράζουν την πρωτεΐνη UCP1 [99]. Αν και η έκφραση της UCP1 στα μπεζ λιποκύτταρα προσομοιάζει με αυτήν του ΛΛΙ, διαθέτουν την ίδια ικανότητα για θερμογένεση όπως και τα κλασικά φαιά λιποκύτταρα όταν ενεργοποιούνται.

Τα μπεζ λιποκύτταρα βρίσκονται διασκορπισμένα στις αποθήκες του ΛΛΙ. Η διαδικασία της εμφάνισης των μπεζ λιποκυττάρων ή αλλιώς της αποκαλούμενης «φαιοποίησης» του ΛΛΙ αναδεικνύει την υψηλή πλαστικότητα που διαθέτει ο λιπώδης ιστός. Σχεδόν το 40% των προλιποκυττάρων του υποδόριου λιπώδη ιστού είναι σε θέση, αφού διεγερθούν, να διαφοροποιηθούν σε μπεζ λιποκύτταρα. Η ποσότητα και το στάδιο της διαφοροποίησης του λιπώδους ιστού επηρεάζουν τη «φαιοποίηση» των διαφόρων αποθεμάτων του και έχει παρατηρηθεί ότι η διαδικασία αυτή συμβαίνει κυρίως στον υποδόριο λιπώδη ιστό σε σχέση με το σπλαχνικό λιπώδη ιστό [100]. Φαίνεται ότι η παρουσία των μπεζ λιποκυττάρων είναι σημαντική για τη λειτουργική διάκριση του υποδόριου από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό. Επίσης, φαίνεται ότι η διαδικασία της «φαιοποίησης» σχετίζεται με την εμφάνιση του καλοήθους μεταβολικού προφίλ του υποδόριου λιπώδους ιστού [101].



Εικόνα 2. Κατανομή του λιπώδους ιστού στον ανθρώπινο οργανισμό [53].

ΥΠΟΞΙΑ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ

Η υποξία του διογκούμενου λιπώδους ιστού είναι μια βασική παθοφυσιολογική διαδικασία που συνδέεται με την παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη [102]. Είναι γενικά αποδεκτό ότι ο ταχέως αναπτυσσόμενος λιπώδης ιστός μπορεί να επεκταθεί γρηγορότερα σε σύγκριση με τα αγγεία που υποστηρίζουν τις ανάγκες του σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά. Η υποξία που επακολουθεί, καθώς οι εφεδρείες οξυγόνου περιορίζονται, οδηγεί σε αντισταθμιστική αγγειογένεση μέσω της παραγωγής διαφόρων αγγειογόνων παραγόντων [103]. Η υποξία επάγει την έκφραση πολυάριθμων προαγγειογόνων και προφλεγμονωδών γονιδίων στα μακροφάγα, υποδηλώνοντας το σημαντικό ρόλο των τελευταίων στην αντιμετώπιση της υποξικής κατάστασης, πιθανώς σε μια προσπάθεια να αποκαταστήσουν τον κατεστραμμένο ιστό [104].

Επίσης, παρατηρείται αθρόα συσσώρευση μακροφάγων σε τέτοιους υποξικούς/ ισχαιμικούς ιστούς [105] που στη συνέχεια οδηγούν σε αύξηση της έκφρασης ενόζαριθμού παραγόντων μεταγραφής. Μεταξύ των πιο σημαντικών από αυτούς είναι οι παράγοντες που προκαλούν υποξία (hypoxia response elements, HIFs) 1 και 2. Η υποξία αναστέλλει την αποικοδόμηση των HIFs, προκαλώντας τη συσσώρευση τους στον κυτταρικό πυρήνα.

Με αυτόν τον τρόπο δεσμεύονται σε βραχείες αλληλουχίες DNA που ονομάζονται στοιχεία απόκρισης στην υποξία (HREs), δίπλα σε οξυγονο-ευαίσθητα γονίδια, όπως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), διεγείροντας έτσι τη μεταγραφή τους [106]. Η έκφραση του παράγοντα VEGF από τα μακροφάγα αυξάνεται σημαντικά σε καταστάσεις υποξίας in vitro και σε ασθενώς αγγειοβριθείς περιοχές κακοήθων όγκων, επάγοντας τον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων και συνεπώς αυξάνοντας την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στην περιοχή.

ΛΙΠΟΚΙΝΕΣ

1. Γενικά στοιχεία

Οι λιποκίνες είναι πρωτεΐνες που εκκρίνονται τοπικά από τα λιποκύτταρα του λιπώδους ιστού. Ο ΛΛΙ απελευθερώνει συνολικά πάνω από 50 διαφορετικές λιποκίνες στην κυκλοφορία. Εμπλέκονται στη ρύθμιση του μεταβολισμού, στην ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης και στην επαγωγή της φλεγμονής στον οργανισμό. Έχει παρατηρηθεί ότι οι συγκεντρώσεις συγκεκριμένων λιποκινών συνδέονται με την εκδήλωση της παχυσαρκίας, του ΜΣ καθώς και διαφόρων καρδιαγγειακών παθήσεων [107]. Συγκεκριμένα, σε καταστάσεις δυσλειτουργικού λιπώδους ιστού η έκκριση των λιποκινών μεταβάλλεται, συμβάλλοντας στη δυσλειτουργία του μηχανισμού που ρυθμίζει την όρεξη, την αίσθηση κορεσμού, την κατανομή του λίπους στο ανθρώπινο σώμα, την έκκριση ινσουλίνης και την ευαισθησία στη δράση της, την ενεργειακή δαπάνη, τη λειτουργία του ενδοθηλίου, τη φλεγμονή, την αρτηριακή πίεση και την αιμόσταση.

Ταυτόχρονα, ρυθμίζουν σημαντικές βιολογικές διεργασίες στα όργανα στόχους, όπως στον εγκέφαλο, στο ήπαρ, στους σκελετικούς μύς, στα αγγεία, στην καρδιά, στο ανοσοποιητικό σύστημα και στα παγκρεατικά κύτταρα β . Παράλληλα, οι λιποκίνες αποτελούν πιθανούς φαρμακευτικούς στόχους στο μέλλον για τη διαχείριση της παχυσαρκίας και των διαφόρων επιπλοκών της.

2. Αδιπονεκτίνη

Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης είναι υψηλότερα στο λιπώδη ιστό λεπτών ατόμων και συσχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με την ύπαρξη παχυσαρκίας και με τα επίπεδα διαφόρων φλεγμονωδών δεικτών, όπως της CRP και της IL-6 [108]. Η

αδιπονεκτίνη μειώνει τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων του αίματος και διαθέτει αντιαθηροσκληρωτικές δράσεις [109]. Συντίθεται σχεδόν κατ' αποκλειστικότητα από το λιπώδη ιστό και είναι παρούσα σε υψηλά επίπεδα (3 έως 30 $\mu\text{g/mL}$) στο αίμα. Ταυτόχρονα, η παραγωγή της από τον λιπώδη ιστό αναστέλλεται από προφλεγμονώδεις παράγοντες, όπως τον TNF- α και την IL-6, καθώς και σε συνθήκες υποξίας και οξειδωτικού στρες. Συγχρόνως, η αδιπονεκτίνη επάγει την έκφραση του M2 φαινοτύπου των μακροφάγων μέσω αύξησης της έκφρασης της αργινάσης-1, της ιντερλευκίνης-10 και του μορίου Mgl-1 (Macrophage galactose-type lectin 1) [110].

Τα επίπεδα αδιπονεκτίνης στο πλάσμα συσχετίζονται αρνητικά με τη συσσώρευση σπλαχνικού λίπους και τα υψηλά της επίπεδα συνδέονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔΤ2, διαθέτοντας προστατευτικό ρόλο για τις διάφορες μεταβολικές επιπλοκές που προκύπτουν σε καταστάσεις παχυσαρκίας [111]. Προάγει την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης, εν μέρει μέσω της ικανότητάς της να ενεργοποιεί την ενεργοποιούμενη από AMP πρωτεϊνική κινάση (AMPK) στους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ. Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση της κινάσης AMPK οδηγεί σε αύξηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων, της πρόσληψης γλυκόζης από τον μυϊκό ιστό καθώς και σε αναστολή της διεργασίας της γλυκονεογένεσης στο ήπαρ [112]. Η αδιπονεκτίνη πιστεύεται ότι μεσολαβεί στην ενεργοποίηση της AMPK κινάσης μέσω των αλληλεπιδράσεων της με τους υποδοχείς της που βρίσκονται στην κυτταρικής επιφάνεια [υποδοχέας αδιπονεκτίνης 1 (AdipoR1) και υποδοχέας αδιπονεκτίνης 2 (AdipoR2)].

Στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα η αδιπονεκτίνη αυξάνει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση Ca^{2+} και τις δραστηριότητες της πρωτεϊνικής κινάσης που εξαρτάται από το ασβέστιο και την ασβεστιοτροποποιητίνη (καλμοδουλίνη) (CaMPK), της AMPK κινάσης και της σιρτουίνης-1 (SIRT1) με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση και δραστηριότητα του συν- ενεργοποιητή 1 α της Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ C1 α). Αυτή η πορεία συνδέεται με την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης και έτσι η διακοπή της έκφρασης του υποδοχέα της αδιπονεκτίνης-1, ειδικά στα κύτταρα των μυών, επάγει την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Επίσης, μέσω των ενεργοποιημένων υποδοχέων AdipoR1 και AdipoR2 μπορεί να οδηγήσει σε μειорύθμιση της γονιδιακής έκφρασης των TNF- α και MCP-1 καθώς και να επάγει την έκφραση του ανταγωνιστή του υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1 (IL-1 Receptor antagonist, IL-1Ra) [113].

3. Λεπτίνη

Η ορμόνη λεπτίνη ανακαλύφθηκε το 1940 και αποτελεί μια σημαντική λιποκίνη που παράγεται από τα λιποκύτταρα [114]. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη 16-kDa που αποτελείται από 167 αμινοξέα και κυκλοφορεί τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και δεσμευμένη με άλλες πρωτεΐνες. Τα επίπεδα της λεπτίνης βρίσκονται σε αναλογία με το σύνολο της λιπώδους μάζας στον ανθρώπινο οργανισμό. Επίσης, μέσω των υποδοχέων της στα όργανα στόχους η λεπτίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αίσθησης του κορεσμού, στην πρόσληψη τροφής, στην ενεργειακή δαπάνη, στην αναπαραγωγή, στη γονιμότητα, στην αθηρογένεση καθώς και στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Η λεπτίνη στην περιοχή του υποθαλάμου αυξάνει την σύνθεση ανορεξιογόνων και μειώνει τη σύνθεση ορεξιογόνων πεπτιδίων, οδηγώντας σε μείωση της όρεξης [114]. Με τη δέσμευση της λεπτίνης στον υποδοχέα της ενεργοποιούνται διάφορες πορείες σηματοδότησης, όπως η κινάση JAK/STAT (σημαντική για την πρόσληψη τροφής και την κατανάλωση ενέργειας) και η κινάση IRS/PI3K (σημαντική για τη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης) [115]. Επίσης, η λεπτίνη επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης ανεξάρτητα από τις επιδράσεις της στην πρόσληψη τροφής.

Παράλληλα, εμποδίζει τη δράση της ινσουλίνης μέσω μείωσης της λιπογένεσης στα λιποκύτταρα και μέσω μείωσης της περιεκτικότητας σε τριγλυκερίδια των λιποκυττάρων, χωρίς να παρατηρείται αύξηση στην κυκλοφορία των ελευθέρων λιπαρών οξέων. Επίσης, η λεπτίνη ενισχύει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων T [116]. Ενώ η απουσία λεπτίνης οδηγεί σε ακραία παχυσαρκία και αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, τα περισσότερα παχύσαρκα άτομα δεν εμφανίζουν έλλειψη λεπτίνης. Αντιθέτως, εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα λεπτίνης αλλά είναι άνοσα έναντι των επιδράσεων της στην καταστολή της όρεξης. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην έννοια της αντοχής της λεπτίνης σε καταστάσεις παχυσαρκίας [117]. Η μειωμένη ευαισθησία στη δράση της λεπτίνης οδηγεί σε αυξημένη συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο λιπώδη ιστό, στους μυς, στο ήπαρ και στο πάγκρεας με αποτέλεσμα την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης [118].

4. Ρεζιστίνη

Το όνομα της λιποκίνης ρεζιστίνης (Resistin) εισήχθη το 2001 από τους Steppan και συν [119]. Είναι επίσης γνωστή ως FIZZ3 (Found InInflammatory Zone 3) ή ADSF (Adipocyte Secreted Factor), αποτελεί ένα πλούσιο σε κυστεΐνη πολυπεπίδιο (12,5 kDa) που συγκροτείται από 108 αμινοξέα και ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών γνωστών ως RELMs (Resistin-like molecules) [120]. Είναι χωρισμένη σε δύο ξεχωριστές δομικές περιοχές (domains), την N- και την C- (άμινο- και καρβοξυ-τελική αντίστοιχα), που συνδέονται μεταξύ τους με μια εύκαμπτη δομική περιοχή. Ο υποδοχέας της ανθρώπινης ρεζιστίνης παραμένει άγνωστος αλλά πρόσφατα προτάθηκαν ως υποψήφιοι οι υποδοχείς TLR4 και η σχετιζόμενη με την αδενυλική κυκλάση πρωτεΐνη 1 (CAP1, Adenylyl cyclase-associated protein 1) [121].

Επίσης, βρέθηκε ότι το mRNA της ρεζιστίνης υπήρχε σε μικρές συγκεντρώσεις στα ανθρώπινα λιποκύτταρα [120]. Αντ' αυτού, εκφράζεται πρωτίστως στα μονοκύτταρα και μακροφάγα που αποτελούν σημαντική πηγή έκκρισης της. Επίσης, σημαντική πηγή έκκρισης της ρεζιστίνης αποτελούν τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα [122]. Η ρεζιστίνη αποτελεί ρυθμιστή της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως του TNF- α , της IL-6, της IL-12 και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP-1) στα μονοκύτταρα, στα μακροφάγα και στα ηπατικά κύτταρα μέσω της πορείας της κινάσης NF- κ B [123].

Η σχέση της ρεζιστίνης με την παχυσαρκία και την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης στον άνθρωπο παραμένει αμφιλεγόμενη. Αν και κάποιες αρχικές μελέτες ανέφεραν θετικούς συσχετισμούς [124], στη συνέχεια αρκετές άλλες ομάδες απέτυχαν να αναγνωρίσουν αλλαγές [125]. Ο ρόλος της ρεζιστίνης στην αιτιοπαθογένεια του ΜΣ παραμένει επίσης συγκεχυμένος. Παράλληλα, οι μελέτες που διερεύνησαν το ρόλο της ρεζιστίνης στα άτομα με δυσλιπιδαιμία είναι αντιφατικές. Η ρεζιστίνη φαίνεται ότι ενεργοποιεί την de novo ηπατική λιπογένεση και ελέγχει τον περιφερικό μεταβολισμό των λιπιδίων [126].

Συγχρόνως, η ρεζιστίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας, επάγοντας την αγγειακή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, τον πολλαπλασιασμό των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και τη δημιουργία αφρωδών κυττάρων. Επίσης, επηρεάζει τη λειτουργία των καρδιακών μυϊκών κυττάρων και επάγει τη μυοκαρδιακή δυσλειτουργία. Η ρεζιστίνη διεγείρει την παραγωγή

των λιποπρωτεϊνών VLDL-C στο ήπαρ και καταστέλλει τον υποδοχέα της λιποπρωτεΐνης LDL-C μέσω αύξησης των πρωτεϊνών PCSK9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9), επάγοντας την εμφάνιση της αθηρογόνου δυσλιπιδαιμίας [127]. Συγχρόνως, αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει τη συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων ρεζιστίνης με την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Παρόλα αυτά, δεν έχει ξεκαθαριστεί ο ακριβής μηχανισμός αυτής της διασύνδεσης [128].

5. Πρωτεΐνη δέσμευσης της ρετινόλης-4 (Retinol binding protein 4, RBP4)

Η πρωτεΐνη δέσμευσης της ρετινόλης-4 (RBP-4) είναι ένας μεταφορέας της βιταμίνης A (ρετινόλη) και εκκρίνεται τόσο από το λιπώδη ιστό όσο και από το ήπαρ. Η πλειονότητα των μελετών έχει δείξει ότι τα επίπεδα της RBP-4 του ορού είναι αυξημένα σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης [129]. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί μέσω των οποίων η RBP4 μεσολαβεί στην προαγωγή της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης περιλαμβάνουν την αυξημένη γλυκονογένεση και τη διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης στο ήπαρ και στους μύς. Αν και οι *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι η αυξημένη RBP4 συνδέεται άμεσα με την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και τα καρδιαγγειακά νοσήματα μέσω φλεγμονωδών οδών η κλινική σημασία αυτού του ισχυρισμού είναι ασαφής. Ένας αριθμός μελετών σε ανθρώπους επιβεβαίωσε ότι υψηλότερες συγκεντρώσεις RBP4 σχετίζονται θετικά με φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως με τον παράγοντα TNF-α, την IL-6 καθώς και με την αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα ενώ αντιθέτως άλλες μελέτες εμφάνισαν αρνητικές ή μηδενικές συσχετίσεις [130]. Συνεπώς, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για τη διαλεύκανση του ρόλου της RBP4 στην αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και στο ΜΣ.

6. Απελίνη

Πρόκειται για ένα πρόσφατα ανακαλυφθέν αγγειοδραστικό πεπτίδιο που έχει αποδειχθεί ότι είναι ο ενδογενής συνδέτης του υποδοχέα APJ (apelin receptor). Η απελίνη και ο υποδοχέας απελίνης βρέθηκαν στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε διάφορους περιφερικούς ιστούς. Όσον αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα, το πεπτίδιο είναι παρόν στον καρδιακό ιστό, στο ενδοθήλιο και στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος

[131]. Επίσης, η απελίνη θεωρείται και λιποκίνη επειδή παράγεται και εκκρίνεται και από τα λιποκύτταρα. Χαμηλές συγκεντρώσεις απελίνης έχουν συσχετιστεί θετικά με αύξηση του κίνδυνου για αρτηριακή υπέρταση, ιδιαίτερα σε Καυκάσιους πληθυσμούς [132]. Παρομοίως, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο οι συγκεντρώσεις απελίνης έχει παρατηρηθεί ότι είναι χαμηλότερες από τους υγιείς μάρτυρες, υποδηλώνοντας ότι διαδραματίζουν έναν πιθανό προστατευτικό καρδιαγγειακό ρόλο [133]. Επίσης, η απελίνη χρησιμεύει και ως ρυθμιστής των ανοσολογικών αποκρίσεων [134]. Σε γενικές γραμμές η απελίνη έχει περιγραφεί ως μία ωφέλιμη λιποκίνη και ίσως αποτελέσει έναν ελπιδοφόρο θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση των διαφόρων καρδιομεταβολικών διαταραχών.

7. Ομεντίνη

Η ομεντίνη (επίσης γνωστή ως εντερική λεκτίνη, ιντελεκτίνη-1 ή εντερικός υποδοχέας γαλακτοφερρίνης) είναι μία εκκριτική πρωτεΐνη MB 34-kDa που παράγεται κυρίως από το σπλαχνικό και σε μικρότερες ποσότητες από τον υποδόριο λιπώδη ιστό και το έντερο [135]. Εκφράζεται κυρίως από τα σπλαχνικά λιπώδη στρωματικά αγγειακά κύτταρα αλλά επίσης από τα κύτταρα Paneth και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα αδιπνονεκτίνης και της HDL-C και αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της λεπτίνης [136]. Η ομεντίνη οδηγεί σε αγγειοδιαστολή των αιμοφόρων αγγείων και αποτελεί ρυθμιστή της επαγόμενης από τη φλεγμονή διεργασία αγγειογένεσης μέσω της πορείας σηματοδότησης της κίνησης NF-kB. Συνεπώς, φαίνεται να διαθέτει προστατευτική δράση όσον αφορά τις διάφορες καρδιομεταβολικές παθήσεις και τα χαμηλά της επίπεδα έχουν συνδεθεί με την εμφάνιση παχυσαρκίας, αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης και με διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις [137]. Παρόλα αυτά, υπάρχουν και επιδημιολογικά δεδομένα που εμφανίζουν συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων ομεντίνης με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου [138].

8. Παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF- α)

Ο παράγοντας TNF- α ή καχεξίνη είναι πρωτεΐνη που παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα αλλά και από τα CD4⁺ λεμφοκύτταρα T, τα φυσικά φονικά κύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα ιστιοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα καθώς και από τους νευρώνες. Ο κύριος ρόλος του είναι στη

ρύθμιση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Παράλληλα, εμπλέκεται στη διαδικασία του κυτταρικού θανάτου μέσω της απόπτωσης, στην καχεξία, στην αναστολή της ογκογένεσης και στον ιϊκό αναδιπλασιασμό.

Πρόκειται για κυτταροκίνη οξείας φάσης που εμπλέκεται στην κυτταρική σηματοδότηση για την επαγωγή της φλεγμονώδους διαδικασίας. Συγκεκριμένα, σε καταστάσεις διέγερσης με λιποπολυσακχαρίδη, με βακτηριακά προϊόντα και με την IL-1 παρατηρείται έκκριση του παράγοντα TNF- α . Η αύξηση των επιπέδων του εμπλέκεται σε μια ευρεία ποικιλία φλεγμονωδών ασθενειών, όπως τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, τη νόσο του Crohn, τη σκλήρυνση κατά πλάκας, την ψωρίαση, το σκληρόδερμα, την ατοπική δερματίτιδα, το συστηματικό ερυθματώδη λύκο, την αθηροσκλήρωση, το έμφραγμα του μυοκαρδίου και την οστεοπόρωση [139]. Στα μακροφάγα διεγείρει τη διεργασία της φαγοκυττάρωσης. Επίσης, διεγείρει την παραγωγή της IL-1 και της προσταγλανδίνης PGE2. Ήδη από τις αρχές της δεκατίας του 1990 είχε παρατηρηθεί ότι ο TNF- α εκφράζεται και εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, με αύξηση των επιπέδων του σε καταστάσεις παχυσαρκίας [140]. Παράλληλα, εμπλέκεται και στην προαγωγή της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης, εμποδίζοντας τη μεταγωγή του σήματος στους ιστούς-στόχους μέσω φωσφορυλίωσης του ινσουλινικού υποδοχέα σε θέση σερίνης [141].

ΟΡΙΣΜΟΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Η φλεγμονή (φλόγωση) αποτελεί φυσιολογική και χαρακτηριστική τοπική απάντηση των ιστών σε βλάβη που προκαλεί οποιοσδήποτε βλαπτικός παράγοντας. Στόχος της είναι να καταστρέψει τους εισβολείς και να προετοιμάσει τους ιστούς για την επούλωση και την επιδιόρθωση. Η φυσική πορεία της φλεγμονής περιλαμβάνει την κυτταρική ή ιστική βλάβη, τις αγγειακές ή εξιδρωματικές αλλοιώσεις, την αποδρομή και τελικά την επιδιόρθωση των καταστραμμένων ιστών με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός εξιδρώματος πλούσιου σε πρωτεΐνες και κύτταρα. Κύρια κλινικά σημεία της φλεγμονώδους διεργασίας είναι η ερυθρότητα (rubor), η αυξημένη θερμοκρασία (calor) λόγω της αγγειοδιαστολής και της αυξημένης ροής του αίματος, η διόγκωση (tumor) λόγω της αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας και τέλος ο πόνος (dolor) λόγω της ύπαρξης οιδήματος καθώς και λόγω των ερεθιστικών ουσιών των νεύρων [142].

Όσον αφορά τα αίτια που μπορούν να ενεργοποιήσουν τον καταρράκτη της φλεγμονώδους αντίδρασης στους αγγειοβριθείς ιστούς συχνότερα είναι οι μικροβιακές λοιμώξεις καθώς και οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Επίσης, άλλα αίτια είναι διάφορα είδη ιστικού τραυματισμού, όπως οι μηχανικές βλάβες, η ακτινοβολία, τα εγκαύματα, τα κρυοπαγήματα και τα ερεθιστικά χημικά, όπως τα οξέα, οι οξειδωτικοί παράγοντες και τα αλκάλια. Επίσης, η νέκρωση των ιστών λόγω έλλειψης οξυγόνου ή θρεπτικών συστατικών μετά από ανεπάρκεια της αιμάτωσης, όπως σε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου [142].

Η φλεγμονή χαρακτηρίζεται ως οξεία (κυρίως εξιδρωματική) ή χρόνια (εξιδρωματική και παραγωγική) ανάλογα με την επιμονή της βλάβης και τη φύση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Οι φλεγμονώδεις διεργασίες καταλήγουν τελικά σε μια από τις εξής 4 κατευθύνσεις:

- λύση (διάλυση).
- οργάνωση (παραγωγή νέου ιστού).
- διαπύηση (σχηματισμός πύου).
- χρονιοποίηση της φλεγμονής [143].

ΧΡΟΝΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Παρατηρείται βραδεία ανάπτυξη και μακρά χρονική διάρκεια της φλεγμονώδους διεργασίας που μπορεί να διαρκέσει μερικούς μήνες ή χρόνια. Τα χαρακτηριστικά κυτταρικά στοιχεία της χρόνιας φλεγμονής είναι τα λεμφοκύτταρα, τα πλασματοκύτταρα, τα μακροφάγα και σε ορισμένες περιπτώσεις τα ηωσινόφιλα. Λόγω της επιμονής του φλεγμονώδους ερεθίσματος και της παράτασής της διεργασίας εμφανίζονται επιπλέον παραγωγικά φαινόμενα (ινοπλασία)[144].

Καθώς η φλεγμονή γίνεται χρόνια συνεχίζονται τα περισσότερα χαρακτηριστικά ευρήματα της οξείας φλεγμονής, συμπεριλαμβανομένης της επέκτασης των αιμοφόρων αγγείων (αγγειοδιαστολή), της αύξησης της ροής του αίματος και της διαπερατότητας των τριχοειδών καθώς και της μετανάστευσης των ουδετερόφιλων στους φλεγμαίνοντες ιστούς μέσω του τοιχώματος των τριχοειδών (διαπίδυση). Σταδιακά η σύνθεση των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων αρχίζει να εμφανίζει αλλαγές με αντικατάσταση των βραχύβιων ουδετερόφιλων από μακροφάγα και λεμφοκύτταρα. Η διείσδυση των

φλεγμονωδών κυττάρων (μακροφάγα και λεμφοκύτταρα) στην περιοχή της βλάβης οδηγεί στην παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων και ενζύμων συμβάλλοντας έτσι στην εξέλιξη της φλεγμονώδους διαδικασίας και σε δεύτερο χρόνο στην αποκατάσταση μέσω του σχηματισμού κοκκιωμάτων και της εμφάνισης ίνωσης [144].

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

Τα μονοκύτταρα (υποκατηγορία των λευκών αιμοσφαιρίων) αποτελούν πρόδρομες μορφές των μακροφάγων των διαφόρων ιστών καθώς και των δενδριτικών κυττάρων. Κατά τη διαδικασία της μετατροπής από μονοκύτταρα σε μακροφάγα παρατηρείται αύξηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης και του μεγέθους των κυττάρων. Τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα καθώς και λίγα ειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελού των οστών, του σπλήνα και των λεμφαδένων καταρτίζουν το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, το οποίο αποτελεί ένα γενικευμένο φαγοκυτταρικό σύστημα [145]. Η διεργασία της φυσικής ανοσίας αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού από την εισβολή των παθογόνων και επιτελείται κατά κύριο λόγο από τα φαγοκύτταρα (μακροφάγα και πολυμορφοπύρρηνα κοκκιοκύτταρα) [145].

Τα μακροφάγα αποτελούν βασικά στοιχεία των αντιδράσεων της υποξείας και χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασίας. Κατά την εμμένουσα φλεγμονή αυξημένος αριθμός μονοκυττάρων κινητοποιείται από το μυελό των οστών και μέσω χημειοταξίας γίνεται η μεταναστεύση τους στα σημεία της φλεγμονής όπου τελικά επιτελείται η ωρίμανση τους σε μακροφάγα. Σ' αυτές τις εστίες φλεγμονής πολλαπλασιάζονται τόσο τα επιστρατευμένα όσο και τα τοπικά ιστικά μακροφάγα [145].

Τα μακροφάγα εμφανίζουν διάμετρο περίπου 21 μm και έχουν διάρκεια ζωής μέχρι 75 ημέρες. Η ταυτοποίηση τους πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής ή της ανοσοϊστοχημίας μέσω της ειδικής έκφρασης πρωτεϊνών, όπως των CD14, CD40, CD11b, CD64, EMR1, λυσοζύμης M, MAC-1/MAC-3 και της CD68 (CD=CLUSTER OF DIFFERENTIATION) [146]. Υπάρχουν 2 κατηγορίες παραγόντων που οδηγούν στην ενεργοποίηση του συστήματος των μονοπύρηνων-μακροφάγων: οι φυσικοί παράγοντες, όπως οι ινοβλάστες και τα επιθηλιακά κύτταρα και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, οι οποίοι προέρχονται από τους ιούς, τα βακτήρια και τις χημικές αντιδράσεις, με το συνδυασμό των 2 παραγόντων να εμφανίζει συνεργική δράση.

Υπάρχουν πολλές μορφές μακροφάγων ανάλογα με την εντόπιση του συγκεκριμένου ιστού. Συγκεκριμένα, μακροφάγα εντοπίζονται στους λεμφαδένες, στις πνευμονικές κυψελίδες, στους κόλπους του ήπατος (κύτταρα Kupffer), στο λιπώδη ιστό, στο σπλήνα, στην επιδερμίδα (κύτταρα Langerhans), στον οστίτη ιστό (οστεοκλάστες), στο κεντρικό νευρικό σύστημα (μικρογλοιακά κύτταρα), στο αρθρικό υγρό, στους νεφρούς (μεσαγγειακά κύτταρα), στην περιοχή του υπεζωκότα-περιτοναίου (στις ορογόνες κοιλότητες) καθώς και στην περιοχή του μυελού των οστών [147].

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ-ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ

1. Φαγοκυττάρωση

Η κυρίαρχη λειτουργία των μονοκυττάρων-μακροφάγων είναι η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης ξένων σωματιδίων. Η παρατήρηση αυτού του φαινομένου πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά από το Ρώσο Ίλια Μέτσνικοφ το 1882 και γι' αυτή την ανακάλυψη τιμήθηκε το 1908 με το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής [148]. Αρχικά προσελκύνονται στο σημείο της φλεγμονής τα κοκκιοκύτταρα και στη συνέχεια ακολουθούν τα μεγαλύτερα σε μέγεθος μακροφάγα για την ενσωμάτωση και ενδοκυττάρια αποδόμηση των ιστικών υπολειμμάτων και των άπεπτων σωματιδίων. Παράλληλα, τα λεμφοκύτταρα Th-1 (βοηθητικά λεμφοκύτταρα T κατηγορίας 1) ενεργοποιούν τα μακροφάγα για την καταστροφή των φαγοκυτταρωμένων μικροοργανισμών μέσω της έκκρισης κυτταροκινών. Αρχικά, παρατηρείται επικάλυψη του ξένου σωματιδίου από ουσίες, όπως οι οψωνίνες (ανοσοσφαιρίνες μόνες ή σε σύμπλοκο με κλάσματα του συμπληρώματος) που διαθέτουν υποδοχείς για τα μακροφάγα, με αποτέλεσμα το μακροφάγο να προσκολλάται στο ξένο σωματίδιο. Ακολουθεί η αναδίπλωση του μακροφάγου γύρω από αυτό μέσω του σχηματισμού ψευδοποδίων (αμοιβαδοειδείς κινήσεις) με αποτέλεσμα την ενθυλάκωσή του σε ένα φαγόσωμα. Στο στάδιο της πέψης το φαγόσωμα που περιέχει το ξένο υλικό συντήκεται με ένα λυσοσωμιακό κοκκίο του κυτταροπλάσματος. Τελικά σχηματίζεται το φαγολυσοσωμάτιο μέσα στο οποίο απελευθερώνονται τα λυσοσωμιακά ένζυμα, οδηγώντας στη θανάτωση και πέψη του περιεχομένου [145].

2. Αντιγονοπαρουσίαση

Τα μακροφάγα εκφράζουν στην επιφάνειά τους αυξημένο αριθμό μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας II ή MHC-II (HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, HLA-DP και HLA-DR). Λαμβάνουν μέρος στη διεργασία της αντιγονοπαρουσίασης που οδηγεί στη διέγερση των λεμφοκυττάρων T μέσω της παρουσίας του αντιγόνου από το κατάλληλο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Συγκεκριμένα, τα μακροφάγα προσλαμβάνουν το εξωγενές πεπτιδικό αντιγόνο με διάφορους τρόπους (π.χ. κυτταροφαγία, ενδοκυττάρωση) και ακολουθεί ειδική επεξεργασία και επανέκφραση μέρους αυτού στην κυτταρική τους μεμβράνη μαζί με τα ειδικά αναγνωριστικά μόρια του MHC-II. Ακολουθεί η αναγνώριση των πεπτιδικών τμημάτων του αντιγόνου από τα CD4⁺ βοηθητικά λεμφοκύτταρα T με τη βοήθεια των αντιγονο-MΣΙ υποδοχέων (TCR T- Cell Receptors). Στη συνέχεια ενεργοποιούνται τα λεμφοκύτταρα B και τα μακροφάγα, τόσο με απευθείας επαφή, όσο και μέσω κυτταροκινών, με στόχο την παραγωγή ειδικών αντισωμάτων ή την καταστροφή του φαγοκυτταρωμένου αντιγόνου [145].

Η πρώτη επαφή αναγνώρισης των συμπλεγμάτων MΣΙ-αντιγόνων στα μονοκύτταρα/δενδριτικά κύτταρα από αντίστοιχα CD4⁺ λεμφοκύτταρα T είναι η καθοριστική και μέσω αυτής γίνονται οι πρώτες ενεργοποιήσεις μονοκυττάρων και κυττάρων T. Τα λεμφοκύτταρα B μπορούν επίσης να δράσουν ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, συλλαμβάνοντας αντιγόνο μέσω του αντισώματος που έχουν στην επιφάνεια τους και των μορίων ιστοσυμβατότητας τάξης II που επίσης εκφράζουν.

3. Έκκριση χημικών μεταβολιτών

Τα μακροφάγα αφού ενεργοποιηθούν εκκρίνουν διάφορες κυτταροκίνες, όπως την ιντερλευκίνη IL-1, την IL-2 και τον TNF-α, οι οποίες προκαλούν άθροιση κυττάρων της φλεγμονής στο σημείο της βλάβης ενώ συγχρόνως προάγουν και την ενεργοποίηση των βοηθητικών λεμφοκυττάρων T. Παράλληλα, τα μακροφάγα παράγουν αυξητικούς παράγοντες που δρουν στους ινοβλάστες και στα κύτταρα του ενδοθηλίου επάγοντας την επούλωση όπως και υδρολυτικά ένζυμα για την καταστροφή των παθογόνων. Επίσης, παράγουν πρωτεΐνες του συμπληρώματος, προσταγλανδίνες, διάφορες πυρετογόνες ουσίες καθώς και διάφορους αυξητικούς παράγοντες της αιμοποίησης [145].

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ

Σε καταστάσεις παχυσαρκίας η αυξημένη έκκριση των προφλεγμονωδών μεσολαβητών από το λιπώδη ιστό οδηγεί σε αύξηση των συγκεντρώσεων τους στη συστηματική κυκλοφορία, επάγοντας έτσι την αντίσταση στην ινσουλίνη σε απομακρυσμένους ιστούς [149]. Παράλληλα, ο περιορισμός της φλεγμονής στην περιοχή του λιπώδους ιστού οδηγεί σε μείωση της λιπογένεσης, της επεκτασιμότητας του λιπώδους ιστού καθώς και της διήθησης των τριχοειδών στο λιπώδη ιστό.

Το 2003 παρατηρήθηκε για πρώτη φορά ότι η παχυσαρκία συνδέεται με την ύπαρξη αυξημένου αριθμού μακροφάγων στην περιοχή του λιπώδους ιστού και υπολογίζεται ότι αποτελούν κατά μέσο όρο σε ολόκληρο τον πληθυσμό περίπου το 40% των κυττάρων του λιπώδους ιστού (10% σε λεπτά και ~50% στα παχύσαρκα άτομα) [150]. Τα μακροφάγα αποτελούν σημαντική πηγή φλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως ο TNF- α και ο LTB₄ (Leukotriene B₄ receptor 2), που ασκώντας τοπικά παρακρινείς δράσεις εμποδίζουν τη σηματοδότηση της ινσουλίνης και προάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία σε καταστάσεις αντίστασης στη δράση της [151]. Σε καταστάσεις παχυσαρκίας παρατηρήθηκε μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και βελτίωση της ανοχής στη γλυκόζη όταν προκλήθηκε αναστολή της μεσολαβούμενης από τα μακροφάγα φλεγμονώδους διεργασίας [152]. Σε γενετικώς τροποποιημένα ποντίκια με έλλειψη της κινάσης JNK2 στα μακροφάγα όταν χορηγήθηκε δίαιτα αυξημένη σε λιπαρά παρουσιάστηκε αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και αυξημένη έκκριση ινσουλίνης από τα νησίδια του παγκρέατος [153].

Τα μακροφάγα του λιπώδους ιστού δεν είναι όλα τα ίδια αλλά αντίθετα αποτελούν έναν ετερογενή κυτταρικό πληθυσμό που συμμετέχει ενεργά στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης. Ανάλογα με το διαφορετικό χαρακτήρα των σημάτων που λαμβάνονται από τις κυτταροκίνες, τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε 2 κύριους τύπους μακροφάγων: Τα κλασικώς ενεργοποιούμενα (M1 μακροφάγα) και τα εναλλακτικώς ενεργοποιούμενα (M2 μακροφάγα). Στην πραγματικότητα τα μακροφάγα στο λιπώδη ιστό *in vivo* δεν περιχαράκωνονται αυστηρά σε μια τέτοια διαφοροποίηση και συνεπώς μπορούν να καλύψουν ολόκληρο το εύρος από τον προφλεγμονώδη φαινότυπο M1 μέχρι και τον αντιφλεγμονώδη φαινότυπο M2 [154]. Επιπλέον, η μεγαλύτερη συσσώρευση μακροφάγων και προφλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως των MCP-1, CCR2 και των CD8⁺ λεμφοκυττάρων T, παρατηρείται στην περιοχή του σπλαχνικού λιπώδους ιστού σε σχέση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό.

ΧΗΜΕΙΟΤΑΚΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΣΤΟΝ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ

Η προσέλκυση των M1 μακροφάγων στην περιοχή του ΛΛΙ σε καταστάσεις παχυσαρκίας πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση διαφόρων σημάτων. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι καλλιέργειες λιποκυττάρων σε *in vitro* συνθήκες, οι οποίες τέθηκαν σε αγωγή με τον παράγοντα TNF-α ή με ελεύθερα λιπαρά οξέα, οδήγησαν στην παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων, όπως του MCP-1 που φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διήθηση των μακροφάγων στην περιοχή του λιπώδους ιστού. Ένας επιπλέον χημειοτακτικός παράγοντας των μακροφάγων είναι τα λευκοτριένια LTB₄. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι όταν σε γενετικώς τροποποιημένα ποντίκια με έλλειψη του υποδοχέα LTB₄ χορηγήθηκε διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά υπήρξε μειωμένη συσσώρευση των μακροφάγων M1 στην περιοχή του λιπώδους ιστού [155]. Ένας ακόμη χημειοτακτικός παράγοντας είναι η σεμαφορίνη 3E (Sema3E). Έχει παρατηρηθεί ότι σε καταστάσεις παχυσαρκίας ο αποκλεισμός της δραστηριότητας της οδηγεί σε βελτίωση της ανοχής στη γλυκόζη και σε μείωση του αριθμού των μακροφάγων του λιπώδους ιστού [156].

1. Μακροφάγα τύπου M1

Η κλασική ενεργοποίηση των μακροφάγων προς τον φαινότυπο M1 είναι απόκριση σε μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα T τύπου 1 (Th1), όπως η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και ο παράγοντας TNF-α καθώς και σε μικροβιακά προϊόντα, όπως η λιποπολυσακχαρίδη που δρουν σε συνεργασία με αυξητικούς παράγοντες και συγκεκριμένα με τον παράγοντα κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων-CSF (GM-CSF) και τον παράγοντα M-CSF [157]. Τα μακροφάγα M1:

- Παράγουν υψηλά επίπεδα προφλεγμονωδών παραγόντων που εκκρίνουν κυτταροκίνες, όπως τις IL-12, IL-23, TNF, IL-6 και IL-1β και χαμηλά επίπεδα IL-10.
- Εκφράζουν οψωνικούς υποδοχείς (π.χ. FcRIII).
- Παράγουν τοξικούς παράγοντες (π.χ μονοξειδίου του αζώτου ή ROS, αντιδραστικές χημικές μορφές οξυγόνου).
- Διαθέτουν ισχυρές φαγοκυτταρικές και κυτταροτοξικές ιδιότητες.

Επίσης, τα μακροφάγα M1 εκφράζουν υψηλά επίπεδα των πρωτεϊνών του MHC-II καθώς και των δεικτών CD80, CD86 και CD68 [158]. Επιπλέον, εκφράζουν χημειοκίνες που προσελκύουν τα λεμφοκύτταρα Th1, όπως τις CXCL9 και CXCL10 [159].

Εκτός από την IFN- γ και τον λιποπολυσακχαρίτη υπάρχουν και άλλα μόρια που εμπλέκονται στη στροφή των μακροφάγων προς το φαινότυπο M1, όπως ο ρυθμιστικός παράγοντας ιντερφερόνης (interferon regulatory factor, IRF), οι μεταγωγείς σήματος και ενεργοποιητές μεταγραφής (signal transducers and activators of transcription, STATs) καθώς και οι καταστολείς της σηματοδότησης των κυτταροκινών (suppressors of cytokine signaling, SOCS) που προάγουν την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) στα μακροφάγα μέσω ελέγχου της δραστηριότητας του NF- κ B και της κινάσης της 3-φωσφατιδυλινοσιτόλης (PI3K) [160]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι ο λόγος έκφρασης των υποδοχέων TLR4/TLR2 είναι σημαντικά υψηλότερος στα μακροφάγα M1 σε σύγκριση με τα αντίστοιχα M2 [161]. Αντιστρόφως, η απουσία των TLR4 υποδοχέων οδηγεί τα μακροφάγα προς το φαινότυπο M2 [162], αποτελώντας ένδειξη ότι η ενεργοποίηση και η πόλωση των μακροφάγων εξαρτάται και από τους υποδοχείς TLRs.

Σε αντίθεση με τα μακροφάγα M1 που δημιουργούνται *in vitro* και δεν εκφράζουν το δείκτη CD11c, τα M1 μακροφάγα του λιπώδους ιστού εκφράζουν τους δείκτες CD11c, F4/80 και CD11b. Επιπλέον, η στρατολόγηση των μονοκυττάρων που στο λιπώδη ιστό δίνει γένεση στα CD11c⁺ μακροφάγα εξαρτάται από τους παράγοντες CCR2, CCR5 και MCP-1 [163]. Η προερχόμενη από τα μακροφάγα του λιπώδους ιστού IL-1 β προάγει την απελευθέρωση των μονοκυττάρων από το μυελό των οστών [164] και η MCP-1 επάγει τον πολλαπλασιασμό των μακροφάγων M1 στο λιπώδη ιστό [165]. Στα παχύσαρκα άτομα με ινσουλινοαντίσταση τα μακροφάγα M1 σχηματίζουν γύρω από τα λιποκύτταρα δομές με μορφή στεφάνης (crown-like structures) και εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες [166]. Παράλληλα, εκκρίνουν χημειοκίνες που βοηθούν στον χημειοτακτισμό των νέων μακροφάγων προς την περιοχή του λιπώδους ιστού.

Συνεπώς, η συσσώρευση των μακροφάγων στην περιοχή του λιπώδους ιστού αποτελεί ένα μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης που επάγει τη συνεχή συσσώρευση φλεγμονωδών μακροφάγων στη συγκεκριμένη περιοχή. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα εμπλέκονται στην έκφραση του M1 φαινότυπου των μακροφάγων ενώ αντίθετα τα ακόρεστα λιπαρά οξέα επάγουν την έκφραση του M2 αντιφλεγμονώδη φαινοτύπου [167]. Τελικά, τα M1 μακροφάγα με την έκκριση των

προφλεγμονωδών κυτταροκινών επάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη τοπικά ή εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία και προκαλούν συστηματική αντίσταση στην ινσουλίνη και φλεγμονή.

2. Μακροφάγα M2

Η εναλλακτική ενεργοποίηση των μονοκυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη του υποπληθυσμού M2 των μακροφάγων. Η ενεργοποίηση προκύπτει ως απόκριση των κυτταροκινών που προέρχονται από τα λεμφοκύτταρα Th2, συμπεριλαμβανομένων της IL-4 και της IL-13, καθώς επίσης των γλυκοκορτικοειδών και της βιταμίνης D3. Τα μακροφάγα M2 χαρακτηρίζονται από χαμηλή παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και αποτελούν τον κύριο τύπο μακροφάγων που βρίσκεται στο λιπώδη ιστό ατόμων φυσιολογικού βάρους σώματος [168]. Επιπλέον, επάγουν την καταστροφή και ενθυσίαση των παρασίτων, τη διεργασία της επούλωσης, την επιδιόρθωση και αναδιαμόρφωση των ιστών και την ενίσχυση των διεργασιών της αγγειογένεσης. Επίσης, απελευθερώνουν μικρές ποσότητες IL-12 και IL-23 καθώς και υψηλές ποσότητες της αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης IL-10.

Χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι η έκφραση υποδοχέων που εμπλέκονται στην εσωτερικοποίηση των τροποποιημένων μορφών σχηματισμού LDL-C (LDL-Cholesterol) και στην παραγωγή των αφρωδών κυττάρων. Συγκεκριμένα, κάθε υποδοχέας αναγνωρίζει διαφορετικούς τύπους τροποποιημένης LDL-C. Οι oxLDL-C και η ακετυλιωμένη LDL-C (AcLDL-C) είναι οι πιο κοινές μορφές και κυρίως εσωτερικοποιούνται από τους υποδοχείς CD36 και SR-A [169]. Η εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας συνδέεται με την προσκόλληση τόσο των μακροφάγων M1 όσο και των μακροφάγων M2 καθώς αμφότεροι οι τύποι μακροφάγων μπορούν να βρεθούν σε αθηρωματικές πλάκες [161].

In vitro, τα μακροφάγα M2 εμφανίζονται να αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό που προκαλείται από μια ποικιλία ερεθισμάτων. Συγκεκριμένα, τα μακροφάγα M2α εκφράζουν υψηλά επίπεδα του δείκτη CD206 και η παραγωγή τους προάγεται από τις ιντερλευκίνες IL-4 και IL-13. Αντίθετα, η παραγωγή των μακροφάγων M2β σχετίζεται με ανοσοσυμπλέγματα, με τους υποδοχείς TLR και με τους αγωνιστές του IL-1R. Τόσο τα μακροφάγα M2α όσο και τα M2β εμφανίζουν ανοσορυθμιστικό ρόλο μέσω της ρύθμισης των κυτταροκινών IL-12, IL-6 και TNF-α [170]. Η παραγωγή των M2γ μακροφάγων

επάγεται από την ιντερλευκίνη IL-10 και τα γλυκοκορτικοειδή. Επιπλέον, τα M2γ συμμετέχουν στην αναδιάταξη των ιστών και εκκρίνουν προ-ινωσιτικούς παράγοντες, όπως τον TGF-β, την CCL17 και την CCL22 [157]. Επίσης, η επέκταση των μακροφάγων M2γ ρυθμίζεται αρνητικά από τους υποδοχείς PPAR-γ [171]. Τα μακροφάγα M2α και M2β που διαθέτουν ανοσορυθμιστικές ιδιότητες σχετίζονται με τις τύπου II ανοσολογικές αποκρίσεις ενώ τα μακροφάγα M2γ σχετίζονται με την καταστολή των ανοσολογικών αποκρίσεων και τη αναδιαμόρφωση των ιστών.

Το μικροπεριβάλλον του λιπώδους ιστού ενός λεπτού ατόμου αποτελείται από αναλογία M2/M1 μακροφάγων 4/1 [166]. Παράλληλα, η ορμόνη αδιπονεκτίνη ενισχύει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και αυξάνει τη στροφή προς τον φαινότυπο M2 των μακροφάγων [172]. Επιπλέον, τα μακροφάγα M2 παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων (π.χ IL-10 και Arg1) και τα εκκριτικά προϊόντα αυτών των κυττάρων μπορούν να επάγουν την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης στα λιποκύτταρα και να οδηγήσουν στη διαφοροποίηση των προλιποκυττάρων [166].

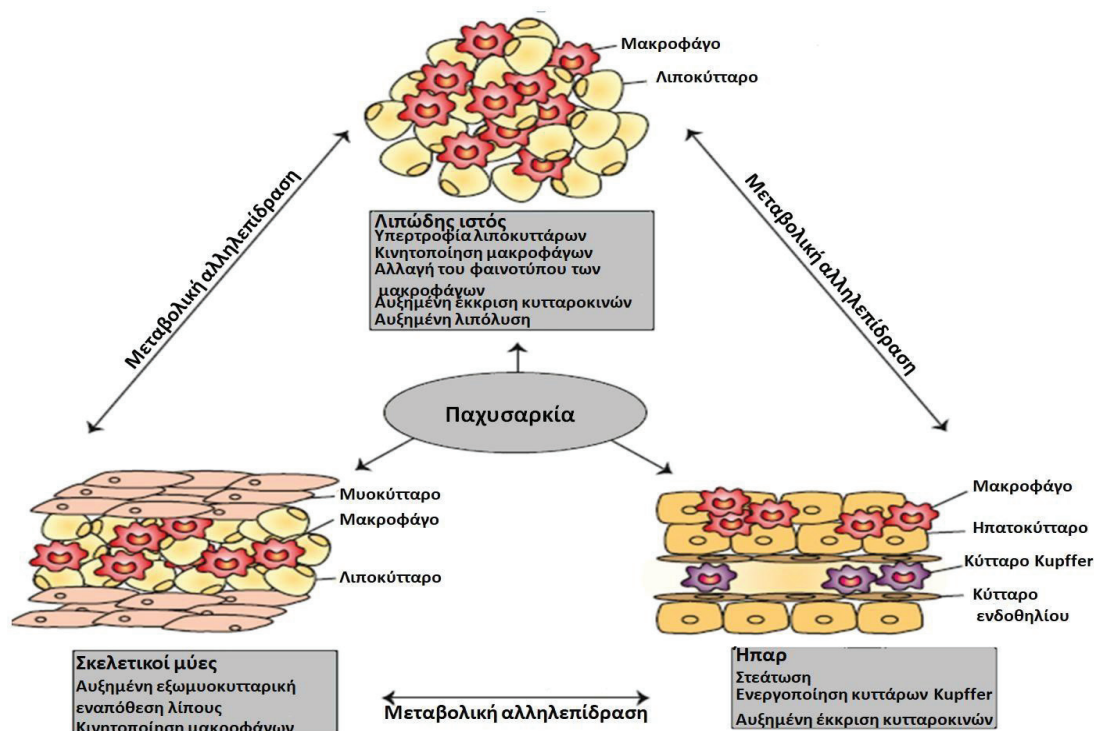
Σε καταστάσεις παχυσαρκίας ο υποπληθυσμός των M2 μακροφάγων επεκτείνεται στο λιπώδη ιστό αλλά σε μικρότερη έκταση από ότι παρατηρείται με τα M1 μακροφάγα. Επίσης, το κρύο περιβάλλον επάγει την ενεργοποίηση των M2 μακροφάγων από το λευκό λιπώδη ιστό προάγοντας την έκφραση της υδροξυλάσης της τυροσίνης καθώς και την παραγωγή κατεχολαμινών, παραγόντων που είναι απαραίτητοι για τη μετατροπή του λιπώδους ιστού σε φαιό μέσω της έκφρασης από τα λιποκύτταρα της πρωτεΐνης UCP1 [173].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ Τ ΣΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Εκτός από τον προφλεγμονώδη φαινότυπο των μακροφάγων σημαντική κρίνεται η συμβολή των λεμφοκυττάρων T στη ρύθμιση της φλεγμονώδους διεργασίας που προκαλείται σε καταστάσεις παχυσαρκίας [174]. Στο λιπώδη ιστό των λεπτών ατόμων υπάρχουν οι πληθυσμοί των ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (T_H1, CD4⁺ Foxp3⁺) και των λεμφοκυττάρων Th-2. Αυτά τα λεμφοκύτταρα εκκρίνουν την αντιφλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-10, η οποία τοπικά, καθώς επίσης και συστηματικά, προάγει την ευαισθησία των λιποκυττάρων στη δράση της ινσουλίνης [175]. Κατά τη διάρκεια της μετάβασης από την κατάσταση φυσιολογικού σωματικού βάρους στην κατάσταση παχυσαρκίας παρατηρείται μείωση της διήθησης του λιπώδους ιστού από τα αντιφλεγμονώδη CD4⁺ λεμφοκύτταρα T με

αντίστοιχη αύξηση της διήθησης από τα προφλεγμονώδη Th-1 και Th-17 λεμφοκύτταρα. Η προφλεγμονώδης διήθηση από τα λεμφοκύτταρα T προηγείται της διήθησης από τα μακροφάγα και μέσω της έκκρισης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-17 και TNF- α οδηγεί στην επέκταση της φλεγμονώδους κατάστασης στον ανθρώπινο οργανισμό [172].

Παράλληλα, τα λιποκύτταρα εκκρίνουν διάφορες προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, οι οποίες συμμετέχουν στη ρύθμιση της μεταβολικής ομοιοστασίας. Συγκεκριμένα, τα λιποκύτταρα των λεπτών ατόμων εκκρίνουν κυρίως την αντιφλεγμονώδη κυτταροκίνη αδιπονεκτίνη ενώ ο λιπώδης ιστός των παχύσαρκων ατόμων εκκρίνει κυρίως την προφλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-6. Συνεπώς, παρατηρείται αλληλεπίδραση μεταξύ των λιποκυττάρων και των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που διηθούν το λιπώδη ιστό. Οπότε, το αντιφλεγμονώδες προφίλ που παρατηρείται στα λεπτά άτομα μετατρέπεται σε καταστάσεις παχυσαρκίας σε υποκλινική φλεγμονή, με αύξηση των επιπέδων των IL-1 β , IL-6 και IL-17, αποτελώντας την προϋπόθεση για την εμφάνιση της αντίστασης στην ινσουλίνη.



Εικόνα 3. Η παχυσαρκία επάγει τη φλεγμονώδη διαδικασία στο λιπώδη ιστό, στο ήπαρ και στους σκελετικούς μύες. Συγκεκριμένα, η υπερτροφία των λιποκυττάρων και η απόπτωση τους προάγουν τη μετακίνηση μονοκυττάρων στο λιπώδη ιστό όπου σε απόκριση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα M1. Στο μυϊκό ιστό αυξάνεται ο λιπώδης ιστός, επάγοντας τη μετακίνηση μακροφάγων στην περιοχή. Στο ήπαρ παρατηρείται αύξηση της ηπατικής λιπογένεσης και της έκφρασης γονιδίων που συνδέονται με τη φλεγμονή, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer και στη μετακίνηση μονοκυττάρων στην περιοχή [18].

ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ

Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος είναι τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια, τα οποία προέρχονται από το πολυδύναμο αιμοποιητικό βλαστικό κύτταρο του μυελού των οστών. Οι φυσιολογικές τιμές των λευκών αιμοσφαιρίων κυμαίνονται από 4×10^9 έως $1,1 \times 10^{10}$ / λίτρο αίματος και η διάμετρός τους κυμαίνεται από 7 έως 21 μm. Υπάρχουν πέντε τύποι λευκών αιμοσφαιρίων στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα ουδετερόφιλα, τα λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα. Αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων (λευκοκυττάρωση) παρατηρείται σε λοιμώξεις από μικρόβια, ιούς ή παράσιτα, σε φλεγμονώδεις νόσους, όπως οι αγγείτιδες, σε αιματολογικές κακοήθειες, σε νεκρωτικές καταστάσεις (τραύμα, εγκαύματα, χειρουργικές επεμβάσεις), σε αλλεργικές αντιδράσεις, σε έντονη άσκηση, σε καταστάσεις stress κ.α [176].

1. Ουδετερόφιλα

Αποτελούν σε φυσιολογικές καταστάσεις το 40-75% των λευκών αιμοσφαιρίων [177]. Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα μαζί με τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα ανήκουν στην κατηγορία των κοκκιοκυττάρων (κοκκιώδης εμφάνιση). Τα ουδετερόφιλα διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην πρώτη γραμμή άμυνας κατά της εισβολής των παθογόνων παραγόντων. Κινητοποιούνται στα πρώτα (οξέα) στάδια της φλεγμονής, κυρίως ως αποτέλεσμα βακτηριακών μολύνσεων, περιβαλλοντικών παραγόντων καθώς και σε μερικά είδη καρκίνου. Συγκεκριμένα, τα ουδετερόφιλα του αίματος που βρίσκονται προσκολλημένα στο ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων (marginal pool, περιφερική δεξαμενή) διέρχονται από τους πόρους των αγγείων μέσω της διαδικασίας της διαπίδυσης. Στη συνέχεια μετακινούνται υπό την επίδραση διαφόρων χημικών ουσιών (διεργασία του χημειοτακτισμού) προσελκυσόμενα από τις συγκεκριμένες κυτταροκίνες που εκφράζονται από το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο, τα μαστοκύτταρα και τα μακροφάγα και κατευθύνονται στοχευμένα προς την περιοχή της ιστικής βλάβης. Μπορούν να εσωτερικεύουν και να σκοτώνουν πολλά μικρόβια και κάθε φαγοκυτταρική διεργασία οδηγεί στο σχηματισμό ενός φαγοσώματος στο εσωτερικό των ουδετεροφίλων, στο οποίο εκκρίνονται αντιδραστικές μορφές οξυγόνου και υδρολυτικά ένζυμα. Επίσης, τα ουδετερόφιλα εκφράζουν και απελευθερώνουν κυτταροκίνες που με την σειρά τους ενισχύουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις διαφόρων άλλων τύπων κυττάρων [176].

2. Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν το 20-40% των λευκών αιμοσφαιρίων. Τα μεγάλα κοκκώδη λεμφοκύτταρα αποτελούν τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK κύτταρα) ενώ τα μικρότερα αποτελούνται από τα λεμφοκύτταρα T και B. Τα λεμφοκύτταρα αναγνωρίζονται από τον σφαιρικό τους πυρήνα όπου μερικές φορές παρουσιάζεται με εντομή και συμπυκνωμένη χρωματίνη. Στα επιχρίσματα του αίματος ο πυκνοχρωματικός πυρήνας διευκολύνει την αναγνώριση των λεμφοκυττάρων. Ο πυρήνας δεν είναι ορατός και αναγνωρίζεται μόνο σε φωτογραφίες ηλεκτρονιικού μικροσκοπίου διέλευσης. Αύξηση των λεμφοκυττάρων στον οργανισμό παρατηρείται σε ιογενείς λοιμώξεις, φυματίωση, βρουκέλλωση, θυρεοτοξίκωση, επινεφριδιακή ανεπάρκεια, λεμφώματα κ.α.

i) Λεμφοκύτταρα B

Αποτελούν περίπου το 20% των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα και είναι υπεύθυνα για τη χυμική ανοσία. Παράγονται από τα στελεχιαία κύτταρα στο μυελό των οστών και στη συνέχεια εξέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία για να μεταβούν στα δευτερογενή λεμφικά όργανα (λεμφαδένες και σπλήνας). Αποστολή τους είναι η αναγνώριση ξένων αντιγόνων με τη βοήθεια των ανοσοσφαιρινών που εκφράζονται στην επιφάνειά τους. Στη συνέχεια επιστρέφουν στο μυελό των οστών όπου πολλαπλασιάζονται και μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα, εκκρίνοντας μία ειδική ανοσοσφαιρίνη (αντίσωμα) έναντι του συγκεκριμένου ξένου αντιγόνου που έχουν ήδη αναγνωρίσει [177].

ii) Λεμφοκύτταρα T

Αποτελούν περίπου το 80% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και είναι υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσία. Σε αντίθεση με τα λεμφοκύτταρα B, τα T λεμφοκύτταρα δεν εμφανίζουν ανοσοσφαιρίνες στην επιφάνειά τους αλλά πολλές χιλιάδες αντίγραφα ενός μορίου αντιγονικού υποδοχέα λεμφοκυττάρου T. Ο υποδοχέας αυτός αναγνωρίζει τμήμα του ξένου αντιγόνου (συνήθως πεπτιδίου) σε συνδυασμό με πρωτεΐνη ιστοσυμβατότητας. Τα αντιγονοπαραρυσιαστικά κύτταρα (Antigen Presenting Cells - APCs) βοηθούν τα λεμφοκύτταρα T να αναγνωρίσουν τα διάφορα αντιγόνα [177]. Τα T

λεμφοκύτταρα προέρχονται από τα αρχέγονα λεμφικά κύτταρα του μυελού και μεταναστεύουν στο θύμο αδένι όπου ωριμάζουν και διαφοροποιούνται στις εξής 3 κύριες ομάδες λεμφοκυττάρων:

✓ *CD4⁺ λεμφοκύτταρα* (βοηθητικά λεμφοκύτταρα T ή Th). Εκφράζουν στην επιφάνεια τους τον δείκτη CD4, επικουρικό μόριο της αναγνώρισης μορίου ιστοσυμβατότητας και ξένου αντιγόνου από τον αντιγονικό υποδοχέα των Tα λεμφοκυττάρων, και εκκρίνουν διάφορες κυτταροκίνες που ενεργούν ρυθμιστικά σε διάφορα συστήματα. Τα λεμφοκύτταρα Th1 συμμετέχουν σε ανοσολογικές αντιδράσεις που προκαλούν ενδοκυττάρια παθογόνα με συμμετοχή των μακροφάγων και παράγουν κατά περίπτωση ιντερφερόνη-γ, TNF-α και IL-12. Τα λεμφοκύτταρα Th2 συμμετέχουν σε αντιδράσεις που προκαλούν ελμινθικά εντερικά παράσιτα βοηθώντας στην παραγωγή ανοσοσφαιρίνης E για ενεργοποίηση ηωσινόφιλων, βασεόφιλων και σιτευτικών κυττάρων. Συνδέονται με την παραγωγή IL-4 και IL-13 [177].

✓ *CD8⁺ λεμφοκύτταρα* (T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα). Εκφράζουν στην επιφάνεια τους το δείκτη CD8, πολλαπλασιάζονται σε απάντηση έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου και οδηγούν σε καταστροφή των κυττάρων που εκφράζουν το συγκεκριμένο αντιγόνο.

Οι δύο αυτές κατηγορίες T λεμφοκυττάρων εκφράζουν αντιγονικούς υποδοχείς *TCRaβ*. Αυτοί οι υποδοχείς κωδικεύονται από τμηματικά γονίδια, έτσι ώστε με διάφορους συνδυασμούς, με τη χρήση λιγότερο από 10^3 τέτοιων γονιδίων να προκύπτουν πάνω από 10^{12} διαφορετικά μόρια αντιγονικών υποδοχέων λεμφοκυττάρων T, παρόμοια με τη διεργασία που χρησιμοποιείται για να προκύψει η τεράστια ποικιλομορφία των αντισωμάτων που παράγει ένας οργανισμός. Κάθε μόριο TCR στην επιφάνεια ενός λεμφοκυττάρου T συνδέεται με ένα μόριο CD3 που αποτελεί το αμετάβλητο μέρος του συμπλόκου.

✓ *T γδ λεμφοκύτταρα*. Αποτελούν περίπου το 5% των λεμφοκυττάρων. Εκφράζουν στην επιφάνεια τους δείκτες TCRγδ και CD3 και συνδέονται με την ανοσοποίηση και την κυτταροτοξικότητα.

iii) Φυσικά φονικά κύτταρα (κύτταρα NK)

Πρόκειται για μεγάλα κοκκιώδη κύτταρα που εκφράζουν στην επιφάνεια τους το δείκτη CD16 και οδηγούν στο θάνατο επιλεκτικά ειδικές κατηγορίες κυττάρων-στόχων. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή σε όγκους και σε μολυσμένα από ιούς κύτταρα λόγω της ικανότητάς τους να αναγνωρίζουν τις μεταβολές στην επιφάνεια ενός μορίου που ονομάζεται Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας τάξης I (MHC- I). Υπάρχει ολόκληρο σύστημα υποδοχέων φυσικών φονικών κυττάρων (NKR, ορισμένοι διεγερτικοί, άλλοι κατασταλτικοί) το οποίο ρυθμίζει την συνολική δράση των κυττάρων αυτών, ανάλογα με τη δική τους κατάσταση και την κατάσταση των κυττάρων-στόχων [177].

3. Μονοκύτταρα

Τα μονοκύτταρα αποτελούν την μεγαλύτερη σε μέγεθος υποκατηγορία των λευκών αιμοσφαιρίων. Είναι άκοκκα σφαιρικά κύτταρα που προέρχονται από το αρχέγονο αιμοποιητικό πολυδύναμο στελεχιαίο κύτταρο. Κυκλοφορούν στο αίμα όπου με την βοήθεια χημειοκινών και την διαδικασία της διαπίδυσης μεταναστεύουν στους φλεγμαίνοντες ιστούς και μετατρέπονται σε μακροφάγα για να επακολουθήσει η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Αυξημένα επίπεδα τους παρατηρούνται σε λοιμώξεις και φλεγμονές του οργανισμού, σε αιματολογικά νοσήματα όπως λευχαιμία καθώς και σε κοκκιωματώδεις και ρευματικές νόσους.

4. Ηωσινόφιλα

Τα ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα αποτελούν το 5% περίπου των λευκών αιμοσφαιρίων. Αφού ωριμάσουν από το πρόδρομο αιμοποιητικό κύτταρο στο μυελό των οστών μεταφέρονται στο περιφερικό αίμα και μεταναστεύουν στους υποδοχείς των ενδοθηλιακών κυττάρων, κυρίως του γαστρεντερικού βλεννογόνου αλλά και των λεμφαδένων, του θύμου αδένου, της μήτρας και των μαστών, όπου ενεργοποιούνται, αποκοκκιώνονται και αποπίπτουν. Η αύξηση στα ηωσινόφιλα (≥ 500 ηωσινόφιλα/ μL αίματος) ονομάζεται ηωσινοφιλία και εμφανίζεται συνήθως σε διάφορες παρασιτικές λοιμώξεις, σε αλλεργικές αντιδράσεις, στην αγγειακή νόσο του κολλαγόνου (όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα), σε

κακοήθεις παθήσεις (όπως η νόσος του Hodgkin), σε εκτεταμένες δερματικές παθήσεις (όπως η αποφολιδωτική δερματίτιδα), στη νόσο του Addison, στην οισοφαγική παλινδρόμηση, στην ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα και λόγω της χρήσης ορισμένων φαρμάκων, όπως η πενικιλλίνη [177].

5. Βασεόφιλα

Τα βασεόφιλα πολυμορφοπύρηνια αποτελούν το 0,5% των λευκών αιμοσφαιρίων. Το όνομα τους προέρχεται από το γεγονός ότι είναι ευαίσθητα στη χρώση από τις βασικές χρωστικές ουσίες. Βασεοφιλία παρατηρείται στα μυελούπερπλαστικά νοσήματα και τη βασεοφιλική λευχαιμία. Τα κοκκία των βασεόφιλων περιέχουν ηπαρίνη, μια ουσία που εμποδίζει τη γρήγορη πήξη του αίματος. Περιέχουν επίσης την αγγειοδιασταλτική ουσία ισταμίνη. Τα βασεόφιλα παίζουν σημαντικό ρόλο στις παρασιτικές λοιμώξεις και τις αλλεργίες. Στην επιφάνεια τους φέρουν υποδοχείς ανοσοσφαιρινών που δεσμεύουν την IgE και συμβάλλουν στην άμυνα του οργανισμού έναντι αλλεργιών και παρασίτων. Όταν ενεργοποιούνται τα βασεόφιλα αποσυντίθενται και απελευθερώνουν ισταμίνη, πρωτεογλυκάνες και πρωτεολυτικά ένζυμα. Μπορούν επίσης να εκκρίνουν λευκοτριένια και μερικές κυτταροκίνες, όπως την IL-4. Η ιντερλευκίνη-4 θεωρείται μια από τις πιο σημαντικές κυτταροκίνες στην ανάπτυξη των αλλεργιών και την παραγωγή των αντισωμάτων IgE από το ανοσοποιητικό σύστημα [177].

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Στον ανθρώπινο οργανισμό τα μονοκύτταρα αντιπροσωπεύουν το 3% έως 8% του συνολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων του περιφερικού αίματος. Η ύπαρξη τους παρατηρήθηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1920 [178]. Αποτελούν τα μεγαλύτερα σε μέγεθος κύτταρα του περιφερικού αίματος. Αποτελούν άκοκκα κύτταρα με μέγεθος 12-20 mm και σχήμα σφαιρικό. Χαρακτηρίζονται από ένα μεγάλο έκκεντρα τοποθετημένο πυρήνα που δεν χρωματίζεται έντονα λόγω της αραιής κατανομής της χρωματίνης. Το σχήμα του πυρήνα ποικίλλει από πεταλοειδή, νεφροειδή ή και δίλοβο. Επίσης, στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι ορατά 2 ή περισσότερα πυρήνια. Τα μονοκύτταρα προέρχονται από το αρχέγονο πολυδύναμο αιμοποιητικό στελεχειαίο κύτταρο στο μυελό των οστών που δίνει γένεση στις πρόδρομες μορφές των μονοκυττάρων στο μυελό των

οστών. Συγκεκριμένα, αρχικά παράγονται οι μυελοβλάστες και στη συνέχεια παράγονται οι μονοβλάστες. Ακολουθεί η παραγωγή των προμνοκυττάρων και τελικά σχηματίζονται τα μονοκύτταρα [179].

Η ημιπερίοδος ζωής των μονοκυττάρων στο αίμα είναι 12 με 100 ώρες και δεν υπάρχουν ενδείξεις επανακυκλοφορίας τους μετά την είσοδο τους στο συνδετικό ιστό. Μετά την ωρίμανση τους στο μυελό των οστών τα μονοκύτταρα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία του αίματος για μια σχετικά σύντομη περίοδο λίγων ημερών και στη συνέχεια ακολουθεί η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου ή η διήθηση των ιστών όπου και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα *in situ*. Η διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε δενδριτικά κύτταρα αναστέλλεται παρουσία της IL-10, κυτταροκίνης που ευνοεί την ωρίμανση των μονοκυττάρων σε μακροφάγα [179].

Το σύστημα των μονοκυττάρων-μακροφάγων μαζί με τα πολυμορφοπύρρηνα κοκκιοκύτταρα αποτελούν την ομάδα των φαγοκυττάρων του οργανισμού και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της φυσικής ανοσίας, δηλαδή της μη ειδικής προστασίας έναντι των ξένων παθογόνων μέσω της έγκαιρης ανίχνευσης και εξάλειψής τους. Το σύστημα αυτό εξαρτάται από ειδικούς υποδοχείς στη μεμβράνη των κυττάρων που αναγνωρίζουν συστατικά των διαφόρων παθογόνων, όπως τη μεμβράνη των μικροοργανισμών (λιποπολυσακχαρίτες ή LPS). Μερικοί από αυτούς τους υποδοχείς αναγνώρισης είναι το μόριο CD14 και οι TLRs. Το σύστημα μονοκυττάρων/μακροφάγων μπορεί επίσης να επάγει την εξουδετέρωση των παθογόνων μέσω της παραγωγής πολυάριθμων κυτταροκινών καθώς και μέσω της διαδικασίας της επεξεργασίας και παρουσίασης αντιγόνων. Οι παράγοντες που προκαλούν ενεργοποίηση των μονοπύρηνων/μακροφάγων διακρίνονται στους φυσικούς (π.χ ινοβλάστες και επιθηλιακά κύτταρα) και στους περιβαλλοντικούς που προέρχονται από ιούς, βακτήρια ή και χημικές αντιδράσεις [179].

Ταυτόχρονα, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαδικασία της ομοιοστασίας μέσω της απομάκρυνσης τοξικών ουσιών και της καταστροφής των απεπτωκότων κυττάρων, κυρίως στην περιοχή του εντέρου και του πνεύμονα. Η πλαστικότητα των μονοκυττάρων συνήθως περιορίζεται στη μετατροπή τους σε μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα. Παρόλα αυτά, έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη ενός υποκλάσματος μονοκυττάρων που διαθέτει την ικανότητα κάτω από κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας να διαφοροποιηθεί σε επιθηλιακά, ενδοθηλιακά, νευρωνικά και ηπατικά κύτταρα [179].

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα μονοκύτταρα δεν βρίσκονται αποκλειστικά στην κυκλοφορία του αίματος αλλά μπορούν να παραμείνουν στους ιστούς ως εφεδρείες, όπως στο σπλήνα, και να κινητοποιηθούν σε καταστάσεις φλεγμονής. Συνάμα, πρόδρομα κύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν και να οδηγήσουν στη δημιουργία μονοκυττάρων έξω από το μυελό των οστών, σε μια διαδικασία που ονομάζεται εξωμυελική μονοκυττοποίηση. Το φαινόμενο αυτό ενώ είναι σπάνιο όταν ο οργανισμός βρίσκεται σε σταθερή κατάσταση αυξάνεται κατά τη διάρκεια φλεγμονής. Τα μονοκύτταρα εμπλέκονται επίσης στη διαδικασία της αγγειογένεσης και επούλωσης του μυοκαρδίου μετά από ένα επεισόδιο οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου ή μετά από ένα αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο [180]. Ενώ τα μονοκύτταρα είναι βασικοί παράγοντες και ρυθμιστές της φλεγμονής και των ανοσοαποκρίσεων στα πλαίσια της φυσικής ή μη ειδικής ανοσίας, τα δενδριτικά κύτταρα ρυθμίζουν τις ειδικές για το παθογόνο ανοσοαποκρίσεις στα πλαίσια της επίκτητης ανοσίας και ο ρόλος τους είναι κομβικός για την ανάπτυξη της ανοσολογικής μνήμης και ανοχής.

ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΩΣΗ Η ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Μονοκυττάρωση ονομάζεται η αύξηση $> 500/\text{mm}^3$ των μονοκυττάρων σε απόλυτο αριθμό ή όταν παρατηρείται αυξησή τους $> 10\%$ στο συνολικό λευκοκυτταρικό τύπο. Συναντάται στις εξής περιπτώσεις:

- Αργής εξέλιξης λοιμώξεις, όπως η υποξεία μικροβιακή ενδοκαρδίτιδα και μυκοβακτηριακές λοιμώξεις, όπως η φυματίωση.
- Αιματολογικές κακοήθειες, όπως η νόσος Hodgkin και οι μυελοϋπερπλαστικές διαταραχές (μυελοειδής μεταπλασία, ιδιοπαθής πολυκυτταραιμία).
- Διαταραχές αποθήκευσης λιπιδίων (λιπιδιώσεις), όπως η νόσος του Gaucher, η Niemann-Pick και η Tay-Sachs.
- Μετά από σπληνεκτομή.
- Δηλητηρίαση από τετραχλωραιθάνιο.
- Πρωτοζωϊκές λοιμώξεις, όπως η ελονοσία, η σπλαχνική λείσημανίαση και η τρυπανοσωμίαση.
- Ρικετσιώσεις, όπως ο κηλιδώδης πυρετός των Βραχωδών Ορέων και ο εξανθηματικός τύφος.

- Ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, όπως η χρόνια ελκώδης κολίτιδα και η νόσος του Crohn.
- Κοκκιωματώδεις νόσοι, όπως η σαρκοείδωση και η γιγαντοκυτταρική αρτηρίτιδα.
- Νοσήματα κολλαγόνου, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και ο συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος.
- Παράγοντες της καθημερινότητας, όπως το στρες και τα φάρμακα [181].

ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

1. Γενικά στοιχεία

Η ετερογένεια των μονοκυττάρων του αίματος έχει αναγνωριστεί ευρέως μέσω πειραματικών και κλινικών δεδομένων που προκύπτουν από διάφορες ερευνητικές ομάδες, αναδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων στην παθοφυσιολογία των καρδιαμεταβολικών παθήσεων. Τα λευκά αιμοσφαίρια εκφράζουν στην επιφάνεια τους έναν μεγάλο αριθμό μορίων (δεικτών) και η ανιχνεύσή τους γίνεται μέσω ανοσοϊστοχημείας ή κυτταρομετρίας ροής [182]. Συγκεκριμένα, με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής γίνεται χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων σημασμένων με φθορίζουσα χρωστική, τα οποία διαθέτουν σχέση αντιγόνου-αντισώματος για ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των μονοκυττάρων. Η κυτταρομετρία ροής έχει γίνει η συνήθης μέθοδος για την ανάλυση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων καθώς παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης πολλών επιφανειακών δεικτών σε συνδυασμό με τη γρήγορη και αντιπροσωπευτική συλλογή δεδομένων από ένα μεγάλο αριθμό κυττάρων [183].

Το 1989 για πρώτη φορά πραγματοποιήθηκε η περιγραφή της ετερογένειας των ανθρώπινων μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Συγκεκριμένα, με τη βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής υπολογίστηκε η έκφραση που εμφανίζουν οι υποδοχείς CD14 (υποδοχέας LPS) και CD16 (υποδοχέας Fcγ-III) στην επιφάνεια των μονοκυττάρων [184]. Η αρχική αυτή διάκριση περιλάμβανε τους εξής υποπληθυσμούς: CD14⁺ CD16⁻ και CD14⁺ CD16⁺. Το 2003 παρατηρήθηκε ότι ο CD14⁺ CD16⁺ υποπληθυσμός των μονοκυττάρων μπορεί να διαφοροποιηθεί περαιτέρω σε 2 νέους υποπληθυσμούς (CD14⁺ + CD16⁺ και CD14⁺ CD16⁺ +) [185]. Τελικά, το 2010 καθιερώθηκαν

κατευθυντήριες οδηγίες για τις διάφορες ερευνητικές ομάδες σχετικά με τον προσδιορισμό του φαινοτύπου των μονοκυττάρων με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής, ανάλογα με την ισχυρή ή όχι έκφραση των δεικτών CD14 και CD16 που εμφανίζουν στην επιφανειά τους. Συγκεκριμένα, καταρτίστηκαν τρεις υποπληθυσμοί μονοκυττάρων:

- Ο κλασικός υποπληθυσμός CD14⁺ CD16⁻ ή Mon1 (~85% επί του συνόλου των μονοκυττάρων) με υψηλή έκφραση CD14 και χωρίς έκφραση CD16.
- Ο ενδιάμεσος υποπληθυσμός CD14⁺ CD16⁺ ή Mon2.
- Ο μη κλασικός υποπληθυσμός CD14⁺ CD16⁺ ή Mon3 με ασθενή έκφραση του δείκτη CD14 και αυξημένη έκφραση του δείκτη CD16 [183].

Οι τρεις αυτοί υποπληθυσμοί αποτελούν νέους και πολλά υποσχόμενους βιοδείκτες που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία διαφόρων καρδιαμεταβολικών παθήσεων. Τα CD16⁺ μονοκύτταρα συγκροτούν τον μη κλασικό και ενδιάμεσο υποπληθυσμό (προφλεγμονώδη μονοκύτταρα) και συνδέονται με την έκκριση διαφόρων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως του παράγοντα TNF-α. Συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση τους σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις του οργανισμού [186] ενώ η συστηματική άσκηση οδηγεί σε μείωση του συνολικού αριθμού τους [187]. Ο βιολογικός ρόλος και οι λειτουργίες των 3 υποπληθυσμών των μονοκυττάρων εξακολουθούν να μην είναι επαρκώς κατανοητές και πολλές πτυχές που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία τους χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Πιθανός στόχος στο μέλλον είναι η ανάπτυξη ειδικών θεραπειών (βιολογικοί παραγόντες) για τη ρύθμιση της έκφρασης των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων. Ο κλασικός υποπληθυσμός των μονοκυττάρων φαίνεται να δίνει γένεση στα μακροφάγα M1 [188] και στα «αφρώδη» κύτταρα που προσλαμβάνουν την LDL-C. Παρόλα αυτά, προς το παρόν δεν έχει φανεί ισχυρή και ξεκάθαρη σύνδεση των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων του αίματος με τον φαινότυπο M1 και M2 των μακροφάγων.

Στο παρελθόν προσπάθειες για την κατανόηση του ρόλου και του προσδιορισμού του φαινοτύπου των μονοκυττάρων έγιναν και με άλλους δείκτες, εκτός από τους δείκτες CD14 και CD16, όπως με το δείκτη CD11c. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι σε καταστάσεις παχυσαρκίας αυξάνεται η έκφραση του στα λευκοκύτταρα του λιπώδους ιστού και στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος, η οποία επάγεται από δίαιτα αυξημένη σε λιπαρά οξέα [189].

2. Κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14⁺ + CD16⁻ ή Mon1)

Τα μονοκύτταρα του κλασικού υποπληθυσμού προέρχονται από το μυελό των οστών και από το σπλήνα και εκφράζουν υψηλά επίπεδα του υποδοχέα της χημειοκίνης 2 (CCR2) καθώς επίσης και των δεικτών FcγRI, CD62L, PSGL-1, IL-6R, SR-A και CD36. Ταυτόχρονα, εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα των δεικτών CX3CR1 και CCR5 (υποδοχέας για τις χημειοκίνες CCL3, CCL4, CCL8 και CCL3) [190]. Επιπλέον, επάγουν την παραγωγή ROS και η διέγερση με λιποπολυσακχαρίτη (όπως σε καταστάσεις λοίμωξης και φλεγμονής), οδηγεί τα κλασικά μονοκύτταρα στην παραγωγή ενός ευρέος φάσματος κυτταροκινών και χημειοκινών, συμπεριλαμβανομένων των IL-10 και IL-6, IL-8, TNF-α, IL-1β και CCL2 [190].

Επίσης, τα Mon1 παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα μυελοϋπεροξειδάσης και αυξημένη φαγοκυτταρική δραστηριότητα, χαρακτηριστικό που επιβεβαιώνεται με την έκφραση πολυάριθμων γονιδίων που συνδέονται με τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης (π.χ CD93, CD64, CD32, CD36, CD14, φικολίνη-1 (FCN1) και SIRPA) [191]. Επιπλέον, τα CD14⁺ + CD16⁻ μονοκύτταρα χαρακτηρίζονται από αυξημένη έκφραση γονιδίων που κωδικεύουν αντιμικροβιακές πρωτεΐνες και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς της φυσικής ανοσίας, όσον αφορά την άμυνα κατά των μικροβιακών παθογόνων. Τέλος, ο σημαντικός ρόλος του κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων στη διαδικασία της επιδιόρθωσης των ιστών υποδηλώνεται με την εμφάνιση αυξημένης έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τη διαδικασία της αγγειογένεσης, της επούλωσης των πληγών και της θρόμβωσης [190].

3. Ενδιάμεσος υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14⁺ + CD16⁺ ή Mon2)

Ο ενδιάμεσος υποπληθυσμός των μονοκυττάρων αποτελεί τον μικρότερο υποπληθυσμό (3-5% του συνολικού αριθμού μονοκυττάρων περιφερικού αίματος) και εμφανίζει μοναδικά χαρακτηριστικά που τον ξεχωρίζουν από τους άλλους δύο υποπληθυσμούς. Η περιγραφή του πραγματοποιήθηκε πριν λίγα χρόνια και συνεπώς αποτελεί το λιγότερο κατανοημένο και μελετημένο υποπληθυσμό. Ο όρος «ενδιάμεσος» βασίζεται στην έκφρασή του δείκτη CD16 και δεν αντανάκλα τα λειτουργικά ή συνολικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του συγκεκριμένου υποπληθυσμού. Στην πραγματικότητα εμφανίζει την υψηλότερη παρά την ενδιάμεση έκφραση των περισσότερων σημαντικών δεικτών των

μονοκυττάρων. Επίσης, εμφανίζει την υψηλότερη παραγωγή των κυτταροκινών TNF- α , IL-6 και IL-1 β , ως απόκριση σε διέγερση με τον λιποπολυσακχαρίτη, καθώς και το υψηλότερο ποσοστό συσσωμάτωσης με τα αιμοπετάλια [191]. Επιπλέον, τα μονοκύτταρα που ανήκουν στον υποπληθυσμό Mon2 θεωρούνται ως ισχυροί παραγωγοί της ιντερλευκίνης IL-10 και παρουσιάζουν μεγάλη ικανότητα ενθυλάκωσης των απεπτωκότων κυττάρων [192]. Επίσης, ο υποπληθυσμός Mon2 διαθέτει μεγαλύτερα και πιο κοκκώδη κύτταρα από τον αντίστοιχο Mon3 και εμφανίζει υψηλότερη έκφραση πολλών υποδοχέων που εμπλέκονται στη διεργασία της φλεγμονής/ανοσίας (TLR4, CCR5, CD11b, ενσωματινή β 2 κ.α).

Συγχρόνως, εμφανίζει υψηλότερη έκφραση υποδοχέων που συνδέονται με την αγγειογένεση και αναδιαμόρφωση των ιστών (υποδοχείς 1 και 2 του VEGF, Tie2, CXCR4, κ.α) με αποτέλεσμα ο υποπληθυσμός Mon2 να συνδέεται με τη διεργασία επούλωσης και αποκατάστασης των ιστών που παρατηρείται μετά από οξύ στεφανιαίο σύμβαμα [193]. Παράλληλα, παρατηρείται υψηλότερη έκφραση σε γονίδια που συνδέονται με την άμυνα κατά των μικροβιακών παθογόνων (LYZ, S100A8, CD14 και S100A10) καθώς επίσης και σχετικών με το μείζον συμπλεγμα ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHC II) (π.χ HLA-DR, CD74, IFI30, HLA-DP και CPVL) με αποτέλεσμα μεγαλύτερη ικανότητα αντιγονοπαρουσίασης στα CD4⁺ λεμφοκύτταρα T [194]. Επιπλέον, εμφανίζει τη μεγαλύτερη ικανότητα στην παραγωγή ROS [190].

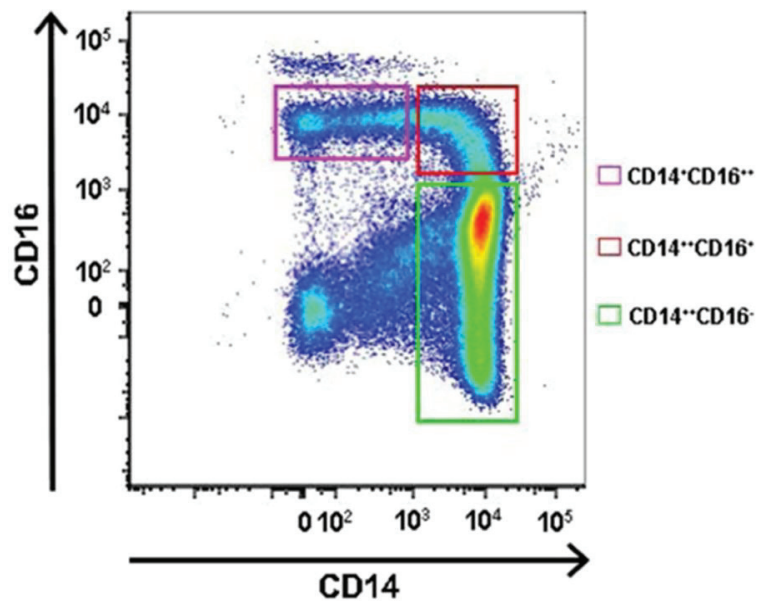
Ο υποπληθυσμός Mon2 αποτελεί, επίσης, τον κυρίαρχο τύπο μονοκυττάρων που βρίσκεται στο μυελό των οστών [195] και πιθανά οι φαινότυποι Mon1 και Mon3 να προκύπτουν στην κυκλοφορία μέσω της ωρίμανσης του υποπληθυσμού Mon2 στο μυελό των οστών. Συνεπώς, η παρατηρούμενη αύξηση του Mon2 υποπληθυσμού σε ασθενείς με οξεία καρδιαγγειακά συμβάματα και χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις πιθανώς να σχετίζεται με την αυξανόμενη κινητοποίηση του από τον μυελό των οστών [196]. Επίσης, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του απόλυτου αριθμού των Mon2 μονοκυττάρων και της εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε άτομα από το γενικό πληθυσμό που υπεβλήθησαν σε στεφανιογραφία καθώς και σε άτομα με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια [197]. Τέλος, υπάρχει και η άποψη ότι ο υποπληθυσμός Mon2 εμφανίζεται ως το μεταβατικό στάδιο κατά την εξέλιξη των μονοκυττάρων από τον υποπληθυσμό Mon1 προς τον Mon3 [190].

4. Μη κλασικός υποπληθυσμός μονοκυττάρων (CD14⁺ CD16⁺ ή Mon3)

Τα μονοκύτταρα Mon3 είναι μικροτερα σε μέγεθος σε σχέση με τους άλλους υποπληθυσμούς και αποτελούν το 10 % περίπου του συνολικού αριθμού των μονοκυττάρων, ο οποίος αυξάνει σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Δεν εκφράζουν τους δείκτες CCR2 και CD62L ενώ εμφανίζουν υψηλά επίπεδα έκφρασης των δεικτών CX3CR1, CD49d και SLAN. Παράλληλα, τα μονοκύτταρα Mon3 δεν εμφανίζουν καθόλου ή εμφανίζουν μειωμένη παραγωγή ROS, μυελοϋπεροξειδάσης και λυσοζύμης [198]. Ταυτόχρονα, εμφανίζουν υψηλότερη έκφραση στους δείκτες ενσωματινή α4, σιαλοφερίνη, CD294 και Siglec 10 και υψηλότερη έκφραση σε γονίδια που σχετίζονται με το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας I (MHC-I) (HLA-B, β2m, κ.α), τη λειτουργία του κυτταρικού κύκλου (CDKN1C, STK10, κ.α) και τη δια-ενδοθηλιακή κινητικότητα (LSP1, LYN, CFL1, MYL6, κ.α) [198]. Επίσης, εμφανίζουν ασθενείς φαγοκυτταρικές ιδιότητες (κυρίως φαγοκυτταρώνουν την ox-LDL-C) και σχετίζονται με την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών (TNF-α, IL-1β, CCL3, κ.α) μέσω της ενεργοποίησης των TLR από ιούς και νουκλεϊκά οξέα. Συγχρόνως, αποτελούν κύτταρα φρουρούς που εμπλέκονται στη διεργασία επιδιόρθωσης των ιστών και στην απομάκρυνση των συντριμμάτων από το αγγειακό σύστημα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα μονοκύτταρα Mon3 προέρχονται από τα κλασικά μονοκύτταρα [199] αλλά μπορούν να προκύψουν και ανεξάρτητα [200].

Τα μονοκύτταρα Mon3 εμφανίζουν ομοιότητες όσον αφορά τα μοριακά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά τους σε σχέση με τα μακροφάγα των ιστών. Ως εκ τούτου, θεωρούνται ως η πιο ώριμη υποκατηγορία μονοκυττάρων. Συγκεκριμένα, ο αριθμός των μεταγραφόμενων γονιδίων που σχετίζονται με τη διεργασία της ωρίμανσης των μονοκυττάρων είναι αυξημένος στα μονοκύτταρα Mon3 σε σχέση με τους άλλους 2 υποπληθυσμούς. Επιπλέον, το μήκος των τελομερών των Mon3 μονοκυττάρων είναι μικρότερο σε σχέση με τους άλλους 2 υποπληθυσμούς, αποτελώντας ένδειξη ότι πρόκειται για το πιο ώριμο στάδιο διαφοροποίησης των μονοκυττάρων [190]. Επίσης, τα μη κλασικά μονοκύτταρα συμβάλλουν στο σχηματισμό κοκκίωσης στους ιστούς [190]. Η ικανότητά τους να μετακινούνται με ευκολία στην περιοχή του ενδοθηλίου τους δίνει την ικανότητα να εποπτεύουν την περιοχή ενδοθηλίου-αίματος και επιλεκτικά να ανιχνεύουν κατεστραμμένα κύτταρα ή μολυσμένα από ιούς. Πειράματα

in vitro απέδειξαν ότι τα CD16⁺ μονοκύτταρα είναι πολύ πιο κινητικά και δραστήρια από τα μονοκύτταρα CD16⁻. Σε συνάρτηση με τα παραπάνω, τα Mon3 χαρακτηρίζονται από υψηλή έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την κινητικότητα του κυτταροσκελετού [201].



Εικόνα 4. Η κατανομή των 3 υποπληθυσμών των μονοκυττάρων ανάλογα με την έκφραση που εμφανίζουν στην επιφάνεια τους στους δείκτες CD14 και CD16 [186].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Έχει βρεθεί ότι η παχυσαρκία και το ΜΣ σχετίζονται με χρόνια χαμηλής κλίμακας φλεγμονή. Επιπρόσθετα, ο λιπώδης ιστός παχύσαρκων ατόμων αποικίζεται από μακροφάγα που φέρουν καθ' υπεροχήν τον προφλεγμονώδη φαινότυπο M1, τα οποία αύξάνουν την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και επάγουν την εμφάνιση αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα στο περιφερικό αίμα (πρόδρομες μορφές των μακροφάγων του λιπώδους ιστού) βρίσκονται σε καθ' υπεροχήν προφλεγμονώδη κατάσταση στα παχύσαρκα άτομα [202].

Παράλληλα, η ανθρώπινη ρεζιστίνη είναι μια πρωτεΐνη που εκκρίνεται από τα ουδετερόφιλα, το σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων και σε μικρότερη έκταση από τον λιπώδη ιστό [127]. Αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης έχουν συσχετιστεί με αυξημένα καρδιαγγειακά συμβάματα [127]. Επίσης, η ρεζιστίνη εμφανίζει προφλεγμονώδεις ιδιότητες μέσω της αύξησης της IL-6 και του TNF- α , και αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης έχουν βρεθεί σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως λοιμώξεις, ρευματοειδής αρθρίτιδα και ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου [127]. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο η ρεζιστίνη έχει αναδυθεί ως ένας νέος δείκτης που αντανακλά τα επίπεδα χαμηλής έκτασης φλεγμονής που παρατηρούνται σε καταστάσεις παχυσαρκίας και στο ΜΣ.

Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση του ρόλου των 3 υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (CD14⁺ + CD16⁻, CD14⁺ + CD16⁺, CD14⁺ CD16⁺ +) και των επιπέδων ρεζιστίνης του ορού μεταξύ παχύσαρκων ατόμων που πληρούν τα κριτήρια του ΜΣ, παχύσαρκων ατόμων χωρίς ΜΣ και ατόμων φυσιολογικού ΔΜΣ, χωρίς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου καθώς και η συσχέτιση τους με διάφορες σωματομετρικές και εργαστηριακές παραμέτρους.

Παράλληλα, μελετήθηκε ο ρόλος των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων ως πιθανών ρυθμιστών των επιπέδων ρεζιστίνης του ορού. Επίσης, η μελέτη στοχεύει στο να φωτιστούν κάποιες πτυχές που σχετίζονται με το προφίλ των μεταβολικά υγιών παχύσαρκων στην προσπάθεια κατάρτισης αξιόπιστων κριτηρίων διαχωρισμού τους από τους υπόλοιπους παχύσαρκους και κατανόησης των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που τους διέπουν.

ΜΕΡΟΣ Α

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παχυσαρκία σχετίζεται με μειωμένο προσδόκιμο ζωής λόγω του αυξημένου κινδύνου για μεταβολικά νοσήματα, αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και συσχέτιση με διάφορες μορφές καρκίνου [204]. Παρόλα αυτά, μειωμένος κίνδυνος για στεφανιαία νόσο έχει παρατηρηθεί στην υποκατηγορία των μεταβολικά υγιών παχυσάρκων (ΜΥΠ) σε σύγκριση με τους μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκους (ΜΜΥΠ) [74]. Οι ΜΜΥΠ χαρακτηρίζονται από την παρουσία μεταβολικών διαταραχών, όπως αντίσταση στην ινσουλίνη, δυσλιπιδαιμία και υπέρταση. Παρόλα αυτά, υπάρχουν ενδείξεις από τη βιβλιογραφία ότι οι ΜΥΠ δεν είναι προστατευμένοι και εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών προβλημάτων και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε σύγκριση με τους μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού σωματικού βάρους (ΜΥΦΒ). Συνεπώς, υπάρχει η άποψη ότι οι ΜΥΠ, για τους οποίους δεν υπάρχει συγκεκριμένος ορισμός ούτε κοινώς αποδεκτά κριτήρια, πιθανώς αντιπροσωπεύουν μια πρόδρομη φάση που οδηγεί στη συνέχεια στην εμφάνιση του ΜΣ [205].

Είναι γνωστό ότι η παχυσαρκία αποτελεί μια χαμηλής έκτασης φλεγμονώδη κατάσταση για τον οργανισμό. Συγκεκριμένα, παρατηρείται διήθηση μακροφάγων στο λιπώδη ιστό που οδηγεί σε φλεγμονή και σε παραγωγή κυτταροκινών με αποτέλεσμα τη μεταβολική δυσλειτουργία του οργανισμού, την εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. [150]. Οι ΜΥΠ έχουν ευνοϊκότερο προφλεγμονώδες προφίλ σε σχέση με τους ΜΜΥΠ, όπως φαίνεται από την εμφάνιση χαμηλότερων επιπέδων σε δείκτες φλεγμονής, όπως την CRP [206]. Τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα του αίματος (πρόδρομες μορφές των μακροφάγων) αποτελούν μια εύκολα μετρήσιμη κατηγορία λευκών αιμοσφαιρίων που χρησιμεύει ως δείκτης στην σχετιζόμενη με την παχυσαρκία χαμηλής έκτασης φλεγμονή. Έχει παρατηρηθεί ότι τα κλασικά μονοκύτταρα σχετίζονται με τα CD11c+ μακροφάγα M1 στον λιπώδη ιστό παχυσάρκων ατόμων [189].

Τρεις διαφορετικές υποκατηγορίες μονοκυττάρων έχουν ανακαλυφθεί στο ανθρώπινο οργανισμό, ανάλογα με τα διαφορετικά επίπεδα έκφρασης του λιποπολυσακχαριτιδικού υποδοχέα των λιποπολυσακχαριτών (CD14) και του υποδοχέα γ των FcγIII (FcγIII, CD16) [198]. Ο μεγαλύτερος υποπληθυσμός μονοκυττάρων εμφανίζει αυξημένη έκφραση του δείκτη CD14 χωρίς έκφραση του δείκτη CD16 (CD14⁺ + CD16⁻) και αναφέρεται ως Mon1, ενώ οι άλλοι δυο υποπληθυσμοί εκφράζουν τον δείκτη CD16 και αναφέρονται ως ενδιάμεσος (Mon2 ή CD14⁺ + CD16⁺) και μη κλασικός (Mon3 ή CD14⁺ CD16⁺ +) [198].

Τα CD16⁺ μονοκύτταρα εμφανίζουν ομοιότητες με τα μακροφάγα και αυξημένη αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα (έκφραση των μορίων MHC-I και MHC-II). Παράλληλα, εμφανίζουν τάση προσκόλλησης στο ενδοθήλιο και παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως τον TNF-α [207]. Η διήθηση του αρτηριακού τοιχώματος από τα μακροφάγα σχετίζεται με την παθογένεση της αθηροσκλήρωσης και αυξημένος αριθμός Mon2 έχει παρατηρηθεί σε αθηροσκληρωτικές καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και η περιφερική αγγειακή νόσο [198]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι απόλυτοι και σχετικοί αριθμοί των υποπληθυσμών Mon2 και Mon3 είναι αυξημένοι στην παχυσαρκία και μειώνονται 3 μήνες μετά τη διενέργεια βariatτρικής χειρουργικής [208]. Παρόλα αυτά, υπάρχει κενό στη βιβλιογραφία σχετικά με το εάν υπάρχει διαφοροποίηση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων μεταξύ ΜΥΠ και ΜΜΥΠ καθώς και μεταξύ ΜΥΠ και ΜΥΦΒ.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης ήταν η έρευνα του προφίλ των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων στα παχύσαρκα άτομα με και χωρίς ΜΣ καθώς και στους ΜΥΦΒ. Υποθέσαμε ότι ο απόλυτος αριθμός και το ποσοστό των προφλεγμονωδών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (Mon2, Mon3) θα ήταν αυξημένα στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ και τους ΜΥΦΒ. Επιπλέον, προσπαθήσαμε να αποσαφηνίσουμε τις μεταβολικές συσχετίσεις των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων και τον ρόλο του κάθε παράγοντα του ΜΣ ξεχωριστά.

ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος 83 ενήλικα άτομα, ηλικίας 20 έως 67 ετών (37 άντρες και 46 γυναίκες). Απ' αυτούς, οι 25 είχαν φυσιολογικό βάρος σώματος (10 άνδρες και 15 γυναίκες). Οι παχύσαρκοι ήταν 58, εκ των οποίων 25 ήταν ΜΥΠ (11 άνδρες και 14 γυναίκες) και 33 είχαν ΜΣ (16 άνδρες και 17 γυναίκες).

Η λήψη λεπτομερούς ιστορικού και η φυσική εξέταση πραγματοποιήθηκαν στα εξωτερικά ιατρεία της Ενδοκρινολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Η μέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών περιλάμβανε την εκτίμηση του ύψους, του σωματικού βάρους, της περιφέρειας της μέσης, της περιφέρειας των ισχίων και της περιφέρειας του αυχένα.

Η λήψη των δειγμάτων αίματος από περιφερική φλέβα πραγματοποιήθηκε πρωινές ώρες, μετά από τουλάχιστον 10 ώρες νηστεία. Παράλληλα, δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν στους -80°C προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές μετρήσεις.

Η αρτηριακή πίεση στο ιατρείο (ΑΠ) μετρήθηκε με υδραργυρικό σφυγμομανόμετρο, μετά από 5 λεπτά ανάπαυσης, με το άτομο να κάθεται άνετα και ο βραχίονας να στηρίζεται ευρισκόμενος στο επίπεδο της καρδιάς. Συνολικά διεξήχθησαν 3 μετρήσεις αρτηριακής πίεσης σε κάθε άτομο, με μεσοδιάστημα 3 λεπτών μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων. Η μέση τιμή των 2 τελευταίων μετρήσεων καταγράφηκε ως η αρτηριακή πίεση των συμμετεχόντων. Η μέση τιμή της αρτηριακής πίεσης (ΜΑΠ) υπολογίστηκε από τον τύπο [συστολική αρτηριακή πίεση ή ΣΑΠ + (2 x διαστολική αρτηριακή πίεση ή ΔΑΠ)]/ 3 [203].

Ως ενεργοί καπνιστές ορίστηκαν εκείνοι οι ασθενείς που κάπνιζαν την περίοδο συμμετοχής τους στη μελέτη ή είχαν σταματήσει να καπνίζουν λιγότερο από ένα μήνα πριν τη διεξαγωγή της μέτρησης. Σύμφωνα με τα επίπεδα γλυκόζης ορού νηστείας οι συμμετέχοντες στη μελέτη ταξινομήθηκαν σε μία από τις ακόλουθες 3 κατηγορίες: Φυσιολογική τιμή γλυκόζης νηστείας (ΦΓΝ) με τιμές γλυκόζης ορού $< 100\text{ mg/dL}$, διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (ΔΓΝ) με τιμές γλυκόζης ορού νηστείας $\geq 100\text{ mg/dL}$ και $< 126\text{ mg/dL}$ και ΣΔΤ2 με τιμές γλυκόζης ορού $\geq 126\text{ mg/dL}$.

Η συγκεκριμένη μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τη διακήρυξη του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων (clinical trial registration number:NCT03241394). Επίσης, πραγματοποιήθηκε ενημέρωση των συμμετεχόντων σχετικά με τον σκοπό της μελέτης στην οποία θα ελάμβαναν μέρος και δόθηκε η έγγραφη συγκατάθεση τους.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ

1. Πρώτη ομάδα

33 παχύσαρκοι (16 άνδρες και 17 γυναίκες) με $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ που να πληρούν τα κριτήρια του ΜΣ τα οποία όρισε το 2005 η Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρεία και το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος (American Heart Association/National Heart Lung and Blood Institute ή ΑΗΑ/ΝΗΛΒΙ) (ΜΜΥΠ), δηλαδή να έχουν 3 ή περισσότερους από τους εξής καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου:

- ✓ Γλυκόζη νηστείας $\geq 100 \text{ mg/dL}$.
- ✓ Τριγλυκερίδια $\geq 150 \text{ mg/dL}$.
- ✓ HDL-C $< 40 \text{ mg/dL}$ στους άντρες και $< 50 \text{ mg/dL}$ στις γυναίκες.
- ✓ Συστολική αρτηριακή πίεση $\geq 130 \text{ mmHg}$ ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση $\geq 85 \text{ mmHg}$.
- ✓ Περιφέρεια μέσης $\geq 102 \text{ cm}$ στους άντρες και $\geq 88 \text{ cm}$ στις γυναίκες [47].

2. Δεύτερη ομάδα

25 παχύσαρκα άτομα (11 άνδρες και 14 γυναίκες) με εμφάνιση λιγότερων από 3 καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου έτσι ώστε να μην πληρούν τα κριτήρια του ΜΣ (ΜΥΠ).

3. Τρίτη ομάδα

25 άτομα (10 άνδρες και 15 γυναίκες) με φυσιολογικό ΔΜΣ ($18.5 - 25 \text{ Kg/m}^2$) και χωρίς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου (ΜΥΦΒ).

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

- Ηλικία < 20 και > 67 ετών.
- Κύηση.
- Λήψη υπολιπιδαιμικών, αντιδιαβητικών, αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, όπως μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών ή κορτιζόνης και γενικώς φαρμάκων που μπορούν να επηρεάσουν τον φαινότυπο των μονοκυττάρων.
- Ηπατική νόσος και χολόσταση.
- Νεφρική νόσος (κρεατινίνη ορού > 1.5 mg/ dL ή λεύκωμα ούρων > 300 mg/ 24h).
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1.
- Νεοπλασία.
- Καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου NYHA III ή IV.
- Μη ευθυρεοειδική κατάσταση.
- Κατάσταση stress (σοβαρό τραύμα, έγκαιμα, μετεγχειρητική περίοδο).
- Λοιμώξεις και καταστάσεις αυτοανοσίας.
- Έως 6 μήνες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.
- Οξεία αφυδάτωση ή η μεταβολή του σωματικού βάρους πάνω από 5% τους τελευταίους 3 μήνες.

ΜΕΘΟΔΟΙ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ

Το αιματολογικό προφίλ των ασθενών περιλάμβανε τον προσδιορισμό του ολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποπληθυσμών τους και πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας έναν αυτοματοποιημένο μετρητή αίματος (Sysmex XE-2100). Οι βιοχημικές παράμετροι του ορού προσδιορίστηκαν με τη χρήση τυποποιημένων εργαστηριακών μεθόδων. Η ολική χοληστερόλη (TC), η χοληστερόλη της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL-C) και τα τριγλυκερίδια (TRG) του ορού προσδιορίστηκαν με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο και τη χρήση του αναλυτή RA-1000 (Technicon Instruments NY, USA). Η χοληστερόλη της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση Friedewald

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{TRG}/5) \text{ [209].}$$

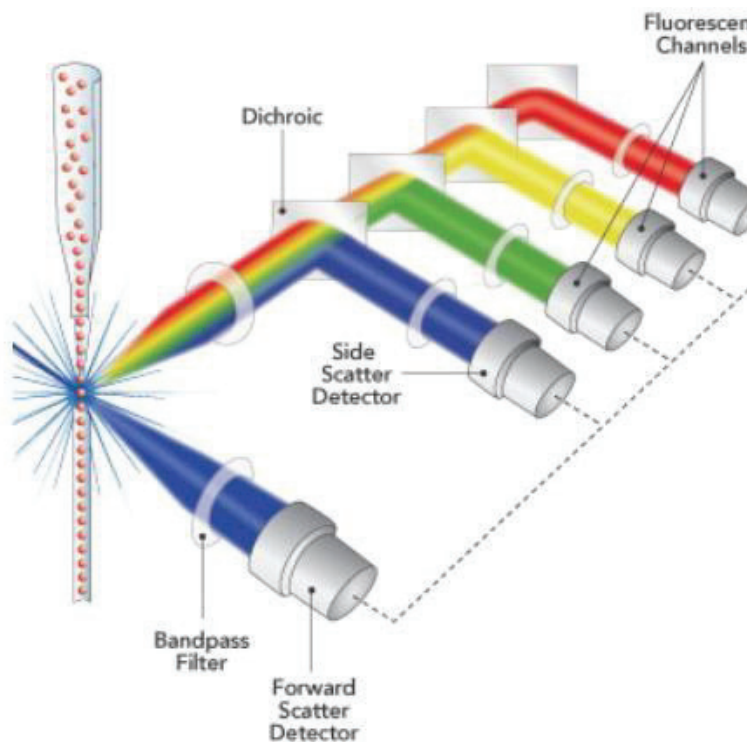
Η χοληστερόλη που βρίσκεται εκτός της HDL (non-HDL) υπολογίστηκε ως ίση με (TC- HDL-C). Η απολιποπρωτεΐνη Β (ApoB) μετρήθηκε με τη μέθοδο της ανοσονεφελομετρίας και τη βοήθεια του αναλυτή Beckman (Beckman Instruments CA, USA).

Η κρεατινίνη του ορού και των ούρων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Jaffe και τη βοήθεια του αναλυτή Olympus (Olympus Diagnostica GmbH, Ireland). Για τον υπολογισμό του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR) χρησιμοποιήθηκε ο τύπος CKD-EPI (Chronic kidney disease epidemiology Collaboration) [210]. Η επιφάνεια του σώματος (BSA) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο $\text{BSA} = 0.007184 \times \text{βάρους σώματος}^{0.425} \times \text{ύψους}^{0.725}$ (BSA σε m², βάρος σώματος σε kg και ύψος σε cm) [211]. Η συγκέντρωση της γλυκόζης του ορού μετρήθηκε με την ενζυμική μέθοδο και η ινσουλίνη του ορού με τη μέθοδο της ραδιοανοσομετρίας. Ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA (homeostatic model assessment) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο: $\text{HOMA} = \text{ινσουλίνη νηστείας (}\mu\text{IU/dL)} \times \text{γλυκόζη νηστείας (mg/dl)} / 405$ [212].

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

1. Βασικές αρχές της μεθόδου της κυτταρομετρίας ροής

Η κυτταρομετρία ροής είναι μια τεχνική για τη γρήγορη μέτρηση και το χαρακτηρισμό μεγάλου αριθμού μικροσκοπικών σωματιδίων, τα οποία βρίσκονται σε ρέον υγρό. Επιτρέπει τη μέτρηση μεμονωμένων σωματιδίων (κυττάρων, πυρήνων, χρωμοσωμάτων κ.λ.π.) καθώς αυτά διέρχονται κατά μονάς σε νηματική ροή από ένα σταθερό σημείο όπου προσπίπτει ακτίνα laser και έχει ως βάση τον εκπεμπόμενο φθορισμό και τον σκεδασμό του φωτός. Στο υλικό προς μελέτη (π.χ αίμα ή μυελός των οστών) πραγματοποιείται επεξεργασία (επώαση) με τη βοήθεια ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων που είναι συζευγμένα με ειδικές φθορίζουσες ουσίες ή χρωστικές. Τα κύτταρα που βρίσκονται στο εναιώρημα έρχονται σε επαφή με δύο έως τέσσερις ακτίνες laser (διαφορετικού μήκους κύματος εκπεμπόμενης ακτινοβολίας) με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των φθοριοχρωμάτων. Στη συνέχεια, ειδικοί ανιχνευτές μετρούν την ένταση του σκεδαζόμενου και του φθορίζοντος φωτός που προέρχεται από την πρόσκρουση της ακτινοβολίας πάνω στα προς μελέτη σωματίδια και της εκτροπής της ή διέγερσης φθοριοχρωμάτων και εκπομπής φθορίζοντος φωτός [213].



Εικόνα 5. Η μέθοδος της κυτταρομετρίας ροής. Τα κύτταρα που βρίσκονται στο εναιώρημα έρχονται σε επαφή με ακτίνα laser με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των φθοριοχρωμάτων. Γίνεται προσδιορισμός του μεγέθους των κυττάρων, της κοκκίωσης του κυτταροπλάσματος και της έντασης φθορισμού.

Το μηχάνημα της κυτταρομετρίας ροής αποτελείται από:

- Τις πηγές φωτός (ακτίνες Laser argon-ion).
- Το υδροδυναμικό σύστημα ροής: Με τη βοήθεια του το κυτταρικό εναιώρημα περνάει μέσω ενός αδρανούς ρυθμιστικού διαλύματος (sheath fluid). Το σύστημα ροής μεταφέρει και διευθετεί τα κύτταρα έτσι ώστε αυτά να περνούν ένα-ένα από τη δέσμη του Laser.
- Το οπτικό σύστημα: Το προς μελέτη κύτταρο παρεμβάλλεται στις ακτίνες laser με αποτέλεσμα το προσπίπτον φως να σκεδάζεται σε διαφορετικές γωνίες. Αν η ανίχνευση του σκεδαζόμενου φωτός γίνεται σχεδόν χωρίς εκτροπή από την αρχική κατεύθυνση (Forward Light Scatter ή FSC), έχουμε πληροφορίες για το μέγεθος του μελετώμενου κυττάρου, π.χ ερυθρό αιμοσφαίριο, λευκό αιμοσφαίριο, αιμοπετάλιο.

Αν η ανίχνευση του σκεδαζόμενου φωτός γίνεται υπό γωνία 90° αποκτούμε πληροφορίες για την κοκκίωση του κυτταροπλάσματος του κυττάρου (Side Scatter ή SSC). Εκτός από τη σκέδαση του φωτός μελετάται ένα ακόμα φυσικό φαινόμενο που είναι ο φθορισμός, δηλαδή η ιδιότητα ορισμένων ουσιών (που συνδέονται στα ειδικά αντισώματα με τα οποία έχουμε επώασει τα κύτταρα) να εκπέμπουν ακτινοβολία μεγαλύτερου μήκους κύματος από αυτήν που δέχονται (διεγείρουσα ακτινοβολία).

- Το ηλεκτρονικό σύστημα ανάλυσης δεδομένων: ως στόχο έχει την ψηφιοποίηση των δεδομένων που προέρχονται από τα εκπεμπόμενα φωτεινά σήματα (μέτρηση της σκέδασης του φωτός, του όγκου των κυττάρων και της έντασης του φθορισμού) και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων με τη βοήθεια κατάλληλου ηλεκτρονικού υπολογιστή [410].

2. Εφαρμογές της κυτταρομετρίας ροής

- Ανοσοφαινοτυπική διάγνωση κακοήθων αιματολογικών νοσημάτων (οξεία ή χρόνια λευχαιμία, λεμφώματα, παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία) και προσδιορισμός της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου.
- Ειδικά δείγματα: Μελέτη εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY), εξιδρωματικές συλλογές, ανάλυση σπέρματος, βιοψία δια λεπτής βελόνης (FNA), εναιωρήματα λεμφαδένων και ιστών, βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και υαλοειδές υγρό.

- Μελέτη του φαινοτύπου των λεμφοκυττάρων (π.χ ασθενείς με HIV, ανοσοκατασταλαμένοι) και των μονοκυττάρων.
- Ανάλυση DNA.
- Διάγνωση και παρακολούθηση αυτοάνοσων νοσημάτων [213].

3. Χρησιμοποιούμενα υλικά

Για τον προσδιορισμό των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων έγινε χρήση τεσσάρων μονοκλωνικών αντισωμάτων που έχουν τη δυνατότητα να αναγνωρίζουν συγκεκριμένους για κάθε κυτταρικό πληθυσμό αντιγονικούς δείκτες επιφανείας. Τα μονοκλωνικά αντισώματα φέρουν ομοιοπολικώς συνδεδεμένη φθορίζουσα χρωστική, η οποία ενεργοποιείται από την προσπίπτουσα ακτίνα laser. Με αυτόν τον τρόπο εμφανίζεται ένταση φθορισμού συγκεκριμένου μήκους κύματος, η οποία ανιχνεύεται από το ειδικό ηλεκτρονικό σύστημα ανάλυσης των δεδομένων, οδηγώντας στη ψηφιοποίηση και στην ποσοτικοποίηση των δεδομένων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν τα εξής 4 μονοκλωνικά αντισώματα:

- ο α) Αντίσωμα κατά CD45 συζευγμένο με Αλλοφυκοκυανίνη [Allophycocyanin (APC)-conjugated anti-CD45, (κλώνος J33)].
- ο β) Αντίσωμα κατά HLA-DR συζευγμένο με Φυκοκυανίνη 5 [Phycocyanin 5 (PC5)-conjugated anti-HLA-DR, (κλώνος Immu357)].
- ο γ) Αντίσωμα κατά CD16 συζευγμένο με Φυκοερυθρίνη [Phycoerythrin (PE)-conjugated anti-CD16, (κλώνος 3G8)].
- ο δ) Αντίσωμα κατά CD14 συζευγμένο με ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη [Fluoresceinisothiocyanate (FITC)-conjugated anti-CD14, (κλώνος 322A-1)].

Όλα τα μονοκλωνικά αντισώματα προήλθαν από την εταιρεία Beckman Coulter (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Μαγνητικά μικροσφαιρίδια (Beckman Coulter, Brea, CA) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του απόλυτου αριθμού των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων και επίσης έγινε χρήση των αντίστοιχων ισοτυπικών αντισωμάτων- μαρτύρων που δεν αντιδρούν με το δείγμα (μπορούν να δεσμευθούν όμως στους αντίστοιχους υποδοχείς Fcγ). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με την βοήθεια του

μηχανήματος κυτταρομετρίας ροής της εταιρείας BD (FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, CA) το οποίο διαθέτει δύο συσκευές παραγωγής ακτίνων λέιζερ, και τα δεδομένα αναλύθηκαν με τη χρήση του λογισμικού CellQuest (Becton Dickinson and Co., San Jose, CA). Οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στο τμήμα Μοριακής Βιολογίας του Αιματολογικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων από τον ίδιο εξειδικευμένο και έμπειρο τεχνικό, ο οποίος δεν διέθετε πρόσβαση στα κλινικά δεδομένα των ατόμων που μελετούνταν.

4. Επεξεργασία του δείγματος αίματος

Η φλεβοκέντηση πραγματοποιήθηκε σε περιφερική φλέβα (βραχιόνια φλέβα) και το δείγμα αίματος που συλλέχθηκε τοποθετήθηκε σε ηπαρινισμένο σωληνίσκο. Στη συνέχεια, σε σωληνίσκο πολυστυρολίου των 5 mL έγινε προσθήκη ποσότητας 100 μ L αίματος και 5 μ L από κάθε ένα από τα 4 μονοκλωνικά αντισώματα. Το δείγμα τοποθετήθηκε για 20 λεπτά στο ψυγείο στους 4 °C. Ακολούθησε προσθήκη 1 ml υγρού Facs Lysing (BD Biosciences, San Jose, CA) με στόχο τη λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και το δείγμα τοποθετήθηκε σε σκοτεινό θάλαμο για 15 λεπτά.

Έπειτα, το δείγμα φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 3.000 στροφές ανά λεπτό. Ακολούθησε άδειασμα του σωληνίσκου που περιείχε το δείγμα και προσθήκη 3 mL PBS (Phosphate Buffered Saline) με ανάδευση του μείγματος που προέκυψε με τη βοήθεια σιφωνίου (διαδικασία πλύσης του δείγματος). Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 3 φυγοκεντρήσεις και ενδιάμεσα έγιναν 2 πλύσεις. Έπειτα, ακολούθησε προσθήκη 100 μ L υγρού που περιείχε τα σφαιρίδια υπολογισμού του απόλυτου αριθμού των μονοκυττάρων (Flow-count fluorescent microbeads) και προσθήκη 500 μ L PBS στο τελικό δείγμα.

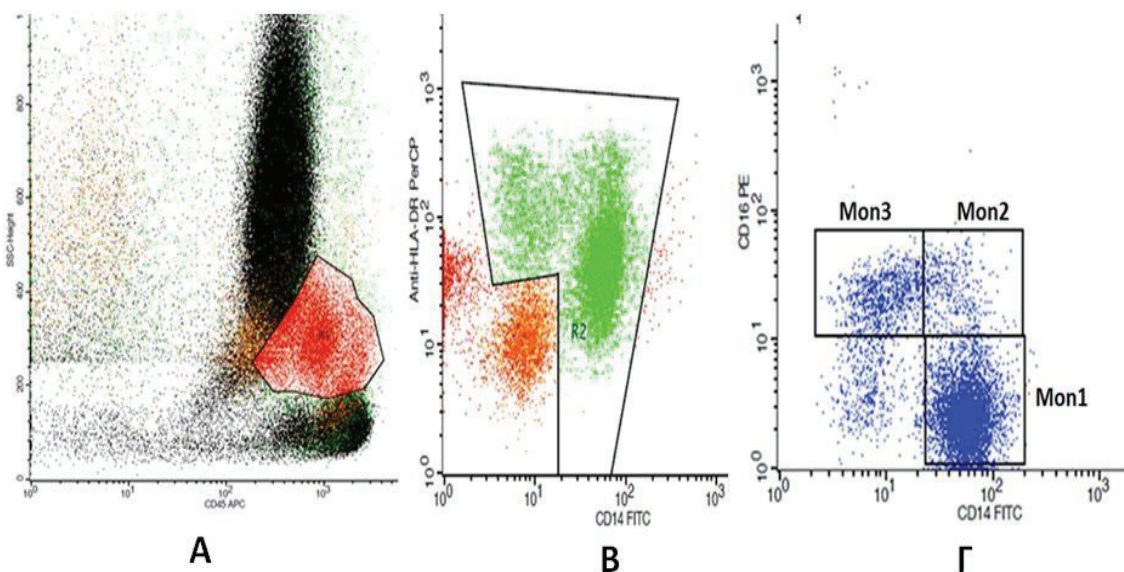
Η ανάλυση του δείγματος πραγματοποιήθηκε την ίδια ημέρα με την αιμοληψία (εντός 2 ωρών). Ακολούθησε κατανομή σε μικροποσότητες και αποθήκευση στην κατάψυξη (-80 °C) του ορού και του πλάσματος που δεν χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση. Η διαδικασία επεξεργασίας των δειγμάτων υιοθετήθηκε από το πρωτόκολλο του Heimbeck et al [214], με μόνη διαφοροποίηση ότι η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων δεν πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του διαλύματος Coulter Q-Prep αλλά αντιθέτως με τη χρήση του διαλύματος Facs Lysing και τη διαδικασία των 2 πλύσεων.

5. Απομόνωση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων

Η μέθοδος για την ταυτοποίηση και απομόνωση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων με τη χρήση των 4 μονοκλωνικών αντισωμάτων υιοθετήθηκε από το πρωτόκολλο του Heimbeck et al [214]. Μετά την συλλογή των δεδομένων από το κυτταρόμετρο, έγινε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ως εξής: για την απομόνωση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων αρχικά χρησιμοποιήθηκε ο παν-λευκοκυτταρικός δείκτης CD45 μέσω του οποίου έγινε δυνατή η απομόνωση των λευκοκυττάρων από τα υπολείμματα των κυττάρων, τα νεκρά κύτταρα και τα αιμοπετάλια, τα οποία δεν εξέφραζαν αυτόν το δείκτη και ανάλογα με την κοκκίωση τους [πλάγια (90°) σκέδαση ή Side Scattering ή SSC] οδηγηθήκαμε σε έναν αδρό διαχωρισμό των μονοκυττάρων από τις άλλες υποκατηγορίες των λευκών αιμοσφαιρίων (Εικόνα 6Α).

Στο επόμενο βήμα έγινε χρήση των αντισωμάτων CD14 και του παν-μονοκυτταρικού δείκτη HLA-DR για τον αποκλεισμό των φυσικών φονικών κυττάρων (Natural Killer cells), τα οποία δεν εκφράζουν τον δείκτη HLA-DR. Με αυτόν τον τρόπο απομονώθηκαν τα μονοκύτταρα, τα οποία εξέφραζαν τους δείκτες HLA-DR και CD14 (εικόνα 6Β). Τελικά, πραγματοποιήθηκε ο διαχωρισμός των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων, ανάλογα με την έκφραση των μονοκλωνικών αντισωμάτων CD14 και CD16, σε συμφωνία με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες του 2010 [183]. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν οι εξής υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων: ο κλασικός ή Mon1 ($CD14^{++}CD16^{-}$), ο ενδιάμεσος ή Mon2 ($CD14^{++}CD16^{+}$) και ο μη κλασικός ή Mon3 ($CD14^{+}CD16^{++}$) υποπληθυσμός των μονοκυττάρων (Εικόνα 6Γ).

Υπολογίστηκε ο απόλυτος αριθμός των μονοκυττάρων και στους 3 υποπληθυσμούς (Mon1A, Mon2A και Mon3A) καθώς και το σχετικό ποσοστό (%) του κάθε υποπληθυσμού, επί του συνόλου των μονοκυττάρων (Mon1Σ, Mon2Σ και Mon3Σ). Για τον αξιόπιστο προσδιορισμό των 3 υποπληθυσμών των μονοκυττάρων έγινε χρήση της ορθογώνιας στρατηγικής διαχωρισμού τους (rectangular gating strategy) [215].



Εικόνα 6. Βήματα για την απομόνωση των μονοκυττάρων με τη χρήση της κυτταρομετρίας ροής. Α) Ιστόγραμμα εμφάνισης των CD45⁺ λευκυττάρων σε συνάρτηση με την κοκκίωση τους στον άξονα Y (side scatter, SSC) όπου γίνεται αδρός διαχωρισμός των μονοκυττάρων (R1), Β) Ιστόγραμμα εμφάνισης των λευκών αιμοσφαιρίων ανάλογα με την έκφραση που εμφανίζουν στους δείκτες CD14 και HLA-DR, (με πράσινο χρώμα τα HLA-DR⁺ μονοκύτταρα ή R2), Γ) Ιστόγραμμα διαχωρισμού των HLA-DR⁺ μονοκυττάρων ανάλογα με την έκφραση που εμφανίζουν στους δείκτες CD14 και CD16, (α) Mon1 ή CD14⁺ CD16⁻ μονοκύτταρα, β) Mon2 ή CD14⁺ CD16⁺ μονοκύτταρα, γ) Mon3 ή CD14⁻ CD16⁺ μονοκύτταρα.

6. Προσδιορισμός του απόλυτου αριθμού των μονοκυττάρων

Ο απόλυτος αριθμός των μονοκυττάρων συνολικά καθώς και των 3 υποπληθυσμών ξεχωριστά υπολογίστηκε με τη βοήθεια των φθορίζόντων μικροσφαιριδίων που είχαν προστεθεί στο δείγμα και τη βοήθεια του μαθηματικού τύπου: Αριθμός μονοκυττάρων/μL = (αριθμός μονοκυττάρων που μετρήθηκαν/αριθμός μικροσφαιριδίων που μετρήθηκαν) x συγκέντρωση μικροσφαιριδίων/μL. Η συγκέντρωση των μικροσφαιριδίων ήταν προκαθορισμένη από την κατασκευάστρια εταιρεία Beckman Coulter (961 μικροσφαιρίδια/μL).

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 23.0. Το τεστ Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για την επαλήθευση της κανονικότητας των κατανομών των παραμέτρων που αναλύθηκαν. Τα δεδομένα που ακολουθούσαν κανονική κατανομή εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση. Οι παράμετροι με μη-κανονική κατανομή παρουσιάστηκαν ως διάμεσος (εύρος).

Η ανεξάρτητη δοκιμασία t (independent t-test) εφαρμόστηκε για τις παραμέτρους που ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Αντίθετα, τα τεστ Mann–Whitney U και Kruskal-Wallis καθώς και η ανάλυση κατά Spearman εφαρμόστηκαν για τις παραμέτρους που ακολουθούσαν μη-κανονική κατανομή. Η ανάλυση της πολυπαραγοντική ανάλυση (Multiple linear regression) εφαρμόστηκε στους παχύσαρκους για τον προσδιορισμό των παραμέτρων του ΜΣ που συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με τον Mon2 ως διακριτές μεταβλητές.

Η δίπλευρη τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Βασιζόμενοι σε δημοσιευμένα δεδομένα από συναφή άρθρα, η μελέτη 36 ασθενών σε ποσοστό 2:1 μεταξύ παχυσάρκων και ΜΥΦΒ προβλέπεται ότι οδηγεί σε 80% στατιστική ισχύ στη διάκριση στατιστικώς σημαντικών διαφοροποιήσεων στους υποπληθυσμούς μονοκυττάρων μεταξύ παχυσάρκων και ΜΥΦΒ.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Σύγκριση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (κατ' απόλυτο αριθμό) μεταξύ των τριών κατηγοριών ασθενών

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζεται η σύγκριση των κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ ΜΜΥΠ, ΜΥΠ και ΜΥΦΒ. Παρατηρήθηκε αύξηση του δείκτη HOMA και της μέσης αρτηριακής πίεσης (ΜΑΠ) στους ΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Οι ΜΜΥΠ σε σύγκριση με τους ΜΥΠ είχαν υψηλότερη μέση ηλικία και εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα HOMA, τριγλυκεριδίων, γλυκόζης νηστείας και ΜΑΠ καθώς και χαμηλότερα επίπεδα HDL-C. Οι παχύσαρκοι συνολικά (Πίνακας 2) καθώς και οι ΜΥΠ εμφάνισαν αυξημένη την υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hsCRP) σε σύγκριση με τους ΜΥΦΒ. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων της hsCRP μεταξύ των ΜΜΥΠ και των ΜΥΠ.

Επίσης, παρατηρήθηκε ότι στους παχύσαρκους ασθενείς οι υποπληθυσμοί Mon2A και Mon3A ήταν αυξημένοι, ο Mon1Σ ήταν μειωμένος και οι υποπληθυσμοί Mon2Σ και Mon3Σ εμφάνισαν τάση για αύξηση σε σύγκριση με τους ΜΥΦΒ (Πίνακας 3). Οι υποπληθυσμοί Mon2A, Mon2Σ και Mon3A παρατηρήθηκαν αυξημένοι, ο Mon1Σ μειωμένος και ο Mon3Σ παρουσίασε τάση για αύξηση στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ (Πίνακας 3). Επίσης, ο υποπληθυσμός Mon2A εμφάνισε αύξηση στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ (Πίνακας 3).

Παράλληλα, στους παχύσαρκους ασθενείς έγινε εξέταση των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων σε σχέση με την παρουσία ξεχωριστά καθενός από τους 5 παράγοντες του ΜΣ. Όλοι οι ασθενείς εμφάνισαν αυξημένη την περιφέρεια μέσης. Συγχρόνως, όλοι οι απόλυτοι και σχετικοί υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων δεν εμφάνισαν διαφοροποίηση στους ασθενείς με υπεργλυκαιμία, χωρίς υπεργλυκαιμία ή με μειωμένα επίπεδα HDL-C. Παρόλα αυτά, η αυξημένη αρτηριακή πίεση, ως παράγοντας του ΜΣ, συσχετίστηκε θετικά με αύξηση του υποπληθυσμού Mon2A ($p < 0,001$) ενώ παρατηρήθηκε τάση για αύξηση του υποπληθυσμού Mon2Σ ($p = 0,085$). Μεταξύ των παχύσαρκων ατόμων ο υποπληθυσμός Mon2Σ εμφάνισε αύξηση ($p = 0,012$) και ο υποπληθυσμός Mon2A εμφάνισε τάση για αύξηση ($p = 0,098$) σε σχέση με την υπερτριγλυκεριδαιμία, ως παράγοντα του ΜΣ.

Όταν στους παχύσαρκους ασθενείς εφαρμόστηκε το στατιστικό τεστ Kruskal–Wallis παρατηρήθηκε αύξηση του υποπληθυσμού Mon2A ($p = 0,041$) σε αντιστοιχία με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων του ΜΣ. Μεταξύ των παχύσαρκων ατόμων δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στους σχετικούς και απόλυτους υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων μεταξύ των ατόμων με φυσιολογική γλυκόζη νηστείας, με διαταραχή της γλυκόζης νηστείας και με ΣΔΤ2.

Επίσης, εφαρμόστηκε στους παχύσαρκους ασθενείς πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple linear regression analysis). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο υποπληθυσμός Mon2A ως εξαρτημένη μεταβλητή και η παρουσία ξεχωριστά του κάθε παράγοντα του ΜΣ ως ανεξάρτητη διακριτή μεταβλητή. Η αυξημένη αρτηριακή πίεση (προτυποποιημένος συντελεστής $\beta = 0,352$, $p = 0,015$) αποτέλεσε το μοναδικό παράγοντα του ΜΣ που συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον Mon2A υποπληθυσμό των μονοκυττάρων (ρυθμισμένη τιμή $R^2 = 0,121$ και $p = 0,041$ για το μοντέλο), (Πίνακας 5).

2. Παράγοντες που σχετίζονται με τους υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων στους ΜΥΦΒ

Όταν έγινε υποανάλυση στον πληθυσμό των ΜΥΦΒ παρατηρήθηκε ότι ο υποπληθυσμός Mon2A εμφάνισε θετική συσχέτιση με την HbA1c ($r = 0,604$, $p = 0,022$), τη ΔΑΠ ($r = 0,647$, $p = 0,012$), τη ΜΑΠ ($r = 0,541$, $p = 0,046$) και τάση για θετική συσχέτιση με την περιφέρεια ισχίων ($r = 0,503$, $p = 0,056$). Ο υποπληθυσμός Mon3A εμφάνισε θετική συσχέτιση με την HbA1c ($r = 0,685$, $p = 0,007$) και την HDL-C ($r = 0,569$, $p = 0,027$). Ο υποπληθυσμός Mon2Σ συσχετίστηκε θετικά με την περιφέρεια ισχίων ($r = 0,670$, $p = 0,009$), τη ΔΑΠ ($r = 0,572$, $p = 0,032$) και τη ΜΑΠ ($r = 0,539$, $p = 0,047$). Επίσης, ο υποπληθυσμός Mon1A εμφάνισε θετική συσχέτιση με την ApoA-I ($r = 0,538$, $p = 0,047$).

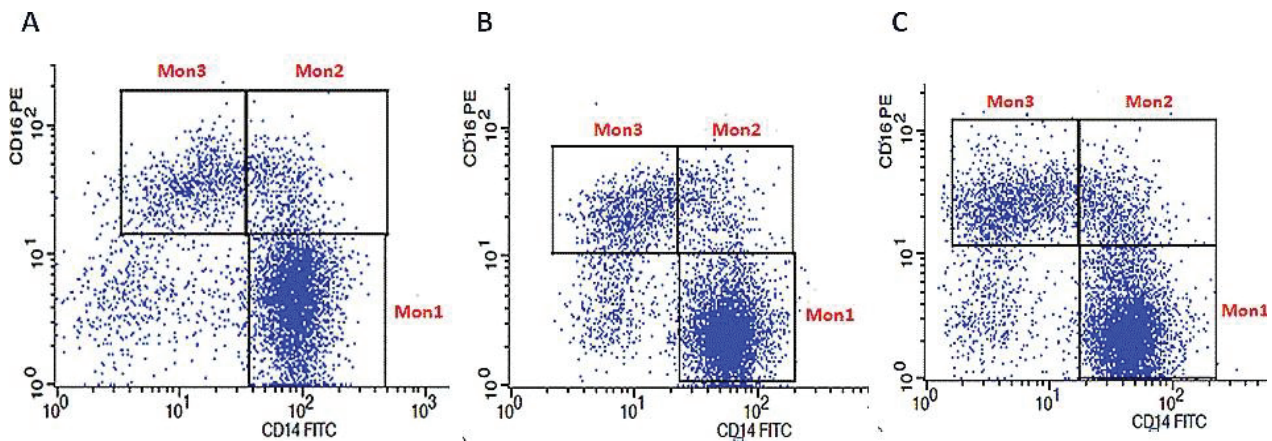
3. Παράγοντες που σχετίζονται με τους υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων στους παχύσαρκους ασθενείς

Στον Πίνακα 4 φαίνεται η θετική συσχέτιση μεταξύ των απόλυτων αριθμών των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων με διάφορες σωματομετρικές και εργαστηριακές παραμέτρους στους παχύσαρκους ασθενείς. Συγκεκριμένα, ο υποπληθυσμός Mon2A

εμφάνισε θετική συσχέτιση με την ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, την nonHDL-C, την απολιποπρωτεΐνη Β (ApoB) του ορού, τη ΣΑΠ, τη ΔΑΠ και τη ΜΑΠ. Ο υποπληθυσμός Mon3A εμφάνισε θετική συσχέτιση με το σωματικό βάρος, την περιφέρεια αυχένα, την ινσουλίνη του ορού, το δείκτη HOMA, την ολική χοληστερόλη, την LDL-C και την nonHDL-C του ορού. Η συσχέτιση του υποπληθυσμού Mon2A με τα τριγλυκερίδια του ορού έπαψε να υφίσταται όταν έγινε στάθμιση ως προς τη ΜΑΠ.

Εφαρμόστηκε backward linear regression analysis για τη μελέτη του Mon2A υποπληθυσμού στους παχύσαρκους ασθενείς, χρησιμοποιώντας ως ανεξάρτητες συνεχείς μεταβλητές την περιφέρεια αυχένα, την ινσουλίνη του ορού, τα τριγλυκερίδια, την χοληστερόλη εκτός HDL-C, τη ΜΑΠ, την hsCRP και την eGFR. Το τελικό μοντέλο περιλάμβανε μόνο τη ΜΑΠ (προτυποποιημένος συντελεστής $\beta = 0,475$, $p = 0,001$) ως ανεξάρτητη παράμετρο, με προσαρμογή $R^2 = 0,208$ και $p = 0,001$ για το μοντέλο.

Ο υποπληθυσμός Mon2Σ εμφάνισε θετική συσχέτιση με τα τριγλυκερίδια του ορού ($r = 0,401$, $p = 0,004$) και την ApoB ($r = 0,508$, $p = 0,002$) ενώ ο υποπληθυσμός Mon3Σ εμφάνισε θετική συσχέτιση με το ΔΜΣ ($r = 0,328$, $p = 0,026$).



Εικόνα 7. Προσδιορισμός των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων με τη βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής σε ένα μεταβολικά υγιές φυσιολογικού σωματικού βάρους άτομο (Α), ένα μεταβολικά υγιές παχύσαρκο άτομο (Β) και ένα μεταβολικά μη υγιές παχύσαρκο άτομο (C), (αντιπροσωπευτικά παραδείγματα). Απεικονίζεται ο κλασικός [Mon1 (κάτω δεξιά)], ο ενδιάμεσος [Mon2 (επάνω δεξιά)] και ο μη κλασικός [Mon3 (επάνω αριστερά)] υποπληθυσμός μονοκυττάρων.

Πίνακας 2. Σύγκριση των κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ ΜΥΦΒ, ΜΥΠ και ΜΜΥΠ και παχύσαρκων συνολικά.

	ΜΥΦΒ(n=25)	Παχύσαρκοι (n=58)	ΜΥΠ (n=25)	ΜΜΥΠ(n=33)	Παχύσαρκοι vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΜΥΠ vs ΜΥΠ (p)
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	(10/15)	(27/31)	(11/14)	16/17)				
Ηλικία (έτη)	38 ± 9	46 ± 11	41 ± 10	49 ± 11	0,001	0,142	< 0,001	0,007
Δείκτης μάζας σώματος (Kg/m ²)	22,1 ± 1,9	38,6 ± 7,1	38,1 ± 6,5	39,0 ± 7,5	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,742
Περιφέρεια μέσης (cm)	81 ± 7	120 ± 13	118 ± 11	121 ± 14	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,976
Γλυκόζη (mg/dL)	85 ± 8	100 ± 19	90 ± 13	106 ± 22	0,005	0,101	< 0,001	0,001
Ινσουλίνη (μIU/mL)	5,2 ± 2,6	16,0 ± 11,3	13,2 ± 10,4	18,3 ± 11,5	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,020
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	197 ± 40	215 ± 40	197 ± 31	224 ± 35	0,709	0,934	0,269	0,246
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	71 (33-131)	129 (53-786)	97 (53-142)	168 (97-786)	0,005	0,456	< 0,001	< 0,001
LDL-C (mg/dL)	123 ± 36	137 ± 35	124 ± 27	143 ± 31	0,817	0,827	0,246	0,807
HDL-C (mg/dL)	57 ± 14	47 ± 10	54 ± 8	43 ± 12	0,001	0,185	< 0,001	< 0,001
ΣΑΠ (mmHg)	113 ± 9	136 ± 20	125 ± 14	142 ± 19	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,004
ΔΑΠ (mmHg)	70 ± 10	86 ± 13	80 ± 12	89 ± 13	< 0,001	0,010	< 0,001	0,057
hsCRP (mg/L)	0,5 (0,2-1,8)	3,1 (0,4-14,8)	3,3 (0,4-9,7)	4 (0,7-14,8)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,184
Ινωδογόνο (mg/dL)	312 (243-457)	372 (127-654)	360 (127-578)	375 (284-654)	< 0,001	0,003	< 0,001	0,032
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,9 (0,8-1,2)	0,9 (0,6-1,4)	1,0 (0,6-1,2)	0,9 (0,7-1,3)	0,294	0,155	0,477	0,897
eGFR(mL/min/1.73m ²)	90 ± 14	70 ± 14	72 ± 15	69 ± 13	< 0,001	0,001	< 0,001	0,834
Ρεζιστίνη (ng/mL)	11,8 (3,5–51,5)	14,0 (5,2 – 43,0)	12,7 (5,4-42,2)	14,3 (5,2-43,0)	0,041	0,671	0,012	0,004
Λευκοκύτταρα (κύτταρα/μL)	6262 ± 1391	7244 ± 1804	6615 ± 1469	7720 ± 1907	0,017	0,246	0,003	0,016
Ουδετερόφιλα (κύτταρα/μL)	3515 ± 1118	4261 ± 1443	3835 ± 1145	4583 ± 1574	0,011	0,135	0,007	0,043
Λεμφοκύτταρα (κύτταρα/μL)	2134 ± 598	2281 ± 553	2155 ± 488	2377 ± 587	0,516	0,836	0,119	0,291
Μονοκύτταρα (κύτταρα/μL)	319 (126–408)	325 (105–977)	284 (179-571)	337 (105-977)	0,618	0,466	0,843	0,798
Ηωσινόφιλα (κύτταρα/μL)	125 (20–430)	145 (20–620)	120 (60-540)	180 (20-620)	0,623	0,374	0,442	0,082
Βασεόφιλα (κύτταρα/μL)	25 (10–90)	30 (10–100)	30 (10-60)	30 (10-100)	0,868	0,832	0,906	0,789

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, για παραμέτρους που ακολουθούν κανονική κατανομή ή διάμεσος (εύρος) για παραμέτρους που ακολουθούν μη κανονική κατανομή. Οι τιμές p με έντονο μαύρο υποδηλώνουν στατιστική σημαντικότητα.

Συνημίες: ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, HDL-C: Χοληστερόλη στην υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, hsCRP: Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDL-C: Χοληστερόλη στη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, ΜΥΦΒ: Μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού βάρους σώματος, ΜΥΠ: Μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι, ΜΜΥΠ: Μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκοι, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση, TC: Ολική χοληστερόλη, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 3. Σύγκριση των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων μεταξύ ΜΥΦΒ, ΜΥΠ και ΜΜΥΠ.

	ΜΥΦΒ (n=25)	ΜΥΠ (n=25)	ΜΜΥΠ (n=33)	Παχύσαρκοι (ΜΥΠ+ ΜΜΥΠ) (n=58)	Παχύσαρκοι vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΜΥΠ vs ΜΥΠ (p)
Μονοκύτταρα (κύτταρα/μL)	319 (126-408)	284 (179-571)	337 (105-977)	325 (105-977)	0,231	0,421	0,209	0,731
Mon1A (κύτταρα/μL)	229 (80-361)	207 (90-465)	236 (68-833)	213 (68-833)	0,952	0,964	0,962	0,914
Mon1Σ (%)	77 (48-89)	71 (41-83)	71 (26-86)	71 (26-86)	0,019	0,068	0,022	0,702
Mon2A (κύτταρα/μL)	21 (10-40)	28 (15-71)	37 (5-107)	32 (5-107)	0,001	0,032	≤ 0,001	0,036
Mon2Σ (%)	7 (3-17)	9 (5-17)	12 (3-28)	10 (3-28)	0,044	0,175	0,033	0,088
Mon3A (κύτταρα/μL)	36 (20-128)	52 (23-226)	67 (10-162)	61 (10-226)	0,017	0,089	0,015	0,498
Mon3Σ (%)	13 (7-43)	17 (10-46)	18 (10-49)	18 (10-49)	0,062	0,123	0,080	0,993

Τα δεδομένα εκφράζονται ως διάμεσος (εύρος). Η τιμή p με έντονο μαύρο δηλώνει στατιστική σημαντικότητα. Οι υποπληθυσμοί μονοκυττάρων Mon2 και Mon3 συγκροτούν τους προφλεγμονώδεις υποπληθυσμούς.

Συντημήσεις: ΜΥΦΒ: Μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού βάρους σώματος, ΜΥΠ: Μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι, ΜΜΥΠ: Μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκοι, Mon1A: Απόλυτος αριθμός του κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, Mon1Σ: Ποσοστό του κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, επι του συνόλου των μονοκυττάρων, Mon2A: Απόλυτος αριθμός του ενδιάμεσου υποπληθυσμού μονοκυττάρων, Mon2Σ: Ποσοστό του ενδιάμεσου υποπληθυσμού των μονοκυττάρων, επι του συνόλου των μονοκυττάρων, Mon3A: Απόλυτος αριθμός του μη κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, Mon3Σ: Ποσοστό του μη κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, επι του συνόλου των μονοκυττάρων.

Πίνακας 4. Συσχέτιση των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (απόλυτοι αριθμοί) με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους στους παχύσαρκους ασθενείς.

	Mon1A		Mon2A		Mon3A	
	R	P	R	P	R	P
Ηλικία	0,220	0,129	0,204	0,160	0,176	0,232
Βάρος σώματος	- 0,062	0,676	0,048	0,742	0,309	0,034
ΔΜΣ	0,018	0,907	- 0,001	0,992	0,139	0,351
Περιφέρεια ισχίων	- 0,030	0,839	0,088	0,546	0,024	0,874
Περιφέρεια μέσης	- 0,132	0,371	- 0,091	0,532	- 0,045	0,766
Περιφέρεια ανχένα	0,231	0,115	0,261	0,073	0,354	0,015
Γλυκόζη	0,053	0,724	0,101	0,496	0,115	0,435
Ινσουλίνη	0,271	0,066	0,276	0,055	0,455	0,002
HbA1c	0,147	0,330	0,199	0,179	0,075	0,620
HOMA	0,224	0,125	0,270	0,058	0,425	0,003
Ολική χοληστερόλη	0,166	0,260	0,323	0,025	0,360	0,013
Τριγλυκερίδια	- 0,011	0,940	0,328	0,023	0,126	0,405
LDL-C	0,189	0,203	0,237	0,113	0,347	0,019
HDL-C	0,062	0,674	- 0,086	0,551	- 0,059	0,692
NonHDL-C	0,144	0,344	0,363	0,014	0,326	0,031
ΑpoA-I	0,164	0,339	0,056	0,745	- 0,132	0,456
ΑpoB	0,187	0,276	0,501	0,002	0,280	0,103
ΣΑΠ	0,114	0,435	0,465	0,001	0,233	0,116
ΔΑΠ	0,041	0,781	0,458	0,001	0,269	0,065
ΜΑΠ	0,151	0,305	0,457	0,001	0,250	0,087
Ουρικό οξύ	0,062	0,684	0,167	0,250	0,252	0,084
hsCRP	- 0,143	0,337	0,241	0,092	0,062	0,681
Κρεατινίνη	0,143	0,332	0,282	0,052	0,277	0,060
eGFR	- 0,211	0,150	- 0,283	0,051	- 0,273	0,060

Οι συσχετίσεις με έντονο μαύρο υποδηλώνουν ότι είναι στατιστικά σημαντικές.

Συντμήσεις: ΑpoA-I: Απολιποπρωτεΐνη A-I, ΑpoB: Απολιποπρωτεΐνη B, ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, eGFR: Εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης, HbA1c: Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, HDL-C: Χοληστερόλη στην λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, HOMA: Homeostasis model assessment, hsCRP: Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDL-C: Χοληστερόλη στην λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, ΜΑΠ: Μέση αρτηριακή πίεση, Mon1A: Απόλυτος αριθμός του κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, Mon2A: Απόλυτος αριθμός του ενδιάμεσου υποπληθυσμού μονοκυττάρων, Mon3A: Απόλυτος αριθμός του μη κλασικού υποπληθυσμού μονοκυττάρων, nonHDL-C: Χοληστερόλη εκτός HDL, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 5. Multiple linear regression analysis στους παχύσαρκους ασθενείς. Ο Mon2A είναι η εξαρτημένη μεταβλητή και η παρουσία ξεχωριστά κάθε παράγοντα του ΜΣ είναι οι ανεξάρτητες διακριτές μεταβλητές.

Ανεξάρτητες μεταβλητές			Μοντέλο	
	Προτυποποιημένος συντελεστής β	P	Τροποποιημένο R^2	P
ΑΠ ($\geq 130/85$ mmHg)	0,352	0,015	0,121	0,041
Gluc (≥ 100 mg/dl)	-0,088	0,522		
TG (≥ 150 mg/dl)	0,209	0,157		
HDL-C ($\text{♂: } < 40$ mg/dl, $\text{♀: } < 50$ mg/dl)	-0,089	0,523		

Η αυξημένη περιφέρεια μέσης, ως παράγοντας του ΜΣ, δεν συμπεριλήφθηκε στις ανεξάρτητες μεταβλητές επειδή όλοι οι παχύσαρκοι ασθενείς ήταν θετικοί γι' αυτόν τον παράγοντα.

Συντμήσεις: ΑΠ: Αυξημένη αρτηριακή πίεση, ως παράγοντας του ΜΣ, Gluc: Αυξημένη γλυκόζη ορού, ως παράγοντας του ΜΣ, HDL: Χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας στον ορό, ως παράγοντας του ΜΣ, Mon2A: Απόλυτος αριθμός ενδιάμεσου υποπληθυσμού μονοκυττάρων, ΜΣ: Μεταβολικό σύνδρομο, TG: Αυξημένα τριγλυκερίδια στον ορό, ως παράγοντας του ΜΣ.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση των κυκλοφορούντων στο αίμα προφλεγμονωδών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων στους ΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ μάρτυρες. Συγκεκριμένα, στους ΜΥΠ ο υποπληθυσμός των μονοκυττάρων Mon2A ήταν αυξημένος και ο Mon3A εμφάνισε τάση για αύξηση. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αύξηση του υποπληθυσμού Mon2A στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ ($p = 0,036$).

ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

1. Μονοκύτταρα και παχυσαρκία

Έχει βρεθεί ότι διάφοροι κλινικοί δείκτες παχυσαρκίας, όπως η κατανομή του λιπώδους ιστού (π.χ λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια μηρού), η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και ο γλυκαιμικός έλεγχος, σχετίζονται ανεξάρτητα με τη διακύμανση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων στο γενικό πληθυσμό [216]. Τα επιδημιολογικά δεδομένα περιγράφουν την ύπαρξη της λευκοκυττάρωσης ως έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου και προγνωστικό δείκτη σχετικά με τη μελλοντική εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων [217].

Στην συγκεκριμένη μελέτη δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση του συνολικού αριθμού των μονοκυττάρων όταν συγκρίθηκαν οι παχύσαρκοι με τους ΜΥΦΒ. Έχει παρατηρηθεί υψηλότερος αριθμός μονοκυττάρων (13-18% επί του συνόλου των λευκών αιμοσφαιρίων) σε υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα συγκριτικά με άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος [218], υψηλότερος επιπολασμός σε άτομα με ΜΣ [219] καθώς και συσχέτιση τους με το ΔΜΣ [220]. Αντιθέτως, άλλες ερευνητικές ομάδες δεν επαλήθευσαν τη συσχέτιση του ΔΜΣ με την αύξηση του ολικού αριθμού των μονοκυττάρων [221].

Παρατηρήθηκε ότι η έκφραση microRNA (miR-) -181a, -181b και -181d, η οποία ήταν μειωμένη στα μονοκύτταρα ασθενών με παθολογική παχυσαρκία σε σύγκριση με άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος, ομαλοποιήθηκε 3 μήνες μετά την επαγόμενη από

βαριατρική επέμβαση απώλεια βάρους [222]. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι τα μονοκύτταρα του αίματος σε καταστάσεις παχυσαρκίας βρίσκονται σε προφλεγμονώδη κατάσταση, με αύξηση του πυρηνικού παράγοντα NF-κB, μείωση του αναστολέα του παράγοντα NF-κB (IkappaB-beta) και αύξηση της μεταγραφής των προφλεγμονωδών γονιδίων που ρυθμίζονται από τον παράγοντα NF-κB [202]. Παράλληλα, στα μονοκύτταρα παχύσαρκων ατόμων εμφανίστηκε αυξημένη βασική καθώς και κατόπιν διέγερσης με λιποπολυσακχαρίδη παραγωγή TNF-α σε σύγκριση με τα μονοκύτταρα ατόμων φυσιολογικού βάρους σώματος [223]. Συνεπώς, δεδομένου του γεγονότος ότι τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα του αίματος αποτελούν πρόδρομα κύτταρα των μακροφάγων του λιπώδους ιστού, ο προσδιορισμός του φαινοτύπου τους μπορεί να βοηθήσει στη διερεύνηση της χαμηλού βαθμού φλεγμονής που συνοδεύει τα μεταβολικά νοσήματα.

2. Μονοκύτταρα και ΜΣ

Στην συγκεκριμένη μελέτη δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση όταν συγκρίθηκε ο συνολικός αριθμός μονοκυττάρων μεταξύ ΜΜΥΠ και ΜΥΠ καθώς και μεταξύ ΜΜΥΠ και ΜΥΦΒ όπως και όταν έγινε σύγκριση μεταξύ ΜΥΠ και ΜΥΦΒ. Έχει αποδειχθεί ότι το ΜΣ θεωρείται μια προφλεγμονώδης κατάσταση για τον οργανισμό. Παρατηρούνται αυξημένες τιμές σε βιοδείκτες που συνδέονται με τη φλεγμονώδη διαδικασία, όπως η CRP, η IL-1b, ο TNF-α, η IL-6, η IL-1, η RBP-4 και η λεπτίνη [224] και μείωση των επιπέδων αδιπονεκτίνης, ομεντίνης-1 και IL-10 [225]. Η πρώτη διαπίστωση της τροποποιημένης δραστηριότητας των μονοκυττάρων σε άτομα με ΜΣ παρουσιάστηκε το 2008 από τον Natal et al. Συγκεκριμένα, σε αυτά τα άτομα παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του λόγου: υποδοχέας CD40/CD40 μεσολαβητής, αλληλεπίδραση που συνδέεται με την προαγωγή της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας [226]. Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση στη λειτουργικότητα, στην επιφανειακή έκφραση και στο mRNA των TLR2 και TLR4 υποδοχέων στα άτομα με ΜΣ, ακόμη και μετά τη στάθμιση ως προς την περιφέρεια μέσης [227].

Στους υποδοχείς των μακροφάγων Fc-g (FcγRs) που συνδέονται με τις ανοσιακές διεργασίες και τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης συμπεριλαμβάνονται οι υποδοχείς FcγRI (CD64), οι FcγRII (CD32) και οι FcγRIII (CD16). Η πρωτεΐνη CRP παρατηρείται αυξημένη σε άτομα με ΜΣ και φαίνεται να σηματοδοτείται μέσω των υποδοχέων Fcγ. Επίσης,

αποδείχθηκε από μελέτες η αυξημένη επιφανειακή έκφραση των δεικτών CD32 και CD64 στα μονοκύτταρα αυτών των ατόμων σε σχέση με άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος, ακόμα και μετά τη στάθμιση ως προς το ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης [228]. Η έκφραση των Fcγ υποδοχέων των μονοκυττάρων αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του αριθμού των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου του ΜΣ και επίσης παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα του φλεγμονώδη δείκτη hsCRP (υψηλής ευαισθησίας CRP).

Η διαμεμβρανική πρωτεΐνη του προστάτη STAMP2, η οποία ανήκει σε μία οικογένεια πρωτεϊνών που ονομάζονται αναγωγάσες, σχετίζεται με το σπλαχνικό λιπώδη ιστό και με τη φυσιολογική μεταβολική ομοιοστασία του οργανισμού. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μειωμένη mRNA έκφραση της πρωτεΐνης STAMP2 στα CD14⁺ μονοκύτταρα ατόμων με ΜΣ. Αυτή η μείωση παρουσίασε αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση με την αθηροσκλήρωση στις καρωτίδες σε αυτούς τους ασθενείς [229].

Συνάμα, σε άτομα με ΜΣ παρατηρήθηκε αυξημένη προθρομβωτική δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα (TF) στα μονοκύτταρα, γεγονός που σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ενδοτοξίνης, CRP, με αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης [230], [231] καθώς και με αυξημένα επίπεδα του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα στις καρωτίδες [232].

Η κινάση που σχετίζεται με τον υποδοχέα ιντερλευκίνης-1 (IRAK3) είναι αναστολέας-κλειδί στη χρόνια φλεγμονώδη διεργασία που μεσολαβεί από την πορεία TLR2/NF-κB και συνδέεται με την προαγωγή του οξειδωτικού στρες και τη σχετιζόμενη με την παχυσαρκία αντίσταση στην ινσουλίνη και το ΜΣ [233]. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σύνδεση μεταξύ της παχυσαρκίας και των μειωμένων τιμών της IRAK3 μέσω των μειωμένων επιπέδων αδιπονεκτίνης. Παράλληλα, παρατηρήθηκε μια αμφίδρομη σχέση μεταξύ των επιπέδων αδιπονεκτίνης και της IRAK3. Συγκεκριμένα, αυξημένα επίπεδα αδιπονεκτίνης απαιτούνται για την αύξηση των επιπέδων της IRAK3 στα μονοκύτταρα και αντιστρόφως η IRAK3 απαιτείται για να μπορέσει να εκφράσει η αδιπονεκτίνη τις αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές της δράσεις. Επίσης, τα επίπεδα της IRAK3 εμφάνισαν μείωση με την έκθεση των μονοκυττάρων σε παράγοντες στρες, όπως στην οξειδωμένη μορφή της LDL-C (ox-LDL-C) [233].

Επιπλέον, παρατηρήθηκαν τρία μόρια micro-RNA (miR-181a, -181b and -181d) ως πιθανοί αρνητικοί ρυθμιστές της πορείας σηματοδότησης TLR/NF-κB, τα οποία εμφάνισαν μειωμένα επίπεδα σε παχύσαρκα άτομα. Στα μονοκύτταρα ατόμων με ΜΣ παρατηρήθηκε μειωμένα επίπεδα μόνο από το μόριο miR-181a, αναδεικνύοντας τον

σημαντικό ρόλο των μορίων micro-RNA στη ρύθμιση της φλεγμονώδους διεργασίας σε άτομα με ΜΣ [222]. Είναι γνωστό ότι το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου σχετίζεται με την αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας, τον ΣΔΤ2 και την προαγωγή της φλεγμονώδους διαδικασίας. Επίσης, το mRNA δεικτών που σχετίζονται με την απόκριση στο ενδοπλασματικό στρες, συμπεριλαμβανομένων της σχετιζόμενης με τη γλυκόζη πρωτεΐνης-78, της πρωτεΐνης C/EBP και της spliced X-box binding protein-1, παρατηρήθηκε αυξημένο στα λευκοκύτταρα ατόμων με ΜΣ [234]. Αυτή η διαπίστωση θα μπορούσε να σχετίζεται με την αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση των μονοκυττάρων στα άτομα με ΜΣ.

Όπως προαναφέρθηκε, το οξειδωτικό στρες στον οργανισμό σχετίζεται με την ανισορροπία μεταξύ των συγκεκριμένων ROS και των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών του οργανισμού και σχετίζεται με την ανάπτυξη αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης και την καρδιαγγειακή νοσηρότητα. Σε καταστάσεις παχυσαρκίας παρατηρείται αύξηση του οξειδωτικού στρες [235] και σε άτομα με ΜΣ παρατηρείται αύξηση σε βιοδείκτες που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, όπως την οξειδωμένη LDL-C, τη νιτροτυροσίνη, την οξειδάση του NADPH καθώς και μειωμένα επίπεδα γλουταθειόνης [236].

Παράλληλα, παρατηρήθηκε σε ασυμπτωματικά άτομα ότι ο συνολικός αριθμός των μονοκυττάρων του αίματος εμφανίζει ισχυρή και ανεξάρτητη συσχέτιση με το συνολικό καρδιαγγειακό κίνδυνο και συγχρόνως παρατηρήθηκαν ανεξάρτητες συσχετίσεις μεταξύ του αριθμού των μονοκυττάρων και διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως την αρτηριακή πίεση, το ΔΜΣ, την περιφέρεια της μέσης, την HDL-C και τα τριγλυκερίδια του ορού [237]. Επίσης, συγκρίνοντας παχύσαρκους διαβητικούς με παχύσαρκους μη διαβητικούς, παρατηρήθηκε στο περιφερικό αίμα της πρώτης ομάδας χαμηλότερη έκφραση mRNA των δεικτών που σχετίζονται με τα μακροφάγα M2, όπως η IL-10, υποδηλώνοντας διασύνδεση μεταξύ των μειωμένων τιμών στους δείκτες M2 και της νοσηρότητας που συσχετίζεται με την παχυσαρκία [238]. Επιπρόσθετα, τα άτομα με ΜΣ εμφάνισαν θετική συσχέτιση με τον προφλεγμονώδη φαινότυπο M1 και αρνητική συσχέτιση με τον φαινότυπο M2 σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ακόμη και μετά τη στάθμιση ως προς την περιφέρεια μέσης. Ο φαινότυπος M1 των μακροφάγων εμφάνισε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα CRP, ενδοτοξίνης, MCP-1 και περιφέρειας μέσης και αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση με τα επίπεδα HDL-C [239].

3. Μονοκύτταρα και αθηροσκλήρωση

Η αθηροσκλήρωση θεωρείται μια κατάσταση διαρκούς φλεγμονής του αρτηριακού τοιχώματος των αγγείων που χαρακτηρίζεται από υποενδοθηλιακή συσσώρευση λιποπρωτεϊνών και ενεργοποίηση του ενδοθηλίου μέσω μετανάστευσης κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στον φλεγμαίνοντα ιστό [240]. Τα μονοκύτταρα συμβάλλουν στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, τόσο μέσω της εγκόλπωσης λιπιδίων στο εσωτερικό τους, οδηγώντας στο σχηματισμό των αφρωδών μακροφάγων, όσο και μέσω της προαγωγής της στρατολόγησης των λευκοκυττάρων στην περιοχή των αθηρωματικών πλακών. Το αποτέλεσμα είναι μια χρόνια εξελικτική διαδικασία που συνδέεται με τον σχηματισμό λιπιδών γραμμώσεων και με την αθηρωμάτωση των αγγείων, οδηγώντας πολλές φορές σε οξεία αθηροθρομβωτικά συμβάματα. Παράλληλα, τα μονοκύτταρα μεταναστεύουν στο λιπώδη ιστό έτσι ώστε να ενεργοποιήσουν τα λιποκύτταρα για την παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως του TNF- α και της IL-6 [180].

Πιο αναλυτικά, η ανάπτυξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας αρχίζει με την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο, διεργασία που συμβαίνει με τη βοήθεια των β 2-ενσωματινών, ετεροδιμερών που αποτελούνται από κοινή υπομονάδα β 2 (CD18) και διαφορετικές α -αλυσίδες (CD11a, CD11b, CD11c και CD11d) [241]. Στα αρχικά στάδια της διαδικασίας της αθηρογένεσης τα μονοκύτταρα που περιέχουν λιπίδια στο εσωτερικό τους μπορεί να εγκαταλείψουν την αθηρωματική πλάκα και να επανέλθουν στην κυκλοφορία. Ωστόσο, κατά τη διεργασία της ωρίμανσης των αθηρωματικών βλαβών παρατηρείται τελικά ακινητοποίηση των μονοκυττάρων. Η εξέλιξη της ανάπτυξης της αθηροσκληρωτικής πλάκας συνδέεται με την ανάπτυξη τοπικά τόσο των μακροφάγων M1 όσο και των M2, τα οποία μπορούν να βρεθούν τόσο σε ασταθείς όσο και σε σταθερές πλάκες. Τα μακροφάγα M1 είναι κατά κύριο λόγο εντοπισμένα σε σημεία ρήξης της αθηροσκληρωτικής πλάκας ενώ τα μακροφάγα M2 τείνουν να διεισδύουν στον έξω χιτώνα των αγγείων [242]. Ως εκ τούτου η ανισορροπία στον λόγο των μακροφάγων M1/M2 μπορεί να συμβάλλει στην εξασθένιση της λύσης της φλεγμονώδους διεργασίας και την επιτάχυνση της ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας.

Εκτός από την προαγωγή της εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας, η υπερχοληστερολαιμία εμποδίζει τη μεταναστευτική απόκριση των μονοκυττάρων στη σηματοδότηση από τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα A (VEGF-A) και την πρωτεΐνη MCP-1, συμβάλλοντας έτσι στην υπονόμηση της διαδικασίας της αρτηριογένεσης

που παρατηρείται στο ισχαιμικό μυοκάρδιο [243]. Επίσης, η υπερχοληστερολαιμία σχετίζεται με τροποποιημένα επίπεδα έκφρασης των μορίων προσκόλλησης στα μονοκύτταρα (αυξημένη έκφραση CD11b και CD14) που πιθανώς να σχετίζονται με την εμφάνιση καθώς και με το βαθμό σοβαρότητας της αθηροσκληρωτικής διεργασίας [244]. Επιπλέον, η αγωγή με στατίνες οδήγησε σε μείωση της έκφρασης στην επιφάνεια των μονοκυττάρων του δείκτη CD11b και σε σημαντική μείωση της προσκόλλητικής ικανότητας των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο [245].

Η μετάπτωση της σταθερής στεφανιαίας νόσου σε οξύ στεφανιαίο σύνδρομο συνδέεται εν μέρει με την κλιμάκωση της φλεγμονώδους διεργασίας, η οποία σχετίζεται με τις δράσεις των μονοκυττάρων. Μετά την έναρξη ενός επεισοδίου οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου παρατηρείται διείσδυση των μονοκυττάρων στην περιοχή του εμφράγματος. Στόχος είναι η επούλωση των κατεστραμμένων ιστών μέσω της απομάκρυνσης των νεκρών ιστών και της αναδιαμόρφωσης της περιοχής του μυοκαρδίου. Σημαντικό ρόλο σε περιπτώσεις ύπαρξης οξέος στεφανιαίου συμβάματος φαίνεται να διαδραματίζει ο σπλήνας που αποτελεί δεξαμενή μονοκυττάρων, τα οποία απελευθερώνονται ταχύτατα στη συστηματική κυκλοφορία. Έχει παρατηρηθεί ότι 40 ± 25 ώρες μετά την εμφάνιση ενός οξέος στεφανιαίου συμβάματος ο αριθμός μονοκυττάρων του αίματος αυξάνεται εντυπωσιακά μέχρι και 885 μονοκύτταρα/ μL ενώ η εμφάνιση 800 μονοκυττάρων/ μL κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας [246].

ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

1. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και παχυσαρκία

Έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη αυξημένων απόλυτων και σχετικών προφλεγμονωδών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων (Mon2 και Mon3) στα παχύσαρκα άτομα σε σχέση με τα υπέρβαρα άτομα και τα άτομα φυσιολογικού βάρους σώματος [221]. Επιπρόσθετα, η απώλεια βάρους σε παχύσαρκους ασθενείς, είτε μέσω βariatρικής χειρουργικής, είτε μέσω δίαιτας, οδήγησε σε μείωση τόσο κατ' απόλυτο αριθμό όσο και κατά ποσοστό επί της % των υποπληθυσμών Mon2 και Mon3 [247]. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η απώλεια βάρους με βariatρική χειρουργική οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση κατ' απόλυτο

αριθμό και ως ποσοστό των υποπληθυσμών Mon3 σε σχέση με τη μείωση που παρατηρήθηκε στους υποπληθυσμούς Mon2 ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της μείωσης της λιπώδους μάζας και της μείωσης του σχετικού υποπληθυσμού Mon3 [247]. Επιπλέον, μετά από βariatρική χειρουργική επέμβαση η μείωση του πάχους του μέσου-έσω χιτώνα των καρωτίδων (IMT), ενός δείκτη που σχετίζεται με την κατάσταση αθηροσκλήρωσης, παρατηρήθηκε ότι συσχετίστηκε θετικά με τη μείωση του υποπληθυσμού Mon2 των μονοκυττάρων [247].

Οι απόλυτοι αριθμοί των Mon2 και Mon3 στην παρούσα μελέτη εμφανίστηκαν αυξημένοι στους παχύσαρκους ασθενείς σε σχέση με τους ΜΥΦΒ, εύρημα που συνάδει με την υπάρχουσα βιβλιογραφία [247]. Επίσης, παρατηρήθηκε στους παχύσαρκους ασθενείς θετική συσχέτιση της περιφέρειας του αυχένα και του σωματικού βάρους με τον υποπληθυσμό Mon3A. Η περιφέρεια του αυχένα χρησιμεύει για τον προσδιορισμό του υποδόριου λίπους στην περιοχή του αυχένα και έχει φανεί ότι συσχετίζεται θετικά τόσο με το ΔΜΣ όσο και με την περιφέρεια της μέσης [248]. Επιπλέον, φάνηκε για πρώτη φορά ότι ο απόλυτος αριθμός των κυκλοφορούντων προφλεγμονωδών μονοκυττάρων Mon2A ήταν υψηλότερος στους ΜΥΠ σε σύγκριση με τους ΜΥΦΒ. Η εμφάνιση της συστηματικής χαμηλής έκτασης φλεγμονής υποδηλώνει ότι η «μεταβολικά υγιής» παχυσαρκία δεν είναι μια εντελώς αθώα κατάσταση [74]. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η κατάσταση της χρόνιας συστηματικής φλεγμονής εμφανίζει σχέση αιτιότητας με την αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας, τα παραπάνω ευρήματα είναι σε πλήρη αντιστοιχία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία που υποστηρίζει την ύπαρξη αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου στα ΜΥΠ άτομα σε σχέση με τα ΜΥΦΒ άτομα [249].

Παράλληλα, τα κυκλοφορούντα CD16⁺ μονοκύτταρα έχει παρατηρηθεί ότι εμφανίζουν θετική συσχέτιση με το σπλαχνικό λίπος, υπολογιζόμενο ως αυξημένη περιφέρεια μέσης και με την εμφάνιση μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος που θεωρείται έκτοπη εναπόθεση λίπους στον ανθρώπινο οργανισμό [197]. Στους παχύσαρκους της παρούσας μελέτης η έλλειψη θετικής συσχέτισης της περιφέρειας μέσης με τους υποπληθυσμούς μονοκυττάρων Mon2A και Mon3A μπορεί να εξηγηθεί από την ύπαρξη στενού εύρους όσον αφορά τον ΔΜΣ αυτών των ατόμων. Αντιθέτως, προηγούμενες μελέτες που εμφάνισαν θετική συσχέτιση της περιφέρειας μέσης με τους υποπληθυσμούς Mon2A και Mon3A μελέτησαν μικτό πληθυσμό από άτομα φυσιολογικού σωματικού βάρους, υπέρβαρους και παχύσαρκους [197].

Η συγκεκριμένη μελέτη ρίχνει φως στη σύγκριση των φαινοτύπων των μονοκυττάρων μεταξύ των ΜΜΥΠ και των ΜΥΠ καλύπτοντας ένα κενό στη βιβλιογραφία και αναδεικνύοντας τις διαφορές. Το γεγονός ότι ο υποπληθυσμός Mon2A εμφανίστηκε αυξημένος στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ υποδηλώνει ότι η σχετιζόμενη με την παχυσαρκία χαμηλής έκτασης συστηματική φλεγμονή μπορεί να αυξηθεί με την ύπαρξη επιπρόσθετων καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου, οι οποίοι απαρτίζουν τον ορισμό του ΜΣ [206].

Μεταξύ των διαφόρων καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου η αυξημένη αρτηριακή πίεση και σε λιγότερη έκταση η αύξηση των τριγλυκεριδίων του ορού μπορούν να συσχετιστούν ανεξάρτητα με την αύξηση του αριθμού των προφλεγμονωδών μονοκυττάρων Mon2A στους παχύσαρκους ασθενείς. Τα συγκεκριμένα ευρήματα βρίσκονται σε πλήρη αντιστοιχία με την ανάλυση των συσχετίσεων της παρούσας μελέτης που ανέδειξε συσχέτιση του υποπληθυσμού Mon2A με τη μέση αρτηριακή πίεση και τα τριγλυκερίδια του ορού. Είναι αξιοσημείωτο ότι τόσο ο υποπληθυσμός Mon2A όσο και ο Mon3A παρατηρήθηκαν αυξημένοι στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Λαμβάνοντας υπόψιν την επικρατούσα αντίληψη ότι η «μεταβολικά υγιής» κατάσταση παχυσαρκίας αντιπροσωπεύει ένα πρώιμο στάδιο στην εξέλιξη της παχυσαρκίας, τα προαναφερθέντα ευρήματα πιθανώς υποδηλώνουν ότι η αύξηση των προφλεγμονωδών υποπληθυσμών Mon2 και Mon3 των μονοκυττάρων συμβαίνουν στα πρώιμα στάδια ενώ η περαιτέρω αύξηση του υποπληθυσμού Mon2 μπορεί να προκύψει σε πιο προχωρημένα στάδια όσον αφορά τις μεταβολικές επιπλοκές της παχυσαρκίας.

2. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και ΜΣ

Έχουν πραγματοποιηθεί 3 μελέτες σε άτομα με ΜΣ σχετικά με τους 3 υποπληθυσμούς των μονοκυττάρων. Στην πρώτη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση του Mon2A στα άτομα με ΜΣ σε σύγκριση με άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του ΜΣ [250]. Στην δεύτερη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση του Mon3A στα άτομα με ΜΣ σε σχέση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του ΜΣ [251]. Στην τρίτη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση του Mon3Σ υποπληθυσμού μονοκυττάρων στα άτομα με ΜΣ [252]. Στους περιορισμούς αυτών των μελετών ήταν ο μικρός αριθμός των ατόμων που έλαβαν μέρος (στην πρώτη 6 άτομα με ΜΣ, στη δεύτερη 11 άτομα με ΜΣ και στην τρίτη 44 άτομα με ΜΣ). Επίσης, τα άτομα

με ΜΣ (παχύσαρκοι αλλά και υπέρβαροι) είχαν πολύ μεγαλύτερο ΔΜΣ συγκριτικά με τα άτομα που δεν είχαν ΜΣ (παχύσαρκοι, υπέρβαροι και άτομα φυσιολογικού βάρους) με αποτέλεσμα να υπεισέρχεται ο συγχυτικός παράγοντας της παχυσαρκίας σχετικά με τον προσδιορισμό των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων.

3. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αντίσταση στην ινσουλίνη

Πρόσφατα φάνηκε θετική συσχέτιση του κλασικού υποπληθυσμού των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος και του CD11c⁺ υποπληθυσμού των μακροφάγων M1 στο σπλαγγικό λιπώδη ιστό παχύσαρκων ατόμων [189]. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η ενεργοποίηση των πυρηνικών υποδοχέων PPAR-γ οδηγεί τα μονοκύτταρα να διαφοροποιηθούν προς την κατεύθυνση των μακροφάγων που φέρουν τον αντιφλεγμονώδη φαινότυπο M2 [253]. Παράλληλα, σε ευγλυκαιμικά παχύσαρκα άτομα παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ των κυκλοφορούντων CD16⁺ μονοκυττάρων και των μακροφάγων που βρίσκονταν στον υποδόριο λιπώδη ιστό (CD68⁺ κύτταρα) υποδηλώνοντας ότι συγκεκριμένοι υποπληθυσμοί μονοκυττάρων πιθανώς να αποτελούν δείκτες για την κατάσταση φλεγμονής στο λιπώδη ιστό [254].

Στους παχύσαρκους ασθενείς της μελέτης παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση του δείκτη HOMA με τον υποπληθυσμό Mon3 και τάση για θετική συσχέτιση με τον υποπληθυσμό Mon2. Επίσης, στους ίδιους ασθενείς δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ των υποπληθυσμών των μονοκυττάρων με τα επίπεδα της γλυκόζης ορού, υπολογιζόμενα είτε ως συνεχείς είτε ως διακριτές μεταβλητές (φυσιολογική γλυκόζη νηστείας, διαταραχή γλυκόζης νηστείας και ΣΔΤ2).

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας εμφανίζει αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τη διαφοροποίηση των σχετικών και απόλυτων υποπληθυσμών των μονοκυττάρων σε άτομα με ΣΔΤ2 και σε μη διαβητικά άτομα [247,255,256]. Ωστόσο, η πλειονότητα των σχετικών μελετών περιλάμβανε ασθενείς με ΣΔΤ2 που είχαν λάβει αντιδιαβητικά φάρμακα, γεγονός που μπορεί να έχει επηρεάσει τα αποτελέσματα. Περαιτέρω καλά σχεδιασμένες μελέτες με μεγάλο αριθμό συμμετεχόντων και χωρίς τη χρήση αντιδιαβητικών φαρμάκων είναι απαραίτητες για να διασαφηνιστεί εάν ο φαινότυπος των μονοκυττάρων ρυθμίζεται διαφορετικά σε καταστάσεις αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης.

4. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αρτηριακή πίεση

Στους παχύσαρκους ασθενείς παρατηρήθηκε ότι η μέση αρτηριακή πίεση εμφάνισε θετική συσχέτιση με τον υποπληθυσμό Mon2A και τάση για συσχέτιση με τον υποπληθυσμό Mon3A, εύρημα που είναι σε αντιστοιχία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία [257,258].

Διάφορες μελέτες έχουν εμφανίσει αύξηση των προφλεγμονωδών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων Mon2 και Mon3 με την αύξηση της μέσης αρτηριακής πίεσης [221], [257], [258]. Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι η αυξημένη πρόσληψη άλατος επάγει την πρόκληση υποξίας στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό [259]. Υπάρχει η πιθανότητα της επαγόμενης από την αρτηριακή υπέρταση μετατροπή των υποπληθυσμών Mon1 και Mon3 των μονοκυττάρων σε Mon2, όπως παρατηρείται από την αύξηση του σχετικού υποπληθυσμού Mon2 και τη μείωση των σχετικών υποπληθυσμών Mon1 και Mon3 μετά την εφαρμογή δίαιτας αυξημένης περιεκτικότητας σε αλάτι. Αυτή η ρύθμιση φαίνεται να εξαρτάται από τις δραστικές μορφές οξυγόνου [260]. Ο κρίσιμος παράγοντας αυτής της ρύθμισης είναι πιθανώς η στιγμιαία υψηλή αρτηριακή πίεση *per se* και όχι η ύπαρξη αρτηριακής υπέρτασης ως διάγνωση. Αυτό αποδεικνύεται από την εύρεση αυξημένου του σχετικού υποπληθυσμού Mon2 σε ασθενείς με ανεπαρκώς ελεγχόμενη αρτηριακή πίεση σε σύγκριση με τους ασθενείς με καλά ρυθμιζόμενη αρτηριακή πίεση [257].

Η σημασία του ρόλου των μονοκυττάρων στην υπέρταση αποδεικνύεται περαιτέρω από το γεγονός ότι εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ACE), το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση του οξειδωτικού στρες, στην παραγωγή κυτταροκινών και στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο σε σύγκριση με τους άλλους υποπληθυσμούς των λευκών αιμοσφαιρίων [261].

5. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και λιποπρωτεΐνες

Όσον αφορά τη συσχέτιση του φαινότυπου των μονοκυττάρων με τις λιποπρωτεΐνες, παρόλο που υπάρχει διχογνωμία στη βιβλιογραφία, αρκετές μελέτες έχουν εμφανίσει την ύπαρξη σχέσης, ειδικά σε μικτούς πληθυσμούς παχύσαρκων και μη παχύσαρκων ατόμων [197], [262], [263]. Ένα σημαντικό μεθοδολογικό μειονέκτημα των μελετών που διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ της LDL-C και των κυκλοφορούντων υποπληθυσμών των μονοκυττάρων ήταν ότι μεγάλο ποσοστό των συμμετεχόντων ελάμβανε στατίνες που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν το φαινότυπο των μονοκυττάρων [264].

Η συσχέτιση της LDL-C με τους προφλεγμονώδεις υποπληθυσμούς Mon2A και Mon3A (CD16⁺ μονοκύτταρα) πιθανώς να είναι αιτιακή. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση στην έκφραση του δείκτη CD16 και μείωση στην έκφραση του δείκτη CD14 στα μονοκύτταρα που εκτέθηκαν σε LDL-C για 48 ώρες [265]. Επιπλέον, οι ασθενείς με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία εμφάνισαν υψηλότερους σχετικούς υποπληθυσμούς Mon2 και Mon3 σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες [266]. Μια πιθανή εξήγηση για αυτά τα ευρήματα είναι ότι η LDL-C μπορεί να επάγει τη μετατροπή του Mon1 στους υποπληθυσμούς Mon2 και Mon3, οι οποίοι εμφανίζουν μεγαλύτερη έκφραση του δείκτη CD16 και μικρότερη έκφραση του δείκτη CD14.

Στη συγκεκριμένη μελέτη αναδείχθηκε η θετική συσχέτιση μεταξύ του υποπληθυσμού των μονοκυττάρων Mon2A και των επιπέδων των τριγλυκεριδίων στον ορό των παχύσαρκων ασθενών. Η βιβλιογραφία εμφανίζει αλληλοσυγκρουόμενα αποτελέσματα όσον αφορά τη συσχέτιση του Mon2A υποπληθυσμού των μονοκυττάρων και των τριγλυκεριδίων του ορού [197,247,215]. Η θετική αυτή συσχέτιση στη δική μας μελέτη θα μπορούσε να αποδοθεί στην ενεργοποίηση που εμφανίζουν τα μονοκύτταρα Mon2 από τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού. Συγκεκριμένα, σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία παρατηρήθηκε ότι τόσο ο υποπληθυσμός Mon2A όσο και ο Mon2Σ αυξήθηκαν 6 ώρες μετά την κατανάλωση λιπαρού γεύματος και μειώθηκαν 14 ημέρες μετά την θεραπεία με n-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα [267]. Το μεταβολικό μονοπάτι μέσω του οποίου τα τριγλυκερίδια του ορού επηρεάζουν τον υποπληθυσμό Mon2 των μονοκυττάρων δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί.

6. Υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και αθηροσκλήρωση

Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο, μια κατάσταση με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης επιπλοκών σχετικών με την αθηροσκλήρωση, παρατηρείται αύξηση του απόλυτου αριθμού κυττάρων στους υποπληθυσμούς Mon2 και Mon3 [268]. Τα μονοκύτταρα διαθέτουν εξαιρετική πλαστικότητα καθώς και την ικανότητα να διαφοροποιούνται ανάλογα με τις αλλαγές του μικροπεριβάλλοντος. Ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ασταθή στηθάγχη, οξεία καρδιακή ανεπάρκεια, κοιλιακό ανεύρυσμα και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο εμφάνισαν αυξημένο τον υποπληθυσμό Mon2 ενώ ο υποπληθυσμός Mon3 δεν μεταβλήθηκε [198]. Επίσης, ο υποπληθυσμός Mon2 συσχετίστηκε ανεξάρτητα με την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε στεφανιογραφία καθώς και σε ασθενείς που έπασχαν από χρόνια νεφρική νόσο σε αντίθεση με τον υποπληθυσμό Mon3 [197,269].

ΜΕΡΟΣ Β

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα λόγω του αυξημένου κινδύνου εμφάνισης μεταβολικών επιπλοκών, καρδιαγγειακής νοσηρότητας και διαφόρων μορφών καρκίνου [204]. Παρόλα αυτά, έχει παρατηρηθεί μειωμένος κίνδυνος για στεφανιαία νόσο στους ΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΜΥΠ [74]. Κατά τη διάρκεια της χρόνιας χαμηλής έκτασης φλεγμονής που σχετίζεται με την παχυσαρκία η διήθηση του λιπώδους ιστού από μακροφάγα οδηγεί σε παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και συμβάλλει στην εξέλιξη των μεταβολικών επιπλοκών [204]. Στους ΜΥΠ έχει παρατηρηθεί ένα λιγότερο προφλεγμονώδες προφίλ [206]. Αντιθέτως, η παχυσαρκία σε μεταβολικώς υγιή άτομα πιθανώς να αποτελεί μια όχι εντελώς αθώα κατάσταση επειδή έχει παρατηρηθεί ότι και αυτά τα άτομα εμφανίζουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με τους ΜΥΦΒ [74].

Η ανθρώπινη ρεζιστίνη είναι μια πρωτεΐνη MB 12.5-kDa πλούσια σε κυστεΐνη που εκκρίνεται από τα ουδετερόφιλα, από το σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων και σε μικρότερη έκταση από τον λιπώδη ιστό [122]. Αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης έχει παρατηρηθεί ότι σχετίζονται με αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα. Η ρεζιστίνη εμφανίζει προφλεγμονώδεις ιδιότητες μέσω της αύξησης της IL-6 και του TNF-α [123]. Επίσης, αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης έχουν παρατηρηθεί σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως λοιμώξεις, ρευματοειδής αρθρίτιδα και φλεγμονώδης νόσος του εντέρου [123]. Συνεπώς, η ρεζιστίνη έχει αναδυθεί ως ένα νέος δείκτης χαμηλής έκτασης φλεγμονής που μπορεί να παρατηρηθεί στην παχυσαρκία και το ΜΣ [124].

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μελέτης ήταν: α) η εξέταση των επιπέδων ρεζιστίνης στους παχύσαρκους με και χωρίς ΜΣ όπως και στους ΜΥΦΒ, β) η διερεύνηση του ρόλου των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων ως πιθανών ρυθμιστών της ρεζιστίνης του ορού και γ) η διερεύνηση της υπόθεσης ότι η ρεζιστίνη του ορού, η οποία εκκρίνεται από τα λευκά αιμοσφαίρια, σχετίζεται με την χαμηλής έκτασης φλεγμονή που παρατηρείται στην παχυσαρκία.

ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος 83 ενήλικα άτομα, ηλικίας 20 έως 67 ετών (37 άντρες και 46 γυναίκες). Απ' αυτούς, οι 25 είχαν φυσιολογικό βάρος σώματος (10 άνδρες και 15 γυναίκες). Οι παχύσαρκοι ήταν 58, εκ των οποίων 25 ήταν ΜΥΠ (11 άνδρες και 14 γυναίκες) και 33 είχαν ΜΣ (16 άνδρες και 17 γυναίκες).

Η λήψη λεπτομερούς ιστορικού και η φυσική εξέταση πραγματοποιήθηκαν στα εξωτερικά ιατρεία της Ενδοκρινολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Η μέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών περιλάμβανε την εκτίμηση του ύψους, του σωματικού βάρους, της περιφέρειας της μέσης, της περιφέρειας των ισχίων και της περιφέρειας του αυχένα.

Η λήψη των δειγμάτων αίματος από περιφερική φλέβα πραγματοποιήθηκε πρωινές ώρες, μετά από τουλάχιστον 10 ώρες νηστεία. Παράλληλα, δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν στους -80°C προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές μετρήσεις.

Η αρτηριακή πίεση στο ιατρείο (ΑΠ) μετρήθηκε με υδραργυρικό σφυγμομανόμετρο, μετά από 5 λεπτά ανάπαυσης, με το άτομο να κάθεται άνετα και ο βραχίονας να στηρίζεται ευρισκόμενος στο επίπεδο της καρδιάς. Συνολικά διεξήχθησαν 3 μετρήσεις αρτηριακής πίεσης σε κάθε άτομο, με μεσοδιάστημα 3 λεπτών μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων. Η μέση τιμή των 2 τελευταίων μετρήσεων καταγράφηκε ως η αρτηριακή πίεση των συμμετεχόντων. Η μέση τιμή της αρτηριακής πίεσης (ΜΑΠ) υπολογίστηκε από τον τύπο $[\Sigma\text{ΑΠ} + (2 \times \Delta\text{ΑΠ})] / 3$ [203].

Ως ενεργοί καπνιστές ορίστηκαν εκείνοι οι ασθενείς που κάπνιζαν την περίοδο συμμετοχής τους στη μελέτη ή είχαν σταματήσει να καπνίζουν λιγότερο από ένα μήνα πριν τη διεξαγωγή της μέτρησης. Σύμφωνα με τα επίπεδα γλυκόζης ορού νηστείας οι συμμετέχοντες στη μελέτη ταξινομήθηκαν σε μία από τις ακόλουθες 3 κατηγορίες: Φυσιολογική τιμή γλυκόζης νηστείας (ΦΓΝ) με τιμές γλυκόζης ορού $< 100\text{ mg/dL}$, διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (ΔΓΝ) με τιμές γλυκόζης ορού νηστείας $\geq 100\text{ mg/dL}$ και $< 126\text{ mg/dL}$ και ΣΔΤ2 με τιμές γλυκόζης ορού $\geq 126\text{ mg/dL}$.

Η συγκεκριμένη μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τη διακήρυξη του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού

Νοσοκομείου Ιωαννίνων (clinical trial registration number:NCT03241394). Επίσης, πραγματοποιήθηκε ενημέρωση των συμμετεχόντων σχετικά με τον σκοπό της μελέτης στην οποία θα ελάμβαναν μέρος και δόθηκε η έγγραφη συγκατάθεση τους.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ

1. Πρώτη ομάδα

33 παχύσαρκοι (16 άνδρες και 17 γυναίκες) με $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ που να πληρούν τα κριτήρια του ΜΣ τα οποία όρισε το 2005 η Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρεία και το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος (American Heart Association/National Heart Lung and Blood Institute ή AHA/NHLBI) (ΜΜΥΠ), δηλαδή να έχουν 3 ή περισσότερους από τους εξής καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου:

- ✓ Γλυκόζη νηστείας $\geq 100 \text{ mg/dL}$.
- ✓ Τριγλυκερίδια $\geq 150 \text{ mg/dL}$.
- ✓ HDL-C $< 40 \text{ mg/dL}$ στους άντρες και $< 50 \text{ mg/dL}$ στις γυναίκες.
- ✓ Συστολική αρτηριακή πίεση $\geq 130 \text{ mmHg}$ ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση $\geq 85 \text{ mmHg}$.
- ✓ Περιφέρεια μέσης $\geq 102 \text{ cm}$ στους άντρες και $\geq 88 \text{ cm}$ στις γυναίκες [47].

2. Δεύτερη ομάδα

25 παχύσαρκα άτομα (11 άνδρες και 14 γυναίκες) με εμφάνιση λιγότερων από 3 καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου έτσι ώστε να μην πληρούν τα κριτήρια του ΜΣ (ΜΥΠ).

3. Τρίτη ομάδα

25 άτομα (10 άνδρες και 15 γυναίκες) με φυσιολογικό BMI ($18,5 - 25 \text{ Kg/m}^2$) και χωρίς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου (ΜΥΦΒ).

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

- Ηλικία < 20 και > 67 ετών.
- Κύηση.
- Λήψη υπολιπιδαιμικών, αντιδιαβητικών, αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, όπως μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών ή κορτιζόνης και γενικώς φαρμάκων που μπορούν να επηρεάσουν τον φαινότυπο των μονοκυττάρων.
- Ηπατική νόσος και χολόσταση.
- Νεφρική νόσος (κρεατινίνη ορού > 1.5 mg/ dL ή λεύκωμα ούρων > 300 mg/ 24h).
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1.
- Νεοπλασία.
- Καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου NYHA III ή IV.
- Μη ευθυρεοειδική κατάσταση.
- Κατάσταση stress (σοβαρό τραύμα, έγκαιμα, μετεγχειρητική περίοδο).
- Λοιμώξεις και καταστάσεις αυτοανοσίας.
- Έως 6 μήνες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.
- Οξεία αφυδάτωση ή η μεταβολή του σωματικού βάρους πάνω από 5% τους τελευταίους 3 μήνες.

ΜΕΘΟΔΟΙ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ

Το αιματολογικό προφίλ των ασθενών περιλάμβανε τον προσδιορισμό του ολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποπληθυσμών τους και πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας έναν αυτοματοποιημένο μετρητή αίματος (Sysmex XE-2100). Οι βιοχημικές παράμετροι του ορού προσδιορίστηκαν με τη χρήση τυποποιημένων εργαστηριακών μεθόδων. Η ολική χοληστερόλη (TC), η χοληστερόλη της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL-C) και τα τριγλυκερίδια (TRG) του ορού προσδιορίστηκαν με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο και τη χρήση του αναλυτή RA-1000 (Technicon Instruments NY, USA). Η χοληστερόλη της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση Friedewald

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{TRG} / 5) \text{ [209].}$$

Η χοληστερόλη που βρίσκεται εκτός της HDL (non-HDL) υπολογίστηκε ως ίση με (TC-HDL-C). Η απολιποπρωτεΐνη Β (ApoB) μετρήθηκε με τη μέθοδο της ανοσονεφελομετρίας και τη βοήθεια του αναλυτή Beckman (Beckman Instruments CA, USA).

Η κρεατινίνη του ορού και των ούρων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Jaffe και τη βοήθεια του αναλυτή Olympus (Olympus Diagnostica GmbH, Ireland). Για τον υπολογισμό του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR) χρησιμοποιήθηκε ο τύπος CKD-EPI (Chronic kidney disease epidemiology Collaboration) [210]. Η επιφάνεια του σώματος (BSA) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο $\text{BSA} = 0,007184 \times \text{βάρους σώματος}^{0,425} \times \text{ύψους}^{0,725}$ (BSA σε m², βάρος σώματος σε kg και ύψος σε cm) [211]. Η συγκέντρωση της γλυκόζης του ορού μετρήθηκε με την ενζυμική μέθοδο και η ινσουλίνη του ορού με τη μέθοδο της ραδιοανοσομετρίας. Ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA (homeostatic model assessment) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο: $\text{HOMA} = \text{ινσουλίνη νηστείας (}\mu\text{IU/dL)} \times \text{γλυκόζη νηστείας (mg/dl)} / 405$ [212].

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Με την βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής είναι δυνατός ο προσδιορισμός των τριών υποπληθυσμών μονοκυττάρων ανάλογα με τα διαφορετικά επίπεδα έκφρασης του λιποπολυσακχαριτιδικού υποδοχέα CD14 και του FcγIII υποδοχέα CD16. Ο κυριότερος υποπληθυσμός μονοκυττάρων εκφράζει υψηλά επίπεδα CD14 αλλά όχι CD16 (CD14⁺ + CD16⁻) και αναφέρεται ως κλασικός (Mon1), ενώ οι άλλοι δυο υποπληθυσμοί εκφράζουν τον δείκτη CD16 και αναφέρονται ως ενδιάμεσος (Mon2 ή CD14⁺ + CD16⁺) και μη κλασικός (Mon3 ή CD14⁺ CD16⁺). Τα CD16⁺ μονοκύτταρα, δηλαδή οι Mon2 και Mon3 υποπληθυσμοί, εμφανίζουν φαινότυπο που προσομοιάζει με τα μακροφάγα με ενισχυμένες αντιγονοπαρουσιαστικές δυνατότητες, συνδέονται με το ενδοθήλιο και αποτελούν ισχυρούς παραγωγούς προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως του TNF-α. Υπολογίστηκε ο απόλυτος αριθμός των τριών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων. Λεπτομέρειες της μεθόδου έχουν αναφερθεί στις σελίδες 84-91.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΡΕΖΙΣΤΙΝΗΣ

1. Βασικές αρχές της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ρεζιστίνης στον ορό πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια της ανοσοενζυμικής μέθοδου [enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)] της εταιρείας R&D-systems. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε το πακέτο αντιδραστηρίων Human Resistin Quantikine ELISA Kit, της συγκεκριμένης εταιρείας. Εφαρμόστηκε η τεχνική της ποσοτικής ενζυμοσύνδετης ανοσοδοκιμασίας τύπου sandwich (η προς ανάλυση ουσία θα παγιδευτεί από δύο διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα, ειδικά για αυτήν), ξεκινώντας με μια μικροπλάκα 96 φρεατίων η οποία ήταν προεπιστρωμένη με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για την ανθρώπινη ρεζιστίνη. Στη συνέχεια, τα πρότυπα και τα δείγματα των ασθενών τοποθετήθηκαν σε φρεάτια της μικροπλάκας με την χρήση σιφωνίου και οποιαδήποτε ποσότητα ρεζιστίνης ήταν παρούσα δεσμεύτηκε από το ακινητοποιημένο αντίσωμα.

Ακολούθησε πλύση του δείγματος με διάλυμα έκπλυσης για την απομάκρυνση των μη συνδεδεμένων ουσιών και στη συνέχεια προστέθηκε ένα δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα εξειδικευμένο για την ανθρώπινη ρεζιστίνη, το οποίο ήταν ομοιοπολικά

συνδεδεμένο με το ένζυμο υπεροξειδάση χρένου. Ακολούθησε εκ νέου πλύση, προστέθηκε ένα διάλυμα υποστρώματος και εμφανίστηκε χρώμα στα φρεάτια (μετατροπή από μπλε σε κίτρινο) σε αναλογία με την ποσότητα της ρεζιστίνης που είχε δεσμευτεί στο αρχικό στάδιο. Η ανάπτυξη του χρώματος διακόπηκε και η ένταση του χρώματος υπολογίστηκε και μετρήθηκε σε ειδικό φασματοφωτόμετρο. Συγκεκριμένα, με την βοήθεια αυτού του οργάνου μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα [optical density] του έγχρωμου προϊόντος, από την οποία με χρησιμοποίηση πρότυπης καμπύλης, που προέκυψε από τις τιμές απορρόφησης των δικών μας πρότυπων δειγμάτων, υπολογίστηκε η συγκέντρωση της ρεζιστίνης στα δείγματα των ορών (Εικόνα 9). Τα δείγματα ορού ή πλάσματος (ανάλογα με την περίπτωση) για την διενέργεια της μέτρησης απαιτήσαν αραίωση 1:5. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 60 μL δείγματος και 240 μL από το διάλυμα αραίωσης Calibrator RD5K, που παρέχει το πακέτο αντιδραστηρίων.

2. Χρησιμοποιούμενα υλικά

Για τη μέτρηση της ρεζιστίνης με τη μέθοδο της ELISA σε όλα τα δείγματα του ορού που είχαν φυλαχθεί στους -80°C χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικά διαθέσιμο πακέτο αντιδραστηρίων της R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA. Συνολικά, τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- Μικροπλάκες 96 φρεατίων από πολυστυρόλιο επικαλυμμένες με μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για την ανθρώπινη ρεζιστίνη.
- Λυοφιλοποιημένη, ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ρεζιστίνη σε πρωτεϊνούχο ρυθμιστικό διάλυμα με συντηρητικό (πρότυπο ανθρώπινης ρεζιστίνης).
- Φιαλίδιο 21 mL μονοκλωνικού αντισώματος ειδικού για την ανθρώπινη ρεζιστίνη συζευγμένο με υπεροξειδάση από χρένο με συντηρητικά.
- Φιαλίδιο 11mL ρυθμιστικού διαλύματος πρωτεΐνης με συντηρητικά (Διαλύτης προσδιορισμού RD1-19).
- Φιαλίδιο 21mL πρωτεϊνούχου ρυθμιστικού διαλύματος με συντηρητικά (Διαλύτης βαθμονόμησης RD5K).
- Φιαλίδιο 21mL συμπυκνωμένου ρυθμιστικού διαλύματος με συντηρητικά (Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης).

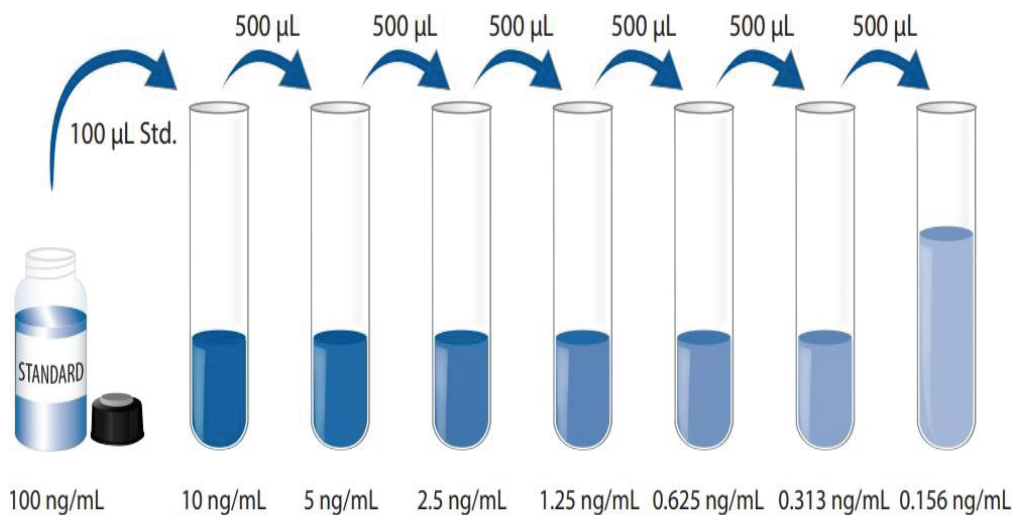
- Φιαλίδιο 12 mL υπεροξειδίου του υδρογόνου (Αντιδραστήριο χρώματος Α).
- Φιαλίδιο 12 mL χρωμογόνου (τετραμεθυλοβενζιδίνη), (Αντιδραστήριο χρώματος Β).
- Φιαλίδιο 6 mL που περιέχει 2N θειϊκού οξέος (Διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης).
- Πλάκες στεγανοποίησης.
- Ειδικό φασματοφωτόμετρο μικροπλακιδίων ικανό να μετρήσει την απορρόφηση στα 450 nm, με τη διόρθωση του μήκος κύματος (ρύθμιση μικροδιαφορών στον όγκο, σκέδαση φωτός κλπ) να βρίσκεται ρυθμισμένη στα 540 nm ή στα 570 nm (90-120 nm μακριά από το μήκος κύματος απορρόφησης του υποστρώματος).
- Σιφόνια και ρύγχοι σιφωνίων.
- Απεσταγμένο νερό.
- Βαθμονομημένος ογκομετρικός κύλινδρος 500 mL.
- Δοκιμαστικοί σωλήνες για την αραίωση των προτύπων και των δειγμάτων.

3. Διαδικασία παρασκευής του αντιδραστηρίου

Πριν τη χρήση τους όλα τα αντιδραστήρια βρίσκονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

- Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης: Προστέθηκαν 20 mL του συμπυκνωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε απεσταγμένο νερό για την παρασκευή 500 mL του αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης.
- Διάλυμα του υποστρώματος: Πραγματοποιήθηκε ανάμειξη ίσων ποσοτήτων των αντιδραστηρίων χρώματος Α και Β σε σκοτεινό περιβάλλον. Χρησιμοποιήθηκαν 200 μ L του μίγματος ανά σωληνίσκο.
- Πρότυπο ανθρώπινης ρεζιστίνης: Πραγματοποιήθηκε ανασύσταση του προτύπου της ανθρώπινης ρεζιστίνης με τη βοήθεια απεσταγμένου νερού. Αυτή η ανασύσταση οδήγησε στη δημιουργία ενός διαλύματος ρεζιστίνης συγκέντρωσης 100 ng/mL. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100 μ L από το πρότυπο διάλυμα ρεζιστίνης στον σωληνίσκο για συγκέντρωση ρεζιστίνης 10 ng/mL. Με τη χρήση σιφωνίου έγινε προσθήκη 900 μ L του αραιωτικού διαλύματος RD5K [το αραιωτικό διάλυμα RD5K χρησίμευσε ως το σημείο αναφοράς (0 ng/mL)] στον σωληνίσκο των 10 ng/mL. Έτσι, ο

συγκεκριμένος σωληνίσκος είχε πια τελική συγκέντρωση ρεζιστίνης την προβλεπόμενη των 10 ng/mL. Στην συνέχεια προστέθηκαν με σιφόνιο 500 μ L αραιωτικού διαλύματος RD5K σε κάθε έναν στους υπόλοιπους σωληνίσκους. Για την επίτευξη των αναγραφόμενων συγκεντρώσεων ρεζιστίνης στους υπόλοιπους σωληνίσκους μεταφέρθηκαν από τον πρώτο σωληνίσκο (συγκέντρωση ρεζιστίνης 10 ng/mL) 500 μ L αυτού του διαλύματος στον δεύτερο σωληνίσκο, ο οποίος περιείχε ήδη 500 μ L αραιωτικού διαλύματος. Με απλή ανάδευση (καθόλου αφρός) προέκυψε διάλυμα μισής συγκέντρωσης ρεζιστίνης, δηλ. 5 ng/mL. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται από κάθε νέο σωληνίσκο που περιέχει διάλυμα ρεζιστίνης επιθυμητής συγκέντρωσης στον επόμενο σωληνίσκο που περιέχει μόνον 500 μ L διαλύματος αραιώσεως, φτάνοντας στον τελευταίο σωληνίσκο, ο οποίος τελικά θα έχει 1mL διαλύματος ρεζιστίνης συγκέντρωσης 0,156 ng/mL.



Εικόνα 8. Διαδικασία αραιώσεων του δείγματος [268].

4. Διαδικασία χημικής ανάλυσης

Μετά την προσθήκη των προς ανάλυση δειγμάτων, προστέθηκαν εις διπλούν τα διαλύματα πρότυπης συγκέντρωσης ρεζιστίνης (10 – 0,156 ng/mL) τα οποία μόλις είχαν παρασκευαστεί. Έγινε προσθήκη 100 μ L από το ρυθμιστικό διάλυμα RD1-19 καθώς και προσθήκη 100 μ L πρότυπου δείγματος συγκεκριμένης συγκέντρωσης σε κάθε αντίστοιχο φρεάτιο. Έγινε επικάλυψη με την παρεχόμενη κολλητική ταινία και επακολούθησε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε αναρρόφηση του περιεχομένου από

κάθε φρεάτιο και έκπλυση με επανάληψη της διαδικασίας άλλες 3 φορές (συνολικά διενεργήθηκαν 4 εκπλύσεις). Οι εκπλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το γέμισμα του κάθε φρεατίου με 400 μL από το ρυθμιστικό διαλύματος έκπλυσης (Wash Buffer). Μετά το τέλος της τελευταίας έκπλυσης έγινε απομάκρυνση από τα υπολείμματα του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης με τη βοήθεια αναρρόφησης.

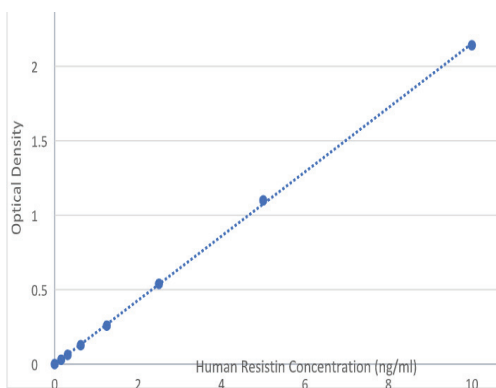
Στη συνέχεια, γυρίστηκε ανάποδα η μικροπλάκα και χτυπήθηκε στον πάγκο που ήταν επιστρωμένος με λίγο χαρτί κουζίνα και έγινε προσθήκη 200 μL διαλύματος μονοκλωνικού αντισώματος κατά ανθρώπινης ρεξιστίνης συζευγμένου με ένζυμο σε κάθε σωληνίσκο. Ακολούθησε επικάλυψη της μικροπλάκας με νέα κολλητική ταινία και πραγματοποιήθηκε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, έγινε επανάληψη του βήματος αναρρόφησης/έκπλυσης και προστέθηκαν 200 μL από το διάλυμα του υποστρώματος (Substrate Solution) σε κάθε φρεάτιο.

Η επώαση πραγματοποιήθηκε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 50 μL από το διάλυμα τερματισμού σε κάθε φρεάτιο και παρατηρήθηκε αλλαγή στο χρώμα του φρεατίου από μπλε σε κίτρινο. Ο υπολογισμός της οπτικής πυκνότητας των προτύπων και των δειγμάτων έγινε εντός 30 λεπτών με τη χρήση του ειδικού φωτομέτρου (ELISA Reader, BioTek Synergy, Winooski Vermont, USA) που ήταν ρυθμισμένο σε μήκος κύματος ανάγνωσης 450 nm, και μήκος κύματος διόρθωσης 540 ή 570 nm.

5. Διαδικασία υπολογισμού των αποτελεσμάτων

Με τη βοήθεια της καμπύλης απορρόφησης (εικόνα 9) υπολογίστηκε η συγκέντρωση της ρεξιστίνης του ορού στα αραιωμένα δείγματα. Η συγκέντρωση της ρεξιστίνης υπολογίστηκε σε ng/mL. Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του ELISA kit που χρησιμοποιήθηκε, αναφέρονται τα εξής:

- Ακρίβεια (precision) της μεθόδου. Η εντός της δοκιμασίας διακύμανση των αποτελεσμάτων (intra-assay variation) ήταν < 6 %.
- Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) της μεθόδου. Η μεταξύ των διαφορετικών δοκιμασιών διακύμανση των αποτελεσμάτων (inter-assay variation) ήταν < 10 %.
- Ευαισθησία (sensitivity) της μεθόδου. Το όριο αντίχενωσης της συγκέντρωσης ρεξιστίνης υπολογίστηκε ως το 0,026 ng/mL [269].



Εικόνα 9: Πρότυπη καμπύλη. Συσχέτιση μεταξύ της μέσης οπτικής πυκνότητας (άξονας Y) και της συγκέντρωσης ρεζιστίνης του ορού (άξονας X) [269].

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 23.0. Το τεστ Kolmogorov- Smirnov χρησιμοποιήθηκε για την επαλήθευση της κανονικότητας των κατανομών των παραμέτρων που αναλύθηκαν. Τα δεδομένα που ακολουθούσαν κανονική κατανομή εκφράστηκαν ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση. Οι παράμετροι με μη-κανονική κατανομή παρουσιάστηκαν ως διάμεσος (εύρος).

Η ανάλυση κατά Spearman εφαρμόστηκε για τις παραμέτρους που ακολουθούσαν μη-κανονική κατανομή. Επίσης, εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση (Multiple linear regression analysis) για σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις μεταξύ: 1) παχύσαρκων και ΜΥΦΒ ατόμων, 2) παχύσαρκων που εμφάνιζαν και παχύσαρκων που δεν εμφάνιζαν έναν παράγοντα του ΜΣ. Η πολυπαραγοντική ανάλυση εφαρμόστηκε και για τον προσδιορισμό των παραμέτρων που συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με την ρεζιστίνη του ορού.

Η General linear model (GLM) univariate analysis εφαρμόστηκε σε σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις μεταξύ: 1) ΜΥΠ (κατηγορία αναφοράς) με ΜΥΦΒ και ΜΜΥΠ, 2) ατόμων με διαταραχή γλυκόζης νηστείας (κατηγορία αναφοράς) με άτομα με φυσιολογική γλυκόζη νηστείας και άτομα με ΣΔΤ2. Η δίπλευρη τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Ρεζιστίνη ορού και υποπληθυσμοί λευκών αιμοσφαιρίων στους ΜΥΦΒ vs παχύσαρκους

Τα αποτελέσματα των δημογραφικών, σωματομετρικών και εργαστηριακών παραμέτρων στους ΜΥΦΒ και στους παχύσαρκους (ΜΥΠ, ΜΜΥΠ) φαίνονται στον πίνακα 7. Οι σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις των επιπέδων ρεζιστίνης ορού και των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων μεταξύ ΜΥΦΒ και παχύσαρκων (ΜΥΠ και ΜΜΥΠ) φαίνονται στον Πίνακα 6. Η εφαρμογή της πολυπαραγοντικής ανάλυσης αποκάλυψε ότι η ρεζιστίνη του ορού στους ΜΥΦΒ ήταν χαμηλότερη σε σχέση με τους παχύσαρκους αλλά παρόμοια σε σύγκριση με τους ΜΥΠ. Παρομοίως, ο απόλυτος αριθμός των ουδετεροφίλων στους ΜΥΦΒ ήταν χαμηλότερος σε σύγκριση με αυτόν των παχύσαρκων αλλά δεν εμφάνισε διαφοροποίηση σε σχέση με τον αριθμό των ουδετεροφίλων των ΜΥΠ. Η GLM univariate analysis αποκάλυψε ότι τόσο τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού όσο και ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων ήταν αυξημένα στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ. Η παρατηρούμενη διαφοροποίηση των επιπέδων ρεζιστίνης μεταξύ παχύσαρκων και ΜΥΦΒ εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς το επίπεδο των ουδετερόφιλων του ορού.

2. Τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι ενός παράγοντα του ΜΣ

Όλοι οι παχύσαρκοι ασθενείς εμφάνισαν αυξημένη περιφέρεια μέσης. Η πολυπαραγοντική ανάλυση εμφάνισε αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης μεταξύ των παχύσαρκων επί της παρουσίας χαμηλής HDL-C ($p = 0,014$), μετά την στάθμιση ως προς ηλικία και φύλο. Δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στη ρεζιστίνη του ορού στους παχύσαρκους όταν έγινε υποανάλυση ανάλογα με το αν εμφάνιζαν ή όχι έναν από τους υπόλοιπους παράγοντες του ΜΣ, όπως αυξημένη αρτηριακή πίεση ($p = 0,314$), υπερτριγλυκεριδαμία ($p = 0,706$) και υπεργλυκαιμία ($p = 0,168$).

3. Επίπεδα ρεζιστίνης ορού ανάλογα με την γλυκόζη του ορού

Όταν εφαρμόστηκε GLM univariate analysis παρατηρήθηκε ότι μεταξύ των παχύσαρκων τα επίπεδα ρεζιστίνης εμφάνισαν διαφοροποίηση στις 3 κατηγορίες ατόμων ανάλογα με τα επίπεδα γλυκόζης ορού (ΦΓΝ, ΔΓΝ και ΣΔΤ2) μετά την στάθμιση ως προς ηλικία και φύλο. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα ρεζιστίνης ήταν αυξημένα στα άτομα με ΣΔΤ2 σε σύγκριση με τα άτομα με ΔΓΝ ($p < 0,001$). Επίσης, τα επίπεδα ρεζιστίνης ορού δεν διέφεραν μεταξύ ατόμων με ΔΓΝ και ΦΓΝ ($p = 0,420$).

4. Αναλύσεις συσχετίσεων

ΜΥΦΒ

Στους ΜΥΦΒ όταν εφαρμόστηκε η ανάλυση μέσω συσχετισμών Spearman παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα ρεζιστίνης εμφάνισαν θετική συσχέτιση με τον απόλυτο αριθμό των μονοκυττάρων (MonA), ($r = 0,574$, $p = 0,032$) και του Mon1A ($r = 0,554$, $p = 0,032$) και αρνητική συσχέτιση με την eGFR ($r = - 0,551$, $p = 0,008$).

Παχύσαρκοι ασθενείς

Στους παχύσαρκους, η ανάλυση μέσω συσχετισμών Spearman εμφάνισε θετική συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με το σωματικό βάρος ($r = 0,335$, $p = 0,012$), τον ΔΜΣ ($r = 0,272$, $p = 0,048$), την περιφέρεια μέσης ($r = 0,335$, $p = 0,016$), την περιφέρεια ισχίων ($r = 0,389$, $p = 0,004$), την hsCRP ($r = 0,311$, $p = 0,022$), το ινωδογόνο ($r = 0,387$, $p = 0,004$), τον απόλυτο αριθμό των ουδετερόφιλων ($r = 0,281$, $p = 0,040$) και αρνητική συσχέτιση με την eGFR ($r = - 0,283$, $p = 0,046$). Η αύξηση της ρεζιστίνης στα άτομα με αυξημένα ουδετερόφιλα ήταν πιο εμφανής στα άτομα με αριθμό ουδετεροφίλων ≥ 4000 κύτταρα/ μL .

Τα επίπεδα ρεζιστίνης δεν συσχετίστηκαν με τον απόλυτο αριθμό των ουδετερόφιλων στους ΜΥΠ ($r = 0,271$, $p = 0,234$) και στους ΜΜΥΠ ($r = 0,046$, $p = 0,808$). Παρόλα αυτά, όταν εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση παρατηρήθηκε ότι η συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με τον ΔΜΣ στους παχύσαρκους ασθενείς εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς hsCRP. Επιπλέον, η συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με την hsCRP στους παχύσαρκους εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς τον απόλυτο αριθμό των ουδετερόφιλων.

Πίνακας 6. Επίπεδα ρεζιστίνης ορού και υποπληθυσμοί των λευκών αιμοσφαιρίων σε ΜΥΦΒ και παχύσαρκους (ΜΥΠ, ΜΜΥΠ).

					Πολυπαραγοντική ανάλυση (Multiple linear regression analysis)	GLM univariate analysis	
	ΜΥΦΒ(n=25)	Παχύσαρκοι (n=58)	ΜΥΠ(n=25)	ΜΜΥΠ(n=33)	Παχύσαρκοι vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p)	ΜΥΠ vs ΜΜΥΠ (p)
Ρεζιστίνη (ng/mL)	11,8 (3,5–51,5)	14,0 (5,2 –43,0)	12,7 (5,4-42,2)	14,3 (5,2-43,0)	0,041	0,856	0,005
Λευκά αιμοσφαίρια (κύτταρα/μL)	6.262 ± 1.391	7.244 ± 1804	6.615 ± 1.469	7.720 ± 1.907	0,017	0,274	0,007
ΟυδετερόφιλαΑ (κύτταρα/μL)	3.515 ± 1.118	4.261 ± 1.443	3.835 ± 1.145	4.583 ± 1.574	0,011	0,154	0,025
ΛεμφοκύτταραΑ (κύτταρα/μL)	2.134 ± 598	2.281 ± 553	2.155 ± 488	2.377 ± 587	0,516	NS	NS
ΜονοκύτταραΑ (κύτταρα/μL)	319 (126–408)	325 (105–977)	284 (179-571)	337 (105-977)	0,618	NS	NS
ΗωσινόφιλαΑ (κύτταρα/μL)	125 (20–430)	145 (20–620)	120 (60-540)	180 (20-620)	0,623	NS	NS
ΒασεόφιλαΑ (κύτταρα/μL)	25 (10–90)	30 (10–100)	30 (10-60)	30 (10-100)	0,868	NS	NS

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για μεταβλητές που εμφανίζουν κανονική κατανομή ή διάμεσος (εύρος) για μεταβλητές που παρουσιάζουν μη κανονική κατανομή. Η πολυπαραγοντική ανάλυση εφαρμόστηκε για συγκρίσεις σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο μεταξύ παχύσαρκων και ΜΥΦΒ. Η General linear model (GLM) univariate analysis εφαρμόστηκε για σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις των ΜΥΠ (κατηγορία αναφοράς) με τους ΜΥΦΒ και τους ΜΜΥΠ. Οι συσχετίσεις με έντονο μαύρο υποδηλώνουν στατιστική σημαντικότητα.

Συνημείς: ΒασεόφιλαΑ: Απόλυτος αριθμός βασεόφιλων, ΗωσινόφιλαΑ: Απόλυτος αριθμός ηωσινοφίλων, ΛεμφοκύτταραΑ: Απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων, ΜΥΦΒ: Μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού σωματικού βάρους, ΜΥΠ: Μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι, ΜονοκύτταραΑ: Απόλυτος αριθμός μονοκυττάρων, ΜΜΥΠ: Μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκοι, ΟυδετερόφιλαΑ: Απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, NS: Μη στατιστικά σημαντικό.

Πίνακας 7. Δημογραφικές, σωματομετρικές και εργαστηριακές παράμετροι στους ΜΥΦΒ και στους παχύσαρκους (ΜΥΠ, ΜΜΥΠ) ασθενείς.

					Πολυπαραγοντική ανάλυση (Multiple linear regression analysis)	GLM univariate analysis	
	ΜΥΦΒ(n=25)	Παχύσαρκοι (n=58)	ΜΥΠ(n=25)	ΜΜΥΠ(n=33)	Παχύσαρκοι vs ΜΥΦΒ (τιμή p)	ΜΥΠ vs ΜΥΦΒ (p value)	ΜΥΠ vs ΜΜΥΠ (p value)
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	(10/15)	(27/31)	(11/14)	16/17)			
Ηλικία (έτη)	38 ± 9	46 ± 11	41 ± 10	49 ± 11			
ΔΜΣ (Kg/m ²)	22,1 ± 1,9	38,6 ± 7,1	38,1 ± 6,5	39,0 ± 7,5	< 0,001	< 0,001	0,529
Περιφέρεια μέσης (cm)	81 ± 7	120 ± 13	118 ± 11	121 ± 14	< 0,001	< 0,001	0,956
Γλυκόζη (mg/dL)	85 ± 8	100 ± 19	90 ± 13	106 ± 22	0,005	0,330	< 0,001
Ινσουλίνη (μIU/mL)	5,2 ± 2,6	16,0 ± 11,3	13,2 ± 10,4	18,3 ± 11,5	< 0,001	0,001	0,010
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	197 ± 40	215 ± 40	197 ± 31	224 ± 35	0,709	NS	NS
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	71 (33-131)	129 (53-786)	97 (53-142)	168 (97-786)	0,005	0,480	< 0,001
LDL-C (mg/dL)	123 ± 36	137 ± 35	124 ± 27	143 ± 31	0,817	NS	NS
HDL-C (mg/dL)	57 ± 14	47 ± 10	54 ± 8	43 ± 12	0,001	0,064	< 0,001
ΣΑΠ (mmHg)	113 ± 9	136 ± 20	125 ± 14	142 ± 19	< 0,001	0,001	0,002
ΔΑΠ (mmHg)	70 ± 10	86 ± 13	80 ± 12	89 ± 13	< 0,001	0,009	0,016
hsCRP (mg/L)	0,5 (0,2-1,8)	3,1 (0,4-14,8)	3,3 (0,4-9,7)	4 (0,7-14,8)	< 0,001	< 0,001	0.115
Ινωδογόνο (mg/dL)	312 (243-457)	372 (127-654)	360 (127-578)	375 (284-654)	< 0,001	0,004	0,022
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,9 (0,8-1,2)	0,9 (0,6-1,4)	1,0 (0,6-1,2)	0,9 (0,7-1,3)	0,294	NS	NS
eGFR(mL/min/1,73m ²)	90 ± 14	70 ± 14	72 ± 15	69 ± 13	< 0,001	NS	NS

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για μεταβλητές που εμφανίζουν κανονική κατανομή ή διάμεσος (εύρος) για μεταβλητές που παρουσιάζουν μη κανονική κατανομή. Η πολυπαραγοντική ανάλυση εφαρμόστηκε για σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις μεταξύ παχύσαρκων και ΜΥΦΒ. Η General linear model (GLM) univariate analysis εφαρμόστηκε για σταθμισμένες ως προς ηλικία και φύλο συγκρίσεις των ΜΥΠ (κατηγορία αναφοράς) με τους ΜΥΦΒ και τους ΜΜΥΠ. Οι συσχετίσεις με έντονο μαύρο υποδηλώνουν στατιστική σημαντικότητα.

Συντμήσεις: ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση, eGFR: Εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης, HDL-C: Χοληστερόλη της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, hsCRP: Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDL-C: Χοληστερόλη της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης, ΜΥΦΒ: Μεταβολικά υγιείς φυσιολογικού σωματικού βάρους, ΜΥΠ: Μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι, ΜΜΥΠ: Μεταβολικά μη υγιείς παχύσαρκοι, NS: Μη στατιστικά σημαντικό, ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη συγκεκριμένη μελέτη τα σημαντικά ευρήματα ήταν τα εξής: α) τα επίπεδα ρεζιστίνης όπως και ο απόλυτος αριθμός των ουδετεροφίλων ήταν αυξημένος στους παχύσαρκους σε σχέση με τους ΜΥΦΒ, β) παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού καθώς και τα επίπεδα των ουδετεροφίλων στους ΜΜΥΠ ήταν αυξημένα σε σχέση με τους ΜΥΠ, γ) οι μεταβολικώς υγιείς και οι ΜΥΦΒ δεν εμφάνισαν διαφοροποίηση στα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού και στον απόλυτο αριθμό των ουδετεροφίλων και δ) στους παχύσαρκους τα επίπεδα ρεζιστίνης εμφάνισαν θετική συσχέτιση με τον απόλυτο αριθμό των ουδετεροφίλων.

ΡΕΖΙΣΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΟΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

1. Ρεζιστίνη και δείκτες προσδιορισμού της παχυσαρκίας

Η μελέτη ανέδειξε την θετική συσχέτιση της ρεζιστίνης με το σωματικό βάρος, τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης και των ισχίων στους παχύσαρκους ασθενείς. Η βιβλιογραφία εμφανίζει τις ισχυρές συσχετίσεις της ρεζιστίνης του ορού με τον ΔΜΣ σε διάφορους πληθυσμούς που μελετήθηκαν, ιδιαίτερα σε παχύσαρκα άτομα [270,271]. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η ρεζιστίνη είναι μια προφλεγμονώδης λιποκίνη, η αύξηση της ρεζιστίνης με την αύξηση του ΔΜΣ πιθανώς να οφείλεται στην χαμηλής έκτασης φλεγμονή που σχετίζεται με την παχυσαρκία.

Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση της ρεζιστίνης του ορού στους παχύσαρκους σε σύγκριση με τους ΜΥΦΒ. Οι μελέτες που συνέκριναν τα επίπεδα της ρεζιστίνης του ορού μεταξύ παχύσαρκων και λεπτών ατόμων έχουν εμφανίσει αντικρουόμενα αποτελέσματα [124,272]. Το κύριο μειονέκτημα αυτών των μελετών ήταν ο μικρός αριθμός των συμμετεχόντων, η έλλειψη πληροφοριών για τους υποπληθυσμούς των λευκοκυττάρων και η αναντιστοιχία των μελετούμενων ομάδων σχετικά με παράγοντες που επηρεάζουν την ρεζιστίνη του ορού, όπως το φύλο [271]. Χρειάζονται να διεξαχθούν στο μέλλον περισσότερες μελέτες που να λάβουν υπόψιν τους προαναφερθέντες μεθοδολογικούς περιορισμούς των προηγούμενων μελετών.

2. Ρεζιστίνη και μεταβολικά υγιείς παχύσαρκοι

Στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ παρατηρήθηκε αύξηση της ρεζιστίνης του ορού και των ουδετεροφίλων. Η αυξημένη έκκριση ρεζιστίνης, λόγω του αυξημένου αριθμού ουδετεροφίλων στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ, πιθανώς συνέβαλε στην ύπαρξη αυξημένων επιπέδων ρεζιστίνης στους πρώτους [273]. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι ο μόνος παράγοντας του μεταβολικού συνδρόμου που συσχετίστηκε με τα αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης ήταν η χαμηλή HDL-C. Καμία μελέτη στο παρελθόν δεν είχε μελετήσει τα επίπεδα της ρεζιστίνης σε σχέση με την παρουσία ξεχωριστά καθενός από τους παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου ως διακριτές μεταβλητές.

Η αύξηση της ρεζιστίνης με την εμφάνιση της χαμηλής HDL-C ως παράγοντα του μεταβολικού συνδρόμου που παρατηρήθηκε στην συγκεκριμένη μελέτη είναι σε πλήρη αντιστοιχία με την αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ρεζιστίνης και της HDL-C που εμφανίζει βιβλιογραφία [271,274]. Η συσχέτιση της ρεζιστίνης με την HDL πιθανώς να οφείλεται εν μέρει στην επαγόμενη από την HDL-C αναστολή της έκκρισης της λιποκυτταρικής ρεζιστίνης [275]. Επιπλέον πιθανοί μηχανισμοί που συνδέονται με την εμφάνιση αυτής της συσχέτισης παραμένουν προς διερεύνηση.

3. Ρεζιστίνη και φλεγμονή

Τα επίπεδα των φλεγμονωδών δεικτών hsCRP και ινωδογόνου ήταν αυξημένα στους παχύσαρκους σε σχέση με τους ΜΥΦΒ και συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού. Η θετική συσχέτιση της ρεζιστίνης του ορού με την hsCRP και το ινωδογόνο έχει παρατηρηθεί σε μελέτες που περιλάμβαναν όχι μόνο παχύσαρκους αλλά υπέρβαρους και λεπτούς [271,276]. Η έλλειψη συσχέτισης στους ΜΥΦΒ της παρούσας μελέτης πιθανώς οφείλεται στον μικρό αριθμό των ατόμων και στο μικρό εύρος διακύμανσης του ΔΜΣ και της hsCRP αυτών των ατόμων. Το γεγονός ότι η συσχέτιση της ρεζιστίνης με τον ΔΜΣ εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς την hsCRP υπονοεί ότι παθοφυσιολογικά το σημείο σύνδεσης της ρεζιστίνης με την παχυσαρκία πιθανώς είναι η αύξηση της ρεζιστίνης που παρατηρείται στα πλαίσια της χαμηλής έκτασης φλεγμονής στα παχύσαρκα άτομα.

4. Ρεζιστίνη και λευκά αιμοσφαίρια

Παρατηρήθηκε ότι η ρεζιστίνη του ορού συσχετίστηκε θετικά με τον αριθμό των ουδετερόφιλων στους παχύσαρκους και με τον απόλυτο αριθμό των μονοκυττάρων στους ΜΥΦΒ. Η βιβλιογραφία έχει αναδείξει την έκφραση και την έκκριση της ρεζιστίνης μετά από διέγερση τόσο των ουδετεροφίλων όσο και των μονοκυττάρων [277,122]. Τα ουδετερόφιλα αποθηκεύουν ρεζιστίνη σε μεγάλες ποσότητες μέσα στα κοκκία τους, τα οποία απελευθερώνουν ρεζιστίνη μετά από φλεγμονώδη διέγερση από βακτήρια [278]. Το γεγονός ότι η ρεζιστίνη του ορού συσχετίστηκε θετικά μόνο με τον Mon1 υποπληθυσμό μονοκυττάρων υποδηλώνει ότι η ρεζιστίνη πιθανώς εκκρίνεται καθ' υπεροχήν από τα κλασικά μονοκύτταρα στους ΜΥΦΒ. Καμία μελέτη στο παρελθόν δεν έχει διερευνήσει τον ρόλο των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων στη ρύθμιση της ρεζιστίνης μεταξύ ατόμων με διαφορετικό ποσοστό λιπώδους ιστού και διαφορετικό μεταβολικό προφίλ [279,280].

Η ρεζιστίνη του ορού έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται θετικά με τον συνολικό αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων σε άτομα που δεν είχαν φλεγμονή [276,281]. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση του ΔΜΣ η συσχέτιση της ρεζιστίνης με τα ουδετερόφιλα ισχυροποιήθηκε ενώ με τον συνολικό αριθμό των μονοκυττάρων αποδυναμώθηκε. Το γεγονός ότι η συσχέτιση μεταξύ ρεζιστίνης και απόλυτου αριθμού ουδετερόφιλων παρατηρήθηκε στους παχύσαρκους αλλά δεν υπήρχε στους υποπληθυσμούς των ΜΥΠ και ΜΜΥΠ πιθανώς οφείλεται στον μικρό αριθμό των ατόμων που απάρτιζαν τους δύο υποπληθυσμούς, γεγονός που μείωσε την δυνατότητα να αναδειχθούν στατιστικά ισχυρές συσχετίσεις.

Επίσης, η ρεζιστίνη συσχετίστηκε τόσο με την hsCRP όσο και με τα ουδετερόφιλα μόνο στους παχύσαρκους αλλά όχι στους ΜΥΦΒ. Επίσης, η παρατηρούμενη συσχέτιση μεταξύ της ρεζιστίνης και της hsCRP εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς το επίπεδο των ουδετεροφίλων στους παχύσαρκους. Αυτό αναδεικνύει τον σημαντικό ρόλο των ουδετεροφίλων όσον αφορά τα επίπεδα ρεζιστίνης στις καταστάσεις χαμηλής έκτασης φλεγμονής που συνδέονται με την παχυσαρκία.

Παράλληλα, στην παρούσα μελέτη το πρότυπο που παρατηρήθηκε με τα αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης όταν συγκρίθηκαν παχύσαρκοι με ΜΥΦΒ άτομα ήταν το ίδιο και με τον συνολικό αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και με τον αριθμό των

ουδετερόφιλων. Συγκεκριμένα, σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, η βιβλιογραφία έχει αναδείξει την αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων κυρίως λόγω αύξησης των ουδετερόφιλων σε καταστάσεις παχυσαρκίας και ιδιαίτερα όταν συνοδεύεται από ΜΣ [282,283].

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πλεονέκτημα της μελέτης ήταν το γεγονός ότι πρώτον είχαν προσεκτικά επιλεγεί 3 κατηγορίες ατόμων που μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα, κανένας από τους συμμετέχοντες δεν έπαιρνε φάρμακα που μπορούσαν να επηρεάσουν τις μεταβολικές παραμέτρους ή τα επίπεδα ρεζιστίνης. Επίσης, οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στην κυτταρομετρία ροής βασίστηκαν στις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας [198].

Τα αποτελέσματα της μελέτης είχαν κάποιους περιορισμούς. Πρώτον, ο αριθμός των ΜΥΦΒ ήταν μικρότερος σε σχέση με αυτόν των παχύσαρκων. Δεύτερον, τόσο ο λόγος των ανδρών προς τις γυναίκες όσο και η μέση ηλικία ήταν αυξημένη στους παχύσαρκους σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Συνεπώς, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για να διασφαλισθεί η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η συγκεκριμένη μελέτη ανέδειξε την ύπαρξη προφλεγμονώδους προφίλ μονοκυττάρων του αίματος και στις δύο υποκατηγορίες των παχύσαρκων ατόμων (ΜΥΠ και ΜΜΥΠ) σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Παρατηρήθηκε αύξηση του ενδιάμεσου προφλεγμονώδη υποπληθυσμού των μονοκυττάρων στους ΜΜΥΠ σε σύγκριση με τους ΜΥΠ. Ο συγκεκριμένος προφλεγμονώδης φαινότυπος των μονοκυττάρων συσχετίστηκε θετικά με την μέση αρτηριακή πίεση και σε μικρότερη έκταση με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού. Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των προφλεγμονωδών μονοκυττάρων στο αίμα των ΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι η κατάσταση παχυσαρκίας στα άτομα που είναι μεταβολικώς υγιή συνδέεται με χρόνια χαμηλής έκτασης φλεγμονή.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αποτελούν έναυσμα για τη διενέργεια νέων μελετών έτσι ώστε να διασαφηνιστεί εάν η μέσω των ιατρικών παρεμβάσεων (π.χ χρήση φαρμάκων ή παρεμβάσεων που θα έχουν διάρκεια, χωρίς παρενέργειες) μείωση των προφλεγμονωδών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των δυσμενών καρδιαγγειακών επιπλοκών της παχυσαρκίας και του ΜΣ.

Παράλληλα, τόσο τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού όσο και ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων ήταν αυξημένος στους ΜΜΥΠ σε σύγκριση με τους ΜΥΠ. Παρατηρήθηκε ότι η κατάσταση παχυσαρκίας που επιπλέκεται με ΜΣ είναι μια φλεγμονώδης κατάσταση για τον οργανισμό στην οποία παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα ρεζιστίνης που πιθανώς ρυθμίζονται από τα ουδετερόφιλα του ορού. Οι μελλοντικές μελέτες που θα ασχοληθούν με τον μεταβολικό ρόλο της ρεζιστίνης θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψιν τον αριθμό των ουδετεροφίλων, τόσο στον σχεδιασμό όσο και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Τέλος, αντικείμενο μελλοντικών ερευνών μπορεί να αποτελέσει η διερεύνηση της δυνατότητα μείωσης των επιπέδων της ρεζιστίνης με την βοήθεια φαρμακευτικής αγωγής και κατά πόσο αυτή η μείωση μπορεί να συσχετιστεί με ευεργετικές επιδράσεις στο μεταβολικό και προφλεγμονώδες προφίλ όπως και στα καρδιαγγειακή συμβάματα στους ΜΜΥΠ καθώς και στους παχύσαρκους συνολικά.

Σκοπός: Η παχυσαρκία συνδέεται με μια χρόνια κατάσταση φλεγμονής χαμηλής έκτασης καθώς και από διείσδυση μακροφάγων στην περιοχή του λιπώδους ιστού, γεγονός που συνδέεται με την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και με την εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου. Επίσης, υποθέσαμε ότι η ρεζιστίνη του ορού, μια κυτταροκίνη που παράγεται από τα λευκά αιμοσφαίρια, συνδέεται με αυτή την χαμηλής έκτασης φλεγμονή που παρατηρείται στην παχυσαρκία. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν να διερευνηθεί κατά πόσο οι υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων (προδρόμων μορίων των μακροφάγων) και τα επίπεδα ρεζιστίνης του ορού διαφέρουν μεταξύ των μεταβολικά μη υγιών παχύσαρκων (MMYΠ), των μεταβολικά υγιών παχύσαρκων (MYΠ) και των μεταβολικά υγιών φυσιολογικού σωματικού βάρους ατόμων (ΜΥΦΒ) καθώς και η διερεύνηση των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων ως πιθανών ρυθμιστών των επιπέδων ρεζιστίνης του ορού.

Μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 58 παχύσαρκα άτομα (33 MMYΠ και 25 MYΠ) καθώς και 25 ΜΥΦΒ άτομα. Οι απόλυτοι αριθμοί του κλασικού (Mon1A), ενδιάμεσου (Mon2A) και μη κλασικού (Mon3A) υποπληθυσμού των μονοκυττάρων του αίματος υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής. Υπολογίστηκαν τα επίπεδα της ρεζιστίνης, της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hsCRP) και των υποπληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων. Ο προσδιορισμός των επιπέδων ρεζιστίνης του ορού πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια της ανοσοενζυμικής μεθόδου ELISA. Στις συγκρίσεις έγινε στάθμιση ως προς την ηλικία και το φύλο.

Αποτελέσματα: Παρατηρήθηκε αυξημένος ο απόλυτος αριθμός των προφλεγμονωδών μονοκυττάρων των παχύσαρκων ατόμων σε σχέση με τους ΜΥΦΒ (Mon2A, $p = 0,001$ και Mon3A, $p = 0,017$). Ο υποπληθυσμός Mon2A ήταν αυξημένος ($p = 0,032$) και ο υποπληθυσμός Mon3A εμφάνισε τάση για αύξηση ($p = 0,089$) στους MYΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ. Επίσης, εμφανίστηκε αύξηση του υποπληθυσμού Mon2A στους MMYΠ σε σχέση με τους MYΠ ($p = 0,036$). Στα παχύσαρκα άτομα ο υποπληθυσμός Mon2A εμφάνισε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού ($r = 0,328$, $p = 0,023$) και τη μέση αρτηριακή πίεση ($r = 0,457$, $p = 0,001$). Στα παχύσαρκα άτομα μεταξύ των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου του ΜΣ μόνο η αυξημένη αρτηριακή

πίεση ($\geq 130/85$ mmHg) συσχετίστηκε ανεξάρτητα (ως μεταβλητή) με την αύξηση του υποπληθυσμού Mon2A των μονοκυττάρων του αίματος ($p < 0,001$). Τα επίπεδα ρεζιστίνης στους ΜΥΦΒ ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με αυτά των παχύσαρκων ($p = 0,041$) αλλά χωρίς διαφοροποίηση σε σχέση με αυτά των ΜΥΠ ($p = 0,856$). Τόσο τα επίπεδα ρεζιστίνης ($p = 0,005$) όσο και ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων ($p = 0,025$) ήταν υψηλότερα στους ΜΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΠ. Η διαφοροποίηση στη συγκέντρωση της ρεζιστίνης μεταξύ παχύσαρκων και ΜΥΦΒ εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς τα ουδετερόφιλα. Η ρεζιστίνη εμφάνισε θετική συσχέτιση με τον απόλυτο αριθμό των μονοκυττάρων ($p = 0,037$) στους ΜΥΦΒ καθώς και με τον δείκτη μάζας σώματος ($p = 0,023$), την hsCRP ($p = 0,022$) και τα ουδετερόφιλα ($p = 0,044$) στα παχύσαρκα άτομα. Η συσχέτιση της ρεζιστίνης με τον δείκτη μάζας σώματος εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς hsCRP ενώ η συσχέτιση της ρεζιστίνης με την hsCRP εξαφανίστηκε όταν έγινε επιπλέον στάθμιση ως προς τα ουδετερόφιλα.

Συμπεράσματα: Παρατηρήθηκε μεγαλύτερος απόλυτος αριθμός μονοκυττάρων με προφλεγμονώδη φαινότυπο στους ΜΥΠ σε σχέση με τους ΜΥΦΒ αλλά μικρότερος σε σχέση με τους ΜΜΥΠ. Η παρουσία της χαμηλού βαθμού φλεγμονής υποδηλώνει ότι η κατάσταση της «μεταβολικά υγιούς» παχυσαρκίας πιθανώς να μην είναι μια αθώα κατάσταση για τον ανθρώπινο οργανισμό. Η ρεζιστίνη του ορού ήταν αυξημένη στους μεταβολικώς μη υγιείς παχύσαρκους σε σχέση με τους μεταβολικώς υγιείς παχύσαρκους. Η αυξημένη έκκριση ρεζιστίνης από τον αυξημένο αριθμό ουδετερόφιλων που παρατηρήθηκε στους μεταβολικώς μη υγιείς παχύσαρκους πιθανώς να έχει συμβάλει σε αυτό το αποτέλεσμα.

Objective: Obesity is associated with chronic low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue that induces insulin resistance and contributes to the development of metabolic syndrome (MS). Also we hypothesized that circulating resistin, a cytokine secreted by white blood cells (WBC), is involved in the obesity-related low-grade inflammation. The aim of this study was to investigate whether circulating monocyte subsets (precursors of macrophages) differ among obese subjects with MS (metabolically unhealthy obese, MUO), obese subjects without MS (metabolically healthy obese, MHO) and metabolically healthy lean (MHL) individuals, to determine serum resistin levels among MUO and MHO subjects and to investigate the role of circulating WBC subsets as potential determinants of resistin.

Design: 58 obese (33 MUO, 25 MHO) and 25 MHL individuals participated in the study. Absolute blood counts of classical (Mon1A), intermediate (Mon2A) and nonclassical (Mon3A) monocyte subsets were measured by flow cytometry. Serum levels of resistin, high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and white blood cell subpopulations were measured. Serum resistin was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Comparisons were adjusted for gender and age.

Results: Increased counts of proinflammatory monocytes were observed in obese compared to MHL individuals (Mon2A, $p = 0.001$ and Mon3A, $p = 0.017$). Mon2A was higher ($p = 0.032$) and Mon3A tended to be higher ($p = 0.089$) in MHO compared to MHL subjects. Higher Mon2A ($p = 0.036$) was also observed in MUO compared to MHO subjects. Mon2A was positively associated with serum triglyceride level ($r = 0.328$, $p = 0.023$) and mean blood pressure ($r = 0.457$, $p = 0.001$) in obese subjects. Among MS components, only elevated blood pressure ($BP \geq 130/85$ mmHg) was independently associated (as categorical variable) with increased Mon2A in obese subjects ($p < 0.001$). Serum resistin levels in MHL were

lower compared to obese ($p = 0.041$), but similar to MHO ($p = 0.856$) individuals. Both resistin ($p = 0.005$) and absolute neutrophil count (NeuA) ($p = 0.025$) were higher in MUO compared to MHO. The difference in resistin between obese and MHL individuals disappeared after adjustment for NeuA. Resistin correlated positively with absolute total

monocyte count ($p = 0.037$) in MHL and with body mass index (BMI) ($p = 0.023$), hsCRP ($p = 0.022$) and NeuA ($p = 0.044$) in obese subjects. The resistin association with BMI disappeared after adjustment for hsCRP, while the association with hsCRP disappeared after further adjustment for NeuA.

Conclusions: MHO individuals were characterized by greater absolute counts of proinflammatory monocytes compared to MHL individuals, but lower counts compared to MUO patients. The presence of low-grade inflammation suggests that ‘metabolically healthy’ obesity may not be an entirely benign condition. Circulating resistin was higher in MUO compared to MHO. The increased secretion of resistin by the greater number of neutrophils in the former may have contributed to this regulation.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) P Sonksen, J Sonksen. Insulin: understanding its action in health and disease. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. *Br J Anaesth*. 2000;85(1):69-79.
- 2) Voet D, Voet JG. *Biochemistry* (4th ed.). (2011). New York: Wiley.
- 3) LeRoith D. Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med*. 2002;113 Suppl 6A:3S-11S.
- 4) Gallagher EJ, Leroith D, Karnieli E. Insulin resistance in obesity as the underlying cause for the metabolic syndrome. *Mt Sinai J Med*. 2010;77:511-523.
- 5) Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444:840-846.
- 6) Grundy SM. Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 59:635-643.
- 7) A Norgaard, Th E. Hess Thaysen. *Clinical Investigations Into the Effect of Intravenous Injection of Insulin. The Blood Sugar Curve in Normal Individuals*. *Journal of Internal Medicine*. 1929.
- 8) Ranganath Muniyappa and Ritu Madan. *Assessing Insulin Sensitivity and Resistance in Humans*. Last Update: July 10, 2018. www.endotext.org.
- 9) Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS et al. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and beta-cell function in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):401-11.
- 10) Sidarala V, Kowluru A. The Regulatory Roles of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathways in Health and Diabetes: Lessons Learned from the Pancreatic β -Cell. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2017;10(2):76-84.
- 11) Gao Z, Hwang D, Bataille F et al. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J. Biol. Chem*. 2002;277, 48115–48121.
- 12) Gao Z, Zuberi A, Quon M.J et al. Aspirin inhibits serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 in tumor necrosis factor-treated cells through targeting multiple serine kinases. *J. Biol. Chem*. 2003;278, 24944–24950.

- 13) Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C et al. SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J. Biol. Chem.* 2000;275, 15985–15991.
- 14) Ruan H, Hacoen N, Golub T.R et al. Tumor necrosis factor-alpha suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: nuclear factor-kappaB activation by TNF-alpha is obligatory. *Diabetes.* 2002;51, 1319– 1336.
- 15) Chen C.Y, Gherzi R, Andersen J.S et al. Nucleolin and YB-1 are required for JNK-mediated interleukin-2 mRNA stabilization during T-cell activation. *Genes Dev.* 2000;14, 1236–1248.
- 16) Chen Q, Wang H, Liu Y et al. Inducible microRNA-223 down-regulation promotes TLR-triggered IL-6 and IL-1b production in macrophages by targeting STAT3. *Plos One.* 2012;7, e42971.
- 17) Holland W.L, Bikman B.T, Wang L.-P et al. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J. Clin. Invest.* 2011;121, 1858–1870.
- 18) Joanne C McNelis, Jerrold M Olefsky. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity.* 2014;41(1):36-48.
- 19) Nguyen M.T.A, Favelyukis S, Nguyen A.-K et al. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem.* 2007;282(48):35279-92.
- 20) Martinon F, Burns K, Tschopp J. "The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta". *Mol Cell.* 2002. 10 (2): 417–26.
- 21) Stienstra R, Tack C.J, Kanneganti T.-D et al. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab.* 2012;15(1):10-8.
- 22) Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37(12):1595-607.

- 23) Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120:1640-1645.
- 24) Ando K, Fujita T. Metabolic syndrome and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2009;47(3):213-8.
- 25) David W Lam and Derek LeRoith. *Metabolic Syndrome*. 2015. Endotext.
- 26) Mottillo S, Filion KB, Genest J et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(14):1113-32.
- 27) Azimi-Nezhad M, Herbeth B, Siest G et al. High Prevalence of Metabolic Syndrome in Iran in Comparison with France: What Are the Components That Explain This? *Metab Syndr Relat Disord*. 2012;10(3):181-8.
- 28) Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G et al. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med*. 2011;9:48.
- 29) Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL et al. The metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2008;29:777-822.
- 30) Kwon HS, Park YM, Lee HJ et al. Prevalence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in middle-aged Korean adults. *Korean J Intern Med*. 2005;20(4):310-6.
- 31) Beltran-Sanchez H, Harhay MO, Harhay MM et al. Prevalence and trends of metabolic syndrome in the adult U.S. population, 1999-2010. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62:697-703.
- 32) Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004; 33:351-375.
- 33) Lee CM, Huxley RR, Woodward M et al. Comparisons of metabolic syndrome definitions in four populations of the Asia-Pacific region. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008; 6:37-46.

- 34) Feng Y, Hong X, Li Z et al. Prevalence of metabolic syndrome and its relation to body composition in a Chinese rural population. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:2089-2098.
- 35) Kylin O. Studien ueber das hypertonie-hyperglykaemie hyperurikaemie syndrom. *Zentralblatt Inn Med*. 1923;44:105–27.
- 36) Maranon G. Über hypertonie und zuckerkrankheit. *Z Inn Med*. 1922;43:169–76.
- 37) Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr*. 1956;4:20–34.
- 38) Avogaro P, Crepaldi G, Conte N. Alterations of the serum lipids in essential arterial hypertension. *Panminerva Med*. 1961;3:574–6.
- 39) Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition. *Annu Rev Med*. 1993;44:121-31.
- 40) Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*. 1989;149(7):1514-20.
- 41) DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14:173.
- 42) Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15:539-553.
- 43) Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999;16:442-443.
- 44) Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-2497.
- 45) Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003;9:237-252.

- 46) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-1062.
- 47) Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735-2752.
- 48) Grundy SM. Does the metabolic syndrome exist? *Diabetes Care*. 2006;29(7):1689-92.
- 49) R Khoshdel, S. L Carney and A Gillies et al. Circulatory Syndrome: An Evolution of the Metabolic Syndrome Concept. *Current Cardiology Reviews* 2012;8:68-76.
- 50) Kelly CT, Mansoor J, Dohm GL et al. Hyperinsulinemic syndrome: The metabolic syndrome is broader than you think. *Surgery* 2014; 156: 405–11.
- 51) M Schlaich, N Straznicky and E Lambert et al. Metabolic syndrome: a sympathetic disease? *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3:148-57.
- 52) Obesity and overweight. Fact sheet. Updated October 2017.
- 53) Jose J. Fuster, Noriyuki Ouchi, Noyan Gokce and Kenneth Walsh. Obesity-induced Changes in Adipose Tissue Microenvironment and Their Impact on Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2016; 118(11): 1786–1807.
- 54) Mohanty P, Ghanim H, Hamouda W et al. Both lipid and protein intakes stimulate increased generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. *Am J Clin Nutr*. 2002;75:767–772.
- 55) Dandona P, Mohanty P, Ghanim H et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:355–362.
- 56) Hu FB. Obesity and mortality: watch your waist, not just your weight. *Arch Intern Med*. 2007;167(9):875–6.
- 57) GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med*. 2017;377:13–27.
- 58) Sally Murray. Is waist-to-hip ratio a better marker of cardiovascular risk than body mass index? *CMAJ*. 2006; 174(3): 308.

- 59) J C K Wells and M S Fewtrell. Measuring body composition. *Arch Dis Child*. 2006; 91(7): 612–617.
- 60) Upadhyay J, Farr O, Perakakis N et al. Obesity as a Disease. *Med Clin North Am*. 2018;102(1):13-33.
- 61) Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:365–367.
- 62) Vincent HK, Powers SK, Stewart DJ et al. Obesity is associated with increased myocardial oxidative stress. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999;23:67–74.
- 63) Sugerman HJ, Baron PL, Fairman RP et al. Hemodynamic dysfunction in obesity hypoventilation syndrome and the effects of treatment with surgically induced weight loss. *Ann Surg*. 1988;207(5):604-13.
- 64) Amad KH, Brennan JC, Alexander JK. The cardiac pathology of chronic exogenous obesity. *Circulation*. 1965;32(5):740-5.
- 65) Messerli FH, Nunez BD, Ventura HO et al. Overweight and sudden death. Increased ventricular ectopy in cardiopathy of obesity. *Arch Intern Med*. 1987;147(10):1725-8.
- 66) Andres R. Effect of obesity on total mortality. *Int J Obes*. 1980;4(4):381-6.
- 67) V Primeau, L Coderre, AD Karelis et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35(7):971-81.
- 68) Bouchard C, Tremblay A, Després JP et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med*. 1990;322:1477–1482.
- 69) Després JP, Moorjani S, Lupien PJ et al. Genetic aspects of susceptibility to obesity and related dyslipidemias. *Mol Cell Biochem*. 1992;113:151–169.
- 70) Gijs H. Goossens. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. *Obes Facts*. 2017;10:207–215.
- 71) Talavera-Garcia E, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A et al. Influence of Obesity and Metabolic Disease on Carotid Atherosclerosis in Patients with Coronary Artery Disease (CordioPrev Study). *PLoS One*. 2016;11(4):e0153096.
- 72) Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A et al. Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(3):E506-15.

- 73) Muscelli E, Camastra S, Gastaldelli A et al. Influence of duration of obesity on the insulin resistance of obese non-diabetic patients. *Obes Relat Metab Disord.* 1998;22(3):262-7.
- 74) Camille Lassale, Ioanna Tzoulaki, Karel G.M et al. Separate and combined associations of obesity and metabolic health with coronary heart disease: a pan-European case-cohort analysis. *European Heart Journal.* 2017;00, 1–12.
- 75) Guh DP, Zhang W, Bansback N et al. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health.* 2009;9:88.
- 76) Soriguer F, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E et al. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:2318-2325.
- 77) Matsuzawa Y. Pathophysiology and molecular mechanisms of visceral fat syndrome: the Japanese experience. *Diabetes Metab Rev.* 1997;13:3–13.
- 78) Catherine M. Phillips. Metabolically healthy obesity: Definitions, determinants and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013;14(3):219-27.
- 79) Karelis A. Metabolically healthy but obese individuals. *Lancet.* 2008, 372, 1281–1283.
- 80) Blüher M. The distinction of metabolically ‘healthy’ from ‘unhealthy’ obese individuals. *Curr. Opin. Lipidol.* 2010, 21, 38–43.
- 81) Karelis A, Faraj M, Bastard, J et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, 4145–4150.
- 82) Kantartzis K, Machann J, Schick F et al. Effects of a lifestyle intervention in metabolically benign and malign obesity. *Diabetologia* 2011, 54, 864–868.
- 83) Wildman R, Muntner P, Reynolds K et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: Prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999–2004). *Arch. Intern. Med.* 2008, 168, 1617–1624.

- 84) Bobbioni-Harsch E, Pataky Z, Makoundou et al. From metabolic normality to cardiometabolic risk factors in subjects with obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2012, 20, 2063–2069.
- 85) Aguilar-Salinas C, García E, Robles L et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 93, 4075–4079.
- 86) Karelis A, Rabasa-Lhoret R. Obesity: Can inflammatory status define metabolic health? *Nat. Rev. Endocrinol.* 2013, 9, 694–695.
- 87) Stefan N, Kantartzis K, Machann J et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch. Intern. Med.* 2008, 168, 1609–1616.
- 88) Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V et al. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab.* 2018;27(1):68-83.
- 89) Weyer C, Foley JE, Bogardus C et al. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia.* 2000;43: 1498–1506.
- 90) Fang L, Guo F, Zhou L et al. The cell size and distribution of adipocytes from subcutaneous and visceral fat is associated with type 2 diabetes mellitus in humans. *Adipocyte.* 2015;4:273–279.
- 91) Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013;93: 359-404.
- 92) Srdi'c B, Stoki'c E, Kora'c A et al. Morphological characteristics of abdominal adipose tissue in normal-weight and obese women of different metabolic profiles. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2010;118, 713–718.
- 93) Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1023–1033.
- 94) Kwok KH, Lam KS, Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. *Exp Mol Med.* 2016;48:e215.
- 95) Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. *Gerontology.* 2012;58(1):15-23.

- 96) Cusi K. The role of adipose tissue and lipotoxicity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 2010;10, 306–315.
- 97) Enerbäck S. The origins of brown adipose tissue. *New England Journal of Medicine.* 2009;360 (19): 2021–2023.
- 98) Brondani LA, Assmann TS, Duarte GC et al. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2012;56(4):215-25.
- 99) Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med.* 2013;19(10):1252-63.
- 100) Wu J, Bostrom P, Sparks LM et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012;150:366-76.
- 101) Cohen P, Levy JD, Zhang Y et al. Ablation of PRDM16 and beige adipose causes metabolic dysfunction and a subcutaneous to visceral fat switch. *Cell* 2014;156: 304- 16.
- 102) Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond).* 2009;33:54-66.
- 103) Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature.* 2005;438, 932–936.
- 104) Bernard Burke, Athina Giannoudis, Kevin P Corke et al. Hypoxia- induced gene expression in human macrophages: implications for ischemic tissues and hypoxia- regulated gene therapy. *Am. J. Pathol.* 2003;163(4):1233-43.
- 105) Lewis JS, Lee J, Underwood JCE et al. Macrophage responses to hypoxia: implications for disease mechanisms. *J Leukoc Biol.* 1999;66:889–900.
- 106) Semenza GL. HIF-1: using two hands to flip the angiogenic switch. *Cancer Metastasis Rev.* 2000;19:59–65.
- 107) Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2015;36(7):461-70.
- 108) Van Stijn CM, Kim J, Lusis AJ et al. Macrophage polarization phenotype regulates adiponectin receptor expression and adiponectin anti-inflammatory response. *FASEB J.* 2015;29: 636-649.

- 109) Yamamoto S, Matsushita Y, Nakagawa T et al. Circulating adiponectin levels and risk of type 2 diabetes in the Japanese. *Nutr Diabetes*. 2014;4:e130.
- 110) Ohashi K, Parker JL, Ouchi N et al. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an antiinflammatory phenotype. *J Biol Chem*. 2010;285: 6153-6160.
- 111) Takashi Kadowaki, Toshimasa Yamauchi, Naoto Kubota et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006;116(7): 1784–1792.
- 112) Okada-Iwabu M, Iwabu M, Ueki K et al. Perspective of Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Diabetes Metab J*. 2015;39: 363-372.
- 113) Tian L, Luo N, Zhu X et al. AdiponectinAdipoR1/2-APPL1 signaling axis suppresses human foam cell formation: differential ability of AdipoR1 and AdipoR2 to regulate inflammatory cytokine responses. *Atherosclerosis*. 2012;221: 66-75.
- 114) Ramos-Lobo AM, Donato J Jr. The role of leptin in health and disease. *Temperature (Austin)*. 2017;4(3):258-291.
- 115) Mullen M, Gonzalez-Perez RR. Leptin-Induced JAK/STAT Signaling and Cancer Growth. *Vaccines (Basel)*. 2016;4(3). pii: E26.
- 116) Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93:S64-73.
- 117) Munzberg H, Myers MG, Jr. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci*. 2005; 8:566-570.
- 118) Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG et al. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*. 2008; 14:741-751.
- 119) Stepan CM, Bailey ST, Bhat S et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307-12.
- 120) Ghosh S, Singh AK, Aruna B et al. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*. 2003;305(1):27–34.

- 121) Lee S, Lee HC, Kwon YW et al. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes. *Cell Metab.* 2014;19(3):484-497.
- 122) Boström EA, Tarkowski A, Bokarewa M. Resistin is stored in neutrophil granules being released upon challenge with inflammatory stimuli. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793(12):1894-900.
- 123) Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L et al. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174:5789-5795.
- 124) Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:5452–5.
- 125) Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N et al. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4848–56.
- 126) Vázquez MJ, González CR, Varela L et al. Central resistin regulates hypothalamic and peripheral lipid metabolism in a nutritional-dependent fashion. *Endocrinology.* 2008;149:4534–43.
- 127) Park HK, Kwak MK, Kim HJ et al. Linking resistin, inflammation, and cardiometabolic diseases. *Korean J Intern Med.* 2017;32(2):239-247.
- 128) Emilio Badoer, Samin Kosari, and Martin J. Stebbing. Resistin, an Adipokine with Non-Generalized Actions on Sympathetic Nerve Activity. *Front Physiol.* 2015;6:321.
- 129) Yang Q, Graham TE, Mody N et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature.* 2005;436(7049):356-62.
- 130) Zabetian-Targhi F, Mahmoudi MJ, Rezaei N et al. Retinol binding protein 4 in relation to diet, inflammation, immunity, and cardiovascular diseases. *Adv Nutr.* 2015;6(6):748-62.
- 131) Cudnoch Jedrzejewska A, Czarzasta K, Gomolka R et al. the role of apelin in pathogenesis of cardiovascular diseases and metabolic disorders. *Kardiol Pol.* 2011;69 Suppl 3:89 –93.

- 132) Xie H, Luo G, Zheng Y et al. Lowered circulating apelin is significantly associated with an increased risk for hypertension: a meta-analysis. *Clin Exp Hypertens*. 2017;39:435–40.
- 133) Chen T, Wu B, Lin R. Association of apelin and apelin receptor with the risk of coronary artery disease: A meta-analysis of observational studies. *Oncotarget*. 2015;8(34).
- 134) Zou MX, Liu HY, Haraguchi Y et al. Apelin peptides block the entry of human immunodeficiency virus (HIV). *FEBS Lett*. 2000;473: 15–8.
- 135) Gong L, Bai B, Chen J. Omentin: A new adipokine. *Sheng li ke xue jin zhan*. *Progress in physiology*. 2011;42:390–3.
- 136) Zhou JY, Chan L, Zhou SW. Omentin: linking metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2014;12(1):136–43.
- 137) Tan BK, Adya R, Randeve HS. Omentin: a novel link between inflammation, diabetes, and cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*. 2010;20:143–8.
- 138) Menzel J, di Giuseppe R, Biemann R et al. Omentin-1 and risk of myocardial infarction and stroke: results from the EPIC-Potsdam cohort study. *Atherosclerosis*. 2016;251:415–21.
- 139) Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y et al. TNF blockade: an inflammatory issue. *Ernst Schering Res Found Workshop*. 2006;(56):161-86.
- 140) Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87–91.
- 141) Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science*. 1996;271:665–668.
- 142) Charles Serhan, Peter Ward, Derek Gilroy. *Fundamentals of Inflammation*. *Yale J Biol Med*. 2011; 84(1): 64–65.
- 143) Εγκυκλοπαίδεια Πάπυρος Λαρούς Μπριτάνικα. Έκδοση 1996.
- 144) Roma Pahwa; Ishwarlal Jialal. *Chronic Inflammation*. *StatPearls*.

- 145) Emanuel Rubin. Βασική παθολογική ανατομική, Τρίτη έκδοση. 2002. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.
- 146) Khazen W, M'bika J. P, Tomkiewicz C et al. "Expression of macrophage- selective markers in human and rodent adipocytes". FEBS Lett. 2005;579 (25): 5631–4.
- 147) Davies LC, Jenkins SJ, Allen JE et al. Tissue-resident macrophages. Nat Immunol. 2013;14(10):986-95.
- 148) Élie Metchnikoff. Encyclopædia Britannica, Inc.
- 149) Osborn O. & Olefsky J. M. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. Nat. Med. 2012;18, 363–374.
- 150) Stuart P. Weisberg, Daniel McCann, Manisha Desai et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J. Clin. Invest. 2003;112, 1796–1808.
- 151) David Patsouris, Ping-Ping Li, Divya Thapar et al. Ablation of CD11c- positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals. Cell Metab. 2008;8, 301–309.
- 152) Arkan M. C et al. IKK- β links inflammation to obesity induced insulin resistance. Nat. Med. 2005;11, 191–198.
- 153) Myoung Sook Han, Dae Young Jung, Caroline Morel et al. JNK expression by macrophages promotes obesity-induced insulin resistance and inflammation. Science. 2013;339, 218–222.
- 154) Sica A. & Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. J. Clin. Invest. 2012;122, 787–795.
- 155) Spite M, Hellmann J, Tang Y et al. Deficiency of the leukotriene B4 receptor, BLT - 1, protects against systemic insulin resistance in diet-induced obesity. J. Immunol. 2011;187, 1942–1949.
- 156) Ippei Shimizu, Yohko Yoshida, Junji Moriya et al. Semaphorin 3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. Cell Metab. 2013;18,491–504.
- 157) Mantovani A, Sica A, Sozzani S et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. Trends Immunol. 2004;25:677–86.

- 158) Cucak H, Grunnet LG, Rosendahl A. Accumulation of M1-like macrophages in type 2 diabetic islets is followed by a systemic shift in macrophage polarization. *J Leukoc Biol.* 2014;95:149–60.
- 159) Martinez FO, Gordon S, Locati M et al. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J Immunol.* 2006;177:7303–11.
- 160) Arnold CE, Whyte CS, Gordon P et al. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo. *Immunology.* 2014;141:96–110.
- 161) Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1-M2 polarization balance. *Front Immunol.* 2014;5:614.
- 162) Orr JS, Puglisi MJ, Ellacott KL et al. Toll-like receptor 4 deficiency promotes the alternative activation of adipose tissue macrophages. *Diabetes.* 2012;61:2718–27.
- 163) Kitade H, Sawamoto K, Nagashimada M et al. CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/ M2 status. *Diabetes.* 2012;61:1680–90.
- 164) Nagareddy PR, Kraakman M, Masters SL et al. Adipose tissue macrophages promote myelopoiesis and monocytosis in obesity. *Cell Metab.* 2014;19:821–35.
- 165) Amano SU, Cohen JL, Vangala P et al. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metab.* 2014;19:162–71.
- 166) Lumeng C. N, Del Proposto J. B, Westcott D. J et al. Phenotypic switching of adipose tissue macrophages with obesity is generated by spatiotemporal differences in macrophage subtypes. *Diabetes.* 2008; 57: 3239–3246.
- 167) Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein polarizes human macrophages to an M1 phenotype and inhibits transformation to the M2 phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:1397–1402.
- 168) Mosser DM. The many faces of macrophage activation. *J Leukoc Biol.* 2003;73:209–12.

- 169) Pluddemann A, Neyen C, Gordon S. Macrophage scavenger receptors and host-derived ligands. *Methods*. 2007;43: 207–17.
- 170) Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:958–69.
- 171) Zizzo G, Cohen PL. The PPAR-gamma antagonist GW9662 elicits differentiation of M2c-like cells and upregulation of the MerTK/Gas6 axis: a key role for PPAR-gamma in human macrophage polarization. *J Inflamm (Lond)*. 2015;12:36.
- 172) Vieira-Potter VJ. Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues. *Cell Microbiol*. 2014;16:1484–92.
- 173) Qiu Y, Nguyen KD, Odegaard JI et al. Eosinophils and type 2 cytokine signaling in macrophages orchestrate development of functional beige fat. *Cell*. 2014;157: 1292-1308.
- 174) Lumeng CN, Maillard I, Saltiel AR. T-ing up inflammation in fat. *Nat Med*. 2009;15: 846-847.
- 175) Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med*. 2009;15: 930-939.
- 176) Guyton & Hall, ιατρική φυσιολογία, ένατη έκδοση.
- 177) Saladin K. *Anatomy and Physiology: the Unit of Form and Function* (6 ed.). (2012). New York: McGraw Hill.
- 178) Sabin FR, Doan CA. The Relation Of Monocytes And Clasmatocytes To Early Infection In Rabbits With Bovine Tubercle Bacilli. *J Exp Med*. 1927;46:627– 644.
- 179) L. Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Robert O Kelley. Βασική ιστολογία. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδη. 1991; 6^η έκδοση.
- 180) Ghattas A, Griffiths HR, Devitt A et al. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(17):1541-51.
- 181) Lynch DT, Hall J, Foucar K. How I investigate monocytosis. *Int J Lab Hematol*. 2018;40(2):107-114.
- 182) Νίκη Ι. Αγνάντη, Β. Μαλάμου-Μήτση, Δ. Στεφάνου, Μ. Μπάη. Γενική παθολογία και Παθολογική ανατομική. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. 2001.

- 183) Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*. 2010;116(16):e74-80.
- 184) Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*. 1989;74:2527–34.
- 185) Ancuta P, Rao R, Moses A et al. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16⁺ monocytes. *J Exp Med*. 2003;197:1701–7.
- 186) Brian K Stansfield, David A Ingram. Clinical significance of monocyte heterogeneity. *Clin Transl Med*. 2015; 4: 5.
- 187) Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM et al. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14⁺ CD16⁺) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? *J Leukoc Biol*. 2008;84:1271–1278.
- 188) Wouters K, Gaens K, Bijnen M et al. Circulating classical monocytes are associated with CD11c⁺ macrophages in human visceral adipose tissue. *Sci Rep*. 2017;7:42665.
- 189) Wu H, Perrard XD, Wang Q et al. CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(2):186-92.
- 190) Wong KL, Tai JJ, Wong WC et al. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood*. 2011;118:e16–31.
- 191) Cros J, Cagnard N, Woollard K et al. Human CD14^{dim} monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*. 2010;33:375–86.
- 192) J Skrzeczyńska-Moncznik, M Bzowska, S Loseke et al. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10. *Scand J Immunol*. 2008;67: 152–159.
- 193) Tapp LD, Shantsila E, Wrigley BJ et al. TLR4 expression on monocyte subsets in myocardial infarction. *J Intern Med*. 2013;273:294–305.
- 194) Zawada AM, Rogacev KS, Rotter B et al. SuperSAGE evidence for CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes as a third monocyte subset. *Blood*. 2011;118:50–61.
- 195) Manuela Mandl, Susanne Schmitz, Christian Weber et al. Characterisation of the CD14⁺⁺CD16⁺ Monocyte Population in Human Bone Marrow. *PloS One*. 2014;9: e112140.

- 196) L D Tapp, E Shantsila, B J Wrigley et al. The CD14⁺⁺ CD16⁺ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction. *J Thromb Haemost.* 2012;10: 1231–1241.
- 197) Rogacev KS, Cremers B, Zawada AM et al. CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes independently predict cardiovascular events: a cohort study of 951 patients referred for elective coronary angiography. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(16):1512-20.
- 198) Weber C, Shantsila E, Hristov M et al. Role and analysis of monocyte subsets in cardiovascular disease. Joint consensus document of the European Society of Cardiology (ESC) Working Groups "Atherosclerosis & Vascular Biology" and "Thrombosis". *Thromb Haemost.* 2016;116(4):626-37.
- 199) Varol C, Landsman L, Fogg D.K et al. Monocytes give rise to mucosal, but not splenic, conventional dendritic cells. *J. Exp. Med.* 2007;204, 171–180.
- 200) Geissmann F, Auffray C, Palframan R et al. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol. Cell Biol.* 2008; 86, 398–408.
- 201) Auffray C, Fogg D, Garfa M et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science* 2007;317:666–70.
- 202) Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D et al. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation.* 2004;110(12):1564-71.
- 203) De Almeida W.S., de Jesus Lima L.C., da Cunha R.R et al. Post-exercise blood pressure responses to cycle and arm-cranking. *Science in Sports.* 2010. 25, 74- 80.
- 204) Whitlock G, Lewington S, Sherliker P et al. Body-massindex and cause- specific mortality in 900 000 adults: Collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009;373:1083–1096.
- 205) Alice P Duque, Luiz F Rodrigues Junior, Mauro F F Mediano et al. Emerging concepts in metabolically healthy obesity. *Am J Cardiovasc Dis.* 2020;10(2):48-61.
- 206) Phillips CM, Perry IJ. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E1610–E1619.
- 207) Ziegler-Heitbrock L. The CD14⁺CD16⁺blood monocytes: Their role in infection and inflammation. *J Leukoc Biol.* 2007;81:584–592.

- 208) Devevre EF, Renovato-Martins M, Clement K et al. Profiling of the three circulating monocyte subpopulations in human obesity. *J Immunol.* 2015;194:3917– 3923.
- 209) Whelton SP, Meeusen JW, Donato LJ et al. Evaluating the atherogenic burden of individuals with a Friedewald-estimated low-density lipoprotein cholesterol < 70 mg/dL compared with a novel low-density lipoprotein estimation method. *J Clin Lipidol.* 2017;11(4):1065-1072.
- 210) Levey AS, Stevens LA, Schmid CH et al. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):604-12.
- 211) Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutrition.* 1989;5(5):303-11.
- 212) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
- 213) Mihir Halder, Sayantani Nath, Sumita Jha. Flow Cytometry and Its Utility. *Chromosome Structure and Aberrations.* pp 109-126.
- 214) Heimbeck I, Hofer TP, Eder C et al. Standardized single-platform assay for human monocyte subpopulations: Lower CD14⁺ CD16⁺ monocytes in females. *Cytometry A.* 2010;77(9):823-30.
- 215) Zawada AM, Fell LH, Untersteller K et al. Comparison of two different strategies for human monocyte subsets gating within the large-scale prospective CARE FOR HOME Study. *Cytometry A.* 2015;87: 750-8.
- 216) Pratley RE, Wilson C, Bogardus C. Relation of the white blood cell count to obesity and insulin resistance: effect of race and gender. *Obes Res.* 1995;3:563–571.
- 217) Madjid M, Awan I, Willerson JT et al. Leukocyte count and coronary heart disease: implications for risk assessment. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 44: 1945–1956.
- 218) Kullo J, Hensrud DD, Allison TG. Comparison of numbers of circulating blood monocytes in men grouped by body mass index (< 25, 25 to < 30, > or = 30). *Am J Cardiol.* 2002; 89: 1441–1443.

- 219) Babio N, Ibarrola-Jurado N, Bullo M et al. White blood cell counts as risk markers of developing metabolic syndrome and its components in the PREDIMED study. *PLoS ONE*. 2013;8: e58354.
- 220) Ilavska S, Horvathova M, Szabova M et al. Association between the human immune response and body mass index. *Hum Immunol*. 2012; 73: 480–485.
- 221) Rogacev KS, Ulrich C, Blomer L et al. Monocyte heterogeneity in obesity and subclinical atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2010; 31: 369–376.
- 222) Hulsmans M, Sinnaeve P, Van der Schueren B et al. Decreased miR-181a expression in monocytes of obese patients is associated with the occurrence of metabolic syndrome and coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(7):E1213-8.
- 223) Tanaka S, Isoda F, Ishihara Y et al. T lymphopaenia in relation to body mass index and TNF-alpha in human obesity: adequate weight reduction can be corrective. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54: 347–354.
- 224) Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33(2):431-53.
- 225) Ishwarlal Jialal, Sridevi Devaraj & Uthra Rajamani. Dysregulation of monocyte biology in metabolic syndrome. *Expert Rev. Endocrinol. Metab*. 2014;9(3), 213–221.
- 226) Natal C, Restituto P, Inigo C et al. The Proinflammatory mediator CD40 ligand is increased in the metabolic syndrome and modulated by adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(6):2319-27.
- 227) Jialal I, Huet BA, Kaur H et al. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2012;35(4):900-4.
- 228) Devaraj S, Chen X, Adams-Huet B et al. Increased expression of Fc-gamma receptors on monocytes in patients with nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(9):E1510-15.
- 229) Wang ZH, Zhang W, Gong HP et al. Expression of STAMP2 in monocytes associates with cardiovascular alterations. *Eur J Clin Invest*. 2010;40(6):490-6.

- 230) Loughrey BV, McGinty A, Young IS et al. Increased circulating CC chemokine levels in the metabolic syndrome are reduced by low-dose atorvastatin treatment: evidence from a randomized controlled trial. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(6):800-6.
- 231) Nakagomi A, Sasaki M, Ishikawa Y et al. Upregulation of monocyte tissue factor activity is significantly associated with low-grade chronic inflammation and insulin resistance in patients with metabolic syndrome. *Circ J*. 2010;74(3):572-7.
- 232) Nakagomi A, Sasaki M, Ishikawa Y et al. Upregulation of monocyte tissue factor activity is significantly associated with carotid intima-media thickness in patients with metabolic syndrome. *J Atheroscler Thromb*. 2011;18(6):475-86.
- 233) Hulsmans M, Geeraert B, De Keyzer D et al. Interleukin-1 receptor-associated kinase-3 is a key inhibitor of inflammation in obesity and metabolic syndrome. *PLoS One*. 2012;7(1):e30414.
- 234) Sage AT, Holtby-Ottenhof S, Shi Y et al. Metabolic syndrome and acute hyperglycemia are associated with endoplasmic reticulum stress in human mononuclear cells. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20(4):748-55.
- 235) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114(12):1752-61.
- 236) Mangge H, Schauenstein K, Stroedter L et al. Low grade inflammation in juvenile obesity and type 1 diabetes associated with early signs of atherosclerosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2004;112(7): 378-82.
- 237) Deirdre F Waterhouse, Ronan A Cahill, Frances Sheehan et al. Prediction of calculated future cardiovascular disease by monocyte count in an asymptomatic population *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(1): 177–187.
- 238) Satoh N, Shimatsu A, Himeno A et al. Unbalanced M1/M2 phenotype of peripheral blood monocytes in obese diabetic patients: effect of pioglitazone. *Diabetes Care*. 2010; 33: e7.
- 239) Chen X, Devaraj S. Monocytes from metabolic syndrome subjects exhibit a proinflammatory M1 phenotype. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014;12(7):362-6.
- 240) Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.

- 241) Gamberg CG, Valmu L, Fagerholm S et al. Leukocyte integrins and inflammation. *Cell Mol Life Sci.* 1998;54:549–55.
- 242) Stoger JL, Gijbels MJ, van der Velden S et al. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2012;225: 461–8.
- 243) Czepluch FS, Bergler A, Waltenberger J. Hypercholesterolaemia impairs monocyte function in CAD patients. *J Intern Med.* 2007;261:201–4.
- 244) Serrano CV Jr, Yoshida VM, Venturinelli ML et al. Effect of simvastatin on monocyte adhesion molecule expression in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2001;157: 505–12.
- 245) Weber C, Erl W, Weber KS et al. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30: 1212–7.
- 246) Nozawa N, Hibi K, Endo M et al. Association between circulating monocytes and coronary plaque progression in patients with acute myocardial infarction. *Circ J.* 2010;74:1384–91.
- 247) Poitou C, Dalmas E, Renovato M et al. CD14^{dim}CD16⁺ and CD14⁺CD16⁺ monocytes in obesity and during weight loss: relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31 2322-30.
- 248) Stabe C, Vasques AC, Lima MM et al. Neck circumference as a simple tool for identifying the metabolic syndrome and insulin resistance: results from the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013; 78: 874-81.
- 249) Ridker PM, Everett BM, Thuren T et al. CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.* 2017; 377: 1119- 31.
- 250) Wonner R, Wallner S, Orsó E et al. Effects of acute exercise on monocyte subpopulations in metabolic syndrome patients. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(4):596-605.
- 251) Khan IM, Pokharel Y, Dadu RT et al. Postprandial Monocyte Activation in Individuals With Metabolic Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(11):4195- 4204.

- 252) Johanna L Grün, Aaron N Manjarrez-Reyna, Angélica Y Gómez-Arauz et al. High-Density Lipoprotein Reduction Differentially Modulates to Classical and Nonclassical Monocyte Subpopulations in Metabolic Syndrome Patients and in LPS-Stimulated Primary Human Monocytes In Vitro. *J Immunol Res.* 2018;2018:2737040.
- 253) Bouhleb MA, Derudas B, Rigamonti E et al. PPAR-gamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties. *Cell Metab.* 2007;6(2):137-43.
- 254) Powell LA, Crowe P, Kankara C et al. Restoration of adipose function in obese glucose-tolerant men following pioglitazone treatment is associated with CCAAT enhancer-binding protein beta up-regulation. *Clin Sci.* 2012; 123: 135–146.
- 255) Terasawa T, Aso Y, Omori K et al. Bezafibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor α agonist, decreases circulating CD14⁺ CD16⁺ monocytes in patients with type2 diabetes. *Transl Res.* 2015;165 336-45.
- 256) Patiño R, Ibarra J, Rodriguez A et al. Circulating monocytes in patients with diabetes mellitus, arterial disease, and increased CD14 expression. *Am J Cardiol.* 2000;85 1288- 91.
- 257) Marta Czesnikiewicz-Guzik, Malgorzata Bzowska, Barbara Jasiewicz-Honkisz et al. Abstract 5417: Peripheral Blood Monocytes Are Activated in Patients With Well Controlled Hypertension: Implications for the Understanding of the Residual Cardiovascular Risk. *Circulation.* 2009;120 S1088.
- 258) Tomasz J Guzik, Malgorzata Bzowska, Marta Czesnikiewicz-Guzik et al. Abstract 665: Hypertension Is Associated With Phenotypic Changes Of Peripheral Blood Monocytes. *Circulation.* 2007;116 II 123.
- 259) Zhou X, Yuan F, Ji WJ et al. High-salt intake induced visceral adipose tissue hypoxia and its association with circulating monocyte subsets in humans. *Obesity (Silver Spring).* 2014;22 1470-6.
- 260) Zhou X, Zhang L, Ji WJ et al. Variation in dietary salt intake induces coordinated dynamics of monocyte subsets and monocyte-platelet aggregates in humans: implications in end organ inflammation. *PLoS One.* 2013;8 e60332.

- 261) Dzau VJ, Bernstein K, Celermajer D et al. Pathophysiologic and therapeutic importance of tissue ACE: a consensus report. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2002;16(2):149- 60.
- 262) Krychtiuk KA, Kastl SP, Pfaffenberger S et al. Small high-density lipoprotein is associated with monocyte subsets in stable coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2014;237: 589-96.
- 263) Huang ZS & Chiang BL. Correlation between serum lipid profiles and the ratio and count of the CD16+ monocyte subset in peripheral blood of apparently healthy adults. *J Formos Med Assoc.* 2002;101: 11-7.
- 264) Imanishi T, Ikejima H, Tsujioka H et al. Association of monocyte subset counts with coronary fibrous cap thickness in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis.* 2010;212: 628-35.
- 265) Escate R, Padro T & Badimon L. LDL accelerates monocyte to macrophage differentiation: Effects on adhesion and anoikis. *Atherosclerosis.* 2016;246: 177-86.
- 266) Hjuler Nielsen M, Irvine H, Vedel S et al. Elevated atherosclerosis-related gene expression, monocyte activation and microparticle-release are related to increased lipoprotein-associated oxidative stress in familial hypercholesterolemia. *PLoS One.* 2015;10 e0121516.
- 267) Dai Perrard XY, Lian Z, Bobotas G et al. Effects of n-3 fatty acid treatment on monocyte phenotypes in humans with hypertriglyceridemia. *J Clin Lipidol.* 2017, 11(6):1361-13.
- 268) Rogacev KS, Seiler S, Zawada AM et al. CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *Eur Heart J.* 2011;32(1):84-92.
- 269) R&D Systems. Human Resistin Immunoassay Quantikine®ELISA. Catalog Number DRSN00, SRSN00, PDRSN00.
- 270) Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K et al. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007;156(2):279-84.
- 271) Qi Q, Wang J, Li H et al. Associations of resistin with inflammatory and fibrinolytic markers, insulin resistance, and metabolic syndrome in middle-aged and older Chinese. *Eur J Endocrinol.* 2008;159(5):585-93.

- 272) Silha JV, Krsek M, Skrha JV et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol.* 2003;149(4):331-5.
- 273) Tsai JC, Sheu SH, Chiu HC et al. Association of peripheral total and differential leukocyte counts with metabolic syndrome and risk of ischemic cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007;23(2):111-8.
- 274) Takata Y, Osawa H, Kurata M et al. Hyperresistinemia is associated with coexistence of hypertension and type 2 diabetes. *Hypertension.* 2008;51(2):534-9.
- 275) Song G, Wu X, Zhang P et al. High-density lipoprotein inhibits ox-LDL-induced adipokine secretion by upregulating SR-BI expression and suppressing ER Stress pathway. *Sci Rep.* 2016;6:30889.
- 276) Kunnari A, Ukkola O, Päivänsalo M et al. High plasma resistin level is associated with enhanced highly sensitive C-reactive protein and leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2755-6.
- 277) Kunnari AM, Savolainen ER, Ukkola OH et al. The expression of human resistin in different leucocyte lineages is modulated by LPS and TNF alpha. *Regul Pept.* 2009;157(1-3):57-63.
- 278) Furugen R, Hayashida H, Saito T. Porphyromonas gingivalis and Escherichia coli lipopolysaccharide causes resistin release from neutrophils. *Oral Dis.* 2013;19(5):479-83.
- 279) Peng Y, Qi Y, Huang F et al. Down-regulated resistin level in consequence of decreased neutrophil counts in untreated Grave's disease. *Oncotarget.* 2016;7(48):78680- 78687.
- 280) Liberale L, Bertolotto M, Carbone F et al. Resistin exerts a beneficial role in atherosclerotic plaque inflammation by inhibiting neutrophil migration. *Int J Cardiol.* 2018;272:13-19.
- 281) Aquilante CL, Kosmiski LA, Knutsen SD et al. Relationship between plasma resistin concentrations, inflammatory chemokines, and components of the metabolic syndrome in adults. *Metabolism.* 2008;57(4):494-501.

- 282) Dixon JB, O'Brien PE. Obesity and the white blood cell count: changes with sustained weight loss. *Obes Surg.* 2006;16(3):251-7.
- 283) Furuncuoğlu Y, Tulgar S, Dogan AN et al. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(7):1300-6.