



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ – ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ RETINOL BINDING PROTEIN 4
(RBP₄) ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΟ ΣΩΜΑΤΙΚΟ
ΒΑΡΟΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΑΙΜΙΑ**

ΧΡΗΣΤΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2014

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή 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 κ. Χρήστου Γεωργίου: 15-2-2008

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 635/15-4-2008

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κιόρτσης Δημήτριος-Νικηφόρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας

Μέλη

Ελισάφ Μωυσής Καθηγητής Παθολογίας

Τσελέπης Αλέξανδρος, Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 19-5-2008

«Ο ρόλος της Retinol Binding Protein 4 (RBP₄) σε άτομα με αυξημένο σωματικό βάρος και υπερτριγλυκεριδαιμία».

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 757^α/19-12-2013

1. Γουδέβενος Ιωάννης, Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Ελισάφ Μωυσής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Καλφακάκου Βασιλική, Καθηγήτρια Φυσιολογίας με έμφαση στην Περιβαλλοντική Φυσιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Κιόρτσης Δημήτριος-Νικηφόρος, Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Κωλέττης Θεόφιλος, Καθηγητής Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Τσελέπης Αλέξανδρος, Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 16-1-2014

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Φωτόπουλος Ανδρέας

Καθηγητής Πυρηνικής Ιατρικής



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Η ΣΥΝΔΕΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΗΣ ΡΕΤΙΝΟΛΗΣ 4 [RETINOL BINDING PROTEIN 4 (RBP₄)]

1. ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ ΤΗΣ RBP ₄	5
α. Δομή της RBP ₄	5
i) Πρωτοταγής δομή	5
ii) Δευτεροταγής δομή.....	5
iv) Τριτοταγής δομή της apo-RBP ₄ σε σχέση με της holo-RBP ₄	8
v) Σύμπλεγμα RBP ₄ -τρανσθυρετίνης.....	9
β. Μεταβολισμός της RBP ₄	9
i) Παραγωγή της RBP ₄	9
ii) Απέκκριση της RBP ₄	10
γ. Ρόλος της RBP ₄ σε σχέση με τη βιταμίνη A	11
i) Λιποκαλίνες	11
ii) Μεταβολισμός της βιταμίνης A.....	11
iii) Λειτουργική σημασία της μεταφοράς της βιταμίνης A, μέσω της RBP ₄	16
δ. Συσχέτιση της RBP ₄ με δημογραφικούς παράγοντες.....	17
ε. Συσχέτιση της RBP ₄ με τον τρόπο ζωής	17
2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ RBP ₄	18
α. Σακχαρώδης Διαβήτης	18
i) Σχέση της RBP ₄ με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους ινσουλινοαντίστασης.....	18
ii) Μηχανισμός πρόκλησης ινσουλινοαντίστασης από την RBP ₄	19
iii) Σχέση της RBP ₄ με τη χαμηλού βαθμού φλεγμονή.....	23
iv) Επίδραση των αντιδιαβητικών φαρμάκων στην RBP ₄	24
β. Παχυσαρκία.....	26
i) Σχέση της RBP ₄ με κλινικές παραμέτρους παχυσαρκίας	26
ii) Σχέση της RBP ₄ με παραμέτρους εκτίμησης του υποδόριου και του σπλαχνικού λιπώδη ιστού	27
iii) Σχέση της RBP ₄ με παραμέτρους εκτίμησης της έκτοπης εναπόθεσης λιπώδη ιστού	28

iv) Σχέση της RBP ₄ με άλλες λιποκίνες	28
v) Σχέση της RBP ₄ με το Σύνδρομο υπνικής άπνοιας	30
vi) Μεταβολές της RBP ₄ μετά από θεραπευτικές παρεμβάσεις για απώλεια βάρους ..	30
γ. Μεταβολικό Σύνδρομο	37
δ. Μεταβολισμός λιποπρωτεϊνών	39
i) Σχέση της RBP ₄ με λιπιδαιμικές παραμέτρους	39
ii) Μεταβολές της RBP ₄ μετά από χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων	39
ε. Καρδιαγγειακή νόσος	41
στ. Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών	44
B.ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	
1. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ	47
α. Γενετικοί παράγοντες	47
β. Ορμόνες που εκκρίνονται από το γαστρεντερικό σύστημα	47
γ. Λιποκίνες	48
i) Λεπτίνη	48
ii) Αντιπονεκτίνη	50
iii) Ρεσιστίνη	53
iv) Βισφατίνη	54
v) Παράγων νέκρωσης των όγκων α	55
vi) Ιντερλευκίνη-6	56
2. ΔΙΑΓΝΩΣΗ	57
3. ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ	58
4. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	60
α. Διαιτητική αγωγή	60
i) Δίαιτα χαμηλών θερμίδων	60
ii) Δίαιτα πολύ χαμηλών θερμίδων	60
iii) Δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες	60
iv) Δίαιτα χαμηλών λιπαρών	61
β. Σωματική δραστηριότητα	61
γ. Συμπεριφορική θεραπεία	62
δ. Φαρμακοθεραπεία	63
i) Ορλιστάτη	63
ii) Rimonabant	65

ε. Χειρουργική αντιμετώπιση.....	65
στ. Κατευθυντήριες οδηγίες	66
Γ. ΥΠΕΡΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΑΙΜΙΑ	
1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	71
2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ	72
3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ.....	73
α. Πρωτοπαθής υπερτριγλυκεριδαιμία.....	73
i) Οικογενής χυλομικροναιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου I).....	73
ii) Πρωτοπαθής μικτή υπερλιπιδαιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου V)	74
iii) Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IV).....	75
iv) Οικογενής συνδυασμένη υπερλιποπρωτεϊναιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IIβ).....	76
v) Οικογενής δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III)	77
β. Δευτεροπαθής υπερτριγλυκεριδαιμία	78
4. ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ.....	81
α. Καρδιαγγειακός κίνδυνος.....	81
i) Μεταβολικό Σύνδρομο	81
ii) Μικρές πυκνές LDL.....	83
iii) Κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών	85
β. Οξεία παγκρεατίτιδα	86
γ. Σύνδρομο χυλομικροναιμίας	86
δ. Αξιολόγηση του κινδύνου, ανάλογα με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού	87
5. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΑΙΜΙΑΣ	88
α. Κατευθυντήριες οδηγίες σύμφωνα με NCEP ATP III.....	88
β. Φάρμακα για την αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας.....	90
i) Φιμπράτες	90
ii) Νικοτινικό οξύ	95
iii) Στατίνες	97
iv) ω-3 λιπαρά οξέα.....	101

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	107
B. ΥΛΙΚΟ	109
Γ. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	113

1. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ.....	113
2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ RBP ₄	113
α) Βασικές αρχές της μεθόδου	113
β) Χρησιμοποιούμενα υλικά.....	115
γ) Διαδικασία της μεθόδου	116
δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων	117
3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΨΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ.....	118
α) Βασικές αρχές της μεθόδου	118
β) Χρησιμοποιούμενα υλικά.....	120
γ) Διαδικασία της μεθόδου	122
δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων	123
4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ LDL.	125
α) Βασικές αρχές της μεθόδου	125
β) Χρησιμοποιούμενα υλικά.....	128
γ) Διαδικασία της μεθόδου	128
δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων	129
5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	133
Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	135
1. ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	135
2. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ.....	138
3. ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΦΑΙΝΟΦΙΜΠΡΑΤΗ.....	148
4. ΑΓΩΓΗ ΜΕ RIMONABANT.....	151
Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	153
1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ RBP ₄	153
2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	159
ΣΤ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ	163
Ζ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ	165
Η. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	167

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

**A. Η ΣΥΝΔΕΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΗΣ ΡΕΤΙΝΟΛΗΣ 4
[RETINOL BINDING PROTEIN 4 (RBP₄)]**

1. ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ ΤΗΣ RBP₄

α. Δομή της RBP₄ [1-5]

i) Πρωτοταγής δομή

Η Retinol Binding Protein 4 (RBP₄) είναι μία μονομερής πρωτεΐνη μοριακού βάρους 21 kDa. Συγκεκριμένα, η RBP₄ αποτελείται από μία μονή πεπτιδική αλυσίδα 182 αμινοξέων, μη συνδεδεμένη με λιπίδια (εκτός της ρετινόλης) ή υδατάνθρακες.

ii) Δευτεροταγής δομή

Η δευτεροταγής δομή της πεπτιδικής αλυσίδας της RBP₄ αποτελείται κατά σειρά από τις εξής 4 δομές:

- Ένα αμινοτελικό άκρο. Από το κατάλοιπο 1 έως 20.
- Ένα πυρήνα β-πτυχωτής επιφάνειας. Σχηματίζεται από 8 β-πτυχωτές επιφάνειες (A,B,C,D,E,F,G,H), με τοπολογία +1, +1, +1, +1, +1, +1, +1, οι οποίες εκτείνονται μεταξύ των καταλοίπων 21 και 146. Οι αγκύλες που συνδέουν μεταξύ τους τις 8 β-πτυχωτές επιφάνειες είναι βραχείες σε μήκος, αποτελούμενες από 2-3 κατάλοιπα αμινοξέων.
- Μία α-έλικα. Πρόκειται για μια 3 στροφών α-έλικα, η οποία σχηματίζεται από τα κατάλοιπα 147-160.
- Ένα καρβοξυτελικό άκρο. Από το κατάλοιπο 161 έως 182.

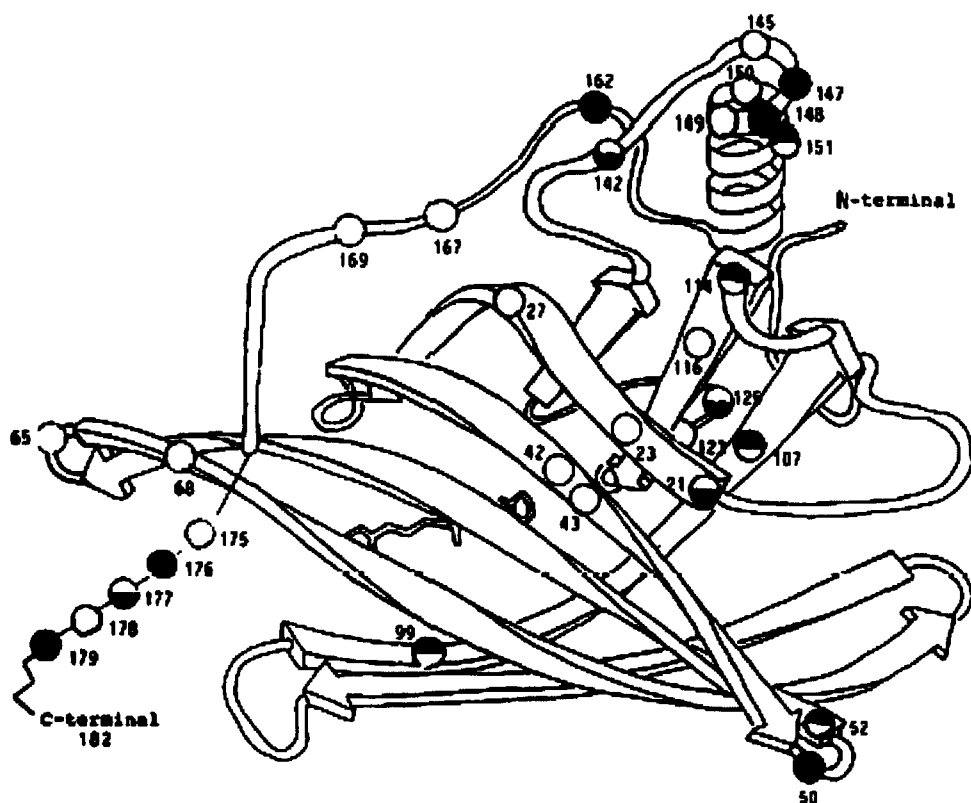
iii) Τριτοταγής δομή της hol-RBP₄ (RBP₄-ρετινόλη)

Η RBP₄ αποτελεί μια μονή σφαιρική δομή διαμέτρου περίπου 40 Å, στην οποία το κυριότερο και χαρακτηριστικότερο στοιχείο της είναι ο πυρήνας από 8 αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες, σαν “βαρέλι”, το οποίο τυλίσσεται γύρω από την επιφάνεια ενός επιπεδωμένου κώνου, έτσι ώστε, μετά από μια πλήρη περιμετρική κάλυψη του κώνου, το πλευρικό τμήμα της τελευταίας β-πτυχωτής επιφάνειας Ε καταλήγει να βρεθεί σε πλευρική αντιπαράθεση με τμήμα της επιφάνειας Α (Εικόνα 1). Το “βαρέλι” αυτό είναι κλειστό στο ένα άκρο και ανοικτό στο υδατικό περιβάλλον στο άλλο άκρο. Το μόριο της ρετινόλης βρίσκεται μέσα στο “βαρέλι” τοποθετημένο κατά μήκος του άξονα του “βαρελιού”.

Το “βαρέλι” φαίνεται να σχηματίζεται από 2 ορθογώνια επίπεδα β-πτυχωτών επιφανειών, με τη ρετινόλη δεσμευμένη μεταξύ αυτών των 2 επιπέδων “εν είδει σάντουιτς”. Το κορυφαίο επίπεδο, όπως αποδίδεται στην εικόνα 1, αποτελείται από τις β-

πτυχωτές επιφάνειες ABCDEF, ενώ το βασικό επίπεδο από τις επιφάνειες BAHGF, ώστε τα ABF συνυπάρχουν και στα 2 επίπεδα.

Το πρότυπο των δεσμών υδρογόνου στον πυρήνα της δομής δεν είναι εντελώς κανονικό, ειδικά στην αγκύλη μεταξύ των καταλοίπων 26-41. Αυτή η μη κανονικότητα οφείλεται εν μέρει στην έντονη στροφή των β-πτυχωτών επιφανειών στα κατάλοιπα 27, 41 και 102, όπου οι κοινές και στα δύο ορθογώνια επίπεδα β-πτυχωτές επιφάνειες περνούν απέναντι, από το ένα επίπεδο στο άλλο. Κάθε ορθογώνιο επίπεδο έχει 2 απέναντι (κατά μήκος μιας διαγωνίου, δηλαδή μη διαδοχικές) κλειστές γωνίες και 2 απέναντι ανοικτές γωνίες. Συγκεκριμένα, οι 2 κλειστές γωνίες σχηματίζονται από τις κοινές β-πτυχωτές επιφάνειες που περνούν από το ένα επίπεδο στο άλλο στα σημεία των καταλοίπων 40 και 102. Αντίθετα οι 2 ανοικτές γωνίες σχηματίζονται από β-πτυχωτές επιφάνειες που απέχουν μεταξύ τους (δηλαδή βρίσκονται μεταξύ τους σε αντιπαράθεση και δε μεταπίπτουν από το ένα επίπεδο στο άλλο). Οι περισσότερες από τις συνδέσεις μέσα σε ένα ορθογώνιο επίπεδο συμβαίνουν κατά μήκος της διαγωνίου που συνδέει τις κλειστές γωνίες. Μόνο μία μεγάλη αγκύλη υπάρχει μεταξύ γειτονικών πτυχωτών επιφανειών (μεταξύ G και H), η οποία γεφυρώνεται από δισουλφιδικό δεσμό ανάμεσα στα κατάλοιπα 120 και 129.



Εικόνα 1. Σχέδιο του συμπλέγματος ρετινόλη- RBP₄, μαζί με τις μεταλλάξεις στην ακολουθία των αμινοξέων στον άνθρωπο, στους επίμυες και στα κουνέλια. Το σύμβολο  αντιπροσωπεύει τη μεταβολή στην ανθρώπινη ακολουθία από τη συμβατική αλληλουχία αμινοξέων,  στα κουνέλια,  στους επίμυες και  αντιπροσωπεύει τα σημεία που διαφέρουν και στα 3 είδη.

Στον πυρήνα της RBP₄, μια ανοικτή γωνία αποτελεί την είσοδο για τη σύνδεση της ρετινόλης και η άλλη ανοικτή γωνία κλείνεται αποτελεσματικά αφενός από ένα δεσμό άλατος μεταξύ Lys-17 και Asp-79 στην επιφάνεια της πρωτεΐνης και αφετέρου από ένα εσωτερικό δακτύλιο ο οποίος σχηματίζεται από 5 αρωματικούς δακτύλιους φαινυλαλανίνης (κατάλοιπα 15, 20, 45, 77, 86), οι οποίοι διατάσσονται γύρω από την πλευρική αλυσίδα της Met-53. Οι συνδέσεις που σχηματίζονται στη διαγώνιο που διέρχεται από τις κλειστές γωνίες κυριαρχούνται από το μόριο της ρετινόλης, το οποίο διχοτομεί αυτή τη διαγώνιο.

Τα κατάλοιπα που επενδύουν το θύλακο εντός του οποίου δεσμεύεται η ρετινόλη είναι υδρόφοβα ή μη φορτισμένα (μη ιονιζόμενα) υδρόφιλα και σχηματίζονται από την

αγκύλη μεταξύ των β-πτυχωτών επιφανειών A και B (1 κατάλοιπο) και από τις B (3 κατάλοιπα), C (2 κατάλοιπα), D (2 κατάλοιπα), E (1 κατάλοιπο), F (3 κατάλοιπα), G (3 κατάλοιπα). Έτσι, τα κατάλοιπα που βρίσκονται σε απόσταση το πολύ 4 Å από τη ρετινόλη είναι τα εξής 15: Leu-35, Phe-36, Ala-43, Phe-45, Ala-57, Val-61, Met-73, Gly-75, Met-88, Leu-97, Gln-98, His-104, Gln-117, Tyr-133, Phe-135.

Με την εξαίρεση της Met-88 στην E, ο θύλακος της σχηματίζεται από κατάλοιπα των β-πτυχωτών επιφανειών BCD και FGH. Αυτές οι 2 ομάδες β-πτυχωτών επιφανειών, όπως επίσης οι A και E διατάσσονται σε μια δίπτυχη περιστροφή γύρω από τον άξονα του “βαρελιού”. Τα κατάλοιπα 36-83 σχηματίζουν την επιφάνεια BCD και μια στροφή, ενώ τα κατάλοιπα 96-141 σχηματίζουν την επιφάνεια FGH και μια στροφή. Αυτές οι δύο επιφάνειες εμφανίζουν στατιστικά σημαντική ομολογία πρωτοταγούς δομής και συνεπώς έχει προταθεί η υπόθεση ότι το γονίδιο της RBP₄ έχει προκύψει εξελικτικά από το μερικό διπλασιασμό ενός γονιδίου.

Το μόριο της ρετινόλης βρίσκεται πλήρως μέσα στο μόριο της RBP₄, ώστε η επιφάνεια της ρετινόλης που είναι προσβάσιμη σε μόρια νερού να είναι μηδενική. Ο β-ιονικός δακτύλιος (β-ionone ring) της ρετινόλης βρίσκεται στο εσώτατο τμήμα του “βαρελιού”, βαθιά μέσα στο θύλακο της RBP₄, ενώ η ουρά ισοπρενίου (isoprene tail) εκτείνεται προς τα έξω, σχεδόν στην επιφάνεια της πρωτεΐνης.

Επιπρόσθετα, μια 3 στροφών α-έλικα σχηματίζεται από τα κατάλοιπα 147-160 και βρίσκεται στην πίσω πλευρά του κατώτερου ορθογώνιου επιπέδου του “βαρελιού”, όπως φαίνεται στην εικόνα 1. Έτσι, δημιουργούνται συνδέσεις μεταξύ των αμινοξέων της α-έλικας και των πλευρικών καταλοίπων των επιφανειών GHF του κατώτερου ορθογώνιου επιπέδου. Εκτός αυτού, η α-έλικα τελειώνει με την Cys-160, η οποία σχηματίζει δισουλφιδική γέφυρα με την Cys-4.

Όσον αφορά το καρβοξυτελικό τμήμα της RBP₄, η πρώτη ομάδα των καταλοίπων 161-174 διασχίζει την επιφάνεια του βαρελιού (εξωτερικά των επιφανειών H, A, B, C, D), σχηματίζοντας ένα δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ των καταλοίπων 170 και 174. Η δεύτερη ομάδα των καρβοξυτελικών καταλοίπων 175-182 φαίνεται να είναι ακανόνιστα διαταγμένη.

iv) Τριτοταγής δομή της apo-RBP₄ σε σχέση με της holo-RBP₄

Η RBP₄, όταν δεν είναι συνδεδεμένη με τη ρετινόλη, καλείται apo-RBP₄, ενώ όταν είναι συνδεδεμένη με τη ρετινόλη χαρακτηρίζεται ως holo-RBP₄. Οι μεταπτώσεις ανάμεσα

στην apo και holo μορφή δε συνοδεύονται από αδρές μεταβολές στην τριτοταγή δομή της RBP₄, αλλά περιορίζονται σε ελάχιστες μεταβολές σε μια βραχεία αγκύλη στην είσοδο του “βαρελιού”. Συγκεκριμένα, οι μεταπτώσεις ανάμεσα στην apo και holo μορφή συνεπάγονται μια στροφή της πεπτιδικής αλυσίδας μεταξύ των καταλοίπων 33 και 37, ώστε οι πλευρικές αλυσίδες των Leu-35 και Phe-36 αποκτούν διαφορετικές θέσεις. Έτσι, στη holo μορφή, ο δακτύλιος της Phe-36 βρίσκεται κατά το ήμισυ μέσα στην κοιλότητα που είναι συνδεδεμένη η ρετινόλη, αλλά στην apo μορφή μετακινείται προς την επιφάνεια του “βαρελιού” εντός της κοιλότητας και καταλαμβάνει το χώρο όπου το C13 κατάλοιπο της ρετινόλης ήταν τοποθετημένο στη holo μορφή. Αντίθετα, η Leu-35 μετακινείται έξω από την κοιλότητα στην apo μορφή.

ν) Σύμπλεγμα RBP₄-τρανσθυρετίνης

Η RBP₄ στο πλάσμα κυκλοφορεί ως μοριακό σύμπλεγμα με την τρανσθυρετίνη [transthyretin (TTR)-παλαιότερα γνωστή ως prealbumin] σε μοριακή αναλογία 1:1. Η TTR αποτελεί ένα τετραμερές μόριο πρωτεΐνης, το οποίο χρησιμεύει για τη μεταφορά στο πλάσμα των θυρεοειδικών ορμονών. Η TTR διαθέτει 4 θέσεις σύνδεσης με την RBP₄, με μία σταθερά σύνδεσης περίπου $1,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$. In vitro, ένα τετραμερές TTR μπορεί να συνδεθεί με 2 μόρια RBP₄. Επειδή όμως η συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα είναι περιορισμένη, η μοριακή αναλογία με την οποία συνδέονται η RBP₄ και η TTR είναι 1:1.

Στην αλληλεπίδραση RBP₄-TTR σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το καρβοξυτελικό άκρο της RBP₄. Επίσης, οι αγκύλες της εισόδου του “βαρελιού” της RBP₄ αποτελούν την περιοχή αλληλεπίδρασης RBP₄, ώστε το υδροξύλιο της ρετινόλης που είναι συνδεδεμένη με την RBP₄ να είναι πλήρως κρυμμένο μέσα στο σύμπλεγμα RBP₄-TTR. Έτσι, ο σχηματισμός του συμπλέγματος RBP₄-transthyretin σταθεροποιεί την αλληλεπίδραση της ρετινόλης με την RBP₄. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση της TTR με την RBP₄ είναι πολύ έντονα εξαρτώμενη από το pH, με τη μέγιστη σύνδεση να επιτυγχάνεται σε φυσιολογικό pH και την ικανότητα σύνδεσης να φθίνει σε pH ανώτερο ή κατώτερο του φυσιολογικού.

β. Μεταβολισμός της RBP₄ [1, 2, 6-9]

ι) Παραγωγή της RBP₄

Η RBP₄ παράγεται κυρίως από το ήπαρ, ενώ σε μικρότερο ποσοστό παράγεται από το λιπώδη ιστό (20-40% σε σχέση με την παραγωγή του ήπατος) και συγκεκριμένα από τα διαφοροποιημένα λιποκύτταρα, αλλά όχι από τα στρωματικά κύτταρα του λιπώδη ιστού.

Αφού η RBP₄ συντεθεί στα ηπατοκύτταρα, συνδέεται με τη ρετινόλη στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατοκυττάρων και στη συνέχεια η holο- RBP₄ εκκρίνεται στο πλάσμα.

Η παραγωγή της RBP₄ από το ήπαρ ρυθμίζεται σε σχέση με τη διαθεσιμότητα της βιταμίνης Α. Συγκεκριμένα, σε καταστάσεις έλλειψης βιταμίνης Α, η έκκριση της RBP₄ από το ήπαρ αναστέλλεται, με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται η RBP₄ μέσα στο ήπαρ και να μειώνονται τα επίπεδα της RBP₄ στο πλάσμα. Επίσης, σε κάθε περίπτωση νόσου του ήπατος, υπάρχει μειωμένη παραγωγή της RBP₄ από το ήπαρ και μείωση των επιπέδων της RBP₄ στο πλάσμα. Επιπλέον, η RBP₄ και η TTR αποτελούν πρωτείνες οξείας φάσεως και τα επίπεδά τους μειώνονται στο πλάσμα, σε καταστάσεις υποθρεψίας (κυρίως πρωτεϊνικής) και σε κάθε κατάσταση stress (φλεγμονή, λοίμωξη, έμφραγμα μυοκαρδίου, σοβαρό τραυμα, έγκαυμα κτλ.).

ii) Απέκκριση της RBP₄

Η RBP₄ συνδέεται κατά 90% με την TTR και το σύμπλεγμα RBP₄-TTR δεν απεκκρίνεται από τους νεφρούς, ενώ το μη συνδεδεμένο κλάσμα της RBP₄ απεκκρίνεται. Συγκεκριμένα, το μη συνδεδεμένο κλάσμα της RBP₄ διηθείται ελεύθερα μέσα από το νεφρικό σπείραμα, στη συνέχεια επαναρροφάται από το εγγύς σωληνάριο και τελικά καταβολίζεται από τα κύτταρά του εγγύς σωληναρίου. Έτσι, φυσιολογικά πολύ μικρά ποσά RBP₄ αποβάλλονται στα ούρα, ενώ, σε καταστάσεις εγγύς σωληναριακής δυσλειτουργίας, μεγάλες ποσότητες RBP₄ αποβάλλονται στα ούρα.

Μάλιστα, η συγκέντρωση της RBP₄ στα ούρα αποτελεί πολύ ευαίσθητο και εξαιρετικά κλινικά χρήσιμο δείκτη εγγύς σωληναριακής δυσλειτουργίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι η RBP₄ αποτελεί αξιόπιστο δείκτη νεφροτοξικότητας από Κάδμιο [9]. Δηλαδή, στα πρώιμα στάδια της τοξίκωσης από Κάδμιο υπάρχει μόνο χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεϊνουρία, λόγω σωληναριακής δυσλειτουργίας, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί με την RBP₄ των ούρων. Έτσι είναι δυνατό να ανιχνευθεί η νεφροτοξικότητα από Κάδμιο πολύ πρώιμα, πριν ακόμα εμφανιστεί κλινικά ανιχνεύσιμη πρωτεϊνουρία με σουλφοσαλικυλικό οξύ (ενδεικτική μεικτής νεφρικής βλάβης, λόγω μείωσης της αυξημένης σπειραματικής απώλειας πρωτεϊνών και μειωμένης σωληναριακής επαναρρόφησης), η οποία απαιτεί τουλάχιστον 9 έτη (συνήθως 25 έτη) έκθεσης σε Κάδμιο.

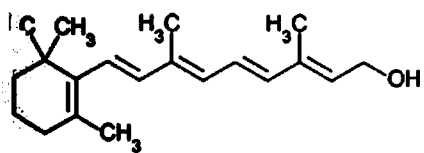
γ. Ρόλος της RBP₄ σε σχέση με τη βιταμίνη A [1, 2, 6, 10-14]

Ι) Λιποκαλίνες

Η RBP₄ είναι μέλος της μεγάλης οικογένειας των λιποκαλινών, οι οποίες είναι πρωτεΐνες με κοινό χαρακτηριστικό την ύπαρξη 8 αντιπαράλληλων β-πτυχωτών επιφανειών, που διατάσσονται μεταξύ τους σε μοντέλα τριτοταγούς δομής εν είδει “βαρελίου”, που καλούνται λιποκαλινικές πτυχές (lipocalin folds). Ωστόσο, οι λιποκαλίνες έχουν χαμηλά επίπεδα ομοιότητας, όσον αφορά την αλληλουχία της πρωτοταγούς δομής. Παραδείγματα άλλων λιποκαλινών είναι η α₁ όξινη γλυκοπρωτεΐνη (AGP), η β-λακτοσφαιρίνη (LG), η α_{2u} σφαιρίνη και η πρωτεΐνη HC (α₁ μικροσφαιρίνη). Παράλληλα, οι λιποκαλίνες έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν σε υδροφοβικούς θυλάκους εντός του μορίου τους λιπόφιλα μόρια, ώστε να ελαχιστοποιείται η επαφή αυτών των μορίων με το υδρόφιλο περιβάλλον. Υπό αυτήν την έννοια, οι λιποκαλίνες εξυπηρετούν σημαντικές βιολογικές λειτουργίες. Εν προκειμένω, η RBP₄ έχει την ικανότητα να μεταφέρει εντός του μορίου της τη ρετινόλη (βιταμίνη A) και κατέχει κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό της βιταμίνης A.

ΙΙ) Μεταβολισμός της βιταμίνης A

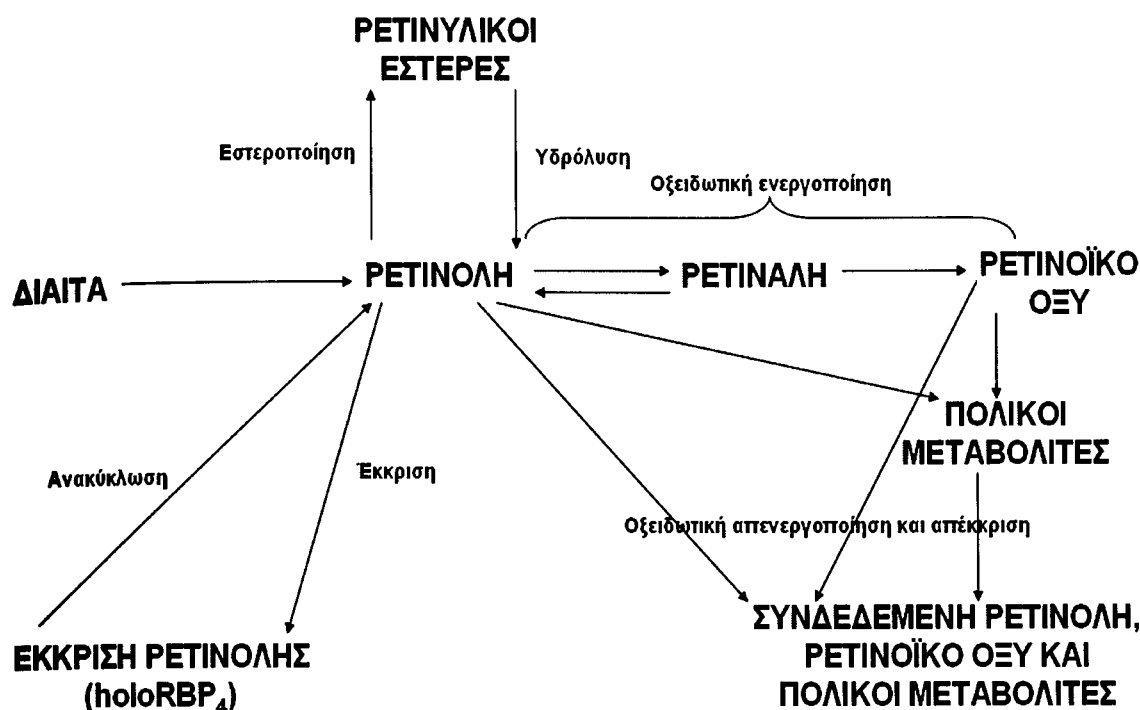
Η βιταμίνη A αποτελεί μια λιποδιαλυτή βιταμίνη, η οποία αποτελείται από ένα β-ιονικό δακτύλιο (β-ionone ring) και μια ουρά ισοπρενίου (isoprene tail), με την παρακάτω δομή:



Η βιταμίνη A είναι απαραίτητη για την όραση, την ανάπτυξη και διάφορες επιθηλιακές λειτουργίες. Ωστόσο, τα ρετινοειδή (βιταμίνη A και μεταβολίτες της) δεν είναι δυνατό να συντεθούν *de novo* από τον άνθρωπο και γι' αυτό εκ των πραγμάτων προσλαμβάνονται από τη διαίτα, υπό τη μορφή των ρετινυλικών εστέρων. Συγκεκριμένα, μέσα στο έντερο, τα ρετινοειδή προσλαμβάνονται από τις διαιτητικές πηγές υπό τη μορφή των ρετινυλικών εστέρων, οι οποίοι υδρολύονται μέσα στον εντερικό αυλό σε ρετινόλη, στην οποία απορροφούνται από το εντερικό επιθήλιο. Μέσα στα εντεροκύτταρα, η ρετινόλη επανεστεροποιείται σε ρετινυλικούς εστέρες και στη συνέχεια οι ρετινυλικοί εστέρες μεταφέρονται στο πλάσμα υπό τη μορφή των χυλομικρών μαζί με τριγλυκερίδια.

Τα χυλομικρά μεταφέρουν τους ρετινυλικούς εστέρες στο ήπαρ και κυρίως στα αστεροειδή κύτταρα του ήπατος. Η ρετινόλη, μετά την είσοδό της στο κύτταρο, συνδέεται με τη cellular retinol binding protein (CRBP) και υπό αυτή τη μορφή κυκλοφορεί στο ενδοκυττάριο υδατικό περιβάλλον. Μόλις η ρετινόλη προσληφθεί από τα ηπατοκύτταρα, είτε εστεροποιείται και αποθηκεύεται στα ηπατοκύτταρα με τη μορφή ρετινυλικών εστέρων, είτε οξειδώνεται προς τους βιολογικά ενεργούς μεταβολίτες της, αρχικά προς ρετινάλη και στη συνέχεια προς ρετινοϊκό οξύ (RA), είτε εκκρίνεται στο πλάσμα ως hol-RBP₄ (Εικόνα 2). Η ρετινόλη και το RA μέσα στο ηπατοκύτταρο μπορούν να μεταβολιστούν προς πιο πολικές μορφές (ώστε να είναι δυνατό να κυκλοφορήσουν μέσα στο ενδοκυττάριο υδατικό περιβάλλον), μέσω οξείδωσης του β-ιονικού δακτυλίου, και μετά μπορούν να συζευχθούν, για να σχηματίσουν ρετινυλικά γλυκουρονίδια. Προκειμένου να εκκριθεί η ρετινόλη από το ηπατοκύτταρο, οι ρετινυλικοί εστέρες υδρολύονται σε ρετινόλη στα ηπατοκύτταρα, ακολούθως η ρετινόλη συνδέεται με την RBP₄ στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στη συνέχεια το σύμπλεγμα ρετινόλη-RBP₄ εκκρίνεται στο πλάσμα, όπου σχηματίζει σύμπλεγμα με την TTR.

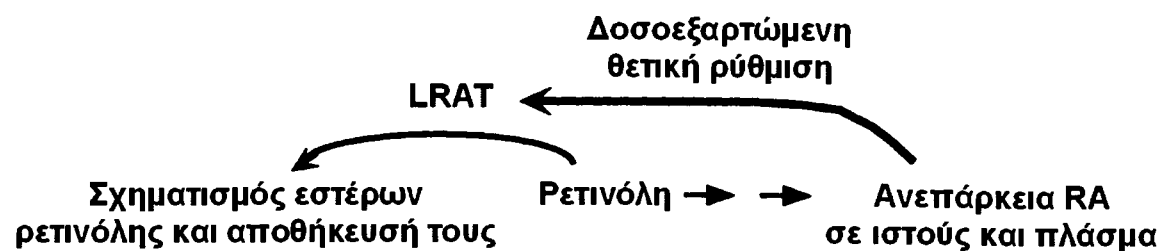
Το χρυσό πρότυπο για την εκτίμηση του ισοζυγίου της ρετινόλης του οργανισμού αποτελεί η συγκέντρωση της ρετινόλης στο ήπαρ. Μεταξύ ατόμων που τρέφονται με δίαιτες, των οποίων η περιεκτικότητα σε βιταμίνη Α διαφέρει, η συγκέντρωση της μη εστεροποιημένης ρετινόλης του ήπατος είναι περίπου σταθερή, ενώ η συγκέντρωση ρετινυλικών εστέρων αυξάνεται δόσοεξαρτώμενα, ανάλογα με τη διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης Α. Πρέπει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση της ρετινόλης στο πλάσμα παραμένει περίπου σταθερή (1,7-2 $\mu\text{mol/L}$), αν και η συγκέντρωση της ολικής ρετινόλης του ήπατος ποικίλει σε ένα μεγάλο εύρος ποσοστιαίας μεταβολής > 15πλάσιο (20-300 $\mu\text{g/g}$ ηπατικού ιστού). Έτσι, φαίνεται ότι η έκκριση της από το ήπαρ, η οποία και καθορίζει τη συγκέντρωση της ρετινόλης στο πλάσμα, καθορίζεται από τη μη εστεροποιημένη ρετινόλη του ήπατος παρά από την ολική ρετινόλη του ήπατος.



Εικόνα 2. Διάγραμμα των πολλαπλών βιοχημικών διαδικασιών που επηρεάζονται από τη ρετινόλη στο ήπαρ. Μερικές από αυτές τις διαδικασίες είναι πιθανό να συμβαίνουν και σε άλλους ιστούς, αλλά η πρόσληψη της βιταμίνης Α, η αποθήκευση των ρετινυλικών εστέρων και η έκκριση της RBP₄ είναι λειτουργίες στις οποίες το ήπαρ διαδραματίζει τον κυρίαρχο ρόλο.

Η ρύθμιση του μεταβολισμού της ρετινόλης από το ήπαρ συντελείται κυρίως μέσω δύο ενζύμων του Lecithin: retinol acyltransferase (LRAT) και του κυττοχρώματος P450RA1 ή CYP26. Η LRAT είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία συνδέεται με τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και καταλύει τη μεταφορά sn-1 λιπαρών οξέων από τη φωσφατιδυλοχολίνη της μεμβράνης στη ρετινόλη, η οποία είναι συνδεδεμένη με μια CRBP, σχηματίζοντας έτσι εστεροποιημένη ρετινόλη. Το CYP26 καταλύει την οξείδωση, στο ήπαρ, του all-trans-RA προς πολικούς μεταβολίτες. Το RA, το πιο ενεργό τελικό προϊόν του μεταβολισμού της ρετινόλης, λειτουργεί ως σήμα στο ήπαρ για την επάρκεια της βιταμίνης Α του οργανισμού. Εφόσον η συγκέντρωση του RA στο ήπαρ είναι επαρκής, αυξάνεται η δραστηριότητα του LRAT και μάλιστα η εξωτερική χορήγηση ρετινοειδών αυξάνει τα επίπεδα του LRAT ταχύτατα, εντός λίγων ωρών (Εικόνα 3). Με αυτόν τον τρόπο, η ρετινόλη που δεν είναι αναγκαία για τις τρέχουσες ανάγκες του οργανισμού αποθηκεύεται σε μια μορφή που είναι εύκολα ανακτήσιμη, όταν υπάρξει

ανάγκη. Παράλληλα, η έκφραση του CYP26 στο ήπαρ επάγεται από το RA, με αποτέλεσμα η δραστηριότητα του CYP26 να ρυθμίζεται δυναμικά από το ισοζύγιο ρετινόλης του οργανισμού και από τη διαιτητική πρόσληψη εξωγενούς all-trans-RA. Συγκεκριμένα, όταν υπάρχει έλλειψη βιταμίνης A μειώνεται η δραστηριότητα του CYP26, ενώ μετά από διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης A ή RA η δραστηριότητα του CYP26 αυξάνεται.



Εικόνα 3. Μοντέλο της προτεινόμενης θετικής ρύθμισης του ενζύμου LRAT από το RA.

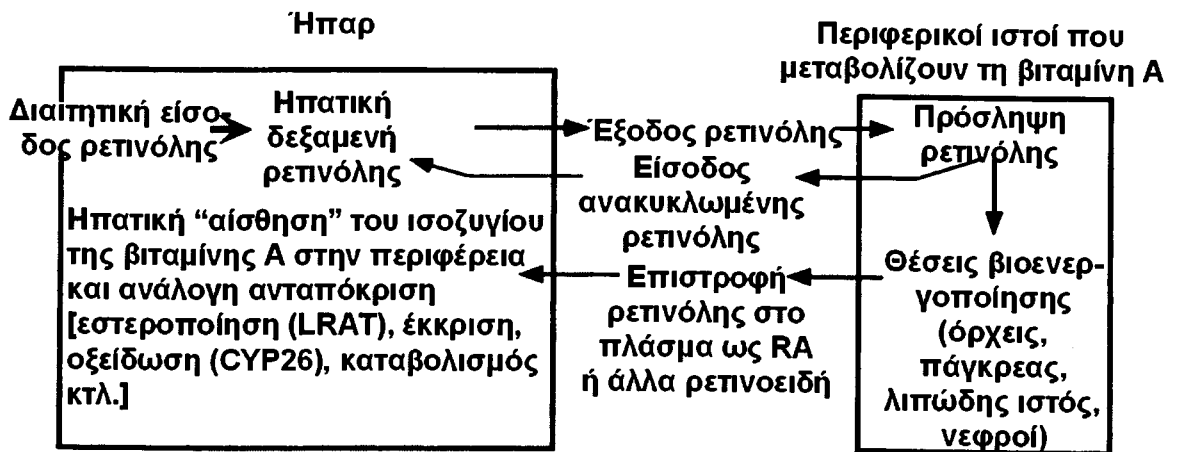
Στο πλάσμα, τα ρετινοειδή βρίσκονται με τη μορφή της ρετινόλης (συνδεδεμένης με RBP₄), του ρετινοϊκού οξέος (συνδεδεμένου με αλβουμίνη) και των ρετινυλικών εστέρων (συνδεδεμένων με λιποπρωτεΐνες και κυρίως με τα χυλομικρά). Στο πλάσμα νηστείας, το σύμπλεγμα ρετινόλη-RBP₄ αποτελεί την επικρατούσα μορφή των ρετινοειδών, αντιστοιχώντας σε > 50% των ρετινοειδών. Αντίθετα, μετά από γεύμα πλούσιο σε ρετινοειδή, η συγκέντρωση στο πλάσμα των ρετινυλικών εστέρων υπό τη μορφή των χυλομικρών είναι δυνατό να υπερβεί τη συγκέντρωση του συμπλέγματος ρετινόλη-RBP₄. Παρόλα αυτά, η συγκέντρωση στο πλάσμα του ρετινοϊκού οξέος είναι πάντα χαμηλή σε σχέση με τη συγκέντρωση του συμπλέγματος ρετινόλη-RBP₄ (< 1 %). Γενικά, το μεγαλύτερο μέρος των ρετινοειδών προσλαμβάνονται από τους ιστούς υπό τη μορφή του συμπλέγματος ρετινόλη-RBP₄.

Η RBP₄ είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά της ρετινόλης από το ήπαρ προς τις εξωηπατικές θέσεις δράσης της βιταμίνης A. Συγκεκριμένα, η βιταμίνη A προσλαμβάνεται από ένα ειδικό κυτταρικό υποδοχέα, τον STRA6, ο οποίος αναγνωρίζει την RBP₄. Η ρετινόλη, μετά την είσοδό της στο κύτταρο, συνδέεται με τη CRBP και υπό αυτή τη μορφή κυκλοφορεί στο ενδοκυττάριο υδατικό περιβάλλον. Έτσι, η ενδοκυττάρια ρετινόλη, είτε εστεροποιείται, μέσω του LRAT, προς ρετινυλικούς εστέρες, οι οποίοι αποτελούν την ενδοκυττάρια μορφή αποθήκευσης των ρετινοειδών, είτε οξειδώνεται προς τους ενεργούς μεταβολίτες ρετινάλη και ρετινοϊκό οξύ. Η ρετινάλη χρησιμεύει για την όραση, ενώ το ρετινοϊκό οξύ ρυθμίζει τη μεταγραφική δραστηριότητα των γονιδίων που σχετίζονται με

τις δράσεις των ρετινοειδών, μέσω της δράσης της σε 6 πυρηνικούς υποδοχείς [3 υποδοχείς ρετινοϊκού οξέος (RAR_α , RAR_β , RAR_γ) και 3 υποδοχείς του ρετινοειδούς X (RXR_α , RXR_β , RXR_γ)].

Παράλληλα, μετά την είσοδο της ρετινόλης στο κύτταρο, η apoRBP₄ κυκλοφορεί ελεύθερη στο πλάσμα και, καθώς η apoRBP₄ έχει μικρότερη ικανότητα σύνδεσης με την TTR σε σχέση με την holRBP₄, προκύπτει σχετική αύξηση του ελεύθερου κλάσματος της RBP₄ (μη συνδεδεμένου με TTR), η οποία και διηθείται ελεύθερα από το νεφρικό σπείραμα. Λόγω του παραπάνω μηχανισμού και επειδή κάθε μόριο RBP₄ μεταφέρει ένα μόριο ρετινόλης, συνεπάγεται ότι για κάθε μόριο ρετινόλης που αποδίδεται στους ιστούς, απεκκρίνεται και ένα μόριο RBP₄ από τους νεφρούς.

Κάθε μόριο ρετινόλης μεταφέρεται πολλές φορές μεταξύ πλάσματος και ήπατος, μέσα σε ένα 24ωρο, πριν χρησιμοποιηθεί από τους περιφερικούς ιστούς, διαδικασία που είναι γνωστή ως ανακύκλωση της ρετινόλης. Περίπου 50 $\mu\text{mol/}$ ημέρα ρετινόλης μεταφέρονται μέσω του πλάσματος, ενώ ο ρυθμός χρησιμοποίησής της από τους ιστούς είναι 4 $\mu\text{mol/}$ ημέρα. Αυτή η ανακύκλωση της ρετινόλης επιτρέπει στο ήπαρ να ρυθμίζει τη συγκέντρωση της ρετινόλης στο πλάσμα, ανάλογα με το ισοζύγιο της ρετινόλης του οργανισμού. Δεδομένου ότι η πλειονότητα του ηπατικού RA προσλαμβάνεται από το πλάσμα και επειδή, όπως προαναφέρθηκε, η ρύθμιση του μεταβολισμού της ρετινόλης στο ήπαρ συντελείται κυρίως μέσω του RA, έχει προταθεί ο ακόλουθος μηχανισμός αλληλεπίδρασης μεταξύ ήπατος και ιστών για τη ρύθμιση του ισοζυγίου της ρετινόλης του οργανισμού: Η έξοδος της ρετινόλης από το ήπαρ προς το πλάσμα και στη συνέχεια η πρόσληψη της ρετινόλης από τους περιφερικούς ιστούς ακολουθείται από το μεταβολισμό της ρετινόλης προς RA στους περιφερικούς ιστούς, ενώ η περίσσεια του RA επιστρέφει από τους ιστούς στο ήπαρ, ώστε να συντελεστεί η ρύθμιση του ηπατικού μεταβολισμού της ρετινόλης από το RA (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Μοντέλο της αλληλεπίδρασης μεταξύ του ήπατος και του μεταβολισμού των ρετινοειδών των περιφερικών ιστών. Οι ιστοί που αναγράφονται ως εστίες βιοσύνθεσης RA είναι αυτές στις οποίες λιγότερο από το μισό του RA των ιστών προέρχεται από πρόσληψη από το πλάσμα.

iii) Λειτουργική σημασία της μεταφοράς της βιταμίνης Α, μέσω της RBP₄

Το σύστημα μεταφοράς της βιταμίνης Α μέσω της RBP₄ εξυπηρετεί τα εξής:

- Σε αντίθεση με την βιταμίνη Α που δεν είναι υδατοδιαλυτή, το σύμπλεγμα RBP₄-βιταμίνη Α είναι υδατοδιαλυτό και με αυτόν τον τρόπο η βιταμίνη Α μπορεί να κυκλοφορεί στο πλάσμα.
- Η RBP₄ προστατεύει το μόριο της βιταμίνης Α από οξειδωτική βλάβη, κατά την κυκλοφορία της στο πλάσμα.
- Η RBP₄ διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κινητοποίησης της βιταμίνης Α από τις ηπατικές αποθήκες και συνεπώς στη μεταφορά της βιταμίνης Α στους περιφερικούς ιστούς, ανάλογα με το ισοζύγιο της βιταμίνης Α του οργανισμού.
- Η RBP₄ κατευθύνει τη μεταφορά της βιταμίνης Α προς ειδικές θέσεις στην επιφάνεια των κυττάρων, τα οποία χρειάζονται βιταμίνη Α. Αυτή η κατευθυνόμενη μεταφορά είναι απαραίτητη για την κατάλληλη χρησιμοποίηση της ρετινόλης εντός του κυττάρου και αποτρέπει τις τοξικές επιδράσεις, οι οποίες θα συνέβαιναν από την ανεξέλεγκτη μεταφορά της βιταμίνης Α στις βιολογικές μεμβράνες.

δ. Συσχέτιση της RBP₄ με δημογραφικούς παράγοντες

Η συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα έχει βρεθεί ότι είναι υψηλότερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες [15,16]. Επίσης, η RBP₄ στο πλάσμα είναι υψηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές [15,17]. Επιπλέον, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την ηλικία και είναι αυξημένη στους ηλικιωμένους σε σχέση με πιο νέα άτομα [16].

ε. Συσχέτιση της RBP₄ με τον τρόπο ζωής

Σε μία μελέτη, κατά την οποία χωρίστηκε ο πληθυσμός της μελέτης σε τεταρτημόρια ανάλογα με τα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος, διαπιστώθηκε ότι άτομα με υψηλότερη RBP₄ είχαν αυξημένη πιθανότητα να ήταν κάτοικοι αστικών πόλεων, καπνιστές, πότες αλκοόλ και να είχαν υψηλό μορφωτικό επίπεδο [18]. Εκτός αυτού, σε μια άλλη ερευνητική εργασία, αναφέρεται ότι η RBP₄ ήταν υψηλότερη σε άτομα που ήταν πρώην ή νυν καπνιστές, σε σχέση με άτομα που δεν είχαν καπνίσει ποτέ [19].

2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ RBP₄

α. Σακχαρώδης Διαβήτης

Ουσιαστικά, η RBP₄ άρχισε να θεωρείται ως λιποκίνη που επάγει την ινσουλινοαντίσταση από το 2005 μετά τη δημοσίευση του Yang και των συνεργατών του [20], ο οποίος αναφέρει ότι η έκφραση του mRNA της RBP₄ στο λιπώδη ιστό επιδιδυμίδας ποντικών είναι αυξημένη σε διαγονιδιακά ποντίκια GLUT4^{-/-} (τα οποία δεν εκφράζουν GLUT4 στο λιπώδη τους ιστό) και μειωμένη σε ποντίκια GLUT4-Tg (τα οποία υπερεκφράζουν GLUT4 στο λιπώδη τους ιστό). Επίσης, έδειξε ότι RBP₄Tg ποντίκια (τα οποία υπερεκφράζουν RBP₄) ή ποντίκια στα οποία γίνεται ενδοπεριτοναϊκή έγχυση RBP₄ (με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της RBP₄ στο πλάσμα) αναπτύσσουν ινσουλινοαντίσταση. Επιπλέον, RBP₄^{-/-} ποντίκια (στα οποία η RBP₄ στο πλάσμα είναι απύσχα) και RBP₄^{+/-} ποντίκια (στα οποία η RBP₄ στο πλάσμα είναι μειωμένη) εμφανίζουν αυξημένη ινσουλινοευαισθησία.

ι) Σχέση της RBP₄ με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους ινσουλινοαντίστασης

Υπάρχουν πολλές μελέτες οι οποίες αναφέρουν ότι η RBP₄ του ορού και η έκφραση του RBP₄mRNA στον κοιλιακό λιπώδη ιστό είναι αυξημένες σε άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) τύπου 2 και διαταραχή ανοχής γλυκόζης [Impaired Glucose Tolerance (IGT)] σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα [15,21,22]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι σε άτομα με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης και τουλάχιστον έναν πρώτου βαθμού συγγενή με ΣΔ τύπου 2, η RBP₄ του ορού παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με το ρυθμό χρησιμοποίησης της γλυκόζης από τους ιστούς [Glucose Disposal Rate (GDR)] (το GDR αποτελεί ισχυρό προγνωστικό παράγοντα ανάπτυξης Σ.Δ. σε τέτοια άτομα, τα οποία έχουν υψηλό κινδύνο ανάπτυξης Σ.Δ. τύπου 2) [21]. Δηλαδή, η RBP₄ μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελεί προγνωστικό παράγοντα ανάπτυξης Σ.Δ. Ωστόσο, η πλειονότητα των σχετικών μελετών αναφέρει ότι η RBP₄ του πλάσματος και ο ρυθμός σύνθεσης RBP₄ είναι μειωμένος σε άτομα με ΣΔ τύπου 1 [23-26]. Παράλληλα, έχει αναφερθεί ότι η RBP₄ του ορού είναι υψηλότερη σε έγκυες γυναίκες που αναπτύσσουν ΣΔ στην κύηση, σε σχέση με φυσιολογικές έγκυες γυναίκες [27,28]. Επιπρόσθετα, είναι καλά τεκμηριωμένο, ότι η RBP₄ του ορού συσχετίζεται με εργαστηριακούς δείκτες ινσουλινοαντίστασης. Συγκεκριμένα, η RBP₄ του πλάσματος παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της γλυκόζης νηστείας του ορού (Glc), τη συγκέντρωση της ινσουλίνης νηστείας του ορού (Ins) και τη

γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA_{1c}) [21]. Επιπλέον, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το δείκτη homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-index), το οποίο ορίζεται ως $HOMA-index = Ins (\mu U/ mL) \times Glc (mmol/ L) / 22,5$ [29].

Επίσης, η RBP₄ παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με το GDR [16,21,29]. Το GDR αποτελεί δείκτη ινσουλινοευαισθησίας και ορίζεται ως ο ρυθμός της ενδοφλέβιας (iv) εγχύμενης γλυκόζης [σε mg/ (Kg σωματικού βάρους × min)] που απαιτείται για τη διατήρηση ευγλυκαιμίας (90 mg/dL), κατά την iv έγχυση ινσουλίνης [$1,2 \mu U/ (Kg \text{ βάρους σώματος} \times min)$], μεταξύ 120 min και 180 min από την έναρξη έγχυσης ινσουλίνης και η όλη διαδικασία καλείται clamp test [16]. Επιπλέον, η RBP₄ έχει δειχθεί ότι συσχετίζεται αρνητικά με την ηπατική ινσουλινική ευαισθησία, η οποία εκτιμήθηκε ως η διαφορά της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης (ΔHGP) ανάμεσα στη βασική κατάσταση και κατά την έγχυση ινσουλίνης [30]. Παράλληλα, η RBP₄ αναφέρεται ότι συσχετίζεται αρνητικά με την περιφερική ινσουλινική ευαισθησία, η οποία αξιολογήθηκε με τους ρυθμούς οξείδωσης της γλυκόζης [glucose oxidation rate (GOX)] και των λιπαρών οξέων [fat oxidation rate (FOX)] με μεθόδους έμμεσης θερμιδομετρίας σε clamp test με έγχυση σημασμένης με τρίτιο γλυκόζης [30].

Εκτός αυτού, η RBP₄ συσχετίζεται θετικά με τη Glc στις 2 ώρες σε από του στόματος τεστ ανοχής γλυκόζης [Oral glucose tolerance test (OGTT)] και αρνητικά με την ινσουλινική ευαισθησία, όπως ορίζεται από τους Matsuda και DeFronzo για το OGTT [$ISI_{est} = 10.000 / \sqrt{(Ins_{mean} \times Glc_{mean} \times Ins_0 \times Glc_0)}$] όπου Ins_{mean} : μέση συγκέντρωση ινσουλίνης κατά τη διάρκεια του OGTT, Glc_{mean} : μέση συγκέντρωση γλυκόζης κατά τη διάρκεια του OGTT, Ins_0 : βασική συγκέντρωση ινσουλίνης νηστείας, Glc_0 : βασική συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας] [29,30].

Αξίζει να σημειωθεί ότι η RBP₄ έχει συσχετιστεί αρνητικά με τη λειτουργικότητα των β-κυττάρων του παγκρέατος, όπως εκτιμήθηκε από το δείκτη χρησιμοποίησης της γλυκόζης στην πρώτη φάση του ενδοφλέβιου τεστ ανοχής γλυκόζης [Disposition index(D_{i1})] [30].

ii) Μηχανισμός πρόκλησης ινσουλινοαντίστασης από την RBP₄

Είναι γνωστό ότι ο σκελετικός μυς αποτελεί την κύρια θέση της διαμεσολαβούμενης από την ινσουλίνη πρόσληψης γλυκόζης, ενώ ο λιπώδης ιστός χρησιμοποιεί πολύ μικρότερο ποσό γλυκόζης κάτω από φυσιολογικές συνθήκες [31]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι ποντίκια με μειωμένη έκφραση GLUT4 στο λιπώδη ιστό, αλλά

φυσιολογική έκφραση GLUT4 στους μύες, εμφανίζουν ινσουλινοαντίσταση [32]. Η μη έκφραση GLUT4 από το λιπώδη ιστό οδηγεί δευτερογενώς σε μειωμένη ινσουλινική δράση στους μύες και στο ήπαρ [32]. Ο Yang και οι συνεργάτες του βρήκαν ότι η RBP₄ προκαλεί ινσουλινοαντίσταση σε αυτά τα ποντίκια [20]. Από αυτήν την άποψη, η RBP₄ φαίνεται να αποτελεί έναν παράγοντα ο οποίος εκκρίνεται από τα GLUT4^{-/-} λιποκύτταρα και προκαλεί ινσουλινοαντίσταση στους σκελετικούς μύες [20]. Συγκεκριμένα, από το Yang και τους συνεργάτες του, αρχικά μελετήθηκε το ένζυμο φωσφοϊνοσιδική-3-κινάση {phosphoinositide 3-kinase [PI(3)K]}, το οποίο κατέχει κεντρικό ρόλο στη δράση της ινσουλίνης πάνω στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, στους μύες και στο ήπαρ ποντικών. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι η δραστηριότητα του PI(3)K, στους μύες και στο ήπαρ, σε βασικές συνθήκες (δηλαδή χωρίς τη διέγερση από ινσουλίνη), ήταν ίδια σε ποντίκια RBP₄^{+/-}, RBP₄^{-/-} και RBP₄Tg, σε σχέση με ποντίκια χωρίς τις αντίστοιχες μεταλλάξεις [wilde type (WT)], τα οποία χρησίμευσαν ως controls. Στη συνέχεια συγκρίθηκε η δραστηριότητα του PI(3)K μετά από διέγερση από ινσουλίνη, σε σχέση με τη δραστηριότητά του σε βασικές συνθήκες. Οπότε, βρέθηκε ότι, ενώ η ινσουλίνη προκαλούσε μια 26πλάσια αύξηση στη δραστηριότητα του PI(3)K των μυών μετά από διέγερση με ινσουλίνη σε WT ποντίκια, αυτή η επίδραση μειώθηκε κατά 30% σε μύες ποντικών RBP₄Tg και αυξήθηκε κατά 80% στους μύες ποντικών RBP₄^{+/-} και RBP₄^{-/-}. Ωστόσο, η επίδραση της ινσουλίνης στη δραστηριότητα του PI(3)K του ήπατος ήταν ίδια σε ποντίκια RBP₄^{+/-}, RBP₄^{-/-} και RBP₄Tg, σε σχέση με τα WT.

Συμβατή με τα παραπάνω ευρήματα ήταν και η παρατήρηση ότι η έγχυση RBP₄ σε WT ποντίκια για 21 ημέρες προκάλεσε μια κατά 34% μείωση της ενίσχυσης της δραστηριότητας του PI(3)K από την ινσουλίνη στους μύες, αλλά δεν είχε καμία επίδραση στο ήπαρ. Επιπλέον, η έγχυση RBP₄ οδήγησε σε μία κατά 24% ελάττωση της προκαλούμενης από την ινσουλίνη ενίσχυσης της φωσφορυλίωσης του υποστρώματος-1 του υποδοχέα της ινσουλίνης [insulin receptor substrate-1 (IRS1)] στο 612-κατάλοιπο της τυροσίνης, το οποίο αποτελεί τη θέση σύνδεσης για την p85 υπομονάδα του PI(3)K. Παρόλα αυτά, η έγχυση RBP₄ δε μετέβαλλε τη φωσφορυλίωση του καταλοίπου τυροσίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης [insulin receptor(IR)] ή το ολικό ποσό των IRS1 και IR.

Επιπρόσθετα, χορήγηση φενρετινίδης (η οποία αυξάνει την απέκκριση της RBP₄ από τους νεφρούς, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωσή της RBP₄ στο πλάσμα) σε παχύσαρκα, ποντίκια με ινσουλινοαντίσταση, τα οποία τρέφονταν με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, αύξησε τη φωσφορυλίωση του IRS1 στους μύες και την αποκατέστησε στα

επίπεδα των μη παχύσαρκων WT ποντικών. Επίσης, τα επίπεδα του IRS1 έτειναν να είναι υψηλότερα ($p = 0,055$) σε ποντίκια που τρέφονταν με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά σε συνδυασμό με φενρετινίδη, σε σχέση με ποντίκια τρεφόμενα με συμβατική δίαιτα ή δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, αλλά χωρίς φενρετινίδη. Πρέπει να σημειωθεί ότι η έκφραση και η φωσφορυλίωση του IR δε μεταβλήθηκαν από την αγωγή με φενρετινίδη.

Παράλληλα, βρέθηκε ότι, σε ποντίκια στα οποία γίνεται έγχυση RBP₄, αυξάνεται η έκφραση στο ήπαρ του γλυκονογενετικού ενζύμου φωσφοενολοπυρουβική κινάση [phosphoenolpyruvate kinase (Pepck)], γεγονός που υποδηλώνει ότι η ηπατική Pepck ρυθμίζεται, είτε άμεσα, είτε έμμεσα, από την κυκλοφορούσα RBP₄ στο πλάσμα. Προκειμένου να βρεθεί κατά πόσο αυτή η ρύθμιση επιτελείται άμεσα ή έμμεσα, επωάστηκαν ηπατικά κύτταρα ηπατώματος επίμυων με ανασυνδυασμένη RBP₄ ποντικών. Έτσι, παρατηρήθηκε ότι, σε βασικές συνθήκες (δηλαδή χωρίς διέγερση με ινσουλίνη) η πρωτεΐνη Pepck αυξήθηκε κατά 94%, ενώ αυξήθηκε και η παραγωγή γλυκόζης. Εκτός αυτού, η έγχυση RBP₄ μείωσε την προκαλούμενη από την ινσουλίνη καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης. Αυτά ακριβώς τα πειράματα καταδεικνύουν ότι η ρύθμιση του ηπατικού μεταβολισμού της γλυκόζης από την RBP₄, μέσω μεταβολής της συγκέντρωσης του Pepck, επιτελείται άμεσα από την RBP₄.

Δηλαδή συμπερασματικά, ο Yang και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι η RBP₄ αναστέλει την ενεργοποίηση από την ινσουλίνη της δραστηριότητας του PI(3)K και του IRS1 στο σκελετικό μυϊκό ιστό και αυξάνει τη συγκέντρωση του Pepck.

Επίσης, από τους Ost, Danielsson και τους συνεργάτες τους μελετήθηκε υποδόριος κοιλιακός λιπώδης ιστός από μη διαβητικά άτομα [33]. Συγκεκριμένα, επώαση των λιποκυττάρων για 24 ώρες με RBP₄ δεν είχε καμία επίδραση στην προκαλούμενη από την ινσουλίνη φωσφορυλίωση του υποδοχέα της ινσουλίνης [insulin receptor (IR)], ενώ μείωσε την προκαλούμενη από την ινσουλίνη φωσφορυλίωση του καταλοίπου τυροσίνης του IRS1. Πρέπει να τονιστεί ότι η φωσφορυλίωση του καταλοίπου τυροσίνης του IRS1 αποτελεί καθοριστικό βήμα για τη δράση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης, το οποίο ενισχύεται από την προκαλούμενη από την ινσουλίνη φωσφορυλίωση στο 307 κατάλοιπο σερίνης του IRS1. Έτσι, παρατηρήθηκε ότι η επώαση με RBP₄ των λιποκυττάρων ανέστειλε τη φωσφορυλίωση στο 307 κατάλοιπο σερίνης του IRS1. Επιπλέον, διερευνήθηκε κατά πόσο η RBP₄ επηρεάζει τη μετάδοση του σήματος από την ινσουλίνη πέρα από το IRS1, δηλαδή, μέσω της οδού της protein kinase B/ Akt, όσον αφορά τις μεταβολικές δράσεις, και, μέσω της οδού της ελέγχου του μεταγραφικού

παράγοντα Elk-1 από τη MAP kinase, όσον αφορά τις μεταβολικές δράσεις. Στη βάση αυτής της αναζήτησης βρέθηκε ότι η επώαση των λιποκυττάρων με RBP₄ μείωσε τη μετάδοση σήματος μέσω της οδού MAP kinase, Elk-1, ενώ δεν είχε καμία επίδραση στην οδό protein kinase B/Akt. Εκτός αυτού, στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε ότι η επώαση των λιποκυττάρων ατόμων με ΣΔ τύπου 2 για 24 ώρες με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της RBP₄ είχε σαν αποτέλεσμα την αποκατάσταση της ικανότητας της ινσουλίνης να επάγει τη φωσφορυλίωση του 307 καταλοίπου σερίνης του IRS1 και να ενεργοποιεί την οδό MAP kinase, Elk-1, γεγονός που υποδηλώνει ότι η RBP₄ είναι δυνατό να εκκρίνεται από τα λιποκύτταρα και να δρα κατά αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο στα λιποκύτταρα διαβητικών ατόμων, προκαλώντας ινσουλινοαντίσταση. Σχετικά με τη μη δυνατότητα της RBP₄, σε αυτήν τη μελέτη, να επηρεάσει την οδό protein kinase B/Akt, η οποία θεωρείται ότι επάγει τις μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης, εικάζεται ότι η επώαση των λιποκυττάρων με RBP₄ για ένα διάστημα 24 ωρών ήταν ανεπαρκής, από άποψη χρονικής διάρκειας για την πλήρη εκδήλωση των μεταβολικών δράσεων της ινσουλίνης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μελέτες οι οποίες έχουν διενεργηθεί μέχρι σήμερα αναφέρουν την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης ανάμεσα στην έκφραση του mRNA της RBP₄ και του mRNA του GLUT4, στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό [20,22]. Μία πιθανή ερμηνεία αυτού του ευρήματος είναι ότι, σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης, όπου υπάρχει μειωμένη έκφραση του GLUT4 στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό, συνυπάρχει και αυξημένη έκφραση της RBP₄, η οποία πιθανώς να προκαλεί ινσουλινοαντίσταση. Ωστόσο, σε μερικές μελέτες, έχει βρεθεί θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της RBP₄ και του GLUT4, στον υποδόριο λιπώδη ιστό [30,34,35], ή απουσία συσχέτισης [22]. Μια λογική εξήγηση γι' αυτά τα ευρήματα είναι ότι ο υποδόριος λιπώδης ιστός ενδέχεται να είναι λιγότερο σημαντικός από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό στον καθορισμό των επιπέδων της RBP₄ του πλάσματος και συνεπώς της κατάστασης ινσουλινοαντίστασης. Εκτός αυτού, η RBP₄ του πλάσματος πιθανώς προκαλεί μία αντισταθμιστική αύξηση της έκφρασης του mRNA του GLUT4 στον υποδόριο λιπώδη ιστό, όπως βρέθηκε από μία μελέτη [33].

Συμπερασματικά, η RBP₄ φαίνεται να προκαλεί ινσουλινοαντίσταση στους σκελετικούς μύες, στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό.

iii) Σχέση της RBP₄ με τη χαμηλού βαθμού φλεγμονή

Είναι γνωστό ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με την ύπαρξη χαμηλού βαθμού φλεγμονής (low-grade inflammation), η οποία εμπλέκεται αιτιολογικά με την ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης [36]. Επίσης, η RBP₄ έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με δείκτες της χαμηλού βαθμού φλεγμονής και μέσω αυτού του μηχανισμού πιθανώς προκαλεί, τουλάχιστον εν μέρει, ινσουλινοαντίσταση. Ωστόσο, η θετική συσχέτιση της RBP₄ του πλάσματος με τους δείκτες της χαμηλού βαθμού φλεγμονής πρέπει να διακριθεί από την αρνητική συσχέτιση ανάμεσα RBP₄ του πλάσματος και στους παράγοντες της κλινικής φλεγμονής. Αυτή η αρνητική συσχέτιση αποδίδεται στην ιδιότητα της RBP₄ να αποτελεί αρνητική ουσία οξείας φάσεως και συνεπώς η RBP₄ του πλάσματος μειώνεται σε καταστάσεις φλεγμονής σχετιζόμενες με λοίμωξη ή τραύμα [7]. Αυτές οι καταστάσεις είναι ουσιαστικά διαφορετικές από τη σχετιζόμενη με την παχυσαρκία χαμηλού βαθμού φλεγμονή. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί η ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην έκφραση της RBP₄ και στους δείκτες των μακροφάγων CD68 και MCP1, στον υποδόριο σπλαχνικό λιπώδη ιστό, υποδηλώνοντας την ύπαρξη συσχέτισης της RBP₄ με τη διήθηση των μακροφάγων στο λιπώδη ιστό [34]. Επιπλέον, σε μία μελέτη τα επίπεδα της RBP₄ του ορού παρουσίασαν θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση στον ορό των φλεγμονωδών παραγόντων υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη [high-sensitivity CRP (hsCRP)] και [Interleukin-6 (IL-6)], σε ένα πληθυσμό παχύσαρκων και φυσιολογικού σωματικού βάρους παιδιών [37]. Στην ίδια μελέτη, όταν τα παχύσαρκα παιδιά υπεβλήθησαν σε διαιτητική παρέμβαση για 3 μήνες, η μείωση της RBP₄ του πλάσματος ως αποτέλεσμα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μείωση των hsCRP και IL-6 [37]. Μία άλλη μελέτη έδειξε την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ του πλάσματος και στη συγκέντρωση στον ορό των φλεγμονωδών παραγόντων Παράγων Νέκρωσης των όγκων-α [tumour necrosis factor-α (TNF-α)] και CRP, ενώ βρέθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην RBP₄ του πλάσματος και την IL-6 [38]. Αυτό το δεύτερο εύρημα, αν και μη αναμενόμενο, αποδόθηκε από τους συγγραφείς στην πιθανή ύπαρξη διαφορετικών ρόλων του TNF-α και της IL-6 στο μεταβολισμό της γλυκόζης [39]. Σε άλλη μελέτη, σε μη διαβητικούς υγιείς άνδρες, η RBP₄ του πλάσματος παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τον TNFα [40]. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης υποδηλώνουν ότι η RBP₄ πιθανώς δε συμμετέχει στη ρύθμιση της ινσουλινοευαισθησίας στα υγιή άτομα, αλλά η RBP₄ φαίνεται να αντικατοπτρίζει τη φλεγμονώδη δραστηριότητα. Εκτός αυτού, σε μία μελέτη, όταν απομονωμένα λιποκύτταρα από το λιπώδη ιστό μαστού γυναικών

επωάστηκαν με TNF- α , υπήρξε μείωση στην παραγωγή της RBP₄ [41]. Αυτό το εύρημα, το οποίο φαίνεται να είναι σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες, θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν λιποκύτταρα από μαζικό αδέν, τα οποία μοιάζουν περισσότερο με τα λιποκύτταρα του υποδόριου λιπώδη ιστού παρά με τα σπλαχνικά λιποκύτταρα, τα οποία σχετίζονται πιο στενά με την ινσουλινοαντίσταση.

iv) Επίδραση των αντιδιαβητικών φαρμάκων στην RBP₄

❖ Ινσουλίνη

Όσον αφορά την επίδραση της ινσουλίνης στα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος, η ινσουλίνη φαίνεται ότι είναι σημαντική για την πρωτεϊνσύνθεση και υπό αυτήν την έννοια το έλλειμμα ινσουλίνης το οποίο υφίσταται στους ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 πιθανώς να ερμηνεύει τη μείωση της RBP₄ του πλάσματος σε άτομα με ΣΔ τύπου 1 σε σχέση με φυσιολογικά άτομα [23-26]. Πράγματι, έχει αναφερθεί ότι διαβητικοί επίμυες [στους οποίους ο ΣΔ προκλήθηκε μετά από χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης (streptozotocin)] χωρίς αγωγή με ινσουλίνη είχαν μειωμένη RBP₄ πλάσματος σε σύγκριση με τα φυσιολογικά ποντίκια, ενώ διαβητικοί επίμυες υπό ινσουλίνη είχαν αυξημένη RBP₄ πλάσματος σε σύγκριση με διαβητικούς επίμυες οι οποίοι δεν λάμβαναν ινσουλίνη και μειωμένη RBP₄ πλάσματος σε σχέση με τους φυσιολογικούς επίμυες [42]. Αν και μία μελέτη ανέφερε ότι η στέρηση ινσουλίνης 7 ατόμων με ΣΔ τύπου 1 για 8 ώρες οδήγησε σε μειωμένα επίπεδα RBP₄ πλάσματος σε σχέση με τις τιμές των ίδιων ατόμων μετά από αγωγή με ινσουλίνη, ο μικρός αριθμός ατόμων της μελέτης ενδέχεται να επηρέασε την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της [25]. Επιλέον, μία άλλη μελέτη βρήκε ότι όταν καλλιεργήθηκε σπλαχνικός λιπώδης ιστός με ανασυνδυασμένη ινσουλίνη, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στην έκφραση του mRNA της RBP₄ [43]. Μία εύλογη ερμηνεία των προαναφερθέντων στοιχείων είναι ότι, όταν δεν υπάρχει έλλειμμα ινσουλίνης, η αγωγή με ινσουλίνη φαίνεται να μην έχει κάποια σημαντική επίδραση στα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος, ενώ η στέρηση των φυσιολογικών δράσεων της ινσουλίνης μπορεί να προκαλέσει μείωση της RBP₄ του πλάσματος.

❖ Θειαζολιδινεδιόνες

Όσον αφορά την επίδραση της αγωγής με θειαζολιδινεδιόνες στην RBP₄ του πλάσματος, αν και υπάρχουν μερικές μελέτες οι οποίες αναφέρουν την απουσία μεταβολής της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια της θεραπείας με θειαζολιδινεδιόνες, φαίνεται

να υφίσταται μία τάση για μείωση της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια της αγωγής με θειαζολιδινεδιόνες. Συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι χορήγηση ροσιγλιταζόνης για 3 εβδομάδες σε ποντίκια GLUT4^{-/-} (τα οποία είχαν αυξημένα επίπεδα RBP₄ στον ορό και mRNA της RBP₄ στο λιπώδη ιστό) μείωσε τη συγκέντρωση της RBP₄ του ορού και το mRNA της RBP₄ του λιπώδη ιστού [20]. Επίσης, χορήγηση ροσιγλιταζόνης 4 mg μία φορά την ημέρα σε άτομα με ΣΔ τύπου 2, για 6 μήνες οδήγησε σε μείωση της RBP₄ του ορού [44]. Σε δύο άλλες μελέτες, η προσθήκη πιογλιταζόνης 30 mg μία φορά την ημέρα στην ήδη υπάρχουσα σταθερή αντιδιαβητική αγωγή ατόμων με ΣΔ τύπου 2 προκάλεσε μείωση της RBP₄ του ορού [45,46]. Ωστόσο, σε μια ερευνητική εργασία αναφέρεται ότι αγωγή ατόμων IGT με πιογλιταζόνη 45 mg μία φορά την ημέρα, για 10 εβδομάδες, δεν είχε καμία επίδραση στη συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος, ενώ προκάλεσε αύξηση στο RBP₄mRNA στο λιπώδη και στο σκελετικό μυϊκό ιστό [34]. Ομοίως, αγωγή με πιογλιταζόνη μη διαβητικών ατόμων για 12 εβδομάδες δεν προκάλεσε καμία μεταβολή στην RBP₄ του πλάσματος [47]. Τα μη αναμενόμενα αποτελέσματα αυτών των δύο μελετών πιθανώς θα μπορούσαν να αποδοθούν στο γεγονός ότι ο πληθυσμός της μελέτης περιελάμβανε άτομα χωρίς ΣΔ και συνεπώς η δράση της πιογλιταζόνης όσον αφορά την αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας δεν εκδηλώθηκε σε πλήρη βαθμό. Επιπλέον, σε μία άλλη μελέτη, όταν στην από του στόματος αντιδιαβητική αγωγή ατόμων με ΣΔ τύπου 2 προστέθηκαν 15 mg πιογλιταζόνη ανά ημέρα για 8 μήνες, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος σε σχέση με τις βασικές τιμές της [48]. Δεδομένης της σχετικά χαμηλής δόσης της πιογλιταζόνης η οποία χρησιμοποιήθηκε και του γεγονότος ότι οι ασθενείς λάμβαναν ήδη αντιδιαβητική αγωγή, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης πρέπει να ερμηνευθούν με την ανάλογη προσοχή.

❖ *Μετοφορμίνη*

Από τη μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, δε φαίνεται η μετοφορμίνη να επηρεάζει την RBP₄ του ορού. Έτσι, αναφέρεται ότι αγωγή ατόμων IGT με μετοφορμίνη 1000 mg μία φορά την ημέρα, για 10 εβδομάδες, δεν είχε καμία επίδραση, τόσο στο mRNA της RBP₄ στον κοιλιακό λιπώδη και σκελετικό μυϊκό ιστό, όσο και στη συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα [34]. Επιπλέον, σε μια άλλη μελέτη, η προσθήκη μετοφορμίνης 850 mg μία φορά την ημέρα, για 6 μήνες, στην ήδη υπάρχουσα σταθερή αντιδιαβητική αγωγή ατόμων με ΣΔ τύπου 2 προκάλεσε μια τάση για μείωση της RBP₄ του ορού, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,062$) [45]

❖ Σουλφονυλουρίες

Από τις μέχρι σήμερα ερευνητικές εργασίες σχετικά με την επίδραση των σουλφονυλουριών στην RBP₄, φαίνεται να υπάρχει μία τάση για αύξηση της RBP₄ του πλάσματος μετά από χορήγηση σουλφονυλουρίας. Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη η προσθήκη σουλφονυλουρίας (γλικλαζίδη MR 30-120 mg μία φορά την ημέρα ή γλιμεπιρίδη 2-8 mg μία φορά την ημέρα) στην ήδη υπάρχουσα σταθερή αντιδιαβητική αγωγή ατόμων με ΣΔ τύπου 2 δε μετέβαλε την RBP₄ του ορού στο σύνολο των ασθενών [46]. Σε αυτή τη μελέτη, η προσθήκη σουλφονυλουρίας αύξησε την RBP₄ στους ασθενείς που ήδη λάμβαναν μετφορμίνη και σουλφονυλουρία, ενώ δεν είχε καμία επίδραση στην RBP₄ των ασθενών που ήδη λάμβαναν μονοθεραπεία με σουλφονυλουρία. Επίσης, σε μια άλλη ερευνητική εργασία, η προσθήκη γλιβενκλαμίδης 5 mg 3 φορές την ημέρα στην ήδη υπάρχουσα σταθερή αντιδιαβητική αγωγή με μετφορμίνη ατόμων με ΣΔ τύπου 2 αύξησε την RBP₄ του ορού [49].

❖ Εξενατίδη

Υπάρχει μόνο μία μελέτη στη βιβλιογραφία η οποία αναφέρει ότι η προσθήκη εξενατίδης 10 μg 2 φορές την ημέρα στην ήδη υπάρχουσα σταθερή αντιδιαβητική αγωγή με μετφορμίνη ατόμων με ΣΔ τύπου 2 μείωσε την RBP₄ του ορού [49].

❖ Ακαρβόζη

Υπάρχει μόνο μία μελέτη στη βιβλιογραφία όσον αφορά την επίδραση της ακαρβόζης στην RBP₄ του πλάσματος [50]. Σύμφωνα με αυτή, διαβητικά άτομα έλαβαν ακαρβόζη 50 mg 3 φορές την ημέρα τον πρώτο μήνα και 100 mg 3 φορές την ημέρα στη συνέχεια ή εικονικό φάρμακο. Έτσι, διαπιστώθηκε μείωση της RBP₄ του πλάσματος μετά από χορήγηση ακαρβόζης σε σχέση με το εικονικό φάρμακο, στους 7 μήνες.

β. Παχυσαρκία

ι) Σχέση της RBP₄ με κλινικές παραμέτρους παχυσαρκίας

Έχει δειχθεί ότι η RBP₄ του πλάσματος είναι αυξημένη σε ενήλικες παχύσαρκους [Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$] σε σχέση με λεπτούς ενήλικες ($20 \text{ Kg/m}^2 \leq \text{BMI} < 25 \text{ Kg/m}^2$) [20,21]. Ομοίως, αναφέρεται ότι η RBP₄ είναι αυξημένη σε παχύσαρκους εφήβους ($\text{BMI} > 85^\circ$ εκατοστημόριο για την ηλικία και το φύλο) σε σχέση με λεπτούς εφήβους ($\text{BMI} < 85^\circ$ εκατοστημόριο για την ηλικία και το φύλο) [37]. Επίσης,

η RBP₄ είναι αυξημένη σε άτομα με νοσογόνο παχυσαρκία ($BMI \geq 40 \text{ Kg/ m}^2$) σε σχέση με λεπτά άτομα [51]. Ωστόσο, σε μία μελέτη δεν αναφέρεται να υπάρχει διαφορά στην RBP₄ του ορού μεταξύ παχύσαρκων, υπέρβαρων ($25 \text{ Kg/ m}^2 \leq BMI < 30 \text{ Kg/ m}^2$) και λεπτών μετεμνηνοπαυσιακών γυναικών [35]. Εκτός αυτού, το mRNA της RBP₄ είναι αυξημένο στο σπλαχνικό και στον υποδόριο κοιλιακό λιπώδη ιστό των παχύσαρκων ατόμων σε σχέση με τα λεπτα άτομα [22].

Επιπλέον, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το BMI [21,22,52]. Υπάρχουν όμως μελέτες που αναφέρουν ότι η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση και με την περίμετρο μέσης (WC) [22,52], όπως επίσης και με το λόγο της περιμέτρου μέσης προς την περίμετρο των ισχίων [18,53], γεγονός που υποδηλώνει ότι η RBP₄ σχετίζεται με τη σπλαχνική παχυσαρκία.

ii) Σχέση της RBP₄ με παραμέτρους εκτίμησης του υποδόριου και του σπλαχνικού λιπώδη ιστού

Υπάρχουν αναφορές ότι το mRNA της RBP₄ είναι αυξημένο στο σπλαχνικό σε σχέση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό, τόσο σε παχύσαρκα όσο και σε λεπτά άτομα [22] και η RBP₄ του ορού παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το ποσό του σπλαχνικού λιπώδη ιστού (εκτίμηση με μαγνητική τομογραφία), ενώ δε συσχετίζεται με την ποσότητα του υποδόριου λιπώδη ιστού (υπολογισμένου με μαγνητική τομογραφία) [44]. Επίσης, τόσο η RBP₄ του ορού, όσο και το mRNA της RBP₄ είναι αυξημένα σε άτομα με σπλαχνική παχυσαρκία σε σχέση με άτομα χωρίς σπλαχνική παχυσαρκία [22,44,54]. Επιπλέον, η RBP₄ του ορού συσχετίζεται πιο ισχυρά με το mRNA της RBP₄ του σπλαχνικού σε σχέση με τον υποδόριο κοιλιακό λιπώδη ιστό [22]. Παράλληλα, η μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος μετά από απώλεια βάρους έχει συσχετιστεί με τη μεταβολή της ποσότητας του σπλαχνικού λίπους, αλλά όχι με τη μεταβολή της ποσότητας του υποδόριου λίπους [32]. Έχει βρεθεί ότι η RBP₄ του ορού συσχετίζεται με το ποσοστό του λίπους του κορμού επί του συνολικού λίπους του σώματος, ενώ η RBP₄ του ορού δε φαίνεται να συσχετίζεται με το ολικό ποσό λίπους του σώματος, το ποσό του λίπους του κορμού ή το ποσοστό λίπους του σώματος επί του συνολικού βάρους του σώματος [16,29,55]. Ωστόσο υπάρχει μία μελέτη με μεγάλο αριθμό ατόμων, η οποία αναφέρει συσχετίσεις της RBP₄ του ορού με το ολικό λίπος του σώματος και με το ποσό του λίπους του κορμού [52]. Παρόλα αυτά, αυτή η μελέτη ανέλυσε αποκλειστικά πολύ ηλικιωμένους ασθενείς και οι συχετίσεις της ήταν πολύ ασθενείς ($r < 0,150$), ώστε τελικά η δυνατότητα γενίκευσης των συμπερασμάτων της

να τίθεται υπό αμφισβήτηση. Από τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα προκύπτει ότι ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός είναι πιθανώς πιο σημαντικός από τον υποδόριο στον καθορισμό των επιπέδων της RBP₄ του πλάσματος και επίσης ο λόγος της μάζας του σπλαχνικού λιπώδη ιστού δια τη μάζα του υποδόριου λιπώδη ιστού φαίνεται να είναι πιο σημαντικός από τη μάζα του κάθενός από τα δύο αυτά λιπώδη διαμερίσματα.

iii) Σχέση της RBP₄ με παραμέτρους εκτίμησης της έκτοπης εναπόθεσης λιπώδη ιστού

Έχει βρεθεί ότι η RBP₄ του ορού παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το ποσό του ηπατικού λίπους [μετρημένο με Localized Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (IMRS)] [29] και είναι αυξημένη σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος [Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)] σε σχέση με άτομα που δεν έχουν NAFLD [57,58]. Επιπλέον, έχει βρεθεί απουσία συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ του ορού και την έκτοπη εναπόθεση λίπους στους μύες [29,34,59].

iv) Σχέση της RBP₄ με άλλες λιποκίνες

❖ Αντιπονεκτίνη

Η ανασκόπηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, σχετικά με τη σχέση RBP₄ και αντιπονεκτίνης αποκαλύπτει μη σαφείς συσχετίσεις, αν και η πλειονότητα των μελετών αναφέρει την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων στο πλάσμα αυτών των δύο ορμονών. Συγκεκριμένα, υπάρχουν πολλές μελέτες, οι οποίες αναφέρουν ότι η RBP₄ του πλάσματος παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την αντιπονεκτίνη του πλάσματος, σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες [18,37,44,60-64]. Ωστόσο, υπάρχουν ερευνητικές εργασίες που αναφέρουν την απουσία συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ και την αντιπονεκτίνη [29,65-69]. Εκτός όμως από τις προαναφερθείσες μελέτες, οι οποίες αφορούσαν στατικές καταστάσεις (δηλαδή σταθερού μεταβολικού προφίλ), υπάρχει μία μελέτη η οποία αναφέρει την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης ανάμεσα στη μεταβολή της RBP₄ και τη μεταβολή της αντιπονεκτίνης, μετά την εφαρμογή προγράμματος αερόβιας σωματικής άσκησης για 10 εβδομάδες σε γυναίκες ηλικίας 50-71 ετών [70]. Επιπρόσθετα, σε μια μελέτη, αναφέρεται ότι επώαση ανθρώπινων λιποκυττάρων από μαζικό αδένα με 5 nmol/ L αντιπονεκτίνης δεν είχε καμία επίδραση στην παραγωγή RBP₄ από τα λιποκύτταρα [71]. Παράλληλα, αναφέρεται ότι το υψηλού μοριακού βάρους κλάσμα της αντιπονεκτίνης [High Molecular Weight Adiponectin (HMWA)], το οποίο θεωρείται ότι

αποτελεί το πλέον βιολογικά δραστικό κλάσμα της αντιπονεκτίνης [72], παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την RBP₄ [64]. Ωστόσο μία μελέτη σε κορεάτες ασθενείς δεν ανίχνευσε συσχέτιση της RBP₄ με την HMWA [68]. Δεδομένου ότι η αντιπονεκτίνη αποτελεί μία λιποκίνη που είναι αυξημένη σε καταστάσεις ινσουλινοευαισθησίας [72], τα παραπάνω αποτελέσματα είναι συμβατά με τη θεωρούμενη δράση της RBP₄ να επάγει ινσουλινοαντίσταση.

❖ Λεπτίνη

Αν και μελέτες σε συνθήκες σταθερής μεταβολικής κατάστασης, δεν αναφέρουν συσχετίσεις της συγκέντρωσης της λεπτίνης στον ορό με την RBP₄ του ορού [29,60,66], έχει βρεθεί θετική συσχέτιση ανάμεσα στη μείωση της συγκέντρωσης της RBP₄ στον ορό και στην αύξηση της λεπτίνης, μετά από εφαρμογή προγράμματος δίαιτας χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες σε υπέρβαρα άτομα για 12 εβδομάδες, ενώ δεν υπήρξε συσχέτιση μετά από εφαρμογή δίαιτας χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά [73]. Επίσης, αναφέρεται ότι τα επίπεδα του mRNA της RBP₄ στο λιπώδη ιστό γενετικά προδιαθετημένων παχύσαρκων ποντικών (ob/ ob) μειώνονται μετά από χορήγηση λεπτίνης 10 μg μία φορά την ημέρα [74]. Αντίθετα, σε μία άλλη μελέτη, όταν δείγματα ανθρώπινου σπλαχνικού λιπώδη ιστού επώαστηκαν με λεπτίνη, η έκκριση της RBP₄ από τα δείγματα αυτά αυξήθηκε [43].

❖ Ρεσιστίνη

Σε μια μελέτη που εφαρμόστηκε σε άτομα του γενικού κινεζικού πληθυσμού διαπιστώθηκε η ύπαρξη ασθενούς θετικής συσχέτισης ($r = 0,06$) μεταξύ της συγκέντρωσης της RBP₄ στο πλάσμα και της ρεσιστίνης [75]. Ωστόσο, σε μια ερευνητική εργασία, η οποία χρησιμοποίησε μη διαβητικούς, μη παχύσαρκους κορεάτες, με υπερχοληστερολαιμία, αναφέρεται η απουσία συσχέτισης ανάμεσα στη συγκέντρωση της RBP₄ και της ρεσιστίνης [60].

❖ Βισφατίνη

Στη μέχρι σήμερα δημοσιευμένη βιβλιογραφία, υπάρχει μία μελέτη που αξιολογεί τη σχέση μεταξύ RBP₄ και βισφατίνης [76]. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν λεπτές γυναίκες, με φυσιολογική ανοχή γλυκόζης και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών [Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)] και υγιείς γυναίκες, χωρίς PCOS, οι οποίες είχαν την ίδια ηλικία και

φύλο με τις γυναίκες με PCOS. Έτσι, βρέθηκε ότι η RBP₄ παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τη βισφατίνη στο σύνολο των ατόμων και των δύο ομάδων και στην ομάδα των γυναικών με PCOS, ενώ δεν υπήρχε ανάλογη συσχέτιση στην ομάδα των γυναικών χωρίς PCOS.

ν) Σχέση της RBP₄ με το Σύνδρομο υπνικής άπνοιας

Λόγω του ότι το Σύνδρομο Υπνικής Άπνοιας [Obstructive Sleep Apnea Syndrome (OSAS)] αποτελεί μια κατάσταση στενά σχετιζόμενη με την παχυσαρκία, οι ακόλουθες μελέτες αξιολόγησαν τη σχέση του OSAS με την RBP₄:

Μελετήθηκαν ασθενείς με OSAS ή ιδιοπαθές ροχαλητό (primary snorer), οι οποίοι χρησίμευσαν ως controls [77]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ του πλάσματος ήταν υψηλότερη σε άτομα με μέτριο OSAS σε σχέση με τους controls, ενώ, τόσο στα άτομα με ήπιο OSAS, όσο και στα άτομα με σοβαρό OSAS, η RBP₄ δε διέφερε σε σχέση με τους controls.

Ασθενείς με OSAS και χωρίς συννοσηρότητα ή λήψη οποιουδήποτε φαρμάκου διακρίθηκαν σε 2 ομάδες, την ομάδα Α με γλυκόζη ορού < 110 mg/dL και την ομάδα Β με γλυκόζη ορού ≥ 110 mg/dL [78]. Μετά από 6 μήνες χρήσης Συνεχούς Θετικής Πίεσης Αεραγωγών [Continuous Positive Airway Pressure (CPAP)], η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε στην ομάδα Α, αλλά όχι στην ομάδα Β.

vi) Μεταβολές της RBP₄ μετά από θεραπευτικές παρεμβάσεις για απώλεια βάρους

❖ Διαιτητικές παρεμβάσεις

Όσον αφορά τις διαιτητικές παρεμβάσεις, οι περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες αναφέρουν ότι η συγκέντρωση της RBP₄ στον ορό μειώνεται ως αποτέλεσμα εφαρμογής προγραμμάτων υποθερμιδικής διαίτας, τα οποία οδηγούν τελικά σε απώλεια βάρους [29,37,73,79-84]. Ωστόσο, υπάρχουν και δύο αναφορές μη μείωσης της RBP₄ μετά από την εφαρμογή ενός προγράμματος υποθερμιδικής διαίτας [35,70]. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι στη μία από αυτές τις μελέτες υπήρξε τάση για μείωση της RBP₄, η οποία όμως δεν έφθασε στο επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας [35]. Επιπρόσθετα, σε μία μελέτη παχύσαρκες γυναίκες ακολούθησαν ένα πρόγραμμα διαιτητικής παρέμβασης, το οποίο αποτελούνταν από 4 εβδομάδες διαίτας πολύ χαμηλών θερμίδων [Very Low-Calorie Diet (VLCD)], 2 μήνες διαίτας χαμηλών θερμίδων [Low-Calorie Diet (LCD)] και 3-4 μήνες μίας φάσης διατήρησης του σωματικού βάρους [weight maintenance (WM) phase] [85]. Σε αυτή τη μελέτη, η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε κατά τη διάρκεια της VLCD

και στη συνέχεια προοδευτικά αυξήθηκε κατά τη διάρκεια των LCD και WM. Έτσι, στο τέλος της συνολικής διαιτητικής παρέμβασης η RBP₄ του πλάσματος ήταν υψηλότερη της τιμής στο τέλος της VLCD, αλλά χαμηλότερη από την RBP₄ του πλάσματος κατά την έναρξη της μελέτης. Μία πιθανή ερμηνεία αυτών των αποτελεσμάτων είναι ότι η RBP₄ του πλάσματος επηρεάζεται κυρίως από το ισοζύγιο ενέργειας σε μία δεδομένη χρονική στιγμή και λιγότερο από το σωματικό βάρος αυτό καθαυτό. Πρέπει όμως στο σημείο αυτό να διαχωριστούν οι προαναφερθείσες ήπιες υποθερμιδικές δίαιτες, οι οποίες μειώνουν την RBP₄ του ορού ως αποτέλεσμα μείωσης της ποσότητας του λιπώδη ιστού, από προγράμματα έντονης υποθερμιδικής διαίτας οδηγώντας σε καταστάσεις υποθρεψίας και ασιτίας. Κι αυτό γιατί, σε καταστάσεις υποθρεψίας (κυρίως πρωτεϊνικής) και γενικότερα σε καταστάσεις stress, η RBP₄ ελαττώνεται τουλάχιστον λόγω του ότι συνιστά πρωτεΐνη οξείας φάσεως, ανεξάρτητα από άλλες συνυπάρχουσες μεταβολικές δράσεις [3].

Επιπρόσθετα, σε αρκετές μελέτες αναφέρεται ότι οι μεταβολές της RBP₄, ως αποτέλεσμα των διαιτητικών παρεμβάσεων που οδηγούν σε απώλειες βάρους, συμβαδίζουν με τη συνοδό βελτίωση των μεταβολικών παραμέτρων. Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη, μετά από εφαρμογή προγράμματος διαιτητικής παρέμβασης σε άτομα χωρίς ΣΔ, για 9 μήνες, η μείωση της RBP₄ συσχετίστηκε θετικά με τη μείωση του ηπατικού λίπους και την αύξηση της ινσουλινικής ευαισθησίας, η οποία εκτιμήθηκε από τον αντίστοιχο δείκτη των Matsuda και DeFronzo από το OGTT [29]. Σε μια ερευνητική εργασία, μετά από την εφαρμογή υποθερμιδικής διαίτας σε άτομα με Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ), για 14 εβδομάδες, η προκληθείσα μείωση της RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με το ρυθμό καταβολισμού της LDL ApoB-100 [Fractional Catabolic Rate (FCR) of LDL ApoB-100] [81]. Σε μια άλλη μελέτη, μετά από την υιοθέτηση υγιεινοδιαιτητικής παρέμβασης από παχύσαρκους εφήβους, για 3 μήνες, η προκληθείσα μείωση της RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μείωση των φλεγμονωδών παραγόντων hsCRP και IL-6 και με τη μείωση της Ins [37]. Σε μια ερευνητική εργασία, μετά από εφαρμογή προγράμματος υγιεινοδιαιτητικής παρέμβασης σε παχύσαρκα παιδιά, για 1 έτος, η μεταβολή της RBP₄ συσχετίστηκε θετικά με τις μεταβολές των BMI, Ins, HOMA-index και αρνητικά με το δείκτη ινσουλινοευαισθησίας Quantitative Insulin Sensitivity Qheck Index (QUICKI) {QUICKI = $1 / [\log (\text{Ins σε mU/ L}) + \log (\text{Glc σε mg/ dL})]$ } [82].

Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ότι η μείωση της RBP₄ ως αποτέλεσμα μιας διαιτητικής παρέμβασης εξαρτάται όχι μόνο από το μέγεθος της απώλειας βάρους, αλλά και από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της εφαρμοζόμενης διαίτας:

Δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες [Carbohydrate-Restricted Diet (CRD)] έναντι δίαιτας χαμηλής σε λιπαρά [(Low Fat Diet (LFD)]. Σε μια μελέτη άτομα με BMI > 25 Kg/m² και αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία τυχαιοποιήθηκαν σε δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες [Carbohydrate-Restricted Diet (CRD)] ή σε δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά [(Low Fat Diet (LFD)] [73]. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι η μείωση της RBP₄ του ορού στην ομάδα της CRD ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με την ομάδα της LFD. Το μόνο διαιτητικό συστατικό που συσχετίστηκε με τη μείωση της RBP₄ του ορού ήταν η ημερήσια πρόσληψη υδατανθράκων, κατά τη διάρκεια της CRD. Η μεταβολή της RBP₄ του ορού συσχετίστηκε θετικά με τη μεταβολή των μέτρων εκτίμησης της ποσότητας του λίπους του οργανισμού μόνο στην ομάδα της LFD και όχι στην CRD. Ενώ, η μεταβολή της RBP₄ του ορού συσχετίστηκε με τη μεταβολή της Glc, Ins, HOMA-index, ελεύθερων λιπαρών οξέων και λεπτίνης μόνο στην CRD και όχι στην LFD. Επίσης, η μεταβολή της RBP₄ του ορού συσχετίστηκε με τη μεταβολή της συγκέντρωσης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης [low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)] και της ολικής χοληστερόλης (TC) μόνο στη LFD, ενώ με τη μεταβολή της διαμέτρου των LDL σωματιδίων και στις δύο ομάδες.

Μεσογειακή δίαιτα. Μία μελέτη αναφέρει ότι σε άτομα με BMI: 28,0 - 43,0 Kg/m² εφαρμόστηκε πρόγραμμα 8 εβδομάδων υποθερμιδικής μεσογειακής δίαιτας, που απέβλεπε σε κατά 30% περίπου μείωση της ενεργειακής πρόσληψης [84]. Ο βαθμός συμμόρφωσης προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της μεσογειακής δίαιτας εκτιμήθηκε από το score μεσογειακής δίαιτας [Mediterranean diet score (MDS)] της Τριχοπούλου και των συνεργατών της. Το MDS προκύπτει από την άθροιση μιας δυαδικής βαθμολογίας 0 ή 1, για τα 9 συστατικά της μεσογειακής δίαιτας (Υψηλός λόγος μονοακόρεστα λιπαρά οξέα/κορεσμένα λιπαρά οξέα, μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, υψηλή πρόσληψη οσπρίων, δημητριακών, φρούτων, λαχανικών και ψαριών, μειωμένη πρόσληψη κρέατος και παραγώγων κρέατος και μέτρια κατανάλωση γάλακτος και προϊόντων γάλακτος). Η βαθμολογία για το κάθε συστατικό απορρέει από το επίπεδο ημερήσιας διαιτητικής πρόσληψής του. Έτσι, βρέθηκε ότι η RBP₄ μειώθηκε μετά από τη διαιτητική παρέμβαση και μάλιστα το μέγεθος αυτής της μείωσης ήταν τόσο μεγαλύτερο όσο πιο υψηλό ήταν το MDS, ανεξάρτητα από το βαθμό του περιορισμού της ενεργειακής πρόσληψης και το μέγεθος της απώλειας βάρους.

❖ Σωματική άσκηση

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι, στις περισσότερες μελέτες, μετά από εφαρμογή προγραμμάτων σωματικής άσκησης, προκαλείται μείωση της RBP₄ του ορού [21,70,86,87]. Ωστόσο, υπάρχουν δύο μελέτες στις οποίες η RBP₄ του ορού δε μεταβλήθηκε μετά από υιοθέτηση ενός προγράμματος αυξημένης φυσικής δραστηριότητας [88,89]. Στην πρώτη μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν γυναίκες, οι οποίες υποβλήθηκαν σε ένα πρόγραμμα σωματικής άσκησης, για 3 μήνες [88]. Παρόλα αυτά, δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας, μετά από 3 μήνες εφαρμογής του προγράμματος, όπως εκτιμήθηκε από το HOMA-index. Άρα, πιθανώς η μη μεταβολή της RBP₄ του ορού είχε σαν αποτέλεσμα τη μη αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας, μετά από το πρόγραμμα άσκησης. Στην άλλη μελέτη, δύο ομάδες ποντικών, μία που τρεφόταν με συμβατική διαίτα και μία άλλη που τρεφόταν με διαίτα πλούσια σε λιπαρά [High Fat Diet (HFD)], τυχαιοποιήθηκαν σε ένα πρόγραμμα αυξημένης φυσικής δραστηριότητας για 6 εβδομάδες ή σε καθόλου σωματική άσκηση [89]. Έτσι, τελικά προέκυψαν 4 ομάδες παρέμβασης. Δηλαδή, 1) Συμβατική διαίτα χωρίς άσκηση (n= 6), 2) Συμβατική διαίτα με άσκηση (n= 7), 3) HFD χωρίς άσκηση (n= 8), 4) HFD με άσκηση (n= 8). Μετά από την παρέμβαση των 6 εβδομάδων, παρά τη βελτίωση της ινσουλινικής ευαισθησίας, δε διέφερε η RBP₄ μεταξύ των 4 ομάδων, γεγονός το οποίο θα μπορούσε να αποδοθεί στον πολύ μικρό αριθμό πειραματοζώων της κάθε ομάδας μελέτης.

Επιπρόσθετα, αξιολογήθηκαν οι μεταβολές της RBP₄, σε σχέση με τα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της άσκησης. Σε μια ερευνητική εργασία, μελετήθηκε ένας μεγάλος πληθυσμός κινέζων 50-70 ετών με ερωτηματολόγιο, σχετικά με τα επίπεδα καθημερινής φυσικής δραστηριότητας [86]. Τα άτομα κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με το δείκτη *separate metabolic equivalent (MET) hours per week*, ο οποίος ορίστηκε ως: συντελεστής MET της άσκησης × διάρκεια άσκησης (ώρες) × συχνότητα άσκησης (ημέρες). Συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε το επίπεδο ολικής φυσικής δραστηριότητας, χαμηλής έντασης άσκησης και βαδίσματος με τριτημόρια, ενώ το επίπεδο έντονης άσκησης και μέτριας έντασης άσκησης με δυαδική διαβάθμιση του τύπου ναι-όχι. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ δεν παρουσίασε καμία μεταβολή ανάλογα με το επίπεδο ολικής φυσικής δραστηριότητας, μέτριας έντασης άσκησης, χαμηλής έντασης άσκησης ή βαδίσματος, ενώ παρατηρήθηκε ότι η RBP₄ αυξήθηκε με την υιοθέτηση ενός προγράμματος έντονης άσκησης. Σε μια άλλη μελέτη, υπέρβαρες Κορεάτισσες γυναίκες με ΣΔ τύπου 2 τυχαιοποιήθηκαν σε 3 ομάδες: 1) Καθιστικός τρόπος ζωής, 2) Άσκηση

αντίστασης (άσκηση με ελαστικό ιμάντα στο 40-50% της μέγιστης ικανότητας για άσκηση, 5 φορές την εβδομάδα), 3) Αερόβια άσκηση (βάδισμα μέτριας έντασης, για 60 min, 5 φορές την εβδομάδα) [87]. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης σε όλα τα άτομα ζητήθηκε να διατηρήσουν μία συγκεκριμένη πρόσληψη θερμίδων και ίση με: ιδανικό σωματικό βάρος (σε Kg) $\times$ 30 Kcal/Kg ανά ημέρα. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι, μετά από 12 μήνες, η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε στατιστικά σημαντικά μόνο στην ομάδα της άσκησης αντίστασης και η μείωση της RBP₄ του πλάσματος ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα της άκνης αντίστασης σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες. Επιπλέον, η μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μεταβολή της ποσότητας του υποπεριτοναϊκού λιπώδη ιστού στο επίπεδο της μεσότητας του μηρού μόνο στην ομάδα της άσκησης αντίστασης.

Παράλληλα, έχει βρεθεί ότι οι μεταβολές της RBP₄, ως αποτέλεσμα προγραμμάτων σωματικής άσκησης συμβαδίζουν με τη συνοδό βελτίωση των μεταβολικών παραμέτρων. Σε μια μελέτη άτομα με φυσιολογική γλυκόζη ορού νηστείας, άτομα με IGT και άτομα με ΣΔ τύπου 2 υιοθέτησαν ένα πρόγραμμα σωματικής άσκησης (60 min ανά ημέρα, ποδηλασίας ή τρεξίματος, τουλάχιστον 3 ημέρες την εβδομάδα), για 4 εβδομάδες [21]. Διαπιστώθηκε ότι η μεταβολή της RBP₄ κατά τη διάρκεια των 4 εβδομάδων παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη μεταβολή του GDR. Δηλαδή, η μείωση της RBP₄ προέβλεψε το βαθμό αύξησης της ινσουλινοευαισθησίας μετά από το πρόγραμμα άσκησης. Σε μια άλλη ερευνητική εργασία, σε υγιείς γυναίκες εφαρμόστηκε ένα πρόγραμμα αερόβιας σωματικής άσκησης (3 φορές την εβδομάδα από 1 ώρα), για 10 εβδομάδες [70]. Παρατηρήθηκε ότι η μεταβολή της RBP₄, κατά τη διάρκεια των 10 εβδομάδων, παρουσίασε θετική συσχέτιση με τις μεταβολές των WC, TRG, HOMA-index, του εμβαδού κάτω από την καμπύλη γλυκόζης κατά την εφαρμογή OGTT (AUC_{glucose}) και οριακής στατιστικής σημαντικότητας θετική συσχέτιση με τη μεταβολή των Glc, Ins.

❖ Φαρμακοθεραπεία

Υπάρχει μόνο μία μελέτη η οποία αξιολογεί τη μεταβολή της RBP₄ ως αποτέλεσμα της θεραπείας με ορλιστάτη. Συγκεκριμένα, ασθενείς με μη ρυθμισμένο ΣΔ τύπου 2 τυχαιοποιήθηκαν σε ορλιστάτη 120 mg 3 φορές την ημέρα μαζί με L-καρνιτίνη 2 g μία φορά την ημέρα ή ορλιστάτη 120 mg 3 φορές την ημέρα [90]. Παράλληλα, όλοι οι ασθενείς έλαβαν υποθερμιδική δίαιτα, η οποία δημιουργούσε ένα έλλειμμα 600 θερμίδων/ημέρα. Οι ασθενείς αξιολογήθηκαν κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3, 6, 9 και

12 μήνες. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ μειώθηκε προοδευτικά και στις δύο ομάδες παρέμβασης, αλλά η μείωση της RBP₄ έφθασε στο επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας στους 12 μήνες στην ομάδα της ορλιστάτης και στους 9 μήνες στην ομάδα ορλιστάτης και L-καρνιτίνης. Ωστόσο, η RBP₄ δε διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων, σε κάθε χρονικό σημείο.

Όσον αφορά τη σιμπουτραμίνη, υπάρχουν δύο ερευνητικές εργασίες που μελετούν την επίδρασή της στην RBP₄: Υγιείς ενήλικες με BMI: $27,4 \pm 4,0 \text{ Kg/m}^2$ εφάρμοσαν υποθερμιδική διαίτα και αερόβια άσκηση και έλαβαν σιμπουτραμίνη 10- 15 mg μία φορά την ημέρα, για 16 εβδομάδες [55]. Οπότε, παρατηρήθηκε 25,5% μείωση της RBP₄ και μάλιστα η μεταβολή της RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μεταβολή της ποσότητας του σπλαχνικού λίπους. Σε μια άλλη μελέτη παχύσαρκοι με ΣΔ τύπου 2 τυχαιοποιήθηκαν σε σιμπουτραμίνη 10 mg μία φορά την ημέρα μαζί με L-καρνιτίνη 2 g μία φορά την ημέρα (SC) ή σιμπουτραμίνη 10 mg μία φορά την ημέρα (S), για 12 μήνες [91]. Παράλληλα, τα άτομα αυτά ακολούθησαν και υποθερμιδική διαίτα. Έτσι παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της RBP₄ του πλάσματος στους 9 και 12 μήνες στην ομάδα S και στους 6, 9 και 12 μήνες στην ομάδα SC. Δηλαδή, η μείωση της RBP₄ επιτεύχθηκε νωρίτερα στην ομάδα SC, σε σχέση με την ομάδα S. Εκτός αυτού, η μείωση της RBP₄ στην ομάδα SC ήταν μεγαλύτερη, σε σχέση με την αντίστοιχη μείωση της RBP₄ στην ομάδα S, στους 9 και 12 μήνες.

Όσον αφορά την επίδραση του rimonabant στην RBP₄, σε μία μελέτη, ποντίκια ob/ob τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν μία από τις εξής από του στόματος θεραπείες μία φορά την ημέρα: rimonabant 3 mg/ Kg σωματικού βάρους (ΣΒ) ή rimonabant 30 mg/ Kg ΣΒ ή placebo, για 14 ημέρες [92]. Στις 14 ημέρες, στην ομάδα του 30 mg/ Kg ΣΒ rimonabant υπήρξε μείωση του mRNA της RBP₄ στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό σε σχέση με την ομάδα του placebo. Ωστόσο, στην ομάδα του 3 mg/ Kg ΣΒ rimonabant υπήρξε μια τάση για μείωση του mRNA της RBP₄ στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό, σε σχέση με την ομάδα του placebo, η οποία όμως δεν έφθασε το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας. Σε μία άλλη μελέτη, σε ApoE₃ ποντίκια, στα οποία είχε προηγηθεί διαίτα πλούσια σε χοληστερόλη, η χορήγηση rimonabant μείωσε την αυξημένη RBP₄ του ορού και την έκφραση της RBP₄ στην αορτική ρίζα [93].

❖ Βαριατρική αντιμετώπιση της παχυσαρκίας

Γενικά, φαίνεται ότι στις περισσότερες ερευνητικές εργασίες η RBP₄ του πλάσματος μειώνεται ως αποτέλεσμα χειρουργικής αντιμετώπισης της παχυσαρκίας. Στη συνέχεια παρατίθενται οι σχετικές μελέτες, ομαδοποιημένες ανάλογα με το είδος της θεραπευτικής παρέμβασης.

Οι ακόλουθες μελέτες αξιολογούν την επίδραση της εγχείρησης γαστρικής παράκαμψης (gastric bypass) στην RBP₄:

Παχύσαρκες γυναίκες υπεβλήθησαν σε εγχείρηση γαστρικής παράκαμψης, του τύπου Roux-en-Y gastric bypass (RYGBP) και αξιολογήθηκαν στους 1, 3, 6 και 12 μήνες μετεγχειρητικά [94]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε στον 1 μήνα, σε σχέση με τις τιμές της πριν την εγχείρηση, ενώ δεν υπήρξε διαφορά στους 12 μήνες. Μια πιθανή ερμηνεία αυτής της παρατήρησης είναι ότι η RBP₄ ενδεχομένως να επηρεάζεται περισσότερο από το ισοζύγιο ενέργειας μια δεδομένη χρονική στιγμή, παρά μόνο από το σωματικό βάρος. Υπό αυτήν την έννοια, στον 1 μήνα η μείωση της RBP₄ προκλήθηκε από την κατάσταση αρνητικού ισοζυγίου ενέργειας και τη μεγάλη μείωση του σωματικού βάρους, ενώ στους 12 μήνες το σωματικό βάρος ήταν σχετικά σταθεροποιημένο σε χαμηλά επίπεδα, το οποίο μεταφράστηκε σε μη μείωση της RBP₄, σε σχέση με τα βασικά επίπεδα.

Γυναίκες με BMI: $49,7 \pm 8,0$ Kg/m² υπεβλήθησαν σε εγχείρηση γαστρικής παράκαμψης και μελετήθηκαν 12 μήνες μετά την εγχείρηση [95]. Παρατηρήθηκε ότι η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ στους 12 μήνες παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή των Glc, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c), τριγλυκεριδίων (TRG) και είχε μια τάση για αρνητική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης [high density lipoprotein cholesterol (HDL-C)], η οποία όμως δεν έφτασε στο επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0,09$). Επίσης, βρέθηκε ότι η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ συσχετιζονταν ανεξάρτητα από όλους τους άλλους παράγοντες με τις ποσοστιαίες μεταβολές των TRG και HDL-C.

Ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία υπεβλήθησαν σε εγχείρηση RYGBP και μελετήθηκαν στους 4,8 και 15 μήνες μετά την εγχείρηση [96]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ του πλάσματος δε μειώθηκε στο σύνολο των ασθενών μετά από την πάροδο 4, 8 και 15 μηνών (αν και παρουσιάστηκε μια τάση για μη στατιστικά σημαντική μείωση της RBP₄), ενώ ελαττώθηκε στην υποομάδα των ασθενών που έχασαν πάνω από 20% της μάζας του λίπους τους. Αντίθετα, στους ασθενείς που η μάζα του λίπους μειώθηκε κάτω του 20%,

δεν υπήρξε μεταβολή της RBP₄. Αυτή ακριβώς η παρατήρηση αντικατοπτρίζει το γεγονός ότι η RBP₄ επηρεάζεται περισσότερο από το ισοζύγιο ενέργειας μια δεδομένη χρονική στιγμή, παρά από το σωματικό βάρος. Δηλαδή, η RBP₄ θα πρέπει να θεωρείται ως ένας δυναμικός δείκτης (όχι στατικός) του αρνητικού ισοζυγίου ενέργειας, η οποία μειώνεται κατά την απώλεια βάρους μόνο όταν επιτευχθεί ένας ουδός αρνητικού ισοζυγίου ενέργειας.

Υπάρχει μία μελέτη η οποία αξιολογεί την επίδραση της περιοριστικής εγχείρησης του στομάχου (gastric banding) στην RBP₄. Συγκεκριμένα, ασθενείς με BMI ≥ 40 Kg/m² υπεβλήθησαν σε περιοριστική εγχείρηση του στομάχου και μελετήθηκαν 6 μήνες μετά την εγχείρηση [51]. Έτσι, η RBP₄ μειώθηκε στους 6 μήνες, σε σχέση με προεγχειρητικά και η μεταβολή της RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μεταβολή των HOMA-index, BMI και TC.

Υπάρχει μία ερευνητική εργασία που μελετά τη συγκριτική επίδραση της περιοριστικής εγχείρησης του στομάχου και της εγχείρησης γαστρικής παράκαμψης πάνω στην RBP₄. Σε αυτήν τη μελέτη άτομα με BMI > 35 Kg/m² και συννοσηρότητα ή BMI > 40 Kg/m², υπεβλήθησαν σε εγχείρηση για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, η οποία ήταν περιοριστική εγχείρηση του στομάχου ή εγχείρηση γαστρικής παράκαμψης [97]. Μετά από 2 έτη από την εγχείρηση, η RBP₄ μειώθηκε στο σύνολο των ασθενών, σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα, ενώ δεν υπήρξε διαφορά στο μέγεθος της μείωσης της RBP₄ μεταξύ των δύο εγχειρητικών τεχνικών. Επίσης, παρατηρήθηκε η ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ του HOMA-index προεγχειρητικά και της μεταβολής της RBP₄, ώστε τελικά η προεγχειρητική τιμή του HOMA-index μπορούσε να προβλέψει το μέγεθος της μείωσης της RBP₄. Επιπλέον, στην ομάδα των ασθενών που δεν είχαν ΜΣ προεγχειρητικά η μείωση της RBP₄ ήταν μεγαλύτερη από τη μείωση της των ατόμων με ΜΣ. Εκτός αυτού, στους ασθενείς που η διάγνωση της ύπαρξης του ΜΣ διατηρήθηκε και μετά την εγχείρηση δεν παρατηρήθηκε μεταβολή της RBP₄, ενώ στους ασθενείς με προεγχειρητική διάγνωση ΜΣ που δεν είχαν ΜΣ μετεγχειρητικά η RBP₄ ελαττώθηκε.

γ. Μεταβολικό Σύνδρομο

Από την ανασκόπηση της μέχρι σήμερα βιβλιογραφίας προκύπτει ότι η συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα είναι αυξημένη σε άτομα που έχουν Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ) σε σχέση με άτομα χωρίς ΜΣ [18,52,62,63,98]. Επίσης, έχει αξιολογηθεί η ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ΜΣ:

Ένας μεγάλος αριθμός ατόμων κινέζικου πληθυσμού, ηλικίας 50-70 ετών, χωρίστηκαν σε τεταρτημόρια, ανάλογα με τα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος [18]. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι ο λόγος αναλογιών [odds ratio (OR)] του ΜΣ και του καθενός συστατικού του (εκτός της υπεργλυκαιμίας) αυξάνονταν με την αύξηση των RBP₄ τεταρτημορίων. Τα άτομα που βρίσκονταν στο υψηλότερο τεταρτημόριο παρουσίαζαν υψηλότερη Συστολική Αρτηριακή Πίεση (ΣΑΠ), υψηλότερη Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (ΔΑΠ), μεγαλύτερη WC, υψηλότερα TRG και χαμηλότερη HDL-C. Η πιο ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της RBP₄ και των διαφόρων παραγόντων του ΜΣ υπήρξε για την υπερτριγλυκεριδαιμία, ενώ δεν υπήρξε συσχέτιση με την υπεργλυκαιμία. Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση της RBP₄ καθώς αυξάνονταν ο αριθμός των παραγόντων του ΜΣ.

Σε μία άλλη μελέτη διερευνήθηκαν κινέζοι ασθενείς άνω των 40 ετών με ΜΣ και χωρίς ΜΣ [98]. Τα άτομα που είχαν θετικούς και τους 5 παράγοντες του ΜΣ ή που είχαν θετικούς 4 παράγοντες, εκτός από την υπεργλυκαιμία, είχαν υψηλότερη RBP₄ σε σχέση με τα άτομα χωρίς ΜΣ. Επιπλέον, η RBP₄ δε διέφερε μεταξύ των ατόμων που είχαν θετικούς και τους 5 παράγοντες του ΜΣ και των ατόμων που είχαν θετικούς 4 παράγοντες, εκτός της υπεργλυκαιμίας. Η RBP₄ του πλάσματος ήταν υψηλότερη σε άτομα με υπέρταση, με ή χωρίς αγωγή, υπερτριγλυκεριδαιμία, χαμηλή HDL-C, αυξημένη WC.

Σε μια ερευνητική εργασία μελετήθηκε ένας μεγάλος αριθμός ηλικιωμένων ατόμων [52]. Η RBP₄ των ατόμων με ΜΣ ήταν υψηλότερη, σε σχέση με αυτών χωρίς ΜΣ. Εκτός αυτού η RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με τον αριθμό των παραγόντων του ΜΣ. Η RBP₄ παρουσίασε μια έντονη θετική συσχέτιση με την υπερτριγλυκεριδαιμία, ενώ η συσχέτισή της RBP₄ με τους άλλους παράγοντες του ΜΣ ήταν οριακά στατιστικά σημαντική ή μη στατιστικά σημαντική. Επιπλέον, στα άτομα με ΜΣ χωρίς υπερτριγλυκεριδαιμία η RBP₄ δε διέφερε, σε σχέση με τα άτομα χωρίς ΜΣ.

Σε μια μελέτη ατόμων κορεατικού πληθυσμού, η RBP₄ και ο λόγος RBP₄/αντιπυρεκτίνη πλάσματος ήταν υψηλότερος σε άτομα με ΜΣ, σε σχέση με άτομα χωρίς ΜΣ [63]. Επίσης, ο λογάριθμος της συγκέντρωσης της RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των TRG, WC και ΣΑΠ, ενώ η αναλογία των ατόμων με θετικά τα κριτήρια TRG, Αρτηριακή Πίεση (ΑΠ), Glc αυξάνονταν για κάθε υψηλότερο τεταρτημόριο της RBP₄.

δ. Μεταβολισμός λιποπρωτεϊνών

i) Σχέση της RBP₄ με λιπιδαιμικές παραμέτρους

Υπάρχει ένας αριθμός μελετών που αναφέρει ότι η συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση στον ορό των TC [52,65], LDL-C [22,65,81,99] και TRG [21,22,44,52,99] και αρνητική συσχέτιση με την HDL-C [22,99]. Επίσης, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση στον ορό των μικρών πυκνών LDL [small dense LDL cholesterol (sdLDL-C)] [65]. Επιπλέον, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση στον ορό των καταλοίπων σωματιδίων χοληστερόλης (RLP-C) και τριγλυκεριδίων (RLP-TG) [99]. Εκτός αυτού, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το LDL-migration index (LDL-MI), το οποίο αποτελεί στην ηλεκτροφόρηση λιποπρωτεϊνών PAGE την απόσταση μεταξύ των κορυφών των very low-density lipoprotein (VLDL) και LDL διηρημένη δια την απόσταση μεταξύ των κορυφών των VLDL και HDL [99]. Παράλληλα, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις στον ορό των απολιποπρωτεϊνών ApoB, ApoE, ApoCII, ApoCIII και αρνητική συσχέτιση με το κλάσμα LDL/ ApoB [99,100]. Επιπρόσθετα, η RBP₄ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη δραστηριότητα της ηπατικής λιπάσης (HLactivity) [101]. Τέλος, αν και ένας αριθμός μελετών δείχνει ότι δεν υπάρχουν συσχετίσεις της RBP₄ με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα του ορού [free fatty acids (FFA)] [29,59], υπάρχει μία μελέτη η οποία αναφέρει ότι ποντίκια RBP₄^{+/-} και RBP₄^{-/-} έχουν μειωμένη συγκέντρωση FFA στον ορό σε σχέση με τα φυσιολογικά ποντίκια [20]. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι η RBP₄ μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό των FFA, αλλά αυτός ο μηχανισμός δε φαίνεται να είναι σημαντικός για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των FFA στον ορό, τουλάχιστον σε φυσιολογικές καταστάσεις.

ii) Μεταβολές της RBP₄ μετά από χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων

❖ Στατίνες

Οι ακόλουθες μελέτες αξιολογούν την επίδραση των στατινών στην RBP₄:

Υπάρχει μία σχετικά όχι πολύ πρόσφατη μελέτη, πριν την ανακάλυψη του μεταβολικού ρόλου της RBP₄ [102]. Ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (τύπου Ια ή Ιβ) υπεβλήθησαν σε θεραπευτική παρέμβαση που περιελάμβανε δίαιτα και στατίνες. Η αρχική αγωγή με στατίνες ήταν σιμβαστατίνη 10 mg μία φορά την ημέρα ή πραβαστατίνη 20 mg μία φορά την ημέρα και οι δόσεις αυξάνονταν έως 40 mg, αν η LDL-

C βρίσκονταν πάνω από το στόχο. Η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε στο 1 έτος και στα 2 έτη, σε σχέση με τις τιμές της πριν την έναρξη της θεραπείας.

Ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 και υπερχοληστερολαιμία τυχαιοποιήθηκαν σε συμβαστατίνη 80 mg μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [103]. Μετά από 2 μήνες, η RBP₄ του πλάσματος στην ομάδα της συμβαστατίνης, αν και δε διέφερε στατιστικά σημαντικά, σε σχέση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου, είχε μια τάση για μικρότερες τιμές. Επιπλέον, η μεταβολή της RBP₄, σε σχέση με την τιμή πριν τη θεραπεία, παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη μεταβολή των FFA.

Ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 και υπερλιπιδαιμία (TC > 220 mg/ dL ή TRG > 150 mg/ dL) έλαβαν ροσουβαστατίνη 2,5 mg μία φορά την ημέρα, για 3 μήνες [104]. Παρατηρήθηκε ότι η RBP₄ του πλάσματος, αν και δε διέφερε στατιστικά σημαντικά, σε σχέση με πριν τη θεραπεία, υπήρξε μια τάση για μείωση. Εκτός αυτού, στην υποομάδα των ασθενών με κακό γλυκαιμικό έλεγχο (HbA1c ≥ 8,0 %), η ροσουβαστατίνη οδήγησε σε μείωση της RBP₄. Πρέπει να σημειωθεί ότι η χρησιμοποιηθείσα δοσολογία της ροσουβαστατίνης 2,5 mg μία φορά την ημέρα ήταν αρκετά μικρή και πιθανώς μια υψηλότερη δοσολογία να προκαλούσε μείωση της RBP₄.

❖ Φιμπράτες

Οι ακόλουθες μελέτες αξιολογούν την επίδραση των φιμπρατών στην RBP₄. 13 ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (τύπου IIa ή IIβ) υπεβλήθησαν σε θεραπευτική παρέμβαση που περιελάμβανε δίαιτα και γεμφιβροζίλη 600 mg δύο φορές την ημέρα [102]. Η RBP₄ του πλάσματος δεν μεταβλήθηκε στο 1 έτος και στα 2 έτη, σε σχέση με τις τιμές της πριν την έναρξη της θεραπείας.

Σε μία ερευνητική εργασία, όπου μελετήθηκε η επίδραση της φαινοφιμπράτης στην RBP₄, υπήρξαν 3 πειραματικά μέρη (ένα κλινικό, ένα με επίμυες και ένα με λιποκύτταρα) [105]. Στο κλινικό μέρος, μη διαβητικά άτομα με δυσλιπιδαιμία έλαβαν φαινοφιμπράτη 200 mg μία φορά την ημέρα, για 8 εβδομάδες. Μετά από 8 εβδομάδες η RBP₄ μειώθηκε, σε σχέση με πριν τη θεραπεία [από (34,8 ± 4,0) mg/L σε (24,4 ± 2,1) mg/L]. Επίσης, επίμυες τράφηκαν για 6 εβδομάδες με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά [High Fat Diet (HFD)] και στη συνέχεια, εκτός της HFD, χορηγήθηκε, μέσω της τροφής, φαινοφιμπράτη 100 mg/Kg ΣΒ /ημέρα για 2 εβδομάδες. Η αρχική χορήγηση HFD, για 6 εβδομάδες αύξησε την RBP₄ του ορού και το mRNA της RBP₄ στο λιπώδη ιστό της επιδιδυμίδας, ενώ μετά από περαιτέρω 2 εβδομάδες χορήγησης φαινοφιμπράτης η RBP₄ του ορού και το mRNA της

RBP4 μειώθηκαν. Τέλος, προκειμένου να καθοριστεί κατά πόσο η φαινοφιμπράτη έχει άμεση επίδραση στην έκφραση του mRNA της RBP4 χορηγήθηκε σε 3T3-L1 λιποκύτταρα 10 μ M, 50 μ M και 100 μ M φαινοφιμπράτης, για 24 ώρες. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι το mRNA της RBP4 μειώθηκε κατά 5 %, 15 % και 22 % αντίστοιχα.

❖ Χολεστυραμίνη

Σχετικά με την επίδραση της χολεστυραμίνης στην RBP₄, υπάρχει μία μελέτη, στην οποία ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (τύπου IIa ή IIβ) υπεβλήθησαν σε θεραπευτική παρέμβαση που περιελάμβανε δίαιτα και χολεστυραμίνη 8-12 g/ ημέρα [102]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε στο 1 έτος και στα 2 έτη, σε σχέση με τις τιμές της πριν την έναρξη της θεραπείας.

❖ Εξετιμίμπη

Όσον αφορά την επίδραση της εξετιμίμπης στην RBP₄, υπάρχει μία σχετική μελέτη, στην οποία ασθενείς με κεντρική παχυσαρκία ακολούθησαν διαιτητική παρέμβαση που περιελάμβανε αρχικά μια περίοδο 4 εβδομάδων σταθεροποίησης του βάρους, στη συνέχεια υποθερμιδική δίαιτα για 16 εβδομάδες και τελικά μια περίοδο σταθεροποίησης του βάρους με την εφαρμογή ισοθερμιδικής διαίτας [106]. Κατά τη διάρκεια της διαιτητικής παρέμβασης των 22 εβδομάδων τα άτομα αυτά τυχαιοποιήθηκαν σε εξετιμίμπη (το οποίο προκαλεί μείωση της εντερικής απορρόφησης χοληστερόλης) 10 mg μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο. Και στα δύο σκέλη η απώλεια βάρους δε διέφερε σημαντικά. Ωστόσο, η χορήγηση εξετιμίμπης μαζί με την εφαρμογή υποθερμιδικής διαίτας οδήγησε σε μείωση της RBP₄ του πλάσματος, που δε διέφερε σε μέγεθος από την ελάττωση της RBP₄ μετά από υποθερμιδική δίαιτα μόνο.

ε. Καρδιαγγειακή νόσος

Οι ακόλουθες μελέτες αξιολογούν τη σχέση της RBP₄ , τόσο με την επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου, όσο και με απεικονιστικές παραμέτρους εκτίμησης της αθηροσκλήρωσης:

Σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 η παρουσία κλινικής αθηροσκλήρωσης ορίστηκε εφόσον υπήρχε τουλάχιστον ένα από τα εξής: 1) Στεφανιαία Νόσος (ΣΝ), 2) Αγγειακό Εγγεφαλικό Επεισόδιο (ΑΕΕ), 3) Περιφερική Αρτηριοπάθεια (ΠΑ) [107]. Η υποκλινική αθηροσκλήρωση ορίστηκε με την ύπαρξη: 1) τουλάχιστον μίας αθηροσκληρωτικής

πλάκας, η οποία να προκαλεί στένωση $> 40 \%$ στο υπερηχογράφημα (U/S) των καρωτίδων ή 2) αστραγαλοβραχιόνιου δείκτη [Ankle Brachial Index (ABI)] $\leq 0,9$ ή $\geq 1,3$. Διαπιστώθηκε ότι η παρουσία κλινικής αθηροσκλήρωσης σχετίστηκε με υψηλότερες τιμές RBP₄. Επίσης, άτομα με παρουσία ενός από τα 3 συστατικά της κλινικής αθηροσκλήρωσης (ΣΝ, ΑΕΕ, ΠΑ), ανεξάρτητα από την παρουσία των άλλων συστατικών, είχαν υψηλότερη RBP₄, σε σχέση με άτομα χωρίς κλινική αθηροσκλήρωση. Επίσης, σε άτομα με υποκλινική αθηροσκλήρωση υπήρξε μια τάση για υψηλότερες τιμές RBP₄, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Μελετήθηκε ένας μεγάλος αριθμός ατόμων, ο οποίος δεν ανέφερε στο ιστορικό του καρδιακή προσβολή ή ΑΕΕ [100]. Μετά από την πάροδο 6 ετών, οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες, αυτούς που εμφάνισαν θανατηφόρα ή μη θανατηφόρα ΣΝ κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης και αυτούς που δεν εμφάνισαν ΣΝ κατά την παρακολούθηση. Έτσι, παρατηρήθηκε ότι η RBP₄ ήταν υψηλότερη στην πρώτη ομάδα, σε σχέση με τη δεύτερη. Σε μονοπαραγοντική ανάλυση, η αύξηση των τεταρτημορίων της RBP₄ σχετίστηκε με μια μέτρια αύξηση στον κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ, ενώ, όταν στην ανάλυση συμπεριελήφθησαν όλοι οι σημαντικοί καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου η συσχέτιση μεταξύ RBP₄ και ΣΝ εξαφανίστηκε. Δηλαδή, η RBP₄ δε φαίνεται να προσφέρει επιπρόσθετες πληροφορίες όσον αφορά το μελλοντικό κίνδυνο ανάπτυξης ΣΝ, σε σχέση με τους παραδοσιακούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου.

Σε 507 ηλικιωμένους Ευρωπαίους, η RBP₄ του πλάσματος ήταν υψηλότερη σε άτομα με ιστορικό προηγούμενου ΑΕΕ ή εισαγωγής στο Νοσοκομείο για Καρδιαγγειακή Νόσο, σε σχέση με άτομα χωρίς αντίστοιχο ιστορικό [52]. Επίσης, η RBP₄ παρουσίαζε μια τάση να είναι αυξημένη σε άτομα με ιστορικό Οξέος Εμφράγματος του Μυοκαρδίου (ΟΕΜ) σε σχέση με άτομα χωρίς ΟΕΜ, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Ένας μεγάλος αριθμός ηλικιωμένων αξιολογήθηκε για την παρουσία υποκλινικής Καρδιαγγειακής Νόσου [108]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ παρουσίασε θετική συσχέτιση με το υπερηχογραφικά προσδιορισμένο πάχος του τοιχώματος της αριστερής κοιλίας, το οποίο αποτελεί δείκτη υπερτροφίας και συστολικής επιβάρυνσης της αριστερής κοιλίας. Εκτός αυτού, η RBP₄ παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με το υπερηχογραφικά προσδιορισμένο δείκτη Gray Scale Median (GSM) των καρωτίδων. Το GSM είναι ένα μέτρο της ηχογένειας του αγγειακού τοιχώματος, με τις χαμηλότερες τιμές του να αντιστοιχούν σε πιο σκοτεινόχρωμη υπερηχογραφική απεικόνιση, η οποία συνδέεται με υψηλότερη περιεκτικότητα λίπους του αγγειακού τοιχώματος και συνεπώς σχετίζεται με

την παρουσία πλούσιων σε λίπος αθηροσκληρωτικών πλακών στο τοίχωμα. Δηλαδή, υψηλά επίπεδα RBP₄ παρατηρούνται σε ύπαρξη πλούσιων σε λίπος αθηροσκληρωτικών πλακών στο αγγειακό τοίχωμα, το οποίο συνιστά ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ισχαιμική καρδιαγγειακή νόσο.

Μελετήθηκε ένα σύνολο υπερτασικών και μη υπερτασικών γυναικών, < 65 ετών, με BMI < 27 Kg/m² και φυσιολογική ανοχή γλυκόζης σε OGTT [109]. Παρατηρήθηκε ότι η RBP₄ σχετίστηκε θετικά με το υπερηχογραφικά προσδιορισμένο πάχος του έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων [Intima Media Thickness(IMT)], το οποίο αποτελεί δείκτη αθηροσκλήρωσης.

Μελετήθηκαν άτομα με νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ τύπου 2 και BMI: 18-35 Kg/ m² [66]. Διαπιστώθηκε ότι η RBP₄ παρουσίαζε αρνητική συσχέτιση με το Flow Mediated Dilatation (FMD), το οποίο αποτελεί δείκτη ενδοθηλιακής λειτουργίας και θετική συσχέτιση με τα διαλυτά μόρια προσκόλλησης sICAM-1 και sE-selectin, των οποίων η έκφραση από το ενδοθήλιο προκαλεί ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Άρα, η RBP₄ πιθανώς να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στις αγγειακές επιπλοκές του ΣΔ.

Σε μια μελέτη, σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο, μετρήθηκε το IMT σε 3 διαφορετικά σημεία του οπίσθιου τοιχώματος της κοινής καρωτίδας και υπολογίστηκαν το μέσο IMT και το μέγιστο IMT, για κάθε ασθενή [110]. Αξίζει να σημειωθεί ότι κάποιοι ασθενείς μεταξύ των άλλων φαρμάκων ελάμβαναν αντιδιαβητικά φάρμακα από το στόμα και στατίνες. Διαπιστώθηκε ότι το μέσο IMT παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος, αρνητική με τη ρετινόλη του πλάσματος και αρνητική με το λόγο ρετινόλη/ RBP₄, ενώ δε συσχετίστηκε με τη συγκέντρωση της τρανσθυρετίνης στο πλάσμα. Επίσης, σε ένα μοντέλο πολυπαραγοντικής ανάλυσης, στο οποίο επιλέχθηκε ως εξαρτημένη μεταβλητή το μέσο IMT, μετά από στάθμιση για τους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου ηλικία, φύλο, BMI, συστολική ΑΠ, HDL-C/ TC, TRG, κάπνισμα (ναι/όχι), eGFR και ΣΔ τύπου 2 (ναι/ όχι), ο λόγος ρετινόλη/ RBP₄ παρέμεινε στατιστικά σημαντικός ανεξάρτητος καθοριστής του IMT και μπορούσε να ερμηνεύσει το 19,4 % της διακύμανσης του μέσου IMT. Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν όταν επιλέχθηκε ως εξαρτημένη μεταβλητή το μέγιστο IMT. Το γεγονός ότι το μέσο IMT συσχετιζόταν ισχυρά με το λόγο ρετινόλη/ RBP₄, ο οποίος αντικατοπτρίζει τον κορεσμό της RBP₄ με ρετινόλη, αποδόθηκε από τους συγγραφείς στο ότι το μη συνδεδεμένο με ρετινόλη κλάσμα της (apoRBP₄) πιθανώς να έχει ένα ειδικό ρόλο στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης.

στ. Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Από την ανασκόπηση της μέχρι σήμερα βιβλιογραφίας, όσον αφορά τη σχέση της RBP₄ με το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών [Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)], οι περισσότερες ερευνητικές εργασίες συμπεραίνουν ότι η RBP₄ του πλάσματος είναι αυξημένη σε γυναίκες με PCOS, σε σχέση με γυναίκες χωρίς PCOS [111-114]. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες αναφορές ότι η RBP₄ δε διαφέρει μεταξύ των γυναικών με PCOS και χωρίς PCOS [76,115-117], ή ακόμα και ότι η RBP₄ είναι μειωμένη σε γυναίκες με PCOS, σε σχέση με γυναίκες χωρίς PCOS [118]. Αν και αναφέρεται σε μία μελέτη ότι η έκφραση του mRNA της RBP₄ από ανθρώπινο λιπώδη ιστό μπορεί να ενισχυθεί από τη 17β-οιστραδιόλη [112], ορισμένες κλινικές μελέτες απέτυχαν να βρουν την ύπαρξη κάποιας σχέσης ανάμεσα στην RBP₄ του πλάσματος και τα επίπεδα των στεροειδών του φύλου [111,113,119]. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα στις *in vitro* και στις *in vivo* μελέτες και συνεπώς η *in vitro* τεκμηριωμένη ιδιότητα των στεροειδών του φύλου να ενισχύουν την έκφραση του mRNA της RBP₄ δε μεταφράζεται σε μία ανάλογη σχέση της RBP₄ του πλάσματος με τα επίπεδα των στεροειδών του φύλου, σε ένα κλινικό πλαίσιο. Σε συμφωνία με τα παραπάνω, έχει αναφερθεί ότι η παρουσία της υπερανδρογοναιμίας ή του PCOS δεν αποτελούν ανεξάρτητους καθοριστές της RBP₄ του πλάσματος [114]. Υπό αυτήν την έννοια, η RBP₄ του πλάσματος δε φαίνεται να σχετίζεται με αυτή καθαυτή την υπερανδρογοναιμία ή το PCOS, αλλά με τις μεταβολικές παραμέτρους της σχετιζόμενης με το PCOS ινσουλινοαντίστασης [113-115,119]. Πράγματι, σε μία μελέτη αναφέρεται ότι η RBP₄ του πλάσματος δε διέφερε μεταξύ PCOS γυναικών με φυσιολογικό BMI και ανοχή γλυκόζης και γυναικών χωρίς PCOS με παρόμοιο BMI [76].

Β. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

1. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Η αιτιολογία της παχυσαρκίας είναι πολυπαραγοντική, περιλαμβάνοντας μια σύνθετη αλληλεπίδραση ανάμεσα σε γενετικούς, ορμονικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες [121]. Οι ορμόνες που εμπλέκονται στην παθογένεια της παχυσαρκίας διακρίνονται στις ορμόνες που εκκρίνονται από το γαστρεντερικό σωλήνα (ΓΕΣ) και στις λιποκίνες που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό.

α. Γενετικοί παράγοντες

Όσον αφορά το γενετικό υπόστρωμα της παχυσαρκίας, έχουν βρεθεί αρκετά γονίδια, όπως αυτά που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες β-3-αδρενεργικός υποδοχέας, peroxisom-proliferator-activated receptor gamma 2 (PPARγ2), υποδοχέας της μελανοκορτίνης-4, το χρωμόσωμα 10p κτλ.

β. Ορμόνες που εκκρίνονται από το γαστρεντερικό σύστημα

Σχετικά με τις ορμόνες που εκκρίνονται από το ΓΕΣ και σχετίζονται με την παχυσαρκία οι κυριότερες είναι η γκρελίνη, η οποία είναι ορεξιογόνος (αυξάνει την όρεξη) και το πεπτίδιο YY (PYY), η οξυντομοντουλίνη (oxynomodulin), η χολοκυστοκινίνη (CCK) και το Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) τα οποία δρουν ως ανορεκτικοί παράγοντες, μειώνοντας την πρόσληψη τροφής, ώστε να επιτευχθεί ιδανική πέψη και απορρόφηση και να αποφευχθούν οι επιπτώσεις της υπερφαγίας, όπως η υπερινσουλιναμία και η ινσουλινοαντίσταση.

Η γκρελίνη είναι ένα πεπτίδιο που κυκλοφορεί στο πλάσμα και εκκρίνεται από το στόμαχο. Πρόκειται για τη μόνη γνωστή έως σήμερα ορεξιογόνο ορμόνη με περιφερική δράση και είναι υπεύθυνη για τη διέγερση της όρεξης [122].

Το PYY εκκρίνεται από το έντερο και ανιχνεύεται σε υψηλότερα επίπεδα σε περιφερικά τμήματα του εντέρου, σε σχέση με κεντρικότερα τμήματα. Εκκρίνεται από τα L-κύτταρα του περιφερικού λεπτού εντέρου και του παχέος εντέρου. Απελευθερώνεται μεταγευματικά και δρα στον υποθάλαμο καθυστερώντας τη γαστρική κένωση. Έχει βρεθεί ότι χορήγηση του PYY πριν από τα γεύματα οδηγεί σε μειωμένη πρόσληψη τροφής [123].

Η CCK εκκρίνεται από τη χοληδόχο κύστη, το πάγκρεας και το στόμαχο, ως απάντηση στο διαιτητικό λίπος. Η CCK ρυθμίζει τη σύσπαση της χοληδόχου κύστης, την εξωκρινή έκκριση του παγκρέατος, τη γαστρική κένωση και την κινητικότητα του

εντέρου. Επίσης, η CCK δρα στους υποδοχείς CCK-A στον εγκέφαλο αυξάνοντας το αίσθημα κορεσμού και μειώνοντας την όρεξη για τροφή [121].

Η οξυντομοντουλίνη εκκρίνεται από το λεπτό έντερο μεταγευματικά και ρυθμίζει τον τερματισμό του γεύματος. Αναφέρεται ότι η εφάπαξ έγχυση οξυντομοντουλίνης καταστέλλει την όρεξη και μειώνει την πρόσληψη τροφής, για μια περίοδο 12 ωρών, ενώ έχει βρεθεί ότι μειώνει και τα επίπεδα στο πλάσμα νηστείας της γκρελίνης [124].

Το GLP-1, το οποίο αποτελεί το τμήμα της γλυκαγόνης από το 6 έως το 29 κατάλοιπο, αυξάνει το αίσθημα κορεσμού και μειώνει την πρόσληψη τροφής, όταν χορηγείται ενδοφλέβια (iv) σε ανθρώπους [125].

γ. Λιποκίνες

Αναφορικά με τις λιποκίνες, οι κυριότερες είναι οι εξής: λεπτίνη, αντιπονεκτίνη, ρεσιστίνη, βισφατίνη, RBP4, tumour necrosis factor-alpha (TNFα), interleukin-6 (IL-6) [126].

ι) Λεπτίνη

Η ανακάλυψη της λεπτίνης προέκυψε από μελέτες σε ποντίκια ομόζυγα για τις μεταλλάξεις των γονιδίων ob. Αυτές οι μεταλλάξεις οδηγούν στην ανάπτυξη μαζικής παχυσαρκίας, αυξημένης πρόσληψης τροφής, υπεργλυκαιμίας, υπερινσουλιναϊμίας, ινσουλινοαντίστασης και διαταραχής της θερμογένεσης [127]. Στις κλασσικές μελέτες των Coleman και Hummel βρέθηκε ότι τα ob ποντίκια ήταν ελλαττωματικά, όσον αφορά τη μετάδοση ενός σήματος υπεύθυνου για το αίσθημα του κορεσμού, ενώ τα db ποντίκια παρήγαγαν αυτό το σήμα, αλλά δεν ανταποκρίνονταν σε αυτό [128,129]. Μετά από 20 περίπου έτη ανακαλύφθηκε ότι το προϊόν του γονιδίου ob ήταν μια πρωτεΐνη που εκφράζονταν κυρίως στο λευκό λιπώδη ιστό, η οποία ονομάστηκε λεπτίνη [130]. Αμέσως μετά ανακαλύφθηκε ότι το γονίδιο db κωδικοποιούσε τον υποδοχέα της λεπτίνης (ObR), ένα μέλος της υπερικογένειας των υποδοχέων των κυτοκινών, ο οποίος εκφράζεται σε υψηλό βαθμό στον υποθάλαμο, στο λιπώδη ιστό και στους όρχεις [131,132].

Το ObR γονίδιο μπορεί να παράγει 5 εναλλακτικά ματισμένα (spliced) μεταγραφήματα, τα οποία κωδικοποιούν τη μακριά (ObRb), την ενδιάμεση (ObRa, ObRc, ObRd) και τη βραχεία (ObRe) μορφή του ObR [133,134]. Η μακριά μορφή ObRb διαθέτει ένα διαμεμβρανικό τμήμα και μια μεγάλη ενδοκυττάρια δομή μετάδοσης σήματος και εκφράζεται σε υψηλό βαθμό στον υποθάλαμο, το λιπώδη ιστό και τους όρχεις [134]. Η

μετάλλαξη db οδηγεί στην αντικατάσταση του ObRb από το ObRa, το οποίο δεν μπορεί να μεταδώσει το σήμα της λεπτίνης [134]. Ο φαινότυπος της μαζικής παχυσαρκίας, ινσουλινοαντίστασης και διαβήτη που αναπτύσσεται στα db ποντίκια υποδηλώνει ότι το γονίδιο ObRb είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής, του μεταβολισμού και του λίπους του οργανισμού. Η ισομορφή ObRa εκφράζεται επίσης στο χοριοειδές πλέγμα και πιθανώς να διαμεσολαβεί τη μεταφορά της λεπτίνης από την κυκλοφορία στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) [132]. Επιπλέον, η βραχεία μορφή ObRe, η οποία δε διαθέτει την ενδοκυττάρια δομή και τη διαμεμβρανική περιοχή του ObRb, είναι μια εκκρινόμενη μορφή υποδοχέα, η οποία εκφράζεται από το λιπώδη ιστό, τους όρχεις, την καρδιά και τον εγκέφαλο και πιθανώς καθορίζει τη συγκέντρωση της λεπτίνης στο αίμα [133,134].

Στη σημερινή εποχή, η επικρατούσα άποψη θεωρεί τη λεπτίνη ως ένα ενδοκρινικό σήμα από το λιπώδη ιστό, το οποίο διατηρεί το σωματικό βάρος μέσα σε στενά όρια, ρυθμίζοντας την πρόσληψη τροφής, το μεταβολισμό και τη νευροενδοκρινική λειτουργία, μέσω του ObRb στον υποθάλαμο [134-136]. Οι μεταβολικές δράσεις της λεπτίνης αποδίδονται επίσης και σε ένα αυτοκρινή μηχανισμό [137]. Για παράδειγμα, η λεπτίνη έχει μια γενική καταβολική δράση στο λιπώδη ιστό, μειώνοντας την πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα και προάγοντας τη λιπόλυση των TRG μέσω της ορμονοευαίσθητης λιπάσης και αναστολής της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης [137,138].

Αναφέρεται ότι, σε μελέτες με ανθρώπους και πειραματόζωα, η συγκέντρωση της λεπτίνης στον ορό νηστείας ήταν ανάλογη με το λίπος του σώματος και αυξάνονταν σε καταστάσεις παχυσαρκίας [139,140]. Εκτός αυτού, χορήγηση λεπτίνης σε παχύσαρκα ποντίκια, τα οποία έχουν έλλειψη λεπτίνης, διόρθωσε την κατάσταση παχυσαρκίας και διόρθωσε τις υφιστάμενες μεταβολικές ανωμαλίες [141-143]. Λόγω του ότι τα παχύσαρκα και υπέρβαρα άτομα έχουν υψηλή συγκέντρωση λεπτίνης στο πλάσμα, γενικά θεωρείται ότι σε αυτά τα άτομα η ανταπόκριση στη λεπτίνη είναι μειωμένη, οδηγώντας σε μια κατάσταση αντίστασης στη λεπτίνη. Ως ένας πιθανός μηχανισμός που συμβάλλει στην αντίσταση της λεπτίνης σε παχύσαρκα άτομα έχει προταθεί η μειωμένη μεταφορά της λεπτίνης μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, περιορίζοντας έτσι την είσοδο αυτού του πεπτιδίου στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) [144]. Ένας άλλος μηχανισμός που πιθανώς συμβάλλει στην αντίσταση στη λεπτίνη σε καταστάσεις παχυσαρκίας είναι η μείωση των καταβολικών επιδράσεων της λεπτίνης στο λιπώδη ιστό, ως αποτέλεσμα της αναστολής του υποδοχέα της λεπτίνης [137,145].

Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι τα μειωμένα επίπεδα λεπτίνης είναι δυνατό να συμβάλλουν στην παθογένεια της λιποδυστροφίας, η οποία αντιπροσωπεύει μία κατάσταση μειωμένης ποσότητας λιπώδους ιστού και ανακατανομής του λίπους και σχετίζεται με ινσουλινοαντίσταση, ΣΔ και υπερτριγλυκεριδαιμία [146-150]. Εκτός αυτού, έχει βρεθεί ότι η χορήγηση λεπτίνης μπορεί να αντιστρέψει τις μεταβολικές επιπτώσεις της γενικευμένης λιποδυστροφίας ή σε άτομα με λιποδυστροφία και HIV λοίμωξη, τα οποία λαμβάνουν υψηλές δόσεις αντικής θεραπείας [151,152].

Επιπρόσθετα, η λεπτίνη διαθέτει αντιφλεγμονώδεις και ανοσοτροποποιητικές δράσεις [153,154]. Για παράδειγμα, ποντίκια ομόζυγα για μεταλλάξεις των γονιδίων *ob* ή *db* έχουν διαταραγμένες ανοσολογικές αποκρίσεις και είναι πιο ευαίσθητα σε λοιμώξεις, οι οποίες αποδίδονται σε μεταβολή της ανοσολογικής απόκρισης των T λεμφοκυττάρων [155]. Παράλληλα, στην παχυσαρκία υπάρχει αυξημένη συσσώρευση μακροφάγων στο λιπώδη ιστό, ως αποτέλεσμα του κυτταρικού θανάτου των λιποκυττάρων και της επακόλουθης απελευθέρωσης ενδοκυττάρων λιπιδίων [156] και αυτή ακριβώς η χαμηλού βαθμού φλεγμονή στο λιπώδη ιστό θεωρείται ως ένα πρώιμο συμβάν των μεταβολικών επιπτώσεων της παχυσαρκίας [157,158]. Επιπλέον, σε καλλιέργειες λιποκυττάρων, υπάρχει ενεργοποίηση των προσκολλητικών μορίων intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) και του platelet/ endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), τα οποία διαμεσολαβούν την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο και τη μετανάστευση των λιποκυττάρων δια μέσου του ενδοθηλίου στο ενδοθηλιακό τοίχωμα [159]. Όλες αυτές οι διαδικασίες είναι θεμελιώδους σημασίας για τη συσσώρευση των κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος στο λιπώδη ιστό και ενεργοποιούνται από τη λεπτίνη. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης που παράγονται στο λιπώδη ιστό των παχύσαρκων ατόμων πιθανώς να συμβάλλουν στη δημιουργία ενός περιβάλλοντος ύπαρξης προφλεγμονοδών κυτταροκινών, το οποίο οδηγεί σε εντοπισμένη φλεγμονή.

ii) Αντιπονεκτίνη

Η αντιπονεκτίνη αποτελεί μια πρωτεΐνη, η οποία ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών του παράγοντα του συμπληρώματος C1q [160-163]. Η αντιπονεκτίνη εκφράζεται σε μεγαλύτερη αφθονία στο λευκό λιπώδη ιστό και εκκρίνεται σε παρόμοιο βαθμό από το σπλαχνικό και τον υποδόριο λιπώδη ιστό [164,161,163]. Η έκφραση της αντιπονεκτίνης είναι απύουσα από τα προλιποκύτταρα και αυξάνεται με την αύξηση του βαθμού διαφοροποίησης των κυττάρων F442 και 3T3-L1 προς ώριμα λιποκύτταρα

[161,163]. Επιπλέον, η έκφραση της αντιπονεκτίνης στο λιπώδη ιστό περιορίζεται στα λιποκύτταρα, ενώ δεν υφίσταται στα στρωματικά κύτταρα [161]. Σε ποντίκια και ανθρώπους, η αντιπονεκτίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα σε συγκέντρωση 3-30 $\mu\text{g/mL}$, με τη μορφή ομοτριμερών, εξαμερών και υψηλού μοριακού βάρους πολυμερών [High Molecular Weight (HMW) adiponectin] συμπλεγμάτων [164,165,166]. Η αντιπονεκτίνη αποτελείται από μια αμινοτελική δομή που μοιάζει με το κολλαγόνο και από μια καρβοξυτελική σφαιρική περιοχή. Μέχρι σήμερα, έχουν ανακαλυφθεί 2 υποδοχείς στους οποίους δρα η αντιπονεκτίνη οι AdipoR1 και AdipoR2. Ο AdipoR1 εκφράζεται στον εγκέφαλο, στην καρδιά, στους νεφρούς, στο ήπαρ, στους πνεύμονες, στο σπλήνα, στους όρχεις και η πιο υψηλή έκφραση υφίσταται στους σκελετικούς μύες. Ο AdipoR2 εκφράζεται σε υψηλότερο βαθμό στο ήπαρ [167]. Ο AdipoR1 έχει υψηλή συγγένεια για τη σφαιρική αντιπονεκτίνη (ένα μείγμα μονομερών και τριμερών) και χαμηλή συγγένεια για την πλήρου μήκους αντιπονεκτίνη (ένα μείγμα μονομερών, τριμερών, εξαμερών και πολυμερών συμπλεγμάτων) [167,168]. Αντίθετα, ο AdipoR2 έχει ενδιάμεση συγγένεια για τη σφαιρική και πλήρου μήκους αντιπονεκτίνη.

Όσον αφορά τις μεταβολικές δράσεις της αντιπονεκτίνης, έχει βρεθεί ότι χορήγηση αντιπονεκτίνης σε ποντίκια με παχυσαρκία ή απουσία λιπώδους ιστού παρατηρείται μειωμένη συγκέντρωση TRG στους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ [169]. Η συνολική μεταβολική επίδραση της αντιπονεκτίνης συνίσταται σε μείωση των επιπέδων στο πλάσμα των TRG και των ελεύθερων λιπαρών οξέων, όπως επίσης και σε αντιστροφή της υπεργλυκαιμίας και της ινσουλινοαντίστασης [169]. Πράγματι, ποντίκια με έλλειψη αντιπονεκτίνης, τα οποία τρέφονταν με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, παρουσίασαν μειωμένη κάθαρση των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το πλάσμα, υπεργλυκαιμία και σοβαρή ινσουλινοαντίσταση [170]. Αυτός ο φαινότυπος της ινσουλινοαντίστασης που παρουσίασαν τα ποντίκια με έλλειψη αντιπονεκτίνης αποδόθηκε στα αυξημένα επίπεδα TNF α , τα οποία μείωσαν την κάθαρση των ελεύθερων λιπαρών οξέων, μέσω μείωσης της μεταφοράς των ελεύθερων λιπαρών οξέων στους μύες [fatty acid transport (FATP1)], και ανέστειλλαν την πρόσληψη γλυκόζης από τους μύες, δια μέσου της αναστολής της μετάδοσης σήματος από την ινσουλίνη στον IRS1. Εκτός αυτού, η χορήγηση αντιπονεκτίνης σε ποντίκια knockout με έλλειψη αντιπονεκτίνης βελτίωσε την ινσουλινοαντίσταση, αναστέλλοντας τη σύνθεση TNF α και μειώνοντας την επαγόμενη από τον TNF α αναστολή της FATP1 και της IRS1 μετάδοσης σήματος στους σκελετικούς μύες [170].

Επίσης, σε μυοκύτταρα από C2C12 μύες, η σφαιρική αντιπνεκτίνη έχει βρεθεί ότι αυξάνει τη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων και την πρόσληψη γλυκόζης, μέσω ενεργοποίησης των οδών της AMP-activated protein kinase (AMPK) και της p38 mitogen activated protein kinase (p38) [167]. Στο ήπαρ, οι οδοί των PPAR α , AMPK και p38 διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση από την αντιπνεκτίνη του καταβολισμού των λιπαρών οξέων και της γλυκόζης [167]. Οι AdipoR1 και AdipoR2 εκφράζονται επίσης στον υποθάλαμο και η χορήγηση της αντιπνεκτίνης στις πλάγιες κοιλίες μειώνει το σωματικό βάρος, τη γλυκόζη του ορού, την ινσουλίνη και τα TRG σε ob/ob ποντίκια με έλλειψη λεπτίνης, δείχνοντας έτσι ότι η αντιπνεκτίνη πιθανώς να ρυθμίζει το μεταβολισμό και την ινσουλινική ευαισθησία στο ΚΝΣ [171].

Σε αντίθεση με τις άλλες αντιποκίνες, η αντιπνεκτίνη είναι μειωμένη σε καταστάσεις παχυσαρκίας, καθώς και σε άτομα με ΣΔ τύπου 2 με ινσουλινοαντίσταση [169,170,172-174]. Το γεγονός ότι η μείωση της αντιπνεκτίνης υφίσταται σε παχύσαρκους, αλλά όχι σε λεπτούς διαβητικούς, υποδηλώνει ότι τα επίπεδα της αντιπνεκτίνης πιθανώς να καθορίζονται από τη μάζα του λίπους και όχι από το ΣΔ [175]. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που οδηγούν σε μείωση της αντιπνεκτίνης σε καταστάσεις παχυσαρκίας δεν είναι καλά κατανοητοί, ενώ η επικρατούσα σήμερα άποψη θεωρεί ότι τα αυξημένα επίπεδα φλεγμονοδών κυτταροκινών στο λιπώδη ιστό αναστέλλουν την έκφραση και την έκκριση της αντιπνεκτίνης από τα λιποκύτταρα [176].

Επιπρόσθετα, υπάρχουν στοιχεία που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η HMW αντιπνεκτίνη αποτελεί το πιο βιολογικά δραστικό κλάσμα της αντιπνεκτίνης, το οποίο και σχετίζεται περισσότερο με την προκαλούμενη από την αντιπνεκτίνη αύξηση της ινσουλινικής ευαισθησίας. Πρώτον, σημειακές μεταλλάξεις (G84R, G90S) του γονιδίου της αντιπνεκτίνης, οι οποίες οδηγούν σε χαμηλά επίπεδα HMW αντιπνεκτίνης, σχετίζονται με την ανάπτυξη ΣΔ τύπου 2 [177]. Δεύτερον, η αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας μετά από θεραπεία με θειαζολιδινεδιόνες συσχετίζεται καλύτερα με την αύξηση του λόγου HMW αντιπνεκτίνη/ ολική αντιπνεκτίνη σε σχέση με την αύξηση της αντιπνεκτίνης του ορού [178]. Τρίτον, ο λόγος HMW αντιπνεκτίνη/ ολική αντιπνεκτίνη αναφέρεται ότι παρουσιάζει καλύτερη συσχέτιση με τα επίπεδα Glc και Ins, σε σύγκριση με την ολική αντιπνεκτίνη [179]. Άρα, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι η μέτρηση της HMW αντιπνεκτίνης έχει ανώτερη κλινική αξία σε σχέση με την ολική αντιπνεκτίνη.

Παράλληλα, δοθέντος του ότι η αντιπονεκτίνη αναστέλλει την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Nuclear Factor κ B στα λιποκύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αναστέλλει την παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6 και TNF α , πιστεύεται ότι η μείωση της αντιπονεκτίνης που υφίσταται στην παχυσαρκία συμβάλλει στις φλεγμονώδεις ανταποκρίσεις και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία της αθηροσκλήρωσης [180,181]. Αυτή ακριβώς η συσχέτιση μεταξύ αντιπονεκτίνης και αγγειακής νόσου υποστηρίζεται από αρκετά ερευνητικά δεδομένα. Συγκεκριμένα, η αντιπονεκτίνη αναστέλλει την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης σε ApoE knockout ποντίκια [182] και υψηλά επίπεδα αντιπονεκτίνης στο πλάσμα σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης Οξέος Εμφράγματος του Μυοκαρδίου (OEM) στους άνδρες [183]. Επιπλέον, σε άτομα με υπέρταση υπάρχουν μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης σε σχέση με μη υπερτασικά άτομα [184]. Εκτός αυτού, ποντίκια με γενετική έλλειψη αντιπονεκτίνης, όταν τράφηκαν με δίαιτα πλούσια σε άλας, ανέπτυξαν υπέρταση, η οποία αποδόθηκε στη μείωση της δραστηριότητας της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO και της συνθάσης της προσταγλανδίνης 12, ενώ η χορήγηση αντιπονεκτίνης σε αυτά θεράπευσε την υπέρταση [185]. Υπό αυτήν την έννοια η αντιπονεκτίνη πιθανώς να διαδραματίζει ένα ρόλο στην παθογένεια της υπέρτασης που σχετίζεται με την παχυσαρκία [185].

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα, τόσο της ολικής, όσο και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος είναι μειωμένα στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες [166,177,186]. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα αντιπονεκτίνης σε ηλικιωμένες γυναίκες με περιφερική κατανομή λίπους σχετίζονται με αυξημένη ινσουλινοευαισθησία και πιστεύεται ότι τα αυξημένα επίπεδα αντιπονεκτίνης παρέχουν προστασία έναντι στις αθηρογόνες επιδράσεις των φλεγμονωδών κυτταροκινών [186]. Ένας πιθανός μηχανισμός στον οποίο οφείλεται η διαφορά των επιπέδων της αντιπονεκτίνης ανάμεσα στα δύο φύλα είναι η ιδιότητα της τεστοστερόνης να αναστέλλει άμεσα την έκκριση της αντιπονεκτίνης από τα λιποκύτταρα. Πράγματι, έχει βρεθεί ότι η στέρωση αρσενικών ποντικών αυξάνει τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης του πλάσματος [187].

iii) Ρεισιστίνη

Στα ποντίκια, η έκφραση της ρεισιστίνης εντοπίζεται στο λευκό λιπώδη ιστό και τα επίπεδα της ρεισιστίνης στο πλάσμα είναι αυξημένα σε διαιτητικά και γενετικά προκαλούμενες μορφές παχυσαρκίας. Όπως φαίνεται και από το όνομά της η ρεισιστίνη επάγει μια κατάσταση ινσουλινοαντίστασης [188]. Έτσι, η αναστολή της δράσης της

ρεσιστίνης, μέσω χορήγησης αντισωμάτων έναντι αυτής, αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία σε ποντίκια με διαιτητικά προκαλούμενη παχυσαρκία και αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα, υποδηλώνοντας ότι η ρεσιστίνη είναι δυνατό να συμμετέχει παθογενετικά στη σχέση που υφίσταται μεταξύ παχυσαρκίας και ΣΔ [188]. Εκτός αυτού, κάποιες μελέτες αναφέρουν ότι η ρεσιστίνη εκφράζεται στον υποθάλαμο και στην υπόφυση, ώστε να πιστεύεται ότι η ρεσιστίνη πιθανώς να συμβάλλει στο βραχυπρόθεσμα προκαλούμενο αίσθημα του κορεσμού και στην ανάπτυξη του υποθάλαμο-υποφυσιακού –επινεφριδιακού άξονα [189-191].

Σε αντίθεση με τις μελέτες οι οποίες αφορούσαν πειραματόζωα, σχετικά με το ρόλο της ρεσιστίνης στους ανθρώπους φαίνεται να υπάρχουν σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, η έκφραση της ρεσιστίνης είναι ελάχιστη ή απύσχα στα ανθρώπινα λιποκύτταρα και στον ανθρώπινο λιπώδη ιστό [192,193]. Έχει βρεθεί ότι τα μακροφάγα και τα προλιποκύτταρα αποτελούν τα κύρια σημεία έκφρασης της ρεσιστίνης στους ανθρώπους, ενώ τα μακροφάγα αποτελούν την κύρια πηγή παραγωγής ρεσιστίνης από τον ανθρώπινο λευκό λιπώδη ιστό [192,194,195]. Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι μονήρεις πολυμορφισμοί του γονιδίου της ρεσιστίνης σχετίζονται με καταστάσεις ινσουλινοευαισθησίας στους ανθρώπους [196-199], ένας σημαντικός αριθμός μελετών δεν έχει δώσει ιδιαίτερα ελπιδοφόρα αποτελέσματα, όσον αφορά την ύπαρξη ενός ρόλου της ρεσιστίνης στη σχετιζόμενη με την παχυσαρκία ινσουλινοαντίσταση. Έτσι, δεν έχει βρεθεί συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της ρεσιστίνης στο λιπώδη ιστό και στο σωματικό βάρος, την ινσουλινοευαισθησία ή άλλες μεταβολικές παραμέτρους [195]. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της ρεσιστίνης του ορού δεν έχουν συσχετιστεί με διάφορους δείκτες παχυσαρκίας (BMI, περίμετρος μέσης/ περίμετρος ισχίων, μάζα λίπους του σώματος), με το βαθμό της ινσουλινοαντίστασης, με το λιπιδιακό προφίλ ή τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό [200]. Επίσης, δεν έχει βρεθεί διαφορά στα επίπεδα της ρεσιστίνης του ορού ανάμεσα σε υγιείς λεπτούς εφήβους, σε παχύσαρκους μη διαβητικούς εφήβους με ινσουλινοαντίσταση και σε εφήβους με ΣΔ τύπου 2 [200,201].

iv) Βισφατίνη

Η βισφατίνη εκφράζεται σε υψηλό βαθμό στο λιπώδη ιστό, στα λεμφοκύτταρα, στο ήπαρ και στο μυϊκό ιστό [202]. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η βισφατίνη εκφράζεται σε υψηλότερο βαθμό στο σπλαχνικό σε σχέση με τον υποδόριο λευκό λιπώδη ιστό [202]. Πιστεύεται ότι η βισφατίνη συνδέεται σε μια αλλοστερική θέση του υποδοχέα της

ινσουλίνης εκδηλώνοντας έτσι ινσουλινομιμητικές δράσεις, οι οποίες επιπροστίθενται των δράσεων της ινσουλίνης [202]. Ωστόσο, μέχρι σήμερα έχουν υπάρξει αντιφατικά δεδομένα, όσον αφορά την πιθανή σχέση της βισφατίνης με την παχυσαρκία, την ινσουλινοαντίσταση και το ΣΔ τύπου 2.

Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της βισφατίνης του πλάσματος είναι αυξημένα σε άτομα με νοσογόνο παχυσαρκία και μειώνονται μετά από απώλεια βάρους [203]. Εκτός αυτού, έχει αναφερθεί ότι η βισφατίνη του πλάσματος είναι αυξημένη σε άτομα με ΣΔ τύπου 2 και παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το λόγο περίμετρος μέσης/περίμετρος ισχίων [173]. Τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν το ενδεχόμενο η βισφατίνη να έχει ένα αντισταθμιστικό μηχανισμό, σε καταστάσεις μειωμένης ινσουλινοευαισθησίας, όπως η παχυσαρκία και ο ΣΔ τύπου 2.

Παρόλα αυτά υπάρχει ένας αριθμός μελετών που αναφέρουν την απουσία συσχέτισης ανάμεσα στη βισφατίνη και σε διάφορες μεταβολικές παραμέτρους. Αυτή η απουσία συσχέτισης έχει αποδοθεί στο γεγονός ότι η βισφατίνη εκκρίνεται από πολλά όργανα και συνεπώς τα επίπεδά της στο πλάσμα δεν αντικατοπτρίζουν επακριβώς τις μεταβολές της έκφρασής της από το λιπώδη ιστό.

ν) Παράγων νέκρωσης των όγκων α

Στο λιπώδη ιστό, ο παράγων νέκρωσης των όγκων α [Tumour necrosis factor-alpha (TNFα)] εκκρίνεται κυρίως από τα στρωματικά κύτταρα και σε μικρότερο βαθμό από τα λιποκύτταρα [204,205]. Ο TNFα αναστέλλει τη λιπογένεση, ενεργοποιεί τη λιπόλυση [206-208] και καταστέλλει την όρεξη [209], οδηγώντας σε μείωση της μάζας του λιπώδη ιστού. Επίσης, η έκφραση του mRNA του TNFα και η έκκρισή του από το λιπώδη ιστό είναι αυξημένες σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης [205,210-212], πιθανώς λόγω της χαμηλού βαθμού φλεγμονής στο λιπώδη ιστό, η οποία υφίσταται στην παχυσαρκία [213,214]. Ο TNFα συμβάλλει άμεσα στην τοπική ινσουλινοαντίσταση στο λιπώδη ιστό, μέσω αναστολής της μετάδοσης του σήματος από τον IR στο IRS-1, μείωσης της πρόσληψης γλυκόζης και αναστολής της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης [215,216]. Έτσι, η μείωση του σωματικού βάρους παχύσαρκων ασθενών σχετίζεται με μειωμένη έκφραση του mRNA του TNFα στο λιπώδη ιστό [212], ενώ χορήγηση σε παχύσαρκα πειραματόζωα αντισωμάτων έναντι του TNFα μπορεί να αντιστρέψει την κατάσταση ινσουλινοαντίστασης [211]. Επιπρόσθετα, ο TNFα ασκεί έκδηλη ανασταλτική επίδραση στη διεγερόμενη μέσω ινσουλίνης πρόσληψη της γλυκόζης και στο

μεταβολισμό των λιπαρών οξέων των μυών [217]. Πρέπει να σημειωθεί ότι η έκκριση του TNFα από το λιπώδη ιστό σχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση, αλλά όχι η συγκέντρωση του TNFα στο πλάσμα, υποδηλώνοντας ότι οι τοπικές επιδράσεις του TNFα στο λιπώδη ιστό πιθανώς να οδηγούν έμμεσα σε ινσουλινοαντίσταση σε άλλα όργανα [205]. Εκτός αυτού, ποντίκια που υπερεκφράζουν στο λιπώδη ιστό τη μεμβρανοσυνδεδεμένη μορφή του TNFα εκδηλώνουν συστηματική διαταραχή ανοχή γλυκόζης, συνηγορώντας επιπλέον σε μια έμμεση επίδραση του TNFα [218]. Εναλλακτικά, ο TNFα προκαλεί συστηματική ινσουλινοαντίσταση έμμεσα μέσω μεταβολής της έκκρισης της αντιπνεκτίνης [219].

vi) Ιντερλευκίνη-6

Η IL-6 εκκρίνεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από το σπλαχνικό, σε σχέση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό και κυρίως από τα στρωματικά κύτταρα του λιπώδη ιστού [204,220]. Η IL-6 που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία και συμβάλλει κατά 30 % στα κυκλοφορούντα επίπεδα της IL-6 στο πλάσμα [221]. Η IL-6 μειώνει την έκκριση της αντιπνεκτίνης από τα λιποκύτταρα, ελαττώνει την παραγωγή και την ενεργότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στο λιπώδη ιστό [222,223] και μειώνει τη μάζα του λιπώδη ιστού [224]. Επιπρόσθετα, η έκφραση και η έκκριση της IL-6 από το λιπώδη ιστό είναι αυξημένες σε παχύσαρκα άτομα καθώς και σε ασθενείς με ΣΔ [205,221,224,225]. Επίσης, η IL-6 προκαλεί ινσουλινοαντίσταση στο σκελετικό μυϊκό ιστό, στα λιποκύτταρα [224,226] και στο ήπαρ [227,228]. Παράλληλα, η IL-6 αυξάνει τόσο την παραγωγή CRP από το ήπαρ όσο και την παραγωγή και έκκριση του αναστολέα-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου [plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)] από το λιπώδη ιστό, τα οποία έχουν αθηρογόνες και προθρομβωτικές ιδιότητες [229-234].

2. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η εκτίμηση των ατόμων με αυξημένο σωματικό βάρος γίνεται μέσω του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI), το οποίο ορίζεται ως $BMI = BW / H^2$, όπου BW το σωματικό βάρος σε Kg και H το ύψος του ατόμου σε m. Οπότε οι μονάδες του BMI είναι Kg/ m². Έτσι, ανάλογα με το BMI, διακρίνουμε στον γενικό πληθυσμό τις ακόλουθες κατηγορίες (Πίνακας 1) [235].

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση του γενικού πληθυσμού, σύμφωνα με το BMI.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ	ΤΑΞΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	BMI (Kg/ m ²)
Ελλιποβαρής		< 18,5
Φυσιολογικός		18,5 - 24,9
Υπέρβαρος		25,0 - 29,9
Παχύσαρκος	I	30,0 - 34,9
	II	35,0 - 39,9
Ακραία παχύσαρκος	III	≥ 40

3. ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ [235,236]

Η παχυσαρκία συνδέεται με τις παρακάτω νοσολογικές οντότητες:

Ινσουλινοαντίσταση και Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ) τύπου 2. Η παχυσαρκία προκαλεί ινσουλινοαντίσταση, λόγω της ύπαρξης χρόνιας χαμηλού βαθμού φλεγμονής [237].

Φλεβική ανεπάρκεια και οιδήματα κάτω άκρων. Οφείλονται στην αύξηση της πίεσης πλήρωσης των κοιλιών της καρδιάς και στην ανεπάρκεια των βαλβίδων των φλεβών των κάτω άκρων [238,239].

Φλεβική θρόμβωση κάτω άκρων και πνευμονική εμβολή.

Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Αποδίδεται στα χαμηλά επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου (NO) [240,241].

Υπέρταση. Η υψηλή αρτηριακή πίεση οφείλεται αφενός στην αύξηση της καρδιακής παροχής (ΚΠ), αφετέρου στην αύξηση της συστηματικής αγγειακής αντίστασης (ΣΑΑ), όπως φαίνεται και από τον τύπο $ΑΠ = ΚΠ \times ΣΑΑ$. Οι αιτίες της αύξησης της ΚΠ περιλαμβάνουν την ανάγκη αυξημένης άρδευσης της περίσσειας του λιπώδους ιστού και τον αυξημένο ενδαγγειακό όγκο [242]. Η αυξημένη ΣΑΑ αποδίδεται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (αγγειόσπασμος λόγω μείωσης του NO), στην ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος [243], στην αυξημένη ποσότητα του κοιλιακού λίπους [244], στη χαμηλού βαθμού φλεγμονή στο λιπώδη ιστό [245] και στο Σύνδρομο Υπνικής Άπνοιας (OSAS).

Σύνδρομο υπνικής άπνοιας. Οφείλεται στη διαταραχή του λόγου αερισμού-αιμάτωσης ιδιαίτερα σε ύπτια θέση κατάκλισης [246].

Πνευμονική υπέρταση. Αποδίδεται στον αγγειόσπασμο των πνευμονικών αγγείων, λόγω της κυψελιδικής υποξίας που υφίσταται στο OSAS [247] και στην υπερτροφία των λείων μυικών ινών του τοιχώματος των πνευμονικών αγγείων [248,249].

Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Η συσχέτιση της παχυσαρκίας με το Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο (ΑΕΕ) είναι ανεξάρτητη από τα επίπεδα χοληστερόλης, ΑΠ και από την παρουσία ΣΔ [250] και αποδίδεται στην ύπαρξη προφλεγμονώδους και προθρομβωτικής κατάστασης [251,252].

Στεφανιαία νόσος. Η σχετιζόμενη με την παχυσαρκία ινσουλινοαντίσταση προκαλεί στεφανιαία ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στο επίπεδο των αγγείων αντίστασης της καρδιάς. [253]. Η κεντρική κατανομή του λίπους είναι πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για αθηροσκλήρωση σε σχέση με την ολική ποσότητα λίπους [253-259]. Η

παχυσαρκία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση Στεφανιαίας Νόσου (ΣΝ), ακόμα και μετά από στάθμιση για άλλους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου [260-264]. Επίσης, σε άτομα με ΣΝ το BMI έχει συσχετιστεί με τη θνητότητα [265,266].

Καρδιακή ανεπάρκεια. Το αυξημένο BMI προδιαθέτει σε Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΚΑ), μέσω ανάπτυξης υπέρτασης, ΣΔ και ΣΝ [267-271]. Ωστόσο, σε ασθενείς που έχει τεθεί η διάγνωση της ΚΑ, η ύπαρξη της παχυσαρκίας δεν έχει βρεθεί ότι επηρεάζει αρνητικά την πρόγνωση [272-274].

Αρρυθμίες. Τα παχύσαρκα άτομα έχουν αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη αρρυθμιών και αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, ακόμα και σε απουσία καρδιακής δυσλειτουργίας [275,276], τα οποία αποδίδονται στην παράταση του QT_c [277,278], στην αυξημένη διασπορά του QT [279], στην παρουσία ανώμαλων μεταδυναμικών [280] και στη μείωση του τόνου του παρασυμπαθητικού [281-283].

Όσον αφορά την πρόκληση ΣΔ τύπου 2, υπέρτασης και καρδιαγγειακής νόσου, η παρουσία υπερβολικής ποσότητας λίπους στην κοιλιακή χώρα σε σχέση με το ολικό λίπος του σώματος αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Οπότε, η περίμετρος μέσης (WC), ως μέτρο εκτίμησης της ποσότητας του κοιλιακού λίπους (> 102 cm για τους άνδρες και > 88 cm για τις γυναίκες), μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ανιχνεύσει άτομα με υψηλό κίνδυνο για ανάπτυξη ΣΔ τύπου 2, υπέρτασης ή καρδιαγγειακής νόσου. Η χρήση της WC ως παράγοντα κινδύνου δε συνιστάται για άτομα με BMI ≥ 35 , δεδομένου ότι άτομα αυτής της κατηγορίας υπερβαίνουν τα προαναφερθέντα όρια της WC. Στον πίνακα 2 αξιολογείται ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης ΣΔ τύπου 2, υπέρτασης και καρδιαγγειακής νόσου σε σχέση με άτομα φυσιολογικού βάρους.

Πίνακας 2. Κατηγοριοποίηση καρδιαγγειακού κινδύνου για το γενικό πληθυσμό, ανάλογα με το BMI και τη WC.

			ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ	
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	BMI (Kg/ m ²)	ΤΑΞΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	WC $\leq$ 102 cm (άνδρες) WC $\leq$ 88 cm (γυναίκες)	WC > 102 cm (άνδρες) WC > 88 cm (γυναίκες)
Ελλιποβαρής	< 18,5		—	—
Φυσιολογικός	18,5-24,9		—	—
Υπέρβαρος	25,0-29,9		Αυξημένος	Υψηλός
Παχύσαρκος	30,0-34,9	I	Υψηλός	Πολύ υψηλός
	35,0-39,9	II	Πολύ υψηλός	Πολύ υψηλός
Ακραία παχύσαρκος	≥ 40	III	Εξαιρετικά υψηλός	Εξαιρετικά υψηλός

4. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Η αντιμετώπιση της παχυσαρκίας περιλαμβάνει τα εξής: διαιτητική αγωγή, φυσική δραστηριότητα, συμπεριφορική θεραπεία, φαρμακοθεραπεία και χειρουργική αντιμετώπιση[121,235].

α. Διαιτητική αγωγή

i) Δίαιτα χαμηλών θερμίδων

Οι δίαιτες χαμηλών θερμίδων [low calorie diet (LCD)] παρέχουν ένα έλλειμμα 500 θερμίδων ανά ημέρα. Η πλέον γνωστή LCD είναι το πρόγραμμα επιτηρητών βάρους (Weight Watchers program), που περιλαμβάνει δύο διαφορετικά προγράμματα. Το πρώτο είναι το Flex Program, στο οποίο τα άτομα διατηρούν μια καθημερινή καταγραφή πόντων, βασισμένη στον αριθμό των θερμίδων που καταναλώνουν, με στόχο ο συνολικός αριθμός πόντων κάθε ημέρας να περιορίζεται μέσα σε κάποια όρια. Στο δεύτερο πρόγραμμα το Core Plan, τα άτομα μπορούν να επιλέξουν φαγητά από συγκεκριμένες ομάδων τροφών, τα οποία τους προτείνονται εν είδει λίστας, και βάσει αυτών τα άτομα δημιουργούν τα δικά τους γεύματα.

ii) Δίαιτα πολύ χαμηλών θερμίδων

Η δίαιτα πολύ χαμηλών θερμίδων [very low calorie diet (VLCD)] προσδιορίζεται από μια ημερήσια διαιτητική πρόσληψη από λιγότερες ή ίσες με 800 θερμίδες ανά ημέρα. Οι VLCD δε συνιστώνται για διάρκεια άνω των 16 εβδομάδων. Αν και οι VLCD είναι αποτελεσματικές στο να επιτύχουν μια σημαντική απώλεια βάρους κατά την αρχική περίοδο, η διατήρηση της απώλειας βάρους μακροπρόθεσμα δεν είναι ικανοποιητική και η αύξηση του βάρους μετά τον τερματισμό της δίαιτας συχνά είναι απότομη [284]. Γι' αυτό, είναι προτιμότερο να εφαρμόζονται διαιτητικές παρεμβάσεις που είναι δυνατό να διατηρηθούν σε ένα βάθος χρόνου, παρά ακραίοι θερμιδικοί περιορισμοί [284]. Λόγω της απότομης μείωσης του σωματικού βάρους που προκαλείται από τις VLCD, αυτές σχετίζονται με σημαντικούς ιατρικούς κινδύνους, οπότε απαιτείται οι ασθενείς που τις εφαρμόζουν να τίθενται υπό στενή ιατρική παρακολούθηση.

iii) Δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες

Οι δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες έχουν σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε λίπη και πρωτεΐνες, περιορίζοντας την πρόσληψη υδατανθράκων σε 20

g ανά ημέρα [285]. Από αυτές τις δίαιτες η πιο δημοφιλής είναι η δίαιτα Atkins. Η βασική λογική αυτής της δίαιτας είναι ότι η εξάντληση των αποθηκών γλυκογόνου, λόγω του σημαντικού περιορισμού της πρόσληψης υδατανθράκων, οδηγεί στην απέκκριση του συνδεδεμένου υγρού και η κετογενετική φύση της δίαιτας καταστέλλει την όρεξη. Επίσης, η υψηλή περιεκτικότητά της σε πρωτεΐνες προάγει το αίσθημα του κορεσμού, μειώνοντας την περιστασιακή πρόσληψη τροφής [286]. Οι δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες, σε σχέση με τις συμβατικές υποθερμιδικές δίαιτες, επιτυγχάνουν μεγαλύτερη μείωση του βάρους στους πρώτους μήνες, ενώ δεν υπάρχει καμία διαφορά στον ένα χρόνο, υποδηλώνοντας μεγαλύτερη επαναπρόσληψη σωματικού βάρους [287-289]. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι η μακροπρόθεσμη συμμόρφωση σε τέτοιου είδους δίαιτες είναι δυσκολότερη.

iv) Δίαιτα χαμηλών λιπαρών

Η δίαιτα χαμηλών λιπαρών [low fat diet (LFD)] ορίζεται ως αυτή που παρέχει λιγότερες ή ίσες από 0,7 θερμίδες/ g σωματικού βάρους υπό τη μορφή λίπους. Η βραχυπρόθεσμη μείωση του σωματικού βάρους είναι μικρότερη στις LFD, σε σχέση με τις δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες, αλλά αυτή η διαφορά δεν υφίσταται όσον αφορά τη μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητά τους [290]. Απλώς και μόνο ο περιορισμός της πρόσληψης λιπών και η αυξημένη πρόσληψη φρούτων, λαχανικών και δημητριακών, χωρίς να στοχεύει πρωτογενώς στη μείωση του ποσού των προσλαμβανόμενων θερμίδων, προκαλεί μείωση του σωματικού βάρους και αυξημένη δυνατότητα μακροπρόθεσμης διατήρησής του [289].

β. Σωματική δραστηριότητα

Η παχυσαρκία σχετίζεται με τον καθιστικό τρόπο ζωής. Η άσκηση προκαλεί λιπόλυση των τριγλυκεριδίων που είναι αποθηκευμένα στο λιπώδη ιστό, οδηγώντας σε απελευθέρωση λιπαρών οξέων, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγή ενέργειας από τους μυες, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η κατανάλωση ενέργειας [292]. Όταν η άσκηση εφαρμόζεται μόνη της χωρίς την ταυτόχρονη εφαρμογή διαιτητικής αγωγής, θεωρείται ως μη αποτελεσματική όσον αφορά την απώλεια βάρους, ιδίως κατά την αρχική περίοδο της παρέμβασης, ή ότι οδηγεί σε μια μικρή μείωση του σωματικού βάρους λίγων Kg [293]. Ωστόσο, η άσκηση σε συνδυασμό με τη διαιτητική αγωγή μπορεί να συμβάλλει στην απώλεια βάρους και ιδιαίτερα στη μείωση του κοιλιακού λίπους. Επίσης, η άσκηση

είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική όσον αφορά τη μακροπρόθεσμη διατήρηση της απώλειας βάρους [294]. Εκτός αυτού, η αυξημένη φυσική δραστηριότητα βελτιώνει την καρδιοαναπνευστική λειτουργία. Κρίνεται σκόπιμο η έναρξη της φυσικής δραστηριότητας να συντελεστεί βαθμιαία, υπό την έννοια της υιοθέτησης άσκησης προοδευτικά αυξανόμενης έντασης. Μέσα σε αυτό το πνεύμα, η άσκηση στα αρχικά στάδια είναι δυνατό να περιλαμβάνει περπάτημα για 30 λεπτά 3 ημέρες την εβδομάδα και στη συνέχεια μπορεί να εφαρμοστεί βάδισμα σε γρήγορο ρυθμό για 45 λεπτά ή περισσότερο τουλάχιστον για 5 ημέρες την εβδομάδα. Γενικά, είναι λογικό να συστήνεται η αύξηση του επιπέδου των καθημερινών δραστηριοτήτων αποφεύγοντας τον καθιστικό τρόπο ζωής, όπως π.χ. η προτίμηση της ανόδου μέσω σκάλας, παρά με τον ανελκυστήρα. Όσον αφορά τις μορφές προτιμώμενης άσκησης, οποιοσδήποτε τύπος άσκησης είναι εφικτός και αρεστός στον ασθενή είναι θεμιτό να υιοθετείται, συμπεριλαμβανομένων των συναγωνιστικών αθλημάτων. Ωστόσο, το περπάτημα αποτελεί τον πιο προσφιλή τρόπο άσκησης, λόγω της ασφάλειάς του και της ευκολίας επιτέλεσής του.

γ. Συμπεριφορική θεραπεία

Οι συμπεριφορικές στρατηγικές αποσκοπούν στην αλλαγή των συνηθειών των ασθενών σχετικά με την πρόσληψη τροφής και τη φυσική δραστηριότητα. Ο βασικός τους στόχος είναι η άρση των εμποδίων που συντελούν στη μείωση της συμμόρφωσης των ασθενών προς τις συνιστώμενες διαιτητικές οδηγίες.

Συγκεκριμένα, οι συμπεριφορικές πρακτικές περιλαμβάνουν τα εξής:

- Αυτοέλεγχο των διαιτητικών συνηθειών και της σωματικής δραστηριότητας.
- Ορθολογική διαχείριση καταστάσεων στρες, οι οποίες οδηγούν σε καταστάσεις υπερφαγίας.
- Αποφυγή καταστάσεων, οι οποίες οδηγούν σε περιστασιακή πρόσληψη τροφής (κοινώς τσιμπολόγημα).
- Διόρθωση μη ρεαλιστικών στόχων και παρεξηγήσεων από τον ίδιο τον ασθενή, όσον αφορά το επιδιωκόμενο σωματικό βάρος και την εικόνα που ο ίδιος έχει για το σώμα του.
- Ψυχολογική υποστήριξη.
- Αποφυγή των υποτροπών των επεισοδίων υπερφαγίας και αύξησης του σωματικού βάρους.

Τα άτομα που υποβάλλονται σε συμπεριφορική θεραπεία σε συνδυασμό με τις παρεχόμενες διαιτητικές οδηγίες είναι πιο πιθανό να επιτύχουν τον επιδιωκόμενο στόχο όσον αφορά την απώλεια βάρους και να διατηρήσουν μακροπρόθεσμα αυτήν την απώλεια βάρους.

δ. Φαρμακοθεραπεία

ι) Ορλιστάτη

Ο μηχανισμός δράσης της ορλιστάτης είναι η αναστρέψιμη μερική αναστολή της γαστρικής και παγκρεατικής λιπάσης, με αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησης του διαιτητικού λίπους από το γαστρεντερικό σωλήνα κατά 30 % [121,295]. Χορηγείται p.os. σε δόση των 120 mg με κάθε κύριο γεύμα [121].

Η μεγαλύτερη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη που αξιολόγησε τη δράση της ορλιστάτης ήταν η XENDOS (XENical in the prevention of Diabetes in Obese Subjects) [296]. Σύμφωνα με αυτή, σε παχύσαρκους ασθενείς που είχαν φυσιολογική ανοχή γλυκόζης [Normal Glucose Tolerance (NGT) ή παθολογική ανοχή γλυκόζης [Impaired Glucose Tolerance (IGT)] δόθηκαν υγιεινοδιαιτητικές οδηγίες και ταυτόχρονα τυχαιοποιήθηκαν σε 120 mg ορλιστάτη και εικονικό φάρμακο, τα οποία λαμβάνονταν 3 φορές την ημέρα. Μετά από 1 έτος, όπως επίσης και μετά από 4 έτη παρακολούθησης, διαπιστώθηκε ότι η ορλιστάτη σε σχέση με το εικονικό φάρμακο προκάλεσε τα εξής: μεγαλύτερη μείωση του σωματικού βάρους, WC, συστολικής και διαστολικής ΑΠ, TC, LDL-C, Ins, Glc και μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι στην ομάδα της ορλιστάτης η εξέλιξη των IGT σε διαβήτη ήταν σε μικρότερο ποσοστό σε σχέση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

Σύμφωνα με μια άλλη μελέτη, σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 με BMI ≥ 27 Kg/m², η χορήγηση ορλιστάτης μείωσε τη γλυκόζη ορού και τη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη μετά από 12 μήνες και μάλιστα κατά μεγαλύτερο ποσοστό από ότι θα αναμένονταν με βάση την προκαλούμενη απώλεια βάρους [297]. Γι' αυτήν την ανεξάρτητη επίδραση της ορλιστάτης στο γλυκαιμικό έλεγχο, προτείνονται ως πιθανοί μηχανισμοί η βελτίωση της ινσουλινικής ευαισθησίας, η βραδύτερη και ανεπαρκής πέψη του διαιτητικού λίπους, η μείωση της μεταγευματικής συγκέντρωσης στο πλάσμα των μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων, η ελάττωση του σπλαχνικού λιπώδους ιστού και ηδιέγερση της έκκρισης της έκκρισης του glucagon-like peptide-1 από το λεπτό έντερο.

Επιπρόσθετα, αξιολογήθηκε η επίδραση της ορλιστάτης όσον αφορά τη διατήρηση της απώλειας βάρους. Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη παχύσαρκα άτομα, στα οποία το σωματικό βάρος μειώθηκε πάνω από 8 % μετά από την εφαρμογή ενός υποθερμιδικού διαιτητικού προγράμματος για 6 μήνες, τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν 120 mg ορλιστάτης 3 φορές την ημέρα ή placebo [298]. Έτσι, παρατηρήθηκε μετά από ένα χρόνο θεραπείας με ορλιστάτη η επανάκτηση του αρχικού σωματικού βάρους συνέβη σε μικρότερο ποσοστό σε σχέση με την ομάδα του placebo.

Επιπλέον έχειδειχθεί ότι, για τη θεραπεία παχύσαρκων εφήβων, η θεραπεία με ορλιστάτη έχει βρεθεί ότι είναι ασφαλής, καλά ανεκτή και αποτελεσματική [299]. Εκτός αυτού, η ορλιστάτη έχειδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική στην αντιμετώπιση μιας ψυχιατρικής διαταραχής που παρατηρείται σε παχύσαρκα άτομα, συνοδεύεται από επεισόδια ακατάσχετης πολυφαγίας και είναι γνωστή ως binge eating disorder [300]. Επίσης, σε παχύσαρκες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, οι οποίες υποβλήθηκαν σε αγωγή με ορλιστάτη, παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της τεστοστερόνης και της ινσουλίνης ορού και του HOMA-index, μετά από 3 μήνες θεραπείας [301]. Ο συνδυασμός της ορλιστάτης με φαινοφιμπράτη είναι ασφαλής και βελτιώνει τις μεταβολικές παραμέτρους παχύσαρκων και υπέρβαρων ασθενών με ΜΣ σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τη μονοθεραπεία [302]. Επιπλέον, σε άτομα με BMI > 28 Kg/m² και υπερχοληστερολαιμία, η συγχορήγηση 120 mg ορλιστάτης 3 φορές την ημέρα και 10 mg εξετιμίμπης μία φορά την ημέρα προκάλεσε μεγαλύτερη μείωση στην LDL-C και sd-LDL-C σε σχέση με τη χορήγηση μόνο εξετιμίμπης ή μόνο ορλιστάτης [303].

Οι παρενέργειες της ορλιστάτης περιλαμβάνουν διάρροια (η οποία εμφανίζεται κυρίως σε άτομα που δεν ακολουθούν τις διαιτητικές οδηγίες και έχουν αυξημένη πρόσληψη λιπαρών τροφών), στεατόρροια, έντονη έπειξη προς αφόδευση, μετεωρισμός, κοιλιακές κράμπες και ανεπάρκεια λιποδιαλυτών βιταμινών (A,D,E,K) [121]. Πρέπει να σημειωθεί ότι, σε ασθενείς που λαμβάνουν ορλιστάτη για παρατεταμένες περιόδους, κρίνεται αναγκαία η ταυτόχρονη χορήγηση πολυβιταμινούχων συμπληρωμάτων, τουλάχιστον 2 ώρες πριν τη χορήγηση της ορλιστάτης [304].

Λόγω της μείωσης της απορρόφησης της βιταμίνης K που προκαλείται από την ορλιστάτη, η δράση των κουμαρινικών αντιπηκτικών ενισχύεται στους ασθενείς ενισχύεται που λαμβάνουν και ορλιστάτη, ώστε να είναι αναγκαία η μείωση της δοσολογίας των κουμαρινικών αντιπηκτικών για την επίτευξη ικανοποιητικού INR [304].

Εκτός αυτού, η ορλιστάτη μειώνει την απορρόφηση της αμινοδαρόνης και της κυκλοσπορίνης [304].

ii) Rimonabant

Το Rimonabant δρα ως ανταγωνιστής του υποδοχέα των канаβινοειδών στον εγκέφαλο. Ο υποδοχέας των канаβινοειδών-1 διαδραματίζει ρόλο στη ρύθμιση της όρεξης, ώστε το Rimonabant μειώνει την όρεξη και ελαττώνει το σωματικό βάρος [121]. Το Rimonabant αποσύρθηκε από το εμπόριο το 2008.

Σε ένα μεγάλο πρόγραμμα μελετών το RIO, άτομα με $BMI \geq 30 \text{ Kg/ m}^2$ ή $BMI \geq 27 \text{ Kg/ m}^2$ και συνυπάρχουσα δυσλιπιδαιμία ή υπέρταση τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν για ένα έτος εικονικό φάρμακο ή 5 mg rimonabant μία φορά την ημέρα ή 20 mg rimonabant μία φορά την ημέρα [307]. Έτσι, σε σχέση με το εικονικό φάρμακο, η χορήγηση 5 mg ή 20 mg rimonabant είχε σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών να χάσουν τουλάχιστον 5 % ή τουλάχιστον 10 % του σωματικού βάρους. Επιπλέον, στους ασθενείς που έλαβαν 20 mg rimonabant, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη βελτίωση σε σχέση με το εικονικό φάρμακο στα εξής: WC, TRG, HDL-C, ινσουλινοαντίσταση, επιπολασμός του ΜΣ.

Οι παρενέργειες του περιλαμβάνουν μεταβολές συναισθηματικής διάθεσης, άγχος, ναυτία, διάρροια, κεφαλαλγία, ζάλη [121].

ε. Χειρουργική αντιμετώπιση

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι χειρουργικής αντιμετώπισης της παχυσαρκίας: Η περιοριστική και η δυσαπορροφητική. Στις περιοριστικές μεθόδους η πρόσληψη τροφής μειώνεται ελαττώνοντας συνήθως το μέγεθος του στομάχου. Στις δυσαπορροφητικές παρεμβάσεις παρακάμπτεται μέρος του λεπτού εντέρου. Οι αμιγώς περιοριστικές παρεμβάσεις περιλαμβάνουν την πλαστική του στομάχου (vertical banded gastroplasty) και τη γαστρική περίδεση (laparoscopic adjustable gastric banding), ενώ η λεγόμενη γαστρική παράκαμψη (Roux-en-Y gastric bypass surgery) καταλήγει σε απώλεια βάρους μέσω γαστρικού περιορισμού, μέσω δυσαπορρόφησης, αλλά και λόγω της μείωσης του αισθήματος της πείνας [306,307].

στ. Κατευθυντήριες οδηγίες

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του Expert Panel on the Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, οι γενικοί στόχοι της παρέμβασης απώλειας βάρους περιλαμβάνουν τα εξής:

- Τουλάχιστον, αποτροπή της αύξησης του σωματικού βάρους.
- Μείωση του σωματικού βάρους.
- Μακροπρόθεσμη διατήρηση του χαμηλού σωματικού βάρους.

Κάθε ιατρική παρέμβαση που αποσκοπεί στην απώλεια βάρους είναι αναγκαίο να περιλαμβάνει το συνδυασμό διαιτητικής αγωγής, αυξημένης φυσικής δραστηριότητας και συμπεριφορικής θεραπείας. Υπάρχουν στοιχεία ότι σε μία περίοδο έξι μηνών είναι δυνατό να επιτευχθεί μία μέση απώλεια βάρους 8 %. Δεδομένου όμως ότι αυτό το ποσοστό του 8% περιλαμβάνει και άτομα που δεν έχασαν βάρος, ένας εξατομικευμένος στόχος της απώλειας βάρους στο 10 % φαίνεται λογικός. Επίσης, δεδομένου ότι στους περισσότερους ασθενείς η πρόσληψη θερμίδων εξισορροπείται με την κατανάλωση ενέργειας σε μια περίοδο έξι μηνών, απαιτείται επαναπροσαρμογή της ενεργειακής ισορροπίας μετά από αυτήν την περίοδο των έξι μηνών, εφόσον επιδιώκεται η επιπλέον απώλεια βάρους.

Συμπερασματικά, ο αρχικός συνιστώμενος στόχος, όσον αφορά την απώλεια βάρους, είναι 10 % επί του αρχικού βάρους σε μια περίοδο έξι μηνών. Σε αυτήν την παρέμβαση, η διαιτητική αγωγή είναι αναγκαίο να περιλαμβάνει δίαιτα τύπου LCD, η οποία θα δημιουργεί ένα έλλειμμα 500-1000 θερμίδων ανά ημέρα, στοχεύοντας σε μια απώλεια βάρους 1-2 λίβρες ανά εβδομάδα. Επιπλέον, το διαιτητικό πρόγραμμα πρέπει να έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπη και υδατάνθρακες και θα πρέπει να δοθεί έμφαση στη μειωμένη πρόσληψη κορεσμένων λιπών. Παράλληλα, ένα πρόγραμμα αυξημένης φυσικής δραστηριότητας πρέπει να εφαρμόζεται 30-45 λεπτά ανά ημέρα, για 3-5 ημέρες την εβδομάδα.

Εφόσον ο επιδιωκόμενος στόχος της απώλειας βάρους δεν έχει επιτευχθεί μετά την πάροδο των έξι μηνών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί φαρμακοθεραπεία. Ενδείξεις για την έναρξη φαρμακοθεραπείας συνιστούν: $BMI \geq 30 \text{ Kg/ m}^2$ χωρίς συνυπάρχοντες σχετιζόμενους με την παχυσαρκία παράγοντες κινδύνου ή νόσους ή $BMI \geq 27 \text{ Kg/ m}^2$ με συνυπάρχοντες σχετιζόμενους με την παχυσαρκία παράγοντες κινδύνου ή νόσους. Οι παράγοντες κινδύνου ή νόσοι που θεωρούνται αρκούντως σημαντικοί για να οδηγήσουν στην ανάγκη εφαρμογής φαρμακοθεραπείας για $27 \text{ Kg/ m}^2 \leq BMI < 29,9 \text{ Kg/ m}^2$ είναι υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, στεφανιαία νόσος, ΣΔ τύπου 2 και σύνδρομο υπνικής άπνοιας.

Πρέπει στο σημείο αυτό να τονιστεί ότι τα αντίστοιχα φάρμακα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται πάντα σε συνδυασμό με τις προαναφερθείσες αλλαγές του τρόπου ζωής και ποτέ ως μονοθεραπεία.

Όταν όλες οι προαναφερθείσες μη επεμβατικές μέθοδοι απώλειας βάρους αποτύχουν και εφόσον ο ασθενής βρίσκεται σε υψηλό κίνδυνο σχετιζόμενης με την παχυσαρκία νοσηρότητας ή θνητότητας, μπορεί να εξεταστεί το ενδεχόμενο εφαρμογής μιας εγχειρητικής μεθόδου απώλειας βάρους. Ενδείξεις για μία εγχειρητική τακτική αποτελεί η κλινικά σοβαρή παχυσαρκία, δηλαδή $BMI \geq 40 \text{ Kg/ m}^2$ ή $BMI \geq 35 \text{ Kg/ m}^2$ με συνυπάρχουσες νοσηρές καταστάσεις.

Εφόσον με την εφαρμογή των μη επεμβατικών μεθόδων επιτευχθεί ο επιδιωκόμενος στόχος της απώλειας βάρους στους έξι μήνες, είναι αναγκαίο να καθοριστεί σε αυτό το χρονικό σημείο αν είναι σκόπιμο να επιχειρηθεί περαιτέρω απώλεια βάρους. Αν απαιτείται επιπλέον απώλεια βάρους, πρέπει να επαναπροσδιοριστούν το διατροφικό πρόγραμμα και οι οδηγίες αυξημένης φυσικής δραστηριότητας προς αυτήν την κατεύθυνση. Ακόμα όμως και στην περίπτωση που δεν κρίνεται αναγκαία η επιπλέον απώλεια βάρους, ο ασθενής επιβάλλεται να τεθεί σε ένα πρόγραμμα διατήρησης του σωματικού βάρους, γιατί στην αντίθετη περίπτωση το απωλεθέν σωματικό βάρος είναι πολύ πιθανό να επανακτηθεί. Υπό αυτήν την έννοια, η είσοδος του ασθενούς στη φάση διατήρησης του σωματικού βάρους, απαιτεί τη συνδυασμένη εφαρμογή διατροφικής παρέμβασης, προγράμματος αυξημένης φυσικής δραστηριότητας και συμπεριφορικής θεραπείας επ' αόριστον.

Γ. ΥΠΕΡΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΑΙΜΙΑ

1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του Adult Treatment Panel III of the National Cholesterol Education Program (NCEP ATP III), ανάλογα με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων (TRG) του ορού, η υπερτριγλυκεριδαιμία διακρίνεται σε 4 κατηγορίες (Πίνακας 3) [308].

Πίνακας 3. Κατηγοριοποίηση υπερτριγλυκεριδαιμίας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ ΟΡΟΥ (mg/dL)
Φυσιολογικά τριγλυκερίδια	< 150
Οριακά υψηλά τριγλυκερίδια	150 - 199
Υψηλά τριγλυκερίδια	200 - 499
Πολύ υψηλά τριγλυκερίδια	≥ 500

2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Οι δύο κύριες πηγές TRG του πλάσματος είναι η εξωγενής από το διαιτητικό λίπος, στην οποία τα TRG μεταφέρονται με τα χυλομικρά, και η ενδογενής από το ήπαρ, στην οποία τα TRG μεταφέρονται με τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτείνες [Very Low Density Lipoprotein (VLDL)]. Επιπλέον, στα τριχοειδή του λιπώδους και μυϊκού ιστού, οι λιποπρωτείνες αυτές και τα χυλομικρά υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση προς ελεύθερα λιπαρά οξέα. Μετά από ένα γεύμα, πάνω από το 90 % των κυκλοφορούντων TRG προέρχονται από το έντερο, από το οποίο εκκρίνονται υπό τη μορφή των χυλομικρών, ενώ σε περιόδους νηστείας επικρατούν τα ενδογενή TRG, τα οποία εκκρίνονται από το ήπαρ υπό τη μορφή των VLDL. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα των πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών οφείλονται είτε σε αυξημένη παραγωγή τους από το ήπαρ και το έντερο, είτε σε μειωμένο καταβολισμό τους στην περιφέρεια (κυρίως λόγω μειωμένης δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης).

3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η υπερτριγλυκεριδαιμία διακρίνεται σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή [308-310]. Αναφορικά με τα επίπεδα των TRG του ορού, η αιτιολογία της υπερτριγλυκεριδαιμίας είναι η εξής:

- Οριακά υψηλά TRG (150-199 mg/ dL). Τέτοιου επιπέδου TRG απαντώνται συχνά στο Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ).
- Υψηλά TRG (200-499 mg/ dL). Γενικά γενετικοί και δευτεροπαθείς παράγοντες συμβάλλουν στα υψηλά TRG, όμως οι γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν αυξημένο ρόλο και σίγουρα πιο σημαντικό σε σχέση με την προηγούμενη κατηγορία. Πολλά άτομα με τέτοιου επιπέδου TRG εκδηλώνουν ινσουλινοαντίσταση, ΜΣ και κοιλιακή παχυσαρκία. Σε άτομα με υψηλά TRG τρία πρότυπα οικογενούς δυσλιπιδαιμίας έχουν ανευρεθεί η οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου IIβ), η οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου IV) και η οικογενής δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου III).
- Πολύ υψηλά TRG (≥ 500 mg/ dL). Σε αυτές τις περιπτώσεις ατόμων υπάρχει μια ισχυρή γενετική προδιάθεση. Σε τέτοια επίπεδα TRG τα συνήθη πρότυπα οικογενούς δυσλιπιδαιμίας είναι η οικογενής χυλομικροναιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου I) και η πρωτοπαθής μικτή υπερλιπιδαιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου V). Στην περίπτωση της οικογενούς χυλομικροναιμίας υπάρχει ισχυρό γενετικό υπόστρωμα, ενώ η υπερλιπιδαιμία τύπου V προκύπτει από την τύπου IV παρουσία κάποιων δευτεροπαθών παραγόντων. Πρέπει στο σημείο αυτό να προστεθεί ότι μερικές φορές πολύ υψηλά TRG ανευρίσκονται σε άτομα με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία ή οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία.

α. Πρωτοπαθής υπερτριγλυκεριδαιμία

ι) Οικογενής χυλομικροναιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου I)

Προκειται για μια σπάνια γενετική διαταραχή (επιπολασμός περίπου 1:10⁶) που οφείλεται σε ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο γονίδιο. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία πολύ υψηλών συγκεντρώσεων TRG πλάσματος νηστείας (άνω των 1000 mg/ dL). Η αύξηση αυτή οφείλεται στη συσσώρευση χυλομικρών. Η κύρια υποκείμενη γενετική διαταραχή αφορά την ανεπάρκεια ή την πλήρη απουσία, είτε της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, η οποία είναι απαραίτητη για το καταβολισμό των TRG που περιέχονται στα χυλομικρά

και τις VLDL, είτε σπανιότερα της αποπρωτεΐνης ApoC-II, η οποία είναι το απαραίτητο συνένζυμο για την ενεργοποίηση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης.

Η νόσος εκδηλώνεται συνήθως στην παιδική ηλικία με υποτροπιάζοντα κοιλιακά άλγη τα οποία οφείλονται σε επεισόδια οξείας παγκρεατίτιδας. Γενικά τα πολύ υψηλά επίπεδα TRG, τα οποία συναντώνται σε αυτή τη νόσο, αποτελούν παράγοντα κινδύνου για πρόκληση οξείας παγκρεατίτιδας. Το άλλο χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου είναι η εμφάνιση εξανθηματικών ξανθωμάτων. Επίσης, μπορεί να συνυπάρχουν ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία και αμφιβληστροειδίτιδα κατά την οποία τα αγγεία του αμφιβληστροειδούς κατά την οφθαλμοσκόπηση παρουσιάζονται ωχρά (lipaemia retinalis). Ωστόσο, η οικογενής χυλομικροναϊμία δε συνδυάζεται με αυξημένη επίπτωση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η παρεμβολή της σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας στις βιοχημικές μετρήσεις στον ορό, έχει σαν αποτέλεσμα τη συχνά παρατηρούμενη σε αυτούς τους ασθενείς ψευδουποναιμία, καθώς και την αδυναμία ανίχνευσης της αυξημένης αμυλάσης του ορού σε περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας. Γι αυτό, η παρουσία λιπαιμικού ορού σε ασθενή με οξύ κοιλιακό άλγος πρέπει πάντα να κατευθύνει τη διαγνωστική σκέψη προς την υποψία ύπαρξης οξείας παγκρεατίτιδας, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της αμυλάσης του ορού.

Το ενδεχόμενο της διάγνωσης της οικογενούς χυλομικροναϊμίας εγείρεται από την παρουσία λιπαιμικού ορού ή πλάσματος, σε αιμοληψία μετά από νηστεία τουλάχιστον 12 ωρών. Αν μαλιστα η συλλογή του δείγματος γίνει παρουσία EDTA ως αντιπηκτικού και το δείγμα διατηρηθεί στους 4 °C όλη τη νύχτα, μια λευκωπή κρεμώδης στοιβάδα εμφανίζεται στο ανώ μέρος, ενώ το υποκείμενο πλάσμα είναι διαυγές. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης γίνεται με την αδυναμία αύξησης της ενεργότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, μετά από ενδοφλέβια έγχυση ηπαρίνης.

ii) Πρωτοπαθής μικτή υπερλιπιδαιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου V)

Στη νόσο αυτή υπάρχει παθολογική παρουσία χυλομικρών στο πλάσμα μετά από 12ωρη νηστεία, όπως και στην οικογενή χυλομικροναϊμία. Επίσης, όπως στην οικογενή χυλομικροναϊμία, έτσι και στην υπερλιπιδαιμία τύπου V παρατηρούνται εξανθηματικά ξανθώματα, lipemia retinalis, ηπατοσπληνομεγαλία, επαναλαμβανόμενα επεισόδια επιγαστραλγίας και υψηλός κίνδυνος οξείας παγκρεατίτιδας.

Η υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου V χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα τόσο χυλομικρών όσο και VLDL μετά από 12ωρη νηστεία. Θεωρείται ότι η υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου V αποτελεί προιόν μετάπτωσης της υπερλιπιδαιμίας τύπου IV παρουσία ενός δευτεροπαθούς παράγοντα υπερτριγλυκεριδαιμίας (π.χ. παχυσαρκία, αλκοολισμός, αρρυθμιστος ΣΔ). Έτσι, διαφοροδιαγνωστικά σημεία μεταξύ της οικογενούς χυλομικροναιμίας και της πρωτοπαθούς μικτής υπερλιπιδαιμίας αποτελούν τα εξής:

- Εμφάνιση των αρχικών συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας στην πρώτη, ενώ κατά την ενηλικίωση στη δεύτερη.
- Βιοχημικά αποδεδειγμένη ανεπάρκεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης ή της δραστηριότητας της Apo C-II ή ομόζυγη παρουσία αντίστοιχων γονιδιακών μεταλλάξεων στην πρώτη περίπτωση, ενώ αντίθετα λιγότερο σοβαρή λειτουργική ανεπάρκεια και μη συχνή ανίχνευση γονιδιακών μεταλλάξεων στη δεύτερη.
- Πολύ μικρότερος επιπολασμός στην πρώτη(περίπου $1:10^6$), σε σχέση με τη δεύτερη (περίπου $1:10^3$).
- Συχνή παρουσία δευτερογενών παραγόντων στη δεύτερη.
- Μεγαλύτερη αύξηση της ολικής χοληστερόλης στη δεύτερη, σε σχέση με την οικογενή χυλομικροναιμία.

iii) Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IV)

Πρόκειται για μια σχετικά συχνή διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από αύξηση της συγκέντρωσης της VLDL-C, και κληρονομείται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα. Η μοριακή της βάση είναι προς το παρόν άγνωστη, αλλά είναι πιθανότατα πολυγονιδιακή, απαιτώντας ένα δευτεροπαθή παράγοντα για την έκφρασή της. Συνήθως αυτή η διαταραχή ανευρίσκεται μετά την ενηλικίωση, όταν σε τυχαίο εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας ανευρίσκεται μεμονωμένη αύξηση των TRG της τάξεως των 200-500 mg/dL. Συχνά αυτή η διαταραχή εντάσσεται στα πλαίσια του ΜΣ. Η επίπτωση στεφανιαίας νόσου σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου IV δεν είναι αυξημένη, εκτός εάν η αύξηση των TRG συνδυάζεται με μείωση της HDL-C ή με την παρουσία small dense LDL (sd-LDL).

Σε ασθενείς με οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία η παρουσία δευτεροπαθών παραγόντων υπερτριγλυκεριδαιμίας μπορεί να προκαλέσει σημαντική αύξηση των TRG σε επίπεδα πάνω από 1000 mg/ dL. Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρείται η μετάπτωση της

υπερλιπιδαιμίας τύπου IV σε τύπου V. Η διόρθωση του υποκείμενου προδιαθεσικού παράγοντα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των TRG στα αρχικά επίπεδα.

Η διάγνωση της οικογενούς υπερτριγλυκεριδαιμίας τίθεται σε ασθενή με αύξηση των TRG του ορού της τάξεως των 200-500 mg/ dL, φυσιολογικά επίπεδα LDL-C και οικογενειακό ιστορικό υπερτριγλυκεριδαιμίας. Η γνώση του λιπιδαιμικού προφίλ των πρώτου βαθμού συγγενών μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στη διαφορική διάγνωση από την οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία. Πράγματι, σε αντίθεση με την τελευταία, στην οποία παρατηρείται σημαντική φαινοτυπική μεταβλητότητα, οι μισοί πρώτου βαθμού συγγενείς ασθενών με οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία εμφανίζουν υψηλά επίπεδα των TRG, αλλά φυσιολογικά επίπεδα LDL-C. Η ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών αποκαλύπτει αύξηση της pro-β ταινίας (τύπος IV), ενώ δεν παρατηρούνται χυλομικρά στο υπερκείμενο του πλάσματος που έχει μείνει στο ψυγείο όλη τη νύχτα.

iv) Οικογενής συνδυασμένη υπερλιποπρωτεϊναιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IIβ)

Πρόκειται για μια αρκετά συχνή διαταραχή (με επιπολασμό 0,5-1 %) η οποία κληρονομείται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα. Η διαταραχή αυτή εκδηλώνεται με έναν από τους ακόλουθους φαινότυπους: μεμονωμένη αύξηση της ολικής και LDL χοληστερόλης (τύπος IIα), μεμονωμένη αύξηση των TRG (τύπος IV) ή συνύπαρξη υπερχοληστερολαιμίας και υπερτριγλυκεριδαιμίας (τύπος IIβ). Συχνά στον ίδιο ασθενή παρατηρείται μεταβολή της φαινοτυπικής έκφρασης της νόσου στο χρόνο, ακόμα και χωρίς φαρμακευτική παρέμβαση. Οι μισοί πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών εμφανίζουν επίσης υπερλιπιδαιμία. Συγκεκριμένα, το 1/3 αυτών των συγγενών εμφανίζει υπερλιπιδαιμία τύπου IIα, το 1/3 υπερλιπιδαιμία τύπου IV και το υπόλοιπο 1/3 υπερλιπιδαιμία τύπου IIβ. Σε ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία, το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου είναι ιδιαίτερα επιβαρυνόμενο.

Οι ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία και φαινότυπο τύπου IIβ ή IV εμφανίζουν συχνά ΣΔ και ΜΣ. Το λιπιδαιμικό προφίλ αυτών των ασθενών είναι εξαιρετικά αθηρογόνο και περιλαμβάνει αυξημένα επίπεδα TRG, VLDL-C, sd-LDL-C, ApoB-100 και μειωμένη HDL-C.

Στην οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία, παρατηρείται αυξημένη ηπατική παραγωγή των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB-100. Ωστόσο, η αμιγής υπερπαραγωγή λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB-100 δε φαίνεται να είναι ικανή από μόνη της να προκαλέσει υπερλιπιδαιμία. Για την εμφάνιση της υπερλιπιδαιμίας, απαιτείται

η συνύπαρξη επιπρόσθετων διαταραχών του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, η εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας (φαινότυπος τύπου IV) εξαρτάται από την αποτελεσματικότητα τα μεταβολισμού των VLDL σε LDL, η οποία καθορίζεται από την ενεργότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης. Εξάλλου, η εμφάνιση υπερχοληστερολαιμίας (φαινότυπος τύπου IIa) καθορίζεται από το ρυθμό καταβολισμού των LDL, ενώ διαταραχές του μεταβολισμού τόσο των VLDL όσο και των LDL έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μικτής δυσλιπιδαιμίας (φαινότυπος τύπου IIβ).

Η διάγνωση της νόσου δεν είναι εύκολη, εξαιτίας του φαινοτυπικού πολυμορφισμού. Εντούτοις, η διάγνωση της οικογενούς συνδυασμένης υπερλιπιδαιμίας είναι πιθανή σε ενήλικες ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου και αυξημένα επίπεδα λιπιδαιμικών παραμέτρων, ιδιαίτερα όταν παρατηρείται μεταβολή των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης και υπερλιπιδαιμία στο 50 % του πρώτου βαθμού ενήλικων συγγενών. Η διαφορική διάγνωση θα πρέπει να γίνει από την οικογενή υπρχοληστερολαιμία, την πολυγονιδιακή υπερχοληστερολαιμία και την οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία. Στοιχεία που βοηθούν στη διαφορική διάγνωση μεταξύ οικογενούς συνδυασμένης υπερλιπιδαιμίας και οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας είναι:

- Ανίχνευση της υπερλιπιδαιμίας στο τέλος της εφηβικής ζωής στην πρώτη, ενώ στην παιδική ηλικία στη δεύτερη.
- Παρουσία τενόντιων ξανθωμάτων στη δεύτερη.
- Συνύπαρξη αυξημένων TRG και μειωμένης HDL-C στην πρώτη.
- Συνύπαρξη υπέρτασης, ΣΔ και παχυσαρκίας στην πρώτη.
- Καλή ανταπόκριση στη δίαιτα και στην απώλεια σωματικού βάρους στην πρώτη.

ν) Οικογενής δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία (υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III)

Η κύρια μοριακή διαταραχή σε αυτή τη νόσο αφορά την παρουσία ελαττωματικής ως προς την ικανότητα σύνδεσης στους λιποπρωτεϊνικούς υποδοχείς Apo E. Η Apo E βρίσκεται φυσιολογικά στα κατάλοιπα των χυλομικρών και των VLDL (IDL) και συνδέεται με τους ηπατικούς υποδοχείς με αποτέλεσμα την πρόσληψη αυτών των καταλοίπων από το ήπαρ. Υπάρχουν 3 κύριες ισομορφές της Apo E (E₂, E₃, E₄) που διαφέρουν ως προς την ικανότητα σύνδεσής τους με τους υποδοχείς. Από τις ισομορφές αυτές η E₂ έχει μειωμένη ικανότητα σύνδεσης με τον υποδοχέα. Οι ασθενείς με

δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία είναι ομοζυγώτες ως προς την E_2 (E_2E_2), με αποτέλεσμα τη μειωμένη πρόσληψη των καταλοίπων των χυλομικρών και των IDL από το ήπαρ και συνεπώς τη συσσώρευσή τους στο πλάσμα. Επιπρόσθετα, ενώ η συχνότητα του γονοτύπου E_2E_2 στο γενικό πληθυσμό είναι 1:100, η επίπτωση της υπερλιπιδαιμίας τύπου III εκτιμάται σε $1:10^4$. Άρα, μόνο το 1% των ομοζυγωτών E_2E_2 εκφράζουν κλινικά τη νόσο. Δηλαδή, χρειάζεται η παρουσία μιας επιπρόσθετης διαταραχής που θα αυξήσει την παραγωγή των λιποπρωτεϊνικών καταλοίπων και η οποία σε συνδυασμό με τον ελαττωμένο καταβολισμό τους θα προκαλέσει τη φαινοτυπική εκδήλωση της νόσου. Αυτή η επιπρόσθετη διαταραχή ανήκει στους δευτεροπαθείς παράγοντες της υπερτριγλυκεριδαιμίας.

Η νόσος εκδηλώνεται κλινικά μετά την ηλικία των 20 ετών και μάλιστα πολύ νωρίτερα στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες, στις οποίες η νόσος μπορεί να εμφανισθεί μετά την εμμηνοπαυση. Το χαρακτηριστικό κλινικό γνώρισμα είναι η παρουσία δύο χαρακτηριστικών ξανθωμάτων: τα οζώδη ξανθώματα (κόκκινα ή πορτοκαλί, κινητά και ανώδυνα οζίδια, διαμέτρου άνω των 3 cm, εντοπιζόμενα συνήθως στις εκτατικές επιφάνειες των άκρων, όπως στους αγκώνες και τα γόνατα) και τα ταινιοειδή παλαμιαία ξανθώματα (αντιστοιχούν σε κιτρινωπό ή πορτοκαλόχρωο αποχρωματισμό των πτυχών των παλαμών και των δακτύλων των χεριών και μπορεί να είναι επίπεδα ή υπεργεμμένα). Παρά τα σχετικά χαμηλά επίπεδα της LDL-C σε αυτούς τους ασθενείς, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, εξαιτίας της παρουσίας των εξαιρετικά αθηρογόνων β -VLDL.

Στη δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία, υπάρχουν αυξημένες συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης (TC) και TRG στον ορό και οι απόλυτες συγκεντρώσεις τους σε mmol/L είναι ίσες (σε mg/ dL η συγκέντρωση των TRG είναι σχεδόν διπλάσια από της TC). Επίσης, κατά την ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών, παρατηρείται μία ευρεία προ-β ζώνη (β -VLDL). Η διάγνωση επιβεβαιώνεται με τον προσδιορισμό του λόγου VLDL-C/ TRG. Ένας λόγος μεγαλύτερος από 0,3, όταν οι μονάδες εκφράζονται σε mg/ dL, ή 0,68, όταν οι μονάδες εκφράζονται σε mmol/ L, επιβεβαιώνει τη διάγνωση της δυσβηταλιποπρωτεϊναιμίας.

β. Δευτεροπαθής υπερτριγλυκεριδαιμία

Μερικές μεταβολικές καταστάσεις σχετίζονται συχνά, αλλά όχι πάντα, με την υπερτριγλυκεριδαιμία και μάλιστα ένα συγκεκριμένο επίπεδο έκθεσης σε ένα δευτεροπαθή

παράγοντα δε συνοδεύεται από ισοδύναμης σοβαρότητας υπερτριγλυκεριδαιμία για όλα τα άτομα, υποδηλώνοντας ότι τα άτομα που αναπτύσσουν δευτεροπαθή υπερτριγλυκεριδαιμία πιθανώς να έχουν μία συνυπάρχουσα κληρονομούμενη μεταβολική διαταραχή η οποία προδιαθέτει για την ανάπτυξη υπερτριγλυκεριδαιμίας. Η παχυσαρκία είναι ο πιο συχνός μεταβολικός παράγοντας που σχετίζεται με την υπερτριγλυκεριδαιμία, ενώ ο μη καλά ρυθμιζόμενος ΣΔ τύπου 2 και η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ είναι επίσης συνήθη αίτια.

Συγκεκριμένα, οι δευτεροπαθείς παράγοντες υπερτριγλυκεριδαιμίας είναι οι εξής:

- Παχυσαρκία, Μεταβολικό Σύνδρομο, Σακχαρώδης Διαβήτης. Άτομα με αυξημένη ποσότητα σπλαχνικού λίπους, συχνά έχουν υψηλή συγκέντρωση TRG και χαμηλή HDL-C. Η υπερτριγλυκεριδαιμία στο ΜΣ και στο ΣΔ οφείλεται σε αυξημένη συγκέντρωση VLDL-C με ή χωρίς χυλομικροναιμία, λόγω μειωμένης δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, αυξημένης δραστηριότητας της πρωτεΐνης που μεταφέρει εστέρες χοληστερόλης (CETP) και αυξημένης παραγωγής ελεύθερων λιπαρών οξέων από το ήπαρ.
- Υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Η κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με αυξημένη παραγωγή VLDL-C με ή χωρίς την παρουσία χυλομικρών.
- Νεφρική νόσος. Στο νεφρωσικό σύνδρομο, αν και η αύξηση της LDL-C είναι η κύρια ανωμαλία, υπάρχουν αυξήσεις όλων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB, συμπεριλαμβανομένης της VLDL-C. Ο πιθανός μηχανισμός περιλαμβάνει υπερπαραγωγή των λιποπρωτεϊνών από το ήπαρ, το οποίο αυξάνει τη σύνθεση πρωτεϊνών, επιχειρώντας να αντισταθμίσει τη νεφρική απώλεια πρωτεϊνών, η οποία υφίσταται στο νεφρωσικό σύνδρομο. Επίσης, η ουραιμία σχετίζεται με αυξημένη VLDL-C, η οποία αντικατοπτρίζει τη διαταραχή της λιπόλυσης, πιθανώς λόγω των τοξικών επιδράσεων των μεταβολιτών της ουρίας
- Κύηση. Κατά τη διάρκεια το τρίτου τριμήνου της κύησης φυσιολογικά τα TRG αυξάνονται μέχρι και 3 φορές, αλλά συνήθως αυτή η αύξηση δεν έχει κλινική σημασία. Εφόσον η δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης είναι μειωμένη, είναι δυνατό να συμβούν μεγάλες αυξήσεις των TRG.
- Σύνδρομο Cushing
- Υποθυρεοειδισμός. Ο υποθυρεοειδισμός κυρίως αυξάνει την LDL-C, αλλά είναι δυνατό να βρεθούν αυξημένα και τα TRG

- Αυτοάνοσες διαταραχές π.χ. παραπρωτειναιμίες, Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
- Φάρμακα
 - Κορτικοστεροειδή
 - Οιστρογόνα, ταμοξιφαίνη
 - Αντιυπερτασικά (β-αποκλειστές, θειαζιδικά διουρητικά)
 - Ρετινοειδή
 - Ρητίνες δέσμευσης χολικών οξέων
 - Κυκλοφωσφαμίδη
 - Αντικά εναντίον του HIV και ειδικά οι αναστολείς πρωτεάσης
 - Άτυπα αντιψυχωσικά (η κλοζαπίνη και η ολανζαπίνη έχουν την πιο ισχυρή μεταβολική δράση)

4. ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ

α. Καρδιαγγειακός κίνδυνος [308]

Πολλές προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν μία θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα των TRG του ορού και στον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου [313,314]. Η πολυπαραγοντική ανάλυση στη μελέτη Prospective Cardiovascular Munster study (PROCAM) ανέδειξε τα αυξημένα TRG του ορού ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για πρόκληση μείζονων στεφανιαίων συμβαμάτων (θανατηφόρο ή μη OEM, αιφνίδιος καρδιακός θάνατος), κατά τη διάρκεια 8 ετών παρακολούθησης ανδρών 40-65 ετών, μετά από στράθμιση για LDL-C, HDL-C, ηλικία, συστολική ΑΠ, κάπνισμα, ΣΔ, οικογενειακό ιστορικό ΣΝ [315]. Επίσης, η μελέτη PROCAM απέδειξε ότι ο καρδιαγγειακός κίνδυνος αυξάνονταν σταθερά με την αύξηση των TRG έως την τιμή των 800 mg/dL, ενώ για υψηλότερες τιμές TRG ο καρδιαγγειακός κίνδυνος μειώνονταν. Αυτή η ανεξάρτητη επίδραση των TRG στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, σε σχέση με τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου είναι πολύ πιθανό να οφείλεται όχι στην αθηρογόνο ιδιότητα αυτών καθεαυτών των TRG, αλλά στην παρουσία πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών [triglyceride-rich lipoproteins (TGRLP)], οι οποίες είναι αθηρογόνες [313,314]. Οι TGRLP περιλαμβάνουν κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών και συγκεκριμένα μικρές VLDL και ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτείνες (IDL). Αυτά τα σωματίδια έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και διαθέτουν μερικές από τις ιδιότητες της LDL [316,318]. Επιπρόσθετα, η υπερτριγλυκεριδαιμία σχετίζεται με την ύπαρξη μικρών πυκνών LDL [small dense LDL (sd-LDL)], οι οποίες είναι ιδιαίτερα αθηρογόνες.

ι) Μεταβολικό Σύνδρομο

Όπως προαναφέρθηκε, τα υψηλά επίπεδα TRG αποτελούν παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου, υπο την έννοια ότι συσχετίζονται με τους λιπιδαιμικούς και μη λιπιδαιμικούς παράγοντες του ΜΣ. Οι λιπιδαιμικοί παράγοντες συνιστούν την αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία, ενώ οι μη λιπιδαιμικοί είναι η κοιλιακή παχυσαρκία, η υψηλή αρτηριακή πίεση, η μειωμένη ανοχή της γλυκόζης, η προθρομβωτική και η προφλεγμονώδης κατάσταση [319].

Η κλινική χρησιμότητα του ορισμού του ΜΣ έγκειται στην παροχή επιπρόσθετων πληροφοριών, όσον αφορά το μακροπρόθεσμο καρδιαγγειακό κίνδυνο για όλη τη ζωή του ατόμου, οι οποίες αξιολογούνται συμπληρωματικά με τη βραχυπροθεσμή (10 έτη)

εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου βάσει του Framingham score. Έτσι, στην περίπτωση των ατόμων που έχουν χαμηλό (< 10 % 10ετή κίνδυνο) ή ενδιάμεσο (10-20 % 10ετή κίνδυνο) βραχυπρόθεσμο καρδιαγγειακό κίνδυνο βάσει του Framingham score, εφόσον τεθεί η διάγνωση του ΜΣ, τα άτομα αυτά θα διατρέχουν υψηλό μακροπρόθεσμο κίνδυνο για καρδιαγγειακά συμβάματα για όλη τους τη ζωή. Η πλέον αποδεκτή σήμερα εκδοχή του ορισμού του ΜΣ είναι αυτή της American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI), σύμφωνα με την οποία για τη διάγνωση του ΜΣ απαιτείται η ύπαρξη τουλάχιστον 3 από τους παρακάτω 5 παράγοντες:

- Περίμετρος μέσης ≥ 102 cm (για άνδρες)
 ≥ 88 cm (για γυναίκες)
- TRG ≥ 150 mg/dL
ή
λήψη φαρμάκων που μειώνουν τα TRG*
- HDL-C < 40 mg/ dL (για άνδρες)
< 50 mg/ dL (για γυναίκες)
ή
λήψη φαρμάκων που αυξάνουν την HDL-C*
- Συστολική αρτηριακή πίεση ≥ 130 mm Hg
ή
Διαστολική πίεση ≥ 85 mm Hg
ή
λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων από ασθενή με ιστορικό υπέρτασης
- Γλυκόζη νηστείας ≥ 100 mg/ dL
ή
λήψη αντιδιαβητικών φαρμάκων

*Οι φμπράτες και το νικοτινικό οξύ είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα φάρμακα για την αντιμετώπιση των αυξημένων TRG ή της χαμηλής HDL-C. Γι' αυτό ασθενείς που λαμβάνουν αυτά τα φάρμακα θεωρείται ότι έχουν αυξημένα TRG και χαμηλή HDL-C.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε αυτόν τον ορισμό του MS δεν περιλαμβάνονται η sdLDL, η προφλεγμονώδης κατάσταση [αυξημένα επίπεδα high sensitivity CRP (> 3 mg/dL) και ιντερλευκίνης-6 και μειωμένα επίπεδα αντιπνεκτίνης] και η προθρομβωτική

κατάσταση (αυξημένα επίπεδα αναστολέα-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, ινωδογόνου).

Πρέπει να τονιστεί ότι τα άτομα με ΜΣ παρουσιάζουν ένα λιπιδαιμικό φαινότυπο, ο οποίος αποκαλείται αθηρογόνος δυσλιπιδαιμία και χαρακτηρίζεται από υψηλά TRG ορού, παρουσία μικρών πυκνών LDL (sdLDL) και χαμηλή HDL-C. Για πρακτικούς λόγους, στην κλινική πράξη η αθηρογόνος δυσλιπιδαιμία συνήθως ορίζεται ως $TRG \geq 150$ mg/ dL και $HDL-C < 40$ mg/ dL.

ii) Μικρές πυκνές LDL

Τα LDL σωματίδια συγκροτούν ένα πληθυσμό σωματιδίων, τα οποία δεν έχουν μια συνεχή κατανομή μεγέθους και πυκνότητας, αλλά ένα αριθμό υποομάδων σωματιδίων με σχετικά διακριτό μέγεθος και πυκνότητα [308,318,319]. Αυτή η ετερογένεια των LDL σωματιδίων έχει αναλυθεί με αναλυτική υπερφυγοκέντρωση, με χαρακτηρισμό του lipoprotein flotation rate αυτών των σωματιδίων. Το Svedberg flotation (Sf) rate των ανθρώπινων LDL σωματιδίων (πυκνότητα 1,019- 1,063 g/ mL) κυμαίνεται από 0 έως 12. Η ανάλυση της ετερογένειας των LDL σωματιδίων μπορεί να γίνει με ανάλυση πυκνότητας ή με ανάλυση μεγέθους.

Όσον αφορά την ανάλυση πυκνότητας η υπερφυγοκέντρωση με βαθμίδωση πυκνότητας [density gradient ultracentrifugation (DGU)] έχει αποκαλύψει την ύπαρξη έως και 4 διακριτές LDL μπάντες (LDL-I έως LDL-IV). Ο πιο συχνά ανευρισκόμενος υποπληθυσμός, σε υγιή νορμολιπιδαιμικά άτομα, είναι ο LDL-II, ενώ τα LDL-I σωματίδια (μεγαλύτερα και λιγότερο πυκνά) και τα LDL-III (μικρότερα και πιο πυκνά) σωματίδια ανευρίσκονται σε μικρότερες και ποικίλες συγκεντρώσεις. Ο υποπληθυσμός LDL-IV είναι γενικά δύσκολα ανιχνεύσιμος και συχνά συγχέεται με την παρουσία της HDL και της Lp(a).

Όσον αφορά την ανάλυση μεγέθους, η nondenaturing Polyacrylamide gradient gel electrophoresis (PAGGE) έχει αποκαλύψει έως 7 διακριτά υποκλάσματα της LDL, αλλά τα περισσότερα άτομα εμφανίζουν μόνο 2 ή 3 υποκλάσματα. Από το LDL-1 έως το LDL-7, η πυκνότητα των σωματιδίων αυξάνεται και το μέγεθός τους μειώνεται. Ο προσδιορισμός του μεγέθους των LDL σωματιδίων μπορεί να διενεργηθεί είτε υπολογίζοντας τη διάμετρο του πιο άφθονου υποκλάσματος της LDL (LDL peak particle size) ενός ατόμου ή τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων (mean LDL particle size) ενός ατόμου. Ο δεύτερος υπολογισμός παρέχει μια πιο ακριβή περιγραφή της συνολικής

κατανομής του μεγέθους των LDL σωματιδίων. Επίσης, μία δυαδική ταξινόμηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων έχει οριστεί βάσει της διαμέτρου του πιο άφθονου LDL σωματιδίου και του πρότυπου της κατανομής των LDL υποκλασμάτων. Έτσι, άτομα με επικράτηση των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων (διάμετρος $> 255 \text{ \AA}$) και λοξότητα της κατανομής πυκνότητας προς τα δεξιά χαρακτηρίζονται ότι έχουν LDL φαινότυπο A, ενώ τα άτομα με LDL φαινότυπο B χαρακτηρίζονται από επικράτηση των μικρών LDL σωματιδίων (διάμετρος $< 255 \text{ \AA}$) και λοξότητα της κατανομής πυκνότητας προς τα αριστερά. Έχει βρεθεί ότι το 85-90 % των ατόμων έχουν LDL φαινότυπο A ή B, ενώ οι υπόλοιποι έχουν ενδιάμεσο φαινότυπο. Επιπλέον, υπολογίζεται ότι το 30 % του γενικού πληθυσμού έχει φαινότυπο B, ενώ το 70 % έχει φαινότυπο A ή ενδιάμεσο φαινότυπο.

Σχετικά με την παθογένεση των sdLDL, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα των TRG και VLDL-C του ορού παρουσιάζουν ισχυρή θετική συσχέτιση με την πυκνότητα και αρνητική συσχέτιση με το μέγεθος των επικρατούντων υποκλασμάτων της LDL. Αυτό πιθανώς αντικατοπτρίζει το γεγονός ότι σε καταστάσεις υπερτριγλυκεριδαιμίας υπάρχει αύξηση της περιεκτικότητας των LDL σωματιδίων σε τριγλυκερίδια και ακολούθως η αναδιαμόρφωση (remodeling) αυτών των πλούσιων σε τριγλυκερίδια LDL σωματιδίων από τη συνδεδεμένη με το ενδοθήλιο ηπατική λιπάση οδηγεί στη δημιουργία των sdLDL. Συγκεκριμένα, οι sdLDL παρατηρούνται μόνο σε καταστάσεις υπερτριγλυκεριδαιμίας και η ενεργότητα της ηπατικής λιπάσης παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση των sdLDL. Επίσης, οι sdLDL συσχετίζονται αρνητικά με την HDL-C και ειδικά με το υποκλάσμα HDL-2.

Πρέπει να τονιστεί ότι οι sdLDL αποτελούν τα πιο αθηρογόνα υποκλάσματα της LDL και η παρουσία τους σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση στεφανιαίας νόσου και αυτή η συσχέτιση φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία, το άρρεν φύλο, η παχυσαρκία, το κάπνισμα και η υπέρταση. Η αυξημένη αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL έχει αποδοθεί στον υψηλό χρόνο ημιζωής τους στην κυκλοφορία του αίματος, στην αυξημένη ικανότητά τους να διαπερνούν το ενδοθήλιο, στην ισχυρή σύνδεσή τους με τις πρωτεογλυκάνες του αγγειακού τοιχώματος, στην αυξημένη ικανότητα οξειδωσής τους και στη μειωμένη τάση που έχουν να προσλαμβάνονται από τους LDL υποδοχείς. Οι πιο αποτελεσματικές θεραπευτικές παρεμβάσεις που οδηγούν στη μείωση των sdLDL είναι η δίαιτα και η χορήγηση φιμπρατών.

iii) Κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών

Οι πλούσιες σε TRG λιποπρωτεΐνες [triglyceride-rich lipoproteins (TGRLP)] περιλαμβάνουν κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών και συγκεκριμένα μικρές VLDL και ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL) [308]. Αυτά τα σωματίδια έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και διαθέτουν μερικές από τις ιδιότητες της LDL. Στην κλινική πράξη, ο πιο εύκολα διαθέσιμος τρόπος μέτρησης των TGRLP είναι η VLDL. Ένα μέρος της χοληστερόλης των VLDL βρίσκεται σε μη αθηρογόνα TGRLP, αλλά το μεγαλύτερο μέρος της ανευρίσκεται σε αθηρογόνα κατάλοιπα. Καθώς η VLDL συσχετίζεται με τα αθηρογόνα κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών, θα ήταν λογικό να συνδυασθεί με την LDL, ώστε να αυξηθεί η δυνατότητα πρόβλεψης του καρδιαγγειακού κινδύνου, σε άτομα με αυξημένα TRG.

Συνεπώς, το άθροισμα $LDL-C + VLDL-C = TC - HDL-C$, το οποίο είναι γνωστό ως non-HDL-C, είναι δυνατό να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο. Πράγματι, η non-HDL-C παρουσιάζει υψηλή συσχέτιση με τη συγκέντρωση της αποπρωτεΐνης ApoB, η οποία αποτελεί την κύρια αποπρωτεΐνη όλων των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών. Επίσης, η συγκέντρωση της ApoB έχει ισχυρή προβλεπτική αξία όσον αφορά τη σοβαρότητα της στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης και τα καρδιαγγειακά συμβάματα.

Στα περισσότερα άτομα με $TRG < 200 \text{ mg/dL}$, η VLDL-C δεν είναι σημαντικά αυξημένη και επιπλέον η non-HDL-C συσχετίζεται ισχυρά με την LDL-C, οπότε η πρόσθεση της VLDL-C στην LDL-C αναμένεται να ενισχύσει ελάχιστα τη δυνατότητα πρόβλεψης της καρδιαγγειακής νόσου. Αντίθετα σε $TRG \geq 200 \text{ mg/dL}$, η VLDL-C είναι σημαντικά αυξημένη και η συγκέντρωση της VLDL-C δεν παρουσιάζει καλή συσχέτιση με την non-HDL-C. Επομένως, σε $TRG \geq 200 \text{ mg/dL}$, η non-HDL-C αντιπροσωπεύει καλύτερα τον κίνδυνο που σχετίζεται με τις συγκεντρώσεις όλων των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών, παρά μόνη της η LDL-C. Εξάλλου, για $TRG \geq 500 \text{ mg/dL}$, ένα μέρος της χοληστερόλης των TGRLP βρίσκεται στις μη αθηρογόνες μορφές των μεγάλων VLDL και των χυλομικρών και συνεπώς η non-HDL-C συνιστά σε αυτήν την περίπτωση λιγότερο αξιόπιστο μέσο εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η φυσιολογική VLDL-C μπορεί να οριστεί ως αυτή που βρίσκεται σε $TRG < 150 \text{ mg/dL}$ και αυτή η τιμή είναι τυπικά $\leq 30 \text{ mg/dL}$. Αντίστροφα, όταν $TRG > 150 \text{ mg/dL}$, η VLDL-C είναι συνήθως $> 30 \text{ mg/dL}$. Συνεπώς, ένας λογικός στόχος για την non-HDL-C είναι 30 mg/dL άνω του στόχου της LDL-C.

β. Οξεία παγκρεατίτιδα

Για τιμές TRG ≥ 500 mg/ dL, υπάρχει υψηλός κίνδυνος ανάπτυξης οξείας παγκρεατίτιδας και μάλιστα ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση των επιπέδων των TRG [308,310]. Σε αυτά τα επίπεδα των TRG, ένα μεγάλο μέρος των TRG βρίσκεται υπό τη μορφή των χυλομικρών, εκτός από τη μορφή των VLDL. Τότε τα επίπεδα των χυλομικρών είναι ιδιαίτερα αυξημένα μεταγευματικά (συνήθως > 1000 mg/ dL) και κατά τη διέλευση των χυλομικρών από τη μικροκυκλοφορία του παγκρέατος, αυτά εκτίθενται σε μικρές ποσότητες παγκρεατικής λιπάσης με αποτέλεσμα την απελευθέρωση τοπικά λιπαρών οξέων και λυσολεκιθίνης. Αυτά τα λιπαρά οξέα δρουν τοξικά στις κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων του παγκρέατος και αυξάνουν την τοπική απελευθέρωση παγκρεατικής λιπάσης με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φαύλου κύκλου που οδηγεί σε φλεγμονή του παγκρεατικού ιστού.

Πρέπει να αναφερθεί ότι πολλές φορές η αμυλάση του ορού είναι μέσα στα φυσιολογικά όρια ή είναι οριακά αυξημένη, πιθανώς εξαιτίας παρεμβολής των λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων στον εργαστηριακό προσδιορισμό της. Σε αυτές τις περιπτώσεις η μέτρηση της αμυλάσης σε διαδοχικές αραιώσεις του ορού ή των ούρων βοηθάει σημαντικά στη διάγνωση. Εξάλλου, η παρουσία λιπαιμικού ορού σε ασθενή με οξύ κοιλιακό άλγος πρέπει πάντα να εγείρει την υποψία της ύπαρξης οξείας παγκρεατίτιδας, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της αμυλάσης του ορού.

Αν υπάρξουν υποτροπιάζοντα επεισόδια οξείας παγκρεατίτιδας, αυτά είναι δυνατό να οδηγήσουν στη δημιουργία ψευδοκύστης ή και ανεπάρκειας της εξωκρινούς και ενδοκρινούς μοίρας του παγκρέατος.

γ. Σύνδρομο χυλομικροναιμίας

Σε TRG > 2000 mg/ dL, τα άτομα μπορούν να εκδηλώσουν το σύνδρομο χυλομικροναιμίας, το οποίο συνίσταται χαρακτηρίζεται από εξανθηματικά ξανθώματα, αμφιβληστροειδίτιδα του τύπου lipemia retinalis, διανοητικές διαταραχές και υψηλό κίνδυνο για οξεία παγκρεατίτιδα [308,310]. Τα εξανθηματικά ξανθώματα συνιστούν μικρές κιτρινωπές βλατίδες που περιβάλλονται από ερυθριματώδη άλω και ανευρίσκονται στους γλουτούς, στη ράχη και στις εκτατικές επιφάνειες των άκρων (σημεία πίεσης). Οφείλονται στην εναπόθεση μεγάλων ποσοτήτων λιπιδίων στα ιστικά μακροφάγα του δέρματος. Επίσης, η εναπόθεση χυλομικρών στα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος μπορεί να προκαλέσει ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία και διήθηση του μυελού

των οστών από λιπώδη κύτταρα. Κατά την οφθαλμοσκόπηση, οβυθός των οφθαλμών παρουσιάζεται ωχρός, ενώ τα αγγεία του αμφιβληστροειδούς λευκά (lipaemia retinalis).

δ. Αξιολόγηση του κινδύνου, ανάλογα με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού

Ανάλογα με τα επίπεδα των TRG του ορού, είναι δυνατό να υπάρξουν οι ακόλουθες αρνητικές καταστάσεις [308]:

- Οριακά υψηλά TRG (150-199 mg/ dL). Τα οριακά υψηλά TRG αποτελούν δείκτη παρουσίας αθηρογόνων παραγόντων, λιπιδιακών (αυξημένη sd-LDL-C, χαμηλή HDL-C) και μη λιπιδιακών (υψηλή αρτηριακή πίεση, ινσουλινοαντίσταση και μιωμένη ανοχή γλυκόζης, προθρομβωτική κατάσταση, προφλεγμονώδης κατάσταση). Συνήθως, αυτοί οι παράγοντες απαντώνται στα πλαίσια του ΜΣ.
- Υψηλά TRG (200-499 mg/ dL). Τα υψηλά TRG συνδέονται με την παρουσία αθηρογόνων καταλοίπων λιποπρωτεϊνών (TGRLP), όπως και με την παρουσία λιπιδαιμικών (αθηρογόνος δυσλιπιδαιμία) και μη λιπιδαιμικών παραγόντων του ΜΣ, οι οποίοι αναφέρθηκαν παραπάνω. Όταν μάλιστα τα κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε εστέρες χοληστερόλης, όπως στη δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία, ο καρδιαγγειακός κίνδυνος είναι ιδιαίτερα υψηλός.
- Πολύ υψηλά TRG (≥ 500 mg/ dL). Μερικά άτομα με πολύ υψηλά TRG, έχουν αθηρογόνα κατάλοιπα λιποπρωτεϊνών, όπως και λιπιδιακούς, αλλά και μη λιπιδιακούς παράγοντες του ΜΣ, με αποτέλεσμα να υφίσταται υψηλός καρδιαγγειακός κίνδυνος. Ωστόσο, ένα πιο επείγον πρόβλημα σε αυτά τα άτομα είναι ο υψηλός κίνδυνος για οξεία παγκρεατίτιδα. Ειδικά όταν τα TRG υπερβαίνουν τα 2000 mg/ dL, είναι δυνατό να αναπτύξουν σύνδρομο χυλομικροναιμίας. Εφόσον τα πολύ υψηλά TRG οφείλονται αποκλειστικά σε ανεπάρκεια του καταβολισμού των TRG (ανεπάρκεια λιπιπρωτεϊνικής λιπάσης ή Apo-CII), ενδέχεται να μην υπάρχει υψηλός κίνδυνος καρδιαγγειακής νόσου.

5. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΑΙΜΙΑΣ

α. Κατευθυντήριες οδηγίες σύμφωνα με NCEP ATP III

Τα αυξημένα TRG του ορού, στο γενικό πληθυσμό, οφείλονται σε μεγάλο βαθμό σε επίκτητους, τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου, που έχουν σχέση με τον καθημερινό τρόπο ζωής [308]. Τέτοιοι παράγοντες κινδύνου είναι το αυξημένο σωματικό βάρος, η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας, η κατάχρηση αλκοόλ, το κάπνισμα και δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες. Συνεπώς, στην αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας, τον ακρογωνιαίο λίθο πρέπει να αποτελούν πάντοτε υγιεινοδιαιτητικά μέτρα που στοχεύουν στη μεταβολή του τρόπου ζωής. Συγκεκριμένα, απαιτείται η υιοθέτηση των εξής υγιεινοδιαιτητικών μέτρων:

- Ρύθμιση σωματικού βάρους.
- Αυξημένη σωματική δραστηριότητα.
- Διακοπή καπνίσματος.
- Περιορισμός της πρόσληψης αλκοόλ.
- Αποφυγή αυξημένης πρόσληψης υδατανθράκων.

Εκτός από τις παραπάνω γενικές υγιεινοδιαιτητικές οδηγίες, τα ειδικά μέτρα τα οποία επιβάλλεται να ληφθούν, σε σχέση με τα επίπεδα των TRG του ορού, είναι τα ακόλουθα:

- Οριακά υψηλά TRG (150-199 mg/ dL). Σε άτομα με οριακά υψηλά TRG, πρέπει πάντα να εγείρεται η υπόνοια της ύπαρξης του ΜΣ και, εφόσον αυτό επιβεβαιωθεί, να δίνεται έμφαση στην αλλαγή των συνηθειών του τρόπου ζωής. Σε αυτά τα επίπεδα TRG, τον κύριο στόχο της υπολιπιδαιμικής αγωγής αποτελεί η επίτευξη του στόχου της LDL-C, ενώ δεν είναι αναγκαία η προσθήκη της non-HDL-C ως δευτερεύοντα στόχου της υπολιπιδαιμικής αγωγής. Δηλαδή, δεν απαιτείται η εφαρμογή ειδικής αγωγής για τη μείωση των καταλοίπων των VLDL-C, αν και οι στατίνες ελαττώνουν τόσο την LDL-C όσο και τα κατάλοιπα των VLDL. Στην περίπτωση που συνυπάρχει και χαμηλή HDL-C, θα ήταν σκόπιμη η εισαγωγή ενός φαρμάκου που ταυτόχρονα θα αυξάνει την HDL-C, εφόσον φυσικά έχει επιτευχθεί ο στόχος της LDL-C. Υπό αυτήν την έννοια, μπορεί να επιλεγούν οι φιμπράτες ή το νικοτινικό οξύ.

- Υψηλά TRG (200-499 mg/ dL). Σε άτομα με υψηλά TRG, τον κύριο στόχο της υπολιπιδαιμικής αγωγής αποτελεί η επίτευξη του στόχου της LDL-C και δευτερεύοντα στόχο αποτελεί η επίτευξη του στόχου της non-HDL-C. Συγκεκριμένα, οι αλλαγές του τρόπου ζωής αποτελούν τη θεραπεία πρώτης γραμμής, ενώ επίσης σημαντική είναι η αναγνώριση της λήψης φαρμάκων τα οποία προκαλούν υπερτριγλυκεριδαιμία και η επακόλουθη τροποποίηση της λήψης τους. Οι στατίνες αποτελούν τα πιο αποτελεσματικά φάρμακα για τη μείωση της non-HDL-C, λόγω της ιδιότητάς τους να μειώνουν τόσο την LDL-C, όσο και τα τριγλυκερίδια των VLDL, αλλά και τη χοληστερόλη των VLDL. Υπό την προϋπόθεση ότι έχει επιτευχθεί ο στόχος της LDL-C, αν η non-HDL-C παραμένει πάνω από το στόχο, προκειμένου να επιτευχθεί ο στόχος της non-HDL-C, μπορούν να χρησιμοποιηθούν, είτε υψηλότερες δόσεις στατινών, είτε μέτριες δόσεις στατινών σε συνδυασμό με φάρμακα που μειώνουν τα TRG (φιμπράτες, ω-3 λιπαρά οξέα, νικοτινικό οξύ). Εξάλλου, η υπερτριγλυκεριδαιμία οποιουδήποτε βαθμού αποτελεί σχετική αντένδειξη για τη χρήση ρητινών δέσμευσης χολικών οξέων, δεδομένου ότι αυτά τα φάρμακα αυξάνουν τα επίπεδα των TRG. Όταν η LDL-C δεν είναι σημαντικά αυξημένη, ο στόχος της non-HDL-C με ένα φάρμακο που μειώνει τα TRG συνήθως είναι εφικτός. Από τα φάρμακα που μειώνουν τα TRG το πιο αποτελεσματικό είναι το νικοτινικό οξύ, το οποίο μειώνει τα TRG κατά 30-50 %, αυξάνει την HDL-C κατά 20-30 %, χωρίς να αυξάνει την LDL-C. Σε άτομα με αντενδείξεις για το νικοτινικό οξύ ή αν το φάρμακο δεν είναι καλά ανεκτό, οι φιμπράτες [γεμφιβροζίλη (600 mg) δύο φορές την ημέρα, φενοφιμπράτη (200 mg) μία φορά την ημέρα] μπορούν να μειώσουν τα TRG κατά 40-60 % και να αυξήσουν την HDL-C κατά 15-25 %. Ωστόσο, οι φιμπράτες συχνά αυξάνουν την LDL-C κατά 5-30 % (σχηματίζοντας μεγαλύτερα σωματίδια LDL) και γι' αυτό οι φιμπράτες μόνες τους συνήθως δε μειώνουν τα επίπεδα της non-HDL-C. Συνεπώς, όταν χρησιμοποιούνται φιμπράτες, είναι συνήθως αναγκαίο να συνδυάζονται με μια στατίνη, προκειμένου να επιτευχθεί ο στόχος της non-HDL-C. Επιπρόσθετα, τα μακράς αλυσίδας ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούν μια εναλλακτική λύση σε συνδυασμό με μία στατίνη. Τα ω-3 λιπαρά οξέα (κυρίως το εικοσιπεντανοϊκό οξύ), σε δόσεις των 3 g ανά ημέρα, προκαλούν μείωση των TRG άνω του 30 %, ενώ σε δόσεις των 9 g ανά ημέρα , προκαλούν μείωση των TRG άνω του 50 %.

- Πολύ υψηλά TRG (≥ 500 mg/ dL). Σε άτομα με πολύ υψηλά TRG πρώτη προτεραιότητα αποτελεί η μείωση των TRG, με σκοπό την αποφυγή πρόκλησης οξείας παγκρεατίτιδας και δευτερεύοντα στόχο η μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η θεραπεία θεωρείται επιτυχής εφόσον μειωθούν τα TRG κάτω από 500 mg/dL. Για πολλά άτομα με εξαιρετικά υψηλές τιμές TRG, η μείωση των TRG στα φυσιολογικά επίπεδα συχνά είναι ανεπιτυχής. Συγκεκριμένα, απαιτείται η διακοπή της λήψης φαρμάκων, που ενοχοποιούνται για αύξηση των TRG, ο περιορισμός της χρήσης αλκοόλ και, εφόσον υφίσταται υπεργλυκαιμία, η ρύθμισή της με από του στόματος αντιδιαβητικά ή ινσουλίνη. Εφόσον είναι $\text{TRG} > 1000$ mg/ dL, είναι αναγκαίο να υιοθετηθούν δίαιτες πολύ χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπη (< 15 % των ολικών θερμίδων ως λίπος), ώστε να μειωθεί η χυλομικροναιμία, η οποία συμβάλλει στα πολύ υψηλά TRG. Επίσης, είναι αναγκαία η ρύθμιση του σωματικού βάρους και η αυξημένη σωματική δραστηριότητα. Συνήθως, απαιτείται η χρήση φαρμάκων που μειώνουν τα TRG, δηλαδή φιμπράτες, νικοτινικό οξύ και ω -3 λιπαρά οξέα. Γενικά όμως, οι φιμπράτες είναι η πιο πρακτική επιλογή. Η γεμφιβροζίλη (600 mg δύο φορές την ημέρα) αναφέρεται ότι μειώνει τα TRG κατά μέσο όρο 74 % σε περιπτώσεις σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας και ελαχιστοποιεί τα χυλομικρά από το πλάσμα. Η φαινοφιμπράτη έχει παρόμοια αποτελεσματικότητα στη μείωση των TRG, σε σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία. Επιπλέον, τα ω -3 λιπαρά οξέα μειώνουν τα TRG και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συμπληρωματική θεραπεία. Εκτός αυτού, το νικοτινικό οξύ είναι αποτελεσματικό, αλλά σε υψηλές δόσεις (> 2 g ανά ημέρα) γενικά πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή σε άτομα με υπεργλυκαιμία, δεδομένου ότι μπορεί να επιδεινώσει την υπεργλυκαιμία.

β. Φάρμακα για την αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας [308-310,320]

i) Φιμπράτες

Οι φιμπράτες μειώνουν τα επίπεδα των TRG του ορού κατά 20-50 % (με τις μεγαλύτερες μειώσεις να συμβαίνουν σε περιπτώσεις σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας) και αυξάνουν την HDL-C κατά 10-30 % (με τις μεγαλύτερες αυξήσεις να υφίστανται σε περιπτώσεις πολύ υψηλών TRG και πολύ χαμηλής HDL-C). Επίσης, μειώνουν την LDL-C, σε ασθενείς με αυξημένη LDL-C πριν τη θεραπεία και κυρίως η φαινοφιμπράτη, αλλά όχι η γεμφιβροζίλη. Ωστόσο, οι φιμπράτες αυξάνουν την LDL-C, σε ασθενείς με σοβαρή

υπερτριγλυκεριδαιμία. Επιπλέον, αυξάνουν τη διάμετρο των LDL, δηλαδή μειώνουν τις sd-LDL, οι οποίες έχουν μεγάλη αθηρογόνο δυνατότητα.

Οι δράσεις των φιμπράτων στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών οφείλονται στην ενεργοποίηση των ηπατικών πυρηνικών υποδοχέων PPARα (peroxisomal proliferative-activated receptor α). Έτσι μειώνεται η σύνθεση από το ήπαρ της Apo-C III (η οποία αναστέλλει τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης), ενώ αυξάνεται η σύνθεση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και των ApoAI, ApoAII. Με αυτόν τον τρόπο, οι φιμπράτες αυξάνουν την HDL-C και τον καταβολισμό των πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών. Επιπρόσθετα, αυξάνουν την οξείδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ, μειώνοντας έτσι την ηπατική παραγωγή VLDL-C.

Γενικά, οι φιμπράτες είναι καλά ανεκτά φάρμακα. Αναφορικά με τις παρενέργειες των φιμπράτων, οι πιο συχνές είναι οι γαστρεντερικές διαταραχές (δυσπεψία, ναυτία, έμετος, δυσκοιλιότητα, διάρροια) και δερματικά εξανθήματα. Επίσης, προκαλούν μια μικρή αύξηση των ηπατικών ενζύμων σε μικρό ποσοστό ασθενών, η οποία υποχωρεί με τη διακοπή του φαρμάκου. Η πιο σημαντική ανεπιθύμητη παρενέργεια είναι η μυοσίτιδα, η οποία παρατηρείται κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, καθώς και όταν οι φιμπράτες χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με στατίνες. Εκτός αυτού, έχει βρεθεί ότι αυξάνουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα και την επίπτωση της χολολιθίασης. Επιπλέον, ενδέχεται να εμφανισθούν ήπιες μειώσεις της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη και του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων, αλλά συνήθως σταθεροποιούνται στη διάρκεια της μακροχρόνιας θεραπείας. Αξίζει να σημειωθεί, ότι η φαινοφιμπράτη μειώνει τα επίπεδα του ουρικού οξέος, αυξάνοντας την κλασματική του απέκκριση και αυξάνει τα επίπεδα της κρεατινίνης, η οποία επιστρέφει στις φυσιολογικές της τιμές με τη διακοπή της χορήγησής της. Οι φιμπράτες δεν πρέπει να χορηγούνται σε ασθενείς με νεφρική, ηπατική νόσο ή χολολιθίαση.

Παράλληλα, οι φιμπράτες εκτοπίζουν τη βαρφαρίνη από τις θέσεις σύνδεσής της με την αλβουμίνη και γι' αυτό, όταν συγχωρηγούνται φιμπράτες με βαρφαρίνη, απαιτείται η κατά 30 % μείωση της δόσης της βαρφαρίνης. Επιπλέον, οι φιμπράτες εκτοπίζουν τα υπογλυκαιμικά φάρμακα από τις θέσεις σύνδεσής τους με την αλβουμίνη, με αποτέλεσμα την πρόκληση υπογλυκαιμίας.

Από τις φιμπράτες, κυρίως χρησιμοποιούνται η φαινοφιμπράτη σε δόση 200 mg μία φορά την ημέρα πριν την κατάκλιση και η γεμφιβροζίλη σε δόση των 600 mg δύο φορές την ημέρα.

Στη συνέχεια παρατίθενται οι μελέτες κλινικών συμβαμάτων και οι αγγειογραφικές ή υπερηχογραφικές μελέτες για κάθε φιμπράτη:

- Γεμφιβροζίλη.

Στην **Helsinki Heart Study** υπερχοληστερολαιμικοί (non-HDL-C $\geq$ 200 mg/ dL), μεσήλικοι άνδρες, χωρίς Στεφανιαία Νόσο (ΣΝ), τυχαιοποιήθηκαν σε γεμφιβροζίλη 600 mg 2 φορές την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [321]. Η γεμφιβροζίλη συνδεόταν με μείωση κατά 34 % των καρδιακών επεισοδίων, χωρίς οποιαδήποτε σημαντική μείωση της ολικής θνητότητας. Η post-hoc ανάλυση έδειξε ότι το μεγαλύτερο όφελος εμφανίσθηκε στην υποομάδα με TRG > 204 mg/ dL και λόγο LDL-C/ HDL-C > 5 [322].

Στη Veterans Affairs HDL Intervention Trial (**VA-HIT**) μελετήθηκαν άνδρες με ΣΝ, HDL-C $\leq$ 40 mg/ dL και LDL-C $\leq$ 140 mg/ dL, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε 1200 mg γεμφιβροζίλη μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [323,324]. Μετά από 5 έτη, η γεμφιβροζίλη μείωσε τον κίνδυνο μη φανατηφόρου OEM ή θανάτου από στεφανιαίες αιτίες κατά 22 %, χωρίς σημαντική μείωση της ολικής θνητότητας. Επιπλέον, η γεμφιβροζίλη μείωσε το σύνθετο τελικό σημείο καρδιακού θανάτου, μη θανατηφόρου OEM και Αγγειακού Εγκεφαλικού Επεισοδίου (ΑΕΕ) κατά 24 %. Χωριστή ανάλυση του κινδύνου για ΑΕΕ έδειξε μείωση κατά 31 % με τη γεμφιβροζίλη. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι άτομα με βασικές τιμές HDL-C πριν την έναρξη της θεραπείας κάτω από το μέσο όρο φαίνεται να οφελούνται περισσότερο από την αγωγή σε σχέση με εκείνους με υψηλότερες τιμές HDL-C.

- Φαινοφιμπράτη.

Στη Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (**DAIS**), άνδρες και γυναίκες με ΣΔ τύπου 2 και στεφανιογραφικά αποδεδειγμένη ΣΝ τυχαιοποιήθηκαν σε 200 mg φαινοφιμπράτη 2 φορές την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [325]. Στα 3 χρόνια παρακολούθησης, το κύριο τελικό σημείο της μέσης τμηματικής διαμέτρου στη στεφανιογραφία δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων θεραπείας, αλλά τόσο οι μεταβολές της ποσοστιαίας στένωσης της διαμέτρου, όσο και της ελάχιστης διαμέτρου του αυλού, έδειξαν σημαντικά μικρότερη εξέλιξη της βλάβης με τη φαινοφιμπράτη. Στην ίδια μελέτη, τα κλινικά συμβάντα μειώθηκαν κατά 23 % με τη φαινοφιμπράτη, ενώ μειώθηκε σημαντικά και η εμφάνιση μικροαλβουμινουρίας.

Στη μελέτη Fenofibrate Intervention And Event Lowering In Diabetes (**FIELD**), άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 50-75 ετών, με ΣΔ τύπου 2, TC: 115-250 mg/ dL, TC/ HDL-C $\geq$ 4, TRG: 90-445 mg/ dL, οι οποίοι δεν ελάμβαναν θεραπεία με στατίνη στην αρχή της μελέτης, τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν 200 mg φαινοφιμπράτη μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [326]. Μετά από 5 έτη, η φαινοφιμπράτη προκάλεσε μία μείωση κατά 11 % στα συνολικά συμβάντα καρδιαγγειακής νόσου (τα οποία εκτιμήθηκαν από το σύνθετο τελικό σημείο: θανάτου από καρδιαγγειακή νόσο, OEM, ΑΕΕ, επέμβασης στεφανιαίας επαναγγείωσης ή καρωτιδικής επαναγγείωσης), η οποία οφείλονταν κυρίως σε μια μείωση του μη θανατηφόρου OEM και της ανάγκης για στεφανιαία επαναγγείωση. Αυτή η διαφορά ήταν ήδη εμφανής από τα 2 έτη της μελέτης. Εκτός αυτού, αυτά τα αποτελέσματα ήταν μεγαλύτερα σε άτομα χωρίς προηγούμενη καρδιαγγειακή νόσο, σε σχέση με αυτούς με καρδιαγγειακή νόσο, και στα νεαρότερα άτομα (< 65 έτη) σε σχέση με πιο ηλικιωμένα άτομα. Επιπλέον, η φαινοφιμπράτη προκάλεσε μια μείωση στις μικροαγγειακές επιπλοκές του ΣΔ, όπως εκφράστηκαν από τη μείωση της εξέλιξης σε αλβουμινουρία και τη μείωση της ανάγκης για laser θεραπεία της αμφιβληστροειδοπάθειας.

- **Κλοφιμπράτη.**

Στην Coronary Drug Project (**CDP**), μελετήθηκαν άνδρες ηλικίας 30-64 ετών με ηλεκτροκαρδιογραφικά επιβεβαιωμένο προηγούμενο OEM και διαπιστώθηκε ότι τόσο στα 5 έτη, όσο και στα 15 έτη (9 έτη μετά το τέλος της μελέτης) δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ κλοφιμπράτης και εικονικού φαρμάκου στην ολική θνητότητα και στο συνδυασμό μη θανατηφόρου OEM ή θανάτου από ΣΝ [327,328].

Στη World Health Organization (**WHO**) Cooperative Trial, άνδρες χωρίς ΣΝ, ηλικίας 30-59 ετών τυχαιοποιήθηκαν σε κλοφιμπράτη ή εικονικό φάρμακο [329]. Στα 5 έτη, η ομάδα της κλοφιμπράτης παρουσίασε μείωση της συχνότητας της ΣΝ κατά 20 %, οφειλόμενη σε μια κατά 25 % μείωση του μη θανατηφόρου OEM, και μια αύξηση της ολικής θνητότητας, παρακινώντας για παρατεταμένη παρακολούθηση. Έτσι, στην τελική μέση παρακολούθηση 13,4 ετών, η αύξηση της θνησιμότητας με την κλοφιμπράτη δεν ήταν πλέον στατιστικά σημαντική.

Στη **Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention Study** άνδρες και γυναίκες, ηλικίας < 70 ετών, τυχαιοποιήθηκαν σε 2 mg κλοφιμπράτη

μία φορά την ημέρα συν 3 mg νικοτινικό οξύ μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [330]. Η συνδυασμένη θεραπεία μείωσε την ολική θνητότητα κατά 26 % και τη θνητότητα από ΣΝ κατά 36 %. Το όφελος στη θνητότητα εμφανιζόταν μόνο εάν η βασική τιμή των TRG ήταν άνω των 133 mg/ dL και ήταν μεγαλύτερο σε ασθενείς με μείωση των TRG κατά ≥ 30 %.

- Μπεξαφιμπράτη.

Στη Bezafibrate Infarction Prevention Study (**BIP**), άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 45-74 ετών με προηγούμενο OEM ή σταθερή στηθάγχη, TC: 180-250 mg/ dL, HDL-C ≤ 45 mg/ dL, TRG ≤ 300 mg/ dL και LDL-C ≤ 180 mg/ dL τυχαιοποιήθηκαν σε 400 mg μπεξαφιμπράτη μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο και παρακολουθήθηκαν για 6,2 έτη [331]. Δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στο συνδυασμένο κύριο τελικό σημείο θανατηφόρο ή μη θανατηφόρο OEM ή αιφνίδιος θάνατος. Η post-hoc ανάλυση της υποομάδας των ασθενών με βασικά TRG ≥ 200 mg/ dL έδειξε μια σημαντική μείωση του κύριου τελικού σημείου κατά 39,5 %. Στα 6 έτη, μεταξύ μη διαβητικών ασθενών με ΣΝ και παθολογική γλυκόζη νηστείας, η μπεξαφιμπράτη μείωσε την έναρξη του ΣΔ τύπου 2 και επιβράδυνε τη μετάπτωση κατά περίπου 10 μήνες [332].

Στη Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (**BECAIT**), άνδρες, με ιστορικό OEM πριν από την ηλικία των 45 ετών, TC ≥ 201 mg/ dL και TRG ≥ 142 mg/ dL, τυχαιοποιήθηκαν σε 200 mg μπεξαφιμπράτη 200 mg 2 φορές την ημέρα ή εικονικό φάρμακο [333]. Μετά από 5 έτη, στην ομάδα της μπεξαφιμπράτης, υπήρξε μικρότερη εξέλιξη της στένωσης των αγγείων στη στεφανιογραφία, όπως εκτιμήθηκε από τη μεταβολή της μέσης ελάχιστης διαμέτρου του αυλού, αλλά και ελάττωση της συχνότητας των στεφανιαίων επεισοδίων.

Πρέπει να προστεθεί ότι υπάρχει μία μελέτη κλινικών συμβαμάτων που αξιολογεί τη συγχορήγηση φιμπράτης με στατίνη. Συγκεκριμένα, στην Action to Control CardiOvascular Risk in Diabetes (**ACCORD**), ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 και χαμηλή HDL-C έλαβαν φαινοφιμπράτη και σιμβαστατίνη ή σιμβαστατίνη και placebo για 4,7 έτη [334]. Δεν υπήρχε καμία διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στην επίπτωση του πρωτογενούς κύριου τελικού σημείου, το οποίο ήταν ένα μείζον καρδιαγγειακό συμβάν (μη θανατηφόρο OEM, μη θανατηφόρο ΑΕΕ, θάνατος από καρδιαγγειακές αιτίες) και στην επίπτωση των δευτερογενών τελικών σημείων, τα οποία ήταν ο συνδυασμός του πρωτογενούς τελικού

σημείου μαζί με επαναγγείωση ή νοσηλεία σε Νοσοκομείο για συμφορητική ΚΑ. Στην υποομάδα των ασθενών με TRG στο ανώτερο τριτημόριο (≥ 204 mg/dL) και HDL-C στο κατώτερο τριτημόριο (≤ 34 mg/dL), η επίπτωση του πρωτογενούς τελικού σημείου ήταν μειωμένη στην ομάδα της φαινοφιμπράτης σε σχέση με την ομάδα του placebo. Η συγκεκριμένη υποομάδα αποτελούσε το 17,6 % του συνόλου των ατόμων. Στους υπόλοιπους ασθενείς, η επίπτωση του πρωτογενούς τελικού σημείου δε διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων. Επιπρόσθετα, η αγωγή με φαινοφιμπράτη μείωσε το ρυθμό εξέλιξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Η θεραπεία με φαινοφιμπράτη δεν αύξησε τον κίνδυνο μυοσίτιδας ή ραβδομυόλυσης.

ii) Νικοτινικό οξύ

Το νικοτινικό οξύ, όταν χορηγείται σε δοσολογία 1,5-2 g/ dL, ελαττώνει τα TRG κατά 20-50 % και αυξάνει την HDL-C κατά 15-35 % (η αύξηση της HDL-C που προκαλείται από το νικοτινικό οξύ είναι μεγαλύτερη από αυτή που προκαλείται από τα άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα). Οι προκαλούμενες από το νικοτινικό οξύ μεταβολές των TRG και HDL-C τείνουν να είναι καμπυλόγραμμες (λογαριθμικές) και συνεπώς μικρότερες δόσεις νικοτινικού οξέος προκαλούν σημαντικές μεταβολές των TRG και HDL-C, χωρίς σημαντικές παρενέργειες. Ωστόσο, απαιτούνται υψηλές δόσεις του φαρμάκου (3-4,5 g) για να παρατηρηθούν σημαντικές μειώσεις της LDL-C (5-25 %). Επιπλέον, μειώνει την λιποπρωτεΐνη α [Lp(α)] κατά 30 %. Επίσης, αυξάνει τη διάμετρο των LDL, μειώνοντας τη συγκέντρωση των αθηρογόνων sd-LDL. Έτσι, το νικοτινικό οξύ είναι το αποτελεσματικότερο φάρμακο για τη βελτίωση του συνόλου της λιπιδαιμικής εικόνας.

Οι επιδράσεις του νικοτινικού οξέος στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών οφείλονται στην ικανότητά του να προκαλεί μείωση της έκκρισης των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό στην κυκλοφορία, οδηγώντας σε ελάττωση της παραγωγής και έκκρισης VLDL από το ήπαρ. Επιπρόσθετα, αναστέλει τη μετατροπή των VLDL σε LDL.

Το νικοτινικό οξύ ενδέχεται να είναι δύσκολα ανεκτό από τους ασθενείς, λόγω των συχνών παρενεργειών του και του φαρμακολογικού σχήματος των πολλαπλών δόσεων με τη μορφή της άμεσης αποδέσμευσης. Συγκεκριμένα, η πιο συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η συνδεδεμένη με τις προσταγλανδίνες έξαψη, η οποία γενικά γίνεται λιγότερο ενοχλητική με την πάροδο του χρόνου. Οι εξάψεις μειώνονται σημαντικά με τη χορήγηση 325 mg ασπιρίνης 30-60 λεπτά πριν από τη χορήγηση της κάθε δόσης του φαρμάκου, με

τη χορήγηση του νικοτινικού οξέος στο τέλος των γευμάτων, την αποφυγή ζεστών ροφημάτων και τη χρήση σκευασμάτων επιβραδυνόμενης αποδέσμευσης. Επίσης, το νικοτινικό οξύ μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της γλυκόζης, του ουρικού οξέος (με πιθανή πρόκληση ουρικής αρθρίτιδας) και των τρανσαμινασών (με ενδεχόμενη εξέλιξη σε χρόνια ηπατική νόσο, κυρίως με τη μορφή παρατεταμένης αποδέσμευσης). Επιπλέον, είναι δυνατό να εμφανισθούν γαστρεντερικές διαταραχές (δυσπεψία, ναυτία, διάρροια, κοιλιακός σπασμός, ενεργοποίηση πεπτικών ελκών, ίκτερος), κολπική μαρμαρυγή, ορθοστατική υπόταση, κνησμός, μελαγχρωματική ακάνθωση, ιχθύαση, επιπεφυκίτιδα, οίδημα αμφιβληστροειδούς (τοξική αμβλυωπία). Η χορήγηση νικοτινικού οξέος αντενδείκνυται σε χρόνια ηπατική νόσο, ουρική αρθρίτιδα και οι υψηλές δόσεις σε ΣΔ.

Πρέπει να τονιστεί ότι, δεδομένου ότι απαιτούνται υψηλές δόσεις νικοτινικού οξέος για τη μείωση της LDL-C και επειδή οι υψηλές δόσεις δε είναι ανεκτές από τα περισσότερα άτομα, η χορήγηση του νικοτινικού οξέος συνήθως δε χρησιμοποιείται ως μονοθεραπεία για τη μείωση της LDL-C. Αντίθετα, σε αυτήν την περίπτωση, προτιμάται ο συνδυασμός του νικοτινικού οξέος με μια στατίνη. Ο συνδυασμός νικοτινικού οξέος με στατίνη ενδέχεται να αυξήσει τον κίνδυνο για μυοπάθεια. Γι' αυτό, ο συνδυασμός αυτός θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή, με χαμηλές δόσεις νικοτινικού οξέος (1-2 g ανά ημέρα) και αποφυγή του σε περιπτώσεις ηπατικής νόσου, νεφρικής νόσου ή ταυτόχρονης λήψης φαρμάκων που αυξάνουν την τοξικότητα (κυκλοσπορίνη, μακρολίδια, αντιμυκητιασικά).

Όσον αφορά τη μορφή άμεσης αποδέσμευσης, η τυπική εναρκτήρια δοσολογία είναι 250 mg μία ή δύο φορές την ημέρα, με βαθμιαία τιτλοποίηση σε διάστημα 1-3 εβδομάδων ως 2-3 g ανά ημέρα (1 g 2 με 3 φορές την ημέρα με τα γεύματα). Αντίθετα, η μορφή παρατεταμένης αποδέσμευσης χορηγείται μία φορά την ημέρα την ώρα της κατάκλισης μετά από ένα πρόχειρο γεύμα με λιπαρά, με εναρκτήρια δόση 500 mg και τιτλοποίηση ως 1-2 g, σε διάστημα 14-16 εβδομάδων.

Στη συνέχεια παρατίθενται οι μελέτες κλινικών συμβαμάτων και οι αγγειογραφικές ή υπερηχογραφικές μελέτες για το νικοτινικό οξύ, είτε ως μονοθεραπεία, είτε ως συνδυασμένη θεραπεία με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα:

- Μονοθεραπεία

Στην Coronary Drug Project (CDP), μελετήθηκαν άνδρες, ηλικίας 30-64 ετών, με ηλεκτροκαρδιογραφικά επιβεβαιωμένο προηγούμενο OEM, και στα 5 έτη ή αγωγή με νιασίνη έδειξε ένα μέτριο όφελος στη μείωση του μη θανατηφόρου

OEM, αλλά χωρίς καμία επίδραση στην ολική θνητότητα [327]. Ωστόσο, σε παρακολούθηση 15 ετών, η ολική θνητότητα μειώθηκε κατά 11 % ομάδα της νιασίνης [328].

- Συνδυασμένη θεραπεία

Η συνδυασμένη θεραπεία με νιασίνη και άλλους υπολιπιδαιμικούς παράγοντες προκάλεσε μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων και μειωμένη εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, με την εξαίρεση της μελέτης HARP. Συγκεκριμένα, η νιασίνη συνδυάστηκε με:

- Κλοφιμπράτη στη **Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention Study** [330]
- Κολεστιπόλη στις **Familial Atherosclerosis Treatment Study (FATS)** και **Cholesterol Lowering Atherosclerosis Study (CLAS)** [335,336].
- Ατορβαστατίνη ή πραβαστατίνη στην **ARterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing cholesterol (ARBITER 2)** [337].
- Σιμβαστατίνη με ή χωρίς αντιοξειδωτικές βιταμίνες στην **HDL Atherosclerosis Treatment Study (HATS)** [338].
- Γεμφιβροζίλη και χολεστυραμίνη στην **Armed Forces Regression Study (AFREGS)** [339].
- Με Πραβαστατίνη, χολεστυραμίνη και γεμφιβροζίλη στην **Harvard Atherosclerosis Reversibility Project (HARP)**, η οποία ωστόσο δεν έδειξε καμία διαφορά, όσον αφορά τη στεφανιογραφικά εκτιμώμενη εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, σε σχέση με το placebo [340].

iii) Στατίνες

Οι στατίνες μειώνουν την LDL-C κατά 18-55 %, αυξάνουν την HDL-C κατά 5-15 % και μειώνουν τα TRG κατά 7-30 %. Η μείωση της LDL-C είναι δοσοεξαρτώμενη και λογαριθμική, ώστε με κάθε διπλασιασμό της δόσης της στατίνης μειώνεται η LDL-C κατά 6 %. Σε άτομα με πολύ υψηλά TRG, η μείωση της LDL-C είναι μικρότερη από τις περιπτώσεις ατόμων με χαμηλά TRG. Όσον αφορά τη μείωση των TRG, για τιμές TRG < 150 mg/ dL, η μείωση των TRG δεν είναι σταθερή, ενώ για TRG > 200 mg/ dL, η μείωση των TRG είναι ανάλογες με τη μείωση της LDL-C. Επιπλέον, οι στατίνες μειώνουν τις IDL και τα κατάλοιπα των VLDL. Ωστόσο, δεν επηρεάζουν τα επίπεδα της Lp(a).

Οι στατίνες αναστέλλουν συναγωνιστικά την αναγωγή του 3-ύδροξυ 5-μεθυλγλουταρυλ-συνενζύμου Α (HMG-CoA), αποκλείοντας τη μετατροπή του HMG-CoA σε μεβαλονικό, ένα πρώιμο κρίσιμο στάδιο για την ηπατική βιοσύνθεση χοληστερόλης. Έτσι, μειώνοντας την ενδοκυττάρια σύνθεση χοληστερόλης στο ήπαρ, αυξάνουν αντιρροπιστικά τον αριθμό και τη δραστηριότητα των LDL υποδοχέων στο ήπαρ, διευκολύνοντας την κάθαρση των LDL από την κυκλοφορία. Επίσης, η μείωση των TRG από τις στατίνες οφείλεται στη μείωση της σύνθεσης των VLDL από τα ηπατοκύτταρα, καθώς και στην αύξηση του καταβολισμού των πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών, εξαιτίας της αύξησης του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων.

Έχει βρεθεί ότι η μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που παρατηρείται μετά από χορήγηση στατινών δεν οφείλεται μόνο στην προκαλούμενη μείωση της LDL, αλλά και σε επιπρόσθετες δράσεις που δε σχετίζονται άμεσα με την υπολιπιδαιμική τους δράση. Οι δράσεις αυτές ονομάζονται πλειοτροπικές και οι κυριότερες είναι οι εξής: αντιοξειδωτική δράση, ευνοϊκή επίδραση στο ενδοθήλιο, αντιφλεγμονώδης δράση, σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών, αντιθρομβωτική δράση.

Οι στατίνες γενικά είναι καλά ανεκτές και έχουν πολύ λίγες ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι συχνότερες παρενέργειες των στατινών είναι οι εξής:

- Αυξημένες ηπατικές τρανσαμινάσες. Οι στατίνες προκαλούν μια μικρή, παροδική, ασυμπτωματική, δοσοεξαρτώμενη αύξηση των τρανσαμινασών σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών (0,5-2 %). Οι μικρές αυξήσεις των τρανσαμινασών φαίνεται ότι οφείλονται σε μεταβολές του ηπατικού μεταβολισμού και όχι στην τοξική επίδραση των φαρμάκων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα επίπεδα των τρανσαμινασών επιστρέφουν στα φυσιολογικά επίπεδα με τη διακοπή των φαρμάκων ή τη μείωση της δόσης, χωρίς να παρατηρηθεί μόνιμη βλάβη του ήπατος. Μικρές αυξήσεις των τρανσαμινασών (κάτω από το τριπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου) δε συνιστούν λόγο διακοπής της θεραπείας, αλλά θα πρέπει να επανελέγχονται σε 2-6 εβδομάδες. Αν τα επίπεδα των τρανσαμινασών είναι άνω του τριπλάσιου του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, ο έλεγχος θα πρέπει να επαναλαμβάνεται, ενώ αν οι τρανσαμινάσες παραμένουν πάνω από το τριπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, η θεραπεία με στατίνες θα πρέπει να διακόπτεται. Μετά την ομαλοποίηση των επιπέδων των τρανσαμινασών, η θεραπεία με στατίνη μπορεί συνήθως να επαναληφθεί σε μειωμένη δοσολογία ή με διαφορετική στατίνη. Πρέπει να αναφερθεί ότι η χορήγηση στατινών

αντενδείκνυται σε άτομα με οξεία ή χρόνια ηπατική νόσο ή σε αλκοολικούς ασθενείς. Αντίθετα, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος δεν αποτελεί αντένδειξη για τη χορήγησή τους.

- Μυοπάθεια. Η μυοσίτιδα είναι η πιο σημαντική και σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια των στατινών, η οποία όμως είναι πολύ σπάνια, και φαίνεται να σχετίζεται με τη δοσολογία των στατινών. Αποτυχία αναγνώρισης της μυοπάθειας και η μη διακοπή της χορήγησης των στατινών σε αυτήν την περίπτωση, μπορεί να οδηγήσει σε ραβδομυόλυση, μυοσφαιρινουρία και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Αξιόπιστος δείκτης εργαστηριακής διάγνωσης της μυοπάθειας από στατίνες είναι η αύξηση των επιπέδων της κρεατινικής φωσφοκινάσης (CK). Γι' αυτό απαιτείται τακτικός έλεγχος της CK, σε ασθενείς που λαμβάνουν στατίνες, και εφόσον παρατηρηθεί αύξηση της CK πάνω από το δεκαπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, θα πρέπει να διακοπεί η χορήγηση της στατίνης. Επίσης, οι ασθενείς θα πρέπει να ενημερώνονται να προσέρχονται στον ιατρό σε περίπτωση εμφάνισης άλγους, αδυναμίας ή ευαισθησίας στους μυες ή σε περίπτωση καφεοειδούς χρώσης των ούρων τους (ενδεικτική ραβδομυόλυσης). Τότε, αν υπάρχει όντως μυοπάθεια ή υπάρχει υψηλός βαθμός κλινικής υποψίας μυοπάθειας, απαιτείται η άμεση διακοπή της χορήγησης της στατίνης.
- Άλλες παρενέργειες. Γαστρεντερικές διαταραχές (δυσπεψία, κοιλιακοί σπασμοί, δυσκοιλιότητα, μετεωρισμός διάρροια, διάρροια), κεφαλαλγία, εξανθήματα, διαταραχές του ύπνου.

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι περισσότερες στατίνες μεταβολίζονται δια μέσου του κυττοχρώματος P450 3A4. Έτσι, η ταυτόχρονη χορήγηση στατινών και άλλων φαρμάκων που επίσης μεταβολίζονται δια μέσου του κυττοχρώματος P450 3A4 έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ηπατικού μεταβολισμού των στατινών, την αύξηση των επιπέδων τους στο πλάσμα, με συνέπεια την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών και κυρίως μυοπάθειας. Φάρμακα που επίσης μεταβολίζονται δια μέσου αυτής της οδού είναι και προκαλούν αύξηση των επιπέδων των στατινών στο πλάσμα είναι τα εξής: φιμπράτες, νικοτινικό οξύ, κουμαρινικά αντιπηκτικά, κυκλοσπορίνη, αντιμυκητιασικά φάρμακα (ιτραконаζόλη, κετοконаζόλη), μακρολίδια, αναστολείς πρωτεάσης, αντικαταθλιπτικά φάρμακα, νεομυκίνη. Επιπλέον, ο χυμός grapefruit μειώνει τη δραστηριότητα του κυττοχρώματος P450 3A4 και αυξάνει τη συγκέντρωση των στατινών στο πλάσμα. Αντίθετα, τα φάρμακα που επάγουν τη δραστηριότητα του κυττοχρώματος P450 3A4 (βαρβιτουρικά,

καρβαμαζεπίνη, φαινυτοΐνη, ριφαμπικίνη) αυξάνουν το μεταβολισμό των περισσότερων στατινών και μειώνουν τα επίπεδά τους στο πλάσμα. Επιπρόσθετα, η χολεστυραμίνη μειώνει τα επίπεδα των στατινών λόγω ελάττωσης της απορρόφησής τους στο έντερο. Γι' αυτό οι στατίνες πρέπει να λαμβάνονται τουλάχιστον μία ώρα πριν ή 4 ώρες μετά τη λήψη της χολεστυραμίνης.

Δεδομένου ότι η μέγιστη δραστηριότητα της αναγωγάσης του HMG-CoA συμβαίνει περί τα μεσάνυχτα, η υπολιπιδαιμική δραστηριότητα των στατινών είναι ελαφρά καλύτερη, όταν χορηγούνται το βράδυ. Υπό αυτήν την έννοια, οι στατίνες χορηγούνται πριν από τη νυχτερινή κατάκλιση.

Στον πίνακα 4 παραθέτονται οι συνήθως χρησιμοποιούμενες στατίνες και η εμπορικά διαθέσιμη δόση χορήγησής τους.

Πίνακας 4. Φαρμακευτικά σκευάσματα στατινών

ΦΑΡΜΑΚΟ	ΔΟΣΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
Πραβαστατίνη	20 mg, 40 mg
Σιμβαστατίνη	20 mg, 40 mg
Φλουβαστατίνη	40 mg (Caps), 80 mg XL (Tb)
Ατορβαστατίνη	10 mg, 20 mg, 40 mg
Ροσουβαστατίνη	5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg

Στους πίνακες 5 και 6 αναγράφονται οι δόσεις των στατινών που προκαλούν μείωση της LDL-C κατά 30-40 % και κατά ≥ 50 % αντίστοιχα.

Πίνακας 5. Δοσολογίες στατινών, για την επίτευξη μείωσης της LDL-C κατά 30-40 %.

ΦΑΡΜΑΚΟ	ΔΟΣΗ (mg/ dL)	ΜΕΙΩΣΗ ΤΗΣ LDL-C (%)
Πραβαστατίνη	40	34
Σιμβαστατίνη	20-40	35-41
Φλουβαστατίνη	40-80	25-35
Ατορβαστατίνη	10	39
Ροσουβαστατίνη	5-10	39-45

Πίνακας 6. Δοσολογίες στατινών, για την επίτευξη μείωσης της LDL-C ≥ 50 %.

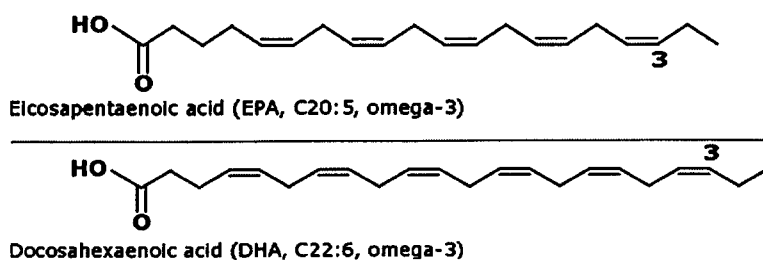
ΦΑΡΜΑΚΟ	ΔΟΣΗ (mg/ dL)	ΜΕΙΩΣΗ ΤΗΣ LDL-C (%)
Ατορβαστατίνη	80	51-54
Ροσουβαστατίνη	40	52-59

iv) ω-3 λιπαρά οξέα

Η παρατήρηση στα τέλη της δεκαετίας του 1970 ότι οι Εσκιμώοι, οι ιθαγενείς κάτοικοι της Αλάσκας και οι Ιάπωνες εμφανίζουν λιγότερο συχνά καρδιαγγειακά νοσήματα (OEM, AEE) σε σχέση με άλλους πληθυσμούς, έστρεψε την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας στις δράσεις των ω-3 λιπαρών οξέων [341-343]. Η μικρότερη συχνότητα καρδιαγγειακών νοσημάτων αποδόθηκε στη δίαιτα των πληθυσμών αυτών που περιελάμβανε αυξημένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών και ιχθυελαίων τα οποία περιέχουν σημαντικές ποσότητες ω-3 λιπαρών οξέων. Από τότε, πολλές μελέτες έδειξαν ότι η αυξημένη πρόσληψη ω-3 λιπαρών οξέων, είτε μέσω της κατανάλωσης λιπαρών ψαριών είτε μέσω συμπληρωμάτων διατροφής, μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων [344-346]. Τα ω-3 λιπαρά οξέα ονομάζονται “απαραίτητα” διότι πρέπει να προσλαμβάνονται εξωγενώς με τη διατροφή. Τροφές πλούσιες σε ω-3 λιπαρά οξέα είναι τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, οι ξηροί καρποί, οι σπόροι και τα σπορέλαια, αλλά και τα λιπαρά ψάρια (ρέγκα, σολομός, σκουμπρί, κολιός, γαύρος, τόνος, σαρδέλα, μπακαλιάρος, πέστροφα), ενώ μικρότερες ποσότητες ανευρίσκονται σε φυτικά προϊόντα όπως λιναρόσπορος, λινέλαιο, σογιέλαιο, καρύδια, αμύγδαλα, φιστίκια κ.ά.

Τα ω-3 λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν τα μονοακόρεστα μονοκαρβοξυλικά οξέα με ένα διπλό δεσμό στη θέση ω-3, δηλαδή ο διπλός δεσμός βρίσκεται μεταξύ του τρίτου και του τέταρτου ατόμου C, με την αρίθμηση να αρχίζει από το πιο απομακρυσμένο άτομο C από την καρβοξυλομάδα [12]. Τα ω-3 λιπαρά οξέα που συνήθως που συνήθως διατίθενται για ιατροφαρμακευτική χρήση είναι δύο, το eicosapentaenoic acid (EPA) και το docosahexaenoic acid (DHA). Γενικά, ο χημικός τύπος των ω-3 λιπαρών οξέων είναι ο εξής:

$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-R-COOH}$. Τα ω-3 λιπαρά οξέα που συνήθως που συνήθως διατίθενται για ιατροφαρμακευτική χρήση είναι δύο, το eicosapentaenoic acid (EPA) και το docosahexaenoic acid (DHA). Οι χημικοί τύποι των EPA και DHA είναι οι εξής:



Τα ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν τα TRG κατά 20 - 45 %. Η ανταπόκριση της HDL-C ποικίλλει, αλλά κατά μέσο όρο εμφανίζονται μέτριες αυξήσεις (5 - 10 %), αν και συνήθως είναι μικρότερες από αυτές που παρατηρούνται με τις φιμπράτες ή τη νιασίνη. Η LDL-C μειώνεται στα νορμολιπιδαιμικά άτομα, αλλά συχνά αυξάνεται στους υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς. Αυτή η αύξηση της LDL-C πιστεύεται ότι αντανακλά τη μετατροπή του μεγέθους του σωματιδίου της LDL-C σε μια μεγαλύτερη λιγότερο αθηρογόνο μορφή.

Τα ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν την παραγωγή των VLDL, πιθανώς διότι δε μεταβολίζονται αποτελεσματικά από τα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των TRG. Επίσης, τα DHA και EPA αναστέλλουν την εστεροποίηση των άλλων λιπαρών οξέων και αυξάνουν την υπεροξειδωτική β-οξείδωση στο ήπαρ. Επιπλέον, τα ω-3 λιπαρά οξέα αναστέλλουν την είσοδο Ca^{2+} και Na^+ στο εσωτερικό του καρδιακού κυττάρου και μειώνουν την παραγωγή αραχιδονικού οξέος, καθυστερώντας την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης και μειώνοντας τον κίνδυνο θανατηφόρων αρρυθμιών.

Εξαιτίας της αντιθρομβωτικής επίδρασης των ω-3 λιπαρών οξέων υπήρχε η άποψη ότι αυξάνουν δυνητικά τον κίνδυνο αιμορραγίας, αλλά αυτό δεν αποδείχθηκε στις κλινικές μελέτες. Οι συχνότερες παρενέργειες είναι γαστρεντερικές διαταραχές και ναυτία. Τα παράπονα σχετικά με τη γεύση και την οσμή ποικίλλουν ανάλογα με το προϊόν και τη μορφή. Είναι αναγκαίο να τονιστεί ότι τα ω-3 λιπαρά οξέα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή σε ασθενείς με γνωστή υπερευαισθησία ή αλλεργία στα ψάρια.

Τα ω-3 λιπαρά οξέα έχουν δύο κύριες ενδείξεις, την υπερτριγλυκεριδαιμία και για τη δευτεροπαθή πρόληψη μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM). Η δοσολογία για τους αιθυλεστέρες των ω-3 λιπαρών οξέων (90 % EPA/ DHA) είναι μία κάψουλα ημερησίως μετά από OEM και 2-4 κάψουλες για τη θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαιμίας. Κάθε κάψουλα περιέχει 1 g ω-3 λιπαρών οξέων. Τα εμπορικά προϊόντα αιθυλεστέρων ω-3 λιπαρών οξέων αφορούν προϊόντα υψηλής συμπύκνωσης και περιεκτικότητας σε EPA/ DHA, ενώ τα συμπληρώματα υγιεινής διατροφής περιέχουν πολύ μικρότερες ποσότητες DHA και EPA και απαιτούν μεγαλύτερες ημερήσιες δόσεις (6-12 κάψουλες). Τα ω-3

λιπαρά οξέα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μια φμπράτη ή νικοτινικό οξύ για τη θεραπεία των πολύ υψηλών TRG (≥ 500 mg/dL).

Στη συνέχεια παρατίθενται οι κυριότερες μελέτες κλινικών συμβαμάτων για τα ω -3 λιπαρά οξέα:

- Μετά από Οξύ Έμφραγμα του Μυοκαρδίου

Στη Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto miocardico-Prevenzione trial (GISSI-P), ασθενείς με πρόσφατο OEM (μέσα στους προηγούμενους 3 μήνες) τυχαιοποιήθηκαν σε 1 g ω -3 λιπαρά οξέα μία φορά τη ημέρα ή βιταμίνη E ή και τα δύο ή εικονικό φάρμακο, με μέση παρακολούθηση 3,5 έτη [344]. Τα ω -3 λιπαρά οξέα μείωσαν το πρωτογενές σύνθετο τελικό σημείο (θάνατος, μη θανατηφόρο OEM, AEE) κατά 15 %, το οποίο οφείλονταν κυρίως στη μείωση της ολικής θνητότητας κατά 20 % και του καρδιαγγειακού θανάτου κατά 30 %.

- Καρδιακή Ανεπάρκεια

Στη Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto miocardico-Heart Failure (GISSI-HF), ασθενείς με χρόνια ΚΑ, οποιασδήποτε αιτίας και LVEF, τάξης II-IV κατά NYHA τυχαιοποιήθηκαν σε 1 g ω -3 λιπαρά οξέα μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο, με μέση παρακολούθηση 3,9 έτη [345]. Τα ω -3 λιπαρά οξέα μείωσαν την ολική θνητότητα κατά 9 % και τις νοσηλείες στο Νοσοκομείο για καρδιαγγειακά αίτια κατά 8 %.

- Πρωτογενής πρόληψη μείζονων στεφανιαίων επεισοδίων

Στη Japan Epa Lipid Intervention Study (JELIS), ασθενείς με TC ≥ 250 mg/dL τυχαιοποιήθηκαν σε 1800 g EPA μία φορά την ημέρα ή εικονικό φάρμακο, με μέση παρακολούθηση 4,6 έτη [346]. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν 10-20 mg πραβαστατίνη ή 10-20 mg σιμβαστατίνη μία φορά την ημέρα. Στην ομάδα ασθενών που έλαβε συνδυασμένη θεραπεία EPA με στατίνη το πρωτογενές τελικό σημείο που περιελάμβανε κάθε μείζον στεφανιαίο επεισόδιο (αιφνίδιος καρδιακός θάνατος, OEM, ασταθής στηθάγχη, επεμβάσεις επαναγγείωσης) μειώθηκε κατά 19 %.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η συνδετική πρωτεΐνη της ρετινόλης 4 [retinol-binding protein 4 (RBP₄)], μία πρωτεΐνη που χρησιμοποιείται για τη μεταφορά της βιταμίνης Α στο πλάσμα, συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και εκκρίνεται στην κυκλοφορία συνδεδεμένη με βιταμίνη Α και transthyretin [347]. Το 2005, ο Yang και οι συνεργάτες του [20] ανέφεραν ότι η RBP₄ αποτελεί μία νέα ορμόνη, που εκκρίνεται από τα λιποκύτταρα και η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι αυξημένη σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης που σχετίζονται με παχυσαρκία, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ποντίκια. Επίσης, βρέθηκε ότι η RBP₄ μπορεί να προκαλέσει ινσουλινοαντίσταση [20]. Πράγματι, σε μια άλλη μελέτη, η συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος βρέθηκε ότι ήταν αυξημένη σε παχύσαρκα άτομα και σε άτομα με ΣΔ τύπου 2 [21]. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση των TRG του ορού [21,22,44,52], αλλά ο υπεύθυνος μηχανισμός δεν έχει ακόμα διευκρινισθεί.

Είναι γνωστό ότι η αυξημένη συγκέντρωση των TRG του ορού συνυπάρχει πολύ συχνά με την παχυσαρκία, καθώς η παχυσαρκία αποτελεί μία από τις πιο συχνές δευτεροπαθείς αιτίες υπερτριγλυκεριδαιμίας [348]. Επιπλέον, η υπερτριγλυκεριδαιμία συνοδεύεται από την επικράτηση των small dense LDL (sdLDL) σωματιδίων, τα οποία είναι αθηρογόνα και έχουν συσχετιστεί με την καρδιαγγειακή νόσο [349]. Επίσης, κάποιες προηγούμενες μελέτες ανέφεραν την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στη συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος και στην επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου [52,66,100,107-109]. Ωστόσο, ο μηχανισμός που συνδέει την RBP₄ με την καρδιαγγειακή νόσο δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Όσον αφορά αυτό όμως το θέμα, έχει αναφερθεί η ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στη συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος και στη συγκέντρωση της sdLDL-C, σε νέες γυναίκες και σε μια σταθερή μεταβολική κατάσταση [65]. Μέχρι σήμερα, καμία προηγούμενη μελέτη δεν έχει διερευνήσει την ύπαρξη μιας πιθανής συσχέτισης ανάμεσα στις μεταβολές της sdLDL-C και στις μεταβολές της συγκέντρωσης της RBP₄ του πλάσματος, κατά τη διάρκεια μίας διαιτητικής ή φαρμακευτικής παρέμβασης. Συνεπώς, σκόπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνήσει την πιθανή ύπαρξη μιας συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ και τα επίπεδα και το φαινότυπο των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη Β (ApoB) ως ένα μηχανισμό ικανό να εξηγήσει τη σχέση ανάμεσα στην RBP₄ και την καρδιαγγειακή νόσο. Μέσα σε αυτό το πνεύμα, η μελέτη αυτή εξέτασε παχύσαρκους ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία, κατά τη διάρκεια ιατρικών παρεμβάσεων, οι οποίες οδηγούν σε

μείωση των TRG και συνεπώς και της sdLDL-C και διερεύνησε αν οι μεταβολές της συγκέντρωσης της RBP₄ του πλάσματος κατά την διάρκεια αυτών των παρεμβάσεων σχετίζονταν με μεταβολές των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB.

B. ΥΛΙΚΟ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, μελετήθηκαν 46 άτομα (24 άνδρες και 22 γυναίκες), τα οποία επισκέφθηκαν το Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων και Παχυσαρκίας, του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Τα χαρακτηριστικά των ατόμων ήταν τα παρακάτω.

Κριτήρια εισαγωγής: TRG ≥ 150 mg/ dL και BMI ≥ 27 Kg/ m²

Κριτήρια αποκλεισμού:

- Ηλικία < 18 έτη.
- Αήψη των εξής φαρμάκων έως και 3 εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης: οιστρογόνα, από του στόματος αντισυλληπτικά, αντιοιστρογόνα, προγεσταγόνα, ανδρογόνα, αναβολικά στεροειδή, γλυκοκορτικοειδή, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αυξητική ορμόνη, αντιεπιληπτικά φάρμακα, ισοτρετινοΐνη, βιταμίνη Α και γενικά σκευάσματα που περιέχουν ρετινοειδή, υπολιπιδαιμικά φάρμακα, αντιδιαβητικά φάρμακα, φάρμακα για απώλεια βάρους, β-αποκλειστές, θειαζιδικά διουρητικά.
- Κύηση.
- Ηπατική νόσος, χολόσταση.
- Νεφρική νόσος (κρεατινίνη ορού > 1,5 mg/ dL ή λεύκωμα ούρων > 300 mg/ 24h).
- Γαστρεντερικές παθήσεις που συνεπάγονται δυσαπορρόφηση (π.χ. σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, ενεργός φλεγμονώδης νόσος εντέρου, σύνδρομο δυσαπορρόφησης, κυστική ίνωση, εγχειρηθέντες στο γαστρεντερικό).
- Οποιαδήποτε ενδοκρινική ή μεταβολική νόσος εκτός σακχαρώδους διαβήτη [π.χ. υπερθυρεοειδισμός (TSH < 0,3 μIU/ mL), υποθυρεοειδισμός (TSH > 5 μIU/ mL)].
- Νεοπλασία.
- Κατάσταση υποθρεψίας ή μεταβολή του σωματικού βάρους άνω του 5 % του αρχικού βάρους τους τελευταίους 3 μήνες.
- Οξεία αφυδάτωση.
- Κατάσταση stress [σοβαρό τραύμα, έγκαυμα, μετεγχειρητική περίοδος (έως και 3 μήνες μετά απο επέμβαση), συστηματική φλεγμονή (λοιμώξεις, χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα), εντός 6 μηνών μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου].
- Καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου NYHA III ή IV.

- Χρόνια κατανάλωση αλκοόλ ή απόσυρση από αλκοόλ.
- Ψωρίαση μεγάλης έκτασης ή σοβαρής μορφής.
- Ανεπάρκεια βιταμίνης A ή Zn.
- Δρεπανοκυτταρική αναιμία, μεσογειακή αναιμία.

Τα άτομα που έλαβαν μέρος στη μελέτη τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν ένα από τα εξής 3 σκέλη θεραπευτικής παρέμβασης, για 3 μήνες:

- Πρώτη ομάδα: Υποθερμιδική δίαιτα χαμηλών λιπαρών (20 άτομα).
- Δεύτερη ομάδα: Υποθερμιδική δίαιτα χαμηλών λιπαρών και λήψη από το στόμα 200 mg/ ημέρα micronised φαινοφιμπράτη (18 άτομα).
- Τρίτη ομάδα: Υποθερμιδική δίαιτα χαμηλών λιπαρών και λήψη από το στόμα 20 mg/ ημέρα rimonabant (8 άτομα).

Πρέπει να σημειωθεί ότι η στρατολόγηση των ασθενών στο τρίτο σκέλος του rimonabant τερματίστηκε πρώιμα, λόγω της απόσυρσης του φαρμάκου από την κυκλοφορία. Έτσι, συλλέχθηκαν 8 άτομα σε αυτό το σκέλος. Επιπρόσθετα κριτήρια αποκλεισμού για τα άτομα που έλαβαν rimonabant ήταν ενεργή ψυχιατρική νόσος ή ιστορικό προηγούμενης ψυχιατρικής νόσου ή λήψη οποιασδήποτε φαρμακευτικής αγωγής η οποία επηρεάζει τον ψυχισμό του ατόμου. Επίσης, για τα άτομα που έλαβαν φαινοφιμπράτη, ένα επιπρόσθετο κριτήριο αποκλεισμού ήταν τρανσαμινάση του ασπαρτικού ορού (AST) άνω του τριπλάσιου του ανώτατου φυσιολογικού ορίου ή τρανσαμινάση της αλανίνης ορού (ALT) άνω του τριπλάσιου του ανώτατου φυσιολογικού ορίου ή κρεατινοφωσφοκινάση ορού (CK) άνω του πενταπλάσιου του ανώτατου φυσιολογικού ορίου.

Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη συμπλήρωσαν μια καταγραφή των διαιτητικών τους συνηθειών για 4 ημέρες, στην πρώτη επίσκεψη στο Ιατρείο, μετά από 1 μήνα αγωγής και μετά από 3 μήνες αγωγής. Η κάθε ομάδα παρέμβασης δε διέφερε, όσον αφορά την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, πριν την έναρξη της θεραπευτικής παρέμβασης (σχετικά με τη διαιτητική χοληστερόλη, τις ολικές θερμίδες, το ποσοστό των θερμίδων που αποτελούσαν τα κορεσμένα, τα ακόρεστα και τα μονοακόρεστα λιπαρά, οι υδατάνθρακες και το αλκοόλ). Ένας έμπειρος διαιτολόγος, με βάση τις βασικές ενεργειακές απαιτήσεις κάθε ασθενή και εκτιμώντας το τυπικό επίπεδο φυσικής δραστηριότητας του κάθε ασθενή, διαμόρφωσε ένα εξατομικευμένο διαιτολόγιο χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του NCEP ATP III [310], ώστε να μειωθεί η

ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη κατά 500 με 1000 θερμίδες. Οι χορηγούμενες δίαιτες παρείχαν κατά μέσο όρο 1471 ± 382 θερμίδες ανά ημέρα (με εύρος 1085 με 2000 θερμίδες ανά ημέρα ανάλογα με το αρχικό σωματικό βάρος). Κατά τη διάρκεια της μελέτης, η αναλογία της προσλαμβανόμενης ενέργειας για κάθε κατηγορία θρεπτικού συστατικού στις χορηγούμενες δίαιτες ήταν η εξής: υδατάνθρακες $52,4 \pm 3,5$ %, λιπαρά $27,8 \pm 2,6$ % (μονοακόρεστα $15,4 \pm 1,7$ %, πολυακόρεστα $7,3 \pm 1,2$ % και κορεσμένα λιπαρά οξέα $5,1 \pm 1,0$ %) και πρωτείνες $19,8 \pm 1,2$ %. Δεν υπήρχαν διαφορές στη σύνθεση των χορηγούμενων διαιτολογίων μεταξύ των ασθενών κάθε σκέλους παρέμβασης. Στο τέλος της περιόδου των 3 μηνών, οι ασθενείς κατανάλωναν λιγότερους υδατάνθρακες και κορεσμένα λιπαρά οξέα και περισσότερα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και n-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, σε σύγκριση με τις διαιτητικές συνήθειές τους πριν την έναρξη της μελέτης. Στους 3 μήνες, δεν υπήρχαν πάλι διαφορές μεταξύ των ασθενών κάθε σκέλους παρέμβασης. Όλοι οι ασθενείς επισκέπτονταν το Ιατρείο κάθε μήνα, κατά τη διάρκεια της θεραπείας, προκειμένου να εκτιμηθεί η συμμόρφωση των ασθενών στις διαιτητικές οδηγίες. Έτσι, καταγράφηκε η συμμόρφωση των ασθενών, κατά τη διάρκεια της προηγούμενης εβδομάδας πριν από κάθε επίσκεψη στο Ιατρείο, και ακολούθως η συμμόρφωση του κάθε ασθενούς χαρακτηρίστηκε ως καλή ή κακή για κάθε ραντεβού, χρησιμοποιώντας το όριο της 75 % υιοθέτησης των διαιτητικών οδηγιών.

Διενεργήθηκαν, ανθρωπομετρικές μετρήσεις και συλλογή δειγμάτων φλεβικού αίματος, μετά από ολονύκτια νηστεία τουλάχιστον 12 ωρών, κατά την έναρξη της μελέτης, μετά από 1 μήνα και μετά από 3 μήνες θεραπείας. Επίσης, δείγματα πλάσματος αποθηκεύθηκαν στους -80°C , μέχρι να χρησιμοποιηθούν για τις μελλοντικές μετρήσεις.

Γ. ΜΕΘΟΔΟΙ

1. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ

Η ολική χοληστερόλη (TC), η χοληστερόλη της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης [high density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] και τα τριγλυκερίδια (TRG) του ορού προσδιορίστηκαν με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο με τη χρήση αναλυτή RA-1000 (Technicon Instruments, NY, USA). Η non-HDL-C υπολογίστηκε από τον τύπο: $\text{nonHDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C}$. Η απολιποπρωτεΐνη Β (ApoB) μετρήθηκε με ανοσονεφελομετρία με τη βοήθεια αναλυτή Beckman (Beckman Instruments, CA, USA).

Η κρεατινίνη του ορού (Cre) και των ούρων προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Jaffe με τη βοήθεια αναλυτή Olympus (Olympus Diagnostica GmbH, Ireland). Η συγκέντρωση της γλυκόζης του ορού μετρήθηκε με ενζυμική μέθοδο και η ινσουλίνη του ορού με ραδιοανοσομετρία. Ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης homeostasis model assessment insulin resistance-index (HOMA-index) υπολογίστηκε από τον τύπο $[\text{ινσουλίνη } (\mu\text{U/ mL})] \times [\text{γλυκόζη νηστείας } (\text{mmol/L})] / 22,5$.

Η συγκέντρωση της αλβουμίνης στα ούρα μετρήθηκε με ραδιοανοσομετρία. Η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στα ούρα μετρήθηκε με τη χρωματομετρική μέθοδο του Heremans. Ο λόγος αλβουμίνη προς κρεατινίνη των ούρων [albumin creatinine ratio (ACR)] υπολογίστηκε ως συγκέντρωση της αλβουμίνης στα ούρα (mg/ dL)/ συγκέντρωση της κρεατινίνης στα ούρα (g/ dL) και ο λόγος ολικές πρωτεΐνες προς κρεατινίνη των ούρων [total protein creatinine ratio (PCR)] υπολογίστηκε ως συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στα ούρα (mg/ dL)/ συγκέντρωση της κρεατινίνης στα ούρα (g/ dL), σε ένα τυχαίο δείγμα ούρων.

2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ RBP₄ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ELISA

α) Βασικές αρχές της μεθόδου

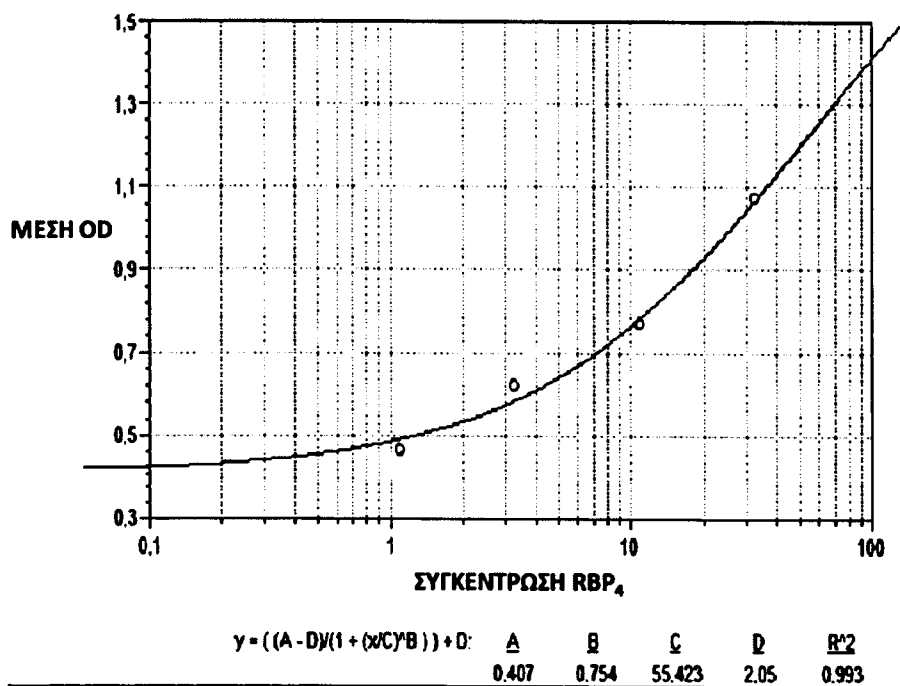
Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της RBP₄ στο ανθρώπινο πλάσμα διενεργήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο [enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)] της εταιρείας Immundiagnostik AG. Κατά την εφαρμογή της ELISA ακολουθήθηκαν τα εξής στάδια:

- Πρώτο στάδιο (Στάδιο της προσρόφησης). Πολυκλωνικά αντισώματα από κουνέλι έναντι της RBP₄ (anti-RBP₄) προσροφούνται και ακινητοποιούνται επάνω σε

κατάλληλη στερεά επιφάνεια (στερεά φάση). Η προσρόφηση επιτυγχάνεται με επώαση διαλύματος του anti-RBP₄ σε επαφή με τη στερεά επιφάνεια, στο σκοτάδι, στους 4 °C. Κατά την επώαση, δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των μορίων του anti-RBP₄ που προσροφάται και των μορίων της στερεάς φάσης. Μετά την επώαση, η επιφάνεια εκπλύνεται και το anti-RBP₄ παραμένει προσροφημένο στη στερεά φάση.

- Δεύτερο στάδιο (Στάδιο δέσμευσης αντιγόνου-αντισώματος). Στη στερεά φάση προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα πλάσματος και επωάζεται για μία ώρα, σε θερμοκρασία δωματίου, υπό οριζόντια ανάδευση. Κατά τη διάρκεια της επώασης, η RBP₄ συνδέεται στο προσροφημένο anti-RBP₄, εξαιτίας της μεταξύ τους σχέσης αντιγόνου-αντισώματος. Ο βαθμός της δέσμευσης, δηλαδή ο αριθμός των μορίων της RBP₄ που θα συνδεθούν έμμεσα στη στερεά φάση εξαρτάται στενά από τη συγκέντρωση της RBP₄ στο δείγμα του πλάσματος. Μετά το τέλος της επώασης, γίνεται έκπλυση της στερεάς φάσης, για την απομάκρυνση του δείγματος, δηλαδή όλων των μορίων που δε συνδέθηκαν στη στερεά φάση.
- Τρίτο στάδιο (Προσθήκη δεύτερου αντισώματος-ένζυμου). Στη στερεά φάση επί της οποίας υπάρχει το σύμπλεγμα του προσροφημένου anti-RBP₄ με την προσδιοριζόμενη RBP₄ προστίθεται ειδικό αντίσωμα anti-RBP₄, συζευγμένο με το ένζυμο υπεροξειδάση του αγριοπανιού [horseradish peroxidase (HRP)], anti-RBP₄-HRP. Επακολουθεί επώαση για μία ώρα, σε θερμοκρασία δωματίου, υπό οριζόντια ανάδευση. Κατά την επώαση, μόρια του anti-RBP₄-HRP συνδέονται με μόρια της προσδιοριζόμενης RBP₄. Ο βαθμός σύνδεσης του anti-RBP₄-HRP εξαρτάται από τον αριθμό των μορίων της RBP₄ που έχουν συνδεθεί στη στερεά φάση, άρα και από τη συγκέντρωση της RBP₄ στο δείγμα του πλάσματος. Η περίσσεια του anti-RBP₄-HRP απομακρύνεται από τη στερεά φάση με έκπλυση.
- Τέταρτο στάδιο (Στάδιο της ανίχνευσης). Προστίθεται τετραμεθυλοβενζιδίνη [tetramethylbenzidine (TMB)], που αποτελεί το υπόστρωμα του HRP και ακολουθεί επώαση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την επώαση, από τη δράση του HRP, μέρος του TMB μετατρέπεται σε έγχρωμο προϊόν. Η ενζυμική δραστηριότητα που αναπτύσσεται είναι συνάρτηση του αριθμού των μορίων του HRP, που είναι καθηλωμένο στη στερεά φάση. Μετά την παρέλευση του χρόνου, προστίθεται διάλυμα διακοπής της ενζυμικής αντίδρασης (1 N H₂SO₄), που σταματά την αντίδραση HRP-TMB και την παραγωγή του έγχρωμου προϊόντος.

Στη συνέχεια σε ειδικό φωτόμετρο micro-ELISA μετράται η οπτική πυκνότητα [optical density (OD)] του έγχρωμου προϊόντος, από την οποία με χρησιμοποίηση πρότυπης καμπύλης (calibration curve) υπολογίζεται η συγκέντρωση της RBP₄ στο δείγμα του πλάσματος (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Πρότυπη καμπύλη. Σχέση μεταξύ μέσης οπτικής πυκνότητας (OD) και συγκέντρωσης RBP₄.

β) Χρησιμοποιούμενα υλικά

Για τη μέτρηση της RBP₄ σε όλα τα δείγματα πλάσματος που είχαν φυλαχθεί χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 3 εμπορικά διαθέσιμα πακέτα αντιδραστηρίων της Immundiagnostic AG. Τα υλικά που περιέχονταν μέσα σε κάθε πακέτο αντιδραστηρίων ήταν τα εξής:

- Η στερεά φάση αποτελούνταν από πλάκες ELISA (ELISA plates) των 96 βυθισμάτων (12 σειρές από 8 βυθίσματα).
- Το διάλυμα έκπλυσης συγκέντρωσης 2 x (2 φιαλίδια των 100 mL) διαλύθηκε με δις απεσταγμένο νερό σε αναλογία 1:10 (v/v) πριν από τη χρήση.
- Το σύζευγμα anti-RBP₄-HRP (200 µL).
- Λυοφιλοποιημένα δείγματα (controls, 4 φιαλίδια) γνωστής συγκέντρωσης RBP₄ για τον έλεγχο της δοκιμής. Η ανασύσταση έγινε με 500 µL δις απεσταγμένο νερό
- Διάλυμα για αραίωση των δειγμάτων πλάσματος (100 mL).

- Λυοφιλοποιημένα πρότυπα δείγματα calibrators για τη βαθμονόμηση της πρότυπης καμπύλης (standards, 5 ζευγάρια φιαλιδίων με συγκεντρώσεις 0 μg/ L, 1,1 μg/ L, 3,3 μg/ L, 11 μg/ L, 33 μg/ L).
- Το υπόστρωμα tetramethylbenzidine (TMB) (15 mL).
- Διάλυμα διακοπής της ενζυμικής αντίδρασης (IN H₂SO₄, 15 mL) έτοιμου προς χρήση.

γ) Πειραματική διαδικασία

Στο συγκεκριμένο εμπορικά διαθέσιμο kit, το πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού anti-RBP₄ βρισκόταν ήδη προσροφημένο στη στερεά φάση. Οπότε, δεν έγινε εκτέλεση της φάσης της προσρόφησης και η πρώτη φάση που διενεργήθηκε ήταν η φάση της σύνδεσης. Τα δείγματα του πλάσματος που χρησιμοποιήθηκαν αποψύχονταν από τους – 80 °C την προηγούμενη ημέρα από την εκτέλεση της ELISA και φυλάσσονταν μέχρι την εκτέλεση της ELISA στους 4 °C.

Πριν τη χρησιμοποίησή του, το διάλυμα έκπλυσης αραιώνονταν με νερό σε αναλογία 1:10 (100 mL διάλυμα έκπλυσης και 900 mL νερό), για να αποφευχθεί η δημιουργία κρυστάλλων. Τα πρότυπα δείγματα και τα δείγματα ελέγχου αραιώνονταν με 500 μL νερό. Το anti-RBP₄-HRP αραιώνονταν σε αναλογία 1:100 (v/v) με διάλυμα έκπλυσης (100μL anti-RBP₄-HRP με 10 mL διάλυμα έκπλυσης). Τα δειγματοπλάσματα, πριν τη χρήση τους, αραιώνονταν με το αντίστοιχο διάλυμα αραιώσης σε 3 στάδια, σε αναλογία 1:5000 (v/v) ως ακολούθως. Στο πρώτο στάδιο 20 μL δείγματος πλάσματος αραιώνονταν με 980 μL διαλύματος αραιώσης. Στο δεύτερο στάδιο 50 μL του αραιωμένου πλάσματος 1:50 (v/v) αραιώνονταν με 450 μL διαλύματος αραιώσης. Στο τρίτο στάδιο 50 μL του αραιωμένου πλάσματος 1:500 (v/v) αραιώνονταν με 450 μL διαλύματος αραιώσης. Η τελική αραιώση ήταν 1:5000 (v/v).

Η αναλυτική διαδικασία που εφαρμόστηκε, για τη μέτρηση της RBP₄ του πλάσματος, ήταν η ακόλουθη:

Αρχικά η πλάκα ELISA εκπλύθηκε 5 φορές με 250 μL διαλύματος έκπλυσης. Στη συνέχεια εκτελέστηκαν τα εξής στάδια.

1. Προσθήκη 100 μL προτύπων διαλυμάτων, δειγμάτων ελέγχου και αραιωμένων δειγμάτων πλάσματος των ασθενών σε κάθε θέση του πλακιδίου ELISA.
2. Επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και οριζόντια ανάδευση των δειγμάτων.

3. Απόχυση του περιεχομένου των βυθισμάτων και έκπλυση των βυθισμάτων με 250 μL διαλύματος έκπλυσης 5 φορές.
4. Προσθήκη 100 μL αραιωμένου anti-RBP₄-HRP σε κάθε βύθισμα.
5. Επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και οριζόντια ανάδευση των δειγμάτων.
6. Απόχυση του περιεχομένου των βυθισμάτων και έκπλυση των βυθισμάτων με 250 μL διαλύματος έκπλυσης 5 φορές για απομάκρυνση της περίσσειας anti-RBP₄-HRP που δεν έχει δεσμευθεί.
7. Προσθήκη 100 μL υποστρώματος TMB.
8. Επώαση για 15 min, στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου.
9. Προσθήκη 50 μL διαλύματος διακοπής της αντίδρασης (1 N H₂SO₄). Το χρώμα παραμένει σταθερό για 30 min.
10. Μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm σε φωτόμετρο micro-ELISA (Spectra MAX 190, Molecular Devices).

δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Από την καμπύλη απορρόφησης, υπολογίστηκε η συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος στα αραιωμένα δείγματα. Έτσι, η ζητούμενη συγκέντρωση της RBP₄ του πλάσματος στα μη αραιωμένα αρχικά δείγματα προς μέτρηση προέκυψε από τον πολλαπλασιασμό των αντίστοιχων τιμών των αραιωμένων δειγμάτων επί 5000. Το νούμερο 5000 αποτελεί το γινόμενο του βαθμού αραιώσης, κατά τα 3 στάδια αραιώσης των αρχικών δειγμάτων ($50 \times 10 \times 10 = 5000$). Η συγκέντρωση της RBP₄ υπολογίστηκε σε mg/ L.

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 5 %.
- Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) της μεθόδου. Η μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών διακύμανση των αποτελεσμάτων (inter-assay variation) ήταν < 10 %.
- Ευαισθησία (sensitivity) της μεθόδου. Το όριο ανίχνευσης ορίστηκε ως B₀ + 2 SD και υπολογίστηκε ως 0,9 mg/ L.
- Αναμενόμενες τιμές της μεθόδου. Οι φυσιολογικές τιμές της συγκέντρωσης της RBP₄ του πλάσματος των ενηλίκων αναμένονται να είναι 20- 75 mg/ L.

3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΨΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ

α) Βασικές αρχές της μεθόδου

Η αντιπονεκτίνη είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται από 244 αμινοξέα. Η αντιπονεκτίνη κυκλοφορεί στο αίμα υπό τη μορφή συμπλεγμάτων διαφόρων ολιγομερών, τα οποία ποικίλλουν από διμερή έως δομές τύπου μπουκέτου ανθών (bouquet) των 9 ή περισσότερων πρωτεϊνών, συνιστώντας την υψηλού μοριακού βάρους [High Molecular Weight (HMW)] αντιπονεκτίνη (12μερή ή 18μερή). Προκειμένου να μετρηθεί η ολική αντιπονεκτίνη στα δείγματα του πλάσματος προστέθηκε προπαρασκευαστικό ρυθμιστικό διάλυμα (ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού + SDS), το οποίο μετέτρεψε την πολυμερή αντιπονεκτίνη σε μονομερή. Η επακόλουθη μέτρηση με ELISA ποσοτικοποίησε τη συγκέντρωση όλων των πολυμερών της αντιπονεκτίνης στο δείγμα, δηλαδή το άθροισμα των συγκεντρώσεων της HMW αντιπονεκτίνης, της μέσου μοριακού βάρους [Mid-Molecular Weight (MMW)] αντιπονεκτίνης και της χαμηλού μοριακού βάρους [Low Molecular Weight (LMW)] αντιπονεκτίνης. Για να μετρηθεί η HMW αντιπονεκτίνη, στα δείγματα προστέθηκε πρωτεάση II (protease II), η οποία εκλεκτικά υδρολύει τη LMW και τη MMW αντιπονεκτίνη. Στο εναπομείναν HMW κλάσμα της αντιπονεκτίνης προστέθηκε προπαρασκευαστικό ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο μετέτρεψε την πολυμερή αντιπονεκτίνη σε μονομερή, ενώ παράλληλα τερμάτισε και την υδρόλυση από την πρωτεάση II. Η επακόλουθη μέτρηση με ELISA ποσοτικοποίησε τη συγκέντρωση της HMW αντιπονεκτίνης στο δείγμα, ενώ δεν ανίχνευσε τη LMW αντιπονεκτίνη και τη MMW αντιπονεκτίνη, οι οποίες είχαν αποικοδομηθεί.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα διενεργήθηκε με ELISA της εταιρείας ALPCO DIAGNOSTICS. Κατά την εφαρμογή της ELISA ακολουθήθηκαν τα εξής στάδια:

- Πρώτο στάδιο (Στάδιο της προσρόφησης). Μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της ανθρώπινης αντιπονεκτίνης από ποντικό (anti-αντιπονεκτίνη) προσροφούνται και ακινητοποιούνται επάνω σε κατάλληλη στερεά επιφάνεια (στερεά φάση). Η προσρόφηση επιτυγχάνεται με επώαση διαλύματος του anti-αντιπονεκτίνη σε επαφή με τη στερεά επιφάνεια, υπό κατάλληλες συνθήκες. Κατά την επώαση, δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των μορίων του anti-αντιπονεκτίνη που προσροφάται και των μορίων

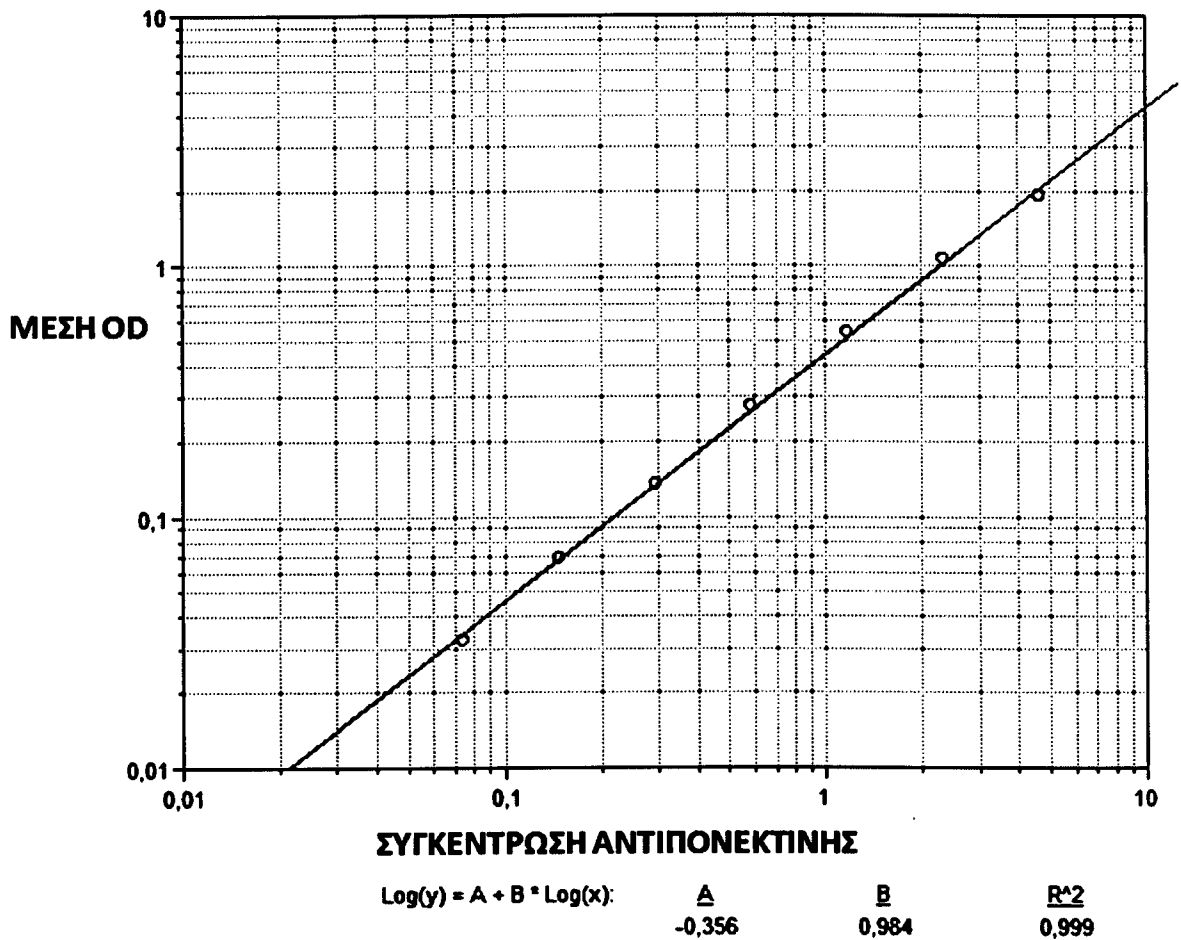
της στερεάς φάσης. Μετά την επώαση, η επιφάνεια εκπλύνεται και το anti-αντιγονεκτίνη παραμένει προσροφημένο στη στερεά φάση.

- Δεύτερο στάδιο (Στάδιο της σύνδεσης). Στη στερεά φάση, προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα πλάσματος. Η επώαση γίνεται για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά τη διάρκεια της επώασης, η αντιγονεκτίνη συνδέεται στο προσροφημένο στο πλακίδιο αντίσωμα (anti-αντιγονεκτίνη), εξαιτίας της μεταξύ τους σχέσης αντιγόνου-αντισώματος. Ο βαθμός της σύνδεσης, δηλαδή ο αριθμός των μορίων της αντιγονεκτίνης που θα συνδεθούν έμμεσα στη στερεά φάση εξαρτάται στενά από τη συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στο δείγμα του πλάσματος. Μετά το τέλος της επώασης, γίνεται έκπλυση της στερεάς φάσης, για την απομάκρυνση του δείγματος, δηλαδή όλων των μορίων που δε συνδέθηκαν στη στερεά φάση.

- Τρίτο στάδιο (Προσθήκη αντισώματος-βιοτίνης). Στη στερεά φάση επί της οποίας υπάρχει το σύμπλεγμα του προσροφημένου αντισώματος anti-αντιγονεκτίνη με την προσδιοριζόμενη αντιγονεκτίνη προστίθεται το συζευγμένο με βιοτίνη ειδικό αντίσωμα, anti-αντιγονεκτίνη-βιοτίνη. Επακολουθεί επώαση για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την επώαση, μόρια του βιοτινυλιωμένου μονοκλωνικού αντισώματος anti-αντιγονεκτίνη-βιοτίνη συνδέονται με μόρια της προσδιοριζόμενης αντιγονεκτίνης. Ο βαθμός σύνδεσης του anti-αντιγονεκτίνη εξαρτάται από τον αριθμό των μορίων της αντιγονεκτίνης που έχουν συνδεθεί στη στερεά φάση, άρα και από τη συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης στο δείγμα του πλάσματος. Η περίσσεια anti-αντιγονεκτίνης-βιοτίνης απομακρύνεται από τη στερεά φάση με έκπλυση. Προστίθεται ακολούθως στρεπταβιδίνη (streptavidin) σημασμένη με το ένζυμο υπεροξειδάση του αγριοπανιού [horseradish peroxidase (HRP)]. Επακολουθεί επώαση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την επώαση, η στρεπταβιδίνη που φέρει την HRP αντιδρά με τη βιοτίνη προς σχηματισμό του συμπλόκου αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος-ενζύμου (τεχνική «σάντουιτς»). Ακολουθεί έκπλυση για απομάκρυνση της περίσσειας στρεπταβιδίνης-HRP.

- Τέταρτο στάδιο (Προσθήκη υποστρώματος). Ως υπόστρωμα της ενζυμικής αντίδρασης του HRP χρησιμοποιήθηκε διάλυμα που περιέχει ο-φαινυλενοδιαμίνη (OPD) και υπεροξείδιο του υδρογόνου σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών με pH = 5,0. Ακολούθησε επώαση για 10 min, στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την επώαση, από τη δράση της HRP, μέρος του OPD μετατρέπεται σε έγχρωμο προϊόν. Η ενζυμική δραστηριότητα που αναπτύσσεται είναι συνάρτηση του αριθμού των μορίων του HRP, που είναι καθηλωμένο στη στερεά φάση. Μετά την παρέλευση του χρόνου, προστίθεται

διάλυμα διακοπής της αντίδρασης (H_2SO_4), που σταματά την αντίδραση HRP-OPD και την παραγωγή του έγχρωμου προϊόντος. Στη συνέχεια σε ειδικό φωτόμετρο micro-ELISA μετράται η οπτική πυκνότητα [optical density (OD)] του έγχρωμου προϊόντος, από την οποία με χρησιμοποίηση πρότυπης καμπύλης (calibration curve) υπολογίζεται η συγκέντρωση της αντιπνεκτίνης στο δείγμα του πλάσματος (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Πρότυπη καμπύλη. Σχέση μεταξύ μέσης οπτικής πυκνότητας (OD) και συγκέντρωσης αντιπνεκτίνης πλάσματος.

β) Χρησιμοποιούμενα υλικά

Για τη μέτρηση της αντιπνεκτίνης σε όλα τα δείγματα πλάσματος που είχαν φυλαχθεί χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 2 εμπορικά διαθέσιμα πακέτα αντιδραστηρίων της ALPCO DIAGNOSTICS. Τα υλικά που περιέχονταν μέσα σε κάθε πακέτο αντιδραστηρίων ήταν τα εξής:

- Η στερεά φάση αποτελούνταν από πλάκες ELISA των 96 βυθισμάτων (12 σειρές από 8 βυθίσματα), επικαλυμμένα με μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού κατά της ανθρώπινης αντιγονεκτίνης.
- Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (1 φιαλίδιο 10 x ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών pH = 7,2 και όγκου 100 mL). Το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης αραιώθηκε με δις απεσταγμένο νερό 1:10 (v/v).
- Ρυθμιστικό διάλυμα επεξεργασίας δειγμάτων (ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών με pH = 3,0 που περιέχει SDS) (1 φιαλίδιο των 50 mL).
- Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης [ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH = 7,2) + BSA] (1 φιαλίδιο των 100 mL).
- Βιοτίνη σημασμένη με μονοκλωνικό αντίσωμα (anti-αντιγονεκτίνη) κατά της ανθρώπινης αντιγονεκτίνης (1 φιαλίδιο των 6 mL). Έτοιμο για χρήση.
- Στρεπταβιδίνη σημασμένη με το ένζυμο HRP (1 φιαλίδιο των 6 mL). Έτοιμο για χρήση.
- Δείγμα ελέγχου ανθρώπινου ορού (control) (1 φιαλίδιο του 1 mL). Έγινε ανασύσταση του λυοφιλοποιημένου δείγματος ελέγχου με 1 mL δις απεσταγμένου νερού.
- Διαλύματα ελέγχου υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης (λυοφιλοποιημένος ανθρώπινος ορός με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με pH = 7,2) (2 φιαλίδια του 1 mL). Η ανασύσταση έγινε με δις απεσταγμένο νερό.
- Πρότυπο διάλυμα αντιγονεκτίνης συγκέντρωσης 480 ng/mL, όγκου 0,25 mL [1 φιαλίδιο (stock)].
- Πρότυπα διαλύματα εργασίας. Για τη σχεδίαση της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων με διαδοχικές αραιώσεις σε ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης όπως αναλυτικά παρουσιάζονται στον πίνακα 7.
- Πριν από τη χρήση έγινε ανασύσταση του λυοφιλοποιημένου υποστρώματος με 6 mL ρυθμιστικού διαλύματος υποστρώματος. Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος [διάλυμα κιτρικών (pH = 5,0) + H₂O₂] (1 φιαλίδιο των 15 mL). Έτοιμο προς χρήση.
- Υπόστρωμα ο-φαινυλενοδιαμίνη (OPD) (2 φιαλίδια).

- Διάλυμα διακοπής της αντίδρασης ενζύμου-υποστρώματος (7,7 % H_2SO_4) (1 φιαλίδιο των 15 mL). Έτοιμο προς χρήση.
- Πρωτεάση II (1 φιαλίδιο). Η ανασύσταση της λυοφιλοποιημένης πρωτεάσης II έγινε με 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος πρωτεάσης με ήπια ανάδευση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Η πρωτεάση II είναι σταθερή για 2 ημέρες στους 2-10 °C ή έως την ημερομηνία λήξεως στους -20 °C.
- Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεάσης Tris-buffer (pH = 8,0) (1 φιαλίδιο των 50 mL).
- Αυτοκόλλητες μεμβράνες κάλυψης πλακιδίων ELISA 96 θέσεων.

Πίνακας 7. Διαδικασία παρασκευής πρότυπων διαλυμάτων.

ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΡΟΤΥΠΩΝ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΠΡΟΤΥΠΩΝ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΑΡΑΙΩΣΗΣ (μL)	ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (ng/mL)
1	10 μL διαλύματος αποθηκευσης	1000 μL	4,8
2	150 μL προτύπου 1	150μL	2,4
3	150 μL προτύπου 2	150μL	1,2
4	150 μL προτύπου 3	150μL	0,6
5	150 μL προτύπου 4	150μL	0,3
6	150 μL προτύπου 5	150μL	0,15
7	150 μL προτύπου 6	150μL	0,075
8	0	150μL	0

γ) Διαδικασία της μεθόδου

Πρίν τη διαδικασία μέτρησης της ολικής αντιγονεκτίνης και της HMW αντιγονεκτίνης, προηγήθηκαν τα ακόλουθα προπαρασκευαστικά βήματα. Όσον αφορά την ολική αντιγονεκτίνη, σε 10 μL δείγματος πλάσματος προστέθηκαν 100 μL ρυθμιστικού διαλύματος πρωτεάσης και 400 μL ρυθμιστικού διαλύματος επεξεργασίας δειγμάτων (αραίωση 1:51) και ακολούθησε ανάδευση. Στη συνέχεια τα επεξεργασμένα δείγματα αραιώνονται με ρυθμιστικό διάλυμα σε αναλογία 1:101. 10 μL από το επεξεργασμένο δείγμα που προέκυψε αναμίχθηκαν με 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος αραιώσης και ακολούθησε ανάδευση. Τελική αρραίωση δείγματος 1: 5151. Όσον αφορά τη HMW αντιγονεκτίνη, σε 10 μL δείγματος πλάσματος προστέθηκαν 100 μL πρωτεάσης II και το προκύπτον διάλυμα επώαστηκε στους 37 °C για 20 λεπτά. Αμέσως μετά προστέθηκαν 400

μL ρυθμιστικού διαλύματος επεξεργασίας δειγμάτων και ακολούθησε ανάδευση [αραίωση 1:51 (v/v)]. Στη συνέχεια τα επεξεργασμένα δείγματα αραιώνονται με ρυθμιστικό διάλυμα σε αναλογία 1:101. Δηλαδή, 10 μL από το διάλυμα που προέκυψε αναμίχθηκαν με 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος αραιώσης και ακολούθησε ανάδευση. Τελική αρραίωση δείγματος 1: 5151.

50 μL πρότυπων δειγμάτων ελέγχου και αραιωμένων μετά από επεξεργασία δειγμάτων τοποθετήθηκαν σε κάθε ένα από τα βυθίσματα του πλακιδίου και ακολούθως το πλακίδιο αφού καλύφθηκε με αυτοκόλλητη μεμβράνη επώασθηκε για μια ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια απομακρύνθηκε το υγρό που πληρούσε τα βυθίσματα της πλάκας και προστέθηκαν 350 – 400 μL ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε βύθισμα, το οποίο ακολούθως απομακρύνθηκε από τα βυθίσματα. Αυτός ο κύκλος έκπλυσης των βυθισμάτων επαναλήφθηκε άλλες 2 φορές, δηλαδή συνολικά 3 φορές. Μετά, αφού προστέθηκαν σε κάθε βύθισμα 50 μL βιοτίνης σημασμένης με μονοκλωνικό αντίσωμα, το πλακίδιο καλύφθηκε και επώασθηκε για μια ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, επαναλήφθηκε η έκπλυση των βυθισμάτων, όπως προαναφέρθηκε. Στο επόμενο στάδιο, σε κάθε βύθισμα προστέθηκε στρεπταβιδίνη σημασμένη με το ένζυμο HRP και το πλακίδιο καλύφθηκε με αυτοκόλλητη μεμβράνη και επώασθηκε για μια ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, επαναλήφθηκε η έκπλυση των βυθισμάτων, όπως προαναφέρθηκε. Μετά, προστέθηκαν σε κάθε βύθισμα 50 μL υποστρώματος OPD και ακολούθησε επώαση για 10 λεπτά, στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου. Έγινε διακοπή της αντίδρασης με την προσθήκη 50μL διαλύματος 7,7 % H_2SO_4 σε κάθε βύθισμα. Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας των προτύπων και των δειγμάτων έγινε με μετρητή micro-ELISA (Spectra MAX 190, Molecular Devices) στα 492 nm.

δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Από την καμπύλη απορρόφησης, υπολογίζεται η συγκέντρωση της ολικής και της HMW αντιγονεκτίνης του πλάσματος στα αραιωμένα δείγματα. Έτσι, η ζητούμενη συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης του πλάσματος στα μη αραιωμένα αρχικά δείγματα προς μέτρηση προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό των αντίστοιχων τιμών των αραιωμένων δειγμάτων επί 5151. Το νούμερο 5151 αποτελεί το γινόμενο του βαθμού αραιώσης, κατά τα 2 στάδια αραιώσης των αρχικών δειγμάτων ($51 \times 101 = 5151$). Η συγκέντρωση της αντιγονεκτίνης υπολογίστηκε σε mg/ L. Ανάλογα με το προπαρασκευαστικό στάδιο που προηγήθηκε, δηλαδή ανάλογα με το εάν προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεάσης ή

πρωτεάση II, υπολογίζεται η ολική αντιγονεκτίνη ή η HMW αντιγονεκτίνη των αρχικών δειγμάτων αντίστοιχα.

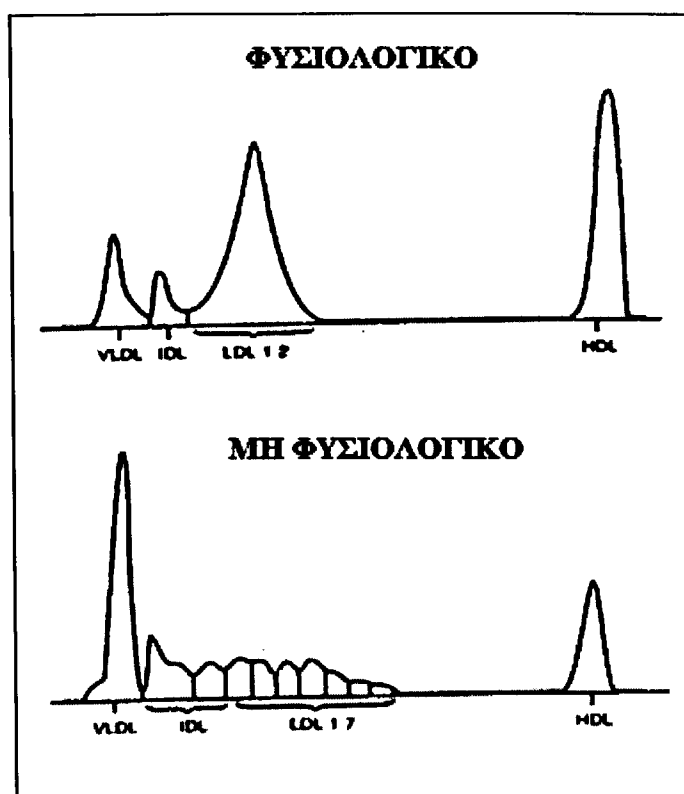
Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του ELISA kit που χρησιμοποιήθηκε, αναφέρονται τα εξής:

- Ακρίβεια (precision) της μεθόδου. Η εντός της δοκιμασίας διακύμανση των αποτελεσμάτων (intra-assay variation) ήταν $< 5,5 \%$ για την ολική αντιγονεκτίνη και για τη HMW αντιγονεκτίνη.
- Αναπαραγωγικότητα (reproducibility) της μεθόδου. Η μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών διακύμανση των αποτελεσμάτων (inter-assay variation) ήταν 5% για την ολική αντιγονεκτίνη και $< 6 \%$ για τη HMW αντιγονεκτίνη.
- Ευαισθησία (sensitivity) της μεθόδου. Το όριο ανίχνευσης ορίστηκε ως $B_0 + 3 \text{ SD}$ και υπολογίστηκε ως $0,019 \text{ ng/mL}$.

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ LDL.

α) Βασικές αρχές της μεθόδου

Υπάρχουν 5 κύριες τάξεις λιποπρωτεϊνών: Τα χυλομικρά, η πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (VLDL), η ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (IDL), η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) και η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL). Επίσης, η LDL είναι δυνατό να αναλυθεί σε έως επτά υποκλάσματα LDL. Τα υποκλάσματα LDL έχουν ονομαστεί από LDL-1, που αποτελείται από τα μεγαλύτερα σωματίδια, μέχρι LDL-7, που αποτελείται από τα μικρότερα σωματίδια. Τα άτομα που εμφανίζουν προφίλ λιποπρωτεϊνών αποτελούμενα κυρίως από τα μεγαλύτερα, ελαφρά υποκλάσματα LDL-1 και LDL-2 έχουν καθοριστεί ως “Φαινότυπος Α”, ενώ τα προφίλ στα οποία κυριαρχούν μικρότερα και πυκνότερα υποκλάσματα (LDL-3 έως LDL-7) έχουν καθοριστεί ως “Φαινότυπος Β” (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Φυσιολογικό (Φαινότυπος Α) και μη φυσιολογικό (Φαινότυπος Β) προφίλ λιποπρωτεϊνών.

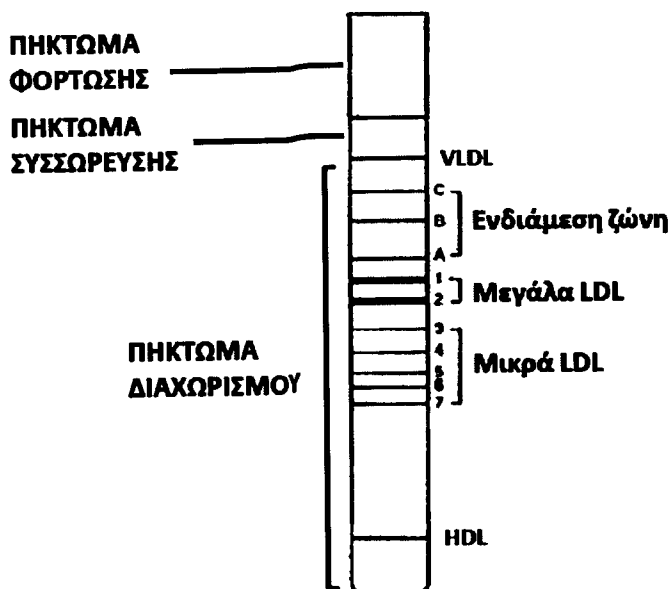
Για την ανάλυση των υποκλασμάτων της LDL, χρησιμοποιήθηκε το Κιτ Συστήματος Lipoprint Υποκλασμάτων LDL της Quantimetrix “Κιτ Lipoprint LDL”.

Πρόκειται για ένα κιτ που προορίζεται για τη μέτρηση της χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών (για κλάσματα και υποκλάσματα λιποπρωτεϊνών από VLDL έως HDL), σε ορό ή πλάσμα νηστείας σε συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης $> 100 \text{ mg/dL}$.

Το κιτ Liporprint LDL αποτελείται από:

- Προκατασκευασμένο γραμμικό πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου (πήκτωμα συσσώρευσης και πήκτωμα διαχωρισμού) σε γυάλινο σωλήνα (Εικόνα 10).
- Υγρό πήκτωμα φόρτωσης με λιπόφιλη χρωστική.
- Άλατα ρυθμιστικού διαλύματος.

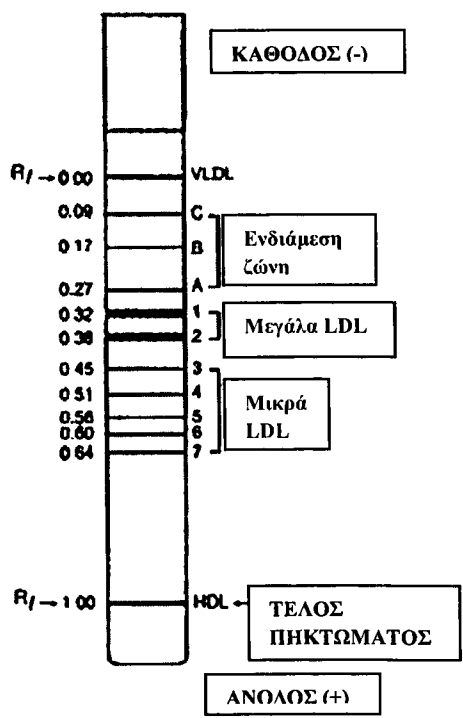
Η χρωστική δεσμεύτηκε ανάλογα με τη σχετική ποσότητα χοληστερόλης σε κάθε λιποπρωτεΐνη. Οι προχρωματισμένες λιποπρωτεΐνες υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε ηλεκτροφόρηση. Κατά την πρώτη φάση της ηλεκτροφόρησης, τα σωματίδια λιποπρωτεΐνης με το πήκτωμα φόρτωσης και το πήκτωμα συσσώρευσης συγκεντρώθηκαν σε μια καλά καθορισμένη στενή ζώνη. Καθώς τα σωματίδια λιποπρωτεΐνης μετακινήθηκαν μέσω του υλικού του διαχωριστικού πηκτώματος, αναλύθηκαν σε ζώνες λιποπρωτεϊνών σύμφωνα με το μέγεθος των σωματιδίων τους από τα μεγαλύτερα προς τα μικρότερα, λόγω της διηθητικής δράσης του πηκτώματος: Τα HDL μετακινήθηκαν ταχύτερα, ενώ ακολούθησαν τα μικρά-πυκνά LDL [small dense LDL (sdLDL)], τα μεγαλύτερα ελαφρά LDL, οι ενδιάμεσες ζώνες (αποτελούνται κυρίως από IDL) και τα VLDL. Τα χυλομικρά, αν υπάρχουν, εμφανίστηκαν πάνω από το πήκτωμα συσσώρευσης ή παρέμειναν στο πήκτωμα φόρτωσης.



Εικόνα 10. Σχηματική αναπαράσταση ηλεκτροφορήματος λιποπρωτεϊνών

Ένα τυπικό προφίλ Lipoprint αποτελείται από 1 ζώνη VLDL, 3 ενδιάμεσες ζώνες (πυκνότητα < 1,019 Kg/ L), μέχρι 7 ζώνες LDL (πυκνότητα = 1,019 Kg/L- 1,063 Kg/L) και 1 ζώνη HDL (πυκνότητα = 1,063 Kg/ L- 1,179 Kg/ L). Μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφόρησης, τα διάφορα χρωματισμένα κλάσματα λιποπρωτεϊνών (ζώνες), που υπήρχαν στο δείγμα, αναγνωρίστηκαν από την κινητικότητα τους (Rf) χρησιμοποιώντας το VLDL ως εναρκτήριο σημείο αναφοράς (VLDL = 0) και το HDL ως προπορευόμενο σημείο αναφοράς (HDL = 1) (Εικόνα 11).

Το σχετικό εμβαδό κάθε ζώνης λιποπρωτεϊνών καθορίστηκε και πολλαπλασιάστηκε με τη συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης του δείγματος, ώστε να προκύψει η συγκέντρωση χοληστερόλης σε κάθε ζώνη σε mg/dL. Η συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης του δείγματος μετρήθηκε ανεξάρτητα με ένα κλινικό αναλυτή. Στη συνέχεια καθορίστηκε η μάζα της χοληστερόλης κάθε υποκλάσματος λιποπρωτεΐνης που περιέχει ApoB, το μέσο μέγεθος των LDL σωματιδίων (σε Å), και το ποσοστό (%) της μάζας της χοληστερόλης των μικρών πυκνών LDL επί της συνολικής μάζας χοληστερόλης της LDL (ποσοστό των sdLDL). Σύμφωνα με το ηλεκτροφορητικό προφίλ της LDL, καθορίστηκαν 2 φαινότυποι: Φαινότυπος A (sdLDL-C ≤ 6 mg/ dL) and Φαινότυπος non-A (Φαινότυπος B) (sdLDL-C > 6 mg/ dL).



Εικόνα 11. Κινητικότητα των ζωνών λιποπρωτεϊνών

β) Χρησιμοποιούμενα υλικά

Το κιτ Liporprint LDL 100 εξετάσεων περιέχει τα εξής αντιδραστήρια και υλικά:

- 100 σωλήνες πηκτώματος Liporprint LDL
 - Πολυακρυλαμίδιο, ρυθμιστικό διάλυμα
 - Ρυθμιστικό διάλυμα
 - Συντηρητικό
- Πήκτωμα φόρτωσης Liporprint LDL (24 mL)
 - Ακρυλαμίδιο
 - N, N-μεθυλενοδισακρυλαμίδιο
 - Λιπόφιλη χρωστική
 - Καταλύτης
 - Σταθεροποιητής
 - Ρυθμιστικό διάλυμα
- Άλατα ρυθμιστικού διαλύματος Liporprint LDL (6 φιαλίδια)
 - Τρις (ύδροξυμεθυλ) αμινομεθάνιο
 - Βορικό οξύ

γ) Διαδικασία της μεθόδου

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη μέτρηση των υποκλασμάτων των LDL ήταν η εξής:

1. Το ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρολυτών παρασκευάστηκε διαλύοντας ένα φιαλίδιο αλάτων ρυθμιστικού διαλύματος σε 1200 mL απεσταγμένου/ απιονισμένου νερού.
2. Αφαιρέθηκαν οι σωλήνες πηκτώματος από το δοχείο, σκουπίστηκαν και τοποθετήθηκαν στο στατήρα προετοιμασίας με το άδειο άκρο προς τα πάνω.
3. Αφαιρέθηκε πλήρως το ρυθμιστικό διάλυμα αποθήκευσης από το επάνω μέρος των πηκτωμάτων, αντιστρέφοντας και τινάζοντας το στατήρα.
4. Τοποθετήθηκαν 25μL δείγματος σε κάθε σωλήνα.
5. Τοποθετήθηκαν 200 μL πηκτώματος φόρτωσης Liporprint σε κάθε σωλήνα.
6. Τοποθετήθηκε μία ταινία Parafilm μεταξύ των σωλήνων πηκτώματος και του καλύμματος του στατήρα προετοιμασίας, για να αποφευχθεί τυχόν μόλυνση. Στη συνέχεια, αναμίχθηκε το πήκτωμα φόρτωσης με τα δείγματα αναστρέφοντας μερικές φορές το στατήρα προετοιμασίας.

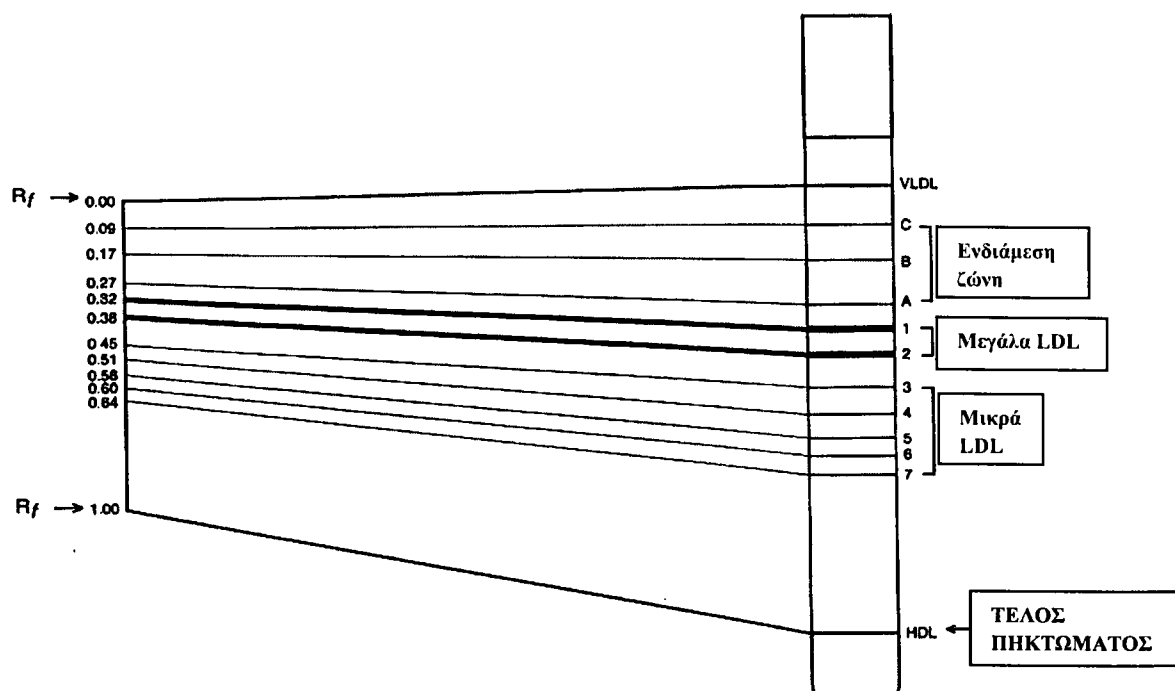
7. Η λυχνία προετοιμασίας τοποθετήθηκε όρθια με τη λάμπα από πάνω. Ο φορτωμένος στατήρας προετοιμασίας τοποθετήθηκε έτσι ώστε το πήκτωμα φόρτωσης να αγγίζει τη λάμπα. Έτσι, το πήκτωμα φόρτωσης φωτοπολυμερίστηκε επί 30 λεπτά.
8. Μετά την ολοκλήρωση του φωτοπολυμερισμού, αφαιρέθηκε κάθε σωλήνας πηκτώματος από το στατήρα προετοιμασίας και εισήχθησαν οι σωλήνες προσεκτικά στον προσαρμογέα σιλικόνης του επάνω θαλάμου.
9. Τοποθετήθηκαν 1000 mL ρυθμιστικού διαλύματος ηλεκτρολύτων στον κάτω θάλαμο και 200 mL στον πάνω θάλαμο.
10. Μετά τη συναρμολόγηση των δύο θαλάμων και την πλήρωση με το ρυθμιστικό διάλυμα, αφαιρέθηκαν τυχόν φυσαλίδες αέρα από κάθε σωλήνα με το ρύγχος μιας πιπέτας, λόγω του ότι οι φυσαλίδες ενδέχεται να εμποδίσουν τη διέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος.
11. Τοποθετήθηκε το καπάκι του θαλάμου ηλεκτροφόρησης στη θέση του και συνδέθηκε με την πηγή τροφοδοσίας. Η πηγή τροφοδοσίας προσαρμόστηκε έτσι ώστε να δίνει ρεύμα στα 3 mA ανά σωλήνα πηκτώματος. Η τάση ρυθμίστηκε στη μέγιστη παροχή (500 V).
12. Ο χρόνος ηλεκτροφόρησης ήταν 60 λεπτά. Όταν το κλάσμα HDL απείχε περίπου 1 cm από τον πυθμένα του σωλήνα πηκτώματος που παρουσιάζει την ταχύτερη μετακίνηση, η ηλεκτροφόρηση διεκόπηκε.

δ) Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Το υπόδειγμα του συστήματος Lipoprint LDL χρησιμοποιήθηκε για την αναγνώριση των υποκλασμάτων λιποπρωτεϊνών που υπάρχουν στο πήκτωμα (Εικόνα 12). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την εκτίμηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης κάθε τάξης λιποπρωτεϊνών ήταν η εξής:

1. Σημειώθηκε με ένα μαρκαδόρο πάνω στο γυάλινο σωλήνα το κέντρο κάθε ζώνης λιποπρωτεϊνών που εμφανίστηκε.
2. Ευθυγραμμίστηκε το κλάσμα VLDL στο επάνω μέρος του διαχωριστικού πηκτώματος με μία γραμμή στο υπόδειγμα που ονομάστηκε “VLDL”.
3. Ολισθήθηκε το πήκτωμα κατά μήκος του υποδείγματος μέχρι η ζώνη HDL να βρεθεί πάνω από τη γραμμή που σημειώνεται “HDL”.

4. Τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που ηπύρχαν στο δείγμα προσδιορίστηκαν αντιστοιχίζοντας τις ζώνες στο πήκτωμα με τις αντίστοιχες γραμμές στο υπόδειγμα.
5. Οι σωλήνες πηκτώματος σαρώθηκαν από ψηφιακό σαρωτή ηλεκτρονικού υπολογιστή και προσδιορίστηκε το σχετικό εμβαδό για κάθε υποκλάσμα λιποπρωτεΐνης, χαράζοντας κατακόρυφες γραμμές σε προκαθορισμένα εύρη αποκοπής για κάθε ζώνη. Η ποσότητα χοληστερόλης σε κάθε ζώνη λιποπρωτεϊνών υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας το σχετικό εμβαδό κάθε ζώνης επί την ολική χοληστερόλη του δείγματος. Η χοληστερόλη LDL υπολογίστηκε ως το άθροισμα των συγκεντρώσεων χοληστερόλης σε όλα τα υποκλάσματα LDL συν τις ενδιάμεσες ζώνες A, B και C.



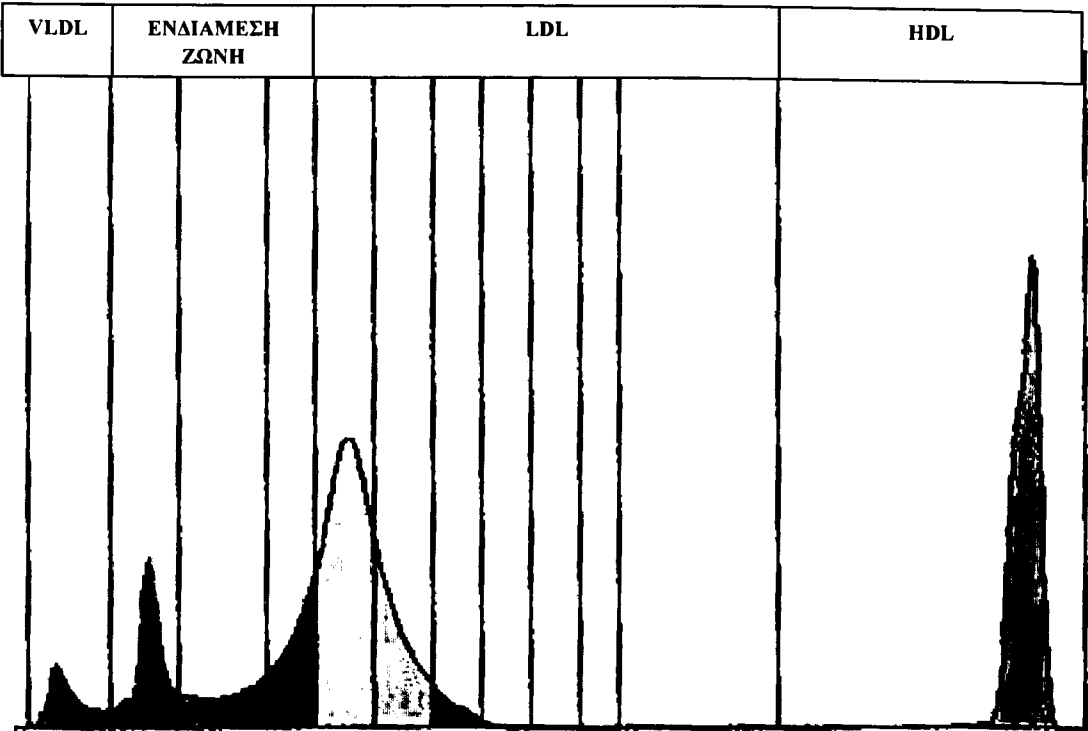
Εικόνα 12. Υπόδειγμα υποκλασμάτων συστήματος LDL Liporprint

Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του kit Liporprint LDL που χρησιμοποιήθηκε, αναφέρονται τα εξής:

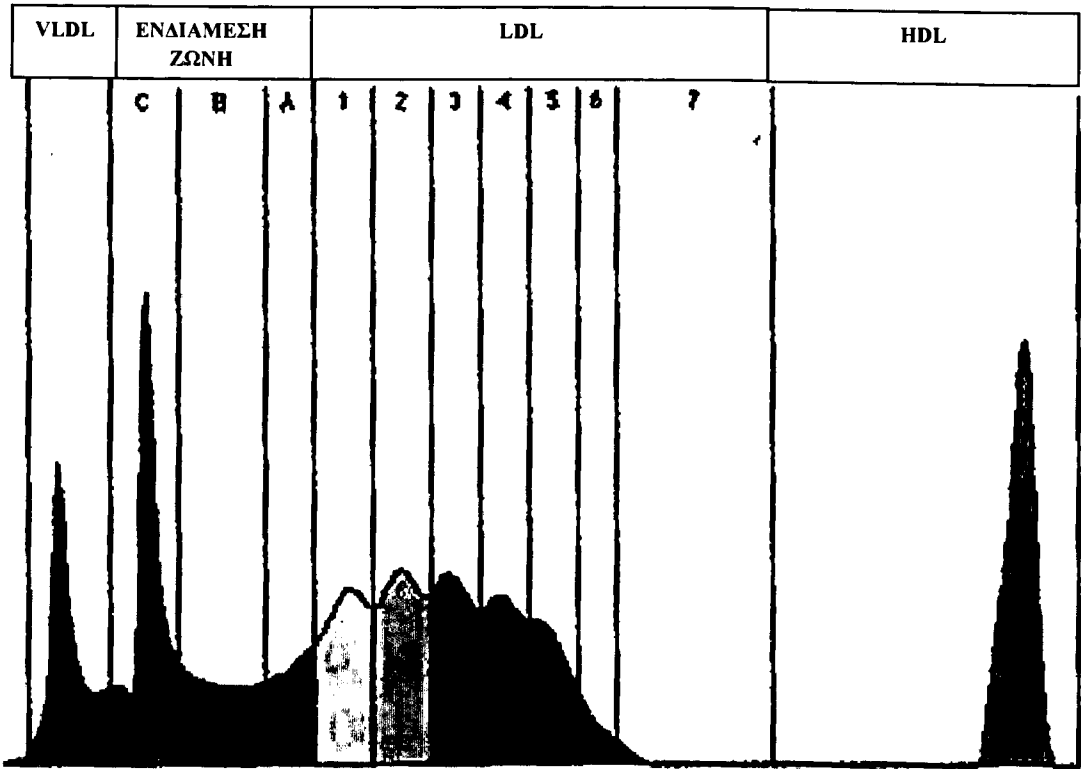
- Ακρίβεια (precision) της μεθόδου. Η εντός της δοκιμασίας διακύμανση των αποτελεσμάτων (intra-assay variation) ήταν για την HDL-C < 3 %, για την LDL-C < 2 %, για την VLDL-C < 8 %, για τα υποκλάσματα της IDL-C < 12 % και για τα υποκλάσματα της LDL < 18 %.
- Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) της μεθόδου. Η μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών διακύμανση των αποτελεσμάτων (inter-assay variation) ήταν για την

HDL-C < 5 %, για την LDL-C < 2 %, για την VLDL-C < 10 %, για τα υποκλάσματα της IDL-C < 11 % και για τα υποκλάσματα της LDL < 34 %.

- Γραμμικότητα. Οι μελέτες γραμμικότητας διεξήχθησαν με δύο δείγματα ορών ενισχυμένων με HDL-C ή LDL-C, απομονωμένα με υπερφυγοκέντρωση. Οι σειριακές αραιώσεις παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας φυσιολογικό διάλυμα ορού ανθρώπινης αλβουμίνης. Οι συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν για συνολικές LDL-C, HDL-C και VLDL-C συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. Η ποσοστιαία ανάκτηση υπολογίστηκε ως εξής: % ανάκτηση = (παρατηρούμενη τιμή/ αναμενόμενη τιμή) × 100 %. Έτσι, η % ανάκτηση για την HDL-C ήταν μεταξύ 90 % και 123%, για την LDL-C ήταν μεταξύ 85 % και 102% και για την VLDL-C μεταξύ 97 % και 158%.
- Δόση-ανταπόκριση. Το δείγμα ορού A (που περιείχε μεγάλο εύρος υποκλασμάτων) αναμείχθηκε με ισοδύναμο όγκο του δείγματος B (που περιείχε κυρίως LDL-2) για να δώσει AB. Τα δείγματα αναλύθηκαν με το σύστημα Liporprint και οι συγκεντρώσεις χοληστερόλης των μεμονωμένων κλασμάτων καθορίστηκαν και οι παρατηρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. Παρομοίως, το δείγμα ορού A (που περιείχε μεγάλο εύρος υποκλασμάτων) αναμείχθηκε με ισοδύναμο όγκο του δείγματος C (που περιείχε κυρίως LDL-1) για να δώσει AC. Τα δείγματα αναλύθηκαν με το σύστημα Liporprint και οι συγκεντρώσεις χοληστερόλης των μεμονωμένων κλασμάτων καθορίστηκαν και οι παρατηρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. Συγκεκριμένα, η % ανάκτηση για την HDL-C ήταν μεταξύ 105 % και 110 %, για την VLDL-C μεταξύ 103 % και 105 %, για τα υποκλάσματα της IDL-C μεταξύ 77 % και 100 % και για τα υποκλάσματα της LDL μεταξύ 95 % και 109 %.
- Ευαισθησία (sensitivity) της μεθόδου. Η ευαισθησία του συστήματος Liporprint ορίστηκε ως η ελάχιστη συγκέντρωση της HDL-C και η συνολική LDL-C που είναι δυνατό να ανιχνευθούν με αξιοπιστία. Καθορίστηκε ως το σημείο τομής του χαμηλότερου διαστήματος εμπιστοσύνης 95 % του μέσου όρου με τον άξονα των X στο διάγραμμα των αναμενόμενων ως προς τις πραγματικές τιμές μιας σειράς αραιώσεων για τις συγκεκριμένες παραμέτρους λιποπρωτεϊνών: Η ευαισθησία VLDL-C ήταν $\geq 2,02$ mg/ dL, η ευαισθησία HDL-C ήταν $\geq 3,65$ mg/ dL και η ευαισθησία συνολικής LDL-C ήταν $\geq 8,30$ mg/ dL.



Εικόνα 13. Τυπικό φυσιολογικό (τύπου Α) προφίλ Lipoprint



Εικόνα 14. Τυπικό μη φυσιολογικό (τύπου Β) προφίλ Lipoprint

5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις εκτελέστηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS 16.0 για τα Windows (SPSS Inc., 1989– 2007). Για τη διαπίστωση της κανονικότητας της κατανομής των διαφόρων παραμέτρων εφαρμόστηκε το τεστ των Kolmogorov-Smirnov. Οι παράμετροι με κανονική κατανομή εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση (mean value $\pm$ SD). Οι παράμετροι με μη κανονική κατανομή εκφράστηκαν ως διάμεσος (εύρος) [median (range)]. Για παραμέτρους με κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν οι εξής παραμετρικές δοκιμασίες: η repeated measures analysis of variance για συγκρίσεις κατά ζεύγη, η ανάλυση συσχετίσεων του Pearson και η πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple linear regression analysis). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η επίδραση της κάθε ανεξάρτητης μεταβλητής στην εξαρτημένη μεταβλητή αξιολογήθηκε με το ποσοστό της διακύμανσης της εξαρτημένης μεταβλητής που οφείλεται στην κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή. Αυτό το ποσοστό ορίστηκε ως το γινόμενο συντελεστής συσχέτισης του Pearson $\times$ κανονικοποιημένος συντελεστής $\beta \times 100 \%$ (Pearson's correlation coefficient $\times$ standardized β coefficient $\times 100 \%$). Για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μη παραμετρικές δοκιμασίες: το τεστ του Friedman για συγκρίσεις κατά ζεύγη και η ανάλυση συσχετίσεων του Spearman. Ως στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν τιμές της μεταβλητής $p < 0,05$.

Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και οι εργαστηριακές παράμετροι πριν την έναρξη της μελέτης στο σύνολο των 46 ατόμων φαίνονται στον Πίνακα 8. Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι συσχετίσεις ανάμεσα στα χαρακτηριστικά των ασθενών και στα επίπεδα στο πλάσμα της RBP₄, της ολικής αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης, πριν την έναρξη της μελέτης. Η RBP₄ του πλάσματος παρουσίασε θετική συσχέτιση με την κρεατινίνη του ορού. Η HMW αντιπονεκτίνη του πλάσματος παρουσίασε θετική συσχέτιση με την αντιπονεκτίνη του πλάσματος και με το ποσοστό της HMW αντιπονεκτίνης. Επίσης, τα βασικά επίπεδα της αντιπονεκτίνης του πλάσματος παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την ηλικία, την HDL-C και την ApoA-I του ορού και αρνητική συσχέτιση με την ινσουλίνη (Ins). Επιπλέον, υπήρξε μία τάση για αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη του πλάσματος και στο HOMA-index, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ομοίως, η HMW αντιπονεκτίνη του πλάσματος παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ηλικία, την HDL-C και την ApoA-I και αρνητική συσχέτιση με την Ins και το HOMA-index. Ωστόσο, το BMI δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση με την αντιπονεκτίνη και την HMW αντιπονεκτίνη. Είναι αξιοσημείωτο ότι, όταν η ApoA-I, το HOMA-index και η ηλικία επιλέχθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές στην πολυπαραγοντική ανάλυση, μόνο η ApoA-I ($\beta = 0,424$ και $p = 0,02$) βρέθηκε να είναι σημαντικός καθοριστής της HMW αντιπονεκτίνης ($R^2 = 0,326$ και $p = 0,006$ για το μοντέλο). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι τόσο η αντιπονεκτίνη του πλάσματος, όσο και η HMW αντιπονεκτίνη, ήταν υψηλότερες στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές ($p = 0,01$ για την αντιπονεκτίνη, $p = 0,005$ για την HMW αντιπονεκτίνη).

Πίνακας 8. Τα χαρακτηριστικά του συνολικού πληθυσμού πριν την έναρξη της μελέτης.

	Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	50 ± 14
Βάρος (Kg)	99,9 ± 24,3
BMI (Kg/m²)	36,5 ± 7,3
WC (cm)	117,1 ± 13,4
TC (mg/dL)	250 ± 35
HDL-C (mg/dL)	44 ± 7
LDL-C (mg/dL)	143 ± 26
TRG (mg/dL)	242 ± 82
sdLDL-C (mg/dL)	16 ± 10
ApoA-I (mg/dL)	139,0 ± 16,8
ApoB (mg/dL)	122,2 ± 307
Γλυκόζη (mg/dL)	104 ± 22
Ινσουλίνη (μU/mL)	16,7 ± 10,9
Κρεατινίνη (mg/dL)	1,0 ± 0,2
HOMA-index	4,3 ± 3,4
Ινωδογόνο (mg/dL)	411 ± 90
hsCRP (mg/L)	6,54 ± 4,99
RBP₄ (mg/ L)	50,5 ± 15,6
Αντιπονεκτίνη (mg/L)	5,5 ± 2,5
HMW αντιπονεκτίνη (mg/L)	2,7 ± 1,4
Ποσοστό HMW αντιπονεκτίνης	0,51 ± 0,17

Τα δεδομένα είναι εκφρασμένα ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση, για μεταβλητές με κανονική κατανομή.

Συντμήσεις: Απολιποπρωτεΐνη A-I (ApoA-I), Homeostasis model assessment insulin resistance-index(HOMA index), Υψηλής ευαισθησίας CRP [high sensitivity CRP (hsCRP)].

Πίνακας 9. Συσχετίσεις παραμέτρων του συνολικού πληθυσμού της μελέτης με την RBP₄, την ολική αντιπονεκτίνη και την HMW αντιπονεκτίνη του πλάσματος, πριν την έναρξη της μελέτης.

	RBP ₄		Αντιπονεκτίνη		HMW αντιπονεκτίνη	
	Συντελεστής συσχέτισης	Τιμή p	Συντελεστής συσχέτισης	Τιμή p	Συντελεστής συσχέτισης	Τιμή p
Ηλικία (έτη)	0,024	0,875	0,417	0,010	0,350	0,034
Βάρος (Kg)	0,193	0,210	- 0,008	0,963	- 0,032	0,852
BMI (Kg/m²)	- 0,019	0,904	0,045	0,791	- 0,043	0,800
WC (cm)	0,085	0,581	0,047	0,781	0,012	0,942
TC (mg/dL)	0,067	0,666	0,124	0,464	0,148	0,381
HDL-C (mg/dL)	- 0,104	0,503	0,375	0,022	0,351	0,033
LDL-C (mg/dL)	0,058	0,709	0,013	0,940	0,030	0,858
TRG (mg/dL)	-0,093	0,548	- 0,147	0,385	- 0,132	0,436
sdLDL-C (mg/dL)	- 0,268	0,115	0,078	0,645	0,123	0,468
ApoA-I (mg/dL)	- 0,228	0,141	0,522	0,001	0,524	0,001
ApoB (mg/dL)	0,069	0,661	0,034	0,842	0,071	0,676
Γλυκόζη (mg/dL)	- 0,228	0,142	- 0,027	0,876	- 0,020	0,907
Ινσουλίνη (μU/mL)	- 0,231	0,146	- 0,357	0,035	- 0,374	0,027
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,367	0,014	0,010	0,952	0,023	0,891
HOMA-index	- 0,193	0,226	- 0,319	0,062	- 0,371	0,028
Ινωδογόνο (mg/dL)	- 0,180	0,261	0,085	0,627	0,308	0,072
hsCRP (mg/L)	- 0,138	0,382	- 0,095	0,574	- 0,106	0,533
RBP₄ (mg/ L)			0,207	0,220	0,216	0,195
Αντιπονεκτίνη (mg/L)	0,207	0,220			0,806	< 0,001
HMW αντιπονεκτίνη (mg/L)	0,216	0,195	0,806	< 0,001		
Ποσοστό HMW αντιπονεκτίνης	0,131	0,440	- 0,025	0,881	0,511	0,001

2. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Τα χαρακτηριστικά των ατόμων που εφάρμοσαν τη διαιτητική παρέμβαση φαίνονται στον πίνακα 10. Η διαιτητική παρέμβαση μείωσε προοδευτικά τη συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών (10,3 % μείωση, $p=0,03$). Επίσης, οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα των ApoB, TRG, VLDL-C και sd-LDL-C μειώθηκαν, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών. Αξίζει να σημειωθεί ότι, στους ασθενείς στους οποίους ο φαινότυπος των LDL υποκλασμάτων μεταβλήθηκε από B σε A κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της RBP₄ του πλάσματος κατά 21,7 % ($p=0,02$). Ωστόσο, στους ασθενείς στους οποίους ο φαινότυπος B δε μεταβλήθηκε, κατά τη διάρκεια της διαιτητικής αγωγής, η μείωση των επιπέδων της RBP₄ του πλάσματος ήταν μόνο 6,7 % και δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Επίσης, όπως φαίνεται στον Πίνακα 10, η αντιπονεκτίνη του πλάσματος, η HMW αντιπονεκτίνη και το ποσοστό της HMW επί της ολικής αντιπονεκτίνης δε μεταβλήθηκαν στατιστικά σημαντικά, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας. Ωστόσο, όταν αναλύθηκε η υποομάδα των ασθενών των οποίων η HDL-C μειώθηκε κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της αντιπονεκτίνης του πλάσματος ($p=0,01$). Επίσης, όταν αποκλείστηκε από την ανάλυση η υποομάδα των ασθενών των οποίων η HDL-C μειώθηκε κατά τους επόμενους δύο μήνες της δίαιτας, βρέθηκε μία στατιστικά σημαντική αύξηση της αντιπονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 2 μηνών ($p=0,04$).

Πίνακας 10. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών (n= 20) που ακολούθησαν τη διαιτητική παρέμβαση, κατά την έναρξη της δίαιτας, στον 1 μήνα και στους 3 μήνες.

	Έναρξη	1 μήνας	3 μήνες
Ηλικία (έτη)	45 ± 15		
Φύλο (άνδρες/ γυναίκες)	(12/ 8)		
BMI (Kg/ m²)	36,2 ± 5,7	35,7 ± 4,6 ^a	34,9 ± 5,1 ^{β,γ}
WC (cm)	117 ± 12	112 ± 12 ^a	112 ± 12 ^{β,γ}
TC (mg/ dL)	248 ± 28	239 ± 30	229 ± 30 ^β
TRG (mg/ dL)	219 ± 75	197 ± 61	167 ± 56 ^β
HDL-C (mg/ dL)	45 ± 8	44 ± 8	42 ± 8
VLDL-C (mg/ dL)	56 ± 10	53 ± 11	48 ± 7 ^β
IDL-C (mg/ dL)	58 ± 14	56 ± 11	59 ± 12
LDL-C (mg/ dL)	139 ± 23	132 ± 21	127 ± 23
nonHDL-C (mg/ dL)	203 ± 25	195 ± 28	186 ± 28 ^β
sdLDL-C (mg/ dL)	11 (4- 43)	10 (1- 38)	3 (0- 38) ^β
Μέσο μέγεθος LDL (Å)	264 ± 5	265 ± 5	268 ± 5 ^β
Ποσοστό των sdLDL (%)	7,8 (2,6- 33,1)	6,9 (0,8- 23,9)	2,6 (0,0- 25,9) ^β
LDL Ηλεκτροφορητικό προφίλ (A/ B)	(5/ 15)	(9/ 11)	(14/ 6)
ApoB (mg/ dL)	123,5 ± 14,4	116,6 ± 20,9	99,6 ± 25,0 ^β
HOMA-index	4,0 ± 2,3	3,4 ± 2,0	2,8 ± 1,2 ^{β,γ}
RBP₄ (mg/ L)	51,9 ± 13,8	51,8 ± 16,9	45,7 ± 14,7 ^{β,γ}
Αντιπυονεκτίνη (mg/L)	6,0 ± 2,3	5,7 ± 2,9	6,0 ± 2,0
HMW αντιπυονεκτίνη (mg/dL)	3,1 ± 1,7	3,0 ± 1,8	3,2 ± 1,9
Ποσοστό HMW αντιπυονεκτίνης	0,50 ± 0,15	0,51 ± 0,16	0,51 ± 0,14

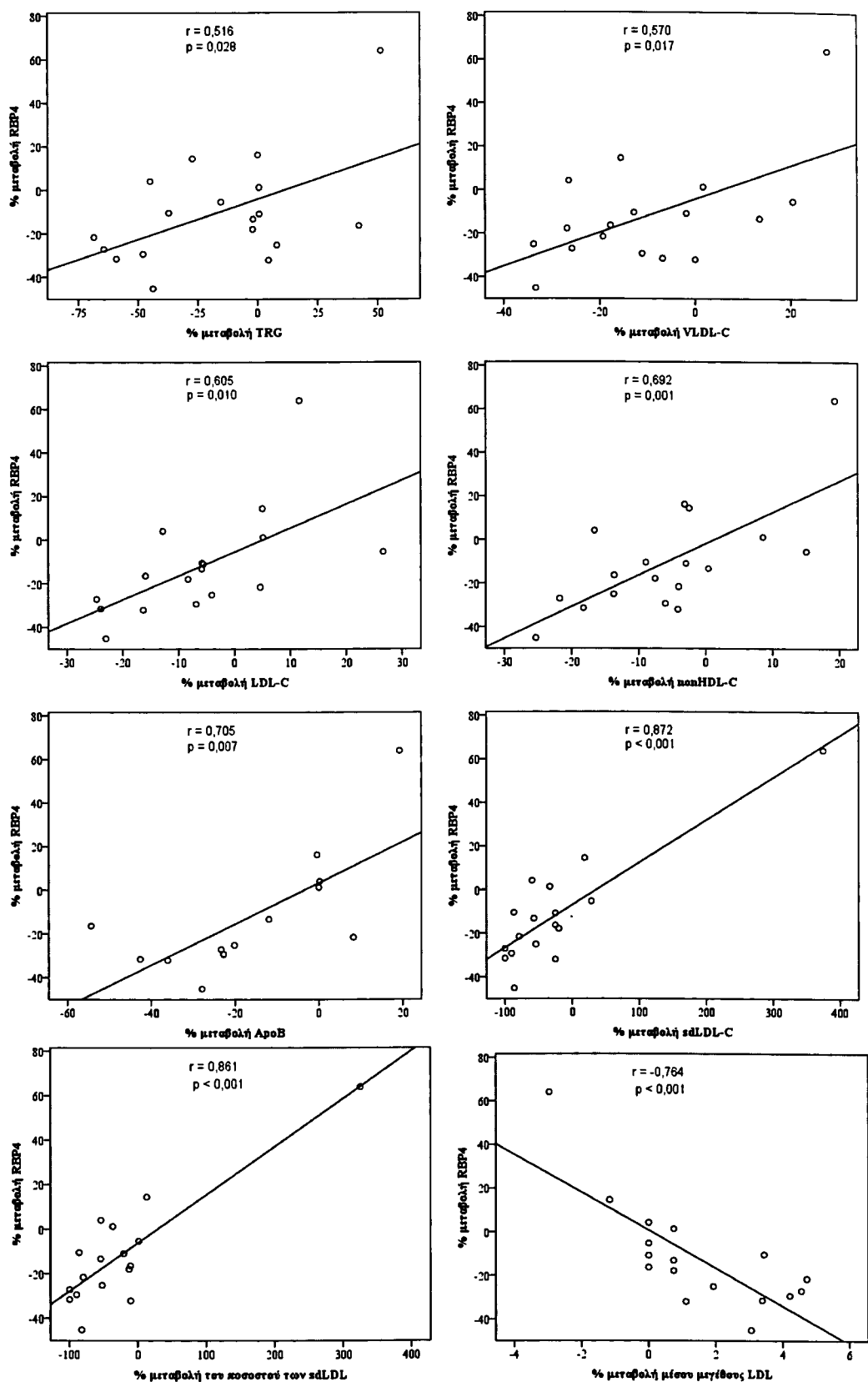
Τα δεδομένα είναι εκφρασμένα ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση για παραμέτρους με κανονική κατανομή ή διάμεσος (εύρος) για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή.

Συντμήσεις: Περίμετρος μέσης [Waist Circumference (WC)], Ολική χοληστερόλη [Total cholesterol (TC)], High density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), Very low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C), Intermediate-density lipoprotein-cholesterol (IDL-C), Low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), Non-HDL-cholesterol (nonHDL-C), Συγκέντρωση μικρών, πυκνών LDL (sdLDL-C), Ποσοστό (%) της μάζας των μικρών πυκνών LDL επί της συνολικής μάζας της LDL (Ποσοστό των sdLDL), Απολιποπρωτεΐνη B [Apolipoprotein B (ApoB)], Homeostasis model assessment insulin resistance-index (HOMA-index).

^a p < 0,05 για 1 μήνα σε σύγκριση με την έναρξη.

^β p < 0,05 για 3 μήνες σε σύγκριση με την έναρξη.

^γ p < 0,05 για 3 μήνες σε σύγκριση με τον 1 μήνα.



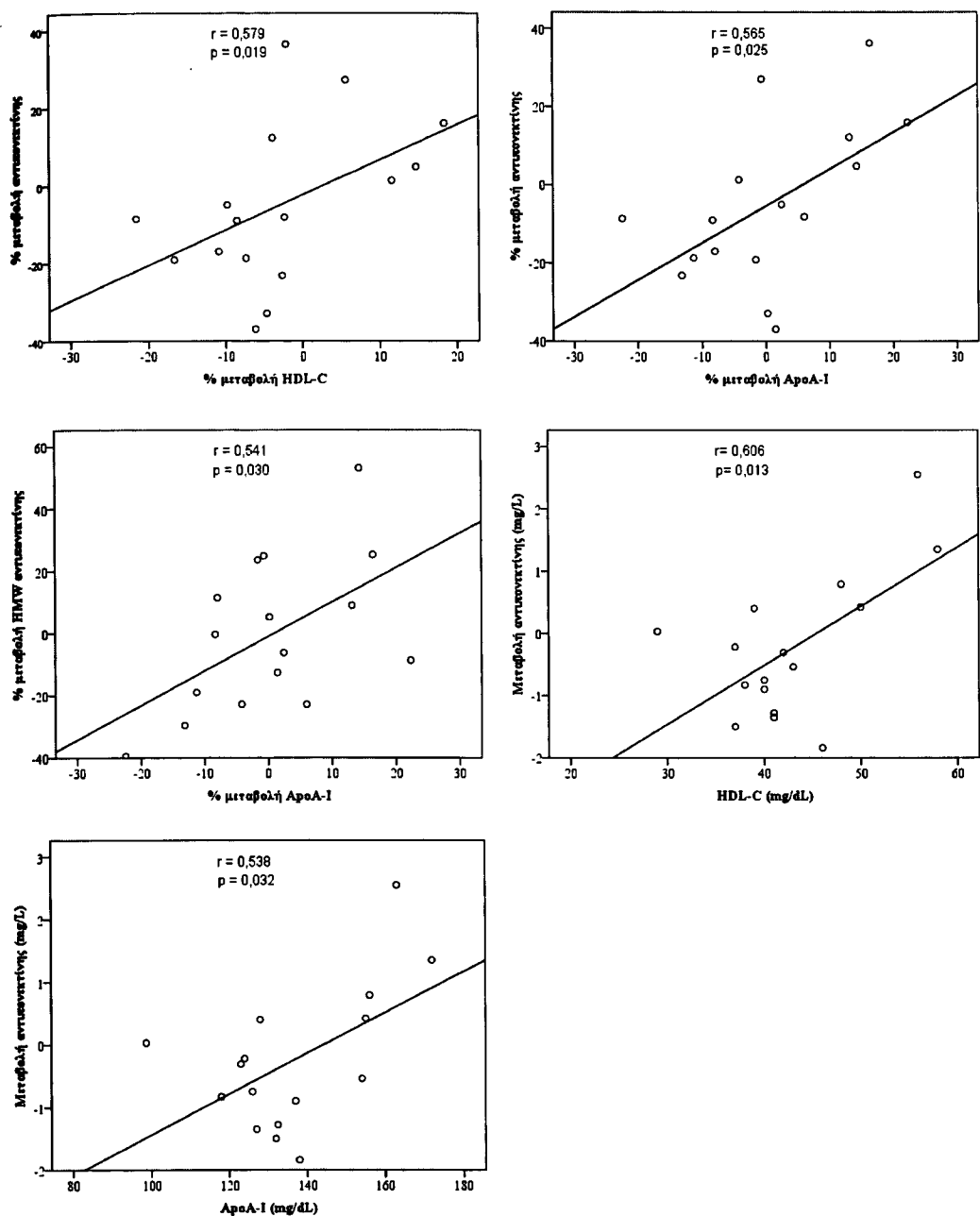
Εικόνα 16. Διαιτητική αγωγή. Σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών και στις ποσοστιαίες μεταβολές των TRG, VLDL-C, LDL-C, nonHDL-C, ApoB, sdLDL-C, ποσοστού των sdLDL και του μέσου μεγέθους της LDL.

Προκειμένου να ληφθούν πληροφορίες για τους πιθανούς μηχανισμούς που συσχετίζουν τις μεταβολές των sdLDL-C και ApoB, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας, εφαρμόσαμε 2 μοντέλα πολυπαραγοντικής ανάλυσης (Πίνακας 11). Στο πρώτο μοντέλο, η ποσοστιαία μεταβολή της sdLDL-C κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της διαιτητικής αγωγής ήταν η εξαρτημένη μεταβλητή, ενώ οι ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων στο πλάσμα των RBP₄, BMI και VLDL-C επιλέχθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Σε αυτό το μοντέλο, η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος ήταν ο μόνος σημαντικός καθοριστής και εξηγούσε το 56,0 % της διακύμανσης της ποσοστιαίας μεταβολής της sdLDL-C. Στο δεύτερο μοντέλο, η ποσοστιαία μεταβολή της ApoB κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας ήταν η εξαρτημένη μεταβλητή, ενώ οι ποσοστιαίες μεταβολές της RBP₄ του πλάσματος και του BMI επιλέχθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Σε αυτό το μοντέλο, η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος ήταν ο μόνος σημαντικός καθοριστής και ερμήνευε το 47,4 % της διακύμανσης της ποσοστιαίας μεταβολής της ApoB.

Η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των HDL-C και ApoA-I (Εικόνα 17). Η ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της ApoA-I (Εικόνα 17). Είναι αξιοσημείωτο ότι η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την HDL-C και την ApoA-I, τον πρώτο μήνα (Εικόνα 17). Ωστόσο, δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή του BMI κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας και τις ποσοστιαίες μεταβολές της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης.

Πίνακας 11. Πολυπαραγοντική ανάλυση. Μοντέλο 1: Η εξαρτημένη μεταβλητή ήταν η ποσοστιαία μεταβολή της sdLDL-C, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας. Μοντέλο 2: Η εξαρτημένη μεταβλητή ήταν η ποσοστιαία μεταβολή της ApoB, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας.

	Εξαρτημένη μεταβλητή	Ανεξάρτητες μεταβλητές	Στανταρισμένος συντελεστής β	Τιμή p για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή	Επίδραση κάθε ανεξάρτητης μεταβλητής στην εξαρτημένη μεταβλητή (%)	R ² μοντέλου	Τιμή p μοντέλου
Μοντέλο 1	% μεταβολή sdLDL-C	% μεταβολή RBP ₄	0,642	0,004	56,0	0,814	< 0,001
		% μεταβολή BMI	0,197	0,205	10,7		
		% μεταβολή VLDL-C	0,235	0,156	14,7		
Μοντέλο 2	% μεταβολή ApoB	% μεταβολή RBP ₄	0,588	0,020	47,4	0,743	0,002
		% μεταβολή BMI	0,374	0,106	26,8		



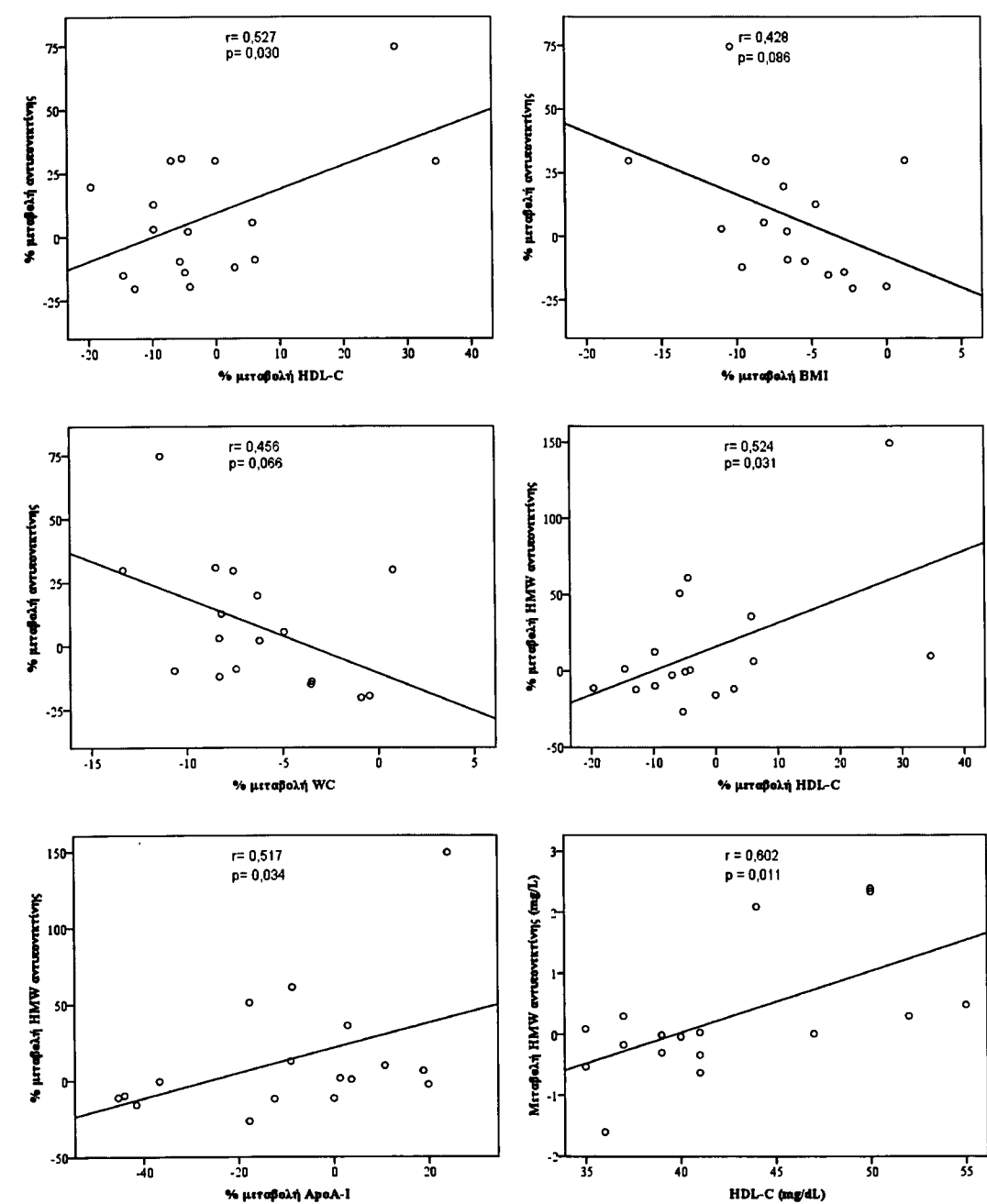
Εικόνα 17 Διαιτητική αγωγή. Σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της αντιπυρεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και στην ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C και ApoA-I. Σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της ΗΜW αντιπυρεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και στην ποσοστιαία μεταβολή της ApoA-I. Σχέση ανάμεσα στη μεταβολή της αντιπυρεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και στην HDL-C και ApoA-I τον πρώτο μήνα.

Επιπρόσθετα, η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπυρεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία

μεταβολή της HDL-C (Εικόνα 18). Εκτός αυτού, υπήρξε μία μη στατιστικά σημαντική τάση για αρνητική συσχέτιση της ποσοστιαίας μεταβολής της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας με τις ποσοστιαίες μεταβολές του BMI και της περιμέτρου μέσης (WC) (Εικόνα 18). Επιπλέον, η ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές της HDL-C και ApoA-I (Εικόνα 18). Επίσης, η μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας συσχετίστηκε θετικά με την HDL-C στους 3 μήνες (Εικόνα 18). Αυτές οι συσχετίσεις αναφέρονταν στο συνολικό πληθυσμό της μελέτης, ανεξάρτητα από το εάν η συμμόρφωσή τους στις διαιτητικές οδηγίες ήταν καλή ή κακή. Ωστόσο, όταν αποκλείστηκαν από την ανάλυση τα άτομα που δεν έχασαν βάρος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, λόγω κακής συμμόρφωσης, η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των HDL-C ($r = 0,575$, $p = 0,01$), BMI ($r = - 0,565$, $p = 0,01$), WC ($r = - 0,617$, $p = 0,01$), TRG ($r = - 0,487$, $p = 0,03$) και sdLDL-C ($r = - 0,468$, $p = 0,04$). Σε αυτήν την υποομάδα των ασθενών, η πολυπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε ότι, όταν οι ποσοστιαίες μεταβολές των HDL-C, BMI και TRG επιλέχθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές, η ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C παρουσίαζε την τάση να είναι σημαντικός καθοριστής της ποσοστιαίας μεταβολής της αντιπονεκτίνης του πλάσματος ($\beta = 0,406$ και $p = 0,07$), ενώ όλες οι άλλες ανεξάρτητες μεταβλητές ήταν μη στατιστικά σημαντικοί καθοριστές ($R^2 = 0,483$ και $p = 0,02$ για το μοντέλο). Σε αυτό το μοντέλο, η ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C ήταν υπεύθυνη για το 23,3 %, ενώ η ποσοστιαία μεταβολή του BMI για το 19,6 % της διακύμανσης της ποσοστιαίας μεταβολής της αντιπονεκτίνης του πλάσματος.

Αξιοσημείωτο ήταν ότι, αν και η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας δε συσχετίστηκε με την ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης, όταν αναλύθηκε η υποομάδα των ασθενών στους οποίους το ποσοστό της HMW αντιπονεκτίνης επί της ολικής αυξήθηκε κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε αυτές τις παραμέτρους ($r = 0,901$, $p < 0,001$). Σε αυτήν την υποομάδα των ασθενών, η ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των WC ($r = - 0,631$, $p = 0,04$), TRG ($r = - 0,755$, $p = 0,007$) και

sdLDL-C ($r = - 0,655$, $p = 0,03$) και παρουσίαζε τάση για συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή του BMI ($r = - 0,576$, $p = 0,06$).



Εικόνα 18. Διαιτητική θεραπεία. Σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της αντιπυονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών και στις ποσοστιαίες μεταβολές των HDL-C, BMI και WC. Γραφική παράσταση της ποσοστιαίας μεταβολής της ΗΜW αντιπυονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών με τις ποσοστιαίες μεταβολές των HDL-C και ApoA-I. Σχέση ανάμεσα στη μεταβολή της ΗΜW αντιπυονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών και στην HDL-C στους 3 μήνες.

3. ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΦΑΙΝΟΦΙΜΠΡΑΤΗ

Τα χαρακτηριστικά των ατόμων που έλαβαν φαινοφιμπράτη φαίνονται στον Πίνακα 12. Τα επίπεδα στο πλάσμα των LDL-C, TRG και sd-LDL-C μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της αγωγής με φαινοφιμπράτη. Η αγωγή με φαινοφιμπράτη αύξησε σημαντικά την RBP₄ του πλάσματος στον 1 μήνα ($p = 0,04$), ενώ η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε σημαντικά από τον 1 μήνα στους 3 μήνες ($p = 0,02$). Επίσης, η φαινοφιμπράτη αύξησε προοδευτικά την κρεατινίνη (Cre) του ορού από τα βασικά επίπεδα στον 1 και στους 3 μήνες ($p < 0,001$), ενώ ο λόγος ολικές πρωτεΐνες διά κρεατινίνη ούρων (PCR) μειώθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της αγωγής με φαινοφιμπράτη ($p = 0,005$). Ομοίως, ο λόγος αλβουμίνη διά κρεατινίνη ούρων (ACR) παρουσίασε μια τάση για μείωση κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = 0,06$). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα στο πλάσμα της αντιπονεκτίνης, HMW αντιπονεκτίνης και του ποσοστού της HMW αντιπονεκτίνης επί της ολικής ανάμεσα στον 1 μήνα και τα βασικά επίπεδα και ανάμεσα στους 3 μήνες και τα βασικά επίπεδα.

Επιπρόσθετα, η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη συσχετίστηκε θετικά με τις ποσοστιαίες μεταβολές των TRG, sdLDL-C και ποσοστού των sdLDL και αρνητικά με την ποσοστιαία μεταβολή του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων, της PCR και ACR (Εικόνα 19). Επιπλέον, υπήρξε μία μη σημαντική τάση για συσχέτιση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και την ποσοστιαία μεταβολή του HOMA-index ($r = 0,445$, $p = 0,08$).

Παράλληλα, η ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη παρουσίασε θετική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος ($r = 0,594$, $p = 0,01$) και του ποσοστού της HMW αντιπονεκτίνης επί της ολικής ($r = 0,505$, $p = 0,04$). Επίσης, αν και η ποσοστιαία μεταβολή της αντιπονεκτίνης του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της αγωγής με φαινοφιμπράτη δε συσχετίστηκε με την ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης, όταν αναλύθηκε η υποομάδα των ασθενών στους οποίους το ποσοστό της HMW αντιπονεκτίνης επί της ολικής αυξήθηκε κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα σε αυτές τις παραμέτρους ($r = 0,808$, $p = 0,003$).

Πίνακας 12. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών (n= 18) που ακολούθησαν την αγωγή με φαινοφιμπράτη, κατά την έναρξη της θεραπείας, στον 1 μήνα και στους 3 μήνες.

	Έναρξη	1 μήνας	3 μήνες
Ηλικία (έτη)	53 ± 13		
Φύλο (άνδρες/ γυναίκες)	(8/ 10)		
BMI (Kg/ m²)	36,6 ± 8,7	36,0 ± 8,9 ^a	35,0 ± 9,1 ^{β,γ}
WC (cm)	115 ± 15	112 ± 16 ^a	109 ± 17 ^{β,γ}
TC (mg/dL)	255 ± 42	222 ± 33 ^a	227 ± 37 ^β
TRG (mg/dL)	260 ± 86	172 ± 134 ^a	158 ± 78 ^β
HDL-C (mg/dL)	46 ± 8	48 ± 8	49 ± 8 ^β
VLDL-C (mg/dL)	56 ± 13	46 ± 12 ^a	49 ± 14
IDL-C (mg/dL)	55 ± 12	54 ± 13	58 ± 9
LDL-C (mg/dL)	142 ± 28	120 ± 22 ^a	125 ± 21 ^β
nonHDL-C (mg/dL)	209 ± 38	174 ± 34 ^a	179 ± 37 ^β
sdLDL-C (mg/dL)	18 (3- 37)	3 (1- 44) ^a	3 (0- 38) ^β
Μέσο μέγεθος LDL (Å)	263 ± 3	268 ± 5 ^a	269 ± 4 ^β
Ποσοστό των sdLDL (%)	13,2 (2,4- 22,7)	2,7 (0,8- 30,3) ^a	2,5 (0,0- 22,4) ^β
LDL ηλεκτροφορητικό προφίλ (A/ B)	(1/ 17)	(10/ 7)	(13/ 4)
ApoB (mg/ dL))	116,7 ± 28,3	97,5 ± 32,8	104,2 ± 21,3
HOMA-index	4,6 ± 4,3	3,5 ± 1,6	2,7 ± 1,5 ^γ
Cre (mg/ dL)	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,2 ^a	1,0 ± 0,2 ^β
ACR (mg/ g)	7,2 (2,9- 190,9)	7,8 (2,1 -20,4)	4,9 (1,8- 16,5)
PCR (mg/ g)	57,0 (36,6- 1872,1)	53,9 (19,3- 1201,1)	43,8 (21,9- 1071,6) ^{β,γ}
RBP4 (mg/ L)	48,3 ± 17,4	59,5 ± 17,7 ^a	52,3 ± 15,8 ^γ
Αντιπινεκτίνη (mg/ L)	5,0 ± 2,7	4,7 ± 2,3	4,1 ± 1,4
HMW αντιπινεκτίνη (mg/ L)	2,4 ± 1,1	2,4 ± 1,2	2,2 ± 0,9
Ποσοστό HMW αντιπινεκτίνης (mg/L)	0,52 ± 0,20	0,53 ± 0,20	0,54 ± 0,20

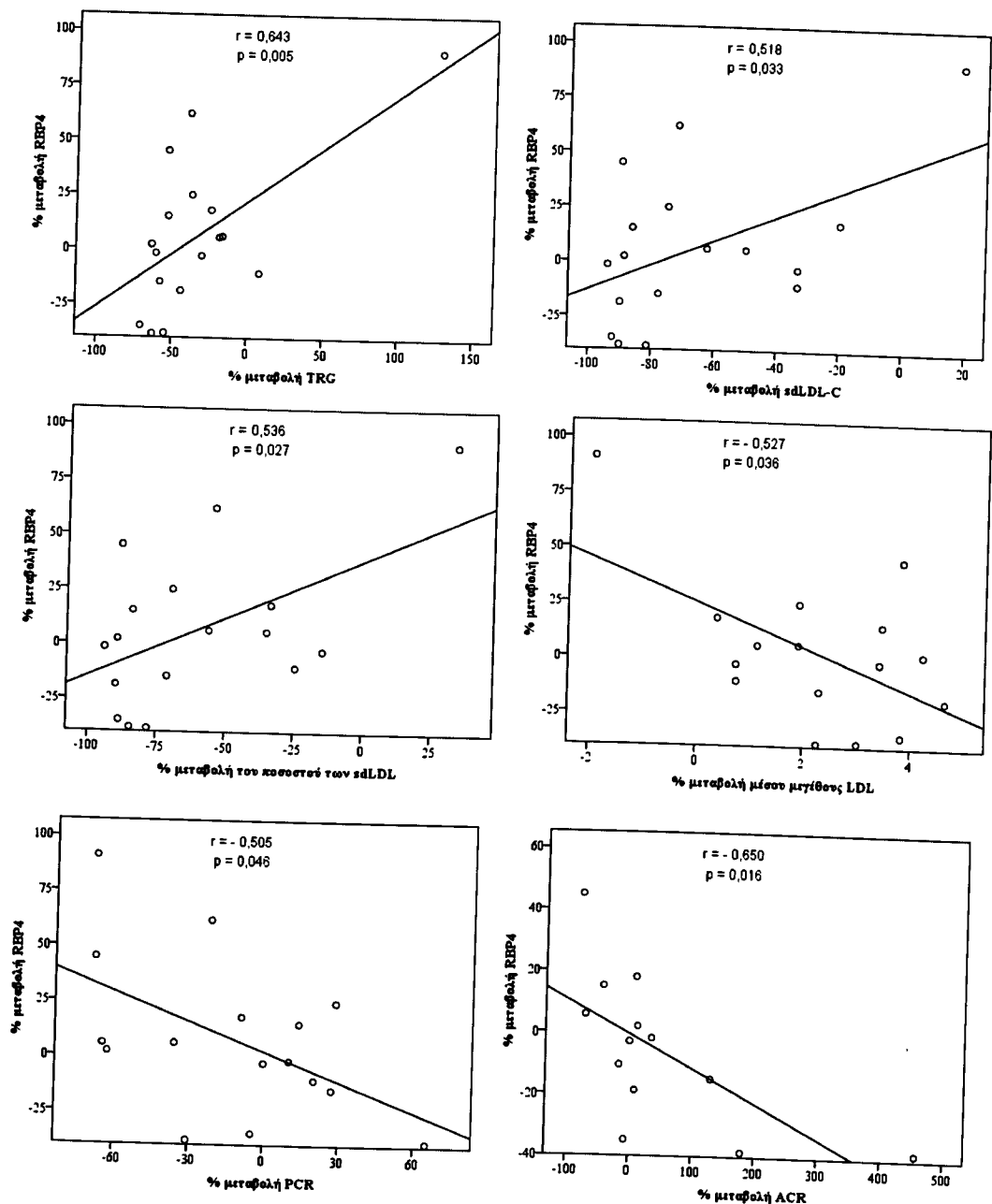
Τα δεδομένα είναι εκφρασμένα ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση για παραμέτρους με κανονική κατανομή ή διάμεσος (εύρος) για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή.

Συντμήσεις: Κρεατινίνη ορού (Cre), Λόγος αλβουμίνης προς κρεατινίνη ούρων (ACR), Λόγος ολικών πρωτεϊνών προς κρεατινίνη ούρων(PCR).

^a p < 0,05 για 1 μήνα σε σύγκριση με την έναρξη.

^β p < 0,05 για 3 μήνες σε σύγκριση με την έναρξη.

^γ p < 0,05 για 3 μήνες σε σύγκριση με τον 1 μήνα.



Εικόνα 19. Αγωγή με φαινοφιμπράτη. Σχέση ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και των ποσοστιαίων μεταβολών των TRG, sdLDL-C, ποσοστού των sdLDL, μέσου μεγέθους LDL, PCR και ACR.

4. ΑΓΩΓΗ ΜΕ RIMONABANT

Η αγωγή με rimonabant μείωσε το BMI ($p = 0,01$), τα επίπεδα των TRG ($p = 0,03$) και το HOMA-index ($p = 0,03$), κατά τη διάρκεια των 3 μηνών. Επίσης, παρατηρήθηκε μείωση της RBP₄ του πλάσματος στους 3 μήνες σε σχέση με τα βασικά επίπεδα [από 36,6 (30,6- 55,8) mg/ L πριν την έναρξη της θεραπείας σε 28,5 (24,6- 41,5) mg/ L στους 3 μήνες της θεραπείας, $p = 0,04$]. Η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της αγωγής με rimonabant παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή του HOMA-index ($r = 0,886$, $p = 0,02$). Επίσης, η RBP₄ του πλάσματος στους 3 μήνες της αγωγής με rimonabant συσχετίστηκε θετικά με την ποσοστιαία μεταβολή του HOMA-index κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της θεραπείας με rimonabant ($r = 0,964$, $p < 0,001$).

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ RBP₄

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η RBP₄ του πλάσματος παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της κρεατινίνης του ορού, πριν την έναρξη της μελέτης. Αυτό το εύρημα συμφωνεί με προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές, σύμφωνα με τις οποίες η RBP₄ του πλάσματος αυξάνεται με τη μείωση της νεφρικής λειτουργίας (350-353). Πρέπει στο σημείο αυτό να τονιστεί ότι δεν υπολογίστηκε η εκτιμώμενη κάθαρση της κρεατινίνης από τον τύπο των Cockcroft- Gault λόγω του γεγονότος ότι ο τύπος αυτός σε παχύσαρκα άτομα, όπως στην παρούσα μελέτη, υπερεκτιμά την πραγματική κάθαρση της κρεατινίνης (354). Γι' αυτό χρησιμοποιήθηκε μόνο η Cre του ορού για την εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας.

Η εφαρμογή υποθερμιδικής διαίτας χαμηλών λιπαρών σε παχύσαρκους ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία μείωσε τα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της διαιτητικής παρέμβασης. Αυτό το εύρημα βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές (29,37,73,81,82,84). Πράγματι, η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της διαίτας και στην ποσοστιαία μεταβολή του BMI. Επιπλέον, το λιποπρωτεϊνικό προφίλ των ασθενών αυτής της μελέτης βελτιώθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της διαίτας, όπως έχει βρεθεί και σε προηγούμενες μελέτες (355). Αξιοσημείωτα, η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της διαιτητικής παρέμβασης συσχετίστηκε ισχυρά με την ποσοστιαία μεταβολή της ApoB του ορού καθώς και με τις ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων στον ορό των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την ApoB (VLDL-C, LDL-C). Παράλληλα, η RBP₄ του πλάσματος στον 1 μήνα της διαίτας παρουσίασε μια ισχυρή θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της ApoB κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της διαίτας. Από αυτά τα στοιχεία είναι δυνατό να εξαχθούν δύο πιθανές ερμηνείες όσον αφορά τη σχέση ανάμεσα στην RBP₄ και το μεταβολισμό της ApoB. Η πρώτη εξήγηση είναι ότι η RBP₄ πιθανώς να συμμετέχει στη μεταβολική οδό, η οποία είναι υπεύθυνη για τις προκαλούμενες από τη δίαιτα μεταβολές των επιπέδων των λιποπρωτεϊνών του ορού που περιέχουν την ApoB. Πράγματι, η πολυπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε αυτό ακριβώς το αποτέλεσμα. Υπό αυτήν την έννοια, η RBP₄ πιθανώς να σχετίζεται αιτιολογικά με τις μεταβολές των επιπέδων στον ορό των

λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την ApoB. Συγκεκριμένα, ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τη συσχέτιση ανάμεσα στην RBP₄ και το μεταβολισμό της ApoB είναι δυνατό να περιλαμβάνει τη ρύθμιση του fractional catabolic rate (FCR) της LDL ApoB100, όπως αναφέρεται από μια προηγούμενη μελέτη (81). Η δεύτερη εξήγηση είναι ότι η RBP₄ πιθανώς δε συνιστά αναπόσπαστο μέρος της μεταβολικής οδού, η οποία είναι υπεύθυνη για τις μεταβολές των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB του ορού, αλλά η RBP₄ ίσως απλώς να σχετίζεται με έναν άλλο παράγοντα, ο οποίος αποτελεί σημαντικό τμήμα αυτής της μεταβολικής οδού. Από αυτήν την άποψη, η RBP₄ ενδέχεται να μη σχετίζεται αιτιολογικά με το μεταβολισμό της ApoB.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι στην παρούσα μελέτη, εφαρμόστηκαν άμεσες μετρήσεις του λιποπρωτεϊνικού προφίλ των ασθενών, χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση λιποπρωτεϊνών. Αυτό το γεγονός έδωσε τη δυνατότητα να εκτιμηθεί η LDL μέσω της άμεσης μέτρησής της με ηλεκτροφόρηση λιποπρωτεϊνών, η οποία είναι πολύ πιο ακριβής από τον έμμεσο υπολογισμό της LDL από τον τύπο του Friedewald $LDL-C = TC - (HDL-C + TRG/5)$, ο οποίος εφαρμόστηκε στην πλειονότητα των προηγούμενων μελετών οι οποίες αφορούσαν την RBP₄ (308,356). Αυτός είναι ο λόγος γιατί βρέθηκαν σχετικά σταθερές συσχετίσεις ανάμεσα στις ποσοστιαίες μεταβολές της RBP₄ του πλάσματος και στις ποσοστιαίες μεταβολές της LDL του ορού, ακόμα και στα άτομα με σημαντική υπερτριγλυκεριδαιμία, η οποία αντιπροσωπεύει μία κατάσταση όπου η προαναφερθείσα εξίσωση είναι ανακριβής (308,356).

Η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε επιπλέον ότι οι ποσοστιαίες μεταβολές των sdLDL-C, ποσοστού των sdLDL και του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων σχετίζονταν ισχυρά με την ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος. Επίσης, είναι γνωστό ότι ο φαινότυπος B στην ηλεκτροφόρηση λιποπρωτεϊνών χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των sdLDL σωματιδίων, ενώ ο φαινότυπος A χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων (349). Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε ότι μόνο στους ασθενείς που ο φαινότυπος μεταβλήθηκε από B σε A, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας, η RBP₄ του πλάσματος μειώθηκε, ενώ στα άτομα που ο φαινότυπος B παρέμεινε αμετάβλητος, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, η RBP₄ του πλάσματος δε μεταβλήθηκε σημαντικά. Από όσο γνωρίζουμε, μόνο μία μελέτη διερεύνησε τη σχέση ανάμεσα στην RBP₄ και την sdLDL και έδειξε ότι η RBP₄ του πλάσματος παρουσίαζε θετική συσχέτιση με την sdLDL-C, σε γυναίκες που βρίσκονταν σε μία σταθερή μεταβολική κατάσταση (65). Συνεπώς, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που διερευνεί τη σχέση ανάμεσα στην

ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος και την ποσοστιαία μεταβολή της sdLDL-C, κατά τη διάρκεια μιας διαιτητικής παρέμβασης. Δεδομένου ότι η sdLDL αντιπροσωπεύει το πιο αθηρογόνο τμήμα της LDL (349), το παραπάνω εύρημα έχει μεγάλη κλινική σημασία, καθώς συσχετίζει την RBP₄ όχι μόνο με τις λιποπρωτείνες που περιέχουν την ApoB, αλλά επιπλέον και με τα πιο αθηρογόνα υποκλάσματα αυτών. Αυτός ο ισχυρισμός ενισχύεται επίσης από κάποιες μελέτες οι οποίες έδειξαν την ύπαρξη μιας σχέσης ανάμεσα στην RBP₄ του πλάσματος και την επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου (52,66,100,107-109). Αξιοσημείωτα, η RBP₄ του πλάσματος στον 1 μήνα της δίαιτας παρουσίασε ισχυρή θετική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των sdLDL-C και ποσοστού των sdLDL κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας. Αυτό το εύρημα υποδεικνύει ότι η RBP₄ πιθανώς να σχετίζεται αιτιολογικά με τη μεταβολική οδό, η οποία είναι υπεύθυνη για τις προκαλούμενες από τη δίαιτα μεταβολές της sdLDL-C. Πράγματι, η πολυπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε το ίδιο γεγονός. Εκτός αυτού, η πολυπαραγοντική ανάλυση πρότεινε ότι ο μηχανισμός με τον οποίο η αυξημένη VLDL-C προκαλεί την υπερπαραγωγή της sdLDL ίσως να περιλαμβάνει την RBP₄ του πλάσματος. Ωστόσο, σε αυτήν την περίπτωση, η επίδραση της RBP₄ του πλάσματος στην sdLDL-C δεν μπορεί να αποδοθεί πλήρως στην VLDL-C. Άρα, ο μηχανισμός που συνδέει την RBP₄ με την sdLDL ενδέχεται να περιλαμβάνει όχι μόνο την υπερπαραγωγή της sdLDL λόγω της αυξημένης VLDL-C, αλλά επιπλέον τη ρύθμιση του καταρράκτη της απολιπιδοποίησης των πλούσιων σε τριγλυκερίδια LDL σωματιδίων. Συγκεκριμένα, αυτή η ρύθμιση θα μπορούσε να αποδοθεί στον έλεγχο της ενεργότητας της ηπατικής λιπάσης, λόγω του ότι έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία η ύπαρξη μιας θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην RBP₄ του πλάσματος και την ενεργότητα της ηπατικής λιπάσης (101).

Είναι γνωστό ότι η RBP₄ διηθείται μέσω του νεφρικού σπειράματος και ακολούθως επαναρροφάται από τα εγγύς σωληναριακά κύτταρα (357,358). Επίσης, η RBP₄ ανήκει στις χαμηλού μοριακού βάρους πρωτείνες οι οποίες ανιχνεύονται στα δείγματα ούρων (359). Έτσι, η RBP₄ του πλάσματος αυξάνεται σε καταστάσεις νεφρικής δυσλειτουργίας (350-353). Από αυτήν την άποψη, στην παρούσα μελέτη, η αύξηση της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη θα μπορούσε να αποδοθεί στη μείωση της νεφρικής κάθαρσης της RBP₄, όπως υποδηλώνεται από τη φαινοφιμπράτη προκαλούμενη αύξηση της Cre του ορού και μείωση των PCR και ACR. Πράγματι, η μελέτη FIELD ανέφερε ότι η φαινοφιμπράτη προκάλεσε μια διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, η οποία περιελάμβανε την αύξηση της Cre του ορού και τη

μείωση της ACR (326). Η παρούσα μελέτη έδειξε την ύπαρξη μιας αρνητικής σχέσης ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη, και στην ποσοστιαία μεταβολή της PCR. Αυτή ακριβώς η σχέση αντιπροσωπεύει την αύξηση της RBP₄ του πλάσματος, που οφείλεται στη μείωση της νεφρικής κάθαρσης της RBP₄ όπως υποδηλώνεται από τη μείωση της PCR.

Η παρούσα μελέτη επιπλέον ανέφερε την ύπαρξη μιας σχέσης ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη και των ποσοσטיαίων μεταβολών των TRG, sdLDL-C και του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων, η οποία είναι σε απόλυτη συμφωνία με τα ευρήματα της ίδιας μελέτης στο σκέλος της δίαιτας. Συνεπώς, όπως ακριβώς βρέθηκε και στο σκέλος της διαιτητικής παρέμβασης, οι ευνοϊκές επιδράσεις της φαινοφιμπράτης στο μεταβολισμό της ApoB πιθανώς να προκλήθηκαν μέσω μιας μεταβολικής οδού η οποία σχετίζεται με την RBP₄ του πλάσματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι συσχετίσεις της RBP₄ με TRG και sdLDL-C παρατηρήθηκαν τον πρώτο μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη, όπου η μεταβολή των επιπέδων της RBP₄ του πλάσματος καθορίστηκε σε μεγάλο βαθμό από τη μείωση της νεφρικής κάθαρσης της RBP₄. Αυτό ακριβώς το γεγονός υποδηλώνει ότι πιθανώς η μεταβολική οδός που επηρεάζει τα TRG και sdLDL περιλαμβάνει την RBP₄, γιατί σε αντίθετη περίπτωση η αύξηση των επιπέδων της RBP₄ λόγω μείωσης της νεφρικής της κάθαρσης θα είχε σαν αποτέλεσμα την εξαφάνιση της σχέσης μεταξύ της RBP₄ και των TRG και sdLDL-C. Επίσης, μία προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι η αγωγή με φαινοφιμπράτη οδήγησε σε μείωση της έκφρασης του mRNA της RBP₄ στο λιπώδη ιστό (105). Οπότε, τα επίπεδα της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια της αγωγής με φαινοφιμπράτη φαίνεται να αποτελούν το αποτέλεσμα των συνδυασμένων επιδράσεων της μειωμένης νεφρικής κάθαρσης της RBP₄, η οποία είχε την τάση να αυξήσει την RBP₄ του πλάσματος, και της απώλειας βάρους μαζί με τη μεταβολική δράση της φαινοφιμπράτης, τα οποία έτειναν να μειώσουν την RBP₄ του πλάσματος. Αυτός ο εύλογος μηχανισμός εμφανίζεται να αποτελεί την αιτία της πρώιμης αύξησης της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη, λόγω της μειωμένης νεφρικής κάθαρσης της RBP₄, και της επακόλουθης μείωσης της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των επόμενων 2 μηνών, ως αποτέλεσμα της απώλειας βάρους και της μεταβολικής δράσης της φαινοφιμπράτης. Από όσο είναι γνωστό, υπάρχει μόνο μία άλλη μελέτη η οποία διερεύνησε τη επίδραση της φαινοφιμπράτης στα επίπεδα της RBP₄ του

πλάσματος (105). Η εν λόγω μελέτη ανέφερε μια μείωση στην RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια 2 μηνών αγωγής με φαινοφιμπράτη, η οποία είναι συμβατή με την όψιμη μείωση της RBP₄ του πλάσματος που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη. Ωστόσο, το γεγονός ότι η εκτίμηση των ασθενών εκείνης της μελέτης δεν πραγματοποιήθηκε νωρίτερα από τους 2 μήνες είχε σαν αποτέλεσμα να μην αποκαλυφθεί η πρόωμη αύξηση της RBP₄ του πλάσματος η οποία βρέθηκε στην παρούσα μελέτη.

Επιπρόσθετα, η παρούσα ερευνητική εργασία ανέδειξε ότι η αγωγή με rimonabant οδήγησε σε μείωση των επιπέδων της RBP₄ του πλάσματος. Από όσο είναι γνωστό, η παρούσα μελέτη διερεύνησε για πρώτη φορά την επίδραση στην RBP₄ του πλάσματος ενός CB1 αποκλειστή, όπως το rimonabant. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι η μείωση της παραγωγής της RBP₄ από το λιπώδη ιστό, όπως υποδηλώνεται από μία προηγούμενη μελέτη (92). Επιπλέον, στην παρούσα ερευνητική εργασία διαπιστώθηκε ότι η ποσοστιαία μεταβολή του HOMA-index κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της αγωγής με rimonabant παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ του πλάσματος κατά τη διάρκεια των 3 μηνών, όπως επίσης και με την RBP₄ του πλάσματος στους 3 μήνες της αγωγής με rimonabant. Αυτό το εύρημα είναι συμβατό με την επικρατούσα αντίληψη της ιδιότητας της RBP₄ να προκαλεί ινσουλινοαντίσταση (20,21), αντικατοπτρίζοντας τη γνωστή βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας κατά τη διάρκεια της αγωγής με rimonabant (360).

Αξίζει να σημειωθεί ότι, αν και το δείγμα της παρούσας μελέτης δεν ήταν μεγάλο, η ισχύς των συσχετίσεων και το μέγεθος των σχετικών διαφορών των μελετούμενων παραμέτρων ήταν αρκετά μεγάλα, ώστε να υπερνικηθεί αυτό το μειονέκτημα της μελέτης.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι οι μεταβολές της RBP₄ του πλάσματος σχετίζονται με τις αντίστοιχες μεταβολές των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την ApoB σε παχύσαρκους υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς. Εκτός αυτού, η RBP₄ εμφανιζόταν να συχετίζεται ισχυρά με την μεταβολική οδό, η οποία είναι υπεύθυνη για τις μεταβολές των επιπέδων στον ορό των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB. Αυτή η συσχέτιση είναι ενδεικτική της ιδιότητας της RBP₄ του πλάσματος να καθορίζει τα επίπεδα στον ορό των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών και με αυτόν τον τρόπο πιθανώς η RBP₄ να σχετίζεται με την καρδιαγγειακή νόσο. Από αυτήν την άποψη, η RBP₄ του πλάσματος φαίνεται να έχει υψηλή κλινική σημασία, καθώς οι μεταβολές της RBP₄ του πλάσματος ενός ατόμου κατά τη διάρκεια ενός χρονικού διαστήματος θα ήταν δυνατό να εκτιμήσουν τις αντίστοιχες

μεταβολές των επιπέδων στον ορό των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών και συνεπώς τις αντίστοιχες μεταβολές του καρδιαγγειακού κινδύνου. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται σε ποικίλους πληθυσμούς και με διάφορες θεραπείες, προκειμένου να υποστηριχτούν τα προαναφερθέντα αποτελέσματα και να αποσαφηνιστεί αν υπάρχει ένας αιτιολογικός σύνδεσμος στη συσχέτιση της RBP₄ με το μεταβολισμό των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν ApoB. Επιπλέον, η διευκρίνιση του πιθανού μηχανισμού μέσω του οποίου η RBP₄ σχετίζεται με μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την ApoB, ενδέχεται να επιτρέψει το σχεδιασμό νέων θεραπειών των δυσλιπιδαιμιών, οι οποίες θα στοχεύουν σε συγκεκριμένα βήματα της οδού μέσω της οποίας δρα η RBP₄.

2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι, πριν την έναρξη της μελέτης, στο συνολικό πληθυσμό των ατόμων, η αντιπονεκτίνη και η HMW αντιπονεκτίνη του πλάσματος συσχετίστηκαν μόνο με HDL-C, ApoA-I, ηλικία, Ins και HOMA-index, ανάμεσα σε όλες τις μελετούμενες παραμέτρους. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το BMI και μάλιστα ο αντίστοιχος συντελεστής συσχέτισης ήταν περίπου μηδέν. Πρέπει να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη ερευνητική εργασία μελέτησε υπερτιγλυκεριδαίμικους ασθενείς με αυξημένο BMI. Πράγματι, έχει αναφερθεί ότι η αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη του πλάσματος και το BMI υφίσταται μόνο σε μη παχύσαρκους ασθενείς, ενώ αυτή η σχέση δεν παρατηρείται σε παχύσαρκα άτομα (361). Επίσης, στην πλειονότητα των προηγούμενων μελετών οι οποίες ανέφεραν την ύπαρξη αρνητικής σχέσης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το BMI, ο πληθυσμός της μελέτης περιελάμβανε και μη παχύσαρκα άτομα μεταξύ όλων των ατόμων (361-364). Συνεπώς, μια πιθανή ερμηνεία της απουσίας συσχέτισης ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και το BMI στην παρούσα μελέτη είναι ότι η αντιπονεκτίνη του πλάσματος δε διαφέρει σημαντικά μεταξύ παχύσαρκων ατόμων με διαφορετική ποσότητα λιπώδους ιστού, ενώ η αντιπονεκτίνη του πλάσματος επηρεάζεται από το BMI κυρίως σε μη παχύσαρκα άτομα. Εκτός αυτού, στη συγκεκριμένη μελέτη, η συσχέτιση της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης με την ηλικία και με το HOMA-index είναι σε συμφωνία με προηγούμενα δημοσιευμένα στοιχεία (361,362,365).

Η πολυπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε ότι η μεταβλητή που ερμήνευε καλύτερα την HMW αντιπονεκτίνη ήταν η ApoA-I. Αυτά τα ευρήματα εγείρουν την πιθανότητα η HDL, η οποία περιέχει την ApoA-I, να είναι ο κύριος καθοριστής της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος, τουλάχιστον σε μία σταθερή μεταβολική κατάσταση. Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτές οι συσχετίσεις ήταν ανεξάρτητες από το BMI και το HOMA-index, όπως έχει βρεθεί και από προηγούμενες μελέτες (362,363,366-369).

Προκειμένου να διευκρινίσουμε περαιτέρω αν υπάρχει ένας αιτιολογικός σύνδεσμος ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και την HDL, εξετάσαμε άτομα κατά τη διάρκεια παρεμβάσεων, οι οποίες μεταβάλλουν την HDL-C. Στην παρούσα μελέτη, η διαιτητική θεραπεία έτεινε να μειώσει την HDL-C, πιθανώς λόγω της ταυτόχρονης μείωσης της διαιτητικής πρόσληψης λίπους. Αυτό το εύρημα είναι συμβατό με προηγούμενες μελέτες οι οποίες ανέφεραν μία μείωση στην HDL-C στα πρώιμα στάδια της διαιτητικής παρέμβασης και μία επακόλουθη αύξηση στην HDL-C (370). Επίσης, στην παρούσα

μελέτη βρέθηκε ότι οι μεταβολές των ApoA-I και HDL-C προέβλεπαν τις μεταβολές της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας. Είναι αξιοπρόσεκτο, ότι η HDL-C σε κάθε χρονικό σημείο της διαιτητικής παρέμβασης συσχετίστηκε πολύ ισχυρά με τις αντίστοιχες μεταβολές της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος, σε σχέση με τα βασικά τους επίπεδα. Συνεπώς, η HDL-C εμφανίζεται να συνδέεται με τη μεταβολική οδό η οποία είναι υπεύθυνη για τις διαιτητικά προκαλούμενες μεταβολές της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης. Παράλληλα σε επίπεδο βασικής έρευνας, μία προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι επώαση λιποκυττάρων με HDL αύξησε την έκφραση αντιπονεκτίνης (371). Εκτός αυτού, η ίδια μελέτη βρήκε ότι η αύξηση της έκφρασης του γονιδίου της ApoA-I σε ποντίκια οδήγησε σε αύξηση της HDL-C, η οποία συνοδεύτηκε από μία αύξηση της αντιπονεκτίνης του πλάσματος και της έκφρασης της αντιπονεκτίνης στο κοιλιακό λιπώδη ιστό. Υπό αυτή την έννοια, στην παρούσα μελέτη, η HDL-C πιθανώς να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα των μεταβολών της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης, παρά ένα παράγοντα ο οποίος απλώς αντικατοπτρίζει το μεταβολισμό της αντιπονεκτίνης. Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη, βρέθηκαν σχετικά σταθερές συσχετίσεις ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C και στην ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης. Συνεπώς, αυτό το εύρημα είναι μεγάλης κλινικής σημασίας, αφού συσχετίζει την HDL-C με το πιο βιολογικά δραστικό κλάσμα της αντιπονεκτίνης, τη HMW αντιπονεκτίνη (160).

Ο μηχανισμός των προκαλούμενων από την HDL μεταβολών της αντιπονεκτίνης μπορεί να ερμηνεύσει ικανοποιητικά τις διαιτητικά προκαλούμενες μεταβολές της αντιπονεκτίνης, οι οποίες έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα. Συγκεκριμένα, είναι καλά επιβεβαιωμένο ότι η HDL-C μειώνεται κατά τη διάρκεια περιόδων ενεργής απώλειας βάρους, ενώ η HDL-C αυξάνεται κατά τη διάρκεια περιόδων σταθεροποιημένης απώλειας βάρους σε σύγκριση με τις βασικές τιμές (370). Από αυτήν την άποψη, μελέτες απώλειας βάρους οι οποίες διήρκεσαν όχι πάνω από 6 εβδομάδες (ως επί το πλείστον περίοδοι ενεργής απώλειας βάρους), αναφέρουν μείωση στην HDL-C, ενώ μελέτες απώλειας βάρους οι οποίες διήρκεσαν για παρατεταμένες περιόδους (κυρίως περίοδοι σταθεροποιημένης απώλειας βάρους) αναφέρουν αύξηση της HDL-C (370). Η μελέτη της ιατρικής βιβλιογραφίας, σχετικά με την επίδραση της δίαιτας στην αντιπονεκτίνη του πλάσματος, αποκαλύπτει ότι διαιτητικές παρεμβάσεις παρατεταμένης διάρκειας (τουλάχιστον 5 μήνες) αυξάνουν την αντιπονεκτίνη του πλάσματος (372-379), δίαιτες με

πολύ μικρή διάρκεια (λιγότερο από 1 μήνα) μειώνουν την αντιπονεκτίνη του πλάσματος (380) και δίαιτες με ενδιάμεση διάρκεια δεν έχουν στατιστικά σημαντική επίδραση στην αντιπονεκτίνη του πλάσματος (381-386). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι, μεταξύ των μελετών με ενδιάμεση διάρκεια, στις μελέτες με τη μικρότερη διάρκεια η αντιπονεκτίνη του πλάσματος έτεινε να μειωθεί (381,382,384). Επομένως, η μείωση της HDL-C μετά από βραχείας διάρκειας διαιτητικές παρεμβάσεις πιθανώς να προκαλεί μείωση της αντιπονεκτίνης του πλάσματος, ενώ η αύξηση της HDL-C μετά από μακράς διάρκειας διαιτητικές παρεμβάσεις ίσως να επάγει την αύξηση της αντιπονεκτίνης του πλάσματος.

Αξιοσημείωτα, αν και το BMI μειώθηκε κατά τον πρώτο μήνα της δίαιτας, οι ποσοστιαίες μεταβολές της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των BMI, TRG και sdLDL-C. Επίσης, οι ποσοστιαίες μεταβολές της αντιπονεκτίνης και HMW αντιπονεκτίνης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας συσχετίστηκαν με την ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C, στο συνολικό αριθμό των ατόμων που ακολούθησαν τη δίαιτα, ακόμη και αν μερικοί από αυτούς δεν έχασαν βάρος, ενώ οι στατιστικές συσχετίσεις με τις ποσοστιαίες μεταβολές των BMI, TRG και sdLDL-C παρατηρήθηκαν για την αντιπονεκτίνη και όχι για τη HMW αντιπονεκτίνη και μόνο στον υποπληθυσμό των ατόμων που έχασαν βάρος. Παράλληλα, η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι ο μηχανισμός μέσω του οποίου το BMI επηρεάζει την αντιπονεκτίνη του πλάσματος πιθανώς να περιλαμβάνει τη ρύθμιση της HDL-C.

Στην παρούσα μελέτη, η ποσοστιαία μεταβολή της HMW αντιπονεκτίνης, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη, παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C. Αυτό το εύρημα είναι σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης όσον αφορά τη διαιτητική παρέμβαση. Δηλαδή, βρέθηκαν αρκετά σταθερές συσχετίσεις της HDL-C με τη HMW αντιπονεκτίνη και την ολική αντιπονεκτίνη του πλάσματος, κατά τη διάρκεια της διαιτητικής αγωγής και της αγωγής με φαινοφιμπράτη. Άρα, η συσχέτιση ανάμεσα στην HDL-C και τη HMW αντιπονεκτίνη του πλάσματος πιθανώς να μη μπορεί να αποδοθεί στη σχέση της HMW αντιπονεκτίνης με μια συγκεκριμένη μεταβολική οδό η οποία επηρεάζει την HDL-C, αλλά είναι πιθανότερο η HDL-C αυτή καθαυτή να προκαλεί τις μεταβολές της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος. Υπό αυτήν την έννοια, δεδομένης της γνωστής σχέσης της αντιπονεκτίνης με διάφορες καρδιομεταβολικές παραμέτρους, η αντιπονεκτίνη ενδέχεται να αποτελεί το διαμεσολαβητή μερικών από τις καρδιομεταβολικές δράσεις της HDL.

Αυτή ή υπόθεση ενισχύεται από το γεγονός ότι η συσχέτιση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη του πλάσματος και τη Στεφανιαία Νόσο παύει να υφίσταται μετά από στάθμιση για την HDL-C (387). Εκτός αυτού, έχει αναφερθεί ότι χορήγηση ανασυνδυασμένης HDL σε άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 μείωσε τη συγκέντρωση της γλυκόζης του ορού, μέσω αύξησης της ινσουλίνης του ορού και ενεργοποίησης της AMP-ενεργοποιούμενης πρωτεϊνικής κινάσης στους σκελετικούς μύες (388). Όμως, είναι καλά επιβεβαιωμένο ότι η δράση της αντιπονεκτίνης να αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία διαμεσολαβείται μέσω ενεργοποίησης της AMP-ενεργοποιούμενης πρωτεϊνικής κινάσης στους σκελετικούς μύες (160). Οπότε, η αντιπονεκτίνη πιθανώς να συνιστά το διαμεσολαβητή της δράσης της HDL να αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία.

Συμπερασματικά, η HDL-C φαίνεται να αποτελεί τον κύριο καθοριστή της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης του πλάσματος, σε σταθερή μεταβολική κατάσταση, όπως επίσης και κατά τη διάρκεια ιατρικών παρεμβάσεων που μεταβάλλουν την HDL-C, όπως η διαιτητική αγωγή και η αγωγή με φαινοφιμπράτη. Από αυτήν την άποψη, η καλά γνωστή σχέση της αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης με μερικές καρδιομεταβολικές παραμέτρους πιθανώς να αντικατοπτρίζει τη σχέση της HDL-C με αυτές τις παραμέτρους και συνεπώς η αντιπονεκτίνη του πλάσματος ίσως να μη συνιστά ένα ανεξάρτητο καθοριστή της καρδιαγγειακής νόσου. Απαιτείται η διενέργεια επιπλέον μελετών σε ποικίλους πληθυσμούς και με διάφορες θεραπείες προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα προαναφερθέντα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Αξιολογώντας τα όσα προαναφέραμε καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η RBP₄ σχετίζεται πιο στενά με την ApoB και με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν της ApoB, ενώ η αντιπονεκτίνη σχετίζεται καλύτερα με την HDL και με την ApoA-I, η οποία συνιστά την απολιποπρωτεΐνη της HDL.

ΣΤ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Σκοπός: Ο σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στην συνδετική πρωτεΐνη της 4 ρετινόλης (RBP₄) και στις αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες που περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη Β (ΑpoB), ως ενός δυνητικού μηχανισμού που είναι υπεύθυνος για τη συσχέτιση ανάμεσα στην RBP₄ και την καρδιαγγειακή νόσο. Επίσης, σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στην υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL) και την αντιπονεκτίνη.

Μέθοδοι: Σαράντα έξι παχύσαρκοι ή υπέρβαροι ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν ένα από τα εξής τρία σκέλη παρέμβασης, για 3 μήνες: 1) Υποθερμιδική χαμηλών λιπαρών διαίτα (n= 20), 2) Υποθερμιδική χαμηλών λιπαρών διαίτα και φαινοφιμπράτη (n= 18), 3) Υποθερμιδική χαμηλών λιπαρών διαίτα και ριμοναμπάντη (n= 8). Πριν την έναρξη της μελέτης και κατά τη διάρκεια της μελέτης στον 1 μήνα και στους 3 μήνες θεραπείας διενεργήθηκαν οι εξής μετρήσεις: ανθρωπομετρικές μετρήσεις, γλυκόζη ορού, ινσουλίνη ορού, πλήρες λιπιδαιμικό προφίλ, ανάλυση υποκλασμάτων της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL-C), μέτρηση της RBP₄ του πλάσματος, της ολικής αντιπονεκτίνης και της υψηλού μοριακού βάρους (HMW) αντιπονεκτίνης

Αποτελέσματα για RBP₄: Η συγκέντρωση της RBP₄ στο πλάσμα μειώθηκε στους ασθενείς μετά από 3 μήνες δίαιτας. Η RBP₄ του πλάσματος στον 1 μήνα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της ΑpoB και των μικρών πυκνών LDL (sdLDL) κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας. Η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή των τριγλυκεριδίων, της πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (VLDL-C), της LDL-C, της ΑpoB και της sdLDL-C. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η ποσοστιαία μεταβολή της RBP₄ κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας ήταν ο πιο ισχυρός ανεξάρτητος καθοριστής των ποσοστιαίων μεταβολών της ΑpoB και της sdLDL-C. Η αγωγή με φαινοφιμπράτη προκάλεσε αύξηση στην RBP₄ του πλάσματος, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα, λόγω της μείωσης της νεφρικής κάθαρσης της RBP₄ από τη φαινοφιμπράτη, και ακολούθως μείωση της RBP₄ του πλάσματος, κατά τη διάρκεια των επόμενων 2 μηνών, ως αποτέλεσμα της μεταβολικής δράσης της φαινοφιμπράτης. Η χορήγηση rimonabant μείωσε την RBP₄ του πλάσματος.

Αποτελέσματα για αντιπονεκτίνη: Η συγκέντρωση της ολικής αντιπονεκτίνης στο πλάσμα δε μεταβλήθηκε στατιστικά σημαντικά, κατά τη διάρκεια της δίαιτας. Στην

υποομάδα των ασθενών, στους οποίους η HDL-C μειώθηκε κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας, παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της ολικής αντιπονεκτίνης. Στην υποομάδα των ασθενών, στους οποίους η HDL-C αυξήθηκε κατά τη διάρκεια των επόμενων 2 μηνών της δίαιτας, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της ολικής αντιπονεκτίνης κατά τους 2 μήνες. Η ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της ολικής αντιπονεκτίνης. Η ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας παρουσίασε θετική συσχέτιση με τις ποσοστιαίες μεταβολές των συγκεντρώσεων της ολικής αντιπονεκτίνης και της HMW αντιπονεκτίνης. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της ολικής αντιπονεκτίνης, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της δίαιτας, παρουσίασε θετική συσχέτιση με την HDL-C στον πρώτο μήνα της δίαιτας. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της HMW αντιπονεκτίνης, κατά τη διάρκεια των 3 μηνών της δίαιτας, παρουσίασε θετική συσχέτιση με την HDL-C στους 3 μήνες. Η ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης της HMW αντιπονεκτίνης κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της αγωγής με φαινοφιμπράτη παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσοστιαία μεταβολή της HDL-C.

Συμπεράσματα για RBP₄: Η RBP₄ πιθανώς συνδέεται αιτιολογικά με τη μεταβολική οδό που είναι υπεύθυνη για τις μεταβολές των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος που περιέχουν ApoB. Αυτός είναι ένας πιθανός μηχανισμός που ερμηνεύει τη συσχέτιση της RBP₄ με την καρδιαγγειακή νόσο.

Συμπεράσματα για αντιπονεκτίνη: Η HDL-C παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τις μεταβολές της συγκέντρωσης της αντιπονεκτίνης, κατά τη διάρκεια διαιτητικής αγωγής και αγωγής με φαινοφιμπράτη.

Z. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ

Objective: The objective of this study was the investigation of the relationship between retinol binding protein 4 (RBP₄) and atherogenic apolipoprotein B (ApoB)-containing lipoproteins, as a possible mechanism underlying the association between RBP₄ and cardiovascular disease. Moreover, this study aimed to investigate the relationship between high density lipoprotein (HDL) and adiponectin.

Design: Forty six obese or overweight subjects [body mass index (BMI) ≥ 27 Kg/m²] with hypertriglyceridemia underwent one of the following interventions for 3 months: 1) Low-calorie low-fat diet (n= 20), 2) Low-calorie low-fat diet plus fenofibrate (n= 18), 3) Low-calorie low-fat diet plus rimonabant (n= 8). At baseline, at one month and at 3 months of treatment the following measurements were performed: anthropometric measurements, serum glucose, serum insulin, lipidemic profile, analysis of low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) subfractions, plasma concentration of RBP₄, plasma total adiponectin levels and plasma high molecular weight (HMW) adiponectin levels.

Results for RBP₄: Circulating RBP₄ decreased over 3 months of diet. RBP₄ levels at one month of diet were positively correlated with the percentage change of Apolipoprotein B (ApoB) and small dense LDL (sdLDL) over one month of diet. The percentage change of circulating RBP₄ over 3 months of diet was positively correlated with the percentage change of serum triglycerides, very low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C), LDL-C, ApoB and sdLDL-C. In multivariate analysis, the percentage change of circulating RBP₄ over 3 months of diet was the most powerful independent predictor of the percentage changes of ApoB and sdLDL-C. Fenofibrate treatment induced an increase in circulating RBP₄ over the first month, because of the fenofibrate-induced reduction in renal clearance of RBP₄, and a subsequent reduction of plasma RBP₄ levels over the later 2 months, that was attributed to the metabolic action of fenofibrate. Rimonabant treatment reduced circulating RBP₄.

Results for adiponectin: Circulating total adiponectin did not change significantly during diet. In the subgroup of patients whose HDL-C decreased over the first month of diet, a decrease in circulating total adiponectin was found. In the subgroup of patients whose HDL-C increased over the later 2 months of diet, an increase in circulating total adiponectin over the 2 months was found. The percentage change of HDL-C over the first month of diet was positively correlated with the percentage change of circulating total adiponectin. The percentage change of HDL-C over 3 months of diet was positively

correlated with the percentage changes of circulating total adiponectin and HMW adiponectin. The change in circulating total adiponectin over the first month of diet was positively correlated with HDL-C at one month. The change in HMW adiponectin over 3 months of diet was positively correlated with HDL-C at 3 months. The percentage change of circulating HMW adiponectin over the first month of fenofibrate treatment was positively correlated with the percentage change of HDL-C.

Conclusions for RBP4: RBP₄ is possibly linked with the metabolic pathway, that is responsible for the changes of ApoB-containing lipoproteins. This mechanism could interpret the relationship between RBP₄ and cardiovascular disease.

Conclusions for adiponectin: HDL is positively correlated with the changes in circulating adiponectin, during dietary and fenofibrate treatment.

Ο συγγραφέας ευχαριστεί το Ερευνητικό Κέντρο Αθηροθρόμβωσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την πρόσβαση στις υπηρεσίες του Κέντρου.

H. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Goodman DeW.S. Plasma Retinol-Binding Protein. *Annals New York Academy of Sciences*. 1980; 32: 378-390.
2. Newcomer M.E., Jones T.A., Aqvist J., Sundelin J., Eriksson U., Rask L., P.A. Peterson P.A. The three-dimensional structure of retinol-binding protein. *The EMBO Journal*. 1984; 3: 1451-1454.
3. Newcomer M. E. Retinoid-binding proteins: structural determinants important for function. *FASEB J*. 1995; 9: 229-239.
4. Zanotti G, Berni R. Plasma retinol-binding protein: structure and interactions with retinol, retinoids, and transthyretin. *Vitam Horm*. 2004; 69: 271-295.
5. Naylor HM, Newcomer ME. The structure of human retinol-binding protein (RBP) with its carrier protein transthyretin reveals an interaction with the carboxy terminus of RBP. *Biochemistry*. 1999; 38(9): 2647-2453.
6. Tsutsumi, C., Okuno, M., Tannous, L., Piantedosi, R., Allan, M., Goodman, D. S., Blaner, W. S. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J. Biol. Chem*. 1992; 267: 1805-1810.
7. Fleck A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute-phase proteins during inflammation. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1989; 48: 347-354.
8. Holm J., Hemmingsen L., Nielsen N.V. Low-molecular-mass proteinuria as a marker of proximal renal tubular dysfunction in normo- and microalbuminuric Non-Insulin-Dependent Diabetic subjects. *CLIN. CHEM*. 1993; 39: 517-519.
9. Gonick H.C. Nephrotoxicity of cadmium & lead. *Indian J Med Res*. 2008; 128: 335-352.
10. Greene L.H., Chrysina E.D., Irons L.I., Papageorgiou A.C., Acharya K.R., Brew K. Role of conserved residues in structure and stability: Tryptophans of human serum retinol-binding protein, a model for the lipocalin superfamily. *Protein Science*. 2001; 10: 2301-2316.
11. Pervaiz S., Brew K.. Homology and structure-function correlations between α 1-acid glycoprotein and serum retinol-binding protein and its relatives. *FASEB J*. 1987; 1: 209-214.
12. Stryer L., Freeman W.H. *BIOXHMEIA*. ΤΟΜΟΣ Ι. ΤΡΙΤΗ ΕΚΔΟΣΗ. 1997; Κεφάλαιο 20: Σελίδες 338, 497-498.

13. Ross A. C., Zolfaghari R. Regulation of Hepatic Retinol Metabolism: Perspectives from Studies on Vitamin A Status. *J. Nutr.* 2004; 134: 269–275.
14. Blaner, W. S. STRA6, a Cell-Surface Receptor for Retinol-Binding Protein: The Plot Thickens. *Cell Metabolism.* 2007; 5: 164-166.
15. Cho, Y. M., Youn, B. S., Lee, H., Lee, N., Min, S. S., Kwak, S. H., Lee, H. K., Park, K. S. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2006; 29: 2457-2461.
16. Gavi S., Stuart L.M., Kelly P., Melendez M.M., Mynarcik D.C., Gelato M.S., McNurlan M.A. Retinol-binding protein 4 is associated with insulin resistance and body fat distribution in nonobese subjects without type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2007; 92:1886-1890.
17. An C, Wang H, Liu X, Li Y, Su Y, Gao X, Jiang W. Serum retinol-binding protein 4 is elevated and positively associated with insulin resistance in postmenopausal women. *Endocr J.* 2009; 56(8): 987-996.
18. Qi Q, Yu Z, Ye X, Zhao F, Huang P, Hu FB, Franco OH, Wang J, Li H, Liu Y, Lin X. Elevated Retinol-binding protein 4 levels are associated with Metabolic Syndrome in Chinese people. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 2007; 92(12): 4827-4834.
19. Hermsdorff HH, Zulet MA, Puchau B, Martínez JA. Central adiposity rather than total adiposity measurements are specifically involved in the inflammatory status from healthy young adults. *Inflammation.* 2011; 34(3): 161-170.
20. Yang, Q., Graham, T. E., Mody, N., Preitner, F., Peroni, O. D., Zabolotny, J. M., Kotani, K., Quadro, L., Kahn, B. B. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature.* 2005; 436(7049): 356-362.
21. Graham, T. E., Yang, Q., Bluher, M., Hammarstedt, A., Ciaraldi, T. P., Henry, R. R., Wason, C. J., Oberbach, A., Jansson, P., Smith, U., Kahn, B. B. Retinol-Binding Protein 4 and Insulin Resistance in Lean, Obese, and Diabetic Subjects. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2552-2563.
22. Kloting, N., Graham T. E., Berndt, J., Kralisch, S., Kovacs, P., Wason, C. J., Fasshauer, M., Schon, M. R., Stumvoll, M., Bluher, M., Kahn, B. B. Serum Retinol-Binding Protein is more highly expressed in visceral than in subcutaneous adipose tissue and is a marker of intra-abdominal fat mass. *Cell Metabolism.* 2007; 6: 79-87.

23. Kemp SF & Frindik JP. Effect of metabolic control on serum protein concentrations in diabetes. *Acta Paediatrica Scandinavica*. 1991; 80(10): 938-943.
24. Basu TK, Tze WJ & Leichter J. Serum vitamin A and retinol-binding protein in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1989; 50(2): 329-331.
25. Jourdan M, Jaleel A, Karakelides H, Ford GC, Kahn BB & Nair KS. Impact of type 1 diabetes and insulin treatment on plasma levels and fractional synthesis rate of retinol-binding protein 4. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009; 94(12): 5125-5130.
26. Krill D, O'Leary L, Koehler AN, Kramer MK, Warty V, Wagner MA & Dorman JS. Association of retinol binding protein in multiple-case families with insulin-dependent diabetes. *Human Biology*. 1997; 69(1): 89-96.
27. Chan TF, Chen HS, Chen YC, Lee CH, Chou FH, Chen IJ, Chen SY, Jong SB & Tsai EM. Increased serum retinol-binding protein 4 concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Reproductive Sciences*. 2007; 14(2): 169-174.
28. Su Y, Hong J, Yan Q, Xu C, Gu W, Zhang Y, Shen C, Chi Z, Dai M, Xu M, Zhang Y, Liu Q, Wang WQ, Li XY & Ning G. Increased serum retinol-binding protein-4 levels in pregnant women with and without gestational diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism*. 2010; 36: 470-475.
29. Stefan N., Hennige A.M., Staiger H., Machann J., Shick F., Schleicher E., Fritsche A., Haring H-U. High circulating retinol-binding protein 4 is associated with elevated liver fat but not with total, subcutaneous, visceral, or intramyocellular fat in humans. *Diabetes Care*. 2007; 30: 1173-1178.
30. Ribel-Madsen R, Friedrichsen M, Vaag A, Poulsen P. Retinol-binding protein 4 in twins: regulatory mechanisms and impact of circulating and tissue expression levels on insulin secretion and action. *Diabetes*. 2009; 58(1): 54-60.
31. DeFronzo RA, Gunnarsson R, Björkman O, Olsson M & Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*. 1985; 76(1): 149-155.
32. Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, Minnemann T, Shulman GI & Kahn BB. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*. 2001; 409(6821): 729-733.

33. Ost A., Danniellsson A., Liden M., Eriksson U., Nystrom F.H., Stralfors P. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin-induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes. *The FASEB Journal*. 2007; 21(13): 3696-3704.
34. Yao-Borengasser A, Varma V, Bodles AM, Rasouli N, Phanavanh B, Lee MJ, Starks T, Kern LM, Spencer HJ 3rd, Rashidi AA, McGehee RE Jr, Fried SK, Kern PA. Retinol binding protein 4 expression in humans: relationship to insulin resistance, inflammation, and response to pioglitazone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(7): 2590-2597.
35. Janke J, Engeli S, Boschmann M, Adams F, Böhnke J, Luft FC, Sharma AM, Jordan J. Retinol-binding protein 4 in human obesity. *Diabetes*. 2006; 55(10): 2805-2810.
36. Zeyda M & Stulnig TM. Obesity inflammation and insulin resistance- A mini- Review. *Gerontology*. 2009 55 379-386.
37. Balagopal P, Graham TE, Kahn BB, Altomare A, Funanage V, George D. Reduction of elevated serum retinol binding protein in obese children by lifestyle intervention: association with subclinical inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(5): 1971-1974.
38. Erikstrup C, Mortensen OH, Nielsen AR, Fischer CP, Plomgaard P, Petersen AM, Krogh-Madsen R, Lindegaard B, Erhardt JG, Ullum H, Benn CS, Pedersen BK. RBP-to-retinol ratio, but not total RBP, is elevated in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2009; 11(3): 204-212.
39. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *FASEB J*. 2003; 17(8): 884-886.
40. Wallenius V, Elias E, Bergstrom GM, Zetterberg H, Behre CJ. The lipocalins retinol-binding protein-4, lipocalin-2 and lipocalin-type prostaglandin D2-synthase correlate with markers of inflammatory activity, alcohol intake and blood lipids, but not with insulin sensitivity in metabolically healthy 58-year-old Swedish men. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011; 119(2): 75-80.
41. Sell H, Eckel J. Regulation of retinol binding protein 4 production in primary human adipocytes by adiponectin, troglitazone and TNF- α . *Diabetologia*. 2007; 50(10): 2221-2223.

42. Zobali F, Avci A, Canbolat O, Karasu C. Effects of vitamin A and insulin on the antioxidative state of diabetic rat heart: a comparison study with combination treatment. *Cell Biochem Funct.* 2002; 20(2): 75-80.
43. Kos K, Wong S, Tan BK, Kerrigan D, Randeva HS, Pinkney JH, Wilding JP. Human RBP4 adipose tissue expression is gender specific and influenced by leptin. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011; 74(2): 197-205.
44. Jia W, Wu H, Bao Y, Wang C, Lu J, Zhu J, Xiang K. Association of serum retinol binding protein 4 and visceral adiposity in Chinese subjects with and without type 2 diabetes. *J Clin Endocrine Metab.* 2007; 92(8): 3224-9.
45. Tetsuya T., Takeshi O., Kengo M., Masako Z., Kunichi K., Yushi H., Hideaki K., Masahiko F., Kazuro S., Masato K. Effects of pioglitazone and metformin on intracellular lipid content in liver and skeletal muscle of individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental.* 2007; 56: 1418-1424.
46. Lin K-D, Chang Y-H, Wang C-L, Yang Y-H, Hsiao P-J, Li T-H, Shin S-J. Thiazolidinedione addition reduces the serum retinol-binding protein 4 in type 2 diabetic patients treated with metformin and sulfonylurea. *Translational Research* 2008; 151(6): 309-314.
47. Pfützner A, Schöndorf T, Hanefeld M, Lübben G, Kann PH, Karagiannis E, Wilhelm B, Forst T. Changes in insulin resistance and cardiovascular risk induced by PPARgamma activation have no impact on RBP4 plasma concentrations in nondiabetic patients. *Horm Metab Res.* 2009; 41(3): 202-206.
48. You SH, Kim BS, Hong SJ, Ahn CM, Lim DS. The effects of pioglitazone in reducing atherosclerosis progression and neointima volume in type 2 diabetic patients: prospective randomized study with volumetric intravascular ultrasonography analysis. *Korean Circ J.* 2010; 40(12): 625-631.
49. Derosa G., Maffioli P., Salvadeo S.A., Ferrari I., Ragonesi P.D., Quersi F., Franzetti I.G., Gadaleta G., Ciccarelli L., Piccinni M.N., D'Angelo A., Cicero A.F. Exenatide versus glibenclamide in patients with diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 2010; 12 (3): 233-240.
50. Derosa G, Maffioli P, D'Angelo A, Fogari E, Bianchi L, Cicero AF. Acarbose on insulin resistance after an oral fat load: a double-blind, placebo controlled study. *J Diabetes Complications.* 2011; 25(4): 258-266.

51. Haider DG, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M, Ludvik B. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(3): 1168-1171.
52. Ingelsson E., Sundstrom J., Melhus H., Michaelsson K., Berne C., Vasan R.S., Riserus U., Blomhoff R., Lind L., Arnlov J. Circulating retinol-binding protein 4, cardiovascular risk factors and prevalent cardiovascular disease in elderly. *Atherosclerosis.* 2009; 206(1): 38-39.
53. Lee DC, Lee JW, Im JA. Association of serum retinol binding protein 4 and insulin resistance in apparently healthy adolescents. *Metabolism.* 2007; 56(3): 327-331.
54. Lee JW, Im JA, Lee HR, Shim JY, Youn BS, Lee DC. Visceral adiposity is associated with serum retinol binding protein-4 levels in healthy women. *Obesity (Silver Spring).* 2007; 15(9): 2225-2232.
55. Lee JW, Lee HR, Shim JY, Im JA, Lee DC. Abdominal visceral fat reduction is associated with favorable changes of serum retinol binding protein-4 in nondiabetic subjects. *Endocr J.* 2008; 55(5): 811-818.
56. Silha J.V., Nyommba B.L.G., Leslie W.D., Murphy L.J. Ethnicity, insulin resistance and inflammatory adipokines in women at high and low risk for vascular disease. *Diabetes Care.* 2007; 30: 286-291.
57. Haiya W., Weiping J., Yuqian B., Junxi L., Jiehua Z., Ren W., Yaqing C., Kunsan X. Serum retinol binding protein4 and nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008; 79(2): 185-190.
58. Seo J.A., Kim N.H., Park S.Y., Kim H.Y., Ryu O.H., Lee K.W., Lee J., Kim D.L., Choi K.M., Baik S.H., Choi D.S., Kim S.G. Serum retinol-binding protein 4 levels are elevated in non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Endocrinology.* 2008 ; 68(4): 555-560.
59. Perseghin G., Lattuada G., Cobelli F.D., Esposito A., Belloni E., Canu T., Ragogna F., Scifo P., Maschio A.D., Luzi L. Serum retinol binding protein 4, leptin and adiponectin concentrations are related to ectopic fat accumulation. *The Journal of Clinical Endocrinology.* 2007; 92(12): 4883-4888.
60. Shin MJ, Kang SM, Jang Y, Lee JH, Oh J, Chung JH, Chung N. Serum retinol binding protein 4 levels are associated with serum adiponectin levels in non-diabetic, non-obese subjects with hypercholesterolemia. *Clinica Chimica Acta.* 2007; 378: 227-229.

61. Choi SH, Lee YJ, Park YJ, Kim KW, Lee EJ, Lim S, Park do J, Kim SE, Park KS, Jang HC, Cho BY. Retinol binding protein-4 elevation is associated with serum thyroid-stimulating hormone level independently of obesity in elderly subjects with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(6): 2313-2318.
62. Makino S, Fujiwara M, Suzukawa K, Handa H, Fujie T, Ohtaka Y, Komatsu Y, Aoki Y, Maruyama H, Terada Y, Hashimoto K, Sugimoto T. Visceral obesity is associated with the metabolic syndrome and elevated plasma retinol binding protein-4 level in obstructive sleep apnea syndrome. *Horm Metab Res.* 2009; 41(3): 221-226.
63. Lim S, Yoon J.W., Choi S.H., Park Y.J., Lee J.J., Park J.H., Lee S.B., Kim K.W., Lim J.Y., Kim Y.B., Park K.S., Lee H.K., Cho S.I., Jang H.C. Combined impact of adiponectin and retinol-binding protein 4 on Metabolic Syndrome in elderly people: The Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *Obesity* 2010; 18: 826-832.
64. Sasaki M., Otani T., Kawakami M., Ishikawa S. Elevation of plasma retinol-binding protein 4 and reduction of plasma adiponectin in subjects with cerebral infarction. *Metabolism Clinical and Experimental.* 2010; 59: 527-532.
65. Usui S, Ichimura M, Ikeda S, Okamoto M. Association between serum retinol-binding protein 4 and small dense low-density lipoprotein cholesterol levels in young adult women. *Clinica Chimica Acta.* 2009; 399: 45-48.
66. Park SE, Kim DH, Lee JH, Park JS, Kang ES, Ahn CW, Lee HC, Cha BS. Retinol-binding protein-4 is associated with endothelial dysfunction in adults with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 2009; 204(1): 23-25.
67. Broch M, Auguet MT, Ramírez R, Olona M, Aguilar C, Megia A, Alcaide MJ, Pastor R, Martínez S, Caubet E, Garcia-España A, Richart C. Parallel downregulation of retinol-binding protein-4 and adiponectin expression in subcutaneous adipose tissue of non-morbidly obese subjects. *Eur J Endocrinol.* 2009; 161(1): 87-94.
68. Shim CY, Park S, Kim JS, Shin DJ, Ko YG, Kang SM, Choi D, Ha JW, Jang Y, Chung N. Association of plasma retinol-binding protein 4, adiponectin, and high molecular weight adiponectin with insulin resistance in non-diabetic hypertensive patients. *Yonsei Med J.* 2010; 51(3): 375-384.
69. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail M, Draz HM, Bamakhramah A, Sabico S. Retinol binding protein-4 is associated with TNF-alpha and not insulin resistance in subjects with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Dis Markers.* 2009; 26(3): 135-140.

70. Lim S, Choi SH, Jeong IK, Kim JH, Moon MK, Park KS, Lee HK, Kim YB, Jang HC. Insulin-sensitizing effects of exercise on adiponectin and retinol-binding protein-4 concentrations in young and middle-aged women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 ; 93(6): 2263-2268.
71. Sell H, Eckel J. Regulation of retinol binding protein 4 production in primary human adipocytes by adiponectin, troglitazone and TNF-alpha. *Diabetologia.* 2007; 50(10): 2221-2223.
72. Guerre-Millo M. Adiponectin: an update. *Diabetes & Metabolism.* 2008; 34: 12-18.
73. Volek JS, Phinney SD, Forsythe CE, Quann EE, Wood RJ, Puglisi MJ, Kraemer WJ, Bibus DM, Fernandez ML, Feinman RD. Carbohydrate restriction has a more favorable impact on the metabolic syndrome than a low fat diet. *Lipids.* 2009; 44(4): 297-309.
74. Zhang W, Della-Fera MA, Hartzell DL, Hausman D, Baile CA. Adipose tissue gene expression profiles in ob/ob mice treated with leptin. *Life Sci.* 2008; 83 (1-2): 35-42.
75. Qi Q, Wang J, Li H, Yu Z, Ye X, Hu FB, Franco OH, Pan A, Liu Y, Lin X. 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): 585-593.
76. Yildiz BO, Bozdogan G, Otegen U, Harmanci A, Boynukalin K, Vural Z, Kirazli S, Yarali H. Visfatin and retinol-binding protein 4 concentrations in lean, glucose-tolerant women with PCOS. *Reprod Biomed Online.* 2010; 20(1): 150-155.
77. Makino S, Fujiwara M, Suzukawa K, Handa H, Fujie T, Ohtaka Y, Komatsu Y, Aoki Y, Maruyama H, Terada Y, Hashimoto K, Sugimoto T. Visceral obesity is associated with the metabolic syndrome and elevated plasma retinol binding protein-4 level in obstructive sleep apnea syndrome. *Horm Metab Res.* 2009; 41(3): 221-226.
78. Nena E, Steiropoulos P, Tzouveleakis A, Tsara V, Hatzizisi O, Kyriazis G, Froudarakis M, Trakada G, Papanas N, Bouros D. Reduction of serum retinol-binding protein-4 levels in nondiabetic obstructive sleep apnea patients under continuous positive airway pressure treatment. *Respiration.* 2010; 80(6): 517-523.
79. Chan DC, Watts GF, Ng TW, Yamashita S, Barrett PH. Effect of weight loss on markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism in the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest.* 2008; 38(10): 743-751.

80. Chan DC, Watts GF, Gan S, Wong AT, Ooi EM, Barrett PH. Nonalcoholic fatty liver disease as the transducer of hepatic oversecretion of very-low-density lipoprotein-apolipoprotein B-100 in obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30(5): 1043-1050.
81. Ng TW, Watts GF, Barrett PH, Rye KA, Chan DC. Effect of weight loss on LDL and HDL kinetics in the Metabolic Syndrome: associations with changes in plasma retinol-binding protein-4 and adiponectin levels. *Diabetes Care.* 2007; 30: 2945-2950.
82. Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Retinol-binding protein 4 and its relation to insulin resistance in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(6): 2287-2293.
83. Mitterberger MC, Mattesich M, Klaver E, Lechner S, Engelhardt T, Larcher L, Pierer G, Piza-Katzer H, Zwerschke W. Adipokine profile and insulin sensitivity in formerly obese women subjected to bariatric surgery or diet-induced long-term caloric restriction. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2010; 65(9): 915-923.
84. Hermsdorff HH, Zulet MA, Abete I, Martínez JA. Discriminated benefits of a Mediterranean dietary pattern within a hypocaloric diet program on plasma RBP4 concentrations and other inflammatory markers in obese subjects. *Endocrine.* 2009; 36(3): 445-451.
85. Vitkova M, Klimcakova E, Kovacikova M, Valle C, Moro C, Polak J, Hanacek J, Capel F, Viguerie N, Richterova B, Bajzova M, Hejnova J, Stich V, Langin D. Plasma levels and adipose tissue messenger ribonucleic acid expression of retinol-binding protein 4 are reduced during calorie restriction in obese subjects but are not related to diet-induced changes in insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(6): 2330-2335.
86. Yu Z, Ye X, Wang J, Qi Q, Franco OH, Rennie KL, Pan A, Li H, Liu Y, Hu FB, Lin X. Associations of physical activity with inflammatory factors, adipocytokines, and metabolic syndrome in middle-aged and older chinese people. *Circulation.* 2009; 119(23): 2969-2977.
87. Ku YH, Han KA, Ahn H, Kwon H, Koo BK, Kim HC, Min KW. Resistance exercise did not alter intramuscular adipose tissue but reduced retinol-binding protein-4 concentration in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res.* 2010; 38(3): 782-791.

88. Choi KM, Kim TN, Yoo HJ, Lee KW, Cho GJ, Hwang TG, Baik SH, Choi DS, Kim SM. Effect of exercise training on A-FABP, lipocalin-2 and RBP4 levels in obese women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009; 70(4): 569-574.
89. Bradley RL, Jeon JY, Liu FF, Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 295(3): E586-94.
90. Derosa G, Maffioli P, Ferrari I, D'Angelo A, Fogari E, Palumbo I, Randazzo S, Cicero AF. Orlistat and L-carnitine compared to orlistat alone on insulin resistance in obese diabetic patients. *Endocr J*. 2010; 57(9): 777-786.
91. Derosa G, Maffioli P, Salvadeo SA, Ferrari I, Gravina A, Mereu R, D'Angelo A, Palumbo I, Randazzo S, Cicero AF. Sibutramine and L-carnitine compared to sibutramine alone on insulin resistance in diabetic patients. *Intern Med*. 2010; 49(16): 1717-1725.
92. Mohapatra J, Sharma M, Singh S, Pandya G, Chatterjee A, Balaraman R, Patel PR, Jain MR. Involvement of adipokines in rimonabant-mediated insulin sensitivity in ob/ob mice. *J Pharm Pharmacol*. 2009; 61(11): 1493-1498.
93. Mohapatra J, Sharma M, Acharya A, Pandya G, Chatterjee A, Balaraman R, Jain MR. Retinol Binding Protein 4: a possible role in cardiovascular complications. *Br J Pharmacol*. 2011 May 17. [Epub ahead of print]
94. Swarbrick MM, Stanhope KL, Austrheim-Smith IT, Van Loan MD, Ali MR, Wolfe BM, Havel PJ. Longitudinal changes in pancreatic and adipocyte hormones following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetologia*. 2008; 51(10): 1901-1911.
95. Broch M, Gómez JM, Auguet MT, Vilarrasa N, Pastor R, Elio I, Olona M, García-España A, Richart C. Association of retinol-binding protein-4 (RBP4) with lipid parameters in obese women. *Obes Surg*. 2010; 20(9): 1258-1264.
96. Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Catalán V, Ramírez B, Silva C, Rotellar F, Gil MJ, Salvador J, Frühbeck G. Serum retinol-binding protein 4 is not increased in obesity or obesity-associated type 2 diabetes mellitus, but is reduced after relevant reductions in body fat following gastric bypass. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008; 69(2): 208-215.
97. Tschoner A, Sturm W, Engl J, Kaser S, Laimer M, Laimer E, Weiss H, Patsch JR, Ebenbichler CF. Retinol-binding protein 4, visceral fat, and the metabolic syndrome: effects of weight loss. *Obesity*. 2008; 16(11): 2439-2444.

98. Lin C.C., Lai M.M., Li T.C., Li C.I., Liu C.S., Chen C.C., Wu M.T. Relationship between serum retinol-binding protein 4 and visfatin and the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009; 85(1): 24-29.
99. Yoshida A, Matsutani Y, Fukuchi Y, Saito K, Naito M. Analysis of the factors contributing to serum retinol binding protein and transthyreyin levels in Japanese adults. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis.* 2006; 13: 209-215.
100. Mallat Z., Simon T., Benessiano J., Clement K., Taleb S., Wareham N.J., Luben R., Khaw K.T., Tedgui A., Boekholdt S.M. Retinol-binding protein 4 and prediction of incident coronary events in healthy men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94(1): 255-260.
101. Von Eyatten M., Lepper P.M., Liu D., Lang K., Baumann M., Nawroth P.P., Bierhaus A., Dugi K.A., Heemann U., Allolio B., Humpert P.M. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia.* 2007; 50(9): 1930-1937.
102. Muggeo M., Zenti M.G., Travia D., Sartori A., Trimloni S., Grigolini L., Graziani M.S., Cigolini M. Serum retinol levels throughout 2 years of cholesterol-lowering therapy. *Metabolism.* 1995; 44(3): 398-403.
103. Szendroedi J., Anderwald C., Krssak M., Bayerle-Eder M., Esterbauer H., Pfeiler G., Brehm A., Nowotny P., Hofer A., Waldhausl W., Roden M. Effects of high-dose simvastatin therapy on glucose metabolism and ectopic lipid deposition in nonobese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2009; 32(2): 209-214.
104. Takebayashi K., Suetsugu M., Matsumoto S., Aso Y., Inukai T. Effects of rosuvastatin and colestimide on metabolic parameters and urinary monocyte chemoattractant protein-1 in type 2 diabetic patients with hyperlipidemia. *Southern Medical Journal.* 2009; 102(4): 361-368.
105. Wu H., Wei L., Bao Y., Lu J., Huamg P., Liu Y., Jia W., Xiang K. Fenofibrate reduces serum retinil-binding protein-4 by suppressing its expression in adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296: 628-634.
106. Chan DC, Watts GF, Gan SK, Ooi EM, Barrett PH. Effect of ezetimibe on hepatic fat, inflammatory markers, and apolipoprotein B-100 kinetics in insulin-resistant obese subjects on a weight loss diet. *Diabetes Care.* 2010; 33(5): 1134-1139.

107. Cabre A., Lazaro I., Girona J., Manzanares ., arimon F., Plana N., Heras M., Masana L. Retinol-binding protein 4 as a plasma biomarker of renal dysfunction and cardiovascular disease. *J. Intern. Med.* 2007; 262: 496-503.
108. Ingelsson E., Lind L. Circulating retinol binding protein 4 and subclinical cardiovascular disease in the elderly. *Diabetes Care.* 2009; 32: 733-735.
109. Solini A., Santini E., Madec S., Rossi C., Muscelli E. Retinol-binding protein-4 in women with untreated essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2009; 22: 1001-1006.
110. Bobbert T, Raila J, Schwarz F, Mai K, Henze A, Pfeiffer AF, Schweigert FJ, Spranger J. Relation between retinol, retinol-binding protein 4, transthyretin and carotid intima media thickness. *Atherosclerosis.* 2010; 213(2): 549-551.
111. Weiping L, Qingfeng C, Shikun M, Xiurong L, Hua Q, Xiaoshu B, Suhua Z, Qifu L. Elevated serum RBP4 is associated with insulin resistance in women with Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine.* 2006; 30: 283-287.
112. Tan B.K., Chen J., Lehnert H., Kennedy R., Randeva H.S. Raised serum, adipocyte, and adipose tissue retinol-binding protein 4 in overweight women with Polycystic Ovary Syndrome: Effects of gonadal and adrenal steroids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(7): 2764-2772.
113. Lee JW, Im JA, Lee DC, Lee HR, Shim JY. Retinol-binding protein in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008; 68(5): 786-790.
114. Chan TF, Tsai YC, Chiu PR, Chen YL, Lee CH, Tsai EM. Serum retinol-binding protein 4 levels in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2010; 93(3): 869-873
115. Hahn S, Backhaus M, Broecker-Preuss M, Tan S, Dietz T, Kimmig R, Schmidt M, Mann K, Janssen OE. Retinol-binding protein 4 levels are elevated in polycystic ovary syndrome women with obesity and impaired glucose metabolism. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157(2): 201-207.
116. Barber TM, Hazell M, Christodoulides C, Golding SJ, Alvey C, Burling K, Vidal-Puig A, Groome NP, Wass JA, Franks S, McCarthy MI. Serum levels of retinol-binding protein 4 and adiponectin in women with polycystic ovary syndrome: associations with visceral fat but no evidence for fat mass-independent effects on pathogenesis in this condition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(7): 2859-2865.

117. Hutchison SK, Harrison C, Stepto N, Meyer C, Teede HJ. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care*. 2008; 31(7): 1427-1432.
118. Diamanti-Kandarakis E, Livadas S, Kandarakis SA, Papassotiriou I, Margeli A. Low free plasma levels of retinol-binding protein 4 in insulin-resistant subjects with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2008; 31(11): 950-955.
119. Möhlig M, Weickert MO, Ghadamgahi E, Arafat AM, Spranger J, Pfeiffer AF, Schöfl C. Retinol-binding protein 4 is associated with insulin resistance, but appears unsuited for metabolic screening in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2008; 158(4): 517-523.
120. Aigner E, Bachofner N, Klein K, De Geyter C, Hohla F, Patsch W, Datz C. Retinol-binding protein 4 in polycystic ovary syndrome--association with steroid hormones and response to pioglitazone treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(4): 1229-1235.
121. Kaila B, Raman M. Obesity: a review of pathogenesis and management strategies. *Can J Gastroenterol*. 2008; 22(1): 61-68.
122. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001; 50(4): 707-709.
123. Degen L, Oesch S, Casanova M, Graf S, Ketterer S, Drewe J, Beglinger C. Effect of peptide YY3-36 on food intake in humans. *Gastroenterology*. 2005; 129(5): 1430-1436.
124. Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Batterham RL, Park A, Patterson M, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(10): 4696-4701.
125. Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest*. 1998; 101(3): 515-520.
126. Goralski KB, Sinal CJ. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: getting to the fat of the matter. *Can J Physiol Pharmacol*. 2007; 85(1): 113-132.
127. Coleman DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*. 1978; 14(3): 141-148.
128. Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia*. 1973; 9(4): 294-298.

129. Coleman DL, Hummel KP. Effects of parabiosis of normal with genetically diabetic mice. *Am J Physiol.* 1969; 217(5): 1298-1304.
130. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372(6505): 425-32.
131. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell.* 1996; 84(3): 491-495.
132. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995; 83(7): 1263-1271.
133. Huang L, Wang Z, Li C. Modulation of circulating leptin levels by its soluble receptor. *J Biol Chem.* 2001; 276(9): 6343-6349.
134. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature.* 1996; 379(6566): 632-635.
135. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 395(6704): 763-770.
136. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000; 404(6778): 635-643.
137. Wang MY, Orci L, Ravazzola M, Unger RH. Fat storage in adipocytes requires inactivation of leptin's paracrine activity: implications for treatment of human obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(50): 18011-18016.
138. Müller G, Ertl J, Gerl M, Preibisch G. Leptin impairs metabolic actions of insulin in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem.* 1997; 272(16): 10585-10593.
139. Grinspoon S, Gulick T, Askari H, Landt M, Lee K, Anderson E, Ma Z, Vignati L, Bowsher R, Herzog D, Klibanski A. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81(11): 3861-3863.
140. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 1997; 387(6636): 903-908.

141. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 1995; 269(5223): 546-549.
142. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 1995; 269(5223): 543-546.
143. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995; 269(5223): 540-543.
144. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*. 1996; 348(9021): 159-161.
145. Van Heek M, Compton DS, France CF, Tedesco RP, Fawzi AB, Graziano MP, Sybertz EJ, Strader CD, Davis HR Jr. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest*. 1997; 99(3): 385-390.
146. Asilmaz E, Cohen P, Miyazaki M, Dobrzyn P, Ueki K, Fayzikhodjaeva G, Soukas AA, Kahn CR, Ntambi JM, Socci ND, Friedman JM. Site and mechanism of leptin action in a rodent form of congenital lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2004; 113(3): 414-424.
147. Kim JK, Gavrilova O, Chen Y, Reitman ML, Shulman GI. Mechanism of insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice. *J Biol Chem*. 2000; 275(12): 8456-8460.
148. Oral EA, Javor ED, Ding L, Uzel G, Cochran EK, Young JR, DePaoli AM, Holland SM, Gorden P. Leptin replacement therapy modulates circulating lymphocyte subsets and cytokine responsiveness in severe lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(2): 621-628.
149. Pajvani UB, Trujillo ME, Combs TP, Iyengar P, Jelicks L, Roth KA, Kitsis RN, Scherer PE. Fat apoptosis through targeted activation of caspase 8: a new mouse model of inducible and reversible lipodystrophy. *Nat Med*. 2005; 11(7): 797-803.
150. Seip M, Trygstad O. Generalized lipodystrophy, congenital and acquired (lipodystrophy). *Acta Paediatr Suppl*. 1996; 413: 2-28.

151. Lee JH, Chan JL, Sourlas E, Raptopoulos V, Mantzoros CS. Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipoatrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(7): 2605-2611.
152. Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P, Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2002; 346(8): 570-578.
153. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gómez-Reino J, Gualillo O. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford).* 2006; 45(8): 944-950.
154. Otero M, Lago R, Gómez R, Lago F, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Leptin: a metabolic hormone that functions like a proinflammatory adipokine. *Drug News Perspect.* 2006; 19(1): 21-26.
155. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998; 394(6696): 897-901.
156. Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005; 73(1): 9-15.
157. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112(12): 1796-1808.
158. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003; 112(12): 1821-1830.
159. Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumié A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes.* 2004; 53(5): 1285-1292.
160. Guerre-Millo M. Adiponectin: an update *Diabetes & Metabolism* 2008; 34: 12-18.
161. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 1996; 271(18): 10697-10703.

162. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 221(2): 286-289.
163. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995; 270(45): 26746-26749.
164. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab.* 2006; 8(3): 264-280.
165. Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC, Patti ME, Klein SL, Weinstein RS, Scherer PE. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes.* 2003; 52(2): 268-276.
166. Xu A, Chan KW, Hoo RL, Wang Y, Tan KC, Zhang J, Chen B, Lam MC, Tse C, Cooper GJ, Lam KS. Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes. *J Biol Chem.* 2005; 280(18): 18073-18080.
167. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003; 423(6941): 762-769.
168. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002; 8(11): 1288-1295.
169. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 2001; 7(8): 941-946.

170. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med*. 2002; 8(7): 731-737.
171. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE, Ahima RS. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat Med*. 2004; 10(5): 524-529.
172. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 257(1): 79-83.
173. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(1): 295-299.
174. Gavrilu A, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Miller LC, Orlova C, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(10): 4823-4831.
175. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, Shimomura I. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*. 2003; 52(7): 1655-1663.
176. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*. 2001; 50(9): 2094-2099.
177. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem*. 2003; 278(41): 40352-40363.

178. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 2004; 279(13): 12152-12162.
179. Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes.* 2006; 55(1): 249-259.
180. Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(6): 2563-2568.
181. Shimabukuro M, Higa N, Asahi T, Oshiro Y, Takasu N, Tagawa T, Ueda S, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y. Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(7): 3236-3240.
182. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozaawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem.* 2003; 278(4): 2461-2468.
183. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA.* 2004; 291(14): 1730-1737.
184. Dzielińska Z, Januszewicz A, Wiecek A, Demkow M, Makowiecka-Cieśła M, Prejbisz A, Kadziela J, Mielniczuk R, Florczak E, Janas J, Januszewicz M, Rużyłło W. Decreased plasma concentration of a novel anti-inflammatory protein--adiponectin--in hypertensive men with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2003; 110(5-6): 365-369.
185. Ohashi K, Kihara S, Ouchi N, Kumada M, Fujita K, Hiuge A, Hibuse T, Ryo M, Nishizawa H, Maeda N, Maeda K, Shibata R, Walsh K, Funahashi T, Shimomura I. Adiponectin replenishment ameliorates obesity-related hypertension. *Hypertension.* 2006; 47(6): 1108-1116.
186. Tankó LB, Bruun JM, Alexandersen P, Bagger YZ, Richelsen B, Christiansen C, Larsen PJ. Novel associations between bioavailable estradiol and adipokines in elderly women with different phenotypes of obesity: implications for atherogenesis. *Circulation.* 2004; 110(15): 2246-2252.

187. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, Matsuda M, Kondo H, Furuyama N, Kihara S, Nakamura T, Tochino Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002; 51(9): 2734-2741.
188. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001; 409(6818): 307-312.
189. Brown R, Wiesner G, Ur E, Wilkinson M. Pituitary resistin gene expression is upregulated in vitro and in vivo by dexamethasone but is unaffected by rosiglitazone. *Neuroendocrinology*. 2005; 81(1): 41-48.
190. Morash BA, Ur E, Wiesner G, Roy J, Wilkinson M. Pituitary resistin gene expression: effects of age, gender and obesity. *Neuroendocrinology*. 2004; 79(3): 149-156.
191. Tovar S, Nogueiras R, Tung LY, Castañeda TR, Vázquez MJ, Morris A, Williams LM, Dickson SL, Diéguez C. Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *Eur J Endocrinol*. 2005; 153(3): R1-5.
192. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 285(2): 561-564.
193. Yang RZ, Huang Q, Xu A, McLenithan JC, Eisen JA, Shuldiner AR, Alkan S, Gong DW. Comparative studies of resistin expression and phylogenomics in human and mouse. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 310(3): 927-935.
194. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, Bouloumié A. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia*. 2006; 49(4): 744-7447.
195. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res*. 2002; 10(1): 1-5.
196. Bouchard L, Weisnagel SJ, Engert JC, Hudson TJ, Bouchard C, Vohl MC, Pérusse L. Human resistin gene polymorphism is associated with visceral obesity and fasting and oral glucose stimulated C-peptide in the Québec Family Study. *J Endocrinol Invest*. 2004; 27(11): 1003-1009.

197. Pizzuti A, Argiolas A, Di Paola R, Baratta R, Rauseo A, Bozzali M, Vigneri R, Dallapiccola B, Trischitta V, Frittitta L. An ATG repeat in the 3'-untranslated region of the human resistin gene is associated with a decreased risk of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(9): 4403-4406.
198. Smith SR, Bai F, Charbonneau C, Janderová L, Argyropoulos G. A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes.* 2003; 52(7): 1611-1618.
199. Wang H, Chu WS, Hemphill C, Elbein SC. Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(6): 2520-2524.
200. Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, Orlova C, Mantzoros CS. 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(10): 4848-4856.
201. Pfützner A, Langenfeld M, Kunt T, Löbig M, Forst T. Evaluation of human resistin assays with serum from patients with type 2 diabetes and different degrees of insulin resistance. *Clin Lab.* 2003; 49(11-12): 571-576.
202. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science.* 2005; 307(5708): 426-430.
203. Haider DG, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(4): 1578-1581.
204. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology.* 2004; 145(5): 2273-2282.
205. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280(5): E745-E751.

206. Beutler BA, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol.* 1985; 135(6): 3972-3977.
207. Cornelius P, Enerback S, Bjursell G, Olivecrona T, Pekala PH. Regulation of lipoprotein lipase mRNA content in 3T3-L1 cells by tumour necrosis factor. *Biochem J.* 1988; 249(3): 765-769.
208. Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science.* 1985; 229(4716): 867-869.
209. Plata-Salamán CR. Immunoregulators in the nervous system. *Neurosci Biobehav Rev.* 1991; 15(2): 185-215.
210. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 1995; 95(5): 2409-2415.
211. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259(5091): 87-91.
212. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest.* 1995; 95(5): 2111-2119.
213. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, Fortier M, Greenberg AS, Obin MS. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005; 46(11): 2347-2355.
214. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112(12): 1796-1808.
215. Bulló M, García-Lorda P, Peinado-Onsurbe J, Hernández M, Del Castillo D, Argilés JM, Salas-Salvadó J. TNF α expression of subcutaneous adipose tissue in obese and morbid obese females: relationship to adipocyte LPL activity and leptin synthesis. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26(5): 652-658.
216. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996; 271(5249): 665-668.

217. Mingrone G, Rosa G, Di Rocco P, Manco M, Capristo E, Castagneto M, Vettor R, Gasbarrini G, Greco AV. Skeletal muscle triglycerides lowering is associated with net improvement of insulin sensitivity, TNF-alpha reduction and GLUT4 expression enhancement. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26(9): 1165-1172.
218. Xu H, Hirosumi J, Uysal KT, Guler AD, Hotamisligil GS. Exclusive action of transmembrane TNF alpha in adipose tissue leads to reduced adipose mass and local but not systemic insulin resistance. *Endocrinology*. 2002; 143(4): 1502-1511.
219. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2006; 8(3): 264-280.
220. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83(3): 847-850.
221. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(12): 4196-4200.
222. Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 301(4): 1045-1050.
223. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer Res*. 1992; 52(15): 4113-4116.
224. Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem*. 2003; 278(46): 45777-45784.
225. Roytblat L, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, Douvdevani A, Gelman S. Raised interleukin-6 levels in obese patients. *Obes Res*. 2000; 8(9): 673-675.
226. Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, Noh HL, Cho YR, Cline G, Kim YB, Kim JK. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. *Diabetes*. 2004; 53(4): 1060-1067.

227. Klover PJ, Zimmers TA, Koniaris LG, Mooney RA. Chronic exposure to interleukin-6 causes hepatic insulin resistance in mice. *Diabetes*. 2003; 52(11): 2784-2789.
228. Klover PJ, Clementi AH, Mooney RA. Interleukin-6 depletion selectively improves hepatic insulin action in obesity. *Endocrinology*. 2005; 146(8): 3417-3427.
229. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000; 342(24): 1792-1801.
230. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 288(5): H2031-2041.
231. Rega G, Kaun C, Weiss TW, Demyanets S, Zorn G, Kastl SP, Steiner S, Seidinger D, Kopp CW, Frey M, Roehle R, Maurer G, Huber K, Wojta J. Inflammatory cytokines interleukin-6 and oncostatin m induce plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue. *Circulation*. 2005; 111(15): 1938-1945.
232. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular risk: from concept to clinical practice to clinical benefit. *Am Heart J*. 2004; 148(1 Suppl): S19-26.
233. Ganter U, Arcone R, Toniatti C, Morrone G, Ciliberto G. Dual control of C-reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. *EMBO J*. 1989; 8(12): 3773-3779.
234. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990; 265(3): 621-636.
235. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight in Adults. *Am J Clin Nutr*. 1998 ; 68(4): 899-917.
236. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006; 113(6): 898-918.
237. Zeyda M, Stulnig TM. Obesity inflammation and insulin resistance- A mini- Review. *Gerontology*. 2009; 55: 379-386.
238. De Divitiis O, Fazio S, Petitto M, Maddalena G, Contaldo F, Mancini M. Obesity and cardiac function. *Circulation*. 1981; 64: 477– 482.

239. Nakajima T, Fujioka S, Tokunaga K, Matsuzawa Y, Tarui S. Correlation of intraabdominal fat accumulation and left ventricular performance in obesity. *Am J Cardiol.* 1989; 64: 369–373.
240. Arcaro G, Zamboni M, Rossi L, Turcato E, Covi G, Armellini F, Bosello O, Lechi A. Body fat distribution predicts the degree of endothelial dysfunction in uncomplicated obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 23: 936–942.
241. Lee KU. Oxidative stress markers in Korean subjects with insulin resistance syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2001; 54 Suppl 2: S29-S33.
242. Reisin E. Weight reduction in the management of hypertension: epidemiologic and mechanistic evidence. *Can J Physiol Pharmacol.* 1986; 64: 818–824.
243. Landsberg L, Troisi R, Parker D, Young JB, Weiss ST. Obesity, blood pressure, and the sympathetic nervous system. *Ann Epidemiol.* 1991; 1: 295–303.
244. Poirier P, Lemieux I, Mauriege P, Dewailly E, Blanchet C, Bergeron J, Despres JP. Impact of waist circumference on the relationship between blood pressure and insulin: the Quebec Health Survey. *Hypertension.* 2005; 45: 363–367.
245. Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, Muche R, Brenner H, Koenig W. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care.* 2000; 23: 1835–1839.
246. Vgontzas AN, Tan TL, Bixler EO, Martin LF, Shubert D, Kales A. Sleep apnea and sleep disruption in obese patients. *Arch Intern Med.* 1994; 154: 1705–1711.
247. Sugerman HJ, Baron PL, Fairman RP, Evans CR, Vetrovec GW. Hemodynamic dysfunction in obesity hypoventilation syndrome and the effects of treatment with surgically induced weight loss. *Ann Surg.* 1988; 207: 604–613.
248. Amad KH, Brennan JC, Alexander JK. The cardiac pathology of chronic exogenous obesity. *Circulation.* 1965; 32: 740–745.
249. James TN, Frame B, Coates EO. De subitaneis mortibus, 3: Pickwickian syndrome. *Circulation.* 1973; 48: 1311–1320.
250. Kurth T, Gaziano JM, Berger K, Kase CS, Rexrode KM, Cook NR, Buring JE, Manson JE. Body mass index and the risk of stroke in men. *Arch Intern Med.* 2002; 162: 2557–2562.
251. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, D'Agostino RB, Franzblau C, Wilson PW. Plasma concentration of C-reactive

- protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke*. 2001; 32: 2575–2579.
252. Sriram K, Benkovic SA, Miller DB, O’Callaghan JP. Obesity exacerbates chemically induced neurodegeneration. *Neuroscience*. 2002; 115: 1335–1346.
 253. Joseph LJ, Ryan AS, Sorkin J, Mangano C, Brendle DC, Corretti MC, Gardner AW, Katzell LI. Body fat distribution and flow- mediated endothelium- dependent vasodilation in older men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26: 663– 669.
 254. Freedman DS, Dietz WH, Tang R, Mensah GA, Bond MG, Urbina EM, Srinivasan S, Berenson GS. The relation of obesity throughout life to carotid intima-media thickness in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004; 28: 159 –166.
 255. McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 1307S–1315S.
 256. Berenson GS. Bogalusa Heart Study: a long-term community study of a rural biracial (black/white) population. *Am J Med Sci*. 2001; 322: 267–274.
 257. Enos WF, Holmes RH, Beyer J. Coronary disease among United States soldiers killed in action in Korea. *JAMA*. 1953; 152: 1090 –1093.
 258. McGill HC Jr, McMahan CA, Malcom GT, Oalman MC, Strong JP. Relation of glycohemoglobin and adiposity to atherosclerosis in youth. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995; 15: 431– 440.
 259. Zieske AW, Malcom GT, Strong JP. Natural history and risk factors of atherosclerosis in children and youth: the PDAY study. *Pediatr Pathol Mol Med*. 2002; 21: 213–237.
 260. McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP; Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002; 105: 2712–2718.
 261. Wilson PW, D’Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002; 162: 1867–1872.

262. Rabkin SW, Mathewson FA, Hsu PH. Relation of body weight to development of ischemic heart disease in a cohort of young North American men after a 26 year observation period: the Manitoba Study. *Am J Cardiol.* 1977; 39: 452– 458.
263. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 1983; 67: 968–977.
264. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 1990; 322: 882– 889.
265. Dagenais GR, Yi Q, Mann JF, Bosch J, Pogue J, Yusuf S. Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. *Am Heart J.* 2005; 149: 54–60.
266. Kragelund C, Hassager C, Hildebrandt P, Torp-Pedersen C, Kober L; TRACE study group. Impact of obesity on long-term prognosis following acute myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2005; 98: 123–131.
267. Kortelainen ML. Myocardial infarction and coronary pathology in severely obese people examined at autopsy. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26: 73–79.
268. He J, Ogden LG, Bazzano LA, Vupputuri S, Loria C, Whelton PK. Risk factors for congestive heart failure in US men and women: NHANES I epidemiologic follow-up study. *Arch Intern Med.* 2001; 161: 996 –1002.
269. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, Kannel WB, Vasan RS. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med.* 2002; 347: 305–313.
270. Chen YT, Vaccarino V, Williams CS, Butler J, Berkman LF, Krumholz HM. Risk factors for heart failure in the elderly: a prospective community-based study. *Am J Med.* 1999; 106: 605– 612.
271. Wilhelmsen L, Rosengren A, Eriksson H, Lappas G. Heart failure in the general population of men: morbidity, risk factors and prognosis. *J Intern Med.* 2001; 249: 253–261.
272. Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, MacLellan WR, Woo MA, Tillisch JH. The relationship between obesity and mortality in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38: 789 –795.

273. Alla F, Briancon S, Juilliere Y, Mertes PM, Villemot JP, Zannad F. Differential clinical prognostic classifications in dilated and ischemic advanced heart failure: the EPICAL study. *Am Heart J*. 2000; 139: 895–904.
274. Osman AF, Mehra MR, Lavie CJ, Nunez E, Milani RV. The incremental prognostic importance of body fat adjusted peak oxygen consumption in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36: 2126–2131.
275. Messerli FH, Nunez BD, Ventura HO, Snyder DW. Overweight and sudden death: increased ventricular ectopy in cardiopathy of obesity. *Arch Intern Med*. 1987; 147: 1725–1728.
276. Kannel WB, Plehn JF, Cupples LA. Cardiac failure and sudden death in the Framingham Study. *Am Heart J*. 1988; 115: 869–875.
277. el-Gamal A, Gallagher D, Nawras A, Gandhi P, Gomez J, Allison DB, Steinberg JS, Shumacher D, Blank R, Heymsfield SB. Effects of obesity on QT, RR, and QTc intervals. *Am J Cardiol*. 1995; 75: 956–959.
278. Rasmussen LH, Andersen T. The relationship between QTc changes and nutrition during weight loss after gastroplasty. *Acta Med Scand*. 1985; 217: 271–275.
279. Corbi GM, Carbone S, Ziccardi P, Giugliano G, Marfella R, Nappo F, Paolisso G, Esposito K, Giugliano D. FFAs and QT intervals in obese women with visceral adiposity: effects of sustained weight loss over 1 year. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 2080–2083.
280. Lalani AP, Kanna B, John J, Ferrick KJ, Huber MS, Shapiro LE. Abnormal signal-averaged electrocardiogram (SAECG) in obesity. *Obes Res*. 2000; 8: 20–28.
281. Esposito K, Nicoletti G, Marzano S, Gualdiero P, Carusone C, Marfella R, Beneduce F, Giugliano D. Autonomic dysfunction associates with prolongation of QT intervals and blunted night BP in obese women with visceral obesity. *J Endocrinol Invest*. 2002; 25: RC32–RC35.
282. Hirsch J, Leibel RL, Mackintosh R, Aguirre A. Heart rate variability as a measure of autonomic function during weight change in humans. *Am J Physiol*. 1991; 261: R1418–R1423.
283. Poirier P, Hernandez TL, Weil KM, Shepard TJ, Eckel RH. Impact of diet-induced weight loss on the cardiac autonomic nervous system in severe obesity. *Obes Res*. 2003; 11: 1040–1047.

284. Very low-calorie diets. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity, National Institutes of Health. JAMA. 1993; 270(8): 967-974.
285. Atkins RC. Dr Atkins' New Diet Revolution. New York: Harper, 1992.
286. Astrup A, Breum L, Toubro S, Hein P, Quaade F. The effect and safety of an ephedrine/caffeine compound compared to ephedrine, caffeine and placebo in obese subjects on an energy restricted diet. A double blind trial. Int J Obes Relat Metab Disord. 1992; 16(4): 269-277.
287. Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, McGuckin BG, Brill C, Mohammed BS, Szapary PO, Rader DJ, Edman JS, Klein S. A randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity. N Engl J Med. 2003; 348(21): 2082-2090.
288. Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Williams T, Williams M, Gracely EJ, Stern L. A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. N Engl J Med. 2003; 348(21): 2074-2081.
289. Stern L, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Williams M, Gracely EJ, Samaha FF. The effects of low-carbohydrate versus conventional weight loss diets in severely obese adults: one-year follow-up of a randomized trial. Ann Intern Med. 2004; 140(10): 778-785.
290. Nordmann AJ, Nordmann A, Briel M, Keller U, Yancy WS Jr, Brehm BJ, Bucher HC. Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med. 2006; 166(3): 285-293.
291. Howard BV, Manson JE, Stefanick ML, Beresford SA, Frank G, Jones B, Rodabough RJ, Snetselaar L, Thomson C, Tinker L, Vitolins M, Prentice R. Low-fat dietary pattern and weight change over 7 years: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. JAMA. 2006; 295(1): 39-49.
292. Fujioka K, Seaton TB, Rowe E, Jelinek CA, Raskin P, Lebovitz HE, Weinstein SP; Sibutramine/Diabetes Clinical Study Group. Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Obes Metab. 2000; 2(3): 175-187.
293. Garrow JS, Summerbell CD. Meta-analysis: effect of exercise, with or without dieting, on the body composition of overweight subjects. Eur J Clin Nutr. 1995; 49(1): 1-10.

294. Klem ML, Wing RR, McGuire MT, Seagle HM, Hill JO. A descriptive study of individuals successful at long-term maintenance of substantial weight loss. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66(2): 239-246.
295. Coutinho W. The first decade of sibutramine and orlistat: a reappraisal of their expanding roles in the treatment of obesity and associated conditions. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009; 53(2): 262-270.
296. Torgerson JS, Hauptman J, Boldrin MN, Sjöström L. XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes Care.* 2004; 27(1): 155-161.
297. Jacob S, Rabbia M, Meier MK, Hauptman J. Orlistat 120 mg improves glycaemic control in type 2 diabetic patients with or without concurrent weight loss. *Diabetes Obes Metab.* 2009; 11(4): 361-371.
298. Hill JO, Hauptman J, Anderson JW, Fujioka K, O'Neil PM, Smith DK, Zavoral JH, Aronne LJ. Orlistat, a lipase inhibitor, for weight maintenance after conventional dieting: a 1-y study. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69(6): 1108-1116.
299. Chanoine JP, Hampl S, Jensen C, Boldrin M, Hauptman J. Effect of orlistat on weight and body composition in obese adolescents: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2005; 293(23): 2873-2883.
300. Golay A, Laurent-Jaccard A, Habicht F, Gachoud JP, Chabloz M, Kammer A, Schutz Y. Effect of orlistat in obese patients with binge eating disorder. *Obes Res.* 2005; 13(10): 1701-1708.
301. Panidis D, Farmakiotis D, Rousso D, Kourtis A, Katsikis I, Krassas G. Obesity, weight loss, and the polycystic ovary syndrome: effect of treatment with diet and orlistat for 24 weeks on insulin resistance and androgen levels. *Fertil Steril.* 2008; 89(4): 899-906.
302. Filippatos TD, Kiortsis DN, Liberopoulos EN, Georgoula M, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Effect of orlistat, micronised fenofibrate and their combination on metabolic parameters in overweight and obese patients with the metabolic syndrome: the FenOrli study. *Curr Med Res Opin.* 2005; 21(12): 1997-2006.
303. Nakou ES, Filippatos TD, Georgoula M, Kiortsis DN, Tselepis AD, Mikhailidis DP, Elisaf MS. The effect of orlistat and ezetimibe, alone or in combination, on serum

- LDL and small dense LDL cholesterol levels in overweight and obese patients with hypercholesterolaemia. *Curr Med Res Opin.* 2008; 24(7): 1919-1929.
304. Drew BS, Dixon AF, Dixon JB. Obesity management: update on orlistat. *Vasc Health Risk Manag.* 2007; 3(6): 817-821.
305. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S; RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet.* 2005; 365(9468): 1389-1397.
306. Miller K, Pump A, Hell E. Vertical banded gastroplasty versus adjustable gastric banding: prospective long-term follow-up study. *Surg Obes Relat Dis.* 2007; 3(1): 84-90.
307. Korner J, Inabnet W, Conwell IM, Taveras C, Daud A, Olivero-Rivera L, Restuccia NL, Bessler M. Differential effects of gastric bypass and banding on circulating gut hormone and leptin levels. *Obesity (Silver Spring).* 2006; 14(9): 1553-1561.
308. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 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) final report. *Circulation.* 2002; 106(25): 3143-3421.
309. Yuan G, Al-Shali KZ, Hegele RA. Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *CMAJ.* 2007; 176(8): 1113-1120.
310. Ελισάφ Μωυσής. Δυσλιπιδαιμία. Διάγνωση και Αντιμετώπιση. 2003; Κεφάλαιο 3: Σελίδες 31-54, 68-81.
311. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol.* 1998; 81: 7B-12B.
312. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1998; 19: M8-M14.
313. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol.* 1996; 77(14): 1179-1184.

314. Hulley SB, Rosenman RH, Bawol RD, Brand RJ. Epidemiology as a guide to clinical decisions: the association between triglyceride and coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1980; 302: 1383-1389.
315. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 1998; 81: 18B-25B.
316. Krauss RM. Atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins. *Am J Cardiol*. 1998; 81: 13B-17B.
317. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005; 112(17): 2735-2752.
318. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002; 43(9): 1363-1379.
319. Lamarche B, Lemieux I, Després JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab*. 1999; 25(3): 199-211.
320. Ballantyne C.M., O' Keefe J.H., Gotto A.M. Βασικές αρχές στη δυσλιπιδαιμία και την αθηροσκλήρωση. 2009; Κεφάλαιο 8: Σελίδες 98-115, 173.
321. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, Huttunen JK, Kaitaniemi P, Koskinen P, Manninen V, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1987; 317(20): 1237-1245.
322. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK, Mänttari M, Heinonen OP, Frick MH. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation*. 1992; 85(1): 37-45.
323. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, Faas FH, Linares E, Schaefer EJ, Schectman G, Wilt TJ, Wittes J. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*. 1999; 341(6): 410-418.

324. Bloomfield Rubins H, Davenport J, Babikian V, Brass LM, Collins D, Wexler L, Wagner S, Papademetriou V, Rutan G, Robins SJ; VA-HIT Study Group. Reduction in stroke with gemfibrozil in men with coronary heart disease and low HDL cholesterol: The Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). *Circulation*. 2001; 103(23): 2828-2833.
325. Effect of fenofibrate on progression of coronary-artery disease in type 2 diabetes: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study, a randomised study. *Lancet*. 2001; 357(9260): 905-910.
326. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesäniemi YA, Sullivan D, Hunt D, Colman P, d'Emden M, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M; FIELD study investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005; 366(9500): 1849-1861.
327. Clofibrate and niacin in coronary heart disease. *JAMA*. 1975; 231(4): 360-381.
328. Canner PL, Berge KG, Wenger NK, Stamler J, Friedman L, Prineas RJ, Friedewald W. Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long-term benefit with niacin. *J Am Coll Cardiol*. 1986; 8(6): 1245-1255.
329. WHO cooperative trial on primary prevention of ischaemic heart disease with clofibrate to lower serum cholesterol: final mortality follow-up. Report of the Committee of Principal Investigators. *Lancet*. 1984; 2(8403): 600-604.
330. Carlson LA, Rosenhamer G. Reduction of mortality in the Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention Study by combined treatment with clofibrate and nicotinic acid. *Acta Med Scand*. 1988; 223(5): 405-418.
331. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. *Circulation*. 2000; 102(1): 21-27.
332. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Schwammenthal E, Adler Y, Goldenberg I, Leor J, Boyko V, Mandelzweig L, Behar S. Peroxisome proliferator-activated receptor ligand bezafibrate for prevention of type 2 diabetes mellitus in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2004; 109(18): 2197-2202.

333. Ericsson CG, Hamsten A, Nilsson J, Grip L, Svane B, de Faire U. Angiographic assessment of effects of bezafibrate on progression of coronary artery disease in young male postinfarction patients. *Lancet*. 1996; 347(9005): 849-853.
334. ACCORD Study Group, Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR 3rd, Leiter LA, Linz P, Friedewald WT, Buse JB, Gerstein HC, Probstfield J, Grimm RH, Ismail-Beigi F, Bigger JT, Goff DC Jr, Cushman WC, Simons-Morton DG, Byington RP. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2010; 362(17): 1563-1574.
335. Brown G, Albers JJ, Fisher LD, Schaefer SM, Lin JT, Kaplan C, Zhao XQ, Bisson BD, Fitzpatrick VF, Dodge HT. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med*. 1990; 323(19): 1289-1298.
336. Cashin-Hemphill L, Mack WJ, Pogoda JM, Sanmarco ME, Azen SP, Blankenhorn DH. Beneficial effects of colestipol-niacin on coronary atherosclerosis. A 4-year follow-up. *JAMA*. 1990; 264(23): 3013-3017.
337. Taylor AJ, Sullenberger LE, Lee HJ, Lee JK, Grace KA Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation*. 2004; 110(23): 3512-3517.
338. Zhao XQ, Morse JS, Dowdy AA, Heise N, DeAngelis D, Frohlich J, Chait A, Albers JJ, Brown BG. Safety and tolerability of simvastatin plus niacin in patients with coronary artery disease and low high-density lipoprotein cholesterol (The HDL Atherosclerosis Treatment Study). *Am J Cardiol*. 2004; 93(3): 307-312.
339. Whitney EJ, Krasuski RA, Personius BE, Michalek JE, Maranian AM, Kolasa MW, Monick E, Brown BG, Gotto AM Jr. A randomized trial of a strategy for increasing high-density lipoprotein cholesterol levels: effects on progression of coronary heart disease and clinical events. *Ann Intern Med*. 2005; 142(2): 95-104.
340. Sacks FM, Pasternak RC, Gibson CM, Rosner B, Stone PH. Effect on coronary atherosclerosis of decrease in plasma cholesterol concentrations in normocholesterolaemic patients. Harvard Atherosclerosis Reversibility Project (HARP) Group. *Lancet*. 1994; 344(8931):1182-1186.

341. McGandy RB, Hegsted DM, Stare FJ. Dietary fats, carbohydrates and atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med.* 1967; 277(4): 186-192
342. Keys A. Current status of research on the epidemiology of coronary heart disease. *Jpn Circ J.* 1968; 32(12): 1669-1683.
343. Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-coast Eskimos. *Lancet.* 1971; 1(7710): 1143-1145.
344. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet.* 1999; 354(9177): 447-455.
345. Gissi-HF Investigators, Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, Barlera S, Franzosi MG, Latini R, Lucci D, Nicolosi GL, Porcu M, Tognoni G. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008; 372(9645): 1223-1230.
346. Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, Oikawa S, Sasaki J, Hishida H, Itakura H, Kita T, Kitabatake A, Nakaya N, Sakata T, Shimada K, Shirato K; Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet.* 2007; 369(9567): 1090-1098.
347. Blaner WS. Retinol-binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocr Rev* 1989; 10: 308-16.
348. Yuan G, Al-Shali KZ, Hegele RA. Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *CMAJ.* 2007; 176(8): 1113-1120.
349. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res.* 2002; 43(9): 1363-1379.
350. Smith FR, Goodman DS. The effects of diseases of the liver, thyroid, and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. *J Clin Invest.* 1971; 50(11): 2426-2436.
351. Vahlquist A, Peterson PA, Wibell L. Metabolism of the vitamin A transporting protein complex. I. Turnover studies in normal persons and in patients with chronic renal failure. *Eur J Clin Invest.* 1973; 3(4): 352-362.

352. Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, Lossner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of adipokine retinol-binding protein-4 in relation to renal function. *Diabetes Care*. 2007; 30(10): 2588-2592.
353. Chang YH, Lin KD, Wang CL, Hsieh MC, Hsiao PJ, Shin SJ. Elevated serum retinol-binding protein 4 concentrations are associated with renal dysfunction and uric acid in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008; 24(8): 629-634.
354. Cirillo M. Evaluation of glomerular filtration rate and of albuminuria/proteinuria. *J Nephrol*. 2010; 23(2): 125-132.
355. Kiortsis DN, Tzotzas T, Giral P, Bruckert E, Beucler I, Valsamides S, Turpin G. Changes in lipoprotein(a) levels and hormonal correlations during a weight reduction program. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001; 11(3):153-157.
356. Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
357. Christensen EI, Moskaug JO, Vorum H, Jacobsen C, Gundersen TE, Nykjaer A, Blomhoff R, Willnow TE, Moestrup SK. Evidence for an essential role of megalin in transepithelial transport of retinol. *J Am Soc Nephrol*. 1999; 10(4): 685-695.
358. Raila J, Willnow TE, Schweigert FJ. Megalin-mediated reuptake of retinol in the kidneys of mice is essential for vitamin A homeostasis. *J Nutr*. 2005; 135(11): 2512-2516.
359. Piscator M. Early detection of tubular dysfunction. *Kidney Int Suppl*. 1991; 34: S15-17.
360. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet*. 2005; 365(9468): 1389-1397.
361. Baratta R, Amato S, Degano C, Farina MG, Patanè G, Vigneri R, Frittitta L. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and intervention studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 2665-2671.
362. Kazumi T, Kawaguchi A, Hirano T, Yoshino G. Serum adiponectin is associated with high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism*. 2004; 53: 589-593.

363. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27: 2450-2457.
364. Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gómez JM, Gutiérrez C, Simón I, Soler J, Richart C. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res*. 2004; 12: 962-971.
365. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003; 46: 459-469.
366. Schulze MB, Rimm EB, Shai I, Rifai N, Hu FB. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27: 1680-1687.
367. Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Häring H, Stumvoll M. Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes*. 2003; 52: 239-243.
368. Zietz B, Herfarth H, Paul G, Ehling A, Müller-Ladner U, Schölmerich J, Schäffler A. Adiponectin represents an independent cardiovascular risk factor predicting serum HDL-cholesterol levels in type 2 diabetes. *FEBS Lett*. 2003; 545: 103-104.
369. Valsamakis G, Chetty R, McTernan PG, Al-Daghri NM, Barnett AH, Kumar S. Fasting serum adiponectin concentration is reduced in Indo-Asian subjects and is related to HDL cholesterol. *Diabetes Obes Metab*. 2003; 5: 131-135.
370. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1992; 56: 320-328.
371. Van Linthout S, Foryst-Ludwig A, Spillmann F, Peng J, Feng Y, Meloni M, Van Craeyveld E, Kintscher U, Schultheiss HP, De Geest B, Tschöpe C. Impact of HDL on adipose tissue metabolism and adiponectin expression. *Atherosclerosis*. 2010; 210: 438-444.
372. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 3815-3819.

373. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA*. 2003; 289: 1799-1804.
374. Al-Sarraj T, Saadi H, Calle MC, Volek JS, Fernandez ML. Carbohydrate restriction, as a first-line dietary intervention, effectively reduces biomarkers of metabolic syndrome in Emirati adults. *J Nutr*. 2009; 139: 1667-1676.
375. Faraj M, Havel PJ, Phélis S, Blank D, Sniderman AD, Cianflone K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 1594-1602.
376. Kopp HP, Krzyzanowska K, Möhlig M, Spranger J, Pfeiffer AF, Schernthaner G. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. *Int J Obes (Lond)*. 2005; 29: 766-771.
377. Lazzer S, Vermorel M, Montaurier C, Meyer M, Boirie Y. Changes in adipocyte hormones and lipid oxidation associated with weight loss and regain in severely obese adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2005; 29: 1184-1191.
378. Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Möhlig M, Pfeiffer AF, Spranger J. Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. *Diabetes*. 2005; 54: 2712-2719.
379. Manco M, Fernandez-Real JM, Equitani F, Vendrell J, Valera Mora ME, Nanni G, Tondolo V, Calvani M, Ricart W, Castagneto M, Mingrone G. Effect of massive weight loss on inflammatory adipocytokines and the innate immune system in morbidly obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 483-490.
380. Lejeune MP, Hukshorn CJ, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS. Effects of very low calorie diet induced body weight loss with or without human pegylated recombinant leptin treatment on changes in ghrelin and adiponectin concentrations. *Physiol Behav*. 2007; 91: 274-280.
381. Keogh JB, Brinkworth GD, Clifton PM. Effects of weight loss on a low-carbohydrate diet on flow-mediated dilatation, adhesion molecules and adiponectin. *Br J Nutr*. 2007; 98: 852-859.

382. Xydakis AM, Case CC, Jones PH, Hoogeveen RC, Liu MY, Smith EO, Nelson KW, Ballantyne CM. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2697-2703.
383. Keogh JB, Brinkworth GD, Noakes M, Belobrajdic DP, Buckley JD, Clifton PM. Effects of weight loss from a very-low-carbohydrate diet on endothelial function and markers of cardiovascular disease risk in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 567-576.
384. Arvidsson E, Viguerie N, Andersson I, Verdich C, Langin D, Arner P. Effects of different hypocaloric diets on protein secretion from adipose tissue of obese women. *Diabetes.* 2004; 53: 1966-1971.
385. Polak J, Kovacova Z, Holst C, Verdich C, Astrup A, Blaak E, Patel K, Oppert JM, Langin D, Martinez JA, Sørensen TI, Stich V. Total adiponectin and adiponectin multimeric complexes in relation to weight loss-induced improvements in insulin sensitivity in obese women: the NUGENOB study. *Eur J Endocrinol.* 2008; 158: 533-541.
386. Dvoráková-Lorenzová A, Suchánek P, Havel PJ, Stávek P, Karasová L, Valenta Z, Tintěra J, Poledne R. The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin. *Metabolism.* 2006; 55: 359-365.
387. Schulze MB, Shai I, Rimm EB, Li T, Rifai N, Hu FB. Adiponectin and future coronary heart disease events among men with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005; 54: 534-539.
388. Drew BG, Duffy SJ, Formosa MF, Natoli AK, Henstridge DC, Penfold SA, Thomas WG, Mukhamedova N, de Courten B, Forbes JM, Yap FY, Kaye DM, van Hall G, Febbraio MA, Kemp BE, Sviridov D, Steinberg GR, Kingwell BA. High-density lipoprotein modulates glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2009; 119: 2103-2111.