



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
Τμήμα ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«Μελέτη επίδρασης διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά
στη *Drosophila Melanogaster*»
“Studies on the effects of high lipid nutrition in *Drosophila*
***Melanogaster*”**

Ουρανία- Μαρία Μιχαήλ Βουγιούκα

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- **Σωτήριος Ζαρογιάννης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπων
- **Νικόλαος Μπαλατσός**, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Συνεπιβλέπων
- **Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης**, Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Λάρισα, Ιούλιος 2024

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	4
Περίληψη	5
Abstract	6
Γενικό Μέρος	7
1. Εισαγωγή	7
1.1 Δυτική Διατροφή και Δυτικός τρόπος ζωής	8
1.1.1 Διαφορές δυτικής και μεσογειακής διατροφής	9
1.2 Δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά	9
1.2.1 Επιπτώσεις της δίαιτας στην υγεία του ανθρώπου	10
1.2.2 Επιπτώσεις της δίαιτας στο μεταβολισμό	10
1.2.3 Παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη νοσογόνου παχυσαρκίας	11
1.2.3.1 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 (ΣΔΤ2)	11
1.2.3.2 Παχυσαρκία	12
1.3 Επιπτώσεις της παχυσαρκίας στην καθημερινότητα	12
1.3.1 Παθοφυσιολογία	13
1.3.1.1 Μικροβίωμα του εντέρου	14
1.3.1.2 Γενετικοί παράγοντες	15
1.3.2 Μοριακοί μηχανισμοί	15
1.3.3 Αντιμετώπιση	17
1.4 <i>Drosophila melanogaster</i> ως πειραματικό μοντέλο	19
1.4.1 Ο κύκλος ζωής της <i>Drosophila melanogaster</i>	20
1.4.2 Μορφολογικές διαφορές αρσενικών και θηλυκών <i>D. melanogaster</i>	22
1.4.3 Ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού στη <i>D. melanogaster</i>	22
1.4.4 Η <i>D. melanogaster</i> ως μοντέλο για την παχυσαρκία	23
Ειδικό Μέρος	25
2. Υλικό & Μέθοδοι	24
2.1 Σκοπός της διπλωματικής διατριβής	24
2.2 Διατήρηση καλλιέργειας <i>Drosophila melanogaster</i>	24

2.3 Τύποι διατροφής <i>D. melanogaster</i>	25
2.4 Πειραματικός σχεδιασμός	27
2.5 Δοκιμασία Αρνητικής Γεώταξης	28
2.6 Προσδιορισμός μεταβολών του μεταβολικού ρυθμού	29
2.7 Προσδιορισμός ανθεκτικότητας σε ψύχος	32
2.8 Μέτρηση βάρους	32
2.9 Στατιστική ανάλυση	33
3. Αποτελέσματα	34
3.1 Αποτελέσματα δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης	34
3.2 Αποτελέσματα μεταβολών του μεταβολικού ρυθμού	36
3.3 Αποτελέσματα ανθεκτικότητας σε ψύχος	38
3.4 Αποτελέσματα μέτρησης βάρους	40
4. Συζήτηση	43
5. Συμπεράσματα	47
6. Βιβλιογραφία	48

Ευχαριστίες

Στο πλαίσιο εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας στο εργαστήριο Φυσιολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, θα ήθελα από καρδιάς να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Σωτήριο Ζαρογιάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω στις επιστημονικές του καινοτομίες. Με αμείωτο ενδιαφέρον και περίσσεια όρεξη με καθοδήγησε και με συμβούλεψε, όχι μόνο εντός της πτυχιακής εργασίας, αλλά και για τη μετέπειτα ερευνητική μου καριέρα. Με τη δική του ουσιαστική συνεισφορά κατάφερα να διευρύνω τους ορίζοντές μου, αποκτώντας ωφέλιμες γνώσεις που αποτελούν εφόδιο για το μέλλον.

Στο σημείο αυτό, οφείλω να ευχαριστήσω, επιπλέον, και τα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, κ. Νικόλαο Μπαλατσό, Αναπληρωτή Καθηγητή Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας και τον κ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη, Καθηγητή Πνευμονολογίας του Τμήματος Ιατρικής για το απaráμιλλο ενδιαφέρον και την πρόθεση να βοηθήσουν και να συμβάλλουν με τις συμβουλές τους στην καλύτερη επίτευξη της διπλωματικής μου διατριβής.

Δε θα μπορούσα, φυσικά, να παραλείψω τον κ. Περικλή Μαρνά, Υποψήφιο Διδάκτορα στο εργαστήριο Φυσιολογίας του τμήματος Ιατρικής, ο οποίος καθ' όλη τη διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας στάθηκε δίπλα μου και με καθοδήγησε προκειμένου να φανώ αντάξια των απαιτήσεων των πειραμάτων, φέρνοντας το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά και όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου, για το ευνοϊκό κλίμα και το φιλικό περιβάλλον που επικρατούσε καθημερινά.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω τον πιο σημαντικό πυλώνα της ζωής μου, την οικογένειά μου. Ιδιαίτερα, θέλω να ευχαριστήσω τη μητέρα μου, Νικολέτα και τον πατέρα μου, Μιχάλη που στάθηκαν δίπλα μου κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, στηρίζοντας κάθε επιλογή μου. Ευχαριστώ, επίσης, και όλα τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειάς μου, που με την ατέρμονη αγάπη και τη συνεχή στήριξή τους βρίσκομαι εδώ που είμαι σήμερα. Όντας, λοιπόν, πιο έτοιμη από ποτέ, αδημονώ να βαδίσω μπροστά και να δω τι μου επιφυλάσσει το μέλλον.

Περίληψη

Η διατροφή στις σημερινές δυτικές κοινωνίες φαίνεται να είναι πλούσια τόσο σε σάκχαρα, όσο και σε λίπη τα οποία αποτελούν, κυρίως, προϊόντα επεξεργασίας, ενώ είναι πτωχή σε φυτικά σάκχαρα και λίπη. Αποτέλεσμα αυτού, είναι ο ανεβασμένος δείκτης εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) και παχυσαρκίας. Αυτές οι επιβλαβείς καταστάσεις επιβαρύνουν την υγεία του ανθρώπου, οδηγώντας σε ήπιες ή πιο σοβαρές ασθένειες. Η *Drosophila Melanogaster* έχει παρόμοιες μεταβολικές λειτουργίες με τα θηλαστικά και ορθόλογα γονίδια με του ανθρώπου που σχετίζονται με ασθένειες. Επιπλέον, ο σύντομος κύκλος ζωής της και το χαμηλό κόστος, την καθιστούν ιδανικό πειραματικό μοντέλο για τη μελέτη παχυσαρκίας και ΣΔΤ2.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η επίδραση της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (HFD) στο μεταβολικό ρυθμό, την κινητικότητα, το σωματικό βάρος και την ανθεκτικότητα σε ψύχος στη *Drosophila melanogaster*.

Αναπτύχθηκαν *Drosophila Melanogaster* σε τυπικό θρεπτικό υλικό (ND: Normal Diet) και σε HFD, προκειμένου να συγκριθούν οι διαφορετικές συνθήκες. Τα πειράματα διεξήχθησαν στις 7, 14 και 21 μέρες μετά την έκθεση των μυγών σε HFD, σε τρεις κύκλους και περιεγράφηκε ο μεταβολικός ρυθμός, η κινητικότητα, μετρήθηκε το σωματικό βάρος και ελέγχθηκε η ανθεκτικότητα σε ψύχος.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κινητικότητα και στα δυο φύλα, μειώθηκε σημαντικά υπό την επίδραση της HFD, ιδιαίτερα στις ομάδες μυγών που ακολούθησαν τη δίαιτα για 14 και 21 ημέρες, έναντι εκείνων που τράφηκαν με ND για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Επίσης, το παραγόμενο CO₂, αυξήθηκε από τις πρώτες 7 ημέρες διατροφής με HFD και για τα δυο φύλα. Κατά μελέτη ανθεκτικότητας σε ψύχος, φάνηκε ότι οι μύγες που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες ανέκτησαν σε συντομότερο χρόνο τις αισθήσεις τους σε σχέση με τις ND. Τέλος, το βάρος στις συνθήκες HFD αυξήθηκε σημαντικά και στα δυο φύλα.

Συμπεραίνοντας, τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν την επίδραση που έχει η HFD σε διάφορες διεργασίες της *D. melanogaster* και στα δυο φύλα. Τα ευρήματα αυτά, ανοίγουν ένα νέο δρόμο για τη μελέτη μακροπρόθεσμων επιδράσεων της διατροφής στην υγεία του ανθρώπου και τη βελτίωση του τρόπου ζωής του.

Abstract

The contemporary Western diet is characterized by a high intake of sugars and fats, primarily derived from processed foods, while being deficient in natural plant-based sugars and fats. This dietary pattern has been associated with a rise in the prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity, both of which are deleterious to human health and can lead to a spectrum of diseases ranging from mild to severe.

Drosophila melanogaster, a model organism with metabolic functions analogous to those of mammals and possessing orthologous genes to human disease-related genes, presents a valuable system for studying metabolic disorders such as obesity and T2DM. Its short life cycle and cost-effectiveness further enhance its suitability for experimental research.

The objective of this thesis was to investigate the impact of a high-fat diet (HFD) on *Drosophila melanogaster*, specifically examining changes in metabolic rate, locomotor activity, body weight, and chill coma recovery. Flies were reared on either a standard diet (ND: Normal Diet) or HFD, and the effects were assessed at 7, 14, and 21 days post-exposure in three experimental cycles. Metrics such as metabolic rate, locomotor activity, body weight, and chill coma recovery time were meticulously recorded.

The findings revealed a significant reduction in locomotor activity in both male and female flies subjected to HFD, particularly notable at 14 and 21 days compared to their ND counterparts. Additionally, CO₂ production increased from the first 7 days of HFD exposure in both sexes. In chill coma recovery studies, flies fed HFD for 21 days regained consciousness more rapidly than those on ND. Moreover, both male and female flies exhibited a substantial increase in body weight under HFD conditions.

In summary, these results elucidate the impact of a high-fat diet on various physiological processes in *D. melanogaster*. The insights gained from this study pave the way for further research into the long-term effects of high-fat diets on human health and lifestyle, offering potential avenues for understanding and mitigating diet-induced metabolic disorders.

Γενικό Μέρος

1. Εισαγωγή

1.1 Δυτική Διατροφή και Δυτικός τρόπος ζωής

Οι άνθρωποι σήμερα, έχουν προσαρμοστεί στις περιβαλλοντικές και κοινωνικές συνθήκες του τόπου στον οποίο ζουν. Όσον αφορά τη διατροφή, μέσω της γεωργίας και της κτηνοτροφίας άλλαξαν ριζικά τα διατροφικά πρότυπα και αυτό κατ' επέκταση επηρέασε και τον τρόπο ζωής των ανθρώπων. Με την ένταξη της γεωργίας στη ζωή του ανθρώπου, προστέθηκαν στη διατροφική πυραμίδα του, τρόφιμα στα οποία το ανθρώπινο γονιδίωμα δεν είχε πρωτότερη έκθεση.[1] Η ανάπτυξη, επίσης, διάφορων τεχνικών επεξεργασίας τροφίμων επέτρεψαν την κατανάλωση συστατικών που δεν είχαν εμφανιστεί στο διατροφικό μονοπάτι των τότε ανθρώπων. Πριν την έλευση της γεωργίας και της κτηνοτροφίας και την εξημέρωση τόσο των φυτών όσο και των ζώων, οι άνθρωποι δεν είχαν έρθει σε επαφή με επεξεργασμένα προϊόντα. Αυτό άλλαξε ριζικά και με την τεχνολογική ανάπτυξη μετά τη Βιομηχανική Επανάσταση.[2]

Οι σημερινές διατροφικές επιλογές είναι εκ διαμέτρου αντίθετες με τις διατροφικές συνήθειες των παλαιότερων ατόμων, κυρίως πριν την ανάπτυξη της γεωργίας, της κτηνοτροφίας και της εκβιομηχάνισής τους. Μάλιστα, αναφέρεται ότι στις δυτικές κοινωνίες, όπου εμφανίζονται και τα μεγαλύτερα ποσοστά παχυσαρκίας, οι άνθρωποι επιλέγουν την κατανάλωση κυρίως γαλακτοκομικών προϊόντων, δημητριακών, επεξεργασμένων σακχάρων και φυτικών ελαίων, καθώς και αλκοόλ.[3] Βέβαια, αυτού του είδους οι τροφές, συνεισφέρουν ελάχιστα στην ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη που χρειάζεται ο οργανισμός. Στη σημερινή εποχή, λοιπόν, τα επεξεργασμένα τρόφιμα έχουν πρωταγωνιστικό ρόλο, αφού σε αυτά εντάσσονται και τα κέικ, μπισκότα, δημητριακά και διάφορα σνακ.[4]

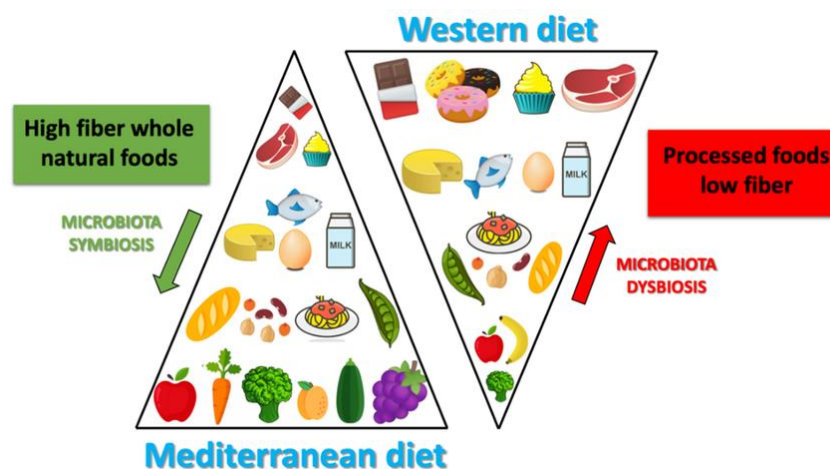
Συνεπώς, αυτό το τόσο σύντομα προσαρμοσμένο διατροφικό μοντέλο και ο ταχύς ρυθμός εξάπλωσής του, φαίνεται ότι τροφοδοτούν μια συνεχώς αναπτυσσόμενη επιδημιολογική κατάσταση, που υπονομεύει την ανθρώπινη υγεία. Οι μοντέρνες διατροφικές συνήθειες είναι, πλέον, ικανές να προκαλέσουν σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, όπως η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2).[5]

1.1.1 Διαφορές δυτικής και μεσογειακής διατροφής

Ο ταχύς ρυθμός εξάπλωσης της δυτικής διατροφής (WD) και η παράλληλη εγκατάλειψη της μεσογειακής διατροφής (MD), έχει προκαλέσει σε πανευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο πολλά περιστατικά παχυσαρκίας, ξεκινώντας μάλιστα από μικρή ηλικία.

Η μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται από έναν συνδυασμό πολυσύνθετων υδατανθράκων φυτικών ινών, όπως δημητριακά, λαχανικά και φρούτα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ελαιόλαδο και ξηροί καρποί), καθώς και βιοδραστικές ενώσεις με αντιοξειδωτικές ιδιότητες (φλαβονοειδή, τερπένια και πολυφαινόλες). Επιπλέον, η μεσογειακή διατροφή παρέχει χρήσιμα μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία, συμπεριλαμβανομένων βιταμινών και μετάλλων.[6]

Εν αντιθέσει με τη μεσογειακή διατροφή, το δυτικό διατροφικό πρότυπο αντιπροσωπεύει μια παγκόσμια ανησυχία και ευθύνεται για την πανδημία της παχυσαρκίας, αλλά και άλλων νοσημάτων. Η υψηλή περιεκτικότητα σε ανθυγιεινά λίπη, επεξεργασμένα δημητριακά, ζάχαρη, αλάτι, αλκοόλ και άλλα επιβλαβή στοιχεία, είναι βασικά χαρακτηριστικά της δυτικής διατροφής. Τα εξαιρετικά επεξεργασμένα τρόφιμα και ποτά που πρωταγωνιστούν στη WD, αλλά και η αλόγιστη κατανάλωση αυτών, σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με τον αυξημένο κίνδυνο νοσηρότητας και θνησιμότητας.[7] Έτσι, παρόλο που η WD φαίνεται να έχει ίδια περιεκτικότητα σε μακροθρεπτικά συστατικά με τη MD, η τελευταία έχει προστατευτικό ρόλο για την παχυσαρκία και άλλα παρόμοια νοσήματα σε σχέση με τη WD που αποτελεί παράγοντα κινδύνου.



Εικόνα 1: Διαφορές δυτικής και μεσογειακής διατροφής (Merra G, et.al., 2020)

1.2 Δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά

Η δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, είναι ένα πρότυπο διατροφής που περιέχει κυρίως επεξεργασμένα τρόφιμα και ποτά. Ανθυγιεινά επεξεργασμένα λίπη, αλκοολούχα ποτά και αναψυκτικά, ζάχαρη και υψηλά αλατισμένα προϊόντα, βρίσκονται στην πρώτη γραμμή του συγκεκριμένου διατροφικού μοντέλου. Παράλληλα, η ύπαρξη φυτικών ινών όπως φρούτα και λαχανικά, εκλείπει, με αποτέλεσμα να μη λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία που χρειάζεται ο οργανισμός.

1.2.1 Επιπτώσεις της δίαιτας στην ανθρώπινη υγεία

Η διατροφή πλούσια σε λιπαρά, αποτελεί πλέον δημόσιο κίνδυνο και ανησυχία λόγω των επιπτώσεών της στην ανθρώπινη υγεία. Έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με πολλές ασθένειες, από την παχυσαρκία μέχρι τον καρκίνο, κυρίως του εντέρου. Τα επεξεργασμένα λίπη που περιέχονται στις τροφές, επηρεάζουν τον εντερικό φραγμό, ο οποίος έχει κρίσιμο ρόλο στην απορρόφηση βασικών διαιτητικών θρεπτικών συστατικών, αλλά και στην προστασία του ξενιστή από μια ποικιλία τοξινών και μικροβίων.[8] Επιπλέον, η επίδραση της συγκεκριμένης δίαιτας στο εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο συμβάλλει στην αντίσταση στην ινσουλίνη, υποστηρίζεται ότι σχετίζεται με την παχυσαρκία.[9]

Στο ίδιο μονοπάτι με τη νοσογόνο παχυσαρκία, πορεύεται και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2), μια ασθένεια που όπως αναφέρεται, μπορεί, πλέον, μόνο να επιδεινωθεί. Η ανάπτυξη αμφοτέρων ασθενειών οφείλονται στην ανοχή του οργανισμού στην ινσουλίνη και την υπερινσουλιναίμία. Η μεγάλη ποσότητα κορεσμένων λιπών που περιέχονται στα τρόφιμα υψηλής επεξεργασίας, καταστέλλουν και τους μεταβολικούς ρυθμούς του οργανισμού, ενώ επίσης, η HFD ωθεί το λιπώδη ιστό να επεκταθεί επαρκώς και να αποθηκεύει υπερβολικές θερμίδες που δεν έχουν ουσιαστική συνεισφορά. Τέλος, η περίσσεια των λιπιδίων που δεν αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό, εναποτίθεται σε άλλα όργανα.[10] Συνεπώς, η HFD και οι αναπόφευκτες επιπτώσεις της στην υγεία του ανθρώπου είναι ένα καθημερινό πρόβλημα που καλούνται να αντιμετωπίσουν οι ειδικοί, προκειμένου να καταπολεμηθούν οι κίνδυνοι που απειλούν την ακεραιότητα του ανθρώπινου οργανισμού.

1.2.2 Επιπτώσεις της δίαιτας στο μεταβολισμό

Γενικότερα, άτομα με ποικίλες διατροφικές προτιμήσεις και επαρκή άσκηση μπορούν να προσαρμοστούν στην πηγή των θερμίδων τους, έτσι ώστε η κατανάλωση γευμάτων πλούσια σε λιπαρά να μην προκαλέσει πρόβλημα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν ισχύει όταν κύρια διατροφική προτίμηση του ατόμου είναι τροφές πλούσιες σε λιπαρά. Σε αυτήν την περίπτωση και σε συνδυασμό με την πάροδο του χρόνου, επέρχεται μια σειρά μεταβολικών διαταραχών, όπως υπέρταση, μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, δυσλιπιδαιμία και παχυσαρκία, με την τελευταία διαταραχή να αποτελεί βασικό παράγοντα στην αιτιολογία του μεταβολικού συνδρόμου.[11]

Η HFD επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και τα επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα, αυξάνοντας τα επίπεδα εκάστου. Επίσης, μελέτες έχουν δείξει ότι η δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, αυξάνει το σωματικό βάρος, την εναπόθεση λίπους, καθώς και βιοδείκτες του οξειδωτικού στρες. Η αύξηση του βάρους προκαλείται από μια ανισορροπία μεταξύ πρόσληψης ενέργειας και ενεργειακής δαπάνης που προκαλεί συσσώρευση λίπους, κυρίως στις περιοχές της κοιλιάς. Όσον αφορά το οξειδωτικό στρες, προκαλείται από μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία συνδέεται στενά με το μεταβολικό σύνδρομο.[12] Τέλος, τόσο η συσσώρευση λίπους, όσο και το οξειδωτικό στρες σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, τον εξασθενημένο μεταβολισμό της γλυκόζης και, τελικά, την ανάπτυξη ΣΔΤ2.

1.2.3 Παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη νοσογόνους παχυσαρκίας

Οι τροφές υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και ο δυτικός τρόπος ζωής ελλοχεύουν πολλούς κινδύνους. Οι πιο γνωστές διαταραχές είναι η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. Τόσο η παχυσαρκία, όσο και ο ΣΔΤ2 οφείλονται στον τρόπο ζωής και σε γενετικούς παράγοντες. Συνεπώς, και οι δυο διαταραχές αποτελούν κινδύνους δημόσιας υγείας.

1.2.3.1 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 (ΣΔΤ2)

Ο συγκεκριμένος τύπος διαβήτη, είναι η πιο διαδεδομένη μορφή διαβήτη και τις τελευταίες δεκαετίες, έχει πάρει μεγάλες διαστάσεις που αποτελούν απειλή για τη δημόσια υγεία και οικονομία.

Πληθώρα παραγόντων έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ΣΔΤ2, με κυριότερο να είναι ο ανθυγιεινός τρόπος ζωής, όπως η καθιστική ζωή χωρίς ενεργητική άσκηση και το κάπνισμα. Ωστόσο, εξίσου σημαντικός παράγοντας είναι και το γενετικό υπόβαθρο, καθώς άτομα με συγγενείς που έχουν εμφανίσει στο παρελθόν ΣΔΤ2 έχουν αυξημένες πιθανότητες να εμφανίσουν και εκείνοι τη νόσο. Τέλος, η παχυσαρκία ενισχύει την εμφάνιση ΣΔΤ2. Όλα αυτά, μπορούν να καταπολεμηθούν ή να προληφθούν με την επιλογή ενός υγιούς προτύπου ζωής και με φαρμακευτική αγωγή.

1.2.3.2 Παχυσαρκία

Εξίσου με το ΣΔΤ2, η παχυσαρκία αποτελεί και εκείνη με τη σειρά της έναν ισχυρό δείκτη παθογένειας σε παγκόσμιο επίπεδο. Αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα δημόσιας υγείας με επικίνδυνες κοινωνικές, οικονομικές και ιατρικές προεκτάσεις. Οφείλεται κυρίως σε ψυχολογικούς, περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες, ωστόσο το γενετικό της υπόβαθρο βρίσκεται ακόμα υπό μελέτη.

Η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από τη σημαντική αύξηση βάρους, που είναι αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ της ενέργειας που καταναλώνεται και της ενέργειας που δαπανάται. Οι προεκτάσεις που μπορεί να πάρει η νόσος είναι πολλές, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα στην ανθρώπινη υγεία, όπως καρδιακές νόσοι, μεταβολικές διαταραχές, καρκίνο και ΣΔΤ2. Η παχυσαρκία, συνδέεται στενά με την καθιστική ζωή και την επιλογή ενός διατροφικού μοντέλου πλούσιο σε επεξεργασμένα προϊόντα, κορεσμένα λίπη, σάκχαρα, αλκοόλ και κάπνισμα. Τέλος, τα συμπτώματα της νόσου δεν καθίστανται ανίατα, εφόσον υπάρχει κατάλληλη καθοδήγηση τόσο διατροφικά, όσο και φαρμακευτικά. Βέβαια, εκτός από την καταπολέμηση της νόσου, σημαντική είναι και η πρόληψή της, που αποτελεί μια σημαντική κοινωνική υποχρέωση.

1.3 Επιπτώσεις της παχυσαρκίας στην καθημερινότητα

Όπως όλα τα προβλήματα υγείας, έτσι και η παχυσαρκία, επιδρά αρνητικά σε καθημερινό επίπεδο, αποτελώντας τροχοπέδη για μια φυσιολογική ζωή. Επιβραδύνει τους ρυθμούς του οργανισμού και προκαλεί προβλήματα τόσο σε μοριακό επίπεδο, όσο και σε επίπεδο οργανισμού. Συνδέεται στενά με πολλές αλλοιώσεις σε ορμονικό, φλεγμονώδες και ενδοθηλιακό υπόβαθρο.[13] Ένα πρόβλημα, που ξεκινά από μικρή κιόλας ηλικία, ταλαιπωρεί εκατομμύρια ανθρώπους καθημερινά και διαχρονικά.

Η αρνητική επίδραση που έχει η παχυσαρκία σε πολλούς ιστούς και όργανα μπορεί να οδηγήσουν σε βαριές περιπτώσεις, ακόμα και στο θάνατο. Η εμφάνιση, για παράδειγμα, καρδιαγγειακής νόσου, είναι ένα σύνηθες φαινόμενο που καλούνται οι ειδικοί να αντιμετωπίσουν. Επιπλέον, η εμφάνιση διαφόρων ειδών καρκίνου, με συχνότερο τον καρκίνο του παχέος εντέρου, προσβάλλει κατά κόρον μεγάλο ποσοστό ανθρώπων του πλανήτη.[14] Η πρόκληση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, μεταβολικού συνδρόμου και χρόνιας νεφρικής νόσου, είναι επίσης αρκετά συχνές επιπτώσεις της παχυσαρκίας.

Όμως, το φαινόμενο της παχυσαρκίας δεν αφορά μόνο τους ενήλικες. Η παιδική παχυσαρκία είναι αυτή που προβλέπει το δρόμο τους, αφού μόλις το 50% των κοριτσιών και το 30% των αγοριών που είναι παχύσαρκα μεταξύ 6- 11 ετών, παραμένουν παχύσαρκα και στην ενήλικη ζωή τους με προδιάθεση για χρόνια ιατρικά προβλήματα.[15] Παιδιά και έφηβοι καλούνται να αντιμετωπίσουν σοβαρές σωματικές και ψυχολογικές ασθένειες, όπως η υπέρταση, το μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ, μέχρι και κατάθλιψη.[16]

1.3.1 Παθοφυσιολογία

Ο δείκτης μάζας σώματος ($\Delta\text{ΜΣ}$, kg/m^2) είναι η πιο κοινή κλίμακα που χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ανάπτυξης παθολογιών που σχετίζονται με την παχυσαρκία και την κατηγοριοποίηση των υπέρβαρων ατόμων. Αναφέρεται ότι όταν ο $\Delta\text{ΜΣ}$ βρίσκεται σε ένα συγκεκριμένο όριο τιμών ($25\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$), τότε το άτομο θεωρείται υπέρβαρο, ενώ όταν ο $\Delta\text{ΜΣ}$ είναι $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, το άτομο διαγιγνώσκεται με παχυσαρκία.[17]

Οι μηχανισμοί της παχυσαρκίας είναι πολύπλοκοι και συχνά αλληλοεξαρτώμενοι. Παραδοσιακά, θεωρείται ότι η κύρια αιτία της είναι η ενέργεια που αποθηκεύεται ξεπερνά την ενέργεια που καταναλώνεται από έναν οργανισμό. Αυτή η περίσσεια ενέργειας αποθηκεύεται στα λιποκύτταρα, αναπτύσσοντας έτσι την χαρακτηριστική παθολογία της παχυσαρκίας. Πλέον, πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι όχι μόνο η ποσότητα της τροφής που καταναλώνεται, αλλά και η πηγή της τροφής συμμετέχουν στον έλεγχο του βάρους και την πρόληψη ασθενειών.[18] Ωστόσο, είναι γνωστό ότι γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στον προσδιορισμό της προδιάθεσης του ατόμου για αύξηση βάρους.[19]

Τέλος, η διατροφή σε συνδυασμό με διάφορους κοινωνικούς και οικονομικούς παράγοντες που σχετίζονται με την παροχή τροφής έχουν σημαντική επίδραση στην ικανότητα του ασθενούς να διατηρήσει μια ισορροπία μεταξύ ενεργειακής πρόσληψης και ενεργειακής κατανάλωσης.[20] Επιπλέον, το οικογενειακό ιστορικό, ο τρόπος ζωής και οι ψυχολογικοί παράγοντες συμβάλλουν στην τάση για παχυσαρκία, ενώ οι πιθανότητες για αύξηση βάρους επηρεάζονται από τη φύση και την ανατροφή και ενισχύονται από την οικογενειακή γενετική και τον τρόπο ζωής.[21]

1.3.1.1 Μικροβίωμα του εντέρου

Σε επίπεδο οργανισμού, η παχυσαρκία εμπλέκεται σε ένα αλλοιωμένο μικροπεριβάλλον του εντέρου. Αυτό το περιβάλλον είναι πιο ευαίσθητο στη δημιουργία παθογόνων αλλαγών που μπορούν να προκαλέσουν πιο σοβαρές ασθένειες. Πολλά στοιχεία δείχνουν ότι οι αλλαγές στο μικροβίωμα του εντέρου προκαλούν μεταβολές στο βάρος του ξενιστή και στο μεταβολισμό.[22] Η μικροχλωρίδα του εντέρου παίζει βασικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, ενώ διαταραχές στη μικροχλωρίδα μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή του εντερικού περιβάλλοντος. Αυτή η απόκριση έχει βρεθεί ότι διαμεσολαβείται από TLRs, που αναγνωρίζουν και επιτίθενται σε μικρόβια που προσβάλλουν την εντερική περιοχή, με πιο γνωστό τον TLR4 που αναγνωρίζει το βακτηριακό LPS στα κυτταρικά τοιχώματα Gram⁻ βακτηρίων.[23]

1.3.1.2 Γενετικοί παράγοντες

Μελέτες σε δίδυμα δείχνουν ότι περίπου το 40-70% της διακύμανσης της παχυσαρκίας στον άνθρωπο, οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες.[24] Παρόλο που τα τελευταία 20 χρόνια οι περιβαλλοντικές αλλαγές έχουν αυξήσει τα ποσοστά παχυσαρκίας, οι γενετικοί παράγοντες φαίνεται τα πρωταγωνιστούν στην ανάπτυξή της. Πολλά γονίδια που έχουν εντοπιστεί και σχετίζονται με τη ραγδαία αύξηση βάρους, εμπλέκονται σε μηχανισμούς ρύθμισης της ενεργειακής ομοιόστασης. Ένα από τα πιο γνωστά και σημαντικά γονίδια, είναι αυτό που έχει ως προϊόν τη λεπτίνη και είναι γνωστό ως γονίδιο της παχυσαρκίας. Η λεπτίνη ρυθμίζει την πρόσληψη της τροφής, την όρεξη και τη μάζα του σώματος, παράγεται από τα λιποκύτταρα και τα επίπεδά της αυξάνονται υπερβολικά κατά την παχυσαρκία. Έτσι, δημιουργείται μια κατάσταση γνωστή ως «αντίσταση στη λεπτίνη» και προκαλείται συνεχής και έντονη πείνα.[25]

1.3.2 Μοριακοί μηχανισμοί

Η παχυσαρκία είναι αποτέλεσμα ενός μακροχρόνιου θετικού ενεργειακού ισοζυγίου. Βέβαια, η παθογένειά της είναι πολυσύνθετη. Μεταξύ άλλων, οι κύριοι παράγοντες που παίζουν ρόλο στη ρύθμιση αυτού του ενεργειακού ισοζυγίου είναι η λεπτίνη και η ινσουλίνη, ενώ τα τελευταία χρόνια γίνονται έρευνες και για την επίδραση των ινκρετινών.

A. Λεπτίνη

Η λεπτίνη, το μόριο της οποίας έχει μέγεθος 16kDa και περιλαμβάνει 167 αμινοξέα, είναι μια ορμόνη που παράγεται από τον λιπώδη ιστό και κυκλοφορεί στο αίμα τόσο σε ελεύθερη όσο και συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Ωστόσο, απαντάται σε ενεργεί μορφή, στην ελεύθερή της κατάσταση. Η λεπτίνη ρυθμίζει την όρεξη και το μεταβολισμό, αναστέλλοντας τη σύνθεση και την απελευθέρωση του νευροπεπτιδίου Y (NPY). Επιπλέον, μπορεί να αναστείλει νευρικές οδούς που ενεργοποιούνται από διεγερτικά της όρεξης, όπως το NPY και η πρωτεΐνη που σχετίζεται με το agouti (AgRP), και να ενεργοποιήσει μονοπάτια που στοχεύουν στην καταστολή της όρεξης. Το προϊόν της προοπιομελανοκορτίνης (POMC), είναι καταστολέας της όρεξης και εμπλέκεται στη ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της

λεπτίνης ή στον υποδοχέα της, μπορούν να οδηγήσουν σε μειωμένη σηματοδότηση της λεπτίνης και κατά συνέπεια σε αυξημένη όρεξη και παχυσαρκία στον άνθρωπο, αλλά και στα ζώα.

Παρόλο που οι γενετικές μεταλλάξεις επηρεάζουν τη σηματοδότηση της λεπτίνης και οδηγούν στην υπεραύξηση βάρους, σε πολλά παχύσαρκα άτομα τα επίπεδα λεπτίνης φαίνεται να αυξάνονται ανάλογα με το σωματικό λίπος. Ένα τέτοιο φαινόμενο, αναφέρεται με τον όρο «αντίσταση στη λεπτίνη», και στην κατάσταση αυτή παρεμποδίζεται η θεραπεία με τη χρήση εξωγενούς λεπτίνης. Ωστόσο, ασθενείς με κοινή διατροφική παχυσαρκία, φαίνεται ότι τα επίπεδα λεπτίνης είναι υψηλά, σχηματίζοντας υπερλεπτιναιμία, αλλά αυτό δε σχετίζεται με την αντίσταση στη λεπτίνη, αλλά ίσως με το γεγονός ότι μερικά άτομα χρειάζονται αυξημένα επίπεδα για να ενεργοποιήσουν τα σχετικά μονοπάτια.[26]

B. Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη παράγεται από τα β- κύτταρα του παγκρέατος και εκκρίνεται από την πυλαία φλέβα, η οποία παρέχει τη νεοπαραγόμενη ινσουλίνη στο ήπαρ. Οι συγκεντρώσεις της συνδέονται στενά με το σωματικό βάρος και το λιπώδη ιστό. Όταν οι υποδοχείς της ινσουλίνης είναι μειωμένοι στην κυτταρική επιφάνεια βασικών ιστών που σχετίζονται και με το μεταβολισμό της γλυκόζης, τότε το άτομο οδηγείται σε παχυσαρκία. Η μειωμένη έκφραση υποδοχέων της ινσουλίνης, δημιουργεί «αντίσταση στην ινσουλίνη». Άτομα με ήπια αντίσταση στην ινσουλίνη, έχουν μειωμένο αριθμό υποδοχέων ινσουλίνης, ενώ άτομα με πιο βαριά αντίσταση στην ινσουλίνη, εμφανίζουν προβλήματα και στη σηματοδότησή της. Ο μειωμένος αριθμός των υποδοχέων πιστεύεται ότι οφείλεται στην υπερβολική αύξηση της ινσουλίνης, σε ασθενείς με παχυσαρκία, καθώς προωθείται η πρόσληψη λιπαρών οξέων και γλυκόζης από τα λιποκύτταρα. Κάτι τέτοιο οδηγεί στην αποθήκευση θερμίδων με τη μορφή λίπους, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλεται η λιπόλυση.[27]

Γ. Ινκρετίνες

Οι ινκρετίνες είναι ορμόνες που εκκρίνονται από τα ενδοκρινικά κύτταρα του εντέρου μετά από την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης από τα β- κύτταρα του παγκρέατος με τρόπο εξαρτώμενο από τη γλυκόζη. Οι ινκρετίνες που είναι γνωστές μέχρι σήμερα είναι η GIP (ινσουλινοτροπικό πολυπεπτίδιο εξαρτώμενο από τη γλυκόζη) και η GLP-1 (πεπτίδιο-1 που μοιάζει με

γλυκαγόνο). Προβλήματα στη ρύθμιση της έκκρισης των ινκρετινών, προκαλούν διαταραχές όπως η παχυσαρκία και ο ΣΔΤ2. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το GIP και το GLP- 1 λειτουργούν συγχρονισμένα για τη ρύθμιση της μεταγευματικής έκκρισης ινσουλίνης και γλυκαγόνης, με σκοπό τη διατήρηση ομοιόστασης της γλυκόζης.[54] Η ενεργοποίηση των υποδοχέων των ορμονών αυτών, GIPR και GLP-1R, αντίστοιχα, επηρεάζει πολλούς ιστούς. Το GLP-1 αναστέλλει την όρεξη και αυξάνει τον κορεσμό, διεγείροντας τους νευρώνες που μειώνουν την όρεξη (POMC/ CART) και αναστέλλοντας τους νευρώνες που σχετίζονται με το NPY/AgRP. Το GIP έχει προταθεί ότι μπορεί να προάγει την αποθήκευση λίπους στον υποδόριο λιπώδη ιστό, διεγείροντας την λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Σε συνθήκες παχυσαρκίας, παρατηρείται μειωμένη σηματοδότηση του GLP-1, ενώ μελέτες έχουν δείξει ότι σε παχύσαρκα άτομα υπάρχει υπερέκκριση GIP, το οποίο ενδεχομένως λειτουργεί σαν αντισταθμιστικός μηχανισμός. Αγωνιστές των GLP-1R έχουν την ικανότητα να προκαλούν μείωση βάρους και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της παχυσαρκίας.[55]

1.3.3 Αντιμετώπιση

A. Αλλαγή τρόπου ζωής

Δεδομένου ότι ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει αυξηθεί δραματικά σε παγκόσμιο επίπεδο, έχει φτάσει πλέον σε σημείο επιδημίας, αποτελώντας απειλή για τη δημόσια υγεία. Όλοι οι άνθρωποι καλούνται να ευαισθητοποιηθούν προκειμένου να μειωθεί αυτό το φαινόμενο, καθώς και ο αριθμός των θυμάτων του.

Η αλλαγή στον τρόπο ζωής των ατόμων με παχυσαρκία, είναι ένα βασικό κίνητρο ώστε να το καταπολεμήσουν. Αρχικά, η πρόσληψη λιγότερων θερμίδων, αποτελεί σημαντικό παράγοντα αντιμετώπισης, αλλά και πρόληψης της αύξησης βάρους. Αναφέρεται ότι η μείωση της ενεργειακής πρόσληψης περίπου 500 θερμίδες τη μέρα, βοηθά στη μείωση του βάρους με απώλεια 0.5 κιλά κατά προσέγγιση. Ωστόσο, διάφορα προγράμματα διατροφής για την καταπολέμηση της παχυσαρκίας, μπορεί να περιλαμβάνουν δίαιτες με αλλαγές στη σύσταση ως προς τα μακροθρεπτικά συστατικά, όπως διαίτα χαμηλή σε λιπαρά και υψηλή σε πρωτεΐνες.[28] Επιπλέον, η αποφυγή του καθιστικού τρόπου ζωής και η ένταξη κάποιας δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της μέρας, είναι ένας αποτελεσματικός δείκτης για τη μείωση του περιττού σωματικού

βάρους. Η τακτική άσκηση έχει ευεργετικές ιδιότητες για την ευεξία του σώματος και τη διατήρηση φυσιολογικών τιμών βιοδεικτών, όπως η γλυκόζη και η χοληστερίνη, ενώ βελτιώνει τη φυσική κατάσταση του οργανισμού και τη διαχείριση του βάρους.[29]

B. Φαρμακευτική αγωγή

Αντιμέτωπη της παχυσαρκίας, καθίσταται και η φαρμακευτική θεραπεία, η οποία αποτελεί έναν διαρκώς εξελισσόμενο κλάδο, με δυνατότητα να δώσει λύσεις σε υπέρβαρους ασθενείς. Στην Ευρώπη, αναφέρεται ότι είναι αδειοδοτημένα τρία φάρμακα κατά της παχυσαρκίας, ενώ μελετώνται ακόμα σε κλινικό καταληκτικό επίπεδο τα δύο από αυτά (sibutramine, rimonabant). Συγκεκριμένα, η σιμπουτραμίνη είναι ένας αναστολέας επαναπρόσληψης σεροτονίνης/ νοραδρεναλίνης που αυξάνει κυρίως τον κορεσμό, ενώ μπορεί να αυξήσει την ενεργειακή δαπάνη στο επίπεδο του λιπώδους ιστού. Μελέτες υποστηρίζουν ότι η σιμπουτραμίνη μειώνει το σωματικό βάρος και δείκτες όπως τα τριγλυκερίδια και το ουρικό οξύ, ενώ έχει αμφιλεγόμενες επιδράσεις στην αρτηριακή πίεση. Η ορλιστάτη, ένα εναλλακτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται έναντι της παχυσαρκίας, είναι αναστολέας της παγκρεατικής λιπάσης που μειώνει την απορρόφηση του λίπους αναστέλλοντας μερικώς την υδρόλυση των διατροφικών τριγλυκεριδίων. Ωστόσο, παρά της θετικές επιδράσεις της, φαίνεται να προκαλεί γαστρεντερικά προβλήματα, που εξασθενούν όμως με την πάροδο του χρόνου. Τέλος, το rimonabant είναι ένας εκλεκτικός ανταγωνιστής του υποδοχέα κανναβινοειδών 1. Δρα αναστέλλοντας την υπερενεργοποίηση του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος παράγοντας ερεθίσματα που μειώνουν την όρεξη στο ΚΝΣ, ενώ ελέγχει και το μεταβολισμό. Το rimonabant βρέθηκε ότι μειώνει το σωματικό βάρος, αλλά οι καρδιομεταβολικές παράμετροι βρίσκονται ακόμα υπό μελέτη. Παρόλο που η έρευνα επί του θέματος της παχυσαρκίας είναι σε προχωρημένο επίπεδο και οι μοριακοί μηχανισμοί είναι πλέον γνωστοί, ορισμένα φαρμακολογικά αποτελέσματα βρίσκονται ακόμα σε εργαστηριακή διεργασία όσον αφορά ορισμένες άλλες χρόνιες παθήσεις που προκαλούνται από την παχυσαρκία (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία). Ωστόσο, ορισμένα από τα φάρμακα που έχουν βρεθεί, μπορούν να συμβάλλουν στη μείωση βάρους, βελτιώνοντας πολλούς παράγοντες κινδύνου.[30]

Ένα πολλά υποσχόμενο φάρμακο που έχει μελετηθεί και εγκριθεί τα τελευταία χρόνια είναι η σεμαγλουτίδη (semaglutide), ένας αγωνιστής του υποδοχέα GLP-1 που χρησιμοποιείται για τη χρόνια διαχείριση του βάρους. Η GLP-1 διεγείρει την απελευθέρωση και έκκριση ινσουλίνης και αναστέλλει την απελευθέρωση γλυκαγόνης σε υπεργλυκαιμικές καταστάσεις, ενώ επιβραδύνει τη γαστρική κένωση και μειώνει το αίσθημα πρόσληψης της τροφής. Ωστόσο, έχει μικρό χρόνο ημιζωής λόγω της αποικοδόμησης από το ένζυμο DPP-4, κάτι το οποίο έχει αντιμετωπιστεί στους συνθετικούς αγωνιστές GLP-1. Η σεμαγλουτίδη προάγει την έκκριση της ινσουλίνης από τα β- κύτταρα του παγκρέατος και μειώνει την έκκριση γλυκαγόνης με τρόπο εξαρτώμενο από τη γλυκόζη. Τέλος, η σεμαγλουτίδη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα σε συνδυασμό με τη μειωμένη πρόσληψη θερμίδων και την ενεργή φυσική δραστηριότητα για την καταπολέμηση της παχυσαρκίας.[56]

1.4 *Drosophila melanogaster* ως πειραματικό μοντέλο

Η *Drosophila melanogaster* (**Εικόνα 2**), γνωστή και ως μύγα των φρούτων, ανήκει στην τάξη των δίπτερων και η περαιτέρω ταξινόμησή της, αναγράφεται στον **Πίνακα 1**.

Βασίλειο	Ζώα
Φύλο	Αρθρόποδα
Κλάση	Έντομα
Τάξη	Δίπτερα
Οικογένεια	Drosophilidae
Γένος	Drosophila
Υπόγενο	Sophophora
Είδος	melanogaster

Πίνακας 1: Ταξινόμηση *Drosophila melanogaster*

Η *Drosophila melanogaster* αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα πειραματικά μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί και συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται σε μελέτες αναπτυξιακής βιολογίας, γενετικής και φυσιολογίας. Η πληθώρα πλεονεκτημάτων που διαθέτει την καθιστούν από τα ιδανικότερα μοντέλα για μελέτες σχετικά με τον άνθρωπο.

Μερικά από τα βασικά χαρακτηριστικά της είναι ο σύντομος κύκλος ζωής της, το χαμηλό κόστος και η εύκολη διατήρηση της καλλιέργειας, με αποτέλεσμα τη πραγματοποίηση των πειραμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα. Επιπλέον, το μικρό της μέγεθος, υποβοηθά τον πειραματικό χειρισμό, ενώ η υψηλή γονιμότητα και η γρήγορη αναπαραγωγή, την καθιστούν ιδανική για πειράματα γενετικών μελετών. Το γενετικό υλικό της *Drosophila melanogaster*, αποτελείται από 14.000 γονίδια, που οργανώνονται σε 4 χρωμοσώματα, εκ των οποίων το 1 είναι φυλετικό (X, Y) και τα υπόλοιπα 4 αυτοσωμικά.[31] Τέλος, έχει βρεθεί ότι περίπου το 75% των γονιδίων της μύγας φρούτων είναι ορθόλογα με ανθρώπινα γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, κάτι το οποίο αποτελεί το βασικότερο λόγο που θεωρείται το ιδανικό πειραματικό μοντέλο και επίκεντρο έρευνας.

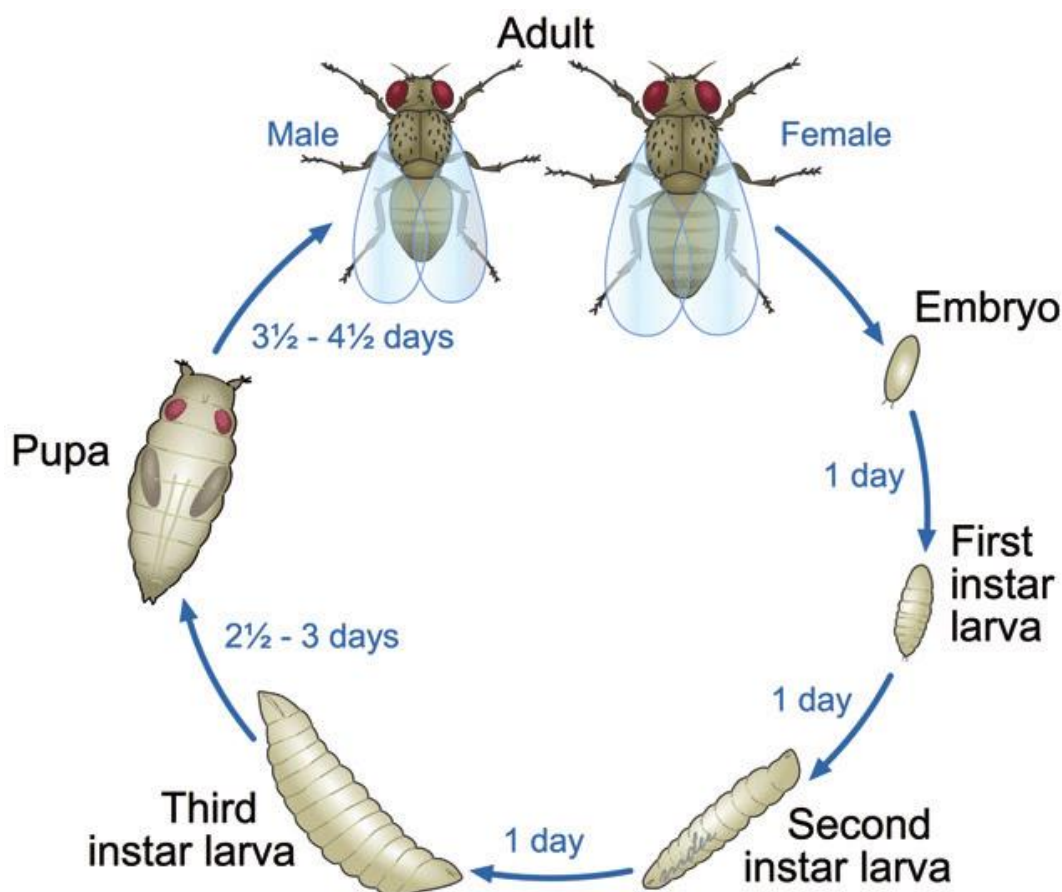


Εικόνα 2: *Drosophila melanogaster*, Shutterstock

1.4.1 Ο κύκλος ζωής της *Drosophila Melanogaster*

Η *Drosophila melanogaster* χαρακτηρίζεται από σύντομο κύκλο ζωής που έχει διάρκεια περίπου 8- 14 μέρες, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν. Σε εργαστηριακό περιβάλλον, αναπτύσσεται και διατηρείται σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25°C) και υγρασίας (50%- 60%), εντός φιαλιδίων που περιέχουν στο κάτω μέρος την τροφή τους. Οι συγκεκριμένες συνθήκες θεωρούνται οι ιδανικότερες για την επιβίωσή τους, ολοκληρώνοντας έναν κύκλο ζωής σε περίπου 10 ημέρες.[32]

Μέχρι την ενηλικίωση, η *D. melanogaster* περνάει από 4 βασικά αναπτυξιακά στάδια (Εικόνα 3). Αρχικά, μετά τη γονιμοποίηση με τη διασταύρωση δυο ενήλικων μυγών προκύπτει το αυγό, που μεταμορφώνεται σε 24 ώρες σε προνύμφη, η οποία παραμένει μέσα στην τροφή προκειμένου να αφομοιώσει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία που χρειάζεται. Το στάδιο της προνύμφης υποδιαιρείται σε 3 ξεχωριστές φάσεις ανάπτυξης, οι οποίες είναι προνύμφη πρώτου, δεύτερου και τρίτου σταδίου. Μετά το πέρας 3- 4 ημερών, η προνύμφη που βρίσκεται στο τρίτο στάδιο ανάπτυξης, ξεκινά να προωθείται προς τα τοιχώματα του φιαλιδίου, με σκοπό τη μεταμόρφωση σε νύμφη. Η ανάπτυξη πραγματοποιείται σε ένα κουκούλι από χιτίνη, για περίπου 4 ημέρες, ώστε τελικά να προκύψει το ενήλικο έντομο. Τα ενήλικα έντομα καθίστανται αναπαραγωγικά ενεργά περίπου 8- 12 ώρες μετά από την τελική μεταμόρφωσή τους και έτσι ξεκινά ένας νέος κύκλος ζωής.

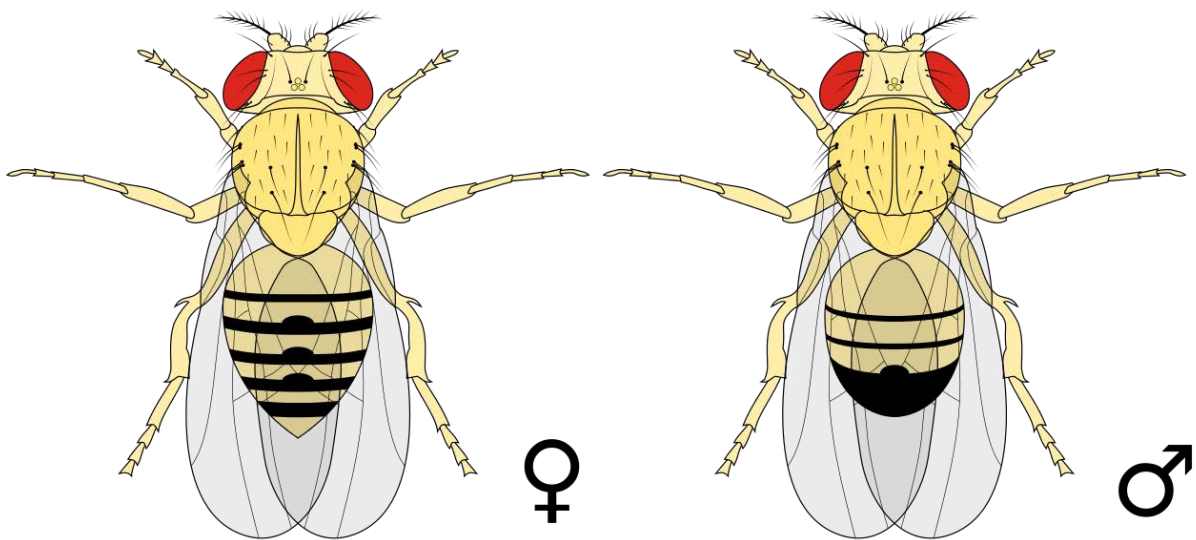


Εικόνα 3: Κύκλος ζωής *Drosophila melanogaster* (Cynthia Ong, et.al., 2014)

1.4.2 Μορφολογικές διαφορές αρσενικών και θηλυκών *D. melanogaster*

Προκειμένου να επιτευχθεί η αποτελεσματική διεξαγωγή των πειραμάτων στο εργαστήριο, είναι απαραίτητη η διάκριση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών *Drosophila melanogaster* (**Εικόνα 4**). Έκαστο φύλο έχει τα δικά του μοναδικά χαρακτηριστικά που το καθιστούν ευδιάκριτο και εύκολα διαχειρίσιμο σε εργαστηριακά πειράματα.[33]

Η βασική διαφορά τους εντοπίζεται στο μέγεθος, με τα θηλυκά να είναι εμφανώς μεγαλύτερα από τα αρσενικά, ενώ έχουν και μεγαλύτερο σωματικό βάρος. Επιπλέον, τα θηλυκά εμφανίζουν στην κοιλιακή τους περιοχή μαύρες ρίγες, σε αντίθεση με τα αρσενικά που στο κάτω μέρος της κοιλιάς τους εμφανίζουν μία μαύρη κηλίδα. Τέλος, τα αρσενικά διαθέτουν ένα ιδιαίτερο ανατομικό χαρακτηριστικό που τα ξεχωρίζει, στο πρώτο ζεύγος των ποδιών που ονομάζεται φυλετικό χτένι, το οποίο, όμως, για να γίνει διακριτό, απαιτείται η χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.



Εικόνα 4: Διαφορές αρσενικών και θηλυκών *D. melanogaster* (Dr Samantha, 2020)

1.4.3 Ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού στη *D. melanogaster*

Ο ενεργειακός μεταβολισμός είναι η διαδικασία χρήσης θρεπτικών ουσιών για την παραγωγή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), το οποίο αποτελεί το ενεργειακό νόμισμα των κυττάρων. Ο δεσμός υψηλής ενέργειας στο ATP υδρολύεται και δημιουργεί ADP και ανόργανο φώσφορο απελευθερώνοντας ενέργεια χρήσιμη για πολλές κυτταρικές διεργασίες.[34]

Στη *Drosophila melanogaster*, τα θρεπτικά συστατικά μετά τη διαδικασία της πέψης, απορροφώνται από το μεσέντερο και στη συνέχεια αποθηκεύονται στο λιπώδες σώμα και τα περιφερειακά οινोकύτταρα (oenocytes) που αντιπροσωπεύουν τους ηπατικούς και λιπώδεις ιστούς των θηλαστικών.[35][53] Κατά αυτόν τον τρόπο, ο υπερσιτισμός σχετίζεται με την αυξημένη αποθήκευση λίπους και στις μύγες. Το οξυγόνο που είναι απαραίτητο για το μεταβολισμό σε διάφορα όργανα, παρέχεται στον οργανισμό από ένα ξεχωριστό ανοιχτό σωληνοειδές δίκτυο που ονομάζεται τραχεία.[36]

Η *D. melanogaster*, διαθέτει γονίδια που μοιάζουν με αυτά της ινσουλίνης των θηλαστικών (ορθόλογα), γνωστά ως dIIs και αποτελούν κύριους παράγοντες που εμπλέκονται στη μεταβολική ομοιοστάση, ρυθμίζοντας τα ποσοστά γλυκόζης και τρεχαλόζης στη συστηματική κυκλοφορία. Δυσλειτουργία των γονιδίων αυτών οδηγεί στην αντίσταση στην ινσουλίνη και την υπεργλυκαιμία.[37] Όπως παρατηρείται και στο ενδοκρινικό σύστημα ινσουλίνης/ γλυκαγόνης στα θηλαστικά, εκτός από τα dIIs, και η λιποκινητική ορμόνη τύπου γλυκαγόνης (AKH), παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό λιπιδίων και γλυκόζης στη *Drosophila melanogaster*. Επιπλέον, στις προνύμφες, το λιπώδες σώμα αποθηκεύει τα θρεπτικά συστατικά σε μεγάλες ποσότητες με τη μορφή γλυκογόνου και τριγλυκεριδίων, ενώ συγχρονίζει τη συστηματική ανάπτυξη μέσω της σηματοδότησης ινσουλίνης και TOR, η οποία αναστέλλεται με την κατανάλωση τροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.[38][39]

1.4.4 Η *D. melanogaster* ως μοντέλο για την παχυσαρκία

Η *D. melanogaster* έχει προταθεί και χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως πρότυπος οργανισμός σε πολλά πειράματα γενετικής έρευνας, καθώς διαθέτει ορθόλογα γονίδια σε ποσοστό περίπου 75% με όλα τα γνωστά γονίδια που σχετίζονται με τις ανθρώπινες ασθένειες, ενώ διαθέτει επίσης ιστούς, όργανα και συστήματα ανάλογα με εκείνα που σχετίζονται με την παχυσαρκία και τις μεταβολικές επιπλοκές στον άνθρωπο.[40] Έτσι, το συγκεκριμένο έντομο αποτελεί ένα ιδανικό ερευνητικό μοντέλο για τη μελέτη παθοφυσιολογικών μηχανισμών που σχετίζονται με την παχυσαρκία στον άνθρωπο.

Αρχικά, έχει αποδειχθεί ότι η *D. melanogaster* εμφανίζει παρόμοιες μεταβολικές λειτουργίες με τα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένης της διατήρησης ομοιοστάσης της γλυκόζης, της αποθήκευσης και κινητοποίησης λιπιδίων και της

ρύθμισης της πρόσληψης της τροφής. Επιπλέον, η χρήση της μύγας των φρούτων ως πρότυπο οργανισμό για μελέτες μεταβολικών διαταραχών, όπως η παχυσαρκία, χαρακτηρίζεται από μια πληθώρα πλεονεκτημάτων, όπως η οικονομική συντήρηση, η υψηλή παραγωγή απογόνων σε σύντομο χρονικό διάστημα, η παρουσία ιστών και οργάνων και η παρουσία γονιδίων που σχετίζονται με τη νόσο.

Ειδικό μέρος

2. Υλικό & Μέθοδοι

2.1 Σκοπός της διπλωματικής διατριβής

Σκοπός της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας, αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στην κινητικότητα, το μεταβολικό ρυθμό, το σωματικό βάρος και την ανθεκτικότητα σε συνθήκες ψύχους. Πιο συγκεκριμένα, η κινητικότητα προσδιορίστηκε μέσω της διαδικασίας αρνητικής γεώταξης και ο μεταβολικός ρυθμός με τον προσδιορισμό του παραγόμενου CO₂. Έπειτα, έγινε καταμέτρηση του βάρους και του μήκους, ενώ συγκεκριμένος αριθμός μυγών τοποθετήθηκε σε πάγο και μετά το πέρας 4 ωρών προσδιορίστηκε για μια ώρα πόσες μύγες κατάφεραν να επιβιώσουν. Η εκτίμηση της επίδρασης της HFD σε επίπεδο φυσιολογίας και μεταβολισμού, μπορεί να φανεί χρήσιμη για την ανάπτυξη περαιτέρω πειραματικών μοντέλων και την κατανόηση των μηχανισμών της παχυσαρκίας, καθώς και την αντιμετώπισή της.

2.2 Συντήρηση καλλιέργειας *Drosophila melanogaster*

Για την πραγματοποίηση των πειραματικών διαδικασιών, χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος *D. melanogaster* Oregon (Bloomington Drosophila Stock Center). Η καλλιέργεια διατηρήθηκε σε κλίβανο, όπου υπήρχαν οι ιδανικές συνθήκες διαβίωσης. Συγκεκριμένα, ο κλίβανος παρείχε σταθερή θερμοκρασία στους 25°C και σταθερή υγρασία σε ποσοστό 50%- 60%. Επίσης, προκειμένου το στέλεχος να αναπτυχθεί και να συντηρηθεί ομαλά, ο κλίβανος διέθετε πρόγραμμα σταθερού ημερήσιου κύκλου, δηλαδή 12 ώρες μέρα και 12 ώρες νύχτα.

Αρχικά, 30- 40 μύγες κατά προσέγγιση τοποθετούνταν σε φιαλίδια όπου στο κάτω μέρος τους βρισκόταν το θρεπτικό υλικό, ενώ το πάνω μέρος ήταν καλυμμένο με βαμβάκι. Κάθε 10 μέρες γινόταν αλλαγή της καλλιέργειας, δηλαδή οι μύγες τοποθετούνταν σε καινούρια φιαλίδια με φρέσκο θρεπτικό υλικό. Έτσι, οι ενήλικες μύγες βρίσκονται πάντα σε περιβάλλον με ανανεωμένο θρεπτικό υλικό, ενώ ο αριθμός της καλλιέργειας αυξάνεται εκθετικά. Αυτό συμβαίνει, καθώς επιτυγχάνεται πάντα η ανάπτυξη νέων ενήλικων μυγών στα παλαιότερα φιαλίδια που περιείχαν έμβρυα, νύμφες και προνύμφες. Τέλος, προκειμένου η καλλιέργεια να παραμείνει υγιής τα

φιαλίδια αποσύρονται μετά από περίπου 30 ημέρες, ενώ γίνεται συχνός έλεγχος με τη χρήση στερεοσκοπίου (OLYMPUS SZ30-ST), για τυχόν μύκητες ή παράσιτα.

2.3 Τύποι διατροφής *D. melanogaster*

Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δυο τύποι διατροφής, η τυπική διατροφή (ND) και η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (HFD). Οι μύγες εκτέθηκαν και στους δύο τύπους διατροφής για 7, 14 και 21 ημέρες. Και στις δύο περιπτώσεις, χρησιμοποιήθηκαν φιαλίδια που περιείχαν περίπου 30 μύγες, ενώ ήταν διαχωρισμένες σε αρσενικές θηλυκές, ώστε να μη συμβούν διασταυρώσεις. Οι καλλιέργειες άλλαζαν ανά 2 μέρες προκειμένου να ανανεώνονται σε σύντομο χρονικό διάστημα οι τροφές και οι μύγες να λαμβάνουν όσο το δυνατόν περισσότερα θρεπτικά.

Για την κανονική τροφή χρησιμοποιήθηκε ένα τυπικό θρεπτικό μέσο, βασισμένο στην μαγιά, το καλαμποκάλευρο και το άγαρ, περιεκτικότητας 7,5 % w/v σουκρόζη και νιπαγίνη συγκέντρωσης 0,2 % για αντιμυκητιασική δράση. Πιο συγκεκριμένα για την παρασκευή της τροφής στα 100 ml νερό χρησιμοποιούνται τα ακόλουθα συστατικά:

- 7,5 gr ζάχαρη
- 5,5 gr καλαμποκάλευρο
- 3,33 gr ξηρή μαγιά
- 1 gr άγαρ
- 0,2 gr νιπαγίνη διαλυμένη σε 5 ml αιθανόλης 70 %.

Η προμήθεια της νιπαγίνης έγινε από την Sigma (cat: h3647-100G), της 100% αιθανόλης από την VWR CHEMICALS (cat: 20821.330), ενώ τα υπόλοιπα συστατικά πάρθηκαν από τοπικά καταστήματα της περιοχής.

Αναλυτικότερα, τα στάδια για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού αναφέρονται ως εξής:

1. Αρχικά τοποθετούνται 100 ml νερό σε ένα ποτήρι ζέσεως και θερμαίνεται, μέχρι να φτάσει στο σημείο βρασμού, σε θερμαινόμενη πλάκα.

2. Αφού φτάσει σε σημείο βρασμού, η θερμοκρασία ελαττώνεται και αρχίζει η ανάδευση.
3. Έπειτα τοποθετείται η ζάχαρη στο νερό που εξακολουθεί να αναδεύεται, μέχρι να διαλυθεί πλήρως.
4. Στη συνέχεια ακολουθεί το καλαμποκάλευρο, η ξηρή μαγιά και το άγαρ αντίστοιχα.
5. Το μείγμα συνεχίζει να θερμαίνεται, μέχρι να διαλυθούν πλήρως όλα τα συστατικά.
6. Όταν τα συστατικά διαλυθούν πλήρως, το ποτήρι ζέσεως απομακρύνεται από την θερμαινόμενη πλάκα και αναδεύεται μέχρι να μειωθεί σημαντικά η θερμοκρασία του.
7. Ακολουθεί η προσθήκη της διαλυμένης νιπαγίνης, το μείγμα αναδεύεται και τοποθετείται στα φιαλίδια.
8. Τα φιαλίδια αποθηκεύονται για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου για να σταθεροποιηθεί το θρεπτικό μέσο, ώστε να μπορεί να επιτευχθεί η τοποθέτηση ενήλικών μυγών.

Για την τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια υλικά με τη ND, ενώ προστέθηκε επιπλέον βιολογικό (ακατέργαστο) λάδι καρύδας, σε ποσοστό 15%. Συγκεκριμένα, για την παρασκευή της τροφής στα 100 ml νερό χρησιμοποιούνται τα ίδια συστατικά με τη ND με την επιπλέον προσθήκη 7,5 ml λάδι καρύδας. Τα βήματα για την παρασκευή της τροφής είναι όμοια με της ND με ορισμένες αλλαγές μεταξύ των βημάτων 5 και 6:

- Αφού προστεθούν όλα τα υλικά εκτός της νιπαγίνης και του λαδιού, τοποθετούνται 50 ml από την τροφή σε ξεχωριστό ποτήρι ζέσεως, τοποθετείται πάλι στη θερμαινόμενη πλάκα και η ποσότητα του λαδιού προστίθεται εκεί. Αυτό συμβαίνει έτσι ώστε να εξασφαλιστεί το ποσοστό της περιεκτικότητας σε λάδι καρύδας (15%).
- Στη συνέχεια, αφού ομογενοποιηθεί το μείγμα, το ποτήρι ζέσεως τοποθετείται εκτός της φωτιάς και αναδεύεται μέχρι να μειωθεί σημαντικά η θερμοκρασία του.

Όλα τα υπόλοιπα βήματα συνεχίζονται με τον ίδιο τρόπο.

Στις συνθήκες HFD, στα τοιχώματα των φιαλιδίων τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί ώστε να απορροφηθεί το λάδι καρύδας και η τροφή να γίνει όσο το δυνατόν λιγότερο λιπαρή. Έτσι θα αποφευχθούν οι ατυχείς θάνατοι.

2.4 Πειραματικός σχεδιασμός

Για τα συγκεκριμένα πειράματα χρησιμοποιούνται αρσενικές και θηλυκές *D. melanogaster*, η οποίες αναπτύσσονται σε φιαλίδια με ND (συνθήκες control) και με HFD. Αρχικά, σε φιαλίδια με ND τοποθετούνται 10 θηλυκές και 5 αρσενικές μύγες προκειμένου να προκύψουν απόγονοι. Ύστερα από 3 ημέρες, οι μύγες απορρίπτονται από τα φιαλίδια, όπου περιέχονται έμβρυα. Τα έμβρυα αυτά θα μεταμορφωθούν σε νέες ενήλικες μύγες που θα χρησιμοποιηθούν στην πειραματική διαδικασία. Στη συνέχεια, μετά από 9 ημέρες παρασκευάζονται τα θρεπτικά υλικά σε νέα φιαλίδια και τοποθετούνται μύγες ηλικίας 4 ημερών, διαχωρισμένες σε αρσενικές και θηλυκές. Τελικά, στα νέα φιαλίδια η ανάπτυξη των μυγών έχει ολοκληρωθεί πλήρως και είναι πλέον έτοιμες για τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Οι *D. melanogaster*, θα εκτεθούν στη HFD για 7, 14 και 21 ημέρες και η εξαγωγή των αποτελεσμάτων θα γίνει σε αυτά τα χρονικά όρια.

Τόσο οι αρσενικές όσο και οι θηλυκές *D. melanogaster* χωρίζονται σε ομάδες και πραγματοποιείται η μελέτη κινητικότητας με τη μέθοδο αρνητικής γεώταξης. Για τον προσδιορισμό των μεταβολών του μεταβολικού ρυθμού θα χρησιμοποιηθούν οι ίδιες μύγες. Στη συνέχεια θα γίνει η μελέτη ανθεκτικότητας στο ψύχος και τέλος, θα θανατωθούν ώστε να γίνει η μέτρηση του βάρους τους με ζυγό ακριβείας.

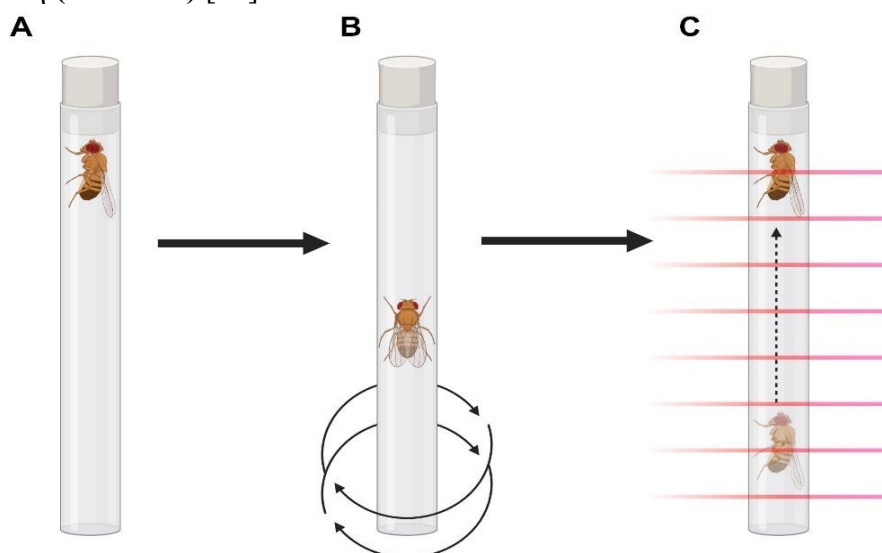
2.5 Δοκιμασία Αρνητικής Γεώταξης

Η αρνητική γεώταξη χαρακτηρίζεται ως μια έμφυτη συμπεριφορά που παρατηρείται σε ιπτάμενα έντομα, όπως η *D. melanogaster*. Συγκεκριμένα, όταν ένα γεγονός οδηγεί σε απότομη αλλαγή της ροής της κίνησής τους, παρουσιάζουν μια αντίδραση προσανατολισμού, με αποτέλεσμα να κινούνται σε αντίθετη κατεύθυνση από αυτή της βαρύτητας.[41] Αυτό το ιδιαίτερο και μοναδικό χαρακτηριστικό που διαθέτουν τα ιπτάμενα έντομα, έχει βοηθήσει τους ερευνητές να χρησιμοποιούν την αρνητική γεώταξη για μελέτες στην κινητικότητα της *D. melanogaster*.

Κατά τη συγκεκριμένη δοκιμασία, χρησιμοποιούνται μύγες μέσα σε δοχείο και κάνοντας ένα ελαφρύ χτύπημα, διαταράσσεται η κίνησή τους και βρίσκονται στον πάτο του δοχείου. Με αυτόν τον τρόπο, οι μύγες ξεκινούν να κινούνται ανοδικά. Συνεπώς, μέσω βιντεοσκόπησης της κίνησης των μυγών, είναι δυνατόν να μελετηθεί η

κινητικότητα σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες με έναν εύκολο, γρήγορο, οικονομικό και αποτελεσματικό τρόπο.

Πριν την αρχή της δοκιμασίας, είναι βασικό να οριστεί μια κάθετη απόσταση σε cm, την οποία καλούνται οι *D. melanogaster* να διανύσουν, καθώς και ένα συγκεκριμένο χρονικό όριο, στο οποίο θα πρέπει να έχουν διανύσει αυτήν την απόσταση (Εικόνα 5).[42]



Εικόνα 5: Δοκιμασία αρνητικής γεώταξης (Thiago C.Moulin et al., 2021)

Για τη δοκιμασία αρνητικής γεώταξης συλλέχθηκαν αρσενικές και θηλυκές μύγες που αναπτύχθηκαν σε κανονική τροφή και HFD για 7, 14 και 21 μέρες αντίστοιχα. Στη συνέχεια, διαχωρίστηκαν σε ομάδες των 10 μυγών και η διαδικασία ακολουθήθηκε με τα παρακάτω βήματα:

1. Αναισθητοποίηση των *D.melanogaster* σε πάγο για 30 λεπτά.
2. Τοποθέτηση σε κυλινδρικά φιαλίδια, το ύψος των οποίων είναι βαθμονομημένο στα 10 cm.
3. Επώαση 15 λεπτών, έτσι ώστε να ξυπνήσουν και να σταθεροποιηθεί το σύστημα κίνησης τους.
4. Ελαφρύ χτύπημα, ώστε να βρεθούν στον πάτο των φιαλιδίων.
5. Βιντεοσκόπηση για 10 δευτερόλεπτα.
6. Υπολογισμός του % ποσοστού των *D.melanogaster* που κατάφεραν να αναρριχηθούν στα 10 cm σε 10 δευτερόλεπτα.

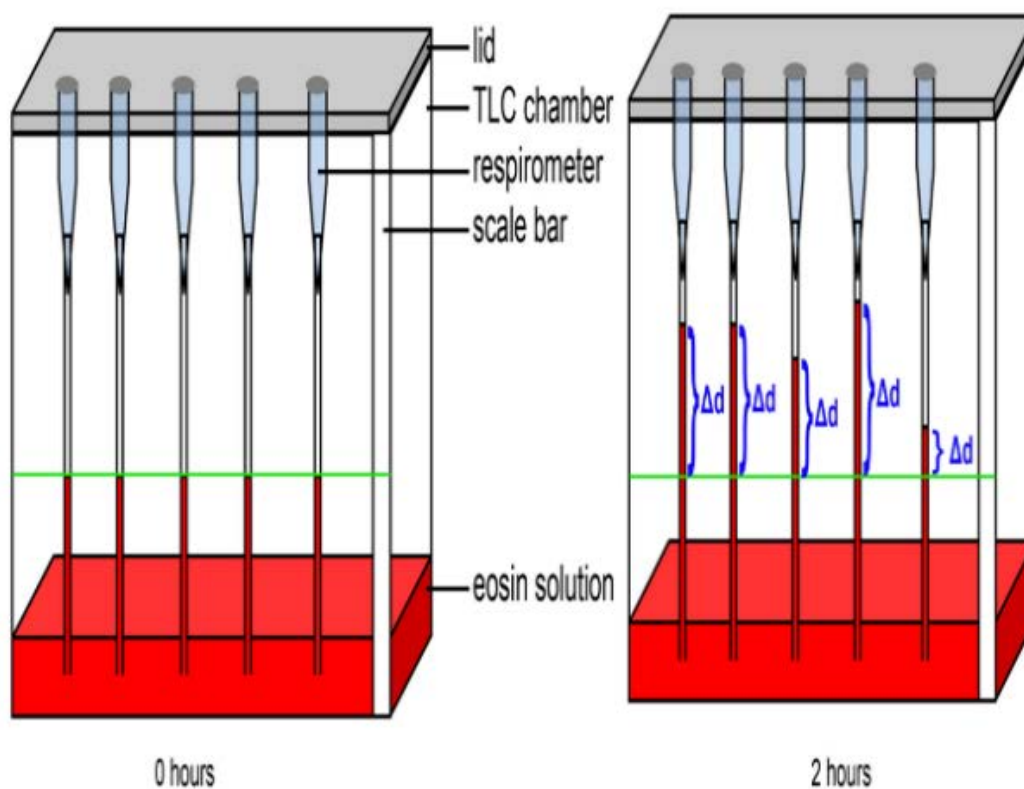
2.6 Προσδιορισμός μεταβολής του μεταβολικού ρυθμού

Στην *D.melanogaster* η κατανάλωση O_2 σχετίζεται άμεσα με την παραγωγή CO_2 , και με αυτόν τον τρόπο αντικατοπτρίζεται το επίπεδο του μεταβολισμού. Το O_2 που χρησιμοποιείται στην οξειδωτική φωσφορυλίωση μετατρέπεται σε CO_2 , το οποίο αποβάλλεται ως μεταβολικό παραπροϊόν.[43] Γενικότερα, σε μελέτες που σχετίζονται με τη γήρανση και το μεταβολισμό, ο υπολογισμός παραγωγής CO_2 έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία. Η μεθοδολογία για προσδιορισμό μεταβολών του μεταβολισμού της *D.melanogaster* είναι βασισμένη στην σύγκριση της παραγωγής CO_2 .

Για τον προσδιορισμό του μεταβολικού ρυθμού, χρησιμοποιείται ένα αυτοσχέδιο αναπνευσιόμετρο, που αποτελεί μια γυάλινη μικροπιπέτα Pasteur. Αυτή η μικροπιπέτα, περιέχει μύγες και μικρές ταμπλέτες Soda lime, ενώ έχει δημιουργηθεί ένας θάλαμος αεροστεγώς κλεισμένος που περιέχει νερό με χρωστική και ειδικές θέσεις για την τοποθέτηση των αναπνευσιόμετρων (**Εικόνα 6**). Το Soda lime, το οποίο αποτελείται από $Ca(OH)_2$ και $NaOH$, χαρακτηρίζεται από την ικανότητά του να συγκρατεί το παραγόμενο CO_2 . Η προμήθεια του Soda lime έγινε από την Sigma (cat: 72073-1KG). Η συνθήκη αρνητικού control, γίνεται χρησιμοποιώντας μια μικροπιπέτα που δεν περιέχει μύγες.

Με την τοποθέτηση των αναπνευσιόμετρων εντός του θαλάμου ασκείται πίεση στην επιφάνεια του νερού, τόσο από τη μικροπιπέτα όσο και από τα αέρια που περιέχονται στο δοχείο. Λόγω αυτού, η στάθμη του νερού στη μικροπιπέτα σταθεροποιείται σε ένα συγκεκριμένο σημείο. Μέσα σε χρονικό διάστημα 2 ωρών, οι μύγες συνεχίζουν να καταναλώνουν O_2 , ενώ το Soda lime απορροφά το παραγόμενο

διοξείδιο του άνθρακα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της πίεσης που ασκείται στην επιφάνεια του νερού και παρατηρείται αύξηση της στάθμης του μικροπιπέτα.



Εικόνα 6: Αυτοσχέδιο αναπνευστόμετρο (S.Yatsenko et al., 2014)

Η διαφορά που προκύπτει στη στάθμη του νερού, υπολογίζεται φωτογραφίζοντας το σύστημα στην αρχική κατάσταση και μετά από το πέρας 2 ωρών. Σύμφωνα με τη διαφορά στη στάθμη του νερού μπορεί να υπολογιστεί το παραγόμενο CO_2 ($\mu\text{l/hr/fly}$) σε κάθε μικροπιπέτα. Η υπολογιστική μέθοδος πραγματοποιείται σύμφωνα με συγκεκριμένη εξίσωση (Εικόνα 7).

$$CO_2 = \frac{[(\Delta d - \Delta c)(\pi x R^2)] \times 1000}{n x h}$$

R= ακτίνα μικροπιπέτας σε cm.

Δd= διαφορά στάθμης νερού μικροπιπέτας που περιέχει *D.melanogaster*.

Δc= διαφορά στάθμης νερού μικροπιπέτας χωρίς *D.melanogaster* (control).

n= αριθμός *D.melanogaster* κάθε μικροπιπέτας.

h= ώρες.

Εικόνα 7: Εξίσωση υπολογισμού παραγόμενου CO_2 (μl/hr/fly)

Βάσει της δοκιμασίας που περιγράφηκε παραπάνω, οι *D.melanogaster* που χρησιμοποιήθηκαν για τη δοκιμασία αρνητικής γεώταξης, συλλέχθηκαν και προετοιμάστηκαν για να μελετηθεί ο μεταβολικός τους ρυθμός και οι μεταβολές του. Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής:

1. Στον αεροστεγώς κλειστό θάλαμο τοποθετούνται 1200 ml νερό και 2 ml χρωστικής, έτσι ώστε η στάθμη του νερού μέσα στην μικροπιπέτα να είναι εμφανής.
2. Έπειτα, τοποθετούνται *D.melanogaster* σε φιαλίδια μέσα σε πάγο για 30 λεπτά έτσι ώστε να αναισθητοποιηθούν.
3. Σε κάθε γυάλινη μικροπιπέτα περιέχονται δύο pellets Soda lime ανάμεσα σε 2 μικρά κομμάτια σφουγγάρι, έτσι ώστε να μην έρχεται το Soda lime σε επαφή με τις μύγες.
4. Στη συνέχεια, τοποθετούνται 6 *D.melanogaster* και οι μικροπιπέτες σφραγίζονται με παραφίλμ.
5. Μια μικροπιπέτα πρέπει να περιέχει μόνο Soda lime, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικό control.
6. Οι μικροπιπέτες παραμένουν για 15 λεπτά εκτός του θαλάμου έτσι ώστε να ξυπνήσουν οι μύγες.
7. Οι μικροπιπέτες τοποθετούνται μέσα στο θάλαμο και παραμένουν για 15 λεπτά, έτσι ώστε το σύστημα να σταθεροποιηθεί.
8. Στη συνέχεια με μια φωτογραφική μηχανή λαμβάνονται φωτογραφίες, έτσι ώστε να είναι εμφανής η στάθμη του νερού σε κάθε μικροπιπέτα. Μετά από 2 ώρες λαμβάνονται φωτογραφίες ξανά.

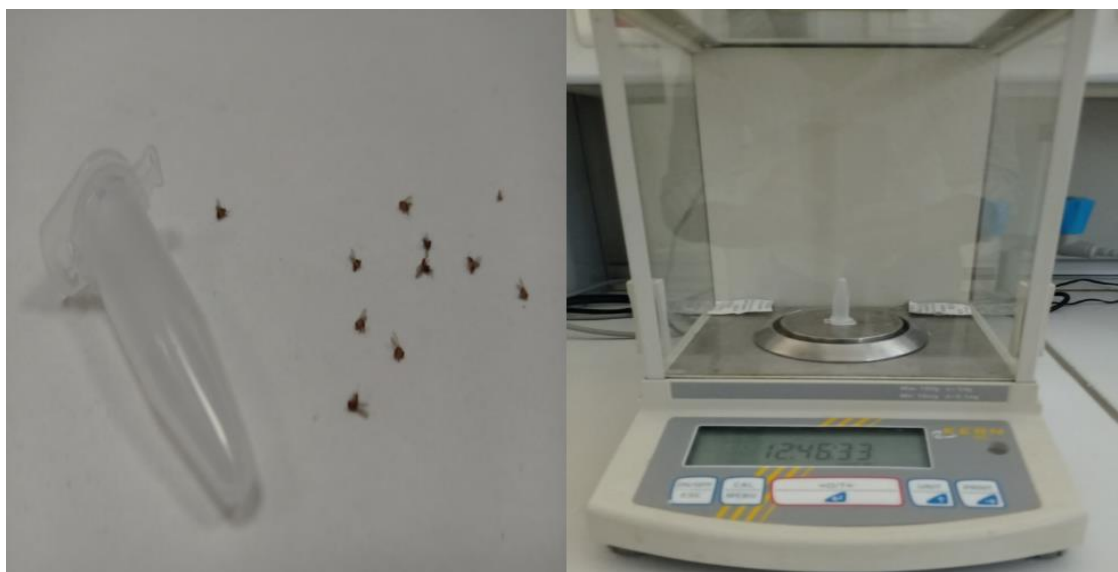
9. Πραγματοποιείται ανάλυση των εικόνων με το λογισμικό ImageJ, έτσι ώστε να υπολογιστεί η διαφορά στη στάθμη του νερού της κάθε μικροπιπέτας, και στη συνέχεια υπολογίζεται το παραγόμενο CO₂ (μl/hr/fly)

2.7 Προσδιορισμός ανθεκτικότητας σε ψύχος

Κατά τη δοκιμασία ανθεκτικότητας των *D. melanogaster* σε συνθήκες ψύχους, οι μύγες τοποθετούνται σε φιαλίδια χωρίς τροφή διαχωρισμένες σε αρσενικές και θηλυκές και στη συνέχεια εισάγονται στον πάγο για 4 ώρες ώστε να αναισθητοποιηθούν. Μετά το πέρας των ωρών, οι *D. melanogaster* απλώνονται σε λευκή επιφάνεια και γίνεται καταμέτρηση του αριθμού των μυγών που επανέρχονται σε χρονική διάρκεια δυο λεπτών. Αυτή η διαδικασία συνεχίζεται για μια ώρα, ενώ αν δεν έχουν συνέλθει οι μύγες μέχρι τότε, θεωρούνται νεκρές. Ο προσδιορισμός της ανθεκτικότητας σε ψύχος, γίνεται προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της διατροφής στην ικανότητα των *D. melanogaster* να ανταπεξέρχονται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες.

2.8 Μέτρηση βάρους

Μετά τη δοκιμασία της αρνητικής γεώταξης και τον προσδιορισμό του μεταβολικού ρυθμού, οι μύγες που χρησιμοποιήθηκαν, θανατώθηκαν προκειμένου να γίνει υπολογισμός του σωματικού βάρους τους, αλλά και του μήκους τους. Η θανάτωση των μυγών έγινε με την τοποθέτησή τους στην κατάψυξη για 10 λεπτά. Συγκεκριμένα, έγινε διαχωρισμός των *D. melanogaster* σε αρσενικές και θηλυκές και τοποθετήθηκαν σε 6 tube, όπου το καθένα περιείχε 10 μύγες. Στη συνέχεια, το βάρος υπολογίστηκε με τη βοήθεια ενός ζυγού ακριβείας (**Εικόνα 8**). Το τελικό σωματικό βάρος εκάστης μύγας υπολογίστηκε από το μέσο όρο (mg/fly) των 10 μυγών που περιέχονταν σε κάθε tube που τοποθετήθηκε στο ζυγό.



Εικόνα 8: Μέτρηση βάρους D. melanogaster σε ζυγό ακριβείας

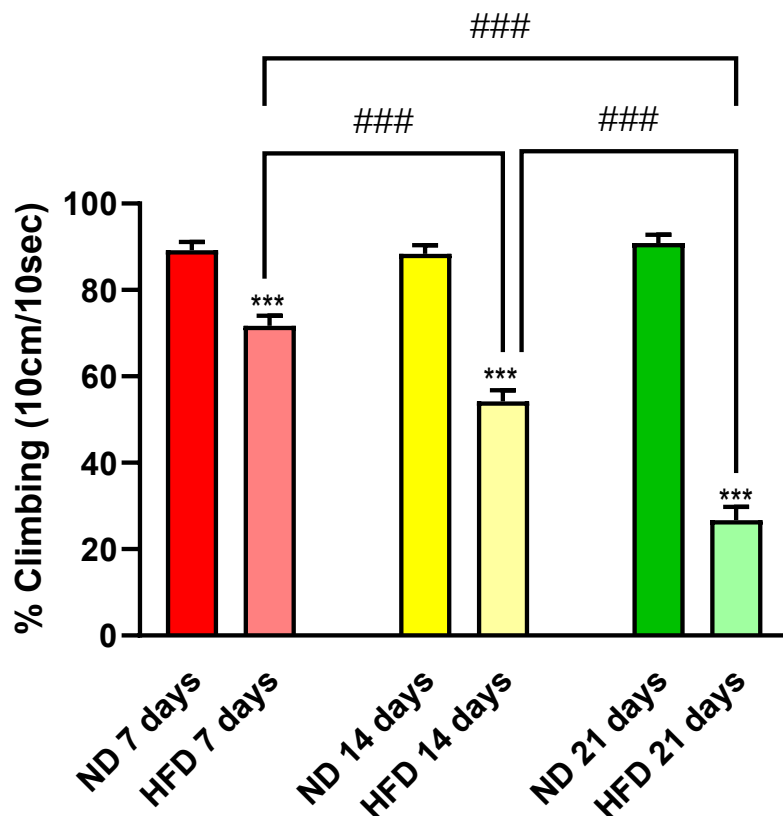
2.9 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από τη δοκιμασία αρνητικής γεώταξης, τον προσδιορισμό μεταβολών του μεταβολικού ρυθμού και της μέτρησης βάρους και μήκους, πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό GraphPad Prism v.8.00. Τα δεδομένα κάθε πειράματος υποβλήθηκαν σε έλεγχο κανονικότητας, χρησιμοποιώντας το τεστ D'Agostino & Pearson και στη συνέχεια, με βάση τα αποτελέσματα, πραγματοποιήθηκαν παραμετρικά τεστ One way ANOVA ή μη παραμετρικά τεστ Kruskal-Wallis. Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ την απόκλιση του μέσου όρου (mean $\pm$ SEM) και θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά όταν το p-value ήταν $p < 0,05$.

3. Αποτελέσματα

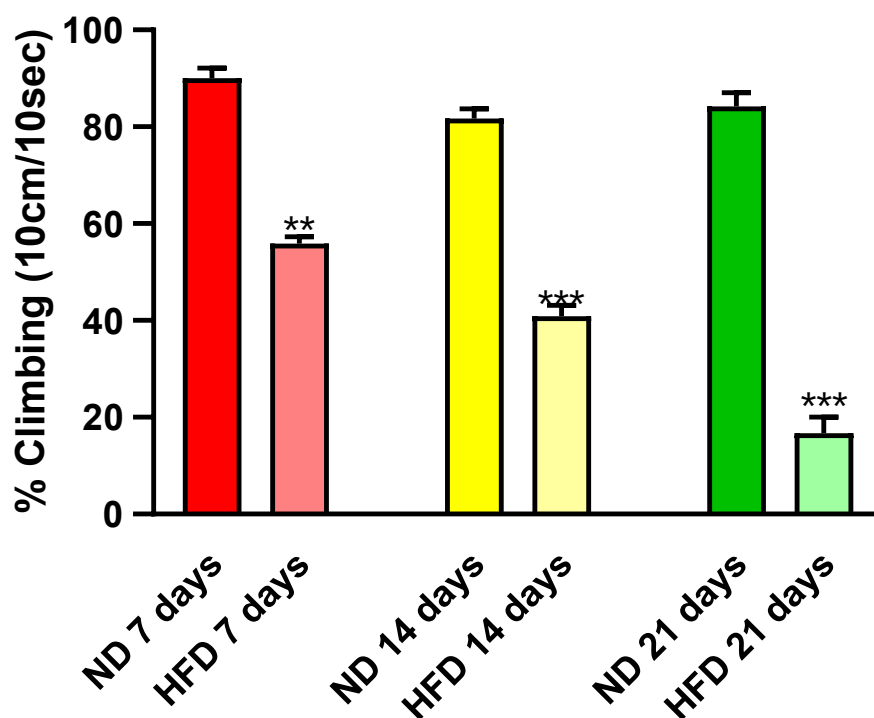
3.1 Αποτελέσματα δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης

Από τη μελέτη επίδρασης της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στην κινητικότητα των αρσενικών *D. melanogaster* σε διάστημα 7, 14 και 21 ημερών, προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 1**. Αρχικά, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στο ποσοστό των μυγών που αναρρίχήθηκαν στα 10cm σε 10sec, από την ομάδα των *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες (71.67 ± 2.41) σε σχέση με τη ND 7 ημερών (89.17 ± 1.93). Ωστόσο, παρατηρήθηκε μειωμένο % ποσοστό της κινητικότητας των μυγών που τράφηκαν με HFD για 14 ημέρες (54.17 ± 2.59) σε σχέση με τις συνθήκες ND 14 ημερών (88.33 ± 2.07). Επιπλέον, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο % ποσοστό κινητικότητας στις μύγες που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες (26.67 ± 3.09) σε σύγκριση με αυτές που τράφηκαν με ND για 21 ημέρες (90.83 ± 1.93). Συγκρίνοντας τις συνθήκες μεταξύ τους, και πιο συγκεκριμένα τις συνθήκες HFD, φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλους τους συνδυασμούς μεταξύ των HFD 7, 14 και 21 ημερών. Αρχικά, μεταξύ της ομάδας των *D. melanogaster* που ακολούθησαν τη δίαιτα για 14 ημέρες (54.17 ± 2.59) εμφανίζουν μειωμένη κινητικότητα σε σχέση με εκείνες που ακολούθησαν τη δίαιτα για 7 ημέρες (71.67 ± 2.41), ενώ οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες (26.67 ± 3.09) είχαν εμφανώς πιο μειωμένο ποσοστό αναρρίχησης στα 10cm σε 10sec, συγκριτικά με τις μύγες που τράφηκαν με HFD για 7 (71.67 ± 2.41) και 14 ημέρες (54.17 ± 2.59), αντίστοιχα.



Διάγραμμα 1: Δοκιμασία αρνητικής γεώταξης αρσενικών *D. melanogaster*, % ποσοστό αναρρίχησης στα 10cm σε 10sec, n= 12 τιμές % ποσοστού αναρρίχησης, N= 72 *D. melanogaster*. Έκφραση αποτελεσμάτων ως mean± SEM. ND vs HFD***p< 0,001, HFD vs HFD ###p< 0,001

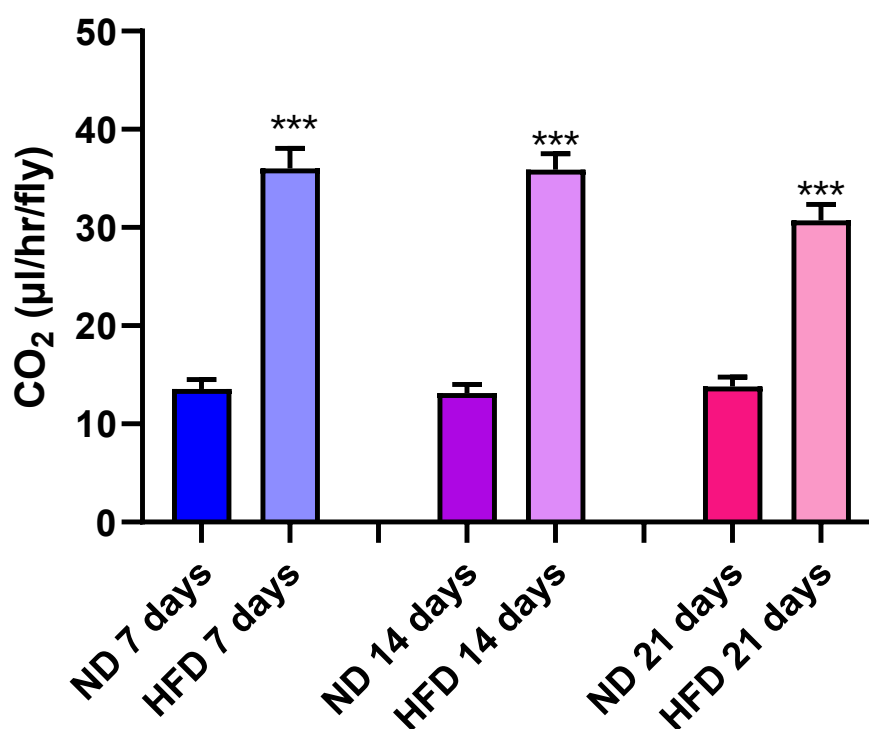
Από τη μελέτη επίδρασης της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στην κινητικότητα των θηλυκών *D. melanogaster* σε διάστημα 7, 14 και 21 ημερών, προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 2**. Αρχικά, παρατηρείται σχετικά μειωμένο % ποσοστό κινητικότητας των μυγών που αναρρίχθηκαν στα 10cm σε 10sec, από την ομάδα των *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες (55.83 ± 1.48) σε σχέση με αυτές που τράφηκαν με ND για 7 ημέρες (90.00 ± 2.12). Ωστόσο, στην πειραματική συνθήκη των HFD 14 ημερών (40.83 ± 2.28) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο % ποσοστό κινητικότητας των *D. melanogaster*, σε σύγκριση με τη συνθήκη ND 14 ημερών (81.67 ± 2.07). Μεγάλη διαφορά στατιστικής σημαντικότητας στο % ποσοστό της κινητικότητας, παρατηρήθηκε επιπρόσθετα, και στην ομάδα των μυγών που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες (16.67 ± 3.33), έναντι των μυγών που τράφηκαν με ND για 21 ημέρες (84.17 ± 2.87).



Διάγραμμα 2: Δοκιμασία αρνητικής γεώταξης θηλυκών *D. melanogaster*. , % ποσοστό αναρρίχησης στα 10cm σε 10sec, n= 12 τιμές % ποσοστού αναρρίχησης, N= 72 *D. melanogaster*. Εκφραση αποτελεσμάτων ως mean± SEM. **p< 0,01, ***p< 0,001

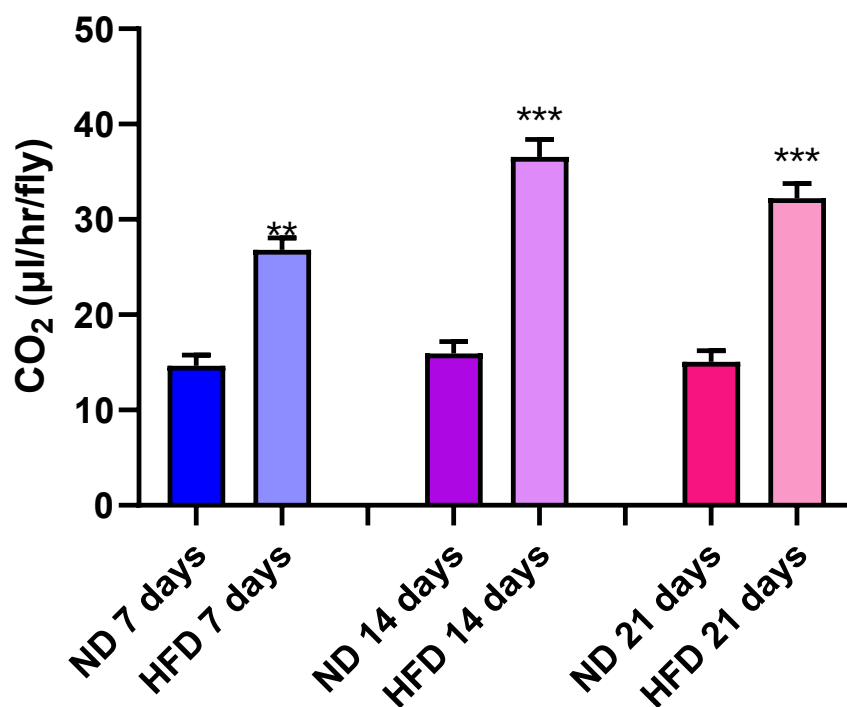
3.2 Αποτελέσματα μεταβολών του μεταβολικού ρυθμού

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη της επίδρασης της δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στο μεταβολικό ρυθμό, σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες των 7, 14 και 21 ημερών σε αρσενικές *D. melanogaster* παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 3**. Παρατηρείται ότι και στις 3 συνθήκες υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τις συνθήκες Control εκάστοτε συνθήκης. Η πρώτη παρατήρηση αφορά την πειραματική συνθήκη κατά την οποία οι μύγες τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες (36.02 ± 2.04), όπου υπάρχει μεταβολή στην παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) των *D. Melanogaster*, συγκριτικά με τη συνθήκη ND 7 ημερών (13.54 ± 0.96). Στη συνέχεια, παρατηρείται μεταβολή στην παραγωγή του CO₂ στις μύγες που τράφηκαν με HFD για 14 ημέρες (35.91 ± 1.61) συγκριτικά με εκείνες που τράφηκαν με ND για 14 ημέρες (13.13 ± 0.87). Τέλος, οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες (30.72 ± 1.62), εμφάνισαν εξίσου στατιστικά σημαντική διαφορά στην παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα σε σχέση με τις συνθήκες ND 21 ημερών (13.83 ± 0.95).



Διάγραμμα 3: Μεταβολικός ρυθμός. Παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) αρσενικών *D. melanogaster*, n=15 τιμές παραγόμενου CO₂, N=90 *D. melanogaster*. Έκφραση αποτελεσμάτων ως mean ± SEM. ***p < 0,001

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη της επίδρασης της δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στο μεταβολικό ρυθμό, σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες των 7, 14 και 21 ημερών σε θηλυκές *D. melanogaster* παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 4**. Αρχικά, παρατηρείται ότι στην πειραματική συνθήκη κατά την οποία οι μύγες τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες (26.80 ± 1.27), υπάρχει σχετικά μικρή μεταβολή στην παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) των *D. Melanogaster*, συγκριτικά με τη συνθήκη ND 7 ημερών (14.65 ± 1.12). Στη συνέχεια, η μεταβολή στην παραγωγή του CO₂ που παρατηρείται στις μύγες που τράφηκαν με HFD για 14 ημέρες (36.57 ± 1.80) είναι αρκετά μεγαλύτερη και, άρα στατιστικά σημαντική, συγκριτικά με εκείνες που τράφηκαν με ND για 14 ημέρες (15.95 ± 1.24). Τέλος, οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες (32.22 ± 1.56), εμφάνισαν εξίσου στατιστικά σημαντική διαφορά στην παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα σε σχέση με τις συνθήκες ND 21 ημερών (15.08 ± 1.14).

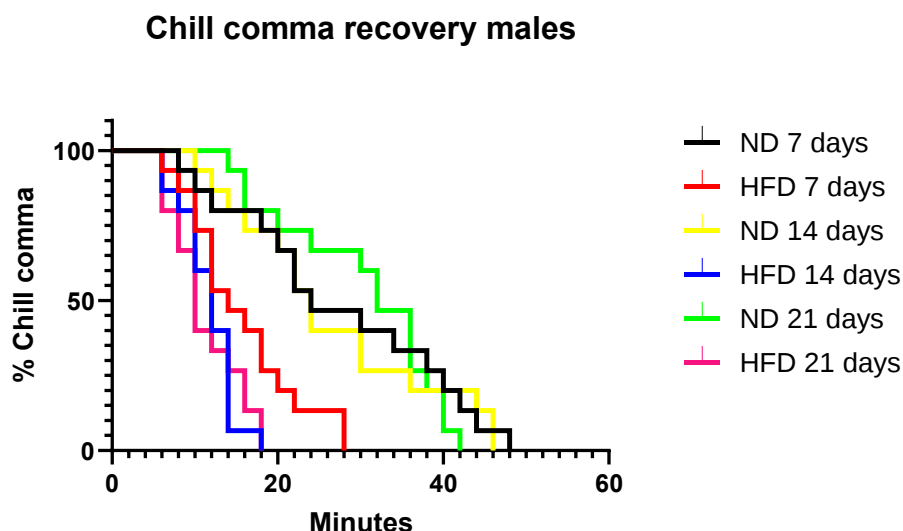


*Διάγραμμα 4: Μεταβολικός ρυθμός. Παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) θηλυκών *D. melanogaster*, n=15 τιμές παραγόμενου CO₂, N=90 *D. melanogaster*. Έκφραση αποτελεσμάτων ως mean ± SEM. **p<0,01, ***p<0,001*

3.3 Αποτελέσματα ανθεκτικότητας σε ψύχος

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη ανθεκτικότητας σε ψύχος των αρσενικών *D. melanogaster* ύστερα από διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά για χρονικό διάστημα 7, 14 και 21 ημερών, παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 5**. Αρχικά, δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά στην ομάδα των μυγών που τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες ($p < 0,01$) σε σχέση με αυτές που τράφηκαν με ND για 7 ημέρες. Ωστόσο, φαίνεται ότι το σύνολο των αρσενικών *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 7 ημέρες, ανέκτησαν τις αισθήσεις τους ταχύτερα από τις ND. Όσον αφορά τις *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 14 ημέρες, φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$) μεταξύ της ομάδας των συγκεκριμένων μυγών, έναντι αυτών που τράφηκαν με ND για 14 μέρες. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι ο χρόνος που χρειάστηκαν οι αρσενικές *D. melanogaster* HFD 14 ημερών για να ανακτήσουν πλήρως τις αισθήσεις τους, ήταν πολύ μικρότερος από αυτόν που χρειάστηκαν οι αρσενικές *D. melanogaster* ND 14 ημερών. Τέλος, τα αποτελέσματα

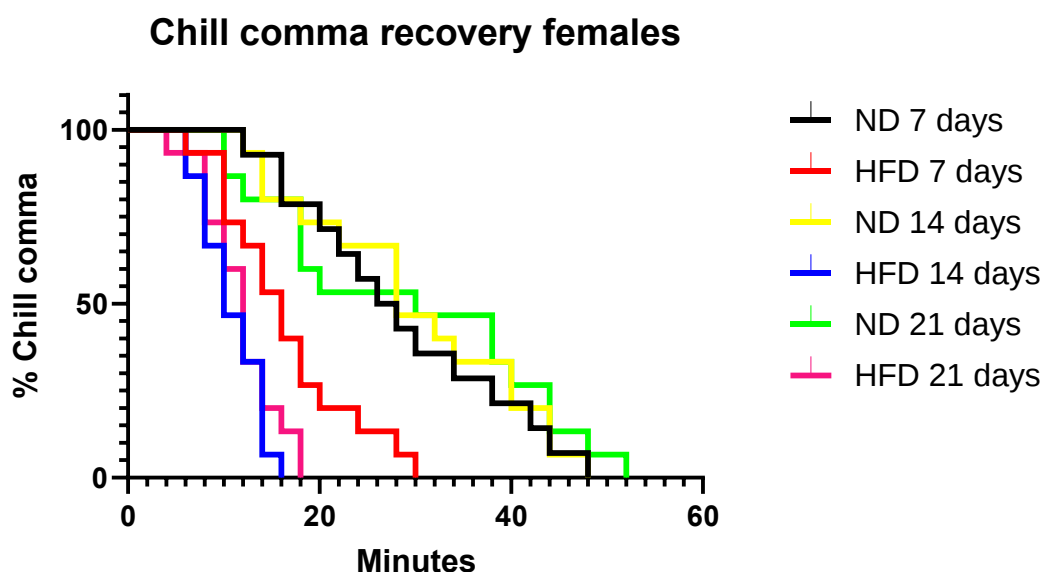
της τρίτης συνθήκης, όπου οι αρσενικές *D. melanogaster* τράφηκαν με HFD για 21 μέρες, εμφανίζουν εξίσου στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$), έναντι των μυγών που ακολούθησαν ND για 21 ημέρες. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι ο χρόνος που χρειάστηκαν οι μύγες που τράφηκαν με HFD για 21 ημέρες, για να συνέλθουν ύστερα από 4 ώρες τοποθέτησης στον πάγο, είναι σημαντικά μικρότερος από το χρόνο που απαιτούν οι μύγες που τράφηκαν 21 μέρες με ND.



Διάγραμμα 5: Ανθεκτικότητα σε ψύχος. Προσδιορισμός ανθεκτικότητας σε ψύχος αρσενικών *D. melanogaster* σε HFD 7, 14 & 21 ημερών. Για κάθε συνθήκη ισχύει $n = 15$ τιμές, $N = 75$ *D. melanogaster*. $p < 0,001$

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη ανθεκτικότητας σε ψύχος των θηλυκών *D. melanogaster*, ύστερα από διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά για χρονικό διάστημα 7, 14 και 21 ημερών, παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 6**. Αρχικά, όπως και με τις αρσενικές, στην ομάδα των θηλυκών μυγών που ακολούθησαν HFD για 7 ημέρες, δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,01$) σε σχέση με τις ND, αλλά είναι εμφανές ότι οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD συνήλθαν ταχύτερα από εκείνες που τράφηκαν με ND. Στη συνέχεια, κατά τη μελέτη των μυγών που ακολούθησαν τη HFD για 14 ημέρες, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$), σε σύγκριση με την ομάδα των μυγών που ακολούθησε ND για 14 ημέρες. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι ο χρόνος που χρειάστηκαν οι θηλυκές *D. melanogaster* HFD 14 ημερών για να ανακτήσουν πλήρως τις αισθήσεις τους, ήταν πολύ μικρότερος από αυτόν που χρειάστηκαν οι θηλυκές *D. melanogaster* ND 14 ημερών. Τέλος, όσον αφορά την ομάδα των θηλυκών μυγών που ακολούθησαν τη HFD για 21 μέρες, εμφανίζουν επίσης στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$), σε σχέση

με τις ND 21 ημερών, ενώ χρειάζονται σημαντικά λιγότερο χρόνο προκειμένου να ανακτήσουν τις αισθήσεις τους σε αντίθεση με τις ND.

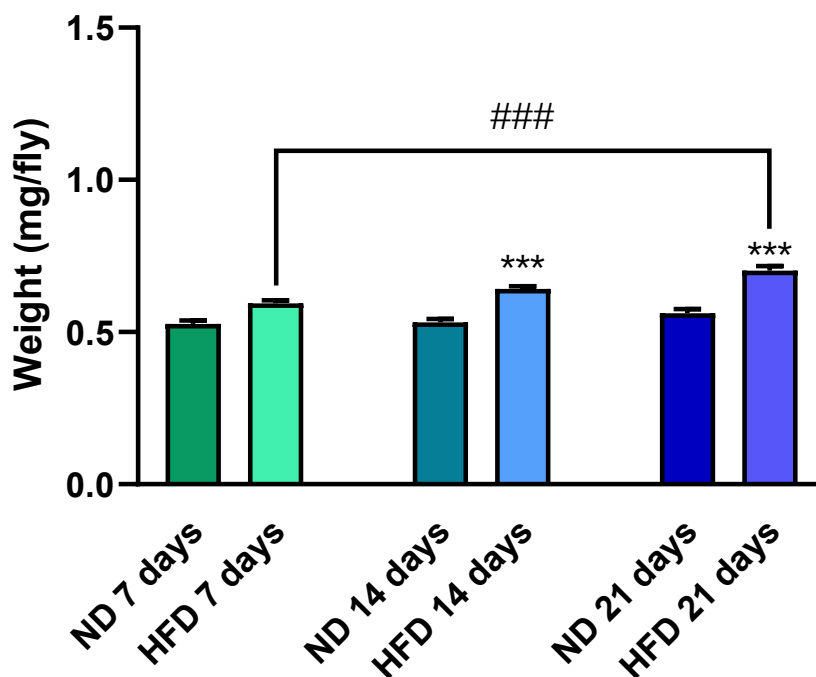


*Διάγραμμα 6: Ανθεκτικότητα σε ψύχος. Προσδιορισμός ανθεκτικότητας σε ψύχος θηλυκών *D. melanogaster* σε HFD 7, 14 & 21 ημερών. Για κάθε συνθήκη ισχύει $n = 15$ τιμές, $N = 75$ *D. melanogaster*. $p < 0,001$*

3.4 Αποτελέσματα μέτρησης βάρους

Από τη μελέτη της επίδρασης της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στο σωματικό βάρος αρσενικών *D. melanogaster* που τράφηκαν για 7, 14 και 21 μέρες, προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 7**. Αρχικά, παρόλο που το βάρος των μυγών αυξήθηκε στις μύγες που τράφηκαν με HFD για 7 μέρες (0.59 ± 0.009), σε σχέση με εκείνες που τράφηκαν με ND για 7 μέρες (0.52 ± 0.01), δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά. Οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 14 μέρες (0.64 ± 0.008), εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση βάρους και, συνεπώς στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκριτικά με εκείνες που τράφηκαν με ND για 14 ημέρες (0.53 ± 0.01). Στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε, επίσης, και στην ομάδα των μυγών που τράφηκαν για 21 μέρες με HFD (0.70 ± 0.01), ενώ το βάρος τους είναι εμφανώς πιο αυξημένο από τις ND συνθήκες για 21 μέρες (0.56 ± 0.01). Συγκρίνοντας τις διαφορετικές χρονικές συνθήκες των *D. melanogaster* που ακολούθησαν HFD, παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά, ανάμεσα στην

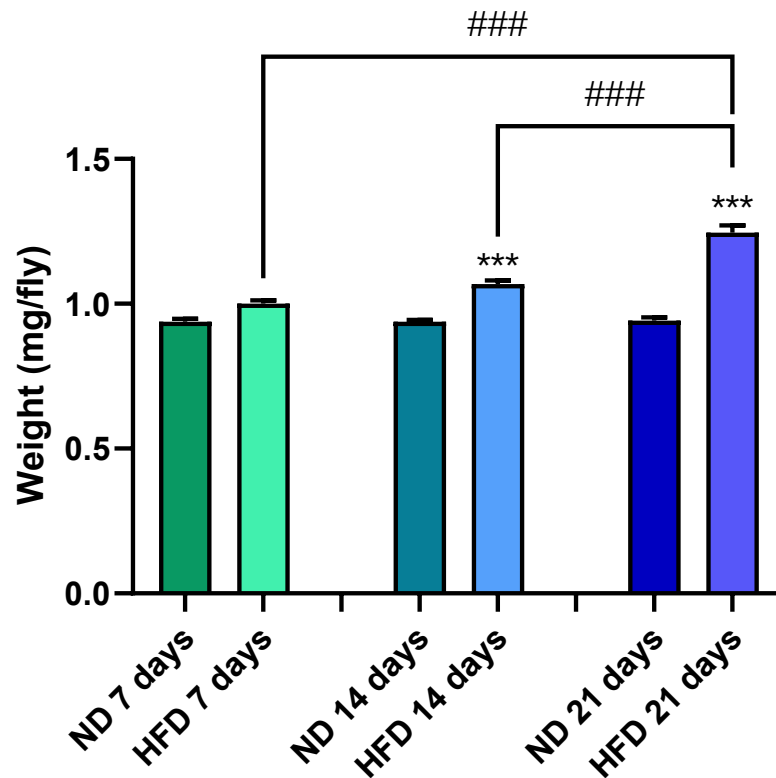
ομάδα μυγών HFD 7 ημερών (0.59 ± 0.009) και HFD 21 ημερών (0.70 ± 0.01). Πιο συγκεκριμένα, το σωματικό βάρος των μυγών που τράφηκαν για 21 μέρες με HFD ήταν σαφώς πιο αυξημένο από το σωματικό βάρος των μυγών που ακολούθησαν τη διατροφή για 7 μέρες.



Διάγραμμα 7: Μέτρηση βάρους. Βάρος (mg/fly) αρσενικών *D. melanogaster*. Για κάθε συνθήκη $n = 6$ τιμές, $N = 60$ *D. melanogaster*. Έκφραση αποτελεσμάτων ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$. ND vs HFD *** $p < 0.001$, HFD vs HFD ### $p < 0.001$

Όσον αφορά την επίδραση της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στις θηλυκές *D. melanogaster* κατά τη χρονική περίοδο 7, 14 και 21 ημερών, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 8**. Αρχικά, όπως και με τις αρσενικές *D. melanogaster*, παρόλο που το βάρος των μυγών αυξήθηκε στις μύγες που τράφηκαν με HFD για 7 μέρες (1.00 ± 0.01), σε σχέση με εκείνες που τράφηκαν με ND για 7 μέρες (0.93 ± 0.01), δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά. Ωστόσο, οι *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 14 μέρες (1.06 ± 0.01), εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση βάρους και, συνεπώς στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκριτικά με εκείνες που τράφηκαν με ND για 14 ημέρες (0.93 ± 0.006). Στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε, επίσης, και στην ομάδα των μυγών που τράφηκαν για 21 μέρες με HFD (1.24 ± 0.02), ενώ το βάρος τους είναι εμφανώς πιο αυξημένο από τις ND συνθήκες για 21 μέρες (0.94 ± 0.01). Σε αυτό το σημείο, συγκρίνοντας τις διαφορετικές χρονικές

συνθήκες των *D. melanogaster* που ακολούθησαν HFD, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$), ανάμεσα στις HFD 7 ημερών και στις HFD 21 ημερών, και στις HFD 14 ημερών και στις HFD 21 ημερών. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ότι το σωματικό βάρος των θηλυκών μυγών που τράφηκαν με HFD για 21 είναι αρκετά μεγαλύτερο συγκριτικά με τα βάρη των μυγών που τράφηκαν με HFD για 7 και 14 ημέρες.



Διάγραμμα 8: Μέτρηση βάρους. Βάρος (mg/fly) θηλυκών *D. melanogaster*. Για κάθε συνθήκη $n = 5$ τιμές, $N = 50$ *D. melanogaster*. Έκφραση αποτελεσμάτων ως $mean \pm SEM$. ND vs HFD *** $p < 0,001$, HFD vs HFD ### $p < 0,001$

4. Συζήτηση

Η παχυσαρκία και κατ' επέκταση όλα τα προβλήματα που προκαλούνται από αυτή, όπως καρδιαγγειακά προβλήματα και σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, αποτελούν παγκόσμιο φαινόμενο που εξελίχθηκε σε υγειονομική απειλή. Η ραγδαία επέκταση του δυτικού τρόπου ζωής και της δυτικής διατροφής έχει αυξήσει δραματικά τα ποσοστά της παχυσαρκίας από τις μικρότερες έως και τις μεγαλύτερες ηλικίες, αφού οι διατροφικές επιλογές που είναι πλούσιες σε λιπαρά πρωταγωνιστούν στην καθημερινότητα των ανθρώπων.

Τις τελευταίες δεκαετίες, η *Drosophila melanogaster* επιλέγεται και χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο ως πειραματικό μοντέλο για τη μελέτη της παχυσαρκίας και τις επιδράσεις της στην ανθρώπινη υγεία, καθώς έχει βρεθεί ότι το 75% των γονιδίων της είναι ορθόλογα ως προς τα γονίδια του ανθρώπου που προκαλούν ασθένειες. Στη συγκεκριμένη μελέτη, αρσενικές και θηλυκές *Drosophila melanogaster* ακολούθησαν διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (HFD) για χρονικό διάστημα 7, 14 και 21 ημερών, προκειμένου να δημιουργηθούν συνθήκες παχυσαρκίας. Στη συνέχεια μελετήθηκε η κινητικότητα, ο μεταβολικός ρυθμός, η ανθεκτικότητα στο ψυχός και το σωματικό βάρος.

Πιο συγκεκριμένα, η κινητικότητα μελετήθηκε μέσω της δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης, προσδιορίζοντας το % ποσοστό αναρρίχησης των μυγών στα 10cm σε χρονικό διάστημα 10sec. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική μείωση της κινητικότητας των αρσενικών *D. melanogaster* και στα τρία χρονικά διαστήματα των 7, 14 και 21 ημερών, με το τελευταίο να κάνει τη μεγαλύτερη διαφορά σε σχέση με τις μύγες που τράφηκαν με ND τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Στις θηλυκές *D. melanogaster*, μειώθηκε, επίσης, σημαντικά η κινητικότητα κυρίως κατά τα χρονικά διαστήματα των 14 και 21 ημερών, συγκριτικά με τις μύγες που ακολούθησαν ND την αντίστοιχη χρονική περίοδο.

Αποτελέσματα ερευνών που μελέτησαν την κινητικότητα των *D. melanogaster* υπό την επίδραση διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, έδειξαν ότι η ικανότητα αναρρίχησης για εκτιμώμενη απόσταση σε συγκεκριμένο χρόνο, μειώνεται σημαντικά.[44] Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη κινητικότητα ύστερα από έκθεση σε HFD για χρονικό διάστημα 3 ημερών με 4 εβδομάδων τόσο στις αρσενικές όσο και στις θηλυκές μύγες.[45] Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα

της παρούσας μελέτης, τονίζοντας τη σημαντική επίδραση που έχει η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στην ικανότητα αναρρίχησης των *D. melanogaster*.

Η διατροφή πλούσια σε λιπαρά και ο παρατεταμένος χρόνος έκθεσης στη συγκεκριμένη δίαιτα επηρεάζει τις μεταβολικές διεργασίες του οργανισμού. Ποικίλες μελέτες που έχουν γίνει σε διάφορα πειραματικά μοντέλα, εκτός από τη *D. melanogaster* (π.χ. τρωκτικά), έχουν υποδείξει την αρνητική επίδραση της HFD στην κινητικότητα, και όχι μόνο.[46] Ωστόσο, μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στη μύγα των φρούτων, παρουσιάζουν πιο κατανοητά αποτελέσματα. Φαίνεται, ότι η έκθεση των μυγών σε HFD για επιλεγμένο χρονικό διάστημα και συγκεκριμένα ύστερα από μόλις 7 ημέρες, προκαλεί μείωση της ικανότητας αναρρίχησης μέσω της αρνητικής γεώταξης.[47] Αυτά τα δεδομένα συμφωνούν, επίσης, με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας.

Η κατανάλωση O₂ και η παραγωγή CO₂ στη *Drosophila melanogaster*, σχετίζονται άμεσα με τις μεταβολές σε μεταβολικό επίπεδο. Εδώ, για τη μελέτη του μεταβολικού ρυθμού προσδιορίστηκε το παραγόμενο CO₂ στις πειραματικές συνθήκες ND και HFD για τα χρονικά διαστήματα 7, 14 και 21 ημερών. Αρχικά, στις αρσενικές μύγες που ακολούθησαν HFD, εμφανίστηκε μεταβολή του μεταβολικού ρυθμού από τις 7 πρώτες μέρες, ενώ αύξηση της παραγωγής CO₂ εμφανίστηκε και στις ομάδες των μυγών που ακολούθησαν τη διατροφή για 14 και 21 ημέρες. Όσον αφορά τις θηλυκές *D. melanogaster*, σημαντική αύξηση της παραγωγής του CO₂ εμφανίστηκε κυρίως στις ομάδες των μυγών που τράφηκαν με HFD για 14 και 21 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτά, υποδηλώνουν ότι η διατροφή πλούσια σε λιπαρά, για εκτεταμένο χρονικό διάστημα προκαλεί μεταβολή του μεταβολικού ρυθμού, που προσδιορίζεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του παραγόμενου CO₂.

Πολλές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στη *D. melanogaster* και αφορούν τις μεταβολές του οργανισμού, αναφέρονται σε ομάδες μυγών που τράφηκαν με ND και με HFD για εκτεταμένο χρονικό διάστημα. Συγκεκριμένα, σε πειράματα που έχουν επιτευχθεί, οι μύγες υπόκεινται σε διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, με σκοπό να δημιουργηθούν συνθήκες παχυσαρκίας και μεταβολικού συνδρόμου. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών, φαίνεται να είναι σύμφωνα με αυτά της παρούσας μελέτης όσον αφορά το μεταβολικό σύνδρομο και την επίδραση της HFD σε αυτό.[48][49] Κατά τη δημιουργία παχυσαρκίας στις μύγες φρούτων, επηρεάζεται η

μεταβολική ομοιόσταση, μέσω της λειτουργίας των μιτοχονδρίων και του ρυθμού κατανάλωσης O_2 . Αυτό συνεπάγεται και την αντίστοιχη παραγωγή CO_2 , η οποία είναι αυξημένη σε παχύσαρκες μύγες και στα 2 φύλα ύστερα από HFD για 10 ημέρες.[50]

Μια άλλη παράμετρος που επηρεάζεται από τη δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, είναι η αντοχή σε συνθήκες ψύχους σε *D. melanogaster* που υποβλήθηκαν σε αυτή τη δίαιτα για 7, 14 και 21 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι οι αρσενικές μύγες που τράφηκαν με HFD για 14 και 21 μέρες, εμφανίζουν μεγαλύτερη αντοχή στο ψύχος σε σύγκριση με τις μύγες που τράφηκαν με HFD για 7 μέρες. Βέβαια, συνολικά οι ομάδες των αρσενικών μυγών που ακολούθησαν HFD ανέκτησαν σε συντομότερο χρόνο τις αισθήσεις τους μετά από 4 ώρες τοποθέτησης στον πάγο, συγκριτικά με τις αρσενικές μύγες που τράφηκαν με ND για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Όσον αφορά τις θηλυκές *Drosophila melanogaster*, τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια με των αρσενικών, ενώ κατά το χρονικό διάστημα των 21 ημερών διατροφής με HFD, αποκλίνει σημαντικά σε σχέση με τα υπόλοιπα χρονικά διαστήματα, αλλά και με τις συνθήκες ND των 21 ημερών. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, αυξάνει την ανθεκτικότητα σε συνθήκες ψύχους, επαναφέροντας μύγες σε συντομότερο χρονικό διάστημα σε φυσιολογικούς ρυθμούς.

Παρόμοιες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στη *Drosophila melanogaster* για τη μελέτη της επίδραση της διατροφής στο στρες και κατ' επέκταση την αντοχή στο ψύχος, έχουν εμφανίσει συγκρίσιμα αποτελέσματα με της παρούσας μελέτης.[51] Συγκεκριμένα, στα πειράματα που διεξήχθησαν χρησιμοποιήθηκαν δυο ξεχωριστές διατροφές, μια ως control και μια με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη και χαμηλή σε πρωτεΐνη. Αρσενικές και θηλυκές μύγες ακολούθησαν τις δίαιτες για παρατεταμένη χρονική περίοδο και στη συνέχεια μελετήθηκε η ανθεκτικότητα σε συνθήκες στρες, όπως η αντοχή στο ψύχος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αντοχή στο κρύο οφείλεται στη διατροφή με πλούσια θερμιδική αξία, καθώς επηρεάζεται η ομοιόσταση του οργανισμού και η διανομή της ενέργειας, χωρίς να υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση ανάμεσα στα δύο φύλα. Τα ευρήματα αυτά, έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, που υποστηρίζουν ότι η διατροφή με υψηλή θερμιδική αξία προκαλεί μεγαλύτερη αντοχή σε συνθήκες στρες.

Τέλος, η διατροφή πλούσια σε λιπαρά φαίνεται ότι έχει αξιοσημείωτη επίδραση και στο σωματικό βάρος, όχι μόνο σε ανθρώπινο επίπεδο, αλλά και σε επίπεδο άλλων

οργανισμών, όπως η *Drosophila melanogaster*. Εδώ, αρσενικές και θηλυκές μύγες ακολούθησαν HFD για χρονικό διάστημα 7, 14 και 21 ημερών και στη συνέχεια θανατώθηκαν και μετρήθηκαν τα βάρη τους. Οι αρσενικές *D. melanogaster* που τράφηκαν με HFD για 21 μέρες φαίνεται ότι είχαν τη μεγαλύτερη απόκλιση συγκριτικά με εκείνες που τράφηκαν με HFD για 7 και 14 ημέρες, αλλά και συγκριτικά με τις μύγες που τράφηκαν με ND για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Όσον αφορά τις θηλυκές *D. melanogaster* που ακολούθησαν HFD για 14 και 21 ημέρες, εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση στο βάρος, σε σχέση εκείνες που τράφηκαν για 7 ημέρες, αλλά και εκείνες που τράφηκαν με ND για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Επιπλέον, οι θηλυκές μύγες που ακολούθησαν HFD, είχαν μεγαλύτερη διαφορά στην αύξηση βάρους από τις αρσενικές μύγες που ακολούθησαν HFD, αλλά αυτό ενδέχεται να οφείλεται και στο γεγονός ότι οι θηλυκές *D. melanogaster*, έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από τις αρσενικές κατά κανόνα.

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αρσενικές και θηλυκές *Drosophila melanogaster*, οι οποίες ακολούθησαν HFD για 10, 20 και 30 μέρες, μελετήθηκε η επίδραση της πρόσληψης τροφής πλούσιας σε λιπαρά, στο σωματικό βάρος.[52] Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές στο σωματικό βάρος μετά από τις καθορισμένες χρονικές περιόδους διατροφής με HFD, συγκριτικά με τις συνθήκες control και σε κανένα από τα δύο φύλα. Παρόλο που στους ανθρώπους η υπερβολική αύξηση βάρους είναι μια σημαντική παράμετρος στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας, αυτό το γεγονός έχει μελετηθεί ελάχιστα στη *Drosophila melanogaster*, ενώ λίγες μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση τροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά προκαλεί αύξηση του βάρους.[39] Συγκεκριμένα, με την κατανάλωση HFD για εκτεταμένο χρονικό διάστημα, προκαλείται συσσώρευση λίπους και σε όργανα του οργανισμού που δε σχετίζονται φυσιολογικά με την εναπόθεση και αποθήκευση λιπιδίων, μεταβάλλοντας τον μεταβολισμό των λιπιδίων είτε συστημικά είτε στο λιπώδη ιστό. Έτσι, οι μεταβολές αυτές στην μεταβολική ομοιόσταση του οργανισμού και η υπερβολική κατανάλωση διατροφικού λίπους, οδηγούν σε παχυσαρκία και σε αύξηση του βάρους.

5. Συμπεράσματα

Εν κατακλείδι, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν σημαντικές ομοιότητες και διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών *Drosophila melanogaster* υπό συνθήκες παχυσαρκίας, καθώς και την επίδραση της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά στην κινητικότητα, το μεταβολικό ρυθμό, το σωματικό βάρος και την ανθεκτικότητα στο ψύχος, τόσο μεταξύ των φύλων όσο και σε σύγκριση με συνθήκες κανονικής διατροφής. Τα αποτελέσματα αυτά, θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν σε περαιτέρω μελέτες μελλοντικά, που θα εστιάζουν στα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της έκθεσης σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και στις επιδράσεις της παχυσαρκίας σε επίπεδο οργανισμού. Τέλος, η χρήση της *Drosophila melanogaster* ως πειραματικό μοντέλο- οργανισμό, ανοίγει το δρόμο για πολλές μελέτες που μπορούν να πραγματοποιηθούν, όσον αφορά τις ανθρώπινες ασθένειες.

6. Βιβλιογραφία

1. Shively CA, Appt SE, Vitolins MZ, Uberseder B, Michalson KT, Silverstein-Metzler MG, Register TC. Mediterranean versus Western Diet Effects on Caloric Intake, Obesity, Metabolism, and Hepatosteatos in Nonhuman Primates. *Obesity (Silver Spring)*. 2019 May;27(5):777-784.
2. Kennedy G, Nantel G, Shetty P, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Globalization of food systems in developing countries: impact on food security and nutrition. *FAO Food Nutr Pap*. 2004;83:1–300.
3. Bustamante-Sanchez A, Villegas-Mora BE, Martínez-Guardado I, Tornero-Aguilera JF, Ardigò LP, Nobari H, et al. Physical Activity and Nutritional Pattern Related to Maturation and Development. *Sustainability*. 2022 Dec 17;14(24):16958.
4. Zinöcker MK, Lindseth IA. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*. 2018 Mar 17;10(3):365.
5. Rakhra V, Galappaththy SL, Bulchandani S, Cabandugama PK. Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Mo Med*. 2020;117(6):536–8.
6. Vilarnau, C., Stracker, D. M., Funtikov, A., da Silva, R., Estruch, R., & Bach-Faig, A. (2019). Worldwide adherence to Mediterranean Diet between 1960 and 2011. *European journal of clinical nutrition*, 72(Suppl 1), 83–91.
7. García-Montero, C., Fraile-Martínez, O., Gómez-Lahoz, A. M., Pekarek, L., Castellanos, A. J., Nogueras-Fraguas, F., Coca, S., Guijarro, L. G., García-Honduvilla, N., Asúnsolo, A., Sanchez-Trujillo, L., Lahera, G., Bujan, J., Monserrat, J., Álvarez-Mon, M., Álvarez-Mon, M. A., & Ortega, M. A. (2021). Nutritional Components in Western Diet Versus Mediterranean Diet at the Gut Microbiota-Immune System Interplay. Implications for Health and Disease. *Nutrients*, 13(2), 699.
8. Rohr, M. W., Narasimhulu, C. A., Rudeski-Rohr, T. A., & Parthasarathy, S. (2020). Negative Effects of a High-Fat Diet on Intestinal Permeability: A Review. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 11(1), 77–91.
9. Luck, H., Khan, S., Kim, J. H., Copeland, J. K., Revelo, X. S., Tsai, S., Chakraborty, M., Cheng, K., Tao Chan, Y., Nøhr, M. K., Clemente-Casares, X., Perry, M. C., Ghazarian, M., Lei, H., Lin, Y. H., Coburn, B., Okrainec, A., Jackson, T., Poutanen, S., Gaisano, H., ...

- Winer, D. A. (2019). Gut-associated IgA⁺ immune cells regulate obesity-related insulin resistance. *Nature communications*, 10(1), 3650.
10. Heydemann A. (2016). An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of diabetes research*, 2016, 2902351.
 11. Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model. *Nutrients*, 10(10), 1502.
 12. Bhatti, J. S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1863(5), 1066–1077.
 13. Seravalle, G. and Grassi, G. (2017) ‘Obesity and hypertension’, *Pharmacological Research*, 122, pp. 1–7.
 14. Gomes, A. C., Hoffmann, C., & Mota, J. F. (2018). The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut microbes*, 9(4), 308–325.
 15. Thomas-Eapen, N. (2021). Childhood obesity. *Primary Care*, 48(3), 505–515.
 16. Smith, J. D., Fu, E., & Kobayashi, M. A. (2020). Prevention and Management of Childhood Obesity and Its Psychological and Health Comorbidities. *Annual review of clinical psychology*, 16, 351–378.
 17. Caballero B. (2019). Humans against Obesity: Who Will Win?. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 10(suppl_1), S4–S9.
 18. Sacks, F. M., Bray, G. A., Carey, V. J., Smith, S. R., Ryan, D. H., Anton, S. D., McManus, K., Champagne, C. M., Bishop, L. M., Laranjo, N., Leboff, M. S., Rood, J. C., de Jonge, L., Greenway, F. L., Loria, C. M., Obarzanek, E., & Williamson, D. A. (2009). Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *The New England journal of medicine*, 360(9), 859–873.
 19. Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes rendus biologies*, 340(2), 87–108.

20. Yoo S. (2018). Dynamic Energy Balance and Obesity Prevention. *Journal of obesity & metabolic syndrome*, 27(4), 203–212.
21. Fitzgerald, M. P., Hennigan, K., O'Gorman, C. S., & McCarron, L. (2019). Obesity, diet and lifestyle in 9-year-old children with parentally reported chronic diseases: findings from the Growing Up in Ireland longitudinal child cohort study. *Irish journal of medical science*, 188(1), 29–34.
22. Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723.
23. Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Frontiers in endocrinology*, 12, 706978.
24. Wu, Y., Duan, H., Tian, X., Xu, C., Wang, W., Jiang, W., Pang, Z., Zhang, D., & Tan, Q. (2018). Genetics of Obesity Traits: A Bivariate Genome-Wide Association Analysis. *Frontiers in genetics*, 9, 179.
25. Kolaczynski, J. W., Ohannesian, J. P., Considine, R. V., Marco, C. C., & Caro, J. F. (1996). Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81(11), 4162–4165.
26. Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in endocrinology*, 12, 585887.
27. Koh, H. E., Cao, C., & Mittendorfer, B. (2022). Insulin Clearance in Obesity and Type 2 Diabetes. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 596.
28. Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D., Toplak, H., & Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity (2015). European Guidelines for Obesity Management in Adults. *Obesity facts*, 8(6), 402–424.
29. Verduci, E., Bronsky, J., Embleton, N., Gerasimidis, K., Indrio, F., Köglmeier, J., de Koning, B., Lapillonne, A., Moltu, S. J., Norsa, L., Domellöf, M., & ESPGHAN Committee on Nutrition (2021). Role of Dietary Factors, Food Habits, and Lifestyle in Childhood

Obesity Development: A Position Paper From the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 72(5), 769–783.

30. Pagotto, U., Vanuzzo, D., Vicennati, V., & Pasquali, R. (2008). La terapia farmacologica dell'obesità [Pharmacological therapy of obesity]. *Giornale italiano di cardiologia* (2006), 9(4 Suppl 1), 83S–93S.
31. Tiwari, A. K., Pragma, P., Ravi Ram, K., & Chowdhuri, D. K. (2011). Environmental chemical mediated male reproductive toxicity: *Drosophila melanogaster* as an alternate animal model. *Theriogenology*, 76(2), 197–216.
32. Hales, K. G., Korey, C. A., Larracuente, A. M., & Roberts, D. M. (2015). Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System. *Genetics*, 201(3), 815–842.
33. Ong, C., Yung, L. Y., Cai, Y., Bay, B. H., & Baeg, G. H. (2015). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*, 9(3),
34. Dunn, J., & Grider, M. H. (2023). Physiology, Adenosine Triphosphate. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
35. Koyama, T., Texada, M. J., Halberg, K. A., & Rewitz, K. (2020). Metabolism and growth adaptation to environmental conditions in *Drosophila*. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 77(22), 4523–4551.
36. Musselman, L. P., Fink, J. L., & Baranski, T. J. (2019). Similar effects of high-fructose and high-glucose feeding in a *Drosophila* model of obesity and diabetes. *PloS one*, 14(5), e0217096.
37. Padmanabha, D., & Baker, K. D. (2014). *Drosophila* gains traction as a repurposed tool to investigate metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 25(10), 518–527.
38. Baker, K. D., & Thummel, C. S. (2007). Diabetic larvae and obese flies-emerging studies of metabolism in *Drosophila*. *Cell metabolism*, 6(4), 257–266.
39. Birse, R. T., Choi, J., Reardon, K., Rodriguez, J., Graham, S., Diop, S., Ocorr, K., Bodmer, R., & Oldham, S. (2010). High-fat-diet-induced obesity and heart dysfunction are regulated by the TOR pathway in *Drosophila*. *Cell metabolism*, 12(5), 533–544.

40. Reiter, L. T., Potocki, L., Chien, S., Gribskov, M., & Bier, E. (2001). A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome research*, 11(6), 1114–1125.
41. Iliadi, K. G., & Boulianne, G. L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1197, 9–18.
42. Zhong, L., Yang, Z., Tang, H., Xu, Y., Liu, X., & Shen, J. (2022). Differential analysis of negative geotaxis climbing trajectories in *Drosophila* under different conditions. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 111(2), e21922.
43. Yatsenko, A. S., Marrone, A. K., Kucherenko, M. M., & Shcherbata, H. R. (2014). Measurement of metabolic rate in *Drosophila* using respirometry. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (88), e51681.
44. Eickelberg, V., Lüersen, K., Staats, S., & Rimbach, G. (2022). Phenotyping of *Drosophila Melanogaster*-A Nutritional Perspective. *Biomolecules*, 12(2), 221.
45. Liao, S., Amcoff, M., & Nässel, D. R. (2021). Impact of high-fat diet on lifespan, metabolism, fecundity and behavioral senescence in *Drosophila*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 133, 103495.
46. Cole, M. A., Murray, A. J., Cochlin, L. E., Heather, L. C., McAleese, S., Knight, N. S., Sutton, E., Jamil, A. A., Parassol, N., & Clarke, K. (2011). A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. *Basic research in cardiology*, 106(3), 447–457.
47. Cormier, R. P. J., Champigny, C. M., Simard, C. J., St-Coeur, P. D., & Pichaud, N. (2019). Dynamic mitochondrial responses to a high-fat diet in *Drosophila melanogaster*. *Scientific reports*, 9(1), 4531.
48. Musselman, L. P., & Kühnlein, R. P. (2018). *Drosophila* as a model to study obesity and metabolic disease. *The Journal of experimental biology*, 221(Pt Suppl 1), jeb163881.
49. Diop, S. B., Birse, R. T., & Bodmer, R. (2017). High Fat Diet Feeding and High Throughput Triacylglyceride Assay in *Drosophila Melanogaster*. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (127), 56029.

- 50.** Cormier, R. J., Strang, R., Menail, H., Touaibia, M., & Pichaud, N. (2021). Systemic and mitochondrial effects of metabolic inflexibility induced by high fat diet in *Drosophila melanogaster*. *Insect biochemistry and molecular biology*, *133*, 103556.
- 51.** Henry, Y., Overgaard, J., & Colinet, H. (2020). Dietary nutrient balance shapes phenotypic traits of *Drosophila melanogaster* in interaction with gut microbiota. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, *241*, 110626.
- 52.** Baenas, N., & Wagner, A. E. (2022). *Drosophila melanogaster* as a Model Organism for Obesity and Type-2 Diabetes Mellitus by Applying High-Sugar and High-Fat Diets. *Biomolecules*, *12*(2), 307.
- 53.** Makki, R., Cinnamon, E., & Gould, A. P. (2014). The development and functions of oenocytes. *Annual review of entomology*, *59*, 405–425.
- 54.** Chia, C. W., & Egan, J. M. (2020). Incretins in obesity and diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1461*(1), 104–126.
- 55.** Michałowska, J., Miller-Kasprzak, E., & Bogdański, P. (2021). Incretin Hormones in Obesity and Related Cardiometabolic Disorders: The Clinical Perspective. *Nutrients*, *13*(2), 351.
- 56.** Chao, A. M., Tronieri, J. S., Amaro, A., & Wadden, T. A. (2023). Semaglutide for the treatment of obesity. *Trends in cardiovascular medicine*, *33*(3), 159–166.