



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

"Μελέτη επίδρασης διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη στη *Drosophila melanogaster*"

"Study of the effect of high sucrose diet on *Drosophila melanogaster*"

Αμαλία Σιδερά του Βασιλείου

ΛΑΡΙΣΑ, 2024

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σωτήριος Ζαρογιάννης - Επιβλέπων

Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Νικόλαος Μπαλατσός - Συνεπιβλέπων

Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Βιοχημείας- Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης - Μέλος

Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	6
Περίληψη	7
Abstract	8

Γενικό Μέρος

1. Εισαγωγή

1.1 Δυτική διατροφή	10
1.2 Δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα	11
1.2.1 Υδατάνθρακες	11
1.2.2 Ομοιόσταση της γλυκόζης	12
1.3 Σακχαρώδης Διαβήτης	13
1.3.1 Ορισμός	13
1.3.2 Ταξινόμηση	13
1.4 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II	14
1.4.1 Επιπολασμός	15
1.4.2 Παθογένεση	15
1.4.3 Παθοφυσιολογία	16
1.4.4 Πρόληψη	17
1.5 <i>Drosophila melanogaster</i>	18
1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά	18
1.5.2 Κύκλος ζωής	19
1.5.3 Μορφολογικές διαφορές αρσενικών και θηλυκών <i>D. melanogaster</i>	20
1.5.4 <i>D. melanogaster</i> ως πειραματικό μοντέλο	20
1.5.5 Χαρακτηριστικά που την καθιστούν ιδανική για έρευνα	21
1.5.6 <i>Drosophila melanogaster</i> ως μοντέλο για τη μελέτη ασθενειών του ανθρώπου	21
1.5.7 <i>Drosophila melanogaster</i> ως μοντέλο για τη μελέτη του ΣΔΤ2 στον άνθρωπο	22

Ειδικό Μέρος

2. Υλικό και Μέθοδος

2.1 Σκοπός της πτυχιακής εργασίας	26
2.2 Στέλεχος <i>D. melanogaster</i>	26
2.3 Διατήρηση καλλιέργειας	26
2.4 Παρασκευή θρεπτικού υλικού	27
2.5 Παρασκευή θρεπτικού υλικού υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη	27

9 Πειραματικός σχεδιασμός	28
2.7 Δοκιμασία αρνητικής γεώταξης	28
2.8 Δοκιμασία μεταβολικού ρυθμού	29
2.9 Μετρήσεις σωματικού βάρους	31
2.10 Δοκιμασία αντοχής ψύχους	32
2.11 Στατιστική ανάλυση των μεθόδων	32
3. Αποτελέσματα	
3.1 Αποτελέσματα δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης	34
3.2 Αποτελέσματα δοκιμασίας μεταβολικού ρυθμού	36
3.3 Αποτελέσματα μετρήσεων σωματικού βάρους και μήκους	38
3.4 Αποτελέσματα δοκιμασίας αντοχής ψύχους	40
4. Συζήτηση	43
5. Βιβλιογραφία	48

Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας του τμήματος της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη του κ. Σωτήριου Ζαρογιάννη κατά το ακαδημαϊκό έτος 2023- 2024, σε συνεργασία με το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσοι συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Σωτήριο Ζαρογιάννη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ενταχθώ στο εργαστήριό του και για την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μου.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα, Περικλή Μαρνά, για την αμέριστη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε. Η υπομονή και η προθυμία του να με καθοδηγήσει και να μοιραστεί τις γνώσεις του ήταν ανεκτίμητες.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την συνεργασία και τη βοήθειά τους, καθώς και για το φιλικό και υποστηρικτικό περιβάλλον που δημιουργήσαν από την αρχή.

Τέλος, θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς την οικογένειά μου, για την αδιάκοπη υποστήριξή τους, την αγάπη και την ενθάρρυνσή τους σε κάθε βήμα της πορείας μου.

Περίληψη

Η ταχεία αλλαγή στο διατροφικό πρότυπο – το οποίο χαρακτηρίζεται από την πρόσληψη υψηλών ποσοτήτων ζάχαρης και υδατανθράκων γενικότερα –, σε συνδυασμό με την μειωμένη άσκηση, οδηγεί στην εμφάνιση διαταραχών του μεταβολισμού που μπορούν να οδηγήσουν σε παθήσεις όπως η νοσογόνος παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II (ΣΤΔ2). Η *Drosophila melanogaster* είναι ένα εξαιρετικά πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ΣΔΤ2 λόγω των ομοιοτήτων των μεταβολικών διεργασιών που κατέχει με αυτές του ανθρώπου, πέρα από τα χαρακτηριστικά που την καθιστούν ιδανική για έρευνα γενικότερα.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εστιάζει στη μελέτη των επιδράσεων μιας διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη στην *Drosophila melanogaster* και την παρακολούθηση των συνεπαγόμενων επιπτώσεων σε διάφορες βιολογικές παραμέτρους. Αναπτύχθηκαν *Drosophila melanogaster* με τυπική δίαιτα (ND, Normal Diet) ή δίαιτα που διέφερε σημαντικά σε περιεκτικότητα σε γλυκόζη (HSD, High Sugar Diet). Τα πειράματα διεξήχθησαν σε τρεις χρονικές περιόδους: στις 7, 14 και 21 μέρες μετά την έκθεση των μυγών στην ειδική διατροφή.

Για την εκπόνηση της εργασίας, χρησιμοποιήθηκαν διάφορες μεθοδολογίες πειραματικής έρευνας, συμπεριλαμβανομένων πειραμάτων για τη μέτρηση της κινητικότητας, του μεταβολικού ρυθμού, του σωματικού βάρους, καθώς και δοκιμασίες αντοχής στο κρύο. Η κινητικότητα εκτιμήθηκε με τη δοκιμασία αρνητικής γεώταξης, ενώ για τον μεταβολικό ρυθμό υπολογίστηκε το παραγόμενο CO₂ με την βοήθεια ενός αυτοσχέδιου αναποόμετρου. Στην δοκιμασία αντοχής ψύχους καταγραφόταν ο αριθμός των μυγών που κατάφεραν να ανακτήσουν τις αισθήσεις τους, αφού είχαν μείνει για 4 ώρες στον πάγο.

Τα ευρήματα αποκάλυψαν ότι οι μύγες σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε γλυκόζη παρουσίασαν μειωμένη κινητικότητα (% ποσοστό των μυγών που αναρριχήθηκαν 10 cm σε 10 sec) σε σύγκριση με εκείνες που ακολουθούσαν κανονική δίαιτα. Υπήρξε μια σημαντική αύξηση του μεταβολικού ρυθμού, δηλαδή της παραγωγής CO₂ (μl/hr/fly) στις μύγες που τρεφότουσαν με HSD, και του σωματικού βάρους. Επιπλέον, οι HSD μύγες παρουσίασαν μεγαλύτερη αντοχή στο κρύο. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με την χρήση του λογισμικού Graph Pad Prism 10.2.3.

Η μελέτη αυτή συμβάλλει στην ευρύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο οι δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη μπορούν να επηρεάσουν τη μεταβολική υγεία και την ανθεκτικότητα στο στρες, ενδεχομένως παραλληλίζοντας τις επιπτώσεις που παρατηρούνται στους ανθρώπους που καταναλώνουν παρόμοιες δίαιτες.

Abstract

The rapid change in dietary patterns – characterized by high sugar intake – combined with reduced exercise, leads to the development of metabolic disorders that can lead to conditions such as morbid obesity or type II diabetes mellitus (T2D). *Drosophila melanogaster* is an extremely valuable model for the study of T2D because of the similarities of its metabolic processes with those of humans, in addition to the characteristics that make it ideal for research in general.

This thesis focuses on studying the effects of a high glucose diet on *Drosophila melanogaster* and monitoring the consequent effects on various biological parameters. *Drosophila melanogaster* were grown on a standard diet (ND, Normal Diet) or a diet that differed significantly in glucose content (HSD, High Sugar Diet). The experiments were conducted at three time periods: at 7, 14 and 21 days after the flies were exposed to the specific diet.

This study used various experimental research methodologies, including experiments to measure locomotor activity, metabolic rate, body weight, and chill coma assays. Mobility was assessed using the negative geotaxis assay, while for metabolic rate, the CO₂ produced was calculated using a makeshift respirometer. In the chill coma assay, the number of flies that managed to regain consciousness after being on the ice for a long period of time was recorded.

The findings revealed that flies on a high sugar diet showed reduced mobility (% of flies climbing 10 cm in 10 sec) compared to those on a normal diet. There was a significant increase in metabolic rate, i.e. CO₂ production (μl/hr/fly) in HSD fed flies, as well as increased body weight. In addition, HSD flies showed greater resistance to cold. All analyses were performed using GraphPad Prism 10.2.3 software.

This study contributes to a broader understanding of how high glucose diets can affect metabolic health and stress resilience, potentially paralleling the effects seen in humans consuming similar diets.

Γενικό Μέρος

1. Εισαγωγή

1.1 Δυτική διατροφή

Ένας μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών έχει διερευνήσει τη σχέση μεταξύ διατροφής, νοσηρότητας και θνησιμότητας. Οι διατροφικές συνήθειες αποτελούν μια από τις πιο σύνθετες πτυχές της ανθρώπινης ζωής, καθώς επηρεάζονται από βιοχημικούς, ψυχολογικούς, κοινωνικούς και πολιτισμικούς παράγοντες [1]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δυτική διατροφή, η οποία αποτελεί το σύγχρονο διατροφικό πρότυπο και χαρακτηρίζεται κυρίως από την πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων κόκκινου κρέατος, γαλακτοκομικών προϊόντων, επεξεργασμένων δημητριακών και ζάχαρης [2].

Οι ζωντανοί οργανισμοί ευδοκιμούν καλύτερα στο περιβάλλον και στη διατροφή στην οποία προσαρμόστηκαν εξελικτικά – αυτό είναι ένα θεμελιώδες αξίωμα της βιολογίας κατά τους O’Keefe και Cordain [3]. Η δήλωση αυτή βασίζεται στο γεγονός ότι ο μεταβολισμός κάθε είδους έχει προσαρμοστεί γενετικά σε ένα συγκεκριμένο τύπο διατροφής κατά τη διάρκεια μεγάλων περιόδων εξέλιξης, εγγυώμενος την υγεία και την επιβίωσή τους.

Η ανθρώπινη διατροφή άλλαξε απότομα και δραστικά με τη γεωργική επανάσταση πριν από περίπου 10.000 χρόνια και ιδιαίτερα μετά τη βιομηχανική επανάσταση πριν από 250 χρόνια, όμως το ανθρώπινο γονιδίωμα παρέμεινε σε μεγάλο βαθμό αμετάβλητο. Οι αλλαγές στη διατροφή και τον τρόπο ζωής συνέβησαν τόσο γρήγορα ώστε το ανθρώπινο γονιδίωμα δεν είχε την ευκαιρία να προσαρμοστεί. Ως εκ τούτου, οι άνθρωποι παραμένουν βιολογικά προσαρμοσμένοι στο περιβάλλον των προγόνων τους, πριν από την ανάπτυξη της γεωργίας [4].

Σήμερα, οι υδατάνθρακες παίζουν εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή. Η γλυκόζη, η οποία προέρχεται σε αφθονία από πηγές υδατανθράκων, ιδίως από αμυλούχα τρόφιμα και σάκχαρα, αποτελεί σήμερα τη σημαντικότερη πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό και αντιπροσωπεύει περίπου το 40-75% της ενεργειακής πρόσληψης [5].

Κατά συνέπεια, αυτή η ταχεία αλλαγή στο διατροφικό πρότυπο και τη θρέψη, σε συνδυασμό με την μειωμένη άσκηση, οδηγεί στην παρατήρηση επιδημιολογικών φαινομένων που σχετίζονται με την αυξημένη συχνότητα αρκετών ασθενειών. Ορισμένες από τις παθήσεις που μπορεί να προκληθούν από μια διατροφή πλούσια σε σάκχαρα είναι η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II [6].

1.2 Δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα

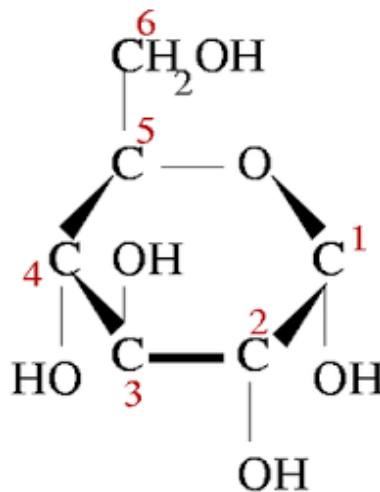
Οι υδατάνθρακες (ή αλλιώς σάκχαρα) είναι σημαντικά μακροθρεπτικά στοιχεία στα διατροφικά πρότυπα του ανθρώπου, τα οποία διαδραματίζουν βασικό ρόλο σε κρίσιμες μεταβολικές οδούς και παρέχουν την απαραίτητη ενέργεια για την ομαλή λειτουργία του οργανισμού. Η ομοιόσταση και η πρόσληψη σακχάρων απαιτούν πολύπλοκο ορμονικό και νευρικό έλεγχο για την σωστή ενεργειακή ισορροπία του σώματος [17].

1.2.1 Υδατάνθρακες

Οι σακχαρίτες χωρίζονται σε τέσσερις χημικές υποομάδες ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού, υποδεικνύοντας το μήκος της υδατανθρακικής αλυσίδας:

- μονοσακχαρίτες, με μόνο μία μονάδα σακχάρου,
- δισακχαρίτες, με δύο μονάδες σακχάρου,
- ολιγοσακχαρίτες, που περιέχουν τρεις έως εννέα μονάδες σακχάρου,
- και πολυσακχαρίτες, με παραπάνω από δέκα μονάδες σακχάρου.

Οι εκπρόσωποι των μονοσακχαριτών είναι η γλυκόζη, η γαλακτόζη και η φρουκτόζη. Για τους δισακχαρίτες χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η σακχαρόζη, η μαλτόζη και η λακτόζη, ενώ για τους πολυσακχαρίτες είναι τα άμυλα και γλυκογόνα.



Εικόνα 1. Χημική δομή του μορίου της α-γλυκόζης.

Οι υδατάνθρακες είναι ζωτικής σημασίας για τη διατροφή και παίρνουν μέρος σε σημαντικές λειτουργίες στους οργανισμούς. Οι μονοσακχαρίτες αποτελούν πηγή ενέργειας για τα κύτταρα και με την βοήθεια άλλων βιομορίων έχουν την ικανότητα βιοσύνθεσης άλλων υποομάδων σακχαριτών. Οι μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες λειτουργούν ως γλυκαντικά σε πολλά τρόφιμα, καθώς και ως

φυσικά συντηρητικά. Η φρουκτόζη είναι ο πιο γλυκός από όλους τους υδατάνθρακες των τροφίμων. Οι πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση ενέργειας και ως δομικά συστατικά [18]. Τα επεξεργασμένα σάκχαρα (που ονομάζονται πρόσθετα σάκχαρα), όπως η σακχαρόζη ή το σιρόπι καλαμποκιού υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη, παρέχουν ελάχιστη θρεπτική αξία στα τρόφιμα. Η υπερβολική κατανάλωση ζάχαρης είναι επικίνδυνη για τον ανθρώπινο οργανισμό, συμβάλλοντας στην επιδημία της παχυσαρκίας, του αυξημένου σωματικού βάρους και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου II [19].

1.2.2 Ομοιόσταση της γλυκόζης

Όταν η γλυκόζη, ένα απλό σάκχαρο, προκύπτει από την πέψη των υδατανθράκων στο γαστρεντερικό σωλήνα, απορροφάται από τα κύτταρα του σώματος για να αποτελέσει την κύρια πηγή ενέργειας. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα διατηρείται σε σταθερό επίπεδο κατά τη διάρκεια της νηστείας με την παραγωγή ενδογενούς γλυκόζης μέσω δύο κύριων μεταβολικών οδών [49]:

- Γλυκονεογένεση, κατά την οποία η γλυκόζη παράγεται από υποστρώματα άνθρακα μη-υδατανθράκων, όπως γαλακτικό, γλυκερόλη και γλυκογονικά αμινοξέα. Σε αυτό το μεταβολικό μονοπάτι, η ενδογενής γλυκόζη παράγεται από το ήπαρ και τους νεφρούς και απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος.
- Γλυκογονόλυση, κατά την οποία η γλυκόζη παράγεται από τη διάσπαση του γλυκογόνου. Σε αυτή τη μεταβολική οδό, η ενδογενής γλυκόζη παράγεται από το ήπαρ και τους μύες. Η ενδογενής γλυκόζη που παράγεται από το ήπαρ απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος, ενώ η παραγόμενη γλυκόζη στα μυϊκά κύτταρα καταναλώνεται από τα ίδια.

Περίπου το 15% της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης που απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος προέρχεται από τους νεφρούς και το υπόλοιπο 85% παράγεται από το ήπαρ [50].

Στα φυσιολογικά (μη διαβητικά) άτομα, τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ελέγχονται σε ένα εύρος 60-150 mg/dl, παρά τις μεταβολές, όπως η άσκηση ή η λήψη γεύματος που περιέχει υδατάνθρακες [51]. Το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα ρυθμίζεται μέσω συστημάτων ανατροφοδότησης που αντιδρούν κυρίως στις συγκεντρώσεις γλυκόζης, ινσουλίνης και γλυκαγόνης. Η ινσουλίνη και η γλυκαγόνη είναι δύο ορμόνες του οργανισμού που εκκρίνονται από τα β και α κύτταρα του παγκρέατος, αντίστοιχα. Οι ορμόνες αυτές παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση της γλυκόζης στον οργανισμό, ωστόσο οι επιδράσεις της γλυκαγόνης είναι αντίθετες από αυτές της ινσουλίνης. Η ινσουλίνη συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων σακχάρου στο αίμα διεγείροντας ορισμένα κύτταρα του σώματος να

απορροφήσουν γλυκόζη, καταστέλλοντας την ενδογενή παραγωγή γλυκόζης και αναστέλλοντας την έκκριση γλυκαγόνης. Όταν το σάκχαρο στο αίμα επίπεδο είναι υψηλό, η ινσουλίνη εκκρίνεται από τα β κύτταρα του παγκρέατος για να:

- να διεγείρει τα κύτταρα του σώματος να απορροφήσουν τη γλυκόζη
- να καταστείλει την ενδογενή παραγωγή γλυκόζης
- να αναστέλλει την έκκριση γλυκαγόνης από τα α κύτταρα του παγκρέατος

Αντίθετα, όταν η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα είναι χαμηλή, η γλυκαγόνη εκκρίνεται από τα α κύτταρα του παγκρέατος για να:

- να διεγείρει το ήπαρ να παράγει περισσότερη γλυκόζη
- να αναστέλλει την έκκριση ινσουλίνης από τα β κύτταρα του παγκρέατος

1.3 Σακχαρώδης Διαβήτης

1.3.1 Ορισμός

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) είναι μια χρόνια μεταβολική νόσος με ετερογενές και πολυπαραγοντικό υπόστρωμα. Χαρακτηρίζεται από τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, την υπεργλυκαιμία, λόγω της μειωμένης έκκρισης, δράσης ή και των δύο της ινσουλίνης. Η ανεπάρκεια της δράσης της ινσουλίνης οδηγεί στη διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των λιπών και των πρωτεϊνών. Η ελαττωματική έκκριση της ινσουλίνης έχει ως αποτέλεσμα την πλήρη, μερική ή σχετική έλλειψη της ινσουλίνης στον οργανισμό. Ως σχετική έλλειψη της ινσουλίνης χαρακτηρίζονται τα υψηλά επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα, τα οποία δεν επαρκούν για την κάλυψη των αναγκών του μεταβολισμού, λόγω της παρεμπόδισης της δράσης της στους περιφερικούς ιστούς. Η χρόνια υπεργλυκαιμία στον ΣΔ σχετίζεται με μακροχρόνιες βλάβες και δυσλειτουργία διαφόρων οργάνων του σώματος, κυρίως των ματιών, των νεφρών, των νεύρων, της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων [32].

Η ινσουλίνη είναι μια αναβολική ορμόνη η οποία παράγεται από τα β κύτταρα του παγκρέατος και έχει ως λειτουργία την είσοδο της γλυκόζης από το αίμα στα όργανα, για την παραγωγή ενέργειας. Η γλυκόζη στο αίμα προέρχεται από τη διάσπαση των υδατανθράκων που περιέχονται στα τρόφιμα και τα ροφήματα, η οποία καταλήγει στο αίμα μετά την κατανάλωσή τους [33].

1.3.2 Ταξινόμηση

Οι μέχρι τώρα γνωστές αιτίες που προκαλούν τον ΣΔ αποτελούν και την βάση ταξινόμησής του σε τέσσερις βασικές κατηγορίες:

- i. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I ή ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, στον οποίο ο οργανισμός αδυνατεί να παράγει ινσουλίνη λόγω αυτοάνοσης καταστροφής των β κυττάρων του παγκρέατος. Ως εκ τούτου, ο οργανισμός καθίσταται εξαρτώμενος από την ινσουλίνη και οι ασθενείς με διαβήτη τύπου I πρέπει να λαμβάνουν καθημερινά δόσεις ινσουλίνης για να επιβιώσουν. Τις περισσότερες φορές εμφανίζεται στην παιδική ηλικία, αλλά η νόσος μπορεί επίσης αναπτυχθεί σε ενήλικες 30 – 40 ετών.
- ii. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II ή μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, κατά τον οποίο το πάγκρεας δεν παράγει αρκετή ινσουλίνη ή τα κύτταρα του ανθρώπινου σώματος αποκτούν αντίσταση έναντι της ινσουλίνης. Οι διαβητικοί ασθενείς τύπου II χρειάζονται σταδιακή θεραπεία και δεν έχουν επείγουσα ανάγκη ιατρικής φροντίδας.
- iii. Ο διαβήτης κύησης, ο οποίος αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Εμφανίζεται σε εγκύους γυναίκες που δεν είχαν ποτέ στο παρελθόν διαβήτη. Ο διαβήτης κύησης προκαλεί υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα που μπορεί να επηρεάσει την εγκυμοσύνη της γυναίκας και την υγεία του μωρού.
- iv. Άλλοι ειδικοί τύποι διαβήτη, οι οποίοι οφείλονται σε άλλα αίτια όπως σύνδρομο μονογονιδιακού διαβήτη (π.χ. νεογνικός διαβήτης και ο MODY, Maturity Onset Diabetes of the Young), νοσήματα της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος (π.χ. κυστική ίνωση ή παγκρεατίτιδα), ο προκαλούμενος από φάρμακα ή χημικές ουσίες σακχαρώδης διαβήτης (π.χ. χρήση γλυκοκορτικοειδών, φάρμακα για τη θεραπεία του HIV/AIDS, φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την μεταμόσχευση οργάνων) [34].

1.4 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II (ΣΔΤ2) είναι μία από τις πιο συχνές μεταβολικές διαταραχές παγκοσμίως και η ανάπτυξή του προκαλείται κυρίως από το συνδυασμό δύο βασικών παραγόντων: την ελαττωματική έκκριση ινσουλίνης από τα β κύτταρα του παγκρέατος και την αδυναμία των ινσουλινοευαίσθητων ιστών να ανταποκριθούν στην ινσουλίνη [35]. Η απελευθέρωση και η δράση της ινσουλίνης πρέπει να ανταποκρίνονται με ακρίβεια στη μεταβολική ζήτηση – ως εκ τούτου, οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σύνθεση και την απελευθέρωση της ινσουλίνης, καθώς και η ινσουλινική απόκριση στους ιστούς πρέπει να ρυθμίζονται αυστηρά. Βλάβες σε οποιονδήποτε

από τους εμπλεκόμενους μηχανισμούς μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολική διαταραχή που οδηγεί στην παθολογία του ΣΔΤ2.

1.4.1 Επιπολασμός

Η Διεθνής Ομοσπονδία Διαβήτη εκτιμά ότι 1 στους 8 ενήλικες, περίπου 783 εκατομμύρια, θα ζουν με διαβήτη, μια αύξηση της τάξης του 46% [46]. Ο διαβήτης είναι διαδεδομένος τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ορισμένες εθνοτικές ομάδες, όπως οι Νοτιοασιάτες, οι κάτοικοι των νησιών του Ειρηνικού, οι Λατίνοι και οι ιθαγενείς Αμερικανοί, διατρέχουν ιδιαίτερα υψηλό κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου II [48]. Το 1985, ο αριθμός των ατόμων με διαβήτη εκτιμήθηκε σε 30 εκατομμύρια, το 1995 αυξήθηκε σε 135 εκατομμύρια και το 2005 σε 217 εκατομμύρια. Αυτή η αύξηση αποδίδεται κυρίως στη γήρανση του παγκόσμιου πληθυσμού, τη μείωση της φυσικής δραστηριότητας και την άνοδο των ποσοστών παχυσαρκίας. Ο διαβήτης τύπου II, που παλαιότερα θεωρούνταν ασθένεια των ενηλίκων, διαγιγνώσκεται πλέον όλο και συχνότερα στα παιδιά, λόγω της αύξησης της παιδικής παχυσαρκίας [40]. Το 2021, οι πέντε χώρες με τον μεγαλύτερο αριθμό ατόμων με διαβήτη ήταν: η Κίνα (140.9 εκατομμύρια), η Ινδία (74.2 εκατομμύρια), το Πακιστάν (33.0 εκατομμύρια), οι Ηνωμένες Πολιτείες (32.2 εκατομμύρια) και η Ινδονησία (19.5 εκατομμύρια) [49]. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει αναγνωρίσει τον διαβήτη ως παγκόσμια επιδημία, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για παγκόσμια δράση και ευαισθητοποίηση.

1.4.2 Παθογένεση

Η ανάπτυξη του διαβήτη τύπου II προκαλείται από ένα συνδυασμό παραγόντων του τρόπου ζωής και γενετικών παραγόντων.

- Τρόπος ζωής:

Πολλοί παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής έχουν αναγνωριστεί ότι συμβάλλουν στην ανάπτυξη του ΣΔΤ2. Η καθιστική ζωή με περιορισμένη σωματική δραστηριότητα και το κάπνισμα έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔΤ2. Επιπλέον, η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ αποτελεί παράγοντα κινδύνου, αφού μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη ρύθμιση της γλυκόζης και να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου [37]. Η παχυσαρκία, επίσης, είναι στενά συνδεδεμένη με τον διαβήτη τύπου II. Το υπερβολικό σωματικό βάρος, ιδίως όταν συσσωρεύεται ως σπλαχνικό λίπος, σχετίζεται άμεσα με την αντίσταση στην ινσουλίνη και τις διαταραχές του μεταβολισμού της γλυκόζης [38, 39].

- Γενετικοί Παράγοντες:

Στις περισσότερες περιπτώσεις διαβήτη, εμπλέκονται πολλά γονίδια, με το καθένα να συμβάλλει λίγο στην αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης διαβήτη τύπου II. Εκτιμάται ότι το 72% των περιπτώσεων διαβήτη είναι κληρονομικές [40]. Έχουν εντοπιστεί πάνω από 36 γονίδια και 80 πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου II [41]. Για παράδειγμα, το αλληλόμορφο TCF7L2 αυξάνει τον κίνδυνο διαβήτη κατά 50% και αποτελεί τη μεγαλύτερη γενετική προδιάθεση μεταξύ των κοινών παραλλαγών. Τα περισσότερα γονίδια που συνδέονται με τον διαβήτη σχετίζονται με τις λειτουργίες των β κυττάρων του παγκρέατος [42,43]. Υπάρχουν επίσης μερικές σπάνιες περιπτώσεις διαβήτη που οφείλονται σε ανωμαλία ενός μόνο γονιδίου, γνωστές ως μονογονιδιακές μορφές διαβήτη, σε αυτές περιλαμβάνονται ο διαβήτης MODY, το σύνδρομο Donohue και το σύνδρομο Rabson-Mendenhall [40,44].

1.4.3 Παθοφυσιολογία

- Λειτουργία των β κυττάρων:

Η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί την πρώιμη ανιχνεύσιμη διαταραχή σε άτομα που είναι πιθανό να αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Ωστόσο, ο ΣΔΤ2 εκδηλώνεται όταν τα β κύτταρα αδυνατούν να εκκρίνουν επαρκείς ποσότητες ινσουλίνης. Στα παγκρεατικά νησίδια του Langerhans, τα β κύτταρα αποτελούν περίπου το 60% των κυττάρων, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό αποτελούν τα: α κύτταρα (που παράγουν γλυκαγόνη), δ κύτταρα (που παράγουν σωματοστατίνη), ε κύτταρα (που παράγουν γκρελίνη) και PP κύτταρα (που παράγουν παγκρεατικό πολυπεπτίδιο). Κάθε νησίδιο περιέχει 100-500 μU ινσουλίνης [52]. Σε δείγματα από ασθενείς με ΣΔΤ2, η μάζα των β κυττάρων είναι μειωμένη σε σχέση με δείγματα μη ασθενών, αν και η μορφολογία των β κυττάρων μπορεί να ποικίλει μεταξύ των ατόμων. Η απώλεια των β κυττάρων στον ΣΔΤ2 οφείλεται στην απόπτωση και στην μη ρυθμισμένη αυτοφαγία. Το πώς οι δομικές αλλαγές στα νησίδια των ατόμων με ΣΔΤ2 επηρεάζουν τη συνολική τους λειτουργία δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως [53]. Η αντίσταση στην ινσουλίνη οδηγεί σε αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης σε οποιοδήποτε επίπεδο γλυκόζης στο αίμα, πιθανώς λόγω μικρών αυξήσεων στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και αυξημένων επιπέδων ελεύθερων λιπαρών οξέων. Η αντίσταση στην ινσουλίνη μπορεί, επίσης, να προκαλέσει σχετική αύξηση των α κυττάρων σε σύγκριση με τα β κύτταρα, πιθανότατα λόγω επιλεκτικής απόπτωσης και αποδιαφοροποίησης των β κυττάρων. Τα νησίδια από ασθενείς με ΣΔΤ2 δείχνουν μειωμένη απελευθέρωση ινσουλίνης σε απόκριση στη γλυκόζη και υψηλότερο κατώφλι έκκρισης ινσουλίνης σε σύγκριση με αυτά από μη ασθενείς.

- Έκκριση ινσουλίνης:

Η έκκριση ινσουλίνης από τα β κύτταρα ρυθμίζεται από πολλαπλούς παράγοντες, όπως η γλυκόζη, τα λιπαρά οξέα, οι ορμόνες και οι νευρικές απολήξεις. Αυτό επιτρέπει στον οργανισμό να προσαρμόζει την απελευθέρωση ινσουλίνης ανάλογα με τις μεταβαλλόμενες απαιτήσεις και να διατηρεί φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Η αναγκαία αυτή προσαρμογή ποικίλλει από άτομο σε άτομο, με τα αδύνατα, ευαίσθητα στην ινσουλίνη άτομα να απαιτούν μικρότερη ποσότητα ινσουλίνης σε σύγκριση με τα παχύσαρκα άτομα, τα οποία συχνά εμφανίζουν αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε άτομα με ΣΔΤ2, υπάρχει σημαντική μείωση στην λειτουργία των β κυττάρων και στην ικανότητά τους να εκκρίνουν ινσουλίνη σε σύγκριση με τα μη διαβητικά άτομα. Επιπλέον, η ικανότητα των β κυττάρων να ανταποκρίνονται στην αύξηση της συγκέντρωσης γλυκόζης στο πλάσμα είναι μειωμένη σε άτομα με ΣΔΤ2. Παρεμβάσεις που στοχεύουν στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα μπορούν να βελτιώσουν την ευαισθησία των β κυττάρων στη γλυκόζη, επιτρέποντας σε αυτά να ανακτήσουν μέρος της λειτουργικότητάς τους. Αυτό υποδηλώνει ότι η δυσλειτουργία των β κυττάρων στον ΣΔΤ2 μπορεί να είναι αναστρέψιμη και ότι αρκετά β κύτταρα μπορεί να παραμένουν λειτουργικά, αλλά σε ανενεργή κατάσταση [52].

- Αντίσταση στην ινσουλίνη:

Η παχυσαρκία και η σωματική αδράνεια οδηγούν σε αντίσταση στην ινσουλίνη, οι οποίες, σε συνδυασμό με τη γενετική προδιάθεση ασκούν πίεση στα β κύτταρα, οδηγώντας σε αποτυχία της λειτουργίας τους και σε προοδευτική μείωση της έκκρισης ινσουλίνης. Η αντίσταση στην ινσουλίνη προηγείται του ΣΔΤ2 κατά πολλά έτη και εντοπίζεται κυρίως στους μύες και το ήπαρ, τους δύο ιστούς που είναι υπεύθυνοι για τη διάθεση της γλυκόζης μετά από κατανάλωση υδατανθράκων. Στο ήπαρ, η αντίσταση στην ινσουλίνη, σε συνδυασμό με την ανεπάρκεια ινσουλίνης και την υπεργλυκαιμία οδηγεί σε αυξημένη γλυκονεογένεση, η οποία είναι υπεύθυνη για τον αυξημένο βασικό ρυθμό παραγωγής γλυκόζης και υπεργλυκαιμία νηστείας [54].

1.4.4 Πρόληψη

Η αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II επικεντρώνεται σε αλλαγές στον τρόπο ζωής, φαρμακευτική αγωγή και παρακολούθηση της γλυκόζης στο αίμα. Οι αλλαγές στον τρόπο ζωής περιλαμβάνουν υγιεινή διατροφή, τακτική σωματική άσκηση και διατήρηση ενός φυσιολογικού σωματικού βάρους, που είναι κρίσιμες για τη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και τη ρύθμιση της γλυκόζης. Η φαρμακευτική αγωγή μπορεί να περιλαμβάνει αντιδιαβητικά φάρμακα όπως η μετφορμίνη και θειαζολιδινεδιόνες. Η τακτική παρακολούθηση της γλυκόζης είναι επίσης

σημαντική για την πρόληψη των επιπλοκών και την προσαρμογή της θεραπείας ανάλογα με τις ανάγκες του ασθενούς [45].

1.5 *Drosophila melanogaster*

1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Η *Drosophila melanogaster* είναι γνωστή και ως μύγα των φρούτων («φρουτόμυγα») ή μύγα του ξυδιού. Η ταξινόμησή της φαίνεται παρακάτω:

Συστηματική Ταξινόμηση	
Βασίλειο	Animalia
Φύλο	Αρθρόποδα
Κλάση	Έντομα
Τάξη	Δίπτερα
Οικογένεια	Drosophilidae
Υποοικογένεια	Drosophilinae
Γένος	Drosophila
Είδος	Drosophila melanogaster

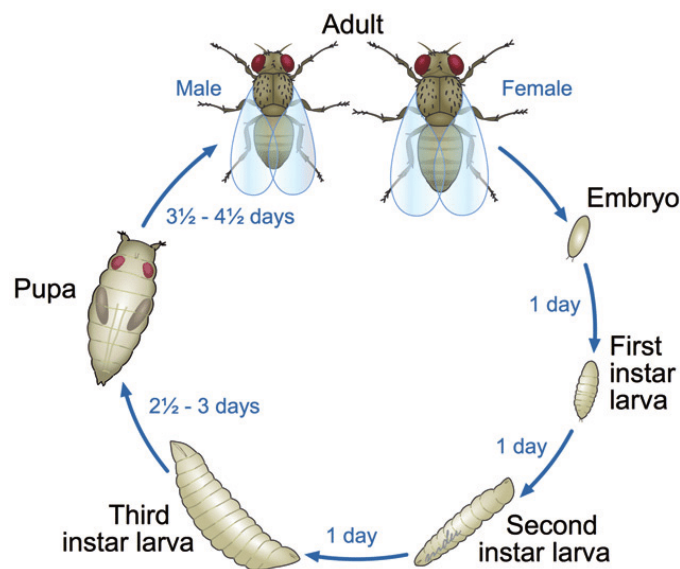
Πίνακας 1. Συστηματική ταξινόμηση της *Drosophila melanogaster*

Ενδιαφέρον φαίνεται να έχει η ετυμολογική προέλευση της ονομασίας του είδους. Η λέξη "δροσόφιλα" αποτελείται από δύο μέρη: Το πρώτο συνθετικό της λέξης είναι "δρόσος" και αναφέρεται στη δροσιά, ενώ το δεύτερο συνθετικό είναι η λέξη "φίλος", που σημαίνει φίλος ή αγαπημένος. Επομένως, *Drosophila* σημαίνει κυριολεκτικά "φίλη της δροσιάς", υποδεικνύοντας την προτίμηση του εντόμου για υγρά και δροσερά περιβάλλοντα. Το δεύτερο μισό του διώνυμου, *melanogaster*, προέρχεται από τις λέξεις "μέλας", που σημαίνει "μαύρος" και "γαστήρ", δηλαδή στομάχι ή κοιλιά. Συνεπώς, η λέξη *melanogaster* αναφέρεται σ' αυτόν που έχει σκουρόχρωμη κοιλιά. Οι μύγες άγριου τύπου του συγκεκριμένου είδους έχουν χρώμα σώματος καφέ-κίτρινο, με κοκκινωπά μάτια και εγκάρσιους μαύρους κύκλους σε όλη την κοιλιακή χώρα.

Τα μεταμερή στην *D. melanogaster*, όπως και στα περισσότερα έντομα, συντήκονται σχηματίζοντας ξεχωριστά τμήματα. Στην προκειμένη περίπτωση έχουμε τον σχηματισμό τριών διακριτών ταγμάτων: το κεφάλι, τον θώρακα και την κοιλιά.

1.5.2 Κύκλος ζωής

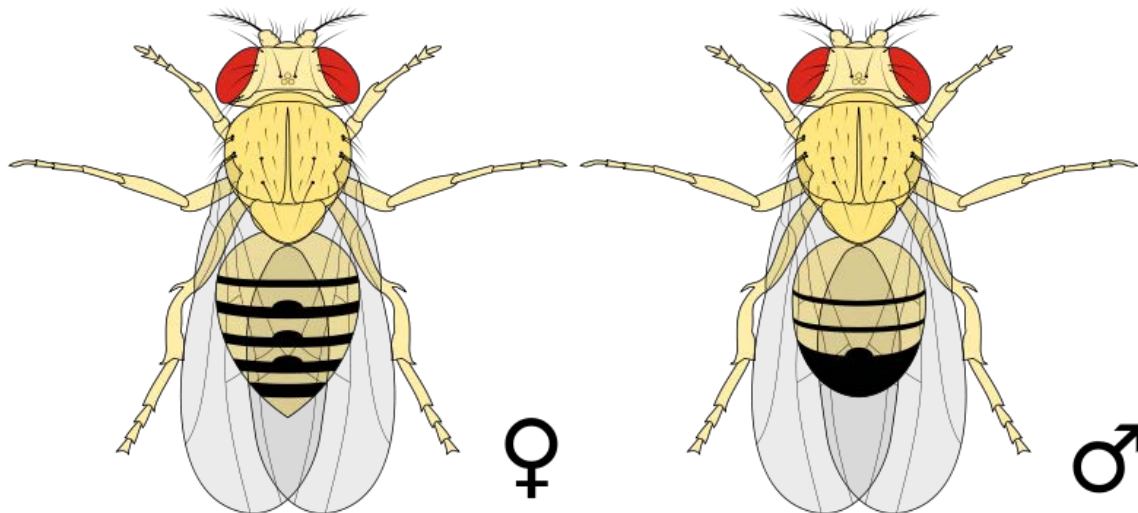
Ο κύκλος ζωής της *Drosophila melanogaster* είναι πολύ σύντομος και διαρκεί περίπου 8-14 ημέρες, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν. Συνήθως, ως εργαστηριακό μοντέλο αναπτύσσεται σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25 °C) και υγρασίας (50-60%) μέσα σε φιαλίδια που περιέχουν στο κάτω μέρος τους το φαγητό [7]. Η φρουτόμυγα ανήκει στην κατηγορία των ολομετάβολων εντόμων. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά των ολομετάβολων εντόμων είναι το φαινόμενο της μεταμόρφωσης που συμβαίνει μέσα στο ίδιο του το περίβλημα της. Ο κύκλος ζωής της διακρίνεται σε τέσσερα στάδια: έμβρυο, προνύμφη, νύμφη και ενήλικας [8]. Μετά από τις 24 πρώτες ώρες όπου και πραγματοποιείται η εμβρυογένεση, ακολουθεί η εκκόλαψη του εμβρύου σε πρώτου σταδίου προνύμφη (1st instar larva). Μετά το πέρας άλλων 24 ωρών ολοκληρώνεται η μετατροπή σε προνύμφη δεύτερου σταδίου (2nd instar larva), καθώς και η πρώτη έκδυση. Μετά από μία ακόμη έκδυση, δηλαδή, αποβολή του χιτινώδους περιβλήματος, έχουμε και την μετατροπή σε τρίτου σταδίου προνύμφης (3rd instar larva). Η προνύμφη τρίτου σταδίου επτά ημέρες ύστερα από τη γονιμοποίηση καλύπτεται από ένα σκληρό χιτινώδες εξωτερικό περίβλημα και καλείται puparium. Ο σχηματισμός του puparium σηματοδοτεί το τέλος των προνυμφικών σταδίων, με την μετατροπή της προνύμφης τρίτου σταδίου σε νύμφη (pupa). Μετά από την παραμονή της νύμφης για 3-4 ημέρες στο στάδιο αυτό ακολουθεί η μεταμόρφωση της σε ενήλικο άτομο [7,8].



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση του κύκλου ζωής του εντόμου *Drosophila melanogaster* [7].

1.5.3 Μορφολογικές διαφορές αρσενικών και θηλυκών *D. melanogaster*

Η *Drosophila melanogaster* εμφανίζει σεξουαλικό διμορφισμό, δηλαδή τα δύο φύλα ενός είδους εμφανίζουν διακριτές διαφορές στη μορφολογία, τη συμπεριφορά, ή άλλα φυσιολογικά χαρακτηριστικά πέρα από τις διαφορές στα αναπαραγωγικά όργανα. Οι ενήλικες θηλυκές μύγες είναι συνήθως μεγαλύτερες από τις ενήλικες αρσενικές μύγες, με τις θηλυκές να ζυγίζουν κατά μέσο όρο 1,4 mg και τις αρσενικές 0,8 mg [7]. Στα αρσενικά, τα οπίσθια τμήματα της κοιλιάς είναι συνήθως πιο σκούρα και πιο στρογγυλεμένα σε σύγκριση με τα θηλυκά, τα οποία διαθέτουν ρίγες. Τέλος, χαρακτηριστικό των αρσενικών μυγών είναι το φυλετικό χτένι στο πρώτο ζεύγος ποδιών, που μπορεί να παρατηρηθεί με την χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Αυτές οι διαφορές επιτρέπουν την εύκολη οπτική αναγνώριση των αρσενικών και θηλυκών μυγών, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για πειράματα και γενετικές μελέτες που αφορούν τη *Drosophila melanogaster*.



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση μορφολογικών διαφορών μεταξύ των δύο φύλων *D. melanogaster*

1.5.4 *D.melanogaster* ως πειραματικό μοντέλο

Η *D.melanogaster* έχει μελετηθεί εκτενώς εδώ και δεκαετίες. Στην πραγματικότητα, εισήχθη ως ένα βασικό μοντέλο στη βιολογία πριν από περίπου έναν αιώνα, συγκεκριμένα το 1901 από τον Charles W. Woodworth. Η μύγα μοιράζεται αρκετές βασικές βιολογικές, βιοχημικές, νευρολογικές και φυσιολογικές ομοιότητες με τα θηλαστικά. Έχει τεκμηριωθεί ότι περίπου το 75% των γονιδίων που προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο έχουν λειτουργικό ομόλογο στη *D. melanogaster* [10]. Έτσι, καθίσταται ένας εύχρηστος οργανισμός- μοντέλο για την μελέτη των μοριακών μηχανισμών διάφορων παθογενειών του ανθρώπου.

1.5.5 Χαρακτηριστικά που την καθιστούν ιδανική για έρευνα

Η *Drosophila melanogaster* έχει πολλά χαρακτηριστικά που την καθιστούν ιδανικό μοντέλο για την μελέτη βιολογικών διεργασιών. Αρχικά, έχουν εξαιρετικά σύντομο χρόνο αναπαραγωγής, με κύκλο ζωής που διαρκεί μόλις 10-14 ημέρες από το αυγό μέχρι το ενήλικο άτομο. Αυτή η ταχεία εναλλαγή επιτρέπει την παρατήρηση πολλών γενεών σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, διευκολύνοντας τις γενετικές μελέτες και τα πειράματα. Δεύτερον, παρουσιάζουν πληθωρική αναπαραγωγή, με ένα μόνο θηλυκό να μπορεί να γεννήσει εκατοντάδες αυγά κατά τη διάρκεια της ζωής του. Αυτή η αφθονία απογόνων παρέχει αριθμό παραπάνω από ικανοποιητικό για πειραματικούς χειρισμούς [11]. Επιπλέον, διαθέτουν μικρό και πλήρως χαρτογραφημένο γονιδίωμα, κάτι που διευκολύνει την αναζήτηση και τη μελέτη των γονιδίων. Είναι οικονομικά συμφέρουσες στην διατήρηση στο εργαστήριο, καθώς απαιτούν ελάχιστο χώρο και πόρους σε σύγκριση με άλλους οργανισμούς-μοντέλα. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με το μικρό τους μέγεθος, την ευκολία στον χειρισμό και αποδεικνύουν την καταλληλότητά τους ως οργανισμό-μοντέλο.

1.5.6 *Drosophila melanogaster* ως μοντέλο για τη μελέτη ασθενειών του ανθρώπου

Η *Drosophila* έχει κερδίσει την εκτίμηση ως χρήσιμος οργανισμός-μοντέλο για τις ανθρώπινες ασθένειες. Το πρόγραμμα γονιδιώματος της *D. melanogaster* ολοκληρώθηκε το 2000. Λίγα χρόνια αργότερα, ολοκληρώθηκε και το πρόγραμμα για το ανθρώπινο γονιδίωμα. Οι συγκρίσεις των αλληλουχιών των δύο γονιδιωμάτων αποκάλυψαν υψηλές ομολογίες μεταξύ των γονιδιωμάτων της *Drosophila* και του ανθρώπου, επιβεβαιώνοντας έτσι τη σημασία της *D. melanogaster* ως μοντέλου για τη μελέτη των ανθρώπινων ασθενειών [13]. Σχεδόν το 75% των γονιδίων που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες έχει εκτιμηθεί ότι έχουν λειτουργικά ορθόλογα στη *Drosophila* [8]. Η συνολική ταυτότητα στην αλληλουχία νουκλεοτιδίων ή αμινοξέων μεταξύ της *Drosophila* και των θηλαστικών είναι περίπου 40% μεταξύ των ομολόγων. Όσον αφορά τους συντηρημένους λειτουργικούς τομείς των πρωτεϊνών, η ταυτότητα μπορεί να υπερβαίνει το 80%. Το γονιδίωμα της *D. melanogaster* είναι μικρότερο σε μέγεθος (4 χρωμοσώματα, 1 φυλετικό και 3 αυτοσωμικά) και έχει μικρότερο αριθμό γονιδίων (περίπου 14.000 γονίδια) σε σύγκριση με το ανθρώπινο γονιδίωμα, γεγονός που διευκολύνει τις γενετικές μελέτες [14]. Κατά συνέπεια, πολλές ανθρώπινες οικογένειες γονιδίων αποτελούνται από παραλόγους με πλεονασμό επικαλυπτόμενων λειτουργιών που αντιστοιχούν σε ένα μόνο γονίδιο ή σε μια μικρότερη οικογένεια γονιδίων στη *Drosophila* [15].

Η ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του γονιδιώματος της μύγας προώθησε τον γενετικό έλεγχο σε όλο το γονιδίωμα, τις αναλύσεις σε όλο το γονιδίωμα με χρήση αναλυτικών τεχνικών, όπως RNA-seq και ChIP-seq κλπ. Επιπλέον, υπάρχουν λιγότερες ηθικές ανησυχίες, επειδή το έντομο δεν εμπίπτει

στη νομοθεσία περί ζώων σε πολλές χώρες. Λόγω των παραπάνω, η *Drosophila* βρίσκεται πάντα στην πρώτη γραμμή της σύγχρονης βιολογίας, όπου τα γονίδια, η γονιδιακή μηχανική και άλλα νέα ευρήματα συχνά επιτυγχάνονται πρώτα στη *Drosophila* και στη συνέχεια γενικεύονται σε άλλους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου [15].

1.5.7 *Drosophila melanogaster* ως μοντέλο για τη μελέτη του ΣΔΤ2 στον άνθρωπο

Η *Drosophila melanogaster* χρησιμεύει ως εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη του διαβήτη τύπου II λόγω των πολυάριθμων φυσιολογικών και γενετικών ομοιοτήτων της με τον άνθρωπο, ιδίως στο πλαίσιο του ενεργειακού μεταβολισμού και των μηχανισμών της νόσου. Τόσο η *Drosophila* όσο και ο άνθρωπος μοιράζονται ανάλογα όργανα και μεταβολικές οδούς απαραίτητες για την απορρόφηση, αποθήκευση και αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών [55]. Στη *Drosophila*, τα θρεπτικά συστατικά απορροφώνται μέσω του εντέρου και οι σκελετικοί μύες είναι υπεύθυνοι για την εκούσια ενεργειακή δαπάνη, κάτι που μοιάζει με την ανθρώπινη φυσιολογία [56, 57].

Ένα όργανο-κλειδί στη *Drosophila* για τον ενεργειακό μεταβολισμό είναι το λιπώδες σώμα (FB), το οποίο λειτουργεί παρόμοια με τον λευκό λιπώδη ιστό και το ήπαρ στα θηλαστικά. Το FB αποθηκεύει την περίσσεια ενέργειας με τη μορφή τριγλυκεριδίων, παρόμοια με το λιπώδη ιστό, και συμμετέχει στο μεταβολισμό, την αποθήκευση γλυκογόνου και την ανίχνευση θρεπτικών ουσιών, σε αντιστοιχία με τις λειτουργίες του ήπατος [56, 57]. Το FB συντονίζει τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών με την αποθήκευση και τη δαπάνη ενέργειας και συνεπώς διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη συστηματική ενεργειακή ομοιόσταση. Για παράδειγμα, οι υδατάνθρακες της τροφής διασπώνται σε μονοσακχαρίτες, απορροφώνται στο έντερο, απελευθερώνονται στην αιμόλεμφο και στη συνέχεια προσλαμβάνονται από το FB. Αυτοί οι υδατάνθρακες είτε μετατρέπονται και αποθηκεύονται ως γλυκογόνο είτε μετατρέπονται σε τρεχαλόζη, έναν μη αναγωγικό δισακχαρίτη, ο οποίος απελευθερώνεται πίσω στην αιμόλεμφο για να μεταβολιστεί από άλλους ιστούς [58, 60].

Η ορμονική ρύθμιση του μεταβολισμού στη *Drosophila* παρουσιάζει επίσης σημαντική ομοιότητα με τα θηλαστικά. Τα ινσουλινόμορφα πεπτίδια (*drosophila insulin - like peptides*, dILPs) της *Drosophila melanogaster* και η γλυκαγονόμορφη λιποκινητική ορμόνη (*glucagon - like adipokinetic hormone*, AKH) κατέχουν κεντρική θέση στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, ανάλογη με τα συστήματα ινσουλίνης και γλυκαγόνης στον άνθρωπο [58, 59]. Αυτή η ορμονική ρύθμιση είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της ομοιόστασης της γλυκόζης και της ενεργειακής ισορροπίας, με τις dILPs να προάγουν την αποθήκευση θρεπτικών ουσιών και την ανάπτυξη, ενώ η AKH κινητοποιεί τα αποθέματα ενέργειας κατά τη διάρκεια της νηστείας ή της υψηλής ενεργειακής ζήτησης.

Γενετικά, η *Drosophila* μοιράζεται υψηλό βαθμό διατήρησης με τον άνθρωπο, με πολλά γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που εμπλέκονται σε μεταβολικές ασθένειες, να διατηρούνται μεταξύ των δύο ειδών [61]. Αυτή η γενετική ομοιότητα, σε συνδυασμό με τα ισχυρά γενετικά εργαλεία που είναι διαθέσιμα για τον χειρισμό της *Drosophila*, καθιστά τη μύγα ένα ανεκτίμητο μοντέλο για τη μελέτη του γενετικού και μοριακού υποβάθρου του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Οι ερευνητές μπορούν να εκτελέσουν γενετικές αναλύσεις μεγάλης κλίμακας για τον εντοπισμό νέων γονιδίων και μονοπατιών που εμπλέκονται στον μεταβολισμό και την ασθένεια, προσφέροντας γνώσεις που μπορούν να μεταφερθούν στην ανθρώπινη υγεία.

Ένα πρακτικό μοντέλο παχυσαρκίας και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II που προκαλείται από δίαιτα στη *Drosophila* περιλαμβάνει τη σίτιση των μυγών με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα (HSD). Αυτό το μοντέλο έχει αποδειχθεί ότι αναπαράγει πολλές πτυχές του ΣΔΤ2 στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, οι προνύμφες που τρέφονται με HSD αναπτύσσουν υπεργλυκαιμία, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στην αιμόλεμφο, και αντίσταση στην ινσουλίνη στους περιφερικούς ιστούς, αμφότερα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του ΣΔΤ2 [62]. Επιπλέον, οι προνύμφες αυτές εμφανίζουν αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία, με αυξημένη έκφραση των dILP2, dILP3 και dILP5, αν και τα πεπτίδια αυτά δεν μπορούν να ενεργοποιήσουν αποτελεσματικά τη σηματοδότηση της ινσουλίνης λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη [62, 63]. Αυτό οδηγεί σε παχυσαρκία, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη συσσώρευση τριγλυκεριδίων και μεγαλύτερα λιποσταγονίδια [62]. Έχει παρατηρηθεί η συμμετοχή της πρωτεΐνης Neural Lazarillo (NLaz) που μοιάζει με λιποκαλίνη στην επαγόμενη από HSD αντίσταση στην ινσουλίνη, όπου τα υψηλά επίπεδα σακχάρου ενεργοποιούν την ανταποκρινόμενη στο στρες σηματοδότηση JNK στο FB, οδηγώντας σε έκκριση NLaz [63]. Αυτό παραλληλίζει το ρόλο της απολιποπρωτεΐνης D (ApoD) στα θηλαστικά, όπου η υπερέκφρασή της οδηγεί σε δυσανεξία στη γλυκόζη, αντίσταση στην ινσουλίνη και ηπατική στεάτωση [64].

Οι ενήλικες *Drosophila* που τρέφονται με HSD παρουσιάζουν επίσης μεταβολικές διαταραχές παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται στον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένης της υπεργλυκαιμίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη και της παχυσαρκίας [65]. Επιπλέον, οι μύγες αυτές αναπτύσσουν μυοκαρδιοπάθεια, η οποία χαρακτηρίζεται από συσσώρευση λίπους και κολλαγόνου στον καρδιακό ιστό και αρρυθμίες, που εξελίσσονται σε μαρμαρυγή και ασυστολική περίοδο, αντικατοπτρίζοντας τη διαβητική μυοκαρδιοπάθεια στον άνθρωπο [65].

Συνοψίζοντας, η *Drosophila melanogaster* είναι ένα εξαιρετικά πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ΣΔΤ2 λόγω των συντηρημένων μεταβολικών μονοπατιών της, των ανάλογων λειτουργιών των οργάνων της και των ισχυρών γενετικών εργαλείων που είναι διαθέσιμα για χειραγώγηση. Το

μοντέλο ΣΔΤ2 που προκαλείται από HSD στη *Drosophila* αναπαράγει πολλές πτυχές της ανθρώπινης ΣΔΤ2, συμπεριλαμβανομένης της υπεργλυκαιμίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη και της παχυσαρκίας, καθιστώντας το ένα αποτελεσματικό σύστημα για την αποκάλυψη των μοριακών μηχανισμών και των πιθανών θεραπευτικών στόχων για αυτή τη διαδεδομένη μεταβολική διαταραχή [62, 65].

Ειδικό Μέρος

2. Υλικό και Μέθοδος

2.1 Σκοπός της πτυχιακής εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διερευνήσει την επίδραση μιας διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη στην *Drosophila melanogaster*, επιδιώκοντας την αναπαραγωγή μοντέλου σακχαρώδους διαβήτη τύπου II. Οι παράμετροι που εξετάζουμε είναι: η κινητικότητα, ο μεταβολικός ρυθμός, η μεταβολή του βάρους, η δοκιμασία αντοχής στο ψύχος σε μύγες που ακολούθησαν την συγκεκριμένη δίαιτα σε διάστημα 7, 14, και 21 ημερών.

2.2 Στέλεχος *D. melanogaster*

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιήθηκε ο οργανισμός-μοντέλο *Drosophila melanogaster*, συγκεκριμένα το στέλεχος Oregon-R-C από το Bloomington Drosophila Stock Centre του Πανεπιστημίου της Ιντιάνα (Η.Π.Α). Το στέλεχος αυτό είναι ομόζυγο για το αλληλόμορφο Adh που παράγει "αργά" μεταναστευτικό ισοένζυμο. Το γονίδιο Adh κωδικοποιεί το ένζυμο αλκοολική αφυδρογονάση, το οποίο εμπλέκεται στον μεταβολισμό των αλκοολών εντός του κυττάρου. Ο όρος "αργή μετανάστευση" αναφέρεται στη συμπεριφορά αυτού του ισοενζύμου κατά την ηλεκτροφόρηση σε πηκτή, μια τεχνική που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό μορίων με βάση το μέγεθος και το φορτίο.

2.3 Διατήρηση καλλιέργειας

Η καλλιέργεια διατηρήθηκε σε έναν κλίβανο που εξασφάλιζε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25°C) και υγρασίας (50-60%). Για την καλύτερη ανάπτυξη και διατήρηση των μυγών, ο κλίβανος είχε πρόγραμμα σταθερού ημερήσιου κύκλου, με 12 ώρες φωτός και 12 ώρες σκότους. Σε φιαλίδια τοποθετούνταν περίπου 40 μύγες, τα οποία περιείχαν το θρεπτικό υλικό στην βάση τους και καλύπτονταν στην κορυφή με βαμβάκι. Η χρήση βαμβακιού επέτρεπε την διέλευση αέρα, ενώ παράλληλα εμποδίζε τα πειραματόζωα να διαφεύγουν. Κάθε 10 μέρες οι μύγες μεταφέρονταν σε καινούρια φιαλίδια με φρέσκο θρεπτικό υλικό. Έτσι, οι ενήλικες μύγες είχαν πρόσβαση σε φρέσκο θρεπτικό υλικό, ενώ ο αριθμός της καλλιέργειας αυξανόταν εκθετικά, καθώς στα παλιά φιαλίδια αναπτύσσονταν συνεχώς νέες μύγες από τα έμβρυα, τις νύμφες και τις προνύμφες που περιείχαν.

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως οι μύγες που βρίσκονται σε φιαλίδια με ειδική διατροφή, μεταφέρονται σε νέα φιαλίδια με φρέσκια τροφή κάθε 2 μέρες για να εξασφαλίσουμε την ακεραιότητα των συνθηκών.

2.4 Παρασκευή θρεπτικού υλικού

Το τυπικό θρεπτικό μέσο (ND, Normal Diet), που χρησιμοποιούνταν για την διατήρηση των καλλιιεργειών, περιείχε τα εξής για την παρασκευή 100 ml τροφής:

- 7,5 g κρυσταλλική ζάχαρη
- 5,5 g καλαμποκάλευρο
- 3,33 g ξηρή μαγιά
- 1 g άγαρ
- 0,2 g νιπαγίνη διαλυμένη σε 5ml αιθανόλη 70%

Σε περίπτωση που θέλαμε να παρασκευάσουμε μεγαλύτερη ποσότητα τροφής κάναμε αναγωγή με τα αντίστοιχα ml απιονισμένου νερού, με εξαίρεση τον όγκο αιθανόλης στον οποίο διαλύαμε την νιπαγίνη.

Η διαδικασία που ακολουθείται για την παρασκευή περιγράφεται παρακάτω:

Σε ένα αποστειρωμένο ογκομετρικό δοχείο τοποθετούνται 100 ml απιονισμένου νερού, το οποίο θερμαίνεται σε θερμοφόρο πλάκα μέχρι να φτάσει σε σημείο βρασμού. Στη συνέχεια, η θερμοκρασία μειώνεται και το μείγμα αναδεύεται, προσθέτοντας ζάχαρη μέχρι να διαλυθεί. Ακολούθως, προστίθεται το καλαμποκάλευρο αφού προηγουμένως κοσκινιστεί, καθώς και η μαγιά και το άγαρ. Η θερμοκρασία αυξάνεται στο μέγιστο και το μείγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθούν όλα τα υλικά και να πήξει. Αφαιρείται από τη θερμαινόμενη πλάκα και συνεχίζει να αναδεύεται μέχρι να κρυώσει σημαντικά. Προστίθεται νιπαγίνη, η οποία έχει αντιμυκητιασική δράση, διαλυμένη σε αιθανόλη και το μείγμα αναδεύεται ξανά. Το μείγμα τοποθετείται σε φιαλίδια, τα οποία αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες για να σταθεροποιηθεί το θρεπτικό υλικό, στο οποίο θα τοποθετηθούν ενήλικες μύγες.

Η νιπαγίνη προμηθεύτηκε από την εταιρεία Sigma (κωδικός προϊόντος: h3647-100G), η καθαρή αιθανόλη από την VWR CHEMICALS (κωδικός προϊόντος: 20821.330), ενώ τα υπόλοιπα συστατικά αγοράστηκαν από τοπικά καταστήματα.

2.5 Παρασκευή θρεπτικού υλικού υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη

Για την παρασκευή θρεπτικού υλικού υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη (HSD, High Sugar Diet), το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για τις συνθήκες του πειράματος, ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία

που περιγράφεται παραπάνω με την διαφορά πως αντί για 7,5g κρυσταλλικής ζάχαρης, χρησιμοποιούνται 30 g ανά 100 ml.

2.6 Πειραματικός σχεδιασμός

Αρχικά, απομονώνονται μύγες από την καλλιέργεια και σε φιαλίδια τοποθετούνται 10 θηλυκές και 5 αρσενικές *Drosophila melanogaster* για να αναπαραχθούν. Μετά από τρεις ημέρες, οι μύγες αφαιρούνται από τα φιαλίδια, τα οποία πλέον περιέχουν έμβρυα που θα εξελιχθούν σε νέες ενήλικες μύγες για την πειραματική διαδικασία. Αυτό γίνεται για να εξασφαλίσουμε πως οι μύγες βρίσκονται στο ίδιο στάδιο του κύκλου ζωής τους. Στη συνέχεια, μετά από εννέα ημέρες, όπου οι μύγες έχουν ενηλικιωθεί, παρασκευάζονται νέα φιαλίδια HSD και τοποθετούνται οι ενήλικες μύγες, χωρισμένες σε αρσενικές και θηλυκές. Ο χωρισμός με βάση το φύλο γίνεται με την αναισθητοποίηση των μυγών για 30 λεπτά στον πάγο και την χρήση ειδικού σωλήνα αναρρόφησης. Οι πειραματικές διαδικασίες που σχεδιάστηκαν παρατηρήθηκαν σε μύγες που ακολουθούσαν την δίαιτα υψηλή σε γλυκόζη σε 7 μέρες, 14 μέρες και 21 μέρες.

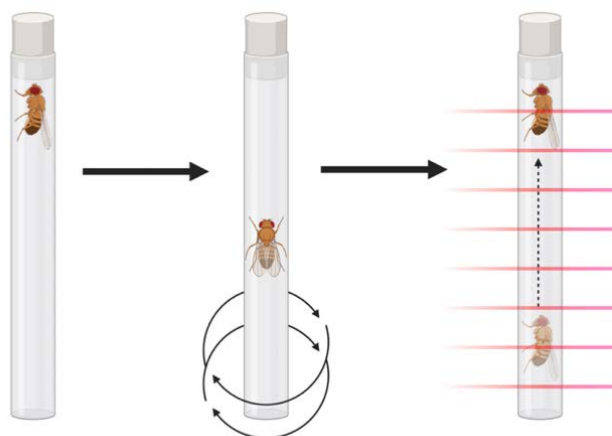
Η κινητικότητα των μυγών μελετήθηκε μέσω της δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης, όπου οι αρσενικές *D. melanogaster* και οι θηλυκές χωρίστηκαν σε ομάδες των 10. Στη συνέχεια, οι ίδιες μύγες χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του μεταβολικού τους ρυθμού, αυτή την φορά σε ομάδες των 6. Τέλος, θανατώνονται και γίνεται μέτρηση του βάρους τους.

Μια ιδιαίτερη δοκιμασία είναι αυτή της αντοχής ψύχους (Chill Coma Recovery), όπου μύγες χωρισμένες πάλι ανά φύλο σε δεκάδες, τοποθετούνται για 4 ώρες σε πάγο για να χάσουν τις αισθήσεις τους και έπειτα καταγράφουμε τον αριθμό των μυγών που συνέρχονται κάθε 2 λεπτά.

2.7 Δοκιμασία αρνητικής γεώταξης

Η αρχή της μεθόδου είναι να τοποθετείται ένας γνωστός αριθμός μυγών (10 σε αυτή την περίπτωση) σε ένα φιαλίδιο, το οποίο θα χτυπηθεί ελαφρά σε μια σκληρή επιφάνεια, με αποτέλεσμα οι μύγες να πέσουν στον πυθμένα του. Οι μύγες έχουν την έμφυτη συμπεριφορά να κινούνται αντίθετα της βαρύτητας και προς το φως, συνεπώς θα προσπαθήσουν να ανέβουν στην κορυφή του φιαλιδίου [66]. Αυτή η δοκιμασία είναι ποσοτική και μετράει πόσες μύγες έχουν αναρριχηθεί πέρα από έναν δείκτη στο φιαλίδιο κατά τη διάρκεια μιας καθορισμένης χρονικής περιόδου, δηλαδή πόσες *D. melanogaster* κατάφεραν να αναρριχηθούν στα 10 cm σε 10 δευτερόλεπτα. Έτσι, με βιντεοσκόπηση και καταγραφή μπορεί να συγκριθεί η κινητικότητα των πειραματόζων σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες με έναν σχετικά απλό, γρήγορο και αποτελεσματικό τρόπο.

Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνεται η σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου:



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης στην *D.melanogaster* [67]

Για τη δοκιμασία αρνητικής γεώταξης, συλλέχθηκαν αρσενικές και θηλυκές μύγες που αναπτύχθηκαν υπό τις πειραματικές συνθήκες HSD για 7, 14 και 21 ημέρες. Οι μύγες χωρίστηκαν σε ομάδες των έξι και ακολούθησε η παρακάτω διαδικασία:

1. Οι *D. melanogaster* αναισθητοποιήθηκαν σε πάγο για 30 λεπτά.
2. Τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με ύψος βαθμονομημένο στα 10 cm.
3. Επώαση για 15 λεπτά, ώστε να ξυπνήσουν και να σταθεροποιηθεί το σύστημα κίνησής τους.
4. Έγινε ένα ελαφρύ χτύπημα για να πέσουν στον πυθμένα των φιαλιδίων.
5. Βιντεοσκοπήθηκαν για 10 δευτερόλεπτα.
6. Υπολογίστηκε το ποσοστό των *D. melanogaster* που κατάφεραν να αναρριχηθούν στα 10 cm μέσα σε 10 δευτερόλεπτα.

2.8 Δοκιμασία μεταβολικού ρυθμού

Ο κύκλος του Krebs παράγει ATP μέσω της οξείδωσης οξικού οξέος από υδατάνθρακες, λίπη και πρωτεΐνες, παράγοντας CO_2 . Στη *Drosophila*, η κατανάλωση O_2 συσχετίζεται άμεσα με την παραγωγή CO_2 , αντανakλώντας τη μεταβολική δραστηριότητα. Το O_2 που χρησιμοποιείται στο μεταβολισμό μετατρέπεται σε CO_2 , το οποίο αποβάλλεται ως αναπνευστικό απόβλητο.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε αξιοποιεί αυτοσχέδια αναπνοόμετρα για τη μέτρηση του ρυθμού κατανάλωσης O_2 . [68]

Οι μύγες τοποθετούνται σε μια γυάλινη μικροπιπέτα με μια ουσία που απορροφά CO_2 , τα Soda Lime pellets. Οι γυάλινες μικροπιπέτες είναι τοποθετημένες σε σειρά σε ένα αεροστεγές δοχείο που στην βάση του έχει νερό βαμμένο με χρωστική. Καθώς οι μικροπιπέτες τοποθετούνται μέσα στον θάλαμο,

ασκείται πίεση στην επιφάνεια του νερού λόγω της παρουσίας της μικροπιπέτας και των αερίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της στάθμης του νερού σε ένα συγκεκριμένο σημείο. Κατά τη διάρκεια 2 ωρών, οι μύγες συνεχίζουν να καταναλώνουν O₂, ενώ το Soda Lime απορροφά το παραγόμενο CO₂. Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε μείωση της πίεσης στην επιφάνεια του νερού και παρατηρείται αύξηση στη στάθμη του.

Από τις φωτογραφίες του συστήματος στην αρχική κατάσταση και μετά από 2 ώρες, φαίνεται η διαφορά στη στάθμη του νερού. Από τη διαφορά της στάθμης του νερού μπορεί να υπολογιστεί το παραγόμενο CO₂ (μl/hr/fly) ανά μικροπιπέτα. Ο υπολογισμός αυτός πραγματοποιείται μέσω του μαθηματικού τύπου:

Εξίσωση (1)

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

Όπου:

R= ακτίνα μικροπιπέτας σε cm

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

Δc= διαφορά στάθμης νερού μικροπιπέτας χωρίς *D.melanogaster*—Control

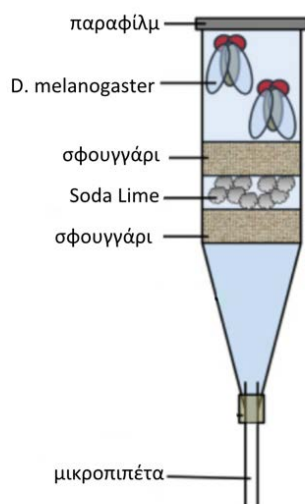
n= αριθμός *D. melanogaster* κάθε μικροπιπέτας

h= ώρες

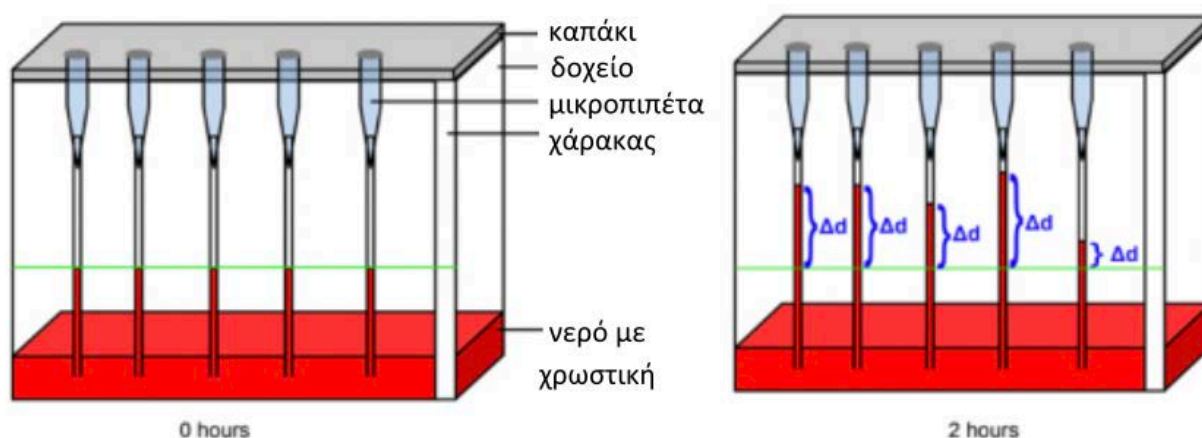
Η πειραματική διαδικασία περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω:

1. Οι *D.melanogaster* τοποθετούνται σε κενά φιαλίδια σε δοχείο με πάγο για 30 λεπτά για αναισθητοποίηση.
2. Στον αεροστεγώς κλειστό θάλαμο προστίθεται νερό (1200 ml) και χρωστική (2 ml) για να είναι ορατή η στάθμη νερού στις μικροπιπέτες.
3. Σε κάθε μικροπιπέτα, με εξαίρεση το control, τοποθετείται με την εξής σειρά: ένα κομμάτι σφουγγάρι, δύο Soda Lime pellets, δεύτερο κομμάτι σφουγγάρι 6 μύγες και στο τέλος σφραγίζονται με παραφίλμ. Στην control μικροπιπέτα δεν συμπεριλαμβάνονται μύγες.
4. Οι μικροπιπέτες αφήνονται για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, έως ότου οι μύγες επανέλθουν από την αναισθησία.
5. Στη συνέχεια, τοποθετούνται στο αεροστεγές δοχείο και αφήνονται για 15 λεπτά μέχρι να σταθεροποιηθούν.
6. Λαμβάνονται φωτογραφίες πριν και μετά από 2 ώρες για να καταγραφεί η αλλαγή στη στάθμη του νερού σε κάθε μικροπιπέτα.

7. Χρησιμοποιώντας το λογισμικό ImageJ, αναλύονται οι εικόνες για να υπολογιστεί η διαφορά στη στάθμη του νερού σε κάθε μικροπιπέτα.
8. Υπολογίζεται το παραγόμενο CO₂ για κάθε μικροπιπέτα, χρησιμοποιώντας την εξίσωση (1).



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση διάταξης εντός της μικροπιπέτας [68-τροποποιημένη].



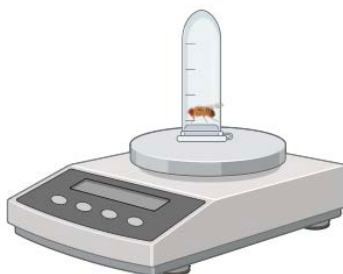
Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση αυτοσχέδιου αναπνοόμετρου [68-τροποποιημένη].

2.9 Μετρήσεις σωματικού βάρους

Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις βάρους των μυγών, είναι απαραίτητη η θανάτωσή τους. Για τον σκοπό αυτό τοποθετούμε μύγες σε άδεια φιαλίδια, χωρισμένα ανά φύλο, και τα αφήνουμε για μισή ώρα στην κατάψυξη.

Σε ζυγό ακριβείας θέτουμε την βαθμονόμηση σύμφωνα με ένα άδειο Eppendorf. Σε αυτό, τοποθετούνται κάθε φορά 10 *D. melanogaster* και σημειώνουμε το βάρος τους σε mg. Η διαδικασία

αυτή επαναλαμβάνεται αρκετές φορές τόσο για τις θηλυκές, όσο και για τις αρσενικές μύγες. Στο τέλος, υπολογίζεται ο μέσος όρος βάρους κάθε μύγας σε mg/ fly.



Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης μέτρησης βάρους (BioRender).

2.10 Δοκιμασία αντοχής ψύχους

Το ψυχρό κώμα είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται στη *Drosophila melanogaster* και σε άλλα εκτοθερμικά (ψυχρόαιμα) ζώα. Εμφανίζεται όταν οι οργανισμοί αυτοί εκτίθενται απότομα σε χαμηλές θερμοκρασίες, με αποτέλεσμα να ακινητοποιούνται και να εισέρχονται σε κατάσταση παράλυσης. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται κυρίως στη διαταραχή της ομοιόστασης των ιόντων, ιδίως της ισορροπίας των ιόντων νατρίου και καλίου, στις κυτταρικές μεμβράνες, η οποία επηρεάζει τη λειτουργία των νεύρων και των μυών. Η ανάκαμψη από το ψυχρό κώμα είναι δυνατή όταν αυξάνονται οι θερμοκρασίες, καθώς οι μύγες αποκαθιστούν σταδιακά την ισορροπία ιόντων και τις μεταβολικές τους δραστηριότητες [69, 70, 71].

Για την δοκιμασία αντοχής ψύχους, οι μύγες διαχωρίστηκαν με βάση το φύλο και μεταφέρθηκαν σε άδεια φιαλίδια, τα οποία τοποθετήθηκαν στον πάγο. Μετά από χρονικό διάστημα τεσσάρων ωρών, οι μύγες αφαιρέθηκαν από τον πάγο και μεταφέρθηκαν σε χαρτί πάνω στον εργαστηριακό πάγκο, σε θερμοκρασία δωματίου. Οι μύγες παρατηρούνταν για μία ώρα και κάθε δύο λεπτά καταγράφονταν ο αριθμός των μυγών που κατάφεραν να ανακτήσουν τις αισθήσεις τους. Οι μύγες που ξυπνούσανε, απομακρύνονταν με ειδικό σωλήνα αναρρόφησης.

2.11 Στατιστική ανάλυση των μεθόδων

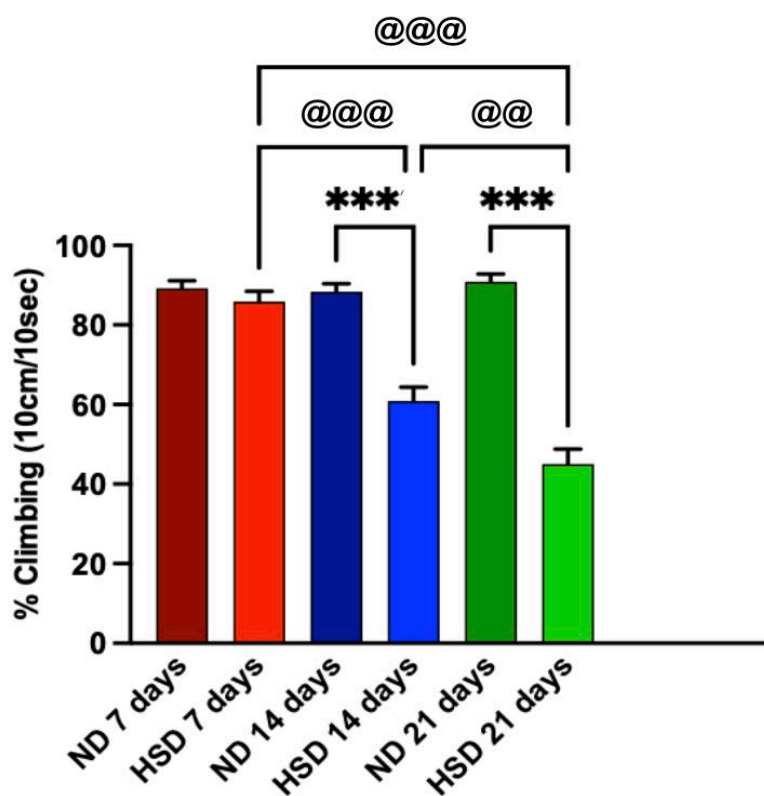
Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων από τις δοκιμές αρνητικής γεώταξης, μεταβολικού ρυθμού και αντοχής στο ψύχος πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό Graph Pad Prism v.10.2.3. Συγκεκριμένα, τα δεδομένα από τις δοκιμές αρνητικής γεώταξης και μεταβολικού ρυθμού

υποβλήθηκαν σε έλεγχο κανονικότητας μέσω του τεστ D'Agostino & Pearson. Ανάλογα με τα αποτελέσματα, χρησιμοποιήθηκαν είτε παραμετρικά τεστ One Way ANOVA είτε μη παραμετρικά τεστ Kruskal-Wallis. Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα του μέσου όρου (mean $\pm$ SEM) και θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά όταν η τιμή $p < 0,05$. Για τα πειραματικά δεδομένα από τη δοκιμή αντοχής στο ψύχος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση επιβίωσης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Kaplan-Meier για τον υπολογισμό των καμπυλών για κάθε πειραματική συνθήκη.

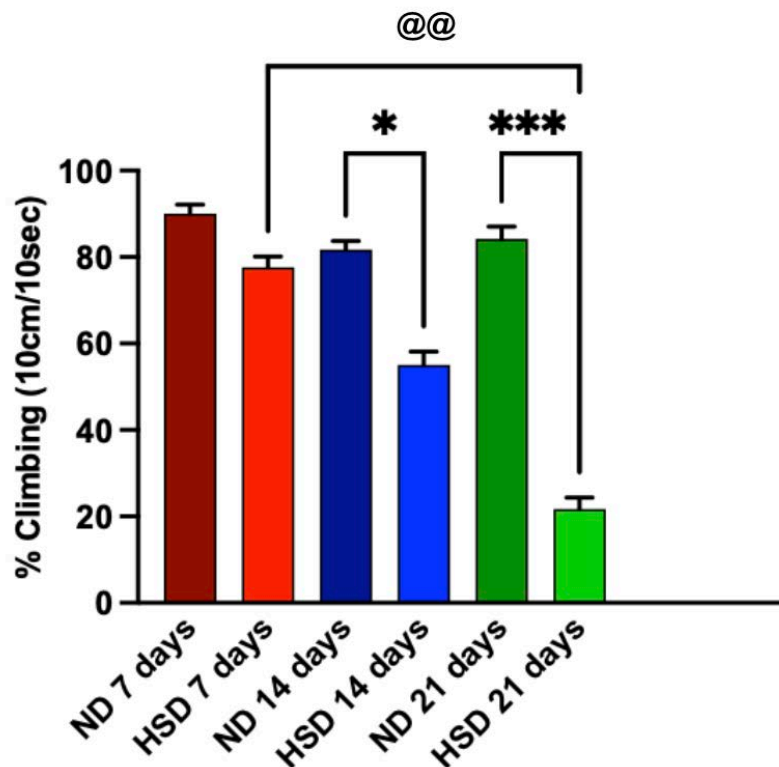
3. Αποτελέσματα

3.1 Αποτελέσματα δοκιμασίας αρνητικής γεώταξης

Μελετήθηκε η επίδραση της δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη στην κινητικότητα των αρσενικών και θηλυκών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων παρουσιάζονται στα **Διαγράμματα 1 και 2**, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 1. Αρνητική γεώταξη. % Ποσοστό αναρρίχησης αρσενικών *D. melanogaster* στα 10 cm μέσα σε χρονικό διάστημα 10 δευτερολέπτων (sec), για κάθε πειραματική συνθήκη. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean $\pm$ SEM. *** $p < 0.001$ και @@ $p < 0.01$, @@@ $p < 0.001$.



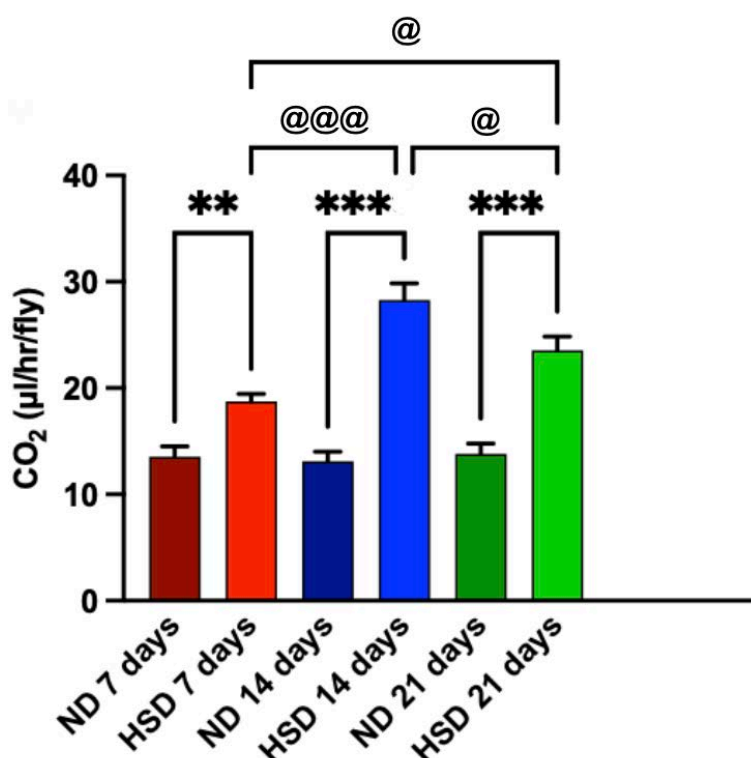
Διάγραμμα 2. Αρνητική γεύταξη. % Ποσοστό αναρρίχησης θηλυκών *D. melanogaster* στα 10 cm μέσα σε χρονικό διάστημα 10 δευτερολέπτων (sec), για κάθε πειραματική συνθήκη. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean $\pm$ SEM. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ και @@ $p < 0.01$.

Στο **Διάγραμμα 1** απεικονίζεται η κινητική δραστηριότητα των αρσενικών μυγών υπό δύο διαφορετικές διατροφικές συνθήκες, ND (Normal Diet) και HSD (High Sugar Diet) σε διάφορες χρονικές περιόδους (7, 14, και 21 ημέρες). Τα αποτελέσματα δείχνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην κινητικότητα μεταξύ των ND και HSD, όσο και μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, μετά από 14 ημέρες οι HSD μύγες εμφανίζουν μειωμένη κινητικότητα, δηλαδή μειωμένο ποσοστό μυγών που κατάφεραν να αναρριχθούν 10 cm σε 10 δευτερόλεπτα, σε σχέση με τις ND (ND 14 days: 88.33 ± 2.07 , HSD 14 days: 60.83 ± 3.58 , $p < 0.001$). Αντίστοιχα, στις 21 ημέρες οι HSD μύγες πάλι εμφανίζουν μειωμένη κινητικότητα σε σχέση με τις ND (ND 21 days: 90.83 ± 1.93 , HSD 21 days: 45.00 ± 3.79 , $p < 0.001$). Επιπλέον, ενδιαφέρον έχει η σύγκριση των HSD μεταξύ τους. Σημαντική διαφορά φάνηκε να εμφανίζουν οι *D. Melanogaster* 7 ημερών με αυτές των 14 ημερών (HSD 7 days: 85.83 ± 2.59 , HSD 14 days: 60.83 ± 3.58 , $p < 0.001$), οι 14 ημερών με αυτές των 21 ημερών (HSD 14 days: 60.83 ± 3.58 , HSD 21 days: 45.00 ± 3.79 , $p = 0.0018$) και τέλος, οι μύγες των 7 ημερών σε σχέση με αυτές των 21 ημερών (HSD 7 days: 85.83 ± 2.59 , HSD 21 days: 45.00 ± 3.79 , $p < 0.001$).

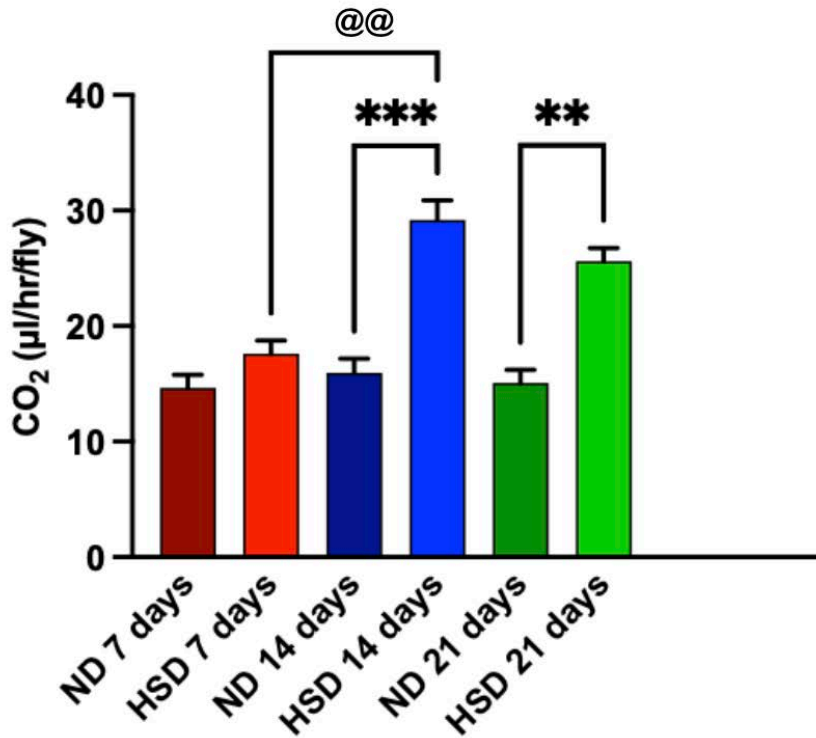
Στο **Διάγραμμα 2** παρουσιάζεται η κινητική δραστηριότητα των θηλυκών μυγών υπό τις ίδιες διατροφικές συνθήκες και στις ίδιες χρονικές περιόδους με τις αρσενικές μύγες. Και εδώ, παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην κινητικότητα μεταξύ των ND και HSD μετά από 14 και 21 ημέρες. Στις 14 ημέρες οι HSD θηλυκές μύγες δείχνουν μειωμένη κινητικότητα σε σχέση με αυτές που ακολουθούν την τυπική διατροφή (ND 14 days: 81.67 ± 2.07 , HSD 14 days: 55.00 ± 3.13 , $p = 0,0261$). Στις 21 ημέρες οι HSD μύγες είχαν μειωμένο ποσοστό μυγών που κατάφεραν να αναρριχηθούν σε σχέση με τις ND (ND 21 days: 86.17 ± 2.87 , HSD 21 days: 21.67 ± 2.70 , $p < 0.001$). Σε αυτή την περίπτωση, οι *D. melanogaster* που ακολουθούσαν HSD διατροφή και εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική διαφορά ήταν αυτές των 7 και 21 ημερών, όπου οι τελευταίες ήταν εμφανώς πιο αργές (HSD 7 days: 90.00 ± 2.13 , HSD 21 days: 21.67 ± 2.70 , $p = 0.0013$).

3.2 Αποτελέσματα δοκιμασίας μεταβολικού ρυθμού

Μελετήθηκε η επίδραση της δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας στην γλυκόζη στον μεταβολισμό των αρσενικών και θηλυκών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων παρουσιάζονται στα **Διαγράμματα 3 και 4**, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 3. Μεταβολικός ρυθμός. Παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) αρσενικών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean $\pm$ SEM. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ και @ $p < 0.05$, @@@ $p < 0.001$.



Διάγραμμα 4. Μεταβολικός ρυθμός. Παραγωγή CO₂ (μl/hr/fly) θηλυκών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean ± SEM. ** p < 0.01, *** p < 0.001 και @@ p < 0.01.

Το **Διάγραμμα 3** παρουσιάζει την παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα (μl/hr/fly) σε αρσενικές *D. melanogaster*, υπό δύο διαφορετικές διατροφικές συνθήκες: ND (Normal Diet) και HSD (High Sugar Diet), σε τρεις χρονικές περιόδους (7, 14, και 21 ημέρες). Αρχικά, συγκρίνοντας τις ND και HSD μύγες στις 7, 14 και 21 ημέρες, παρατηρούμε ότι η παραγωγή CO₂ στις ND μύγες είναι χαμηλότερη από τις HSD μύγες σε όλες τις περιπτώσεις. Δηλαδή, έχουμε:

- ND 7 days: 13.54 ± 0.96, HSD 7 days: 18.77 ± 0.67, p= 0.0075
- ND 14 days: 13.13 ± 0.87, HSD 14 days: 28.29 ± 1.56, p< 0.001
- ND 21 days: 13.83 ± 0.95, HSD 21 days: 23.56 ± 1.28, p< 0.001

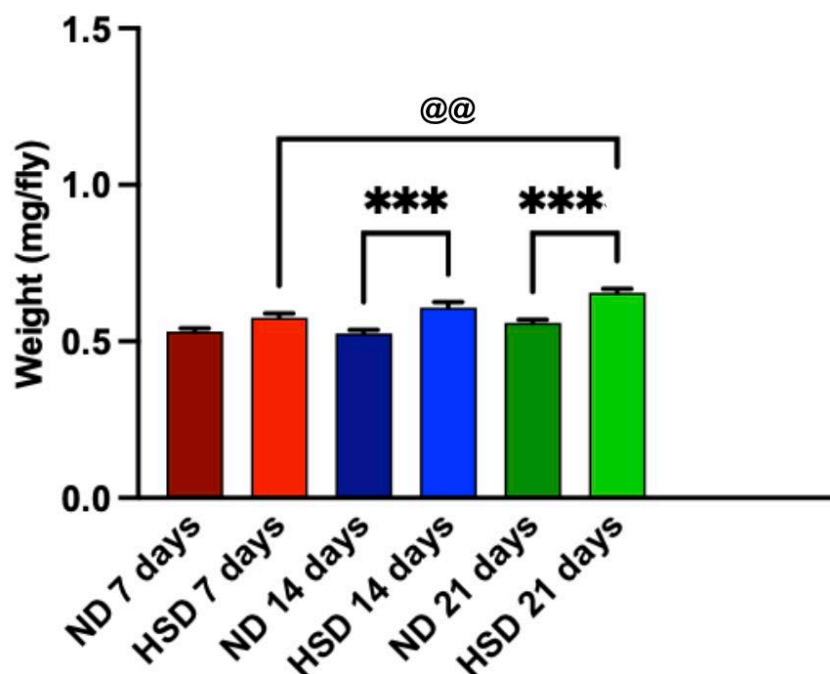
Επιπλέον, σημαντική διαφορά εμφανίζουν και οι μύγες που ακολουθούσαν διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη μεταξύ τους. Τόσο αυτές που έτρωγαν την ειδική δίαιτα για 14 μέρες, όσο και αυτές που την ακολουθούσαν για 21 μέρες παρήγαγαν σημαντικά περισσότερο CO₂ συγκριτικά με αυτές των 7 ημερών (HSD 7 days: 18.77 ± 0.67, HSD 14 days: 28.29 ± 1.56, p< 0.001) (HSD 7 days: 18.77 ± 0.67, HSD 21 days: 23.56 ± 1.28, p= 0.0307).

Στο **Διάγραμμα 4**, που παρουσιάζει τον μεταβολικό ρυθμό των θηλυκών μυγών, οι μετρήσεις γίνονται επίσης σε 7, 14, και 21 ημέρες για τις συνθήκες ND και HSD. Σε αντίθεση με τα αρσενικά, οι

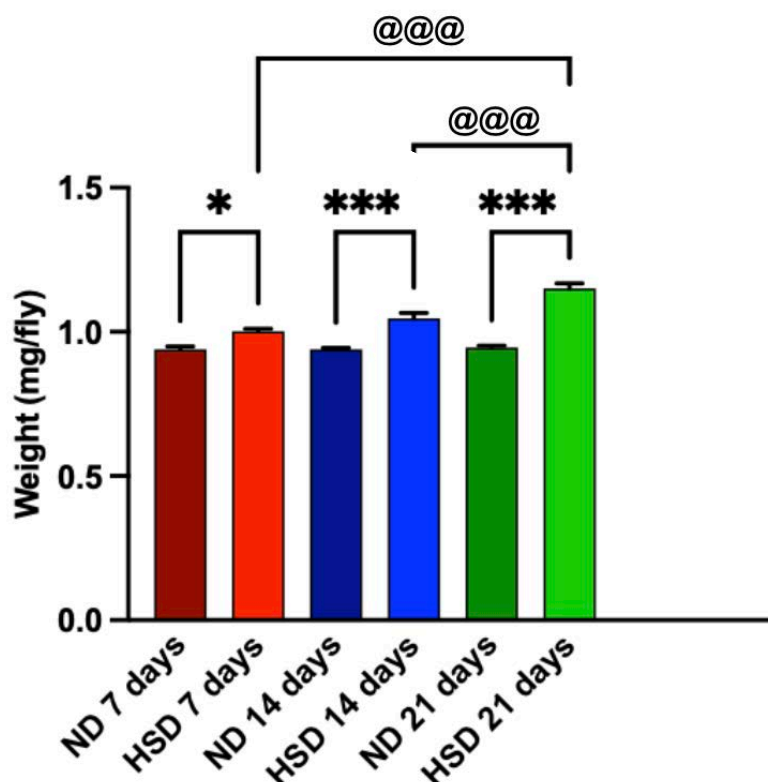
ND και HSD μύγες εμφανίζουν σημαντική διαφορά στις 14 και 21 ημέρες μόνο. Και στις δύο περιπτώσεις οι *D. melanogaster* που ακολουθούσαν HSD δίαιτα είχαν υψηλότερο μεταβολικό ρυθμό (ND 14 days: 15.95 ± 1.24 , HSD 14 days: 29.17 ± 1.69 , $p = 0.0004$) (ND 21 days: 15.08 ± 1.14 , HSD 21 days: 25.63 ± 1.10 , $p = 0.0019$). Στατιστικώς σημαντική διαφορά εμφανίζεται, επίσης, μεταξύ HSD 7 ημερών και 14 ημερών, όπου το τελευταίο έχει μεγαλύτερη παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα (HSD 7 days: 17.61 ± 1.12 , HSD 14 days: 29.17 ± 1.69 , $p = 0.0060$).

3.3 Αποτελέσματα μετρήσεων σωματικού βάρους

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του σωματικού βάρους αρσενικών και θηλυκών *Drosophila melanogaster* παρουσιάζονται στα **Διαγράμματα 5 και 6**, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 5. Σωματικό βάρος. Μέτρηση βάρους (mg/fly) αρσενικών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean $\pm$ SEM. *** $p < 0.001$ και @@ $p < 0.01$.



Διάγραμμα 6. Σωματικό βάρος. Μέτρηση βάρους (mg/fly) θηλυκών *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean $\pm$ SEM. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ και @@@ $p < 0.001$.

Το **Διάγραμμα 5** παρουσιάζει τις μετρήσεις του σωματικού βάρους σε αρσενικές *D. melanogaster*, υπό δύο διαφορετικές διατροφικές συνθήκες: ND (Normal Diet) και HSD (High Sugar Diet), σε τρεις χρονικές περιόδους (7, 14, και 21 ημέρες). Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι το σωματικό βάρος των αρσενικών μυγών που ακολουθούν ND για 14 ημέρες είναι χαμηλότερο σε σχέση με το βάρος των μυγών που ακολουθούν HSD για 14 ημέρες (ND 14 days: 0.52 ± 0.01 , HSD 14 days: 0.60 ± 0.01 , $p = 0.0009$). Παρομοίως, στις 21 ημέρες, το βάρος των μυγών ND είναι μικρότερο από το βάρος των μυγών με HSD (ND 21 days: 0.56 ± 0.01 , HSD 21 days: 0.065 ± 0.01 , $p < 0.001$). Στατιστικώς σημαντική διαφορά εμφανίζει, επίσης, η σύγκριση HSD 7 ημερών με αυτή των 21 ημερών (HSD 7 days: 0.57 ± 0.01 , HSD 21 days: 0.065 ± 0.01 , $p = 0.0014$).

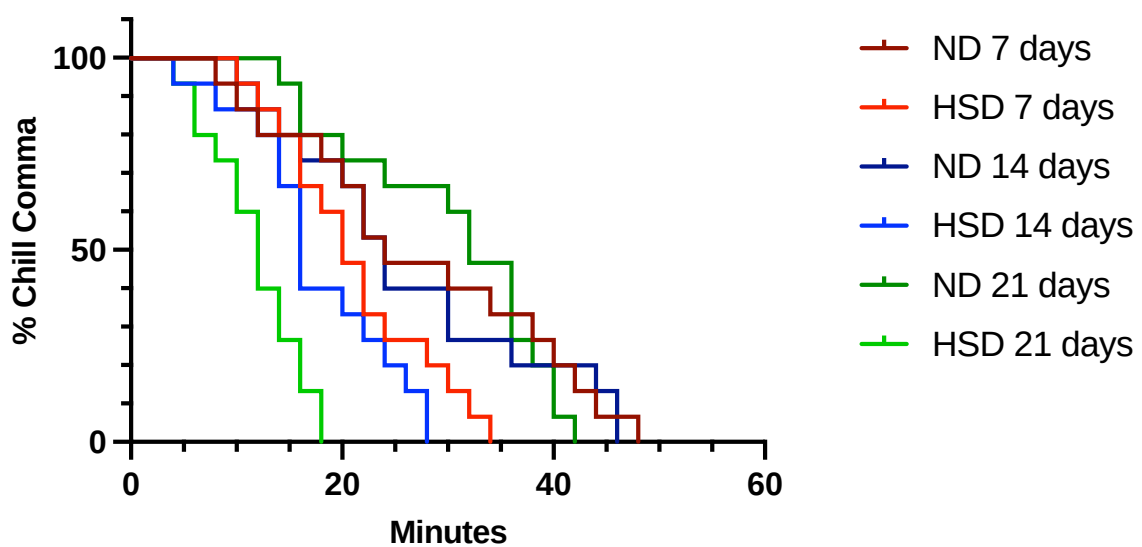
Το **Διάγραμμα 6** παρουσιάζει τις μετρήσεις του σωματικού βάρους σε θηλυκές *D. melanogaster*, στις συνθήκες που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Σε όλες τις χρονικές περιόδους, οι στήλες των HSD είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες στήλες των ND. Δηλαδή, έχουμε:

- ND 7 days: 0.94 ± 0.008 , HSD 7 days: 1.00 ± 0.009 , $p = 0.0177$
- ND 14 days: 0.93 ± 0.005 , HSD 14 days: 1.04 ± 0.01 , $p < 0.001$
- ND 21 days: 0.94 ± 0.007 , HSD 21 days: 1.15 ± 0.01 , $p < 0.001$

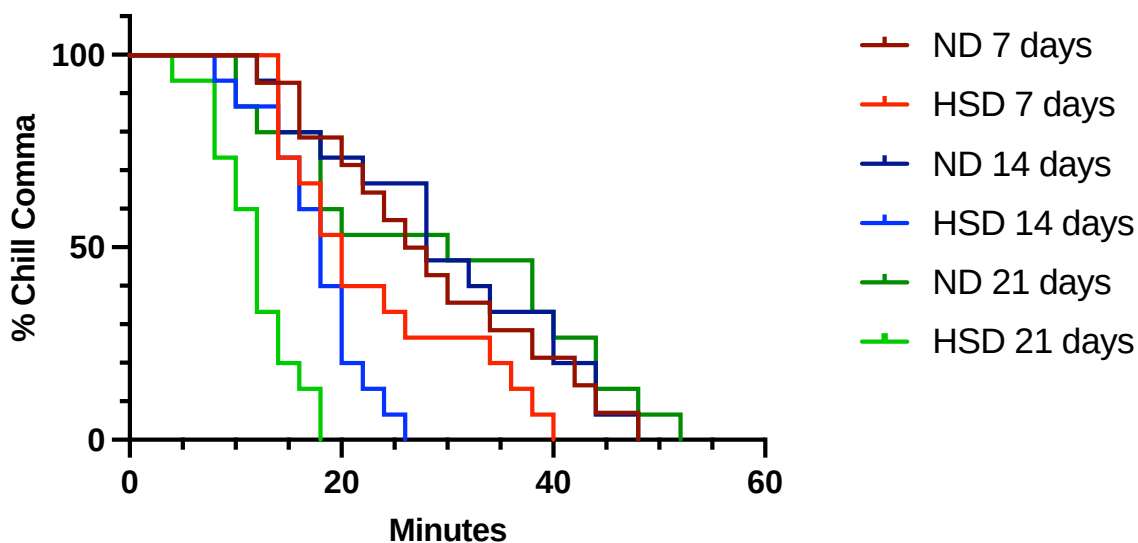
Αξίζει να σημειωθεί πως οι μύγες που τρέφονταν αποκλειστικά με HSD διατροφή για 21 ημέρες είναι σημαντικά βαρύτερες από αυτές που την ακολουθούσαν για 7 ή 14 μέρες (HSD 21 days: 1.15 ± 0.01 , HSD 7 days: 1.00, $p < 0.001$) (HSD 21 days: 1.15 ± 0.01 , HSD 14 days: 1.04 ± 0.01 , $p < 0.001$).

3.4 Αποτελέσματα δοκιμασίας αντοχής ψύχους

Μετά από τοποθέτηση των *Drosophila melanogaster* στον πάγο για 4 ώρες με σκοπό τη διερεύνηση των επιπτώσεων της διαίτας υψηλής σε γλυκόζη στην ικανότητα των μυγών να ανακτήσουν τις αισθήσεις τους, προέκυψαν τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στα **Διαγράμματα 7 και 8**.



Διάγραμμα 7. Δοκιμασία αντοχής ψύχους. % Ποσοστό του αριθμού των αρσενικών *Drosophila melanogaster* που κατάφεραν να ξυπνήσουν εντός 60 λεπτών, μετά από την παραμονή τους σε πάγο για 4 ώρες.



Διάγραμμα 8. Δοκιμασία αντοχής ψύχους. % Ποσοστό του αριθμού των θηλυκών *Drosophila melanogaster* που κατάφεραν να ξυπνήσουν εντός 60 λεπτών, μετά από την παραμονή τους σε πάγο για 4 ώρες.

Η ανάλυση επιβίωσης των αρσενικών *Drosophila melanogaster* φαίνεται στο **Διάγραμμα 7**. Το 100% δείχνει την πλήρη απώλεια των αισθήσεων όλων των μυγών που συμμετέχουν στο πείραμα, ενώ όσο περνάει ο χρόνος οι μύγες συνέρχονται. Ξεκινώντας με την σύγκριση ND και HSD μυγών 7 ημερών, διακρίνουμε ότι το ποσοστό των μυγών που καταφέρνουν να ξυπνήσουν εντός 60 λεπτών είναι υψηλότερο στη διατροφή υψηλής γλυκόζης σε σχέση με την κανονική διατροφή ($p=0.040$). Η διαφορά συνεχίζεται με τις μύγες των 14 ημερών στην HSD διατροφή να ξυπνούν σημαντικά πιο γρήγορα σε σχέση με εκείνες στη τυπική διατροφή ($p=0.017$). Το μοτίβο παραμένει ίδιο στις 21 μέρες, με τις μύγες στην HSD διατροφή να έχουν ταχύτερη ανάκαμψη από την κατάσταση ψύχους σε σχέση με τις μύγες στη ND τροφή ($p<0.001$). Οι μύγες που τρέφονται με υψηλή γλυκόζη (HSD) φαίνεται να παρουσιάζουν καλύτερη απόκριση στην περιβαλλοντική πίεση ψύχους, καθώς ανακτούν πιο γρήγορα τις αισθήσεις τους. Προχωρώντας από την 7η στην 14η και στην 21η ημέρα, το ποσοστό των μυγών που ξυπνούν σε λιγότερο χρονικό διάστημα αυξάνεται.

Όσον αφορά τις θηλυκές μύγες, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 8** και ομοιάζουν πολύ με αυτά των αρσενικών. Οι θηλυκές μύγες των 7 ημερών που τρέφονται με υψηλή γλυκόζη δείχνουν μια καλύτερη απόκριση στη δοκιμασία αντοχής ψύχους συγκριτικά με εκείνες που τρέφονται με κανονική διατροφή, αλλά όχι στατιστικώς σημαντική ($p=0.112$). Οι θηλυκές μύγες των 14 ημερών στη διατροφή υψηλής γλυκόζης ξυπνούν σημαντικά πιο γρήγορα από εκείνες στην

κανονική διατροφή ($p < 0.001$). Στην 21η ημέρα, η τάση συνεχίζεται, οι HSD μύγες ανακτούν τις αισθήσεις τους πιο γρήγορα σε σχέση με τις ND ($p < 0.001$). Τέλος, όπως και στα αρσενικά, όσο περισσότερο καιρό οι μύγες τρέφονται με HSD, τόσο πιο γρήγορη ανάκαμψη έχουν.

4. Συζήτηση

Η αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες της σύγχρονης κοινωνίας, με την αυξημένη κατανάλωση ζάχαρης και την έλλειψη άσκησης, έχει οδηγήσει σε σημαντικές μεταβολικές διαταραχές. Οι συνέπειες αυτών των αλλαγών έχουν άμεσο αντίκτυπο στην υγεία, με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔΤ2) να εμφανίζονται ολοένα και πιο συχνά. Ο ΣΔΤ2 είναι μια χρόνια μεταβολική νόσος που χαρακτηρίζεται από την ανικανότητα του σώματος να ρυθμίσει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα λόγω της αναλογικά μειωμένης έκκρισης ινσουλίνης από τα β κύτταρα του παγκρέατος και την αδυναμία των ινσουλινοευαίσθητων ιστών να ανταποκριθούν στην ινσουλίνη.

Η *Drosophila melanogaster*, κοινώς γνωστή ως μύγα των φρούτων, χρησιμοποιείται ευρέως ως πειραματικό μοντέλο για τη μελέτη του ΣΔΤ2 λόγω των σημαντικών βιολογικών ομοιοτήτων της με τον άνθρωπο. Η παρούσα πτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στην εξέταση των επιπτώσεων μιας διατροφής υψηλής σε γλυκόζη στη *Drosophila melanogaster*, επιδιώκοντας να αναπαράγει ένα μοντέλο που προσομοιάζει τον ΣΔΤ2 στον άνθρωπο.

Σε αυτή την εργασία, χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος Oregon-R-C της *Drosophila melanogaster*, που διατηρήθηκε σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25°C) και υγρασίας (50-60%). Οι μύγες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: μία με κανονική διατροφή (ND) και μία με διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη (HSD). Οι πειραματικές διαδικασίες περιλάμβαναν δοκιμές αρνητικής γεώταξης για την εκτίμηση της κινητικότητας, μετρήσεις του μεταβολικού ρυθμού μέσω της παραγωγής CO₂, παρακολούθηση του σωματικού βάρους και δοκιμές αντοχής στο ψύχος. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε τρεις χρονικές περιόδους: 7, 14 και 21 ημέρες μετά την έκθεση των μυγών στις ειδικές διατροφές.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι μύγες που ακολούθησαν διατροφή υψηλής σε γλυκόζη παρουσίασαν σημαντικές αλλαγές στις βιολογικές τους παραμέτρους σε σύγκριση με εκείνες που ακολούθησαν κανονική διατροφή.

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του λογισμικού Graph Pad Prism 10.2.3, το οποίο επέτρεψε την ακριβή καταγραφή και επεξεργασία των δεδομένων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η διατροφή υψηλής σε γλυκόζη μπορεί να προκαλέσει σημαντικές μεταβολικές αλλαγές, παραλληλίζοντας τις επιπτώσεις που παρατηρούνται στους ανθρώπους που καταναλώνουν παρόμοιες δίαιτες.

Για την μελέτη της κινητικότητας των *D. melanogaster* πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες αρνητικής γεώταξης, όπου καταγράφηκε το % ποσοστό αναρρίχησης τους στο φιαλίδιο σε 10 εκατοστά εντός 10 δευτερολέπτων. Συγκεκριμένα, οι μύγες στην ομάδα HSD παρουσίασαν σημαντικά μειωμένη κινητικότητα σε όλες τις πειραματικές συνθήκες, και στα δύο φύλα. Αξίζει να σημειωθεί πως με την πάροδο των ημερών (7, 14, 21 ημέρες) οι επιπτώσεις της διατροφής στην κινητικότητα των μυγών ήταν ολοένα και πιο εμφανής. Άρα, η ανάπτυξη των μυγών σε υπόστρωμα υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη μείωσε την ταχύτητα αναρρίχησης. Η παρατήρηση αυτή είναι σύμφωνη με την δημοσιευμένη βιβλιογραφία.

Μια μελέτη [72] που χρησιμοποίησε την *D. melanogaster* για την προσομοίωση του διαβήτη τύπου II και παχυσαρκίας, τοποθετούσε μύγες σε θρεπτικό υλικό πλούσιο σε σάκχαρα (HSD) ή λίπη (HFD). Στην περίπτωση των HSD μυγών, βρέθηκε πως η ικανότητα αναρρίχησης ήταν σημαντικά χαμηλότερη και στα δύο φύλα σε σύγκριση με τις μύγες σε δίαιτα ελέγχου (τυπική). Μια άλλη έρευνα [73], χρησιμοποίησε ως οργανισμό στα πειράματα που διεξήγαγε ένα άλλο είδος *Drosophila*, το *D. simulans*, το οποίο καλλιέργησε σε τυπική δίαιτα και σε δίαιτα υψηλή σε σάκχαρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη δραστηριότητα στις αρσενικές και θηλυκές μύγες, όμοια με τις παρατηρήσεις αυτής της μελέτης.

Η αξιολόγηση της ικανότητας αναρρίχησης έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τον προσδιορισμό των επιδράσεων των διαιτητικών θεραπειών στη φυσιολογία, τη φυσική κατάσταση και τη συμπεριφορά των μυγών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, αυτή η παράμετρος μειώθηκε. Στις μύγες μας, παρατηρήθηκε σαφής αρνητική επίδραση της HSD διαίτας στην ικανότητα αναρρίχησης, ενώ οι θηλυκές μύγες επηρεάστηκαν σημαντικά περισσότερο από τις αρσενικές. Αυτές οι διαφορές συμπεριφοράς μπορεί να οφείλονται στις διαφορές ανά φύλο στη δραστηριότητα των οκταπαμινεργικών νευρώνων, έναν από τους κύριους παράγοντες που ευθύνονται για τη δημιουργία διαφορετικών αποκρίσεων αντοχής στις μύγες [77].

Στη *Drosophila*, η κατανάλωση O_2 συσχετίζεται άμεσα με την παραγωγή CO_2 , αντανakλώντας τη μεταβολική δραστηριότητα. Υπολογίζοντας την παραγωγή CO_2 (μl/ώρα/μύγα), εκτιμήθηκε ο μεταβολικός ρυθμός των μυγών. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα αυτά συγκρίθηκαν μεταξύ τους για τις διάφορες πειραματικές συνθήκες. Η ανάλυση δείχνει ότι η HSD διατροφή αυξάνει σημαντικά τον μεταβολικό ρυθμό τόσο των αρσενικών, όσο των θηλυκών μυγών σε σχέση με τις μύγες που ακολουθούσαν την τυπική δίαιτα. Στα αρσενικά αυτή η αύξηση διατηρείται σε όλες τις χρονικές περιόδους, σε αντίθεση με τα θηλυκά που φαίνεται ότι οι HSD 14 ημερών μύγες είναι μεταβολικά πιο δραστήριες από αυτές των 21 ημερών.

Μια έρευνα [78] διαπίστωσε ότι μια δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη (HSD) επηρεάζει τις προνύμφες της *Drosophila* αυξάνοντας τα κυκλοφορούντα επίπεδα γλυκόζης και επηρεάζοντας την ανάπτυξη, τον μεταβολισμό και τις μεταγραφικές αποκρίσεις. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν αυξήσεις στα τριγλυκερίδια και μεταβολές σε βασικά μεταβολικά ένζυμα όπως η ακετυλο-CoA καρβοξυλάση (ACC). Τα αυξημένα επίπεδα του mRNA της ACC, ενός ενζύμου που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη σύνθεση λιπαρών οξέων, υποδεικνύουν την αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα λόγω της υπερβολικής πρόσληψης γλυκόζης. Αυτή η μεταγραφική ρύθμιση έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερου ενζύμου, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη σύνθεση λιπαρών οξέων, αποθηκεύοντας την περίσσεια ενέργειας ως λίπος. Τα πειράματα δεν διεξήχθησαν με τρόπο όμοιο με αυτά της παρούσας εργασίας, ωστόσο δικαιολογούν εν μέρει τις αυξήσεις του μεταβολικού ρυθμού που φαίνονται στα αποτελέσματα. Αντίθετα, οι Henry et. al [79] εξέτασαν την επίδραση πέντε διαφορετικών διαιτών στο μεταβολικό ρυθμό *Drosophila melanogaster* χρησιμοποιώντας την τεχνική αναπνευσιόμετρο διακοπτόμενης ροής (stop-flow respirometry). Τα ευρήματα έδειξαν ότι οι θερμιδικές διαφορές δεν επηρέαζαν σημαντικά την κατανάλωση οξυγόνου, αλλά οι διαφορές στην πρωτεϊνική σύσταση προκαλούσαν σημαντικές φαινοτυπικές αλλαγές.

Σκόπιμο ήταν να μετρήσουμε, επίσης, το σωματικό βάρος των *D. melanogaster* για να μελετήσουμε τις μεταβολές που αυτό υπέστη από την δίαιτα υψηλής γλυκόζης. Τα διαγράμματα και των δύο φύλων (**Διάγραμμα 5** και **6**) δείχνουν ότι μια διατροφή υψηλή σε σάκχαρα οδηγεί σε αύξηση του σωματικού βάρους στις *Drosophila melanogaster*, επιβεβαιώνοντας τη γενική υπόθεση ότι η διατροφική ποιότητα επηρεάζει τη σωματική σύνθεση. Οι αρσενικές μύγες με HSD έδειξαν υψηλότερο βάρος σε σύγκριση με τις μύγες που τρέφονταν με ND, με σημαντικές διαφορές στις 14 και 21 ημέρες. Ωστόσο, στις θηλυκές μύγες, η μεταβολή του βάρους ήταν ακόμα πιο εμφανής που και στις τρεις χρονικές περιόδους πειράματος (7, 14, 21 μέρες) εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική αύξηση βάρους σε σχέση με τις ND, όσο και μεταξύ τους.

Τα αποτελέσματα σχετικά με το βάρος των μυγών είναι αρκετά διφορούμενα. Μόνο λίγες δημοσιεύσεις έχουν καταδείξει αύξηση του βάρους σε μύγες που εκτέθηκαν σε δίαιτες παχυσαρκίας, όπως η HFD [74], ενώ άλλες ανέφεραν μείωση με HFD [75] και HSD [76]. Ένα άρθρο [72], που ακολούθησε παρόμοια μεθοδολογία, έλεγξε τα βάρη των HSD μυγών τις χρονικές περιόδους: 10, 20, 30 ημέρες. Τα βάρη τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών μυγών σε δίαιτα ελέγχου (τυπική) και σε HSD δεν διέφεραν σημαντικά στα διάφορα σημεία μέτρησης. Ακόμα, μια άλλη μελέτη [80] παρατήρησε ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις μονοσακχαριτών, όπως η φρουκτόζη και η γλυκόζη, μπορούν να μειώσουν το βάρος των προνυμφών. Συγκεκριμένα, οι προνύμφες που εκτράφηκαν σε δίαιτα με συγκέντρωση 1,7 M φρουκτόζης παρουσίασαν σημαντική μείωση του βάρους τους σε

σύγκριση με εκείνες που εκτράφηκαν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σακχάρων. Η μείωση αυτή ήταν πιο έντονη στις θηλυκές προνύμφες. Οι δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη μπορούν να διαταράξουν τις φυσιολογικές μεταβολικές διεργασίες. Για παράδειγμα, η σηματοδότηση της ινσουλίνης, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη και την εξέλιξη, μπορεί να διαταραχθεί από την υψηλή πρόσληψη ζάχαρης. Αυτή η διαταραχή μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης και μικρότερα μεγέθη σώματος, όπως παρατηρείται στις προνύμφες στην συγκεκριμένη περίπτωση.

Το ψυχρό κώμα στις *D. melanogaster* είναι μια κατάσταση ακινησίας που επέρχεται όταν οι μύγες ψύχονται σε χαμηλές θερμοκρασίες, αυτές μπορούν να ανακάμψουν όταν επανέλθει η ιοντική ισορροπία στον οργανισμό. Για ακόμη μια φορά, οι αρσενικές και θηλυκές μύγες που ακολουθούσαν HSD ανέκτησαν πιο γρήγορα τις αισθήσεις τους μετά από παραμονή στον πάγο συγκριτικά με τις control μύγες (ND). Όσο περισσότερο καιρό τρεφόντουσαν με υψηλή γλυκόζη, τόσο γρηγορότερη ανάκαμψη είχαν (21> 14> 7 ημέρες). Αντίθετα, όσο περισσότερο οι *D. melanogaster* ακολουθούσαν την τυπική δίαιτα δυσκολευόντουσαν να ξυπνήσουν.

Σε μια έρευνα [81], μετά από 25 ημέρες κατανάλωσης του μέσου με διαφορετική περιεκτικότητα σε σακχαρόζη, οι *D. melanogaster* εκτέθηκαν σε θερμικό και ψυχρό στρες. Το ψυχρό κώμα που προκλήθηκε πραγματοποιήθηκε με την τοποθέτηση ενός φιαλιδίου με 10 μύγες από κάθε ομάδα σε (0°C) για 1 λεπτό, όχι για 4 ώρες. Τα ευρήματά τους δείχνουν ότι οι δίαιτες που περιέχουν υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης φαίνεται να ενισχύουν την ανθεκτικότητα της *D. melanogaster* στο ψύχος, ενώ παράμετροι όπως το φύλο δεν επηρεάζουν αυτή τη σχέση. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά της παρούσας μελέτης. Στην συνέχεια, οι συγγραφείς πρότειναν πως το στρες που επάγεται από το ψυχρό κώμα ρυθμίζεται κυρίως από τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSP). Το συμπέρασμα αυτό σε συνδυασμό με το εύρημα μιας άλλης μελέτης [82], που διερευνούσε την επίδραση μιας δίαιτας υψηλής σε ζάχαρη σε αρουραίους, η οποία κατέληξε στην αυξημένη έκφραση των HSP μετά από στρεσογόνες καταστάσεις μπορεί να δώσει μια πιθανή εξήγηση για την συνάφεια μεταξύ αντοχής στο κρύο και διατροφικών συνηθειών στη *Drosophila melanogaster*.

Συνολικά, η έρευνα αυτή συμβάλλει στην κατανόηση των επιπτώσεων της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη και πώς αυτή μπορεί να επηρεάσει τη μεταβολική υγεία και την ανθεκτικότητα στο στρες. Η μελέτη των επιδράσεων μιας δίαιτας υψηλής σε γλυκόζη στην *Drosophila melanogaster* έχει αποκαλύψει ενδιαφέρουσες ομοιότητες με τα αντίστοιχα ανθρώπινα φαινόμενα, επισημαίνοντας την πολύτιμη χρήση αυτού του οργανισμού ως μοντέλο για την κατανόηση μεταβολικών ασθενειών, όπως ο διαβήτης τύπου II. Στις μύγες, η συγκεκριμένη διατροφή συσχετίζεται με μειωμένη κινητικότητα, αυξημένο μεταβολικό ρυθμό και αύξηση του σωματικού

βάρους, φαινόμενα παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται στους ανθρώπους που καταναλώνουν υπερβολικές ποσότητες γλυκόζης.

Η ομοιότητα μεταξύ του μοντέλου *Drosophila* και των ανθρώπινων μεταβολικών διαδικασιών προσφέρει έναν πολύτιμο ερευνητικό εργαλείο για την ανάπτυξη μεθόδων πρόληψης και αντιμετώπισης του διαβήτη τύπου II και άλλων σχετικών παθήσεων. Αυτή η προσέγγιση δίνει νέες προοπτικές για την κατανόηση των πολύπλοκων μοριακών, μεταβολικών μηχανισμών και ανοίγει το δρόμο για την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής των ατόμων που πάσχουν από τέτοιες διαταραχές.

5. Βιβλιογραφία

1. Clatici, V. G., Voicu, C., Voaides, C., Roseanu, A., Icriverzi, M., & Jurcoane, S. (2018). Diseases of Civilization - Cancer, Diabetes, Obesity and Acne - the Implication of Milk, IGF-1 and mTORC1. *Maedica*, 13(4), 273–281.
2. Shively, C. A., Appt, S. E., Vitolins, M. Z., Uberseder, B., Michalson, K. T., Silverstein-Metzler, M. G., & Register, T. C. (2019). Mediterranean versus Western Diet Effects on Caloric Intake, Obesity, Metabolism, and Hepatosteatosi s in Nonhuman Primates. *Obesity* (Silver Spring, Md.), 27(5), 777–784.
3. O'Keefe, J. H., Jr, & Cordain, L. (2004). Cardiovascular disease resulting from a diet and lifestyle at odds with our Paleolithic genome: how to become a 21st-century hunter-gatherer. *Mayo Clinic proceedings*, 79(1), 101–108.
4. Rendel, J. M. (1970). The time scale of genetic changes. In S. V. Boyden (Ed.), *The Impact of Civilization on the Biology of Man* (pp. 27–47). Canberra: Australian National University Press.
5. Kopp W. (2019). How Western Diet And Lifestyle Drive The Pandemic Of Obesity And Civilization Diseases. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 12, 2221–2236.
6. Rakhra V, Galappaththy SL, Bulchandani S, Cabandugama PK. Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Mo Med*. 2020;117(6):536–8.
7. Ong C, Yung LY, Cai Y, Bay BH, Baeg GH. *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*. 2015 May;9(3):396-403.
8. Pandey, U. B., & Nichols, C. D. (2011). Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2), 411–436.
9. Millington, J. W., & Rideout, E. J. (2018). Sex differences in *Drosophila* development and physiology. *Current Opinion in Physiology*, 6, 46–56.
10. Abolaji, A., Kamdem, J. P., Farombi, O., & Rocha, J. B. (2013). *Drosophila melanogaster* as a Promising Model Organism in Toxicological Studies: A Mini Review. *Archives of Basic and Applied Medicine*, 1, 33-38.
11. Yamaguchi M, Yoshida H. *Drosophila* as a Model Organism. *Adv Exp Med Biol*.2018; 1076:1-10.
12. Calap-Quintana, P., González-Fernández, J., Sebastián-Ortega, N., Llorens, J. V., & Moltó, M. D. (2017). *Drosophila melanogaster* Models of Metal-Related Human Diseases and Metal Toxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1456.

13. Adams MD, Celniker SE, Holt RA, Evans CA, Gocayne JD, Amanatides PG, Scherer SE, Li PW, Hoskins RA, Galle RF, et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*. 2000;287:2185–95.
14. Aguila JR, Suszko J, Gibbs AG, Hoshizaki DK. The role of larval fat cells in adult *Drosophila melanogaster*. *J Exp Biol*. 2007;210:956–63.
15. Yamaguchi, M., Yoshida, H. (2018). *Drosophila as a Model Organism*. In: Yamaguchi, M. (eds) *Drosophila Models for Human Diseases*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1076.
16. Millington, J. W., & Rideout, E. J. (2018). Sex differences in *Drosophila* development and physiology. *Current Opinion in Physiology*, 6, 46–56.
17. Witek, K., Wydra, K., & Filip, M. (2022). A High-Sugar Diet Consumption, Metabolism and Health Impacts with a Focus on the Development of Substance Use Disorder: A Narrative Review. *Nutrients*, 14(14), 2940.
18. Cummings, J. H., & Stephen, A. M. (2007). Carbohydrate terminology and classification. *European journal of clinical nutrition*, 61 Suppl 1, S5–S18.
19. Rippe, J. M., & Angelopoulos, T. J. (2016). Relationship between Added Sugars Consumption and Chronic Disease Risk Factors: Current Understanding. *Nutrients*, 8(11), 697.
20. Pitsavos C., Panagiotakos D., Weinem M., Stefanadis C. Diet, Exercise and the Metabolic Syndrome. *Rev. Diabet. Stud*. 2006;3:118–126.
21. Grundy S.M. Metabolic Syndrome Update. *Trends Cardiovasc. Med*. 2016;26:364–373.
22. Saklayen M.G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr. Hypertens. Rep*. 2018;20:12.
23. MedlinePlus Carbohydrate Metabolism Disorders
24. Sahyoun N.R., Jacques P.F., Zhang X.L., Juan W., McKeown N.M. Whole-Grain Intake Is Inversely Associated with the Metabolic Syndrome and Mortality in Older Adults. *Am. J. Clin. Nutr*. 2006;83:124–131.
25. Ye E.Q., Chacko S.A., Chou E.L., Kugizaki M., Liu S. Greater Whole-Grain Intake Is Associated with Lower Risk of Type 2 Diabetes, Cardiovascular Disease, and Weight Gain. *J. Nutr*. 2012;142:1304–1313.
26. Greenwood D.C., Threapleton D.E., Evans C.E.L., Cleghorn C.L., Nykjaer C., Woodhead C., Burley V.J. Glycemic Index, Glycemic Load, Carbohydrates, and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Diabetes Care*.

27. Dong J.-Y., Zhang Y.-H., Wang P., Qin L.-Q. Meta-Analysis of Dietary Glycemic Load and Glycemic Index in Relation to Risk of Coronary Heart Disease. *Am. J. Cardiol.* 2012;109:1608–1613.
28. Batterham R.L., Cowley M.A., Small C.J., Herzog H., Cohen M.A., Dakin C.L., Wren A.M., Brynes A.E., Low M.J., Ghatei M.A., et al. Gut Hormone PYY(3-36) Physiologically Inhibits Food Intake. *Nature.* 2002;418:650–654.
29. Dube S., Errazuriz I., Cobelli C., Basu R., Basu A. Assessment of Insulin Action on Carbohydrate Metabolism: Physiological and Non-Physiological Methods. *Diabet. Med.* 2013;30:664–670.
30. Hu F.B. Globalization of Diabetes: The Role of Diet, Lifestyle, and Genes. *Diabetes Care.* 2011;34:1249–1257.
31. Saltiel A.R., Olefsky J.M. Inflammatory Mechanisms Linking Obesity and Metabolic Disease. *J. Clin. Investig.* 2017;127:1–4.
32. American Diabetes Association (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 37 Suppl 1, S81–S90.
33. Sonksen, P., & Sonksen, J. (2000). Insulin: understanding its action in health and disease. *British journal of anaesthesia*, 85(1), 69–79.
34. American Diabetes Association (2020). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes care*, 43(Suppl 1), S14–S31.
35. Roden M., Shulman G.I. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature.* 2019;576:51–60.c
36. Guthrie, R. A., & Guthrie, D. W. (2004). Pathophysiology of diabetes mellitus. *Critical care nursing quarterly*, 27(2), 113–125.
37. Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman medical journal*, 27(4), 269–273.
38. Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C. G., & Willett, W. C. (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England journal of medicine*, 345(11), 790–797.
39. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2004). Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed diabetes--United States, 1988-1994 and 1999-2002. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 53(45), 1066–1068.
40. Vargatu I. (2016). WILLIAMS TEXTBOOK OF ENDOCRINOLOGY. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, 12(1), 113.
41. Herder, C., & Roden, M. (2011). Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. *European journal of clinical investigation*, 41(6), 679–692.

42. Lyssenko, V., Lupi, R., Marchetti, P., Del Guerra, S., Orho-Melander, M., Almgren, P., Sjögren, M., Ling, C., Eriksson, K. F., Lethagen, A. L., Mancarella, R., Berglund, G., Tuomi, T., Nilsson, P., Del Prato, S., & Groop, L. (2007). Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation*, 117(8), 2155–2163.
43. Gnesin, F., Thuesen, A. C. B., Kähler, L. K. A., Madsbad, S., & Hemmingsen, B. (2020). Metformin monotherapy for adults with type 2 diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*, 6(6), CD012906.
44. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* (London, England), 388(10053), 1545–1602.
45. Knowler, W. C., Barrett-Connor, E., Fowler, S. E., Hamman, R. F., Lachin, J. M., Walker, E. A., Nathan, D. M., & Diabetes Prevention Program Research Group (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *The New England journal of medicine*, 346(6), 393–403.
46. International Diabetes Federation (2021). *IDF Diabetes Atlas (PDF) (10 ed.)*. International Diabetes Federation. ISBN 978-2-930229-98-0.
47. Turner, B., Williams, S., Taichman, D., et al. (2010). Type 2 Diabetes. *Annals of Internal Medicine*, 152(ITC3-1).
48. Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*, 27(5), 1047–1053.
49. Magliano DJ, Boyko EJ; IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee . *IDF DIABETES ATLAS* [Internet]. 10th edition. Brussels: International Diabetes Federation; 2021. Table 3.4, Top 10 countries or territories for number of adults (20–79 years) with diabetes in 2021 and 2045.
50. DeFronzo R. A. (2004). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Medical clinics of North America*, 88(4), 787–ix.
51. Barazandegan, M. (2016). *Assessment of type II diabetes mellitus (T)*. University of British Columbia.
52. DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews. Disease primers*, 1, 15019.

53. Gupta, D., & Leahy, J. L. (2014). Islet amyloid and type 2 diabetes: overproduction or inadequate clearance and detoxification?. *The Journal of clinical investigation*, 124(8), 3292–3294.
54. DeFronzo R. A. (2009). Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 58(4), 773–795.
55. Chatterjee, N., & Perrimon, N. (2021). What fuels the fly: Energy metabolism in *Drosophila* and its application to the study of obesity and diabetes. *Science advances*, 7(24), eabg4336.
56. Wigglesworth V. B., The utilization of reserve substances in *Drosophila* during flight. *J. Exp. Biol.* 26, 150–163 (1949).
57. Rajan A., Perrimon N., Of flies and men: Insights on organismal metabolism from fruit flies. *BMC Biol.* 11, 38 (2013).
58. Baker K. D., Thummel C. S., Diabetic larvae and obese flies-emerging studies of metabolism in *Drosophila*. *Cell Metab.* 6, 257–266 (2007).
59. Owusu-Ansah E., Perrimon N., Modeling metabolic homeostasis and nutrient sensing in *Drosophila*: Implications for aging and metabolic diseases. *Dis. Model. Mech.* 7, 343–350 (2014).
60. Padmanabha D., Baker K. D., *Drosophila* gains traction as a repurposed tool to investigate metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 25, 518–527 (2014).
61. Reiter L. T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E., A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome Res.* 11, 1114–1125 (2001).
62. Musselman L. P., Fink J. L., Narzinski K., Ramachandran P. V., Hathiramani S. S., Cagan R. L., Baranski T. J., A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis. Model. Mech.* 4, 842–849 (2011).
63. Pasco M. Y., Leopold P., High sugar-induced insulin resistance in *Drosophila* relies on the lipocalin Neural Lazarillo. *PLOS ONE* 7, e36583 (2012).
64. Do Carmo S., Fournier D., Mounier C., Rassart E., Human apolipoprotein D overexpression in transgenic mice induces insulin resistance and alters lipid metabolism. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296, E802–E811 (2009)
65. Na J., Musselman L. P., Pendse J., Baranski T. J., Bodmer R., Ocorr K., Cagan R., A *Drosophila* model of high sugar diet-induced cardiomyopathy. *PLOS Genet.* 9, e1003175 (2013).
66. Iliadi, K. G., & Boulianne, G. L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1197, 9–18.

67. Moulin, T. C., Ferro, F., Hoyer, A., Cheung, P., Williams, M. J., & Schiöth, H. B. (2021). The *Drosophila melanogaster* Levodopa-Induced Depression Model Exhibits Negative Geotaxis Deficits and Differential Gene Expression in Males and Females. *Frontiers in neuroscience*, 15, 653470.
68. 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.
69. Anderson, A. R., Hoffmann, A. A., & McKechnie, S. W. (2005). Response to selection for rapid chill-coma recovery in *Drosophila melanogaster*: physiology and life-history traits. *Genetical research*, 85(1), 15–22.
70. Macmillan, H. A., & Sinclair, B. J. (2011). Mechanisms underlying insect chill-coma. *Journal of insect physiology*, 57(1), 12–20.
71. Overgaard, J., & MacMillan, H. A. (2017). The Integrative Physiology of Insect Chill Tolerance. *Annual review of physiology*, 79, 187–208.
72. 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.
73. Murashov, A. K., Pak, E. S., Lin, C. T., Boykov, I. N., Buddo, K. A., Mar, J., Bhat, K. M., & Neuffer, P. D. (2020). Preference and detrimental effects of high fat, sugar, and salt diet in wild-caught *Drosophila simulans* are reversed by flight exercise. *FASEB bioAdvances*, 3(1), 49–64.
74. Birse R.T., Choi J., Reardon K., Rodriguez J., Graham S., Diop S., Ocorr K., Bodmer R., Oldham S. High-fat-diet-induced obesity and heart dysfunction are regulated by the TOR pathway in *Drosophila*. *Cell Metab.* 2010;12:533–544.
75. Liao S., Amcoff M., Nässel D.R. Impact of high-fat diet on lifespan, metabolism, fecundity and behavioral senescence in *Drosophila*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2021;133:103495.
76. Morris S.N.S., Coogan C., Chamseddin K., Fernandez-Kim S.O., Kolli S., Keller J.N., Bauer J.H. Development of diet-induced insulin resistance in adult *Drosophila melanogaster*. *Biochim. Biophys. Acta—Mol. Basis Dis.* 2012;1822:1230–1237.
77. Sujkowski A., Wessells R. Using *Drosophila* to Understand Biochemical and Behavioral Responses to Exercise. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 2018;46:112–120.
78. Pasco MY, Léopold P (2012) High Sugar-Induced Insulin Resistance in *Drosophila* Relies on the Lipocalin Neural Lazarillo. *PLoS ONE* 7(5): e36583.

79. 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.
80. 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.
81. Strilbytska, O., Strutynska, T., Semaniuk, U., Burdylyk, N., Bubalo, V., & Lushchak, O. (2022). Dietary Sucrose Determines Stress Resistance, Oxidative Damages, and Antioxidant Defense System in *Drosophila*. *Scientifica*, 2022, 7262342.
82. Kanazawa, M., Xue, C. Y., Kageyama, H., Suzuki, E., Ito, R., Namba, Y., Osaka, T., Kimura, S., & Inoue, S. (2003). Effects of a high-sucrose diet on body weight, plasma triglycerides, and stress tolerance. *Nutrition reviews*, 61(5 Pt 2), S27–S33.