



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
Τμήμα ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

“ Έκθεση *Drosophila Melanogaster* υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη σε καπνό τσιγάρου και επιδράσεις στην επιβίωση, το σωματικό βάρος, και την ανθεκτικότητα σε αποξήρανση και σε ιοντικό στρες.”

Άννα Ραχωβίτσα

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Σωτήριος Ζαρογιάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας, Επιβλέπων
 - Χρυσή Χατζόγλου, Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσιολογίας
- Δημήτριος Μπόγδανος, Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων

Διπλωματική Εργασία υποβληθείσα στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ως μέρος των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στις Κλινικές Εφαρμογές Μοριακής Ιατρικής

Λάρισα, Οκτώβριος 2023



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE



MASTER PROGRAM IN
“CLINICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR MEDICINE”

MASTER THESIS

“Exposure of *Drosophila Melanogaster* under high sugar diet to cigarette smoke and effects on survival, body weight, and resistance to desiccation and ionic stress.”

By

Anna Rachovitsa

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Sotirios Zarogiannis, Associate Professor of Physiology, Supervisor
 - Chrissi Hatzoglou, Professor of Medical Physiology
- Dimitrios Bogdanos, Professor of Internal Medicine and Autoimmune Diseases

Master Thesis submitted to the Faculty of Medicine of the University of Thessaly in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Clinical Applications of Molecular Medicine.

Larissa, March 2023

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	5
Περίληψη	6
Abstract	7
Γενικό Μέρος	8
1.Εισαγωγή	9
1.1 Δυτική Διατροφή.....	9
1.2 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2(ΣΔΤ2)	10
1.3 Παχυσαρκία.....	15
1.4 Συσχέτιση της παχυσαρκίας με τον διαβήτη.....	19
1.5 Κάπνισμα.....	20
1.6 Η <i>Drosophila Melanogaster</i> ως πειραματικό μοντέλο	23
1.6.4 Η <i>Drosophila Melanogaster</i> ως μοντέλο για τον ΣΔΤ2	26
Ειδικό Μέρος	28
2. Υλικό και Μέθοδοι	29
2.1 Διατήρηση καλλιέργειας <i>Drosophila Melanogaster</i>	29
2.2 Παρασκευή θρεπτικού υλικού.....	29
2.3 Έκθεση σε καπνού τσιγάρου.....	30
2.4 Πειραματικός Σχεδιασμός.....	32
2.5 Δοκιμασία Επιβίωσης	34
2.6 Δοκιμασία αποξήρανσης.....	35
2.7 Δοκιμασία ιοντικού στρες.....	36
2.8 Μέτρηση Βάρους	36
2.9 Στατιστική ανάλυση	37
3.Αποτελέσματα	38
3.1 Αποτελέσματα Δοκιμασίας Επιβίωσης.....	38
3.2 Αποτελέσματα Δοκιμασίας Αποξήρανσης.....	39
3.3 Αποτελέσματα Δοκιμασίας ιοντικού στρες.....	41
3.4 Αποτελέσματα μέτρησης βάρους.....	43
4.Συζήτηση	46
5.Πηγές-Βιβλιογραφία	50
Βιογραφικό σημείωμα	55

Ευχαριστίες

Αρχικά, ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Σωτήριο Ζαρογιάννη για την πολύτιμη καθοδήγηση και την συνεχή στήριξη, μα πάνω από όλα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε εντάσσοντάς με στην ερευνητική του ομάδα. Επιπλέον ευχαριστώ την Διευθύντρια του Εργαστηρίου Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.Χρυσή Χατζόγλου, Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσιολογίας που με δέχθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.Περικλή Μαρνά για την πολύτιμη καθοδήγησή του και την μεταπτυχιακή φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.Ζωή Μαλάμη. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών στη Νοσηλευτική κ.Ερασμία Ρούκα και τον μεταδιδακτορικό ερευνητή κ.Rajesh Jagirdar για τις πολύτιμες συμβουλές τους και όλα τα μέλη του εργαστηρίου για το άριστο και φιλικό κλίμα συνεργασίας, που μου παρείχε στήριξη.

Τέλος, θα ήθελα να πω το μεγαλύτερο ευχαριστώ στην οικογένειά μου, ειδικότερα στους γονείς μου, που βρίσκονται δίπλα μου σε κάθε μου βήμα. Η στήριξή τους ήταν ανεκτίμητη σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Η σημερινή δυτική διατροφή είναι πλούσια σε ζάχαρη, αλάτι και επεξεργασμένες τροφές και παράλληλα πτωχή σε φρούτα και λαχανικά. Ως εκ τούτου σχετίζεται με πολλές παθήσεις, και ισχυρά με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2). Ο ΣΔΤ2 έχει πολλές συννοσηρότητες με εκδηλώσεις σε πολλά συστήματα και το κάπνισμα μπορεί να λειτουργήσει περαιτέρω επιβαρυντικά. Η *Drosophila Melanogaster* έχει παρόμοιες μεταβολικές λειτουργίες με τα θηλαστικά και παρόμοια μεταβολικά μονοπάτια όσον αφορά την σηματοδότηση της ινσουλίνης, αποτελώντας λόγω του χαμηλού κόστους και του σύντομου κύκλου ζωής της εξαιρετικό πειραματικό μοντέλο για την μελέτη του ΣΔΤ2.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η έκθεση της *Drosophila Melanogaster* υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD) σε καπνό τσιγάρου (CS) και ο προσδιορισμός των επιδράσεων στην επιβίωση, το σωματικό βάρος, και την ανθεκτικότητα σε αποξήρανση και σε ιοντικό στρες.

Αναπτύχθηκαν *Drosophila Melanogaster* είτε σε τυπικό θρεπτικό υλικό (Normal Diet; ND) είτε σε HSD και μέρος αυτών εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου. Έπειτα από το πέρας 10 ημερών που διήρκησε το κάθε πείραμα, προσδιορίστηκε η επιβίωσή τους, μετρήθηκε το βάρος τους και εκτιμήθηκε η ανθεκτικότητά τους σε αποξήρανση και σε ιοντικό στρες.

Οι επιβίωση αρσενικών και θηλυκών των *Drosophila Melanogaster* υπό HSD και έκθεσης σε καπνό τσιγάρου ήταν σημαντικά μειωμένη σε σχέση με αυτές υπό HSD άνευ έκθεσης σε καπνό τσιγάρου. Παρόμοια σημαντική μείωση βρέθηκε και αναφορικά με το βάρος και στα δύο φύλα. Η ανθεκτικότητα σε στρες αποξήρανσης στις θηλυκές μύγες παρατηρήθηκε ότι ενισχύθηκε από την HSD και την έκθεση σε καπνό τσιγάρου. Τέλος, η ανθεκτικότητα σε ιοντικό στρες παρατηρήθηκε μειωμένη σε θηλυκές μύγες υπό HSD.

Συμπερασματικά, τα παραπάνω αποτελέσματα αναδεικνύουν τις ομοιότητες και διαφορές που έχει η επίδραση της HSD σε αρσενικές και θηλυκές *Drosophila Melanogaster* που εκτίθενται σε καπνό τσιγάρου. Τα ευρήματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μελέτη μακροπρόθεσμων μελετών έκθεσης *Drosophila Melanogaster* σε καπνό τσιγάρου σε έδαφος ΣΔΤ2 επαγόμενου από HSD.

Abstract

The modern Western diet is high in sugar, salt and processed foods and low in fruits and vegetables. It is therefore associated with many diseases, particularly with obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM). T2DM has many comorbidities with effects in many systems and smoking can act as a further aggravating factor. *Drosophila melanogaster* has similar metabolic functions to mammals and similar metabolic pathways in terms of insulin signaling, has low cost and short life cycle, therefore it is an excellent experimental model for studying T2DM.

The purpose of the present thesis was to expose *Drosophila Melanogaster* under high-sugar diet (HSD) to cigarette smoke (CS) and to determine the effects on survival, body weight, and resistance to desiccation and ionic stress.

Drosophila Melanogaster were grown on either standard diet (Normal Diet; ND) or HSD and part of them were exposed to cigarette smoke. After 10 days of duration of each experiment, their survival was determined, their weight was measured and their resistance to desiccation and ionic stress was assessed.

The survival of male and female *Drosophila melanogaster* under HSD and cigarette smoke exposure was significantly reduced compared to those under HSD without cigarette smoke exposure. A similar significant reduction was found with respect to weight in both sexes. Resistance to desiccation stress in female flies was observed to be enhanced by HSD and cigarette smoke exposure. Finally, ionic stress resistance was observed to be reduced in female flies under HSD.

In conclusion, the above results highlight the similarities and differences in the effect of HSD on male and female *Drosophila melanogaster* exposed to cigarette smoke. These findings can be used in long-term studies of *Drosophila melanogaster* exposure to cigarette smoke in grounds of HSD-induced T2DM.

Γενικό Μέρος

1.Εισαγωγή

1.1 Δυτική Διατροφή

Οι σημερινοί άνθρωποι είναι προσαρμοσμένοι στις περιβαλλοντικές συνθήκες των περιοχών που διαβιούν. Σε ό,τι αφορά τη διατροφή, η υιοθέτηση της γεωργίας και της κτηνοτροφίας επέφερε σημαντικές αλλαγές στα διατροφικά πρότυπα και στον τρόπο ζωής των σύγχρονων ανθρώπων. Η εισαγωγή της γεωργίας έφερε νέες βασικές τροφές για τις οποίες το ανθρώπινο γονιδίωμα έχει περιορισμένη εξελικτική έκθεση. Επιπλέον, αναπτύχθηκαν τεχνικές επεξεργασίας τροφίμων, οι οποίες επέτρεψαν συνδυασμούς θρεπτικών συστατικών και τύπων τροφίμων που δεν είχαν συναντηθεί κατά τη διάρκεια της ανθρώπινης εξέλιξης.[1] Ο χρόνος κατά τον οποίον έγιναν αυτές οι μεταβολές ήταν περιορισμένος από εξελικτικής απόψεως και μη αρκετός έτσι ώστε να προσαρμοστεί το ανθρώπινο γονιδίωμα. Κατά συνέπεια, έχει προκύψει μια ασυμφωνία μεταξύ της γενετικής μας σύστασης και των σημερινών προτύπων του τρόπου ζωής μας.[2] Πριν από την έλευση της γεωργίας και της κτηνοτροφίας, οι διατροφικές συνήθειες των πρώτων ανθρώπων αποτελούνταν κυρίως από ελάχιστα επεξεργασμένες, άγριες φυτικές και ζωικές τροφές. Ωστόσο, με την εξημέρωση των φυτών και των ζώων, τα διατροφικά χαρακτηριστικά αυτών των τροφίμων υπέστησαν αλλαγές, μια τάση που επιταχύνθηκε ιδιαίτερα με την τεχνολογική πρόοδο μετά τη Βιομηχανική Επανάσταση.[3]

Οι διατροφικές ιδιότητες των σημερινών τροφίμων δεν θα ήταν οικείες στους πρώτους ανθρώπους, πριν από την εμφάνιση της γεωργίας και της εκβιομηχάνισης. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 72,1% της συνολικής ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης αποδίδεται σε γαλακτοκομικά προϊόντα, δημητριακά, επεξεργασμένα σάκχαρα, επεξεργασμένα φυτικά έλαια και αλκοόλ.[4] Ωστόσο, αυτοί οι συγκεκριμένοι τύποι τροφίμων θα συνέβαλαν ελάχιστα ή καθόλου στην ενεργειακή πρόσληψη στην τυπική διατροφή των ανθρώπων πριν από τη γεωργία.[5] Επιπλέον, τα επεξεργασμένα τρόφιμα κατέχουν κυρίαρχη θέση στη δυτική διατροφή, συμπεριλαμβανομένων ειδών όπως τα μπισκότα, τα κέικ, τα προϊόντα αρτοποιίας, τα δημητριακά πρωινού και τα σνακ.[6]

Επομένως, αυτή η αλλαγή στο μοντέλο διατροφής και θρέψης, που έγινε σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα, υποθάλλει μια σειρά επιδημιολογικών εκδηλώσεων αναφορικά με την αύξηση της συχνότητας αρκετών ασθενειών. Κάποιες από τις ασθένειες που αυτή η διατροφή, πλούσια σε ζάχαρη και λιπαρά, μπορεί να προκαλέσει είναι η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.[7]

1.2 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2)

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2), η πιο διαδεδομένη μορφή διαβήτη έχει λάβει τα τελευταία χρόνια διαστάσεις πανδημίας, απειλώντας την παγκόσμια υγεία και οικονομία. Οι ασθενείς με ΣΔΤ2 έχουν διπλασιαστεί παγκοσμίως τα τελευταία 20 χρόνια.

1.2.1 Πρόληψη του ΣΔΤ2

Ο ΣΔΤ2 μπορεί να προληφθεί με τον έλεγχο της παχυσαρκίας και με την ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος με διατροφή και άσκηση και σε μικρότερο βαθμό με φαρμακευτική αγωγή με μετφορμίνη και θειαζολιδινεδιόνες. Σε παχύσαρκους ασθενείς με διαταραχή ανοχής στην γλυκόζη που ακολουθούσαν πρόγραμμα φυσικής άσκησης και διατροφής, ο κίνδυνος εμφάνισης ΣΔΤ2 ήταν μειωμένος.[8]

1.2.2 Παθογένεση

A. Τρόπος Ζωής

Ο ΣΔΤ2 οφείλεται κυρίως στον τρόπο ζωής και σε γενετικούς παράγοντες. Μία πληθώρα παραγόντων σχετικών με τον τρόπο ζωής έχουν αποδειχτεί ότι παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ΣΔΤ2. Αρχικά έχει αποδειχτεί ότι η καθιστική ζωή με περιορισμένη φυσική δραστηριότητα και το κάπνισμα συνδέονται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ΣΔΤ2. Επιπλέον, η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να διαταράξει τη ρύθμιση της γλυκόζης και να αυξήσει την πιθανότητα εμφάνισης ΣΔΤ2. Ίσως ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες του τρόπου ζωής που συμβάλλουν στον ΣΔΤ2 είναι η παχυσαρκία. Το υπερβολικό σωματικό βάρος, ιδίως με τη μορφή σπλαχνικού λίπους, συσχετίζεται στενά με την αντίσταση στην ινσουλίνη και με διαταραχές του μεταβολισμού της γλυκόζης.[9] [10]

B. Γενετικοί Παράγοντες

Ο ΣΔΤ2 έχει και γενετικό υπόβαθρο. Η ύπαρξη συγγενών (ιδίως πρώτου βαθμού) με ΣΔΤ2 αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σημαντικά.[11] Καθώς ο ΣΔΤ2 είναι μία πολυγονιδιακή νοσος, η ταυτοποίηση των υπεύθυνων γονιδίων αποτελεί μία πρόκληση. Ένας πολυμορφισμός μονού νουκλεοτιδίου (SNP) στο γονίδιο *TCF7L2* έδειξε την ισχυρότερη συσχέτιση με τον ΣΔΤ2 [12], αλλά SNPs σε άλλα γονίδια έχουν επίσης αποδειχθεί ότι συνδέονται με τον ΣΔΤ2, όπως στα γονίδια *SLC30A8*, *FTO*, *CDKAL1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *HHEX*, *IGF2BP2*, *GCKR* και άλλα.[13]

Η κληρονομικότητα δεν μπορεί να εξηγηθεί από τους μέχρι τώρα γνωστούς SNPs, αλλά ίσως μπορεί να εξηγηθεί από την ετερογένεια της νόσου, τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο περιβάλλον και στα γονίδια και επιγενετικούς μηχανισμούς. Σε ορισμένες παραλλαγές, όπως εκείνες για το γονίδιο που κωδικοποιεί τον τασεοεξαρτώμενο διάυλο KCNQ1, παίζει ρόλο αν το αλληλόμορφο κληρονομήθηκε από τον πατέρα ή την μητέρα. Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον KCNQ1 υφίσταται μεθυλίωση και εκφράζεται διαφορετικά όταν κληρονομείται από τη μητέρα.[14]

1.2.3 Παθοφυσιολογία ΣΔΤ2

A. β-κύτταρα

Η πιο εύκολα ανιχνεύσιμη ανωμαλία σε άτομα που είναι πιθανό να αναπτύξουν ΣΔΤ2 είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη. Ο ΣΔΤ2, ωστόσο, εκδηλώνεται όταν τα β-κύτταρα αδυνατούν να εκκρίνουν επαρκείς ποσότητες ινσουλίνης.

Στα ανθρώπινα παγκρεατικά νησίδια του Langerhans, τα β-κύτταρα αποτελούν περίπου το 60% των κυττάρων. Τα νησίδια επίσης περιλαμβάνουν τα α-κύτταρα και τα β-κύτταρα που εκκρίνουν γλυκογόνο και ινσουλίνη αντίστοιχα. Κάθε νησίδιο περιέχει 100–500 μU ινσουλίνης. Τα β κύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους και με τα άλλα κύτταρα των νησιδίων με κοννεξίνες και με άλλα πρωτεϊνικά σύμπλοκα. Επιπλέον, τα ενδοκρινή κύτταρα μπορούν να επηρεάσουν το ένα το άλλο μέσω των ορμονών που απελευθερώνουν στο αίμα, μέσω των μη ορμονικών προϊόντων που παράγουν(όπως το ATP και ο ψευδάργυρος) και μέσω των νευροδιαβιβαστών.[15]

Σε δείγματα από ασθενείς με ΣΔΤ2, η μάζα των β-κυττάρων είναι μειωμένη σε σχέση με δείγματα μη ασθενών, αλλά η μορφολογία των β-κυττάρων ποικίλει από άτομο σε άτομο. Η απώλεια των β-κυττάρων στον ΣΔΤ2 οφείλεται στην απόπτωση και στην μη ρυθμισμένη αυτοφαγία. Ο βαθμός στον οποίο οι δομικές αλλαγές στα νησίδια των ατόμων με T2DM επηρεάζουν τη συνολική λειτουργία τους δεν είναι πλήρως κατανοητός.[16]

Η αντίσταση στην ινσουλίνη στον οργανισμό οδηγεί σε αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης σε οποιοδήποτε επίπεδο γλυκόζης στο αίμα. Αυτή η προσαρμογή προκαλείται πιθανότατα από μικρές αυξήσεις στα επίπεδα της γλυκόζης που κυκλοφορεί στο αίμα και από αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων. Η αντίσταση στην ινσουλίνη προάγει επίσης μια

σχετική αύξηση των α-κυττάρων σε σύγκριση με τα β-κύτταρα, πιθανώς λόγω επιλεκτικής απόπτωσης και αποδιαφοροποίησης των β-κυττάρων. Τα νησίδια που απομονώνονται από ασθενείς με ΣΔΤ2 παρουσιάζουν μειωμένη απελευθέρωση ινσουλίνης σε απόκριση στη γλυκόζη και υψηλότερο κατώφλι έκκρισης ινσουλίνης σε σύγκριση με αυτά που απομονώνονται από μη ασθενείς.

B. Έκκριση Ινσουλίνης

Η έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα ρυθμίζεται από διάφορους 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 προσαρμογή αυτή διαφέρει από άτομο σε άτομο, με τα αδύνατα, ευαίσθητα στην ινσουλίνη άτομα να απαιτούν λιγότερη ινσουλίνη σε σύγκριση με τα παχύσαρκα άτομα, με αντίσταση στην ινσουλίνη. Στα άτομα με ΣΔΤ2, υπάρχει μειωμένη λειτουργία των β-κυττάρων και μειωμένη έκκριση ινσουλίνης σε σύγκριση με τα μη διαβητικά άτομα. Η ικανότητα των β-κυττάρων να ανταποκρίνονται στον ρυθμό αύξησης της συγκεντρώσεως γλυκόζης στο πλάσμα είναι επίσης μειωμένη σε άτομα με ΣΔΤ2. Οι παρεμβάσεις που μειώνουν τις συγκεντρώσεις γλυκόζης στο πλάσμα μπορούν να βελτιώσουν την ευαισθησία των β-κυττάρων στη γλυκόζη και έτσι αυτά να ανακτήσουν εν μέρει τη λειτουργία τους. Αυτό υποδηλώνει ότι η δυσλειτουργία των β-κυττάρων στον ΣΔΤ2 μπορεί να είναι αναστρέψιμη και ότι πολλά β-κύτταρα μπορεί να εξακολουθούν να είναι λειτουργικά, αλλά σε ανενεργή κατάσταση.[15]

Γ. 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 των β-κυττάρων και σε προοδευτική μείωση της έκκρισης ινσουλίνης.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη προηγείται του ΣΔΤ2 κατά πολλά έτη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι παρούσα κυρίως στους μύες και το ήπαρ, τους δύο ιστούς που είναι υπεύθυνοι

για την πλειονότητα της διάθεσης της γλυκόζης μετά από κατανάλωση υδατανθράκων. Στο ήπαρ, η αντίσταση στην ινσουλίνη, μαζί 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.[17]

1.2.4 Διάγνωση

Ο καθολικός έλεγχος για διαβήτη δεν συνιστάται, αυτή η προσέγγιση δεν έχει κριθεί οικονομικά αποδοτική ή αποτελεσματική όσον αφορά την δημόσια υγεία. Οι οδηγίες συνιστούν τον έλεγχο ατόμων υψηλού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων των ατόμων που είναι υπέρβαρα ή παχύσαρκα, των φυλετικών ομάδων που είναι ευαίσθητες στον ΣΔΤ2 ή των ατόμων με ισχυρό οικογενειακό ΣΔΤ2 και προηγούμενο διαβήτη κύησης.

Όταν ο ασθενής ανήκει σε ομάδα υψηλού κινδύνου, η διάγνωση του ΣΔΤ2 μπορεί να με την ανάλυση των συγκεντρώσεων γλυκόζης νηστείας (≥ 7 mmol/L) στο πλάσμα ή της HbA1c (≥ 6.5). Αν και ο ΣΔΤ2 είναι ο πιο διαδεδομένος τύπος διαβήτη, η διάκρισή του από άλλες μορφές διαβήτη, όπως του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 1, ή του λανθάνοντος αυτοάνοσου διαβήτη ενηλίκων (LADA), δεν είναι πάντα εύκολη. Η επανεξέταση του ιστορικού και του κλινικού πλαισίου είναι καίριας σημασίας.[18]

1.2.5 Επιπολασμός

Ο ΣΔΤ2 τα τελευταία χρόνια έχει λάβει διαστάσεις πανδημίας. Αποτελεί την έκτη αιτία που προκαλεί αναπηρία και έχει μεγάλες κοινωνικοοικονομικές συνέπειες για τον ασθενή και το σύστημα υγείας.[19] Η αύξηση του επιπολασμού του ΣΔΤ2 συνδέεται με την αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας. Η ταχεία οικονομική ανάπτυξη και η αστικοποίηση σε συνδυασμό με τον καθιστικό τρόπο ζωής και την ανθυγιεινή διατροφή πιστεύεται ότι είναι οι κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που τροφοδοτούν αυτή την αύξηση.[20]

Περίπου 537 εκατομμύρια ενήλικες παγκοσμίως πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη, οι περισσότεροι από τους οποίους έχουν ΣΔΤ2, και ο αριθμός αυτός αναμένεται να αυξηθεί σε 783 εκατομμύρια μέχρι το 2045. Σε παγκόσμιο επίπεδο, το ποσοστό των ατόμων που ζουν με μη διαγνωσμένο ΣΔΤ2 είναι περίπου 45%.[21] Περισσότερο από το 80% των ατόμων με ΣΔΤ2 ζουν σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος.[20]

1.2.6 Επιπτώσεις

Ο ΣΔΤ2 συνδέεται με αυξημένη ευπάθεια στην εμφάνιση τόσο μικροαγγειακών (όπως η αμφιβληστροειδοπάθεια, η νευροπάθεια και η νεφροπάθεια) όσο και μακροαγγειακών (συμπεριλαμβανομένης της ισχαιμικής καρδιακής νόσου, της εγκεφαλοαγγειακής νόσου και της περιφερικής αγγειακής νόσου) επιπλοκών. Κάποιοι από τους παράγοντες που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μικροαγγειακών και μακροαγγειακών επιπλοκών σε ασθενείς με ΣΔΤ2 είναι η παρατεταμένη διάρκεια του διαβήτη, η ανεπαρκής γλυκαιμική διαχείριση, οι αυξημένες γλυκαιμικές διακυμάνσεις, το ανδρικό φύλο, οι υποκείμενες συννοσηρότητες και οι προϋπάρχουσες καταστάσεις όπως η λευκωματουρία ή η υποκλινική αθηροσκλήρωση.[18]

1.2.7 Αντιμετώπιση

A. Γλυκαιμικός έλεγχος

Οι κατευθυντήριες γραμμές που έχουν θεσπιστεί από την Αμερικανική Ένωση Διαβήτη (ADA) και την Ευρωπαϊκή Ένωση για τη Μελέτη του Διαβήτη (EASD) συνιστούν τη διατήρηση επιπέδων HbA1c στο 7% ή λιγότερο για της περισσότερους ενήλικες. Η έκθετης της Αττικής και της EASD για το 2022 υπογραμμίζει τη σημασία των συννοσηροτήτων για τη μείωση της επιβάρυνσης από επιπλοκές και τη βελτίωση της συνολικής ποιότητας ζωής ως βασικών στόχων περίθαλψης.[22]

B. Αλλαγή τρόπου ζωής

Η αλλαγή τρόπου ζωής θεωρείται η θεραπεία πρώτης γραμμής στον ΣΔΤ2. Η αλλαγή τρόπου ζωής, ειδικά όταν συνοδεύεται από σημαντική απώλεια βάρους βελτιώνει τον γλυκαιμικό έλεγχο.[23]

Μία από τις παθήσεις που συνδέεται πολύ στενά με τον ΣΔΤ2 είναι η παχυσαρκία. Περισσότερο από το 80% των ατόμων με ΣΔΤ2 ταξινομούνται ως υπέρβαροι ή παχύσαρκοι. Συνεπώς, η στοχευμένη απώλεια βάρους είναι ένα αποτελεσματικό μέσο για τη μείωση της μεταβολικής επιβάρυνσης του ΣΔΤ2.[24]

Στόχος του προγράμματος παρέμβασης είναι μία σωστή και ισορροπημένη διατροφή, προσαρμοσμένη στις ανάγκες του κάθε ασθενούς, η οποία συμβάλλει στον γλυκαιμικό έλεγχο. [25] Έπειτα, συνίσταται η φυσική άσκηση, καθώς τα καρδιομεταβολικά της οφέλη, όπως η μείωση του σπλαχνικού λίπους, συμβάλλουν στον γλυκαιμικό έλεγχο.[26]

Γ. Φαρμακευτική αγωγή

Η φαρμακευτική θεραπεία για τον ΣΔΤ2 περιλαμβάνει μια ποικιλία φαρμάκων που αποσκοπούν στη ρύθμιση των επιπέδων σακχάρου στο αίμα. Η μετφορμίνη είναι συνήθως το φάρμακο πρώτης γραμμής, ενισχύοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειώνοντας την παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ. Οι σουλφονουλουρίες διεγείρουν την απελευθέρωση ινσουλίνης, ενώ οι αναστολείς DPP-4 και οι αναστολείς SGLT2 βελτιώνουν τη χρήση της ινσουλίνης και αποβάλλουν την περίσσεια γλυκόζης μέσω των ούρων. Οι θειαζολιδινεδιόνες ενισχύουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Οι ενέσιμες επιλογές περιλαμβάνουν την ινσουλίνη και τους αγωνιστές των υποδοχέων GLP-1, οι οποίοι συμβάλλουν στη διαχείριση του σακχάρου στο αίμα. Μπορεί να συνταγογραφούνται συνδυαστικές θεραπείες με βάση τις ατομικές ανάγκες. Ωστόσο, οι τροποποιήσεις του τρόπου ζωής, όπως η υγιεινή διατροφή, η τακτική άσκηση, η διαχείριση του βάρους και η μείωση του στρες, παραμένουν ζωτικής σημασίας για τη διαχείριση του διαβήτη.[18]

1.3 Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης ΣΔΤ2, και οι δύο παθήσεις αποτελούν σημαντικό παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Επιπλέον, η παχυσαρκία είναι σήμερα η δεύτερη πιο διαδεδομένη και μπορεί σύντομα να ξεπεράσει το κάπνισμα ως η πιο διαδεδομένη αιτία καρκίνου που μπορεί να προληφθεί. Ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μέτρο για την κατηγοριοποίηση υπέρβαρων ατόμων (ΔΜΣ μεταξύ 25 και 29,9 kg/m²) και παχύσαρκων ατόμων (ΔΜΣ 30 kg/m² ή υψηλότερος), είναι ένα απλό εργαλείο για χρήση σε αξιολογήσεις υγείας και ερευνητικές μελέτες σε πληθυσμούς και ευρέως αποδεκτό.[27] Η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από περίσσεια σωματικού λίπους ή λιπώδους ιστού που προκύπτει από υπερβολική πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και/ή μειωμένη ενεργειακή δαπάνη. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Άτλα Παχυσαρκίας, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας θα αυξηθεί από 14% το 2020 σε 24% μέχρι το 2035, επηρεάζοντας 2 δισεκατομμύρια ενήλικους, εφήβους και παιδιά.[28]

1.3.1 Παθογένεση

Η παχυσαρκία είναι μία πάθηση που οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Αρχικά, γενετικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι γενετικές μεταλλάξεις, πολυμορφισμοί και αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων συμβάλλουν στην προδιάθεση για παχυσαρκία. Οι επιγενετικές αλλαγές, που επηρεάζονται τόσο από το περιβάλλον όσο και από την κληρονομικότητα,

επηρεάζουν τη γενετική έκφραση χωρίς να μεταβάλλουν τις αλληλουχίες του DNA, συμβάλλοντας στην παχυσαρκία.

Όσον αφορά τους μηχανισμούς, το μονοπάτι λεπτίνης-μελανοκορτίνης παίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της όρεξης. Η λεπτίνη, μια ορμόνη που ρυθμίζει την όρεξη και παράγεται από τα λιποκύτταρα, γίνεται υπερβολική στην παχυσαρκία. Αυτή η κατάσταση οδηγεί σε αντίσταση στη λεπτίνη και σε επίμονη πείνα.

Η έλλειψη φυσικής άσκησης και μια διατροφή πλούσια σε υδατάνθρακες, ιδίως σε ζάχαρη και άμυλο, οδηγεί σε μεταγευματικές αυξήσεις των επιπέδων ινσουλίνης. Αυτή η περίσσεια ινσουλίνης κατευθύνει τις θερμίδες στα κύτταρα του λιπώδους ιστού, με αποτέλεσμα μια συνολική αίσθηση πείνας, μειωμένο μεταβολισμό και τάση για αύξηση του σωματικού βάρους. Έπειτα, η έλλειψη ύπνου, το άγχος και η πρόσληψη κάποιων φαρμάκων έχουν αποδειχτεί ότι συμβάλλουν στην παχυσαρκία. Τέλος, με αυτή έχουν συνδεθεί κάποιες παθήσεις όπως ινσουλίνωμα, υποθυρεοειδισμός, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, μεταβολικό σύνδρομο, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια και ΣΔΤ2.[29]

1.3.2 Μοριακοί μηχανισμοί

Η αύξηση του σωματικού βάρους και συνεπώς η παχυσαρκία είναι αποτέλεσμα ενός μακροχρόνιου θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, ωστόσο η παθογένεια της παχυσαρκίας είναι πιο σύνθετη. Οι κύριοι παράγοντες για τη ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου ως αποτέλεσμα των μακροχρόνιων ενεργειακών αποθεμάτων είναι η λεπτίνη και η ινσουλίνη.

A. Λεπτίνη

Η λεπτίνη, μια ορμόνη που αποτελείται από 167 αμινοξέα και εκκρίνεται από τον λευκό λιπώδη ιστό κυκλοφορεί στο σώμα σε επίπεδα ανάλογα με τη μάζα σωματικού λίπους του ατόμου. Παίζει ρόλο στην προώθηση του αισθήματος πληρότητας και στην αύξηση της ενεργειακής δαπάνης ενεργοποιώντας τους νευρώνες της προοπιομελανοκορτίνης (POMC), ενώ αναστέλλει τους νευρώνες του νευροπεπτιδίου Y (NPY) και του πεπτιδίου που σχετίζεται με το AgRP στον υποθάλαμο. Όταν υπάρχει ανεπάρκεια στη σηματοδότηση της λεπτίνης λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο της λεπτίνης ή στον υποδοχέα της, αυτό οδηγεί σε αυξημένη όρεξη (υπερφαγία) και σοβαρή παχυσαρκία τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα. Αυτό αναδεικνύει ότι η διατήρηση ενός υγιούς σωματικού βάρους εξαρτάται από τη σωστή λειτουργία του ρυθμιστικού συστήματος της λεπτίνης.

Ενώ γενετικές ανωμαλίες που επηρεάζουν τη σηματοδότηση της λεπτίνης μπορούν να οδηγήσουν σε παχυσαρκία, στα περισσότερα παχύσαρκα άτομα, τα επίπεδα λεπτίνης αυξάνονται αναλογικά με το σωματικό τους λίπος, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανότητα "αντίστασης στη λεπτίνη". Ωστόσο, σε περιπτώσεις παχυσαρκίας που προκαλείται από δίαιτα, η κυτταρική σηματοδότηση της λεπτίνης φαίνεται να λειτουργεί σωστά, υποδηλώνοντας ότι τα υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης μπορεί να μην οφείλονται σε αντίσταση αλλά μάλλον να υποδηλώνουν ότι ορισμένα άτομα χρειάζονται αυξημένα επίπεδα για να ενεργοποιήσουν τα σχετικά νευρωνικά κυκλώματα. Εναλλακτικά, έχει προταθεί ότι η λεπτίνη θα μπορούσε να είναι πιο σημαντική για την πρόληψη της απώλειας σωματικού λίπους, παρά για τη μείωση της συσσώρευσης λίπους

B. Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη παράγεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος και οι συγκεντρώσεις της σχετίζονται θετικά με το σωματικό βάρος και την ποσότητα του λιπώδους ιστού. Η ινσουλίνη χρησιμεύει ως αρνητικό σήμα ανατροφοδότησης προς το κεντρικό νευρικό σύστημα, παρόμοια με τη λεπτίνη, και τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης οδηγούν σε μειωμένη πρόσληψη τροφής. Σε περιπτώσεις παχυσαρκίας, παρατηρείται αντίσταση στην ινσουλίνη και υψηλό σάκχαρο στο αίμα (υπεργλυκαιμία), η οποία πιστεύεται συνήθως ότι είναι συνέπεια των αυξημένων επιπέδων ελεύθερων λιπαρών οξέων. Αυτό, με τη σειρά του, οδηγεί σε υπερβολική παραγωγή ινσουλίνης (υπερινσουλιναιμία). Η αυξημένη έκκριση ινσουλίνης παίζει ρόλο στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας προωθώντας την πρόσληψη λιπαρών οξέων και γλυκόζης από τα λιποκύτταρα, αυξάνοντας την αποθήκευση θερμίδων με τη μορφή λίπους και αναστέλλοντας ταυτόχρονα τη διάσπαση των λιπών (λιπόλυση).[27]

1.3.3 Αντιμετώπιση

A. Αλλαγή τρόπου ζωής

Η μείωση της πρόσληψης θερμίδων αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την επίτευξη σημαντικής και κλινικά σχετικής απώλειας βάρους. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για την παχυσαρκία, συνιστάται να ακολουθείται μια δίαιτα που δημιουργεί ημερήσιο θερμιδικό έλλειμμα 500-750 kcal, οδηγώντας σε μέση απώλεια 0,5-0,75 kg ανά εβδομάδα. Οι γυναίκες συνιστάται συχνά να καταναλώνουν 1200-1500 kcal/ημέρα, ενώ οι άνδρες συνιστάται να στοχεύουν σε 1500-1800 kcal/ημέρα. Υψηλότεροι θερμιδικοί στόχοι εντός

αυτών των ορίων μπορούν να τεθούν για άτομα με μεγαλύτερο σωματικό βάρος. Τα παραδοσιακά προγράμματα τροποποίησης του τρόπου ζωής υποστήριζαν ιστορικά δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες. Επίσης, σημαντική είναι η ενσωμάτωση της φυσικής άσκησης. Προτείνονται συνήθως 150-180 λεπτά την εβδομάδα μέτριας έντασης αερόβια άσκηση, όπως γρήγορο περπάτημα ή ποδηλασία. Η αερόβια άσκηση προσφέρει ένα ευρύ φάσμα πλεονεκτημάτων, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης τόσο της σωματικής όσο και της ψυχικής ευεξίας. Επιπλέον, η τακτική σωματική δραστηριότητα μπορεί να ενισχύσει τα επίπεδα φυσικής κατάστασης, μειώνοντας ενδεχομένως τον κίνδυνο θνησιμότητας που συνδέεται με την παχυσαρκία. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η ενασχόληση με τη σωματική δραστηριότητα από μόνη της συνήθως οδηγεί σε περιορισμένη βραχυπρόθεσμη απώλεια βάρους, εκτός εάν συνδυάζεται με περιορισμό των θερμίδων. Τέλος, η συμπεριφορική θεραπεία περιλαμβάνει τον καθορισμό εφικτών στόχων από τον ασθενή σε συνεργασία με τον επαγγελματία υγείας για την αλλαγή των συνηθειών διατροφής και σωματικής δραστηριότητας. Βασίζεται στην αυτοπαρακολούθηση, ιδίως της πρόσληψης τροφής, στον εντοπισμό των προτύπων συμπεριφοράς και στην θετική ενίσχυση από τον θεραπευτή. Οι συμμετέχοντες μαθαίνουν επίσης τον έλεγχο των ερεθισμάτων για την τροποποίηση των περιβαλλοντικών ενδείξεων και χρησιμοποιούν γνωστικές τεχνικές για την αντιμετώπιση μη βοηθητικών σκέψεων.[30]

B. Φαρμακευτική αγωγή

Τα φάρμακα κατά της παχυσαρκίας ενδείκνυνται σε άτομα με $\Delta\text{ΜΣ} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ή με $\Delta\text{ΜΣ} \geq 27 \text{ kg/m}^2$ εάν υπάρχει μία ή περισσότερες συννοσηρότητες. Η επιλογή ενός φαρμάκου κατά της παχυσαρκίας θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη παράγοντες όπως το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς, τους βιοχημικούς δείκτες, άλλες παθήσεις υγείας, τις πιθανές αντενδείξεις των φαρμάκων και τα αναμενόμενα αποτελέσματα όσον αφορά την απώλεια βάρους και τη βελτίωση της καρδιο-νεφρικής και μεταβολικής υγείας. Η μετρελεπτίνη και η σετμελανοτίδη συνταγογραφούνται επί του παρόντος για ασυνήθιστα σύνδρομα παχυσαρκίας, ενώ υπάρχουν πέντε επιπλέον φάρμακα (ορλιστάτη, φαιντερμίνη/τοπιραμάτη, ναλτρεξόνη/βουπροπιόνη, λιραγλουτίδη, σεμαγλουτίδη) που έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία της μη συνδρομικής παχυσαρκίας. Η τιρζεπατίδη θα εγκριθεί σύντομα και υπάρχουν και άλλα φάρμακα σε διάφορα στάδια κλινικών δοκιμών με νέους υποσχόμενους μηχανισμούς δράσης που συνδέονται κυρίως με τις ινκρετίνες. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις δρουν πρωτίστως στον εγκέφαλο για να περιορίσουν την όρεξη και να ενισχύσουν το αίσθημα πληρότητας και δευτερευόντως στο γαστρεντερικό σύστημα για να επιβραδύνουν την κένωση του στομάχου. Όλα τα φάρμακα

κατά της παχυσαρκίας έχουν δείξει βελτιώσεις στο βάρος και στις μεταβολικές παραμέτρους, με διαφορετικό βαθμό αποτελεσματικότητας ανάλογα με το συγκεκριμένο φάρμακο. Ενώ τα υπάρχοντα δεδομένα δεν επιβεβαιώνουν ακόμη τη μείωση των σοβαρών καρδιαγγειακών εκβάσεων, είναι πολύ πιθανό ότι τέτοιες πληροφορίες θα γίνουν διαθέσιμες στο προσεχές μέλλον.[31]

Γ. Βαριατρική χειρουργική

Οι πιο επιτυχημένες εκτεταμένες θεραπείες για τη σοβαρή παχυσαρκία με την πρόσθετη επιπλοκή του ΣΔΤ2 περιλαμβάνουν βαριατρικές χειρουργικές επεμβάσεις. Ωστόσο, παρά τις ανησυχίες ότι οι πιθανοί κίνδυνοι της χειρουργικής επέμβασης, τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα, μπορεί να υπερτερούν των πλεονεκτημάτων, η επέμβαση έχει αποδειχτεί ασφαλής. Οι επεμβάσεις που πραγματοποιούνται πιο συχνά είναι η λαπαροσκοπική επιμήκης γαστρεκτομή και η γαστρική παράκαμψη (RYGB). Λιγότερο συχνά γίνονται η ρυθμιζόμενη γαστρική ζώνη (AGB) και η χολοπαγκρεατική εκτροπή. Η βαριατρική χειρουργική βοηθάει και στην αντιμετώπιση του ΣΔΤ2.[32]

1.4 Συσχέτιση της παχυσαρκίας με τον διαβήτη

Η παχυσαρκία συσχετίζεται στενά με τον ΣΔΤ2, καθώς είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη, η οποία εμφανίζεται νωρίς στη νόσο και αντισταθμίζεται κυρίως από την υπερινσουλιναιμία. Η παχυσαρκία σε συνδυασμό με την ανεπάρκεια ινσουλίνης οδηγεί στην ανάπτυξη του ΣΔΤ2.[33]

A. Μηχανισμοί που διέπουν την ανάπτυξη του ΣΔΤ2 στην παχυσαρκία

Η παχυσαρκία προδιαθέτει στην ανάπτυξη του ΣΔΤ2 μέσω της επαγωγής αντίστασης στην ινσουλίνη. Οι μηχανισμοί που προκαλούν την αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως η φλεγμονή, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και η υπερινσουλιναιμία σχετίζονται με την παχυσαρκία. Η χρόνια και χαμηλού βαθμού φλεγμονή που εμφανίζεται στην παχυσαρκία εμπλέκεται στην παθογένεια πολλών χρόνιων ασθενειών, όπως ο ΣΔΤ2. Η φλεγμονή θεωρείται ότι αναστέλλει τη σηματοδοτική δραστηριότητα της ινσουλίνης είτε στα λιποκύτταρα είτε στα ηπατοκύτταρα. Αναστέλλει το υπόστρωμα-1 του υποδοχέα ινσουλίνης (IRS-1) και τον υποδοχέα ινσουλίνης στο μονοπάτι σηματοδότησης. Επιπλέον, περιορίζει τη λειτουργία του υπεροξυσωματικού υποδοχέα που ενεργοποιείται από τον PPAR- γ , ο οποίος είναι ένας

πυρηνικός υποδοχέας που προάγει τη σύνθεση λιπιδίων και την ενδοκυτταρική αποθήκευση λίπους. Επιπλέον, η φλεγμονή συμβάλλει στην αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) ενεργοποιώντας τη λιπόλυση και αναστέλλοντας τη σύνθεση των τριγλυκεριδίων.[34]

B. Παχυσαρκία και επιπτώσεις του ΣΔΤ2

Κάποιες από τις σοβαρές επιπτώσεις του ΣΔΤ2 είναι οι εξής: καρδιαγγειακά νοσήματα, νεφροπάθεια, αμφιβληστροειδοπάθεια και μικροαγγειοπάθεια. Κάποιες από τις επιπτώσεις, όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα και η άπνοια σχετίζονται με την παχυσαρκία. Εάν ένα άτομο με ΣΔΤ2 γίνει παχύσαρκο, αυξάνεται ο κίνδυνος να αναπτύξει τις πιο θανατηφόρες επιπλοκές του ΣΔΤ2, όπως καρδιομεταβολικές επιπλοκές.

Γ. Σημασία της πρόληψης του ΣΔΤ2

Καθώς ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για ΣΔΤ2 είναι η παχυσαρκία, η αντιμετώπιση της υπερβολικής αύξησης βάρους είναι πολύ σημαντική. Ένας τρόπος ζωής που περιλαμβάνει σωστή διατροφή και σωματική άσκηση σχετίζεται με λιγότερη αντίσταση στην ινσουλίνη, καλύτερος γλυκαιμικός έλεγχος και υψηλότερο ποσοστό πρόληψης της ΣΔΤ2. Για τη μείωση της νοσηρότητας, της θνησιμότητας και του κόστους θεραπείας του ΣΔΤ2, η μείωση της παχυσαρκίας είναι απαραίτητη.[33]

1.5 Κάπνισμα

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο οργανισμό υγείας, το 2020 1,3 δισεκατομμύρια άνθρωποι από 15 ετών και πάνω καταναλώνουν ένα προϊόν καπνού. Ο αριθμός έχει πέσει από το 1,37 δισεκατομμύρια το 2000 και προβλέπεται μέχρι το 2025 να έχει φτάσει τα 1,27 δισεκατομμύρια. Οι καπνιστές διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν μακροχρόνιες ασθένειες όπως: λιπώδης συσσώρευση στις αρτηρίες, διάφοροι τύποι καρκίνου και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ).

1.5.1 Ο καπνός του τσιγάρου

Οι καπνιστές εκτίθενται σε 172 τοξικές ουσίες, 47 χημικά που χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνα, και 67 γνωστά καρκινογόνα για τον άνθρωπο ή τα ζώα. Ο καπνός του τσιγάρου αποτελείται από περισσότερες από 4000 διαφορετικές ενώσεις. Ο καπνός του τσιγάρου που δημιουργείται κατά το κάπνισμα χωρίζεται σε δύο μέρη: στο κύριο ρεύμα (καπνός κεντρικής ροής - mainstream smoke) και στο παράπλευρο ή δευτερεύον ρεύμα (καπνός περιφερειακής ροής - sidestream smoke). Ο καπνός στο κύριο ρεύμα είναι αυτός που εισπνέεται απευθείας στους πνεύμονες του καπνιστή από το άκρο του αναμμένου τσιγάρου και είναι πιο θερμός, πιο πυκνός και περιέχει περισσότερες ουσίες από τον καπνό του δευτερεύοντος ρεύματος, ο οποίος προέρχεται από το αναμμένο άκρο. Ο καπνός στο κύριο ρεύμα είναι ο πιο επιβλαβής, αν και ο καπνός δευτερεύοντος ρεύματος συνδέεται επίσης με σημαντικούς κινδύνους για την υγεία. Πολλές από τις χημικές ενώσεις στον καπνό του τσιγάρου παράγονται μέσω της καύσης καθώς το τσιγάρο καίγεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Μόλις ο καπνός τραβηχτεί από το τσιγάρο, τα σωματίδια αυξάνονται γρήγορα σε μέγεθος λόγω της υγρασίας από το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα και ο καπνός του κύριου ρεύματος συμπυκνώνεται καθώς εισέρχεται στους πνεύμονες. Ως αποτέλεσμα, εκτιμάται ότι το 50% έως 95% αυτών των μορίων εναποτίθεται στους βρόγχους, τα βρογχιόλια και τις κυψελίδες.[35]

1.5.2 Ενεργητικό και παθητικό κάπνισμα.

Ως παθητικό κάπνισμα ορίζεται η εισπνοή καπνού τσιγάρου από άτομα εκτός των καπνιστών. Ο παθητικός καπνιστής εισπνέει καπνό τσιγάρου που προέρχεται όχι μόνο από το πλευρικό ρεύμα, αλλά και καπνό που εκπνέει ο ίδιος ο καπνιστής.[36]

Το παθητικό κάπνισμα μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό στα μάτια, τον φάρυγγα και τον λάρυγγα, κεφαλαλγία, ζάλη και ναυτία σε ορισμένα άτομα. Επιπλέον, μπορεί να επιδεινώσει το άσθμα και άλλες αλλεργικές παθήσεις. Λόγω της παρουσίας νικοτίνης και οξειδίου του άνθρακα (CO) στον οργανισμό, άτομα που ήδη υποφέρουν από χρόνιες ασθένειες, ειδικά στον τομέα των πνευμόνων και του κυκλοφορικού συστήματος, εκτίθενται σε αυξημένο κίνδυνο λόγω του παθητικού καπνίσματος. Ο παθητικός καπνιστής εισπνέει λιγότερο καπνό ποσοτικά, αλλά εκτίθεται σε περισσότερες επικίνδυνες ουσίες από ποιοτική άποψη.[37][38]

Η χημική σύνθεση του παράπλευρου ρεύματος είναι παρόμοια με αυτή του κύριου ρεύματος, αλλά λόγω διαφορετικών συνθηκών, κάποια συστατικά και φυσικοχημικά στοιχεία διαφέρουν. Στο παράπλευρο ρεύμα του καπνού από τσιγάρο, παρατηρούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών πυριμιδινών, λόγω της ευνοϊκής διαδικασίας σχηματισμού τους από

τα αλκαλοειδή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Επιπλέον, παρατηρούνται σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις οξειδίων του αζώτου και πτητικών νιτροδοαμινών σε σύγκριση με τον κύριο ρεύμα του καπνού. Αυτές οι τελευταίες ενώσεις, γνωστές για την ισχυρή τους καρκινογόνα ιδιότητα, φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επίδραση του παθητικού καπνίσματος σε μη-καπνιστές σε κλειστούς χώρους.[39]

1.5.3 Επιπτώσεις στην υγεία

Είναι ευρέως γνωστό και αποδεδειγμένο ότι το κάπνισμα έχει σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. Το κάπνισμα συνδέεται με την ανάπτυξη καρκίνου σε διάφορα μέρη του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των πνευμόνων, του λαιμού, των φωνητικών χορδών, του οισοφάγου, του στομάχου, του ήπατος, του παγκρέατος, των νεφρών, της ουροδόχου κύστης, της τραχηλικής περιοχής της μήτρας και του παχέος εντέρου ή του ορθού. Επιπλέον, σχετίζεται με την οξεία μυελοειδή λευχαιμία. Η πλειοψηφία των περιστατικών των καρκίνων των πνευμόνων και της ΧΑΠ αποδίδεται στο κάπνισμα. Η έκθεση στον παθητικό καπνό έχει συνδεθεί με βεβαιότητα με καρκίνο, αναπνευστικά προβλήματα, καρδιαγγειακά νοσήματα και αρνητικές επιπτώσεις στην ευημερία των βρεφών και των νέων. Πέρα από τη συμβολή σε διάφορες ασθένειες, το κάπνισμα έχει επίσης επίσημες επιπτώσεις στον οργανισμό, συμπεριλαμβανομένης της πρόκλησης φλεγμονής και της υπονόμησης του ανοσοποιητικού συστήματος. Συνεχώς αποδεικνύεται ότι το κάπνισμα προκαλεί διάφορες ασθένειες όπως ρευματοειδή αρθρίτιδα, καρκίνο του παχέος εντέρου και ΣΔΤ2.[40]

1.5.4 Αντιμετώπιση

Πάνω από τα δύο τρίτα των σημερινών καπνιστών θέλουν να το διακόψουν, αλλά κατά μέσο όρο κάνουν περίπου έξι προσπάθειες πριν επιτύχουν μακροχρόνια αποχή. Ο FDA στις Ηνωμένες Πολιτείες έχει δώσει την έγκρισή του σε τρία διαφορετικά φάρμακα για τη διακοπή του καπνίσματος, επιβεβαιώνοντας την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους. Τα φάρμακα αυτά περιλαμβάνουν τη βουπροπιόνη, τη βαρενικλίνη και πέντε προϊόντα υποκατάστασης νικοτίνης (όπως αυτοκόλλητα, τσίγλες, παστίλιες, εισπνοές από το στόμα και ρινικά σπρέι) και αποτελούν την φαρμακοθεραπεία πρώτης γραμμής. Αλλά η πιο αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση περιλαμβάνει φαρμακοθεραπεία σε συνδυασμό με συμπεριφοριστικού τύπου παρεμβάσεις. Οι συμπεριφορικές παρεμβάσεις για τη διακοπή του καπνίσματος περιλαμβάνουν ένα φάσμα προσεγγίσεων με διαφορές στο περιεχόμενο, την ένταση και την εφαρμογή. Κάποιες στοχεύουν στο να παρακινήσουν τους καπνιστές να το κόψουν τονίζοντας τα οφέλη, ενώ άλλες χρησιμοποιούν γνωστικές-συμπεριφορικές τεχνικές

για να αυξήσουν την πιθανότητα μιας επιτυχημένης προσπάθειας διακοπής του καπνίσματος.[41]

1.6 Η *Drosophila Melanogaster* ως πειραματικό μοντέλο

Η *Drosophila Melanogaster* ή αλλιώς μύγα των φρούτων αποτελεί ένα έντομο της τάξης των δίπτερον.[42] Η *Drosophila Melanogaster* αποτελεί ένα πολύ διαδεδομένο μοντέλο για πολλούς τύπους βιολογικής έρευνας και έχει χρησιμοποιηθεί για την μελέτη πολλών ανθρώπινων ασθενειών. Ιδιαίτερα δημοφιλής είναι για την μελέτη της λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων στο κεντρικό νευρικό σύστημα, την καρδιά, το ήπαρ και τους νεφρούς. Πολλά από τα εσωτερικά όργανα της *Drosophila Melanogaster* παρουσιάζουν λειτουργικές ομοιότητες και αναλογίες με ανθρώπινα. Επιπλέον, περίπου το 65% των ανθρώπινων γονιδίων που προκαλούν ασθένειες πιστεύεται ότι έχουν ένα λειτουργικό ομόλογο στις μύγες. Παρόλο που οι άνθρωποι και οι μύγες διαφέρουν σημαντικά όσον αφορά τα αδρά μορφολογικά και κυτταρικά χαρακτηριστικά τους, πολλοί από τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν την ανάπτυξη και καθοδηγούν τις κυτταρικές και φυσιολογικές διεργασίες διατηρούνται μεταξύ των δύο οργανισμών.[43]

Τα ακόλουθα χαρακτηριστικά της *Drosophila Melanogaster* αποδεικνύουν ότι είναι ένας καλός οργανισμός-μοντέλο. Είναι μικρή, εύκολη στο χειρισμό και φθηνή στη συντήρηση και εύκολο να χρησιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Η *Drosophila Melanogaster* έχει μικρή διάρκεια ζωής, σύντομο κύκλο ζωής και παράγει μεγάλο αριθμό απογόνων, γεγονός που διευκολύνει τις στατιστικές αναλύσεις των δεδομένων που λαμβάνονται. Από ένα μόνο ζευγάρι μπορεί να παράγει εκατοντάδες γενετικά πανομοιότυπους απογόνους σε περίπου 10 ημέρες στους 25 °C.[44]

1.6.1 Κύκλος ζωής της *Drosophila Melanogaster*

Στην *Drosophila Melanogaster*, η διαδικασία ανάπτυξης από ένα γονιμοποιημένο ωαρίου έως τον ενήλικα απαιτεί κατά μέσο όρο μόνο 9-10 ημέρες. στους 25°C. Στο εργαστήριο συνήθως αναπτύσσεται σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25 °C) και υγρασίας (50-60%) μέσα σε φιαλίδια που περιέχουν στο κάτω μέρος τους το φαγητό, με τον κύκλο ζωής να διαρκεί περίπου 10 ημέρες. Μετά τη γονιμοποίηση, προκύπτει το αυγό, που μεταμορφώνεται σε 24 ώρες σε προνύμφη. Το στάδιο της προνύμφης διακρίνεται σε 3 φάσεις ανάπτυξης, οι οποίες

είναι το 1^ο, 2^ο, και 3^ο στάδιο προνύμφης. Έπεται το στάδιο της νύμφης. Σε χρονικό διάστημα τεσσάρων ημερών η ανάπτυξη πραγματοποιείται μέσα σε ένα κουκούλι από χιτίνη και στο τέλος προκύπτει ένα ενήλικο έντομο. Οι ενήλικες μύγες γίνονται σεξουαλικά ώριμες σε 8-12 ώρες, επιτρέποντας την επανάληψη του κύκλου ζωής.[45]

1.6.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά αρσενικών και θηλυκών *Drosophila Melanogaster*

Για τις πειραματικές διαδικασίες είναι απαραίτητο να διαχωρίσουμε τις θηλυκές από τις αρσενικές μύγες. Οι θηλυκές μύγες τείνουν να είναι πολύ μεγαλύτερες από τις αρσενικές μύγες. Σε μια αρσενική μύγα, τα δύο τελευταία τμήματα της κοιλιάς είναι πολύ πιο σκούρα. Οι αρσενικές μύγες έχουν παχιές μαύρες λωρίδες, ενώ οι θηλυκές τείνουν να έχουν μια πιο σκούρα λωρίδα στο κάτω μέρος και μια πιο ανοιχτή λωρίδα πάνω από αυτή. Η κοιλιά των αρσενικών είναι στρογγυλεμένη στο κάτω μέρος, ενώ των θηλυκών είναι μυτερή. Τα αρσενικά διαθέτουν μαύρη κηλίδα στο κάτω μέρος της κοιλιάς τους, ενώ τα θηλυκά διαθέτουν μαύρες ρίγες. Τέλος, στις αρσενικές μόνο υπάρχει το φυλετικό χτένι, ανατομικό χαρακτηριστικό στο πρώτο ζεύγος των ποδιών, που διακρίνεται μόνο με ηλεκτρονικό στερεοσκόπιο.[46]

1.6.3 Ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού στην *Drosophila Melanogaster*

Στα έντομα, όπως και στα θηλαστικά ο ενεργειακός μεταβολισμός επιτυγχάνεται από την σηματοδότηση ινσουλίνης/IGF (IIS), την σηματοδότηση TOR και την σηματοδότηση AKH. Αυτά τα τρία μονοπάτια επιπλέον μεσολαβούν στη σύνθεση πρωτεϊνών, την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και ελέγχουν την ανάπτυξη και την αύξηση του σώματος των εντόμων.[47]

A.Σηματοδότηση της ινσουλίνης

Τα ορθόλογα της ινσουλίνης των εντόμων, γνωστά ως ILPs, συντίθενται και εκκρίνονται από τα κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη (IPCs) στην αιμολέμφο όταν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα παραμένουν αυξημένα. Αυτά τα ILPs αναγνωρίζονται στη συνέχεια από τον υποδοχέα ινσουλίνης (InR) που βρίσκεται στην επιφάνεια των λιποκύτταρων του σώματος. Τα λιποκύτταρα, σε συνδυασμό με έναν άλλο τύπο κυττάρων, τα μονοκύτταρα, αποτελούν το λειτουργικό αντίστοιχο του λιπώδους ιστού και του ήπατος, λειτουργώντας ως ο κεντρικός

κόμβος για τον ενεργειακό μεταβολισμό εντός του οργανισμού των εντόμων. Ο InR ενεργοποιείται από το προσδέτη κινάση τυροσίνης, και ξεκινάει φωσφορυλίωση κατά τη δέσμευση της ILP. Έπειτα, φωσφορυλιώνεται το υπόστρωμα του υποδοχέα ινσουλίνης (IRS/Chico) και του PI3K. Ο PI3K καταλύει τη φωσφορυλίωση της φωσφατιδυλινοσιτόλης 4,5-διφωσφορική (PIP2) σε φωσφατιδυλινοσιτόλη 3,4,5-διφωσφορική (PIP3) στην κυτταρική μεμβράνη.[47]

Η συσσώρευση PIP3 στην κυτταρική μεμβράνη οδηγεί στη στρατολόγηση πρόσθετων φωσφοϊνοσιτίδιο εξαρτώμενων πρωτεϊνικών κινασών 1 (PDK1) και Akt μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των τομέων PH τους και PIP3. Στη συνέχεια, η PDK1 ενεργοποιεί την Akt μέσω φωσφορυλίωσης (με αποτέλεσμα την p-Akt) και η p-Akt, με τη σειρά της, φωσφορυλιώνει πολυάριθμες πρωτεΐνες που ακολουθούν. Ιδιαίτερη σημασία έχει ο μεταγραφικός παράγοντας FOXO, ο οποίος ρυθμίζει την έκφραση διαφόρων μεταγενέστερων γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού, την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, τις αποκρίσεις στο στρες και την απόπτωση.[48]

Β.Σηματοδότηση του mTOR μονοπατιού

Το μονοπάτι mTOR (στόχος της ραπαμυκίνης των θηλαστικών) ρυθμίζει τη χρήση των θρεπτικών συστατικών και την κυτταρική ανάπτυξη. Το mTOR χρησιμεύει ως μια ευαίσθητη στη ραπαμυκίνη κινάση τυροσίνης που βρίσκεται στον κέντρο αυτού του μονοπατιού. Η δραστηριότητά του είναι στενά συνδεδεμένη με τη σηματοδότηση της ινσουλίνης. Στο πλαίσιο του μονοπατιού σηματοδότησης της ινσουλίνης, η p-Akt ενεργοποιεί το mTOR αναστέλλοντας δύο καταστολείς της δραστηριότητας της TOR, το TSC2 και το PRAS40.[49]

Γενικά, η ενεργοποίηση του mTOR οδηγεί στην κυτταρική ανάπτυξη και τη γενική βιοσύνθεση, ενώ καταστέλλει τον καταβολισμό.[50]

Γ. Σηματοδότηση της λιποκινητικής ορμόνης (AKH)

Η λιποκινητική ορμόνη (AKH) στα έντομα έχει την ανάλογη λειτουργία με το γλυκαγόνο στους ανθρώπους. Η AKH συντίθεται εντός μιας συγκεκριμένης ομάδας κυττάρων που είναι γνωστά ως καρδιακά κύτταρα του σώματος (CCCs) και βρίσκονται εντός των νευροενδοκρινών δακτυλίων αδένων.[51]

Η AKH πυροδοτεί την ενεργοποίηση δύο παραγόντων μεταγραφής, των FOXO και CREB, οι οποίοι, με τη σειρά τους, οδηγούν στην απελευθέρωση των αποθηκευμένων λιπιδίων για ενέργεια και στη διακοπή της κυτταρικής ανάπτυξης στο λιπώδες σώμα για να βοηθήσουν τον οργανισμό να αντιμετωπίσει μια κατάσταση επικείμενης ασιτίας. Συνοπτικά, η σίτιση

ενεργοποιεί τη σηματοδότηση της ινσουλίνης και το TOR σηματοδότηση, οι οποίες οδηγούν σε καθολική βιοσύνθεση και κυτταρική ανάπτυξη μέσω της αναστολής της FOXO, ενώ η ασιτία ενεργοποιεί την AKH σηματοδότηση, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί το FOXO, προάγει τη θρεπτική κινητοποίηση και εμποδίζει την ανάπτυξη.[52]

1.6.4 Η *Drosophila Melanogaster* ως μοντέλο για τον ΣΔΤ2

Η *Drosophila Melanogaster* έχει παρόμοιες μεταβολικές λειτουργίες με τα θηλαστικά, όπως τη διατήρηση της ομοιόστασης της γλυκόζης, την αποθήκευση και κινητοποίηση των λιπιδίων και τη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής. Τα θρεπτικά συστατικά χωνεύονται και απορροφώνται στο μέσο-έντερο και στη συνέχεια αποθηκεύονται στο λιπώδες σώμα και στα περιφερικά ωκύτταρα, που αντιπροσωπεύουν τους ηπατικούς και λιπώδεις ιστούς των θηλαστικών.[53] Η υπερβολική πρόσληψη τροφής και στην *Drosophila Melanogaster* συσχετίζεται με αύξηση στην αποθήκη λίπους. Τα ινσουλινοειδή πεπτίδια της Δροσόφιλας (dIIs), ομόλογα με την ινσουλίνη των θηλαστικών, είναι οι κύριοι παράγοντες που εμπλέκονται στη μεταβολική ομοιόσταση, την αντίσταση στην ινσουλίνη και την υπεργλυκαιμία (αυξημένες συγκεντρώσεις γλυκόζης στην αιμόλεμφο).[54] Στην *Drosophila Melanogaster* διαταραχές του μεταβολισμού, σαν τον ΣΔΤ2, προκαλούνται από την δίαιτα. Οι δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD), καθώς και οι δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (HFD), έχουν εφαρμοστεί στην *Drosophila Melanogaster* για να προκαλέσουν είτε έναν παχύσαρκο φαινότυπο είτε μεταβολική δυσλειτουργία, η οποία αντανακλάται σε συμπτώματα που μοιάζουν με το T2DM, όπως αντίσταση στην ινσουλίνη και υψηλά επίπεδα σακχάρου (γλυκόζη/τρεχαλόζη).[55]

1.7 Σκοπός της πτυχιακής εργασίας

Σκοπό της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η έκθεση της *Drosophila Melanogaster* σε καπνό τσιγάρου, σε θρεπτικό υλικό υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και στον συνδυασμό αυτών των δύο συνθηκών. Μελετήθηκε η επίδραση του καπνού τσιγάρου και του θρεπτικού υλικού υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη στην επιβίωση τους σε διάστημα 10 ημερών, ανθεκτικότητά τους σε δύο είδη στρες, αποξήρανσης και ιοντικό, και οι μεταβολές στο σωματικό τους βάρος. Η επίδραση του καπνού τσιγάρου και μίας διατροφής πλούσιας σε ζάχαρη σε αυτούς τους φαινοτύπους της *Drosophila Melanogaster* μπορεί να χρησιμοποιηθεί

για την ανάπτυξη ενός *in vitro* πειραματικού μοντέλου για την μελέτη που αναπαριστά τις επιπτώσεις του καπνού τσιγάρου σε έδαφος ΣΔΤ2.

Ειδικό Μέρος

2. Υλικό και Μέθοδοι

2.1 Διατήρηση καλλιέργειας *Drosophila Melanogaster*

Ως μοντέλο για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν *Drosophila Melanogaster*, το στέλεχος Oregon. Οι *Drosophila Melanogaster* διατηρούνται σε φιαλίδια τα οποία στον πάτο περιείχαν το θρεπτικό υλικό και στο πάνω μέρος σφραγίζονται με βαμβάκι. Το βαμβάκι εξυπηρετούσε διπλό σκοπό, από την μία αποτρέπει την διαφυγή των μυγών από το φιαλίδιο, από την άλλη λόγω της ανάγλυφης υφής του επιτρέπει στον αέρα να διέρχεται μέσα και έξω από το φιαλίδιο. Κάθε 10 μέρες οι *D. Melanogaster* μεταφέρονται σε φιαλίδια με φρέσκο θρεπτικό υλικό. Τα παλιά φιαλίδια, ωστόσο περιέχουν έμβρυα, νύμφες και προνύμφες και από αυτά προκύπτουν καινούργιες *D. Melanogaster*, με αποτέλεσμα την αύξηση της καλλιέργειας. Για την διατήρηση της υγείας της καλλιέργειας, φιαλίδια παλαιότερα από ένα μήνα αφαιρούνται από την καλλιέργεια τελείως και η καλλιέργεια ελέγχεται σχολαστικά και ανά τακτά χρονικά διαστήματα με στερεοσκόπιο OLYMPUS για μύκητες και παράσιτα. Η καλλιέργεια βρίσκεται σε κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία(25°C) και υγρασία (50-60%) και πρόγραμμα σταθερού ημερήσιου κύκλου (12 ώρες ημέρα και 12 ώρες νύχτα).

2.2 Παρασκευή θρεπτικού υλικού

Το τυπικό θρεπτικό υλικό, αποτελείται από ζάχαρη, corn flower, μαγιά και άγαρ. Για να παρασκευαστεί τυπικό θρεπτικό υλικό 100ml χρειάζονται: 7,5 gr ζάχαρη, 5,5 gr καλαμποκάλευρο, 3,33 gr ξηρή μαγιά, 1 gr άγαρ και 0,2 gr νιπαγίνη διαλυμένη σε 5 ml αιθανόλης 70 %. Η νιπαγίνη προμηθεύτηκε από την Sigma (cat: h3647-100G), η 100% αιθανόλη από την VWR CHEMICALS (cat: 20821.330) και τα υπόλοιπα συστατικά από το λιανικό εμπόριο.

Η διαδικασία που ακολουθείται για την παρασκευή είναι η εξής:

1. Σε ένα αποστειρωμένο ογκομετρικό δοχείο τοποθετούνται 100ml απιονισμένου νερού.

2. Το δοχείο με το νερό τοποθετείται σε θερμοφόρο πλάκα και θερμαίνεται μέχρι να φτάσει σε θερμοκρασία βρασμού.
3. Χαμηλώνεται η θερμοκρασία και αναδεύεται το μείγμα.
4. Τοποθετείται η ζάχαρη και αναδεύεται μέχρι να διαλυθεί.
5. Έπειτα, τοποθετείται το καλαμποκάλευρο, αφού περαστεί από κόσκινο.
6. Προστίθεται η μαγιά και το άγαρ.
7. Η θερμοκρασία ανεβαίνει στο μέγιστο και το μείγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθούν όλα τα υλικά και να πήξει.
8. Αφαιρείται το μείγμα από την θερμαινόμενη πλάκα και αναδεύεται μέχρι να μειωθεί αισθητά η θερμοκρασία του.
9. Προστίθεται η νιπαγίνη, αφού έχει διαλυθεί στην αιθανόλη και αναδεύεται το μείγμα.
10. Το μείγμα τοποθετείται στα φιαλίδια
11. Τα φιαλίδια αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες, για να σταθεροποιηθεί το θρεπτικό υλικό. Έπειτα, τοποθετούνται οι *D. Melanogaster*.

Για παρασκευή θρεπτικού υλικού για τις *D. Melanogaster* που εκτέθηκαν σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη παρασκευάστηκε θρεπτικό υλικό υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη. Για να παρασκευαστούν 100ml χρειάζονται: 30 gr ζάχαρη, 5,5 gr καλαμποκάλευρο, 3,33 gr ξηρή μαγιά, 1 gr άγαρ και 0,2 gr νιπαγίνη διαλυμένη σε 5 ml αιθανόλης 70 %. Η διαδικασία που ακολουθείται είναι ακριβώς η ίδια με αυτή στο τυπικό θρεπτικό υλικό.

2.3 Έκθεση σε καπνού τσιγάρου

Χρησιμοποιήθηκαν τσιγάρα MARLBORO RED FTKS 20S BOX. Η περιεκτικότητά τους σε πίσσα, νικοτίνη και μονοξείδιο του άνθρακα είναι η εξής:

Τσιγάρα	Πίσσα mg/cig	Νικοτίνη mg/cig	Μονοξείδιο του Άνθρακα mg/cig
MARLBORO RED FTKS 20S BOX	10	0,8	10

Η εξαγωγή του καπνού τσιγάρου(CS) κατέστη δυνατή με μία αυτοσχέδια συσκευή του Εργαστηρίου Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία παρουσιάζεται στην **Εικόνα 1**.



Εικόνα 1. Η αυτοσχέδια συσκευή για την εισαγωγή καπνού τσιγάρου.

Η συσκευή αποτελείται από:

- Ένα ρύγχος πιπέτας που χρησιμοποιείται σαν θήκη για το τσιγάρο
- Μία αντλία τριών οδών
- Μία ιατρική σύριγγα 60ml
- Ένα σωληνάριο από το οποίο εξέρχεται ο καπνός από την συσκευή.

Αρχικά, μέσω της αντλίας είναι ανοιχτή η οδός μεταξύ της σύριγγας και της θήκης για το τσιγάρο. Το αναμμένο τσιγάρο τοποθετείται στην θήκη και η σύριγγα γεμίζει με καπνό. Έπειτα, ανοίγεται η οδός ανάμεσα στην σύριγγα και το σωληνάριο και ο καπνός εξέρχεται μέσω αυτού σε φιαλίδια με *D. Melanogaster*.

Κατά την έκθεση σε καπνό, οι *D. Melanogaster* αφαιρούνται από τα φιαλίδια με το θρεπτικό υλικό που φυλάσσονται και τοποθετούνται σε νέα φιαλίδια, άδεια. Στα φιαλίδια αυτά εισρέουν 20ml καπνού από το σωληνάριο της συσκευής. Οι *D. Melanogaster* αφήνονται για 15 λεπτά σε αυτά τα φιαλίδια, όπου και αναισθητοποιούνται λόγω του καπνού. Μετά το πέρας των 15 λεπτών, τοποθετούνται εκ νέου σε άδεια φιαλίδια όπου και παραμένουν μέχρι να ανακτήσουν τις αισθήσεις τους και να μεταφερθούν πίσω στα φιαλίδια με το θρεπτικό υλικό.[56]



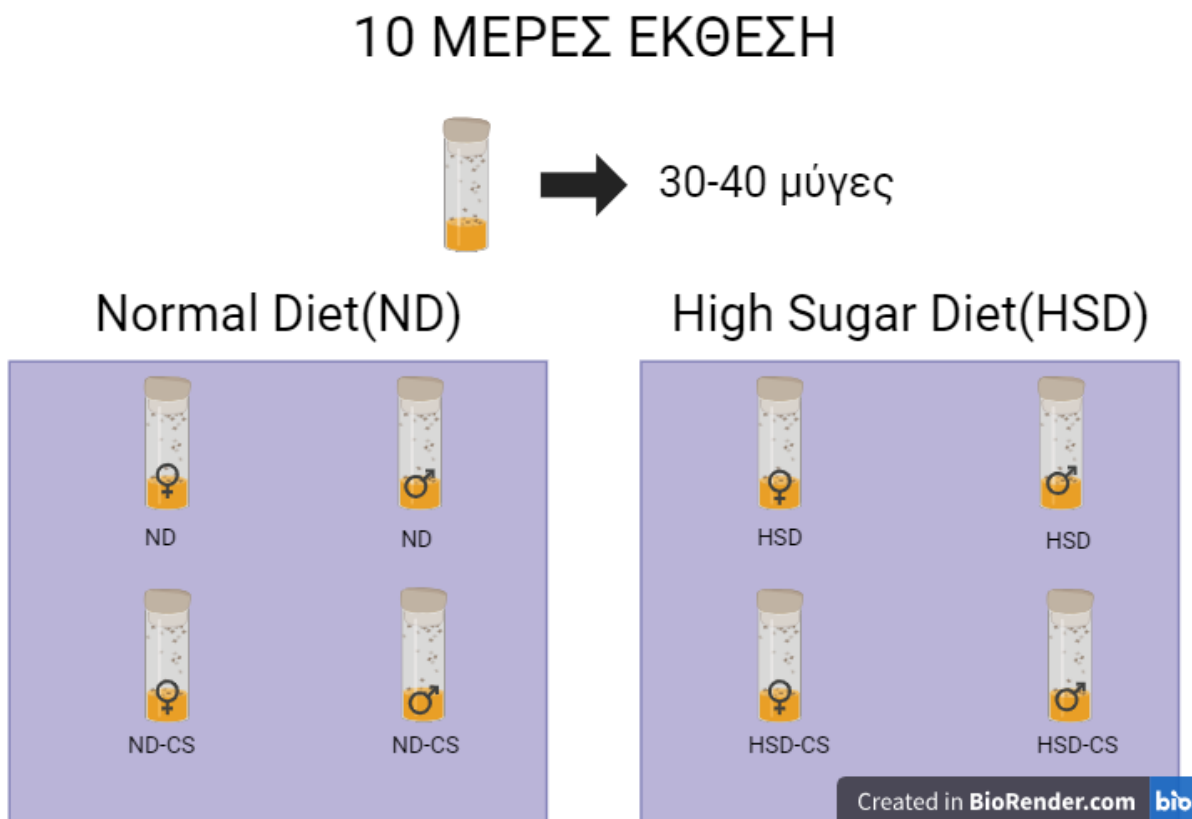
Εικόνα 2. Αναισθητοποιημένες μύγες κατά την έκθεση σε καπνό τσιγάρου.

2.4 Πειραματικός Σχεδιασμός

Αρχικά τοποθετούνται 10 θηλυκές και 5 αρσενικές *Drosophila Melanogaster* σε φιαλίδια για να αναπαραχθούν. Μετά από τρεις μέρες αποσύρονται από τα φιαλίδια, στα οποία πλέον περιέχονται έμβρυα. Τα έμβρυα αφήνονται 9 μέρες, έτσι ώστε να γίνουν ενήλικες μύγες. Στην συνέχεια πραγματοποιείται διαχωρισμός σε αρσενικές και θηλυκές.

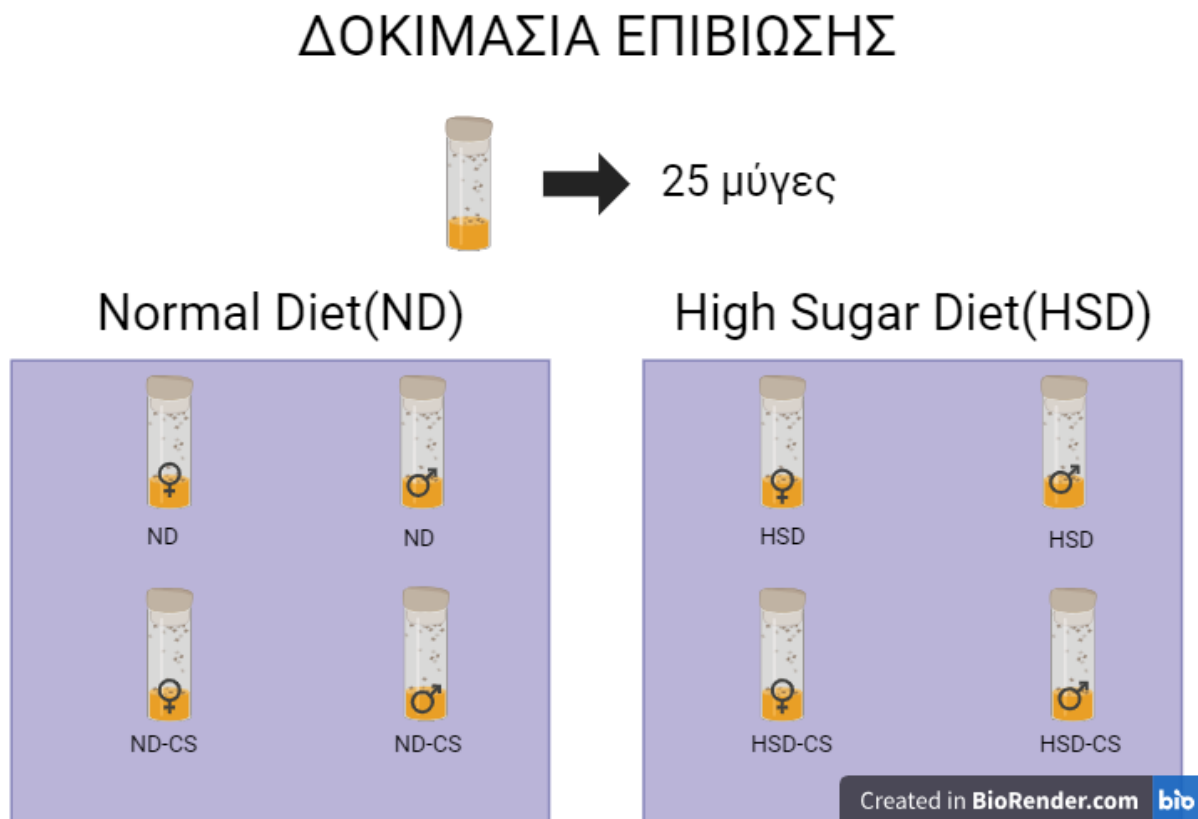
Για τις ανάγκες των πειραμάτων οι *Drosophila Melanogaster* εκτέθηκαν στις εξής συνθήκες: συνθήκες με κανονικό θρεπτικό υλικό (ND), με θρεπτικό υλικό υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD), με κανονικό θρεπτικό υλικό και έκθεση σε καπνό τσιγάρου

(ND-CS), με θρεπτικό υλικό υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και έκθεση σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS). Όλες οι συνθήκες διήρκησαν 10 μέρες. Για κάθε συνθήκη χρησιμοποιήθηκαν 6 φιαλίδια με 30 μύγες το καθένα, διαχωρισμένες ανά φύλο (3 φιαλίδια για τις θηλυκές και 3 για τις αρσενικές). Μετά το πέρας των δέκα ημερών, πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμασίες αποξήρανσης και ιοντικού στρες και η μέτρηση βάρους. Στις δοκιμασίες επιβίωσης αντί για 30 μύγες, το κάθε φιαλίδιο περιείχε 25 και γινόταν καταγραφή των μυγών που έχουν επιβιώσει κάθε 3 μέρες, κατά το χρονικό διάστημα των δέκα ημερών που πραγματοποιούνταν η έκθεση στον καπνό.



Εικόνα 3. Πειραματικές συνθήκες

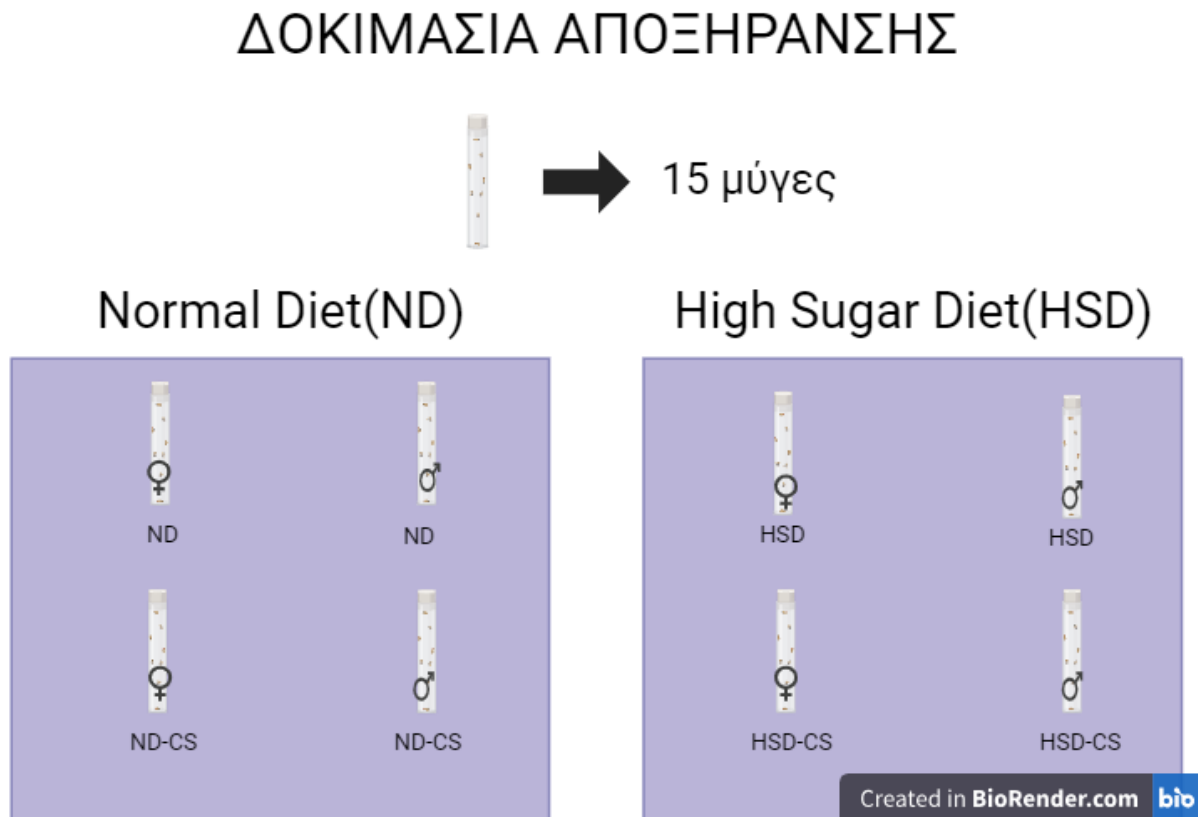
2.5 Δοκιμασία Επιβίωσης



Εικόνα 4. Δοκιμασία επιβίωσης.

Σε φιαλίδια 175ml κλεισμένα με βαμβάκι, που περιέχουν θρεπτικό υλικό στο κάτω μέρος τους τοποθετήθηκαν 25 μύγες του ίδιου φύλου. Το θρεπτικό συστατικό ανανεωνόταν κάθε 3 μέρες (τυπικό θρεπτικό υλικό για τις ND και θρεπτικό υλικό υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη για τις HSD) και σε κάθε αλλαγή καταγραφόταν πόσες *Drosophila Melanogaster* έχουν επιβιώσει από τις 25, σε κάθε συνθήκη.[57]

2.6 Δοκιμασία αποξήρανσης



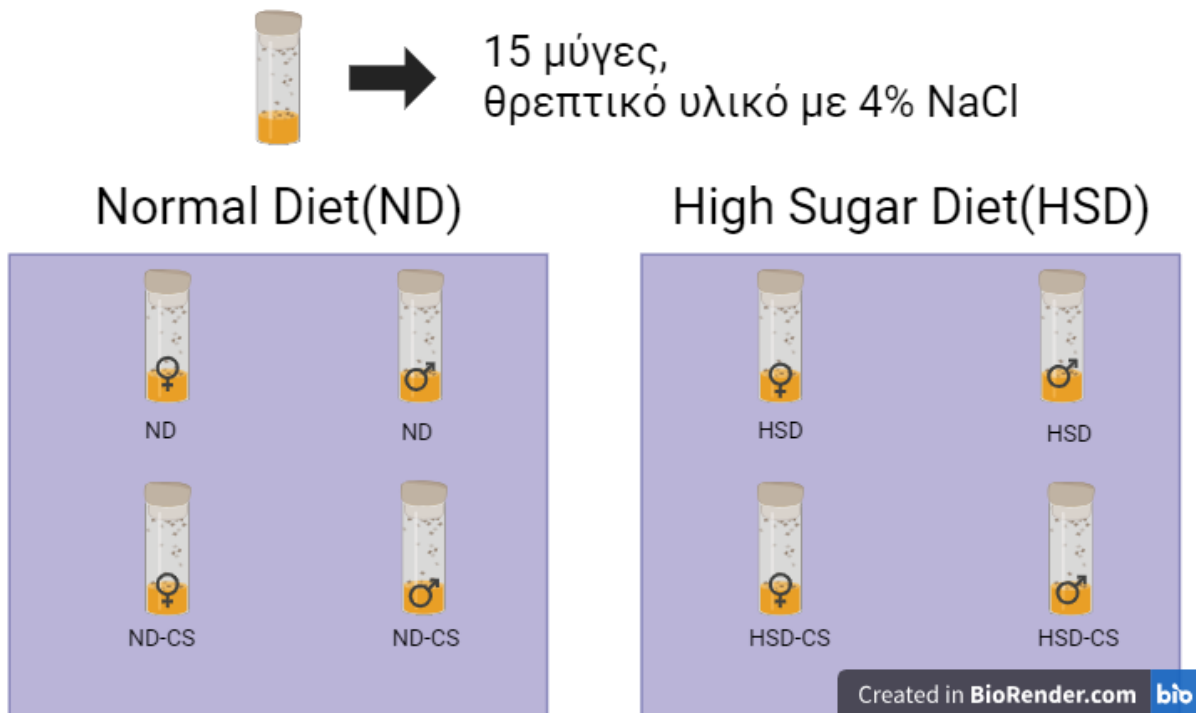
Εικόνα 5. Δοκιμασία αποξήρανσης.

Για την δοκιμασία αποξήρανσης συλλέχθηκαν αρσενικές και θηλυκές *D. Melanogaster*, οι οποίες αναπτύχθηκαν στις πειραματικές συνθήκες ND, ND-CS, HSD, HSD-CS.

Αρχικά, οι μύγες αφαιρούνται από τα φιαλίδια που βρισκόταν και τοποθετούνται σε πάγο για 30 λεπτά για να αναισθητοποιηθούν. Για κάθε βιολογική επανάληψη, τοποθετούνται 15 μύγες σε κάθε φιαλίδιο, διαχωρισμένες ανά φύλο. Τα φιαλίδια είναι άδεια και σφραγισμένα με βαμβάκι και οι μύγες δεν έχουν πρόσβαση ούτε σε νερό, ούτε σε φαγητό. Όλα τα φιαλίδια φυλάσσονται στον κλίβανο κατά την διάρκεια του πειράματος, στις σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας που εξασφαλίζει. Καταγράφεται ο αριθμός των μυγών που επιβίωσαν κάθε 6 ώρες, έως ότου όλες να είναι νεκρές.[58,59]

2.7 Δοκιμασία ιοντικού στρες

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΙΟΝΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ



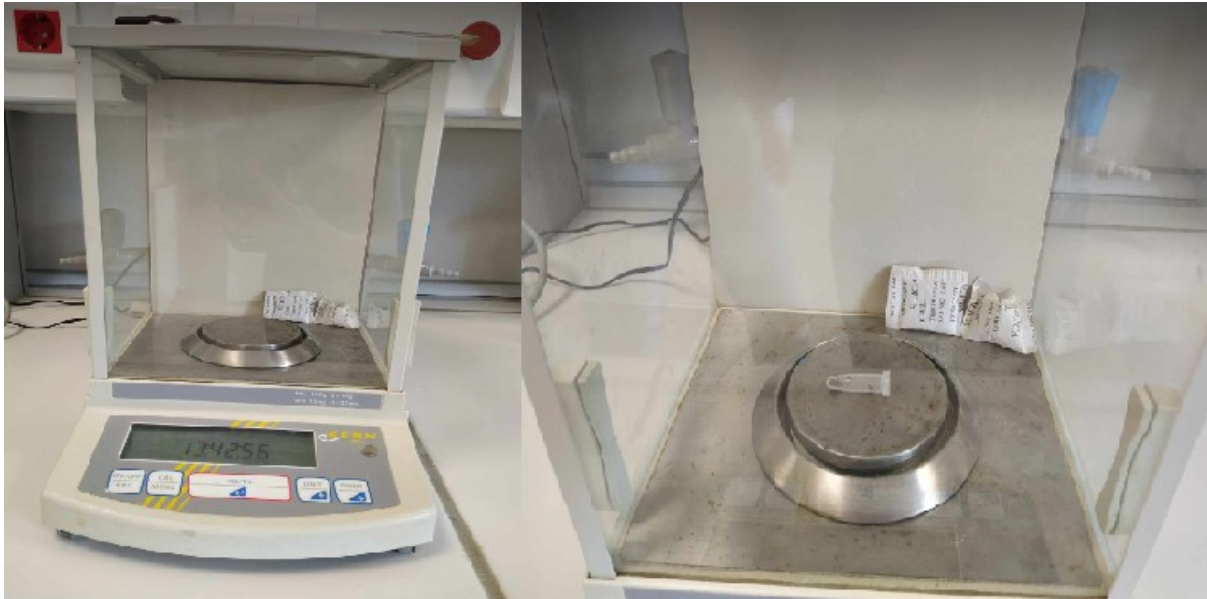
Εικόνα 6. Δοκιμασία ιοντικού στρες.

Αρσενικές και θηλυκές *Drosophila Melanogaster*, οι οποίες αναπτύχθηκαν στις πειραματικές συνθήκες ND, ND-CS, HSD, HSD-CS χρησιμοποιήθηκαν για την δοκιμασία ιοντικού στρες. Οι μύγες αναισθητοποιούνται σε πάγο και για κάθε βιολογική επανάληψη, τοποθετούνται 15 μύγες σε κάθε φιαλίδιο, διαχωρισμένες ανά φύλο. Στον πάτο όλων των φιαλιδίων τοποθετείται θρεπτικό υλικό που περιέχει τα ίδια συστατικά με το τυπικό αλλά είναι εμπλουτισμένο με 4% NaCl. Καταγράφεται ο αριθμός των μυγών που επιβίωσαν κάθε 12 ώρες, μέχρι όλες οι μύγες να είναι νεκρές.[58,59]

2.8 Μέτρηση Βάρους

Drosophila Melanogaster που αναπτύχθηκαν στις πειραματικές συνθήκες ND, ND-CS, HSD, HSD-CS, αλλά δεν χρησιμοποιήθηκαν για πειράματα αποξήρανσης και ιοντικού στρες, θανατώθηκαν και ακολούθησε μέτρηση του βάρους τους. Οι *Drosophila Melanogaster* χωρίστηκαν σε ομάδες των 10 και ανά ομάδα τοποθετήθηκαν σε ένα tube που έχει ζυγιστεί

από πριν. Στην συνέχεια, μετρήθηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας και υπολογίστηκε ο μέσος όρος του βάρους κάθε μύγας σε mg/fly.[57]



Εικόνα 7. Ζυγός ακριβείας και μέτρηση βάρους.

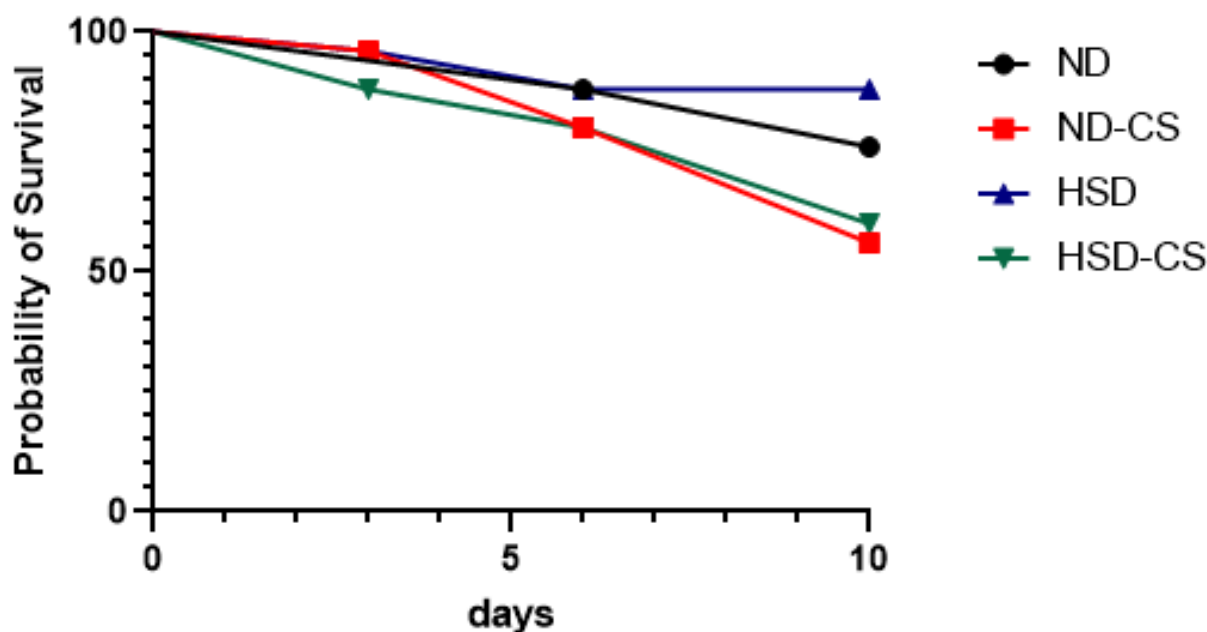
2.9 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από τις δοκιμασίες επιβίωσης, αποξήρανσης, ιοντικού στρες και της μέτρησης βάρους πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό GraphPad Prism v.8.00. Τα δεδομένα που προκύπτουν από την μέτρηση του σωματικού βάρους υποβλήθηκαν σε έλεγχο κανονικότητας, χρησιμοποιώντας το τεστ D'Agostino & Pearson και στη συνέχεια, ανάλογα με το εάν τα δεδομένα ήταν παραμετρικά ή όχι, πραγματοποιήθηκαν παραμετρικά τεστ One way ANOVA ή μη παραμετρικά τεστ Kruskal-Wallis test. Τα δεδομένα αναπαραστήθηκαν ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα μέσου όρου (mean \pm SEM). Τα δεδομένα που προέκυψαν από τις άλλες τρεις δοκιμασίες, αυτές τις επιβίωσης, της ανθεκτικότητας σε αποξήρανση και σε ιοντικό στρες αναλύθηκαν με καμπύλες επιβίωσης Kaplan–Meier.

3.Αποτελέσματα

3.1 Αποτελέσματα Δοκιμασίας Επιβίωσης

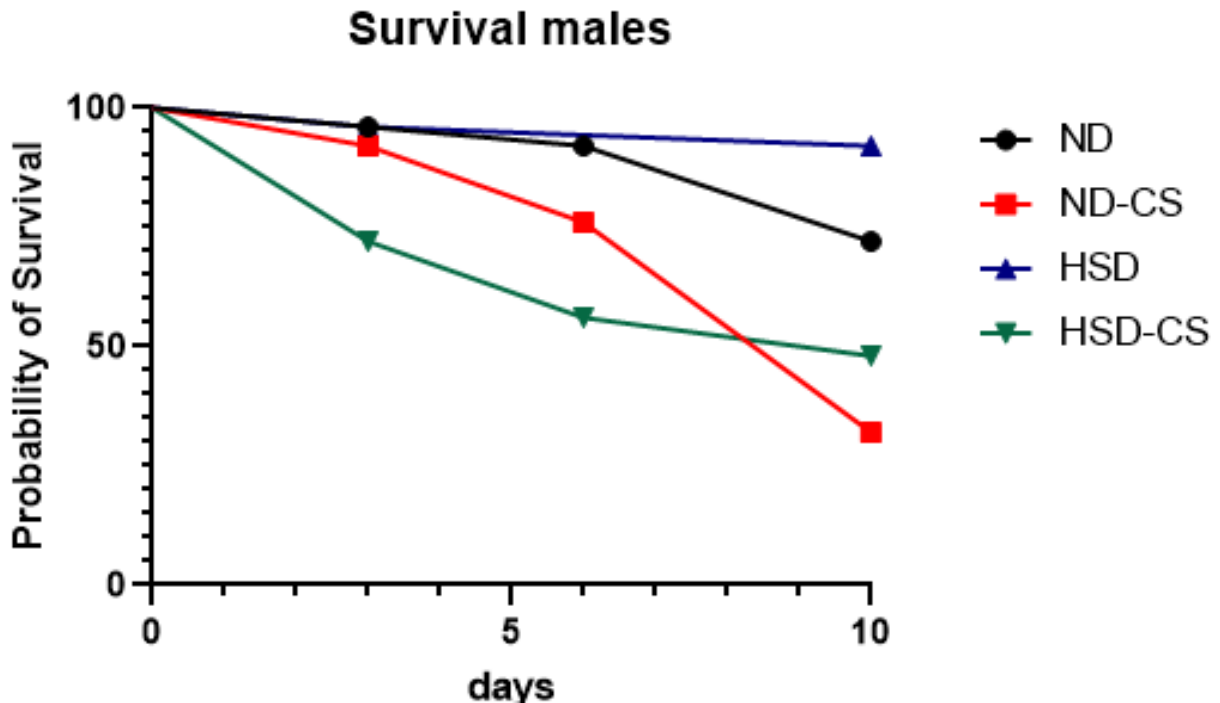
Από την μέτρηση του αριθμού των θηλυκών *Drosophila Melanogaster* που επιβίωσαν σε συνθήκες ND, ND-CS, HSD και HSD-CS μετά το πέρας 10 ημερών προκύπτουν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 1**. Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στον αριθμό των μυγών που επιβίωσαν σε συνθήκες ND με αυτές που επιβίωσαν σε συνθήκες ND-CS ($p=0.1414$), όπως ανάμεσα στις συνθήκες ND με HSD ($p=0.3611$). Ωστόσο, παρατηρείται σημαντικά αυξημένη η πιθανότητα επιβίωσης των μυγών σε HSD συνθήκες σε σχέση με HSD-CS ($p=0.0323$).



Διάγραμμα 1 Καμπύλες επιβίωσης Kaplan–Meier των θηλυκών *Drosophila Melanogaster*. $n=25$, $p = 0.032$ HSD vs. HSD-CS

Από την μέτρηση του αριθμού των αρσενικών *Drosophila Melanogaster* που επιβίωσαν σε συνθήκες ND, ND-CS, HSD και HSD-CS μετά το πέρας 10 ημερών προκύπτουν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 2**. Η σύγκριση της πιθανότητας επιβίωσης μεταξύ των μυγών υπό ND και εκείνων υπό HSD δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,0752$). Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά επιβίωσης μεταξύ των μυγών υπό ND και εκείνων που εκτέθηκαν σε κανονική δίαιτα με έκθεση σε καπνό τσιγάρου (ND-CS) ($p = 0,0062$), με τις τελευταίες να παρουσιάζουν μειωμένη

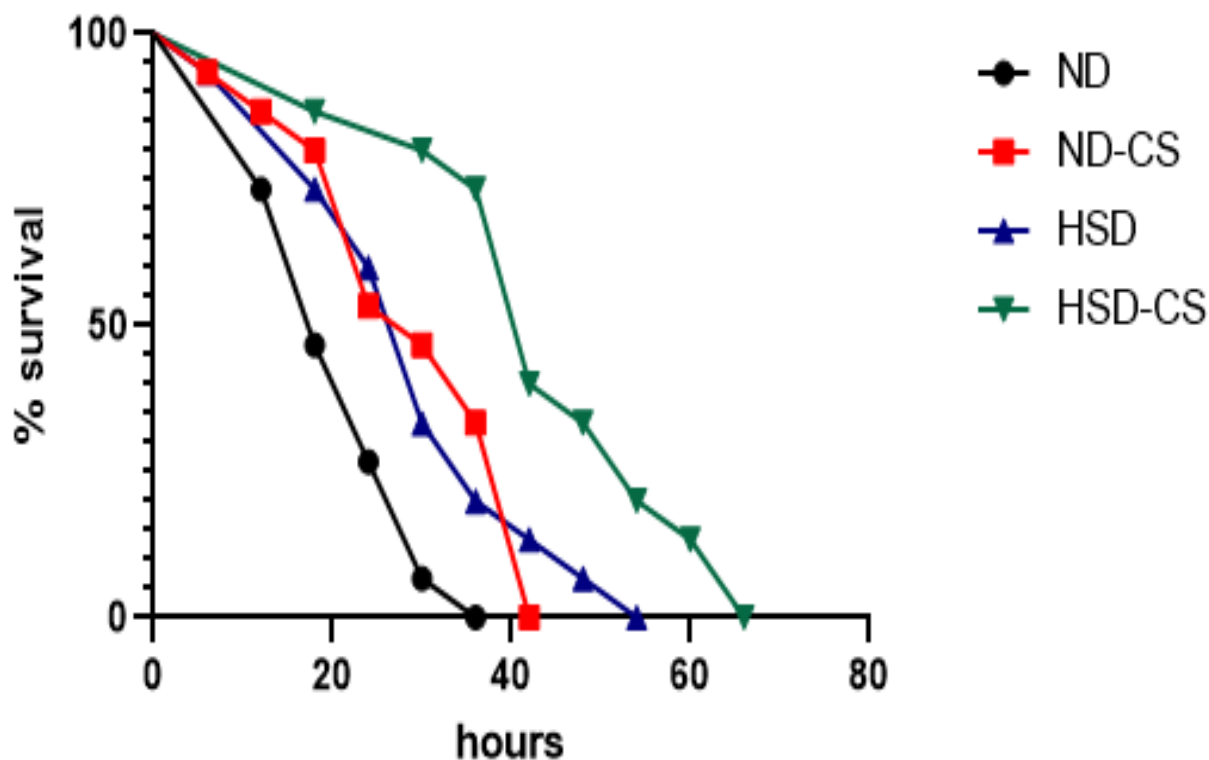
πιθανότητα επιβίωσης. Η σύγκριση της πιθανότητας επιβίωσης ανάμεσα στις μύγες υπό HSD και εκείνων υπό δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και που εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS) αποκάλυψε μια εξαιρετικά στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά επιβίωσης, με αυτές που έχουν εκτεθεί σε καπνό να έχουν λιγότερες πιθανότητες επιβίωσης ($p=0,0006$).



Διάγραμμα 2. Καμπύλες επιβίωσης Kaplan–Meier των αρσενικών *Drosophila Melanogaster*. $n=25$, $p = 0.006$ ND vs. ND-CS, $p = 0.040$ ND vs. HSD, $p < 0.001$ HSD vs. HSD-CS

3.2 Αποτελέσματα Δοκιμασίας Αποξήρανσης

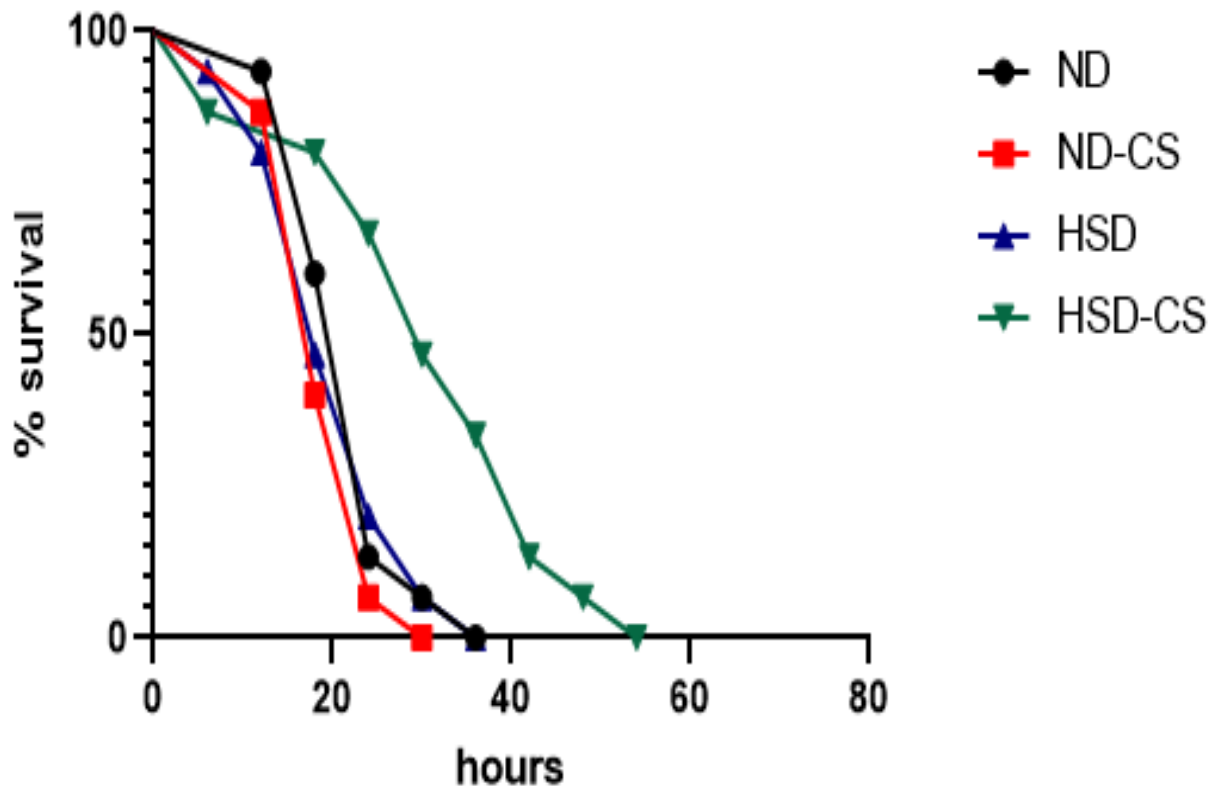
Τα αποτελέσματα από την στατιστική ανάλυση της δοκιμασίας αποξήρανσης για θηλυκές *Drosophila Melanogaster* παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 3**. Η ανάλυση των δεδομένων αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ανθεκτικότητα στην αποξήρανση μεταξύ των τεσσάρων πειραματικών συνθηκών. Η ανθεκτικότητα στην αποξήρανση των θηλυκών που εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου υπό κανονική δίαιτα (ND-CS) ήταν αυξημένη σε σχέση με αυτή των μυγών υπό ND ($p = 0,0012$). Ομοίως, η ανθεκτικότητα στην αποξήρανση μεταξύ των θηλυκών μυγών υπό HSD παρουσιάστηκε αυξημένη σε σχέση με των μυγών υπό ND ($p = 0,0225$). Οι *Drosophila Melanogaster* που εκτέθηκαν σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με καπνό τσιγάρου (HSD-CS) παρουσίασαν αυξημένη ανθεκτικότητα στην δοκιμασία αποξήρανσης σε σχέση με αυτές υπό HSD ($p = 0,005$).



Διάγραμμα 3. Καμπύλες επιβίωσης σε στρες αποξήρανσης Kaplan–Meier των θηλυκών *Drosophila Melanogaster*. $n=15$, $p = 0.001$ ND vs. ND-CS, $p = 0.022$ ND vs. HSD, $p = 0.005$ HSD vs. HSD-CS

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας αποξήρανσης για τις αρσενικές μύγες απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 4**. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αντίσταση στην αποξήρανση μεταξύ των αρσενικών μυγών υπό ND και εκείνων που εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου κανονική διαίτα (ND-CS) ($p = 0,212$). Η σύγκριση μεταξύ των μυγών υπό ND και εκείνων υπό HSD δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αντίσταση στην αποξήρανση ($p = 0,6725$).

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αντίσταση στην ξήρανση μεταξύ των μυγών σε διαίτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και έκθεση σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS) και εκείνων υπό HSD ($p = 0,0043$), με τις τελευταίες να έχουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα.

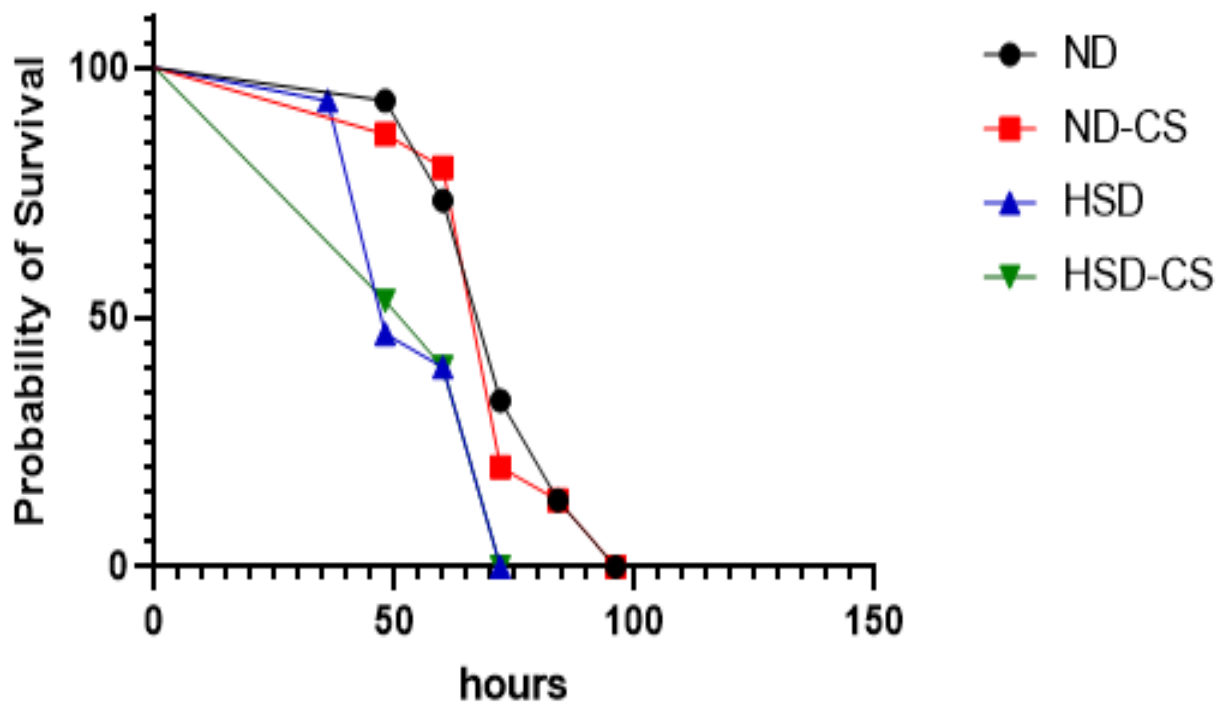


Διάγραμμα 4. Καμπύλες επιβίωσης σε στρες αποξήρανσης Kaplan–Meier των αρσενικών *Drosophila Melanogaster*. $n=15$, $p = 0.006$ HSD vs. HSD-CS

3.3 Αποτελέσματα Δοκιμασίας ιοντικού στρες

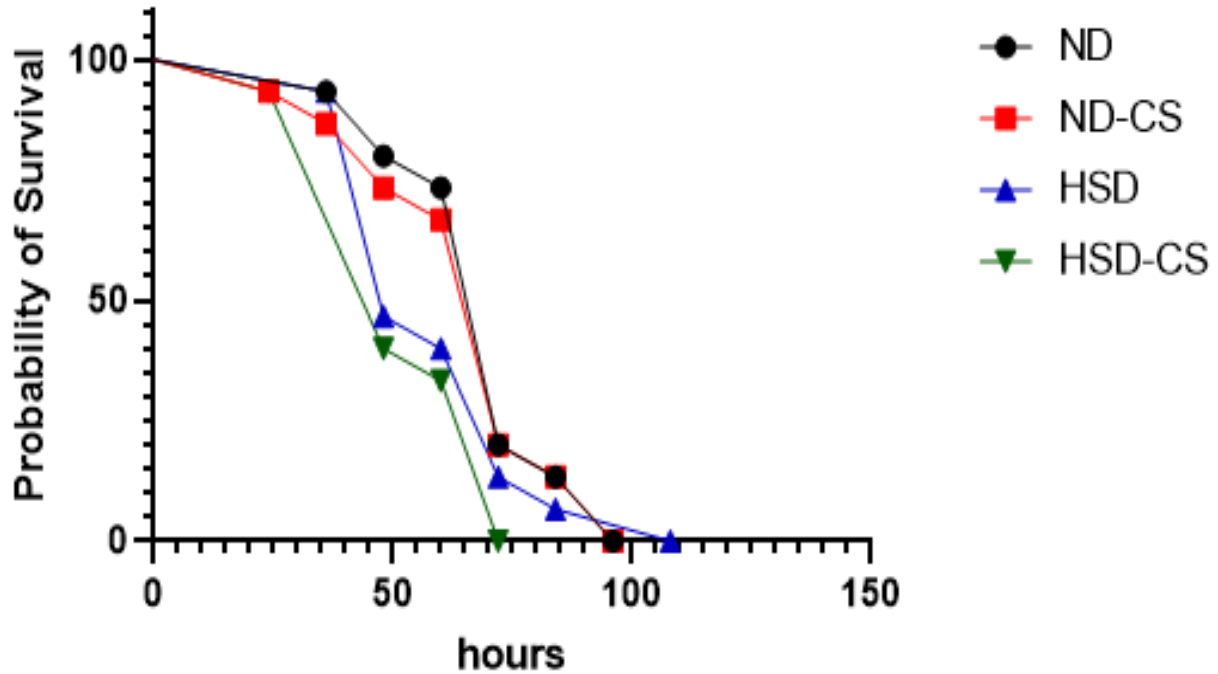
Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας ιοντικού στρες για τις θηλυκές μύγες απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 5**. Η σύγκριση μεταξύ των θηλυκών μυγών υπό ND και εκείνων που εκτέθηκαν σε κανονική διατροφή με καπνό τσιγάρου (ND-CS) δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,8942$). Επίσης η σύγκριση μεταξύ θηλυκών μυγών υπό HSD και εκείνων που εκτέθηκαν σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με καπνό τσιγάρου (HSD-CS) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,8373$).

Οι μύγες υπό HSD παρουσίασαν περισσότερη ευαισθησία στη δοκιμασία ιοντικού στρες σε σχέση με αυτές υπό ND ($p = 0,0057$).



Διάγραμμα 5. Καμπύλες επιβίωσης σε ιοντικό στρες Kaplan–Meier των θηλυκών *Drosophila melanogaster*. $n=15$, $p = 0.006$ ND vs. HSD

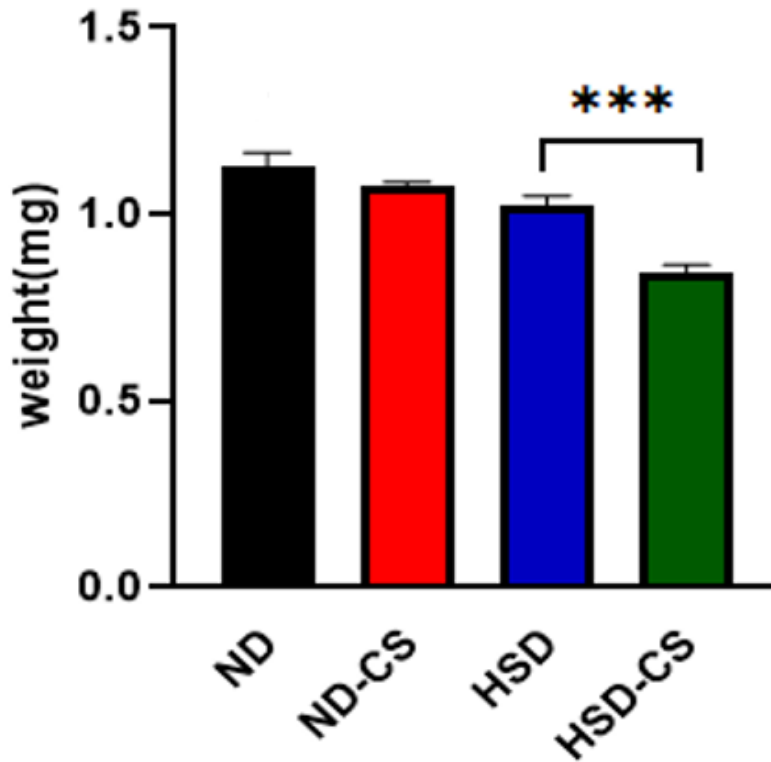
Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας ιοντικού στρες για τις αρσενικές μύγες απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6**. Η σύγκριση μεταξύ των μυγών σε ND και εκείνων που εκτέθηκαν σε κανονική διαίτα με καπνό τσιγάρου (ND-CS) ως προς την ανθεκτικότητα σε ιονικό στρες δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,7888$). Ομοίως, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αρσενικών μυγών υπό ND και εκείνων υπό HSD ($p = 0,2993$). Ούτε η σύγκριση μεταξύ αρσενικών μυγών σε HSD και εκείνων που εκτέθηκαν σε διαίτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με καπνό τσιγάρου (HSD-CS) παρουσίασε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,4012$).



Διάγραμμα 6. Καμπύλες επιβίωσης σε ιοντικό στρες Kaplan–Meier των αρσενικών *Drosophila Melanogaster*. $n=15$

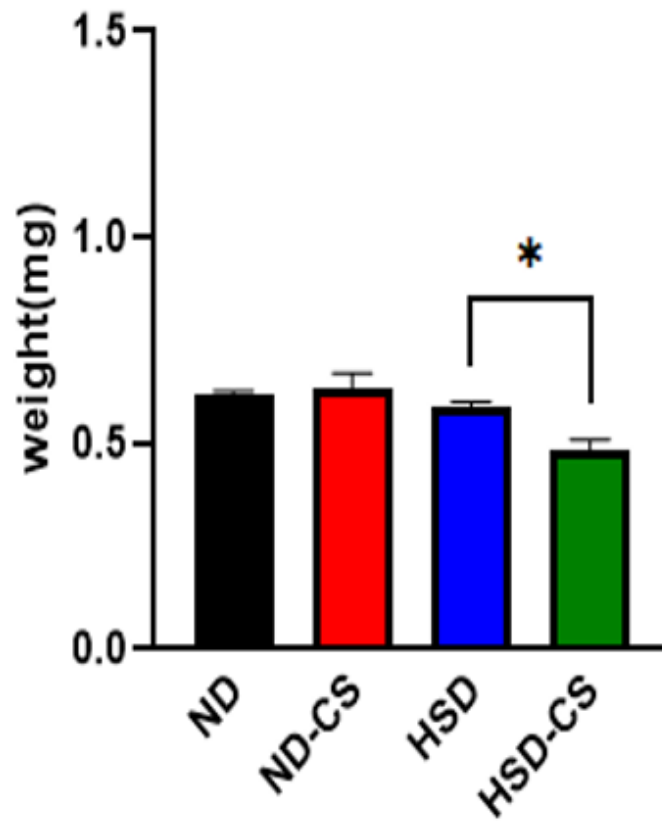
3.4 Αποτελέσματα μέτρησης βάρους

Τα αποτελέσματα για τις θηλυκές *Drosophila Melanogaster* παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 8**. Στην σύγκριση των συνθηκών ND (1.126 ± 0.03970) με ND-CS (1.074 ± 0.01238) και ND (1.126 ± 0.03970) με HSD (1.024 ± 0.02538) δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά. Ωστόσο, το βάρος των μυγών υπό συνθήκες HSD-CS (0.0842 ± 0.02243) παρουσιάστηκε σημαντικά μειωμένο σε σχέση με το βάρος υπό HSD (1.024 ± 0.02538).



Διάγραμμα 1. Μέτρηση βάρους. Βάρος (mg/fly) θηλυκών *Drosophila Melanogaster* Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean ± SEM. *** p<0,001

Τα αποτελέσματα από την μέτρηση βάρους των αρσενικών *Drosophila Melanogaster* παρουσιάζονται στο **Διάγραμμα 7**. Αρχικά δεν προέκυψε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά από την σύγκριση των συνθηκών ND με ND-CS όπως και μεταξύ των συνθηκών ND με HSD. Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε και ανάμεσα στις HSD (0.5871 ± 0.01333) και HSD-CS (0.4818 ± 0.2720) με τις HSD-CS να έχουν μειωμένο σωματικό βάρος ($p=0.0334$)



Διάγραμμα 8. Μέτρηση βάρους. Βάρος (mg/fly) αρσενικών *Drosophila Melanogaster*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM. * $p < 0,01$

4.Συζήτηση

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε ένα *in vivo* μοντέλο που μελετάει τις επιδράσεις του καπνού τσιγάρου στην *Drosophila Melanogaster* σε έδαφος διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη. Ενώ υπάρχουν τόσο μελέτες που μελετούν τις επιπτώσεις του καπνού τσιγάρου στην *Drosophila Melanogaster* [60] όσο και εργασίες που την χρησιμοποιούν για την μελέτη του διαβήτη [57] ένα μοντέλο που να συνδυάζει και τα δύο δεν έχει αναπτυχθεί ακόμα. Στην παρούσα μελέτη, *Drosophila Melanogaster* εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου και σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και μελετήθηκε η επιβίωσή τους, η ανθεκτικότητά τους σε ιοντικό στρες και στρες αποξήρανσης και το σωματικό τους βάρος.

Ο ΣΔΤ2 επηρεάζει το προσδόκιμο ζωής. Στην μελέτη της επιβίωσης, μετρήθηκε και για τις τέσσερις συνθήκες το ποσοστό των μυγών που επιβίωσαν μετά το πέρας των 10 ημερών. Όσον αφορά τις αρσενικές μύγες, η πιθανότητα επιβίωσης παρουσιάστηκε μειωμένη στις συνθήκες ND-CS, HSD-CS σε σχέση με τις συνθήκες ND. Επίσης και οι μύγες που τρεφόταν σε διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και εκτίθενται σε καπνό (HSD-CS) είχαν μειωμένα ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με αυτές που, με το ίδιο θρεπτικό υλικό, δεν εισέπνεαν καπνό. Άρα, η έκθεση σε καπνό τσιγάρου μείωσε την επιβίωση. Η παρατήρηση αυτή συνάδει με την βιβλιογραφία, καθώς σε μελέτη που έγινε έκθεση σε καπνό τσιγάρου στις μύγες, οι μύγες που είχαν εκτεθεί σε καπνό είχαν μειωμένο χρόνο ζωής.[60]

Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στις μύγες που τρεφόταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη σε σχέση με αυτές που τρεφόταν με τυπικό θρεπτικό υλικό. Σε μία άλλη μελέτη που αναπτύχθηκε ένα μοντέλο *Drosophila Melanogaster* για την καρδιομυοπάθεια που προκαλείται από δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη [61] στις πρώτες τρεις εβδομάδες δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα ποσοστά επιβίωσης των μυγών που τρεφόταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη σε σχέση με αυτές που τρεφόταν με τυπικό θρεπτικό υλικό. Ωστόσο, μετά το πέρας των 40 ημερών, είχε επιβιώσει το 40% των μυγών από αυτές που τρεφόταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη, ενώ από αυτές που τρεφόταν με τυπικό θρεπτικό υλικό το 70%. Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, καθώς εδώ οι συνθήκες διαρκούσαν 10 μέρες.

Στις θηλυκές ωστόσο, η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στην σύγκριση των συνθηκών HSD με HSD-CS. Η διαφορά στα αποτελέσματα

ανάμεσα στα δύο φύλα δεν είναι τυχαία. Τα δύο φύλα έχουν μεταβολικές διαφορές, καθώς οι αρσενικές χρειάζονται μεγαλύτερη ποσότητα υδατανθράκων από τις θηλυκές και συνεπώς σε ένα θρεπτικό υλικό πλούσιο σε ζάχαρη, καταναλώνουν περισσότερες ποσότητες. Συνεπώς, τα αποτελέσματα μιας διατροφής πλούσιας σε ζάχαρη είναι πιο εμφανή στις αρσενικές μύγες από ότι στις θηλυκές.[62]

Μία διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη προκαλεί δίψα, και η δίψα είναι ένα από τα συμπτώματα του ΣΔΤ2.[63] Για αυτό τον λόγο μελετήσαμε την ανθεκτικότητα των μυγών στην αποξήρανση και στις τέσσερις πειραματικές συνθήκες. Στις θηλυκές παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ όλων των συνθηκών. Συγκεκριμένα, η ανθεκτικότητα στην αποξήρανση των θηλυκών *Drosophila Melanogaster* παρατηρήθηκε αυξημένη τόσο σε συνθήκες τυπικού θρεπτικού υλικού και έκθεσης σε καπνό τσιγάρου (ND-CS), όσο και σε συνθήκες διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD), σε σχέση με τις συνθήκες τυπικού θρεπτικού υλικού (ND). Στις αρσενικές στις ίδιες συγκρίσεις δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά. Και στα δύο φύλα η ανθεκτικότητα στην αποξήρανση σε συνθήκες θρεπτικού υλικού υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και έκθεση σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS) παρατηρήθηκε αυξημένη, σε σχέση τόσο με τις συνθήκες ND όσο και HSD.

Ως προς τις ώρες που επιβίωσαν σε συνθήκες έλλειψης νερού, οι θηλυκές ήταν πιο ανθεκτικές. Η διαφορά στα δύο φύλα δεν είναι τυχαία, καθώς και μία μελέτη σε *Drosophila kikkawai* υποστηρίζει ότι η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα των θηλυκών μυγών στην αποξήρανση οφείλεται στο ότι αποθηκεύουν μεγαλύτερη ποσότητα υδατανθράκων και τους χρησιμοποιούν κατά την διάρκεια του στρες αποξήρανσης σαν μεταβολίτες.[64]

Η παρατήρηση που προκύπτει από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας ότι σε συνθήκες HSD αυξάνεται η ανθεκτικότητα στην συγκεκριμένη δοκιμασία δεν συμφωνεί με την βιβλιογραφία. Σε μία μελέτη [63] οι μύγες υπό HSD παρουσίασαν περισσότερη ευαισθησία στο στρες αποξήρανσης. Παρατηρήθηκε ότι εάν τους χορηγούταν επιπλέον νερό πριν την έναρξη της δοκιμασίας, η ανθεκτικότητα των μυγών υπό HSD επανερχόταν σχεδόν στα ίδια επίπεδα με τις μύγες υπό ND. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι οι μύγες υπό HSD καταναλώνουν λιγότερο νερό, και συνεπώς είναι πιο αφυδατωμένες στην αρχή της δοκιμασίας και η επιβίωση τους χωρίς νερό γίνεται πιο δύσκολη σε σχέση με την επιβίωση των μυγών υπό τυπικό θρεπτικό υλικό.

Ένας από τους κύριους στόχους φωσφορυλίωσης του TOR μονοπατιού είναι ο αναστολέας της μετάφρασης 4E-BP. Δρα σαν ρυθμιστής του μεταβολισμού υπό συνθήκες στρες, καθώς μύγες που δεν εκφράζουν αυτόν τον αναστολέα έχουν μειωμένη επιβίωση σε συνθήκες στρες. Όταν οι μύγες έχουν υποστεί θρεπτικό στρες, όπως είναι οι συνθήκες HSD, ο 4EBP προκαλεί αυξημένη μιτοχονδριακή λειτουργία και η διάρκεια ζωής του οργανισμού παρατείνεται, σε συνθήκες στρες. Αυτός ο μηχανισμός θα μπορούσε να εξηγήσει την αυξημένη ανθεκτικότητα των μυγών υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη.[65]

Μελετήθηκε επίσης η ανθεκτικότητα των μυγών σε ιοντικό στρες. Και στα δύο φύλα βρέθηκε ότι η έκθεση σε καπνό δεν επηρεάζει την ανθεκτικότητα σε αυτό το στρες, και στα δύο είδη διατροφών. Οι θηλυκές *Drosophila Melanogaster* παρουσίασαν μεγαλύτερη ευαισθησία υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD) και υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με έκθεση σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS) σε σχέση με συνθήκες τυπικού θρεπτικού υλικού (ND). Συνεπώς, η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη μειώνει την ανθεκτικότητα στο ιοντικό στρες, όπως ακριβώς και σε μία άλλη μελέτη που είχε διενεργηθεί. [63] Ο καπνός δεν επηρεάζει την ανθεκτικότητα στο ιοντικό στρες. Οι αρσενικές *Drosophila Melanogaster*, υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με έκθεση σε καπνό τσιγάρου (HSD-CS) ήταν πιο ανθεκτικές από αυτές σε τυπικό θρεπτικό υλικό, αλλά όχι από αυτές υπό διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη (HSD), καθώς εκεί δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά.

Τόσο το κάπνισμα όσο και μία διατροφή πλούσια σε ζάχαρη επηρεάζει το βάρος στους ανθρώπους. Για αυτό μελετήθηκε η επίδραση μιας διατροφής πλούσιας σε ζάχαρη και του καπνού τσιγάρου στο σωματικό βάρος των μυγών. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις μύγες που καταναλώναν μία διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη σε σχέση με αυτές που τρεφόταν με τυπικό θρεπτικό υλικό. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και σε μία μελέτη που χρησιμοποιεί την *Drosophila Melanogaster* για να δημιουργήσει μοντέλο για την παχυσαρκία και τον ΣΔΤ2. Ομοίως και σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιείται διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη, τα αποτελέσματα όμως δεν δείχνουν κάποια αύξηση του σωματικού βάρους στις μύγες που εκτέθηκαν σε αυτή την διατροφή.[57] Η ποσότητα του ιστού του λιπώδους σώματος φαίνεται να είναι η ίδια, οι μύγες που τρέφονται με HSD έχουν μεγαλύτερα σταγονίδια αποθήκευσης λίπους, γεγονός που μπορεί να εξηγήει το σταθερό σωματικό βάρος. [52] Μάλιστα η ίδια μελέτη έδειξε ότι μύγες που υπό HSD διατροφή κατά τα αναπτυξιακά τους στάδια έχουν μειωμένο σωματικό βάρος. Η διαφορά στην

μορφολογία και το μειωμένο σωματικό βάρος κατά την ανάπτυξη ερμηνεύεται από το γεγονός ότι μία δίαιτα πλούσια σε ζάχαρη είναι μία μορφή στρες.[66]

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δεν έδειξαν κάποια μείωση του σωματικού βάρους ανάμεσα στις μύγες που εκτέθηκαν σε καπνό τσιγάρου και σε αυτές που δεν εκτέθηκαν. Αυτή η παρατήρηση δεν συνάδει με την βιβλιογραφία, καθώς σε μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί σε *Drosophila Melanogaster* που έχουν εκτεθεί σε καπνό τσιγάρου, μέσω της εισπνοής έχουν παρατηρηθεί χαμηλά επίπεδα σωματικού λίπους.[60]

Το βάρος των μυγών παρουσίασε μείωση μόνο σε συνθήκες υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και έκθεσης σε καπνό τσιγάρου. Έχει βρεθεί ότι σε άτομα με διαβήτη το κάπνισμα επιδείνωσε την ανοχή στην γλυκόζη και τον δείκτη ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Επίσης παρατηρήθηκε ότι η συνολική διάθεση γλυκόζης στο σώμα ήταν μειωμένη στους καπνιστές σε σύγκριση με εκείνους που δεν καπνίζουν και η λειτουργία των β-κυττάρων εξασθενημένη. Συνεπώς, παρόλο που το κάπνισμα γενικά συνδέεται με απώλεια βάρους σε υγιή άτομα, στους ασθενείς με διαβήτη αλλάζει την σωματική τους διάπλαση και την κατανομή του λίπους.[67]

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν σημαντικές ομοιότητες και διαφορές που έχει η επίδραση της HSD σε αρσενικές και θηλυκές *Drosophila Melanogaster* που εκτίθενται σε καπνό τσιγάρου. Αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν σε μελλοντικές μελέτες που θα εστιάζουν στα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της έκθεσης *Drosophila Melanogaster* σε καπνό τσιγάρου σε έδαφος ΣΔΤ2 επαγόμενου από HSD.

5. Βιβλιογραφία

1. González Olmo BM, Butler MJ, Barrientos RM. Evolution of the Human Diet and Its Impact on Gut Microbiota, Immune Responses, and Brain Health. *Nutrients*. 2021 Jan 10;13(1):196.
2. Shively CA, Appt SE, Vitolins MZ, Uberseder B, Michalson KT, Silverstein-Metzler MG, Register TC. Mediterranean versus Western Diet Effects on Caloric Intake, Obesity, Metabolism, and Hepatosteatosis in Nonhuman Primates. *Obesity (Silver Spring)*. 2019 May;27(5):777-784.
3. Kennedy G, Nantel G, Shetty P, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Globalization of food systems in developing countries: impact on food security and nutrition. *FAO Food Nutr Pap*. 2004;83:1–300.
4. Bustamante-Sanchez A, Villegas-Mora BE, Martínez-Guardado I, Tornero-Aguilera JF, Ardigò LP, Nobari H, et al. Physical Activity and Nutritional Pattern Related to Maturation and Development. *Sustainability*. 2022 Dec 17;14(24):16958.
5. Kopp W. How Western Diet And Lifestyle Drive The Pandemic Of Obesity And Civilization Diseases. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019 Oct 24;12:2221-2236. doi: 10.2147/DMSO.S216791. PMID: 31695465; PMCID: PMC6817492.
6. Zinöcker MK, Lindseth IA. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*. 2018 Mar 17;10(3):365.
7. Rakhra V, Galappaththy SL, Bulchandani S, Cabandugama PK. Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Mo Med*. 2020;117(6):536–8.
8. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002 Feb 7;346(6):393–403.
9. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*. 2001 Sep 13;345(11):790–7.
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed diabetes--United States, 1988-1994 and 1999-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2004 Nov 19;53(45):1066–8.
11. Rother KI. Diabetes treatment--bridging the divide. *N Engl J Med*. 2007 Apr 12;356(15):1499–501.
12. Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2007 Aug;117(8):2155–63.
13. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007 Feb 22;445(7130):881–5.
14. Travers ME, Mackay DJG, Dekker Nitert M, Morris AP, Lindgren CM, Berry A, et al. Insights into the molecular mechanism for type 2 diabetes susceptibility at the KCNQ1

- locus from temporal changes in imprinting status in human islets. *Diabetes*. 2013 Mar;62(3):987–92.
15. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primer*. 2015 Jul 23;1:15019.
 16. Gupta D, Leahy JL. Islet amyloid and type 2 diabetes: overproduction or inadequate clearance and detoxification? *J Clin Invest*. 2014 Aug;124(8):3292–4.
 17. DeFronzo RA. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2009 Apr;58(4):773–95.
 18. Ahmad E, Lim S, Lamptey R, Webb DR, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet Lond Engl*. 2022 Nov 19;400(10365):1803–20.
 19. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet Lond Engl*. 2017 Jun 3;389(10085):2239–51.
 20. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022 Jan;183:109119.
 21. Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo NC, Ruiz PLD, Sacre JW, Karuranga S, et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022 Jan;183:109118.
 22. Davies MJ, Aroda VR, Collins BS, Gabbay RA, Green J, Maruthur NM, et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2022. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2022 Nov 1;45(11):2753–86.
 23. García-Molina L, Lewis-Mikhael AM, Riquelme-Gallego B, Cano-Ibáñez N, Oliveras-López MJ, Bueno-Cavanillas A. Improving type 2 diabetes mellitus glycaemic control through lifestyle modification implementing diet intervention: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr*. 2020 Jun;59(4):1313–28.
 24. Daousi C, Casson IF, Gill GV, MacFarlane IA, Wilding JPH, Pinkney JH. Prevalence of obesity in type 2 diabetes in secondary care: association with cardiovascular risk factors. *Postgrad Med J*. 2006 Apr;82(966):280–4.
 25. Siopis G, Colagiuri S, Allman-Farinelli M. Effectiveness of dietetic intervention for people with type 2 diabetes: A meta-analysis. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2021 Dec;40(5):3114–22.
 26. Battista F, Ermolao A, van Baak MA, Beaulieu K, Blundell JE, Busetto L, et al. Effect of exercise on cardiometabolic health of adults with overweight or obesity: Focus on blood pressure, insulin resistance, and intrahepatic fat-A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. 2021 Jul;22 Suppl 4(Suppl 4):e13269.
 27. Gjermani E, Kirstein AS, Kolbig F, Kirchhof M, Bundalian L, Katzmann JL, et al. Obesity- An Update on the Basic Pathophysiology and Review of Recent Therapeutic Advances. *Biomolecules*. 2021 Sep 29;11(10):1426.

28. Aitlhadj L, Avila DS, Benedetto A, Aschner M, Stürzenbaum SR. Environmental exposure, obesity, and Parkinson's disease: lessons from fat and old worms. *Environ Health Perspect*. 2011 Jan;119(1):20–8.
29. Masood B, Moorthy M. Causes of obesity: a review. *Clin Med*. 2023 Jul;23(4):284–91.
30. Wadden TA, Tronieri JS, Butryn ML. Lifestyle modification approaches for the treatment of obesity in adults. *Am Psychol*. 2020 Feb;75(2):235–51.
31. Chakhtoura M, Haber R, Ghezzawi M, Rhayem C, Tcheroyan R, Mantzoros CS. Pharmacotherapy of obesity: an update on the available medications and drugs under investigation. *EClinicalMedicine*. 2023 Apr;58:101882.
32. Arterburn DE, Telem DA, Kushner RF, Courcoulas AP. Benefits and Risks of Bariatric Surgery in Adults: A Review. *JAMA*. 2020 Sep 1;324(9):879.
33. Chobot A, Górowska-Kowolik K, Sokołowska M, Jarosz-Chobot P. Obesity and diabetes--Not only a simple link between two epidemics. *Diabetes Metab Res Rev*. 2018 Oct;34(7):e3042.
34. Boutari C, DeMarsilis A, Mantzoros CS. Obesity and diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2023 Aug;202:110773.
35. Stratton K, Shetty P, Wallace R, Bondurant S. Clearing the smoke: the science base for tobacco harm reduction--executive summary. *Tob Control*. 2001 Jun;10(2):189–95.
36. Kałucka S. Consequences of passive smoking in home environment. *Przegl Lek*. 2007;64(10):632–41.
37. American Academy of Pediatrics. Involuntary smoking--a hazard to children. Committee on Environmental Hazards. *Pediatrics*. 1986 Dec;77(5):755–7.
38. Pitts M, Jackson H. Press coverage of AIDS in Zimbabwe: a five-year review. *AIDS Care*. 1993;5(2):223–30.
39. Brunnemann KD, Hoffmann D. Chemical studies on tobacco smoke LIX. Analysis of volatile nitrosamines in tobacco smoke and polluted indoor environments. *IARC Sci Publ*. 1978;(19):343–56.
40. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US) Office on Smoking and Health. *The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General*. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014.
41. Rigotti NA, Kruse GR, Livingstone-Banks J, Hartmann-Boyce J. Treatment of Tobacco Smoking: A Review. *JAMA*. 2022 Feb 8;327(6):566–77.
42. Tiwari AK, Pragya P, Ravi Ram K, Chowdhuri DK. Environmental chemical mediated male reproductive toxicity: *Drosophila Melanogaster* as an alternate animal model. *Theriogenology*. 2011 Jul;76(2):197–216.

43. Ugur B, Chen K, Bellen HJ. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Dis Model Mech*. 2016 Mar 1;9(3):235–44.
44. Yamaguchi M, Yoshida H. *Drosophila* as a Model Organism. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1076:1-10. doi: 10.1007/978-981-13-0529-0_1.
45. Hales KG, Korey CA, Larracuente AM, Roberts DM. Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System. *Genetics*. 2015 Nov 1;201(3):815–42.
46. Ong C, Yung LYL, Cai Y, Bay BH, Baeg GH. *Drosophila Melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*. 2015 Apr 3;9(3):396–403.
47. Schmitt S, Ugrankar R, Greene SE, Prajapati M, Lehmann M. *Drosophila* Lipin interacts with insulin and TOR signaling pathways in the control of growth and lipid metabolism. *J Cell Sci*. 2015 Dec 1;128(23):4395-406.
48. Birnbaum A, Wu X, Tatar M, Liu N, Bai H. Age-Dependent Changes in Transcription Factor FOXO Targeting in Female *Drosophila*. *Front Genet*. 2019 May 7;10:312.
49. Potter CJ, Pedraza LG, Xu T. Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nat Cell Biol*. 2002 Sep;4(9):658–65.
50. Hennig KM, Colombani J, Neufeld TP. TOR coordinates bulk and targeted endocytosis in the *Drosophila Melanogaster* fat body to regulate cell growth. *J Cell Biol*. 2006 Jun 19;173(6):963–74.
51. Park S, Bustamante EL, Antonova J, McLean GW, Kim SK. Specification of *Drosophila* Corpora Cardiac Neuroendocrine Cells from Mesoderm Is Regulated by Notch Signaling. Perrimon N, editor. *PLoS Genet*. 2011 Aug 25;7(8):e1002241.
52. Musselman LP, Kühnlein RP. *Drosophila* as a model to study obesity and metabolic disease. Suarez RK, Hoppeler HH, editors. *J Exp Biol*. 2018 Mar 7;221(Suppl_1):jeb163881.
53. Koyama T, Texada MJ, Halberg KA, Rewitz K. Metabolism and growth adaptation to environmental conditions in *Drosophila*. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2020 Nov;77(22):4523–51.
54. Musselman LP, Fink JL, Baranski TJ. Similar effects of high-fructose and high-glucose feeding in a *Drosophila* model of obesity and diabetes. *PloS One*. 2019;14(5):e0217096.
55. Musselman LP, Fink JL, Narzinski K, Ramachandran PV, Hathiramani SS, Cagan RL, et al. A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis Model Mech*. 2011 Nov;4(6):842–9.
56. Santalla M, Pagola L, Gómez I, Balcazar D, Valverde CA, Ferrero P. Smoking flies: testing the effect of tobacco cigarettes on heart function of *Drosophila Melanogaster*. *Biol Open*. 2021 Feb 15;10(2):bio055004.
57. Baenas N, Wagner AE. *Drosophila Melanogaster* as a Model Organism for Obesity and Type-2 Diabetes Mellitus by Applying High-Sugar and High-Fat Diets. *Biomolecules*. 2022 Feb 14;12(2):307.

58. Zandawala M, Marley R, Davies SA, Nässel DR. Characterization of a set of abdominal neuroendocrine cells that regulate stress physiology using colocalized diuretic peptides in *Drosophila*. *Cell Mol Life Sci*. 2018 Mar;75(6):1099–115.
59. Kubrak OI, Lushchak OV, Zandawala M, Nässel DR. Systemic corazonin signalling modulates stress responses and metabolism in *Drosophila*. *Open Biol*. 2016 Nov;6(11):160152.
60. Prange R, Thiedmann M, Bhandari A, Mishra N, Sinha A, Häsler R, et al. A *Drosophila* model of cigarette smoke induced COPD identifies Nrf2 signaling as an expedient target for intervention. *Aging*. 2018 Aug 27;10(8):2122–35.
61. Na J, Musselman LP, Pendse J, Baranski TJ, Bodmer R, Ocorr K, et al. A *Drosophila* Model of High Sugar Diet-Induced Cardiomyopathy. *PLoS Genet*. 2013 Jan 10;9(1):e1003175.
62. Chandegra B, Tang JLY, Chi H, Alic N. Sexually dimorphic effects of dietary sugar on lifespan, feeding and starvation resistance in *Drosophila*. *Aging*. 2017 Dec 4;9(12):2521–8.
63. van Dam E, van Leeuwen LAG, dos Santos E, James J, Best L, Lennicke C, et al. Sugar-Induced Obesity and Insulin Resistance Are Uncoupled from Shortened Survival in *Drosophila*. *Cell Metab*. 2020 Apr 7;31(4):710-725.e7.
64. Parkash R, Ranga P. Sex-specific divergence for adaptations to dehydration stress in *Drosophila kikkawai*. *J Exp Biol*. 2013 Sep 1;216(Pt 17):3301–13.
65. Rajan A, Perrimon N. Of flies and men: insights on organismal metabolism from fruit flies. *BMC Biol*. 2013 Apr 15;11:38.
66. Wang L, Clark AG. Physiological genetics of the response to a high-sucrose diet by *Drosophila Melanogaster*. *Biochem Genet*. 1995 Jun;33(5–6):149–65.
67. Maddatu J, Anderson-Baucum E, Evans-Molina C. Smoking and the Risk of Type 2 Diabetes. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2017 Jun;184:101–7.

Βιογραφικό σημείωμα

Προσωπικά Στοιχεία

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Ραχωβίτσα Άννα

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 08/12/1999

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: Λάρισα

ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ: Λάρισα

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΤΑΧΥΔΡΟΜΕΙΟΥ: arachovitsa@uth.gr

ΓΝΩΣΗ Η/Υ: C, Java, Python, SQL (mySQL), Perl, R, MATLAB/Octave, Linux, MS Office

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ:

- Αγγλικά (C2 Proficiency, Cambridge University)
- Γαλλικά (Diplôme de langue et littérature françaises C2, Université Paris-Sorbonne)

Εκπαίδευση

Πτυχίο του Τμήματος Πληροφορικής με εφαρμογές στην Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας(2017-2022)

Βαθμός: 6,67(Λίαν Καλώς)

Επιμόρφωση

Training School on “Introduction to Bayesian Disease Measurement (BDM) for Health scientists”, 2022

Δημοσιεύσεις

Α.Ραχωβίτσα, Σ.Ζαρογιάννης. Μέθοδοι μαθηματικής μοντελοποίησης σε *in vitro* μελέτες καρκίνου. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής (έγινε αποδεκτή για δημοσίευση)