

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ - ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΑ
ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΥΣ ΚΑΙ
ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Γεωργία Χ. Κατσογριδάκη
Διαιτολόγος – Διατροφολόγος

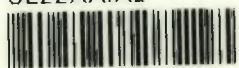
ΛΑΡΙΣΑ 2009



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 6998/1
Ημερ. Εισ.: 19-03-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιδετικός Κωδικός: Δ
616.398
ΚΑΤ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087337



Εικ: η Αφροδίτη του Willendorf

Τίτλος: *Μελέτη επιπέδων λεπτίνης σε ασθενείς με διάφορα επίπεδα παχυσαρκίας και συσχέτιση με κλινικούς, μεταβολικούς και ανθρωπομετρικούς παράγοντες.*

Τριμελής Επιτροπή

1. Σταθόπουλος Κωνσταντίνος: Αν. Καθηγητής Βιοχημείας, Τμ. Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπων καθηγητής.
2. Μπαλατσός Νικόλαος: Λέκτορας Βιοχημείας, Τμ. Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
3. Κοντού Μαρία: Λέκτορας Κλινικής Χήμειας, Τμ. Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Πίνακας περιεχομένων

Περιεχόμενα.....	3
Περίληψη	5
Abstract.....	6
1. Εισαγωγή.....	7
1.1 Ορισμός – Αξιολόγηση της παχυσαρκίας.....	7
1.2 Αιτιοπαθογένεια της παχυσαρκίας.....	8
1.2.1 Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	8
1.2.2 Ψυχολογικοί, κοινωνικοί παράγοντες.....	8
1.2.3 Ενδοκρινολογικοί παράγοντες	9
1.2.4 Λοιποί παράγοντες	9
1.3 Λεπτίνη.....	10
1.3.1 Ρύθμιση Έκκρισης.....	11
1.3.2 Ο 24ωρος κύκλος της λεπτίνης.....	13
1.3.3 Το γονίδιο της λεπτίνης	13
1.3.4 Ο υποδοχέας της λεπτίνης (Ob-R)	14
1.3.5 Βιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης.....	16
1.3.6 Μελέτες στους ανθρώπους	17
1.3.7 Δράση λεπτίνης.....	17
Σκοπός.....	19
2. Υλικά και μέθοδοι	21
2.1 Αντιδραστήρια	21
2.1.1 Προσδιορισμός τριγλυκεριδίων	21
2.1.2 Προσδιορισμός χοληστερίνης	21
2.1.3 Προσδιορισμός LDL, HDL	21
2.1.4 Προσδιορισμός CRP	22
2.1.5 Αντιδραστήρια Leptin EIA Kit.....	22
2.2 Μέθοδοι.....	22
2.2.1 Επιλογή ασθενών.....	22
2.2.2 Δίαιτα λεπτίνης.....	24
2.2.3 Μέθοδος λιπομέτρησης	25
2.2.4 Προσδιορισμός τριγλυκεριδίων με ενζυμική μέθοδο.....	26

2.2.5 Προσδιορισμός ολικής χοληστερίνης με ενζυμική μέθοδο	26
2.2.6 Προσδιορισμός λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών ορού	27
2.2.7 Προσδιορισμός HDL, LDL	27
2.2.8 Προσδιορισμός CRP σε ορό	28
2.2.9 Προσδιορισμός επιπέδων λεπτίνης αίματος με τη μέθοδο ELISA	28
2.2.9.1 Προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων	29
2.2.9.2 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης.....	30
2.2.9.3 Μέθοδος ELISA	30
3. Αποτελέσματα και συζήτηση	32
3.1 Συνολική ανάλυση των μελετούμενων παραμέτρων ανά ομάδα.....	35
3.1.1 Συσχέτιση λεπτίνης και C – αντιδρώσας πρωτεΐνης.	43
3.1.2 Συσχέτιση C – αντιδρώσας πρωτεΐνης και φερριτίνης με τα επίπεδα λεπτίνης ορού ως παράγοντες φλεγμονής.....	43
3.1.3 Συσχέτιση λεπτίνης και γλυκόζης	47
3.1.3 Συσχέτιση λεπτίνης και λοιπών δεικτών	52
3.2 Επίλογος.....	52
4. Βιβλιογραφία.....	54
5. Παράρτημα	63

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο υψηλός επιπολασμός της νοσογόνου παχυσαρκίας, καθώς και το μεγάλο ανθρώπινο αλλά και οικονομικό κόστος της πάθησης αυτής, υπογραμμίζουν την ανάγκη προαγωγής των διαθέσιμων θεραπευτικών μέσων καθώς και την ανάγκη για βαθύτερη κατανόηση των φυσιολογικών διεργασιών που εξισορροπούν την κατανάλωση με την πρόσληψη της διατροφικής ενέργειας. Το κύριο σήμα που βοηθά στο καθορισμό του μεγέθους της ενεργειακής πρόσληψης, δίδεται από τη λεπτίνη και αυτό καθορίζεται από τις διαθέσιμες αποθήκες ενέργειας στον οργανισμό. Στη νοσογόνο παχυσαρκία, αυτή η δράση της λεπτίνης παρακωλύεται, μία κατάσταση που ονομάζεται αντίσταση στην λεπτίνη.

Από την ανακάλυψη της λεπτίνης το 1994, γίνονται προσπάθειες για την αποσαφήνιση του ρόλου του πεπτιδίου αυτού σε πειραματόζωα και ανθρώπους. Μέσω των ραδιοαναστολογικών μεθόδων (Radio immunoassay – RIA), έχουν συγκεντρωθεί σημαντικά δεδομένα από κλινικές μελέτες σε ότι αφορά στη σχέση της λεπτίνης με ανθρωπομετρικούς, μεταβολικούς και ορμονικούς παράγοντες, τόσο σε φυσιολογικό όσο και σε παθοφυσιολογικό επίπεδο. Τα επίπεδα της στον ορό είναι αυξημένα επί νοσογόνου παχυσαρκίας, γεγονός που φυσιολογικά θα έπρεπε να συνδυάζεται με μειωμένη πρόσληψη τροφής. Στη βιβλιογραφία φαίνεται πως υπάρχει ομοφωνία στο ότι τα επίπεδα ορού της λεπτίνης συνδέονται με την λιπώδη μάζα σώματος, ωστόσο η σχέση αυτή εξηγεί μερικώς την ποικιλομορφία στα επίπεδα ορού λεπτίνης. Πολλές προσπάθειες καταβάλλονται για την διαλεύκανση των παραγόντων που ρυθμίζουν τη συγκέντρωση της στον ορό, και κατά συνέπεια για την διαλεύκανση του παθοφυσιολογικού ρόλου της στη νοσογόνο παχυσαρκία. Τα αποτελέσματα επί του παρόντος είναι αντιφατικά, πιθανώς λόγω της μεγάλης ετερογένειας και του μεγάλου εύρους του δείκτη μάζα σώματος (ΔΜΣ) των ασθενών καθώς και τις διαφορές τους σε επίπεδο πληθυσμού, στις διάφορες μελέτες.

Στη παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η συσχέτιση, σε μία ομάδα ασθενών με διαφορετικούς δείκτες μάζας σώματος, των επιπέδων λεπτίνης στον ορό, με ανθρωπομετρικούς και παθοβιοχημικούς δείκτες και έγινε διερεύνηση της σχέσης των τιμών λεπτίνης αίματος με βιοχημικούς δείκτες που σχετίζονται με την εκδήλωση φλεγμονωδών παθήσεων και την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων.

ABSTRACT

The prevalence of obesity, and the human and economic costs of the disease, creates a need for better therapeutics and better understanding of the physiological processes that balance energy intake and energy expenditure. Leptin is the primary signal from energy stores and exerts negative feedback effects on energy intake. In common obesity, leptin loses the ability to inhibit energy intake and increase energy expenditure; this is termed leptin resistance.

After the discovery of leptin in 1994, efforts have been made to elucidate the pathophysiological role of this peptide in experimental animals and in humans; the availability of radio immunoassay (RIA) methods for this peptide hormone produced by adipose tissue, have led to an impressive accumulation of clinical studies on the relationships between leptin and anthropometric, metabolic and hormonal parameters in physiological and pathological conditions. Serum concentrations are elevated in human obesity suggesting a condition of resistance to this peptide, which would normally be associated with reduced food intake. There is general agreement that serum leptin concentrations correlate with body fat mass; however, this correlation accounts only partially for the variability in serum leptin concentrations. Attempts have been made to gain insight into the determinants of leptin concentrations, and thus, into the pathophysiological meaning of leptin in human obesity. Results have been partially conflicting with some of these inconsistencies, possibly due to different ranges of patients' body mass index (BMI) and gender ratio in the different series. The aim of the present study was to re-evaluate, in a series of patients with various body mass index, and different anthropometric and metabolic factors related with serum leptin concentrations and to test the hypothesis that leptin concentrations may be associated with factors other than the absolute amount of adipose tissue such as cholesterol, glucose, and possibly with metabolic risk factors for cardiovascular disease.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ορισμός – Αξιολόγηση της παχυσαρκίας

Με τον όρο παχυσαρκία, αναφερόμαστε στην παθολογική αύξηση του σωματικού λίπους και όχι κατ' ανάγκη του σωματικού βάρους ή την υπέρβαση του ιδανικού σωματικού βάρους κατά 20%. Ιδανικό σωματικό βάρος, είναι εκείνο που θεωρείται ότι δίνει στο άτομο τον μεγαλύτερο προσδόκιμο χρόνο επιβίωσης και σχετίζεται με το φύλο, την ηλικία και το ύψος¹. Ο τρόπος με τον οποίο κατηγοριοποιείται ένα άτομο ως παχύσαρκο ή μη, είναι η χρήση του «Δείκτη Μάζας Σώματος» (Body Mass Index, BMI), μία τιμή που προκύπτει από τη διαίρεση του βάρους του σώματος (σε κιλά) προς το τετράγωνο του ύψους (σε μέτρα)¹.

Δείκτης Μάζας Σώματος (Body Mass Index: BMI)

$$\text{BMI} = \text{Βάρος}(\text{kg}) / \text{Υψος}^2(\text{m}^2)$$

Τα όρια του BMI βάσει της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, φαίνονται στον Πίνακα 1.

BMI		Κίνδυνος Νοσηρότητας
Ελλιποβαρής	<18,5	Χαμηλός
«Φυσιολογικό» σωματικό βάρος	18,5-24,9	Μέσος
Σωματικό υπέρβαρο	25-29,9	Αυξημένος
Παχυσαρκία βαθμού α'	30-34,9	Πολύ αυξημένος
Παχυσαρκία βαθμού β'	35-39,9	Σοβαρός
Νοσογόνος παχυσαρκία βαθμού γ'	>40	Πολύ σοβαρός

Πίνακας 1: Τα όρια BMI βάσει της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας¹.

Η μέτρηση της περιμέτρου της μέσης ή το πηλίκο της περιμέτρου των ισχίων (WHR)² είναι ένας απλός, αλλά εξαιρετικά χρήσιμος δείκτης (μέθοδος αξιολόγησης) της κατανομής του λίπους στην καθημερινή κλινική πράξη.^{3,4,5} Ο πίνακας που ακολουθεί (Πίνακας 2), δείχνει το σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων.

	Αυξημένος Κίνδυνος	Πολύ αυξημένος κίνδυνος
Άνδρες Περίμετρος μέσης (WHR)	>94cm >0,85cm	>102cm >1,0cm
Γυναίκες Περίμετρος μέσης (WHR)	>80cm >0,70cm	88cm 0,85cm

Πίνακας 2: Περίμετρος μέσης και WHR σε ενήλικους άνδρες και γυναίκες.

1.2 Αιτιοπαθογένεια της παχυσαρκίας.

Τα αίτια εμφάνισης της παχυσαρκίας είναι πολυποίκιλα. Αυτό όμως που είναι κοινά αποδεκτό, είναι πως στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν ομοιοστατικοί και φυσιολογικοί μηχανισμοί, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την σταθεροποίηση του σωματικού βάρους. Η δυσλειτουργία των μηχανισμών αυτών έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση παχυσαρκίας^{1,6,7}.

1.2.1 Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες.

Οι πληροφορίες που κωδικοποιούνται στο ανθρώπινο γονιδίωμα⁸ είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τα ανθρώπινα γνωρίσματα κάθε ατόμου και φυσικά η παχυσαρκία δεν θα μπορούσε να αποτελέσει εξαίρεση. Η γενετική προδιάθεση,^{9,10} καθορίζει το σωματικό βάρος και την εκδήλωση παχυσαρκίας σε ποσοστό 20-80%.¹¹ Τα γενετικά γνωρίσματα που κληροδοτούνται, από μόνα τους δεν μπορούν να προκαλέσουν τέτοιο μεγάλο αριθμό παχυσαρκίας ανά τον κόσμο,¹⁰ αν δεν ενισχύεται σε ιδιαίτερα ικανοποιητικό βαθμό και ακόμη παραπάνω από ικανοποιητικό, από περιβαλλοντικούς παράγοντες,⁶ όπως είναι οι διατροφικές συνήθειες της οικογένειας, ο άστατος τρόπος διατροφής^{12,13,14} αλλά και οι επιρροές από το ευρύτερο κοινωνικοοικονομικό περιβάλλον.

1.2.2 Ψυχολογικοί, κοινωνικοί παράγοντες.

Για το παχύσαρκο ή υπέρβαρο άτομο, δεν υπάρχει κάποιο συγκεκριμένο προφίλ που να το περιγράφει. Διάφορες καταστάσεις ωστόσο,

καθώς και ψυχότροποι παράγοντες όπως η κατάθλιψη¹⁵ και το στρες^{16,17,18} έχουν την ικανότητα και τη δυνατότητα να προκαλέσουν διαταραχές στη διατροφική συμπεριφορά.

Από τα αρχαία χρόνια ο ρόλος της τροφής και η χρησιμότητα της συνδεόταν άμεσα με την επιβίωση. Πέραν τούτου όμως η τροφή συνδέεται στενά και με συναισθηματικούς παράγοντες. Ο εγκέφαλος είναι προγραμματισμένος να επιτύχει ισορροπία και να προσφέρει ικανοποίηση στο άτομο⁶². Οι τρόποι για να επιτευχθεί αυτή η ισορροπία ποικίλουν και εξαρτώνται από την προσωπικότητα του ανθρώπου, αλλά και αν υπόκειται και στη μάθηση. Για μερικούς ανθρώπους η απελευθέρωση από το στρες, επιτυγχάνεται μέσα από την οργή ή μέσα από συναισθηματική εκτόνωση, μέσω της κατανάλωσης αλκοόλ, μέσω της άσκησης ή από την επιτακτική και ανεξέλεγκτη λήψη τροφής τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά.

1.2.3 Ενδοκρινολογικοί παράγοντες.

Η εκδήλωση ορισμένων ορμονικών ή ενδοκρινών νοσημάτων¹⁰ όπως είναι η ανεπάρκεια της αυξητικής ορμόνης, ο υποθυρεοειδισμός και το σύνδρομο Cushing σχετίζονται με την εκδήλωση της παχυσαρκίας. Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός πως οι κλασικές αυτές ενδοκρिनοπάθειες ευθύνονται για την εκδήλωση παχυσαρκίας σε μικρό ποσοστό²⁰.

Ακόμη λιγότερο υπεύθυνοι παράγοντες είναι τα γενετικά σύνδρομα όπως τα σύνδρομα Prader – Willi²¹, Laurence- Moon και Bardet – Biedl²², καθώς και τα νοσήματα του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως είναι οι όγκοι στην περιοχή του υποθαλάμου²³ που συνοδεύονται από την εκδήλωση της παχυσαρκίας.

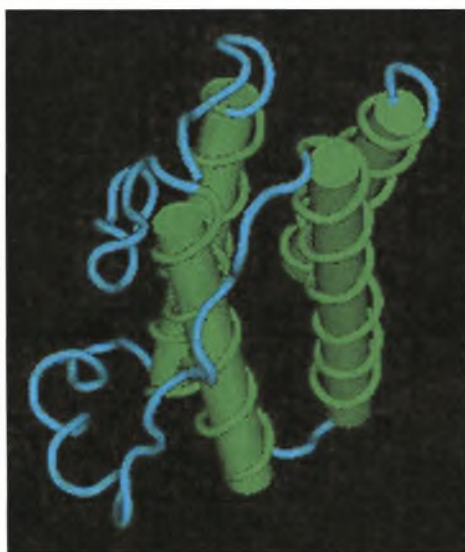
1.2.4 Λοιποί παράγοντες.

Σοβαρά υπεύθυνος παράγοντας είναι και η υιοθέτηση του σύγχρονου τρόπου ζωής,^{10,24} ο οποίος συμβάλλει στην εκδήλωση της παχυσαρκίας. Κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα του, είναι η κατανάλωση τροφών με υψηλό ποσοστό λίπους, αλλά και η ελλιπής σωματική δραστηριότητα και άσκηση.

Μελέτες υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση λιπαρών τροφών δεν οδηγεί στη έγκαιρη εκδήλωση αισθήματος κορεσμού με συνέπεια την υπερβολική πρόσληψη ενέργειας (θερμίδων)¹³. Το χαμηλό κοινωνικό – οικονομικό επίπεδο, η διακοπή του καπνίσματος που συνεπάγεται πτώση του μεταβολικού ρυθμού και αύξηση πρόσληψης τροφής, η εγκυμοσύνη αλλά και η χρήση ορισμένων φαρμακευτικών σκευασμάτων (αντισυλληπτικά, γλυκοκορτικοειδή και τα νευροληπτικά) ευθύνονται επίσης για την εκδήλωση της παχυσαρκίας⁹.

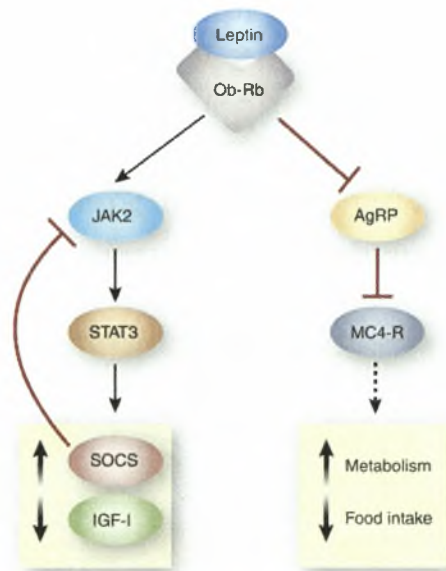
1.3 Λεπτίνη

Η λεπτίνη είναι ορμόνη (προϊόν του γονιδίου ob: obesity, παχυσαρκία). Ανακαλύφθηκε το 1994 μέσω κλωνοποίησης θέσης σε ob/ob (obese/obese) ομόζυγα ποντίκια²⁵ τα οποία ήταν παθολογικά παχύσαρκα κι υπερφάγα εξαιτίας της απουσίας της λεπτίνης, λόγω γονιδιακής μετάλλαξης^{25,26}. Η τρισδιάστατη δομή της (Εικόνα 1), την κατέταξε στην οικογένεια των κιτοκινών. Η λεπτίνη εκφράζεται κυρίως στο λιπώδη ιστό, αλλά επίσης και στον στόμαχο, στον πλακούντα και στο μαστικό αδένα. Σχετίζεται με την ποσότητα του αποθηκευμένου λίπους, με μεγαλύτερα ποσοστά της ορμόνης να εντοπίζονται στα παχύσαρκα άτομα^{11,26,27}.



Εικ. 1: Τρισδιάστατη δομή ανθρώπινης λεπτίνης¹⁹

Πιο συγκεκριμένα, η λεπτίνη εκκρίνεται προκειμένου να μειώσει το σωματικό βάρος και έχει ως απόκριση τη μετατόπιση του ενεργειακού ισοζυγίου κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων του ενδιάμεσου μεταβολισμού²⁷. Εκκρίνεται από τα λιπώδη κύτταρα²⁸, ελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος και επηρεάζει το Κεντρικό Νευρικό σύστημα όπου ενεργοποιεί τον υποδοχέα της στον υποθάλαμο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τον ομοδιμερισμό του υποδοχέα της και την περαιτέρω μετάδοση του μηνύματος μέσω της ενεργοποίησης των JAK-STAT^{29,30} κινασών (Εικόνα 2) και την επακόλουθη μεταγραφή γονιδίων στον πυρήνα³¹. Τα γονίδια που μεταγράφονται αφορούν υποθαλαμικά νευροπεπτίδια τα οποία ρυθμίζουν την ενεργειακή ομοιόσταση αυξάνοντας ή μειώνοντας την όρεξη για την πρόσληψη τροφής και συνεπώς την κατανάλωση ενέργειας. Αρχικά χαρακτηρίστηκε ως ορμόνη-κλειδί για τον έλεγχο του σωματικού βάρους και της παχυσαρκίας⁷, αλλά πλέον θεωρείται πλειοτροπική ορμόνη, που επίσης ρυθμίζει την νευροενδοκρινή λειτουργία, τη γονιμότητα, την ανοσολογική απόκριση και την αγγειογένεση.



Εικ.2: Μεταφορά σήματος λεπτίνης μέσω του μονοπατιού JAK-STAT⁷.

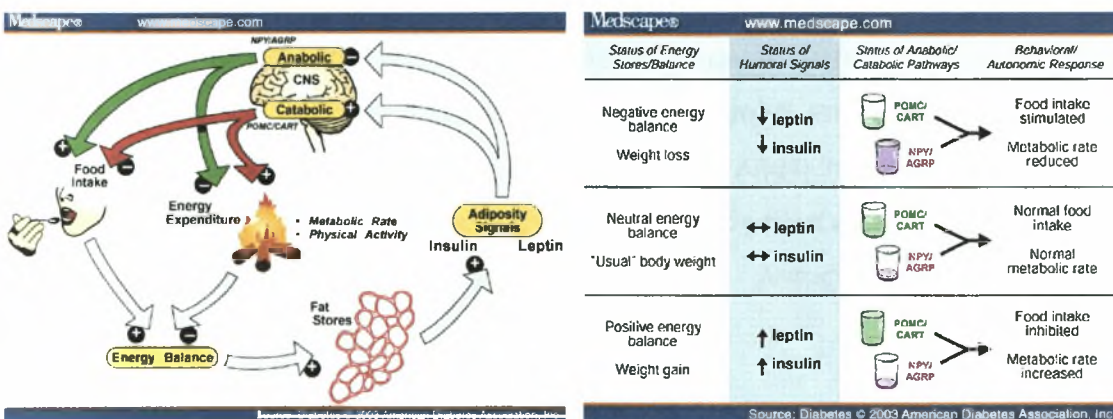
1.3.1 Ρύθμιση έκκρισης

Παρόλο που ο λιπώδης ιστός, είναι η κύρια πηγή λεπτίνης, η παραγωγή της παρατηρείται επίσης και σε μια ποικιλία άλλων ιστών όπως

στον στόμαχο, στο μαστικό αδένα και στον πλακούντα όπως προαναφέρθηκε, καθώς και στους σκελετικούς μύες, στον εμβρυικό αρθρικό χόνδρο και στην υπόφυση. Η λεπτίνη, μπορεί να βρεθεί στην κυκλοφορία, σε ελεύθερη μορφή ή συνδεδεμένη με ειδικές συνοδευτικές πρωτεΐνες. Στους ανθρώπους, ο χρόνος ημιζωής της λεπτίνης είναι περίπου τα 30 λεπτά. Τα νεφρά είναι υπεύθυνα για το 80% περίπου της απομάκρυνσης της από την περιφερειακή κυκλοφορία.

Η έκκριση της λεπτίνης ακολουθεί έναν ημερήσιο ρυθμό με ένα κατώτατο σημείο νωρίς το πρωί (08:00 – 09:00), μία αύξηση κατά τη διάρκεια της ημέρας και μία κορυφή μεταξύ 24:00 και 02:00h. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε αλλαγές στη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και γευμάτων, αλλά αυτό παρατηρείται και σε ασθενείς με παρεντερική σίτιση. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ένα ενδογενή ρυθμό που προφανώς συμμορφώνεται με τα ενδογενή γλυκοκορτικοειδή και υπάρχει επίσης ένας κικάρδιος ρυθμός που μπορεί να σχετίζεται με την δραστηριότητα του συμπαθητικού συστήματος.

Η αυξητική ορμόνη και η θυρεοειδής ορμόνη μπορεί να επηρεάζουν τη συγκέντρωση της λεπτίνης. Ο ρυθμός έκκρισης της λεπτίνης ελαττώνεται όταν υπάρχει διαταραχή έκκρισης αυξητικής ορμόνης και αποκαθίστανται με την ορμονική υποκατάσταση. Η δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος είναι σημαντικός παράγοντας της έκκρισης της λεπτίνης³¹. Η αυξημένη λειτουργία του συμπαθητικού συστήματος στο λιπώδη ιστό είναι



Εικ. 3: Σχέση λεπτίνης και ινσουλίνης.

ένας σημαντικός παράγοντας κινητοποίησης λίπους κατά τη διάρκεια της πείνας και η αυξημένη δραστηριότητα του συμπαθητικού συστήματος

ελαττώνει τη παραγωγή λεπτίνης. Οι γυναίκες έχουν υψηλότερη λεπτίνη από τους άνδρες και αυτό συνεπάγεται ότι πολλοί παράγοντες πρέπει να ρυθμίζουν την σύνθεση και την έκκριση της λεπτίνης από τα λιποκύτταρα. Η ινσουλίνη, (Εικόνα 3) οι στεροειδείς ορμόνες και η νοραδρεναλίνη είναι σημαντικοί ρυθμιστές της παραγωγής και έκκρισης λεπτίνης, ενώ και άλλοι παράγοντες έχουν ανακαλυφθεί τελευταία²⁶.

Ο μεταβολισμός της γλυκόζης και η ως επακόλουθο έκκριση της ινσουλίνης είναι καθοριστικοί στο ρυθμό σύνθεσης της λεπτίνης, παρά η έκκριση της λεπτίνης αυτή καθαυτή. Θρεπτικά συστατικά, εκτός της γλυκόζης επίσης μπορεί να επηρεάζουν τη παραγωγή της λεπτίνης.

1.3.2 Ο 24ωρος κύκλος της λεπτίνης.

Τα επίπεδα της λεπτίνης αυξάνονται κατά τη διάρκεια της νύχτας. Η λεπτίνη έχει μια 24ωρη διακύμανση³¹. Τα επίπεδα αυξάνονται κατά τις απογευματινές ώρες και φτάνουν στην υψηλότερη τιμή κατά τις 2 πρώτες ώρες του ύπνου. Σταδιακά πέφτουν κατά τη διάρκεια του απογεύματος και αγγίζουν τα χαμηλότερα επίπεδα περίπου το βράδυ και μετά αρχίζουν να αυξάνονται ξανά.

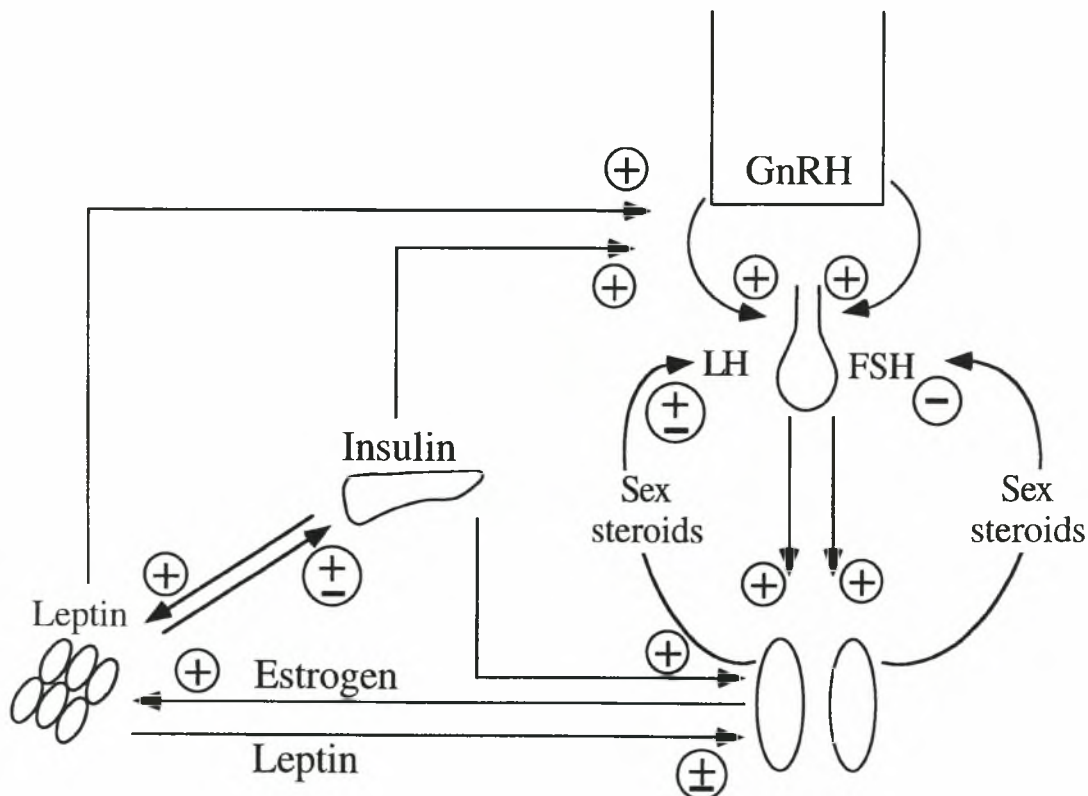
Τα παχύσαρκα άτομα έχουν χάσει αυτό το ρυθμό, γεγονός που επηρεάζει συνολικά το μεταβολισμό τους. Όταν η λεπτίνη εκκρίνεται φυσιολογικά, τα υψηλά επίπεδα της, δίνουν σήμα στο άτομο ότι υπάρχει κορεσμός και να σταματήσει να τρώει. Συνεπώς είναι φυσιολογικό να μην αισθάνεται κανείς πεινασμένος μετά το δείπνο ή πριν τον ύπνο.

Ένα άτομο με αντίσταση στην λεπτίνη έχει υψηλά επίπεδα λεπτίνης το βράδυ αλλά ο εγκέφαλος δεν είναι ικανός να κάνει λήψη του σήματος αυτού. Το αποτέλεσμα είναι ότι ο εγκέφαλος αποκτά την εσφαλμένη εντύπωση ότι το σώμα χρειάζεται να αποθηκεύσει περισσότερο λίπος προκειμένου να εξασφαλιστεί η επιβίωση⁷.

1.3.3 Το γονίδιο της λεπτίνης.

Το γονίδιο της λεπτίνης, είναι υψηλά συντηρημένο ανάμεσα στα διάφορα είδη και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7, στο γονιδιακό τόπο q31.3

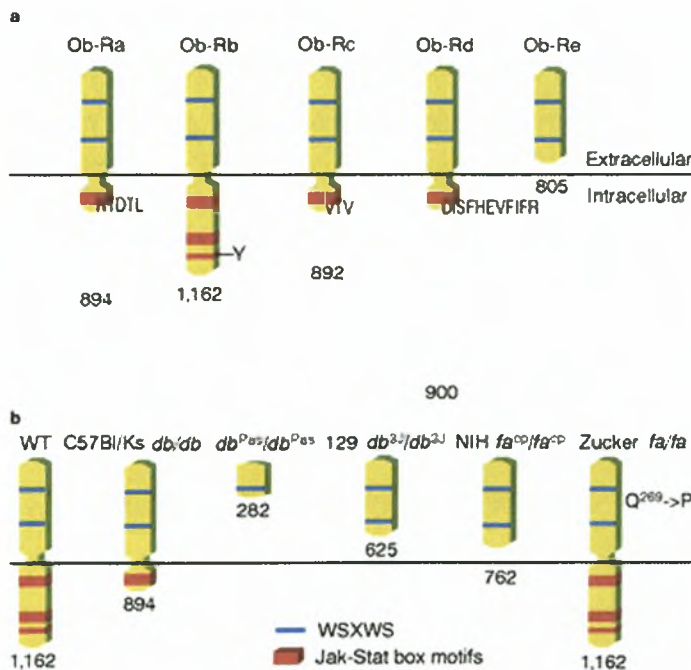
στους ανθρώπους. Η DNA αλληλουχία του έχει περισσότερα από 15.000 ζεύγη βάσεων και περιέχει τρία εξόνια, τα οποία χωρίζονται από δύο ιντρόνια. Η πρωτεΐνη στα ποντίκια παρουσιάζει 83% ομολογία με την ανθρώπινη λεπτίνη κι οι δύο με τη σειρά τους μοιράζονται πολλές δομικές ομοιότητες με άλλα μέλη της οικογένειας των ελικοειδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων της ιντερλευκίνης 6 και της αυξητικής ορμόνης³¹. Η έκφραση του γονιδίου της λεπτίνης ρυθμίζεται από μια ποικιλία ορμονών³², αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών (Εικόνα 4). Τα οιστρογόνα επάγουν³³, ενώ τα ανδρογόνα καταστέλλουν την παραγωγή λεπτίνης, παρέχοντας μία εξήγηση για το σεξουαλικό διμορφισμό στα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό. Κυτοκίνες που συμμετέχουν στην απόκριση κατά τη διάρκεια φλεγμονών^{34,35} όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNF-α) και η ιντερλευκίνη 1, ίσως επάγουν άμεσα τη γονιδιακή έκφραση της λεπτίνης ως μέρος ενός μηχανισμού επανατροφοδότησης, τονίζοντας με αυτόν τον τρόπο το ρόλο της λεπτίνης στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης³⁶, της φλεγμονής και της αγγειογένεσης³⁷.



Εικ. 4: Επίδραση διαφόρων ορμονών στην έκφραση του γονιδίου της λεπτίνης.

1.3.4 Ο υποδοχέας της λεπτίνης (Ob-R)

Ο υποδοχέας Ob-R είναι μία μονομερής διαμεμβρανική ελικοειδής πρωτεΐνη ομόλογη με μέλη της κλάσης I της οικογένειας των υποδοχέων κιτοκινών¹². Οι ισομορφές του υποδοχέα της λεπτίνης περιέχουν μία ταυτόσημη εξωκυττάρια περιοχή στο αμινο-τελικό άκρο αλλά διαφέρουν στο καρβοξυ-τελικό άκρο. Η ισομορφή Ob-R περιέχει τη μεγαλύτερη ενδοκυτταρική περιοχή, ενώ οι Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rd και Ob-Rf έχουν μικρές ενδοκυττάρια περιοχές¹³. Η μικρότερη ισομορφή, η Ob-Re, στερείται μίας διαμεμβρανικής περιοχής κι ίσως αντιπροσωπεύει μία διαλυτή μορφή του υποδοχέα¹². Δεν παίζει άμεσο ρόλο στη σηματοδότηση της λεπτίνης αλλά είναι σημαντική προφανώς καθορίζοντας τα ποσοστά της λεπτίνης στην κυκλοφορία¹³. Επίσης, είναι πιθανό να συνεισφέρει στην αντίσταση στην ινσουλίνη.¹⁰



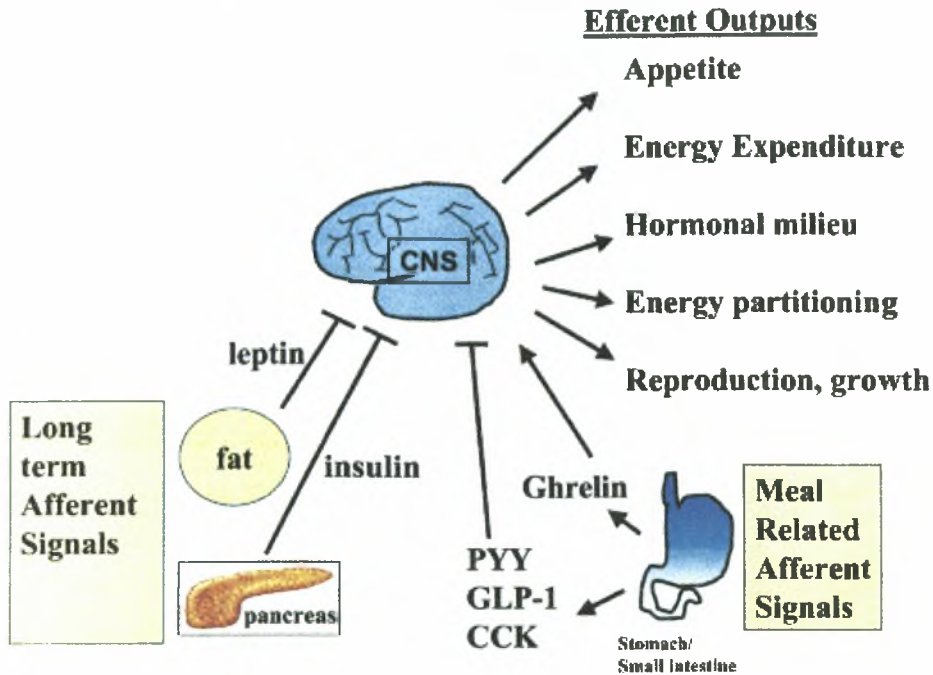
Εικ. 5: Ισομορφές του υποδοχέα της λεπτίνης και μεταλλάξεις του σε παχύσαρκους επίμυες⁵².

Μία ή περισσότερες ισομορφές (Εικόνα 5) εκφράζονται στους περισσότερους αν όχι σε όλους τους ιστούς, με την ισομορφή Ob-Ra εμφανίζεται ευρέως. Η ισομορφή Ob-Ra φαίνεται να έχει το ρόλο του μεταφορέα της λεπτίνης. Είναι παρούσα σε χαμηλά ποσοστά στον

υποθάλαμο³⁸ (Εικόνα 6), αλλά υψηλά επίπεδα της βρέθηκαν στα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου και στα χοριοειδή πλέγματα σε αρουραίους³⁹. Αυτό το μοντέλο κατανομής της συγκεκριμένης ισομορφής είναι σύμφωνο με την προηγούμενη αναφορά ότι η ισομορφή Ob-Ra εμπλέκεται στη μεταφορά της λεπτίνης διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ενώ η ισομορφή Ob-Rb μεσολαβεί στις επιδράσεις της λεπτίνης στην πρόσληψη τροφής, στο σωματικό βάρος και στον μεταβολισμό. Η ισομορφή Ob-Rb εντοπίζεται κυρίως σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου, αλλά βρίσκεται επίσης και σε πολλούς άλλους ιστούς συμπεριλαμβανομένων των ωοθηκών, των όρχεων, του πλακούντα, της μυελώδους μοίρας των επινεφριδίων, του ήπατος, των β-κυττάρων του παγκρέατος, του πνεύμονα, των νεφρών, της νήστιδας, της καρδιάς, του λιπώδους ιστού και των σκελετικών μυών²⁴.

1.3.5 Βιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης

Η λεπτίνη διαβιβάζει το σήμα του μεταβολικού ρυθμού του οργανισμού, σε δεδομένη χρονική στιγμή οργανισμού από τα κύτταρα του λιπώδους ιστού στον εγκέφαλο¹¹. Η μείωση του σωματικού βάρους είναι αποτέλεσμα της πτώσης των επιπέδων λεπτίνης, ενώ η αύξηση του αυξάνει τη συγκέντρωση της λεπτίνης στην κυκλοφορία. Η λεπτίνη εμφανίζεται γενικά ως μία μεταβολική ορμόνη που εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές διαδικασίες⁴⁰ (Εικόνα 6) όπως: α) αναστολή της έκκρισης ινσουλίνης από τα κύτταρα του παγκρέατος, β) διέγερση της χρησιμοποίησης γλυκόζης, γ) διέγερση της λιπόλυσης στα λιποκύτταρα, δ) διέγερση της μεταφοράς σακχάρων διαμέσω του λεπτού εντέρου και ε) διεγερτική επίδραση στην αιματοποίηση. Η λεπτίνη δρα ως σήμα στο ανοσολογικό σύστημα και ως αγγειογενετικός παράγοντας.



Εικ. 6: Βιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης⁴⁰.

1.3.6 Μελέτες σε ανθρώπους

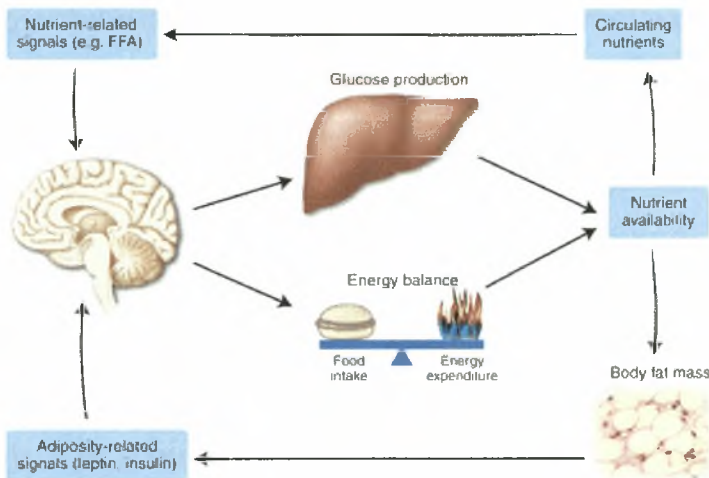
Ο εντοπισμός μερικών ανθρώπων με μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης ή στον υποδοχέα της λεπτίνης έχει προσφάτως ορίσει το σύνδρομο διαταραχής λεπτίνης στους ανθρώπους που χαρακτηρίζεται από πρόωμη σοβαρή έναρξη παχυσαρκίας και υπερφαγία, στοιχεία υπογοναδισμού, μειωμένη δράση συμπαθητικού συστήματος και πιθανότατα προβλήματα στο ανοσοποιητικό σύστημα. Η υποκατάσταση της λεπτίνης⁴¹ φαίνεται να διορθώνει την υπερφαγία στους ανθρώπους που έχουν διαταραχή της λεπτίνης αλλά οι επιπτώσεις σε άλλα χαρακτηριστικά του συνδρόμου δεν είναι γνωστές ακόμη.

1.3.7 Δράση λεπτίνης

Η λεπτίνη είναι υπεύθυνη για την περίεργη και ακανόνιστη συμπεριφορά γύρω από το φαγητό, τη βουλιμία, καθώς επίσης και την ικανότητα διατήρησης ενός φυσιολογικού βάρους σώματος⁴².

Διαταραχή των επιπέδων λεπτίνης περιλαμβάνει την αδυναμία διατήρησης ισοζυγίου λήψης τροφής, αποθήκευσης λίπους και μεταβολικού ρυθμού. Η σωστή λειτουργία επίσης προφυλάσσει από τη συσσώρευση λίπους σε μέρη που φυσιολογικά δεν θα έπρεπε όπως το συκώτι⁴³, οι αρτηρίες και η καρδιά.

Όταν η λεπτίνη είναι χαμηλή, το άτομο πεινάει και θέλει να φάει. Όταν αρκετή τροφή έχει καταναλωθεί για αρκετά μεγάλο διάστημα, ημερών ή εβδομάδων, τα επίπεδα λεπτίνης θα είναι πιο υψηλά, δίδοντας έτσι σήμα στον εγκέφαλο να μειώσει την όρεξη (Εικόνα 7).



Εικ. 7: Ρύθμιση του ισοζυγίου ενέργειας στον οργανισμό⁷¹.

Υψηλά επίπεδα λεπτίνης έχουν σχετιστεί με την ύπαρξη αυξημένου σωματικού βάρους στον άνθρωπο. Όταν σε ένα άτομο διαταράσσεται η φυσιολογική ισορροπία, ο εγκέφαλος δεν αντιλαμβάνεται τα επίπεδα λεπτίνης σωστά, δημιουργώντας έτσι αντίσταση στην ορμόνη. Το πρόβλημα αυτό, επιδεινώνεται με την ηλικία²⁴.

Ο κύριος στόχος της διαβίβασης του μηνύματος που μεταφέρεται μέσω της λεπτίνης είναι ο υποθάλαμος. Οι υπέρβαροι που συναντούν πρόβλημα στο να ρυθμίσουν το ποσό της τροφής που καταναλώνουν έχουν είτε ινσουλινοαντίσταση⁴⁴, αντίσταση στη λεπτίνη.

ΣΚΟΠΟΣ

Η παχυσαρκία που συνίσταται στην υπέρμετρη ανάπτυξη του σωματικού βάρους σε βαθμό δυσανάλογο ως προς την ηλικία, το φύλο και το ύψος του ατόμου, αποτελεί έκφραση της διαταραχής του ενεργειακού ισοζυγίου, κατά την οποία τα πλεονάζοντα ενεργειακά αποθέματα εναποτίθενται στη σωματική μάζα με τη μορφή λιπώδους ιστού¹. Υπό φυσιολογικές καταστάσεις, τόσο περιφερικοί όσο και κεντρικοί ρυθμιστικοί μηχανισμοί ενορχηστρώνονται στη διαμόρφωση αρμονικού μεταβολικού ισοζυγίου, μέσω του οποίου η εκάστοτε ενεργειακή απώλεια αναπληρώνεται ισότιμα υπό της εντός βραχέων χρονικών πλαισίων προσλήψεως κατάλληλης τροφής, ποσοτικώς ικανής να καλύψει τις ενεργειακές δαπάνες του ατόμου σε συνάρτηση με τη λειτουργική του δραστηριότητα. Μία ευρεία σειρά συντελεστών² που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό, το γαστρικό βλεννογόνο, το λεπτό έντερο, το πάγκρεας και άλλους ιστούς κινητοποιούν, εισερχόμενοι στον εγκέφαλο, ορεξιογόνους και ανορεξιογόνους παράγοντες μέσω των οποίων αφενός εγείρεται η επιθυμία προς λήψη και κατάλληλη επιλογή τροφής, αφετέρου δε σταθμίζεται το μέτρο της ποσοτικής διαστάσεως της προσλαμβανόμενης τροφής με την επέλευση του αισθήματος πληρώσεως και της δυσανεξίας για την περαιτέρω σίτιση στον κατάλληλο χρόνο. Η λεπτίνη που προέρχεται κυρίως από το λευκό λιπώδη ιστό, διαδραματίζει ουσιώδη ρόλο στη σταθεροποίηση του σωματικού βάρους δια της ανταγωνιστικής της δράσης στους υποδοχείς και στο μηχανισμό δράσης του νευροπεπτιδίου Υ,² στον υποθαλάμο. Το νευροπεπτίδιο Υ, αποτελεί αφενός ουσιώδη συντελεστή αύξησης των ενεργειακών αποθεμάτων διότι επιτάσσει την επιθυμία του ατόμου για σίτιση, αφετέρου δε συμμετέχει στη διαμόρφωση του όλου περιγράμματος των ενδοκρινικών εκκρίσεων και των ενεργειακών δαπανών.²

Δεδομένου ότι η νοσογόνος παχυσαρκία, αποτελεί σε πολλές χώρες του κόσμου, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες, ένα σημαντικό πρόβλημα με χαρακτηριστικά σύγχρονης επιδημίας, υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από τους τρόπους αντιμετώπισης της, καθώς αποτελεί σε συνδυασμό με την υπερλιπιδαιμία και το σακχαρώδη διαβήτη συχνό υπόβαθρο ανάπτυξης πλειάδας καρδιαγγειακών και νευρολογικών νοσημάτων και

συμβάλει όχι σπάνια στην μείωση του προσδοκώμενου χρόνου επιβίωσης των ατόμων.²

Η αιτιοπαθογένεια της παχυσαρκίας παραμένει εν πολλοίς άγνωστη. Η συνήθης μορφή της ανθρώπινης παχυσαρκίας φαίνεται πως είναι πολυγονιδιακή. Σπάνιες μορφές παχυσαρκίας έχουν περιγραφεί οφειλόμενες σε μονογονιδιακές μεταλλάξεις. Μερικές καλά μελετημένες μεταλλάξεις αφορούν τη λεπτίνη τον υποδοχέα της λεπτίνης, στο μετατρέπων ένζυμο της προορμόνης, την προ-οπιομελανοκορτίνη και τον υποδοχέα της μελανοκορτίνης-4. Πολλά άλλα γονίδια μελετώνται ακόμα ως εμπλεκόμενα στην αιτιοπαθογένεια της παχυσαρκίας. Ανάμεσά τους τα σημαντικότερα είναι: τα γονίδια των $\beta 2$ και $\beta 3$ αδρενεργικών υποδοχέων, της ορμονοευαίσθητης λιπάσης, της πρωτεΐνης αποσύζευξης 1 (UCP-1), του TNF α και του PPAR $\gamma 2$. Η έρευνα στο πεδίο αυτό, εντατικοποιήθηκε και επεκτάθηκε πολύ σε βάθος τα τελευταία χρόνια, μετά την ανακάλυψη της λεπτίνης και πολλών νέων ουσιών, καθώς και νευρωνικών υποθαλαμικών κυκλωμάτων, εμπλεκόμενων στη ρύθμιση της όρεξης και της ενεργειακής ισορροπίας του οργανισμού³.

Η παρούσα διατριβή, έχει σαν στόχο τη μελέτη των επιπέδων της ορμόνης λεπτίνης σε άτομα με διαφορετικό δείκτη μάζας σώματος και την πιθανή τους συσχέτιση με ανθρωπομετρικούς παράγοντες, και παθοβιοχημικούς δείκτες, που εκτός του ότι πιθανώς σχετίζονται με τη συγκέντρωση της στον ορό, ίσως αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για άλλες μεταβολικές πορείες που τελικά καθορίζουν το ενεργειακό ισοζύγιο.

Η ανακάλυψη της λεπτίνης το 1994, έφερε επανάσταση στις παραδοσιακές έως τότε θεωρίες σχετικά με την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, καθώς ο λιπώδης ιστός ενώ παλαιότερα εθεωρείτο ως ανενεργός, τώρα θεωρείται ότι αποτελεί τον μεγαλύτερο ενδοκρινή αδένα. Ωστόσο, η επίτευξη της ομοιόστασης στο σωματικού βάρους, είναι σαφώς μία πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει μία σειρά ανταλλαγής πληροφοριών μεταξύ της περιφέρειας και του εγκεφάλου, που συχνά διαταράσσεται και που δεν είναι εύκολο να διασαφηνιστεί. Προφανώς, η λεπτίνη από μόνη της φαίνεται να είναι αναποτελεσματική στο να θεραπεύσει την παχυσαρκία. Η εφαρμογή διαιτητικών σχημάτων ή προγραμμάτων σωματικής άσκησης με στόχο την σταθεροποίηση του σωματικού βάρους ή τη

σταδιακή απώλεια αυτού, σε περιπτώσεις παχυσαρκίας, δεν είναι δυνατό να επιτευχθεί πάντα ή μετά από πολλές διαιτητικές προσπάθειες παραμένει ασταθές. Για το λόγο αυτό, η λεπτίνη, ως ορμόνη που παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της όρεξης παρουσιάζει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς το δίκτυο των αλληλεπιδράσεων των μεταβολικών αντιδράσεων στις οποίες εμπλέκεται επιδρούν στο ενεργειακό ισοζύγιο και πιθανώς στη τελική διαμόρφωση του σωματικού βάρους του ατόμου προκειμένου να αντιμετωπιστεί η νοσογόνος παχυσαρκία και οι επιπτώσεις της.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Αντιδραστήρια

2.1.1 Προσδιορισμός τριγλυκεριδίων.

Για τον προσδιορισμό των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιήθηκαν ανά δείγμα:

- Ρυθμιστικό δ/μα pH 7,5
- Λιπάσες 0,6U/ml
- PK 0,2U/ml
- GPO 4U/ml
- POD 4U/ml
- ATP 1mM
- 4-Αμινοφαιναζόνη 0,4nM
- Φαινολικό παράγωγο 4mM
- Συμπαράγοντες
- H₂O

2.1.2 Προσδιορισμός χοληστερίνης.

Για τον προσδιορισμό της χοληστερίνης χρησιμοποιήθηκαν ανά δείγμα:

- Ρυθμιστικό Tris/Maleic 0,1M pH 7.0
- CE 0,6U/ml
- POD 4U/ml
- 4-Αμινοφαιναζόνη 0,4Mm
- Φαινολικό παράγωγο 10μM
- Συμπαράγοντες, σταθεροποιητές
- H₂O

2.1.3 Προσδιορισμός LDL, HDL.

Για τον προσδιορισμό της χοληστερίνης χρησιμοποιήθηκαν ανά δείγμα:

- Πολυφωσφοβολφραμικά ιόντα 0,56mM
- Ιόντα Mg⁺ 25mM

2.1.4 Προσδιορισμός CRP (C – αντιδρώσα πρωτεΐνη).

CRP Latex Reagent (μπλε χρώματος). Ευαισθησία του Latex Reagent: προσδιορισμός C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε συγκέντρωση >6mg/l

- | | |
|---|-----|
| ➤ CRP – θετικός μάρτυρας (κόκκινη επισήμανση) | 1ml |
| ➤ CRP - αρνητικός μάρτυρας (πράσινη επισήμανση) | 1ml |

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για το προσδιορισμό των τριγλυκεριδίων, χοληστερόλης, HDL, LDL, CRP, προέρχονται από την εταιρεία Ζαφειρόπουλος Α.Ε.

2.1.5 Αντιδραστήρια Leptin EIA Kit.

Leptin EIA Kit Cayman Chemicals

Catalog No. 500600

- Leptin (human) HRP-Ab Conjugate
- Leptin (human) Standard Set
- TMB Substrate Solution
- Quality Control Samples
- Leptin Dilution Buffer
- Leptin Wash Solution
- Leptin (human) EIA Plates
- EIA Well-Cover Sheets
- HRP Stop Solution

2.2 Μέθοδοι

2.2.1 Επιλογή ασθενών

Μελετήσαμε 40 ασθενείς εκ των οποίων 10 ήταν παχύσαρκοι, 10 ήταν υπέρβαροι, 10 φυσιολογικού βάρους και 10 ελιποβαρείς, μεταξύ 20 και 46 ετών, με BMI που κυμαινόταν από 17 έως 58. Ασθενείς με σοβαρές νεφρικές, καρδιακές και ηπατικές διαταραχές εξαιρέθηκαν από τη μελέτη, καθώς και επίσης ασθενείς με παθολογική κατακράτηση υγρών, προκειμένου να μη δημιουργηθούν προβλήματα κατά τη μέτρηση λίπους και άλιπης μάζας με τη

μέθοδο της βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας. Όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης και κανείς τους δεν έπαιρνε κανενός είδους φαρμακευτική αγωγή. Οι συμμετέχοντες είχαν σταθερό βάρος το μήνα πριν από τη μελέτη. Προκειμένου να υπολογιστεί η συνήθης ενεργειακή πρόσληψη, όλοι οι ασθενείς κατέγραψαν ένα επταήμερο ημερολόγιο διατροφής, ενώ στη διαδικασία αυτή βοήθησαν συνεδρίες με διαιτολόγο. Επίσης συμπληρώθηκαν ημερολόγια συχνότητας και με τη βοήθεια της χρήσης προπ्लाσμάτων, εκπαιδεύτηκαν ώστε να εξοικειωθούν με τις ποσότητες.

Κατηγορία ασθενών	BMI	Αρ. Ασθενών
Βαριά Παχύσαρκοι	35-58	10
Υπέρβαροι	27-34	10
Ομάδα Ελέγχου	20-26	10
Ελλιποβαρείς	17-19	10

Πίνακας 3: Αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη, ανά ομάδα, βάσει BMI.

Οι ασθενείς συμμετέχοντας στην έρευνα ακλούθησαν ένα σταθερό πρωτόκολλο, που περιλάμβανε μέτρηση αναστήματος, βάρους, δείκτη μάζας σώματος (BMI), μέτρηση περιμέτρου μέσης προς γλουτούς (WHR), λιπομέτρηση, καθώς και μέτρηση του Μεταβολισμού Ανάπαυσης (REE). Στους ασθενείς μετρήθηκαν επίσης βάση πρωτόκολλου, η ολική χοληστερόλη, η HDL, LDL, TG, γλυκόζη, ουρικό οξύ, P, Ca, Fe, CRP, Mg. Η μέτρηση της λεπτίνης πραγματοποιήθηκε για όλους τους ασθενείς, μεταξύ 5.30 με 8.30 το απόγευμα. Μετρήσεις λεπτίνης, έγιναν κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από τη πάροδο 6 μηνών. Κατά τη διάρκεια της περιόδου αυτής, άπαντες οι ασθενείς ακολούθησαν τη δίαιτα της λεπτίνης.

Όλοι οι ασθενείς συμμετείχαν οικειοθελώς και τηρήθηκαν οι αρχές οι οποίες προβλέπονται βάσει της Διακήρυξης του Ελσίνκι περί της βιοϊατρικής έρευνας.

2.2.2 Δίαιτα λεπτίνης

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη ακολούθησαν για περίοδο 6 μηνών την δίαιτα της λεπτίνης. Ο σκοπός της δίαιτας της λεπτίνης, είναι η ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης στο αίμα με στόχο την αξιοποίηση της ενέργειας που προέρχεται από την τροφή τόσο σε άτομα φυσιολογικού βάρους όσο και σε υπέρβαρα.

Η δίαιτα της λεπτίνης είναι σχεδιασμένη για να μεγιστοποιεί τα χρονικά διαστήματα κατά τα οποία παρατηρείται λιπόλυση και δεν είναι μία θερμιδική δίαιτα αλλά βασίζεται στην ποσοστιαία αναλογία μακροθρεπτικών συστατικών ανά γεύμα. Βασίζεται δε σε 5 βασικούς κανόνες. Καθένας από τους κανόνες μπορεί να τροποποιηθεί και να εξατομικευτεί. Οι κανόνες τους οποίους ακολούθησαν οι συμμετέχοντες στην μελέτη, ήταν οι παρακάτω:

1. Αποφυγή λήψης τροφής μετά το δείπνο, ώστε να μεσολαβεί διάστημα 11-12h μεταξύ δείπνου και πρωινού.
2. Περιορισμός των γευμάτων σε 3 την ημέρα ανά 5-6h, χωρίς την παρεμβολή ενδιάμεσων μικρογευμάτων.
3. Περιορισμός ποσότητας γεύματος.
4. Κατανάλωση πρωτεϊνούχου πρωινού.
5. Ελάττωση του ποσού των υδατανθράκων της δίαιτας. Η δε κατανάλωση τεχνητών γλυκαντικών και τροφίμων που τα περιλαμβάνουν απαγορεύτηκε.

Η ποσότητα της τροφής ανά γεύμα καθορίστηκε λαμβάνοντας υπόψη την ένταση της φυσικής δραστηριότητας του ατόμου, και οι ενεργειακές ανάγκες υπολογίστηκαν με βάση τον τύπο Harris & Benedict.

Η αναλογία των μακροθρεπτικών συστατικών στη δίαιτα ήταν 25% επί των συνολικών προσλαμβανόμενων θερμίδων από πρωτεΐνες, 30% από λίπη και 45% από υδατάνθρακες.

Σε όλα τα γεύματα συμπεριλήφθηκαν πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης υψηλής βιολογικής αξίας, προερχόμενες από γάλα και γιαούρτι μεσαίας λιποπεριεκτικότητας, άπαχο κρέας, άπαχο τυρί, και αυγό. Επίσης, κάθε κύριο γεύμα συνοδεύονταν από σαλάτα πλούσια σε φυτικές ίνες, και η κατανάλωση των φρούτων της δίαιτας γινόταν αμέσως μετά τα κύρια γεύματα. Η

εβδομαδιαία τροφοποίηση της δίαιτας βασίστηκε στα πρότυπα της μεσογειακής διατροφής, και περιλάμβανε όλες τις κατηγορίες τροφίμων ανά εβδομάδα. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας τους σε σάκχαρα, απεφεύχθησαν το καλαμπόκι, ο αρακάς και η κολοκύθα. Με μέτρο καταναλώθηκαν το ρύζι, οι φακές, ο αρακάς, οι πατάτες και τα δημητριακά με ζάχαρη. Τα γλυκά περιορίστηκαν στο μέτρο του εφικτού, σε ένα εβδομαδιαίως, και η κατανάλωση τους έγινε αμέσως μετά το κυρίως γεύμα, όταν αυτό δεν ήταν υδατανθρακούχο. Ο καφές, περιορίστηκε σε δύο φλιτζάνια ημερησίως, ενώ επιτράπηκε μέτρια κατανάλωση αλκοόλ σε 2-3 ποτήρια εβδομαδιαίως.

Λήψη βιταμινικών συμπληρωμάτων κατά τη διάρκεια της δίαιτας δεν έγινε.

2.2.3 Μέθοδος λιπομέτρησης.

Η λιπομέτρηση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας, με τη συσκευή MALTRON BF – 907 (Maltron International LTD). Τα χαρακτηριστικά της συσκευής είναι: συχνότητα 50Khz, ανάλυση μέτρησης ποσοστού λίπους σε διαβάθμιση του 0,1%, εύρος αγωγιμότητας 200-1.000Ω με ακρίβεια στο εύρος 350-1.0000Ω έχει 1.00%+- 4Ω, ένταση ρεύματος 0,7mA. Για την λιπομέτρηση ακολουθήθηκε αυστηρό πρωτόκολλο που περιελάμβανε τα εξής:

- Για τις γυναίκες η μέτρηση έγινε κατά το μέσο του κύκλου όπου θεωρητικά υπάρχει η λιγότερη κατακράτηση.
- Κανένας ασθενής δεν είχε καπνίσει, πειί καφέ ή αλκοόλ 24 h πριν την μελέτη.
- Κανένας ασθενής πριν την εξέταση δεν είχε λάβει διουρητικά.
- Κανένας ασθενής δεν είχε ασκηθεί για τουλάχιστον 12 ώρες πριν την εξέταση.
- Η εξέταση έγινε το πρωί μετά από ολονύχτια νηστεία.
- Οι ασθενείς είχαν ουρήσει τουλάχιστον μισή ώρα πριν την μέτρηση.

Ο μεταβολισμός ανάπαυσης μετρήθηκε στις 8 το πρωί μετά από ολονύκτια νηστεία, σε δωμάτιο με θερμοκρασία δωματίου και αφού ο ασθενής είχε χαλαρώσει και ξαπλώσει για 10 λεπτά πάνω στο εξεταστικό κρεβάτι. Οι τιμές

που ελήφθησαν εκφράζονται σε kcal/24h. Η σύνθεση του σώματος, εκφράστηκε σαν ποσοστό επί της συνολικής μάζας σώματος και σαν κιλά άλιπης μάζας και σαν λιπώδους μάζας. Το ολικό νερό του σώματος δόθηκε σαν ένδειξη από το λιπομετρητή.

Η μέτρηση του λόγου περιμέτρου μέσης προς γλουτούς πάρθηκε μετρώντας την μεγαλύτερη οριζόντια περίμετρο μεταξύ των πλευρών και δύο εκατοστά πάνω από τον ομφαλό. Η μέτρηση περιμέτρου γλουτών πάρθηκε μετρώντας την μεγαλύτερη οριζόντια περίμετρο στο ύψος των γλουτών.

2.2.4 Προσδιορισμός τριγλυκεριδίων με ενζυμική μέθοδο.

Τα τριγλυκερίδια υπολογίστηκαν μετά από υδρόλυση, μετρώντας το τμήμα του μορίου της γλυκερόλης. Χρησιμοποιήθηκαν ένζυμα σε κάθε βήμα, από την αρχική υδρόλυση για να ελευθερωθεί η γλυκερόλη έως τον σχηματισμό του τελικού προϊόντος το οποίο μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά. Στο συγκεκριμένο προσδιορισμό η 3-φωσφορική γλυκερόλη μετατράπηκε ενζυμικά με τη βοήθεια της L-γλυκεολο-φωσφορικής οξειδάσης, σε φωσφορική διυδροξυακετόνη και H_2O_2 . Στην συνέχεια το H_2O_2 , η 4-αμινοφαιναζόνη και η φαινόλη και παρήγαγαν μια χρωστική ερυθρού χρώματος, την κινονεμίνη, η οποία προσδιορίστηκε με βάση την απορρόφηση της στα 510nm. Οι τιμές αναφοράς των τριγλυκεριδίων σε mg/dl για άνδρες είναι 40 – 160 και για γυναίκες 35 – 135.

2.2.5 Προσδιορισμός ολικής χοληστερόλης με ενζυμική μέθοδο.

Οι εστέρες της χοληστερόλης του ορού υδρολύθηκαν από την εστεράση της χοληστερόλης. Όλη η χοληστερόλη στην συνέχεια οξειδώθηκε από την οξειδάση της χοληστερόλης προς την αντίστοιχη κετόνη, με μετατόπιση της θέσης του διπλού δεσμού. Στη συνέχεια η ποσότητα του H_2O_2 που προήλθε από την οξείδωση, μετρήθηκε χρωματομετρικά με την ίδια μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των τριγλυκεριδίων. Δηλαδή το H_2O_2 διασπάσθηκε από την υπεροξειδάση της κοχλιαρίδος, παρουσία 4-αμινοφαιναζόνης και φαινόλης, και παρείχε μία χρωστική ερυθρού χρώματος,

την κινονεμίνη, της οποίας η συγκέντρωση προσδιορίστηκε με βάση την απορρόφηση στα 510nm. Οι τιμές αναφοράς για την ολική χοληστερόλη, είναι 150-200mg/dl σε φυσιολογικά επίπεδα, 200-250mg/dl για παρακολούθηση και >250mg/dl σε παθολογικά επίπεδα.

2.2.6 Προσδιορισμός λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών ορού.

Οι μετρήσεις τριγλυκεριδίων, ολικής χοληστερόλης, HDL, LDL πραγματοποιήθηκαν μετά από νηστεία 10-12h και έγιναν ως εξής: Το αίμα τοποθετήθηκε σε σωληνάριο με αντιπηκτικό EDTA και έγινε διαχωρισμός του πλάσματος με φυγοκέντρηση. Στη συνέχεια, το πλάσμα τοποθετήθηκε στο ψυγείο όπου παρέμεινε όλη τη νύχτα. Παράλληλα το κάθε δείγμα, ελέγχτηκε για την παρουσία ή όχι μίας κρεμώδους στοιβάδας (χυλομικρών) και σημειώθηκε αν το πλάσμα είναι διαυγές ή θολερό. Σε επόμενο βήμα πραγματοποιήθηκε πλήρης ανάδευση του δείγματος, από το οποίο πάρθηκαν μικρότερα δείγματα για τη μέτρηση της συγκέντρωσης της ολικής χοληστερόλης, της HDL, και των τριγλυκεριδίων. Η συγκέντρωση της LDL καθώς δύσκολο να μετρηθεί άμεσα, υπολογίστηκε έμμεσα από τη σχέση Friedwald ως εξής: $[LDL] = [\text{ολική χοληστερόλη}] - [HDL] - 1/5 [TG]$. Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν σε mg/100ml. Στη παραπάνω σχέση υποτέθηκε ότι το ποσό της χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) ισούται με το 1/5 της ολικής συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων και ότι δεν υπάρχουν χυλομικρά στον ορό που αναλύεται. Η δε συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων υποτέθηκε ότι ήταν μικρότερη από 400mg/dl και ότι δεν υπήρχαν στον ορό λιποπρωτεΐνες ενδιαμέσης πυκνότητας IDL.

2.2.7 Προσδιορισμός HDL – LDL.

Τα πολυσθενή ανιόντα που συνδέονται με λιποπρωτεΐνες που περιέχουν ΑροΒ καθιζάνουν. Έτσι οι LDL και VLDL καθιζάνουν με προσθήκη στο δείγμα του πλάσματος ενός αντιδραστηρίου που περιέχει είτε ηπαρίνη $MgCl_2$ είτε θεική δεξτράνη $MgCl_2$.

Μετά από φυγοκέντρηση η HDL ήταν η μόνη λιποπρωτεΐνη που παρέμεινε στο υπερκείμενο και η χοληστερόλη της προσδιορίστηκε με την ίδια μέθοδο που περιγράφηκε για την ολική χοληστερόλη.

$$\text{LDL χοληστερόλη} = \text{ολική} - \text{HDL} - \text{TG}/5$$

$$\text{Αθηρωματικός δείκτης} = \text{ολική χοληστερόλη}/\text{HDL}$$

Στον πίνακα 3 παρατίθενται οι φυσιολογικές τιμές HDL, LDL, και του αθηρωματικού δείκτη:

	HDL(mg/dl)	LDL(mg/dl)	Αθηρωματικός δείκτης
Ενήλικοι άνδρες	30-70	70-200	
Ενήλικες γυναίκες	35-90	20-210	
Επιθυμητό	>55	<130	<3,8
Οριακό	35-55	130-160	3,9-5,9
Υψηλού κινδύνου	<35	>160	>5,9

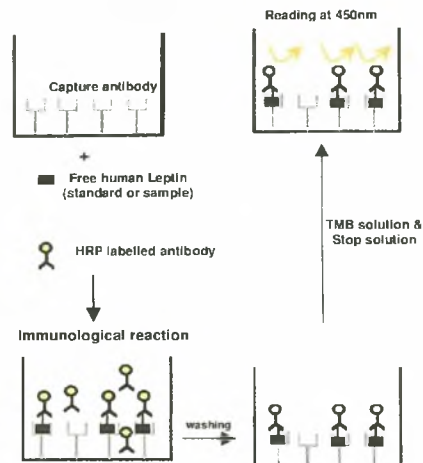
Πίνακας 4: Φυσιολογικές τιμές HDL, LDL, αθηρωματικού δείκτη.

2.2.8 Προσδιορισμός CRP (C – αντιδρώσα πρωτεΐνη) σε ορό.

Το CRP-Latex test βασίστηκε στην αντίδραση (συσσωμάτωση) μεταξύ της CRP από τον ορό των ασθενών και των αντίστοιχων αντι – CRP ανθρώπινων αντισωμάτων που είναι ενσωματωμένα σε σωματίδια latex πολυστυρενίου. Παρατηρήθηκε ορατή συγκόλληση των σωματιδίων παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων CRP. Οι τιμές αναφοράς για δείγματα ορού από υγιείς ενήλικες δότες είναι CRP <0,8mg/dl.

2.2.9 Προσδιορισμός επιπέδων λεπτίνης αίματος με τη μέθοδο ELISA.

Η μέθοδος που ακολουθήσαμε είναι ELISA διπλού αντισώματος (sandwich ELISA), (Εικόνα 8). Μία σχηματική παράσταση της αρχής της μεθόδου παρουσιάζεται στην εικόνα:



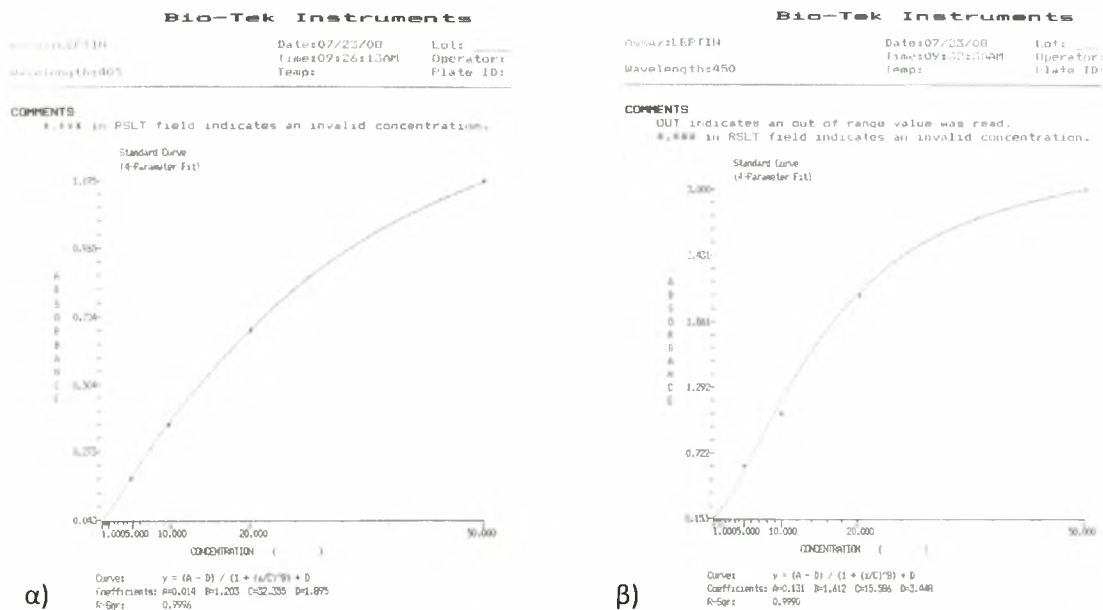
Εικ. 8: Σχηματική παράσταση της sandwich ELISA.

2.2.9.1 Προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων.

- Για τη μέτρηση της λεπτίνης, τα δείγματα αραιώνονται με αρραίωση 1/3 σε EIA buffer (π.χ. 100 μ L δείγμα + 200 μ L EIA buffer).
- Τα αντιδραστήρια πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου. Όλα τα αντιδραστήρια του kit είναι έτοιμα προς χρήση εκτός από τα Quality Controls και το Wash Buffer.
- *Human Leptin Standard*
Αραίωση των standards 1/3 με EIA buffer (ρ.χ. (π.χ. 100 μ L δείγμα + 200 μ L EIA buffer).
- *Quality Controls*
Σε κάθε φιαλίδιο των Quality Control προσθέτουμε 350 μ Λδισ απεσταγμένο ύδωρ για τουλάχιστον 30 λεπτά πριν την διεξαγωγή της ELISA. Αραίωση των Quality Controls 1/3 με EIA buffer (π.χ. 100 μ L QC + 200 μ L EIA buffer)
- *Wash buffer*
Αραιώνουμε 100mL του Wash buffer σε 1000mL δισ απιονισμένου ή απλού απιονισμένου ύδατος.
- *Hydrogen peroxide/TMB solution*
Το διάλυμα θα πρέπει να μείνει μακριά από το φως μέχρι να χρησιμοποιηθεί.

2.2.9.2 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Προκειμένου να ορίσουμε ανώτερη και κατώτερη φυσιολογική τιμή λεπτίνης, θα πρέπει να κατασκευάσουμε μία πρότυπη καμπύλη. Η ανώτερη και η χαμηλότερη τιμή προσδιορίζονται από το Quality High και Quality Low και οι ενδιάμεσες τιμές από τα standards. Οι εικόνες 9α) και 9β) δείχνουν τις πρότυπες καμπύλες που κατασκευάσαμε σε απορρόφηση 405 και 450nm.

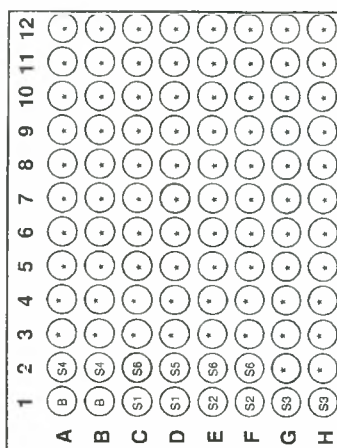


Εικ. 9: α) Πρότυπη καμπύλη, απορρόφηση στα 405nm, β) Πρότυπη καμπύλη, απορρόφηση στα 450nm.

2.2.9.3 Μέθοδος ELISA

- ☒ **Human Leptin standard:**
Τοποθετούμε 100 μL από τα 6 standards στα αντίστοιχα πηγαδάκια όπως φαίνεται και στην εικόνα 10, από τη χαμηλότερη προς την υψηλότερη συγκέντρωση.
- ☒ **Quality Control and samples:**
Τοποθετούμε 100 μL από το αραιωμένο Quality Control και τα δείγματα στο κατάλληλο πηγαδάκι όπως φαίνεται στο σχήμα.
- ☒ **EIA buffer:**
Τοποθετούμε 100 μL σε πηγαδάκι χωρίς δείγμα (blank).

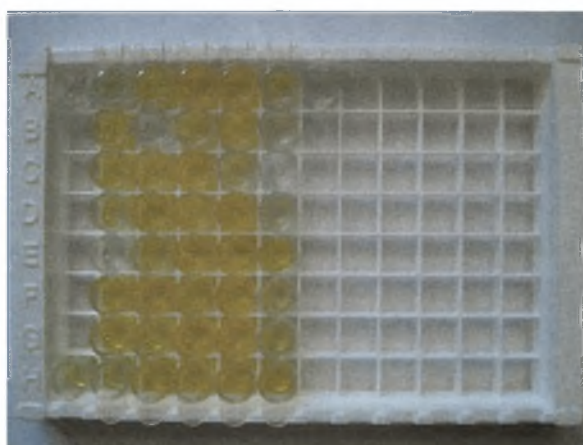
- ✘ Καλύπτουμε και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 1h, αναδεύοντας στα 300 rpm.
- ✘ Πλύνουμε κάθε πηγαδάκι 3 φορές με Wash buffer (350 μL/ πηγαδάκι). Ελαφρά αναδεύουμε για 5min.



B: Blank
 S1-S6: Standards 1-6
 *: Samples or Quality Controls.

Εικ.10: Τοποθέτηση δειγμάτων, Quality Controls, Standards στο ELISA plate.

- ✘ *Anti-Leptin tracer:*
 Προσθέτουμε 100 μL σε κάθε πηγαδάκι.
- ✘ Καλύπτουμε το ELISA plate και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 1h, αναδεύοντας στα 300 rpm.
- ✘ Πλένουμε κάθε πηγαδάκι 3 φορές με Wash buffer (350 μL/ πηγαδάκι). Ανακινούμε ελαφρά για 5min.
- ✘ Προσθέτουμε 100 μL of Substrate solution σε όλα τα πηγαδάκια. Επωάζουμε μακριά από το φως για 10 με 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- ✘ Μετράμε την απορρόφηση στα 405 ή 450nm, 5min μετά την προσθήκη 100 μL του Stop solution (Εικόνα 11).



Εικ. 11: Μέτρηση απορρόφησης, μετά την προσθήκη Stop Solution

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

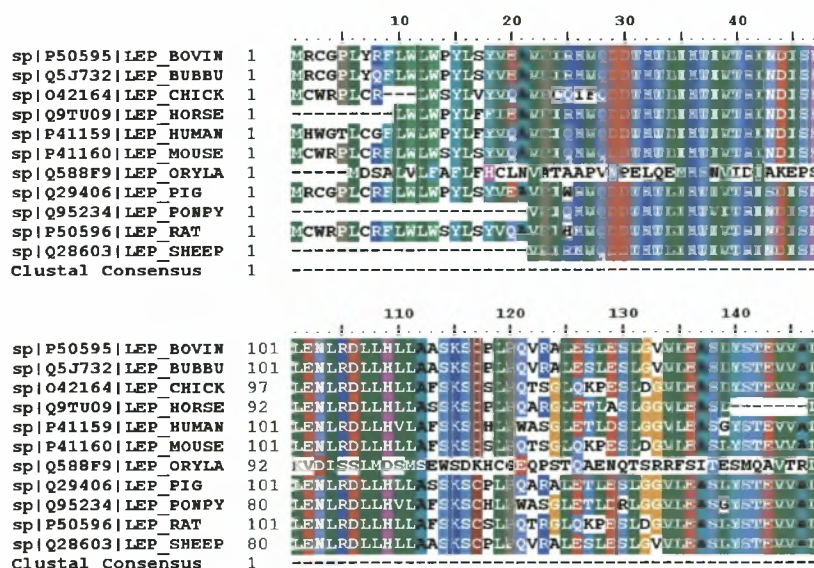
Η λεπτίνη, είναι μία ορμόνη, μοριακού βάρους 16kDa η οποία αποτελείται από 167 αμινοξέα και κωδικοποιείται από το γονίδιο ob του χρωμοσώματος 7⁴. Ανήκει στην οικογένεια των κυτοκινών και παράγεται κυρίως από το λιπώδη ιστό και δευτερευόντως από τα κύτταρα του γαστρικού επιθηλίου, του εντέρου, του πλακούντα, του σκελετικού μυ, του μαστού και του εγκεφάλου⁴⁴. Στον ορό κυκλοφορεί είτε ελεύθερη, που είναι και η βιολογικά δραστική της μορφή, είτε συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Δρα τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα όσο και στους περιφερικούς ιστούς. Η παραγωγή της αυξάνεται όταν υπάρχει αυξημένη διαθεσιμότητα ενέργειας και μειώνεται σε κατάσταση έλλειψης ενέργειας⁴⁶. Όπως φαίνεται στην εικόνα 13, η λεπτίνη έχει μία υψηλά συντηρημένη πρωτεϊνική αλληλουχία στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

Οι κυριότεροι παράγοντες που ρυθμίζουν τα κυκλοφορούντα επίπεδα λεπτίνης, είναι το ποσό της αποθηκευμένης ενέργειας στο λιπώδη ιστό, αλλά και οι οξείες μεταβολές στη θερμοδική πρόσληψη. Η αυξημένη λιπώδης μάζα και η υπερφαγία σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα λεπτίνης ορού, ενώ η μειωμένη λιπώδης μάζα και η νηστεία με ελαττωμένα επίπεδα λεπτίνης ορού⁵¹. Η έκκριση της λεπτίνης επάγεται επίσης από τη γλυκόζη, τα αμινοξέα, την ινσουλίνη, τα γλυκοκορτικοειδή, τα οιστρογόνα, τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες (TNF – α, IL – 1) και το αλκοόλ ενώ φαίνεται ότι αναστέλλεται από τα λιπαρά οξέα, τις θυρεοειδικές ορμόνες, τις κατεχολαμίνες, τη σωματοστατίνη, την αυξητική ορμόνη, τα ανδρογόνα, την άσκηση (long term) και το κάπνισμα⁵⁴.

Διατροφικοί παράγοντες φαίνεται ότι επηρεάζουν τη συγκέντρωση της κυκλοφορούσας λεπτίνης. Τα επίπεδα της λεπτίνης έχουν σχετιστεί αντιστρόφως ανάλογα με την κατανάλωση διαιτητικών ινών και την πρόσληψη πλούσιων σε διαιτητικές ίνες δημητριακών ολικής άλεσης και λαχανικών⁴⁴. Η κατανάλωση ψαριών που αποτελούν μία πλούσια πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης ορού⁵⁷. Τα ω-3 λιπαρά οξέα αυξάνουν την β-οξειδωση σε ήπαρ και μύες, βελτιώνουν την

ινσουλινοευαισθησία και οδηγούν σε μείωση της συγκέντρωσης λεπτίνης στον ορό και στην έκφραση της στο λιπώδη ιστό⁵⁹. Σε *in vitro* καλλιέργειες λιποκυττάρων, το ω-3 εικοσαπεντανοϊκό οξύ φάνηκε να αυξάνει την έκφραση και έκκριση της λεπτίνης, ενώ το συζευγμένο λινολειαϊκό οξύ και το ω-6 αραχιδονικό οξύ μειώνει την έκφραση και την έκκριση λεπτίνης⁶². Η κατανάλωση αλκοόλ, έχει φανεί άλλοτε να μειώνει και άλλοτε να μην επηρεάζει τα επίπεδα λεπτίνης, ενώ συγκεκριμένα το κόκκινο κρασί, πιθανότατα αυξάνει τα επίπεδα λεπτίνης στις γυναίκες⁶⁶.

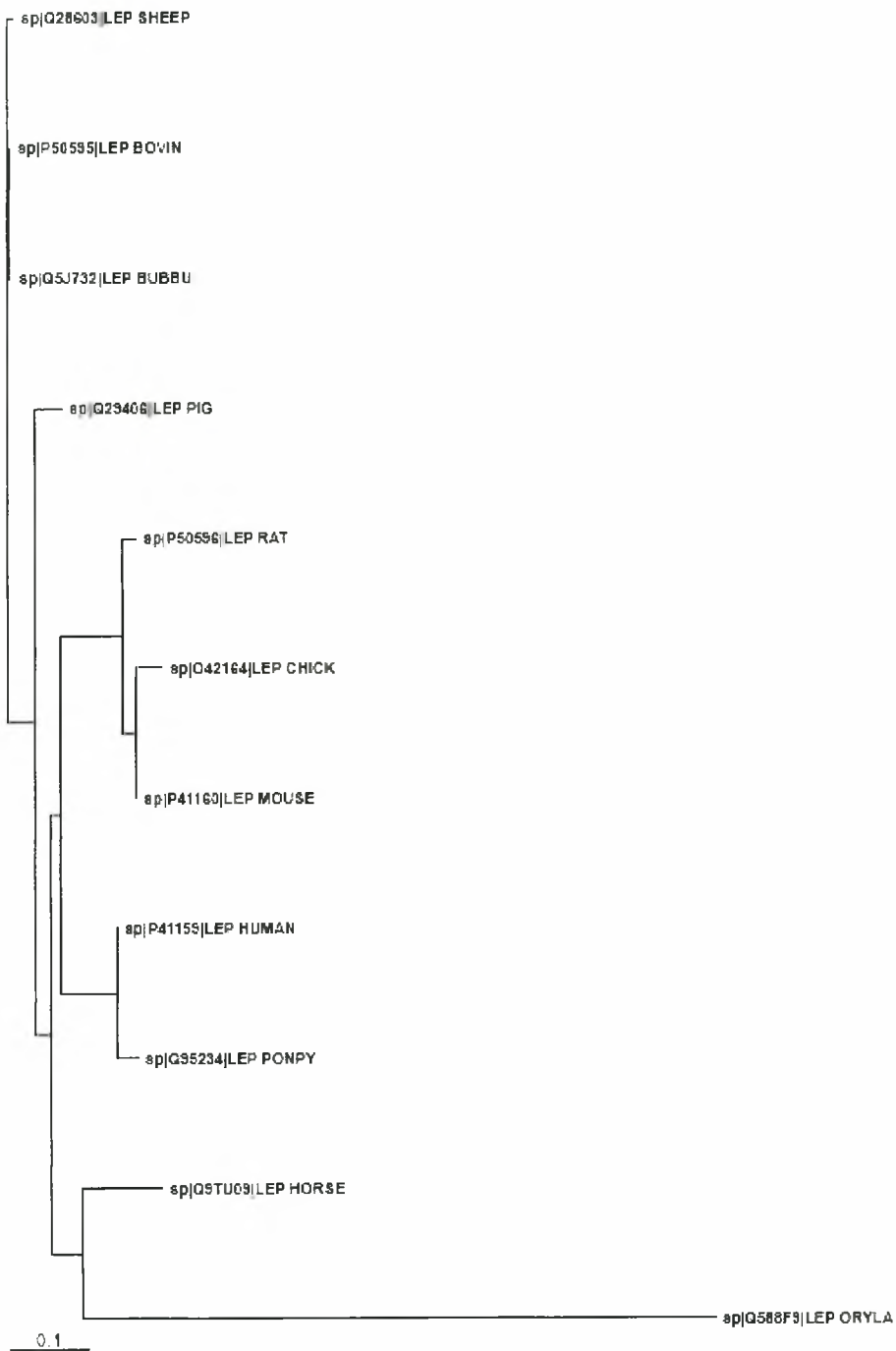
Στη παρούσα διατριβή, μελετήθηκαν σε ασθενείς με διαφορετικό δείκτη μάζας σώματος ανθρωπομετρικές παράμετροι και παθοβιοχημικοί δείκτες που σχετίζονται με τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό. Πέραν αυτού εξετάστηκε και το αν υφίσταται συσχέτιση της συγκέντρωσης λεπτίνης με βιοχημικούς δείκτες, ενδεικτικούς φλεγμονωδών παθήσεων.



Human Leptin

MHWGTLCGFLWLPYLFYVQAVPIQKVVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQ
 SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISN
 DLENLRDLLHVLAFSFSKCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYSTEVVAL
 SRLQGSGLQDMLWQLDLSPGC

Εικ. 12: Η πρωτεϊνική αλληλουχία της λεπτίνης, υψηλά συντηρημένη στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.



Εικ. 13: Φυλλογενετικό δέντρο της λεπτίνης από σπονδυλωτά.

3.1 Συνολική ανάλυση των μελετούμενων παραμέτρων ανά ομάδα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, σε ασθενείς με διαφορετικό δείκτη μάζας σώματος, έδωσαν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με ανθρωπομετρικές παραμέτρους και παθοβιοχημικούς δείκτες (Πίνακες 5,6,7,8), που εκτός από το να επηρεάζουν τα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό, πιθανότατα αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για άλλες μεταβολικές πορείες που τελικά καθορίζουν το ενεργειακό ισοζύγιο.

Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι, η λεπτίνη μπορεί να εντοπιστεί στον ορό. Συγκεκριμένα, οι τιμές της λεπτίνης κυμάνθηκαν για την ομάδα ελέγχου στα $12,8 \pm 6,7\text{ng/ml}$, για την κατηγορία των σοβαρά παχύσαρκων στα $26,5 \pm 19,8\text{ng/ml}$, για την κατηγορία των υπέρβαρων στα $26,3 \pm 21,9\text{ng/ml}$ και για την κατηγορία των ελλιποβαρών στα $6,6 \pm 5,3\text{ng/ml}$. Όπως προκύπτει και από τους πίνακες 5 και 6, κανένας ασθενής από την ομάδα των σοβαρά παχύσαρκων και των υπέρβαρων δεν είχε μη ανιχνεύσιμη τιμή λεπτίνης. Στην ομάδα ελέγχου ωστόσο, (Πίνακας 5), το 22,2% των εξεταζόμενων ατόμων είχε μη ανιχνεύσιμη τιμή λεπτίνης, ενώ στην κατηγορία των ελλιποβαρών, (Πίνακας 8), το 11,1% των εξεταζόμενων ατόμων, είχε μη ανιχνεύσιμη τιμή λεπτίνης. Συνεπώς, οι παχύσαρκοι γενικά έχουν υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης ορού από ότι τα άτομα φυσιολογικού βάρους και οι γυναίκες σχέση με τους άνδρες παρουσιάζουν γενικά αυξημένες τιμές λεπτίνης. Το συμπέρασμα αυτό, συμφωνεί με τη βιβλιογραφία, καθότι είναι γνωστό ότι υπάρχει συσχέτιση του μεγέθους του λιπώδους ιστού και της τιμής της λεπτίνης στον ορό αίματος. Οι γυναίκες λόγω των στεροειδών ορμονών του φύλου τους, έχουν από τη φύση τους, μεγαλύτερη κατανομή λίπους στο σώμα τους σε σχέση με τους άνδρες, προκειμένου να τους εξασφαλίσει την απαιτούμενη ενέργεια για την περίοδο της κύησης και της γαλουχίας, είναι λογικό να παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα λεπτίνης αίματος.

Κ/Α	Βάρος (kg)	BMI	WHR	Bfat%	GLUm/dl	CHOLmg/dl	LDLmg/dl	HDLmg/dl	TGmg/dl	CRPmg/dl	Αθηρωματικός Δείκτης	Leptin (ng/ml)
16	73	26	88	34,7	88	203	131	59	95	0,1	3,4	14,006
18	67	25	68	33,9	104	190	120	43	164	0,3	4,4	18,419
21	60	23	71	23,1	83	168	95	48	127	0,1	3,5	6,106
22	55	22	67	22,7	89	170	103	38	134	0,1	4,4	0
23	63	25	72	27,2	85	175	110	42	147	0,1	4,1	19,622
30	64	24	85	31,4	82	168	93	66	44	0,1	2,5	19,055
31	61	20	75	21,2	91	160	95	44	90	0,1	3,6	9,975
34	61	22	77	27,4	92	170	101	51	114	0,1	3,3	12,235
40	71	24	79	27,4	80	180	123	47	140	0,1	3,8	0

Πίνακας 5: Μετρήσεις στην ομάδα ελέγχου.

Κ/Α	Βάρος(kg)	BMI	WHR	Bfat%	GLUm/dl	CHOLmg/dl	LDLmg/dl	HDLmg/dl	TGmg/dl	CRPmg/dl	Αθηρωματικός Δείκτης	Leptin (ng/ml)
1	86	34	102	44,6	86	220	138	45	144	0,2	4,8	28,254
4	83	33	116	44,3	88	155	89	45	145	0,2	3,4	48,233
5	92	34	107	48,9	82	160	90	55	55	0,5	2,9	30,121
9	82	28	97	38,4	93	187	110	37	95	0,3	5,05	25,01
13	76	30	90	42,8	85	178	110	38	125	0,2	4,6	27,627
14	70	27	94	35,4	87	190	120	44	98	0,1	4,3	25,257
32	68	29	88	36,8	91	192	110	35	82	0,1	5,4	23,388
33	90	34	98	39,2	90	196	117	47	84	0,2	4,1	38,603
10	102	32	110	33,6	106	152	76	40	182	0,93	3,8	13,285
12	96	34	108	38,2	97	280	130	32	194	0,4	8,75	4,473

Πίνακας 6: Μετρήσεις στην ομάδα των υπέρβαρων.

Κ/Α	Βάρος (Kg)	BMI	WHR	Bfat%	GLUmg/dl	CHOLmg/dl	LDLmg/dl	HDLmg/dl	TGmg/dl	CRPmg/dl	Αθηρωματικός Δείκτης	Leptin (ng/ml)
2	162	48	150	44,6	107	270	150	34	174	0,8	7,9	23,484
6	115	38	125	46,7	92	164	120	52	70	0,5	3,07	6,741
7	198	58	168	39,2	98	157	90	45	96	0,7	3,4	46,391
8	117	36	124	41,8	93	211	123	40	242	0,21	5,2	10,776
17	144	45	135	48,2	89	195	127	30	184	0,6	6,5	34,098
25	118	41	127	43,1	88	270	125	45	170	0,7	6	6,587
28	125	46	136	41,2	103	270	114	33	270	0,7	8,1	27,61
35	129	46	138	34,7	87	300	130	47	243	0,7	6,3	11,074
15	95	35	114	44,4	98	180	95	36	164	0,2	5	27,383
26	86	38	102	44,7	92	340	140	29	243	0,4	11,7	28,578
39	83	36	97	35,7	85	190	110	43	110	0,1	4,4	18,799

Πίνακας 7: Μετρήσεις στην ομάδα των παχύσαρκων.

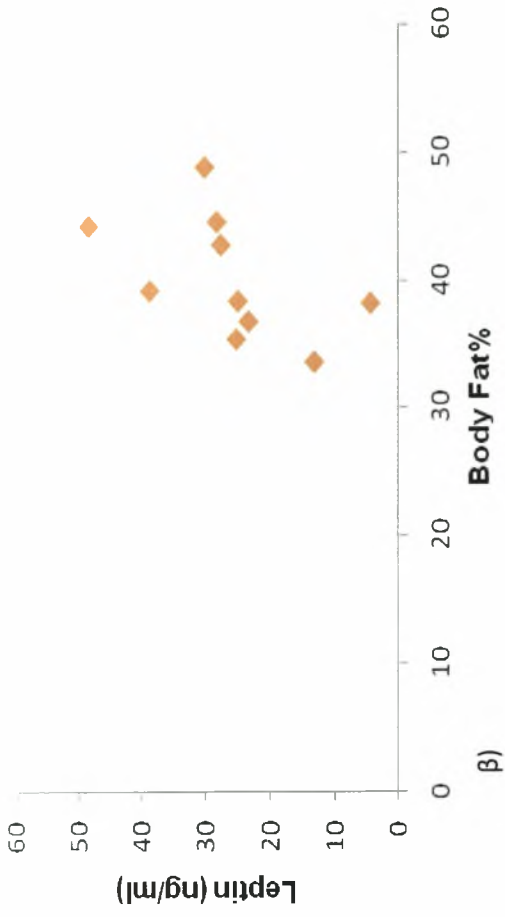
Κ/Α	Βάρος (Kg)	BMI	WHR	Bfat%	GLUmg/dl	CHOLmg/dl	LDLmg/dl	HDLmg/dl	TGmg/dl	CRPmg/dl	Αθηρωματικός Δείκτης	Leptin (ng/ml)
3	59	19	68	27,4	81	190	110	51	95	0,2	3,7	1,331
20	57	19	85	22,2	82	160	103	47	50	0,1	3,4	0
11	46	17	65	23,2	78	170	90	47	74	0,1	3,6	5,924
19	48	17	72	26,7	79	170	90	37	60	0,1	4,5	3,655
24	52	19	62	27,5	81	200	115	32	164	0,1	6,25	3,996
29	57	17	65	24	84	184	112	44	132	0,1	4,18	10,807
36	55	19	70	28,4	88	180	105	52	94	0,1	3,4	4,723
37	54	19	73	29,2	77	170	107	44	85	0,1	3,8	6,365
38	52	19	75	26,4	75	192	117	37	120	0,1	5,1	11,962

Πίνακας 8: Μετρήσεις στην ομάδα των ελλιποβαρών.

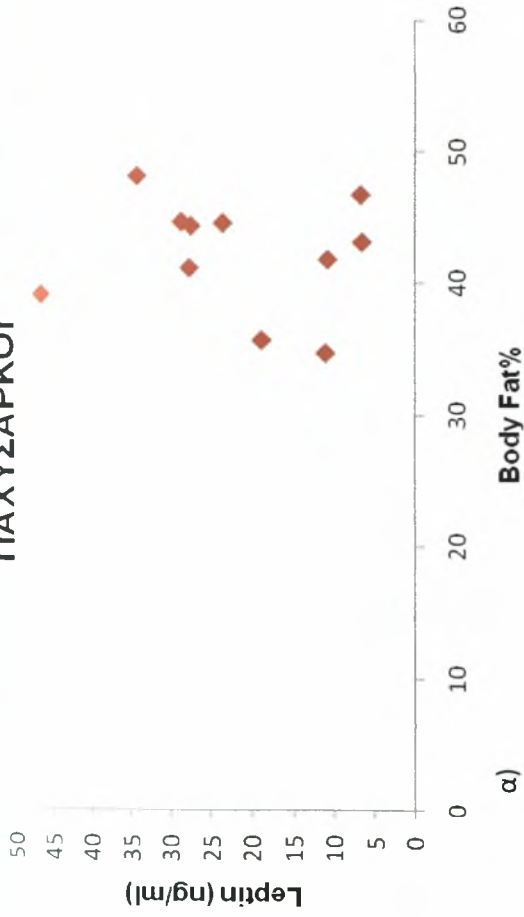
Αν και πολλοί είναι αυτοί οι παράγοντες που οδηγούν στην αύξηση των επιπέδων λεπτίνης στη παχυσαρκία, οι τιμές είναι πολύ περισσότερο σχετικές με τον ποσοστό λίπους στο σώμα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Στη παρούσα διατριβή, βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού του σωματικού λίπους (Body Fat%) και της τιμής της λεπτίνης, ($r=0,668$, $P<0,0001$), (Εικόνα 14,15). Σύμφωνα με μία μελέτη των Ostlund et al., η σχέση μεταξύ λεπτίνης και ποσοστού σωματικού λίπους περιγράφεται από εκθετική συνάρτηση, γεγονός που δείχνει ότι πάνω από ένα συγκεκριμένο κατώφλιο βαθμού παχυσαρκίας, μικρές αυξήσεις λίπους μπορεί να συνοδεύονται από σημαντικές αυξήσεις λεπτίνης ορού αίματος. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι υπό συνθήκες σοβαρής παχυσαρκίας, τα λιποκύτταρα εκκρίνουν δυσανάλογα ποσά λεπτίνης, δίδοντας ένα σήμα, στο οποίο για αδιευκρίνιστους λόγους ο εγκέφαλος δεν μπορεί να αντιδράσει ικανοποιητικά. Τα ευρήματα αυξημένων επιπέδων λεπτίνης σε παχύσαρκους δείχνουν μειωμένη ευαισθησία στη λεπτίνη. Είναι δε γνωστό ότι η παχυσαρκία που προκαλείται από αυξημένη πρόσληψη τροφής οδηγεί σε αντίσταση στη λεπτίνη. Βρήκαμε επίσης ότι μία ελάττωση στο βάρος του σώματος σχετίστηκε με μείωση των επιπέδων λεπτίνης. Η μεγάλη διακύμανση των επιπέδων λεπτίνης με μικρές αλλαγές στο σωματικό βάρος δείχνει ότι η έκκριση λεπτίνης ρυθμίζεται και από άλλους παράγοντες εκτός από τον όγκο των λιποκυττάρων. Ένας από αυτούς τους παράγοντες ενδέχεται να είναι η θερμοδική πρόσληψη όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία⁷.

Μετά από 6 μήνες από την πρώτη μέτρηση λεπτίνης αίματος, και αφού οι ασθενείς ακολούθησαν την δίαιτα λεπτίνης, πραγματοποιήθηκε δεύτερη συλλογή αίματος, και προσδιορίστηκε μία δεύτερη τιμή λεπτίνης. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκε λιπομέτρηση και κατά τη δεύτερη αυτή φάση. Στοιχεία των μετρήσεων αυτών, παρατίθενται στους πίνακες 9, 10, 11. Όπως βλέπουμε και από τις εικόνες 16,17 και 18, τόσο η τιμή της λεπτίνης όσο και το ποσοστό σωματικού λίπους, μειώθηκε μετά την πάροδο των 6 μηνών και αφού είχε ακολουθηθεί η δίαιτα της λεπτίνης, γεγονός που

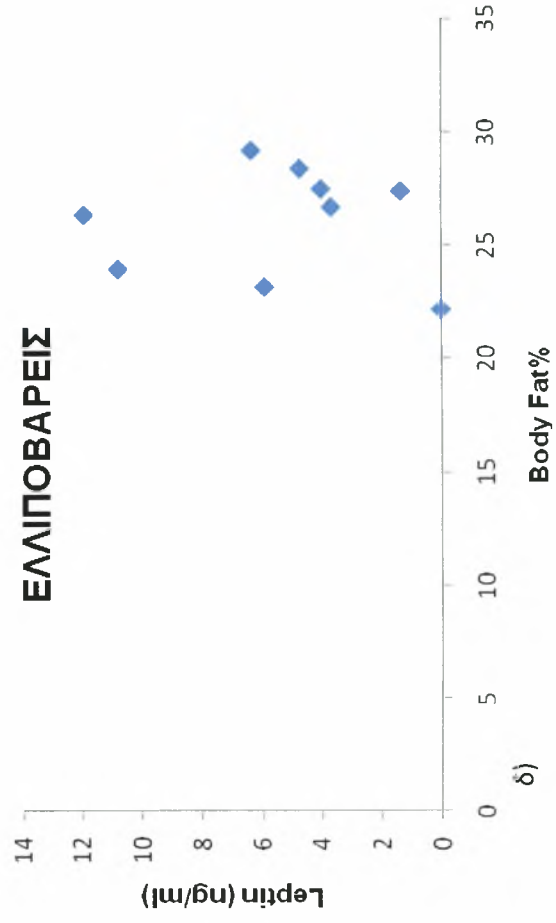
ΥΠΕΡΒΑΡΟΙ



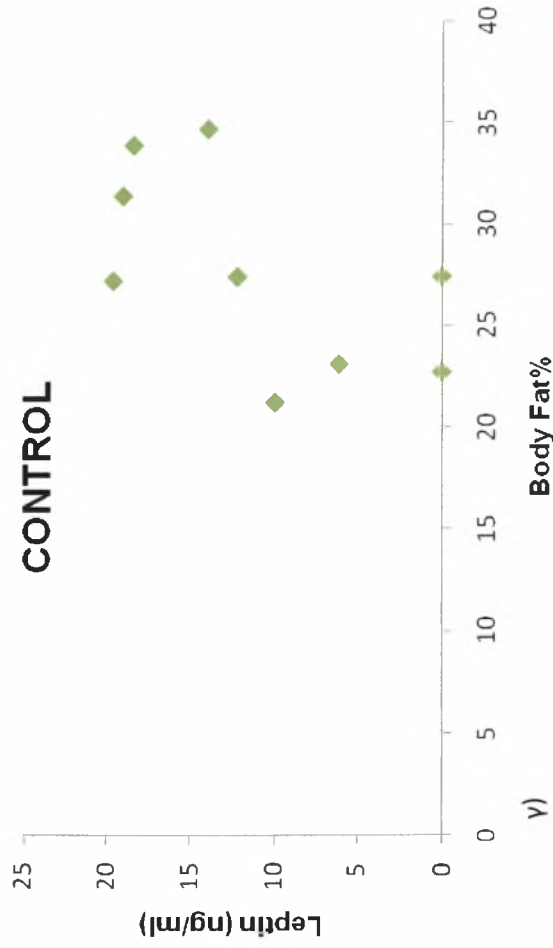
ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΙ



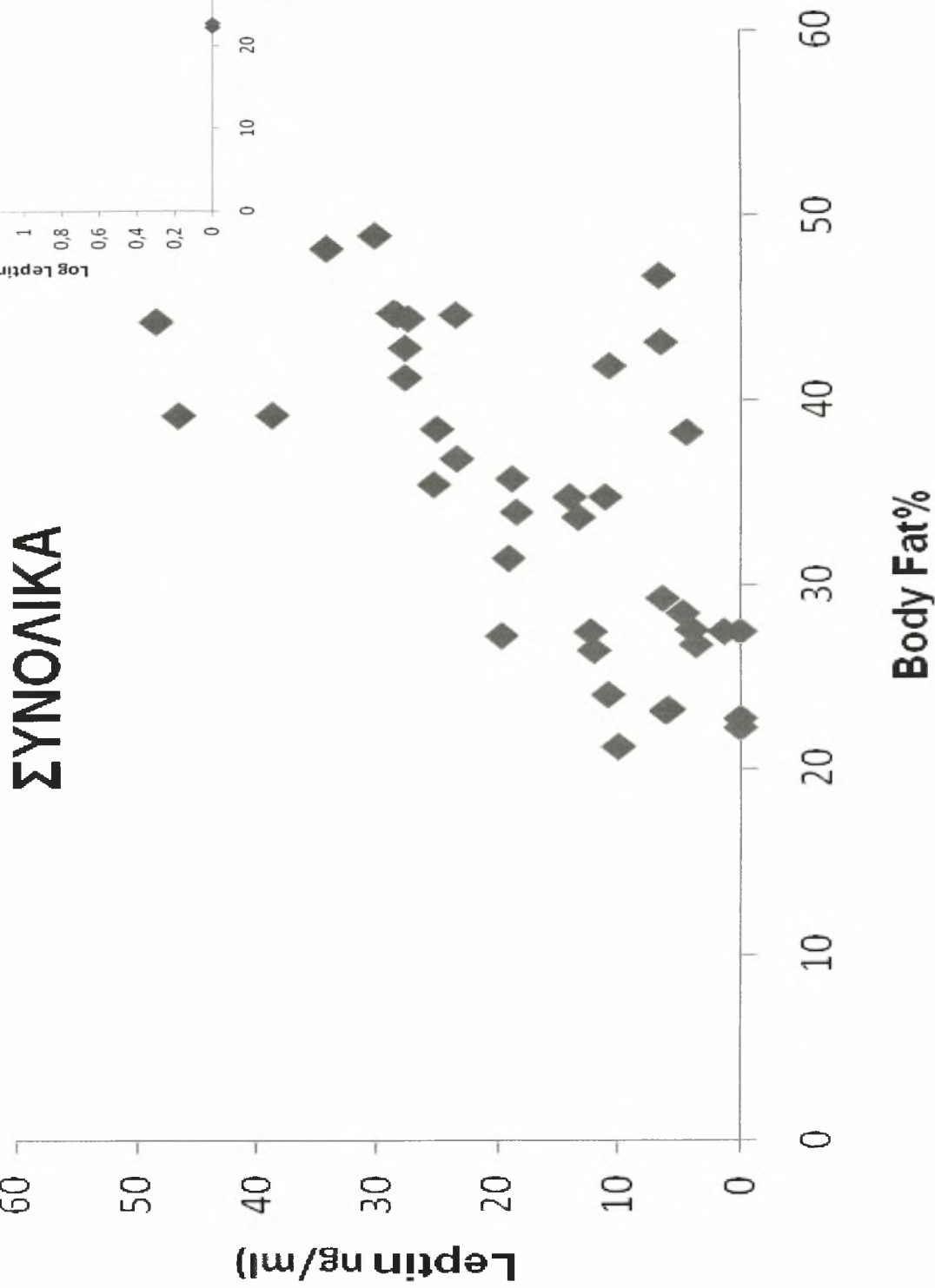
ΕΛΛΙΠΟΒΑΡΕΙΣ



CONTROL



Εικ.14: Συσχέτιση λεπτίνης και ποσοστού σωματικού λίπους (B. Fat%) σε α) παχύσαρκους, β) υπέρβαρους, γ) ομάδα ελέγχου, δ) ελλιποβαρείς.



Εικ.15: Συσχέτιση λεπτίνης και ποσοστού σωματικού λίπους για όλες τις κατηγορίες των ασθενών.

Μ.Ο ΒΜΙ Α Μ.Ο ΒΜΙ Β

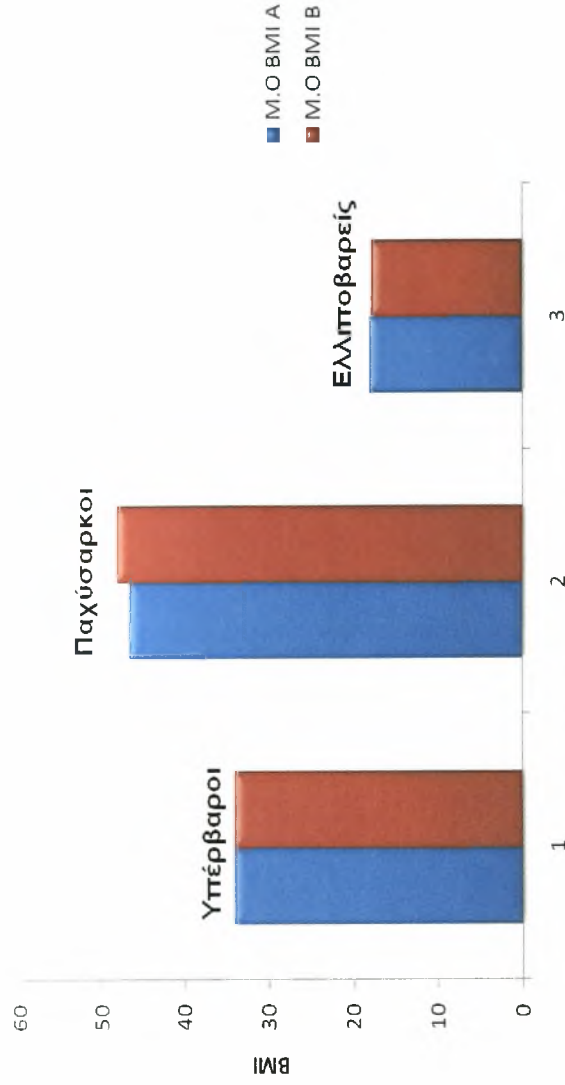
	Μ.Ο ΒΜΙ Α	Μ.Ο ΒΜΙ Β
Υπέρβαροι	34	34
Παχύσαρκοι	46,5	48
Ελλιποβαρείς	18	17,75

Πίνακας 9: Μέσοι όροι ΒΜΙ στην αρχή της μελέτης και μετά από έξι μήνες.

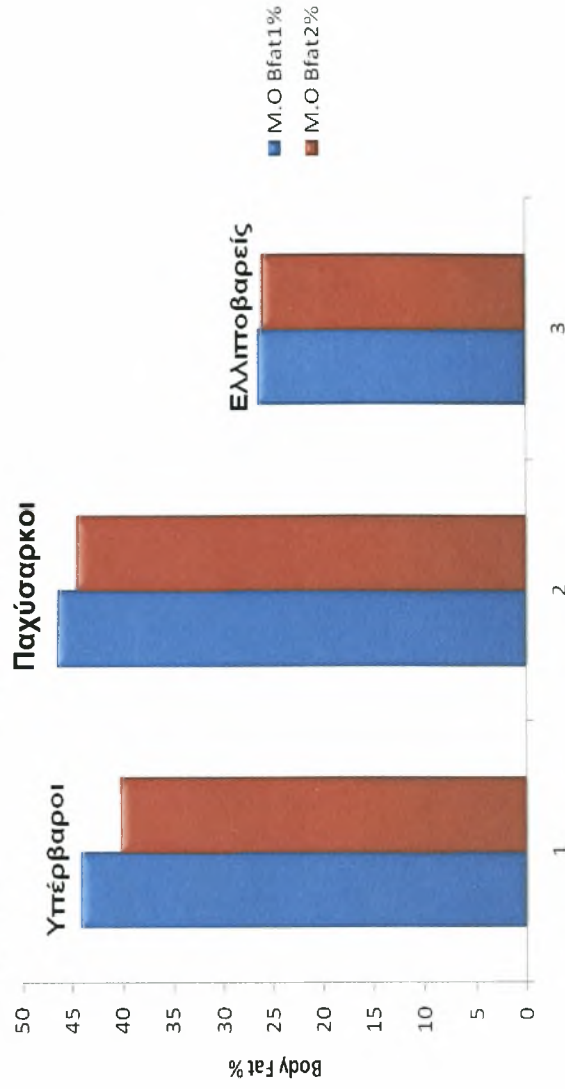
Μ.Ο Β. Fat% Α Μ.Ο Β. Fat% Β

	Μ.Ο Β. Fat% Α	Μ.Ο Β. Fat% Β
Υπέρβαροι	44,05	40,1
Παχύσαρκοι	46,4	44,45
Ελλιποβαρείς	26,43	26,05

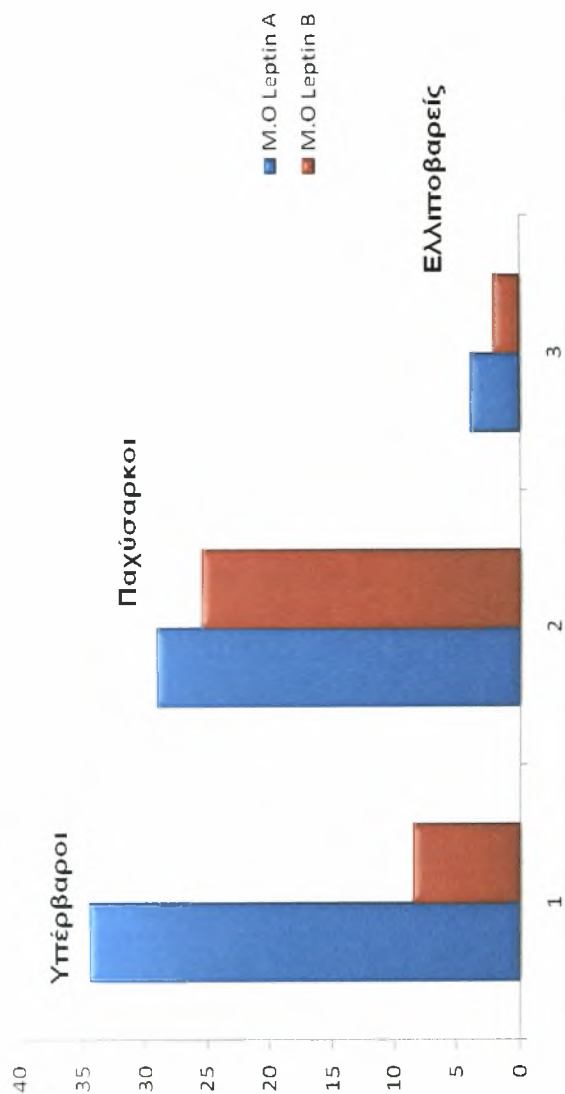
Πίνακας 10: Μέσοι όροι Β. Fat% στην αρχή της μελέτης και μετά από 6 μήνες.



Εικ. 16: Μέσοι όροι ΒΜΙ στην αρχή της μελέτης και μετά από έξι μήνες για κάθε κατηγορία ξεχωριστά.



Εικ. 17: Μέσοι όροι Β. Fat% στην αρχή της μελέτης και μετά από έξι μήνες για κάθε κατηγορία ξεχωριστά.



Εικ. 18 : Μέσοι όροι Λεπτίνης στην αρχή της μελέτης και μετά από έξι μήνες για κάθε κατηγορία ξεχωριστά.

M.O Leptin A M.O Leptin B

Υπέρβαροι	34,4	8,44
Παχύσαρκοι	28,79	25,18
Ελλιποβαρείς	3,9	2,1

Πίνακας 11: Μέσοι όροι Λεπτίνης στην αρχή της μελέτης και μετά από έξι μήνες.

επιβεβαιώνει ότι το αίσθημα της πείνας που οδηγεί και σε μείωση βάρους κατεστάλη μετά από ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης σε φυσιολογικά όρια. Συγκεκριμένα, αν και δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη αλλαγή βάρους στην κατηγορία των υπέρβαρων, παρατηρήθηκε ωστόσο μείωση στο ποσοστό σωματικού λίπους. Στη κατηγορία δε των σοβαρά παχύσαρκων, παρότι παρατηρήθηκε συνολική αύξηση βάρους, υπήρξε μείωση του ποσοστού σωματικού λίπους. Τέλος, στη κατηγορία των ελλιποβαρών, αν και συνολικά υπήρξε μία μικρή απώλεια βάρους παρά το γεγονός ότι ακολουθούσαν δίαιτα λεπτίνης για πάχυνση, μειώθηκε και το ποσοστό του σωματικού λίπους. Συνεπώς όλα τα παραπάνω ευρήματα, επαληθεύουν τις συσχετίσεις που κάναμε, όσον αφορά τη λεπτίνη σε σχέση με το ποσοστό του σωματικού λίπους και ενισχύουν τις υποθέσεις μας σχετικά με τη δραστηριότητα της δίαιτας στη ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης.

3.1.1 Συσχέτιση λεπτίνης και C – αντιδρώσας πρωτεΐνης.

Μελετήθηκε ακόμη η σχέση μεταξύ της λεπτίνης και της C – αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) καθότι είναι γνωστό ότι οι παχύσαρκοι ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένη προδιάθεση για εμφάνιση φλεγμονωδών καταστάσεων, π.χ. καρδιαγγειακές διαταραχές, έμφραγμα του μυοκαρδίου κ.α. και σημειώθηκε συσχέτιση ($r=0,452$, $P=0,0062$), (Εικόνα 20) για όλους τους ασθενείς. Στην ομάδα ελέγχου δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση, ενώ στην ομάδα των ελλιποβαρών διαπιστώθηκε οριακή συσχέτιση λεπτίνης και C – αντιδρώσας πρωτεΐνης ($r=0,613$, $P=0,055$) (Εικόνα 19). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ακόμη και οι ελλιποβαρείς ασθενείς, πιθανότατα λόγω του χαμηλού τους σωματικού βάρους είναι επιρρεπείς στο να αναπτύξουν φλεγμονώδεις παθήσεις.

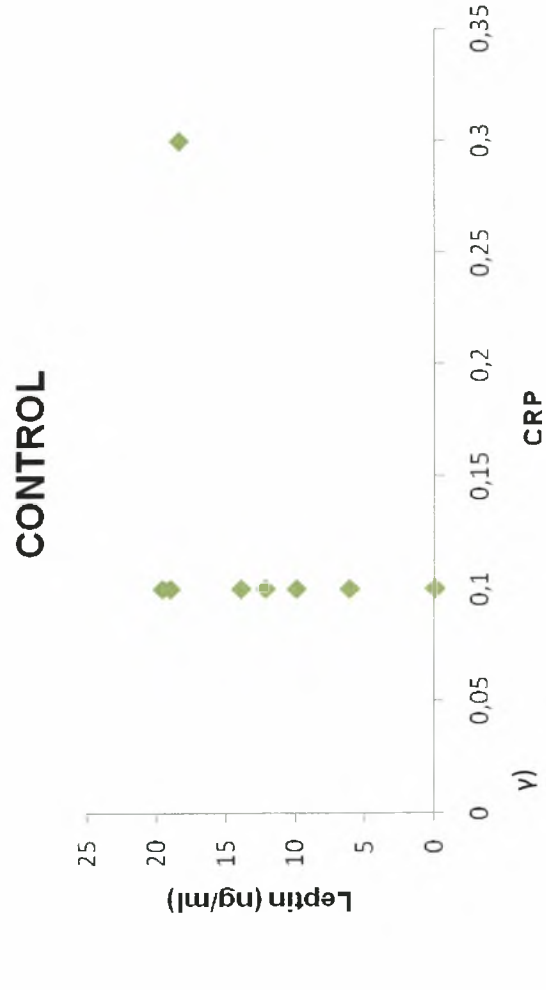
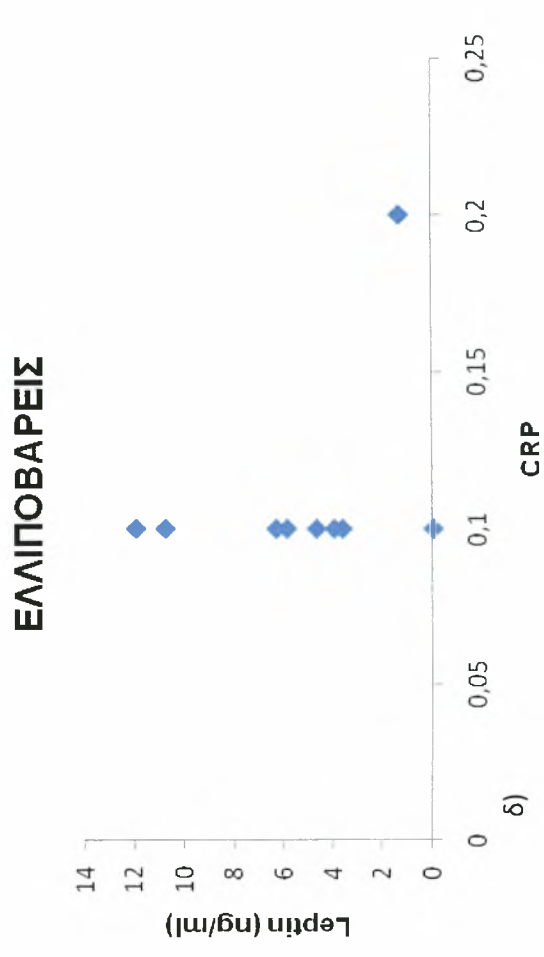
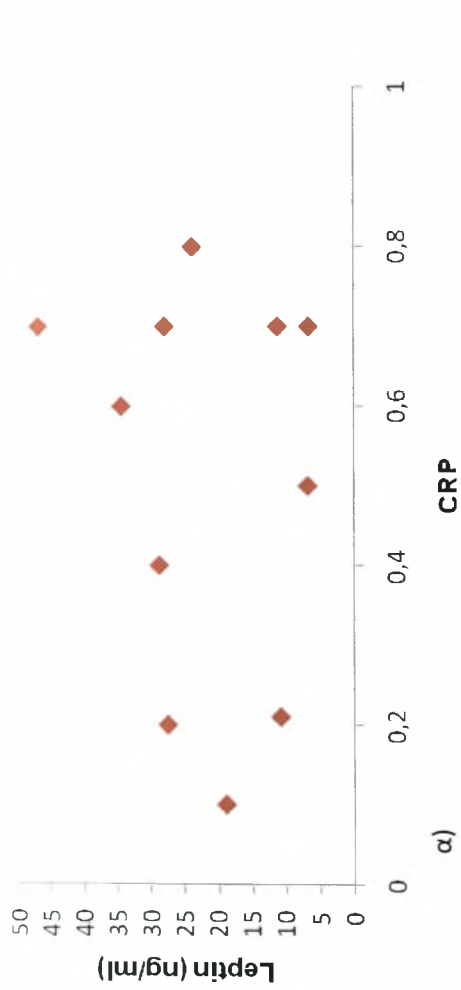
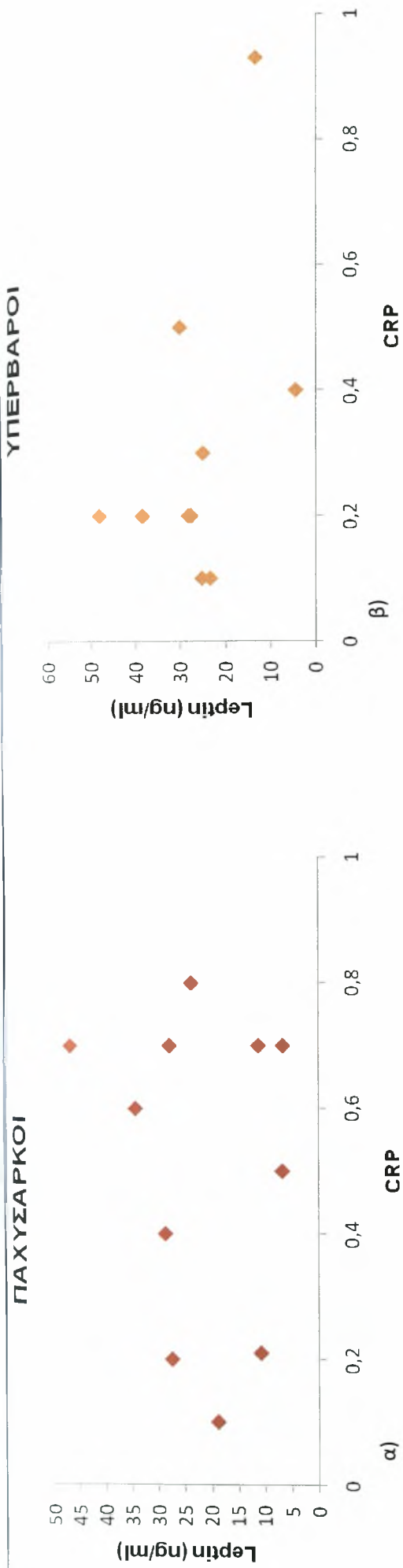
3.1.2 Συσχέτιση C – αντιδρώσας πρωτεΐνης και φερριτίνης με τα επίπεδα λεπτίνης ορού, ως παράγοντες φλεγμονής.

Στα πλαίσια αυτά μελετήθηκε και η συσχέτιση της φερριτίνης με τη λεπτίνη και με τη C – αντιδρώσα πρωτεΐνη. Πράγματι, υπάρχει συσχέτιση λεπτίνης και φερριτίνης ($r=0,3102$, $P=0,054$), (Εικόνα 22) στο σύνολο των

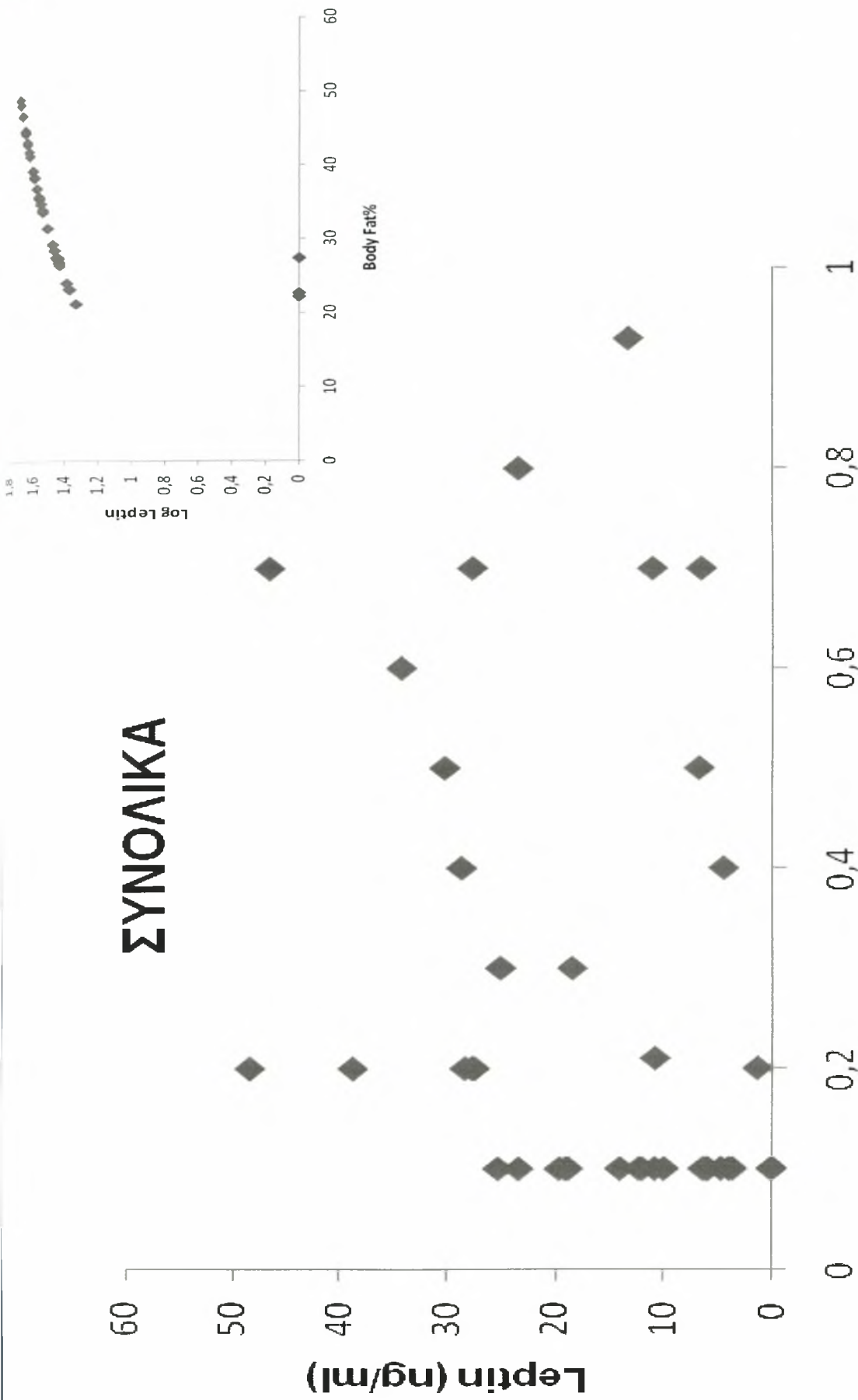
ασθενών. Όπως είναι γνωστό, η φερριτίνη είναι μία πρωτεΐνη που έχει σχετιστεί με αυξημένες τιμές C – αντιδρώσας πρωτεΐνης και με τη δημιουργία φλεγμονών. Οι υψηλές τιμές φερριτίνης που αποτελούν αποθήκες σιδήρου συνεπάγονται αυξημένες τιμές σιδήρου στον οργανισμό γεγονός που φαίνεται να αποτελεί επιβαρυντικό παράγοντα στη δημιουργία φλεγμονών. Ο σίδηρος έχει την ικανότητα να επικάθεται στα μαλακά μόρια του σώματος όπως το ήπαρ και να προκαλεί βλάβες, ενώ νεότερες έρευνες τον εμπλέκουν σε πιθανή αντιδράσεις οξειδωσης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL), που αποτελεί επιβαρυντικό παράγοντα στην εκδήλωση καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Τα αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών είναι αντικρουόμενα αναφορικά με τη σχέση λεπτίνης και αθηροσκλήρωσης. Δεδομένα πειραματικών μελετών σε ζώα, υποστηρίζουν την αθηρογόνο δράση της λεπτίνης, ενώ σύμφωνα με άλλες πειραματικές μελέτες η λεπτίνη δρα προστατευτικά απέναντι στην αθηροσκλήρωση. Η λεπτίνη έχει σχετιστεί με υψηλό κίνδυνο για οξεία καρδιαγγειακά συμβάματα, ωστόσο υπάρχουν μελέτες που δεν επιβεβαιώνουν τα ευρήματα αυτά. Υψηλά επίπεδα λεπτίνης μπορούν να προκαλέσουν αρτηριακή υπέρταση, η οποία θεωρείται κλασσικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης. Έγχυση λεπτίνης στις κοιλίες του εγκεφάλου προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης ανάλογη των επιπέδων στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης αποδίδεται στη κεντρική διέγερση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Από την άλλη πλευρά, η λεπτίνη μέσω των υποδοχέων της στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, διεγείρει σύμφωνα με *in vitro* μελέτες τη σύνθεση αγγειοδιασταλτικών μορίων στο ενδοθήλιο (NO, ενδοθηλίνη). Η περιφερική αυτή αγγειοδιασταλτική δράση της λεπτίνης θα μπορούσε να λειτουργεί σαν αντιρρόπηση της κεντρικής συμπαθητικής διεγερτικής της δράσης.

Οι προαναφερθείσες αθηρογόνες δράσεις της λεπτίνης οδηγούν στην υπόθεση ότι η υπερλεπτιναιμία που παρατηρείται στους παχύσαρκους θα μπορούσε να συμβάλλει στην αθηρωμάτωση και στην εκδήλωση καρδιαγγειακών παθήσεων. Ωστόσο η παχυσαρκία συνδυάζεται με αντίσταση στην ινσουλίνη και επομένως δεν είναι ξεκάθαρο ποιες από τις αθηρογόνες δράσεις της λεπτίνης ευοδώνονται και ποιες αναστέλλονται στη παχυσαρκία.

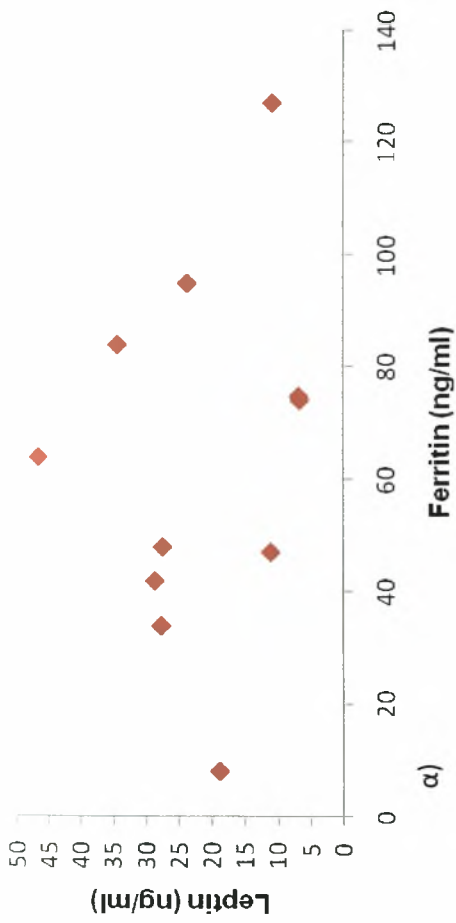


Εικ. 19: Συσχέτιση λεπτίνης και CRP σε α) παχύσαρκους, β) υπέρβαρους, γ) ομάδα ελέγχου, δ) ελλιποβαρείς.

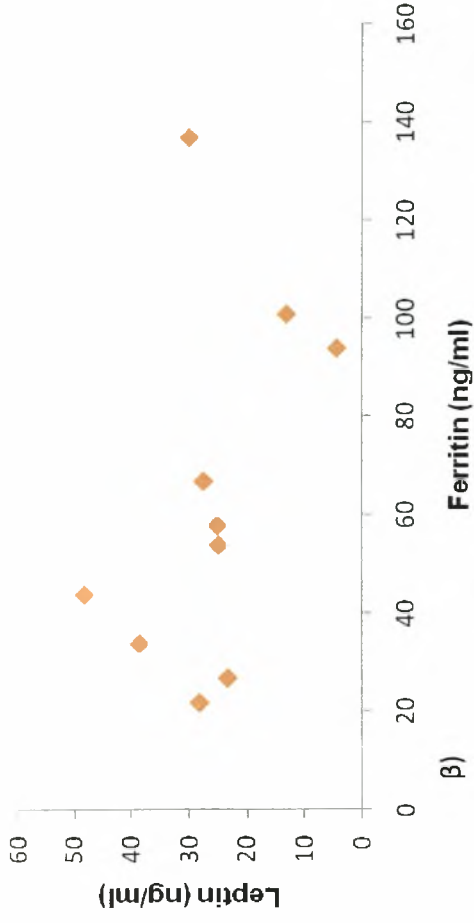


Εικ. 20: Συσχέτιση λεπτίνης και CRP για όλες τις κατηγορίες των ασθενών.

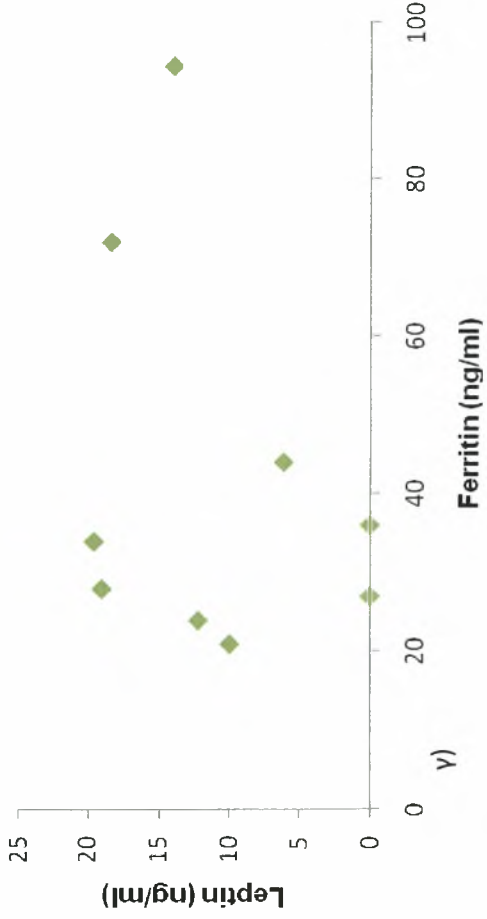
ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΙ



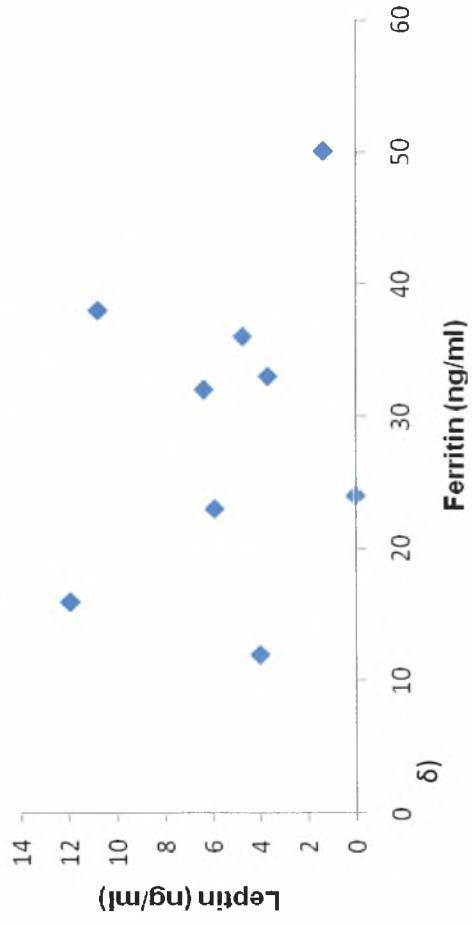
ΥΠΕΡΒΑΡΟΙ



CONTROL

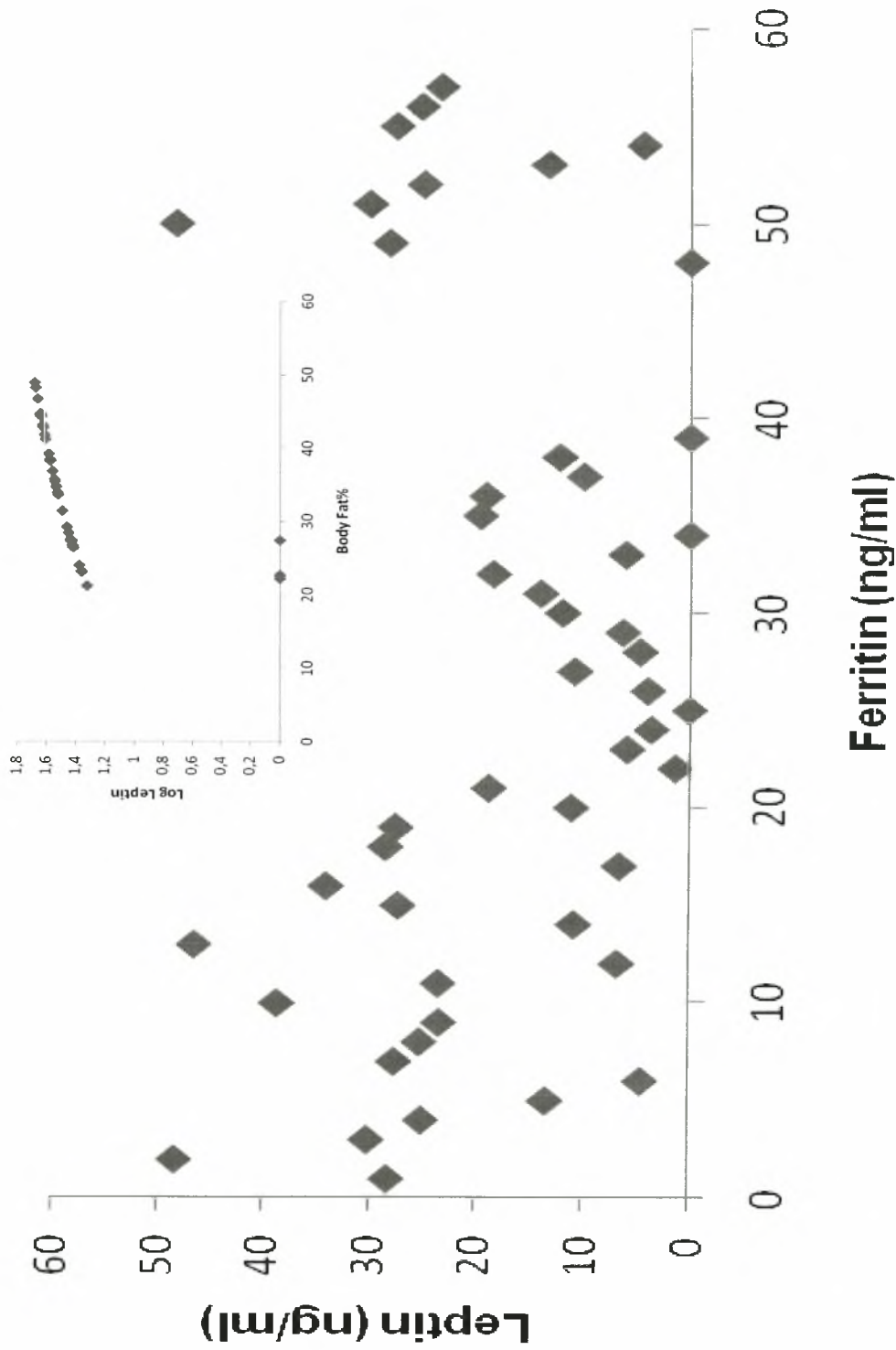


ΕΛΛΙΠΟΒΑΡΕΙΣ



Εικ. 21: Συσχέτιση λεπτίνης και φερριτίνης σε α) παχύσαρκους, β) υπέρβαρους, γ) ομάδα ελέγχου, δ) ελλιποβαρείς.

ΣΥΝΟΛΙΚΑ



Εικ. 22: Συσχέτιση λεπτίνης και φερριτίνης, για όλους τους ασθενείς.

3.1.3 Συσχέτιση λεπτίνης και γλυκόζης.

Μία άλλη ενδιαφέρουσα παρατήρηση που προέκυψε, είναι η συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης και της γλυκόζης νηστείας ($r=0,349$, $P=0,029$) για όλους τους ασθενείς, (Εικόνα 24). Όπως είναι γνωστό από παλαιότερες έρευνες η λεπτίνη δρα στους ιστούς επάγοντας την οξειδωση των λιπαρών οξέων και την πρόσληψη γλυκόζης και παρεμποδίζοντας την ενδογενή συγκέντρωση λιποειδών. Η δράση αυτή της λεπτίνης, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας και την προστασία των ιστών από λιποτοξικότητα. Οι μεταβολικοί οδοί μέσω των οποίων επιτυγχάνεται αυτό, περιλαμβάνουν τη διέγερση της πρόσληψης και οξειδωσης λιπαρών οξέων και της πρόσληψης γλυκόζης σε πολλούς ιστούς, τη διέγερση της βιογένεσης μιτοχονδρίων στο σκελετικό μυ, τη διέγερση της γλυκόλυσης στο μυοκάρδιο, την αναστολή της σύνθεσης λιπαρών οξέων στο ήπαρ και τα λιποκύτταρα, την αναστολή σύνθεσης χοληστερόλης και της γλυκονογένεσης στο ήπαρ, την αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης στο ήπαρ και τους μύες, την αναστολή της λιπόλυσης στα λιποκύτταρα και την αναστολή έκκρισης ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Η ινσουλινοευαισθησία που προκαλείται από τη λεπτίνη προστατεύει τους ιστούς από τη τοξικότητα της ενδογενούς συσσώρευσης λιπιδίων. Στα β-κύτταρα του παγκρέατος η λεπτίνη δρα αναστέλλοντας την έκκριση ινσουλίνης και την έκφραση των γονιδίων της ινσουλίνης και καταστέλλοντας την κυτταρική απόπτωση. Η ινσουλίνη είναι μία ορμόνη η οποία διεγείρει την παραγωγή λεπτίνης και η λεπτίνη με αρνητική ανάδρομη ρύθμιση αναστέλλει την παραγωγή ινσουλίνης, ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό τα επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα. Τα παχύσαρκα άτομα έχουν υψηλά επίπεδα λεπτίνης, αλλά εμφανίζουν αντίσταση στη δράση της λεπτίνης στα β-κύτταρα, η οποία οδηγεί σε διαταραχή της ρύθμισης έκκρισης της ινσουλίνης, υπερινσουλαιμία και τελικά εξάντληση των β-κυττάρων όπως παρατηρείται στο διαβήτη τύπου 2.

Στη παρούσα διατριβή, λόγω πρακτικής δυσκολίας στη μέτρηση της ινσουλίνης στον ορό, επιβεβαιώθηκε έμμεσα η σχέση λεπτίνης και ινσουλίνης με τη μέτρηση της γλυκόζης νηστείας.

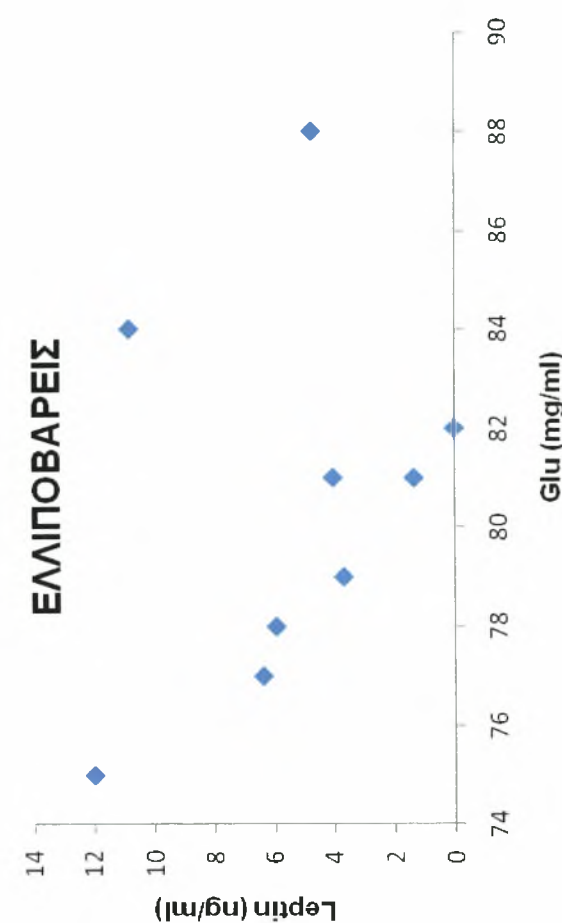
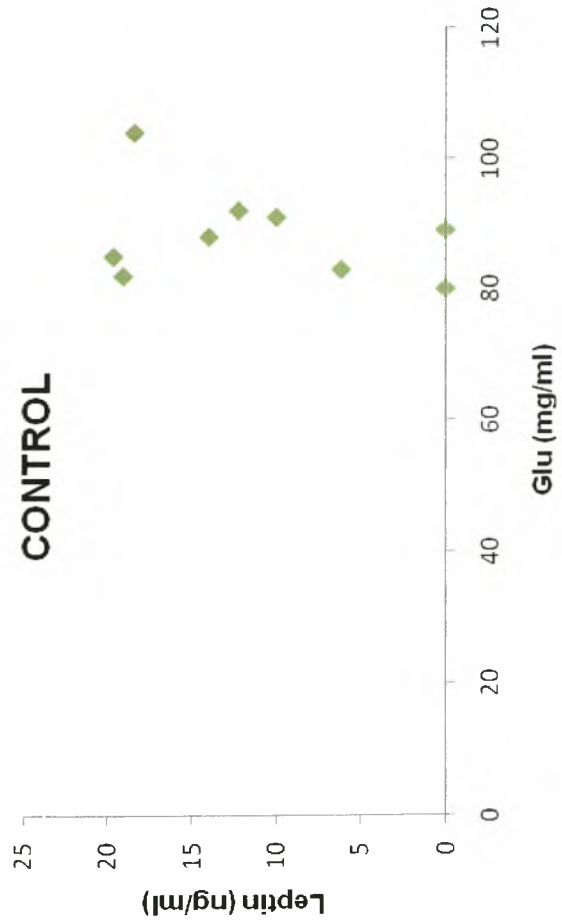
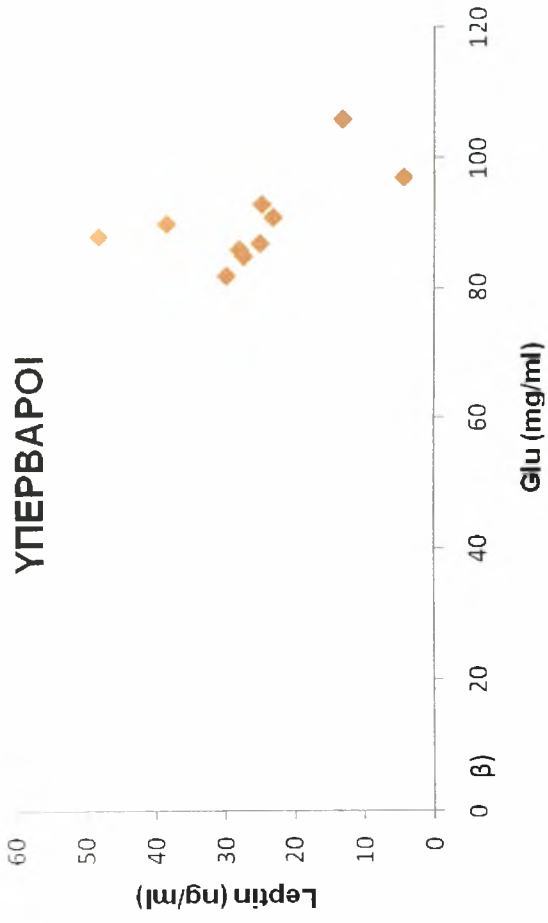
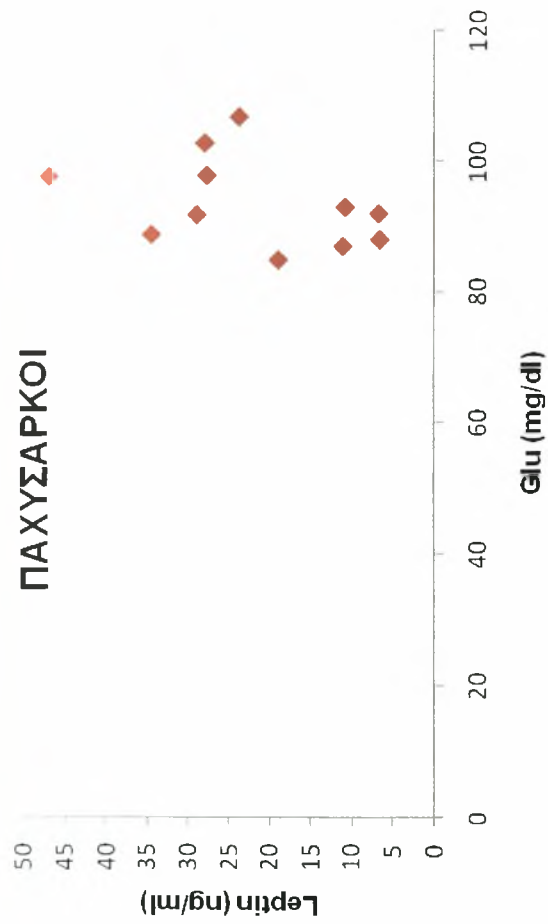
3.1.4 Λεπτίνη και λοιποί δείκτες.

Πέραν των συσχετίσεων μεταξύ λεπτίνης και ποσοστού σωματικού λίπους, λεπτίνης και CRP, λεπτίνης και φερριτίνης και λεπτίνης και γλυκόζης νηστείας, με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος, έγιναν συσχετίσεις για όλα τα στοιχεία που παρατίθενται στους πίνακες 4, 5, 6, 7 ανά κατηγορία και συνολικά, και βρέθηκε ότι όντως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ σωματικού λίπους, LDL, HDL, CRP, ολικής χοληστερόλης, αθηρωματικού δείκτη, φερριτίνης και γλυκόζης, όπως υποστηρίζεται από τη βιβλιογραφία αλλά δεν υπήρξε συσχέτιση αυτών με τα επίπεδα λεπτίνης ορού. Όλες οι στατιστικές επεξεργασίες έγιναν με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SAS (version 6.10 for Windows). Στο παράρτημα παρατίθενται οι πίνακες συσχετίσεων.

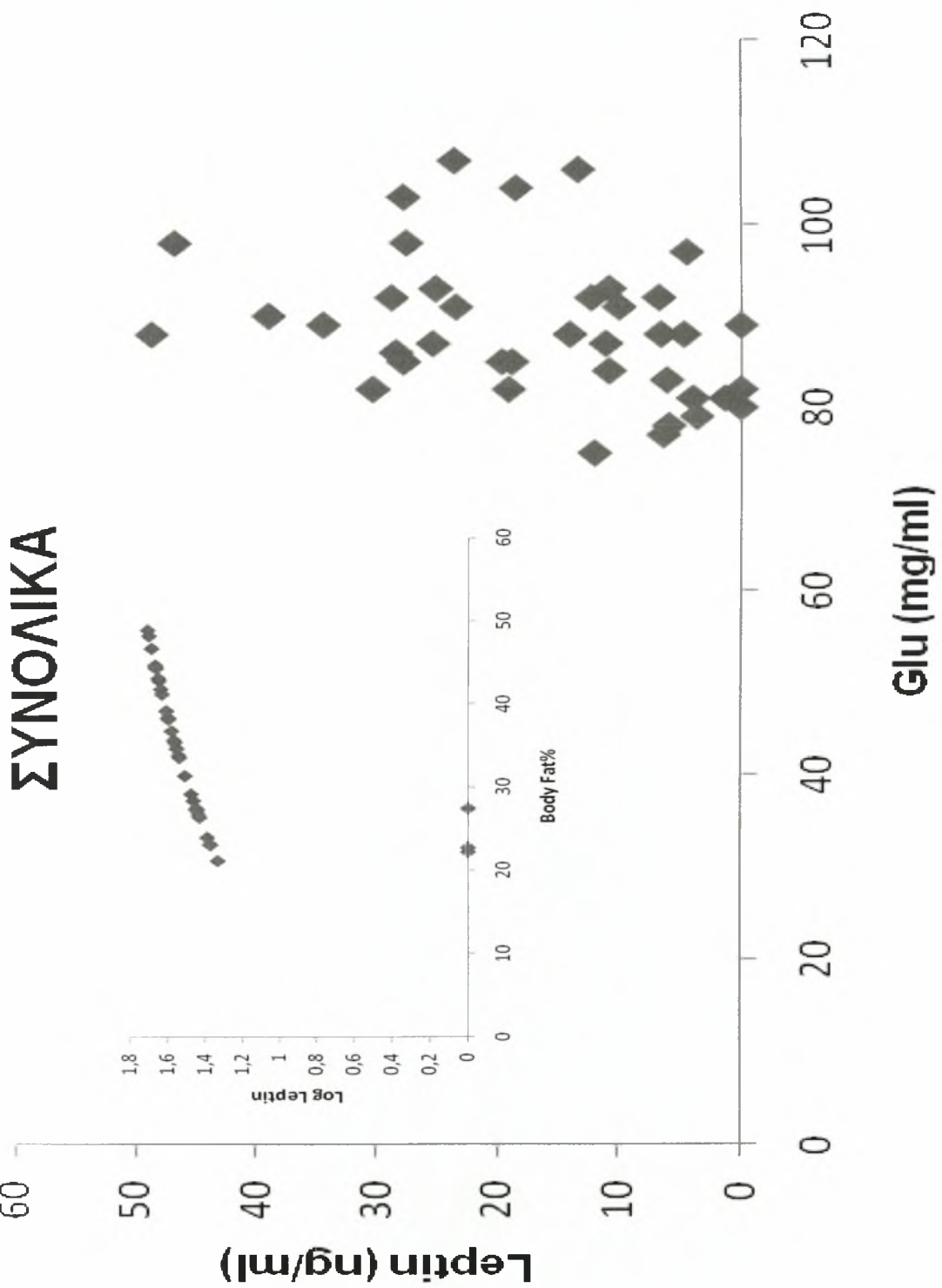
3.2 Επίλογος

Η σημαντική ανακάλυψη της ορμόνης λεπτίνης ενώ θεωρήθηκε από πολλούς ως λύση στο πρόβλημα της παχυσαρκίας, φαίνεται ότι τόσο η συμμετοχή της στη σηματοδότηση όσο και η επίδραση της στο ενδιάμεσο μεταβολισμό είναι αρκετά πολύπλοκη. Όπως διαφαίνεται από τη διεξαγωγή πολλών ερευνών, η παχυσαρκία εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, που επί της παρούσης είναι αδιόρατοι. Η συνεργιστική της δράση με την ινσουλίνη ωστόσο είναι αυτή που καθορίζει το ενεργειακό ισοζύγιο στους ιστούς, όμως πρέπει να διασαφηνιστεί το κομμάτι των μεταβολικών αντιδράσεων που παίζει ρόλο στην ομοιοστασία του ανθρώπινου οργανισμού. Φαίνεται δε ότι ακόμη και η υποκατάσταση της λεπτίνης δε δίνει λύση στο ακανθώδες πρόβλημα της παχυσαρκίας. Πολλά ερωτηματικά παραμένουν αναπάντητα, και αποτελούν αλλά και θα αποτελέσουν στόχο της μελλοντικής ιατρικής και φαρμακευτικής έρευνας. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης, αλλά και η ετερογένεια σε πληθυσμιακό επίπεδο, η μετάδοση του σήματος στον εγκέφαλο και οι πρωτεΐνες που διαμεσολαβούν, η επίδραση της άσκησης, αλλά και η επίδραση χρόνιων εκφυλιστικών παθήσεων του μεταβολισμού όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, εγείρουν ακόμη περισσότερα ερωτηματικά και

δυσχεραίνουν την βραχυπρόθεσμη επίλυση της παχυσαρκίας και των επιπτώσεων της στην υγεία και την ποιότητα ζωής του ατόμου.



Εικ. 23: Συσχέτιση λεπτίνης και γλυκόζης ορού σε α) παχύσαρκους, β) υπέρβαρους, γ) ομάδα ελέγχου, δ) ελλιποβαρείς.



Εικ.24 : Συσχέτιση λεπτίνης και γλυκόζης ορού για όλους τους ασθενείς.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. M. Guerre - Millo. *Adipose tissue and adipokines: for better or worse.* Diabetes Metab 2004, 30, 13-9.
2. Chen S, Hong K, Kim WS, Bajpai A, Treyzon L, Gratton L, Elashoff R, Wang HJ, Li Z, Heber D. *Insulin, hs-CRP, leptin, and adiponectin. An analysis of their relationship to the metabolic syndrome in an obese population with an elevated waist circumference.* Metab Syndr Relat Disord. 2008 Spring;6(1):64-73.
3. Tchernof A. *Visceral adipocytes and the metabolic syndrome.* Nutr Rev 2007;65:S24e29.
4. Einstein FH, Atzmon G, Yang XM, Ma XH, Rincon M, Rudin E, et al. *Differential responses of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients.* Diabetes 2005;54:672e678.
5. Jensen MD. *Is visceral fat involved in the pathogenesis of the metabolic syndrome? Human model.* Obesity (Silver Spring) 2006;14 Suppl. 1:20Se24S.
6. Cammisotto PG, Bukowiecki LJ. *Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes.* Am J Physiol Cell Physiol 2002 Jul;283(1):C244-50.
7. Maria Eugenia Frigolet Va'zquez-Vela, Nimbe Torres, and Armando R. Tovar. *White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its Role in Obesity.* Archives of Medical Research 39 (2008) 715e728.
8. Fredrikson G, Tornqvist H, Belfrage P. *Hormone-sensitive lipase and monoacylglycerol lipase are both required for complete degradation of adipocyte triacylglycerol.* Biochim Biophys Acta 1986;876:288e293.
9. Nadler ST, Attie AD. *Please pass the chips: genomic insights into obesity and diabetes.* J Nutr 2001;131:2078e2081.
10. A Marti, MJ Moreno-Aliaga, J Hebebrand and JA Martinez. *Genes, lifestyles and obesity.* International Journal of Obesity (2004) 28, S29-S36.
11. John PH Wilding. *Leptin and the control of obesity.* Current Opinion in Pharmacology, (2001) 1:656-661.

12. Huang BW, Chiang MT, Yao HT, Chiang W. *The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats.* Diabetes Obes Metab. 2004 Mar;6(2):120-6.
13. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. *Consumption of high fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity.* Am J Clin Nutr. 2004 Apr;79(4):537-43.
14. Polson DA, Thompson MP. *Macronutrient composition of the diet differentially affects leptin and adiponutrin mRNA expression in response to meal feeding.* J Nutr Biochem. 2004 Apr;15(4):242-6.
15. Rolls, BJ Morri ER, Rose LS. *Portion size of food affects energy intake in normal-weight and overweight men and women.* Am J Clin Nutr 2002;76:1207-13.
16. Cammisotto PG, Bukowiecki LJ. *Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes.* Am J Physiol Cell Physiol 2002 Jul;283(1):C244-50.
17. Bjorntorp P, Rossner S, Udden J. *"Consolatory eating" is not a myth. Stress-induced increased cortisol levels result in leptin-resistant obesity.* Lakartidningen 2001 Nov 28;98(48):5458-61.
18. Yokaichiya DK, Galembeck E, Torres BB, Da Silva JA, de Araujo DR. *Insulin and leptin relations in obesity: a multimedia approach.* Adv Physiol Educ. 2008 Sep;32(3):231-6.
19. Farooqi IS, O'Rahilly S. *Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis.* Am J Clin Nutr. 2009 Mar;89(3):980S-4S. Epub 2009 Feb 11.
20. Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. *Developmental origin of fat: tracking obesity to its source.* Cell 2007;131:242e256.
21. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. *Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008 Oct;295(4):H1514-21. Epub 2008 Aug 8.
22. Bray GA. *Fructose: should we worry?* Int J Obes (Lond). 2008 Dec;32 Suppl 7:S127-31.
23. William G. Haynes (2005) *Role of leptin in obesity related hypertension.* Exp Physiol 90;683-688.
24. Byron J. Richards. *Mastering Leptin.* Wellness Resources Books, 2005.

25. Gurevich-Panigrahi T, Panigrahi S, Wiechec E, Los M. *Obesity: pathophysiology and clinical management*. Curr Med Chem. 2009;16(4):506-21.
26. Pablo J. Enriori, Anne E. Evans, Puspha Sinnayah, and Michael A. Cowley. *Leptin Resistance and Obesity*. Obesity Vol. 14 Supplement August 2006.
27. W.I. Sivitz, S.A. Walsh, D.A. Morgan, M. J. Thomas, W.G. Haynes. *Effects of Leptin on Insulin Sensitivity in Normal rats*. Endocrinology, Vol.V 138, No 8.
28. W.I. Sivitz, S.A. Walsh, D.A. Morgan, M. J. Thomas, W.G. Haynes. *Effects of Leptin on Insulin Sensitivity in Normal rats*. Endocrinology, Vol.V 138, No 8.
29. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC. *Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice*. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:6231e6235.
30. Bates SH, Myers MG. *The role of leptin/STAT3 signaling in neuroendocrine function: an integrative perspective*. J Mol Med 2004;82:12e20.
31. Diraison F, Dusserre E Vidal H, Sothier M, Beylot M. *Increased hepatic lipogenesis but decreased expression of lipogenic gene in adipose tissue in human obesity*. Am J Physiol Endocrinol Metab Jan 2002;282(1):E46-51.
32. Szucs N, Varga I, Jakab C, Patocs A, Glaz E, Toth M, Kiss R, Racz K. *Leptin inhibits cortisol and corticosterone secretion in pathologic human adrenocortical cells*. Pituitary 2001 Jan- Apr;4 (1-2):71-7.
33. Asimakopoulos B, Milousis A, Gioka T, Kabouromiti G, Gianisslis G, Troussa A, Simopoulou M, Katergari S, Tripsianis G, Nikolettos N. *Serum Pattern of Circulating Adipokines throughout the Physiological Menstrual Cycle*. Endocr J. 2009 Feb 18.
34. Gualillo O, Eiras S, Lago F, Dieguez C, Casanueva FF. *Elevated serum leptin concentrations induced by experimental acute inflammation*. Life Sci 2000 Oct 6;67(20):2433-41.
35. Das UN. *Is obesity an inflammatory condition?* Nutrition 2001 Nov-Dec;17(11-12):953-66.
36. Robert V. Considine, PH.D., Madhurk. Sinha, PH.D., Markl. Heiman, PH.D., Aidask Riauciunas, PH.D., Thomas W. Stephens, PH.D., Mark. Nyce, M.S., Joannap, Ohannesian, B.S.N., Cheryl C. Marco, R.D., Linda J. McKee, M.H.S., Thomas L. Bauer, M.D., and Josif. Caro, M.D. *Serum immunoreactive*

– *Leptin Concentrations in Normal –weight and Obese humans*. The New England Journal Of Medicine Vol. 334 No. 5.

37. Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM, Goto T, Westerbacka J, Sovijarvi A, Halavaara J, Yki-Jarvinen H. *Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free Fatty acids independent of obesity in normal men*. J Clin Endocrinol Metab 2002 Jul;87(7):3023-8.
38. Jana Malinčíková, David Stejskalb, Jiří Hřebíček. *Serum Leptin and Leptin Receptors in healthy prepubertal children: Relations to insulin resistance and Lipid parameters, body mass index (BMI), tumor necrosis factor (TNF), Heart Fatty acid binding protein (hFABP), and IgG anticardiolipin (ACL-IgG)*. Volume 143, 2000 Biomedical papers.
39. Lollmann B, Gruninger S, Stricker-Krongrad A, Chiesi M. *Detection and quantification of the leptin receptor splice variants Ob-Ra, b, and, e in different mouse tissues*. Biochem Biophys Res Commun 1997;238:648e652.
40. Morrison RF, Farmer SR. *Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation*. J Nutr 2000;130:3116Se3121S.
41. Yokaichiya DK, Galembeck E, Torres BB, Da Silva JA, de Araujo DR. *Insulin and leptin relations in obesity: a multimedia approach*. Adv Physiol Educ. 2008 Sep;32(3):231-6.
42. Kim S, Moustaid-Moussa N. *Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte*. J Nutr 2000;130:3110Se3115S.
43. Everett L, Galli A, Crabb D. *The role of hepatic peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in health and disease*. Liver 2000;20:191e199.
44. Lionetti L, Mollica MP, Lombardi A, Cavaliere G, Gifuni G, Barletta A. *From chronic overnutrition to insulin resistance: The role of fat-storing capacity and inflammation*. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2009 Jan 24.
45. A. Liuzzi, G. Savia, M. Tagliaferri, R. Lucantoni, ME. Berselli, ML. Petroni, C. De Medici, GC. Viberti. *Serum leptin concentration in moderate and severe obesity: relationship with clinical, anthropometric and metabolic factors*. International Journal of Obesity (1999) 23, 1066-1073.
46. M. Guerre - Millo. *Adipose tissue and adipokines: for better or worse*. Diabetes Metab 2004, 30, 13-9.

47. Robert V. Considine, Madhur K. Sinha, Mark L. Heiman, Aidas Kriauciunas, Thomas Stephens, Mark R. Nyce, Joanna P. Ohannesian, Cheryl C. Marco, Linda J. McKee, Thomas L. Bauer, Jose F. Caro. *Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans*. The new journal of medicine, Feb 1, 1996 292-295.
48. Evan D. Rosen, Bruce M. Spiegelman. *Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis*. Nature, Vol444/14 December 2006.
49. W.I. Sivitz, S.A. Walsh, D.A. Morgan, M. J. Thomas, W.G. Haynes. *Effects of Leptin on Insulin Sensitivity in Normal rats*. Endocrinology, Vol.V 138, No 8.
50. Polson DA, Thompson MP. *Macronutrient composition of the diet differentially affects leptin and adiponutrin mRNA expression in response to meal feeding*. J Nutr Biochem. 2004 Apr;15(4):242-6.
51. Keijzers GB, De Galan BE, Tack CJ, Smits p. *Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans*. Diabetes Care 2002 Feb;25(2):364-9.
52. Zemel MB. *Calcium modulation of hypertension and obesity mechanisms and implications*. J Am Coll Nutr 2001 Octq20(5Supp):428-435.
53. Shi H, Dirienzo D, Zemel MB. *Effects of dietary calcium on adipocyte lipid metabolism and body weight regulation in energy-restricted a P2-agouti transgenic mice*. FASEB J2001 Feb;15(2):291-3.
54. Holst JJ, Orskov C. *Incretin hormones-an update*. J Clin lab Invest Suppl 2001;(234):75-85.
55. Noya W, Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H, Fujimoto S, Oku A, Tsuda K, Toyokuni S, Hiai H, Mizunoya W, Fushiki T, HolstJJ, Makino M, Tashita A, Kobara *Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity*. Nat Med 2002 Jul;8(7):738-42.
56. William G. Haynes (2005) *Role of leptin in obesity related hypertantion*. Exp Physiol 90;683-688.
57. Leal-Cerro A, soto A, Martinez MA, Dieguez C, Casanueva FF. *Influence of cortisol status on leptin secretion*. Pituitary 2001 Jan-April;4(1-2):111-6.
58. Livingstone D, Grassick S, Currie G, Walker B, Andrew R. *Disregulation of glucocorticoid metabolism in murine obesity. Comparable effects of leptin resistance and deficiency*. J Endocrinol. 2009 Feb 17.
59. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, Keim NL, Cummings BP, Stanhope KL, Havel PJ. *Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in*

- obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses.* J Clin Endocrinol Metab. 2009 Feb 10.
60. Gurevich-Panigrahi T, Panigrahi S, Wiechec E, Los M. *Obesity: pathophysiology and clinical management.* Curr Med Chem. 2009;16(4):506-21.
 61. De Luis DA, Perez Castrillon JL, Duenas A. *Minerva Leptin and obesity.* Med. 2009 Jan 30.
 62. Bray GA. *Fructose: should we worry?* Int J Obes (Lond). 2008 Dec;32 Suppl 7:S127-31.
 63. Forsythe LK, Wallace JM, Livingstone MB. *Obesity and inflammation: the effects of weight loss.* Nutr Res Rev. 2008 Dec;21(2):117-33.
 64. DeLany J.J Bodyw. *Leptin hormone and other biochemical influences on systemic inflammation.* Mov Ther. 2008 Apr;12(2):121-32. Epub 2008 Jan 30.
 65. Melanson KJ, Angelopoulos TJ, Nguyen V, Zukley L, Lowndes J, Rippe JM. *High-fructose corn syrup, energy intake, and appetite regulation.* Am J Clin Nutr. 2008 Dec;88(6):1738S-1744S.
 66. Bjorntorp P, Rossner S, Udden J. *“Consolatory eating” is not a myth. Stress-induced increased cortisol levels result in leptin-resistant obesity.* Lakartidningen 2001 Nov 28;98(48):5458-61.
 67. Paz-Filho GJ, Babikian T, Asarnow R, Esposito K, Erol HK, Wong ML, Licinio. *Leptin replacement improves cognitive development.* J.PLoS ONE. 2008 Aug 29;3(8):e3098.
 68. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. *Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008 Oct;295(4):H1514-21. Epub 2008 Aug 8.
 69. John L Beard, Laura E Murray-Kolb, Francisco J Rosales, Noel W Solomons, and Mary Lu Angelilli. *Interpretation of serum ferritin concentrations as indicators of total-body iron stores in survey populations: the role of biomarkers for the acute phase response*^{1–4}. Am J Clin Nutr 2006;84:1498 – 505.
 70. G. V. Z. Dedoussis · M.-C. KyrtsonisN. E. Andrikopoulos · E. Voskaridou · A. Loutradis. *Inverse correlation of plasma leptin and soluble transferrin receptor levels in β-thalassemia patients.* Ann Hematol (2002) 81:543–547.

71. Jeffrey M. Friedman & Jeffrey L. Halaas. *Leptin and the regulation of body* Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB, et al. *Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity*. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6:343e368.
72. *weight in mammals*. *Nature* Vol 395 22 Oct. 1998.
73. Cases JA, Barzilai N. *The regulation of body fat distribution and the modulation of insulin action*. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(suppl 4):S63e66.
74. Einstein FH, Atzmon G, Yang XM, Ma XH, Rincon M, Rudin E, et al. *Differential responses of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients*. *Diabetes* 2005;54:672e678.
75. Brook RD, Bard RL, Bodary PF, Eitzman DT, Rajagopalan S, Sun Y, et al. *Blood pressure and vascular effects of leptin in humans*. *Metab Syndr Relat Disord* 2007;5:270e274.
76. Misra A, Vikram NK. *Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots*. *Nutrition* 2003;19:457e466.
77. Stenvinkel P. *Leptin and blood pressure is there a link?* *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1115e1117.
78. Reddy JK, Mannaerts GP. *Peroxisomal lipid metabolism*. *Annu Rev Nutr* 1994;14:343e370.
79. Tolbert NE. *Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes*. *Annu Rev Biochem* 1981;50:133e157.
80. Spiegelman BM, Puigserver P, Wu Z. *Regulation of adipogenesis and energy balance by PPAR γ and PGC-1*. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(suppl 4):S8e10.
81. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. *Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor*. *Cell* 1994;79:1147e1156.
82. Lee CH, Olson P, Evans RM. *Mini review: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors*. *Endocrinology* 2003;144:2201e2207.

83. Aleman G, Torres N, Tovar AR. *Peroxisome proliferator-activated receptors(PPARs) in obesity and insulin resistance development*. Rev Invest Clin 2004;56:351e367.
84. McDevitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM. *De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women*. Am J Clin Nutr 2001;74:737e746.
85. Huber AM, Gershoff SN, Antoniadou HN. *The effect of fasting and refeeding on isolated rat adipose tissue activity in the presence of crystalline and "bound" insulin*. Metabolism 1965;14:619e624.
86. Sebokova E, Klimes I. *Molecular and cellular determinants of triglyceride availability*. Ann NY Acad Sci 1997;827:200e214.
87. Zechner R, Strauss J, Frank S, Wagner E, Hofmann W, Kratky D, et al. *The role of lipoprotein lipase in adipose tissue development and metabolism*. Int J Obes Relat Metab Disord 2000;24(suppl 4):S53e56.
88. Sul HS, Wang D. *Nutritional and hormonal regulation of enzymes in fat synthesis: studies of fatty acid synthase and mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase gene transcription*. Annu Rev Nutr 1998;18:331e351.
89. Sekiya M, Yahagi N, Matsuzaka T, Takeuchi Y, Nakagawa Y, Takahashi H, et al. *SREBP-1-independent regulation of lipogenic gene expression in adipocytes*. J Lipid Res 2007;48:1581e1591.
90. Villena JA, Roy S, Sarkadi-Nagy E, Kim KH, Sul HS. *Desnutrin, and adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis*. J Biol Chem 2004;279:47066e47075.
91. Holm C. *Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis*. Biochem Soc Trans 2003;31:1120e1124.
92. Egan JJ, Greenberg AS, Chang MK, Wek SA, Moos MC Jr, Londos C. *Mechanism of hormone-stimulated lipolysis in adipocytes: translocation of hormone-sensitive lipase to the lipid storage droplet*. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:8537e8541.
93. Lafontan M, Sengenès C, Galitzky J, Berlan M, De Glisezinski I, Crampes F, et al. *Recent developments on lipolysis regulation in humans and discovery of*

- a new lipolytic pathway. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(suppl 4):S47e52.
94. Deshaies Y, Despres JP. *Adipose tissue metabolism: view from the chair*. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(suppl 4):S71e74.
95. Langin D. *Control of fatty acid and glycerol release in adipose tissue lipolysis*. *CR Biol* 2006;329:598e607. discussion 653e595.
96. Ragolia L, Begum N. *Protein phosphatase-1 and insulin action*. *Mol Cell Biochem* 1998;182:49e58.
97. Kershaw EE, Flier JS. *Adipose tissue as an endocrine organ*. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548e2556.
98. Unger RH. *Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome*. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:398e403.
99. Unger RH, Zhou YT, Orci L. *Regulation of fatty acid homeostasis in cells: novel role of leptin*. *PNAS* 1999;96:2327e2332.
100. Wang ZW, Pan WT, Lee Y, Kakuma T, Zhou YT, Unger RH. *The role of leptin resistance in the lipid abnormalities of aging*. *FASEB J* 2001;15:108e114.
101. W.I. Sivitz, S.A. Walsh, D.A. Morgan, M. J. Thomas, W.G. Haynes. *Effects of Leptin on Insulin Sensitivity in Normal rats*. *Endocrinology*, Vol.V 138, No 8.
102. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. *Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates*. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3909 ± 3913.
103. Lonnqvist F, Wennlund A, Arner P. *Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects*. *Int J Obes* 1997; 21: 255 ± 260.
104. Cinti S, Frederich RC, Zingaretti MC, De Matteis R, Flier JS, Lowell BB. *Immunohistochemical localization of leptin and uncoupling protein in white and brown adipose tissue*. *Endocrinology* 1997; 138: 797 ± 804.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΟΛΟΙ ΟΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Pearson Correlation Coefficients, N = 39
Prob > |r| under H0: Rho=0

	CHOL	LEPTIN	LDL	HDL	CRP	ATHIR	BFAT	GLU	FER
CHOL	1.00000	0.03979 0.8099	0.68177 <.0001	-0.25303 0.1201	0.43084 0.0062	0.60530 <.0001	0.37324 0.0193	0.28959 0.0737	0.15878 0.3343
LEPTIN	0.03979 0.8099	1.00000	-0.07465 0.6515	-0.04899 0.7671	0.45298 0.0038	0.08298 0.6155	0.66812 <.0001	0.34954 0.0292	0.31021 0.0546
LDL	0.68177 <.0001	-0.07465 0.6515	1.00000	-0.27974 0.0846	0.17192 0.2953	0.62374 <.0001	0.25912 0.1112	0.32513 0.0434	0.15740 0.3386
HDL	-0.25303 0.1201	-0.04899 0.7671	-0.27974 0.0846	1.00000	-0.23429 0.1511	-0.74068 <.0001	-0.09917 0.5481	-0.19391 0.2369	0.02297 0.8896
CRP	0.43084 0.0062	0.45298 0.0038	0.17192 0.2953	-0.23429 0.1511	1.00000	0.39336 0.0132	0.66642 <.0001	0.45777 0.0034	0.55825 0.0002
ATHIR	0.60530 <.0001	0.08298 0.6155	0.62374 <.0001	-0.74068 <.0001	0.39336 0.0132	1.00000	0.24062 0.1401	0.27409 0.0913	0.09412 0.5688
BFAT	0.37324 0.0193	0.66812 <.0001	0.25912 0.1112	-0.09917 0.5481	0.66642 <.0001	0.24062 0.1401	1.00000	0.44536 0.0045	0.57997 0.0001
GLU	0.28959 0.0737	0.34954 0.0292	0.32513 0.0434	-0.19391 0.2369	0.45777 0.0034	0.27409 0.0913	0.44536 0.0045	1.00000	0.28021 0.0840
FER	0.15878 0.3343	0.31021 0.0546	0.15740 0.3386	0.02297 0.8896	0.55825 0.0002	0.09412 0.5688	0.57997 0.0001	0.28021 0.0840	1.00000

The SAS System 20:55 Sunday, February 20, 2000 3

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
COLOR	4	BLUE GREEN ORANGE RED

Number of observations 39
The SAS System 20:55 Sunday, February 20, 2000 4
The GLM Procedure

Dependent Variable: FER

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	8246.87027	2748.95676	3.34	0.0303
Error	35	28830.82736	823.73792		
Corrected Total	38	37077.69764			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FER Mean
0.222421	56.52881	28.70083	50.77205

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COLOR	3	8246.870272	2748.956757	3.34	0.0303

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COLOR	3	8246.870272	2748.956757	3.34	0.0303

The SAS System 20:55 Sunday, February 20, 2000 17

The GLM Procedure
Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey-Kramer

Least Squares Means for effect COLOR
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: FER

i/j	1	2	3	4
1		0.7750	0.0603	0.0565
2	0.7750		0.3739	0.3699
3	0.0603	0.3739		1.0000
4	0.0565	0.3699	1.0000	

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΝΑ ΟΜΑΔΑ

ΥΠΕΡΒΑΡΟΙ

Pearson Correlation Coefficients, N = 10
Prob > |r| under H0: Rho=0

	CHOL	LEPTIN	LDL	HDL	CRP	ATHIR	BFAT	GLU	FER
CHOL	1.00000	-0.54788 0.1011	0.50456 0.1369	0.15577 0.6674	-0.18835 0.6023	0.05312 0.8841	-0.14874 0.6817	0.11097 0.7602	-0.36002 0.3068
LEPTIN	-0.54788 0.1011	1.00000	-0.27663 0.4391	0.21032 0.5597	0.06275 0.8633	-0.23889 0.5062	0.52046 0.1230	-0.60493 0.0639	0.21112 0.5582
LDL	0.50456 0.1369	-0.27663 0.4391	1.00000	-0.27270 0.4459	-0.61613 0.0579	0.60987 0.0612	-0.41829 0.2290	0.21246 0.5557	-0.49482 0.1459
HDL	0.15577 0.6674	0.21032 0.5597	-0.27270 0.4459	1.00000	0.04377 0.9044	-0.77529 0.0084	0.82213 0.0035	-0.42151 0.2250	0.23446 0.5144
CRP	-0.18835 0.6023	0.06275 0.8633	-0.61613 0.0579	0.04377 0.9044	1.00000	-0.10839 0.7657	0.38138 0.2769	-0.54587 0.1026	0.70442 0.0229
ATHIR	0.05312 0.8841	-0.23889 0.5062	0.60987 0.0612	-0.77529 0.0084	-0.10839 0.7657	1.00000	-0.66046 0.0376	0.16826 0.6422	-0.05761 0.8744
BFAT	-0.14874 0.6817	0.52046 0.1230	-0.41829 0.2290	0.82213 0.0035	0.38138 0.2769	-0.66046 0.0376	1.00000	-0.74894 0.0127	0.40416 0.2467
GLU	0.11097 0.7602	-0.60493 0.0639	0.21246 0.5557	-0.42151 0.2250	-0.54587 0.1026	0.16826 0.6422	-0.74894 0.0127	1.00000	-0.64601 0.0436
FER	-0.36002 0.3068	0.21112 0.5582	-0.49482 0.1459	0.23446 0.5144	0.70442 0.0229	-0.05761 0.8744	0.40416 0.2467	-0.64601 0.0436	1.00000

ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΙ

Pearson Correlation Coefficients, N = 11
Prob > |r| under H0: Rho=0

	CHOL	LEPTIN	LDL	HDL	CRP	ATHIR	BFAT	GLU	FER
CHOL	1.00000	-0.19596 0.5636	0.72952 0.0108	-0.26448 0.4319	0.30897 0.3552	0.61381 0.0446	-0.11081 0.7457	0.03005 0.9301	0.07234 0.8326
LEPTIN	-0.19596 0.5636	1.00000	-0.56490 0.0702	0.19251 0.5706	0.30194 0.3668	-0.22956 0.4971	0.09397 0.7835	0.40743 0.2136	-0.27522 0.4127
LDL	0.72952 0.0108	-0.56490 0.0702	1.00000	-0.30676 0.3589	0.32368 0.3316	0.64594 0.0318	-0.08071 0.8135	0.24525 0.4673	0.31894 0.3391
HDL	-0.26448 0.4319	0.19251 0.5706	-0.30676 0.3589	1.00000	0.01941 0.9548	-0.75447 0.0073	0.16033 0.6377	0.09519 0.7807	0.00735 0.9829
CRP	0.30897 0.3552	0.30194 0.3668	0.32368 0.3316	0.01941 0.9548	1.00000	0.19237 0.5709	0.24923 0.4599	0.72820 0.0111	0.18873 0.5784
ATHIR	0.61381 0.0446	-0.22956 0.4971	0.64594 0.0318	-0.75447 0.0073	0.19237 0.5709	1.00000	-0.31675 0.3426	0.03156 0.9266	-0.12649 0.7109

BFAT	-0.11081 0.7457	0.09397 0.7835	-0.08071 0.8135	0.16033 0.6377	0.24923 0.4599	-0.31675 0.3426	1.00000	0.27322 0.4163	0.30898 0.3552
GLU	0.03005 0.9301	0.40743 0.2136	0.24525 0.4673	0.09519 0.7807	0.72820 0.0111	0.03156 0.9266	0.27322 0.4163	1.00000	0.41565 0.2036
FER	0.07234 0.8326	-0.27522 0.4127	0.31894 0.3391	0.00735 0.9829	0.18873 0.5784	-0.12649 0.7109	0.30898 0.3552	0.41565 0.2036	1.00000

ΕΛΛΙΠΟΒΑΡΕΙΣ

Pearson Correlation Coefficients, N = 9
Prob > |r| under H0: Rho=0

	CHOL	LEPTIN	LDL	HDL	CRP	ATHIR	BFAT	GLU	FER
CHOL	1.00000	0.34562 0.3623	0.85208 0.0035	-0.38953 0.3001	0.30059 0.4319	0.68773 0.0406	0.42038 0.2599	0.02018 0.9589	-0.12086 0.7568
LEPTIN	0.34562 0.3623	1.00000	0.51720 0.1539	-0.40957 0.2736	-0.38822 0.3018	0.33155 0.3834	0.04289 0.9128	-0.28481 0.4576	-0.15267 0.6950
LDL	0.85208 0.0035	0.51720 0.1539	1.00000	-0.21065 0.5864	0.17365 0.6550	0.45563 0.2178	0.60978 0.0812	-0.07549 0.8469	-0.12203 0.7545
HDL	-0.38953 0.3001	-0.40957 0.2736	-0.21065 0.5864	1.00000	0.41650 0.2648	-0.91399 0.0006	0.14441 0.7109	0.53487 0.1379	0.68306 0.0426
CRP	0.30059 0.4319	-0.38822 0.3018	0.17365 0.6550	0.41650 0.2648	1.00000	-0.20405 0.5985	0.19935 0.6071	0.04264 0.9133	0.65676 0.0547
ATHIR	0.68773 0.0406	0.33155 0.3834	0.45563 0.2178	-0.91399 0.0006	-0.20405 0.5985	1.00000	0.02402 0.9511	-0.31465 0.4096	-0.61928 0.0753
BFAT	0.42038 0.2599	0.04289 0.9128	0.60978 0.0812	0.14441 0.7109	0.19935 0.6071	0.02402 0.9511	1.00000	-0.00997 0.9797	0.06495 0.8681
GLU	0.02018 0.9589	-0.28481 0.4576	-0.07549 0.8469	0.53487 0.1379	0.04264 0.9133	-0.31465 0.4096	-0.00997 0.9797	1.00000	0.36676 0.3316
FER	-0.12086 0.7568	-0.15267 0.6950	-0.12203 0.7545	0.68306 0.0426	0.65676 0.0547	-0.61928 0.0753	0.06495 0.8681	0.36676 0.3316	1.00000

ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Pearson Correlation Coefficients, N = 9
Prob > |r| under H0: Rho=0

	CHOL	LEPTIN	LDL	HDL	CRP	ATHIR	BFAT	GLU	FER
CHOL	1.00000	0.22423 0.5619	0.92108 0.0004	0.20384 0.5988	0.39715 0.2899	0.20015 0.6056	0.81133 0.0079	0.26896 0.4840	0.93229 0.0002
LEPTIN	0.22423 0.5619	1.00000	0.01518 0.9691	0.40004 0.2860	0.36001 0.3413	-0.27466 0.4745	0.60009 0.0876	0.33368 0.3802	0.27441 0.4749
LDL	0.92108 0.0004	0.01518 0.9691	1.00000	-0.02272 0.9537	0.32746 0.3897	0.37503 0.3200	0.63951 0.0636	0.18660 0.6307	0.76836 0.0156

HDL	0.20384 0.5988	0.40004 0.2860	-0.02272 0.9537	1.00000	-0.23984 0.5342	-0.90528 0.0008	0.55358 0.1220	-0.33930 0.3717	0.23107 0.5497
CRP	0.39715 0.2899	0.36001 0.3413	0.32746 0.3897	-0.23984 0.5342	1.00000	0.45833 0.2147	0.47970 0.1913	0.82093 0.0067	0.44892 0.2255
ATHIR	0.20015 0.6056	-0.27466 0.4745	0.37503 0.3200	-0.90528 0.0008	0.45833 0.2147	1.00000	-0.18170 0.6399	0.47021 0.2015	0.14058 0.7183
BFAT	0.81133 0.0079	0.60009 0.0876	0.63951 0.0636	0.55358 0.1220	0.47970 0.1913	-0.18170 0.6399	1.00000	0.27857 0.4679	0.73802 0.0232
GLU	0.26896 0.4840	0.33368 0.3802	0.18660 0.6307	-0.33930 0.3717	0.82093 0.0067	0.47021 0.2015	0.27857 0.4679	1.00000	0.33201 0.3827
FER	0.93229 0.0002	0.27441 0.4749	0.76836 0.0156	0.23107 0.5497	0.44892 0.2255	0.14058 0.7183	0.73802 0.0232	0.33201 0.3827	1.00000

The SAS System 21:23 Sunday, February 20, 2000 2

