



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας

Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία

Μοριακή Βάση και Βιοδείκτες στον σακχαρώδη διαβήτη

Τσεχελίδου Ελένη

Επιβλέπων Καθηγητής: κ. Ανδρέας Σκορίλας

Πάτρα, Ιούλιος 2024

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



Μοριακή Βάση και Βιοδείκτες στο Σακχαρώδη Διαβήτη

Επιτροπή Επίβλεψης Πτυχιακής / Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπον Καθηγητής

Κ. Ανδρέας Σκορίλας

Συν- Επιβλέπον Καθηγητής

κ.Αλέξανδρος Γεωργακίλας

Πάτρα, Ιούλιος 2024

Ευχαριστίες

Τελικά φτάσαμε στο τέλος αυτού του μεταπτυχιακού, με ανησυχίες άγχος, μελέτη κλείνει και αυτός ο κύκλος με ότι δυσκολία υπήρξε.

Θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ.Ανδρέα Σκορίλα που με στήριξε και με εμπιστεύτηκε στη διπλωματική μου ώστε να πάρω το πτυχίο μου.

Επίσης, να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου που είναι δίπλα μου ώστε εγώ να πραγματοποιώ τα όνειρα μου και ελπίζω να φανώ αντάξιά τους στο δικό μου παιδί. Τέλος όλο αυτό που έκανα το αφιερώνω στο γιο μου που ήρθε στη ζωή μου παράλληλα.

Τσεχελίδου Ελένη

Περίληψη

Ο Σακχαρώδης διαβήτης είναι μια μεταβολική πάθηση η οποία χαρακτηρίζεται από αύξηση της συγκέντρωσης του σακχάρου στο αίμα και διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης. Η βάση του προβλήματος βρίσκεται στην ανεπάρκεια μιας ορμόνης του παγκρέατος που είναι η ινσουλίνη. Η ανεπάρκεια αυτή αφορά είτε τις αυξημένες ανάγκες του οργανισμού στις οποίες το πάγκρεας αδυνατεί να ανταποκριθεί είτε στη μειωμένη παραγωγή ινσουλίνης. Ο Διαβήτης διακρίνεται στον διαβήτη τύπου 1 όπου νοσούν συνήθως παιδιά ή έφηβοι και προκύπτει από την αυτοάνοση καταστροφή των β κυττάρων του παγκρέατος που παράγουν ινσουλίνη. Στον Διαβήτη τύπου 2 η διαταραχή του μεταβολισμού χαρακτηρίζεται από υψηλές τιμές γλυκόζης στο αίμα στα πλαίσια της ινσουλिनoαντίστασης και σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης. Τα συμπτώματα με τα οποία εκδηλώνεται η νόσος είναι η πολυουρία η πολυδιψία και η πολυφαγία. Στον διαβήτη της κύησης που είναι μια κατάσταση όπου χαρακτηρίζεται από τιμές της γλυκόζης πάνω από το φυσιολογικό σε έγκυες γυναίκες που πριν δεν ήταν διαβητικές. Πέρα από τα συμπτώματα που εκδηλώνεται ο διαβήτης μπορεί να εμφανίσει και κάποιες επιπλοκές όπως διαβητική κετοξέωση, κώμα, υπογλυκαιμία ή διαβητική νεφροπάθεια, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια έμφραγμα και εγκεφαλικό επεισόδιο. Και στους δύο τύπους υπάρχουν περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες για την εκδήλωση της νόσου. Οι βιοδείκτες και διάφορες τεχνικές χρησιμοποιούνται για την έγκυρη διάγνωση και την πρόληψη καθώς συμβάλλουν στην εκτίμηση μιας θεραπευτικής παρέμβασης. Η άσκηση, η καθιστική ζωή επηρεάζουν τη ρύθμιση του σακχάρου αν όμως διορθωθούν ο ασθενής θα έχει μια φυσιολογική ζωή και οι επιπλοκές θα περιοριστούν.

Λέξεις κλειδιά: Σακχαρώδης διαβήτης, βιοδείκτες, ινσουλίνη, πάγκρεας

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic condition characterized by increased blood sugar concentration and impaired glucose metabolism. The basis of the problem lies in the deficiency of a hormone of the pancreas which is insulin. This deficiency concerns either the increased needs of the body to which the pancreas is unable to respond or the reduced production of insulin. Diabetes is distinguished in type 1 diabetes, which usually affects children or teenagers and results from the autoimmune destruction of the beta cells of the pancreas that produce insulin. In Type 2 Diabetes, the metabolic disorder is characterized by high blood glucose values in the context of insulin resistance and relative insulin deficiency. The symptoms with which the disease is manifested are polyuria, polydipsia and polyphagia. In gestational diabetes which is a condition where it is characterized by glucose values above normal in pregnant women who were not diabetic before. In addition to the symptoms that diabetes manifests, it can also cause some complications such as diabetic ketoacidosis, coma, hypoglycemia or diabetic nephropathy, diabetic retinopathy, heart attack and stroke. In both types, there are environmental and genetic factors for the manifestation of the disease. Biomarkers and various techniques are used for valid diagnosis and prevention as well as contribute to the evaluation of a therapeutic intervention. Exercise, sedentary lifestyle affect the regulation of sugar, but if they are corrected and the patient has a normal life, his sugar will be regulated and complications will be limited.

Key words: Diabetes mellitus, biomarkers, insulin, pancreas

Περιεχόμενα

<i>Ευχαριστίες</i>	<i>4</i>
<i>Περίληψη.....</i>	<i>5</i>
<i>Abstract.....</i>	<i>6</i>
<i>Περιεχόμενα.....</i>	<i>7</i>
<i>Κατάλογος Εικόνων/ Σχημάτων</i>	<i>10</i>
<i>Κατάλογος πινάκων.....</i>	<i>11</i>
<i>Συντομογραφίες</i>	<i>12</i>
<i>1. Εισαγωγή</i>	<i>14</i>
1.1. Ιστορική Αναδρομή.....	14
1.2.1. Άλλοι τύποι σακχαρώδη διαβήτη.....	16
1.3. Ινσουλίνη	17
1.4. Μηχανισμός δράσης ινσουλίνης	18
1.5. Αντίσταση στην ινσουλίνη.....	19
<i>2. Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1.....</i>	<i>21</i>
2.1. Περιβαλλοντικοί παράγοντες	21
2.2. Παθοφυσιολογία.....	22
2.3. Ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων (HLA).....	23
2.3.1. Άλλα γονίδια εκτός από HLA	24
2.3.2. Γονίδιο ινσουλίνης (INS).....	25
2.3.3. Επιγενετική βάση του διαβήτη τύπου 1.....	25
2.3.4. Ιδιοπαθής Διαβήτη	26
2.4. Επιδημιολογική Μελέτη.....	26
<i>3. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2</i>	<i>28</i>
3.1. Παθοφυσιολογία.....	28

3.1.1.	Πρόγνωση-Επιπλοκές του T2DM	29
3.1.2.	Διαβητικό πόδι κ επιπλοκές.....	30
3.1.3.	Διαβητική κετοξέωση	31
3.2.	Γενετική προδιάθεση του διαβήτη τύπου 2	31
3.2.1.	Μεθυλίωση DNA στον διαβήτη τύπου 2	32
3.2.2.	Τροποποίηση ιστόνης ως επιγενετικός μηχανισμός του ΔΤ2.....	34
3.3.	Διαβήτης τύπου 2 και βιταμίνη D.....	34
3.4.	Διαβήτης κήσης	35
3.4.1.	Κήση και Βιταμίνη D	35
3.4.2.	Παθοφυσιολογία του ΣΔΚ	36
3.4.3.	Κλινικοί παράγοντες εμφάνισης ΣΔΚ.....	36
3.4.4.	Επιδημιολογία- πρόγνωση	37
4.	<i>Οι βιοδείκτες προσδιορισμού σακχαρώδη διαβήτη</i>	38
4.1.	Γλυκόζη πλάσματος	38
4.1.1.	Φρουκτοζαμίνη (FA)	40
4.1.2.	Γλυκοζυλιωμένη λευκωματίνη (GA)	41
4.1.3.	Χρωμογρανίνη Α.....	41
4.1.4.	1,5-ανδρογλυκιδόλη (1,5-AG)	42
4.2.	Αδιπονεκτίνη.....	43
4.3.	miRNAs	43
4.4.	Φλεγμονώδεις δείκτες.....	44
4.4.1.	Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, ινωδογόνο και αιματολογικοί δείκτες.....	44
4.4.2.	CRP και IL-6	45
4.5.	Μελλοντικές προοπτικές	45
4.6.	Βιοδείκτες στην διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια.....	45
4.7.	Βιοδείκτες στη διαβητική νεφρική νόσος.....	47
4.8.	Βιοδείκτες καρδιαγγειακών παθήσεων.....	48
4.9.	Διαβητικό πόδι.....	49
5.	<i>Τεχνικές προσδιορισμού βιοδεικτών του Διαβήτη.....</i>	52
5.1.	HbA1c.....	52
5.1.1.	Εργαστηριακή μέθοδος γλυκόζης	53

5.1.2.	Τεχνική	53
5.2.	Κλινικές εξετάσεις ούρων.....	54
5.3.	Τεχνικές Διαχωρισμού.....	55
5.4.	Τεχνικές ανίχνευσης	55
5.5.	Τεχνικές προσδιορισμού MiRNA	56
5.5.1.	Στύπωμα Northern	57
5.5.2.	Μικροσυστοιχία.....	57
5.5.3.	In-situ υβριδισμός.....	58
5.6.	Τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος.....	58
5.7.	<i>MicroRNA ως βιοδείκτες και διαβητικές επιπλοκές</i>	<i>58</i>
5.8.	Η Αξιοπιστία των miRNAs.....	61
6.	<i>Αντιμετώπιση-Ρύθμιση Διαβήτη</i>	<i>62</i>
6.1.	Άσκηση-Καθιστική ζωή.....	62
6.2.	Φαρμακευτική αγωγή – ινσουλίνη	63
6.2.1.	Μετφορμίνη	63
6.2.2.	Οι σουλφονουριές	63
6.2.3.	GLP-1	64
6.3.	Αναστολείς συν-μεταφορέα νατρίου-γλυκόζης (SGLT2).....	64
6.4.	Απταμερή.....	64
7.	<i>Σκοπός και Μεθοδολογία.....</i>	<i>67</i>
8.	<i>Επίλογος –Συμπεράσματα</i>	<i>68</i>
9.	<i>Βιβλιογραφία.....</i>	<i>69</i>

Κατάλογος Εικόνων/ Σχημάτων

Εικόνα 1. Η ανακάλυψη της ινσουλίνης το 1921-22 ήταν μια από τις μεγαλύτερες ιατρικές ανακαλύψεις στην ιστορία (Lauritzen T., 1979)	19
Εικόνα 2. Κύριο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας στους ανθρώπους.....	24
Εικόνα 3. Ρόλος των επιγενετικών μηχανισμών στον διαβήτη τύπου 2 και το βασικό χαρακτηριστικό την παχυσαρκία (A.E. Handel, 2010)	33
Εικόνα 4. Η δομή και τα φυσικά χαρακτηριστικά (Migala, Chalubińska-Fendler, & Zielińska, 2022)	42
Εικόνα 5. Η επίδραση της αντίστασης στην ινσουλίνη και της υπεργλυκαιμίας στην παθογένεση της καρδιαγγειακής νόσου . Η αντίσταση στην ινσουλίνη συσχετίζεται στενά με την παχυσαρκία, η οποία αυξάνει τα επίπεδα FFA και ROS, τα οποία και τα δύο συμβάλλουν σε αθηροσκληρωτικές αλλαγές και στην ανάπτυξη μακροαγγειακών επιπλοκών. Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα συμβάλλουν επίσης στην αυξημένη παραγωγή ROS, η οποία ενεργοποιεί τα PKC ενδοκυτταρικά και οδηγεί σε φλεγμονώδεις αλλαγές και αθηροσκλήρωση. FFAs: ελεύθερα λιπαρά οξέα, ROS: αντιδραστικά είδη οξυγόνου, TLR: υποδοχέας τύπου Toll, PI3K: PI3-κινάση, PKC: πρωτεϊνική κινάση C, eNOS: ενδοθηλιακή συνθάση μονοξειδίου του αζώτου, NO: μονοξείδιο του αζώτου, COX-2: κυκλοοξυγονάση-2 , TXA2: θρομβοξάνη A2, : προστακυκλίνη, ET-1: ενδοθηλίνη-1	50

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 2-1. Φυσιολογικές τιμές διαβήτη και προδιαβήτη.....	27
Πίνακας 4-1. Αναλογίες πιθανοτήτων (95% CI) για νέο-ΣΔ2, ανά τρίμηνα κυκλοφορούντων επιπέδων miR-126. (Int J Mol Sci. , 2014)	44
Πίνακας 5.7-1. miRNAs που εμπλέκονται σε διαβητικές επιπλοκές EC, ενδοθηλιακά κύτταρα; HUVEC, ενδοθηλιακά κύτταρα ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας. VSMC, αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. STZ, στρεπτοζοτοκίνη; MVEC, μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα. MMVEC, MVEC του μυοκαρδίου; HMVEC, ανθρώπινο MVEC; MC, μεσαγγειακά κύτταρα; PTEC, εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα. (Res, 2012).....	59

Συντομογραφίες

CVB	ο ιός του coxsackie B
GAD65	γλουταμινικού οξέος 65
HLA	Ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων
IFG	γλυκόζη νηστείας
T2DM	σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
GLP-1	γλυκαγονόμορφο πεπτίδιο-1
ΣΔΚ	Σακχαρώδης διαβήτης κύησης
GDM	ελεγχόμενος με δίαιτα διαβήτης κύησης
SGLT	νατρίου-γλυκόζης
PFK-2	φωσφοφρουκτοκινάση-2
F-2,6-BP	2,6-διφωσφορικής φρουκτόζης
GA	Γλυκοζυλιωμένη λευκωματίνη
CAD	Στεφανιαίας νόσου
ΠΟΥ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
AGEs	τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης
CAD	στεφανιαίας νόσου
ΔΔ	διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια
PDR	πολλαπλασιαστική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια
TIR	ο χρόνος εντός εύρους
DKD	διαβητική νεφρική νόσος
ESRD	η νεφρική νόσος τελικού σταδίου
CVD	κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου
ESRD	μελλοντικής νόσου τελικού σταδίου
CHD	κίνδυνο στεφανιαίας νόσου
IFG	μειωμένη γλυκαιμία νηστείας
IGT	μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη
FFAs	ελεύθερα λιπαρά οξέα
ROS	αντιδραστικών ειδών οξυγόνου
GLUT-4	μεταφορέα γλυκόζης τύπου 4
P13K	PI3-κινάσης
Enos	ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου
NO	μονοξειδίου του αζώτου

DKA	διαβητική κετοξέωση
KBs	υδατοδιαλυτών κετονικών σωμάτων
EXPAR	η αντίδραση εκθετικής ενίσχυσης η μετατόπιση
SDA	η μετατόπιση κλώνου ενίσχυση
RCA	η ενίσχυση κυλιόμενου κύκλου,
DSN	η ενίσχυση με ειδική νουκλεάση διπλής όψης
<i>GLP-1</i>	Πεπτίδιο-1 που μοιάζει με γλυκογόνο
AMPK	Πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιημένη με AMP
FISH	φθορίζων in situ υβριδισμός.

1. Εισαγωγή

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια μακροχρόνια, επίμονη ασθένεια που οφείλεται στην αδυναμία του οργανισμού να επεξεργαστεί και να ρυθμίσει τη γλυκόζη του αίματος λόγω της υπερέκκρισης ινσουλίνης από το πάγκρεας ή της αδυναμίας της ινσουλίνης να ρυθμίσει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Τα τελευταία 20 χρόνια έχει αυξηθεί το ποσοστό που νοσεί παγκοσμίως. Ο διαβήτης διακρίνεται σε τρεις τύπους αν και υπάρχουν και άλλοι που οφείλονται σε διάφορες γενετικές διαφορές, φάρμακα, ενδοκρινοπάθειες και ασθένειες του παγκρέατος.

Διακρίνεται σε:

- Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 ή νεανικός διαβήτης
- Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 ή του ενήλικα
- Σακχαρώδη Διαβήτη κύησης

Κοινό σύμπτωμα και για τους τρεις τύπους είναι η υπογλυκαιμία εκτός από τα συμπτώματα που μας οδηγούν στον γιατρό όπως πολυουρία, πολυδιψία, πολυφαγία. Η κλινική αναγνώριση του διαβήτη υπάρχει εδώ και πολλούς αιώνες, η σύνδεσή του με υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και στα ούρα είναι πιο πρόσφατη και επέτρεψε την ανάπτυξη όλο και πιο εξελιγμένων εξετάσεων για τη νόσο. Τα υπερβολικά επίπεδα γλυκόζης εντοπίζουν πλέον αξιόπιστα τα άτομα που διατρέχουν κίνδυνο για τις σοβαρές και θανατηφόρες επιπλοκές του διαβήτη. Αυτό έχει δώσει προτεραιότητα στις διαγνωστικές εξετάσεις με βάση τη γλυκόζη με σημεία διακοπής που προβλέπουν αυξημένο κίνδυνο αμφιβληστροειδοπάθειας που είναι μια από τις παθήσεις που θα συζητηθεί στην παρούσα εργασία.

1.1. Ιστορική Αναδρομή

Ιατρικό πρόβλημα αποτελεί ο διαβήτης εδώ και 3.500 χιλιάδες χρόνια. Οι πρώτες αναφορές στη νόσο χρονολογούνται στον Πάπυρο του Ebers το 1550 Π.χ. όπου περιέχει την πρώτη ιατρική αναφορά στον διαβήτη, ένα από τα παλαιότερα και σημαντικότερα ιατρικά συγγράμματα σε πάπυρο της Αρχαίας Αιγύπτου. Την ονομασία την έδωσε ο Αρεταίος γιατρός από την Καππαδοκία, μορφή της αρχαιότητας μετά τον Γαληνό και τον Ιπποκράτη. Ο Αρεταίος περιγράφει τον Διαβήτη ως μια εντυπωσιακή ασθένεια και όχι συνηθισμένη και αυτό γιατί τα νεφρά και η κύστη αποβάλλουν ασταμάτητα και μεγάλα ποσά ούρων, η δίψα είναι απεριόριστη όπου είναι και τα πιο σημαντικά συμπτώματα της νόσου.

Η πολυουρία, η πολυδιψία, η πολυφαγία περιγράφονται τον 6^ο αιώνα μΧ όπου αναγνωρίζεται και ο κληρονομικός χαρακτήρας της νόσου. Έπειτα από αδράνεια ετών ο Παράκελσος διαπιστώνει ότι μετά την εξάτμιση των ούρων των ασθενών μένει ένα υπόλειμμα και θεωρεί ότι είναι άλας, αυτό το λάθος καθυστερεί πολλά χρόνια μέχρι να αποδείξουν ότι είναι γλυκόζη. Αργότερα ένας γιατρός διαπίστωσε ότι το πάγκρεας είναι διαφορετικό σε διαβητικούς σε σχέση με κάποιον που δεν νοσεί. Από τα τέλη του 18^{ου} αιώνα είχαν αρχίσει να υποψιάζονται ότι το πάγκρεας έχει κάποια σχέση με τον διαβήτη αλλά μέχρι τότε ακούγονταν διάφορες θεωρίες.

Ένας μεγάλος σταθμός στην ιστορία του διαβήτη ήταν το 1989 όπου δύο γιατροί από την Γερμανία απέδειξαν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ πάγκρεας και διαβήτη με ένα πείραμα που έκαναν σε ένα σκύλο αφαιρώντας του το πάγκρεας και παρατήρησαν την τυπική εικόνα του διαβήτη όπως ακριβώς και στον άνθρωπο. Τέλος η ινσουλίνη ανακαλύφθηκε από Καναδούς το 1921 όπου η έλλειψη της προκαλούσε τον διαβήτη. Μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα η ινσουλίνη ήταν διαθέσιμη σε απεριόριστες ποσότητες και ήταν το ‘ελιξίριο της ζωής’.

1.2. Ταξινόμηση σακχάρου

Τα κλασικά συμπτώματα του διαβήτη επιβεβαιώνουν και την πάθηση όμως αυτό δεν είναι αρκετό διότι πριν κάνει την εμφάνιση του ο ασθενής μπορεί να παρουσιάσει τον προδιαβήτη μια αναστρέψιμη κατάσταση που εάν δεν ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα κατά τη διάρκεια αυτής της κρίσιμης περιόδου, τότε το άτομο μπορεί να μη γλιτώσει από τις μακροχρόνιες επιπλοκές. Ο προδιαβήτης είναι ο πρώιμος δείκτης διαβήτη που εμφανίζεται όταν ο ασθενής διαγνωστεί με μειωμένη ανοχή γλυκόζης (IGT) ή και μειωμένη γλυκόζη νηστείας (IFG). Η εμφάνιση τόσο του προδιαβήτη όσο και του διαβήτη ξεκινά με την αντίσταση των κυττάρων στην ινσουλίνη. (DeFronzo, 1988).

Ο σακχαρώδης διαβήτης διακρίνεται στον διαβήτη τύπου I όπου ο ασθενής είναι ινσουλινοεξαρτώμενος και αυτό προκύπτει από καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος. Σε αυτή τη μορφή διαβήτη, ο ρυθμός καταστροφής των β-κυττάρων είναι αρκετά μεταβλητός, καθώς εξελίσσεται γρήγορα σε βρέφη και παιδιά και αργά σε ενήλικες. Ως πρώτη εμφάνιση της νόσου τα παιδιά και οι έφηβοι μπορεί να εμφανίσουν κετοξέωση. Οι ενήλικες, μπορεί να διατηρήσουν την υπολειμματική λειτουργία των β-κυττάρων επαρκή για την πρόληψη της κετοξέωσης για πολλά χρόνια. Τέτοια άτομα τελικά εξαρτώνται από την ινσουλίνη για επιβίωση και διατρέχουν κίνδυνο κετοξέωσης. Σε αυτό το τελευταίο στάδιο της νόσου, υπάρχει

μικρή ή καθόλου έκκριση ινσουλίνης, όπως εκδηλώνεται με χαμηλά ή μη ανιχνεύσιμα επίπεδα του C-πεπτιδίου στο πλάσμα. Ο διαβήτης που προκαλείται από το ανοσοποιητικό εμφανίζεται συνήθως στην παιδική ηλικία και την εφηβεία, αλλά μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία, ακόμη και στην 8η και 9η δεκαετία της ζωής. Η αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων έχει πολλαπλές γενετικές προδιαθέσεις και σχετίζεται επίσης με περιβαλλοντικούς παράγοντες που εξακολουθούν να είναι ελάχιστα καθορισμένοι. Αν και οι ασθενείς σπάνια είναι παχύσαρκοι όταν παρουσιάζουν αυτόν τον τύπο διαβήτη, η παρουσία παχυσαρκίας δεν είναι ασύμβατη με τη διάγνωση. Αυτοί οι ασθενείς είναι επίσης επιρρεπείς σε άλλες αυτοάνοσες διαταραχές όπως η νόσος του Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, η νόσος του Addison, η λεύκη, η κοιλιοκάκη, η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η βαριά μυασθένεια και η κακοήθης αναιμία. Στον διαβήτη του ενήλικα τύπου 2 περιλαμβάνει άτομα που έχουν συνδυασμό ελαττωμένης έκκρισης ινσουλίνης και ελαττωμένης ευαισθησίας των κυττάρων στη δράση της. Η κύρια διαταραχή της νόσου είναι η ελαττωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη ενώ στο αίμα τα επίπεδα ινσουλίνης είναι αυξημένα. Σημαντικός παράγοντας για την εμφάνιση της νόσου είναι η παχυσαρκία, άλλοι παράγοντες είναι η ηλικία και το οικογενειακό ιστορικό. Η κετοξέωση εμφανίζεται σπάνια σε αυτόν τον διαβήτη. Όταν εμφανιστεί, συνήθως προκύπτει σε συνδυασμό με μια άλλη ασθένεια, όπως η μόλυνση. Αυτή η μορφή διαβήτη δε δίνει διάγνωση για πολλά χρόνια, επειδή η υπεργλυκαιμία αναπτύσσεται σταδιακά και σε πρώιμα στάδια συχνά δεν είναι αρκετά σοβαρή ώστε ο ασθενής να παρατηρήσει κάποιο από τα κλασικά συμπτώματα του διαβήτη. Παρόλα αυτά, τέτοιοι ασθενείς διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν μακροαγγειακές επιπλοκές. Ο κίνδυνος εμφάνισης αυτής της μορφής διαβήτη αυξάνεται με την ηλικία, την παχυσαρκία και την έλλειψη σωματικής δραστηριότητας. Άλλη μορφή σακχαρώδη διαβήτη εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της κύησης και αυτό γιατί μπορεί να υπάρχει μια δυσανεξία στην γλυκόζη συνήθως υποχωρεί με τον τοκετό.

1.2.1. Άλλοι τύποι σακχαρώδη διαβήτη

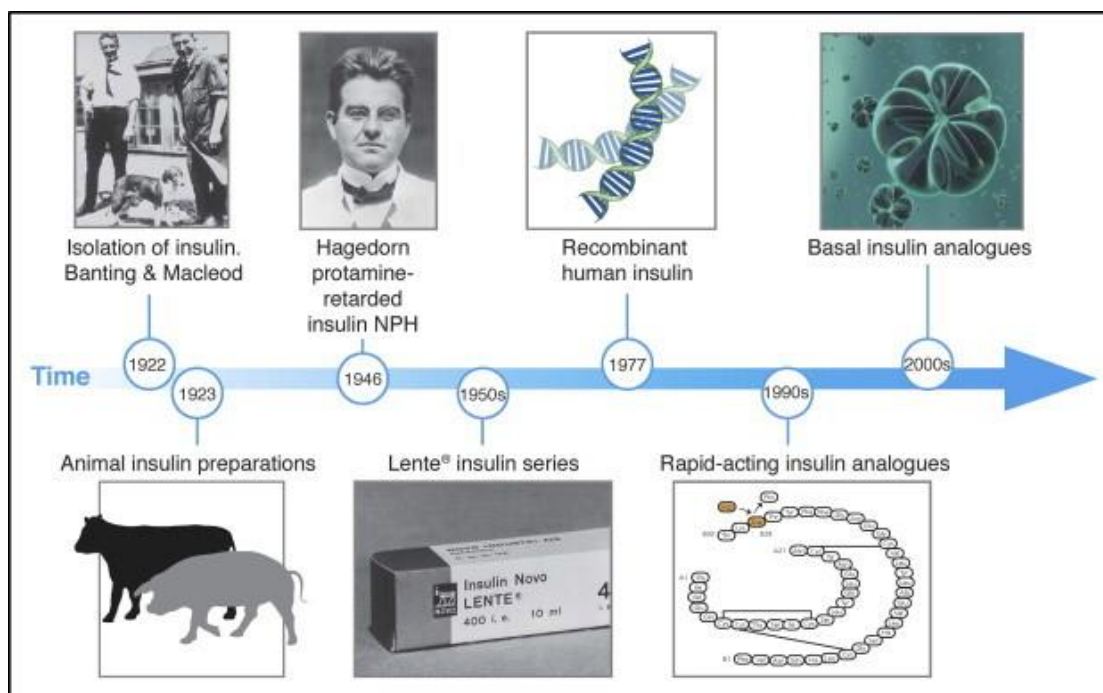
- Παθήσεις του εξωκρινούς παγκρέατος.
- Ενδοκρινοπάθειες.
- Διαβήτη που προκαλείται από φάρμακα ή χημικά.
- Λοιμώξεις.
- Ασυνήθιστες μορφές διαβήτη που προκαλείται από το ανοσοποιητικό
- Άλλα γενετικά σύνδρομα που μερικές φορές συνδέονται με τον διαβήτη.

1.3. Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη του παγκρέατος που παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γλυκόζης στο αίμα καθώς και στον μεταβολισμό των λιπιδίων και των υδατανθράκων. Τόσο η φυσική όσο και η ανασυνδυασμένη μορφή ινσουλίνης χρησιμοποιούνται θεραπευτικά για τη θεραπεία του διαβήτη τύπου 1. Ενώ η ίδια η ινσουλίνη δεν είναι ηπατοτοξική και δεν έχει συνδεθεί με αυξήσεις ενζύμων ορού ή περιπτώσεις κλινικά εμφανούς ηπατικής βλάβης, υψηλές δόσεις συμπεριλαμβανομένων υπερδοσών ινσουλίνης και γλυκόζης μπορεί να οδηγήσουν σε ηπατική γλυκογένωση. Είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που παράγεται από τα β κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος και είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της γλυκόζης στο αίμα και την αποθήκευση υδατανθράκων και λιπιδίων. Ο διαβήτης τύπου 1 οφείλεται στην ανεπαρκή παραγωγή ινσουλίνης που προκαλείται από την καταστροφή και την απώλεια των β κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος που παράγουν ινσουλίνη. Ο διαβήτης τύπου 2 οφείλεται στη σχετική αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι αρχικές μορφές ινσουλίνης απομονώθηκαν από τον ιστό του παγκρέατος που συλλέχθηκε από χοίρους και βοοειδή, και έτσι αναφέρονται ως ινσουλίνες χοιρινού και βόειου κρέατος. Πιο πρόσφατα, οι ανθρώπινες ινσουλίνες έχουν παραχθεί με τεχνικές ανασυνδυασμού. Από την πρώτη χρήση της στη δεκαετία του 1930, η ινσουλίνη ήταν ο βασικός πυλώνας της θεραπείας του διαβήτη τύπου 1. Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται επίσης σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 που είναι ανθεκτικός σε παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής (δίαιτα, σωματική δραστηριότητα, απώλεια βάρους) και χρήση από του στόματος υπογλυκαιμικών παραγόντων. Διατίθενται πολλά σκευάσματα ινσουλίνης, συμπεριλαμβανομένων βραχείας δράσης (κανονική), ταχείας δράσης (ασπάρτη, glulisine, lispro) και μεσαίας ή μακράς δράσης (NPH, glargine, detemir) γενικά και με εμπορικές ονομασίες όπως Apidra, Basaglar, Humalog, Humulin, Lantus, Levemir, Novolin, Novolog και Tresiba. Διατίθενται επίσης εμπορικά προϊόντα συνδυασμού με διάφορες μορφές ινσουλίνης ή ινσουλίνης με άλλους παράγοντες. Η ινσουλίνη μπορεί να χορηγηθεί ενδοφλέβια, ενδομυϊκά και υποδόρια και η δόση και η συχνότητα χορήγησης ποικίλλει ανάλογα με το σκεύασμα και το άτομο που λαμβάνει θεραπεία. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες από την ινσουλίνη οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην υπογλυκαιμία. Η ινσουλινοθεραπεία συχνά οδηγεί σε αύξηση βάρους. Τοπικές αντιδράσεις ένεσης και αντιδράσεις υπερευαισθησίας είναι ασυνήθιστες, ιδιαίτερα με νεότερες ανασυνδυασμένες μορφές ινσουλίνης.

1.4. Μηχανισμός δράσης ινσουλίνης

Οι σημαντικές δράσεις της ινσουλίνης εστιάζονται στην αποθήκευση της περίσσειας ενέργειας σε κατάσταση σίτισης. Η ινσουλίνη προάγει τη σύνθεση γλυκογόνου, τη σύνθεση λιπιδίων, τη σύνθεση πρωτεϊνών, τη σύνθεση DNA και την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Μόλις η γλυκόζη απορροφηθεί από ένα γεύμα, εισέρχεται στο αίμα και στη συνέχεια το πάγκρεας απελευθερώνει ινσουλίνη. Η σύνθεση ινσουλίνης λαμβάνει χώρα στα βήτα κύτταρα του παγκρέατος αρχικά ως προϊνσουλίνη. Η προϊνσουλίνη στη συνέχεια μετατρέπεται σε προϊνσουλίνη, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε ένα μόνο πεπτίδιο με πεπτιδικές μονάδες Α, Β και Γ. Τα πεπτίδια Α και Β ενώνονται με δισουλφιδικούς δεσμούς για την παραγωγή ινσουλίνης και εκκρίνονται στην κυκλοφορία του αίματος. Η ινσουλίνη συνδέεται με τον κυτταρικό της υποδοχέα. Ο υποδοχέας ινσουλίνης αποτελείται από άλφα υπομονάδες, βήτα υπομονάδες και ένα ένζυμο κινάσης τυροσίνης. Όταν η ινσουλίνη δεσμεύεται στην άλφα υπομονάδα, αυτό πυροδοτεί τη φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών-στόχων ενδοκυτταρικά από την κινάση τυροσίνης που οδηγεί σε πολλές επιδράσεις στον κυτταρικό μεταβολισμό. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα ινσουλίνης οδηγεί επίσης σε αυξημένη έκφραση της GLUT (ένας μεταφορέας γλυκόζης) στην επιφάνεια της μεμβράνης και προωθεί την είσοδο γλυκόζης στο ενδοκυτταρικό διαμέρισμα και στη συνέχεια υφίσταται κυτταρικό μεταβολισμό. Η ινσουλίνη σηματοδοτεί τη μετατροπή της γλυκόζης σε γλυκογόνο για αποθήκευση και το σχηματισμό του ακετυλοσυνενζύμου Α και της τριακυλογλυκερόλης, που αποθηκεύονται στον λιπώδη ιστό. Επίσης, η ινσουλίνη κατευθύνει τα αμινοξέα για τη σύνθεση πρωτεϊνών. (DR, 2013)



Εικόνα 1. Η ανακάλυψη της ινσουλίνης το 1921-22 ήταν μια από τις μεγαλύτερες ιατρικές ανακαλύψεις στην ιστορία (Lauritzen T., 1979)

1.5. Αντίσταση στην ινσουλίνη

Η αντίσταση στην ινσουλίνη μειώνει τη διάθεση της γλυκόζης, με αποτέλεσμα την αντισταθμιστική αύξηση της παραγωγής ινσουλίνης των β-κυττάρων και την υπερινσουλιναιμία. Όλοι οι ιστοί με υποδοχείς ινσουλίνης μπορούν να γίνουν ανθεκτικοί στην ινσουλίνη, αλλά οι ιστοί που οδηγούν κυρίως στην αντίσταση στην ινσουλίνη είναι το ήπαρ, οι σκελετικοί μύες και ο λιπώδης ιστός. Η αντίσταση στην ινσουλίνη μειώνει τη διάθεση της γλυκόζης, με αποτέλεσμα την αντισταθμιστική αύξηση της παραγωγής ινσουλίνης των β-κυττάρων και την υπερινσουλιναιμία. Πρόσφατες μελέτες έχουν συζητήσει εάν η υπερινσουλιναιμία προηγείται της αντίστασης στην ινσουλίνη, καθώς η ίδια η υπερινσουλιναιμία είναι ένας οδηγός της αντίστασης στην ινσουλίνη. Η εξέλιξη της αντίστασης στην ινσουλίνη μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολικό σύνδρομο και διαβήτη τύπου 2. (CF, 2019;) Η κυρίαρχη συνέπεια της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι ο διαβήτης τύπου 2 (T2D). Η αντίσταση στην ινσουλίνη θεωρείται ότι προηγείται της ανάπτυξης του διαβήτη τύπου 2 κατά 10 έως 15 χρόνια. Η ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη συνήθως οδηγεί σε μειωμένη διάθεση γλυκόζης σε ιστούς ανθεκτικούς στην ινσουλίνη, ειδικά στους σκελετικούς μύες. Κατά συνέπεια, παρουσία υπερβολικής κατανάλωσης θερμίδων, απαιτείται περισσότερη ινσουλίνη για την κυκλοφορία γλυκόζης σε αυτούς τους ιστούς. Η υπερινσουλιναιμία που προκύπτει συμβάλλει περαιτέρω στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Αυτός ο φαύλος κύκλος

συνεχίζεται έως ότου η δραστηριότητα των β-κυττάρων του παγκρέατος δεν μπορεί πλέον να καλύψει επαρκώς τη ζήτηση ινσουλίνης που δημιουργείται από την αντίσταση στην ινσουλίνη, με αποτέλεσμα την υπεργλυκαιμία. Με μια συνεχιζόμενη αναντιστοιχία μεταξύ της ζήτησης ινσουλίνης και της παραγωγής ινσουλίνης, τα γλυκαιμικά επίπεδα αυξάνονται σε εκείνα που συνάδουν με τον διαβήτη τύπου 2. Η αύξηση βάρους συνήθως συμβαίνει παράλληλα με την υπερινσουλιναιμία, αλλά μπορεί να σχετίζεται περισσότερο με μια χρόνια θερμιδική περίσσεια από την υπερινσουλιναιμία. Η αναβολική επίδραση της ινσουλίνης μειώνεται καθώς οι ιστοί γίνονται πιο ανθεκτικοί στην ινσουλίνη και η αύξηση βάρους τελικά επιβραδύνεται. (Tobin GS, 2012)

2. Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (T1DM) οφείλεται σε αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος που παράγουν ινσουλίνη (Bluestone JA, 2010). Η διάγνωση γίνεται συνήθως σε παιδιά και εφήβους αυτή η αλλαγή προκαλεί σημαντικές ψυχολογικές, οικογενειακές και κοινωνικές διαταραχές. Περισσότεροι από 346 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως πάσχουν από διαβήτη (Jönsson L, 2012). Ο διαβήτης τύπου 1 χαρακτηρίζεται από έλλειψη παραγωγής ινσουλίνης, η οποία προκαλείται από αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος, των μοναδικών κυττάρων στο σώμα για την παραγωγή της ινσουλίνης. Τα β-κύτταρα λειτουργούν ως αισθητήρες γλυκόζης, διαδραματίζοντας ζωτικό ρόλο στην ανίχνευση της γλυκόζης και στην απελευθέρωση ινσουλίνης για τη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης εντός ενός σχετικά στενού εύρους. Αποτελούν έτσι κάτι πολύ περισσότερο από ένα απλό εργοστάσιο ινσουλίνης. Μόλις καταστραφούν αυτά τα κύτταρα, χάνεται ο έλεγχος της γλυκόζης στο αίμα, με αποτέλεσμα κετοξέωσης (DP, 2013) και διάφορες δευτερογενείς επιπλοκές όπως καρδιακές παθήσεις, τύφλωση και νεφρική ανεπάρκεια. Η αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων σχετίζεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες που εξακολουθούν να είναι ελάχιστα καθορισμένοι και γενετική προδιάθεση. Αν και οι ασθενείς σπάνια είναι παχύσαρκοι όταν παρουσιάζουν αυτόν τον τύπο διαβήτη, η παρουσία παχυσαρκίας δεν είναι ασυμβίβαστη με τη διάγνωση. Οι ασθενείς αυτοί είναι επίσης επιρρεπείς σε άλλες αυτοάνοσες διαταραχές, όπως η νόσος του Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, η νόσος του Addison, η λεύκη, η κοιλιοκάκη, η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η μυασθένεια gravis και η παθολογική αναιμία. Η αυτοάνοση καταστροφή είναι μη αναστρέψιμη και η νόσος είναι ανίατη.

2.1. Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορεί να αλληλοεπιδρούν με τον γενετικό κίνδυνο, με διαφορετικές εκθέσεις να δρουν διαφορετικά σε διαφορετικά γενετικά προφίλ, και διαφορετικοί παράγοντες μπορεί να κυριαρχούν σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές ή σε διάφορα στάδια της ζωής. Στην επιλογή παρόμοιων ατόμων στη Φινλανδία, τη Ρωσία και την Εσθονία, τα ποσοστά εμφάνισης νεανικού διαβήτη (Kondrashova A, 2005;) αναδεικνύουν το ερώτημα εάν η επίπτωση του διαβήτη τύπου 1 επηρεάζεται περισσότερο από περιβαλλοντικές ιδιαιτερότητες παρά τον γενετικό κίνδυνο σε άτομα που ταιριάζουν ως προς την καταγωγή. Οι

ιογενείς λοιμώξεις ενοχοποιούνται για τον T1D περισσότερα από 100 χρόνια. Τα επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι ορισμένοι ιοί, όπως οι εντεροϊοί, ο ιός του coxsackie B (CVB), η ερυθρά, η παρωτίτιδα, οι ροταϊοί και ο ιός της εγκεφαλομυοκαρδίτιδας μπορεί να συμβάλλουν στην παθογένεια της T1D. (van der Werf N, 2007). Επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν ότι οι εντεροϊοί μπορεί να προκαλέσουν T1D (Hyoty H T. K., 2002) και οι λοιμώξεις που συμβαίνουν νωρίς στη μήτρα μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο ενός παιδιού να αναπτύξει τη νόσο. (Hyöty H, 1995) Οι ιοί Coxsackie, οι οποίοι περιέχουν ένα πεπτιδίο ομόλογο με την αποκαρβοξυλάση του γλουταμινικού οξέος 65 (GAD65), παρατηρούνται συχνά στην παιδική ηλικία όπου επιδρούν στο πάγκρεας. Πιθανοί μηχανισμοί που μπορεί να εμπλέκονται στην ανάπτυξη του T1D με τη μεσολάβηση της λοίμωξης από τον ιό: είναι ένας μέσω άμεσης κυτταρολυτικής επίδρασης και ο δεύτερος μέσω της πυροδότησης αυτοάνοσων αποκρίσεων που οδηγούν σταδιακά στην καταστροφή των β-κυττάρων.

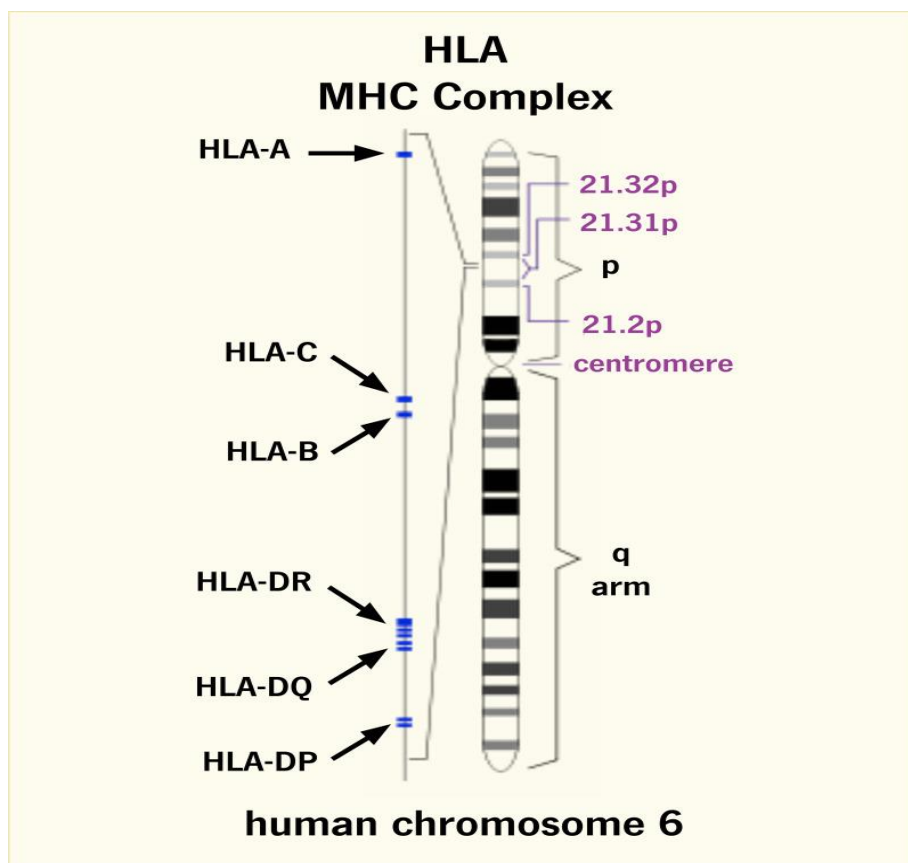
2.2. Παθοφυσιολογία

Ο διαβήτης τύπου 1 αρχικά μπορεί να είναι ασυμπτωματικός και χαρακτηρίζεται από φυσιολογική γλυκόζη νηστείας, φυσιολογική ανοχή γλυκόζης και παρουσία ≥ 2 παγκρεατικών αυτοαντισωμάτων. Η T1D, ειδικά στα παιδιά, εμφανίζει τα συμπτώματα οποία μπορεί να είναι ξαφνικά, και περιλαμβάνουν πολυδιψία, πολουρία, πολυφαγία, νυχτερινή ούρηση, θολή όραση, απώλεια βάρους, κόπωση και αδυναμία. Εάν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα, μπορεί να γίνει επείγουσα ιατρική κατάσταση. Εάν αυτά τα άτομα δεν υποβληθούν σε θεραπεία, μπορεί να αναπτυχθεί DKA, απαιτώντας νοσηλεία και θεραπεία με ενδοφλέβια υγρά, ινσουλίνη, κάλιο και προσεκτική παρακολούθηση. Σχεδόν το ένα τρίτο των νέων παρουσιάζουν διαβητική κετοξέωση (Dabelea D, 2014) που είναι μια σοβαρή επιπλοκή λόγω των υψηλών επιπέδων υδατοδιαλυτών κετονικών σωμάτων (KBs), όπου οδηγούν σε μια όξινη φυσιολογική κατάσταση. Τα σώματα κετόνης, ενώ υπάρχουν πάντα στο αίμα, αυξάνονται σε παθολογικά επίπεδα όταν το σώμα δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει τη γλυκόζη: χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα κατά τη διάρκεια της νηστείας, της πείνας, της έντονης άσκησης ή δευτερογενώς σε ένα ελάττωμα στην παραγωγή ινσουλίνης.

2.3. Ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων (HLA)

Τα αντιγόνα των ανθρώπινων λευκοκυττάρων (HLA) είναι γονίδια στα μείζονα σύμπλοκα ιστοσυμβατότητας (MHC) που συμβάλλουν στον κώδικα πρωτεϊνών που διαφοροποιούν μεταξύ του εαυτού και των μη εαυτών. Παίζουν σημαντικό ρόλο στις ασθένειες και στην ανοσολογική άμυνα. Είναι ευεργετικά για το ανοσοποιητικό σύστημα, αλλά μπορούν επίσης να έχουν και βλαβερές συνέπειες. Ορισμένες από τις επιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η αλληλεπίδραση με το συμπλήρωμα, η κυτταροτοξική δράση των Τ κυττάρων και η κυτταρική χυμική ανοσία. Επιπλέον, παίζουν ρόλο στην αυτοανοσία και συνεχίζουν να αποτελούν στόχο των ερευνητών για τις περαιτέρω επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις τους.

Σε λειτουργικές διαφορές στον τρόπο με τον οποίο τα θραύσματα πρωτεΐνης παρουσιάζονται στο ανοσοποιητικό σύστημα μπορούν να οδηγήσουν οι γενετικές παραλλαγές στο πολυμορφικό αντιγόνο των ανθρώπινων λευκοκυττάρων (HLA) στο χρωμόσωμα 6p21.3. Διάφορες ομάδες γύρω στη δεκαετία του '70 διαπίστωσαν²³⁻²⁵ συσχετίσεις μεταξύ του νεανικού διαβήτη και της τάξης HLA I. Αργότερα αποδείχτηκε τα αντιγόνα HLA-D που ορίζονται από τα λεμφοκύτταρα τα HLA τάξης II DR4 και DR3 σχετίζονται στενότερα με τον T1D (Thomsen M, 1975). Το HLA περιέχει πολλά γονίδια τα οποία μεταφέρονται από τον γονέα στο παιδί σε γειτονικά "κομμάτια DNA" που βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης. Είναι δύσκολο να καθοριστεί το γονίδιο που έχει επίδραση ωστόσο οι κύριοι δείκτες ευαισθησίας για τον T1D είναι οι δείκτες HLA τάξης II DQB1*0302 στον απλότυπο DR4 και DQB1*0201 στον απλότυπο DR3. Σήμερα γνωρίζουμε ότι το 90-95% των μικρών παιδιών με T1D φέρουν έναν ή και τους δύο απλοτύπους ευαισθησίας, ενώ ο προστατευτικός DR2-DQB1*0602 είναι παρών σε ποσοστό <0,1%. Η HLA-μεσολαβούμενη ευαισθησία αντιπροσωπεύει το περίπου 50% της γενετικής ευαισθησίας στον T1D.³⁰ Οι HLA II απλότυποι έχουν καταταχθεί σε μια ιεραρχία κινδύνου. (Cucca F, 2001) Ανεξάρτητα από τα HLA DRB1 και DQB1 (Cruz TD, 2004) και από ανεξάρτητες επιδράσεις των γονιδίων HLA τάξης I Το HLA-DPB1, ένα άλλο γονίδιο HLA τάξης II, έχει αποδειχθεί ότι διαμορφώνει τον διαμεσολαβούμενο από το HLA τάξης II κίνδυνο. Οι μελέτες σε αδέλφια έχουν εντοπίσει απλοτύπους υψηλού κινδύνου και πιθανότατα να οφείλονται σε λειτουργικές παραλλαγές εντός ή δίπλα στο HLA. Το υπόλοιπο 50% της γενετικής ευαισθησίας προκύπτει από τη συμβολή μιας ολοένα και μεγαλύτερης επιλογής γονιδίων ευαισθησίας στον T1D.



Εικόνα 2. Κύριο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας στους ανθρώπους.

Γονιδιωματικός εντοπισμός του ανθρώπινου συμπλέγματος κύριας ιστοσυμβατότητας (MHC) στο χρωμόσωμα 6p21.3 και θέσεις HLA (ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων) κατηγορίας I (HLA-A, -B, -C) και κατηγορίας II (HLA-DR, -DQ, -DP) φαίνονται τόποι. (HLA MHC Comple, 2009)

2.3.1. Άλλα γονίδια εκτός από HLA

Εκτός από το HLA φαίνεται ότι σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του διαβήτη τύπου 1 παίζουν και άλλες περιοχές του ανθρώπινου γονιδιώματος. Το γονίδιο κυτταροτοξικού αντιγόνου T-λεμφοκύτταρα αναγνωρίστηκε ως ένα γονίδιο ευαισθησίας του διαβήτη τύπου 1. Ουσιαστικά είναι ένα επιφανειακό μόριο που βρίσκεται σε ενεργοποιημένα T κύτταρα και παράγει αρνητικό σήμα για την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Θεωρείται ότι οι αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου CTLA-4 αυξάνει την αυτοαντιδραστικότητα των T-κυττάρων και παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο νεανικός διαβήτης. Επίσης το γονίδιο PTPN22 βρέθηκε ότι έχει σχέση με την ευαισθησία του διαβήτη λόγω αρνητικής ρύθμισης της ενεργοποίησης των T κυττάρων. Επίσης το IL2RA (περιοχή άλφα υποδοχέα ιντερλευκίνης 2)

έχει άμεση σχέση με τον διαβήτη τύπου 1. Κωδικοποιεί την α -αλυσίδα του συμπλέγματος υποδοχέα IL-2 το οποίο είναι για την δέσμευση της IL-2 που είναι βασικός παράγοντας στον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων. Όλα τα παραπάνω γονίδια μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση του διαβήτη. Βέβαια δεν είναι τα μόνα υπάρχουν πάρα πολλά και οι έρευνες από τους επιστήμονες συνεχίζεται.

2.3.2. Γονίδιο ινσουλίνης (INS)

Για πρώτη φορά το 1984 αναφέρθηκε μια μικρή γενετική προδιάθεση για T1D προσδίδεται στο χρωμόσωμα 11 από τον τόπο IDDM2 που περιέχει την περιοχή του γονιδίου της ινσουλίνης. Μια πολυμορφική περιοχή που βρίσκεται 5' του γονιδίου της ινσουλίνης.

2.3.3. Επιγενετική βάση του διαβήτη τύπου 1

Εκτός από τους γενετικούς παράγοντες, οι αλλαγές στο γονιδίωμα εμπλέκονται στον διαβήτη τύπου 1. Η επιγενετική αναφέρεται κυρίως σε τροποποιήσεις που επηρεάζουν τη γονιδιακή ρύθμιση χωρίς να μεταβάλλουν άμεσα την αλληλουχία DNA, όπως η μεθυλίωση υπολειμμάτων κυτοσίνης ή η μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ουρών της ιστόνης. (Allis CD, 2016). Η μεθυλίωση κυτοσίνης βρίσκεται πιο εμφανώς στα δινουκλεοτίδια CpG, τα οποία βρίσκονται κατά προτίμηση σε γονιδιακούς υποκινητές και σχετίζονται με την καταστολή των γονιδίων. (Greenberg MVC, 2019) Τα υπολείμματα ουράς ιστόνης μπορούν να τροποποιηθούν με διάφορους τρόπους, όπως μεθυλίωση ή ακετυλίωση, και, ανάλογα με το υπόλειμμα και την τροποποίηση, μπορούν να οδηγήσουν σε ενεργοποιημένη ή κατεσταλμένη μεταγραφή. (Bannister AJ, 2011). Είναι σημαντικό ότι τα επιγενετικά σημάδια, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA και των τροποποιήσεων ιστόνης, αντικατοπτρίζουν τόσο γενετικές όσο και εξωτερικές επιδράσεις (Jerram ST, 2017) συμβάλουν στη σύλληψη των διαδικασιών της νόσου όπου καθοδηγούνται από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Εκτός από τη μεθυλίωση του DNA, μελέτες έχουν καταγράψει αλλαγές στην τροποποίηση ιστόνης στον διαβήτη τύπου 1. Για παράδειγμα, οι ερευνητές έχουν μετρήσει τα επίπεδα τροποποιήσεων ιστόνης, όπως η διμεθυλίωση και η ακετυλίωση της λυσίνης H3 9 (H3K9me2, H3K9ac), σε λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα και βρήκαν αλλοιωμένα επίπεδα στον διαβήτη τύπου 1 σε σύγκριση με τους μάρτυρες, συμπεριλαμβανομένων των τύπων κινδύνου διαβήτη τύπου 1, π.χ. *CTLA4* και MHC κατηγορίας II (Miao F, 2008). Αλλαγές στα επίπεδα τροποποίησης ιστόνης, καθώς και

εντοπισμός ακετυλοτρανσφεράσης ιστόνης, έχουν παρατηρηθεί σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος σε περιβαλλοντικές συνθήκες σχετικές με ασθένειες, όπως η υπεργλυκαιμία .

2.3.4. Ιδιοπαθής Διαβήτης

Υπάρχουν μορφές διαβήτη που δεν είναι γνωστή η αιτιολογία. Οι ασθενείς έχουν μόνιμη χαμηλή ινσουλίνη και είναι επιρρεπείς στην κετοξέωση χωρίς αυτοανοσία. Βέβαια οι ασθενείς που ανήκουν σ' αυτή την κατηγορία είναι αφρικανικής ή ασιατικής καταγωγής. Οι ασθενείς με αυτή τη μορφή διαβήτη υποφέρουν από συχνά επεισόδια κετοξέωσης και σε κάθε επεισόδιο παρουσιάζουν ανεπάρκεια ινσουλίνης. Ο ιδιοπαθής διαβήτης είναι κληρονομική και δεν έχει σχέση με HLA.

2.4. Επιδημιολογική Μελέτη

Σ' έναν πληθυσμό ο σκοπός της επιδημιολογικής μελέτης είναι η εκτίμηση του επιπολασμού και της επίπτωσης του σακχαρώδη διαβήτη ή των διαταραχών του μεταβολισμού της γλυκόζης. Ο σκοπός του ελέγχου σε άτομα υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση του διαβήτη. Εκτός από την μέτρηση της γλυκόζης και της HbA1c στο πλάσμα, συλλέγονται πληροφορίες για το ιστορικό της οικογένειας, σε εγκυμοσύνη ή γέννα, σωματικό βάρος, παχυσαρκία, αρτηριακή πίεση, επιπλοκές που σε άτομα που υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη. Ο διαβήτης τύπου 1 στα παιδιά εμφανίζεται συνήθως με έντονα συμπτώματα και με έντονη υπεργλυκαιμία. Ωστόσο, εάν ένα παιδί ασυμπτωματικό διαγνωστεί σε σχολικό έλεγχο υγείας με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 μπορεί να είναι δύσκολο να προσδιοριστεί η ακριβής αιτιολογία της νόσου. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 που εξελίσσεται αργά δεν είναι σπάνιος, ακόμη και στα παιδιά, και η μέτρηση των αυτοαντισωμάτων, όπως το αντίσωμα GAD ή το αντίσωμα IA-2, και η παρακολούθηση του πεπτιδίου C είναι χρήσιμα για τη διαφοροποίηση του διαβήτη τύπου 1 από άλλους τύπους. Με την βοήθεια ενός μοντέλου Markov μπορεί να εκτιμηθεί το ποσοστό θνησιμότητας ή διάγνωσης σε οποιοδήποτε έτος με βάση τη θνησιμότητα, τη συχνότητα και τον πληθυσμό. Αυτό το μοντέλο χρησιμοποιείται για επιδημιολογικές μελέτες και είναι μαθηματικά σωστό. Η επίπτωση του διαβήτη τύπου 1 μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου. Ορισμένα στοιχεία σχετίζονται με την εμφάνιση

στην ηλικία των 20 ετών και υπάρχουν σε βιβλιογραφία .Παρακάτω βλέπουμε τον πίνακα με τις φυσιολογικές τιμές σε μια μέτρηση του σακχάρου.

Πίνακας 2-1. Φυσιολογικές τιμές διαβήτη και προδιαβήτη.

Γλυκόζη πλάσματος	Φυσιολογική	Προδιαβήτης	Διαβήτης
Τυχαία μέτρηση	Κάτω από 11,1 mmol/l Κάτω από 200 mg/dl	-	11,1 mmol/l και άνω 200 mg/dl και άνω
Πριν το γεύμα	Κάτω από 6,1 mmol/l Κάτω από 108 mg/dl	6,1 έως 6.9 mmol/l 108 έως 125 mg/dl	7 mmol/l και άνω 126 mg/dl και άνω
2 ώρες μετά το γεύμα	Κάτω από 7,8 mmol/l Κάτω από 140 mg/dl	7,8 έως 11 mmol/l 140 έως 199 mg/dl	11,1 mmol/l και άνω 200 mg/dl και άνω

3. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Ο διαβήτης τύπου 2 είναι μια χρόνια μεταβολική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από επίμονη υπεργλυκαιμία και οφείλεται σε μειωμένη έκκριση ινσουλίνης, αντίσταση στις περιφερειακές δράσεις της ινσουλίνης ή και στα δύο. Επηρεάζει ηλικίες 20 με 79 ετών σε μεγάλο ποσοστό ανθρώπων και αυτό όσο προχωράμε στις δεκαετίες θα αυξηθεί. (Zheng Y, Nat Rev Endocrinol) Η χρόνια υπεργλυκαιμία σε συνδυασμό με μεταβολικές ανωμαλίες σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε διάφορα όργανα του σώματος οδηγώντας στην ανάπτυξη επιπλοκών που προκαλούν καταστάσεις απειλητικές για τη ζωή, οι πιο σημαντικές από τις οποίες είναι μικροαγγειακές, αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια και νευροπάθεια και μακροαγγειακές επιπλοκές που οδηγούν σε διπλάσιο έως 4 φορές αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (T2DM) αντιπροσωπεύει περίπου το 90% όλων των περιπτώσεων διαβήτη. Στον T2DM, η ανταπόκριση στην ινσουλίνη είναι μειωμένη. Κατά τη διάρκεια αυτής της κατάστασης, η ινσουλίνη είναι αναποτελεσματική και αρχικά αντιμετωπίζεται με αύξηση της παραγωγής ινσουλίνης για τη διατήρηση της ομοιόστασης της γλυκόζης, αλλά με την πάροδο του χρόνου, η παραγωγή ινσουλίνης μειώνεται, με αποτέλεσμα τον T2DM. Ο T2DM παρατηρείται συχνότερα σε άτομα ηλικίας άνω των 45 ετών. Όμως παρατηρείται ολοένα και περισσότερο σε παιδιά, εφήβους και νεότερους ενήλικες λόγω αύξησης των επιπέδων παχυσαρκίας, της σωματικής αδράνειας και της κακής διατροφής.

3.1. Παθοφυσιολογία

Το T2DM είναι μια κατάσταση αντίστασης στην ινσουλίνη με συναφή δυσλειτουργία των β-κυττάρων. Αρχικά, παρατηρείται αντισταθμιστική αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης, η οποία διατηρεί τα επίπεδα γλυκόζης σε φυσιολογικά επίπεδα. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, τα β-κύτταρα αλλάζουν και η έκκριση ινσουλίνης αδυνατεί να διατηρήσει την ομοιόσταση της γλυκόζης, προκαλώντας υπεργλυκαιμία. Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΔΤ2 είναι παχύσαρκοι ή έχουν υψηλότερο ποσοστό σωματικού λίπους, το οποίο κατανέμεται κυρίως στην κοιλιακή χώρα. Η έλλειψη σωματικής άσκησης σε άτομα με υπέρταση ή δυσλιπιδαιμία αυξάνουν επίσης τον κίνδυνο ανάπτυξης T2DM. Τα εξελισσόμενα δεδομένα υποδηλώνουν ένα ρόλο για τη δυσλειτουργία των λιποκινών, τη φλεγμονή, τη μη φυσιολογική βιολογία των ινκρετινών με

μειωμένες ινκρετίνες όπως το γλυκαγονόμορφο πεπτίδιο-1 (GLP-I) ή την αντίσταση στις ινκρετίνες, την υπεργλυκαιμία, την αυξημένη νεφρική επαναρρόφηση γλυκόζης και τις ανωμαλίες στον εντερικό μικροβιόκοσμο. Άτομα άνω των 40 ετών θα πρέπει να ελέγχονται ετησίως. Συχνότερος έλεγχος συνιστάται για άτομα με πρόσθετους παράγοντες κινδύνου για διαβήτη. (Hussain S, 2019)

- Ορισμένες φυλές/εθνικότητες (ιθαγενείς Αμερικανοί, Αφροαμερικανοί, Ισπανόφωνοι
- Υπέρβαρα ή παχύσαρκα άτομα με ΔΜΣ μεγαλύτερο ή ίσο με 25 kg/m² ή 23 kg/m² στους Ασιάτες Αμερικανούς,
- Συγγενής πρώτου βαθμού με σακχαρώδη διαβήτη
- Ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου ή υπέρτασης
- Χαμηλή HDL-χοληστερόλη ή υπερτριγλυκεριδαιμία,
- Γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών
- Φυσική αδράνεια
- Καταστάσεις που σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη,

3.1.1. Πρόγνωση-Επιπλοκές του T2DM

Η χρόνια υπεργλυκαιμία αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο επιπλοκών ΣΔ. Περίπου τα δύο τρίτα των ατόμων με ΣΔ θα πεθάνουν από έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό. (Wannamethee SG, 2011) Στον ΣΔ2, η γλυκόζη νηστείας μεγαλύτερη από 100 mg/dL συμβάλλει ώστε να μπορεί να αναπτυχθεί καρδιαγγειακός κίνδυνος πριν από την υπεργλυκαιμία. (Rao Kondapally Seshasai S, 2011) Ο ΣΔ είναι επίσης μια κοινή αιτία τύφλωσης σε ενήλικες ηλικίας 20 έως 74 ετών στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια συμβάλλει σε 12.000 έως 24.000 νέες περιπτώσεις τύφλωσης ετησίως και οι θεραπείες γενικά συνίστανται σε χειρουργική επέμβαση με λέιζερ και έλεγχο της γλυκόζης. Στο ΣΔ2, η διατροφή και η άσκηση μπορεί να είναι επαρκείς θεραπείες, ειδικά αρχικά. Άλλες θεραπείες μπορεί να στοχεύουν στην ευαισθησία στην ινσουλίνη ή να αυξήσουν την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας. Η χορήγηση ινσουλίνης μπορεί επίσης να είναι απαραίτητη σε ασθενείς με ΣΔ2, ειδικά σε αυτούς με ανεπαρκή παραγωγή γλυκόζης ή αντίσταση στα προχωρημένα στάδια της νόσου. Οι μακροχρόνιες επιπλοκές του διαβήτη περιλαμβάνουν αμφιβληστροειδοπάθεια με πιθανότητα απώλειας όρασης, νεφροπάθεια που οδηγεί σε νεφρική ανεπάρκεια, περιφερική νευροπάθεια με κίνδυνο έλκους του ποδιού, ακρωτηριασμούς, και αυτόνομη νευροπάθεια που προκαλεί γαστρεντερικά, ουρογεννητικά και καρδιαγγειακά συμπτώματα . Λόγω του αυξημένου

κινδύνου αυτών των επιπλοκών, είναι απαραίτητοι τακτικοί προληπτικοί έλεγχοι για να βοηθήσουν στην πρόληψη, έγκαιρη αναγνώριση και βοήθεια στην κατάλληλη θεραπεία για αυτές τις επιπλοκές. Θα πρέπει να διενεργούνται τακτικές διαβητικές εξετάσεις αμφιβληστροειδούς από ειδικευμένο ιατρικό προσωπικό για την αξιολόγηση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Η εξέταση νευρολογικής αίσθησης με δοκιμασία μονονήματος στα πόδια μπορεί να εντοπίσει ασθενείς με νευροπάθεια που διατρέχουν κίνδυνο ακρωτηριασμού. Οι κλινικοί γιατροί μπορούν επίσης να συστήσουν στους ασθενείς να πραγματοποιούν καθημερινές επιθεωρήσεις ποδιών για να εντοπίσουν βλάβες του ποδιού που μπορεί να περάσουν απαρατήρητες λόγω νευροπάθειας. (de Boer IH, 2017)

3.1.2. Διαβητικό πόδι κ επιπλοκές

Τα διαβητικά έλκη ποδιού (DFU) εμφανίζονται σε περίπου 15% των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) και εντοπίζονται συνήθως στις πελματιαίες επιφάνειες του ποδιού που φέρουν βάρος. Από εκείνους τους ασθενείς που αναπτύσσουν διαβητικό έλκος ποδιού, το 6% θα νοσηλευτεί για λοίμωξη ή άλλες επιπλοκές που σχετίζονται με το έλκος και το 1% από αυτούς θα χρειαστεί ακρωτηριασμό. Οι επιπλοκές σε ασθενείς με διαβήτη είναι η κύρια αιτία μη τραυματικών ακρωτηριασμών κάτω άκρων. Αυτή η δραστηριότητα συζητά τη θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο ως μια αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή. Οι DFU συμβαίνουν λόγω αλλαγών στην εμβιομηχανική της αρχιτεκτονικής των οστών και των μαλακών ιστών του ποδιού, της περιφερικής νευροπάθειας και της αθηροσκληρωτικής περιφερικής αρτηριακής νόσου, τα οποία εμφανίζονται σε υψηλότερη συχνότητα σε ασθενείς με ΣΔ. Η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση προδιαθέτει τους συνδέσμους σε ακαμψία. Η διαβητική νευροπάθεια προκαλεί απώλεια της προστατευτικής αίσθησης. Και τα δύο συμβάλλουν στην απώλεια της ιδιοδεκτικότητας, στην κακή ισορροπία και στην έλλειψη επίγνωσης του πόνου στα πόδια και στα κάτω άκρα των ασθενών με ΣΔ. Τα έλκη συνήθως ξεκινούν ως μικρές περιοχές πίεσης ή ερεθισμού ή από ένα μικρό τραύμα που δεν γίνεται αντιληπτό από τον ασυνήθιστο νευροπαθητικό ασθενή. (Ennis WJ, 2018) .Ο ασθενής θα πρέπει να εξετάζει και τα δύο πόδια σε κάθε επίσκεψη. Τα δάχτυλα των ποδιών πρέπει να διαχωρίζονται χειροκίνητα και να αξιολογείται ο μεσοδακτύλιος ιστός για ρωγμές, ρωγμές ή σημάδια μυκητιασικής λοίμωξης. Ο ασθενής θα πρέπει να ερωτηθεί σχετικά με τον γλυκαιμικό έλεγχο και να ενημερωθεί ότι για να θεραπεύσουν τα DFU το σάκχαρο στο αίμα πρέπει να είναι σταθερά 150 mg/dL ή λιγότερο.

3.1.3. Διαβητική κετοξέωση

Η διαβητική κετοξέωση μπορεί να εμφανιστεί σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, που συνδέεται συχνότερα με σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης. Εμφανίζεται μετά από στρες, άγχος και σε ορισμένες περιπτώσεις από την αρχική κλινική εμφάνιση σε ασθενείς με αδιάγνωστο διαβήτη. Μερικοί συνηθισμένοι παράγοντες κινδύνου που επισπεύδουν την ανάπτυξη ακραίας υπεργλυκαιμίας και επακόλουθης κετοξέωσης είναι η μόλυνση, η μη τήρηση της θεραπείας με ινσουλίνη, οι οξείες σοβαρές ασθένειες όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η σηψαιμία, η παγκρεατίτιδα, το άγχος, το τραύμα και η χρήση ορισμένων φαρμάκων, όπως τα γλυκοκορτικοειδή ή οι άτυποι αντιψυχωσικοί παράγοντες που έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν το μεταβολισμό των υδατανθράκων (JW, 2005). Σε φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα βασίζονται στην ελεύθερη γλυκόζη αίματος ως κύρια πηγή ενέργειας, η οποία ρυθμίζεται με ινσουλίνη, γλυκαγόνη και σωματοστατίνη. Η κετοξέωση της πείνας όπως υποδηλώνει το όνομα είναι αποτέλεσμα της παρατεταμένης υπογλυκαιμίας νηστείας, η οποία μειώνει την έκκριση ινσουλίνης, μετακινώντας τη βιοχημεία προς τη λιπόλυση και την οξείδωση των λιπαρών οξέων υποπροϊόντων για να εξασφαλίσει μια πηγή καυσίμου για το σώμα. Εμφανίζεται κυρίως στον διαβήτη τύπου 1, αν και το 10% έως 30% των περιπτώσεων εμφανίζεται σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (Nyenwe EA, 2016), σε καταστάσεις στρες ή οξείας ασθένειας. Ο ίδιος ο διαβήτης είναι μία από τις πιο κοινές χρόνιες παθήσεις στον κόσμο και επηρεάζει περίπου 30 εκατομμύρια ανθρώπους στις Ηνωμένες Πολιτείες. Τα προσαρμοσμένα στην ηλικία ποσοστά νοσηλείας DKA ήταν σε πτωτική τάση το 2000, αλλά αυξάνονταν σταθερά από τότε μέχρι τα μέσα του 2010 με μέσο ετήσιο ρυθμό 6,3% (Benoit SR, 2018), ενώ υπήρξε μείωση των ποσοστών ενδονοσοκομειακής θνησιμότητας κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου.

3.2. Γενετική προδιάθεση του διαβήτη τύπου 2

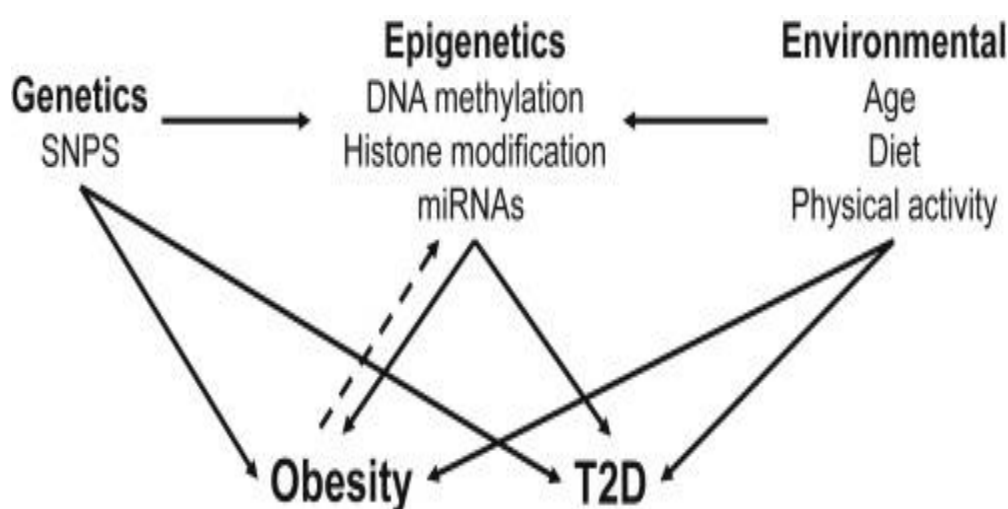
Η αύξηση του διαβήτη τύπου 2 σε μεγάλο μέρος οφείλεται σε περιβαλλοντικούς και συμπεριφορικούς παράγοντες, καθώς τα γενετικά δεν αλλάζουν αισθητά τρόπο σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, αρκετές σειρές στοιχείων υποδηλώνουν ότι η διακύμανση της αλληλουχίας του DNA συμβάλλει στον κίνδυνο διαβήτη τύπου 2. Μελέτες διδύμων έχουν δείξει ότι η εμφάνιση του διαβήτη τύπου 2 είναι μεγαλύτερη για τα μονοζυγωτικά δίδυμα που μοιράζονται το 100% της αλληλουχίας DNA τους παρά για τα διζυγωτικά δίδυμα (μοιράζονται περίπου το 50% της αλληλουχίας DNA τους) (Barnett AH,

1981) Η εμφάνιση του διαβήτη είναι πολύ μεγαλύτερη σε ορισμένες φυλετικές και εθνικές ομάδες. (Bennett PH, 1971) Το οικογενειακό ιστορικό αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη του διαβήτη σε μελέτες πληθυσμού. (Lyssenko V & Group, 2005). Σπάνιες μορφές διαβήτη που προκαλούνται από μεταλλάξεις σε μεμονωμένα γονίδια (που ονομάζονται μονογονιδιακές ή Μεντελιανές), αποδεικνύουν ότι αλλαγές ενός ζεύγους βάσεων στις κωδικοποιημένες περιοχές βασικών γονιδίων, οι οποίες οδηγούν σε μεταβολές στην αλληλουχία και τη λειτουργία των πρωτεϊνών, αρκούν για να προκαλέσουν υπεργλυκαιμία στο διαβητικό εύρος. (Velho G, 1998). Ο διαβήτης τύπου 2 προκαλείται τόσο από περιβαλλοντικούς όσο και συμπεριφορικούς παράγοντες καθώς και γενετική προδιάθεση. Αυτή η γενετική προδιάθεση μπορεί να διαφέρει μεταξύ των πληθυσμών. Είναι γνωστό ότι ο κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 διαφέρει στις διάφορες εθνοτικές ομάδες που αποτελούν τον πληθυσμό των ΗΠΑ, και φαίνεται ότι ορισμένες από αυτές τις διαφορές είναι γενετικής φύσεως (Carter JS, 1996). Είναι πολύ σημαντική η γενετική διερεύνηση ανεξάρτητα από το αν οι γενετικοί προγνωστικοί δείκτες θα γίνουν χρήσιμοι δείκτες εμφάνισης ή εξέλιξης της νόσου στην κλινική πρακτική, ο εντοπισμός γενετικών παραλλαγών που σχετίζονται με τον διαβήτη τύπου 2 φωτίζει παθογενετικούς μηχανισμούς. Επειδή η γενετική παραλλαγή της γεννητικής γραμμής προηγείται πάντα της έναρξης της νόσου, ο χρόνος δημιουργεί μια αιτιώδη σχέση που δεν είναι εμφανής. Έτσι, η γενετική προσέγγιση έχει μια μοναδική ευκαιρία να ρίξει φως στην παθοφυσιολογία του διαβήτη στις διάφορες εκδηλώσεις του, συμβάλλοντας έτσι στην διαλεύκανση της κλινικής ετερογένειάς του και ενδεχομένως στη βελτίωση των θεραπευτικών στρατηγικών.

3.2.1. Μεθυλίωση DNA στον διαβήτη τύπου 2

Η μεθυλίωση του DNA συμβάλλει σημαντικά στον κίνδυνο διαβήτη τύπου 2 και στις διαφορές κινδύνου μεταξύ πληθυσμών. (R. Ribel-Madsen, 2012) Είναι ένας βασικός ρυθμιστής της γονιδιακής έκφρασης και του μοριακού φαινοτύπου, μία από τις πιο καλά χαρακτηρισμένες επιγενετικές τροποποιήσεις, που περιλαμβάνει τη μετατροπή της κυτοσίνης σε 5-μεθυλοκυτοσίνη μέσω της μεταφοράς μιας μεθυλικής ομάδας στην πέμπτη θέση άνθρακα της κυτοσίνης. Αυτό το επιγενετικό σημάδι παραμένει σταθερό κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης και δρα ως μορφή κυτταρικής μνήμης, ρυθμίζοντας ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένης της μεταγραφής και της χρωμοσωμικής σταθερότητας, και παίζει σημαντικό και κρίσιμο ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, τη

γονιδιωματική αποτύπωση και την αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X. Τα πρότυπα μεθυλίωσης καθιερώνονται και τροποποιούνται από συγκεκριμένες μεθυλοτρανσφεράσες DNA, όπως το DNMT1, το οποίο μεταφέρει πρότυπα μεθυλίωσης σε ένα νεοσυντιθέμενο σκέλος μετά την αντιγραφή του DNA (Bronner, 2011). Η μεθυλίωση του DNA συνδέεται επίσης λειτουργικά στη μεταγραφή με την τροποποίηση ιστόνης, έναν άλλο σημαντικό επιγενετικό ρυθμιστή στα κύτταρα των θηλαστικών. Μαζί, αυτές οι δύο επιγενετικές διεργασίες μπορούν να παρέχουν τον υποκείμενο μηχανισμό για τη σταθερή διάδοση της γονιδιακής δραστηριότητας από τη μια γενιά κυττάρων στην επόμενη όπως φαίνεται παρακάτω στην εικόνα



Εικόνα 3. Ρόλος των επιγενετικών μηχανισμών στον διαβήτη τύπου 2 και το βασικό χαρακτηριστικό την παχυσαρκία (A.E. Handel, 2010)

Ο ενδομήτριος περιορισμός της ανάπτυξης (IUGR) σε αρουραίους έχει οδηγήσει σε τροποποιήσεις του κώδικα ιστόνης που καταστέλλουν την έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης 4 (glut4) στους απογόνους και εκτεταμένες αλλοιώσεις της μεθυλίωσης του DNA στα παγκρεατικά νησίδια με επακόλουθο αυξημένο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2. Έτσι και στους ανθρώπους, ο μητρικός υποσιτισμός και το χαμηλό βάρος γέννησης έχουν συσχετιστεί, μετά από IUGR, με αυξημένο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2 στους απογόνους, με αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA στον τόπο του γονιδίου *HNF4A*, έναν γνωστό τόπο ευαισθησίας στον διαβήτη τύπου 2. (P.H. Whincup, 2008). Σε επίπεδο ανάλυσης της συσχέτισης του επιγονιδιώματος εντοπίστηκε και αναπαρήγαγε μια ανεξάρτητη συσχέτιση μεταξύ μεθυλίωσης του DNA και μελλοντικής εμφάνισης συχνότητας του T2D σε 5 τόπους. Μια προσέγγιση βαθμολογίας κινδύνου μεθυλίωσης, αποκαλύφθηκε 3,5 φορές υψηλότερος κίνδυνος για μελλοντικό διαβήτη τύπου 2 μεταξύ άνω και κάτω τεταρτημορίων μεθυλίωσης

και διαπιστώθηκε ακόμα ότι τα πρότυπα μεθυλίωσης μεταξύ των Ινδών Ασιατών σε σύγκριση με τους Ευρωπαίους συνδέονται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2.

3.2.2. Τροποποίηση ιστόνης ως επιγενετικός μηχανισμός του ΔΤ2

Τα στοιχεία για τον ρόλο που παίζει η τροποποίηση ιστόνης σε σχέση με την παχυσαρκία και τον διαβήτη τύπου 2 είναι λιγότερα πειστικά παρά την σχέση της με την μεθυλίωση. Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ιστόνης H3K9me2 αναφέρθηκαν γύρω από τις περιοχές υποκινητή ιντερλευκίνης-1Α και κωδικοποίησης PTEN σε μονοκύτταρα από άτομα με διαβήτη τύπου 2 σε σχέση με τους μάρτυρες, μαζί με αυξημένη ακετυλίωση ιστόνης H3 στις περιοχές υποκινητή γονιδίων παράγοντα νέκρωσης όγκων-άλφα (*TNF-α*) και κυκλοοξυγενάσης-2 (*COX-2*). Επιπλέον, τα άτομα με επικρατούσα διαβήτη τύπου 2 εμφάνισαν εξαρτώμενη από το Set7 μονομεθυλίωση του H3K4me1 στην περιοχή υποκινητή NF-kB, συμβάλλοντας δυνητικά στην υποκείμενη αγγειακή δυσλειτουργία.

3.3. Διαβήτης τύπου 2 και βιταμίνη D

Στον διαβήτη τύπου 2 όπου είναι αυξημένος σε ασθενείς με παχυσαρκία η βιταμίνη D είναι ελλιπής. Αυτό συμβαίνει γιατί η βιταμίνη D εναποτίθεται στις αποθήκες σωματικού λίπους όπου δεν είναι πλέον βιοδιαθέσιμη. Η ανεπάρκεια βιταμίνης D σε άτομα με παχυσαρκία σχετίζεται με λειτουργικές αλλοιώσεις όπως αυξημένα επίπεδα PTH (DD., 1992;). Επίσης με την παχυσαρκία συνδέεται ο δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός που συμβάλει στην παραγωγή δυσανεξίας στη γλυκόζη και καρδιαγγειακών παθήσεων. η βιταμίνη D αναστέλλει τη σύνθεση της PTH διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος . Η PTH και η ινσουλίνη αυξάνουν την παραγωγή βιταμίνης D και έτσι, η οξεία ανεπάρκεια ινσουλίνης στον σακχαρώδη διαβήτη μπορεί να μειώσει την παραγωγή βιταμίνης D. Οι ασθενείς με υπερπαραθυρεοειδισμό έχουν διαβήτη και αντίσταση στην ινσουλίνη .Επομένως Η σχέση μεταξύ της υποβιταμίνωσης D, της αλλοιωμένης έκκρισης ινσουλίνης και του διαβήτη τύπου 2 μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αρκετών σχετικών μεταβολικών επιδράσεων.

3.4. Διαβήτης κύησης

Ο σακχαρώδης διαβήτης κύησης (ΣΔΚ) είναι η δυσανεξία στη γλυκόζη που ξεκινάει κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Το GDM μπορεί να ταξινομηθεί ως A1GDM και A2GDM. Ο διαβήτης κύησης που αντιμετωπίζεται χωρίς φαρμακευτική αγωγή και ανταποκρίνεται στη διατροφική θεραπεία είναι ο ελεγχόμενος με δίαιτα διαβήτης κύησης (GDM) ή A1GDM. Ενώ ο διαβήτης κύησης που αντιμετωπίζεται με φαρμακευτική αγωγή για την επίτευξη επαρκούς γλυκαιμικού ελέγχου είναι ο A2GDM. Η αιτία του διαβήτη κύησης είναι η δυσλειτουργία των βήτα-κυττάρων του παγκρέατος ή η καθυστερημένη ανταπόκριση των βήτα κυττάρων στα γλυκαιμικά επίπεδα και η έντονη αντίσταση στην ινσουλίνη από την απελευθέρωση ορμονών του πλακούντα. Το λακτογόνο του ανθρώπινου πλακούντα είναι η κύρια ορμόνη που σχετίζεται με την αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη στο GDM. Υπόλοιπες ορμόνες που σχετίζονται με την ανάπτυξη αυτής της ασθένειας είναι η αυξητική ορμόνη, η προλακτίνη, η ορμόνη απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης και η προγεστερόνη, όπου συμβάλλουν στην τόνωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και της υπεργλυκαιμίας στην εγκυμοσύνη. Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης της μητέρας διασχίζουν τον πλακούντα και προκαλούν εμβρυϊκή υπεργλυκαιμία. Το πάγκρεας του εμβρύου διεγείρεται ως απόκριση στην υπεργλυκαιμία. Οι αναβολικές ιδιότητες της ινσουλίνης διεγείρουν τους εμβρυϊκούς ιστούς να αναπτυχθούν με αυξημένο ρυθμό. (Spraigh C, 2016) Φαίνεται ότι ο υψηλότερος δείκτης μάζας σώματος και η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσουν σε φλεγμονή χαμηλού βαθμού. Η χρόνια φλεγμονή προκαλεί τη σύνθεση του ξανθουρενικού οξέος, το οποίο σχετίζεται με την ανάπτυξη προδιαβήτη και σακχαρώδη διαβήτη κύησης. Οι επιπλοκές διαβήτη κύησης έχουν να κάνουν τόσο με την μητέρα όσο και με το έμβρυο. Οι επιπλοκές στο έμβρυο περιλαμβάνουν μακροσωμία, νεογνική υπογλυκαιμία, πολυκυτταραιμία, δυστοκία ώμου υπερχολερυθριναιμία, σύνδρομο νεογνικής αναπνευστικής δυσχέρειας, αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα και υπασβεστιαίμια. Οι επιπλοκές στη μητέρα περιλαμβάνουν υπέρταση, προεκλαμψία, αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη και αυξημένο κίνδυνο τοκετού με καισαρική τομή. (Lindsay RS, 2017)

3.4.1. Κύηση και Βιταμίνη D

Μια έγκυος γυναίκα με διαβήτη διατρέχει μεγάλο κίνδυνο μαζί με το έμβρυο και η βιταμίνη D είναι πολύ σημαντική. Τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης D που προκαλούνται από την τροφή έχουν μεγάλη επίδραση στο έμβρυο. Η χορήγηση βιταμίνης D ενδοφλέβια σε έγκυες γυναίκες με διαβήτη κύησης μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, μειώθηκε και το επίπεδο της

ινσουλίνης. (Kouppala, 1988) Η χορήγηση βιταμίνης D βοηθάει στην μείωση της συγκέντρωσης της γλυκόζης νηστείας σε γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη κύησης, πιθανώς λόγω της αυξημένης ευαισθησίας στην ινσουλίνη.

3.4.2. Παθοφυσιολογία του ΣΔΚ

Το λακτογόνο του ανθρώπινου πλακούντα είναι μια ορμόνη που απελευθερώνεται από τον πλακούντα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Προκαλεί σημαντικές μεταβολικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης για να υποστηρίξει τη διατήρηση της διατροφικής κατάστασης του εμβρύου. Αυτή η ορμόνη είναι ικανή να προκαλεί αλλοιώσεις και τροποποιήσεις στους υποδοχείς ινσουλίνης. Οι ακόλουθες μοριακές παραλλαγές φαίνεται να συνδέονται με τη μείωση της πρόσληψης γλυκόζης στους περιφερειακούς ιστούς: 1) μοριακή αλλαγή του υποδοχέα βήτα-υπομονάδας ινσουλίνης, 2) μειωμένη φωσφορυλίωση της κινάσης τυροσίνης, 3) αναδιαμόρφωση στο υπόστρωμα του υποδοχέα ινσουλίνης phosphatitolin-3-1 και κινάση. Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης της μητέρας διασχίζουν τον πλακούντα και προκαλούν εμβρυϊκή υπεργλυκαιμία. Το πάγκρεας του εμβρύου διεγείρεται ως απόκριση στην υπεργλυκαιμία. Οι αναβολικές ιδιότητες της ινσουλίνης διεγείρουν τους εμβρυϊκούς ιστούς να αναπτυχθούν με αυξημένο ρυθμό. (Spraight C G. J., 2016). Ο υψηλότερος δείκτης μάζας σώματος και η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσουν σε φλεγμονή χαμηλού βαθμού. Η χρόνια φλεγμονή προκαλεί τη σύνθεση του ξανθουρενικού οξέος, το οποίο σχετίζεται με την ανάπτυξη προδιαβήτη και σακχαρώδη διαβήτη κύησης.

3.4.3. Κλινικοί παράγοντες εμφάνισης ΣΔΚ

Η αιτία του διαβήτη κύησης σχετίζεται με την δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος ή την καθυστερημένη απόκριση των β-κυττάρων στα γλυκαιμικά επίπεδα και την έντονη αντίσταση στην ινσουλίνη ή στην ορμονική απελευθέρωση του πλακούντα. Η κύρια ορμόνη που σχετίζεται με αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη στον ΣΔΚ είναι το ανθρώπινο πλακουντιακό γλυκογόνο. Άλλες ορμόνες που σχετίζονται με την ανάπτυξη αυτής της νόσου είναι η αυξητική ορμόνη, η προλακτίνη, η ορμόνη απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης και η προγεστερόνη, αυτές οι ορμόνες συμβάλλουν στη διέγερση της αντίστασης στην ινσουλίνη και της υπεργλυκαιμίας κατά την εγκυμοσύνη. οι κλινικοί παράγοντες περιλαμβάνουν:

- Προηγούμενο ιατρικό ιστορικό καρδιαγγειακών παθήσεων
- Μη φυσιολογική δοκιμασία ανοχής γλυκόζης από του στόματος

- Τριγλυκερίδια μεγαλύτερα από 250 Αιμοσφαιρίνη A1C μεγαλύτερη από 5,7
- Χαμηλή HDL
- Τριγλυκερίδια μεγαλύτερα από 250
- Αυξημένο σωματικό βάρος (δείκτης μάζας σώματος μεγαλύτερος από 25)
- Μειωμένη σωματική δραστηριότητα
- Συγγενής πρώτου βαθμού με σακχαρώδη διαβήτη
- Οποιοσδήποτε σημαντικός δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη (acanthosis nigricans)
- Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

3.4.4. Επιδημιολογία- πρόγνωση

Οι γυναίκες με διαβήτη κύησης (GDM) έχουν αυξημένο κίνδυνο 35 έως 60% να αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη σε διάστημα 10 έως 20 ετών μετά την εγκυμοσύνη. Ο διαβήτης κύησης επηρεάζει περίπου το 2 έως 10% των κυήσεων στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Στις 4 έως 12 εβδομάδες μετά τον τοκετό, η σύσταση είναι να εκτελεστεί μια δοκιμή ανοχής γλυκόζης 75g από το στόμα για να αποκλειστεί η πιθανότητα ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2, διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας ή δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη. συνιστούν την επανάληψη των εξετάσεων κάθε 1 έως 3 χρόνια για τις γυναίκες που ανέπτυξαν ΣΔΚ και είχαν φυσιολογικά αποτελέσματα ελέγχου μετά τον τοκετό. Τα επίπεδα γλυκόζης αίματος ACOG κατά την εγκυμοσύνη είναι γλυκόζη πλάσματος νηστείας κάτω από 95 mg / dL, 1 ώρα μεταγευματικά κάτω από 130-140 mg / dL, 2 ώρες μεταγευματικά κάτω από 120 mg / dL. μετά τον τοκετό, 24 έως 72 ώρες μετά την παράδοση, συνιστάται η παρακολούθηση των επιπέδων γλυκόζης. Μετά την αφαίρεση του πλακούντα, η αντίσταση στην ινσουλίνη τείνει να βελτιώνεται, αυτό μπορεί να βοηθήσει στην κλιμάκωση της ινσουλίνης ή των υπογλυκαιμικών παραγόντων. Στις 4 έως 12 εβδομάδες μετά τον τοκετό, συνιστάται η εκτέλεση δοκιμής ανοχής γλυκόζης 75g από το στόμα για να αποκλειστεί η πιθανότητα ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2.

4. Οι βιοδείκτες προσδιορισμού σακχαρώδη διαβήτη

Οι βιοδείκτες είναι μόρια που παράγει ο οργανισμός και σηματοδοτεί μια κατάσταση. Η μέτρηση γίνεται συνήθως σε άμεσα διαθέσιμα σωματικά υγρά (αίμα ή ούρα), είναι σε θέση να ανιχνεύσουν νόσο και χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση της νόσου και της ανταπόκρισης στις θεραπείες. Οι νέες τεχνολογίες όπως η γονιδιωματική προσφέρει πολλές ευκαιρίες για την ανάπτυξη νέων βιοδεικτών. Άλλες νέες τεχνολογίες επιτρέπουν την ανάπτυξη μη μοριακών, λειτουργικών ή βιοφυσικών βιοδεικτών που βασίζονται σε ιστούς. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια πολύπλοκη ασθένεια που επηρεάζει σχεδόν κάθε ιστό και σύστημα οργάνων, με μεταβολικές διακλαδώσεις που εκτείνονται πολύ πέρα από τον εξασθενημένο μεταβολισμό της γλυκόζης. Οι βιοδείκτες μπορεί να αντικατοπτρίζουν την παρουσία και τη σοβαρότητα της υπεργλυκαιμίας (δηλαδή του ίδιου του διαβήτη) ή την παρουσία και τη σοβαρότητα των αγγειακών επιπλοκών του διαβήτη. Στο αίμα, η αιμοσφαιρίνη A1C (HbA1c) μπορεί να θεωρηθεί ως βιολογικός δείκτης για την παρουσία και τη σοβαρότητα της υπεργλυκαιμίας, που υποδηλώνει διαβήτη ή προδιαβήτη ή με την πάροδο του χρόνου, ως «βιοδείκτης για παράγοντα κινδύνου», δηλαδή, υπεργλυκαιμία ως παράγοντας κινδύνου για διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια και άλλες αγγειακές επιπλοκές του διαβήτη. Στους ιστούς, η γλυκοζυλίωση και το οξειδωτικό στρες που προκύπτουν από την υπεργλυκαιμία και τη δυσλιπιδαιμία οδηγούν σε εκτεταμένη τροποποίηση των βιομορίων από προηγμένα τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης (AGEs). Μερικά από αυτά τα αλλοιωμένα είδη μπορεί να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες, ενώ άλλα μπορεί να βρίσκονται στην αιτιολογική οδό για αγγειακή βλάβη. Οι νέες μη επεμβατικές τεχνολογίες μπορούν να ανιχνεύσουν τη βλάβη των ιστών που προκαλείται από το σχηματισμό AGE: αυτές περιλαμβάνουν έμμεσα μέτρα όπως η ανάλυση παλμικών κυμάτων (δείκτης αγγειακής δυσλειτουργίας) και πιο άμεσους δείκτες όπως ο αυτοφθορισμός του δέρματος (δείκτης μακροχρόνιας συσσώρευσης AGEs). Στο μέλλον, μπορούμε να είμαστε αισιόδοξοι ότι οι νέοι βιοδείκτες αίματος και ιστών θα επιτρέψουν την ανίχνευση, την πρόληψη και τη θεραπεία του διαβήτη και των επιπλοκών του πολύ πριν εμφανιστεί η ασθένεια. (Lyons, 2012)

4.1. Γλυκόζη πλάσματος

Η μέτρησή της είναι σημαντική για τον έλεγχο, τη διάγνωση και την παρακολούθηση του διαβήτη καθώς και το μεταβολικό σύνδρομο όταν εμφανίζεται. Αποτέλεσμα αυτών των

καταστάσεων είναι η παθολογική υπεργλυκαιμία ή τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης. Τα τελευταία στοιχεία που δημοσιεύθηκαν από τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων δείχνουν ότι υπάρχουν σχεδόν 37,3 εκατομμύρια Αμερικανοί με διαβήτη και σχεδόν 96 εκατομμύρια άνθρωποι ηλικίας 18 ετών και άνω έχουν προδιαβήτη (38,0% του ενήλικου πληθυσμού των ΗΠΑ). Περίπου το 90% έως 95% όλων των περιπτώσεων διαβήτη στις ΗΠΑ είναι τύπου 2. (Rowley WR, 2017) Στον διαβήτη, η γλυκόζη παραμένει αυξημένη έξω από τα κύτταρα με αποτέλεσμα τα κύτταρα να λιμοκτονούν παρά τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα. (Guthrie RA, 2004) Όταν τα επίπεδα γλυκόζης παραμένουν υψηλά στο πλάσμα, μπορεί να προκαλέσει οσμωτική βλάβη στα νεύρα με αποτέλεσμα περιφερικές νευροπάθειες, να μειώσει την επούλωση τραυμάτων και να αυξήσει τη φλεγμονή μέσω αντιδράσεων που δημιουργούν οξειδωτικό στρες και φλεγμονή και μετατρέπονται σε προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) που προάγουν τόσο τη μικροαγγειακή όσο και τις μακροαγγειακές επιπλοκές.

Η γλυκόζη μπορεί να αντιδράσει με την αμινομάδα μιας πρωτεΐνης μη ενζυματική, σχηματίζοντας ενώσεις όπως η φρουκτοζαμίνη που αντικατοπτρίζουν το επίπεδο ελέγχου της γλυκόζης σε διάστημα δύο εβδομάδων. Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει πολιδιψία, πολουρία, πολυφαγία. Οπότε η εκτεταμένη αύξηση της γλυκόζης στο πλάσμα μπορεί να οδηγήσει με την πάροδο του χρόνου σε μη αναστρέψιμη βλάβη οργάνων και ο έλεγχος των επιπέδων γλυκόζης είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη. (Cole JB, 2020) .Η απορρόφηση της γλυκόζης στα κύτταρα εξαρτάται από ειδικούς μεταφορείς. Ορισμένοι απαιτούν νάτριο (Na^+) ως συμμεταφορέα, ενώ άλλοι όχι. Η εξαρτώμενη από το Na^+ μεταφορά της γλυκόζης χρησιμοποιεί την αντλία Na^+/K^+ ATPase για τη δημιουργία μιας αρνητικής βαθμίδας δυναμικού που οδηγεί την παθητική μεταφορά του Na^+ στο κύτταρο. (Abdulla H, 2014). Αυτή η βαθμίδα επιτρέπει επίσης σε άλλα μόρια, όπως η γλυκόζη, να μεταφερθούν στο κύτταρο ενάντια στις βαθμίδες συγκέντρωσής τους. Πιο συγκεκριμένα η γλυκόζη στον αυλό του εντέρου και στα νεφρικά σωληνάκια απορροφάται μέσω συμ-μεταφορέων νατρίου-γλυκόζης (SGLT). Η έκφραση αυτών των μεταφορέων μπορεί να αλλάξει ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού σε γλυκόζη (Norton L, 2017). Τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα ρυθμίζονται μέσω μερικών βασικών οδών: γλυκόλυση, γλυκονεογένεση και γλυκογένεση/γλυκογονόλυση. Η ινσουλίνη μπορεί να επηρεάσει τη γλυκόλυση και τη γλυκονεογένεση μέσω αποφωσφορυλίωσης του ενζύμου φωσφοφρουκτοκινάση-2 (PFK-2), το οποίο αυξάνει τα επίπεδα της 2,6-διφωσφορικής φρουκτόζης (F-2,6-BP). Αυτό το μόριο αυξάνει άμεσα τη δραστηριότητα του ενζύμου PFK-1, το οποίο μετατρέπει τη φρουκτόζη-6-φωσφορική σε

φρουκτόζη 1, 6-διφωσφορική και δεσμεύει τη γλυκόζη στο μονοπάτι της γλυκόλυσης και την κατευθύνει μακριά από τη γλυκονεογένεση. Αντίθετα, η γλυκαγόνη επηρεάζει παρομοίως τη γλυκόλυση και τη γλυκονεογένεση μέσω της φωσφορυλίωσης της φρουκτόζης 2,6-διφωσφατάσης, η οποία μειώνει τα επίπεδα της F-2,6-BP και, στη συνέχεια, τη δραστηριότητα της PFK-1. Αυτή η δραστηριότητα απομακρύνει τη γλυκόζη από τη γλυκόλυση και προς τη γλυκονεογένεση και τη γλυκογονόλυση. Η διάγνωση του διαβήτη εξαρτάται από τη γλυκόζη του πλάσματος, η οποία είναι μετρήσιμη κατά τη διάρκεια της νηστείας, το τεστ ανοχής γλυκόζης από το στόμα (OGTT) ή τα κριτήρια A1c. Οι μετρήσεις της γλυκόζης στο πλάσμα νηστείας δείχνουν τα επίπεδα γλυκόζης στο συγκεκριμένο χρονικό σημείο, ενώ η HbA1c μετρά τη μέση ποσότητα γλυκοζυλίωσης προς την αιμοσφαιρίνη, η οποία συνήθως συσσωρεύεται σε διάστημα 2 έως 3 μηνών. Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Διαβήτη (ADA), η νηστεία (που ορίζεται ως τουλάχιστον 8 ώρες χωρίς θερμιδική πρόσληψη) γλυκόζη πλάσματος μεγαλύτερη ή ίση με 126 mg/dL είναι διαγνωστική. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί δύο μη φυσιολογικά αποτελέσματα δοκιμών από τα ίδια ή δύο ξεχωριστά δείγματα. (Kerner W, 2014) Άλλα ισοδύναμα διαγνωστικά κριτήρια περιλαμβάνουν γλυκόζη πλάσματος 2 ωρών μεγαλύτερη ή ίση με 200 mg/dL κατά τη διάρκεια OGTT ή A1c μεγαλύτερη ή ίση με 6,5% (που εκτελείται σε διαπιστευμένο εργαστήριο). Κλινικά, ένας ασθενής με συμπτώματα υπεργλυκαιμικής κρίσης και τυχαία γλυκόζη μεγαλύτερη ή ίση με 200 mg/dL πληροί επίσης τα διαγνωστικά κριτήρια.

4.1.1. Φρουκτοζαμίνη (FA)

Χρησιμοποιείται ως εναλλακτικός γλυκαιμικός δείκτης για τον έλεγχο του διαβήτη και μπορεί να είναι χρήσιμη για τη διάγνωση του προδιαβήτη. Η FA είναι μια κετοαμίνη που δημιουργείται από τη γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών του ορού, κυρίως της λευκωματίνης, αυξάνεται σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης μπορεί να είναι ένας χρήσιμος κλινικός δείκτης βραχυπρόθεσμης γλυκαιμικής διακύμανσης και ελέγχου της γλυκόζης κατά τις προηγούμενες εβδομάδες. Πλεονεκτήματα της φρουκτοζαμίνης είναι η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας και η ευκολία, καθώς η μέτρησή της δεν απαιτεί νηστεία (Weerasekera DS, 2000) είναι ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο σε καταστάσεις που επηρεάζεται η αξιοπιστία της αιμοσφαιρίνης.

4.1.2. Γλυκοζυλιωμένη λευκωματίνη (GA)

Είναι μια εργαστηριακή εξέταση που έχει αποκτήσει κάποια σημασία για την παρακολούθηση της γλυκόζης στο ΣΔ τις τελευταίες δεκαετίες (. Kohzuma T, 2010) Το GA είναι μία από τις φρουκτοζαμίνες, αλλά έχει το πλεονέκτημα ότι δεν επηρεάζεται από τη συγκέντρωση άλλων πρωτεϊνών ορού, καθώς είναι ειδικό για τους ρυθμούς γλυκοζυλίωσης της λευκωματίνης (Kouzuma T, 2002). Επιπλέον, το GA δεν απαιτεί νηστεία για τη μέτρησή του και αντανακλά τη βραχυπρόθεσμη γλυκαιμία λόγω του χρόνου ημιζωής της λευκωματίνης, που είναι περίπου 3 εβδομάδες. Σε σύγκριση με το A1C, το GA δεν επηρεάζεται από την παρουσία αιμολυτικών διεργασιών και μη φυσιολογικής Hb (Kim C, 1999-2006). Επιπλέον, σε καταστάσεις όπως η αναιμία, η εγκυμοσύνη, η μεταγευματική υπεργλυκαιμία και η ΣΔ με χρήση ινσουλίνης, το GA φαίνεται να είναι καλύτερος γλυκαιμικός δείκτης από το A1C (Koga M, 2010) και επίσης ενδείκνυται ιδιαίτερα για διαβητικούς ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση (Freedman BI, 2010). Το GA είναι πιο κατάλληλο από το A1C για την παρακολούθηση της έναρξης της φαρμακευτικής θεραπείας στον ΣΔ (Yoshiuchi K, 2008), για τον έλεγχο της δόσης και της αλλαγής του φαρμάκου (Hsu P, 2015), όπως και τα επίπεδά του μειώνονται ταχύτερα από την A1C στην εντατική θεραπεία. Paroni and cols. Απέδειξαν ότι το GA ήταν καλύτερος δείκτης για την αξιολόγηση στη θεραπεία με ινσουλίνη σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 με ανεπαρκή γλυκαιμικό έλεγχο και επίσης ότι το GA παρουσίαζε μεγαλύτερη συσχέτιση με το FG από το A1C ($R = 0,75$ έναντι $R = 0,54$, αντίστοιχα) (. Paroni R, 2007) Επιπλέον, Yoon και cols. ανέφεραν ότι η επιδείνωση της λειτουργίας των βήτα-παγκρεατικών κυττάρων συσχετίστηκε με το χρόνο διάρκειας του ΣΔ και επίσης με την αυξημένη αναλογία GA και GA/A1C, αλλά όχι μόνο με την A1C.

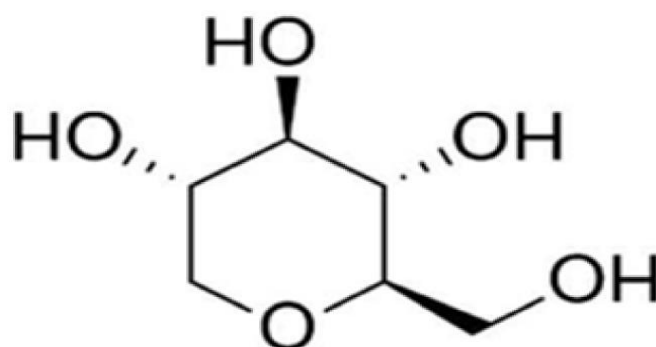
4.1.3. Χρωμογρανίνη A

Η χρωμογρανίνη A (CgA) είναι το κύριο μέλος της οικογένειας των χρωμογρανινών και είναι μια όξινη γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 439 αμινοξέα με μοριακή μάζα κατά προσέγγιση 48 kDa. Το CgA χρησιμοποιείται ως διαγνωστικός δείκτης νευροενδοκρινών όγκων και για την παρακολούθηση της εξέλιξης ή της υποχώρησης του όγκου κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η CgA έχει επίσης ρόλο ως βιοδείκτης σε νευροεκφυλιστικές και νευροψυχιατρικές ασθένειες, υπέρταση, καρδιαγγειακές παθήσεις, καρδιακή ανεπάρκεια και νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια. Τα νεφρά είναι η κύρια θέση για την απομάκρυνση της CgA και διατηρείται στον ορό με φθίνουσα νεφρική λειτουργία. Σε ασθενείς με νεφρική

ανεπάρκεια, η CgA ορού αυξάνεται πολύ περισσότερο από την κρεατινίνη και τις άλλες πρωτεΐνες χαμηλού MW που μελετήθηκαν. Η CgA αποδείχθηκε ότι είναι αυξημένη σε διαβητικούς ασθενείς αλλά η σχέση της με την DN δεν έχει διευκρινιστεί.

4.1.4. 1,5-ανυδρογλυκιτόλη (1,5-AG)

Είναι ένας μονοσακχαρίτης που είναι βιοχημικά παρόμοιος με τη D-γλυκόζη και προέρχεται από τη διατροφή. Είναι ένας βιοδείκτης οξείας υπεργλυκαιμίας που χρησιμοποιείται στη διαβητολογία και στην καρδιοδιαβητολογία. Χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των κυμαινόμενων επιπέδων γλυκόζης. Η παρουσία του 1,5-AG στο αίμα και στον ιστό είναι σχεδόν σταθερή λόγω της επαναρρόφησης στο εγγύς νεφρικό σωληνάριο. Στην οξεία υπεργλυκαιμία, η νεφρική επαναρρόφηση αναστέλλεται από τη γλυκόζη και το 1,5-AG απεκκρίνεται στα ούρα, ενώ το επίπεδό του στον ορό μειώνεται γρήγορα. Τα χαμηλά επίπεδα 1,5-AG ορού μπορεί να είναι κλινικός δείκτης βραχυπρόθεσμων γλυκαιμικών διαταραχών, όπως η μεταγευματική υπεργλυκαιμία, η οποία είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την παθογένεση της στεφανιαίας νόσου (CAD) ως χαμηλά επίπεδα. Στην πραγματικότητα ένας ακόμη καλύτερος δείκτης από την HbA1c ή τη φρουκτοζαμίνη που χρησιμοποιούνται συνήθως. Το 1,5-AG μπορεί επίσης να είναι προγνωστικός παράγοντας καρδιαγγειακής νόσου, δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας μετά από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ACS) και θνησιμότητας μετά από αυτήν. Η τυχαία γλυκόζη πλάσματος αξιολογεί μόνο το πραγματικό επίπεδο γλυκόζης. Τα επίπεδα 1,5-AG στο αίμα έχουν το πλεονέκτημα ότι αντανακλούν τα επίπεδα γλυκόζης τις τελευταίες 24-48 ώρες. (Buse J, 2003)



Εικόνα 4. Η δομή και τα φυσικά χαρακτηριστικά (Migala, Chalubińska-Fendler, & Zielińska, 2022)

4.2. Αδιπονεκτίνη

Η αδιπονεκτίνη είναι η πιο άφθονη πεπτιδική ορμόνη που εκκρίνεται από τα λευκά λιποκύτταρα. Από την ανακάλυψη της αδιπονεκτίνης στη δεκαετία του 1990, έγινε ευρέως αποδεκτός βιοδείκτης για ασθένειες που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως το μεταβολικό σύνδρομο, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο (ASCVD). (Turer AT, 2012) . Η αδιπονεκτίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην ευαισθησία της ινσουλίνης και στην φλεγμονή. Παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της φλεγμονής. Μελέτες έχουν δείξει ότι η αδιπονεκτίνη μειώνει τη φλεγμονή στα μακροφάγα, τον ενδοθηλιακό ιστό, τους μυς και τα επιθηλιακά κύτταρα μέσω της ενεργοποίησης της κυκλικής AMP-πρωτεϊνικής κινάσης A και της AMPK. Εμποδίζει την παραγωγή αντιδραστικών οξειδωτικών ειδών και προάγει την προς τα κάτω ρύθμιση της φλεγμονής. Επιπλέον, η αδιπονεκτίνη έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την έκκριση CRP και καταστέλλει μονοπάτια που περιλαμβάνουν σηματοδότηση NF-kB και TNF-α. Αυτές οι λειτουργίες διευκρινίζουν την αδιπονεκτίνη ως επιδεικνύοντας πιθανές προστατευτικές λειτουργίες σε φλεγμονώδεις ασθένειες όπως η αθηροσκλήρωση.

4.3. miRNAs

Τα microRNAs (miRNAs) είναι ενδογενή μικρά μη κωδικοποιητικά RNA 21-25 νουκλεοτιδίων που θα μπορούσαν να συνδεθούν σε 3' αμετάφραστη περιοχή των mRNA γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες για να ρυθμίσουν προς τα κάτω την έκφρασή τους . (D.P., 2009) Τα miRNA παίζουν σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και τη διαφοροποίηση (D.P., MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and functio, 2004) Τα miRNAs μπορούν να ανιχνευθούν στο πλάσμα και στον ορό καθώς και σε μια ποικιλία άλλων υγρών, συμπεριλαμβανομένου του σάλιου και των ούρων . Οι αλλαγές των μεμονωμένων miRNAs και των υπογραφών miRNA συνδέονται με τη διάγνωση και την πρόγνωση διαφόρων ασθενειών. (Jeyaseelan K., 2008) Αλλαγές στα κυκλοφορούντα miRNAs έχουν βρεθεί σε καρδιαγγειακές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένου του εμφράγματος του μυοκαρδίου, της στεφανιαίας νόσου (CAD) και της καρδιακής ανεπάρκειας, καθώς και σε αυτοάνοσα νοσήματα (Fichtlscherer S., 2010). Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) είναι ένας παράγοντας κινδύνου για μια ποικιλία καρδιαγγειακών παθήσεων, κυρίως μέσω μικρό- και μακρο-αγγειακών επιπλοκών (D.M., 1993) Στην πραγματικότητα, στους ασθενείς με ΣΔ2, η ΣΝ είναι μια κύρια αιτία θανάτου Η διάγνωση του ΣΔ2 καθιερώθηκε με βάση τις οδηγίες

του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) Η φυσιολογική ανοχή στη γλυκόζη ορίστηκε ως γλυκόζη νηστείας <110 mg/dL και γλυκόζη 2 ωρών <140 mg/dL. Η IGT/IFG ορίστηκε ως γλυκόζη νηστείας <126/140 mg/dL και γλυκόζη 2 ωρών <200 mg/dL). Ο ορός miR-126 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για τον προδιαβήτη και τον ΣΔ2.

Πίνακας 4-1. Αναλογίες πιθανοτήτων (95% CI) για νέο-ΣΔ2, ανά τρίμηνα κυκλοφορούντων επιπέδων miR-126. (Int J Mol Sci. , 2014)

Μεταβλητός	Τρίτες ορού miR-126 Levels		
	1 (Χαμηλότερο)	2	3 (Ψηλότερο)
Επίπεδα MiR-126	≤8,32	8,32–8,82	≥8,82
Νέοι ασθενείς με ΣΔ2/Μάρτυρες, <i>n</i> / <i>n</i>	84/46	52/46	24/46
Ακατέργαστο OR (95% CI)	3.500 (1.901–6.445)	1.615 (0.946– 2.759)	1
Προσαρμοσμένο OR (95% CI), Μοντέλο	3.825 (2.336–8.547)	1.834 (0.952– 3.014)	1

4.4. Φλεγμονώδεις δείκτες

Οι δείκτες όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και το ινωδογόνο, έχουν βρεθεί ως πιθανοί προγνωστικοί παράγοντες για την ανάπτυξη του ΣΔ2, όπως και στην Αθηροσκλήρωση. (Schmidt MI, 1999) Οι βιοχημικοί δείκτες των αντιδραστηρίων οξείας φάσης και των φλεγμονωδών κυτοκινών είναι αυξημένοι κατά την έναρξη του ΣΔ2 και μπορεί ακόμη να αυξηθούν με την εξέλιξη της νόσου. Ο προδιαβήτης χαρακτηρίζεται από έντονη φλεγμονώδη κατάσταση.

4.4.1. Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, ινωδογόνο και αιματολογικοί δείκτες

Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και το ινωδογόνο είναι επίσης δείκτες ανοσίας και φλεγμονής που μπορεί να έχουν κλινική σημασία για την εξέλιξη της νόσου και τις επιπλοκές ειδικών οργάνων στο διαβήτη. Η λευκοκυττάρωση μπορεί επίσης να προβλέψει τη στεφανιαία

νόσο. Επομένως, η έγκαιρη αναγνώριση ατόμων υψηλού κινδύνου μπορεί να αποτρέψει την εμφάνιση ή/και την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου. Ένας υψηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων έχει αποδειχθεί ότι προβλέπει την επιδείνωση της δράσης της ινσουλίνης, τη λειτουργία της έκκρισης ινσουλίνης και την ανάπτυξη ΣΔ2 στους Ινδιάνους . Το ινωδογόνο μπορεί να συμβάλλει στην αθηροσκλήρωση επηρεάζοντας το ιξώδες του αίματος, τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και το σχηματισμό ινώδους. Το ινωδογόνο ρυθμίζει επίσης την ενεργοποίηση της πήξης και την ινωδόλυση και μπορεί να ενισχύσει την εξέλιξη της πλάκας. Στη Μελέτη Υγείας του Gutenberg, τα επίπεδα ινωδογόνου ήταν υψηλότερα στον προδιαβήτη παρά στον διαβήτη, αν και ο λόγος για αυτό το εύρημα δεν είναι σαφής (Grossmann V, 2015).

4.4.2. CRP και IL-6

Η CRP προέρχεται κυρίως από ηπατική βιοσύνθεση που εξαρτάται από την IL-6 και είναι πρωταρχικός δείκτης της απόκρισης οξείας φάσης. Πολλές έρευνες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα τόσο της IL-6 όσο και της CRP μεταξύ ατόμων με ΣΔ2 Η CRP είναι ο πιο ευρέως μελετημένος δείκτης φλεγμονής στην καρδιαγγειακή νόσο και η κλινική χρήση της συνεχίζει να εξελίσσεται.

4.5. Μελλοντικές προοπτικές

Υπάρχει ζωτική ανάγκη για τον εντοπισμό πιο ευαίσθητων και ακριβών βιοδεικτών ικανών να προβλέψουν την εξέλιξη σε δυσγλυκαιμικές καταστάσεις στο πρώιμο στάδιο που η λειτουργία των β-κυττάρων είναι ακόμα σχετικά βέλτιστη και μπορεί να ανταποκρίνεται περισσότερο στην τροποποίηση του τρόπου ζωής. Ο συνδυασμός βιοδεικτών σε κλινικό περιβάλλον μπορεί να προσφέρει μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικά στην πρόβλεψη του προδιαβήτη και του διαβήτη. Επιπλέον, γενετικές μελέτες που αξιολογούν μεταλλάξεις μπορεί να παρέχουν πρόσθετη εικόνα για συσχετίσεις με μεταβολικές ανωμαλίες.

4.6. Βιοδείκτες στην διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια είναι μια από τις πιο συχνές μικροαγγειακές επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) και η κύρια αιτία τύφλωσης σε ενήλικες στις ανεπτυγμένες χώρες. Πολυάριθμες έρευνες έχουν αναγνωρίσει τη φλεγμονή και την αγγειογένεση ως σημαντικούς παράγοντες στην ανάπτυξη αυτής της επιπλοκής του διαβήτη. Οι τρέχουσες μέθοδοι θεραπείας της DR χρησιμοποιούνται κυρίως σε προχωρημένα στάδια της νόσου και

θα μπορούσαν να σχετίζονται με σοβαρές παρενέργειες. Οι βιοχημικοί βιοδείκτες είναι μόρια που βρίσκονται στο αίμα ή σε άλλο βιολογικό υγρό και ιστό που υποδηλώνουν την ύπαρξη μιας κατάστασης ή ασθένειας. Θα μπορούσαν να αποτελέσουν πολύτιμο εργαλείο για την ανίχνευση των πρώιμων σταδίων της DR, τον εντοπισμό των ασθενών που είναι πιο ευαίσθητοι στην εξέλιξη της αμφιβληστροειδοπάθειας και την παρακολούθηση της θεραπείας. Οι βιοδείκτες που σχετίζονται με το DR μπορούν να μετρηθούν στο αίμα, στον αμφιβληστροειδή, στο υαλοειδές, στο υδατοειδές υγρό και πρόσφατα στα δάκρυα. Καθώς ο αμφιβληστροειδής αντιπροσωπεύει ένα μικρό μέρος της συνολικής μάζας σώματος, ένας κυκλοφορούν βιοδείκτης για DR πρέπει να είναι εξαιρετικά συγκεκριμένος. Οι τοπικοί βιοδείκτες είναι πιο αξιόπιστοι ως δείκτες της παθολογίας του αμφιβληστροειδούς. Ωστόσο, η λήψη δείγματος υδατικού υγρού, υαλοειδούς ή αμφιβληστροειδούς είναι μια επεμβατική διαδικασία με πιθανές σοβαρές επιπλοκές. Ως μια μη επεμβατική νέα μέθοδος, η ανάλυση δακρύων προσφέρει μια πολλά υποσχόμενη κατεύθυνση για περαιτέρω έρευνα για την ανίχνευση βιοδεικτών. Υπάρχουν διάφορα στάδια της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Ο προσδιορισμός του σχετικού σταδίου εξαρτάται από την απουσία ή την παρουσία των κλινικών οφθαλμικών βιοδεικτών των αγγειακών βλαβών του αμφιβληστροειδούς, όπως μικροανευρύσματα, αιμορραγίες, μαλακά και σκληρά εξιδρώματα, οίδημα και νεοαγγείωση. Τα στάδια της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας κυμαίνονται από φυσιολογικά ή φαινομενικά φυσιολογικά σε διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υποβάθρου και ήπια, μέτρια ή σοβαρή έως πολλαπλασιαστική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (PDR), η οποία περιλαμβάνει υποβαθμίσεις, όπως αμφιβληστροειδοπάθεια που απειλεί την όραση. Η συνιστώσα του διαβητικού οιδήματος της ωχράς κηλίδας της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε στάδιο υποβάθρου ή πολλαπλασιαστικής αμφιβληστροειδοπάθειας και μπορεί να υποδιαιρεθεί σε εστιακά/κεντρικά εμπλεκόμενα, διάχυτα/μη κεντρικά εμπλεκόμενα, ισχαιμικά και κλινικά σημαντικές κατηγορίες. Σε άτομα με διαβήτη τύπου 1, η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια συνήθως δεν είναι εμφανής πριν από πέντε ή περισσότερα χρόνια μετά την έναρξη, αλλά μετά από χρόνια διαβήτη τύπου 1 το 99% έχει κάποια μορφή διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας είναι η διάρκεια της νόσου, ο ανεπαρκής γλυκαιμικός έλεγχος (υψηλά επίπεδα HbA1c) και η παρουσία υπέρτασης. Άλλοι παράγοντες κινδύνου για DR περιλαμβάνουν υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος, εφηβεία και εγκυμοσύνη, καθώς και χειρουργική επέμβαση καταρράκτη (Wong TY, 2016). Η μεταβλητότητα της γλυκόζης στο πλάσμα είναι επίσης ένας λόγος που εξηγεί τις αδυναμίες του επιπέδου HbA1c

στην πρόβλεψη της ανάπτυξης και της εξέλιξης της DR. Η εισαγωγή της συνεχούς παρακολούθησης γλυκόζης (CGM), η οποία καταγράφει το προφίλ της γλυκόζης για αρκετές ημέρες, έδωσε την ευκαιρία να αναπτυχθούν μετρήσεις γλυκαιμικού ελέγχου που παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες πέρα από αυτές που παρέχονται από το επίπεδο HbA1c. Μεταξύ των μετρήσεων που παράγονται από το CGM, ο χρόνος εντός εύρους (TIR) αναφέρεται στο χρόνο που ξοδεύει ένα άτομο εντός του εύρους γλυκόζης στόχου του (συνήθως 3,9–10,0 mmol/L), το οποίο παρέχει πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με το εάν βελτιώνεται η συχνότητα και η διάρκεια της υπογλυκαιμίας ή της υπεργλυκαιμίας, στο πέρασμα του χρόνου. Σε μια πρόσφατη μελέτη, το TIR βρέθηκε να σχετίζεται με όλα τα στάδια της DR μετά από έλεγχο για την ηλικία, το φύλο, τον ΔΜΣ, τη διάρκεια του διαβήτη, την αρτηριακή πίεση, το προφίλ λιπιδίων και το επίπεδο HbA1c. (Lu J, 2018)

4.7. Βιοδείκτες στη διαβητική νεφρική νόσος

Η διαβητική νεφρική νόσος (DKD) και η πιο σοβαρή εκδήλωσή της, η νεφρική νόσος τελικού σταδίου (ESRD), παραμένει μία από τις κύριες αιτίες μειωμένης διάρκειας ζωής σε άτομα με διαβήτη. (Livingstone SJ, 2008-2010) Ακόμη και τα πρώιμα στάδια της DKD αυξάνουν τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου (CVD) ο καλύτερος προγνωστικός παράγοντας της μελλοντικής νόσου τελικού σταδίου ESRD είναι η τρέχουσα GFR και η $eGFR$. Έτσι, ο GFR είναι ο πιο κοινός προγνωστικός βιοδείκτης που χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ESRD τόσο στην κλινική πράξη όσο και σε δοκιμές. ο $eGFR$ με βάση την κυστατίνη C ορού έχει προταθεί ως πλεονεκτικό δεδομένου ότι, σε αντίθεση με την κρεατινίνη, δεν σχετίζεται με τη μυϊκή μάζα. Οι εξισώσεις που βασίζονται στην κυστατίνη C υπερεκτίμησαν άμεσα τον GFR , ενώ οι εξισώσεις με βάση την κρεατινίνη ορού υποτίμησαν τον GFR (Stevens LA, 2008). Άλλοι βρήκαν ότι η κρεατινίνη συμφωνεί πιο στενά από την κυστατίνη C (Barr EL, 2017). Σε άτομα με και χωρίς διαβήτη, η κυστατίνη C προβλέπει τη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα και την ESRD καλύτερα από ότι το $eGFR$ Ωστόσο, αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι άλλοι παράγοντες εκτός της νεφρικής λειτουργίας που επηρεάζουν τον κίνδυνο ESRD, συμπεριλαμβανομένου του διαβήτη, μπορεί επίσης να επηρεάσουν τα επίπεδα κυστατίνης C στον ορό, παρά επειδή ο $eGFR$ με βάση την κυστατίνη C μετρά με μεγαλύτερη ακρίβεια τον ίδιο τον GFR (Stevens LA S. C., 2009) Η λευκωματουρία προβλέπει έντονα την εξέλιξη της DKD, αλλά δεν έχει ειδικότητα και ευαισθησία για ESRD και προοδευτική μείωση του $eGFR$. Στον διαβήτη τύπου 2, ένα μεγάλο ποσοστό όσων έχουν νεφρική νόσο είναι

φυσιολογική λευκωματινουρία. Έχει αποδειχθεί ότι η συνύπαρξη λευκωματουρίας καθιστά πιο πιθανή τη DKD παρά τη μη διαβητική XNN σε άτομα με διαβήτη τύπου 2 (Ekinici EI, 2013). Ωστόσο, ακόμη και στον διαβήτη τύπου 1, όπου η μη διαβητική XNN είναι πολύ λιγότερο συχνή, η λευκωματουρία αναφέρθηκε ότι έχει κακή θετική προγνωστική αξία για την DKD καθώς μόνο το ένα τρίτο περίπου των ατόμων με μικρολευκωματινουρία παρουσίασαν προοδευτική μείωση της νεφρικής λειτουργίας. Εκτός από τη λευκωματουρία και το eGFR, άλλοι παράγοντες κινδύνου που καταγράφονται συνήθως στα κλινικά αρχεία μπορούν να προβλέψουν την πτώση του GFR. Αυτά έχουν επανεξεταστεί συστηματικά και αλλού (Radcliffe NJ, 2017). Εν συντομία, οι καθιερωμένοι κλινικοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν ηλικία, διάρκεια διαβήτη, HbA_{1c}, συστολική ΑΠ (SBP), λευκωματουρία, προηγούμενο eGFR και κατάσταση αμφιβληστροειδοπάθειας. Ωστόσο, έχουν γίνει σχετικά λίγες προσπάθειες να δημιουργηθούν και να επικυρωθούν προγνωστικές εξισώσεις χρησιμοποιώντας κλινικά δεδομένα που θα αποτελέσουν τη βάση για την αξιολόγηση της *οριακής* βελτίωσης στην πρόβλεψη με βιοδείκτες.

4.8. Βιοδείκτες καρδιαγγειακών παθήσεων

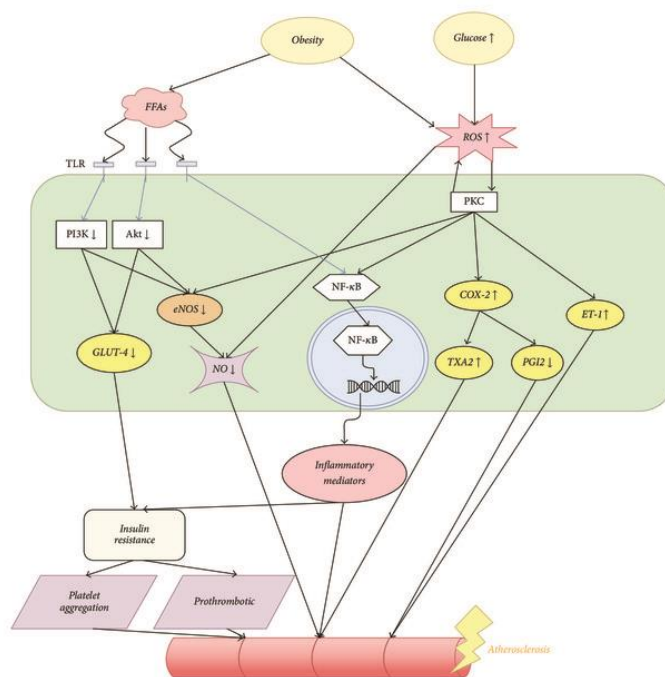
Ο διαβήτης είναι ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας παγκοσμίως και η συσχέτισή του με την καρδιαγγειακή νόσο (CVD) έχει αναφερθεί σε πολλές μελέτες. Η υπεργλυκαιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρούνται στον διαβήτη και τον προδιαβήτη οδηγούν σε αύξηση των αντιδρώντων ειδών οξυγόνου, η οποία ενεργοποιεί την ενδοκυτταρική μοριακή σηματοδότηση. Η προθρομβωτική κατάσταση που προκύπτει και η αύξηση των φλεγμονωδών μεσολαβητών επιταχύνουν τις αθηροσκληρωτικές αλλαγές καθώς και την ανάπτυξη μακροαγγειακών επιπλοκών. Τα άτομα με διαβήτη ή προδιαβήτη έχουν υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο και νόσο περιφερικής αρτηρίας. Ο διαβήτης είναι η κύρια αιτία μικροαγγειακών επιπλοκών όπως η νεφροπάθεια και η αμφιβληστροειδοπάθεια. Επίσης συνδέεται με επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) συνήθως δεν ανιχνεύεται μέχρι αργά στην πορεία της καρδιαγγειακής νόσου (CVD). Όντας η πιο κοινή αιτία θνησιμότητας στους διαβητικούς ασθενείς, είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα που ευθύνεται για το 52% των θανάτων στον ΣΔ2 και το 44% στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (ΣΔ1) (N. J. Morrish, 2001). Οι προδιαβητικές καταστάσεις, που χαρακτηρίζονται από μειωμένη γλυκόζη νηστείας (IFG) ή μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη (IGT), αποδείχθηκε ότι σχετίζονται με καρδιαγγειακή νοσηρότητα και

θησιμότητα (H. C. Gerstein, 2005). η αντίσταση στην ινσουλίνη αναπτύσσεται συνήθως χρόνια πριν η υπεργλυκαιμία γίνει κλινικά σημαντική. Η παχυσαρκία παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση της ινσουλίνης η οποία παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με ΣΔ2. Απελευθερώνοντας ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs) και φλεγμονώδεις μεσολαβητές, ο λιπώδης ιστός μεταβάλλει λιπίδια, αυξάνει την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και αυξάνει τη φλεγμονή (G. I. Shulman, 2000) Η αντίσταση στην ινσουλίνη σχετίζεται με τη μη φυσιολογική λειτουργία του μεταφορέα γλυκόζης τύπου 4 (GLUT-4), του μεταφορέα γλυκόζης με τη μεσολάβηση της ινσουλίνης που βρίσκεται κυρίως στα λιπώδη κύτταρα και στα μυϊκά κύτταρα. Όταν τα FFA δεσμεύονται σε υποδοχέα τύπου Toll (TLR), η δραστηριότητα της PI3-κινάσης (PI3K) και της Akt μειώνεται, γεγονός που μειώνει την έκφραση της GLUT-4 (J.-A. Kim, 2006), οδηγώντας σε μειωμένη απόκριση ινσουλίνης η μειωμένη δραστηριότητα PI3K και Akt οδηγεί επίσης σε αδρανοποίηση της συνθάσης του ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου (eNOS), η οποία μειώνει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) (X. Du, 2006). Η δραστηριότητα του μονοξειδίου αζώτου μειώνεται από την αυξημένη παραγωγή ROS που προκαλείται άμεσα από την παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη, λόγω της επίδρασης απενεργοποίησης του NO του ROS. Το μονοξείδιο αζώτου είναι βασικό μόριο για τη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλούν μείωση της δραστηριότητας του NO, συμβάλλοντας έτσι στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και στις αθηροσκληρωτικές αλλαγές που θα ακολουθήσουν.

4.9. Διαβητικό πόδι

Το διαβητικό πόδι είναι μια σοβαρή επιπλοκή του σακχαρώδη διαβήτη. Περιλαμβάνει λοιμώξεις, ανάπτυξη πληγών (έλκη), και καταστροφή του ιστού του ποδιού. Οι βασικές αιτίες για την εμφάνιση του διαβητικού ποδιού είναι η διαβητική νευροπάθεια όπου ο ασθενής δεν αισθάνεται και η έλλειψη καλής αιματώσεως που οφείλεται σε περιφερική αρτηριακή νόσο. Η διαβητική νευροπάθεια είναι μια επιπλοκή του διαβήτη όταν δεν είναι καλά ρυθμισμένος, όπου τα νεύρα των ποδιών που κανονικά μεταφέρουν την αίσθηση του πόνου στον εγκέφαλο παύουν να λειτουργούν σωστά με αποτέλεσμα ο ασθενής να μην καταλαβαίνει χτυπάει και ανοίγει μια πληγή. Η διαβητική νευροπάθεια οδηγεί ακόμα σε ατροφίες των μυών του ποδιού που καταλήγουν σε παραμορφώσεις της φυσιολογικής δομής του κάτω άκρου. Καταλήγει σε αλλαγές στην κατανομή του βάρους στα πόδια αυξάνοντας σημαντικά την ανάπτυξη κάλων

και πληγών (έλκων). Η περιφερική αρτηριακή νόσος είναι αποτέλεσμα της αρτηριοσκλήρωσης των αρτηριών των άκρων, δηλαδή είναι μια στένωση που προκαλείται στα αγγεία που τροφοδοτούν τα πόδια με αίμα. Αυτό οδηγεί σε έλλειψη καλής αιμάτωσης και συμβάλλει στην εμφάνιση έλκων ενώ κάνει την επούλωση πληγών πιο δύσκολη. Ο συνδυασμός νευροπάθειας και κακής κυκλοφορίας του αίματος διευκολύνουν την μόλυνση της πληγής που μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή του βαθιού ιστού του ποδιού.



Εικόνα 5. Η επίδραση της αντίστασης στην ινσουλίνη και της υπεργλυκαιμίας στην παθογένεση της καρδιαγγειακής νόσου. Η αντίσταση στην ινσουλίνη συσχετίζεται στενά με την παχυσαρκία, η οποία αυξάνει τα επίπεδα FFA και ROS, τα οποία και τα δύο συμβάλλουν σε αθηροσκληρωτικές αλλαγές και στην ανάπτυξη μακροαγγειακών επιπλοκών. Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα συμβάλλουν επίσης στην αυξημένη παραγωγή ROS, η οποία ενεργοποιεί τα PKC ενδοκυτταρικά και οδηγεί σε φλεγμονώδεις αλλαγές και αθηροσκλήρωση. FFAs: ελεύθερα λιπαρά οξέα, ROS: αντιδραστικά είδη οξυγόνου, TLR: υποδοχέας τύπου Toll, PI3K: PI3-κινάση, PKC: πρωτεϊνική κινάση C, eNOS: ενδοθηλιακή συνθάση μονοξειδίου του αζώτου, NO: μονοξείδιο του αζώτου, COX-2: κυκλοοξυγονάση-2, TXA2: θρομβοξάνη A2, : προστακυκλίνη, ET-1: ενδοθηλίνη-1

Η θρόμβωση παράλληλα με τις αθηροσκληρωτικές αλλαγές παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη μακροαγγειακών επιπλοκών στο διαβήτη. Φυσιολογικά η ινσουλίνη αναστέλλει τη θρόμβωση και αυξάνει την ινωδόλυση και η αντίσταση στην ινσουλίνη δημιουργεί μια προθρομβωτική κατάσταση (A. Chaudhuri, 2004). Η έλλειψη ινσουλίνης έχει επίσης ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση ασβεστίου στα αιμοπετάλια, η οποία ενισχύει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων συμβάλλοντας περαιτέρω στην ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου. Ο διαβήτης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου (CHD). Σε ασθενείς χωρίς προηγούμενο ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου (MI), ο κίνδυνος εμφράγματος

είναι 20,2% και 3,5% για τους διαβητικούς έναντι των μη διαβητικών, αντίστοιχα. Εκτός από CHD, ο διαβήτης αυξάνει επίσης τον κίνδυνο του εγκεφαλικού. Ο διαβήτης συσχετίζεται επίσης με χειρότερη έκβαση και μεγαλύτερη αναπηρία μετά από εγκεφαλικό. Μεταξύ των ασθενών με οξύ εγκεφαλικό επεισόδιο, ο διαβήτης συσχετίστηκε με υψηλότερο κίνδυνο θανάτου ή λειτουργικής εξάρτησης. Η υποτροπή του εγκεφαλικού επηρεάζεται επίσης από τον διαβήτη.

5. Τεχνικές προσδιορισμού βιοδεικτών του Διαβήτη

Τόσο ο διαβήτης τύπου 1 όσο και ο διαβήτης τύπου 2 αν και έχουν το ίδιο αποτέλεσμα που είναι το αυξημένο σάκχαρο στο αίμα, είναι διαφορετικές ασθένειες, με εντελώς διαφορετικούς μηχανισμούς παθοφυσιολογίας. Η ηλικία αυξάνεται σε παγκόσμιο επίπεδο και νέοι άνθρωποι εμφανίζουν διαβήτη. Η παρακολούθηση της νόσου και οι επιπλοκές στηρίζονται σε εργαστηριακές εξετάσεις. Οι βιοδείκτες έπαιζαν πάντα σημαντικό ρόλο σε κάθε στάδιο του διαβήτη. Ιδανικά ένας βιοδείκτης παρέχει πληροφορίες για την υποκείμενη φυσιολογία, αν και αυτό δεν είναι απόλυτο. (Pencina MJ, 2012)

5.1. HbA1c

Η γλυκοζηλιωμένη αιμοσφαιρίνη χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του επιπέδου ελέγχου της γλυκόζης στο άτομο. Τα άτομα με διαβήτη πρέπει να ελέγχουν το A1c ώστε να βλέπουν αν βρίσκονται μέσα σε φυσιολογικά επίπεδα. Η HbA1c θα πρέπει να ελέγχεται δύο φορές το χρόνο σε ασθενείς που είναι σταθεροί και κάθε 3 μήνες σε ασθενείς με αλλαγές στα φάρμακά τους. (American Diabetes Association. 6. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes-2021., 2021) Η HbA1c είναι ένας χρήσιμος βιοδείκτης για τον γλυκαιμικό έλεγχο καθώς και ένας καλός προγνωστικός δείκτης του λιπιδιικού προφίλ. Η χρήση HbA1c και η παρακολούθηση του γλυκαιμικού ελέγχου θα μπορούσε να έχει πρόσθετα οφέλη στον εντοπισμό ασθενών με διαβήτη που διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο καρδιαγγειακών επιπλοκών. Η διάγνωση και η αξιολόγηση του διαβήτη με τη χρήση HbA1c έχει πολλά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβάνεται η υψηλή ακρίβεια του γλυκαιμικού ελέγχου για μια χρονική περίοδο. Οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση των γλυκοζηλιωμένων πρωτεϊνών είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η ανοσοδοκιμασία και η ηλεκτροφόρηση. Η HbA1c είναι ένας από τους σημαντικότερους διαγνωστικούς παράγοντες για τον διαβήτη. Ωστόσο, ορισμένες αναφορές δείχνουν ότι η HbA1c δεν είναι κατάλληλος δείκτης για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού ελέγχου σε όλους τους διαβητικούς ασθενείς. Το GA, το οποίο δεν επηρεάζεται από αλλαγές στη διάρκεια ζωής των ερυθροκυττάρων, θεωρείται ότι είναι ένας καλός εναλλακτικός δείκτης γλυκαιμικού ελέγχου σε διαβητικούς ασθενείς.

5.1.1. Εργαστηριακή μέθοδος γλυκόζης

Η μέθοδος γλυκόζης αποτελεί τον κυριότερο υδατάνθρακα στο αίμα και προέρχεται από τις τροφές. Η διατήρηση της γλυκόζης στο αίμα ελέγχεται από την ινσουλίνη και την γλυκαγόνη. Ένα ελάττωμα στην έκκριση ινσουλίνης, στη δράση της ινσουλίνης ή και στα δυο έχει σαν αποτέλεσμα μια εξασθενημένη ανοχή στη γλυκόζη όπου προκαλεί υπεργλυκαιμία που εξελίσσεται σε σακχαρώδη διαβήτη. Έτσι μια απλή, γρήγορη και οικονομική μέθοδος για τον προσδιορισμό των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα είναι χρήσιμη. Ειδικά στη διαχείριση του διαβήτη. Η χρωματομετρική μέθοδος σε συνδυασμό με μια ενζυμική μέθοδος είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη για τον προσδιορισμό της γλυκόζης στον ορό του αίματος. Η εκτίμηση της γλυκόζης με το ένζυμο οξειδάσης της γλυκόζης δίνει την ακριβή συγκέντρωση της γλυκόζης. Χάρη στην υψηλή εξειδίκευση και ευαισθησία. Η Οξειδάση της γλυκόζης καταλύει την οξείδωση της β-D-γλυκόζης σε D-γλυκοζο-d-λακτόζη και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τα υλικά που χρειαζόμαστε που είναι: Δείγμα αίματος με αντιπηκτικό EDTA, αντιδραστήριο που περιέχει το ένζυμο οξειδάσης της γλυκόζης, υδροξείδιο του Νατρίου συγκέντρωσης 2N, αντιδραστήριο θεικού νατρίου και θεικού ψευδαργύρου, πρότυπο διάλυμα γλυκόζης σε συγκέντρωση 200mg/dl, απεσταγμένο νερό, δοκιμαστικούς σωλήνες, στατώ, πιπετες, σωληνάρια Eppendorf, γυάλινη πιπέτα των 5 ml και πουαράκια.

5.1.2. Τεχνική

- I. Μεταφέρουμε 900 μ L αντιδραστήριο θεικού νατρίου -θεικού ψευδαργύρου σ έναν σωλήνα συγκέντρωσης 1,5ml το οποίο αναγράφεται σαν κοντρόλ.
- II. Στη συνέχεια μεταφέρουμε 50 μ l υδροξείδιο του νατρίου και 50 μ l και 50 μ L δείγματος αίματος στον ίδιο σωλήνα.
- III. Φυγοκεντρούμε το δείγμα μας στις 3.000 στροφές για 5 λεπτά.
- IV. Αφού τελειώσει η φυγοκέντρωση βγάζουμε το σωληνάριο και μεταφέρουμε προσεκτικά 500 μ l από το υπερκείμενο στον δοκιμαστικό σωλήνα που ονομάσαμε κοντρόλ.
- V. Μεταφέρουμε 125 μ l από το πρότυπο σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα όπου γράψαμε 50 mg/dl, το ίδιο θα κάνουμε κ σε ένα άλλο σωληνάριο όπου θα μεταφέρουμε 250 μ l του προτύπου διαλύματος γλυκόζης και γράφουμε 100mg/dl. Στο τρίτο δοκιμαστικό σωλήνα θα μεταφέρουμε 375 mg/dl του προτύπου διαλύματος γλυκόζης που πάνω σ αυτό θα αναγράφεται 150mg/dl. 500 μ L του προτύπου διαλύματος γλυκόζης στο τέταρτο δοκιμαστικό σωλήνα που γράψαμε 200mg/dl.

- VI. Αλλάζουμε ρύγχος στην πιπέτα και μεταφέρουμε 500 μl απεσταγμένο νερό σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα που είναι το 'τυφλό' με το ίδιο τρόπο προσθέτουμε 375 μl απεσταγμένο νερό στον πρώτο 250μL στον δεύτερο 125μl στον δοκιμαστικό σωλήνα.
- VII. Στη συνέχεια τοποθετούμε το πουάρ στη γυάλινη πιπέτα και μεταφέρουμε 5ml αντιδραστήριο οξειδάσης της γλυκόζης σε όλους του δοκιμαστικούς σωλήνες.
- VIII. Καλύπτουμε τους σωλήνες με αλουμινόχαρτο και τους τοποθετούμε στο υδατόλουτρο για μια ώρα στους 37 βαθμούς κελσίου.
- IX. Αφού περάσει η μια ώρα βγάζουμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες από το υδατόλουτρο και μεταφέρουμε το τυφλό διάλυμα στην κυββέτα στην σχισμή του χρωματόμετρου και ορίζουμε την τιμή 0.
- X. Στη συνέχεια μεταφέρουμε 50 μL από το διάλυμα του πρώτου δοκιμαστικού σωλήνα εισάγουμε την κυββέτα στην σχισμή του χρωματόμετρου και σημειώνουμε την ένδειξη αφαιρούμε την κυββέτα από την σχισμή. Παρομοίως σημειώνουμε την ένδειξη των 100mg/dl και 200mg/dl και του κοντρόλ.
- XI. Τέλος θα κάνουμε μια γραφική παράσταση λαμβάνοντας την τυπική συγκέντρωση της γλυκόζης στον άξονα X και την απορρόφηση στον άξονα Ψ. Από αυτό το γράφημα μπορεί να ληφθεί ο αριθμός συγκέντρωσης της γλυκόζης στο διάλυμα ελέγχου.

5.2. Κλινικές εξετάσεις ούρων

Το δείγμα ούρων είναι ένα σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο άμεσο και γρήγορο χωρίς πόνο. Τα ούρα ενός υγιούς ατόμου περιέχουν έως και 150 mg πρωτεΐνης συνολικά όλη την ημέρα, από τα οποία περίπου 20 mg είναι αλβουμίνη ανθρώπινου ορού(λευκωματίνη) (A.S.A. Naderi, 2008). Η απέκκριση λευκωματίνης 30–300 mg την ημέρα, η οποία ονομάζεται μικρολευκωματινουρία, είναι ένας πρώιμος και ευαίσθητος δείκτης διαβητικής νεφροπάθειας (G.C. Viberti, 1982), καρδιαγγειακής και νεφρικής νόσου (H.J. Lambers Heerspink, 2006) Η συγκέντρωση 15–30 mg/L λευκωματίνης είναι μια τιμή που θα μπορούσε να υποδεικνύει προβλήματα στα νεφρά όταν ξεπερνιέται συστηματικά. Η ανάλυση των ούρων γίνεται με τρεις τρόπους όπως η φυσική με το μάτι βλέπουμε χρώμα, οσμή, χροιά και ειδικό βάρος. Στο μικροσκόπιο όπου παίρνουμε πληροφορίες από τους τύπους των κυττάρων κατά οπτικό πεδίο. Τέλος έχουμε ποσοτική και ποιοτική ανάλυση του Ph, κετόνες, χολερυθρίνη, ουροχολινογόνο, ασκορβικό οξύ.

5.3. Τεχνικές Διαχωρισμού

I) Ηλεκτροφόρηση

Η ηλεκτροφόρηση διαχωρίζει φορτισμένα σωματίδια (μακρομόρια, όπως πρωτεΐνες) σε ένα ρευστό χρησιμοποιώντας ένα πεδίο ηλεκτρικού φορτίου. Τα σωματίδια μπορούν να διαχωριστούν με βάση το φορτίο ή τη μάζα τους. Χρησιμοποιείται συνήθως για ανάλυση πρωτεϊνών, πεπτιδίων και νουκλεϊκών οξέων. Είναι μέθοδος που χρησιμοποιείται σε ένα σύγχρονο ερευνητικό εργαστήριο, αλλά όχι τόσο σε ένα κλινικό εργαστήριο.

II) Χρωματογραφία

Στην Χρωματογραφία έχουμε την κινητή φάση το δείγμα διαλύεται σε ένα ρευστό όπου συγκρατεί ένα άλλο υλικό όπου είναι η στατική φάση. Τα συστατικά του μείγματος ταξιδεύουν με διαφορετικές ταχύτητες ώστε να προκαλέσουν τον διαχωρισμό διαφόρων συστατικών και των δύο φάσεων. Ανάλογα με τις μεθόδους κινητής φάσης στη χρωματογραφία μπορούν να ταξινομηθούν ως αέρια-χρωματογραφία (GC) (F. Rigano, 2019) και υγρή χρωματογραφία (LC) Στην πορεία μπορούν να αναλυθούν με διάφορες τεχνικές, όπως φασματοσκοπία μάζας, φασματοσκοπία UV, ανίχνευση φθορισμού.

5.4. Τεχνικές ανίχνευσης

I) Φασματομετρία μάζας

Η φασματομετρία μάζας είναι μια ισχυρή αναλυτική τεχνική που μετράει την αναλογία μάζας προς φορτίο ιόντων. Στο δείγμα τα μόρια πρέπει να ιονίζονται, γεγονός που προκαλεί τον κατακερματισμό ενός μεγάλου μορίου σε μικρότερα ιόντα. Επομένως αυτά τα ιόντα διαχωρίζονται σε αναλογία μάζας προς φορτίο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με διάγραμμα έντασης ως συνάρτηση μάζας προς φορτίο. Συνήθως, η φασματομετρία μάζας χρησιμοποιείται μετά από προεργασία του δείγματος με ηλεκτροφόρηση ή χρωματογραφία. Η γραφική παράσταση έντασης ως συνάρτηση της αναλογίας μάζας προς φορτίο, θα μπορούσε να είναι μια πρόκληση από μόνη της, ειδικά για μεγάλα μόρια όπως οι πρωτεΐνες, καθώς μπορούν να χωριστούν σε πολλά θραύσματα με αποτέλεσμα ένα φάσμα που είναι πολύπλοκο. Συνήθως, το φάσμα μάζας συγκρίνεται από λογισμικό με την υπάρχουσα βάση δεδομένων. Η φασματομετρία μάζας από μόνη της δεν επιτρέπει ποσοτική ανάλυση λόγω των

διαφορετικών φυσικοχημικών ιδιοτήτων διαφορετικών πεπτιδίων και πρωτεϊνών (Urban, 2016). Η φασματομετρία μάζας σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την ανακάλυψη και την ανάλυση βιοδεικτών ασθενειών από δείγματα βιορευστού, η οποία περιλαμβάνει επίσης πρωτεϊνική μελέτη ούρων.

II) Ανοσοδοκιμασία

Η ανοσοδοκιμασία είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται σε κλινικά και ερευνητικά εργαστήρια για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό μακρομορίων συνήθως πρωτεϊνών που παράγονται από οργανισμούς (K.M. Slagle, 1996). Η ανοσοδοκιμασία βασίζεται σε μια αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος, το οποίο βρίσκεται στο προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου (A.B. Kapingidza, 2020). Η αντίδραση πραγματοποιείται in-vitro (όχι σε ζωντανό οργανισμό) και το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός ενός πολύπλοκου αντισώματος-αντιγόνου που σχηματίζεται από χωρικά συμπληρωματικά, επομένως τέτοιες αλληλεπιδράσεις είναι εξαιρετικά επιλεκτικές. Τα σύμπλοκα αντισώματος-αντιγόνου από ηλεκτροστατικές δυνάμεις, δεσμούς υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και δυνάμεις van der Waals_ πράγμα που σημαίνει ότι τέτοιες δεσμεύσεις είναι αναστρέψιμες. Το συγκεκριμένο κομμάτι του αντιγόνου στο οποίο συνδέεται ένα αντίσωμα ονομάζεται επίτοπος. Συνήθως η αναλυόμενη ουσία είναι το αντιγόνο ενώ το αντιδραστήριο είναι το αντίσωμα. Οι μέθοδοι ανοσοπροσδιορισμού έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πολλούς τομείς της φαρμακευτικής ανάλυσης, όπως η διάγνωση ασθενειών, η παρακολούθηση θεραπευτικών φαρμάκων, η κλινική φαρμακοκινητική και οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας στην ανακάλυψη φαρμάκων και στις φαρμακευτικές βιομηχανίες. Οι συμβατικές ανοσοχημικές δοκιμές λευκωματίνης ούρων για διαβητικούς ασθενείς καθώς και μη διαβητικούς ασθενείς με νεφρική νόσο, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που μπορεί να πάσχουν από υπέρταση και καρδιαγγειακή νόσο, ανέρχονται πλέον σε 100 εκατομμύρια δοκιμές ετησίως παγκοσμίως από το 2004. Οι ευρέως διαδεδομένες μέθοδοι ανοσοδοκιμασίας στη φαρμακευτική ανάλυση αποδίδονται στην εγγενή τους ειδικότητα, υψηλή απόδοση και υψηλή ευαισθησία για την ανάλυση ενός ευρέος φάσματος αναλυτών σε βιολογικά δείγματα καθώς και στο σχετικά χαμηλό κόστος των οργάνων, των εργαλείων ή των αντιδραστηρίων.

5.5. Τεχνικές προσδιορισμού MiRNA

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές ανάλυσης miRNA, και οι δύο έχουν το πλεονέκτημα της υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας είναι η qPCR, συμπεριλαμβανομένης

της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης ανάστροφης μεταγραφάσης στελέχους-βρόχου (RT-qPCR) και RT-qPCR με ουρά. Δυστυχώς, αυτές οι τεχνικές είναι πολύπλοκες και απαιτούν ειδικές εργαστηριακές δεξιότητες. Επιπλέον, μπορεί να δημιουργηθούν ψευδώς θετικά κατά τη διαδικασία ενίσχυσης. Μέθοδοι ποσοτικοποίησης και απεικόνισης της ανώμαλης έκφρασης miRNA απαιτούνται επειγόντως για την έγκαιρη κλινική διάγνωση. .Στις παραδοσιακές μεθόδους, το Northern blotting θεωρείται ως το πρότυπο χρυσού, αν και είναι ελάχιστα ευαίσθητο σε επίπεδο νανομορίων, χρονοβόρο και απαιτεί μεγάλο αριθμό δειγμάτων RNA. Η τεχνική που βασίζεται σε μικροσυστοιχίες έχει το πλεονέκτημα της υψηλής απόδοσης και της ικανότητας πολυπλεξίας, αλλά η χαμηλή ευαισθησία και ο μεγάλος χρόνος υβριδισμού περιορίζουν τις εφαρμογές της.

5.5.1. Στύπωμα Northern

Για την ανίχνευση η πιο συχνή μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η Northern blotting. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί όχι μόνο για την ανίχνευση ώριμων miRNAs, αλλά και των προδρόμου του. Δεν χρειάζεται εξειδικευμένο εξοπλισμό. miRNA μπορούν να ανιχνευθούν με στύπωμα Northern, αλλά έχει επίσης πολλές ελλείψεις, όπως ημιποσοτική, χαμηλή απόδοση, δυσκίνητη, χρονοβόρα και εύκολη αποικοδόμηση του RNA. Το στύπωμα Northern έχει χαμηλή ευαισθησία, με την οποία δεν μπορούν να ανιχνευθούν RNA χαμηλού μοριακού βάρους. Ειδικοί ανιχνευτές που έχουν σημανθεί με ραδιοϊσότοπα θα βοηθήσουν στην αύξηση της ευαισθησίας αλλά θα αυξήσουν τον κίνδυνο της αντίδρασης ταυτόχρονα.

5.5.2. Μικροσυστοιχία

Η Μικροσυστοιχία είναι η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την ταχεία και υψηλή απόδοση ανίχνευσης των miRNAs (G.A. Calin, 2006). Σ' αυτή τη μέθοδο, το δείγμα RNA παράγεται με αντίστροφη μεταγραφή χρησιμοποιώντας έναν επισημασμένο ανιχνευτή και αυτά τα φθοροφόρα ή τα επισημασμένα με βιοτίνη cDNA ανιχνεύονται χρησιμοποιώντας ολιγονουκλεοτίδια στερεάς φάσης που έχουν την ίδια αλληλουχία με το miRNA στόχο. Η ένταση φθορισμού κάθε φρεατίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του επιπέδου έκφρασης των miRNAs. Αν και η μέθοδος αυτή μπορεί να αναλύσει χιλιάδες δείγματα την ημέρα, το κόστος είναι πολύ υψηλό. (KA Cissell, 2009) Τα πολύ μικρά miRNA

και το miRNA με χαμηλό αριθμό αντιγράφων δεν μπορούν να ανιχνευθούν και η ανάλυση του miRNA με παρόμοιες αλληλουχίες δεν είναι τόσο καλή.

5.5.3. In-situ υβριδισμός

Ο φθορίζων in situ υβριδισμός (FISH), η ανάλυση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών (CMA) και η κυτταρογενετική ανάλυση (καρυότυπος) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση μεγάλων μεταλλάξεων όπως διαγραφές γονιδίων ολόκληρης και μεγάλης κλίμακας, διπλασιασμός ή αναδιατάξεις. Ο συμβατικός καρυότυπος εντοπίζει αναδιατάξεις πάνω από 5 μεγαβάσεις DNA (Mahdiah N, 2013). Το FISH έχει ανάλυση 100 kilobases έως 1 megabase. Μικρές αλλοιώσεις, όπως αντικαταστάσεις μονής βάσης, εισαγωγές και διαγραφές, είναι ανιχνεύσιμες με πολυμορφισμό διαμόρφωσης ενός κλώνου (SSCP) και ανάλυση αλληλουχίας μέσω αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS). Το NGS χρησιμοποιεί γονιδιωματικό DNA (gDNA) ή συμπληρωματικό DNA (cDNA) και έχει 3 τρόπους: ολόκληρο γονιδιωματικό DNA, στοχευμένη και αλληλούχιση εξωμίων.

5.6. Τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος

Οι τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της ευαισθησίας των μεθόδων ανίχνευσης miRNA. Απαιτούνται τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων για τη χαμηλή περιεκτικότητα σε miRNA σε ιστούς και κύτταρα. Έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές μέθοδοι ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων όπως η αντίδραση εκθετικής ενίσχυσης (EXPAR), η μετατόπιση κλώνου ενίσχυση (SDA), η ενίσχυση κυλιόμενου κύκλου (RCA), η ενίσχυση με ειδική νουκλεάση διπλής όψης (DSN), και ορισμένες ενισχύσεις χωρίς ένζυμα.

5.7. MicroRNA ως βιοδείκτες και διαβητικές επιπλοκές

Τα miRNAs παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων είναι μη κωδικοποιητικά RNA περίπου 20-22 νουκλεοτιδίων ρυθμίζουν αρκετές βασικές κυτταρικές λειτουργίες (Zamore PD, 2005). Παρόλο που τα miRNA είναι σχετικά σταθερά και ποσοτικοποιούνται εύκολα στο πλάσμα και στα ούρα χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες για την έγκαιρη ανίχνευση διαβητικών επιπλοκών. Πρόσφατες αναφορές έδειξαν ότι τα

κυκλοφορούντα miRNA στο αίμα μπορεί να είναι ευαίσθητοι βιοδείκτες για καρκίνο, τραυματισμό ιστών και καρδιακή ανεπάρκεια (Tijssen AJ, 2010) Τα επίπεδα miRNA έχουν μελετηθεί στο ίζημα των ούρων ασθενών με IgA νεφροπάθεια. Τα επίπεδα miRNA που κυκλοφορούν αξιολογήθηκαν επίσης σε χρόνιες νεφρικές παθήσεις (Neal CS, 2011). Επιπλέον, δεδομένου ότι υπάρχουν αναφορές για αλλαγές σε miRNAs όπως miR-1, miR-133, miR-125b, miR-200b, miR-206, miR-503 σε μοντέλα διαβητικών καρδιαγγειακών και καρδιακών παθήσεων, miR-146 και miR-29b σε DR και miR-192, miR-200b/c, miR-216a, miR-217, miR-29b/c, miR-377 σε DN, όπως φαίνεται στο σχήμα παρακάτω, αυτά τα miRNA μπορεί ενδεχομένως να αξίζει να εξεταστούν ως βιοδείκτες για την ανίχνευση πρώιμων σταδίων των σχετικών διαβητικών επιπλοκών. Είναι πιθανό ότι τα miRNA των νεφρών, των αγγείων και των κυττάρων του αίματος μπορούν να ανιχνευθούν σε δείγματα ούρων και ορού λόγω διαφόρων μηχανισμών μεταφοράς. Το μέλλον υπόσχεται πολλά για την αξιολόγηση των κυκλοφορούντων miRNAs διαγνωστικούς βιοδείκτες των διαβητικών επιπλοκών.

Πίνακας 5.7-1. miRNAs που εμπλέκονται σε διαβητικές επιπλοκές EC, ενδοθηλιακά κύτταρα; HUVEC, ενδοθηλιακά κύτταρα ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας. VSMC, αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. STZ, στρεπτοζοτοκίνη; MVEC, μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα. MMVEC, MVEC του μυοκαρδίου; HMVEC, ανθρώπινο MVEC; MC, μεσαγγειακά κύτταρα; PTEC, εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα. (Res, 2012)

miRNAs σε επιπλοκές	Στόχοι	Τύποι κυττάρων & ζωικά μοντέλα	Έκφραση	Αναφ.
Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια				
miR-29b	Rax	STZ αρουραίος	Αυξάνουν	
miR-146	Irak1, Traf6	Αρουραίος STZ, Retinal EC	Αυξάνουν	
miR-146a	Φιμπρονεκτίνη	Αρουραίος STZ, ποντίκια db/db, HUVEC	Μείωση	
miR-200b	VEGF	Αρουραίος STZ, HUVEC	Μείωση	
Διαβητική νεφροπάθεια				
miR-21	Pten	Ποντίκια OVE26	Αυξάνουν	
miR-21	Pten	db/db ποντίκια, MC	Μείωση	
miR-25	Nox4	STZ αρουραίος, MC	Μείωση	
miR-29c	Spry1	db/db ποντίκια, EC, ποδοκύτταρα	Αυξάνουν	
miR-29	Κολλαγόνα	ApoE ^{-/-} ποντίκια, PTEC	Μείωση	

miRNAs σε επιλοκές	Στόχοι	Τύποι κυττάρων & ζωικά μοντέλα	Έκφραση	Αναφ.
miR-93	Vegf	Ποντίκια STZ, ποντίκια db/db, EC, ποδοκύτταρα	Αυξάνουν	
miR-192	Zeb1/2	Ποντίκια STZ, ποντίκια db/db, MC	Αυξάνουν	
miR-192	Zeb1/2	ΑpoE ^{-/-} ποντίκια, PTEC	Μείωση	
miR-200a	Tgfb2	ΑpoE ^{-/-} ποντίκια, PTEC	Μείωση	
miR-200b/c	Zeb1	Ποντίκια STZ, ποντίκια db/db, MC	Αυξάνουν	
miR-216a	Ybx1	Ποντίκια STZ, ποντίκια db/db, MC	Αυξάνουν	
miR-216a/217	Pten	Ποντίκια STZ, ποντίκια db/db, MC	αυξάνουν	
miR-377	Pak1, Sod1/2	Ποντίκια STZ, MC	Αυξάνουν	
Καρδιαγγειακές παθήσεις				
miR-1	Pim1	Ποντίκια STZ, Καρδιομυοκύτταρα	Αυξάνουν	
miR-1, miR-206	Hsp60	STZ αρουραίος, Καρδιομυοκύτταρα	Αυξάνουν	
miR-16	Cox-2	μονοκύτταρα THP-1	Μείωση	
miR-125b	Suv39h1	ποντίκια db/db, VSMC	Αυξάνουν	
miR-133	Rho-A, Cdc42	Καρδιακή υπερτροφία	Μείωση	
miR-133a	Mef2A/C, Sgk1, Igf1R	Ποντίκια STZ	Μείωση	
miR-200b	Zeb1	ποντίκια db/db, VSMC	Αυξάνουν	
miR-320	Igf-1	Αρουραίος GK, MMVEC	Αυξάνουν	
miR-373	Mef2C	Ποντίκια STZ, καρδιομυοκύτταρα	Μείωση	
miR-503	CCne1, Cdc25A	Ποντίκια STZ, HUVEC, HMVEC	Αυξάνουν	

5.8. Η Αξιοπιστία των miRNAs

Για την αξιοπιστία των miRNAs πρέπει να αντιμετωπιστούν πολλά ζητήματα. Πρώτον, ο ρόλος των κυκλοφορούντων miRNAs στην παθολογία των ασθενειών απαιτεί μελέτη. Δεύτερον, η έλλειψη τυποποιημένων διαδικασιών, π.χ. για την απομόνωση RNA, τις παρασκευές δειγμάτων οδηγεί σε δύσκολη σύγκριση δεδομένων μεταξύ μελετών, επομένως είναι απαραίτητο να καθοριστούν οι διαδικασίες αναφοράς για τη μέτρηση των κυκλοφορούντων miRNAs. Τρίτον, η πλήρης κατανόηση της βιοσύνθεσης miRNA και των οδών εξωκυτταρικής διακίνησης είναι επείγουσα για την κατανόηση της προέλευσης των miRNA σε υγιή άτομα και ασθενείς καθώς και για την αξιολόγηση μεταξύ των κυκλοφορούντων miRNA και των καθιερωμένων δεικτών για την έγκαιρη ανίχνευση της νόσου. Αν και το δυναμικό της θεραπείας που βασίζεται σε miRNA είναι συναρπαστικό, πρέπει να αντιμετωπιστούν πολλά. Η διερεύνηση των γονιδίων-στόχων του microRNA και των λειτουργιών του είναι ζωτικής σημασίας για την περιγραφή των θεραπειών που βασίζονται σε miRNA σε διαφορετικές ανθρώπινες παθολογίες. Η ανάπτυξη μιμητών miRNA και αναστολέων miRNA είναι μια καλή επιλογή είτε για λειτουργική ανάκτηση είτε για ανταγωνισμό των ενδογενών miRNA. Επιπλέον, πολλές τροποποιήσεις βρίσκονται υπό διερεύνηση για την αύξηση της σταθερότητας των μιμητών ή των αναστολέων miRNA κατά τη διάρκεια της παράδοσης. Αυτά τα προβλήματα πρέπει να επιλυθούν για αποτελεσματική μελλοντική εφαρμογή θεραπειών που βασίζονται σε miRNA. Η εξερεύνηση των miRNAs έχει ξεκινήσει μια νέα προοπτική για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μετά τη μεταγραφή. Τα κυκλοφορούντα miRNAs έχουν τεράστιες προοπτικές χρήσης ως βιοδείκτες για διάγνωση και πρόγνωση.

6. Αντιμετώπιση-Ρύθμιση Διαβήτη

Η ρύθμιση του διαβήτη παίρνει αρκετό καιρό μετά την διάγνωση, ό τρόπος ζωής αλλάζει και μπαίνουν νέες βάσεις. Η καθιστική ζωή είναι μια αρνητική συνέπεια για τον οργανισμό και η ενημέρωση είναι πολύ σημαντική μετά την διάγνωση του διαβήτη όπως και οι επιπλοκές ανεξάρτητα τον τύπο του διαβήτη.

6.1. Άσκηση-Καθιστική ζωή

Στη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2 η άσκηση παίζει σημαντικό ρόλο ενώ για τον διαβήτη τύπου 1 η άσκηση μπορεί να μειώσει τις επιπλοκές που σχετίζονται με τον διαβήτη. Η απώλεια βάρους είναι σημαντική για την πρόληψη του T2D. . Θεωρητικά, η αύξηση της σωματικής δραστηριότητας μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο, το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια βάρους εάν η διατροφή παραμείνει αμετάβλητη. Η σωματική δραστηριότητα μπορεί επίσης να οδηγήσει σε βελτίωση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Όσον αφορά την υπέρταση, υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της αρτηριακής πίεσης και του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας, με μεγαλύτερες αποκρίσεις να σημειώνονται σε άτομα με υπέρταση/προ-υπέρταση σε σύγκριση με άτομα με φυσιολογική αρτηριακή πίεση. Η άσκηση μπορεί να αυξήσει τη διάθεση της γλυκόζης και να βελτιώσει τη δράση της ινσουλίνης, και έτσι μπορεί να είναι ένα εργαλείο που βοηθά στη ρύθμιση της γλυκόζης. Η μυϊκή σύσπαση και η μεσολαβούμενη από συστολή ροή αίματος των σκελετικών μυών οδηγεί σε πρόσληψη γλυκόζης μέσω ινσουλινοεξαρτώμενων και ανεξάρτητων μηχανισμών. Η άσκηση αυξάνει την έκφραση του GLUT4 των σκελετικών μυών και αυξάνει τη σηματοδότηση των υποδοχέων ινσουλίνης και την οξειδωτική ικανότητα που βελτιστοποιεί τη δράση της ινσουλίνης και την οξείδωση και αποθήκευση της γλυκόζης. Σε ασθενείς με T1D, η άσκηση έχει αποδειχθεί ότι έχει πολλαπλά οφέλη και βελτιώνει τον συνολικό γλυκαιμικό έλεγχο (Chimen M, 2012). Η άσκηση αυξάνει τη φυσική κατάσταση σε ασθενείς με T1D και σε μια μελέτη, η VO_{2max} αυξήθηκε κατά 27% μετά από 4 μήνες συμμετοχής σε ένα πρόγραμμα άσκησης με ποδήλατο (Fuchsjaeger-Mayrl G, 2002). Οι απαιτήσεις σε ινσουλίνη μειώνονται με την άσκηση σε ασθενείς με T1D, με οπουδήποτε από 6% έως 18% μείωση της ημερήσιας δόσης ινσουλίνης (Ramalho AC, 2006) .

6.2. Φαρμακευτική αγωγή – ινσουλίνη

Με την βοήθεια της φαρμακευτικής αγωγής οι ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 έφτασαν τα φυσιολογικά επίπεδα HbA1c κατά 2 με 3 φορές κάτω από 7 τοις εκατό. Η υπογλυκαιμία είναι ένας παράγοντας που πρέπει να λαμβάνουν υπόψη για την φαρμακευτική αγωγή. Η καθιστική ζωή σε συνδυασμό με λήψη τροφής είναι η κύρια αιτία του διαβήτη τύπου 2 και αυτά τα χαρακτηριστικά αν ληφθούν σοβαρά υπόψη θα έχουν μειωμένο κίνδυνο εκδήλωσης να εμφανίσουν σοβαρές παρενέργειες. Η ινσουλίνη σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 είναι η κύρια θεραπεία κυρίως ενέσιμη. Ενώ στον διαβήτη τύπου 2 η ινσουλίνη χρησιμοποιείται μόνη της ή με ένα σύνολο φαρμάκων.

6.2.1. Μετφορμίνη

Η μετφορμίνη μειώνει άμεσα ή έμμεσα στο ήπαρ την παραγωγή γλυκόζης και δρα στο έντερο για να αυξήσει τη χρήση της γλυκόζης, το GLP-1 και να αλλάξει το μικροβίωμα. Σε μοριακό επίπεδο, η μετφορμίνη αναστέλλει τη μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα στο ήπαρ, οδηγώντας σε ενεργοποίηση της AMPK, ενισχύοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω επιδράσεων στον μεταβολισμό του λίπους και μειώνοντας το cAMP, μειώνοντας έτσι την έκφραση των γλυκονεογόνων ενζύμων. (Proks, Reimann, Green, Gribble, & Ashcroft, 2002) Η μετφορμίνη είναι ένα αντιδιαβητικό φάρμακο ανήκει στην κατηγορία των διγουανιδών και είναι φάρμακο πρώτης εκλογής για τη θεραπεία των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Είναι ασφαλές φάρμακο με πολλαπλές φυσιολογικές και μοριακές επιδράσεις συνοδευόμενες με ελάχιστη τοξικότητα. μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μονοθεραπεία και σε θεραπεία συνδυασμό με άλλα από του στόματος αντιδιαβητικά φάρμακα και την ινσουλίνη.

6.2.2. Οι σουλφονυλουρίες

Οι σουλφονυλουρίες χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2 επειδή διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Δρουν κυρίως δεσμεύοντας στην υπομονάδα SUR του ευαίσθητου στο ATP διαύλου καλίου (K_{ATP}) και προκαλώντας το κλείσιμο του καναλιού. Ωστόσο, το κανάλι εξακολουθεί να είναι σε θέση να ανοίγει σε περιορισμένο βαθμό όταν το φάρμακο είναι δεσμευμένο, έτσι ώστε η αναστολή της υψηλής συγγένειας σουλφονυλουρίας να μην είναι πλήρης, ακόμη και σε συγκεντρώσεις κορεσμού φαρμάκου.

6.2.3. GLP-1

Το GLP-1 είναι απαραίτητο για τη φυσιολογική ανοχή στη γλυκόζη και δρα μέσω ενός συγκεκριμένου υποδοχέα GLP-1 που εκφράζεται από τα β-κύτταρα των νησιδίων καθώς και από άλλους τύπους κυττάρων. Μετά το γεύμα οι συγκεντρώσεις του GLP-1 στο πλάσμα αυξάνονται, γενικά ο GLP-1 δρα ως ορμόνη, μεταφέροντας πληροφορίες από το έντερο στο ενδοκρινικό πάγκρεας μέσω της κυκλοφορίας. Οι υγιείς άνθρωποι διατηρούν τη γλυκόζη του αίματος σε σχετικά αυστηρά όρια, ένα κατόρθωμα ομοιόστασης που είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτο λαμβάνοντας υπόψη τις μεγάλες διακυμάνσεις στην ποσότητα και το χρόνο πρόσληψης υδατανθράκων. Ένα βασικό χαρακτηριστικό της διατήρησης της ανοχής στη γλυκόζη είναι η ικανότητα του παγκρέατος να εκκρίνει γρήγορα ινσουλίνη σε ποσότητες κατάλληλες του γεύματος. (Campbell JE, 2013) Παρακάτω βλέπουμε Επίπεδα πλάσματος του πεπτιδίου-1 (GLP-1) και του εξαρτώμενου από τη γλυκόζη ινσουλινοτροπικού πολυπεπτιδίου (GIP) στο πλάσμα σε υγιή άτομα μετά από ένα γεύμα (Salehi M, 2010).

6.3. Αναστολείς συν-μεταφορέα νατρίου-γλυκόζης (SGLT2)

Οι αναστολείς συν-μεταφορέα-2 νατρίου-γλυκόζης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αρχική μονοθεραπεία. Η δράση τους στη μείωση της γλυκόζης μπορεί να βοηθήσει ορισμένα άτομα με διαβήτη να καθυστερήσουν τις ενέσεις ινσουλίνης. Ο κίνδυνος υπογλυκαιμίας είναι ελάχιστος και αυτό αν συμβεί θα είναι λόγω επιπλοκής με άλλα αντιδιαβητικά φάρμακα. Η δαπαγλιφλοζίνη και η καναγλιφλοζίνη είναι αποτελεσματικά στη βελτίωση των γλυκαιμικών παραμέτρων, τόσο ως μονοθεραπεία όσο και σε συνδυασμό. (Zhang L, 2010) Οι αναστολείς συν-μεταφορέα νατρίου-γλυκόζης είναι μια νέα κατηγορία φαρμάκων με νέο μηχανισμό δράσης, που μπορεί να είναι χρήσιμοι σχεδόν σε κάθε στάδιο του διαβήτη και αντιπροσωπεύουν ένα μέσο για την επίτευξη καλύτερου και ασφαλέστερου γλυκαιμικού ελέγχου. Η ενημέρωση σχετικά με πιθανές παρενέργειες και τρόπους πρόληψης, όπως για παράδειγμα, η υγιεινή του περινέου και αποφυγή μείωσης όγκου, πρέπει να συνοδεύεται από τη συνταγή SGLT2i.

6.4. Απταμερή

Τα Απταμερή είναι μονόκλωνα ολιγονουκλεοτίδια DNA ή RNA που έχουν μήκος περίπου 20–100 βάσεων. Αυτά τα μόρια μπορούν αυθόρμητα να διπλωθούν σε καλά καθορισμένες

τρισδιάστατες δομές και να συνδεθούν με τα μόρια-στόχους τους. Τα Απταμερή επιλέγονται για να αναγνωρίσουν ένα ευρύ φάσμα μορίων, όπως πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια, σάκχαρα και άλλα νουκλεϊκά οξέα. Στο SELEX, μια μεγάλη βιβλιοθήκη ($>10^{10}$) τυχαίων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων υποβάλλεται σε μια διαδικασία επιλογής έναντι ενός συγκεκριμένου στόχου. Τα απταμερή που μπορούν να συνδεθούν με το μόριο στόχο πιο σφιχτά ενισχύονται κατά προτίμηση από κάθε γύρο επιλογής. Μετά από γύρους επιλογής, απομονώνεται το απταμερές που δεσμεύει το μόριο στόχο με την υψηλότερη συγγένεια και ειδικότητα. Τα απταμερή έχουν ομοιότητες με τα αντισώματα ως προς την ικανότητά τους να αναγνωρίζουν και να δεσμεύονται σε μόρια στόχους διπλώνονται σε τρισδιάστατες δομές αυθόρμητα, καθιστώντας τα πιο ανθεκτικά από τα αντισώματα στο pH και τις αλλαγές θερμοκρασίας αντίθετα τα αντισώματα, δεν μπορούν να ανακτήσουν την αρχική τους διαμόρφωση αφού έχουν μετουσιωθεί. Αυτή η υψηλή σταθερότητα επιτρέπει στα απταμερή να τροποποιούνται ευκολότερα μέσω χημικών μέσων από ότι τα αντισώματα. Σε αντίθεση με τα αντισώματα, τα οποία απαιτούν παραγωγή *in vitro* ή *in vivo*, τα απταμερή συντίθενται χημικά. Η χημική σύνθεση ενός μικρού κλώνου νουκλεϊκού οξέος είναι πιο αξιόπιστη και υπάρχει πολύ μικρότερη διακύμανση μεταξύ των παρτίδων παραγωγής. Επιπλέον, τα απταμερή είναι πιο οικονομικά στην παραγωγή και η κλιμάκωση είναι ευκολότερη παρά για τα αντισώματα. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα των απταμερών είναι ότι η διαδικασία επιλογής δεν εξαρτάται από την ανοσογονικότητα ή την τοξικότητα του στόχου. Τέλος, τα απταμερή είναι πολύ μικρά σε σχέση με τα αντισώματα. Το μικρό τους μέγεθος μπορεί να βελτιώσει τη διείσδυση στους ιστούς και να αυξήσει τη συστηματική κάθαρση. Και οι δύο είναι εξαιρετικές ιδιότητες για ανιχνευτές απεικόνισης. Τα απταμερή έχουν επίσης ορισμένα μειονεκτήματα και προκλήσεις. Ως μονόκλωνα νουκλεϊκά οξέα, είναι επιρρεπή σε αποικοδόμηση από νουκλεάσες. Επομένως, τα απταμερή απαιτούν χημικές τροποποιήσεις για την επιβράδυνση της διαδικασίας αποδόμησης. Αν και το μικρό τους μέγεθος είναι ένα πλεονέκτημα, μπορεί επίσης να είναι ένα μειονέκτημα επειδή η κάθαρση των απταμερών μπορεί να είναι πολύ γρήγορη. Η γρήγορη κάθαρση περιόρισε σε μεγάλο βαθμό τη μετάφραση των απταμερών ως θεραπευτικών παραγόντων. Η οπτική απεικόνιση, η οποία περιλαμβάνει φθορισμό και βιοφωταύγεια, είναι μια βασική μέθοδος απεικόνισης για την απεικόνιση των μοριακών διεργασιών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε οργανικό επίπεδο σε μικρά ζώα. Η οπτική μοριακή απεικόνιση είναι κρίσιμης σημασίας για την κατανόηση φυσιολογικών διαδικασιών και ασθενειών και μπορεί να προσφέρει ανεκτίμητη εικόνα για τη θεραπεία της νόσου. Το μικρό μέγεθος και η ικανότητα των απταμερών να στοχεύουν ένα ευρύ φάσμα μορίων τα καθιστούν

εξαιρετικούς ανιχνευτές μοριακής απεικόνισης για κυτταρική απεικόνιση. Οι ανιχνευτές απεικόνισης που βασίζονται σε απταμερή μπορούν να διαμορφωθούν είτε συνδέοντάς τους απευθείας με φθορίζοντα μόρια είτε με σύζευξη απταμερών σε οπτικούς ανιχνευτές που βασίζονται σε νανοσωματίδια . Αυτοί οι ανιχνευτές μοριακής απεικόνισης που βασίζονται σε απταμερή έχουν χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση βιοδεικτών και κυτταρικών πρωτεϊνών όπως οι ιντεγκρίνες, το ειδικό για τον προστάτη μεμβρανικό αντιγόνο (PSMA). Αν και παρόμοιοι με τους ανιχνευτές που βασίζονται σε αντισώματα, το μικρό μέγεθος των απταμερών τα καθιστά καλύτερα κατάλληλα για την απεικόνιση ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών από τα αντισώματα. Τα τελευταία χρόνια, τα απταμερή έχουν χρησιμοποιηθεί στη μελέτη του σακχαρώδους διαβήτη και των μεταβολικών ασθενειών.

7. Σκοπός και Μεθοδολογία

Ο σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί ο διαβήτης τόσο σε αρχικό στάδιο όσο και σε προχωρημένο. Μελετήθηκε γενετικά ,οι τεχνικές προσδιορισμού, βιοδείκτες, όσο το δυνατόν περισσότερα ώστε να έχουμε ακριβή εικόνα για την ασθένεια αυτή. Τα άρθρα που βρέθηκαν ήταν στην αγγλική γλώσσα οπότε έγινε η προσπάθεια για ακριβή μετάφραση. Η αναζήτηση έγινε κυρίως rumped και google scholar ώστε να βρεθούν επιστημονικά άρθρα πιο κοντά στην εποχή. Από τα άρθρα έγινε μια επιλογή κυρίως αυτά που είχαν σχέση με την εργασία

8. Επίλογος –Συμπεράσματα

Ο διαβήτης θεωρείται η μεγαλύτερη πανδημία παγκοσμίως. Το 2000 υπολογίζεται ότι νόσησαν από διαβήτη περίπου 177 εκατομμύρια άνθρωποι και το ποσοστό αυτό θα αυξηθεί μέχρι το 2040. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια νόσος που παρουσιάζεται όταν το πάγκρεας δε παράγει καθόλου ινσουλίνη ή όταν αυτό δε γίνεται σωστά στον οργανισμό. Η ανακάλυψη της ινσουλίνης μείωσε τον πρόωρο θάνατο του ασθενή ακόμα και σήμερα είναι ο βασικός τρόπος θεραπείας με κάποιες προσπάθειες και για άλλα φάρμακα για τη θεραπεία του διαβήτη.

Το βασικό σύμπτωμα είναι υπεργλυκαιμία υπάρχουν όμως και συμπτώματα που οδηγούν τον ασθενή στον γιατρό που είναι η πολυδιψία, πολουρία και η πολυφαγία. Διακρίνεται στον διαβήτη τύπου 1 η αλλιώς νεανικό διαβήτη όπου αφορά κυρίως παιδιά νεαρής ηλικίας και εφηβείας ωστόσο δεν είναι απίθανο να εμφανιστεί και σε μεγαλύτερη ηλικία.

Ο διαβήτης τύπου 2 ή αλλιώς του ενήλικα χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη. Τα περισσότερα άτομα παρουσιάζει λίπος στην ενδοκοιλιακή χώρα λόγω παρουσίας αντίστασης στην ινσουλίνη. Ο διαβήτης κύησης αναγνωρίζεται για πρώτη φορά κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και υπάρχει δυσανεξία στη γλυκόζη.

Υπάρχουν και άλλοι τύποι διαβήτη όπως παθήσεις παγκρέατος, γενετικοί παράγοντες, ενδοκρινοπάθειες, λοιμώξεις, φάρμακα. Οι επιπλοκές του διαβήτη δημιουργούνται από την μακροχρόνια υπεργλυκαιμία και την επίδραση της σε διάφορα μέρη του σώματος επηρεάζοντας αγγεία σε όλο τον οργανισμό.

Οι επιπλοκές που είδαμε είναι η αμφιβληστροειδοπάθεια, η καρδιακή νόσος, νεφροπάθεια, διαβητική κετοξέωση, κώμα, διαβητική νευροπάθεια. Το κύριο αίτιο από τις επιπλοκές είναι η καρδιακή νόσος που αποτελεί και την αιτία θανάτου. Τόσο στο σύστημα υγείας όσο και ο ασθενής επιβαρύνονται με τα έξοδα της θεραπείας που είναι πάρα πολλά. Η πρόληψη των επιπλοκών έχει να κάνει με την τον τακτικό έλεγχο την άσκηση και τον τρόπο ζωής τους ατόμου.

Τέλος η ενημέρωση για την πάθηση θα φέρει θετικά αποτελέσματα ο ασθενής και κυρίως το παιδί θα πρέπει να ξεκινήσει από την αρχή να μάθει να ζει μ αυτό. Αυτό θα επιτευχθεί με μια ομάδα ιατρικού προσωπικού ψυχολόγους, διατροφολόγους και κυρίως ρόλο σημαντικό παίζει η ενημέρωση τόσο στο σχολείο όσο και στο οικογενειακό περιβάλλον.

9. Βιβλιογραφία

- . Kohzuma T, K. M. (2010). Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitu. σσ. 14(1):49-51.
- . Paroni R, C. F. (2007). Performance characteristics and clinical utility of an enzymatic method for the measurement of glycated albumin in plasma. . *Clin Biochem.*, σσ. 40(18):1398-405.
- (2014, June). *Int J Mol Sci.* , σσ. 15(6): 10567–10577.
- (2022, june). σσ. 18(2): 68–75.
- A. Chaudhuri, D. J. (2004). “Anti-Inflammatory and Profibrinolytic Effect of Insulin in Acute ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction,”. *Circulation.*, σσ. vol. 109, no. 7, pp. 849–854.
- A.B. Kapingidza, K. K. (2020). Antigen–antibody complexes. *U. Hoeger, J.R. Harris (Eds.), Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and Other Body Fluid Proteins, Springer International Publishing, Cham* , σσ. pp. 465-497.
- A.S.A. Naderi, R. R. (2008). Primary care approach to proteinuria. *J. Am. Board Fam. Med.*, σσ. pp. 569-574.
- Abdulla H, P. B. (2014). Physiological mechanisms of action of incretin and insulin in regulating skeletal muscle metabolism. *Curr Diabetes Rev.*, σσ. 10(5):327-35.
- American Diabetes Association. 6. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. (2021, Jan). *Diabetes Care*, σσ. 44(Suppl 1):S73-S84.
- Barnett AH, E. C. (1981). Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* , σσ. 20:87–93.
- Barr EL, M.-B. L. (2017). Comparison of creatinine and cystatin C based eGFR in the estimation of glomerular filtration rate in indigenous Australians: the eGFR Study. *Clin Biochem*, σσ. 50:301–308.
- Bennett PH, B. T. (1971). Diabetes mellitus in American (Pima) Indians. *Lancet*, σσ. 2:125–128.
- Bluestone JA, H. K. (2010). Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*, σσ. 464:1293-1300.
- Buse J, F. J. (2003). Serum 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark™): A short-term glycemic marker. *Diabetes Technol Ther* , σσ. 5(3):355-363.
- Campbell JE, D. D. (2013). Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab*, σσ. 17: 819–837.
- Carter JS, P. J. (1996). Non-insulin-dependent diabetes mellitus in minorities in the United States. . *Ann Intern Med* , σσ. 125:221–232,.
- Chimen M, K. A. (2012). What are the health benefits of physical activity in type 1 diabetes mellitus? A literature review. *Diabetologia*, σσ. 55(3):542–551.
- Cole JB, F. J. (2020, jule). Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. . *Nat Rev Nephrol*, σσ. 16(7):377-390.

- Constantino MI, M. L.-G.-S. (2013). Long-term complications and mortality in young-onset diabetes: type 2 diabetes is more hazardous and lethal than type 1 diabetes. . *Diabetes Care*, σσ. 36(12):3863–3869.
- Cruz TD, V. A. (2004). DPB1 alleles are associated with type 1 diabetes susceptibility in multiple ethnic groups,. *Diabetes*,, σσ. vol. 53 (pg. 2158-2163).
- Cucca F, L. R. (2001). A correlation between the relative predisposition of MHC class II alleles to type 1 diabetes and the structure of their proteins. *Hum Mol Genet*, σσ. vol. 10 (pg. 2025-2037).
- D.M., .. (1993). Long-term complications of diabetes mellitus. . *N. Engl. J. Med*, σσ. 328:1676–1685.
- D.P., B. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and functio. *Cell* , σσ. 16:281–297.
- D.P., B. (2009). MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* , σσ. 136:215–233.
- Dabelea D, R. A.-D. (2014, April). SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. . *Pediatrics*,, σσ. 133(4):e938-45.
- DD., B. (1992;). Clinical counterpoint: vitamin D: new actions, new analogs, new therapeutic potential. . *Endocr Rev* , σσ. 13: 765–784.
- de Boer IH, B. S. (2017, September). Diabetes and Hypertension: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. σσ. 40(9):1273-1284.
- DeFronzo, R. L. (1988). The triumvirate: Beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* , σσ. 37, 667–687.
- DP, W. (2013). Diabetic ketoacidosis: evaluation and treatment. *Am Fam Physician*, σσ. 87(5):337-346.
- DR, C. (2013, Sep). Gestational diabetes mellitus. *Clin Chem*. , σσ. 59(9):1310-21.
- Ekinci EI, J. G. (2013). ReRenal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function. . *Diabetes Care*, σσ. 38:954–962.
- F. Rigano, P. T. (2019). High-performance liquid chromatography combined with electron ionization mass spectrometry: a review. *Trac. Trends Anal. Chem*, σσ. pp. 112-122.
- Fichtlscherer S., d. R. (2010). Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ*, σσ. 107:677–684. .
- Freedman BI, S. R. (2010). Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. *Perit Dial Int*,, σσ. 30(1):72-9.
- Fuchsjäger-Mayrl G, P. J. (2002). Exercise training improves vascular endothelial function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. , σσ. 25(10):1795–1801.
- G. I. Shulman. (2000). “Cellular mechanisms of insulin resistance,”. *The Journal of Clinical Investigation*, , σσ. vol. 106, no. 2, pp. 171–176,.
- G.A. Calin, C. C. (2006). MicroRNA signatures in human cancers. *Nat. Rev. Cancer*,, σσ. pp. 857-866.

- G.C. Viberti, R. J. (1982). Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*, , σσ. pp. 1430-1432.
- Guthrie RA, G. D. (2004, April-Jun). Pathophysiology of diabetes mellitus. *Crit Care Nurs Q.*, σσ. 27(2):113-25.
- H. C. Gerstein, J. P. (2005). "The relationship between dysglycaemia and cardiovascular and renal risk in diabetic and non-diabetic participants in the HOPE study: a prospective epidemiological analysis,". *Diabetologia*, σσ. vol. 48, no. 9, pp. 1749–1755, .
- H.J. Lambers Heerspink, J. B. (2006). Update on microalbuminuria as a biomarker in renal and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, σσ. pp. 631-636.
- HLA MHC Comple. (2009). <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:HLA.svg#mediaviewer/File:HLA.svg> [Reference list].
- Hsu P, A. M. (2015). A comparison of glycated albumin and glycosylated hemoglobin for the screening of diabetes mellitus in Taiwan. *Atherosclerosis*, σσ. 242(1):327-33.
- Hussain S, C. T. (2019, Feb). The Impact of Comorbidities on the Pharmacological Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*. σσ. 79(3):231-242.
- Hyöty H, H. M. (1995). A prospective study of the role of coxsackie B and other enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes*, σσ. 44:652-657.
- Hyoty H, T. K. (2002). The role of viruses in human diabetes. *Diabetologia*. , σσ. 45:1353-1361.
- Hyoty H, T. K. (2002). The role of viruses in human diabetes. *Diabetologia*., σσ. 45:1353-1361.
- J.-A. Kim, M. M. (2006). Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms,". *Circulation*, , σσ. vol. 113, no. 15, pp. 1888–1904,.
- Jeyaseelan K., L. K. (2008). MicroRNA expression in the blood and brain of rats subjected to transient focal ischemia by middle cerebral artery occlusion. *Stroke*., σσ. 39:959–966.
- Jönsson L, H. I. (2012). The logic of care" - parents' perceptions of the educational process when a child is newly diagnosed with type 1 diabetes. *BMC Pediatr*. , σ. 12:165.
- K.M. Slagle, S. G. (1996). Immunoassays: tools for sensitive, specific, and accurate test results. σσ. pp. 177-183.
- KA Cissell, S. D. (2009). Trends in microRNA detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, , σσ. pp. 1109-1116.
- Kerner W, B. J. (2014, Jul). German Diabetes Association. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*., σσ. 122(7):384-6. .
- Kim C, B. K. (1999-2006). Association between iron deficiency and A1C Levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, . *Diabetes Care*., σσ. 2010;33(4):780-5.
- Koga M, K. S. (2010). Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. *Endocr J.*, σσ. 57(9):751-62.
- Kondrashova A, R. A. (2005;). A six-fold gradient in the incidence of type 1 diabetes at the eastern border of Finland. . *Ann Med*, σσ. 37: 67–72. .

- Kouppala, T. (1988). Alterations in vitamin D metabolites and minerals in diabetic pregnancy. *Gynecol Obstet Invest*, σσ. 25: 99–105.
- Kouzuma T, U. T. (2002). An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. *Clin Chim Acta.*, σσ. 324(1-2):61-71.
- Lauritzen T., F. O. (1979). Variation in 125I-insulin absorption and blood glucose concentration. *Diabetologia.*, σσ. 17(5):291–5.
- Lindsay RS, M. S. (2017, Aug 28). Gestational diabetes mellitus-right person, right treatment, right time. *BMC Med.*, σ. 15(1):163.
- Livingstone SJ, L. D. (2008-2010). Estimated life expectancy in a Scottish cohort with type 1 diabetes. σσ. JAMA 313:37–44.
- Lu J, M. Z. (2018, Nov). et al Association of Time in Range, as Assessed by Continuous Glucose Monitoring, With Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, σσ. 41(11):2370–6.
- Lyons, T. J. (2012, April). Biomarkers in diabetes: hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. σσ. VOLUME 159, ISSUE 4, P303-312,.
- Lyssenko V, A. P., & Group, B. S. (2005). Predictors of and longitudinal changes in insulin sensitivity and secretion preceding onset of type 2 diabetes. *Diabetes*, σσ. 54:166–174.
- Migala, M. 1., Chałubińska-Fendler, J. 2., & Zielińska, M. (2022, june). *Rev Diabet Stud.*, σσ. 18(2): 68–75.
- N. J. Morrish, S.-L. W. (2001). “Mortality and causes of death in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes,” *Diabetologia*, σσ. Supplement 2, pp. S14–S21.
- Neal CS, M. M. (2011). Circulating microRNA expression is reduced in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, σσ. 26:3794–3802.
- Norton L, S. C.-G. (2017, Sep). Sodium-glucose co-transporter (SGLT) and glucose transporter (GLUT) expression in the kidney of type 2 diabetic subjects. *Diabetes Obes Metab*, σσ. 19(9):1322-1326.
- Pencina MJ, D. R. (2012). Interpreting incremental value of markers added to risk prediction models. *Am J Epidemiol*, σσ. 176:473–81.
- Proks, P., Reimann, F., Green, N., Gribble, F., & Ashcroft, F. (2002). Sulfonylurea Stimulation of Insulin Secretion. *Diabetes*, σσ. S368–S376.
- Qi X, T. R. (2019, Oct). Fructose, galactose and glucose - In health and disease. *Clin Nutr ESPEN*, σσ. 33:18-28.
- Radcliffe NJ, S. J.-M. (2017). Clinical predictive factors in diabetic kidney disease progression. *J Diabetes Investig*, σσ. 8:6–18.
- Ramalho AC, d. L. (2006). The effect of resistance versus aerobic training on metabolic control in patients with type-1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.*, σσ. 72(3):271–276.
- Rao Kondapally Seshasai S, K. S. (2011, Mar 03). Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med*, σσ. 364(9):829-84.
- Res, J. C. (2012). σσ. 5(4): 413–422.

- Rowley WR, B. C. (2017, Feb). Diabetes 2030: Insights from Yesterday, Today, and Future Trends. *Popul Health Manag*, σσ. 20(1):6-12. .
- Salehi M, A. B. (2010). Effect of endogenous GLP-1 on insulin secretion in type 2 diabetes. *Diabetes*, σσ. 59: 1330–1337.
- Spaight C, G. J. (2016). Gestational Diabetes Mellitus. *Endocr* , σσ. 31 :163-78.
- Stevens LA, C. J. (2008). Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. . *Am J Kidney Dis*, σσ. 51:395–406.
- Stevens LA, S. C. (2009). Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int*, σσ. 75:652–660.
- Thomsen M, P. P. (1975). MLC typing in juvenile diabetes mellitus and idiopathic Addison's disease. *Transplant Rev*, σσ. vol. 22 (pg. 125-147).
- Tijssen AJ, C. E. (2010). MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res.*, σσ. 106:1035–1039.
- Turer AT, S. P. (2012, Sep). Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia.*, σσ. 55(9):2319-26.
- Urban, P. (2016). Quantitative mass spectrometry: an overview. *Phil. Trans. Math.*, σσ. 374 , p. 20150382.
- van der Werf N, K. F. (2007). Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, σσ. 23(3):169-183.
- Velho G, F. P. (1998). Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset diabetes of the young. . *Eur J Endocrinol*, σσ. 138:233–239.
- Wannamethee SG, S. A. (2011, Mar 14). Impact of diabetes on cardiovascular disease risk and all-cause mortality in older men: influence of age at onset, diabetes duration, and established and novel risk factors. *Arch Intern Med.* , σσ. 171(5):404-10.
- Wong TY, C. L. (2016, Mar). Diabetic retinopathy. *Nat Rev Dis Primers*, σ. 2:16012. .
- X. Du, D. E.-H. (2006). Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation,”. *The Journal of Clinical Investigation.*, σσ. vol. 116, no. 4, pp. 1071–1080, .
- Yoshiuchi K, M. M. (2008). Glycated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes. *Endocr J.*, σσ. 55(3):503-7.
- Zamore PD, H. B. (2005). Ribo-gnome: the big world of small RNAs. *Science*, σσ. 309:1519–1524.
- Zhang L, F. Y. (2010). Dapagliflozin treatment in patients with different stages of type 2 diabetes mellitus: effects on glycaemic control and body weight. *Diabetes Obes Metab.*, σσ. 12:510–6.
- Zheng Y, L. S. (Nat Rev Endocrinol, Feb). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*, σσ. 14(2):88-98.

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.