

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ
Διευθυντής: Καθηγήτης Ε. Κουμαντάκης

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΝΙΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ
ΣΤΟΝ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ
ΤΩΝ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΕΓΚΥΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

ΚΑΛΛΙΟΠΗ Ι. ΠΑΠΠΑ

Ιατρός: Μαιευτήρας Γυναικολόγος

Ηράκλειο 2004

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ
Διευθυντής: Καθηγητής Ε. Κουμαντάκης

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΝΙΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ
ΣΤΟΝ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ
ΤΩΝ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΕΓΚΥΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

ΚΑΛΛΙΟΠΗ Ι. ΠΑΠΠΑ

Ιατρός: Μαιευτήρας Γυναικολόγος

Ηράκλειο 2004

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Της Ιατρού Καλλιόπης Ι. Παππά

Ο Μεταβολισμός της Καρνιτίνης και οι Μεταβολές στον Ενδιάμεσο
Μεταβολισμό των Διαβητικών Εγκύων Γυναικών

Επιβλέπων

Ευγένιος Κουμαντάκης
Καθηγητής Μαιευτικής Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ε. Κουμαντάκης	Καθηγητής
Α. Ευαγγελίου	Επίκουρος Καθηγητής
Κ. Ρελάκης	Επίκουρος Καθηγητής

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Ε. Κουμαντάκης	Καθηγητής
Α. Ευαγγελίου	Επίκουρος Καθηγητής
Κ. Ρελάκης	Επίκουρος Καθηγητής
Ν. Ανάγνου	Καθηγητής
Ν. Σιαφάκας	Καθηγητής
Ε. Μαντζουράνη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Σ. Κουλοχέρη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία ορισμού θέματος Διδακτορικής Διατριβής: 8/1/01 (ΑΠ: 277/2001)

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Επιτροπής: 10/1/01 (ΑΠ: 277/2001)

Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής:

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Κρήτης δεν υποδηλοί αποδοχήν των γνώμων του
Συγγραφέως
Μ.5743/32, αρθρ.202,παρ.2

*Στην μητέρα μου
παντοινό συνοδοιπόρο μου
στις δύσκολες διαδρομές μου*

και

*Στον Παναγιώτη και την Ελένη
ζωντανό εφαλτήριο μου
στις πνευματικές αναζητήσεις μου*

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή μου, τον κο Ευγένιο Κουμαντάκη που η παρουσία του στην επιστημονική μου πορεία υπήρξε διπλή. Με υπομονή και αδιάκοπη επίβλεψη στάθηκε δίπλα μου σε όλη τη διάρκεια της Κλινικής μου εκπαίδευσης στην Μαιευτική και Γυναικολογία, μέχρι που ολοκλήρωσα την ειδικότητα μου. Πέρα όμως από τη διδακτική του καθοδήγηση, μου εμφύσησε επιστημονικές ανησυχίες και με ενθάρρυνε να διευρύνω τους επιστημονικούς μου ορίζοντες. Τον ευχαριστώ λοιπόν γιατί πέρα από την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την παρούσα διατριβή, αποτελεί για μένα σοφή αφετηρία που εμπιστεύομαι και συμβουλεύομαι.

Κατά τη διάρκεια αυτής της διατριβής συνάντησα αρκετές δυσκολίες. Θα ήθελα λοιπόν να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τον Καθηγητή κο Ανάγνου ο οποίος στάθηκε δίπλα μου επιστημονικά όλο αυτό το διάστημα, μου διέθεσε το χρόνο του, με προσέγγισε με απλότητα και με καθοδήγησε με σύνεση. Ο Νίκος Καζαντζάκης υποστηρίζει πως ο ιδανικός δάσκαλος είναι εκείνος που γίνεται γέφυρα για να περάσει αντίπερα ο μαθητής του και όταν πια του έχει διευκολύνει το πέρασμα, αφήνεται χαρούμενα να γκρεμιστεί, ενθαρρύνοντας το μαθητή του να φτιάξει δικές του γέφυρες. Αν είναι έτσι, τότε ο κος Ανάγνου, πραγματικά υπήρξε ιδανικός δάσκαλος.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή κο C.J.Rebouche (Department of Pediatrics, Pediatric Nutrition Laboratories, Coralville, Iowa, USA) που αν και σε άλλη ήπειρο, η συμβολή του και η συμπαράσταση του υπήρξαν ανεκτίμητες.

Για να ολοκληρωθεί αυτή η μελέτη, με συμβούλευσαν και με βοήθησαν η κα Ε.Διονυσοπούλου, η κα Μ.Μηλαθιανάκη, η κα Ν.Αυωγιανάκη, ο κος Γ.Μαρόπουλος και ο Καθηγητής Ε.Μιχαλοδημητράκης. Τους ευχαριστώ ολόψυχα.

Τέλος, η συμπαράσταση του συντρόφου μου Στέλιου Μπικουβαράκη και των παιδιών μας Σίβυλλας και Μυριώς ήταν πολύτιμη, σε όλες τις στιγμές, μα ιδιαίτερα τότε που όλα έμοιαζαν ακατόρθωτα. Είναι πολύ σημαντικό να έχεις δίπλα σου ανθρώπους που σε υποστηρίζουν ανεξάρτητα από το αποτέλεσμα. Τους ευχαριστώ και πραγματικά πιστεύω ότι τους ανήκει το σημαντικότερο κομμάτι αυτής της διατριβής που είναι η δύναμη ψυχής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	Σελ.
Summary	1
Συντομογραφίες	4
	7

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Φυσιολογικός μεταβολισμός	8
1.1 Φυσιολογικός μεταβολισμός κατά τη νηστεία	8
1.2 Φυσιολογικός μεταβολισμός μετά τη λήψη τροφής	11
1.3 Φυσιολογικός μεταβολισμός μετά τη λήψη τροφής αμέσως μετά από νηστεία	13
1.4 Φυσιολογικός μεταβολισμός κατά τη φυσιολογική κύηση	14
2. Σακχαρώδης διαβήτης της κύησης	23
2.1 Ορισμός	23
2.2 Παθοφυσιολογία	23
2.3 Προσαρμογή του μεταβολικού προτύπου (profile)	25
2.4 Ανίχνευση και διάγνωση	31
3. Καρνιτίνη: Βιοχημεία και Φυσιολογία	34
3.1 Ιστορική αναδρομή και χημική δομή	34
3.2 Βιοσύνθεση της καρνιτίνης	35
3.3 Απορρόφηση – διακίνηση - αποθήκευση	37
3.4 Λειτουργία του συστήματος της καρνιτίνης	41
3.5 Φυσιολογία του συστήματος της καρνιτίνης	44
3.6 Έλλειψη καρνιτίνης	45
3.7 Καρνιτίνη και κύηση	47
3.8 Καρνιτίνη και Σακχαρώδης διαβήτης	48
4. Η μεταβολική οδός της β-οξειδωσης των λιπαρών οξέων και της παραγωγής κετονικών σωμάτων	51
4.1 β-οξειδωση	51
4.2 Κετογένεση - κετονόλυση	55

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ο μεταβολισμός της καρνιτίνης και οι μεταβολές στον ενδιάμεσο μεταβολισμό των διαβητικών εγκύων γυναικών	65
1.1 Εισαγωγή	65
1.2 Σχεδιασμός μελέτης	66
1.3 Συλλογή υλικού	67
2. Μεθοδολογία μετρήσεων των μεταβλητών παραμέτρων	68
2.1 Μέτρηση καρνιτίνης	68
2.2 Μέτρηση β υδροξυβουτυρικού οξέος	71
2.3 Μέτρηση γαλακτικού οξέος	71
2.4 Μέτρηση ελεύθερων λιπαρών οξέων	72
2.5 Μέτρηση HbA _{1c}	72
2.6 Μέτρηση δερματικής πτυχής	73
3. Στατιστική ανάλυση συνεχών μεταβλητών παραμέτρων	74
4. Αποτελέσματα	96
5. Συμπεράσματα – Συζήτηση - Επίλογος	113
6. Παραρτήματα	121
7. Βιβλιογραφία	136

Περίληψη

Η καρνιτίνη κατέχει κεντρικό ρόλο στη μεταφορά των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (LCFA) στη μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία προκειμένου να οξειδωθούν και υπό συγκεκριμένες συνθήκες να καλυφθεί ενεργειακά ο οργανισμός. Η έλλειψη της εκφράζεται ως διαταραχή του διάμεσου μεταβολισμού με ποικίλης βαρύτητας κλινικά συμπτώματα.

Τόσο η κύηση όσο και ο διαβήτης, χαρακτηρίζονται από δευτεροπαθή έλλειψη και μείωση των επιπέδων της καρνιτίνης. Δεν είναι γνωστή όμως μέχρι σήμερα, η επίπτωση της ταυτόχρονης συνύπαρξης των δύο αυτών νοσολογικών οντοτήτων. Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή σχεδιάστηκε με σκοπό να απαντηθούν ερωτήματα που αφορούν τις μεταβολές της καρνιτίνης και να διερευνηθεί ο διάμεσος μεταβολισμός, χρησιμοποιώντας σαν πειραματικό μοντέλο, την κύηση που επιπλέκεται από σακχαρώδη διαβήτη (gestational diabetes, GD).

Για τις ανάγκες της μελέτης στρατολογήθηκαν 119 γυναίκες, που χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: 40 (33.6%) φυσιολογικές γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας που δεν ήταν έγκυες (NNP), 46 (38.7%) έγκυες γυναίκες με κύηση που δεν παρουσίαζε οποιαδήποτε επιπλοκή (NP) και τέλος 33 (27.7%) έγκυες με σακχαρώδη διαβήτη κύησης (GDM). Οι μεταβλητές παράμετροι, ολική καρνιτίνη και τα κλάσματά της, β-υδροξυ-βουτυρικό οξύ, γαλακτικό οξύ και ελεύθερα λιπαρά οξέα, μελετήθηκαν σε δείγματα αίματος τα οποία ελαμβάνοντο στο χρονικό διάστημα μεταξύ 30^{ης} και 33^{ης} εβδομάδας κύησης. Κάθε γυναίκα υποβαλλόταν σε αιμοληψία μετά από ολονύκτια νηστεία και μια ώρα μετά από λήψη γεύματος. Η ανάλυση των επιπέδων της ολικής καρνιτίνης (TC) νηστείας, μεταξύ των τριών ομάδων έδειξε ότι, οι έγκυες που επιπλέκοντο από διαβήτη της κύησης, δεν παρουσίασαν επιπλέον ελάττωση των επιπέδων της, σε σχέση με τις υγιείς έγκυες γυναίκες, ενώ παράλληλα οι δύο ομάδες εγκύων παρουσίαζαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές καρνιτίνης σε σχέση με τη NNP ομάδα. Μετά τη λήψη της τροφής, τα επίπεδα της ολικής καρνιτίνης δεν παρουσίασαν μεγάλες μεταβολές τόσο στις φυσιολογικές έγκυες όσο και στις έγκυες που έπασχαν από διαβήτη της κύησης. Έτσι τεκμηριώνεται για πρώτη φορά, ότι ο διαβήτης της κύησης δεν ασκεί επιπρόσθετη επιβαρυντική επίδραση στα ολικά επίπεδα της καρνιτίνης σε καταστάσεις είτε νηστείας, είτε επανασίτισης. Στην ομάδα NNP δεν μετρήθηκαν οι

τιμές καρνιτίνης μετά το γεύμα, δεδομένου ότι ήδη υπάρχουν αρκετές και καλά τεκμηριωμένες μελέτες, όπου δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φάσεων.

Στη φάση νηστείας, η ομάδα GDM παρουσίασε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις FC και μικρότερες AC σε σχέση με την NP ομάδα ($P < 0.001$ και $P = 0.010$ αντίστοιχα). Παράλληλα η NNP ομάδα εμφάνισε υψηλότερα επίπεδα FC νηστείας σε σχέση με τις NP και GDM ομάδες ($P < 0.001$ και στις δύο περιπτώσεις) ενώ το κλάσμα AC κυμαινόταν στα ίδια επίπεδα με την NP ομάδα ($P = 0.661$) και ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με την GDM ομάδα ($P < 0.001$).

Η NP ομάδα φαίνεται να παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά με την NNP ομάδα και στις δύο φάσεις του πειράματος. Τα χαμηλά επίπεδα της FC στις φυσιολογικές έγκυες, δεν οφείλονταν μόνο στην αύξηση των επιπέδων της AC που αυξάνονται στη νηστεία, αλλά και στο ότι η συνολική συγκέντρωση καρνιτίνης στο πλάσμα είναι μειωμένη στη διάρκεια της κύησης. Η AC δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών ομάδων ($P = 0.661$) διότι αφ' ενός το AC κλάσμα δεν επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό κατά τη διάρκεια της κύησης και αφ' ετέρου η απάντηση των εγκύων γυναικών στην νηστεία, αλλά και η ήδη εγκατεστημένη τάση του μεταβολισμού προς την οξειδωση λιπών σε αυτό το τρίμηνο, έχουν σαν αποτέλεσμα την ταχεία κινητοποίηση και την αυξημένη οξειδωση των FFA που τελικά οδηγεί σε παρόμοια υψηλά επίπεδα AC και στις δύο ομάδες. Αυτό άλλωστε επιβεβαιώθηκε και από τα επίπεδα του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος της νηστείας. Όπως προέκυψε από τη σύγκριση των επιπέδων τους, υπήρχε διαφορά μεταξύ των ομάδων NP και NNP, αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($P = 0.063$), με ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται στην ομάδα NP λόγω της εκτροπής του μεταβολισμού.

Η διαφόρου βαθμού κέτωση που συμβαίνει στη διάρκεια της κύησης, είναι περισσότερο εμφανής σε έγκυες με διαβήτη. Στη μελέτη μας παρόλο που είχαμε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στο πλάσμα των γυναικών με GD ($P = 0.011$), ταυτόχρονα η ομάδα αυτή παρουσίαζε χαμηλότερα επίπεδα AC και υψηλότερα FC σε σχέση με τις φυσιολογικές έγκυες. Επιπρόσθετα ενώ στην ομάδα GDM παρατηρούνταν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος σε σχέση με την ομάδα NP, δεν παρουσιάζονταν παράλληλα στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων FFA μεταξύ τους ($P = 0.130$). Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι στις έγκυες γυναίκες με διαβήτη της κύησης, ο μηχανισμός της κετονογένεσης ενισχύεται επιπρόσθετα μέσω άλλων βιοχημικών οδών εκτός από τη β-οξειδωση. Η πλέον πιθανή εκδοχή του φαινομένου, φαίνεται να είναι μια αύξηση στην κετονογένεση με

υπόστρωμα το οξαλοξικό ή το γαλακτικό οξύ (κύκλος του Cori). Έτσι, ενώ ο αυξημένος ρυθμός β-οξειδωσης και παραγωγής κετονοσωμάτων συνδέεται με την παράλληλη αύξηση της AC, η παραγωγή κετονοσωμάτων μέσω προϊόντων γλυκόλυσης, δεν επηρεάζει άμεσα τα κλάσματα της καρνιτίνης και αυτό εξηγεί το εύρημα της μη περαιτέρω αύξησης στο κλάσμα AC από τον GD.

Μετά τη λήψη της τροφής, τα κλάσματα AC τόσο στη NP ομάδα όσο και στην GDM ομάδα, δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά ($P = 0.986$ και $P = 0.779$ αντίστοιχα). Το κλάσμα FC δεν μεταβλήθηκε σημαντικά στη NP ομάδα ($P = 0.113$), ενώ παρουσίασε μια αύξηση στατιστικά σημαντική στην GDM ομάδα ($P = 0.040$). Αυτή η μικρή αύξηση, αντικατοπτρίζει την αύξηση στο ολικό κλάσμα καρνιτίνης που αναφέρθηκε ανωτέρω, και όπως ανεπτυχθή βρίσκεται στα πλαίσια του φυσιολογικού. Οι μεταγευματικές τιμές του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος παρουσιάζουν την αναμενόμενη πτώση σε όλες της ομάδες, όπως επίσης την ίδια συμπεριφορά εμφανίζουν και τα FFA. Οι εκδηλώσεις αυτές είναι αναμενόμενες και οφείλονται στην έκκριση ινσουλίνης μετά τη λήψη της τροφής. Η αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη που παρουσιάζουν οι έγκυες, αντικατοπτρίζεται τόσο στα επίπεδα του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος όσο και στα επίπεδα των FFA. Τόσο πριν όσο και μετά το γεύμα, τα υψηλότερα επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος παρουσιάζουν κατά σειρά οι ομάδες GDM, NP και NNP. Για τα FFA παρατηρούμε ότι ενώ στη νηστεία δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ NP και GDM, μεταγευματικά τα FFA είναι υψηλότερα στην ομάδα GDM ($P = 0.004$), υποδηλώνοντας την αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη που είναι μεγαλύτερη σε έγκυες ασθενείς με GD.

Όσον αφορά τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος στις δύο φάσεις του πειράματος, κυμαίνοντο μέσα στα φυσιολογικά όρια. Μετά το γεύμα, παρατηρήθηκε αύξηση του γαλακτικού οξέος μέσα όμως στα φυσιολογικά όρια (≤ 15 mg/dl). Οι διαφορές μεταξύ των GDM και NNP ($P = 0.036$) και μικρή διαφορά μεταξύ NP και NNP ($P = 0.046$) πιθανά να οφείλονται στην αύξηση της αντίστασης της ινσουλίνης που εμφανίζεται στα δύο γκρουπ των εγκύων.

Συμπερασματικά, η καρνιτίνη στις έγκυες γυναίκες δεν φαίνεται να επηρεάζεται περαιτέρω από την συνύπαρξη διαβήτη της κύησης. Ο διάμεσος μεταβολισμός φαίνεται να τροποποιείται όσον αφορά την κετογένεση παρουσία διαβήτη της κύησης, με την ενεργοποίηση της εναλλακτικής κετογένεσης με υπόστρωμα το οξαλοξικό ή το γαλακτικό

οξύ, το οποίο φαίνεται να λειτουργεί ανεξάρτητα από το ενζυμικό σύστημα της καρνιτίνης.

SUMMARY

Summary

Carnitine occupies a central role in transferring long-chain fatty acids into mitochondrial matrix for oxidation, and under specific conditions, to provide energy to the organism. Lack of carnitine is manifested as a disorder of intermediate metabolism with clinical symptoms of variable severity.

Both gestation and diabetes mellitus, are characterized by secondary deficiency and reduction of carnitine levels. However, the impact of the simultaneous interaction of these two conditions is not clear yet. The present Doctoral Thesis, was designed to address specific questions concerning carnitine changes occurring in both these conditions and to investigate the parameters of intermediate metabolism, by employing gestational diabetes (GD) as an experimental model.

For the specific needs of the study, 119 women were recruited and were further divided into three groups: 40 (33.6%) normal young non-pregnant women (NNP), 46 (38.7%) normal pregnant women (NP) with uncomplicated pregnancy and 33 (27.7%) pregnant women with gestational diabetes (GD). Variable parameters, total carnitine and its fractions (free and acyl-carnitine), β -hydroxybutyrate, lactic acid and free fatty acids, were studied in blood samples derived between 30th and 33rd week of gestation. Blood samples from each woman were obtained following overnight fasting and 1h after meal. Analysis of fasting total carnitine (TC) levels among the three groups demonstrated that the GDM group did not exhibit any further reduction in carnitine levels, compared to normal pregnant, while both groups of pregnant women displayed significantly lower carnitine levels compared to the NNP group.

Following a carbohydrate meal, the total carnitine levels did not show any major changes both in normal pregnant women and in the gestational diabetes group. Thus, these data document for the first time, that gestational diabetes does not

exert any additional detrimental effect on the total carnitine levels, either in fasting or in refeeding. No measurements of total carnitine levels following a carbohydrate meal were performed in the NNP group, since several studies previously have established no significant effects between the two conditions.

During fasting period, the GDM group displayed higher free carnitine (FC) and lower acyl-carnitine (AC) levels compared to the NP group ($P < 0.001$ and $P < 0.010$, respectively). Furthermore, the NNP group demonstrated higher fasting FC levels compared to the NP and GDM groups ($P < 0.001$ in both cases), while the fraction of AC was found to be at similar levels to the NP group ($P = 0.661$), but significantly higher to the GDM group ($P < 0.001$). The NP group seems to exhibit a similar pattern with the NNP group in both stages of the experimental design. The lower levels of FC in normal pregnant, were not only due to the increased AC levels occurring during fasting, but also to the fact that total plasma carnitine levels are reduced during gestation. AC levels displayed no statistically significant difference between the two groups ($P = 0.661$) for two reasons; first, because the AC fraction is not affected in great deal during gestation and second, because the response of pregnant women during fasting, along with the already established trend of metabolism towards lipid oxidation during the last trimester, result in fast mobilization and increased oxidation of free fatty acids (FFA), which eventually leads in similar high AC levels in both groups. Besides, this was corroborated by the fasting levels of β -hydroxy-butyrate. Following a comparison of these levels between the two groups, i.e. NP vs. NNP, there was a marked but not statistically significant difference ($P = 0.63$) with slightly higher levels occurring in the NP group, due to the aberrant metabolism.

The variable degree of ketosis occurring during gestation is more evident in pregnant women with gestational diabetes. In our study, although significantly higher β -hydroxy-butyrate plasma levels were encountered in the GDM group ($P = 0.011$), the same group simultaneously exhibited lower AC and higher FC levels, compared to normal pregnant women. Additionally, although in the GDM group there were significantly higher levels of β -hydroxy-butyrate compared to the NP group, there was no statistical difference in FFA levels between the two groups ($P = 0.130$). This leads to the conclusion, that in pregnant women with gestational diabetes, the mechanism of ketogenesis is additionally enhanced though other biochemical pathways, beside β -oxidation. The most plausible explanation for this phenomenon, seems to be the increase in ketogenesis by utilizing either oxaloacetic acid or lactic acid, as a substrate (Cori's cycle). Thus, while the increased rate of β -oxidation and production of ketone bodies, is associated with a parallel increase of AC levels, ketone body production via

glycolysis, does not directly affect carnitine fractions, and this explains the finding of the lack of further increase of the AC fragment in GDM.

Following carbohydrate meal, the AC fraction both in NP and GDM groups did not show any significant change ($P=0.986$ and $P=0.779$, respectively). The FC fraction however, showed no change in the NP group ($P=0.113$), while exhibited a statistically significant increase in the GDM group ($P=0.040$). This small increase, reflects the increase in total carnitine levels reported above, and as was discussed, lies within normal limits. Postprandial levels of β -hydroxy-butyrate exhibit the anticipated fall in all groups; the same pattern is also observed with the FFA. These manifestations are expected, and are due to the secretion of insulin, following food intake. The increased resistance of insulin exhibited by women during pregnancy, is reflected in β -hydroxy-butyrate and FFA levels. Both before and after meal, the highest levels of β -hydroxy-butyrate are exhibited sequentially by the GDM, NP and NNP groups. For the FFA levels, we notice that, while there is no difference between the NP and GDM groups, postprandial, FFA levels are higher in the GDM group ($P=0.004$), suggesting an underlying increase of insulin resistance, which is higher in the GDM group.

Regarding the lactate levels in both stages of the experiment, there were maintained within normal limits. Following the carbohydrate meal, an increase in lactate levels was noticed, which was within normal limits ($\leq 15\text{mg/dl}$). The differences between GDM and NNP groups ($P=0.036$) and the small difference between NP and NNP groups ($P=0.046$) probably are due to the increase of insulin resistance, developing in both groups of pregnant women.

In conclusion, carnitine in pregnant women does not seem to be additionally effected by the co-existence of diabetes and gestation. Intermediate metabolism seems to be modified regarding ketogenesis in the presence of gestational diabetes, with the activation of an alternative ketogenesis pathway, utilizing oxaloacetic acid or lactate as a substrate, which seems to operate independently from the enzymic system of carnitine.

Βασικές Συντομογραφίες

Σύμβολο	Επεξήγηση
AC	acyl-carnitine , ακυλ-καρνιτίνη
AcAc	acetoacetate , ακετοξεϊκό οξύ
ACC	acetyl-CoA carboxylase , καρβοξυλάση του ακετυλο-CoA
ACS	acyl-CoA synthase , συνθάση του ακυλο-CoA
AMPK	AMP-activated protein kinase , πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη μέσω AMP
aP2	adipocyte fatty acid binding protein 2 , πρωτεΐνη 2 δέσμησης των λιπαρών οξέων του λιποκυττάρου
ATP	adenosine triphosphate , τριφωσφορική αδενοσίνη
3OHB	3-β-hydroxybutyrate , 3-β-υδροξυβουτυρικό οξύ
CAT I	carnitine acyl-transferase I , ακυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης I
CAT II	carnitine acyl-transferase II , ακυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης II
CE	cholesterol esters , εστέρες χοληστερόλης
CETP	cholesterol ester transfer protein , πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης
CHYL	chylomicrons , χυλομικρά
CoA	coenzyme A , συνένζυμο A
CPT I	carnitine palmityl-transferase I , παλμιτυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης I
CPT II	carnitine palmityl-transferase II , παλμιτυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης II
DAGs	diacylglycerols , διακυλ-γλυκερόλες
ERK	extra-cellular signal-regulated kinase , κινάση ρυθμιζόμενη από εξωκυττάρια σήματα
ETF	electron transfer flavoprotein , φλαβοπρωτεΐνη μεταφοράς ηλεκτρονίων
FABPm	fatty acid binding protein mitochondrial , μιτοχονδριακή πρωτεΐνη συνδεδεμένη με λιπαρά οξέα
FADH2	reduced flavin adenine dinucleotide , αναχθέν φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
FC	free carnitine , ελεύθερη καρνιτίνη
FFA	free fatty acids , ελεύθερα λιπαρά οξέα
GD	gestational diabetes mellitus , σακχαρώδης διαβήτης της κύησης
GH	growth hormone , αυξητική ορμόνη
HDL	high density lipoprotein , λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
HL	hepatic lipase , ηπατική λιπάση
3HBDH	3'-hydroxybutyrate dehydrogenase , 3'-υδροξυβουτυρική αφυδρογονάση
HMG	3-hydroxy-3-methylglutarate , 3-υδροξυ-3-μεθυλ-γλουταρικό οξύ
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methylglutarate-CoA , συνένζυμο A του 3-υδροξυ-3-μεθυλ-γλουταρικού οξέος
hPL	human placental lactogen , ανθρώπινο πλακουντιακό γαλακτογόνο
HSL	hormone sensitive lipase , ορμονο-ευαίσθητη λιπάση
IRS-1	insulin receptor substrate-1 , υπόστρωμα 1 του υποδοχέα της ινσουλίνης
KB	ketone bodies , κετονικά σωματίδια
LA	lactate , γαλακτικό οξύ
LCFA	long chain fatty acids , λιπαρά οξέα μακράς αλύσου
LDL	low density lipoprotein , λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
LPL	lipoprotein lipase , λιποπρωτεϊνική λιπάση
MCD	malonyl-CoA decarboxylase , αποκαρβοξυλάση του μηλονυλ-CoA
MCFA	medium chain fatty acids , μέσης αλύσου λιπαρά οξέα
mHS	mitochondrial HMG-CoA synthase , μιτοχονδριακή συνθάση του HMG-CoA
mHL	mitochondrial HMG-CoA lyase , μιτοχονδριακή λυάση του HMG-CoA
NADH	reduced nicotinamide adenine dinucleotide , αναχθέν νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
NNP	normal non-pregnant , ομάδα φυσιολογικών γυναικών εκτός κύησης
NP	normal pregnant , φυσιολογικές έγκυες γυναίκες
PDH	pyruvate dehydrogenase , πυροσταφυλική αφυδρογονάση
PRL	prolactin , προλακτίνη
SCOT	short chain 3-oxoacyl-CoA thiolase , θειολάση βραχείας αλύσου του 3-οξοακυλ-CoA
T2	mitochondrial AcAcCoA thiolase , μιτοχονδριακή θειολάση του ακετυλο-ακυλ-CoA
TAGs	triacylglycerols , τριακυλ-γλυκερόλες
TC	total carnitine , ολική καρνιτίνη
TGs	triglycerides , τριγλυκερίδια
TML	trimethyl-lysine , ελεύθερη τριμεθυλ-λυσίνη
VLCFA	very long chain fatty acids , λιπαρά οξέα πολύ μακράς αλύσου
VLDL	very low density lipoprotein , λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

1.1 Μεταβολισμός μετά τη λήψη

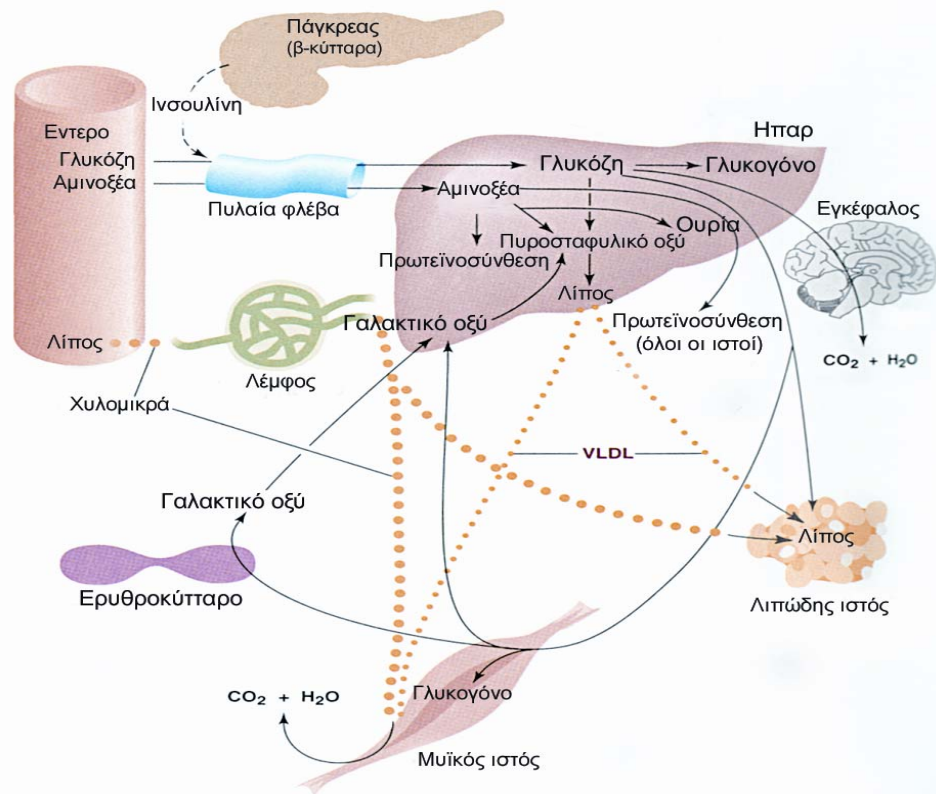
1.2 Μεταβολισμός κατά τη

1.3 Μεταβολισμός μετά τη λήψη τροφής αμέσως μετά

1.4 Μεταβολισμός κατά τη φυσιολογική κύηση

1.1 Μεταβολισμός Μετά τη Λήψη Τροφής (1,2)

Οι τρεις κύριες κατηγορίες θρεπτικών ουσιών που προσλαμβάνει ο οργανισμός με την τροφή είναι οι υδατάνθρακες, τα λίπη και οι πρωτεΐνες. Οι υδατάνθρακες που προέρχονται από την τροφή διακρίνονται σε τρεις μορφές: πολυσακχαρίτες (π.χ. άμυλο), δισακχαρίτες (π.χ. λακτόζη) και μονοσακχαρίτες (π.χ. γλυκόζη). Μετά την κατάποση, όλοι οι υδατάνθρακες διασπώνται σε μονοσακχαρίτες και απορροφώνται κυρίως από το λεπτό έντερο. Από εκεί, μεταφέρονται μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας στη συστηματική κυκλοφορία. Με τον τρόπο αυτό η γλυκόζη φθάνει στο πάγκρεας και έρχεται σε επαφή με τα β-κύτταρα των νησιδίων του Langerhans. Η επαφή αυτή επάγει την έκκριση της ινσουλίνης, που θα οδηγήσει τη γλυκόζη μέσα στα κύτταρα για να οξειδωθεί και να παραχθεί ενέργεια, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1-1.



Σχήμα 1-1. Κατανομή της γλυκόζης, των αμινοξέων και των λιπών στους διάφορους ιστούς σε κατάσταση επαρκούς σίτισης.

Το ήπαρ, διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην διαχείριση της γλυκόζης της τροφής. Στο ηπατικό κύτταρο, η γλυκόζη (και οι άλλες εξόζες) εισέρχεται χωρίς την μεσολάβηση της ινσουλίνης και φωσφορυλιώνεται. Η φωσφορυλίωση γίνεται με δύο ένζυμα:

- την εξοκινάση που δεν χρειάζεται ινσουλίνη για να δράσει και

- την γλυκοκινάση. Η γλυκοκινάση ευρίσκεται μόνο στο ηπατικό κύτταρο και ενεργοποιείται, είτε όταν τα επίπεδα γλυκόζης είναι υψηλά, είτε απ' ευθείας από την ινσουλίνη.

Οι υπόλοιπες εξόζες φωσφορυλιώνονται με τη βοήθεια ανάλογων ενζύμων. Μετά τη φωσφορυλίωση οι φωσφορυλιωμένες εξόζες ακολουθούν τρεις διακριτές οδούς:

- είσοδος στον κύκλο του Krebs (κύκλος του κιτρικού οξέος ή των τρικαρβοξυλικών οξέων) στα μιτοχόνδρια των ηπατικών κυττάρων παρουσία οξυγόνου (αερόβιος γλυκόλυση) και παραγωγή ενέργειας για τις λειτουργίες του ηπατοκυττάρου
- γλυκογονοσύνθεση εφ' όσον το ηπατοκύτταρο έχει καλυφθεί ενεργειακά και παρουσία ινσουλίνης η οποία ενεργοποιεί τη συνθετάση του γλυκογόνου. Το γλυκογόνο είναι ένας πολυσακχαρίτης με μεγάλο αριθμό μορίων γλυκόζης που αποτελεί την αποθήκη της γλυκόζης
- λιποσύνθεση. Όταν το ηπατικό κύτταρο είναι κορεσμένο από γλυκογόνο και ενέργεια, οι φωσφορυλιωμένες εξόζες σχηματίζουν πυροσταφυλικό οξύ το οποίο μετατρέπεται σε ακετυλ-CoA (ακετυλ-συνένζυμο A). Στη συνέχεια το ακετυλ-CoA δεν εισέρχεται στον κύκλο του Krebs, αλλά σχηματίζει λιπαρά οξέα, χρησιμοποιώντας γλυκερόλη που επίσης προέρχεται από τον μεταβολισμό των φωσφορυλιωμένων εξοζών. Έτσι σχηματίζονται μονο-, δι- και τριγλυκερίδια που με την βοήθεια των VLDL λιποπρωτεϊνών, μεταφέρονται στα λιποκύτταρα (Σχήμα 1-1). Στην επιφάνεια των λιποκυττάρων τα τριγλυκερίδια υδρολύονται σε λιπαρά οξέα και γλυκερόλη και εισέρχονται στο λιποκύτταρο. Η υδρόλυση αυτή καταλύεται από την λιποπρωτεϊνική λιπάση που δρα με τη βοήθεια της ινσουλίνης. Τα λιπαρά οξέα και η γλυκερόλη μέσα στο λιποκύτταρο επανασυντίθενται προς τριγλυκερίδια με τη βοήθεια της ινσουλίνης. Η λιπογένεση στο ήπαρ μετά το γεύμα, επιτελείται και από άλλα υποστρώματα εκτός της γλυκόζης, όπως το γαλακτικό οξύ, το πυροσταφυλικό οξύ και τα αμινοξέα.

Ένα σημαντικό ποσοστό από τη γλυκόζη που απορροφάται από το έντερο και διέρχεται από το ήπαρ, κατανέμεται σε άλλα όργανα, όπως ο εγκέφαλος και οι όρχεις (των οποίων οι ενεργειακές ανάγκες εξυπηρετούνται σχεδόν αποκλειστικά από τη γλυκόζη), τα ερυθρά αιμοσφαίρια, η μυελώδης μοίρα των νεφρών (που περιορίζονται μόνο στο να μετατρέψουν την γλυκόζη σε πυροσταφυλικό και γαλακτικό οξύ), ο λιπώδης ιστός, οι μυς κ.α. Η γλυκόζη είναι η κύρια ενεργειακή πηγή των κυττάρων του εγκεφάλου, στα οποία εισέρχεται χωρίς τη μεσολάβηση της ινσουλίνης. Ο εγκέφαλος καταναλώνει 6 g γλυκόζης ανα 1 h σταθερά και ανεξάρτητα από τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα. Όση γλυκόζη δεν χρησιμοποιεί ο εγκέφαλος, κατανέμεται στα υπόλοιπα όργανα (Σχήμα 1-1).

Όταν υπάρχει επάρκεια γλυκόζης στον οργανισμό το ήπαρ την χρησιμοποιεί κατά προτεραιότητα και αναστέλλει τη νεογλυκογένεση. Έτσι το πυροσταφυλικό και το γαλακτικό οξύ που παράγονται από διάφορους ιστούς κατά τη χρήση της

γλυκόζης, όταν επανέρχονται στο ήπαρ, μετατρέπονται σε τριακυλογλυκερόλες και ο κύκλος του Cori διακόπτεται. Επισημαίνεται ότι ο κύκλος του Cori αφορά την μετατροπή στους περιφερικούς ιστούς της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ και το αντίστροφο στο ήπαρ.

Στο μυϊκό κύτταρο, η γλυκόζη εισέρχεται με τη βοήθεια της ινσουλίνης. Μέσα στο μυϊκό κύτταρο η γλυκόζη μπορεί να ακολουθήσει δυο μεταβολικές οδούς:

- φωσφορυλίωση και είσοδο στον κύκλο του Krebs για την παραγωγή ενέργειας για τις ανάγκες των μυϊκών κυττάρων. Οι φωσφορυλιωμένη γλυκόζη πριν εισέλθει στον κύκλο του Krebs, μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό οξύ. Όταν οι συγκεντρώσεις πυροσταφυλικού οξέος ξεπερνούν τις δυνατότητες του κύκλου του Krebs, ή εάν δεν υπάρχει αρκετό οξυγόνο, τότε το πυροσταφυλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ (ανασερόβιος γλυκόλυση).
- γλυκογονοσύνθεση παρουσία ινσουλίνης και εφ' όσον υπάρχει περίσσεια γλυκόζης στο μυϊκό κύτταρο. Η σύνθεση γλυκογόνου γίνεται με τον ίδιο τρόπο όπως στο ηπατοκύτταρο και έχει ως στόχο την αποθήκευση ενέργειας.

Στο λιποκύτταρο η γλυκόζη εισέρχεται με τη βοήθεια της ινσουλίνης. Εκεί σχηματίζει τριγλυκερίδια (όπως και στο ηπατοκύτταρο), τα οποία αποθηκεύονται και διατηρούνται στο λιποκύτταρο πάλι υπό την επίδραση της ινσουλίνης.

Τα λίπη γαλακτοποιούνται στο έντερο, με τη βοήθεια του ταυροχολικού και του γλυκοχολικού οξέος και μετατρέπονται σε μικρά σταγονίδια που εκτίθενται στη δράση των υδατοδιαλυτών λιπασών. Με την δράση της παγκρεατικής λιπάσης, υδρολύονται σε μονογλυκερίδια, FFA και γλυκερόλη. Αυτά απορροφώνται από το εντερικό τοίχωμα και επανασχηματίζονται τριγλυκερίδια τα οποία εισέρχονται στην κυκλοφορία με τη μορφή τριγλυκεριδίων ή χυλομικρών, μέσω του λεμφικού συστήματος (θωρακικός πόρος) και της πυλαίας κυκλοφορίας (Σχήμα 1-1). Ένα μικρό ποσοστό χυλομικρών μεταφέρεται στα ηπατικά κύτταρα όπου σχηματίζονται οι λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (Very Low Density Lipoproteins, VLDL) και εξέρχονται προς την κυκλοφορία και τα λιποκύτταρα. Το μεγαλύτερο ποσοστό χυλομικρών και VLDL, κατευθύνεται στα λιποκύτταρα (Σχήμα 1-1). Στην κυτταρική μεμβράνη των λιποκυττάρων τόσο τα χυλομικρά όσο και οι VLDL, υπόκεινται σε λιπόλυση μέσω μιας λιπάσης που ενεργοποιείται από την ινσουλίνη. Τα FFA όπως και η γλυκερόλη που παράγονται, αποθηκεύονται στο εσωτερικό του κυττάρου.

Τα λευκώματα μετά την κατάποση τους, διασπώνται αρχικά σε πεπτίδια και κατόπιν σε ελεύθερα αμινοξέα που απορροφώνται από το έντερο και μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας, εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία. Έτσι μεταφέρονται στα μυϊκά κύτταρα και τα λιποκύτταρα στα οποία εισέρχονται με τη βοήθεια της ινσουλίνης, όπου με τη δράση της επιτελείται και η πρωτεϊνοσύνθεση στα ριβοσώματα.

Επιπλέον, στα ηπατικά κύτταρα τα αμινοξέα και κυρίως τα μη απαραίτητα μπορούν να:

- εισέλθουν στον κύκλο του Krebs για να παραχθεί ενέργεια

- απαμινωθούν και μέσω του ακετυλ-CoA να συντεθούν λιπαρά οξέα (κετογόνα αμινοξέα). Αυτή την οδό κυρίως ακολουθεί και η λευκίνη που μολαταύτα είναι απαραίτητο αμινοξύ.

1.2 Μεταβολισμός Κατά τη Νηστεία (3,4)

Σε φάση νηστείας, εφ' όσον ο οργανισμός δεν τροφοδοτείται με ενεργειακή πρώτη ύλη, και το γλυκογόνο του ήπατος έχει εξαντληθεί, το σώμα εξαρτάται ενεργειακά από την ηπατική παραγωγή γλυκόζης με υποστρώματα όπως το γαλακτικό οξύ, τη γλυκερόλη και την αλανίνη. Ο κύκλος του Cori και της αλανίνης, οι οποίοι συνεισφέρουν ένα σημαντικό κομμάτι στη διαδικασία διατήρησης των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα, δεν επαρκούν. Αυτό συμβαίνει, διότι η γλυκόζη που σχηματίζεται από γαλακτικό οξύ και αλανίνη στο ήπαρ, αντικαθιστά οριακά το ποσόν της γλυκόζης που μετατρέπεται σε αλανίνη και γαλακτικό οξύ στην περιφέρεια. Από την άλλη μεριά η γλυκερόλη που προέρχεται από την ενεργοποίηση της λιπόλυσης, είναι σημαντικό υπόστρωμα για την παραγωγή γλυκόζης, χωρίς να αγνοούμε ότι το μεγαλύτερο ποσό γλυκόζης προέρχεται από τις πρωτεΐνες των σκελετικών μυών. Κατά τη νηστεία (Σχήμα 1-2) πέντε βασικά γεγονότα λαμβάνουν χώρα:

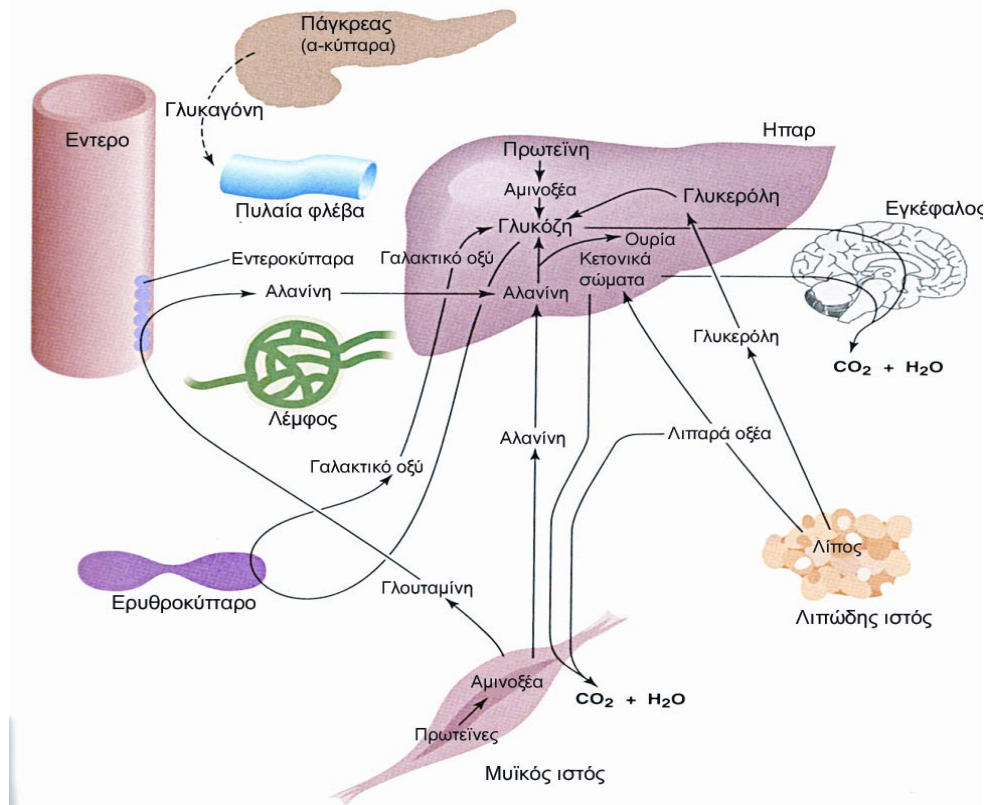
1. μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα, γιατί χρησιμοποιείται σαν υπόστρωμα για την παραγωγή ενέργειας από ιστούς που δεν μπορούν να χρησιμοποιήσουν λιπαρά οξέα (συνεχής κατανάλωση από τον εγκέφαλο)
2. μείωση των επιπέδων ινσουλίνης στο πλάσμα λόγω παύσης του ερεθίσματος της γλυκόζης στα β-κύτταρα των νησιδίων του Langerhans του παγκρέατος
3. έκκριση γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος, λόγω χαμηλών επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης
4. έκκριση επινεφρίνης από τη μυελώδη μοίρα των επινεφριδίων
5. μείωση της έκκρισης της τριϊωδοθυρονίνης που οδηγεί σε μείωση των ενεργειακών αναγκών κατά 25%.

Σκοπός λοιπόν κατά τη διάρκεια της νηστείας, είναι η επάνοδος της γλυκόζης στην κυκλοφορία και η διατήρηση των επιπέδων της σε σταθερές τιμές καθώς και η ενεργειακή κάλυψη των ιστών (Σχήμα 1-2). Για τον λόγο αυτό στα μυϊκά κύτταρα ενεργοποιούνται οι εξής βιοχημικές διαδικασίες:

- Πρωτεϊνόλυση. Η υδρόλυση των πρωτεϊνών απελευθερώνει κυρίως αλανίνη και γλουταμίνη, αλλά και άλλα αμινοξέα, τα οποία μεταβολίζονται επί τόπου σε πυροσταφυλικό και α-κετογλουταρικό οξύ και ακολούθως σε αλανίνη και γλουταμίνη. Ένα μέρος της γλουταμίνης από τους μυς μεταφέρεται στο έντερο όπου χρησιμοποιείται για τις τοπικές ενεργειακές ανάγκες, μεταβολιζόμενη σε αλανίνη και NH_4^+ . Η γλουταμίνη αποτελεί επίσης και την κύρια πηγή ενέργειας των λεμφοκυττάρων. Η αλανίνη που προκύπτει εν τέλει, εισέρχεται στο ηπατοκύτταρο και

συμμετέχει στη νεογλυκογένεση. Νεογλυκογένεση από τα γλυκονεογεννητικά αμινοξέα στο ήπαρ, γίνεται μέσω του ενολ-πυροσταφυλικού οξέος, οπότε παράγονται φωσφορυλιωμένες εξόζες, που αποφωσφορυλιώνονται με την επίδραση της γλυκοζο-6-φωσφατάσης και απελευθερώνονται στο αίμα ως γλυκόζη.

- Αναερόβιος γλυκόλυση και παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο εν συνεχεία μεταφέρεται στο ηπατοκύτταρο και χρησιμοποιείται στη νεογλυκογένεση μέσω οξειδωσης σε πυροσταφυλικό οξύ (κύκλος Cori).



Σχήμα 1-2. Μεταβολικές αλληλεπιδράσεις των πλέον σημαντικών ιστών σε κατάσταση νηστείας.

Ο λιπώδης ιστός είναι πολύ σημαντικός κατά τη διάρκεια της νηστείας. Τα χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα ενεργοποιούν την λιπόλυση και απελευθερώνουν στην κυκλοφορία ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία χρησιμοποιούνται ως καύσιμα από πολλούς ιστούς (π.χ. καρδιά, μυς κ.α.) και αναστέλλουν την γλυκόλυση και την οξειδωση του πυροσταφυλικού οξέος. Έτσι το λιποκύτταρο στη νηστεία, αντιδρά με λιπόλυση και μεταφορά γλυκερόλης και ελεύθερων λιπαρών οξέων προς το ηπατοκύτταρο. Στη συνέχεια:

- Η γλυκερόλη συμμετέχει στη νεογλυκογένεση στο ηπατοκύτταρο
- Ένα μέρος των ελεύθερων λιπαρών οξέων μετατρέπονται σε ακετυλ-CoA και οξειδώνονται. Η οξειδωση των λιπών στο ήπαρ παράγει αφ' ενός μεν ενέργεια για

τη νεογλυκογένεση, δεδομένου ότι ο κύκλος του Krebs δεν λειτουργεί λόγω έλλειψης ινσουλίνης και αφ' ετέρου οδηγεί στον σχηματισμό κετονικών σωμάτων, τα οποία απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και χρησιμοποιούνται όπως και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αντί της γλυκόζης. Τα κετονοσώματα καταστέλλουν την πρωτεϊνόλυση και μειώνουν την απελευθέρωση αλανίνης.

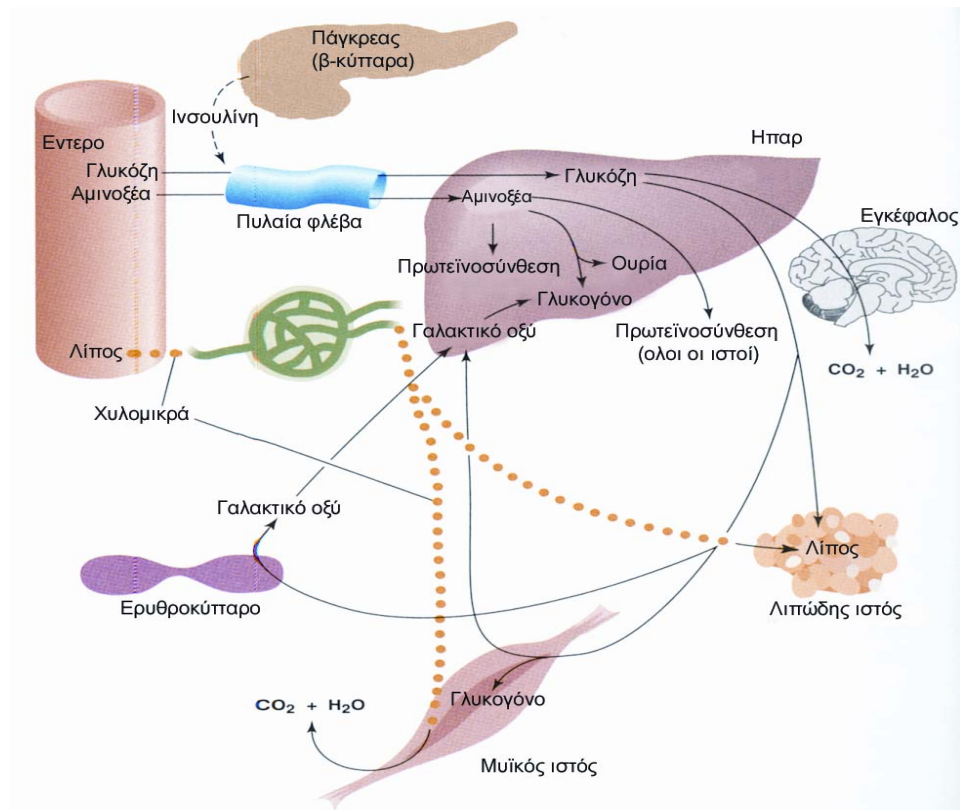
- Το υπόλοιπο μέρος των ελεύθερων λιπαρών οξέων, μετατρέπεται σε τριγλυκερίδια και είτε αποθηκεύεται στο ήπαρ ή μεταφέρεται στην κυκλοφορία.

Τέλος στο ηπατοκύτταρο αρχίζει η:

1. γλυκογονόλυση λόγω ενεργοποίησης της φωσφορυλάσης, παρουσία γλυκαγόνης (προερχόμενης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος) και ελλείψει ινσουλίνης που την καταστέλλει. Έτσι απελευθερώνονται φωσφορυλιωμένες εξόζες οι οποίες αποφωσφορυλιώνονται και εισέρχονται στην κυκλοφορία.
2. νεογλυκογένεση προερχόμενη από:
 - από-φωσφορυλίωση εξοζών μέσω γλυκόζο-6-φωσφατάσης (που επισυμβαίνει μόνο στο ήπαρ και τον νεφρό) ενεργοποιούμενη από τα χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης και τη γλυκαγόνη και έχει σαν σκοπό την παροχή γλυκόζης στην κυκλοφορία.
 - τη γλυκερόλη, προερχόμενη από τον λιπώδη ιστό.

1.3 Μεταβολισμός Μετά τη Λήψη Τροφής Αμέσως Μετά από Νηστεία (5)

Η λήψη τροφής μετά από νηστεία έχει σαν άμεσο αποτέλεσμα την αποκατάσταση του μεταβολισμού του λίπους και την επανεκκίνηση του μεταβολισμού της γλυκόζης με βραδύτερους ρυθμούς, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 1-3. Έτσι, ενώ οι τριακυλγλυκερόλες συνεχίζουν να μεταβολίζονται όπως περιγράφηκε ανωτέρω, η παροχή γλυκόζης από το ήπαρ είναι μικρή και ουσιαστικά το ήπαρ παραμένει σε νεογλυκογεννητική φάση για μερικές ώρες μετά το γεύμα. Αυτό σημαίνει, ότι το γλυκογόνο του ήπατος μετά τη νηστεία δεν συντίθεται κατά κύριο λόγο από τη γλυκόζη του αίματος. Αντίθετα, η γλυκόζη μεταβολίζεται στους περιφερικούς ιστούς σε γαλακτικό οξύ το οποίο επιστρέφει στο ήπαρ και μετατρέπεται σε 6-φωσφορική γλυκόζη και ακολούθως σε γλυκογόνο. Τα αμινοξέα που προέρχονται από τη διάσπαση των πρωτεϊνών των τροφών, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση των επιπέδων του γλυκογόνου. Σταδιακά μειώνεται η νεογλυκογένεση και προοδευτικά αυξάνεται η γλυκόλυση, οπότε αποκαθίσταται η επάρκεια γλυκόζης στο ήπαρ και το γλυκογόνο αρχίζει να σχηματίζεται πάλι από τη γλυκόζη του αίματος.



Σχήμα 1-3. Μεταβολικές αλληλεπιδράσεις των πλέον σημαντικών ιστών σε κατάσταση πρώιμης επανασίτισης.

1.4 Μεταβολισμός Κατά τη Φυσιολογική Κύηση

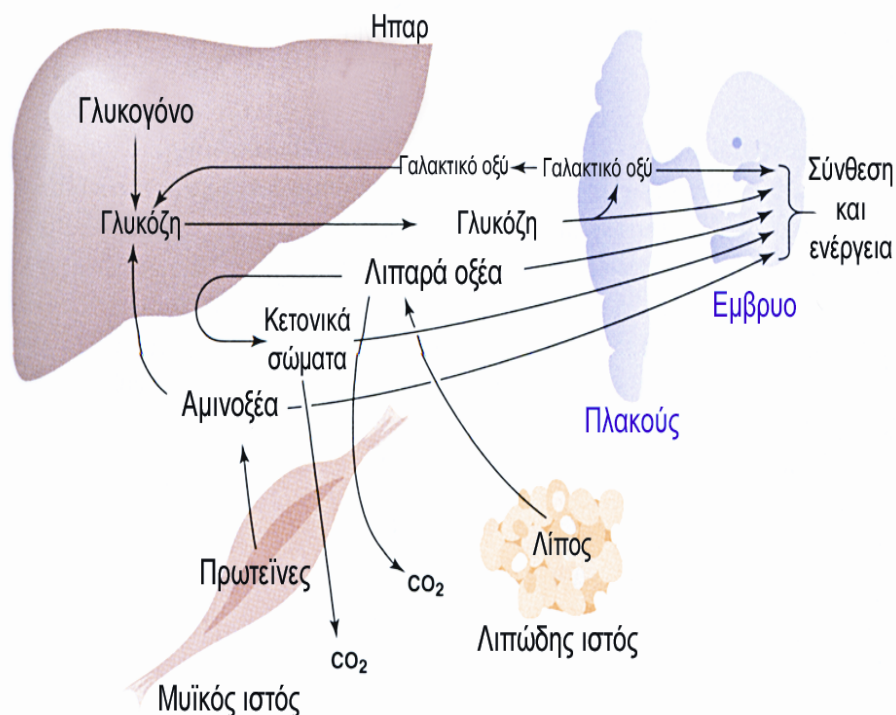
Κατά την διάρκεια της φυσιολογικής κύησης, επισυμβαίνουν έντονες αναβολικές μεταβολές στη μητέρα, που μαζί με τις άλλες ανατομικές και λειτουργικές αλλαγές, συμβάλλουν στην ανάπτυξη του εμβρύου, τη διατήρηση της ομοιόστασης της μητέρας και την προετοιμασία για τη γαλουχία. Προκειμένου να επιτευχθούν οι ανωτέρω στόχοι, κινητοποιούνται στον οργανισμό

συγκεκριμένες διαδικασίες με σκοπό την:

- 1. αποθήκευση ενέργειας και θρεπτικών στοιχείων**
- 2. ανακατανομή των στοιχείων μεταξύ των ιστών**
- 3. αύξηση του ρυθμού του μεταβολισμού**

Οι ρυθμίσεις αυτές μεταβάλλονται ανά πάσα στιγμή από τις ορμονικές μεταβολές της μητέρας, από τις ενεργειακές απαιτήσεις του εμβρύου και από την παροχή προς αυτό θρεπτικών συστατικών από τη μητέρα, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα

1-4.



Σχήμα 1-4. Μεταβολικές αλληλεπιδράσεις των ιστών μεταξύ εγκύου και εμβρύου κατά τη διάρκεια της κύησης.

Το πρώτο ήμισυ της κύησης αποτελεί μια περίοδο προετοιμασίας για τις εβδομάδες που θα ακολουθήσουν και κατά τις οποίες το έμβρυο θα έχει αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις λόγω της ταχείας ανάπτυξης του. Οι μεταβολικές προσαρμογές ξεκινούν σταδιακά από τις πρώτες εβδομάδες της κύησης. Τόσο οι ορμόνες του πλακούντα όσο και το ωχρο σωματίο, επηρεάζουν τον μεταβολισμό της εγκύου. (40).

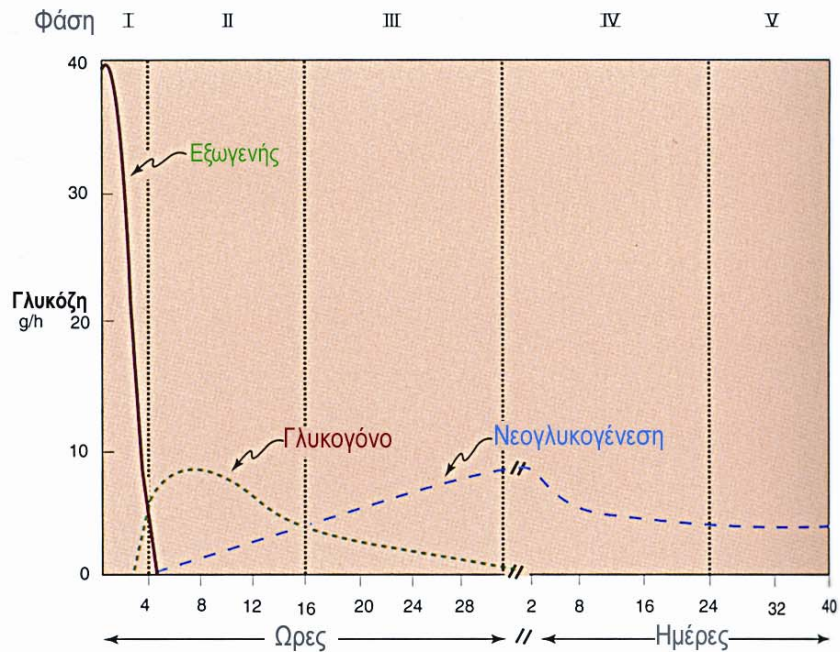
Στην αρχή της κύησης, η βασική ηπατική παραγωγή γλυκόζης είναι φυσιολογική και η ανοχή στη γλυκόζη είναι είτε φυσιολογική ή ελαφρά αυξημένη. Οι βασικές συγκεντρώσεις γλυκόζης πλάσματος δεν διαφέρουν σημαντικά από εκείνες πριν από την κύηση. (40).

Φυσιολογική είναι επίσης και η βασική συγκέντρωση ινσουλίνης στο πλάσμα, καθώς και η περιφερική (μυϊκή) ευαισθησία στην ινσουλίνη. Η απάντηση της ινσουλίνης στην χορήγηση γλυκόζης από του στόματος, είναι μεγαλύτερη στο πρώτο τρίμηνο από ό,τι πριν την κύηση. Έτσι κατά την 12^η-14^η εβδομάδα της κύησης, παρατηρείται αύξηση κατά 120% στην πρώτη φάση έκκρισης της ινσουλίνης*. Η δεύτερη φάση έκκρισης της ινσουλίνης** δεν διαφέρει σημαντικά την περίοδο αυτή, από ό,τι πριν από την κύηση.

* Η πρώτη φάση έκκρισης της ινσουλίνης, αναφέρεται στην αύξηση της ινσουλίνης παράλληλα με την αυξανόμενη συγκέντρωση της γλυκόζης, μεταξύ 0-5 min μετά την χορήγηση γλυκόζης ενδοφλεβίως.

** Η δεύτερη φάση έκκρισης της ινσουλίνης, αναφέρεται στο ρυθμό έκκρισης της ινσουλίνης σε σχέση με τις συγκεντρώσεις γλυκόζης 5-60 min, μετά την χορήγηση γλυκόζης ενδοφλεβίως.

Στο παρατιθέμενο Σχήμα 1-5, απεικονίζονται οι πέντε φάσεις της ομοιόστασης της γλυκόζης μετά από εξωγενή χορήγησή της στον άνθρωπο, σε φυσιολογική κατάσταση εκτός κήσης. Η ερμηνεία του φαινομένου της αυξημένης έκκρισης ινσουλίνης σε έδαφος φυσιολογικής περιφερικής ευαισθησίας στην ινσουλίνη και φυσιολογικής βασικής ηπατικής παραγωγής γλυκόζης, δεν έχει αποσαφηνισθεί.



Φάση	Πρόελευση Γλυκόζης Αίματος	Ιστοί που Χρησιμοποιούν Γλυκόζη	Κύριο Καύσιμο Εγκεφάλου
I	Εξωγενής	Ολοι	Γλυκόζη
II	Γλυκογόνο Ηπατική νεογλυκογένεση	Ολοι εκτός ήπατος. Μύς και λιπώδης ιστός ελάχιστα	Γλυκόζη
III	Ηπατική νεογλυκογένεση. Γλυκογόνο	Ολοι εκτός ήπατος. Μύς και λιπώδης ιστός σε ενδιάμεσους ρυθμούς	Γλυκόζη
IV	Νεφρική και ηπατική νεογλυκογένεση	Εγκέφαλος, ερυθροκύτταρα, μυελώδης μοίρα νεφρού. Μικρά ποσά από μύς	Γλυκόζη, Κετονικά σώματα
V	Ηπατική και νεφρική νεογλυκογένεση	Εγκέφαλος σε μειωμένο ρυθμό. Ερυθροκύτταρα, μυελώδης μοίρα νεφρού	Κετονικά σώματα, Γλυκόζη

Σχήμα 1-5. Οι πέντε φάσεις της ομοιόστασης της γλυκόζης στον άνθρωπο.

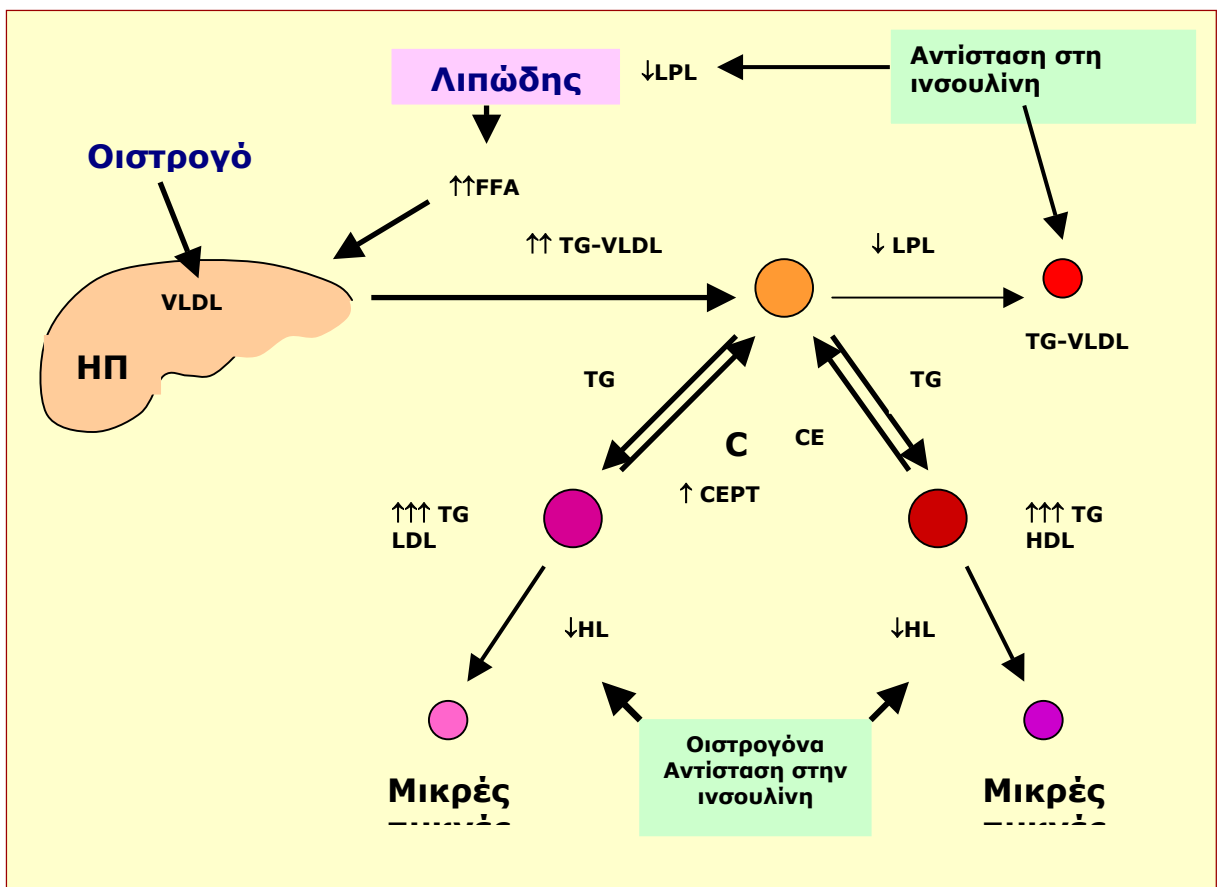
Το συγκεκριμένο μεταβολικό περιβάλλον της κύησης, υπό την επίδραση της κορτιζόλης, των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, ευνοεί την λιπογένεση και την αποθήκευση λίπους. Οι αποθήκες λίπους της μητέρας, συσσωρεύουν λίπος από την 10^η έως την 30^η εβδομάδα (6-8). Τα λιπίδια του πλάσματος, μετά από μια αρχική μείωση των επιπέδων τους μέχρι την 8^η εβδομάδα κύησης, αρχίζουν να αυξάνονται. Από τη 10^η εβδομάδα κύησης και μετά, οι συγκεντρώσεις των τριακυλογλυκερολών (triacilglycerols, TAGs) στο πλάσμα των εγκύων, είναι 20% υψηλότερες σε σχέση με τις συγκεντρώσεις τους εκτός εγκυμοσύνης και οι τιμές αυτές τριπλασιάζονται στο τέλος της κύησης. Άλλα λιπίδια, όπως τα φωσφολιπίδια, η χοληστερόλη, η γλυκερόλη και τα FFA αυξάνονται κατά την διάρκεια της κύησης, αλλά όχι τόσο όσο οι TAGs. Υπεύθυνα για την υπερτριγλυκεριδαιμία της κύησης είναι τα υψηλά επίπεδα ιστογόνων, σε συνδυασμό με την αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη (40).

Η χοληστερόλη κατά τη διάρκεια της κύησης, χρησιμοποιείται από τον πλακούντα για τη σύνθεση στεροειδών ορμονών, ενώ τα FFA χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας μέσω οξειδωσης και τον σχηματισμό κυτταρικών μεμβρανών. Οι μεταβολές στα επίπεδα της χοληστερόλης αντανακλούν διάφορες μεταβολές στα κλάσματα των λιποπρωτεϊνών (VLDL, HDL και LDL). Η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein, HDL) αυξάνεται μέχρι τη 12^η εβδομάδα της κύησης, ως απάντηση στην αύξηση των οιστρογόνων και παραμένει αυξημένη μέχρι το τέλος της κύησης (9). Η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein LDL) αρχικά μειώνεται και ακολούθως στο 2^ο και 3^ο τρίμηνο αυξάνεται. Η επίδραση της ηπατικής λιπάσης στις LDL - παρά το ότι η δραστηριότητα του ενζύμου είναι μικρή κατά τη διάρκεια της κύησης - έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία πυκνών και μικρών κλασμάτων LDL.

Κατά τον ίδιο τρόπο, οι VLDL και οι TAGs μειώνονται τις πρώτες 8 εβδομάδες και κατόπιν αυξάνονται συνεχώς μέχρι το τέλος της κύησης. Στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, η κάθαρση των VLDL μεταβάλλεται, λόγω του ότι μειώνεται η δραστηριότητα της πρωτεϊνικής λιπάσης στο υποδόριο λίπος και το ήπαρ και αυξάνεται η δραστηριότητα της στον πλακούντα. Μετά το γεύμα, η δραστηριότητα της ηπατικής πρωτεϊνικής λιπάσης είναι χαμηλή, ενώ αυξάνεται σε κατάσταση νηστείας, με αποτέλεσμα να απελευθερώνονται στην κυκλοφορία τα FFA και να αυξάνεται η παραγωγή κετονών στη διάρκεια που η παροχή γλυκόζης είναι χαμηλή (7).

Οι TAGs συσσωρεύονται όχι μόνο στις VLDL αλλά και στις LDL και τις HDL. Αυτές οι αλλαγές οφείλονται τόσο στην αυξημένη σύνθεση όσο και στην μειωμένη κάθαρση των TAGs από τις λιποπρωτεΐνες. Η αυξημένη σύνθεση κυρίως σε επίπεδο ήπατος ενισχύεται από τη δράση των οιστρογόνων, ενώ η ελαττωμένη δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και της ηπατικής λιπάσης οδηγούν σε μείωση της απόσπασης τους από τις λιποπρωτεΐνες.

Η αυξημένη περιεκτικότητα των VLDL σε TAGs, οδηγεί σε ταχεία μεταφορά TGs στις HDL, τα οποία τα ανταλλάσσουν με χοληστερόλη, με τη βοήθεια της πρωτεΐνης που μεταφέρει τους εστέρες της χοληστερόλης (cholesterol ester transfer protein, CETP). Η μείωση της δραστικότητας της ηπατικής λιπάσης οδηγεί στο σχηματισμό μεγαλύτερων μορίων HDL, πλούσιων σε TAGs, που όμως είναι λιγότερο πυκνές. Αυτό τυπικά, συναντάται σε προχωρημένα στάδια της κύησης (10-17). Οι αλλαγές αυτές, στο μεταβολισμό των λιπών και των λιποπρωτεϊνών, έχουν ως σκοπό, την αποθήκευση λίπους στη μητέρα κατά το πρώτο και το δεύτερο τρίμηνο και την κινητοποίηση του κατά το τρίτο τρίμηνο. (Σχήμα 1-6).



Σχήμα 1-6. Σχηματική απεικόνιση των μεταβολών στο λιποπρωτεϊνικό πρότυπο της εγκύου κατά τη διάρκεια της κύησης.

Συνομογραφίες:

LPL= λιποπρωτεϊνική λιπάση, CE = εστέρες χοληστερόλης, HL = ηπατική λιπάση, TG = τριγλυκερίδια, CETP = πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης, HDL = λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, LDL = λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, VLDL = λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας.

Καθώς η κύηση προχωρά, αυξάνεται σταδιακά η μεταγευματική απάντηση της ινσουλίνης και αρχίζει να εξελίσσεται μια ελάσσονα διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης, συνεπεία της προοδευτικά αυξανόμενης αντίστασης στην ινσουλίνη. Η βασική και η μεταγευματική συγκέντρωση της ινσουλίνης αυξάνονται προοδευτικά. Στο τρίτο τρίμηνο, η βασική και η 24 h μέση συγκέντρωση ινσουλίνης διπλασιάζονται περίπου, ενώ η πρώτη και η δεύτερη φάση έκκρισης της ινσουλίνης αυξάνονται κατά 3-3.5 φορές σε σχέση με τις μη έγκυες γυναίκες (6).

Οι ορμόνες της κύησης στη φάση αυτή, ασκούν αντι-ινσουλινογόνο δράση με λιπολυτικό αποτέλεσμα και προτάσσουν τα λιπαρά οξέα ως κύριες πηγές ενέργειας. Η δράση της ινσουλίνης στο τέλος μιας φυσιολογικής κύησης είναι ελαττωμένη κατά 50-70% (6-8,18,19).

Η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη, τυπικά εμφανίζεται στο 2^ο και 3^ο τρίμηνο της κύησης και είναι πιο έκδηλη σε επίπεδο σκελετικών μυών παρά σε επίπεδο λιπώδους ιστού. Και οι παχύσαρκες έγκυες γυναίκες, αναπτύσσουν αύξηση της περιφερικής και ηπατικής αντίστασης στην ινσουλίνη κατά το τρίτο τρίμηνο. Σε αυτές τις γυναίκες, η απορρόφηση γλυκόζης μέσω ινσουλίνης από τους ιστούς, η οξειδωση των υδατανθράκων και η καταστολή της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης κυμαίνονται σε χαμηλότερα επίπεδα στο τρίτο τρίμηνο σε σχέση με το δεύτερο (20).

Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός της αύξησης της αντίστασης στην ινσουλίνη δεν είναι γνωστός, πιθανολογείται ότι οι ορμονικές μεταβολές ευθύνονται κατά ένα μεγάλο ποσοστό για τη μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη καθώς επίσης και η αύξηση των FFA που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της κύησης.

Οι μεταβολές στη λειτουργία των β-κυττάρων, συμβαίνουν παράλληλα με την ανάπτυξη της εμβρυοπλακουντιακής μονάδας και την τοπική παραγωγή ορμονών, όπως τα οιστρογόνα, η προγεστερόνη, η κορτιζόλη, η χοριακή σωματοτροπίνη (hCS) ή το πλακουντιακό λακτογόνο (hPL), η προλακτίνη (PRL) και η αυξητική ορμόνη (GH). Όλες αυτές οι ορμόνες έχουν αποδειχθεί τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*, ότι προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη. Συνοπτικά οι επιπτώσεις των ορμονών φαίνονται στον Πίνακα 1-1 (21).

Πίνακας 1-1. Ορμόνες που σχετίζονται με την τροποποίηση της έκκρισης και της δράσης της ινσουλίνης	
Ορμόνη	Αποτέλεσμα
Οιστρογόνα	↑ συγκέντρωσης ινσουλίνης
	↑ δέσμευσης ινσουλίνης
Προγεστερόνη	↓ μεταφοράς γλυκόζης
	↓ δέσμευσης ινσουλίνης
	↓ καταστολής της ηπατικής νεογλυκογένεσης που επάγεται από την ινσουλίνη
Κορτιζόλη	↑ αντίστασης στην ινσουλίνη
	↓ φωσφορυλίωσης του υποδοχέα της ινσουλίνης
	↓ IRS-1 (υπόστρωμα-1 του υποδοχέα της ινσουλίνης)
Πλακουντιακά λακτογόνα (hPL, GH, PRL)	↓ ευαισθησίας στην ινσουλίνη
	↑ έκκρισης ινσουλίνης
	↑ σύνθεσης ινσουλίνης
	↑ χρήσης και οξειδωσης της γλυκόζης
	↑ μεταβολισμού c-AMP (3', 5' κυκλικός εστέρας της μονοφωσφορικής αδενοσίνης)
	↑ του αριθμού και του όγκου των β-κυττάρων
Λεπτίνη	↑ αντίστασης στην ινσουλίνη (?)
Γλυκαγόνη	↑ αντίστασης στην ινσουλίνη

Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη αυξάνονται από την αρχή της κύησης ενώ η κορτιζόλη διπλασιάζεται στη διάρκεια της. Το πλακουντιακό λακτογόνο (hPL) αυξάνεται μετά την 6^η εβδομάδα κύησης και επάγει τη σύνθεση των αυξητικών παραγόντων που ομοιάζουν με την ινσουλίνη (insulin-like growth factors, IGFs). Η λεπτίνη εμφανίζει τα μέγιστα επίπεδα της κατά το δεύτερο τρίμηνο και σχετίζεται με τα επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα. Η κύηση προκαλεί ουσιαστικά μια αντίσταση στη λεπτίνη. Γυναίκες με διαβήτη της κύησης, φαίνεται να έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις λεπτίνης στο πλάσμα τόσο κατά, όσο και μετά την εγκυμοσύνη. Οι συγκεντρώσεις αυτές της λεπτίνης, εμφανίζουν θετική συσχέτιση με την HbA_{1c} (22-24). Τέλος, η γλυκαγόνη αυξάνεται στο τρίτο τρίμηνο της κύησης. Σε γυναίκες με διαβήτη της κύησης, τα επίπεδα της είναι υψηλότερα σε σχέση με υγιείς έγκυες. Δεν είναι όμως γνωστό, αν η αυξημένη γλυκαγόνη παίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεια του διαβήτη της κύησης ή απλά αντανάκλα μια σχετική έλλειψη της ινσουλίνης στις γυναίκες αυτές (25-26).

Στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, λόγω της αυξανόμενης ανάπτυξης του εμβρύου αυξάνει και ο βασικός μεταβολισμός της μητέρας κατά 60%. Η γλυκόζη νηστείας, ενώ παραμένει σταθερά στα ίδια επίπεδα μέχρι τον τρίτο μήνα της κύησης στη συνέχεια, μειώνεται κατά 10-15 mg/dl, καθώς διπλασιάζονται στο πλάσμα οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης (41). Παρά το ότι τα βασικά επίπεδα γλυκόζης τείνουν να μειωθούν, καθώς η κύηση προχωρά, τα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης φτάνουν σε υψηλότερα επίπεδα και οι στάθμες τους διαρκούν περισσότερο, συνεπεία της διαταραχής της ινσουλινο-εξαρτώμενης χρησιμοποίησης της γλυκόζης.

Η βασική ενδογενής παραγωγή γλυκόζης αυξάνεται κατά 16-30%, για να ανταποκριθεί στις αυξημένες απαιτήσεις της εμβρυομητρικής μονάδας. Η αύξηση της παραγωγής της

γλυκόζης είναι παράλληλη με την αύξηση του βάρους της μητέρας, έτσι ώστε η αναλογία γλυκόζης ανά kg βάρους, να μην μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της κύησης.

Η γλυκόζη είναι η κύρια πηγή ενέργειας και άνθρακα για το έμβρυο. Λόγω του ότι, δεν υφίσταται ενεργός νεογλυκογένεση *in utero*, το έμβρυο αντλεί γλυκόζη αποκλειστικά από τη μητέρα. Η γλυκόζη διέρχεται με γρήγορους ρυθμούς τον πλακούντα. Η αύξηση της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά στη νεογλυκογένεση. Στη φυσιολογική κύηση, όπως και στο διαβήτη τύπου 2, τα αυξημένα επίπεδα των FFA συμβάλλουν στη νεογλυκογένεση και αντίθετα από ότι συμβαίνει στο διαβήτη τύπου 2, όπου οι υψηλές συγκεντρώσεις FFA μειώνουν την οξειδωση της γλυκόζης κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κύησης, αυτή όχι μόνο δεν μειώνεται αλλά μάλλον αυξάνεται. Όλα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η ενεργοποίηση της νεογλυκογένεσης στην κύηση είναι μάλλον αποτέλεσμα των ορμονικών μεταβολών, παρά του μεταβολικού περιβάλλοντος (27-28). Επιπλέον, η καταστολή της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης παραμένει ευαίσθητη στην αύξηση της ινσουλίνης στη διάρκεια της κύησης, σε ποσοστό περίπου 90%, σε αντίθεση με την προοδευτική περιφερική μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Με βάση τα ανωτέρω, γίνεται κατανοητό ότι η μείωση που παρατηρείται στα επίπεδα γλυκόζης με την πρόοδο της κύησης, οφείλεται κυρίως στην αδυναμία της εγκύου να διατηρήσει τη νεογλυκογένεση στα επίπεδα που απαιτούν οι νέες συνθήκες κατά τη κύηση (29).

Παρά το ότι η ολική γλυκονεογένεση αυξάνεται στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, η κλασματική συμμετοχή του πυροσταφυλικού οξέος κατά τη διάρκεια νηστείας στη διαδικασία αυτή, δεν διαφέρει σε σχέση με τις μη έγκυες γυναίκες. Καθώς στο πλάσμα αυξάνεται το β-υδροξυβουτυρικό οξύ, προάγεται αναλογικά και η γλυκονεογένεση μέσω πυροσταφυλικού οξέος (29). Πιο συγκεκριμένα, σε μη έγκυες γυναίκες μετά από ολονύκτια νηστεία, η κλασματική νεογλυκογένεση από πυροσταφυλικό οξύ καλύπτει το 36-49%, ενώ από πυροσταφυλικό οξύ συν γλυκερόλη το 50-70% της συνολικής νεογλυκογένεσης. Σε μελέτη του Kalhan και συν. όπου εκτιμήθηκε η νεογλυκογένεση κατά τη διάρκεια της κύησης, βρέθηκε ότι μετά από νηστεία, η συνεισφορά του πυροσταφυλικού οξέος στη νεογλυκογένεση μεταβλήθηκε, αλλά δεν αυξήθηκε σημαντικά και ότι η αλλαγή στη συνολική νεογλυκογένεση δεν είχε διαφορά σε σύγκριση με γυναίκες μη έγκυες. Επίσης η ίδια μελέτη αναφέρει ότι, η σύγκριση σε κατάσταση νηστείας στα αρχικά και στα τελικά στάδια της εγκυμοσύνης δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, τόσο στη συνολική νεογλυκογένεση όσο και στην παραγωγή γλυκόζης από πυροσταφυλικό οξύ. Η αύξηση της νεογλυκογένεσης σε σχέση με την αύξηση του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στη μελέτη αυτή ήταν αναμενόμενη, δεδομένου ότι είναι γνωστή η προσφορά ενέργειας από την κετονογένεση για νεογλυκογένεση. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σε προχωρημένη κύηση, η αύξηση των επιπέδων του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος δεν σχετιζόταν με την αύξηση των λιπαρών οξέων

πράγμα που υποδηλώνει μία ανεξάρτητη ρύθμιση κετογένεσης (29). Επομένως, μια σύντομη νηστεία κατά τη διάρκεια της κύησης, σχετίζεται με σημαντική πτώση της γλυκόζης και αύξηση του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος ενώ παράλληλα αυξάνεται ο συνολικός ρυθμός παραγωγής γλυκόζης. Αυτό επιτείνεται σε προχωρημένη κύηση, καίτοι η κλασματική συμμετοχή στη νεογλυκογένεση παραμένει αμετάβλητη. (29).

Ο απόλυτος ρυθμός οξειδωσης των υδατανθράκων στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, είναι σημαντικά υψηλότερος, ενώ προάγεται συγχρόνως και η λιπόλυση. Η μετάβαση από την αναβολική φάση του πρώτου τριμήνου, στην καταβολική αυτή φάση στο τέλος της κύησης, προάγει την ενεργειακή κάλυψη της μητέρας με λίπη, αποτρέπει τον καταβολισμό των πρωτεϊνών του σώματος της και διατηρεί τη χρήση της γλυκόζης και των αμινοξέων για το έμβρυο. Με τον μηχανισμό αυτό, σε περιόδους νηστείας έστω και μικρής διάρκειας, επιτυγχάνεται μια ταχεία εκτροπή του μητρικού μεταβολισμού προς την οξειδωση λιπών και απελευθέρωση κετονών. Με βάση τις μεταβολές αυτές, η μείωση της γλυκόζης, της ινσουλίνης και της αλανίνης μαζί με την αύξηση των λιπαρών οξέων και του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στο πλάσμα, εμφανίζονται σε πολύ πιο σύντομο χρονικό διάστημα, στις έγκυες από ότι στις μη έγκυες γυναίκες (30-31).

Σε γυναίκες με διαβήτη της κύησης, η βασική ενδογενής παραγωγή γλυκόζης, αυξάνει στο ίδιο ποσοστό με τις υγιείς έγκυες. Σε προχωρημένη κύηση, η κατασταλτική δράση της ινσουλίνης στην ενδογενή παραγωγή γλυκόζης, είναι λιγότερο αποτελεσματική από ό,τι στις φυσιολογικές έγκυες, πιθανών λόγω της μεγαλύτερης αντίστασης των ηπατικών κυττάρων στη δράση της ινσουλίνης. Έτσι η μεταγευματική υπεργλυκαιμία αποτελεί το πιο κοινό και πιο πρώιμο φαινόμενο στη διαταραχή της ομοιόστασης της γλυκόζης στον διαβήτη της κύησης και η αδυναμία της αύξησης της πρώτης φάσης έκκρισης της ινσουλίνης, αποτελεί τον πιθανότερο μηχανισμό αφού η φάση αυτή είναι ένας δείκτης επαρκούς λειτουργίας των β-κυττάρων. Αυτό είναι συμβατό με τις μελέτες των Xiang και συν όπου οι γυναίκες με διαβήτη της κύησης, εμφανίζουν μείωση κατά 67% στην αντισταθμιστική δράση των β-κυττάρων του παγκρέατος σε σύγκριση με υγιείς έγκυες (32-39).

2. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ (GESTATIONAL DIABETES, GD)

2.1 Ορισμός

2.2 Παθοφυσιολογία

2.3 Προσαρμογή του μεταβολικού προτύπου (profile)

2.4 Ανίχνευση και διάγνωση

2.1 Ορισμός

Ως διαβήτης της κύησης (GD), ορίζεται η ποικίλης βαρύτητας δυσανεξία στους υδατάνθρακες, με έναρξη ή πρώτη διαπίστωση, τη χρονική περίοδο της διάρκειας της κύησης. Επιπλέκει το 2-3% του συνόλου των κυήσεων. Τα τελευταία έτη, το ποσοστό έχει αυξηθεί στις αναπτυγμένες χώρες μέχρι 8.8% (106). Ο GD αποτελεί το 90% του συνόλου των επιμέρους μορφών του σακχαρώδη διαβήτη, που αναγνωρίζεται στην διάρκεια της κύησης.

2.2 Παθοφυσιολογία

Ο GD αποτελεί μια ετερογενή μεταβολική διαταραχή όπου η ηλικία, το γενετικό υπόβαθρο και οι επιγενετικοί παράγοντες, καθορίζουν το φάσμα της βαρύτητας της νόσου. Ο κληρονομικός τρόπος μεταβίβασής του, χαρακτηρίζεται περισσότερο από πολυγονιδιακή κληρονομικότητα και περιβαλλοντικές μεταβολές παρά από αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα υψηλής διεισδυτικότητας (21).

Η παθοφυσιολογία του GD παραμένει αμφιλεγόμενη, γενικά όμως είναι αποδεκτό ότι, τον κεντρικό ρόλο καθορίζει η μειωμένη ευαισθησία ή/και η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Ως αντίσταση στην ινσουλίνη, ορίζεται η αδυναμία μιας συγκεκριμένης συγκέντρωσης ινσουλίνης, να οδηγήσει στο αναμενόμενο βιολογικό αποτέλεσμα, όσον αφορά το μεταβολισμό των θρεπτικών στοιχείων, στο επίπεδο του οργάνου-στόχου. Αυτό μεταφράζεται ως μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης από τους σκελετικούς μυς, τον λιπώδη ιστό και το ήπαρ, με ταυτόχρονη μειωμένη καταστολή της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης, κυρίως στο ήπαρ. Η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη που παρουσιάζεται στον GDM, αποτελείται από δύο συνιστώσες οι οποίες αναλύονται εκτεταμένα κατωτέρω:

1. Αντίσταση στην ινσουλίνη που προϋπάρχει της κύησης, η οποία κατά ένα ποσοστό είναι κληρονομική και κατά ένα άλλο επίκτητη. Το επίκτητο ποσοστό οφείλεται σε εγκατεστημένη παχυσαρκία η οποία προκαλεί αύξηση της αντίστασης μέσω των ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA) (43).
2. Αντίσταση στην ινσουλίνη που είναι φυσιολογική και συνοδεύει κάθε κύηση κατά το δεύτερο ήμισυ της διάρκειας της, και η οποία αποκαθίσταται μετά τον τοκετό. Αυτή η

συνιστώσα, φαίνεται να οφείλεται στην δράση των πλακουντιακών ορμονών και ειδικά του πλακουντιακού γαλακτογόνου, ανεξάρτητα από τα επίπεδα των FFA.

Η αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη, τυπικά εμφανίζεται στο 2^ο και 3^ο τρίμηνο της κύησης και αναπτύσσεται στον ίδιο ή και σε μεγαλύτερο βαθμό στον GD σε σύγκριση με τις φυσιολογικές έγκυες (36, 44, 45). Το φαινόμενο αυτό αφορά εξ ίσου τους σκελετικούς μυς, το ήπαρ και τον λιπώδη ιστό, ο οποίος απαντά με αυξημένη λιπόλυση. Η αντίσταση, είναι όμως πιο έκδηλη σε επίπεδο σκελετικών μυών, παρά σε επίπεδο λιπώδους ιστού (46, 38, 41, 47). Η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη κατά τη φυσιολογική κύηση, φαίνεται να είναι ένα φυσιολογικό φαινόμενο που εκτρέπει τον ενεργειακό μεταβολισμό της μητέρας από τους υδατάνθρακες, προς την κατανάλωση λίπους, οδηγώντας τους υδατάνθρακες και τα αμινοξέα προς το έμβρυο (Σχήμα 1-4) (48). Στον GD η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι πιο σοβαρή και συνήθως προϋπάρχει της κύησης. Ο μηχανισμός της, προσομοιάζει με αυτόν που παρουσιάζεται στο διαβήτη τύπου 2 και οφείλεται σε διαταραχή της οδού σηματοδότησης της ινσουλίνης, μετά το επίπεδο του υποδοχέα της. Ο βαθμός της αύξησης της αντίστασης φαίνεται να επηρεάζεται τόσο από την παχυσαρκία όσο και από κληρονομικούς παράγοντες οι οποίοι θα συζητηθούν κατωτέρω (21). Εντούτοις η αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη δεν επαρκεί για να εκδηλωθεί ο GD. Οι έγκυες γυναίκες θα πρέπει να παρουσιάζουν συγχρόνως και διαταραχές στην έκκριση της ινσουλίνης.

Για να κατανοηθεί η προσαρμογή του μεταβολικού προτύπου του GD πρέπει να εκτιμηθούν οι μεταβολικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά την κύηση και ιδιαίτερα όταν αυτή επιπλέκεται από δυσανεξία στους υδατάνθρακες.

Η ενδογενής παραγωγή γλυκόζης αυξάνεται κατά το ίδιο ποσοστό τόσο στον GD, όσο και σε φυσιολογικές κυήσεις. Στο δεύτερο ήμισυ της κύησης όμως, η καταστολή της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης που επάγεται μέσω ινσουλίνης είναι μειωμένη σε ασθενείς με GD (80%) σε σύγκριση με υγιείς έγκυες (96%). Αυτό πιθανά να οφείλεται στο γεγονός ότι το ήπαρ παρουσιάζει μεγαλύτερη αντίσταση στην κατασταλτική δράση της ινσουλίνης. Έτσι θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι η υπεργλυκαιμία μετά το γεύμα, είναι η πιο πρώιμη και πιο συνήθης μεταβολή στην ομοιόσταση της γλυκόζης σε ασθενείς με GD (39).

Τα επίπεδα της προϊνσουλίνης νηστείας αυξάνονται στο πλάσμα κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κύησης και επιστρέφουν στα φυσιολογικά επίπεδα μετά τον τοκετό. Αυτό, φαίνεται να είναι απότοκο, μιας πιθανής παρεμπόδισης στην σύνθεση και την απελευθέρωση της ινσουλίνης, που εκδηλώνεται δευτεροπαθώς, λόγω των αυξημένων απαιτήσεων που υπαγορεύονται από τη συνυπάρχουσα αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη (49). Για να αντεπεξέλθουν λοιπόν τα β-κύτταρα του παγκρέατος στις απαιτήσεις αυτές σε μια φυσιολογική κύηση αλλά και σε μια κύηση που επιπλέκεται από GD, υφίστανται δομικές και λειτουργικές μεταβολές, οι οποίες συνοδεύονται από τα ακόλουθα φαινόμενα (21):

1. επιτάχυνση του πολλαπλασιασμού των β-κυττάρων και αύξηση του όγκου των νησιδίων του Langerhans
2. αύξηση της σύνθεσης ινσουλίνης
3. αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης
4. αυξημένη χρήση και οξειδωση της γλυκόζης
5. αύξηση του c-AMP και του μεταβολισμού

2.3 Προσαρμογή του Μεταβολικού Προτύπου (profile)

Επομένως, σε φυσιολογικές εγκύους, όπως και σε εγκύους με GD, η έκκριση της ινσουλίνης αυξάνεται λόγω της υπερτροφίας και της υπερπλασίας των β-κυττάρων σε όλη τη διάρκεια της κύησης, σταθερά από το πρώτο τρίμηνο, φτάνει στα μέγιστα επίπεδα στο τρίτο τρίμηνο της κύησης και επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα μετά τον τοκετό (21, 39). Η αύξηση της έκκρισης της ινσουλίνης, έχει σκοπό την αντιρρόπηση της αύξησης της αντίστασης στην ινσουλίνη. Έτσι σε μια φυσιολογική εγκυμοσύνη, αναπτύσσεται μια σημαντική αύξηση του κλάσματος ινσουλίνη:γλυκόζη, που διαπιστώνεται στη διάρκεια δοκιμασίας ανοχής της γλυκόζης. Το ηλικίο αυτό, εμφανίζει μεγαλύτερες τιμές σε γυναίκες με GD (39, 50). Οι αναφερόμενες ανωτέρω μεταβολές που υφίστανται τα β-κύτταρα, είναι πιθανόν να πυροδοτούνται και να διατηρούνται από τις ορμόνες του πλακούντα. Η μη επαρκής προσαρμογή των β-κυττάρων, που προφανώς συμβάλλει στην ανάπτυξη του GD, αντανακλά ενδογενείς διαταραχές των β-κυττάρων του παγκρέατος, που προκύπτουν από μεταλλάξεις της γλυκοκινάσης (5% όλων των περιπτώσεων του GD) ή από εξωγενείς επιδράσεις, όπως μια αυτοάνοσος διεργασία (<10% όλων των περιπτώσεων του GD), (51-53). Στο μεγαλύτερο όμως ποσοστό του GD, δεν διαπιστώνεται συγκεκριμένη εμφανής διαταραχή στα κύτταρα αυτά. Αρκετές μελέτες έχουν σχεδιαστεί για να μελετηθεί η διαταραχή στη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος σε γυναίκες με GD (18, 54, 55). Στις γυναίκες αυτές, μετά από την λήψη γλυκόζης από το στόμα, η ινσουλίνη καθυστερεί να φτάσει τη μέγιστη τιμή της συγκέντρωσής της, ενώ τα επίπεδα της είναι χαμηλότερα παρά τις σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης στο πλάσμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι, καίτοι η διαταραχή στα β-κύτταρα σε γυναίκες που ανέπτυξαν GD εξακολουθεί να υπάρχει και μετά τον τοκετό, το φαινόμενο αποσιωπάται, δεδομένου ότι η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, άρα και οι μειωμένες απαιτήσεις σε ινσουλίνη, δεν του επιτρέπουν να αποκαλυφθεί (50).

Καθώς εξελίσσεται η κύηση, παρουσιάζεται μια αύξηση της απάντησης στην πρώτη φάση έκκρισης της ινσουλίνης, η οποία παρατηρείται τόσο σε φυσιολογικές εγκύους, όσο και σε εγκύους με GD. Αυτό που χαρακτηρίζει όμως τον GD, είναι η μειωμένη αύξηση της πρώτης φάσης έκκρισης της ινσουλίνης και ουσιαστικά αυτό αποτελεί την πρώτη εκδήλωση δυσλειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος (39). Η μείωση αυτή σε συνδυασμό με τη διαταραχή στην καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης, γίνονται

αντιληπτά στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, μετά από την σταδιακή μείωση της ευαισθησίας των περιφερικών υποδοχέων της ινσουλίνης (insulin receptor, Ins-R).

Κατά το πρώτο τρίμηνο, η ευαισθησία στην ινσουλίνη είναι φυσιολογική ή ελαφρά αυξημένη. Η προοδευτική μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη κατά την διάρκεια της κύησης είναι ένα φαινόμενο που αναπτύσσεται πάντα και ανεξάρτητα από τις προϋπάρχουσες συνθήκες. Στην κύηση που επιπλέκεται από GD, το φαινόμενο της μειωμένης ευαισθησίας στην ινσουλίνη προϋπάρχει της κύησης, είναι πιο έντονο και φθάνει έως και 40% μείωση (30). Κατ' επέκταση, στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, λόγω μειωμένης ευαισθησίας των Ins-R σε επίπεδο ήπατος, γυναίκες με GD παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις ινσουλίνης στη διάρκεια νηστείας και μειωμένη καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης μετά από έγχυση ινσουλίνης, με τελικό αποτέλεσμα την υπεργλυκαιμία. Οι Catalano και συν αναφέρουν μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη κατά 47% σε παχύσαρκες γυναίκες και κατά 56% σε γυναίκες με κανονικό βάρος, η οποία παρατηρείται στο τρίτο τρίμηνο της κύησης (6, 56). Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι με την πρόοδο της κύησης η ευαισθησία μπορεί να μειωθεί έως και 60-80% (18).

Θα πρέπει να αναφερθεί, ότι με την πρόοδο της κύησης, αναπτύσσεται μια αύξηση του ρυθμού κάθαρσης της ινσουλίνης, η οποία είναι του ίδιου βαθμού, τόσο σε γυναίκες που αναπτύσσουν GD όσο και σε γυναίκες που διανύουν μία φυσιολογική κύηση.

Σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του GD εμφανίζουν και τα λιπαρά οξέα (fatty acids, FA). Οι υψηλές συγκεντρώσεις ινσουλίνης στο πλάσμα σε υγιείς ανθρώπους, καταστέλλουν την οξειδωση των FA κατά 55%, την λιπόλυση κατά 71%, ενώ την εξωκυττάρια επανεστεροποίηση των FA κατά 100% (41). Όμως η αντίσταση στην ινσουλίνη που παρουσιάζουν οι έγκυες γυναίκες και ιδιαίτερα οι έγκυες με GD, έχει σαν αποτέλεσμα την μη καταστολή της λιπόλυσης, με άμεσο επακόλουθο την αύξηση του ρυθμού του μεταβολικού κύκλου των FA. Θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε, ότι στον GD το λιπιδαιμικό πρότυπο (profile) ομοιάζει με αυτό του μεταβολικού συνδρόμου (57). Συγκεκριμένα, στο τρίτο τρίμηνο κύησης, το οποίο και μελετάται στα πλαίσια της παρούσας Διατριβής, στο πλάσμα του αίματος τριπλασιάζονται οι συγκεντρώσεις τριακυλγλυκερολών (triacylglycerols, TAGs), αυξάνονται τα FFA, ενώ επιμηκύνεται η μεταγευματική κάθαρσή τους και αυξάνονται τα επίπεδα των αμινοξέων με διακλαδιζόμενη αλυσίδα. Οι Knorr και συν αναφέρουν επίσης, ότι σε γυναίκες με GD, αυξάνονται οι TAGs, η LDL χοληστερόλη και τα FFA, ενώ μειώνεται η HDL χοληστερόλη, ευρήματα που συμφωνούν με ανάλογες μελέτες της Κουκκου και συν. Επισημαίνεται όμως ότι οι συγκεντρώσεις χοληστερόλης και απολιποπρωτεϊνών σε γυναίκες με GD, δεν διαφέρουν από αυτές των φυσιολογικών εγκύων (58, 59).

Από άλλες μελέτες προκύπτει ότι στον GD η οξειδωση των εξωγενών TAGs είναι μειωμένη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στα ακόλουθα αίτια:

1. μειωμένη πρόσληψη και κατ' επέκταση οξειδωση FA

2. μειωμένη υδρόλυση
3. αυξημένη ηπατική οξειδωση και εστεροποίηση των λιπαρών οξέων λόγω αυξημένης σύνθεσης VLDL (41).

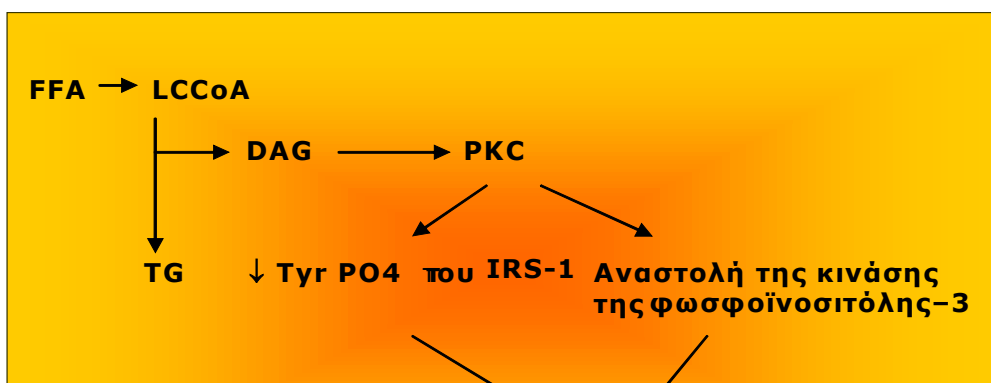
Λόγω του ότι η συνολική οξειδωση των λιπών μεταξύ GD και φυσιολογικής κήσης δεν διαφέρει, θα πρέπει να θεωρηθεί ότι η μειωμένη οξειδωση των εξωγενών TAGs, αντισταθμίζεται από μεγαλύτερη συμμετοχή των αποθηκών λίπους του οργανισμού. Έτσι, οι εξωγενείς TAGs διατίθενται προς την εμβρυομητρική μονάδα και προφανώς συμβάλλουν στην ανάπτυξη μακροσωμίας.

Πίνακας 2-1. Οι επιδράσεις της φυσιολογικής κήσης και της κήσης της επιπλεγμένης από GDM, στον μεταβολισμό της γλυκόζης και της ινσουλίνης.			
Γλυκόζη πλάσματος		↓ στη νηστεία ↑ μεταγευματικά	
Έκκριση ινσουλίνης	Νηστεία		↑ Φυσιολογική κήση ↑ GDM
	Μετά από φόρτιση γλυκόζης	1 ^η φάση	↑↑ Φυσιολογική κήση ↑ GDM
		2 ^η φάση	↑ Φυσιολογική κήση ↑ GDM
	Αντίσταση στην ινσουλίνη	Αντίσταση	
Όργανα στόχοι		Μυϊκός ιστός	
Μοριακοί μηχανισμοί		↓ δραστηριότητας της κινάσης της τυροσίνης	
		↑ IRS-1	
		↑ TNF-α	
		↑ Glut4	
Συντομογραφίες: IRS-1 = υποστρώμα 1 του υποδοχέα της ινσουλίνης, TNF-α = Παράγων νέκρωσης όγκων τύπου-α, Glut4 = μεταφορέας της γλυκόζης 4			

Όσον αφορά την αύξηση στην αντίσταση στην ινσουλίνη που παρουσιάζεται στα πλαίσια της κήσης, δεν έχει αποσαφηνιστεί η ακριβής αιτία που την προκαλεί. Εντούτοις, η αύξηση των λιπαρών οξέων στο πλάσμα των εγκύων στο δεύτερο ήμισυ της κήσης πιστεύεται ότι συμμετέχει κατά ένα ποσοστό στο φαινόμενο αυτό. Ειδικότερα, υπάρχει μία ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των FA νηστείας και της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης σε γυναίκες που η εγκυμοσύνη τους επιπλέκεται από GD. Δηλαδή ενώ τα FA είναι αρκούντως αυξημένα, παρατηρείται περαιτέρω αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη στο ήπαρ. Το φαινόμενο αυτό επιβεβαιώνεται σε μελέτη των Catalano και συν. όπου υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ των βασικών επιπέδων των FA και της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, τόσο σε ασθενείς με GD όσο και σε υγιείς εγκύους (60).

Ειδικότερα, έχει διαπιστωθεί ότι σε υγιείς μη έγκυες γυναίκες, η μεταγευματική οξεία αύξηση των λιπαρών οξέων, οδηγεί σε μείωση κατά 40% περίπου της ινσουλινο-εξαρτώμενης πρόσληψης γλυκόζης και της σύνθεσης του γλυκογόνου σε διάρκεια 4 h (οξεία περιφερική αντίσταση), ενώ σχεδόν καταργεί τελείως την καταστολή ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης που προκαλείται από την ινσουλίνη (οξεία ηπατική αντίσταση). Αυτή η επίδραση των FA είναι δόσο-εξαρτώμενη και εξελίσσεται 2-4 h μετά την αύξηση τους στο πλάσμα, ενώ εξαφανίζεται μετά από 4 h, όπου τα FA επιστρέφουν στα φυσιολογικά τους επίπεδα. Τα αυξημένα επίπεδα FA στο πλάσμα για μεγάλα χρονικά διαστήματα, ασκούν ανασταλτική επίδραση στην ευαισθησία στην ινσουλίνη, φαινόμενο που συμβαίνει στην παχυσαρκία και στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Σε υγιείς εγκύους, η αύξηση των FA σε συνάρτηση με την εξέλιξη της κύησης, αναστέλλει περίπου κατά 30% την πρόσληψη γλυκόζης από όλο το σώμα που ενεργοποιείται μέσω ινσουλίνης. Στο επίπεδο του υποδορίου λίπους, τείνει να ενισχύει τη λιπόλυση που προκαλείται από τις ορμόνες του πλακούντα (41, 21).

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα FA αναστέλλουν τη δράση της ινσουλίνης, έχει μελετηθεί στο σκελετικό μυ και τον λιπώδη ιστό. Κατά τη διάρκεια της αύξησης των FA στο αίμα (2-4 h), συσσωρεύονται σταδιακά διακυλ-γλυκερόλες (DAGs) και τριγλυκερίδια (TGs) μέσα στο μυϊκό κύτταρο. Οι DAGs αποτελούν ένα δυναμικό αλλοστερικό ενεργοποιητή της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC). Η PKC, και συγκεκριμένα οι κινάσες της σερίνης και της θρεονίνης, μειώνουν τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης στο υπόστρωμα-1 του υποδοχέα της ινσουλίνης (IRS-1). Αυτό έχει ως επακόλουθο την αποτυχία της ενεργοποίησης της κινάσης της φωσφοϊνοσιτόλης-3, ενός ενζύμου που είναι απαραίτητο για την πρόσληψη και χρησιμοποίηση της γλυκόζης και τη σύνθεση γλυκογόνου που επάγεται από την ινσουλίνη, όπως αναπτύσσεται στο Σχήμα 2-1. Με αυτόν τον τρόπο, τα FA επάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη μέσω DAG και PKC. Οι γυναίκες που παρουσιάζουν GD, εμφανίζουν σαφή μείωση της ικανότητας της β-υποομάδας του υποδοχέα της ινσουλίνης να υποστεί φωσφορυλίωση της τυροσίνης. Από αντίστοιχες μελέτες, φαίνεται ότι στις φυσιολογικές κυήσεις η φωσφορυλίωση του Ins-R μειώνεται κατά 28%, ενώ στον GD κατά 41% (19, 61, 62). Επιπλέον, έγκυες με GD, παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση του υποστρώματος-1 του υποδοχέα της ινσουλίνης. Η υπο-ρύθμιση (down-regulation) στην έκφραση του υποστρώματος αυτού, σχετίζεται με την αδυναμία της ινσουλίνης να επάγει τα περαιτέρω βήματα στην οδό σηματοδότησής της. Αυτή η επιπλέον διαταραχή στην οδό σηματοδότησης της ινσουλίνης, έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση κατά 25% της ικανότητας μεταφοράς της γλυκόζης στο μυϊκό κύτταρο (42, 62, 63).



Σχήμα 2-1. Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού μέσω του οποίου τα FFA (ελεύθερα λιπαρά οξέα) επάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη σε ανθρώπινο υγιή μυϊκό ιστό. Η αύξηση των FFA στο πλάσμα αποτελεί το σημείο έναρξης της διαδικασίας. Τα LCCoA (ακυλ-CoA μακράς αλύσου) αυξάνονται στο κυτταρόπλασμα με αποτέλεσμα να αυξάνεται η σύνθεση των TG (τριγλυκεριδίων) και των DAG (διακυλγλυκερολών). Οι DAG ενεργοποιούν την PKC (πρωτεϊνική κινάση C), η οποία μειώνει τη TyrPO4 (φωσφορυλίωση της τυροσίνης) του IRS-1 (υπόστρώματος-1 του υποδοχέα της ινσουλίνης) και αναστέλλει την ενεργοποίηση της κινάσης της φωσφοϊνοσιτόλης-3, η οποία επάγεται μέσω ινσουλίνης. Το συντονισμένο αποτέλεσμα όλων αυτών των διεργασιών, οδηγεί στην αντίσταση στην ινσουλίνη.

Άλλοι επιπρόσθετοι μηχανισμοί με τους οποίους τα λιπαρά οξέα προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη, οι οποίοι όμως δεν είναι τόσο καλά εδραιωμένοι είναι οι ακόλουθοι:

1. μεταβολή της σύστασης σε λιπαρά οξέα των φωσφολιπιδίων των μυϊκών μεμβρανών, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η ρευστότητα και η αντίσταση στην ινσουλίνη (64).
2. ενεργοποίηση της οδού της εξοζαμίνης η οποία έχει σαν αποτέλεσμα να προκαλείται αντίσταση στην ινσουλίνη (65).
3. αναστολή της μεταγραφής του μεταφορέα της γλυκόζης 4 (GLUT4) ή της σταθεροποίησης του μεταγράφου του mRNA (66). Σημειώνεται ότι προς το τέλος της κύησης και ειδικά στις γυναίκες με GD, παρατηρείται μείωση του GLUT4 (21).

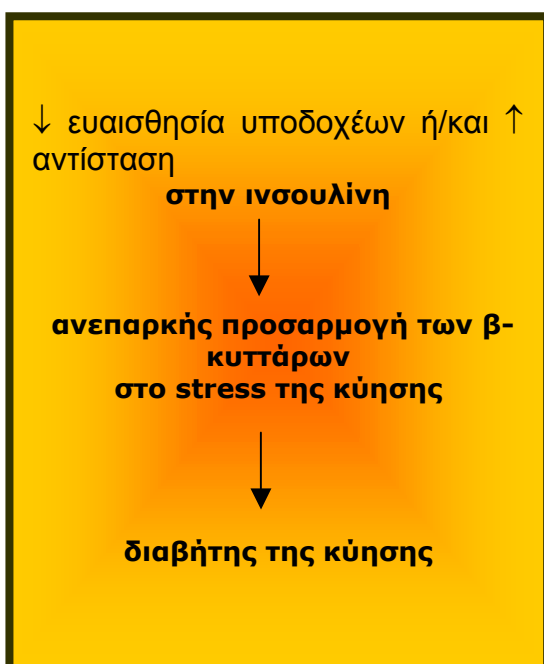
Λιγότερα δεδομένα υπάρχουν για τον μηχανισμό μέσω του οποίου τα FA προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη στο επίπεδο του ήπατος. Έχει αποδειχθεί ότι η οξεία καταστολή της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης από την ινσουλίνη, σχετίζεται πρωτίστως με την καταστολή της γλυκογονόλυσης και ότι τα FA προκαλούν οξεία αντίσταση στην ινσουλίνη στο ήπαρ μέσω αναστολής της ινσουλινικής καταστολής της γλυκογονόλυσης. Επιπλέον, το γεγονός ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη στους μυς και στο ήπαρ παρουσιάζονται περίπου στο ίδιο χρονικό διάστημα μετά την αύξηση των FA, σημαίνει ότι πιθανά αυτό να προκαλείται με παρόμοιους μηχανισμούς (67-70).

Η οξεία αύξηση των FA στο πλάσμα, αυξάνει την έκκριση της ινσουλίνης. Το ίδιο προκαλεί και η παρατεταμένη αύξηση τους. Στην πραγματικότητα η αύξηση των επιπέδων της ινσουλίνης είναι τόση, ώστε να αντιρροπείται η αντίσταση στην ινσουλίνη που προκαλούν τα FA (71, 72).

Οξεία παρατεταμένη μείωση επί 12 h των FA στο πλάσμα, οδηγεί σε μείωση κατά 30-50% της βασικής έκκρισης της ινσουλίνης, γεγονός που σημαίνει ότι η παρατεταμένη αύξηση των FA, συντηρεί το 30-50% της βασικής έκκρισης ινσουλίνης. Επομένως,

προκύπτει ότι τα φυσιολογικά αυξανόμενα επίπεδα των FA στο πλάσμα δεν είναι λιποτοξικά για τα β-κύτταρα. Εάν λειτουργούσε αυτό το ενδεχόμενο, τότε ο διαβήτης τύπου 2 καθώς και ο GD θα εμφανίζοντο κυρίως σε παχύσαρκα άτομα, ενώ αντίθετα τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι μόνο το 15-20% των παχυσάρκων εμφανίζουν σακχαρώδη διαβήτη (73, 74).

Τα ανωτέρω δεδομένα οδηγούν στην άποψη ότι η κεντρική φιλοσοφία στην ανάπτυξη του GD είναι η ανεπαρκής προσαρμογή των β-κυττάρων στο περιβάλλον της κύησης (δηλ. υπερτροφία-υπερπλασία-αύξηση έκκρισης ινσουλίνης) με αποτέλεσμα αυτά να αδυνατούν να αντισταθμίσουν την συγχρόνως αναπτυσσόμενη αύξηση στην αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2-2. Υπό αυτές τις συνθήκες, ο GD μπορεί να θεωρηθεί ότι αντανακλά την προδιάθεση για διαβήτη τύπου 2, που εκφράζεται κάτω από τις συγκεκριμένες μεταβολικές συνθήκες της κύησης ή μπορεί να είναι η ακραία έκφραση μιας μεταβολικής ιδιαιτερότητας που φυσιολογικά χαρακτηρίζει την κύηση.



Σχήμα 2-2. Μηχανισμός ανάπτυξης του διαβήτη της κύησης

2.4 Ανίχνευση και Διάγνωση

Εξ ορισμού ο GD ως νοσολογική οντότητα, περιλαμβάνει και γυναίκες που είχαν λανθάνοντα διαβήτη ο οποίος όμως δεν είχε διαγνωσθεί πριν από την κύηση. Σε αυτή την περίπτωση, η δυσανεξία στους υδατάνθρακες παραμένει και μετά τον τοκετό. Δεδομένου ότι ο GD είναι όψιμη διαταραχή της κύησης, η υπεργλυκαιμία στο πρώτο τρίμηνο συνήθως υποδηλώνει την ύπαρξη λανθάνοντος διαβήτη. Η διαφορά του GD από τον λανθάνοντα διαβήτη τύπου 1 και 2 που δεν έχει διαγνωσθεί πριν από την κύηση, είναι ότι σε αντίθεση με τον λανθάνοντα διαβήτη τύπου 1 και 2, στον GD η HbA1c παραμένει σε φυσιολογικά

επίπεδα κατά τη διάρκεια εκδήλωσης της νόσου και η ανοχή στους υδατάνθρακες επανέρχεται στο φυσιολογικό, 6 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη GD είναι οι ακόλουθοι (75):

1. Ηλικία μεγαλύτερη των 25 ετών
2. Οικογενειακό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 σε πρώτου βαθμού συγγενή
3. GD σε προηγούμενη κύηση
4. Πολυκυστικές ωθήκες εγκύου
5. Ιστορικό γέννησης μακροσωμικού εμβρύου (>4000 g)
6. Ιστορικό γέννησης δυσμορφικού ή θνησιγενούς εμβρύου
7. Παχυσαρκία της μητέρας, με δείκτη μάζας σώματος (BMI) μεγαλύτερο από 25 kg/m²
8. Υπέρταση της εγκύου
9. Γλυκοζουρία της εγκύου
10. Πολυτοκία
11. Ορισμένες εθνικότητες: Ισπανοί, Ασιάτες, Αφρο-αμερικανοί κ.α.

Η χρήση όμως μόνο των ανωτέρω δεικτών, δεν φαίνεται ότι είναι αρκετή για την ανίχνευση των γυναικών που θα αναπτύξουν GD. Εάν εφαρμοσθούν μόνο οι ανωτέρω δείκτες, άνω των 50% των περιπτώσεων που τελικά θα νοσήσουν, θα διαφύγουν της διάγνωσης. Για τον σκοπό αυτό, καθιερώθηκε μία δοκιμασία ελέγχου (screening test) από την American Diabetes Association, το American College of Obstetricians and Gynecologists και τα National Diabetes Data Groups Conversion of O'Sullivan et al., για όλες τις εγκύους μεταξύ 24^{ης} και 26^{ης} εβδομάδας κύησης, με την υποβολή σε δοκιμασία ανοχής γλυκόζης 50 g από του στόματος, ασχέτως ώρας της ημέρας ή χρονικής απόστασης από το τελευταίο γεύμα. Τα κριτήρια διάγνωσης θεσπίστηκαν στο Fourth International Workshop Conference on Gestational Diabetes Mellitus. Σύμφωνα με τη δοκιμασία, αν σε 1 h από τη λήψη γλυκόζης, τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα είναι ανώτερα από 120 mg/dl, τότε η γυναίκα είναι ύποπτη να αναπτύξει GD. Εάν είναι ανώτερα από 140 mg/dl, τότε η δοκιμασία θεωρείται θετική και η έγκυος υποβάλλεται στη δοκιμασία ανοχής των 100 gr από του στόματος γλυκόζης μετά από 8-10 h ολονύκτιας νηστείας. Οι φυσιολογικές τιμές νηστείας και τις πρώτες 3 h είναι, 95 mg/dl (νηστείας) 180 mg/dl, 155 mg/dl και 140 mg/dl αντίστοιχα. Η διάγνωση τίθεται όταν 2 από τις τιμές αυτές είναι οριακές ή αυξημένες. Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι αρκεί ακόμη και μια τιμή να είναι εκτός φυσιολογικών ορίων για την διάγνωση της δυσανεξίας στους υδατάνθρακες. Σε αυτή την περίπτωση, θα πρέπει η γυναίκα να παρακολουθήσει τη γλυκόζη πλάσματος για μια εβδομάδα. Εάν ο μέσος όρος τιμών νηστείας είναι άνω των 95 mg/dl ή ο μέσος όρος των τιμών 2 h μετά τη λήψη τροφής είναι άνω των 120 mg/dl, τότε χρειάζεται να γίνει επανεκτίμηση για GD. Γυναίκες με ιστορικό GD σε προηγούμενη κύηση, ελέγχονται από

την πρώτη μέρα επίσκεψης στο ιατρείο με τη δοκιμασία ανοχής γλυκόζης των 50 g. Εάν τα αποτελέσματα στην αρχή της κύησης είναι φυσιολογικά, τότε επαναλαμβάνεται η δοκιμασία ελέγχου μεταξύ 24^{ης} και 28^{ης} εβδομάδας κύησης. Πρόσφατα, έχει προταθεί να χρησιμοποιείται ως όριο στη δοκιμασία ανοχής γλυκόζης των 50 g, τα επίπεδα των 130 mg/dl την πρώτη h, με αποτέλεσμα το ποσοστό ευαισθησίας ανίχνευσης του GD να ανέρχεται από 90%, σχεδόν στο 100% (76-78).

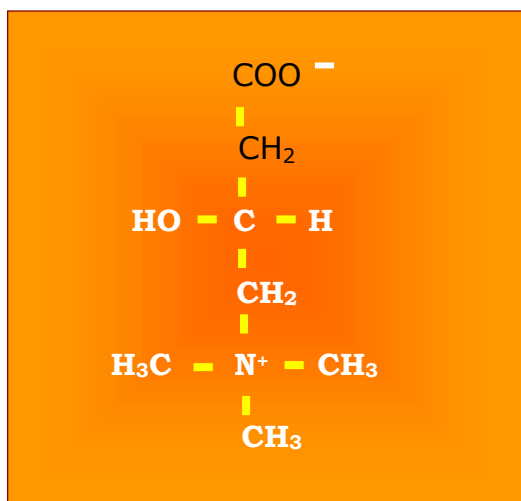
Η έγκαιρη διάγνωση του GD είναι σημαντική, δεδομένου ότι χωρίς την ορθή παρακολούθηση της εγκύου ο GD συνοδεύεται συχνά από επιπλοκές τόσο στο έμβρυο, όσο και στη μητέρα. Από τις γυναίκες που ανέπτυξαν GD στην διάρκεια της κύησης, εκτιμάται ότι το 14-60% θα αναπτύξει σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 στα επόμενα 20 έτη μετά τον τοκετό, και ότι ο GD θα υποτροπιάσει σε ποσοστό 30-50% σε επόμενες κυήσεις. Τα νεογνά των γυναικών που ανέπτυξαν GD έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν μακροσωμία, η οποία ενδέχεται να προκαλέσει τραυματισμό κατά τον τοκετό, όπως επίσης και περιγεννητική ασφυξία, νεογνική υπερινσουλιναίμια και υπογλυκαιμία. Όταν ο GD δεν ελέγχεται θεραπευτικά, τα έμβρυα αποθηκεύουν μεγάλες ποσότητες λίπους με γρήγορο ρυθμό, αναπτύσσουν αντίσταση στην ινσουλίνη, εξαντλούν τα β-κύτταρα του παγκρέατος κατά την ενδομήτριο ζωή λόγω της υπεργλυκαιμίας, και αυξάνουν τις πιθανότητες να αναπτύξουν παχυσαρκία ως παιδιά ή ως ενήλικες και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 στη μετέπειτα ζωή τους (79).

3. ΚΑΡΝΙΤΙΝΗ: ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

- 3.1 Ιστορική αναδρομή και χημική δομή**
- 3.2 Βιοσύνθεση της καρνιτίνης**
- 3.3 Απορρόφηση – διακίνηση – αποθήκευση**
- 3.4 Λειτουργία του συστήματος της καρνιτίνης**
- 3.5 Φυσιολογία του συστήματος της καρνιτίνης**

3.1 Ιστορική αναδρομή και χημική δομή

Η καρνιτίνη (4-τριμεθυλ-αμινο-3-υδροξυβουτυρικό οξύ) απομονώθηκε για πρώτη φορά από εκχυλίσματα ιστών το 1905. Η ονομασία της προέρχεται από τη λατινική λέξη caro ή carnis, που σημαίνει σάρκα. Η πλήρης χημική δομή της [C₇H₁₅NO₃] έγινε γνωστή το 1927 (Σχήμα 3-1). Πρόκειται για μια υδατοδιαλυτή τεταρτοταγή αμίνη με ιδιότητες βιταμίνης (80-81).



Σχήμα 3-1. Σχηματική παράσταση της χημικής δομής του μορίου της καρνιτίνης.

Εντούτοις, παρά την διαλεύκανση της χημικής δομής της, ο ρόλος της καρνιτίνης στη φυσιολογία του ανθρώπινου οργανισμού, παρέμεινε σκοτεινός για 50 χρόνια, και μόλις το 1977 τεκμηριώθηκε ότι η καρνιτίνη είναι απαραίτητη για τη μεταφορά των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (LCFA) καθώς και των αμινοξέων με διακλαδιζόμενη αλυσό από το κυτταρόπλασμα προς στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου, προκειμένου αυτά να οξειδωθούν (82).

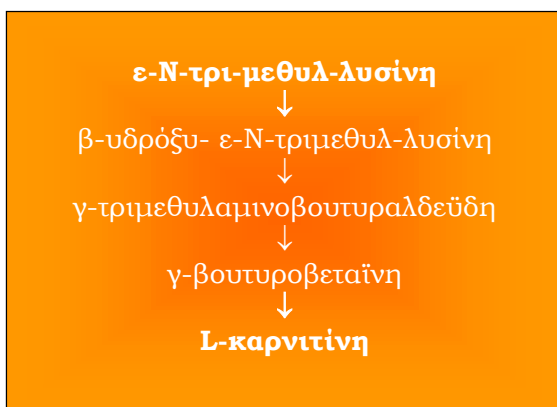
3.2 Βιοσύνθεση της καρνιτίνης

Το 75% της καρνιτίνης στα θηλαστικά προέρχεται από τη διατροφή, με κυριότερες πηγές για τους ενήλικες το κόκκινο κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα και για τα νεογνά το μητρικό γάλα. Μια ισοζυγισμένη δίαιτα περιέχει 5-100 mg καρνιτίνης/ημέρα, από την οποία

ένας φυσιολογικός οργανισμός απορροφά το 70-80%. Λήψη καρνιτίνης 150-500 mmol/ημέρα αποτελούν επαρκή ποσότητα για έναν ενήλικα (83).

Το υπόλοιπο 25% της καρνιτίνης, συντίθεται ενδογενώς. Επομένως, η καρνιτίνη δεν θεωρείται απαραίτητο συστατικό της δίαιτας ενός ενήλικα, εφόσον υπάρχει η δυνατότητα σύνθεσης της από τον οργανισμό. Σε αυστηρά φυτοφάγους, η ενδογενής παραγωγή της αυξάνεται σε ποσοστό άνω του 90% (82).

Το μονοπάτι βιοσύνθεσης της καρνιτίνης έχει μελετηθεί λεπτομερειακά σε ποντίκια (84). Η ενζυμική αλληλουχία στους ανθρώπους είναι ίδια με αυτή των ποντικών. Τα αμινοξέα λυσίνη και μεθειονίνη αποτελούν τις απαραίτητες πρόδρομες ουσίες για τη σύνθεση της καρνιτίνης. Η S-αδενοσυλ-μεθειονίνη παρέχει τις μεθυλ-ομάδες για την ενζυματική τριμεθυλίωση της λυσίνης. Η ε-N-τριμεθυλ-λυσίνη εν συνεχεία σχηματίζει καρνιτίνη ακολουθώντας τις αντιδράσεις που απεικονίζονται στο (Σχήμα 3-2).



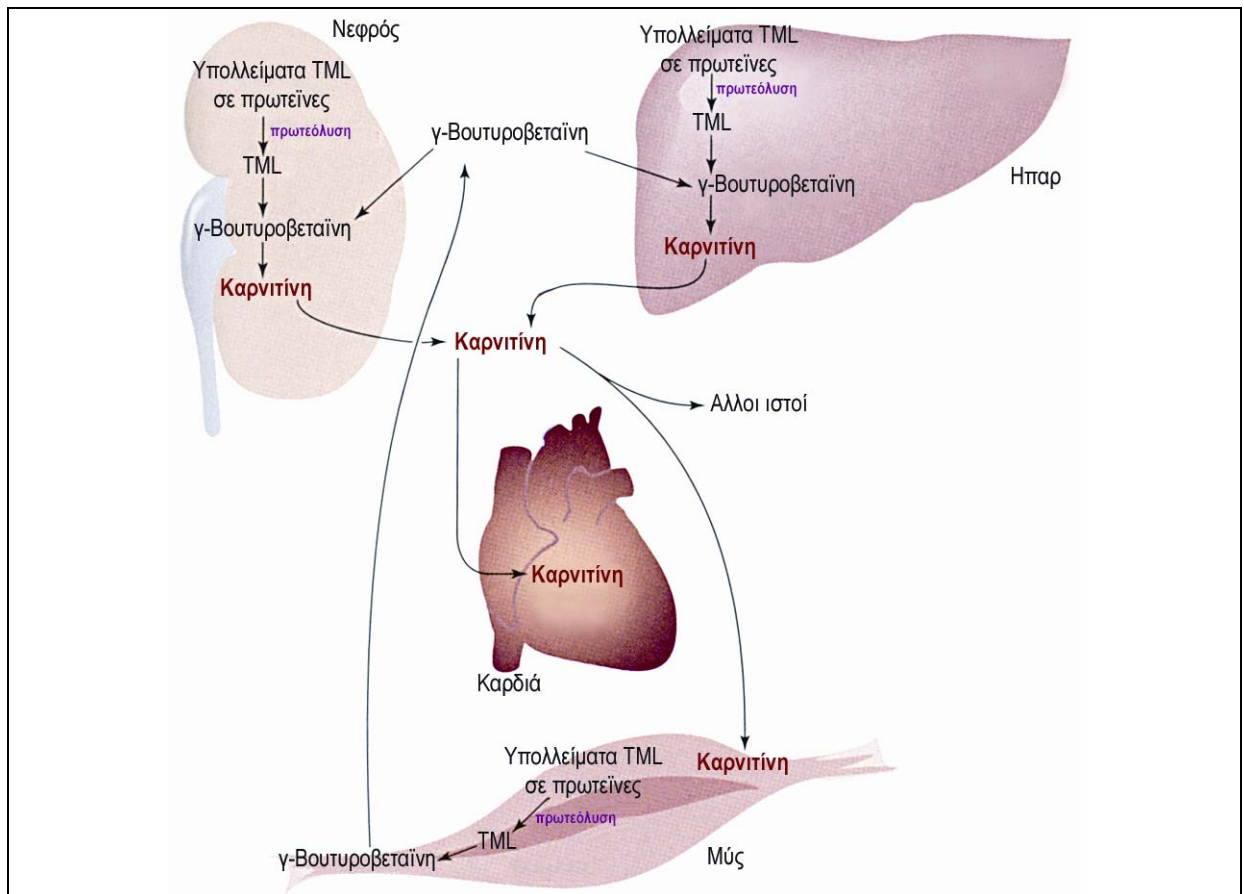
Σχήμα 3-2. Οι χημικές αντιδράσεις των σταδίων της βιοσύνθεσης της L-καρνιτίνης.

Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί της βιοσύνθεσης της καρνιτίνης, δεν έχουν μελετηθεί στον άνθρωπο. Τα ένζυμα για τη μετατροπή της ε-N-τριμεθυλ-λυσίνης σε γ-βουτυροβεταΐνη υπάρχουν σε όλους τους ιστούς στο ανθρώπινο σώμα (σκελετικοί μύς, καρδιά, ήπαρ, νεφροί και εγκέφαλος). Η υδροξυλάση όμως της γ-βουτυροβεταΐνης στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει μόνο στο ήπαρ, στους νεφρούς και στον εγκέφαλο ενώ απουσιάζει από τους μύς και την καρδιά. Το ένζυμο αυτό υπάρχει σε τρεις μορφές (ισοένζυμα) στον οργανισμό, με την ίδια δραστηριότητα, το ίδιο μοριακό βάρος (64 kDaltons) και τις ίδιες απαιτήσεις για συμπαραγοντες. Τα τρία αυτά ισοένζυμα συνιστούν διμερή, αποτελούμενα από δυο υποομάδες που διαφέρουν στο φορτίο αλλά όχι στο μέγεθος.

Η γ-βουτυροβεταΐνη μπορεί να συντεθεί σε πολλούς ιστούς, αλλά η έλλειψη του ειδικού ενζύμου που υδροξυλιώνει την γ-βουτυροβεταΐνη στους μύς και την καρδιά, έχει σαν αποτέλεσμα να μην μπορεί να συντεθεί καρνιτίνη στους ιστούς αυτούς. Έτσι η γ-βουτυροβεταΐνη πρέπει να μεταφερθεί στο ήπαρ ή το νεφρό για την τελική υδροξυλίωση και την βιοσύνθεση καρνιτίνης. Ακολούθως η καρνιτίνη μεταφέρεται στην καρδιά και τους μύς, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3-3. Η δραστηριότητα της ηπατικής υδροξυλάσης της γ-βουτυροβεταΐνης ή διοξυγενάσης, φαίνεται να εξαρτάται από την

ηλικία. Σε νεογνά, το ένζυμο φτάνει μόνο το 12% της δραστηρότητας του ενήλικα, στην ηλικία των 2.5 ετών μόλις το 30%, ενώ στην ηλικία των 15 ετών, το ένζυμο αποκτά την πλήρη δραστηρότητά του. Για τη δραστηρότητα της νεφρικής υδροξυλάσης της γ-βουτυροβεταΐνης δεν έχουν γίνει μελέτες.

Απαραίτητα στοιχεία για τη βιοσύνθεση της καρνιτίνης, είναι η παρουσία και άλλων υποστρωμάτων όπως το ασκορβικό οξύ, η νιασίνη, η βιταμίνη B₆ και ο δισθενής σίδηρος. Αν κάποιο από αυτά τα στοιχεία λείπει, τότε διαταράσσεται η σύνθεση της καρνιτίνης (Σχήμα 3-3).

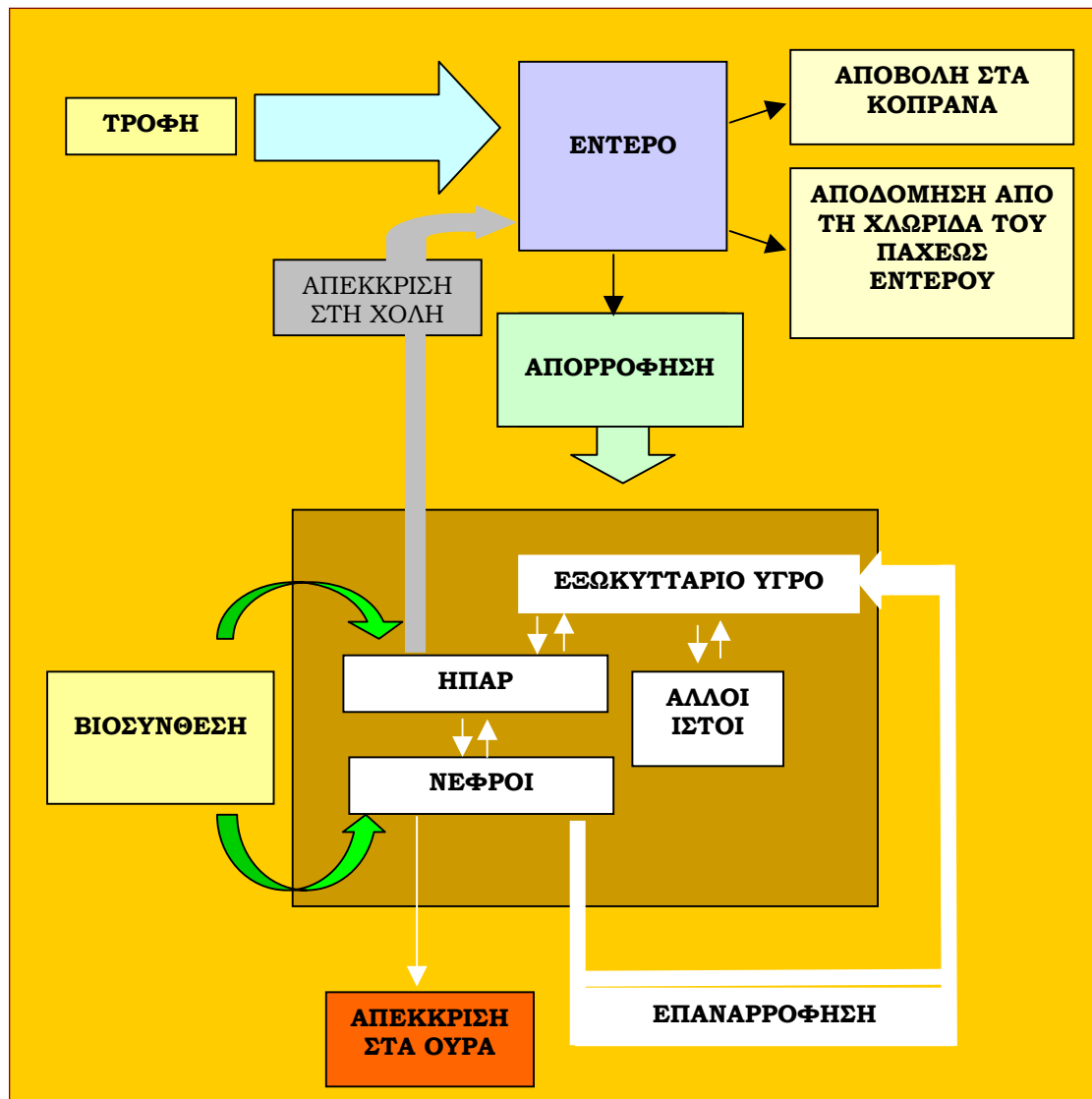


Σχήμα 3-3. Ο νεφρός και το ήπαρ παρέχουν την καρνιτίνη προς τους άλλους ιστούς, όπως την καρδιά και τους μύς.
Συντομογραφίες: TML = ελεύθερη τριμεθυλ-λυσίνη.

3.3 Απορρόφηση – Διακίνηση – Αποθήκευση

Η καρνιτίνη της τροφής όταν φθάσει στο έντερο, μεταφέρεται ταχέως με ενεργητικό μηχανισμό αλλά και με παθητική διάχυση, από τον αυλό του εντέρου στα κύτταρα του βλεννογόνου. Εκεί ακετυλιώνεται >50% της συγκέντρωσης της και συσσωρεύεται στα κύτταρα, ενώ με βραδείς ρυθμούς απελευθερώνεται τόσο η ελεύθερη όσο και η ακυλιωμένη μορφή της στην κυκλοφορία (Σχήμα 3-4) (85-87). Η L-καρνιτίνη που βρίσκεται στα προϊόντα διατροφής,

συνήθως απορροφάται ολοσχερώς από το έντερο, γι' αυτό και η ποσότητα που αποβάλλεται από τα κόπρανα είναι πολύ μικρή, περίπου λιγότερο από 1-2% της ποσότητας που αποβάλλεται από τους νεφρούς. (88). Μελέτες σε ανθρώπους και ζώα δείχνουν ότι ένα μέρος της καρνιτίνης αποδομείται στον αυλό του εντέρου, πιθανά υπό την επίδραση της τοπικής χλωρίδας (88-90).



Σχήμα 3-4. Σχηματική απεικόνιση της απορρόφησης της καρνιτίνης από το έντερο και της ομοιοστάσης της στον ανθρώπινο οργανισμό.

Η καρνιτίνη εντοπίζεται στον οργανισμό σε όλους τους ιστούς και τα βιολογικά υγρά είτε ως ελεύθερη είτε ως εστέρας, περιέχοντας ακυλ-ομάδες μικρής ή μακράς αλειφατικής αλύσου. Η ολική καρνιτίνη (total carnitine, TC) αποτελείται από το άθροισμα της ελεύθερης και της ακυλιωμένης μορφής. Στους ιστούς που δεν μπορεί να συντεθεί, όπως η καρδιά και οι μύς, μεταφέρεται μέσω του αίματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3-3.

Στο πλάσμα των φυσιολογικών ενηλίκων η TC κυμαίνεται από 30-80 $\mu\text{mol/l}$ (91). Οι μέσες τιμές στο πλάσμα των ανδρών ($59.3 \pm 11.9 \mu\text{mol/l}$) τείνουν να είναι υψηλότερες από αυτές

των γυναικών (51.5 ± 11.6 $\mu\text{mol/l}$). Οι φυσιολογικές τιμές των τριών μορφών της καρνιτίνης, απεικονίζονται στον Πίνακα 3-1.

Πίνακας 3-1. Οι φυσιολογικές τιμές των τριών μορφών της καρνιτίνης για ένα φυσιολογικό ενήλικο ανεξαρτήτως φύλου σε $\mu\text{mol/l}$			
Ενήλικες	Ολική Καρνιτίνη	Ελεύθερη Καρνιτίνη	Ακυλ-καρνιτίνη
	54 ± 12.6	39.1 ± 8.6	14.9 ± 7

Η αποθήκευση της καρνιτίνης γίνεται κυρίως στους σκελετικούς μυς με αποτέλεσμα αυτοί να περιέχουν το 90% της συνολικής καρνιτίνης του σώματος (92, 83). Στο σκελετικό μινός φυσιολογικού ατόμου, η καρνιτίνη κυμαίνεται από 11-52 nmol/mg πρωτεΐνης που δεν περιέχει κολλαγόνο. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καρνιτίνης εντοπίζονται λοιπόν στους σκελετικούς και στον καρδιακό μυ, ενώ μικρότερες συγκεντρώσεις βρίσκονται στο ήπαρ, τους νεφρούς, τους όρχεις, την επιδιδυμίδα και τον εγκέφαλο. Αυτό συμβαίνει γιατί στους μυς και στην καρδιά, οι ενεργειακές ανάγκες είναι μεγαλύτερες. Στο αίμα η καρνιτίνη παρουσιάζει τις μικρότερες συγκεντρώσεις από όλους τους ιστούς και αποτελεί περίπου το 1-2% της συνολικής καρνιτίνης του σώματος.

Με βάση τα ανωτέρω, η συγκέντρωση καρνιτίνης στο μυϊκό κύτταρο είναι 70 φορές μεγαλύτερη από ότι στο πλάσμα. Η συγκέντρωση αυτή στους μυς μειώνεται με την σωματική άσκηση και ταυτόχρονα η αναλογία ελεύθερης προς ακυλ-καρνιτίνη τείνει προς τη μεριά της εστεροποιημένης μορφής (93). Ανάλογη αλλά πιο μικρή διαφορά συγκέντρωσης καρνιτίνης υπάρχει και σε άλλους ιστούς σε σχέση με το πλάσμα. Σε αρκετούς ιστούς (καρδιά, σκελετικοί μυς, επιδιδυμίδα, ήπαρ και νεφροί) έχουν αναγνωριστεί πρωτεΐνες σύνδεσης και μεταφοράς της καρνιτίνης (carnitine binding transport proteins) που βοηθούν στην ενεργητική μεταφορά της καρνιτίνης μέσα στο κύτταρο, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνονται συγκεντρώσεις 20-50 φορές υψηλότερες από ότι στο πλάσμα (82). Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους διατηρείται αυτή η διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ ιστών και πλάσματος δεν είναι γνωστοί, ενώ είναι πιθανό οι ορμονικές μεταβολές να παίζουν κάποιο ρόλο.

Στον άνθρωπο υπό φυσιολογικές συνθήκες, η καρνιτίνη βρίσκεται στον ορό του αίματος σαν ελεύθερη σε ποσοστό 75-80% και σαν ακυλ-καρνιτίνη σε ποσοστό 20-25%. Η ακυλ-καρνιτίνη στο ήπαρ και στους σκελετικούς μυς αποτελεί μόνο το 15%. Ο λόγος ακυλ-καρνιτίνης προς ελεύθερη καρνιτίνη (AC/FC) φυσιολογικά είναι περίπου 0.25, ενώ ένας λόγος >0.4 , σχετίζεται με ανεπάρκεια της καρνιτίνης (94).

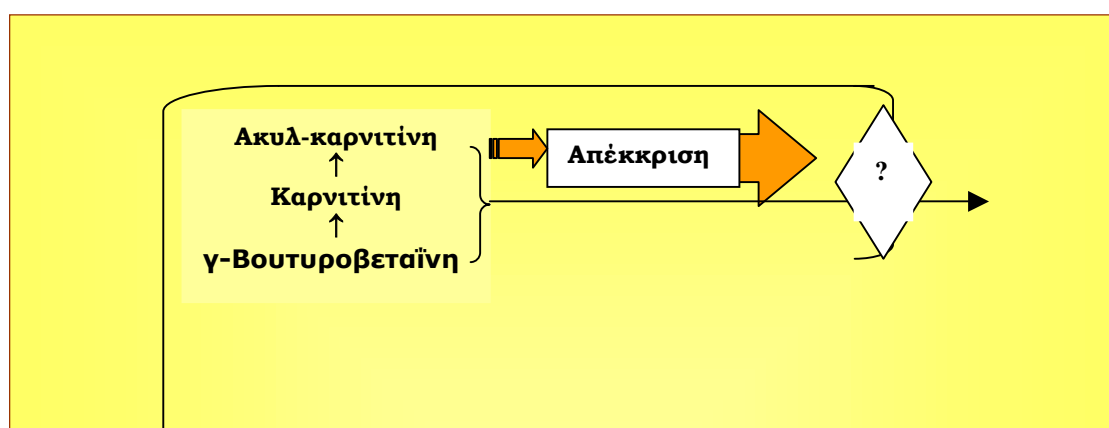
Καίτοι το 99% της καρνιτίνης είναι ενδοκυττάριο, η σχέση ακυλ-καρνιτίνης προς ελεύθερη καρνιτίνη στο πλάσμα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στις μεταβολές που συμβαίνουν μέσα στο μιτοχόνδριο. Μια κατάσταση νηστείας που έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη κετονογένεση, οδηγεί σε μείωση της ελεύθερης καρνιτίνης στο πλάσμα και αύξηση της ακυλ-καρνιτίνης, έτσι ώστε να υπάρχει μια θετική συσχέτιση μεταξύ κετονών και ακυλ-καρνιτίνης (95, 96).

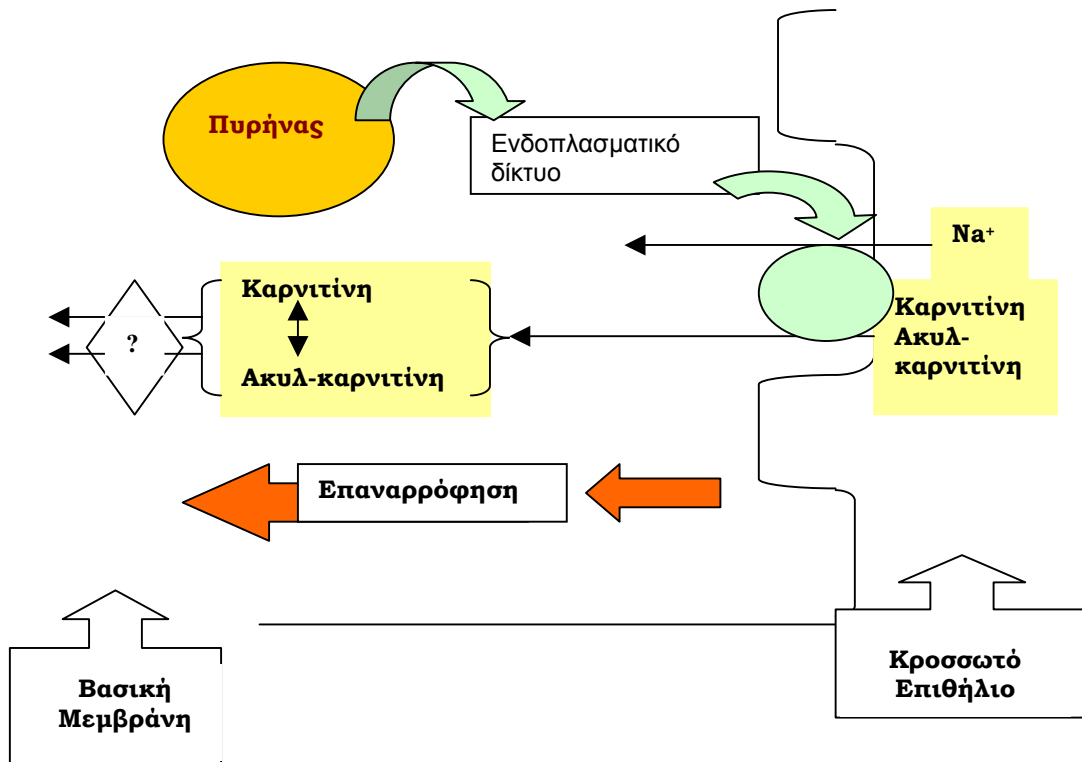
Οι Rebouche και Engel (2003) επέτυχαν να υπολογίσουν το χρόνο διακίνησης (turnover time) της καρνιτίνης στους διάφορους ιστούς, για το εξωκυττάριο υγρό, και για όλη τη μάζα του σώματος. Έτσι κατέληξαν ότι, για τους σκελετικούς μυς και την καρδιά, ο χρόνος αυτός

ήταν σχεδόν 8 ημέρες, για άλλους ιστούς (κυρίως ήπαρ και νεφρό) 11.6 h, για το εξωκυττάριο υγρό 1.13 h και για όλο το σώμα 66 ημέρες (88).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, σε υγιή άτομα, άνω του 90% της καρνιτίνης που διηθείται στους νεφρούς επαναρροφάται (97). Δηλαδή οι συγκεντρώσεις καρνιτίνης που αποβάλλονται στα ούρα είναι πολύ μικρές. Η επαναρρόφηση της καρνιτίνης γίνεται με ενεργητική μεταφορά στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια (84). Ακόμη και σε πρόωρα νεογνά με πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα ή σε ασθενείς με συστηματική ανεπάρκεια καρνιτίνης, αποβάλλονται μικρά ποσά καρνιτίνης στα ούρα. Με βάση τα ανωτέρω, είναι φανερό ότι, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι συγκεντρώσεις καρνιτίνης στο πλάσμα ρυθμίζονται – τουλάχιστον κατά ένα μέρος – από την επαναρρόφηση της καρνιτίνης από τους νεφρούς (98). Η L-καρνιτίνη που συντίθεται στα νεφρικά κύτταρα κατά ένα μέρος απεκκρίνεται στον αυλό των σωληναρίων είτε ως ελεύθερη είτε ως εστέρας βραχείας αλύσου (98, 99). Η σημασία της αποβολής εστέρων καρνιτίνης στα ούρα δεν έχει αποσαφηνισθεί. Πιθανά να πρόκειται για έναν μηχανισμό αποβολής της περίσσειας των οργανικών οξέων βραχείας και μέσης αλύσου ειδικά αν αυτή η συσσώρευση οφείλεται σε συγγενή μεταβολικά νοσήματα (100-102). Η συνολική διακίνηση της καρνιτίνης στα ούρα στη διάρκεια μιας ημέρας, υπολογίζεται ότι αποτελεί το 4-6% της συνολικής μάζας ενός υγιούς ενήλικα (Σχήμα 3-5).

Η αποβολή της καρνιτίνης στον ανθρώπινο οργανισμό επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως οι συγκεντρώσεις της θυροξίνης στο πλάσμα. Ο υπερθυρεοειδισμός αυξάνει σημαντικά την αποβολή καρνιτίνης στα ούρα, ενώ ο υποθυρεοειδισμός προκαλεί το αντίθετο. Δεν έχει διευκρινιστεί όμως εάν η θυροξίνη επιδρά αυξάνοντας την απελευθέρωση της καρνιτίνης από τους ιστούς, οπότε αυξάνονται οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα και κατ' επέκταση αυξάνεται η απέκκριση της στα ούρα, ή εάν η ορμόνη μειώνει τον ουδό απέκκρισης της καρνιτίνης (103). Νηστεία 36 h σε φυσιολογικά άτομα μειώνει την νεφρική κάθαρση της ελεύθερης και αυξάνει την κάθαρση της ακυλ-καρνιτίνης, ενώ αυξάνεται η συνολική κάθαρση καρνιτίνης (96). Επίσης σε νηστεία σε φυσιολογικά άτομα, μειώνεται η ελεύθερη και αυξάνεται η ακυλ-καρνιτίνη στο πλάσμα, ενώ η συνολική καρνιτίνη αυξάνεται. Η αύξηση της απέκκρισης της ακυλ-καρνιτίνης είναι παράλληλη με την αύξηση των συγκεντρώσεων της στο πλάσμα (96, 104), αν και αυτό δεν αποτελεί αναγκαία προϋπόθεση δεδομένου ότι, όπως αναπτύσσεται στο Κεφάλαιο Σακχαρώδης διαβήτης της κύησης (βλ. Γενικό Μέρος, Κεφάλαιο 2), στη φυσιολογική κύηση υπάρχει σταθερή απέκκριση καρνιτίνης παρά την παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων καρνιτίνης στο πλάσμα. Στη διαβητική κετοξέωση, παρατηρούνται ανάλογες μεταβολές. Και στις δύο περιπτώσεις (νηστεία, διαβητική κετοξέωση) ο μηχανισμός είναι παρόμοιος και υποκινείται από την επαγόμενη αντίσταση στην ινσουλίνη.





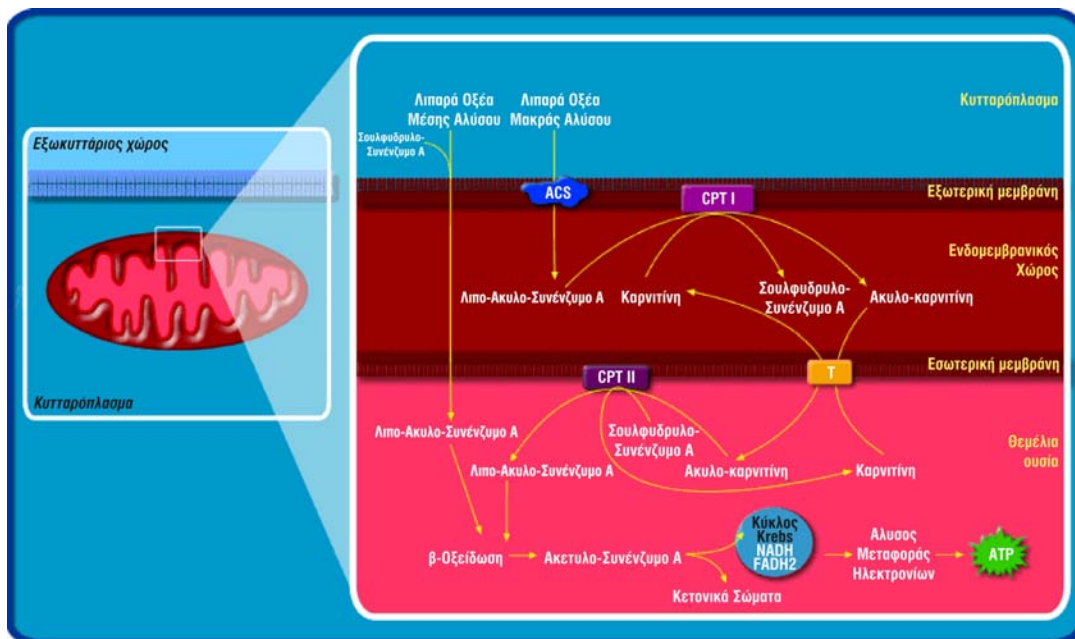
Σχήμα 3-5. Σχηματική παράσταση της μεταφοράς της καρνιτίνης της τροφής από τον αυλό του εντέρου στα κύτταρα του βλεννογόνου.

3.4 Λειτουργία του Συστήματος της Καρνιτίνης

Η παραγωγή ενέργειας στην καρδιά και τους σκελετικούς μυς βασίζεται κυρίως στην καύση των λιπαρών οξέων. Ο καταβολισμός των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (long chain fatty acids, LCFA), αρχίζει με την ενεργοποίηση τους, δηλαδή τη μετατροπή τους σε LC-ακετυλο-CoA. Το LC-ακετυλο-CoA που σχηματίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο ή στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, δεν μπορεί να διέλθει μέσω της έσω μιτοχονδριακής μεμβράνης προκειμένου να φθάσει στη θέση όπου επιτελείται η β-οξειδωση. Η καρνιτίνη λοιπόν έχει σαν αποστολή, την μεταφορά των ακυλ-ομάδων των λιπαρών οξέων κατά μήκος της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων. Συγκεκριμένα, η ακυλο-ομάδα των λιπαρών οξέων μεταφέρεται μέσω του λιπο-ακυλο-CoA στο υδροξύλιο της καρνιτίνης. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την ακυλ-τρανσφεράση της καρνιτίνης I (carnitine acyltransferase I, CAT I). Η ακυλ-καρνιτίνη που σχηματίζεται, μεταφέρεται μέσω της έσω μιτοχονδριακής μεμβράνης στη θεμέλια ουσία του μιτοχονδρίου (mitochondrial matrix), με τη δράση της τρανσλοκάσης. Ακολούθως, η ακυλ-ομάδα μεταφέρεται στο CoA με τη βοήθεια της ακυλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης II (carnitine acyltransferase II, CAT II). Εν συνεχεία, η καρνιτίνη επιστρέφει στον

ενδομεμβρανικό χώρο με τη βοήθεια της τρανσλοκάσης σε ανταλλαγή με την εισερχόμενη ακυλ-καρνιτίνη (Σχήμα 3-6).

Τρεις ομάδες ακυλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης έχουν αναγνωρισθεί. Οι παλμιτοϋλο-τρανσφεράσες, οι οκτανούλο-τρανσφεράσες και οι ακετυλο-τρανσφεράσες της καρνιτίνης.



Σχήμα 3-6. Διαδικασία εισόδου των λιπαρών οξέων στο μιτοχόνδριο και το σύστημα μεταφοράς της καρνιτίνης. Η οξείδωση των λιπαρών οξέων αποτελεί μια σημαντική πηγή ενέργειας για την παραγωγή ATP στα μιτοχόνδρια, μέσω της εισόδου του ακετυλο-συνενζύμου A (CoA) στον κύκλο του Krebs. Η διεργασία της οξείδωσης περιλαμβάνει τρία στάδια: 1) την ενεργοποίηση των λιπαρών οξέων, 2) τη μεταφορά του λιπο-ακυλο-συνενζύμου A στα μιτοχόνδρια και 3) τις αντιδράσεις της β-οξείδωσης. Τα λιπαρά οξέα υφίστανται μεν την οξείδωση εντός της θεμέλιας ουσίας του μιτοχονδρίου, αλλά προέρχονται από το κυτταρόπλασμα.

Η ενεργοποίηση των λιπαρών οξέων επιτελείται στο κυτταρόπλασμα μέσω εστεροποίησης με το συνένζυμο A (CoA) και το σχηματισμό λιπο-ακυλο-συνενζύμου A (RCO-CoA, όπου R υποδηλώνει την ακυλομάδα του λιπαρού οξέος). Τα ενεργοποιημένα λιπαρά οξέα μέσης αλύσου (C8 και C10) διαχέονται ελεύθερα προς το μιτοχόνδριο προκειμένου να οξειδωθούν, αλλά τα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου δεν διαχέονται και είναι απαραίτητο να μεταφερθούν. Η μεταφορά των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου προς το μιτοχόνδριο για την οξείδωσή τους, επιτυγχάνεται από το σύστημα I και II της μεταφοράς της παλμιτικής καρνιτίνης (CPT I και CPT II).

Το σύστημα αυτό μετακινεί τα ενεργοποιημένα μόρια των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου κατά μήκος της εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου. Σε πρώτο στάδιο, η ακυλομάδα του λιπο-ακυλο-συνενζύμου A μεταφέρεται προς την υδροξυλική ομάδα της καρνιτίνης με το σχηματισμό ακυλο-καρνιτίνης, σε μια αντίδραση η οποία καταλύεται από την παλμιτυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης I (CPT I). Η αντίδραση αυτή αποτελεί καθοριστικό βήμα για τη ρύθμιση της οξείδωσης των ενδοκυττάρων λιπαρών οξέων. Ο ακυλο-εστέρας της ακυλο-καρνιτίνης αποτελεί μόριο πλούσιο σε ενέργεια με ελεύθερη ενέργεια υδρόλυσης παρόμοια με εκείνη του θειολικού εστέρα. Η ακυλο-καρνιτίνη ακολούθως εισέρχεται στη θεμέλια ουσία του μιτοχονδρίου μέσω μιας πρωτεΐνης μεταφοράς, της τρανσλοκάσης της καρνιτίνης:ακυλο-καρνιτίνης (T), η οποία εδράζεται στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου. Μετά την είσοδό της στη θεμέλια ουσία, το σύστημα της παλμιτυλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης II (CPT II), καταλύει την αντίστροφη αντίδραση την οποία καταλύει η παλμιτυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης I (CPT I), δηλαδή οδηγεί στην εκ νέου παραγωγή λιπο-ακυλο-συνενζύμου A και ελεύθερης καρνιτίνης. Το παραγόμενο με τον τρόπο αυτό λιπο-ακυλο-συνένζυμο A είναι πλέον έτοιμο να εισέλθει στη διαδικασία της β-οξείδωσης, στη θεμέλια ουσία του μιτοχονδρίου για την παραγωγή ενέργειας. Η ελεύθερη καρνιτίνη η οποία προκύπτει μεταφέρεται πίσω, προκειμένου να ανανεώσει τη δεξαμενή της καρνιτίνης, ώστε να επιτρέψει την ανωτέρω περιγραφείσα διαδικασία μεταφοράς να συνεχιστεί. Συμπερασματικά, το σύστημα μεταφοράς της καρνιτίνης απομακρύνει το λιπο-ακυλο-συνένζυμο A από το κυτταρόπλασμα και αναγεννά λιπο-ακυλο-συνένζυμο A στη θεμέλια ουσία του μιτοχονδρίου.

ACS = Συνθετάση του ακυλο-συνενζύμου A, T = τρανσλοκάση, NADH = αναχθέν νικοτιναμίδο-αδενίνο-δινουκλεοτίδιο, FADH2 = αναχθέν φλαβινο-αδενίνο-δινουκλεοτίδιο, ATP = 5'-τριφωσφορική αδενοσίνη

Εκτός όμως από τη μεταφορά των LCFA, η καρνιτίνη παίζει σημαντικό ρόλο σε μια σειρά άλλων διαδικασιών, όπως στην:

- Οξειδωση των λιπαρών οξέων πολύ μακράς αλύσου (very long chain fatty acids, VLCFA) στα υπεροξυσώματα.
- Μεταφορά ενεργοποιημένων οργανικών οξέων μέσης και βραχείας αλύσου από τα υπεροξυσώματα στα μιτοχόνδρια.
- Επανεστεροποίηση των τριακυλ-γλυκερολών στο ενδοπλασματικό δίκτυο πριν από την έκκριση των VLDL.
- Ενεργοποίηση της οξειδωσης του πυροσταφυλικού οξέος και των αμινοξέων με διακλαδιζόμενη άλυσο, όπως η βαλίνη, η λευκίνη και η ισολευκίνη. Αυτό είναι πολύ σημαντικό σε ειδικές καταστάσεις όπως η παρατεταμένη νηστεία και η άσκηση.
- Ενεργοποίηση αερόβιας γλυκόλυσης και διέγερση της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PDH).
- Ρυθμιστική δράση στο κλάσμα ακυλ-CoA/CoA δρώντας ως διαθέσιμη αποθήκη ενεργοποιημένων ακετυλ-ομάδων. Η αναλογία ακυλκαρνιτίνη/καρνιτίνη αντικατοπτρίζει πιστά τον λόγο ακυλ-CoA/CoA. Ο λόγος ακυλ-CoA/CoA είναι σημαντικός, γιατί ρυθμίζει τη δραστηριότητα πολλών μιτοχονδριακών ενζύμων που συμμετέχουν στον κύκλο του κιτρικού οξέος, τη γλυκονεογένεση, τον κύκλο της ουρίας και την οξειδωση των λιπαρών οξέων. Η αύξηση του ελεύθερου CoA στα μιτοχόνδρια, ενισχύει τη β-οξειδωση και την παραγωγή ενέργειας μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας (105). Επίσης, η αύξηση της β-οξειδωσης έχει σαν αποτέλεσμα τον περιορισμό της παραγωγής τριγλυκεριδίων με ελάχιστη ή ασήμαντη επίδραση στη χοληστερόλη (106, 107).
- Καθαρισμός από τις ακυλ-ομάδες. Το σύστημα της τρανσφεράσης της ακυλο-καρνιτίνης αντιδρά με τα βραχείας και μεσαίας αλύσου ακετυλ-CoA και σχηματίζονται ακυλ-καρνιτίνες, που μεταφέρονται έξω από το μιτοχόνδριο. Με τον μηχανισμό αυτό, αφ' ενός μεν ρυθμίζονται οι ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις ακετυλ-CoA και ελεύθερου CoA και αφ' ετέρου απαλλάσσονται τα κύτταρα από τα τοξικά μόρια του ακετυλ-CoA.
- Ακυλίωση και απο-ακυλίωση μορίων για την επαναδόμηση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Προστασία από την παραγωγή τοξικών μεταβολιτών των λιπαρών οξέων που είναι δυνατόν να καταστρέψουν τις κυτταρικές μεμβράνες (92, 108, 110).
- Συμμετοχή στην ομοιοστάση φωσφολιπιδίων και λιπαρών οξέων στους νευρώνες.
- Σύνθεση και επιμήκυνση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (111, 113).
- Σταθεροποίηση των μεμβρανών των κυττάρων και των πρωτεϊνών τους.
- Αναστολή της μετουσίωσης διαλυτών παραγόντων, όπως της αμμωνίας (114, 115).
- Παροχή ενέργειας στα σπερματικά κύτταρα μετά την εκσπερμάτιση. Στη φάση αυτή τα σπερματικά κύτταρα αντλούν όλη τους την ενέργεια από την καύση της γλυκόζης και της φρουκτόζης, των οποίων η οξειδωσή έχει άμεση συσχέτιση με την περιεκτικότητα σε ακυλ-καρνιτίνη.
- Αντιοξειδωτική και αντιαποπτωτική δράση.

3.5 **Φυσιολογία του Συστήματος της Καρνιτίνης**

Η φυσιολογία του συστήματος της καρνιτίνης, παραδοσιακά επικεντρώνεται κυρίως στους σκελετικούς μύες, δεδομένου ότι διαθέτουν τις υψηλότερες

συγκεντρώσεις σε καρνιτίνη. Εντούτοις, οι διαταραχές στο σύστημα της καρνιτίνης, επηρεάζουν όλους τους ιστούς, εφ' όσον υπάρχει μια στενή αλληλεξάρτηση μεταξύ των οργάνων προκειμένου να διατηρηθεί η μεταβολική ισορροπία.

Ο σκελετικός μυς χαρακτηρίζεται από:

1. υψηλότερες τιμές καρνιτίνης
2. την παρουσία δυο μεμβρανικών μεταφορέων καρνιτίνης (υψηλής και χαμηλής συγγένειας) με διαφορετικές ιδιότητες στην κινητική σε σχέση με άλλους ιστούς
3. την παρουσία διαφορετικής ισομορφής του ενζύμου παλμιτοϋλ-τρανσφεράση (palmityltransferase I, M-CPT I) σε σχέση με εκείνη που βρίσκεται στο ήπαρ (L-CPT I) (116, 118).

Η ρύθμιση της CPT I από την ινσουλίνη, αποτελεί σημαντικό ρυθμιστικό βήμα για την πρόσληψη και οξειδωση των λιπαρών οξέων από το μιτοχόνδριο. Ουσιαστικά παίζει το ρόλο του διαμεσολαβητή στο διάλογο μεταξύ των ιστών, προκειμένου ο μεταβολισμός να λάβει κατεύθυνση είτε προς τη χρήση γλυκόζης ή των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA). Διάφορες μεταβολικές καταστάσεις όπως η νηστεία, ο διαβήτης κλπ, επηρεάζουν αυτό το σημαντικό βήμα (119, 123).

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ο μεταβολισμός των LCFA που εξαρτάται από την καρνιτίνη, παρεμβαίνει στον καθορισμό της ευαισθησίας των υποδοχέων της ινσουλίνης προς την ινσουλίνη. Έχει βρεθεί σε ποντίκια, ότι παρατεταμένη αναστολή της CPT I, προάγει την αντίσταση στην ινσουλίνη, γιατί αυξάνει τη συσσώρευση λίπους στους μυς (124). Και στο μυϊκό ιστό όμως των ανθρώπων έχει αποδειχθεί ότι τα LCFA είναι ένας άμεσος δείκτης του ενδοκυττάριου μεταβολισμού των λιπιδίων και σχετίζεται με την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Η αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη που εμφανίζεται σε παχύσαρκα άτομα, σχετίζεται άμεσα με τη μείωση της δραστηριότητας της CPT I και με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο πλάσμα της μεμβρανικής πρωτεΐνης που δεσμεύει τα λιπαρά οξέα (fatty acid binding protein, FABP) (125, 126). Η μεταβολική τάση των σκελετικών μυών σε τέτοιες περιπτώσεις, φαίνεται να οργανώνεται κυρίως προς την εστεροποίηση των λιπών παρά προς οξείδωση (127). Σε μια μελέτη με γυναίκες με κεντρική παχυσαρκία, η δραστηριότητα της M-CPT I βρέθηκε μειωμένη (128). Επίσης σε παχύσαρκες γυναίκες με αντίσταση στην ινσουλίνη, βρέθηκε μειωμένη και η δραστηριότητα αλλά και η μετάφραση του mRNA της τρανσλοκάσης της καρνιτίνης (carnitine translocase), ένζυμο που εδράζεται στην έσω μεμβράνη των μιτοχονδρίων και έχει ως σκοπό την μεταφορά της ακυλ-καρνιτίνης από τον ενδομεμβρανικό χώρο προς την θεμέλια ουσία του μιτοχονδρίου, όπως αναπτύχθηκε αναλυτικά στο Σχήμα 3-6. Επομένως, τόσο το χαμηλό επίπεδο της τρανσλοκάσης της καρνιτίνης, όσο και εκείνο της M-CPT I στους μυς που παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη, συμβάλλουν στο να αυξηθούν οι συγκεντρώσεις TGs, διακυλογλυκερολών και συζευγμένων λιπαρών οξέων με το συνένζυμο A (FA-CoA) στους μυς αυτούς και αποτελούν χαρακτηριστικό τους γνώρισμα (128, 129).

3.6 Έλλειψη Καρνιτίνης

Η έλλειψη της καρνιτίνης (βλ. Πίνακα 3-2), διακρίνεται σε δύο κατηγορίες:

- ο Κληρονομική
- ο Επίκτητη

Η κληρονομική έλλειψη καρνιτίνης χωρίζεται σε δύο κλινικές οντότητες:

- Συστηματική πρωτοπαθής έλλειψη καρνιτίνης

- Πρωτοπαθής μυϊκή έλλειψη καρνιτίνης

Στην πρώτη περίπτωση, η διάγνωση τίθεται με μέτρηση όλων των κλασμάτων καρνιτίνης στο αίμα ή σε ούρα 24 h, ενώ στην δεύτερη με βιοψία μυός. Η πρωτοπαθής συστηματική έλλειψη καρνιτίνης μπορεί να οφείλεται σε:

1. Διαταραχή στη σύνθεση καρνιτίνης
2. Διαταραχές της ομοιόστασης της καρνιτίνης στο επίπεδο του νεφρού
3. Διαταραχές των μηχανισμών μεταφοράς της καρνιτίνης στο επίπεδο του κυττάρου που επηρεάζουν την πρόσληψη ή την απελευθέρωση της από τους ιστούς
4. Μεγάλου βαθμού αποδόμηση καρνιτίνης
5. Διαταραχή της απορρόφησης της καρνιτίνης από το έντερο

Η πρωτοπαθής συστηματική έλλειψη καρνιτίνης σχετίζεται με υποτροπιάζοντα επεισόδια μεταβολικής εγκεφαλοπάθειας, υπογλυκαιμία, υποπροθρομβιναιμία, υπεραμμωνιαίμια και αυξημένο κορεσμό τον ηπατοκυττάρων σε λίπη κατά τη διάρκεια των οξέων επεισοδίων (91).

Το αποτέλεσμα της πρωτοπαθούς μυϊκής έλλειψης της καρνιτίνης είναι η συσσώρευση λιπών στο μυοκάρδιο και στους σκελετικούς μυς, με προοδευτικά αυξανόμενη και τελικά ποικίλου βαθμού μυϊκή αδυναμία, υποτονία και μυόλυση καθώς επίσης και συσσώρευση λιπών στο ήπαρ, με εκδηλώσεις όπως υποκετοναίμια, υπογλυκαιμία, υπεραμμωνιαίμια και χαμηλό βάρος σώματος (130, 136). Χαρακτηριστικά χαμηλές παρουσιάζονται οι δραστηριότητες των ηπατικών ένζυμων του κύκλου της ουρίας, οι οποίες οδηγούν σε διαταραχές στη στεροειδογένεση, με αποτέλεσμα την υπερκορτιζολαιμία (82, 137).

Γενικά θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν, ότι η συστηματική έλλειψη καρνιτίνης είναι ένα ιδιαίτερα ετερογενές σύνδρομο και ο χρόνος εμφάνισης ή αναγνώρισης της ποικίλει (91).

Η επίκτητη έλλειψη καρνιτίνης μπορεί να οφείλεται σε ανεπαρκή πρόσληψη, αυξημένες απαιτήσεις ή μεγάλη απώλεια καρνιτίνης (83). Αποτελεί μέρος γενετικών συνδρόμων του διάμεσου μεταβολισμού ή επίκτητων διαταραχών, με τις δύο ακόλουθες κύριες κατηγορίες :

- Οργανικές οξυουρίες
- Νεφροπάθειες

Συνήθως, στην επίκτητη έλλειψη καρνιτίνης, οι εκδηλώσεις αφορούν λειτουργικές ανεπάρκειες οργάνων και ανάλογα με το όργανο επηρεάζεται και συγκεκριμένη μεταβολική οδός. Συγκεκριμένα για τους τρεις κύριους ιστούς, παρατηρούνται τα ακόλουθα:

- ο Ήπαρ: οξειδωση FFA και κετονογένεση
- ο Σκελετικοί μυς: περιεκτικότητα σε γλυκογόνο και αξιοποίηση ATP
- ο Καρδιακός μυς: ικανότητα να μετατρέπει τον μεταβολισμό του από την οξειδωση λιπών σε καύση γλυκόζης

Πειράματα με χορήγηση πιβαλικού οξέος (pivalic acid), ενός παράγοντα που προκαλεί ανεπάρκεια στην καρνιτίνη, έδειξαν ότι επάγονται χρόνιες μεταβολικές αλλαγές που οδηγούν σε αντίσταση στην ινσουλίνη και παχυσαρκία, αυξημένη ηπατική και μυϊκή εναπόθεση TGs και κετοναίμια, ήτοι παράμετροι που σχετίζονταν με τα χαμηλά επίπεδα ελεύθερης καρνιτίνης στο ήπαρ, τους μυς και το πλάσμα. Παρατεταμένη χορήγηση πιβαλικού οξέος, οδήγησε σε

σημαντική υπερινσουλιναίμια και αύξηση της μυϊκής μάζας σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου (138).

Σε περιπτώσεις επίκτητης έλλειψης καρνιτίνης στους ενήλικες, ενεργοποιούνται αντιρροπιστικά βοηθητικοί μη μιτοχονδριακοί μηχανισμοί οξειδωσης. Οι προσαρμοστικοί αυτοί μηχανισμοί, ενεργοποιούνται στην νηστεία, τον διαβήτη, σε δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα και σε άλλες καταστάσεις με δευτεροπαθή έλλειψη καρνιτίνης.

Πίνακας 3-2. Αιτίες έλλειψης καρνιτίνης.
Γενετικό έλλειμμα στη σύνθεση καρνιτίνης
Διατροφική έλλειψη λυσίνης ή μεθειονίνης ή έλλειψη άλλων παραγόντων που συνδράμουν στη σύνθεση καρνιτίνης, όπως ο σίδηρος
Δυσασπορρόφηση καρνιτίνης από το πεπτικό
Αυξημένη απώλεια καρνιτίνης λόγω αυξημένου καταβολισμού, ή βλάβης στη σωληναριακή επαναρρόφηση ή λόγω γενετικής διαταραχής
Διαταραχή στη μεταφορά της καρνιτίνης από τον τόπο σύνθεσης στους ιστούς όπου κυρίως χρησιμοποιείται
Νοσήματα: κίρρωση ήπατος, χρόνια νεφρική νόσος, οργανικές οξυουρίες, νόσος του Alzheimer, σηψαιμία, καρκίνος, καχεξία, χειρουργική επέμβαση, τραύμα, έγκαυμα, θερμοπληξία, ισχαιμία μυοκαρδίου, AIDS, σύνδρομο χρόνιας κόπωσης, αιμοκάθαρση και νεφροπάθεια
Σακχαρώδης διαβήτης
Φυσιολογική γήρανση
Κύηση
Έντονη φυσική άσκηση
Αυξημένες απαιτήσεις καρνιτίνης λόγω δίαιτας υψηλής σε λιπαρά οξέα, φαρμάκων (βαλπροϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ) και μεταβολικό stress

3.7 Καρνιτίνη και Κύηση

Η ολική καρνιτίνη του πλάσματος μειώνεται προοδευτικά στη διάρκεια της κύησης και φθάνει τα επίπεδα ασθενών με έλλειψη καρνιτίνης (139, 140). Επίσης σε μελέτες έχει αναφερθεί ότι, σε μια τελειόμηνη κύηση παράλληλα με την ολική καρνιτίνη, μειώνεται και η ελεύθερη καρνιτίνη, ώστε τελικά φτάνουν και οι δύο μορφές περίπου στο 50% της συγκέντρωσης που έχουν οι μη έγκυες γυναίκες στο πλάσμα. (139, 141). Στην αρχική μελέτη του φαινομένου από τον Cederblad και συν. αναφέρεται προοδευτική μείωση της ελεύθερης καρνιτίνης, που δεν συνοδεύεται όμως από πτώση της ακυλ-καρνιτίνης, από την έναρξη της κύησης. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο πρώτο ήμισυ της κύησης σε σύγκριση με την πτώση μετά την 20^η εβδομάδα κύησης. Έτσι στο πρώτο ήμισυ της κύησης, οι τιμές της καρνιτίνης φθάνουν στο 50% των αρχικών επιπέδων. Η πτώση αυτή που παρατηρήθηκε, δεν ήταν ανάλογη της αύξησης του βάρους του εμβρύου. Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα, ότι η μείωση της καρνιτίνης οφείλεται σε άλλους παράγοντες. Επίσης θα πρέπει να τονισθεί, ότι η αύξηση του όγκου του πλάσματος που συμβαίνει κατά την κύηση και οδηγεί στην αιμοαραίωση, δεν επαρκεί για να εξηγηθεί η μεγάλη αυτή μείωση της καρνιτίνης στο πρώτο ήμισυ της κύησης (142). Από μελέτες σε ποντίκια, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της καρνιτίνης επηρεάζονται από τα κυκλοφορούντα ανδρογόνα και οιστρογόνα (84, 143). Αυτό πιθανά να ισχύει και για τον άνθρωπο αλλά δεν έχει επιβεβαιωθεί.

Η ακυλ-καρνιτίνη μειώνεται επίσης καθώς εξελίσσεται η κύηση, αλλά όχι σε τόσο χαμηλά επίπεδα ούτε με τόσο ταχύ ρυθμό όσο η ελεύθερη καρνιτίνη (144). Άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι μειώνεται, μόνο η ελεύθερη καρνιτίνη ενώ τα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης αυξάνονται (145). Η αύξηση της οξειδωσης των λιπαρών οξέων που συμβαίνει προς το τέλος της κύησης, μπορεί να έχει σχέση με τη μείωση αυτή και την μετατροπή της ελεύθερης σε ακυλ-καρνιτίνη (145, 147).

Από μελέτες του Schoderbeck και συν προκύπτει ότι η κύηση προκαλεί δευτεροπαθή έλλειψη της καρνιτίνης. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν σημαντική ελάττωση της ολικής καρνιτίνης που οφείλετο κυρίως στην μείωση της ελεύθερης καρνιτίνης, ενώ τα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης δεν μεταβάλλοντο ιδιαίτερα. Επιπλέον, δεν παρατήρησαν σημαντικές μεταβολές από την 12^η εβδομάδα της κύησης μέχρι τον τοκετό (148).

Η απέκκριση της ολικής καρνιτίνης στα ούρα, δεν διαφέρει σε έγκυες γυναίκες που βρίσκονται προς το τέλος της κύησης σε σύγκριση με μη έγκυες γυναίκες, παρά τα χαμηλά επίπεδα καρνιτίνης στο πλάσμα των εγκύων γυναικών. Η απέκκριση μεγάλων ποσών καρνιτίνης στα ούρα, παρά την παρουσία χαμηλών επιπέδων στο πλάσμα, μπορεί να οφείλεται σε αλλαγές του μηχανισμού ομοιόστασης ή σε αυξημένη σύνθεσή της στο νεφρό (142). Όποια εκδοχή και αν ισχύει, η ολική καρνιτίνη που είναι αποθηκευμένη στον οργανισμό δεν μεταβάλλεται. Η απέκκριση όμως της ακυλ-καρνιτίνης είναι υψηλότερη σε σχέση με αυτή της ελεύθερης σε έγκυες σε σύγκριση με μη έγκυες γυναίκες, και φθάνει στο μέγιστο την 16^η εβδομάδα (149, 152). Το φαινόμενο αυτό πιθανά να βοηθά στην αποβολή της περίσσειας των τοξικών ακυλ-ομάδων από τα κύτταρα, προκειμένου να αποφευχθεί η καταστροφή των κυττάρων ή μια πιθανή συστηματική οξέωση. Αν αυτή η υπόθεση είναι αληθής, τότε θα πρέπει να μειώνεται η FC στο πλάσμα και να αυξάνεται η κάθαρση της AC στη διάρκεια της κύησης (142). Η απάντηση αυτή δεν είναι δυνατόν να δοθεί ακόμη, δεδομένου ότι δεν έχει μετρηθεί ακόμη η συγκέντρωση της καρνιτίνης στους μύς εγκύων γυναικών, όπου εκεί αντιπροσωπεύεται το 90% της συνολικής καρνιτίνης του σώματος. Η αυξημένη απέκκριση ακυλ-καρνιτίνης από τα ούρα, οι ορμονικές μεταβολές και η μείωση της βιοσύνθεσης της καρνιτίνης στις έγκυες γυναίκες, έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα, την έλλειψη της κατά τη διάρκεια της κύησης (153). Τέλος, τα επίπεδα της καρνιτίνης μειώνονται περαιτέρω τόσο κατά τη διάρκεια του τοκετού (Koumantakis et al. 2001) όσο και μετά τον τοκετό και επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα μετά το τέλος της λοχείας.

Η καρνιτίνη σε περίοδο κύησης διέρχεται ενεργητικά τον πλακούντα και οι συγκεντρώσεις της στο έμβρυο, το οποίο δεν μπορεί να συνθέσει επαρκείς ποσότητες καρνιτίνης, είναι υψηλότερες από ότι στο μητρικό πλάσμα (155, 156). Τονίζεται ότι για την παραγωγή ενέργειας, το έμβρυο χρησιμοποιεί τους υδατάνθρακες όπως φαίνεται στο Σχήμα 891 (144). Ο μηχανισμός μέσω του οποίου παρέχεται καρνιτίνη στο έμβρυο, δεν είναι γνωστός. Παρά τα χαμηλά επίπεδα στη μητέρα, το έμβρυο και το αμνιακό υγρό έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις καρνιτίνης σε σχέση με το μητρικό πλάσμα. Το έμβρυο προς το τέλος της κύησης αποθηκεύει καρνιτίνη στους μύς του, ούτως ώστε τα επίπεδα αυτά της καρνιτίνης να είναι παρόμοια με ενός ενηλίκου. Αντίθετα, τα πρόωρα νεογνά δεν επιτυγχάνουν να

συγκεντρώσουν επαρκή ποσότητα καρνιτίνης μέχρι το χρόνο της γέννησης τους (191, 157, 158). Στο αίμα του ομφαλίου λώρου παρατηρούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις FC σε πρόωρα νεογνά και μικρότερες συγκεντρώσεις σε τελειόμηνα νεογνά σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις καρνιτίνης στο πλάσμα τους (152, 159). Επίσης, η FC και η AC στο αίμα ομφαλίου λώρου, ευρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από ότι στο μητρικό πλάσμα (144). Αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι: (139)

1. Το έμβρυο συνθέτει καρνιτίνη ή
2. Ο πλακούς μπορεί να συνθέτει καρνιτίνη ή
3. Η μεταφορά καρνιτίνης από το έμβρυο στη μητέρα γίνεται με βραδύτερους ρυθμούς από ότι το αντίστροφο

Όλα τα ανωτέρω, δεν έχουν απαντηθεί επαρκώς και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

3.8 Καρνιτίνη και Σακχαρώδης Διαβήτης

Στον σακχαρώδη διαβήτη, τα επίπεδα καρνιτίνης μειώνονται στο πλάσμα ενώ στους σκελετικούς μυς παραμένουν φυσιολογικά (160). Πρόκειται δηλαδή για μια δευτεροπαθή έλλειψη καρνιτίνης. Η κέτωση που συνοδεύει τον σακχαρώδη διαβήτη, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της ακυλ-καρνιτίνης και μείωση της ελεύθερης καρνιτίνης, γεγονός που αντικατοπτρίζει την αυξημένη παραγωγή ακετυλ-CoA μέσω της β-οξειδωσης (161, 162). Λόγω του ότι η έλλειψη ινσουλίνης επηρεάζει την κινητοποίηση των λιπαρών οξέων (FFA), δεν είναι περίεργο ότι υψηλότερες τιμές ακυλ-καρνιτίνης θα συνδυάζονται με αρρυθμιστη μη ελεγχόμενη θεραπευτικά νόσο και ανεπαρκή ποσά ή σημαντική διαταραχή στη δράση της ινσουλίνης. Η αύξηση της ακυλ-καρνιτίνης, ενεργοποιεί την νεογλυκογένεση μέσω της μετατροπής του πυροσταφυλικού οξέος σε οξαλοξικό οξύ με την επίδραση της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης και συμβάλλει στην υπεργλυκαιμία της νόσου (163).

Πέραν όμως από τη μείωση, στον σακχαρώδη διαβήτη υπάρχει και ανεπάρκεια της καρνιτίνης (164, 165). Η αύξηση του λόγου AC/FC οδηγεί σε αύξηση του λόγου ακυλ-CoA/CoA και αυτό με τη σειρά του σε μείωση της δραστηριότητας της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PDH) και μείωση της γλυκόλυσης (166, 167).

Σε μια μελέτη με παχύσαρκες γυναίκες, οι οποίες παρουσίαζαν αντίσταση στην ινσουλίνη, βρέθηκε ότι οι μυς τους αποτελούντο κυρίως από ίνες τύπου IIB και λιγότερο τύπου I (169). Οι μυϊκές ίνες τύπου II και ιδιαίτερα οι IIB φαινοτυπικά παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη (170). Η υπεροχή σε αριθμό των ινών τύπου II, δυναμικά ενισχύει στην άμεση αποθήκευση λίπους στους σκελετικούς μυς, ως ένα είδος ενδομυϊκών τριγλυκεριδίων ή υποδόριου λίπους παρά την οξείδωση μέσα στον σκελετικό μυ, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αναλογία λίπους τοπικά και κατ' επέκταση η αντίσταση στην ινσουλίνη (171).

Σε μελέτες που έχουν γίνει σε διαβητικούς καθώς και σε παχύσαρκους ασθενείς, που παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη, η χορήγηση καρνιτίνης φαίνεται να βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Επιπλέον στους διαβητικούς ασθενείς, παρατηρήθηκε μείωση των τιμών του γαλακτικού οξέος στο πλάσμα, γεγονός που σημαίνει ότι αυξάνει η δραστηριότητα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PDH) που είναι κατασταλαμένη (168). Επιπλέον, η

αναστολή της οξειδωσης των λιπαρών οξέων μέσω αναστολής της παλμιτοϋλ-τρανσφεράσης της καρνιτίνης, δυνητικά ίσως αποτελέσει στο μέλλον μια καινούργια θεραπευτική προσέγγιση για το διαβήτη τύπου 2 (172).

Παρά τα όσα είναι γνωστά για την επίδραση του διαβήτη τύπου 1 και 2 στην καρνιτίνη και στο σύστημα μεταφοράς της καρνιτίνης, λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει τον ρόλο της καρνιτίνης και τις μεταβολές της στον διαβήτη της κύησης που όπως αναφέραμε στο προηγούμενο Κεφάλαιο 2, παρουσιάζει διαφορετική παθοφυσιολογία. Μία μόνο μελέτη ως σήμερα έχει γίνει από την ομάδα του Gunter και συν. σε έγκυες που ευρίσκοντο στο τρίτο τρίμηνο κύησης, όπου συνέκριναν τα επίπεδα καρνιτίνης και τα συσχέτισαν με τη βαρύτητα της διαταραχής της ανοχής στην ινσουλίνη. Στην μελέτη αυτή κατέληξαν ότι η ακυλ-καρνιτίνη αυξάνεται ανάλογα με τη βαρύτητα της διαταραχής της ανοχής στη γλυκόζη, ενώ το αντίθετο συνέβαινε με την ελεύθερη καρνιτίνη (173). Παρ' όλα αυτά τα δεδομένα, αρκετά ερωτήματα μένουν αναπάντητα για το ρόλο της καρνιτίνης και άλλων σημαντικών βιοχημικών παραμέτρων στον σακχαρώδη διαβήτη της κύησης. Ειδικότερα δεν είναι γνωστό, το πώς επηρεάζεται η καρνιτίνη μετά τη λήψη τροφής και πως συσχετίζεται με άλλες σημαντικές παραμέτρους τόσο της κύησης όσο και της νόσου του διαβήτη της κύησης. Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή αποσκοπεί να απαντήσει συστηματικά στα ερωτήματα αυτά, όπως αναφέρεται αναλυτικά στους Ειδικούς Σκοπούς, στο Ειδικό Μέρος, Κεφάλαιο 1.

Μετά από αυτή τη σύντομη ανασκόπηση για την βιοχημεία και την φυσιολογία της καρνιτίνης, καθίσταται αντιληπτό ότι η καρνιτίνη παίζει ένα σημαντικό ρόλο στο διάμεσο μεταβολισμό στον άνθρωπο. Το ερώτημα εάν είναι απαραίτητο συστατικό της διατροφής ιδίως στα νεογνά δεν έχει αποσαφηνισθεί εντελώς. Διαταραχή του μεταβολισμού της καρνιτίνης λόγω κληρονομικών ή επίκτητων διαταραχών, έχει σαν αποτέλεσμα την ανάδειξη κλινικών εκδηλώσεων ευρέως φάσματος. Μέχρι σήμερα οι θεραπευτικές προσεγγίσεις με τη χορήγηση καρνιτίνης σε περιπτώσεις έλλειψης, παραμένουν εμπειρικές. Επομένως, απαιτούνται περαιτέρω συστηματικές έρευνες για την διαλεύκανση των μηχανισμών που προκαλούν την έλλειψη της καρνιτίνης προκειμένου να σχεδιαστούν συγκεκριμένες θεραπευτικές στρατηγικές. Επιπλέον, η καρνιτίνη έχει χρησιμοποιηθεί και την θεραπεία άλλων καταστάσεων που δεν οφείλονται αμιγώς σε έλλειψη καρνιτίνης. Πριν όμως αυτά μεταφερθούν στην συμβατική καθημερινή κλινική εφαρμογή, θα πρέπει να προσδιορισθεί περαιτέρω ο ρόλος της καρνιτίνης τόσο στο βιοχημικό και μοριακό επίπεδο του φυσιολογικού κυττάρου, όσο και στους μηχανισμούς της παθογένεσης των ασθενειών που αναφέρθηκαν ανωτέρω.

4. Η ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΟΔΟΣ ΤΗΣ Β-ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΕΤΟΝΙΚΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ

4.1 β-Οξειδωση

4.2 Κετονογένεση - Κετονόλυση

4.1 β-Οξειδωση

Θεωρήθηκε απαραίτητο να αναπτυχθεί λεπτομερέστερα το φαινόμενο της β-οξειδωσης, δεδομένου ότι ο ρόλος της καρνιτίνης στο συγκεκριμένο βιοχημικό μονοπάτι, είναι ιδιαίτερης σημασίας λόγω του ρυθμιστικού ρόλου της, στην ροή των FFA μέσα στην μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία, όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο Κεφάλαιο 3 (Καρνιτίνη: Βιοχημεία και Φυσιολογία). Η οξειδωση των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (long chain fatty acids, LCFA), έχει σαν τελικό σκοπό την παροχή ενέργειας στον οργανισμό, είτε άμεσα από την καύση των ακυλ-CoA, είτε έμμεσα από τη χρήση των κετονικών σωμάτων. Η σπουδαιότητα της, αφορά κυρίως την καρδιά και τους σκελετικούς μυς. Η συνεργασία μεταξύ β-οξειδωσης των FFA και καύσης των υδατανθράκων για παραγωγή ενέργειας, είναι σύνθετη και εξαρτάται κάθε φορά από το είδος του ιστού, τη διατροφή, τη σωματική δραστηριότητα και από άλλους παράγοντες, όπως λοιμώξεις και άλλες παθολογικές καταστάσεις. Τα LCFA μπορούν να οξειδωθούν και στα υπεροξυσώματα, αλλά αυτή η μεταβολική οδός είναι ελάχιστος σημασίας στον ανθρώπινο οργανισμό. Να σημειωθεί ότι, για το μεταβολισμό των πολυακόρεστων FFA και των LCFA με διακλαδιζόμενη αλυσή, απαιτούνται επιπρόσθετα επικουρικά ενζυμικά συστήματα για την καύση τους.

Δεδομένου ότι το γλυκογόνο του ήπατος εξαντλείται μέσα σε λίγες ώρες μετά από την λήψη της τροφής, τότε η β-οξειδωση των FFA καθίσταται η κύρια πηγή ενέργειας για το ήπαρ, την καρδιά και τους σκελετικούς μυς (174). Κατά τη νηστεία, το κλάσμα ινσουλίνη/γλυκογόνο είναι χαμηλό, με αποτέλεσμα να διεγείρεται η λιπόλυση, η γλυκογονόλυση, η νεογλυκογένεση, η κετονογένεση στο ήπαρ και η απελευθέρωση γαλακτικού οξέος και αμινοξέων από τους σκελετικούς μυς. Σε έναν ενήλικα, μετά από 24 ώρες νηστείας, το 80% της ενέργειας παράγεται από την οξειδωση των FFA. Με αυτό το μηχανισμό, διατηρούνται σε ικανοποιητικά επίπεδα οι συγκεντρώσεις γλυκόζης στο πλάσμα, ενισχύεται η νεογλυκογένεση και ο μεγαλύτερος όγκος του σώματος καταναλώνει εναλλακτικές πηγές ενέργειας, ούτως ώστε ο εγκέφαλος να τροφοδοτείται με γλυκόζη (174).

Όταν ενεργοποιείται η λιπόλυση, οι TAGs που βρίσκονται στο λίπος υδρολύονται σε FFA τα οποία απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και ακολούθως οξειδώνονται στους

περισσότερους ιστούς, εκτός από το κεντρικό νευρικό σύστημα και τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Στους μυς, το μεταβολικό προϊόν της β-οξειδωσης είναι το ακετυλ-CoA, το οποίο μεταβολίζεται περαιτέρω στον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος (κύκλος του Krebs) προς CO₂ για την παραγωγή ATP. Στο ήπαρ, τα FFA μετατρέπονται σε ακετυλ-CoA, το οποίο κατά το πλείστον χρησιμοποιείται για το σχηματισμό κετονικών σωμάτων (ketone bodies, KB), ήτοι ακετοξικό, ακετόνη και

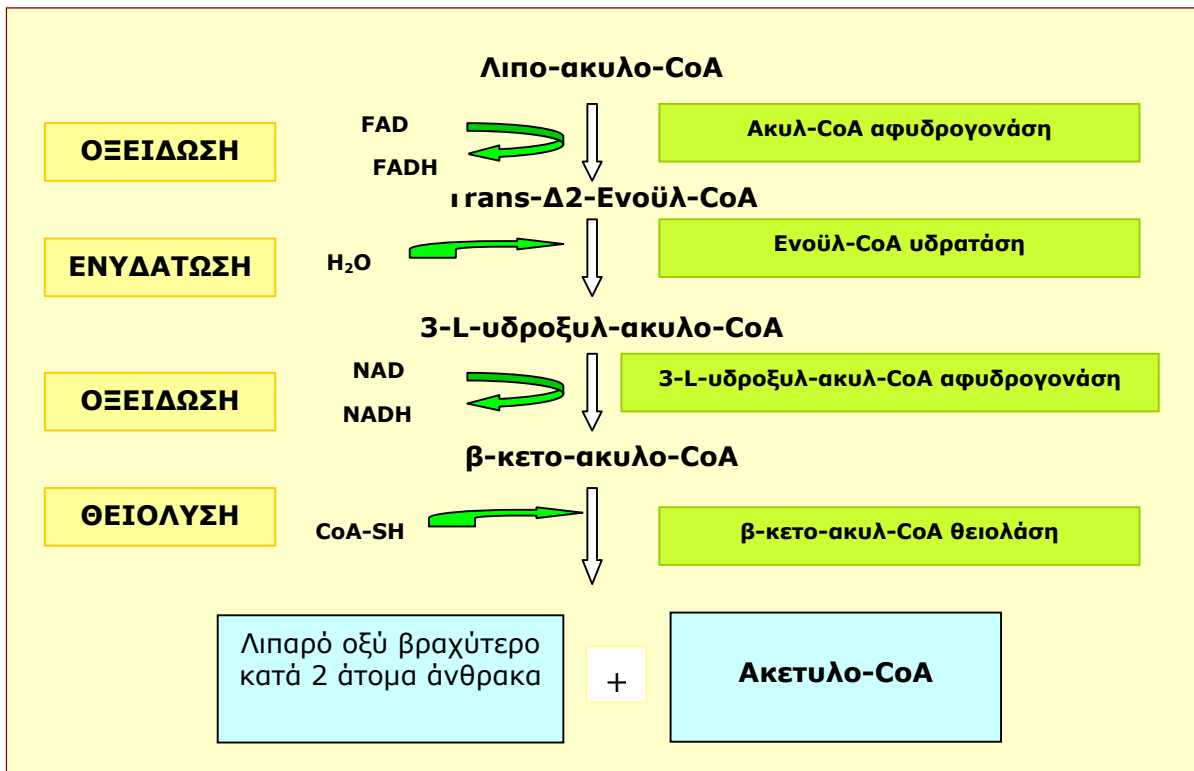
3-υδροξυ-βουτυρικό οξύ. Τα KB εξέρχονται προς την κυκλοφορία και μεταφέρονται σε άλλους ιστούς, όπως οι σκελετικοί μυς, η καρδιά και η φλοιώδης μοίρα των νεφρών, προκειμένου να οξειδωθούν. Ταυτόχρονα, αρχίζει η γλυκογονόλυση κυρίως στο ήπαρ και λιγότερο στο νεφρό και κινητοποιείται η γλυκόζη για εξω-ηπατική καύση. Οι σκελετικοί μυς διαθέτουν επίσης αποθήκες γλυκογόνου, αλλά αυτές χρησιμοποιούνται ενδογενώς κατά τη διάρκεια της άσκησης. Ουσιαστικά η νηστεία ή οι στρεσογόνες καταστάσεις μέσω ινσουλίνης, εκτρέπουν τον μεταβολισμό από τη χρησιμοποίηση υδατανθράκων προς την οξείδωση λιπών, και σαν αποτέλεσμα, η γλυκόζη διατίθεται σε ιστούς που χρησιμοποιούν μόνο αυτή ως το κύριο καύσιμο, όπως ο εγκέφαλος.

Διαταραχή σε οποιοδήποτε από τα ένζυμα της β-οξειδωσης, ή των επικουρικών συστημάτων της, έχει σημαντική επίπτωση στην ομοιόσταση της γλυκόζης. Οι περισσότεροι ασθενείς με διαταραχές της β-οξειδωσης έχουν υψηλές συγκεντρώσεις FFA και ασύμβατα χαμηλά επίπεδα KB για τον αντίστοιχο βαθμό λιπόλυσης (175).

Τα FFA μετά την είσοδο τους στο κύτταρο, ενεργοποιούνται, δηλαδή μετατρέπονται μέσω της ακυλ-CoA συνθετάσης σε ακυλ-CoA εστέρες. Στη συνέχεια, είτε υφίστανται εστεροποίηση και σχηματίζουν DAGs ή TAGs, είτε εισέρχονται στο μιτοχόνδριο προκειμένου να υποστούν β-οξειδωση. Η β-οξειδωση μπορεί να χωρισθεί σε 2 στάδια:

1. Διαδικασία κατά την οποία οι ακυλ-ομάδες εισέρχονται στα μιτοχόνδρια
2. Οξειδωτική βράχυνση κατά 2 άτομα άνθρακα (ακετυλ-ομάδες) μέσα στο μιτοχόνδριο.

Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει το σύστημα μεταφοράς της καρνιτίνης που περιγράφεται αναλυτικά στο προηγούμενο Κεφάλαιο 3 (Καρνιτίνη: Βιοχημεία και Φυσιολογία). Το δεύτερο στάδιο δεν θα περιγραφεί λεπτομερειακά, και απεικονίζεται στο Σχήμα 4-1.



Σχήμα 4-1. Η μεταβολική οδός της β-οξειδωσης των FFA. Σε κάθε κύκλο β-οξειδωσης, το λιπο ακυλο-CoA βραχύνεται κατά δύο άτομα άνθρακα. Αυτό επιτελείτε από 4 διαφορετικές οικογένειες ενζύμων που επιλέγονται ανάλογα με το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας του υποστρώματος.

Η ολοκλήρωση των αντιδράσεων της β-οξειδωσης, παράγει ακετυλ-CoA και ATP το οποίο χρησιμοποιείται για την ενεργειακή υποστήριξη της νεογλυκογένεσης και της αναπνευστικής αλυσίδας. Το ακετυλ-CoA που προκύπτει από την βράχυνση των αλυσίδων των FFA έχει διαφορετική τύχη ανάλογα με τον ιστό. Σε ιστούς που παράγουν ΚΒ, όπως π.χ. στο ήπαρ, το μεγαλύτερο μέρος χρησιμοποιείται για την παραγωγή ΚΒ. Στο σύνολο των άλλων ιστών, όπως π.χ. καρδιά, σκελετικοί μυς, το ακετυλ-CoA εισέρχεται στον κύκλο του Krebs και χρησιμοποιείται για την παραγωγή ATP. Η παραγωγή επαρκών ποσοτήτων ακετυλ-CoA, είναι σημαντική για την επάρκεια της νεογλυκογένεσης, διότι το ακετυλ-CoA είναι ενεργοποιητής της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης που μετατρέπει το πυροσταφυλικό οξύ σε οξαλοξικό (174).

Όταν ο ρυθμός της β-οξειδωσης υπερβαίνει τον ρυθμό οξειδωσης των ακετυλ-CoA στον κύκλο του Krebs, τότε το ακετυλ-CoA εξέρχεται από τα μιτοχόνδρια με τη βοήθεια του μεταφορικού συστήματος της καρνιτίνης και παραμένει σε αναμονή στο κυτταρόπλασμα, ούτως ώστε όταν μειωθεί η συγκέντρωση ακετυλ-CoA μέσα στο μιτοχόνδριο να επανεισέλθει και να οξειδωθεί.

Ο ρυθμός της β-οξειδωσης, ελέγχεται από την οξειδωση άλλων υποστρωμάτων και κυρίως της γλυκόζης τόσο σε επίπεδο εισόδου των FFA στα μιτοχόνδρια όσο και στα επόμενα βήματα. Όταν οι υδατάνθρακες είναι σε επάρκεια, η οξειδωσή τους στα μιτοχόνδρια οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή κιτρικού οξέος το οποίο εξέρχεται στο κυτταρόπλασμα. Εκεί το κιτρικό οξύ διασπάται μέσω της ATP-κιτρικής λυάσης σε μηλικό οξύ και ακετυλο-CoA. Εν συνεχεία, το ακετυλο-CoA μετατρέπεται σε μαλονυλο-CoA με τη δράση της ακετυλο-CoA καρβοξυλάσης που ενεργοποιείται από τις υψηλές συγκεντρώσεις κιτρικού οξέος. Το μαλονυλο-CoA αποτελεί το υπόστρωμα για την βιοσύνθεση των FFA, και για τον λόγο αυτό αποκαλείται και ως το σήμα της αφθονίας (176). Λόγω του ότι η οξειδωση των FFA δεν μπορεί να επιτελείται ταυτόχρονα με τη βιοσύνθεσή τους, το μαλονυλο-CoA αναστέλλει την CPT I ούτως ώστε τα FFA να μην εισέρχονται στη μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία για οξειδωση. Ως γνωστόν, η CPT I ρυθμίζει το ρυθμό ροής της β-οξειδωσης, αλλά δεν τον περιορίζει απαραίτητα, στις περισσότερες περιπτώσεις (177). Η ανάδραση στη δράση του μαλονυλο-CoA επιτελείται μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιεί μέσω AMP (AMP-activated protein kinase, AMPK) και η οποία ενεργοποιεί την CPT I (178-179). Έτσι, η απενεργοποίηση της ακετυλο-CoA καρβοξυλάσης και η πτώση των επιπέδων του μαλονυλο-CoA, αίρουν τα σήματα απενεργοποίησης της CPT I, η AMPK αυξάνει τη δραστηριότητα της CPT I και ενεργοποιείται η β-οξειδωση. Η AMPK φαίνεται να φωσφορυλιώνει τις κυττοκερατίνες 8 και 18 στον κυτταροσκελετό και έτσι να ενεργοποιείται η CPT I. Η ενδομιτοχονδριακή ρύθμιση της β-οξειδωσης επιτυγχάνεται μέσω των ανακυκλούμενων συμπαραγόντων που βρίσκονται μέσα στο μιτοχόνδριο σε περιορισμένες συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα, η απαραίτητη παρουσία του NAD^+ για τη δράση της 3-υδροξυ-ακυλο-αφυδρογονάσης, της φλαβοπρωτεΐνης που μεταφέρει ηλεκτρόνια (electron transfer flavoprotein, ETF), υπεύθυνης για τη δράση της ακυλο-CoA αφυδρογονάσης, και του μη εστεροποιημένου CoA για τη δράση τόσο της CPT II όσο και της 3-οξοακυλο-CoA θειολάσης, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενδομιτοχονδριακή ρύθμιση της β-οξειδωσης (176). Η CPT II αναστέλλεται από την έλλειψη μη εστεροποιημένων CoA στο μιτοχόνδριο, πριν υποστεί αναστολή η 3-οξοακυλο-CoA θειολάση για να προστατεύσει το μιτοχόνδριο από την είσοδο περισσότερων ακυλο-ομάδων.

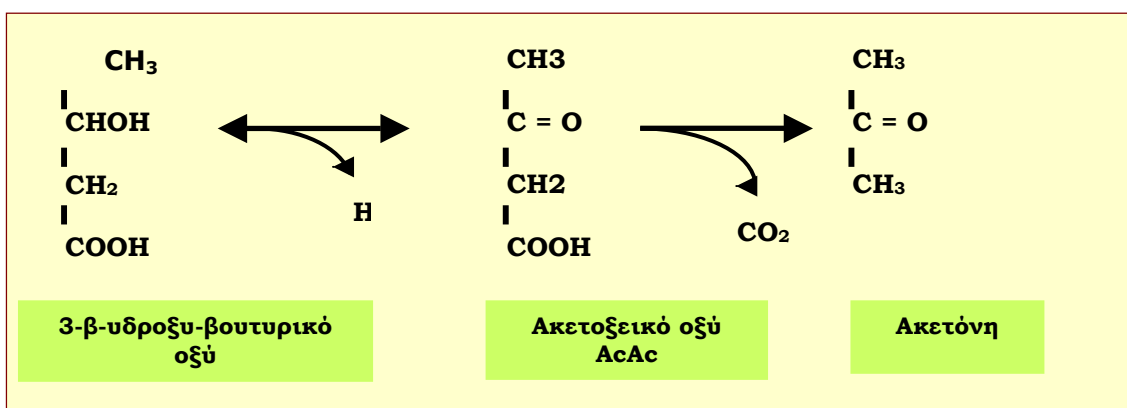
Επιπλέον η β-οξειδωση αναστέλλεται σε διάφορα στάδια από τη συσσώρευση μεταβολικών προϊόντων της και επηρεάζεται, όταν υπάρχουν διαταραχές στην αναπνευστική αλυσίδα λόγω ενζυμικής ανεπάρκειας, ενζυμικής αναστολής, υψηλής αναλογίας του κλάσματος ATP/ADP ή ανοξίας (180-194).

Κατά την κύηση η ρύθμιση τόσο της β-οξειδωσης όσο και της παραγωγής κετονοσωμάτων αλλάζει. Πειράματα σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η οξειδωση των FFA στα μιτοχόνδρια και η εισαγωγή του ακετυλο-CoA στον κύκλο των τρικαρβοξυλικών οξέων, μειώνεται στο δεύτερο ήμισυ της κύησης (195). Έγχυση LCFA σε ήπαρ εγκύων ποντικών είχε σαν

αποτέλεσμα την αύξηση της σύνθεσης των τριγλυκεριδίων και την απελευθέρωση στην κυκλοφορία VLCFA σε σχέση με μη έγκυα ποντίκια (196). Φαίνεται ότι για αυτήν την αλλαγή, ευθύνονται οι ορμόνες της κύησης και ειδικά τα οιστρογόνα. Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση αιθανυλοιστραδιόλης, μειώνει το σχηματισμό κετονικών σωμάτων από LCFA στο ήπαρ στο οποίο έχει γίνει έγχυση LCFA. Επίσης, εξωγενής χορήγηση οιστραδιόλης και λιγότερο προγεστερόνης σε ενήλικα μη έγκυα θηλυκά ποντίκια, είχαν σαν αποτέλεσμα τη μείωση της οξειδωσης των FFA και του μεταβολισμού του ακετυλο-CoA (197). Στο δεύτερο ήμισυ της κύησης αυξάνονται σημαντικά στο πλάσμα οι συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων, των FFA και των κετονών και κατά τη διάρκεια νηστείας οι έγκυες αναπτύσσουν κετοναίμια πιο γρήγορα από ό,τι οι γυναίκες εκτός κύησης (198).

4.2 Κετογένεση - Κετονόλυση

Η ομάδα των κετονικών σωμάτων αποτελείται από τρεις ενώσεις, ήτοι το ακετοξικό οξύ (AcAc), το 3-υδροξυ-βουτυρικό οξύ (3β-OHB) και την ακετόνη. Υπό συγκεκριμένες συνθήκες, τα κετονικά σώματα μετατρέπονται σε σημαντικές πηγές ενέργειας για τα διάφορα όργανα του σώματος, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 4-2.

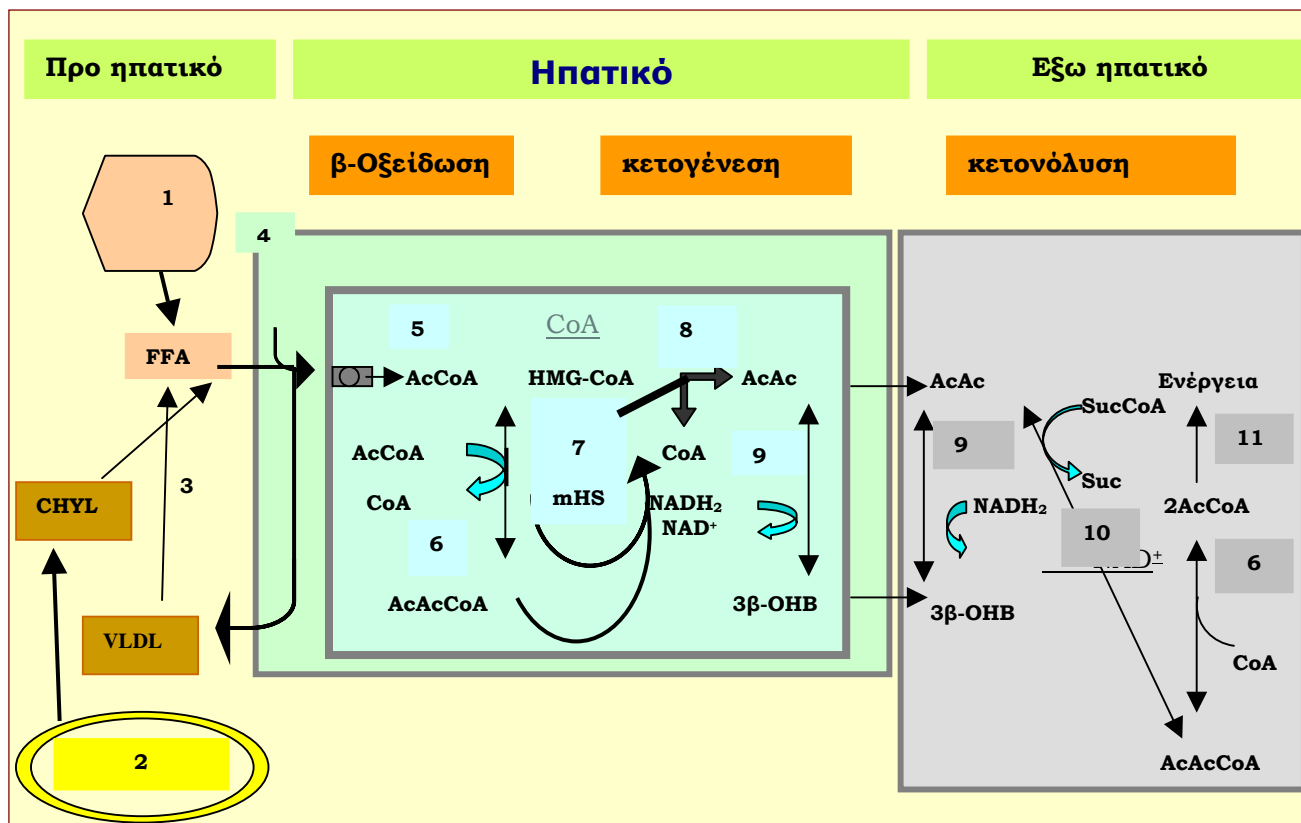


Σχήμα 4-2. Η ομάδα των κετονικών σωμάτων. Το ακετοξικό οξύ (AcAc) αποτελεί το κεντρικό σώμα των κετονών. Παράγεται και χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια του ενδιάμεσου μεταβολισμού και οι άλλες κετόνες προέρχονται από αυτό. Η ακετόνη παράγεται από αυθόρμητη αποκαρβοξυλίωση του AcAc. Παρουσιάζει κλινικό ενδιαφέρον, λόγω του ότι αναδύει μια χαρακτηριστική μυρωδιά φρούτων. Το 3-β-υδροξυ-βουτυρικό οξύ (3β-OHB) είναι το προϊόν αναγωγής του AcAc. Το (3β-OHB) δεν είναι στην πραγματικότητα κετονικό σώμα, επειδή έχει αναχθεί με μια ομάδα υδροξυλίου. Εντούτοις, συμβατικά το 3β-OHB ομαδοποιείται με τις άλλες κετόνες. Το 3β-OHB είναι αμετάβλητο και χημικά σταθερό. Η μόνη μεταβολική μετατροπή του είναι σε AcAc.

καθαρό αποτέλεσμα της διαφοράς μεταξύ παραγωγής και χρησιμοποίησής τους και κυμαίνονται από <0.1 mM μετά από τη λήψη τροφής, μέχρι 6 mM κατά τη διάρκεια παρατεταμένης νηστείας (199) και έως 25 mM σε μη καλά ρυθμιζόμενο διαβήτη (200). Η κέτωση της νηστείας αναπτύσσεται μέσα σε διάρκεια ολίγων ωρών στα παιδιά (201) και εντός ημερών στους ενήλικους (202). Αυξάνεται δε βαθμιαία, καθώς οι θρεπτικές ουσίες μετά τη λήψη τροφής και το γλυκογόνο των ιστών μειώνονται σταδιακά. Αντίθετα, η κετονογένεση

καταργείται άμεσα και γρήγορα μετά τη χορήγηση της ινσουλίνης ή της γλυκόζης (203-204). Εκτός από τη νηστεία ή τον απορυθμισμένο σακχαρώδη διαβήτη, η κατανάλωση μιας κετογενετικής διατροφής (πλούσια σε λίπη και χαμηλή σε υδατάνθρακες) μπορεί να προκαλέσει και να διατηρήσει μια κετογενετική κατάσταση.

Η κετονογένεση επηρεάζεται από την περιεκτικότητα της διαίτας σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη. Η γλυκόζη αποτελεί ισχυρό ερέθισμα για την έκκριση της ινσουλίνης. Επομένως, για την έναρξη της κετονογένεσης απαιτείται κατά κύριο λόγο γλυκοπενία. Οι πρωτεΐνες περιέχουν κετογενετικά αμινοξέα, από τα οποία σχηματίζεται AcAc αλλά και νεογλυκογενετικά αμινοξέα, τα οποία παράγουν γλυκόζη και καταστέλλουν την κετονογένεση. Τα κετογενετικά αμινοξέα παρέχουν μία ανεξάρτητη, αν και συνήθως δευτερεύουσα οδό παραγωγής κετονών. Η λευκίνη είναι το κύριο κετογενετικό αμινοξύ, το οποίο μετατρέπεται άμεσα σε 3-υδροξυ-3-μεθυλγλουταρικό οξύ (HMG)-CoA, αλλά αποτελεί επίσης και ισχυρό ερέθισμα για την έκκριση ινσουλίνης (205). Οι περισσότερες κετόνες όμως, προκύπτουν από την σταδιακή οξειδωση των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (long-chain fatty acids, LCFA) που ελευθερώνονται από τον λευκό λιπώδη ιστό κατά τη διάρκεια της νηστείας ή μετά από την κατεχολαμινεργικά ερεθίσματα. Τα FFA προέρχονται επίσης από την δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στις VLDL και τα χυλομικρά (chylomicrons). Αυτή η διαδικασία κανονικά ενεργοποιείται μετά το γεύμα, όταν καταστέλλεται η κετονογένεση και υπερισχύει η λιπογένεση στο λιπώδη ιστό (Σχήμα 4-3). Στο ήπαρ, όταν οι συγκεντρώσεις των FFA είναι υψηλές, η παραγωγή ακετυλ-CoA μπορεί να υπερβεί τις κυτταρικές ανάγκες σε ενέργεια. Έτσι, από την περίσσεια του ηπατικού ενδομιτοχονδριακού ακετυλ-CoA, παράγονται οι κετόνες οι οποίες απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και χρησιμοποιούνται ως καύσιμα στους εξωηπατικούς ιστούς. Το ακετυλ-CoA που παράγεται από την οξειδωση των FFA διοχετεύεται για κετονογένεση ενώ το ακετυλ-CoA που προέρχεται από την καύση της γλυκόζης κατευθύνεται κατά προτίμηση στον κύκλο του Krebs (206).



Σχήμα 4-3. Ο μεταβολισμός των κετονικών σωμάτων. Τα σημαντικότερα στάδια του μεταβολισμού των κετονικών σωμάτων είναι αριθμημένα. Κατά τη νηστεία, τα κυκλοφορούντα FFA προέρχονται κυρίως από την λιπόλυση του υποδορίου λίπους (1). Μετά το γεύμα, τα TGs συγκεντρώνονται σε μεγάλα ποσά στις VLDL και τα χυλομικρά (CHYL) (2). Οι ενδοθηλιακές λιπασές διασπούν τις λιποπρωτεΐνες και απελευθερώνουν FFA (3). Τα FFA εισέρχονται μέσα στο κύτταρο και ενεργοποιούνται από τη συνθάση του λιπο-ακυλο-CoA σε μακράς αλύσου ακυλο-CoA (4), που χρησιμοποιείται στις λιποπρωτεΐνες για τη σύνθεση TGs, φωσφολιπιδίων, σφιγγολιπιδίων και άλλων μορίων, είτε για τη μεταφορά των FFA μέσω καρνιτίνης στα μιτοχόνδρια για οξείδωση. Στη μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία, τα ακυλο-CoA υποβάλλονται σε κύκλους β-οξείδωσης (5). Σε κάθε κύκλο παράγεται ένα μόριο AcCoA, και από ένα μόριο NADH, FADH και ένα λιπο-ακυλο-CoA βραχύτερο κατά δύο άνθρακες. Οι ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις AcCoA και AcAcCoA ρυθμίζονται από τη δράση της T2 (6). Το HMG-CoA συντίθενται από τη δράση της mHS (7) και κατόπιν διασπάται από τη HL (8) για να παραχθεί ελεύθερο AcAc. Τα AcAc μπορούν να μετατραπούν με αναστρέψιμο τρόπο σε 3β-OHB μέσω της R-3-υδροξυβουτυρικής αφυδρογονάσης (3HBDH) (9). Η αναλογία 3β-OHB προς AcAc αντικατοπτρίζει την οξειδοαναγωγική ισορροπία στη μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία. Κατόπιν, τα AcAc και 3β-OHB διαχέονται στην συστηματική κυκλοφορία. Στους εξωηπατικούς ιστούς, το AcAc ενεργοποιείται σε AcAcCoA από την SCOT (10). Το AcCoA που παράγεται από τη δράση του T2 μπορεί να υποβληθεί σε οξείδωση και παραγωγή ATP.(11).

Συντομογραφίες: HMG-CoA = β-υδροξυ-β-μεθυλ-γλουταρύλ-CoA, mHS = μιτοχονδριακή συνθάση του 3-υδροξυ-3-μεθυλ-γλουταρύλ-CoA, T2 = μιτοχονδριακή θειολάση του ακετυλο-ακυλ-CoA, 3β-OHB=3β-υδροξυ-βουτυρικό οξύ, HL = ηπατική λιπάση, SCOT = θειολάση βραχείας αλύσου 3-οξοακυλ-CoA, Suc = Ηλεκτρικό οξύ, SucCoA = Ηλεκτρύλ-CoA.

Το 10–20% των κετονών κατά τη διάρκεια της κέτωσης, απεκκρίνεται στα ούρα (199–207). Το ποσοστό χρησιμοποίησης των κετονών είναι ανάλογο προς τα κυκλοφορούντα επίπεδά τους (208–211). Η καρδιά και οι νεφροί διαθέτουν τη μεγαλύτερη ικανότητα χρησιμοποίησης κετονικών σωμάτων (212). Ο εγκέφαλος δεν έχει τη δυνατότητα να χρησιμοποιήσει μεγάλα ποσά FFA για ενεργειακή κάλυψη (213). Αντίθετα, οι κετόνες προσλαμβάνονται από τον εγκέφαλο και μπορούν να χρησιμεύσουν ως μια σημαντική πηγή ενέργειας κατά τη διάρκεια της νηστείας (214).

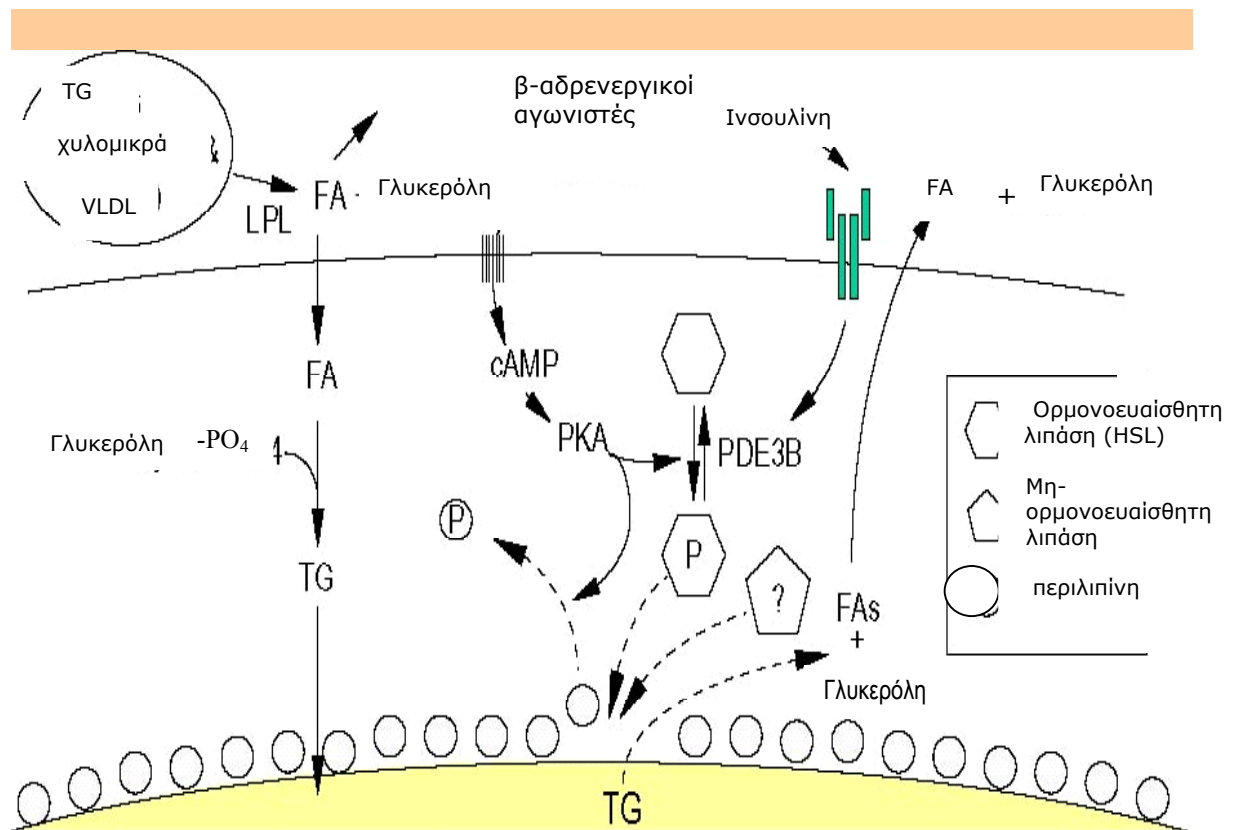
Ο μεταβολισμός των κετονών αντικατοπτρίζεται επίσης στα κλινικά συμπτώματα των ασθενών με κληρονομικές ανεπάρκειες των ενζύμων που αφορούν τη σύνθεση ή τη

διάσπαση των κετονικών σωμάτων. Οι ασθενείς παρουσιάζονται ασυμπτωματικοί μεταξύ των επεισοδίων, όμως προκύπτουν σοβαρές διαταραχές του μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της νηστείας ή στρεσογόνων καταστάσεων. Οι κληρονομικές ανεπάρκειες των ενζύμων της κετονογένεσης, εκφράζονται με επεισόδια υπογλυκαιμίας σε συνδυασμό με χαμηλές κετόνες, ενώ οι κληρονομικές ανεπάρκειες των κετονολυτικών ενζύμων, προκαλούν επεισόδια κετοξέωσης συνήθως μεγάλης βαρύτητας (215).

Στα φυσιολογικά άτομα, οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί που αφορούν την κετονογένεση δρουν κυρίως στον ανεφοδιασμό του ήπατος με FFA, στην είσοδο των FFA στα μιτοχόνδρια του ήπατος και στην παροχή υποστρωμάτων άνθρακα στα μιτοχόνδρια για τη σύνθεση κετονών.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η κύρια πηγή FFA για κετονογένεση είναι ο λιπώδης ιστός. Η λιπόλυση ενεργοποιείται υπό την επίδραση των κατεχολαμινών στους β-αδρενεργικούς υποδοχείς, και είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στην έκκριση ινσουλίνης η οποία ασκεί κατασταλτική δράση (204) (Σχήμα 4-4).

Η ορμόνο-ευαίσθητη λιπάση (HSL) απελευθερώνει τα FFA από το λιποκύτταρο. Η HSL είναι μια πρωτεΐνη 84 kDa που υφίσταται ρύθμιση σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο (216-217). Η μεταγραφή της, ενεργοποιείται στα τελευταία στάδια της διαφοροποίησης του λιποκυττάρου, και αυξάνεται κατά τη διάρκεια της νηστείας, ενώ καταστέλλεται από την ινσουλίνη και τη γλυκόζη (216-217). Η δραστηριότητα της HSL διαμορφώνεται ανά πάσα στιγμή από ένα μηχανισμό φωσφορυλίωσης του συστήματος της σερίνης. Οι σερίνες 552, 649 και 650 της HSL φωσφορυλιώνονται μέσω του c-AMP (218) ενώ η σερίνη 589 φωσφορυλιώνεται από την ERK, μία κινάση που σηματοδοτείται από εξωκυττάρια ερεθίσματα (extra-cellular signal-regulated kinase, ERK) (219). Η φωσφορυλίωση της σερίνης 554, που σχετίζεται με χαμηλής δραστηριότητας HSL, μπορεί να επιτελεσθεί από διάφορες κινάσες συμπεριλαμβανομένης της AMP-ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης (AMP activated protein kinase, AMPK) (220). Η ινσουλίνη καταστέλλει τη δραστηριότητα της HSL, προκαλώντας αποφωσφορυλίωση της HSL με τη βοήθεια του ενζύμου φωσφοδιεστεράση τύπου 3B (221).



Σχήμα 4. Λιπόλυση στον λιπώδη ιστό. Μετά από αδρενεργικά ή άλλα ερεθίσματα, ενεργοποιείται η πρωτεϊνική κινάση A (PKA) και αυξάνονται τα επίπεδα του κυκλικού AMP (c-AMP). Η PKA φωσφορυλιώνει την HSL και την ενεργοποιεί, ενώ φωσφορυλιώνει επίσης την περιλιπίνη, ένα μόριο επιφάνειας των σταγονιδίων των λιπιδίων. Αυτό οδηγεί στη μετατόπιση της φωσφορυλιωμένης περιλιπίνης από την επιφάνεια των σταγονιδίων των λιπιδίων και την πρόσδεση της ενεργού HSL στην επιφάνεια των σταγονιδίων. Η ινσουλίνη καταστέλλει τη δραστηριότητα της HSL, πιθανώς μέσω αποφωσφορυλίωσης της φωσφορυλιωμένης HSL με τη βοήθεια του ενζύμου φωσφοδιεστεράση τύπου 3B (PDE3B). Τουλάχιστον ένας ακόμη τύπος εκτός της HSL υπάρχει στο λιποκύτταρο. Όταν η λιπάση αυτή αποκτήσει πρόσβαση στο υπόστρωμά της, τα TGs διασπώνται σε διακυλογλυκερόλες και κατόπιν σε μονοακυλογλυκερόλες. Ένα μέρος των κυκλοφορούντων λιπαρών οξέων προέρχεται από τη διάσπαση των TGs των κυκλοφορούντων λιποπρωτεϊνών, όπως φαίνεται στο αριστερό τμήμα του σχήματος. Στον λιπώδη ιστό, η διαδικασία αυτή ενεργοποιείται μετά το γεύμα και σε καταστάσεις που δεν υφίσταται stress ο οργανισμός. Τα λιπαρά οξέα κατευθύνονται κυρίως προς τη σύνθεση TGs και την αποθήκευση.

Συντομογραφίες: TG - τριγλυκερίδια, VLDL = λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, LPL = λιποπρωτεϊνική λιπάση, FA = λιπαρά οξέα, cAMP = κυκλικός 3', 5' εστέρας της μονοφωσφορικής αδενοσίνης, PKA = Πρωτεϊνική κινάση A, PDE3B = φωσφοδιεστεράση τύπου 3B.

Η HSL συνδέεται με τη δεσμευτική πρωτεΐνη (adipocyte fatty acid binding protein, aP2) των FA στο λιποκύτταρο (222). Έτσι αποτρέπεται μια τοπική συσσώρευση μη συνδεδεμένων FA τα οποία θα μπορούσαν να εμποδίσουν τη δράση της HSL και να αποτελέσουν επίσης τοξικούς παράγοντες λόγω των σηματοδοτικών ιδιοτήτων των LCFA. Η ενεργοποιημένη HSL συνδέεται με τα σταγονίδια λιπών, ενώ η απενεργοποιημένη HSL αποτελεί κυτταροπλασματικό συστατικό (223).

Ποντίκια με ανεπάρκεια HSL λόγω γονιδιακής στόχευσης (224-226) παρουσιάζουν

ιδιαίτερα μειωμένη απάντηση στις κατεχολαμίνες και ιστολογικές διαταραχές στο λιπώδη ιστό, γεγονός που αποδεικνύει ότι η HSL είναι ο κύριος μεσολαβητής για την έναρξη της λιπόλυσης ως απάντηση σε β-αδρενεργικά ερεθίσματα και ότι ο ρόλος της είναι ουσιαστικός στην φυσιολογική δομή του λιπώδους ιστού. Εντούτοις, η συνολική λιπολυτική δραστηριότητα, που παρατηρείται στα λιποκύτταρα των συγκεκριμένων ποντικών, δείχνει ότι τουλάχιστον μία ακόμη μη-HSL λιπάση είναι παρούσα στον ιστό αυτό. Η ταυτότητα και η λειτουργική σημασία της μη-HSL λιπάσης δεν είναι γνωστές.

Μια άλλη πρωτεΐνη, η περιλιπίνη (perilipin), περιβάλλει το σταγονίδιο των λιπιδίων που περιέχει τριγλυκερίδια (triglycerides, TGs). Η φωσφορυλίωση της μέσω cAMP, την απομακρύνει από την επιφάνεια των σταγονιδίων. Έτσι οι λιπάσες μπορούν να έχουν πρόσβαση στα TGs που είναι το υπόστρωμα τους. Ποντίκια με ανεπάρκεια περιλιπίνης λόγω γονιδιακής στόχευσης, είναι αδύνατα και έχουν μικρά λιποκύτταρα και αυξημένο βασικό ρυθμό λιπόλυσης (227-228).

Η ροή εισόδου των λιπαρών οξέων στο μιτοχόνδριο, αποτελεί άλλον έναν ρυθμιστικό παράγοντα της κετονογένεσης. Η μεταφορά των LCFA από το κυτταρόπλασμα στη μιτοχονδριακή θεμέλιο ουσία, διαδραματίζεται σε τρία διαδοχικά στάδια με την παλμιτυλοτρανσφεράση της καρνιτίνης I (carnitine palmitoyltransferase I, CPT I), το σύστημα καρνιτίνη/ακυλο-καρνιτίνη-τρανσλοκάση και την παλμιτυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης II (carnitine palmitoyltransferase II, CPT II), που κωδικοποιείται από διαφορετικά γονίδια από ό,τι η CPT I (229). Το μηλονυλ-CoA, είναι ένας εστέρας με τρεις άνθρακες που όπως αναφέραμε ανωτέρω αποτελεί έναν ισχυρό αναστολέα της CPT I και ως εκ τούτου της οξειδωσης των FFA. Ενεργοποιεί επίσης την οδό σύνθεσης των FFA (230) μέσω της συμμετοχής του άμεσα στα αρχικά στάδια της επιμήκυνσης των αλύσων των FFA. Το μηλονυλ-CoA υπάρχει τόσο σε λιπογενετικούς (ήπαρ, λιπώδης ιστός) όσο και μη-λιπογενετικούς ιστούς (καρδιά και σκελετικός μυς). Τα επίπεδα του μηλονυλ-CoA ρυθμίζονται από το καθαρό αποτέλεσμα της παραγωγής όσο και της κατανάλωσης του.

Υπάρχουν δύο ισομορφές CPT I, η ηπατική (L-CPT I ή CPT I-α) και η μυϊκή (M-CPT I ή CPTI-β), οι οποίες διαφέρουν στην κινητική τους. Η L-CPT I εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια για την καρνιτίνη και είναι λιγότερο ευαίσθητη στην αναστολή από το μηλονυλ-CoA σε σχέση με την M-CPT I (229). Η L-CPT I εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, με τα πιο υψηλά επίπεδα στο ήπαρ, τον νεφρό, την ωοθήκη, το έντερο, τα παγκρεατικά κύτταρα των νησιδίων του Langerhans, το σπλήνα, και σε μικρότερο ποσοστό στην καρδιά. Η M-CPT I ισομορφή, κυριαρχεί στην καρδιά, εκφράζεται επίσης στο σκελετικό μυ, τον φαιό και λευκό λιπώδη ιστό και τους όρχεις (229-231-232). Οι CPT I είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (233). Μόνο το ρυθμιστικό N-άκρο τους και το καταλυτικό C-άκρο τους, εκτίθενται στο κυτταρόπλασμα (234-236). Τα δύο διαμεμβρανικά τμήματα τους συνδέονται με μία αγκύλη (loop) 27 αμινοξέων στο διαμεμβρανικό διάστημα. Τα αμινοξέα στο αμινοτελικό άκρο της, είναι απαραίτητα για την δράση του μηλονυλ-CoA (237).

Το μηλονυλ-CoA παράγεται από την καρβοξυλίωση του ακετυλ-CoA με τη δράση της καρβοξυλάσης του ακετυλ-CoA (acetyl-CoA carboxylase, ACC). Υπάρχουν δύο σημαντικές ισομορφές της ACC, που έχουν μοριακό βάρος 265 kDa (ACC265, ACC1 ή ACCa) και 280 kDa (ACC280, ACC2 ή ACCb). Η σημαντικότερη διαφορά μεταξύ τους είναι το εκτεταμένο αμινοτελικό άκρο της ACC280. Στους λιπογενετικούς ιστούς όπως τον λευκό λιπώδη ιστό και το μαστό κατά το θηλασμό, η ACC265 είναι η κυρίαρχη μορφή. Στους οξειδωτικούς ιστούς, όπως η καρδιά αρουραίων και ο σκελετικός μυς, η ACC280 υπερισχύει. Οι μελέτες σε μυϊκό ιστό, δείχνουν ότι η ACC εμπλέκεται άμεσα στη ρύθμιση της οξειδωσης των FFA (235-238-240). Η σημασία της ρυθμιστικής δράσης της ACC αποδεικνύεται σε ποντίκια στα οποία απουσιάζει η ACC2 ισομορφή λόγω γονιδιακής στόχευσης. Αυτά παρουσιάζουν μικρότερη συσσώρευση λίπους στο λιπώδη ιστό, υψηλότερο ρυθμό οξειδωσης των FFA στο σκελετικό μυ και υψηλότερα επίπεδα κετοναϊμίας κατά τη νηστεία (241). Τα ποντίκια αυτά παρουσιάζουν επίσης χαρακτηριστικά υψηλά επίπεδα μηλονυλ-CoA στον μυϊκό ιστό (241). Αν και η ACC1 αντιπροσωπεύεται πρωτίστως στο ήπαρ, εκφράζεται και η ACC2. Ο εντοπισμός της ACC2 στο ήπαρ, υποδηλώνει ότι μπορεί να διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην οξείδωση των FFA και την παραγωγή κετονών. Αυτό θα μπορούσε ενδεχομένως να εξηγήσει τα υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων κετονών σε ACC2 ομόζυγα ποντίκια (-/-) με αδρανοποίηση της ACC2. Η φωσφορυλίωση της ACC από την AMPK, που οδηγεί σε αναστολή της ACC, είναι ο βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου ρυθμίζεται η καρδιακή ACC. Αυτό οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του μηλονυλ-CoA και αυξάνει την οξείδωση των FFA (240). Η AMPK είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που ενεργοποιείται όταν μειώνεται το ενδοκυττάριο ATP (242). Η ενεργοποίηση της AMPK εμποδίζει την κινητοποίηση μηχανισμών που απαιτούν ενέργεια, όπως οι αναβολικές διαδικασίες (π.χ. βιοσύνθεση λιπιδίων) (242-244).

Στους λιπογενετικούς ιστούς, το μηλονυλ-CoA μπορεί να μεταβολισθεί μέσω της συνθάσης των FFA ή του ενζύμου επιμήκυνσης των FFA ή ελογκάσης (elongase). Αντίθετα, ο μυϊκός ιστός δεν περιέχει αυτά τα ένζυμα (245). Στον μυ, η κύρια οδός για την διάσπαση του μηλονυλ-CoA γίνεται με τη βοήθεια της αποκαρβοξυλάσης του μηλονυλ-CoA (malonyl-CoA decarboxylase, MCD), η οποία αποκαρβοξυλιώνει το μηλονυλ-CoA προς ακετυλ-CoA. (246) Η MCD βρίσκεται στο ήπαρ και τον μυϊκό ιστό. (246) Σε καταστάσεις αυξημένης οξείδωσης των FFA όπως νηστεία, διαβήτης, ισχαιμία, και έντονη εργασία, σημειώνεται αυξημένη δραστηριότητα της MCD (239-244-246-247). Σε ήπαρ αρουραίων που είχαν υποστεί φαρμακευτική πρόκληση διαβήτη με στρεπτοζοτοκίνη, τα επίπεδα και η δραστηριότητα της MCD αυξάνετο σημαντικά μετά από 48 h νηστείας (248). Μελέτες σε φυσιολογικά άτομα, έχουν δείξει ότι η ινσουλίνη αυξάνει τη δραστηριότητα της ACC και τα επίπεδα του μηλονυλ-CoA, ενώ το γλυκογόνο έχει τα αντίθετα αποτελέσματα.

Η κετονογένεση ρυθμίζεται βασικά από δύο ένζυμα την συνθάση του β-υδροξυ-β-μεθυλ-γλουταρυλ-CoA (HMG-CoA) και την λυάση του β-υδροξυ-β-μεθυλ-γλουταρυλ-CoA (HMG-

CoA). Η μιτοχονδριακή HMG-CoA συνθάση (mitochondrial HMG CoA synthase, mHS) καταλύει την τελευταία σημαντική ρυθμιστική αντίδραση στην κετονογένεση. Έχει βρεθεί ότι η mHS εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο ήπαρ, όπως επίσης και στο έντερο νεογέννητων αρουραίων (249-250) καθώς και σε μικρότερα ποσά στο νεφρό, τον μυ και τον εγκέφαλο (250-251). Ο ρυθμός της αντίδρασης που καταλύει η mHS στο ήπαρ, εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητα των υποστρωμάτων και από μια περίπλοκη ρύθμιση από το mRNA της mHS και τα επίπεδα πρωτεϊνών (252-254). Σε μελέτες που έχουν γίνει σε αρουραίους, οι λιπαρές δίαιτες, η νηστεία και ο διαβήτης δύσκολα διπλασιάζουν τη δραστηριότητα της mHS του ήπατος (252). Αντίθετα, τα επίπεδα του mRNA της mHS είναι αυξημένα στο ήπαρ σε ανάλογες καταστάσεις, καθώς επίσης και σε θηλάζοντα νεογνά και μετά από χορήγηση γλυκογόνου, ενώ μειώνονται ταχέως μετά τον απογαλακτισμό ή τη χορήγηση ινσουλίνης (253-255-256). Τα επίπεδα του πεπτιδίου της mHS, ενώ μεταβάλλονται παρόμοια με αυτά του mRNA της, οι διακυμάνσεις τους λαμβάνουν χώρα σε μικρότερο βαθμό (257). Η αντίδραση της mHS στο μιτοχόνδριο, χαρακτηρίζεται από την υψηλή ενζυμική συγκέντρωση (258), τη χαμηλή ειδικότητα (258-259) και τον ανταγωνισμό για τα υποστρώματα με ένα μεγάλο αριθμό άλλων ένζυμων με μεγαλύτερη καταλυτική ικανότητα από ότι η mHS. Η mHS μπορεί να υποστεί αυτοσοκινύλωση και αναστολή παρουσία ηλεκτρυλο-CoA (260). Η σημασία της σοκινυλίωσης της mHS είναι ασαφής, αλλά ενδέχεται να συμβάλλει στη μείωση της δραστηριότητας της mHS μετά το γεύμα (260).

Η μιτοχονδριακή HMG-CoA λυάση (mitochondrial HMG CoA lyase, HL) εκφράζεται στους περισσότερους ιστούς. Αν και δεν θεωρείται ότι έχει περιοριστικό ρυθμιστικό ρόλο στην κετονογένεση σε φυσιολογικές καταστάσεις, αυξάνεται η δραστηριότητα της στο ήπαρ κατά τη νηστεία και σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος. (252-261) Η mHL βρίσκεται και στα μιτοχόνδρια και στα υπεροξυσώματα (262) Η mHL των υπεροξυσωμάτων είναι ενεργός και αποτελεί περίπου το 6% των συνολικών mHL του ήπατος. Η υπογλυκαιμία στους ασθενείς με ανεπάρκεια mHL είναι μια μοναδική και ενδεχομένως καταστρεπτική κατάσταση όπου ο εγκέφαλος δεν έχει καμία πηγή ενέργειας εκτός της γλυκόζης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση βαριάς μορφής εγκεφαλοπάθεια ή επιληψία σε καταστάσεις του πυροδοτούν την κετονογένεση.

Η κετονόλυση από την άλλη πλευρά, επιτελείται στους εξωηπατικούς ιστούς, μέσω δύο αμφίδρομων αντιδράσεων που συνδράμουν στην ενεργοποίηση του ελεύθερου ακετοξεικού οξέος σε ακετοακυλο-CoA και τη δημιουργία ακετυλο-CoA για την παραγωγή ενέργειας. Στα μιτοχόνδρια των κυττάρων, εκτός των ηπατικών κυττάρων, το ακετοξεικό οξύ ενεργοποιείται σε ακετοακυλο-CoA από την τρσνσφεράση του ηλετρυλο-CoA:3-κετοξυ-CoA (succinyl-CoA: 3-ketoacid coenzyme A transferase). Η κετονολυτική ικανότητα των ιστών ποικίλλει και σχετίζεται άμεσα με τη δραστηριότητα του ενζύμου αυτού. Μετρήσεις σε ποντικούς έδειξαν ότι, εάν η δραστηριότητα του ενζύμου στην καρδιά

εθεωρείτο ως 100%, τότε η δραστηριότητα της στους άλλους ιστούς θα κατετάσσετο ως εξής: νεφρός 70% > εγκέφαλος 10% > σκελετικός μυς 5% (212). Παρ' όλα αυτά, λόγω της μεγάλης μάζας που καταλαμβάνει ο σκελετικός μυς, μπορεί να καταναλώνει μεγάλα ποσά κετονών. Παρόμοια διαβάθμιση της δραστηριότητας της τρανσφεράσης αυτής, ισχύει και στους ανθρώπους (263). Συγκεκριμένα, μετά από παρατεταμένη νηστεία 2 εβδομάδων, τα επίπεδα κετονών στο αίμα αυξάνονται περισσότερο από ένα συγκεκριμένο σταθερό ρυθμό κετονογένεσης, (207-209) πράγμα που σημαίνει ότι η κετονόλυση μειώνεται. Συγκεντρώσεις του ακετοξεικού οξέος, μεγαλύτερες από 5 mM αναστέλλουν τη δραστηριότητα της τρανσφεράσης αυτής (264). Υπάρχουν επίσης μελέτες σε ανθρώπους που δείχνουν ότι, η δραστηριότητα του ενζύμου είναι υψηλότερη στα βρέφη απ' ότι στα νεογνά ή τους ενήλικους, γεγονός που συμβαδίζει με το ότι αυτή η περίοδος αντιστοιχεί στη μέγιστη παραγωγή κετονών (265).

Τέλος, η μιτοχονδριακή θειολάση του ακετοακυλ-CoA (mitochondrial AcAcCoA thiolase, T2), εξισορροπεί τις ενδομιτοχονδριακές συγκεντρώσεις του ακετυλ-CoA και ακετοακυλ-CoA, καταλύοντας την αντιστρέψιμη μεταφορά μιας ακετυλο-ομάδας μεταξύ δύο ακετυλο-CoA (Σχήμα 4-3). Έτσι, η T2 κατέχει μια μοναδική θέση στο μεταβολισμό των κετονών, ως το πρώτο ένζυμο της κετονογένεσης και το τελευταίο ένζυμο της κετονόλυσης. Φυσιολογικά, ο ρόλος της T2 στην κετονόλυση υπερισχύει. Ασθενείς με συγγενή ανεπάρκεια της T2, παρουσιάζουν κυρίως επεισόδια κετοξέωσης παρά υπογλυκαιμίας με χαμηλά επίπεδα κετονών, που θα ανεμόνοντο εάν η T2 ήταν κυρίως σημαντική για την κετονογένεση. Επιπλέον, έχει βρεθεί άλλη μία μιτοχονδριακή θειολάση (μέσης αλύσου 3-κετοακυλ-CoA θειολάση) που συμμετέχει στη μιτοχονδριακή β-οξειδωση, και μπορεί ακόμη να καταλύει τη μετατροπή του ακετοακετυλ-CoA και ακετυλ-CoA στο ήπαρ και τους εξωηπατικούς ιστούς. Αυτή η θειολάση βρίσκεται σε όλους τους ιστούς αλλά είναι σε αφθονία κυρίως στο ήπαρ και τον νεφρό, τα οποία διαθέτουν μεγαλύτερη ικανότητα για κετονογένεση απ' ότι για κετονόλυση και αυτό εξηγεί τη σοβαρή κετοξέωση σε ασθενείς με ανεπάρκεια της T2.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΝΙΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΟΝ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΕΓΚΥΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ

1.1 Εισαγωγή 1.2 Σχεδιασμός μελέτης 1.3 Συλλογή υλικού

1.1 Εισαγωγή

Η κύηση όπως περιγράφηκε σε προηγούμενο Κεφάλαιο (βλ. Γενικό μέρος, Κεφάλαιο 1.4), αποτελεί μια ιδιαίτερη περίοδο κατά την οποία επισυμβαίνουν πολλές μεταβολικές αλλαγές στον οργανισμό της εγκύου. Οι περισσότερες από αυτές τις μεταβολές έχουν διερευνηθεί και στην πλειονότητα τους έχουν δοθεί απαντήσεις για την αιτιολογία τους και τον μηχανισμό τους. Όμως, ο ρόλος των μιτοχονδρίων καθώς και οι προσαρμογές που συμβαίνουν σε αυτά κατά τη διάρκεια της κύησης δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Στα μιτοχόνδρια επιτελούνται πλήθος χημικών αντιδράσεων, οι κυριότερες των οποίων αποσκοπούν στην παραγωγή ενέργειας. Σημαντικό μόριο μέσα στα μιτοχόνδρια, αποτελεί η καρνιτίνη, που συνδέεται άμεσα με τη διαδικασία παραγωγής ενέργειας καθώς και με την προστασία των κυττάρων από τις τοξικές ακυλ-ομάδες. Μέχρι σήμερα, η καρνιτίνη έχει μελετηθεί σε ασθενείς με οργανικές οξυουρίες (266-267), χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (268-269), νευροεκφυλιστικά νοσήματα (270-272) και σακχαρώδη διαβήτη (273-276). Κατά τη διάρκεια της κύησης, έχουν μελετηθεί τα επίπεδα της καρνιτίνης στο αίμα και στα ούρα, δεν έχουν όμως γίνει έρευνες για τις μεταβολές της καρνιτίνης και των κλασμάτων της, είτε σε κατάσταση νηστείας είτε μετά από λήψη γεύματος. Επίσης, δεν έχουν συσχετιστεί τα επίπεδα των κλασμάτων της καρνιτίνης με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, το β-υδροξυβουτυρικό οξύ και το γαλακτικό οξύ, παράμετροι που σχετίζονται με την β-οξειδωση των λιπαρών οξέων και με τη γλυκόλυση. Επιπλέον, δεν είναι γνωστό το πώς μεταβάλλονται τα επίπεδα της καρνιτίνης στο διαβήτη της κύησης, που αποτελεί ξεχωριστή οντότητα από τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2, καθώς επίσης και η τυχόν επίπτωση του συστήματος της καρνιτίνης στα ελεύθερα λιπαρά οξέα, το β-υδροξυβουτυρικό οξύ και το γαλακτικό οξύ. Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή, σχεδιάσθηκε με σκοπό να απαντήσει στα ανωτέρω ερωτήματα και να αποτελέσει τη βάση για περαιτέρω διερεύνηση στο μεταβολικό περιβάλλον των μιτοχονδρίων κατά τη διάρκεια της κύησης.

Ειδικότερα, οι Ειδικοί Σκοποί της Διδακτορικής Διατριβής είναι οι εξής:

- 1) Διερεύνηση της επίπτωσης του σακχαρώδους διαβήτη της κύησης (GD) στα επίπεδα και τον μεταβολισμό της καρνιτίνης.

- 2) Ανάδειξη του προτύπου (profile) έκφρασης των βασικών βιοχημικών παραμέτρων του μεταβολισμού στον GD και η συσχέτισή του με τον μεταβολισμό της καρνιτίνης.
- 3) Συστηματική αξιολόγηση και συσχέτιση των επιπέδων της καρνιτίνης με εκείνων των βιοχημικών παραμέτρων του μεταβολισμού κατά την διάρκεια της νηστείας και κατά την επανασίτιση στον GD.

1.2 Σχεδιασμός Μελέτης

Η μελέτη διεξήχθη στην Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Έλαβαν μέρος 119 γυναίκες, οι οποίες διαχωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε 40 (33.6%) φυσιολογικές μη έγκυες γυναίκες (normal non pregnant, NNP), η δεύτερη ομάδα 46 (38.7%) φυσιολογικές έγκυες γυναίκες που δεν παρουσίαζαν προβλήματα στην εγκυμοσύνη τους (normal pregnant, NP) και η τρίτη ομάδα 33 (27.7%) γυναίκες που ανέπτυξαν διαβήτη της κύησης (gestational diabetes mellitus, GDM). Η τελευταία ομάδα διαχωρίστηκε σε δύο υπο-ομάδες, ήτοι σε εγκύους των οποίων η ρύθμιση του GDM επιτυγχάνετο με μόνη τη δίαιτα (ομάδα GDM-D) και σε εγκύους, των οποίων η ρύθμιση της γλυκόζης απαιτούσε την χορήγηση ινσουλίνης (ομάδα GDM-I). Καμμία από τις έγκυες γυναίκες δεν είχε δίδυμο κύηση. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 27.76 ± 4.87 έτη. Γυναίκες με προβλήματα υγείας που ήταν ενδεχόμενο να επηρεάσουν το αποτέλεσμα (π.χ. συγγενή μεταβολικά νοσήματα, επιληψία, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, λοίμωξη κ.α.) αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Καμιά γυναίκα δεν ήταν υπό θεραπευτική αγωγή, εκτός από την υποομάδα του GDM (υπο-ομάδα GDM-I) όπου όπως αναφέρθηκε, η υπεργλυκαιμία ελέγχετο με ινσουλίνη. Όλες οι γυναίκες υπέγραψαν ειδικό έντυπο συγκατάθεσης μετά από ενημέρωση (informed consent) για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Οι έγκυες γυναίκες υποβλήθηκαν σε δοκιμασία ελέγχου για την διάγνωση του διαβήτη της κύησης την 26^η εβδομάδα της εγκυμοσύνης με βάση τα κριτήρια που θεσπίστηκαν από το Fourth International Gestational Diabetes Workshop. Με βάση τα κριτήρια αυτά, ως διαβήτη της κύησης ορίστηκε η διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης οποιουδήποτε βαθμού, με έναρξη ή πρώτη αναγνώριση τη χρονική περίοδο της διάρκειας της κύησης (76-78). Οι αιμοληψίες στις έγκυες γυναίκες έγιναν μεταξύ 30^{ης} και 33^{ης} εβδομάδας, ούτως ώστε να έχει διαγνωσθεί η ύπαρξη ή όχι του διαβήτη της κύησης και να έχουν εδραιωθεί οι μεταβολές στις μεταβολικές ρυθμίσεις που επιτελούνται στο δεύτερο ήμισυ της κύησης.

1.3 Συλλογή Υλικού

Σε κάθε γυναίκα διενεργούντο δυο αιμοληψίες μετά από τοποθέτηση φλεβοκαθετήρα. Η πρώτη ήταν προγραμματισμένη το πρωί μετά από 8-10 h ολονύκτιας νηστείας, όπου στην ώρα 00:00 (μεσάνυχτα) πραγματοποιείτο η τελευταία λήψη ελαφράς

τροφής από το στόμα. Τα χαρακτηριστικά στοιχεία των μεταβολικών παραμέτρων στη φάση αυτή, ήταν χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης, γλυκόζης και γαλακτικού οξέος και αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων και κετονικών σωμάτων και εξάντληση των αποθεμάτων γλυκογόνου του ήπατος. Η δεύτερη αιμοληψία ήταν προγραμματισμένη 1 h μετά από λήψη τροφής που περιελάμβανε μια τυρόπιτα και ένα χυμό από πορτοκάλι 330 ml (Amita). Τα χαρακτηριστικά της δεύτερης φάσης ήταν, αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης, γλυκόζης και γαλακτικού οξέος και πτώση των επιπέδων των ελεύθερων λιπαρών οξέων και των κετονικών σωμάτων. Τα δείγματα αίματος τοποθετούντο σε κατάλληλα φιαλίδια και φυγοκεντρώντο μέσα σε 30-60 min από τη συλλογή τους. Ο περαιτέρω τρόπος χειρισμού των δειγμάτων περιγράφεται αναλυτικά σε επόμενο Κεφάλαιο (βλ. Ειδικό Μέρος, Κεφάλαιο 2).

Οι μεταβολικές μεταβλητές παράμετροι που μετρήθηκαν για κάθε γυναίκα ήταν η ολική καρνιτίνη (total carnitine, TC) και τα κλάσματα της, ελεύθερη (free carnitine, FC) και ακυλιωμένη (acyl-carnitine, AC)*, το β-υδροξυβουτυρικό οξύ (β-hydroxybutyrate, 3β-OHB)**, το γαλακτικό οξύ (lactic acid, LA), τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (free fatty acids, FFA) και η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c).

Οι ανθρωπομετρικοί παράγοντες που κατεγράφησαν, ήταν το βάρος πριν την έναρξη της κύησης, το ύψος, ο δείκτης μάζας σώματος (body mass index, BMI) πριν την έναρξη της κύησης, και η δερματική πτυχή του τρικεφάλου μύος στην πρόσθια επιφάνεια του αντιβραχίου, στη μεσότητα της απόστασης μεταξύ ώμου και αγκώνα.

* Η μέτρηση των επιπέδων καρνιτίνης και των κλασμάτων της δεν μελετήθηκε στην ομάδα NNP μετά το γεύμα, όπου με βάση τον υπάρχοντα εκτεταμένο αριθμό εργασιών, θεωρήθηκε ότι το συγκεκριμένο θέμα έχει διερευνηθεί επαρκώς.

** Τα κετονικά σώματα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα τριών μορίων, ήτοι ακετόνη, β-υδροξυβουτυρικό οξύ και ακετοξικό οξύ. Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκε μόνο το β-υδροξυβουτυρικό οξύ, δεδομένου ότι αντιπροσωπεύει σε ποσότητα το 98% του συνόλου των κετονικών σωμάτων.

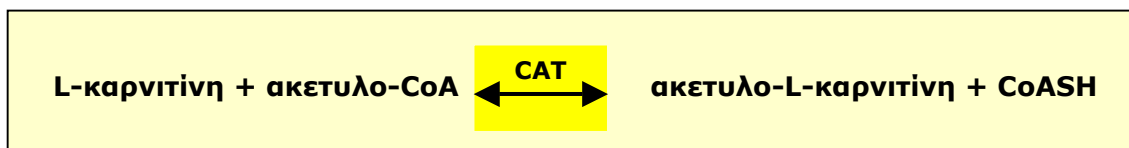
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

- 2.1 Μέτρηση καρνιτίνης
- 2.2 Μέτρηση β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος
- 2.3 Μέτρηση γαλακτικού οξέος
- 2.4 Μέτρηση ελεύθερων λιπαρών οξέων
- 2.5 Μέτρηση HbA_{1c}
- 2.6 Μέτρηση δερματικής πτυχής

2.1 Μέτρηση Καρνιτίνης

Για την μέτρηση των επιπέδων καρνιτίνης στους ορούς, χρησιμοποιήθηκε τροποποιημένη, η μέθοδος των Mc Garry JD και Foster DW (277) όπως περιγράφεται στην Διδακτορική Διατριβή του Δρ. Αθανασίου Ευαγγελίου, με θέμα: *Διαγνωστική σημασία των εστέρων της καρνιτίνης στην διαταραχή του ενδιάμεσου μεταβολισμού* (278). Το πειραματικό μέρος διεξήχθη στο Εργαστήριο Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης, και οι μετρήσεις του ραδιενεργού άνθρακα ¹⁴C έγιναν σε ειδικό μετρητή β-ακτινοβολίας στο Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, στο Ηράκλειο Κρήτης.

Η μέθοδος βασίζεται σε ραδιοενζυματικές αντιδράσεις και έχει ως αρχή την εξής αντίδραση:



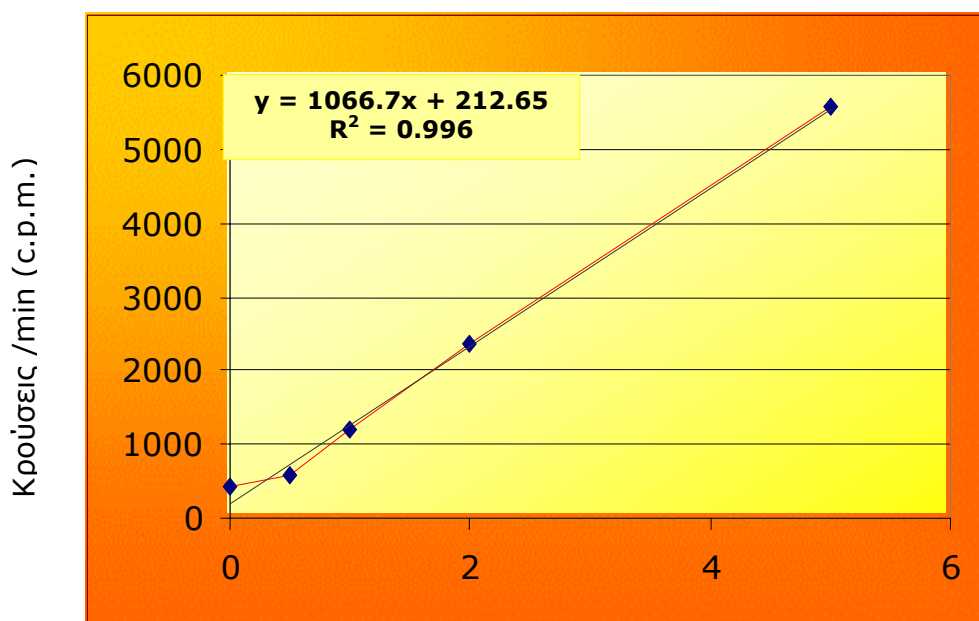
Η L-καρνιτίνη (L-carnitine) αντιδρά με το ακετυλο-συνένζυμο A (acetyl-CoA) και παράγεται ακετυλο-L-καρνιτίνη (acetyl-L-carnitine) και θειολεστέρας του συνενζύμου-A (CoASH). Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο ακετυλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης (carnitine acetyl-transferase, CAT).

Η όλη μέθοδος στηρίζεται στην προσθήκη ραδιενεργού άνθρακα [¹⁴C] ακετυλο-CoA, ο οποίος αντιδρά με την ελεύθερη καρνιτίνη των δειγμάτων μετά την προσθήκη της CAT. Επιπλέον, η προσθήκη του N-εθυλμαλεϊμιδίου (N-ethylmaleimide, NEM) που αντιδρά με το CoASH, μετατοπίζει την αντίδραση προς τα δεξιά. Έτσι η ελεύθερη L-καρνιτίνη που μετατρέπεται όλη σε [¹⁴C] ακετυλο-L-καρνιτίνη μπορεί να μετρηθεί σε ειδικό μετρητή β-ακτινοβολίας (β-liquid scintillation counter) όπου η ενσωμάτωση ραδιενεργού ακετυλο-ομάδος εκφράζεται σε κρούσεις ανά λεπτό (counts per minute, cpm).

Η ανωτέρω μέθοδος έχει τη δυνατότητα να μετρά μόνο την ελεύθερη καρνιτίνη.

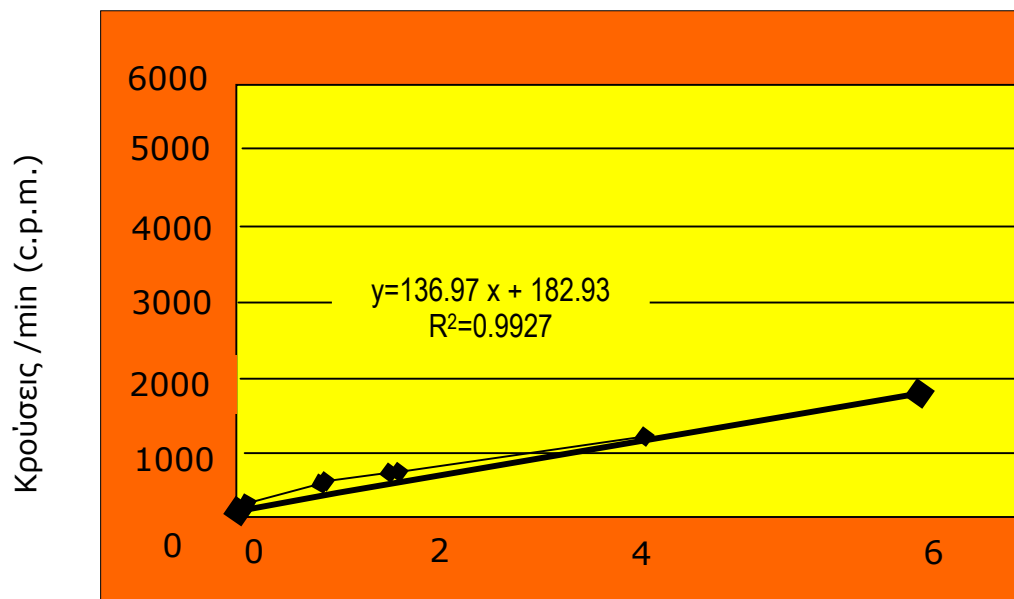
Επειδή όμως η καρνιτίνη, βρίσκεται στα δείγματα και με τη μορφή της ακετυλιωμένης καρνιτίνης, με την προηγούμενη διαδικασία, η ακυλ-καρνιτίνη δεν ήταν δυνατόν να μετρηθεί, διότι ήταν ήδη ακυλιωμένη. Έτσι, για να προσδιορισθεί η ολική

ποσότητα καρνιτίνης (ελεύθερη + ακυλιωμένη) στα δείγματα, θα έπρεπε να γίνει προηγουμένως αλκαλική υδρόλυση κατά την οποία αποσπάται το ακύλιο από την καρνιτίνη και αυτή παραμένει σε ελεύθερη μορφή. Στη συνέχεια προστίθεται ραδιενεργό $[1-^{14}\text{C}]$ ακετυλ-CoA και CAT. Έτσι όλη η συνολική καρνιτίνη των δειγμάτων σημαίνεται με ραδιενεργό ^{14}C προκειμένου να μετρηθεί στον μετρητή ακτινοβολίας. Οι μετρήσεις της καρνιτίνης στο πείραμα μας έγιναν σε δύο χρονικές φάσεις. Η συγκέντρωση της καρνιτίνης υπολογίστηκε κάθε φορά με βάση την πρότυπη καμπύλη.



Συγκέντρωση καρνιτίνης $\mu\text{mol/l}$

Πρότυπη καμπύλη A



Συγκέντρωση καρνιτίνης μmol/l

Πρότυπη καμπύλη Β

Οι καμπύλες σχεδιάστηκαν σύμφωνα με τις τιμές κρούσεων που έδωσαν οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις L-καρνιτίνης όπως φαίνονται στον Πίνακα 1. Η συγκέντρωση της καρνιτίνης υπολογίστηκε σε μmol/l.

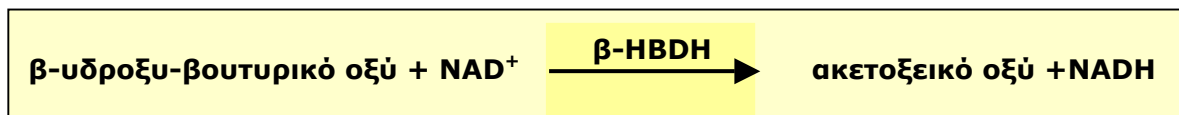
Πίνακας 1. Σχεδιασμός πρότυπης καμπύλης για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων της καρνιτίνης.

Συγκεντρώσεις καρνιτίνης σε μmol/l	Σύσταση διαλύματος	Κρούσεις ραδιενεργού ¹⁴ C ανά λεπτό για την καμπύλη (Α)	Κρούσεις ραδιενεργού ¹⁴ C ανά λεπτό για την καμπύλη (Β)
0	50μl H ₂ O	409	158.1
0.5	5μl καρνιτίνη + 45μl H ₂ O	585	248.2
1	10μl καρνιτίνη + 40μl H ₂ O	1200	328.1
2	20μl καρνιτίνη + 30μl H ₂ O	2366	492
5	50μl καρνιτίνη	5570	852.3

Με τις προηγούμενες αντιδράσεις, κατέστη δυνατόν να μετρηθούν η ελεύθερη (FC) και η ολική καρνιτίνη (TC). Η διαφορά των τιμών μεταξύ TC και FC, προσδιορίζει τα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης (AC). Οι τιμές της καρνιτίνης και των κλασμάτων της αναφέρονται στα αντίστοιχα Παραρτήματα.

2.2 Μέτρηση β-υδροξυ-βουτυρικού Οξέος

Η μέτρηση του 3β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος (3β-OHB) πραγματοποιήθηκε με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο. Ο προσδιορισμός του 3β-OHB είναι σημαντικός στον ορό και τα ούρα διαβητικών ασθενών (279-281) ιδίως όταν παρουσιάζεται σοβαρή κετοξέωση και επιτρέπει την αξιολόγηση της θεραπείας του διαβήτη με ινσουλίνη (282-283). Η συγκεκριμένη μέθοδος μέτρησης του 3β-OHB, περιγράφηκε αρχικά από τον Williamson και συν. (284) και η αρχή της στηρίζεται στην αντίδραση:

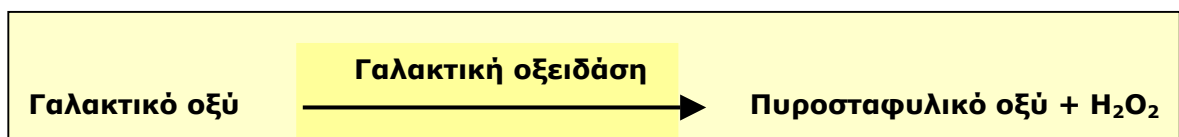


Η β-υδροξυ-βουτυρική αφυδρογονάση (β-hydroxy-butyrate dehydrogenase, β-HBDH) καταλύει την οξειδωση του 3β-OHB προς ακετοξικό οξύ. Κατά την οξειδωση αυτή, ένα ισοδύναμο νικοτιναμίδο-αδενίνο-δινουκλεοτιδίου (NAD⁺) ανάγεται σε NADH. Το NADH απορροφά το φως σε μήκος κύματος 340 nm. Έτσι η αύξηση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 340 nm είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του 3β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στο δείγμα.

Το 3β-OHB υπολογίσθηκε σε mg/dl. Η μέση τιμή του 3β-OHB σε ενήλικες κατά τη νηστεία έχει υπολογιστεί σε 2.05 ± 2 mg/dl. Το αναμενόμενο εύρος τιμών υπολογίζεται από 0-4.39 mg/dl.

2.3 Μέτρηση Γαλακτικού Οξέος

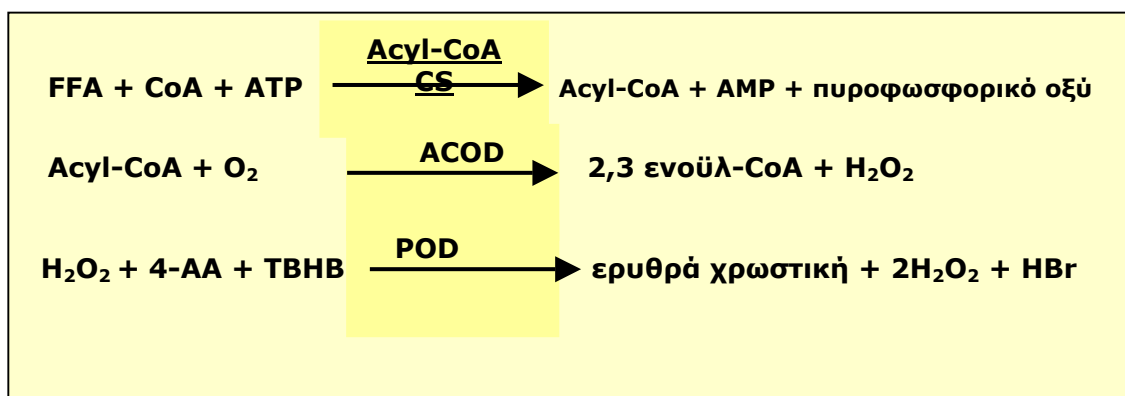
Το γαλακτικό οξύ είναι προϊόν μεταβολισμού των υδατανθράκων. Παράγεται κυρίως από τους μυς και τα ερυθρά αιμοσφαίρια και μεταβολίζεται στο ήπαρ. Τα επίπεδα του στο πλάσμα καθορίζονται από την διαφορά μεταξύ παραγωγής και μεταβολισμού του. Η μέτρηση του γαλακτικού οξέος στην παρούσα μελέτη, έγινε με ενζυματική χρωματομετρική μέθοδο σε μήκος κύματος 540 nm. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στη αντίδραση:



Το γαλακτικό οξύ, μέσω της γαλακτικής οξειδάσης μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό οξύ και H₂O₂. Πρόδρομοι χρωστικών ουσιών παρουσία του H₂O₂, υφίστανται οξειδωτική συμπύκνωση από την υπεροξειδάση και παράγεται χρωστική ουσία που απορροφά το φως

σε μήκος κύματος 540 nm. Έτσι η αύξηση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 540 nm είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στο δείγμα. (285-286). Ο υπολογισμός του γαλακτικού οξέος έγινε σε mg/dl. Φυσιολογικές τιμές νηστείας για τους ενήλικες θεωρούνται μεταξύ 3-12 mg/dl. (285-287-288).

2.4 Μέτρηση Ελεύθερων Λιπαρών Οξέων Η αρχή της μεθόδου της μέτρησης των FFA, βασίζεται στη μελέτη των Shimizu και συν. (289) και περιγράφεται ως εξής:



ξέα

(FFA) παρουσία του ενζύμου συνθετάση του ακυλο-CoA (AcyI-CoA, CS) και ATP μετατρέπονται σε ακυλο-CoA και πυροφωσφορικό οξύ. Το ακυλο-CoA αντιδρά με O₂ παρουσία της ακυλο-CoA οξειδάσης (ACOD) για να σχηματισθεί 2,3 ενοϋλ-CoA και H₂O₂. Το H₂O₂ αντιδρά με το 2,4,6-τριβρωμο-3-υδροξυβενζοϊκό οξύ (TBHB) και την 4-αμινοαντιπυρίνη (4-AA) παρουσία του ενζύμου υπεροξειδάση (POD) και παράγει ερυθρά χρωστική που μετράται στο ορατό φάσμα των 546 nm. Η συγκέντρωση των FFA υπολογίσθηκε σε mmol/l. Φυσιολογικές τιμές για υγιείς ενήλικες εκτός κύησης θεωρούνται μεταξύ 0.3-0.8 mmol/l. (290)

2.5 Μέτρηση HbA_{1c}

Η μέτρηση της γλυκοζυλιωμένης Hb (HbA_{1c}) αποτελεί κεντρικής σημασίας παράμετρο για την παρακολούθηση και αντιμετώπιση των διαβητικών ασθενών, δεδομένου ότι ο σωστός ευγλυκαιμικός έλεγχος βοηθά στην καθυστέρηση της εμφάνισης των διαβητικών επιπλοκών.

Η μέτρηση της HbA_{1c} έγινε σε ολικό αίμα σε αναλυτή τύπου Menarini-Arkray HA 8140. Ο αυτόματος αναλυτής HA 8140, αποτελεί τον μοναδικό αναλυτή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), όπου όλες οι λειτουργίες είναι πλήρως αυτοματοποιημένες. Με

την αυτόματη λήψη 3μl ολικού αίματος, ακολουθούσε αυτόματη αιμόλυση με τη χρήση τετραπολυφωσφορικού (ΤΡΡ) ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.0, και το αιμολυθέν δείγμα παρέμενε για 2min στους 48°C. Ακολουθούσε μικροένεση του δείγματος και κατεργασία με μεθακρυλικό οξύ σε στήλη μεθακρυλικού πολυμερούς (Micronex A1c-HSII, Sekisui Chemical Co., Tokyo) ελεγχόμενη θερμοστατικά στους 40°C. Ο διαχωρισμός επετυγχάνετο με την ήπια προσθήκη τριών φωσφορικών ρυθμιστικών διαλυμάτων (pH 4.8) που περιείχαν <6% ανόργανο φωσφόρο, το οποίο οδηγούσε στην αναγέννηση της στήλης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως % HbA₁ and % HbA_{1c}, και υπολογίζονται από το εμβαδόν της καμπύλης των διαφόρων κλασμάτων αιμοσφαιρίνης, ως ποσοστό της ολικής αιμοσφαιρίνης, με τελική έκφραση ως g/dl. Τα αποτελέσματα βασίζονται στο φυσικό χρώμα της αιμοσφαιρίνης σε μήκος κύματος 415nm, μετά την έκλυση τους από τη στήλη.

2.6 Μέτρηση Δερματικής Πτυχής

Το ύψος και το βάρος είναι χρήσιμες ανθρωπομετρικές μετρήσεις, αλλά δεν προσφέρουν πληροφορίες για τον τύπο του ιστού που συσσωρεύεται ή υποστρέφεται με τις μεταβολές του σωματικού βάρους. Η δερματική πτυχή αποτελεί μια παράμετρο που εκτιμά το υποδόριο λίπος και αντικατοπτρίζει τις αποθήκες θερμίδων στο σώμα.

Η μέτρηση της δερματικής πτυχής στη μελέτη μας, έγινε στην περιοχή του τρικεφάλου μύος του μη επικρατούντος χεριού, με τη χρήση ηλεκτρονικού δερματοπτυχόμετρου. Αρχικά μηδενιζόταν η ένδειξη και ακολουθούσαν 3 διαδοχικές μετρήσεις σε γυμνό βραχίονα, ακριβώς με τον ίδιο τρόπο. Η ασθενής ήταν σε καθιστή θέση και το χέρι λυγισμένο στον αγκώνα σε γωνία 90° με την παλάμη στραμμένη ραχιαία. Η θέση μέτρησης εσημειώθηκε με μελάνι και αντιστοιχούσε στο μέσον της απόστασης μεταξύ αγκώνα και ώμου, στην πρόσθια επιφάνεια του βραχίονα. Στο σημείο αυτό υπεγείρετο το δέρμα μεταξύ του δείκτη και του αντίχειρα, προκειμένου να διαχωρισθεί το δέρμα και το λίπος από τον υποκείμενο μυ, ζητείτο από την γυναίκα να σφίξει τον τρικέφαλο, και ακολουθούσαν οι μετρήσεις. Η τελική τιμή της δερματικής πτυχής, αποτελούσε τον μέσο όρο των τριών αυτών μετρήσεων.

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΝΕΧΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Το σύνολο των γυναικών που μελετήθηκε ήταν 119. Από αυτές, 46 (38.7%) αποτέλεσαν την ομάδα των φυσιολογικών εγκύων (normal pregnant, NP), 33 (27.7%) την ομάδα των εγκύων με διαβήτη της κύησης (gestational diabetic mellitus, GDM) και 40 (33.6%) την ομάδα των φυσιολογικών γυναικών που δεν ήταν έγκυες (normal non pregnant, NNP).

Σύγκριση εργαστηριακών ευρημάτων πριν και μετά το γεύμα.

Για να μελετηθούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των εργαστηριακών παραμέτρων πριν και μετά το γεύμα, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία *paired sample t-test* για κάθε ομάδα χωριστά.

Φυσιολογικές έγκυες, NP

AC πριν & μετά	(t = -0.017 d.f = 45, p = 0.986)	NS
TC πριν & μετά	(t = -0.836 d.f = 45, p = 0.408)	NS
FC πριν & μετά	(t = -1.616 d.f = 45, p = 0.113)	NS
AC/FC πριν & μετά	(t = -0.262 d.f = 45, p = 0.794)	NS
Lactate πριν & μετά	(t = -5.681 d.f = 45, p < 0.001)	S
3βΟΗΒ πριν & μετά	(t = 3.146 d.f = 45, p = 0.003)	S
FFA πριν & μετά	(t = 3.340 d.f = 45, p = 0.002)	S

Έγκυες με διαβήτη της κύησης, GDM

AC πριν & μετά	(t = -0.283 d.f = 32, p = 0.779)	NS
TC πριν & μετά	(t = -2.672 d.f = 32, p = 0.012)	Significant
FC πριν & μετά	(t = -2.139 d.f = 32, p = 0.040)	Significant
AC/FC πριν & μετά	(t = -0.783 d.f = 32, p = 0.440)	NS
Lactate πριν & μετά	(t = -1.979 d.f = 32, p = 0.056)	marked
3βΟΗΒ πριν & μετά	(t = 2.937 d.f = 32, p = 0.006)	Significant
FFA πριν & μετά	(t = 4.451 d.f = 32, p < 0.001)	Significant

Φυσιολογικές μη έγκυες γυναίκες, NNP

Στον πληθυσμό NNP οι τιμές καρνιτίνης μελετήθηκαν μόνο σε κατάσταση νηστείας δεδομένου ότι, όπως θα αναφερθεί κατωτέρω έχουν ήδη διεξαχθεί, αρκετές μελέτες από τον Rebouche και συν, αλλά και από άλλους ερευνητές και υπάρχουν εκτεταμένα δεδομένα στη βιβλιογραφία για τη συμπεριφορά της μετά τη λήψη τροφής, όπου δεν δείχνει στατιστικά σημαντικές μεταβολές. Όσον αφορά τις άλλες παραμέτρους, αυτές διαμορφώθηκαν ως εξής:

Lactate πριν & μετά (t = -2.853 d.f = 39, p = 0.007) S
 3βΟΗΒ πριν & μετά (t = 3.477 d.f = 39, p = 0.001) S
 FFA πριν & μετά (t = 11.369 d.f = 39, p <0.001) S

Σύγκριση εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ των ομάδων, πριν και μετά το γεύμα

Για να γίνει σύγκριση των επιλεγμένων συνεχών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης πριν και μετά το γεύμα χωριστά, χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες Repeated Measures Analysis of Variance (ANOVA) και post-hoc multiple comparisons (Student-Newman-Keuls test).

1α. AC-πριν και AC-μετά

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μία από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο AC πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 1

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
AC πριν	NP	10.66	6.21	46
	GDM	7.35	4.37	33
	NNP	10.20	2.04	40
	Total	9.59	4.82	119
AC μετά	NP	10.69	9.42	46
	GDM	7.66	5.93	33
	Total	18.35	15.35	79

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) παρουσιάζεται μια αξιοσημείωτη αλλά όχι στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών AC-πριν και AC-μετά το γεύμα ($F = 2.927$; $d.f_{1,2} = 1,116$, $p = 0.090$). Περαιτέρω υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου AC μεταξύ των τριών ομάδων ($F = 7.456$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p = 0.001$). Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ($p = 0.002$).

1β. AC-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών AC-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 5.386$; $d.f_{1,2}$

= 2.118, $p = 0.006$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=9.649$; $df=2$, $p=0.008$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ($p=0.010$), καθώς και μεταξύ GDM και NNP ($p<0.001$). Τέλος, μεταξύ των ομάδων NP και NNP δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά. ($p=0.661$)

1γ. AC-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών AC-μετά για τις δύο ομάδες της μελέτης ($F = 5.631$; $d.f_{1,2} = 2.118$, $p = 0.005$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=7.737$; $df=2$, $p=0.021$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test υπήρξε διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική μεταξύ GDM και NP ($p=0.108$).

2α. TC-πριν και TC-μετά

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μια από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο TC πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 2

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
TC πριν	NP	16.11	5.79	46
	GDM	16.39	5.93	33
	NNP	41.60	3.34	40
	Total	24.76	13.07	119
TC μετά	NP	17.45	8.79	46
	GDM	18.75	5.19	33
	Total	36.20	13.98	79

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών TC-πριν και TC-μετά το γεύμα ($F = 0.465$; $d.f_{1,2} = 1,116$, $p = 0.497$).

Περαιτέρω, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου TC μεταξύ των τριών ομάδων ($F = 318.196$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p<0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ GDM και NP ($p=0.724$).

2β. TC-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών TC-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 323.096$; $d.f_{1,2}$

$z = 2.118, p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=79.016; df=2, p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και NNP ($p < 0.001$), καθώς και μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$). Τέλος, μεταξύ των ομάδων NP και GDM δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά. ($p=0.838$)

2γ. TC-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών TC-μετά για τις δύο ομάδες της μελέτης ($F = 113.663; d.f_{1,2} = 2.118, p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=74.407; df=2, p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ GDM και NP ($p=0.451$).

3α. FC-πριν και FC-μετά

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μια από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο FC πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 3

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
FC πριν	NP	5.46	2.91	46
	GDM	9.04	4.61	33
	NNP	31.40	1.94	40
	Total	15.17	12.12	119
FC μετά	NP	6.51	4.26	46
	GDM	11.09	5.71	33
	Total	17.60	9.97	79

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FC-πριν και FC-μετά το γεύμα ($F = 2.513; d.f_{1,2} = 1,116 p = 0.116$).

Περαιτέρω, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου FC μεταξύ των τριών ομάδων ($F = 638.464; d.f_{1,2} = 2,116; p < 0.001$).

Συγκεκριμένα με βάση το Student-Newman-Keuls test, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου FC μεταξύ των NP και GDM ($p < 0.001$).

3β. FC-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FC-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 774.629$; $d.f_{1,2} = 2.118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=84.090$; $df=2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και NNP ($p < 0.001$), καθώς και μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$) και μεταξύ των NP και GDM ($p < 0.001$).

3γ. FC-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FC-μετά για τις δύο ομάδες της μελέτης ($F = 268.890$; $d.f_{1,2} = 2.118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=84.862$; $df=2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ GDM και NP ($p < 0.001$).

4α. AC/FC-πριν και AC/FC-μετά

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μια από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο AC/FC πριν και μετά το γεύμα, ξεχωριστά.

Πίνακας 4

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
AC/FC πριν	NP	3.45	4.68	46
	GDM	1.21	1.24	33
	NNP	.32	.06	40
	Total	1.78	3.26	119
AC/FC μετά	NP	3.85	8.78	46
	GDM	1.71	3.69	33
	Total	5.56	12.47	79

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών AC/FC -πριν και AC/FC -μετά το γεύμα ($F = 0.185$; $d.f_{1,2} = 1,116$, $p = 0.668$). Περαιτέρω, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου AC/FC μεταξύ των τριών ομάδων ($F = 12.560$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ($p=0.009$).

4β. AC/FC-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών AC/FC-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 12.580$; $d.f_{1, 2} = 2.118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=42.005$; $df=2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και NNP ($p < 0.001$), καθώς και μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$) και μεταξύ των NP και GDM ($p=0.009$).

4γ. AC/FC-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται διαφορά μεταξύ των τιμών AC/FC-μετά για τις δύο ομάδες της μελέτης ($F = 4,252$; $d.f_{1, 2} = 2.118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=29.144$; $df=2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test υπήρξε διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική μεταξύ GDM και NP ($p=0.192$).

5α. Lactate-πριν και Lactate -μετά

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μια από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο Lactate πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 5

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
Lactate πριν	NP	9.30	4.19	46
	GDM	9.42	3.90	33
	NNP	7.68	3.11	40
	Total	8.79	3.83	119
Lactate μετά	NP	13.65	6.27	46
	GDM	11.21	4.25	33
	NNP	10.18	4.41	40
	Total	11.81	5.35	119

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών Lactate-πριν και Lactate -μετά το γεύμα ($F = 34.318$; $d.f_{1, 2} = 1,116$ $p < 0.001$).

Συγκεκριμένα παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές της παραμέτρου Lactate μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 5.183$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p=0.007$) Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και NNP ($p=0.005$), ενώ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και GDM ($p=0.351$) όπως επίσης και μεταξύ GDM και NNP ($p=0.243$).

5β. Lactate-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική μεταξύ των τιμών lactate-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 2.638$; $d.f_{1,2} = 2.118$, $p=0.076$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=5.308$; $df=2$, $p=0.070$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των GDM και NNP ($p=0.036$), ενώ μεταξύ NP και NNP ($p \leq 0.05$) υπάρχει διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική και μεταξύ των NP και GDM δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.898$).

5β. Lactate-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών lactate-μετά για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 5.132$; $d.f_{1,2} = 2.118$, $p=0.007$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H=8.978$; $df=2$, $p=0.011$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και NNP ($p=0.004$), ενώ μεταξύ NP και GDM ($p=0.056$) υπάρχει διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική και μεταξύ των NNP και GDM δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.313$).

6α. 3βΟΗΒ-πριν και 3βΟΗΒ -μετά

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε μια από τις τρεις ομάδες των γυναικών, για την παράμετρο 3βΟΗΒ πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 6

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
3βΟΗΒ πριν	NP	0.88	0.87	46
	GDM	1.55	1.40	33
	NNP	0.60	0.38	40
	Total	0.97	1.01	119
3βΟΗΒ μετά	NP	0.53	0.43	46
	GDM	0.89	0.97	33
	NNP	0.37	0.20	40

	Total	0.58	0.62	119
--	-------	------	------	-----

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών 3βΟΗΒ-πριν και 3βΟΗΒ-μετά το γεύμα ($F = 26.934$; $d.f_{1,2} = 1,116$ $p < 0.001$).

Συγκεκριμένα παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά, για τις τιμές της παραμέτρου 3βΟΗΒ μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 11.830$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p < 0.001$).

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ($p = 0.002$) καθώς επίσης και μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$), ενώ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($p = 0.279$).

6β. 3βΟΗΒ-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών 3βΟΗΒ-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 9.579$; $d.f_{1,2} = 2,118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H = 13.999$; $df = 2$, $p = 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των GDM και NP ($p = 0.011$) και μεταξύ των GDM και NNP ($p < 0.001$), ενώ υπάρχει διαφορά αλλά όχι στατιστικά σημαντική μεταξύ των NP και NNP ($p = 0.063$).

6γ. 3βΟΗΒ-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών 3βΟΗΒ-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 7.382$; $d.f_{1,2} = 2,118$, $p = 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H = 16.439$; $df = 2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των GDM και NP ($p = 0.026$), μεταξύ των NP και NNP ($p = 0.042$) και μεταξύ των GDM και NNP ($p = 0.001$).

7α. FFA-πριν και FFA -μετά

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών, για την παράμετρο FFA πριν και μετά το γεύμα ξεχωριστά.

Πίνακας 7

ΟΜΑΔΕΣ		Mean	Std. Deviation	N
FFA πριν	NP	0.40	0.33	46
	GDM	0.51	0.32	33
	NNP	0.38	0.16	40

	Total	0.42	0.29	119
FFA μετά	NP	0.22	0.17	46
	GDM	0.34	0.19	33
	NNP	0.13	0.07	40
	Total	0.22	0.17	119

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (with repeated measures) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FFA-πριν και FFA-μετά το γεύμα ($F = 64.530$; $d.f_{1,2} = 1,116$ $p < 0.001$).

Συγκεκριμένα παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά, για τις τιμές της παραμέτρου FFA μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 8.565$; $d.f_{1,2} = 2,116$; $p < 0.001$).

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ($p = 0.013$) και μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$ ενώ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($p = 0.339$).

7β. FFA-πριν

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FFA-πριν για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 2.395$; $d.f_{1,2} = 2,118$, $p = 0.096$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H = 8.327$; $df = 2$, $p = 0.016$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των GDM και NNP ($p = 0.020$) ενώ δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των NP και GDM ($p = 0.130$) και μεταξύ NP και NNP ($p = 0.701$).

7γ. FFA-μετά

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one way) παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών FFA-μετά για τις τρεις ομάδες της μελέτης ($F = 17.568$; $d.f_{1,2} = 2,118$, $p < 0.001$). Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήξαμε και με το Kruskal Wallis test ($H = 32.369$; $df = 2$, $p < 0.001$).

Ειδικότερα με βάση το Student-Newman-Keuls test, στατιστικά σημαντική διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των GDM και NP ($p = 0.004$) μεταξύ NNP και GDM ($p < 0.001$) και μεταξύ NP και NNP ($p = 0.003$).

ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Προκειμένου να μελετηθεί αν υπάρχει διαφορά μεταξύ των ανθρωπομετρικών και άλλων επιμέρους παραμέτρων μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν δύο τεστ: ένα

παραμετρικό (One-Way Analysis of Variance (ANOVA) και μια post-hoc multiple comparisons μελέτη (Student-Newman-Keuls) και ένα μη παραμετρικό (Kruskal Wallis H-test)).

1. HbA_{1c}

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζεται η παράμετρος HbA_{1c} ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 8

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval Mean		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	4.46	0.33	4.36	4.56	3.50	5.30
GDM	33	4.75	0.62	4.53	4.97	3.50	6.80
NNP	40	4.57	0.26	4.48	4.65	4.10	5.00
Total	119	4.58	0.43	4.50	4.65	3.50	6.80

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών HbA_{1c} μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 4.973$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p = 0.008$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=7.182$; $df=2$; $p=0.028$)

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ομάδων ($p=0.007$), ενώ βρέθηκε αξιοσημείωτη αλλά όχι στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($p=0.094$) και μεταξύ GDM και NNP ($p=0.087$)

2. ΗΛΙΚΙΑ

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζεται η παράμετρος ΗΛΙΚΙΑ ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 9

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval Mean		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	27.85	4.99	26.37	29.33	18.00	41.00
GDM	33	28.06	5.32	26.17	29.95	18.00	38.00
NNP	40	27.43	4.41	26.01	28.84	22.00	38.00
Total	119	27.76	4.87	26.88	28.65	18.00	41.00

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών ΗΛΙΚΙΑ μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 0.163$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p = 0.850$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=1.129$; $df=2$; $p=0.569$)

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των NP και GDM ($p=0.980$), μεταξύ NP και NNP ($p=0.916$) και μεταξύ των NNP και GDM ομάδων ($p=0.846$).

3. ΒΑΡΟΣ

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζεται η παράμετρος ΒΑΡΟΣ ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 10

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	64.02	14.30	59.78	68.27	49.00	120.00
GDM	33	73.86	16.61	67.97	79.75	50.00	110.00
NNP	40	62.40	10.44	59.06	65.74	49.00	86.00
Total	119	66.21	14.56	63.56	68.85	49.00	120.00

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών ΒΑΡΟΣ μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 7.117$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p = 0.001$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=12.266$; $df=2$; $p=0.002$)

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των NP και GDM ομάδων ($p=0.006$), και μεταξύ των NNP και GDM ($p=0.001$), ενώ δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των NP και NNP ($p=0.555$).

4. ΥΨΟΣ

Στον Πίνακα 11 παρουσιάζεται η παράμετρος ΥΨΟΣ ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 11

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	1.66	0.06	1.64	1.68	1.55	1.82
GDM	33	1.64	0.07	1.62	1.67	1.45	1.78
NNP	40	1.65	0.06	1.63	1.67	1.55	1.75
Total	119	1.65	0.06	1.64	1.66	1.45	1.82

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών ΥΨΟΣ μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 0.583$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p = 0.560$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=0.472$; $df=2$; $p=0.790$)

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των NP και GDM ομάδων ($p=0.545$ μεταξύ NP και NNP ($p=0.777$) και μεταξύ των NNP και GDM ομάδων ($p=0.917$).

5. BMI

Στον Πίνακα 12 παρουσιάζεται η παράμετρος BMI ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 12

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	23.49	5.24	21.93	25.04	15.70	41.52
GDM	33	27.47	5.13	25.65	29.28	19.92	39.31
NNP	40	23.02	3.32	21.95	24.08	17.10	32.00
Total	119	24.43	4.98	23.53	25.34	15.70	41.52

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών BMI μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 9.842$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p < 0.001$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=18.793$; $df=2$; $p < 0.001$)

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NP και GDM ομάδων ($p=0.001$), μεταξύ GDM και NNP ($p < 0.001$), ενώ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($p=0.624$).

6. ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΠΤΥΧΗ

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζεται η παράμετρος ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΠΤΥΧΗ ως μέσος όρος και σταθερά απόκλιση για κάθε ένα από τα τρία γκρουπ των γυναικών

Πίνακας 13

	N	Mean	Std. Deviat	95% Confidence Interval		Ελάχιστη	Μέγιστη
				Lower B	Upper B		
NP	46	73.98	8.19	71.55	76.41	51.00	96.30
GDM	33	77.01	7.40	74.38	79.63	54.00	91.00
NNP	40	70.40	9.48	67.37	73.43	52.30	87.60
Total	119	73.62	8.77	72.02	75.21	51.00	96.30

Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA (one-way) παρουσιάζεται μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της δερματικής πτυχής μεταξύ των τριών ομάδων της μελέτης ($F = 5.601$; $d.f_{1, 2} = 2, 118$; $p = 0.005$). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και από την ανάλυση με το Kruskal Wallis τεστ ($H=10.560$; $df=2$; $p=0.005$).

Με βάση το Student-Newman-Keuls test, η διαφορά εντοπίζεται μεταξύ των NNP και GDM ομάδων ($p=0.002$), ενώ παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη αλλά όχι στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($p=0.064$) και μεταξύ των NP και GDM ομάδων ($p=0.096$).

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΚΑΡΝΙΤΙΝΗΣ ΜΕ LACTATE, 3ΒΟΗΒ, ΚΑΙ FFA ΠΡΙΝ ΤΟ ΓΕ
ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΟΜΑΔΑ ΧΩΡΙΣΤΑ.**

i. "NORMAL PREGNANT, NP" ΟΜΑΔΑ

Προκείμενου να αποδειχθεί αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ **Carnitine-πριν το γεύμα** και Lactate-πριν, 3βΟΗΒ-πριν and FFA-πριν για κάθε γκρουπ ξεχωριστά εφαρμόστηκαν οι δοκιμασίες, two correlation coefficients were calculated: Pearson's Correlation coefficient και the non-parametric Spearman's correlation coefficient. Και τα δύο τεστ κατέληξαν στο ίδιο αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα:

- a. AC-πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p=0.050$, $p=0.741$ και $r_s=0.118$, $p=0.433$)**
- b. AC πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p=-0.241$, $p=0.106$ και $r_s= -0.189$, $p=0.208$)**
- c. AC-πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.099$, $p=0.513$ και $r_s=-0.234$, $p=0.118$)**
- d. TC-πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p=0.137$, $p=0.363$ και $r_s=0.212$, $p=0.158$)**
- e. TC-πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.260$, $p=0.081$ και $r_s= -0.180$, $p=0.232$)**
- f. TC-πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.162$, $p=0.283$ και $r_s= -0.312$, $p=0.035$)**
- g. FC- πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p=0.167$, $p=0.268$ και $r_s=0.148$, $p=0.325$)**
- h. FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.003$, $p=0.986$ και $r_s= 0.063$, $p=0.677$)**
- i. FC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.111$, $p=0.464$ και $r_s= -0.168$, $p=0.264$)**
- j. AC/FC- πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= -0.128$, $p=0.396$ και $r_s= -0.100$, $p=0.510$)**
- k. AC/FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p= 0.242$, $p=0.104$ και $r_s= -0.061$, $p=0.689$)**

l. AC/FC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.042$, $p = 0.783$ και $r_s = -0.105$, $p = 0.486$).

ii. "DIABETIC PREGNANT, GDM" ΟΜΑΔΑ

a. AC- πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.253$, $p = 0.156$ και $r_s = 0.263$, $p = 0.139$)

b. AC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.076$, $p = 0.673$ και $r_s = 0.047$, $p = 0.793$)

c. AC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.165$, $p = 0.358$ και $r_s = 0.253$, $p = 0.156$)

d. TC- πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.048$, $p = 0.792$ και $r_s = -0.007$, $p = 0.971$)

e. TC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.024$, $p = 0.893$ και $r_s = 0.025$, $p = 0.891$)

f. TC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.187$, $p = 0.297$ και $r_s = 0.240$, $p = 0.178$)

g. FC- πριν το γεύμα vs. Lactate-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.179$, $p = 0.319$ και $r_s = -0.192$, $p = 0.284$)

h. FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.041$, $p = 0.821$ και $r_s = -0.112$, $p = 0.535$)

i. FC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.084$, $p = 0.642$ και $r_s = 0.077$, $p = 0.669$)

j. AC/FC- πριν το γεύμα vs. Lactate- πριν: σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.157$, $p = 0.382$ and $r_s = 0.354$, $p = 0.044$)

(όταν παραμετρικό και μη παραμετρικό test δεν συμφωνούν, κρατάμε αυτό που μας δίνει το μη παραμετρικό test. Έτσι και εδώ λέμε ότι είναι σημαντική η σχέση διότι το p-value του Spearman(μη παραμετρικό) είναι $p = 0.044$)

k. AC/FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.025$, $p = 0.891$ και $r_s = 0.091$, $p = 0.616$)

l. AC/FC- πριν το γεύμα vs. FFA- πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.025$, $p = 0.892$ και $r_s = 0.046$, $p = 0.800$)

iii. "NORMAL NON PREGNANT, NNP" ΟΜΑΔΑ

a. AC- πριν το γεύμα vs. Lactate- πριν: σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.342$, $p = 0.031$ και $r_s = 0.329$, $p = 0.038$).

Για να μελετηθεί ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ AC-πριν και Lactate-πριν το γεύμα εφαρμόστηκε Linear Regression ανάλυση. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 21:

Πίνακας 21
Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		t	Sig.	95% Confidence interval for B	
	B	Std. Error			Lower Bound	Upper Bound
1 (Constant)	2.357	2.415	0.976	0.335	-2.533	7.246
AC πριν	0.521	0.232	2.245	0.031	0.051	0.991

Από την Linear Regression φαίνεται ότι αύξηση της AC-πριν το γεύμα κατά μία μονάδα έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του Lactate-πριν το γεύμα κατά 0.521 μονάδα.

b. AC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.034$, $p = 0.837$ και $r_s = -0.070$, $p = 0.668$)

c. AC- πριν το γεύμα vs. FFA- πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.150$, $p = 0.355$ και $r_s = -0.019$, $p = 0.907$)

d. TC- πριν το γεύμα vs. Lactate- πριν: σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.406$, $p = 0.009$ και $r_s = 0.489$, $p = 0.001$)

Για να μελετηθεί ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ TC-πριν και Lactate-πριν το γεύμα εφαρμόστηκε Linear Regression ανάλυση. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 22:

Πίνακας 22
Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		t	Sig.	95% Confidence interval for B	
	B	Std. Error			Lower Bound	Upper Bound
1 (Constant)	-8.038	5.757	-1.396	0.171	-19.693	3.616
AC πριν	0.378	0.138	2.738	0.009	0.098	0.657

Από την Linear Regression φαίνεται ότι αύξηση της TC-πριν το γεύμα κατά μία μονάδα έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του Lactate-πριν το γεύμα κατά 0.378 μονάδες.

e. TC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.080$, $p=0.624$ και $r_s = -0.082$, $p=0.614$)

f. TC- πριν το γεύμα vs. FFA- πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.165$, $p=0.310$ και $r_s = -0.073$, $p=0.654$)

g. FC- πριν το γεύμα vs. Lactate- πριν: σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.339$, $p=0.033$ και $r_s = 0.445$, $p=0.004$)

Για να μελετηθεί ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ FC-πριν και Lactate-πριν το γεύμα εφαρμόστηκε Linear Regression ανάλυση. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 23:

Πίνακας 23

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		t	Sig.	95% Confidence interval for B	
	B	Std. Error			Lower Bound	Upper Bound
1 (Constant)	-9.333	7.681	-1.215	0.232	-24.883	6.217
AC πριν	0.542	0.244	2.218	0.033	0.047	1.036

Από την Linear Regression φαίνεται ότι αύξηση της FC-πριν το γεύμα κατά μία μονάδα έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του Lactate-πριν το γεύμα κατά 0.542 μονάδες.

h. FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.102$, $p=0.530$ και $r_s = -0.105$, $p=0.521$)

i. FC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.125$, $p=0.442$ και $r_s = 0.003$, $p=0.986$)

j. AC/FC- πριν το γεύμα vs. Lactate- πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.253$, $p=0.116$ και $r_s = 0.227$, $p=0.158$)

k. AC/FC- πριν το γεύμα vs. 3βΟΗΒ-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = 0.000$, $p=0.999$ και $r_s = -0.046$, $p=0.780$)

l. AC/FC- πριν το γεύμα vs. FFA-πριν: δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($r_p = -0.130$, $p=0.423$ και $r_s = 0.020$, $p=0.903$)

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΙΑ ΤΙΣ ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΤΟΥ GDM ΓΚΡΟΥΠ

Στην μελέτη μας το GDM γκρουπ που συμπεριλαμβάνει 33 γυναίκες, αποτελείται από δύο επιμέρους υποομάδες. Η πρώτη υποομάδα αποτελείται από 25 (75.8%) γυναίκες στις οποίες ο GD ρυθμιζόταν με διαίτα, ενώ η δεύτερη ομάδα αποτελείται από 8 (6.7%) γυναίκες και για τη ρύθμιση του GD χρησιμοποιήθηκε ινσουλίνη.

Σύγκριση Εργαστηριακών ευρημάτων πριν και μετά το γεύμα

Για να βρεθούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των εργαστηριακών ευρημάτων πριν και μετά το γεύμα χρησιμοποιήθηκε το *paired sample t-test* για κάθε υποομάδα του GDM γκρουπ ξεχωριστά.

Υποομάδα που ρυθμιζόταν με διαίτα - diet

Οι διαφορές μεταξύ των εργαστηριακών ευρημάτων παρουσιάζονται πιο κάτω.

AC - πριν & AC - μετά	(t = 0.367; d.f = 24; p = 0.717) NS*
TC - πριν & TC - μετά	(t = -2.791; d.f = 24; p = 0.010) S**
FC - πριν & FC - μετά	(t = -3.446; d.f = 24; p = 0.002) S
AC/FC- πριν & AC/FC- μετά	(t = -0.612; d.f = 24; p = 0.546) NS
Lactate - πριν & Lactate - μετά	(t = -1.613; d.f = 24; p = 0.120) NS
BOH - πριν & BOH - μετά	(t = 3.300; d.f = 24; p = 0.003) S
FFA - πριν & FFA - μετά	(t = 3.978; d.f = 24; p = 0.001) S

Υποομάδα που ρυθμιζόταν με ινσουλίνη - insulin

AC - πριν & AC - μετά	(t = -1.783; d.f = 7; p = 0.118) NS*
TC - πριν & TC - μετά	(t = -0.442; d.f = 7; p = 0.672) NS
FC - πριν & FC - μετά	(t = 1.064; d.f = 7; p = 0.323) NS
AC/FC - πριν & AC/FC - μετά	(t = -0.818; d.f = 7; p = 0.441) NS
Lactate - πριν & Lactate - μετά	(t = -3.274; d.f = 7; p = 0.014) S**
BOH - πριν & BOH - μετά	(t = -0.500; d.f = 7; p = 0.632) NS

FFA - πριν & FFA - μετά

($t = 2.057$; $d.f = 7$; $p = 0.079$) marked

* NS= μη σημαντική
** S= σημαντική

**Σύγκριση εργαστηριακών ευρημάτων μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γ*
πριν το γεύμα και μετά το γεύμα**

Για να γίνει σύγκριση των επιλεγμένων συνεχών μεταβλητών μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ (diet και insulin) χρησιμοποιήθηκαν δύο τεστ: ένα παραμετρικό (Independent-Samples T-TEST) και ένα μη παραμετρικό τεστ (Mann-Whitney U-test).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“AC-πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 7.86 (s.d=4.25) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 5.74 (s.d= 4.66). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο “AC-πριν το γεύμα” μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 1.201$; $d.f=31$; $p=0.239$ και $Z=-0.966$ $p=0.334$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“AC- μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 7.37 (s.d=6.68) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 8.57 (s.d= 2.53). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο AC- μετά το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.492$; $d.f=31$; $p=0.626$ και $Z= -1.239$ $p=0.215$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“TC- πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 17.04 (s.d=5.72) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 14.36 (s.d= 6.50). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο TC- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 1.115$; $d.f=31$; $p=0.274$ και $Z= -1.344$ $p=0.179$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“TC-μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 19.91 (s.d=4.87) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 15.10 (s.d= 4.64). Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο TC- μετά το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 2.455$; $d.f=31$; $p=0.020$ και $Z= - 2.394$, $p=0.017$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“FC- πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 9.17 (s.d=4.31) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 8.62 (s.d= 5.74). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για

την παράμετρο FC- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 0.293$; $d.f=31$; $p=0.771$ και $Z = -0.126$ $p=0.900$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“FC- μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 12.54 ($s.d=5.48$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 6.53 ($s.d= 3.86$). Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο FC- μετά το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 2.866$; $d.f=31$; $p=0.007$ και $Z = - 2.563$, $p=0.010$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“AC/FC- πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 1.52 ($s.d=1.14$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 1.98 ($s.d= 2.87$). Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο AC/FC- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.675$; $d.f=31$; $p=0.505$ και $Z = -0.798$ $p=0.425$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“AC/FC- μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 2.13 ($s.d=5.64$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 2.63 ($s.d= 2.10$). Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο AC/FC- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.242$; $d.f=31$; $p=0.810$ και $Z = - 2.731$ $p=0.006$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“Lactate- πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 9.84 ($s.d=4.31$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 8.13 ($s.d= 1.81$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο Lactate- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 1.086$; $d.f=31$; $p=0.286$ και $Z = -0.572$, $p=0.568$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“Lactate- μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 11.76 ($s.d=4.70$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 9.50 ($s.d= 1.51$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο AC/FC- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 1.325$; $d.f=31$; $p=0.195$ και $Z = - 1.454$, $p=0.146$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το “3βΟΗΒ- πριν το γεύμα” για το γκρουπ “diet” ήταν 1.65 ($s.d=1.41$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 1.25 ($s.d= 1.41$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο 3βΟΗΒ-πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 0.694$; $d.f=31$; $p=0.493$ και $Z = - 1.122$ $p=0.222$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το “3βΟΗΒ- μετά το γεύμα” για το γκρουπ “diet” ήταν 0.75 ($s.d=0.48$) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 1.35 ($s.d= 1.78$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο 3βΟΗΒ-μετά το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -1.569$; $d.f=31$; $p=0.127$ και $Z = - 0.592$ $p=0.554$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“FFA- πριν το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 0.52 (s.d=0.34) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 0.51 (s.d= 0.26). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο FFA- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = 0.039$; d.f=31; $p=0.969$ και $Z = - 0.168$ $p=0.867$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“FFA- μετά το γεύμα”** για το γκρουπ “diet” ήταν 0.32 (s.d=0.19) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 0.39 (s.d= 0.20). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο FFA- πριν το γεύμα μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.880$; d.f=31; $p=0.386$ και $Z = - 0.882$ $p=0.378$).

Ανθρωπομετρικοί και άλλοι παράγοντες για το GDM γκρουπ

Για να μπορέσουμε να βρούμε αν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ (diet και insulin) όσον αφορά τους ανθρωπομετρικούς και επιλεγμένες συνεχείς μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν δύο τεστ: ένα παραμετρικό (Independent-Samples T-TEST) και ένα μη παραμετρικό (Mann-Whitney U-test).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“ HbA_{1c}”** για το γκρουπ “diet” ήταν 4.67 (s.d=0.47) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 5.01 (s.d= 0.95). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο HbA_{1c} μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -1.372$; d.f=31; $p=0.180$ και $Z = -0.359$; $p=0.720$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“ ΗΛΙΚΙΑ”** για το γκρουπ “diet” ήταν 27.84 (s.d=5.14) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 28.75 (s.d= 6.18). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο ΗΛΙΚΙΑ μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.416$; d.f=31; $p=0.681$ και $Z = -0.147$; $p=0.883$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“ ΒΑΡΟΣ”** για το γκρουπ “diet” ήταν 72.86 (s.d=17.99) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 77.00 (s.d= 11.66). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο ΒΑΡΟΣ μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.608$; d.f=31; $p=0.548$ και $Z = -0.925$; $p=0.355$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **“ ΥΨΟΣ”** για το γκρουπ “diet” ήταν 1.64 (s.d=0.07) ενώ για το γκρουπ “insulin” ήταν 1.66 (s.d= 0.6). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την

παράμετρο ΥΨΟΣ μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.807$; $d.f=31$; $p=0.426$ και $Z = -0.674$; $p=0.500$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **"ΒΜΙ"** για το γκρουπ "diet" ήταν 27.32 ($s.d=5.56$) ενώ για το γκρουπ "insulin" ήταν 27.92 ($s.d= 3.72$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο ΒΜΙ μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -0.283$; $d.f=31$; $p=0.779$ και $Z = -0.483$; $p=0.629$).

Ο μέσος όρος των τιμών για το **"ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΠΤΥΧΗ"** για το γκρουπ "diet" ήταν 75.17 ($s.d=7.22$) ενώ για το γκρουπ "insulin" ήταν 82.74 ($s.d= 4.65$). Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για την παράμετρο ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΠΤΥΧΗ μεταξύ των δύο υποομάδων του GDM γκρουπ ($t = -2.768$; $d.f=31$; $p=0.009$ και $Z = -2.606$; $p=0.009$).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Κλινικές και ανθρωπομετρικές παράμετροι

4.2 Βιοχημικές παράμετροι σε περίοδο νηστείας

4.3 Μεταβολή των βιοχημικών παραμέτρων πριν και μετά το γεύμα

Η σημασία των διαφόρων ανθρωπομετρικών, κλινικών και βιοχημικών παραμέτρων του ενδιάμεσου μεταβολισμού για κάθε μια από τις τρεις ομάδες (δηλ. φυσιολογικές έγκυες, (NP), έγκυες με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (GDM) και φυσιολογικές μη έγκυες γυναίκες (NNP), μελετήθηκε συστηματικά με τη σύγκριση των τιμών κάθε ομάδας ανά ζεύγος. Για να τεκμηριωθούν τυχόν διαφορές μεταξύ κάθε ζεύγους ομάδων, χρησιμοποιήθηκαν δύο δοκιμασίες: μια παραμετρική μονόδρομη ανάλυση της διαφοράς (ANOVA) και post-hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls, και η μη παραμετρική δοκιμασία Kruskal-Wallis H. Για την επιβεβαίωση εάν υπήρξε διαφορά μεταξύ των τιμών των βιοχημικών παραμέτρων, πριν και μετά από το γεύμα των υδατανθράκων, υιοθετήθηκε για κάθε ομάδα χωριστά μία ταξινομημένη κατά ζεύγος (paired sample t-test) δοκιμασία δειγμάτων.

4.1 Κλινικές και Ανθρωπομετρικές Παράμετροι

Χρησιμοποιώντας είτε τις παραμετρικές είτε τις μη-παραμετρικές δοκιμασίες, ουδεμία σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε μεταξύ των τριών ομάδων όσον αφορά την ηλικία ή το ύψος, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1. Εντούτοις, σε αντίθεση με τις ομάδες ελέγχου (NP και NNP), οι έγκυες γυναίκες GDM, εμφάνισαν τα βιοχημικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της αντίστασης προς την ινσουλίνη, δηλ. μεγαλύτερο βάρος σώματος πριν από την εγκυμοσύνη ($P = 0.006$ και $P = 0.001$, αντίστοιχα), υψηλότερο BMI ($P = 0.001$ και $P < 0.001$, αντίστοιχα), υψηλότερα επίπεδα πτυχής δέρματος ($P = 0.096$ και $P = 0.002$, αντίστοιχα), και υψηλότερα επίπεδα HbA1c ($P = 0.007$ και $P = 0.087$, αντίστοιχα) όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.

4.2 Βιοχημικές Παράμετροι σε Περίοδο Νηστείας

Η ανάλυση των επιπέδων πλάσματος της ολικής καρνιτίνης (TC) νηστείας μεταξύ των τριών ομάδων, έδειξε ότι η ομάδα ελέγχου (NP) και η ομάδα με διαβήτη της κύησης (GDM), δεν είχαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0.838$), ενώ και οι δύο ομάδες παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από την φυσιολογική μη εγκυμονούσα ομάδα NNP ($P < 0.001$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 2. Τα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης (AC) νηστείας, τεκμηριώθηκαν να είναι χαμηλότερα στην ομάδα GDM έναντι των ομάδων NP και NNP ($P = 0.010$ και $P <$

0.001, αντίστοιχα), ενώ τα επίπεδα φαίνεται να είναι παρόμοια μεταξύ των ομάδων NP και NNP ($P = 0.661$, Πίνακας 2). Τα επίπεδα της ελεύθερης καρνιτίνης νηστείας (FC), ποίκιλαν και στις τρεις ομάδες, με τα χαμηλότερα επίπεδα στην ομάδα NP (5.46 ± 2.91 $\mu\text{mol/l}$) και τα πιο υψηλά επίπεδα στην ομάδα NNP (31.40 ± 1.94 $\mu\text{mol/l}$), ενώ η ομάδα GDM εμφάνισε ενδιάμεσα επίπεδα, πλησιέστερα προς την ομάδα NP (9.04 ± 4.61 $\mu\text{mol/l}$). Και οι τρεις μεμονωμένες συγκρίσεις ζευγών μεταξύ των τριών ομάδων για την ελεύθερη καρνιτίνη, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.001$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 2. Αντίθετα, ο λόγος της ακυλ-καρνιτίνης προς ελεύθερη καρνιτίνη AC/FC, παρουσίασε την υψηλότερη τιμή (3.45 ± 4.68) στην ομάδα NP και τη χαμηλότερη (0.32 ± 0.06) στην ομάδα NNP. Τα επίπεδα στην ομάδα GDM βρέθηκαν να είναι ενδιάμεσα (1.21 ± 1.24) μεταξύ των δύο ομάδων και πλησιέστερα στο πρότυπο της ομάδος NNP. Οι συγκρίσεις κάθε ζεύγους μεταξύ των τριών ομάδων, οδήγησαν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές που κυμαίνονται από $P < 0.001$ έως $P < 0.009$, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.

Όσον αφορά την ανάλυση των υπολοίπων βιοχημικών παραμέτρων του μεταβολισμού σε φάση νηστείας, παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα πλάσματος του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στην ομάδα GDM, τα οποία ήσαν στατιστικώς σημαντικά, όταν συγκρίθηκαν με εκείνα των ομάδων NP και NNP ($P = 0.011$ και $P < 0.001$, αντίστοιχα), ενώ δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων NP και NNP ($P = 0.063$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.

Επίσης, τεκμηριώθηκαν υψηλότερα επίπεδα ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA) στην ομάδα του διαβήτη της κύησης (GDM). Η διαφορά υπήρξε στατιστικά σημαντική, όταν οι τιμές συγκρίθηκαν με εκείνες της ομάδος NNP ($P = 0.020$). Αντιθέτως, τα επίπεδα του FFA μεταξύ των ομάδων NP και GDM και μεταξύ NP και NNP, δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0.130$ και $P = 0.701$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.

Δεδομένου ότι η αρχική ομάδα των 33 γυναικών με διαβήτη της κύησης (GDM) παριστά έναν ετερογενή πληθυσμό όσον αφορά τον τρόπο θεραπευτικής αντιμετώπισης του σακχαρώδους διαβήτη κατά τη διάρκεια της κύησης, και προκειμένου να διερευνηθεί το πραγματικό μεταβολικό πρότυπο των εγκύων της ομάδος, υποδιαιρέσαμε την αρχική ομάδα σε δύο υπο-ομάδες, με βάση το τύπο της θεραπείας, που έλαβαν κατά τη διάρκεια της κύησης. Με το κριτήριο αυτό, οι 25 γυναίκες (77.8%) των οποίων ο σακχαρώδης διαβήτης ελέγχεται μόνο με διαίτα, αποτέλεσαν την υπο-ομάδα GDM-D, ενώ οι 8 γυναίκες (6.7%) οι οποίες απαιτούσαν τη χορήγηση ινσουλίνης για τον έλεγχο του διαβήτη, αποτέλεσαν την υπο-ομάδα GDM-I. Προκειμένου να διερευνησουμε τις διαφορές μεταξύ των δύο υπο-ομάδων, χρησιμοποιήθηκαν δύο στατιστικές δοκιμασίες: μία παραμετρική

ανεξάρτητων δειγμάτων (Independent-Samples t-test) και μία μη-παραμετρική δοκιμασία (Mann-Whitney U-test). Λεπτομέρειες των στατιστικών αναλύσεων, παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα Α. Είναι ενδιαφέρον ότι, όλες οι βασικές ανθρωπομετρικές παράμετροι των δύο υποομάδων, με την εξαίρεση της δερματικής πτυχής ($P = 0.009$), δεν έδειξαν οιαδήποτε στατιστικά σημαντική διαφορά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.

Περαιτέρω, οι υπόλοιπες βιοχημικές παράμετροι του ενδιάμεσου μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της νηστείας, δεν έδειξαν επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο υπο-ομάδων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.

4.3 Μεταβολή του Βιοχημικών Παραμέτρων Πριν και Μετά το Γεύμα

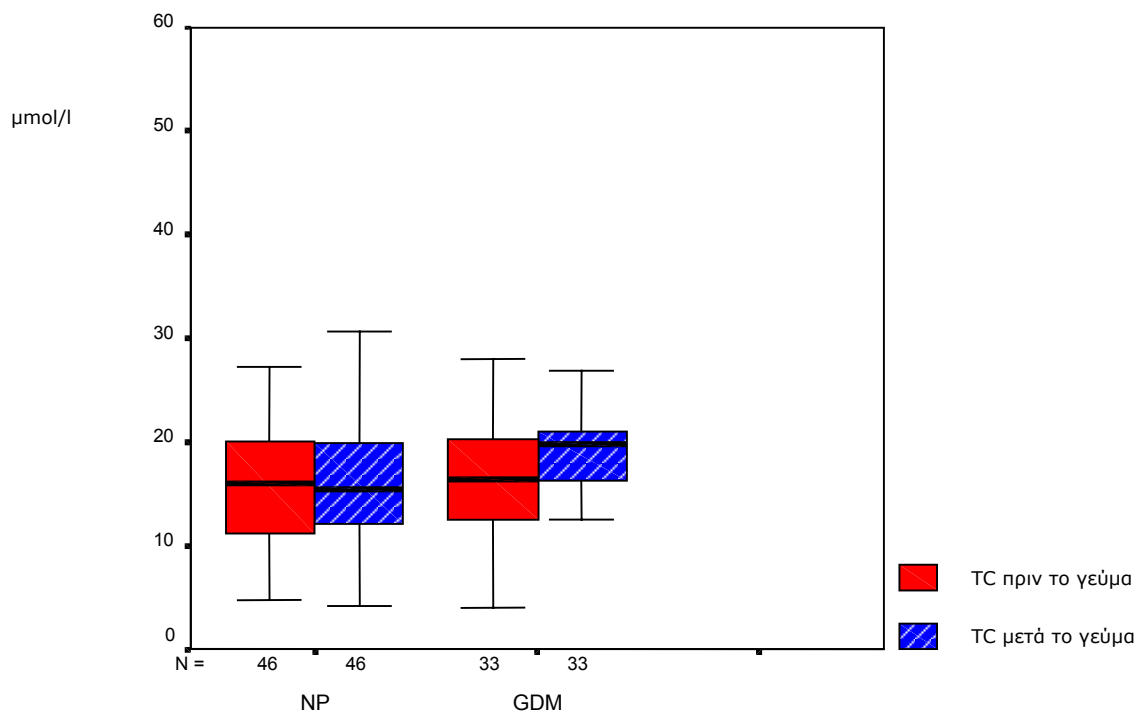
Προκειμένου να απαντηθούν τα ερωτήματα της επίπτωσης της έκφρασης της καρνιτίνης μετά τη λήψη τροφής και τη συσχέτισή της με άλλες σημαντικές βιοχημικές παραμέτρους τόσο της κύησης, όσο και της νόσου του διαβήτη της κύησης, όπως αναπτύχθηκαν διεξοδικά στο Γενικό Μέρος Κεφαλαίο 3 (Καρνιτίνη: Βιοχημεία και Φυσιολογία), μελετήθηκαν συστηματικά τα επίπεδα της καρνιτίνης και των άλλων σημαντικών βιοχημικών παραμέτρων τόσο κατά τη διάρκεια νηστείας (βλ. ανωτέρω) όσο και μετά από λήψη υδατανθρακούχου γεύματος, μετά από περίοδο 8-10 h νηστείας, στις τρεις ομάδες γυναικών.

Για την μελέτη των στατιστικών διαφορών μεταξύ των βιοχημικών παραμέτρων πριν και μετά το γεύμα, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία δειγμάτων ανά ζεύγη (paired sample t-test) για κάθε ομάδα χωριστά. Για τη σύγκριση των επιλεγμένων συνεχών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων, πριν και μετά το γεύμα χωριστά, χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες ANOVA (Repeated Measures Analysis of Variance) και η δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων (post-hoc multiple comparisons Student-Newman-Keuls test).

Όπως ανεφέρθη και προηγουμένως, στην ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών μη-εγκύων γυναικών (NNP) οι τιμές της καρνιτίνης μελετήθηκαν μόνο σε κατάσταση νηστείας, δεδομένου ότι έχουν ήδη διεξαχθεί αρκετές μελέτες από την ερευνητική ομάδα του Rebouche και συν., αλλά και από άλλους ερευνητές, οι οποίες έχουν τεκμηριώσει την συμπεριφορά της μετά τη λήψη τροφής, όπου δεν ενεφάνισε στατιστικά σημαντικές μεταβολές.

Η ανάλυση των επιπέδων της ολικής καρνιτίνης του πλάσματος μετά το γεύμα, και ειδικότερα, σύμφωνα με τη δοκιμασία post hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls, δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων NP και GDM ($P = 0.451$), όπως εμφανίζεται στον Πίνακα 5. Περαιτέρω, στην ομάδα NP οι διαφορές της ολικής καρνιτίνης πριν και μετά το γεύμα, με βάση της δοκιμασία δειγμάτων ανά ζεύγη (paired sample t-text), δεν έδειξε στατιστικά

σημαντική διαφορά ($P = 0.408$). Αντίθετα, στην ομάδα των εγκύων με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (GDM) οι τιμές της TC έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση ($P = 0.012$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5 και στο Σχήμα 1.

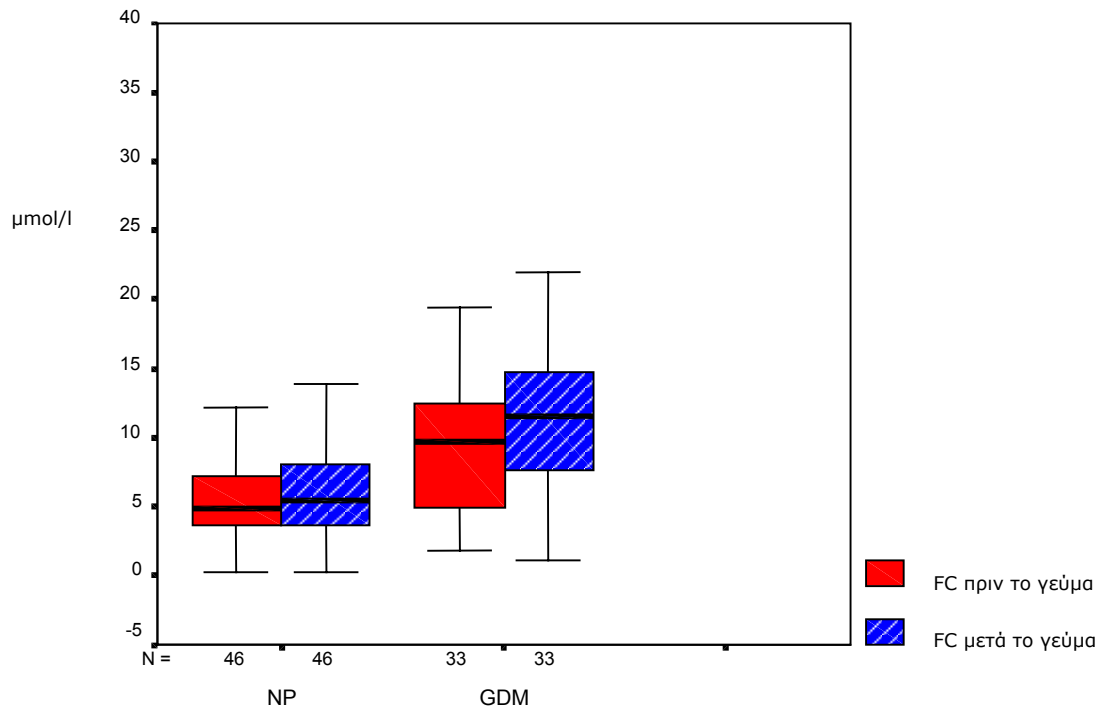


Σχήμα 1. Μεταβολές των τιμών της ολικής-καρνιτίνης του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD\pm$).

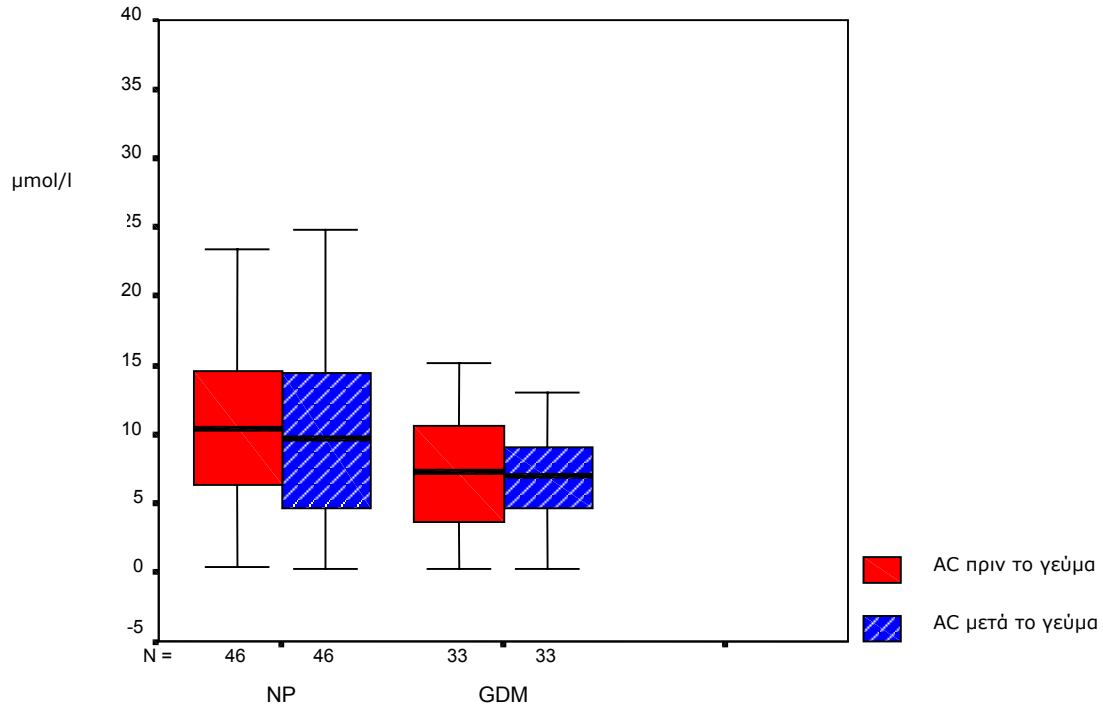
Η ανάλυση των επιπέδων του πλάσματος μετά το γεύμα τόσο της ακυλ-καρνιτίνης (AC), όσο και της ελεύθερης καρνιτίνης (FC) και η σύγκρισή τους μεταξύ των ομάδων NP και GDM, έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ελεύθερης καρνιτίνης ($P < 0.001$), ενώ δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0.108$) στα επίπεδα πλάσματος της ακυλ-καρνιτίνης.

Περαιτέρω, όσον αφορά τις διαφορές των επιπέδων πριν και μετά το γεύμα της ακυλ-καρνιτίνης (AC) του πλάσματος αλλά και της ελεύθερης καρνιτίνης (FC), στην ομάδα των φυσιολογικών εγκύων (NP) δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0.986$ και $P = 0.113$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στο Σχήμα 2 και στο Σχήμα 3. Αντίθετα, στην ομάδα GDM, οι διαφορές των τιμών του κλάσματος της ελεύθερης καρνιτίνης (FC) πριν και μετά το γεύμα υπήρξαν στατιστικά σημαντικές ($P = 0.040$), όπως φαίνεται στο Σχήμα 2, ενώ δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης ($P = 0.779$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5 και στο Σχήμα 3. Με βάση την στατιστικά σημαντική διαφορά στην μεταβολή της ολικής καρνιτίνης και την έλλειψη στατιστικά

σημαντικής διαφοράς στα επίπεδα της ακυλ-καρνιτίνης, τα δεδομένα αυτά της ομάδας του διαβήτη της κύησης, υποδηλώνουν ότι η μεταβολή της ολικής καρνιτίνης μετά το γεύμα οφείλεται ουσιαστικά στην μεταβολή της ελεύθερης καρνιτίνης.



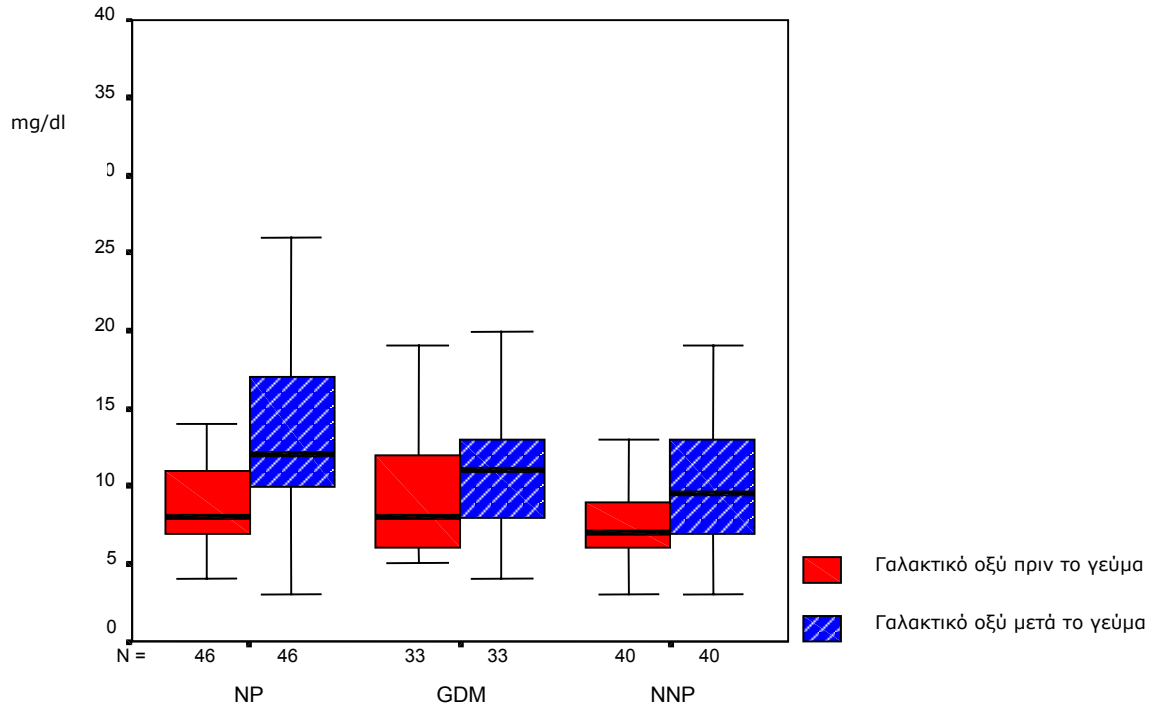
Σχήμα 2. Μεταβολές των τιμών της ελεύθερης-καρνιτίνης του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης (SD±).



Σχήμα 3. Μεταβολές των τιμών της ακυλ-καρνιτίνης του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD\pm$).

Ο λόγος ακυλ-καρνιτίνης (AC) προς ελεύθερη καρνιτίνη (FC) μετά το γεύμα και η σύγκριση των τιμών τους μεταξύ των ομάδων NP και GDM, δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά (0.192), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5. Οι μεταβολές του λόγου AC/FC πριν και μετά το γεύμα τόσο στην ομάδα των φυσιολογικών εγκύων NP, όσο και στην ομάδα GDM, δεν απεδείχθησαν στατιστικά σημαντικές ($P = 0.794$ και $P = 0.440$, αντίστοιχα).

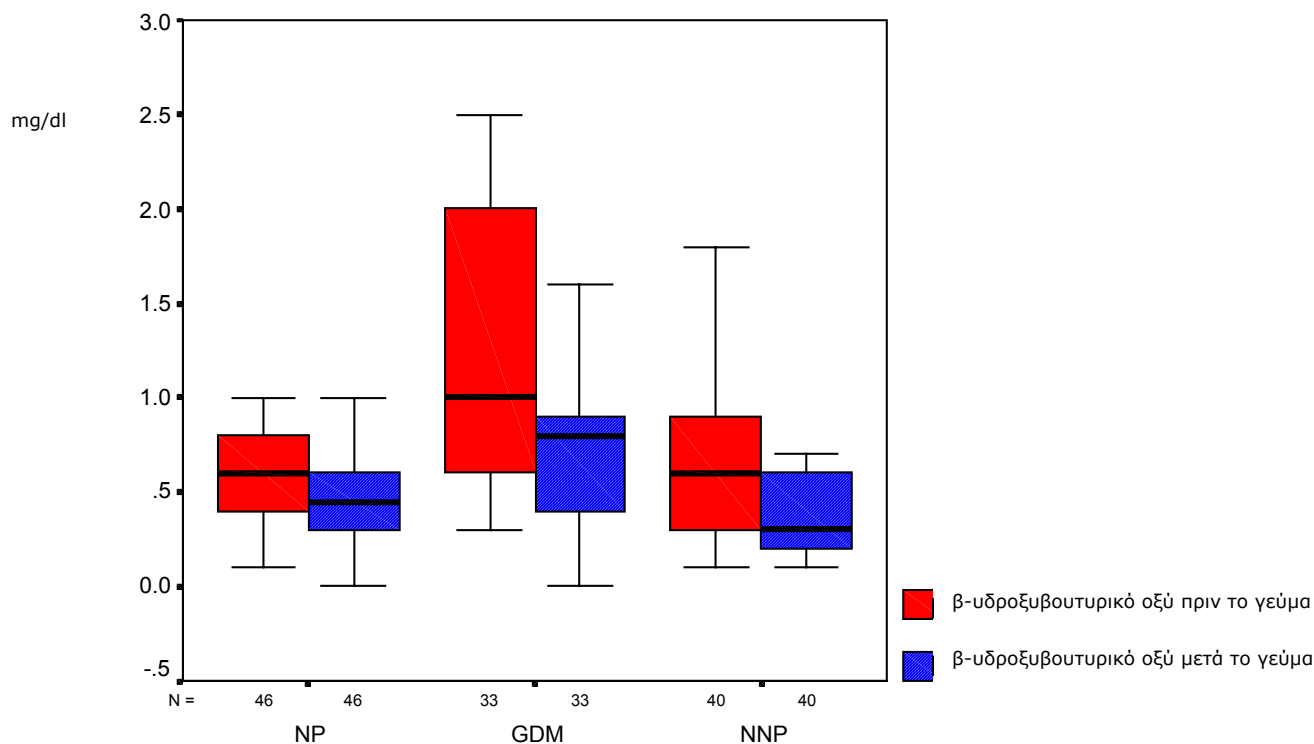
Μία σημαντική άνοδος του γαλακτικού οξέος σημειώθηκε μετά από το γεύμα υδατανθράκων τόσο στην ομάδα NP όσο και στην ομάδα NNP ($P < 0.001$ και $P = 0.007$, αντίστοιχα), ενώ παρόμοια αξιοσημείωτη άνοδος αλλά όχι στατιστικά σημαντική, τεκμηριώθηκε και στην ομάδα GDM ($P = 0.056$) όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.



Σχήμα 4. Μεταβολές των τιμών του γαλακτικού οξέος του ορού πριν και μετά το γεύμα στις τρεις ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης, NNP=φυσιολογικές μη-έγκυες). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης (SD±)

Μεταξύ των τριών ομάδων, τα πιο υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος πριν από το γεύμα τεκμηριώθηκαν από την ομάδα GDM, σε σχέση με τον φυσιολογικό πληθυσμό NNP ($P = 0.036$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5. Αν και καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα νηστείας δεν βρέθηκε είτε μεταξύ NP και NNP ($P = 0.05$) είτε μεταξύ των ομάδων GDM και NP ($P = 0.898$), μετά από το γεύμα υδατανθράκων, η ομάδα του NP ενεφάνισε τα πιο υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος έναντι της ομάδας NNP ($P = 0.004$), ενώ καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε είτε μεταξύ των ομάδων NP και GDM ($P = 0.056$) ή μεταξύ των ομάδων GDM και NNP ($P = 0.313$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.

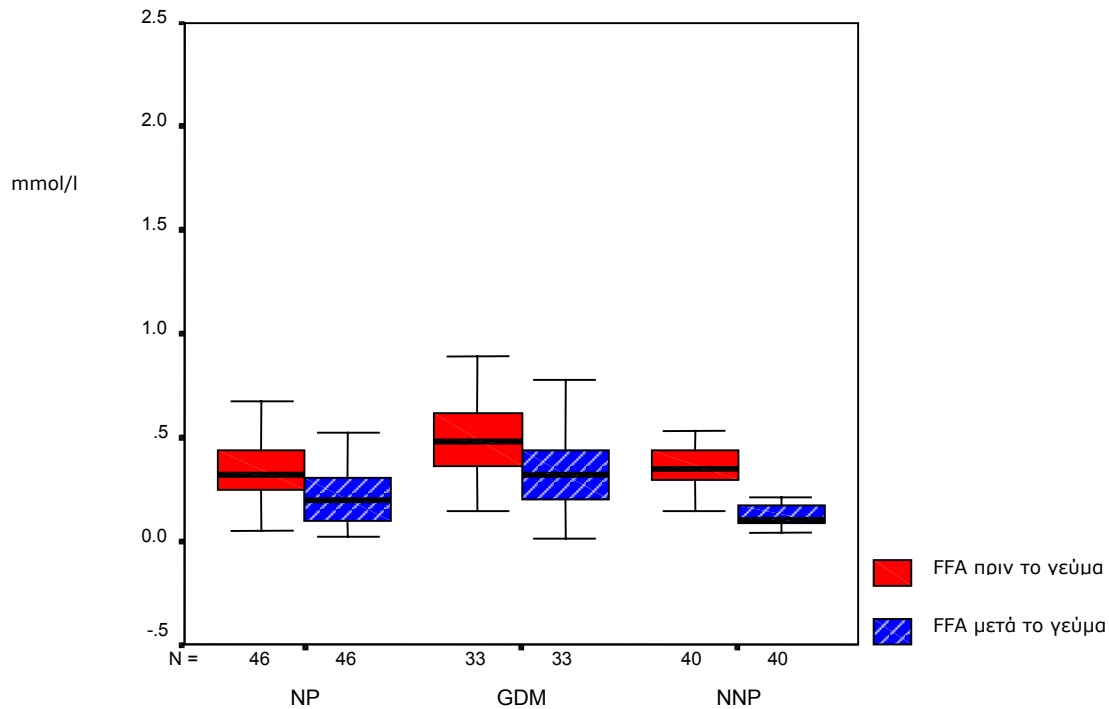
Παρατηρήθηκε επίσης μια σημαντική πτώση στα επίπεδα του β-υδροξυβουτυρικού οξέος, μετά από το γεύμα υδατανθράκων σε σχέση με τις τιμές νηστείας, και στις τρεις ομάδες ($P = 0.003$, $P = 0.006$ και $P = 0.001$, αντίστοιχα) όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.



Σχήμα 5. Μεταβολές των τιμών του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος του ορού πριν και μετά το γεύμα στις τρεις ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης, NNP=φυσιολογικές μη-έγκυες). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης (SD±)

Τα πιο υψηλά προ του γεύματος επίπεδα εντοπίστηκαν στην ομάδα GDM, τα οποία ήταν στατιστικά σημαντικά έναντι εκείνων των ομάδων NP και NNP ($P = 0.011$ και $P < 0.001$, αντίστοιχα), ενώ δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων NP και NNP ($P = 0.063$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5. Όσον αφορά τα επιδόρπια επίπεδα, τα πιο υψηλά επίπεδα παρατηρήθηκαν πάλι στην ομάδα GDM, τα οποία ήταν στατιστικά σημαντικά έναντι εκείνων των ομάδων NP και NNP ($P = 0.026$ και $P = 0.001$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5. Επιπλέον, μια σημαντική διαφορά στα επιδόρπια επίπεδα βρέθηκε μεταξύ των ομάδων NP και NNP ($P = 0.042$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) παρουσίασαν επίσης ένα παρόμοιο πρότυπο πτώσης μετά από το γεύμα υδατανθράκων, το οποίο ήταν στατιστικά σημαντικό και σε στις τρεις ομάδες ($P = 0.002$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, αντίστοιχα) όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.



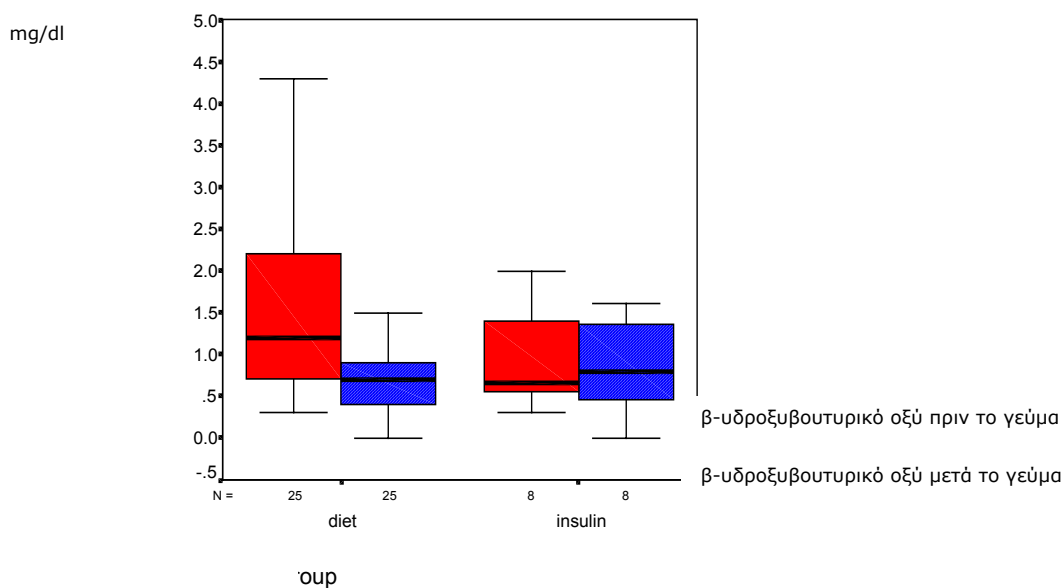
Σχήμα 6. Μεταβολές των τιμών των ελεύθερων λιπαρών οξέων του ορού πριν και μετά το γεύμα στις τρεις ομάδες (NP=φυσιολογικές έγκυες, GDM=σακχαρώδης διαβήτης της κύησης, NNP=φυσιολογικές μη-έγκυες). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD \pm$)

Τα πιο υψηλά προ του γεύματος επίπεδα του FFA, μετρήθηκαν στην ομάδα GDM. Η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική όταν συγκρίθηκε με εκείνων της ομάδας NNP ($P = 0.020$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 5. Αντίθετα, τα επίπεδα μεταξύ των ομάδων NP και GDM και NP και NNP, δεν παρουσίασαν καμία σημαντική διαφορά ($P = 0.130$ και $P = 0.701$, αντίστοιχα). Τα πιο υψηλά επιδόρπια επίπεδα των FFA, προήλθαν πάλι από την ομάδα GDM. Αυτά τα επίπεδα διέφεραν σημαντικά από εκείνων των ομάδων NP ($P = 0.004$) και NNP ($P < 0.001$). Επιπλέον, σημειώθηκε μια σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων NP και NNP ($P = 0.003$).

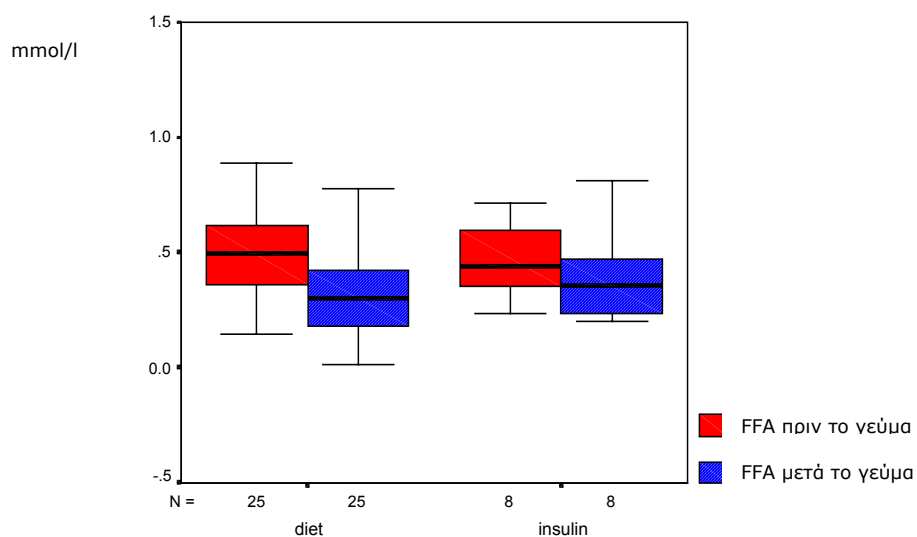
Τέλος, η ανάλυση των βασικών βιοχημικών παραμέτρων πριν και μετά το υδατανθρακούχο γεύμα, επεξετάθη και στις δύο υπο-ομάδες των εγκύων με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης, δηλ. των υπο-ομάδων GDM-D και GDM-I, ρυθμιζόμενες είτε από δίαιτα μόνο, είτε με ινσουλίνη, αντίστοιχα.

Κατά τρόπο ενδιαφέροντα, βρέθηκαν συγκεκριμένες διαφορές σε ορισμένες μεταβολικές παραμέτρους για κάθε μεμονωμένη υπο-ομάδα, πριν και μετά από το γεύμα υδατανθράκων. Συγκεκριμένα, τόσο το β-υδροξυβουτυρικό οξύ όσο και τα επίπεδα FFA στην υπο-ομάδα GDM-D, επέδειξαν μια μείωση μετά από το γεύμα υδατανθράκων, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική ($P = 0.003$ και $P = 0.001$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στα Σχήματα 7 και 8, αντίστοιχα. Αυτή η πτώση δεν

ήταν στατιστικά σημαντική στην υποομάδα GDM-I ($P = 0.632$, και $P = 0.079$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στα Σχήματα 7 και 8, αντίστοιχα.

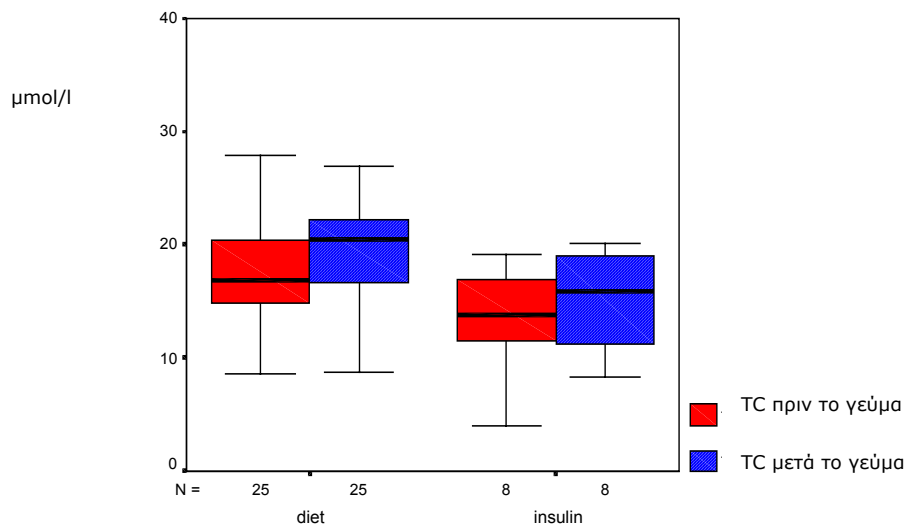


Σχήμα 7. Μεταβολές των τιμών του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο υπο-ομάδες εγκύων με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης, (GDM) διατηρούμενες είτε με δίαιτα (GDM-D), ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD\pm$)

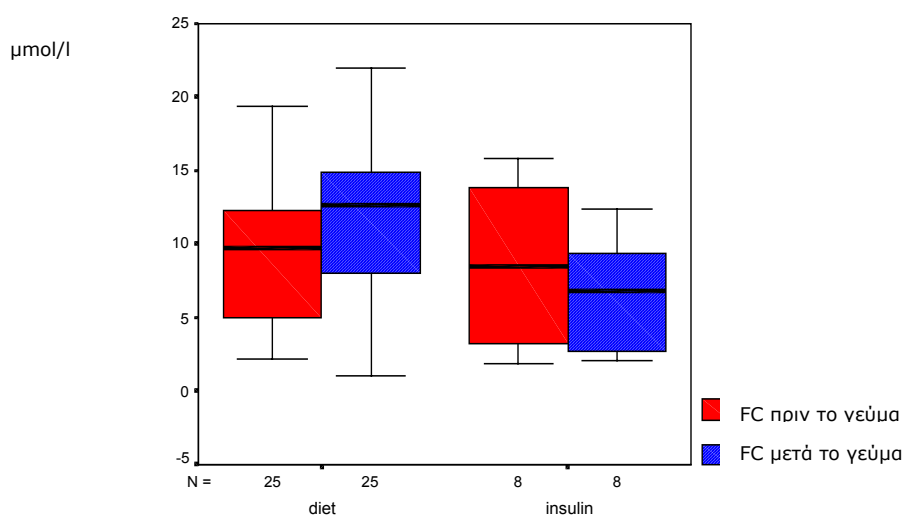


Σχήμα 8. Μεταβολές των τιμών ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA) του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο υπο-ομάδες εγκύων με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης, (GDM) διατηρούμενες είτε με δίαιτα (GDM-D), ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD\pm$)

Επιπλέον, μια παρόμοια στατιστική αύξηση, μετά από το γεύμα υδατανθράκων, σημειώθηκε για την ολική (TC) και την ελεύθερη (FC) καρνιτίνη μόνον στην υποομάδα GDM-D ($P = 0.010$ και $P = 0.002$, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στα Σχήματα 9 και 10, αντίστοιχα.

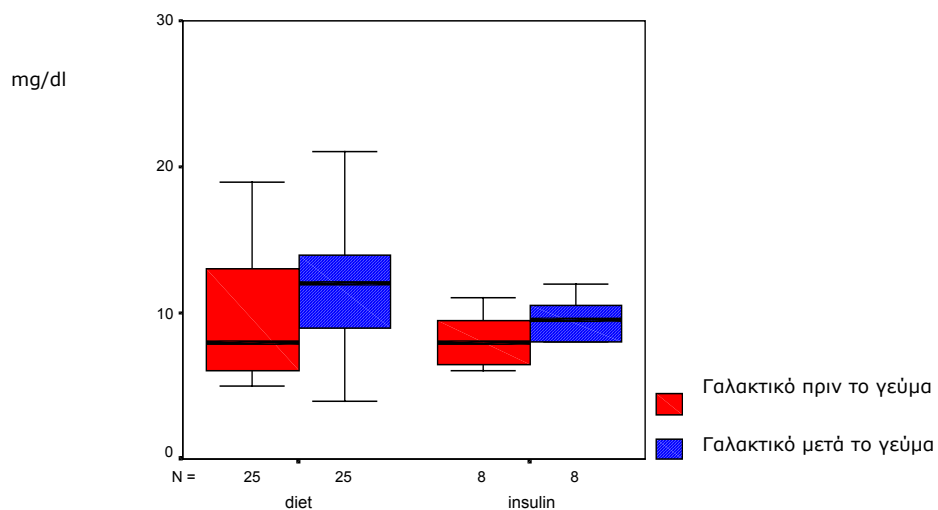


Σχήμα 9. Μεταβολές των τιμών της ολικής καρνιτίνης του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο υποομάδες εγκύων γυναικών με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (GDM), διατηρούμενες είτε με δίαιτα (GDM-D), ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD \pm$)



Σχήμα 10. Μεταβολές των τιμών της ελεύθερης καρνιτίνης του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο υποομάδες εγκύων γυναικών με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (GDM), διατηρούμενες είτε με δίαιτα (GDM-D), ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD \pm$)

Αντίθετα, μια στατιστικά σημαντική άνοδος του γαλακτικού οξέος μετά από το γεύμα υδατανθράκων τεκμηριώθηκε ($P = 0.014$) στην υποομάδα GDM-I, όπως φαίνεται στο Σχήμα 11. Η ισοδύναμη άνοδος γαλακτικού οξέος στην υποομάδα GDM-D δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P = 0.120$).



Σχήμα 11. Μεταβολές των τιμών του γαλακτικού οξέος του ορού πριν και μετά το γεύμα στις δύο υποομάδες εγκύων γυναικών με σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (GDM), διατηρούμενες είτε με δίαιτα (GDM-D), ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I). Οι οριζόντιες γραμμές υποδηλώνουν την μέση τιμή, ενώ οι κάθετες γραμμές το εύρος της σταθερής απόκλισης ($SD \pm$)

Πίνακας 1. Ανθρωπομετρικοί παράμετροι, επίπεδα HbA1c πλάσματος και τιμές P, από τις συγκρίσεις μεταξύ των τριών ομάδων (NP = φυσιολογικές έγκυες, GDM = έγκυες με διαβήτη της κύησης, NNP = φυσιολογικές μη-έγκυες)

	NP n=46	GDM n=33	NNP n=40	P (NP vs. GDM)	P (NP vs. NNP)	P (GDM vs.NNP)
Ηλικία (Έτη)	27.85 ± 4.99	28.06 ± 5.32	27.43 ± 4.41	0.980	0.916	0.846
Ύψος (m)	1.66 ± 0.06	1.64 ± 0.07	1.65 ± 0.06	0.545	0.777	0.917
Βάρος σώματος (kg)	64.02 ± 14.30	73.86 ± 16.61	62.40 ± 10.44	0.006	0.555	0.001
Δείκτης μάζας σώματος, (BMI) (kg/m²)	23.49 ± 5.24	27.47 ± 5.13	23.00 ± 3.32	0.001	0.624	<0.001
Δερματική πτυχή	73.98 ± 8.19	77.01 ± 7.40	70.40 ± 9.48	0.096	0.064	0.002
HbA1c %	4.46 ± 0.33	4.75 ± 0.62	4.57 ± 0.26	0.007	0.094	0.087

vs. = έναντι, n=αριθμός γυναικών

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή με σταθερή απόκλιση. Οι τιμές P για τις προκύπτουσες συγκρίσεις μεταξύ κάθε ζεύγους από τις τρεις ομάδες, υπολογίστηκαν με τη χρησιμοποίηση της δοκιμασίας post-hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls.

Πίνακας 2. Σύγκριση των βιοχημικών παραμέτρων του ορού, σε φάση νηστείας και των τιμών P, από τις συγκρίσεις μεταξύ των τριών ομάδων (NP = φυσιολογικές έγκυες, GDM = έγκυες με διαβήτη της κύησης, NNP = φυσιολογικές μη-έγκυες)

	NP n=46	GDM n=33	NNP n=40	P (NP vs. GDM)	P (NP vs. NNP)	P (GDM vs. NNP)
Ολική καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	16.11 ± 5.79	16.39 ± 5.93	41.60 ± 3.34	0.838	<0.001	<0.001
Ακυλ-καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	10.66 ± 6.21	7.35 ± 4.37	10.20 ± 2.04	0.010	0.661	<0.001
Ελεύθερη καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	5.46 ± 2.91	9.04 ± 4.61	31.40 ± 1.94	<0.001	<0.001	<0.001
Λόγος AC/FC	3.45 ± 4.68	1.21 ± 1.24	0.32 ± 0.06	0.009	<0.001	<0.001
Γαλακτικό οξύ νηστείας (mg/dl)	9.30 ± 4.19	9.42 ± 3.90	7.68 ± 3.11	0.898	0.05	0.036
β-υδροξυβουτυρικό οξύ νηστείας (mg/dl)	0.88 ± 0.87	1.55 ± 1.40	0.60 ± 0.38	0.011	0.063	<0.001
Ελεύθερα λιπαρά οξέα νηστείας (mmol/l)	0.40 ± 0.33	0.51 ± 0.32	0.38 ± 0.16	0.130	0.701	0.020

vs. = έναντι, n=αριθμός γυναικών

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή με σταθερή απόκλιση. Οι τιμές P για τις προκύπτουσες συγκρίσεις μεταξύ κάθε ζεύγους από τις τρεις ομάδες, υπολογίσθηκαν με τη χρησιμοποίηση της δοκιμασίας post-hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls.

Πίνακας 3. Ανθρωπομετρικοί παράμετροι, επίπεδα HbA1c πλάσματος και τιμές P, μεταξύ των εγκύων γυναικών των δύο υπο-ομάδων του διαβήτη της κύησης (GDM), διατηρούμενες είτε με διαίτα (GDM-D) ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I)

	GDM-D n=25	GDM-I n=8	P (GDM-D vs. GDM-I)
Ηλικία (Ετη)	27.84 ± 5.14	28.75 ± 6.18	0.883
Ύψος (m)	1.64 ± 0.07	1.66 ± 0.6	0.50
Σωματικό βάρος (kg)	72.86 ± 17.99	77.00 ± 11.66	0.355
Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) (kg/m²)	27.32 ± 5.56	27.92 ± 3.72	0.629
Δερματική πτυχή	75.17 ± 7.22	82.74 ± 4.65	0.009
HbA1c	4.67 ± 0.47	5.01 ± 0.95	0.720

vs. = έναντι, n=αριθμός γυναικών

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή με σταθερή απόκλιση. Οι τιμές P για τις προκύπτουσες συγκρίσεις μεταξύ κάθε ζεύγους από τις δύο ομάδες, υπολογίσθηκαν με τη χρησιμοποίηση δύο στατιστικών δοκιμασιών μιας παραμετρικής ανεξαρτήτων δειγμάτων (Independent-Samples t-test) και μιας μη παραμετρικής δοκιμασίας. (Mann Whitney U-test)

Πίνακας 4. Σύγκριση των βιοχημικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της νηστείας και τιμές *P*, μεταξύ των εγκύων γυναικών των δύο υπο-ομάδων του διαβήτη της κύησης (GDM), διατηρούμενες είτε με διαίτα (GDM-D) ή θεραπευόμενες με ινσουλίνη (GDM-I).

	GDM-D n=25	GDM-I n=8	<i>P</i> GDM-D vs. GDM-I
Ολική καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	17.04 ± 5.72	14.36 ± 6.50	0.179
Ακυλ-καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	7.86 ± 4.25	5.74 ± 4.66	0.334
Ελεύθερη καρνιτίνη νηστείας (μmol/l)	9.17 ± 4.31	8.62 ± 5.74	0.900
Λόγος AC/FC	1.13 ± 0.84	1.47 ± 2.12	0.425
β-υδροξυβουτυρικό οξύ νηστείας (mg/dl)	1.65 ± 1.41	1.25 ± 1.41	0.222
Γαλακτικό οξύ νηστείας (mg/dl)	9.84 ± 4.31	8.13 ± 1.81	0.568
Ελεύθερα λιπαρά οξέα νηστείας FFA (mmol/l)	0.52 ± 0.34	0.51 ± 0.26	0.867

vs. = έναντι, n=αριθμός γυναικών

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή με σταθερή απόκλιση. Οι τιμές *P* για τις προκύπτουσες συγκρίσεις μεταξύ κάθε ζεύγους από τις δύο ομάδες, υπολογίσθηκαν με τη χρησιμοποίηση της δοκιμασίας post-hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls.

Πίνακας 5. Σύγκριση των βιοχημικών παραμέτρων και των τιμών P πριν και μετά από το υδατανθρακούχο έγκυες, GDM = έγκυες με διαβήτη της κύησης, NNP = φυσιολογικές μη έγκυες)

	NP n=46	GDM n=33	NNP n=40
Ολική καρνιτίνη νηστείας μmol/l	16.11 ± 5.79	16.39 ± 5.93	41.60 ± 3.34
Ακυλ-καρνιτίνη νηστείας μmol/l	10.66 ± 6.21	7.35 ± 4.37	10.20 ± 2.04
Ελεύθερη καρνιτίνη νηστείας μmol/l	5.46 ± 2.91	9.04 ± 4.61	31.40 ± 1.94
Λόγος AC/FC	3.45 ± 4.68	1.21 ± 1.24	0.32 ± 0.06
Γαλακτικό οξύ νηστείας mg/dl	9.30 ± 4.19	9.42 ± 3.90	7.68 ± 3.11
β-υδροξυ-βουτυρικό οξύ νηστείας mg/dl	0.88 ± 0.87	1.55 ± 1.40	0.60 ± 0.38
Ελεύθερα λιπαρά οξέα νηστείας mmol/l	0.40 ± 0.33	0.51 ± 0.32	0.38 ± 0.16
Μεταγευματική ολική καρνιτίνη μmol/l	17.45 ± 8.79	18.75 ± 5.19	ΔΜ
Μεταγευματική ακυλ-καρνιτίνη μmol/l	10.69 ± 9.42	7.66 ± 5.93	ΔΜ
Μεταγευματική ελεύθερη καρνιτίνη μmol/l	6.51 ± 4.26	11.09 ± 5.71	ΔΜ
Μεταγευματικός λόγος AC/FC	3.85 ± 8.78	1.71 ± 3.69	0.22 ± 0.04
Μεταγευματικό γαλακτικό οξύ mg/dl	13.65 ± 6.27	11.21 ± 4.25	10.18 ± 4.41
Μεταγευματικό β-υδροξυβουτυρικό οξύ mg/dl	0.53 ± 0.43	0.89 ± 0.97	0.37 ± 0.20
Μεταγευματικά ελεύθερα λιπαρά οξέα mmol/l	0.22 ± 0.17	0.34 ± 0.19	0.13 ± 0.07

vs. = έναντι, n= αριθμός γυναικών
 ΔΜ = Δεν Μελετήθηκε

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή με σταθερή απόκλιση. Οι τιμές P για τις προκύπτουσες συγκρίσεις μεταξύ κάθε ζεύγους από τις τρεις ομάδες, υπολογίσθηκαν με τη χρησιμοποίηση της δοκιμασίας post-hoc πολλαπλών συγκρίσεων Student-Newman-Keuls.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πρώτη παράμετρος που μελετήσαμε στην παρούσα Διατριβή ήταν η καρνιτίνη. Ως γνωστό, τα επίπεδα της καρνιτίνης καθορίζονται από την ισορροπία τεσσάρων συνισταμένων, δηλαδή από την ενδογενή σύνθεση της η οποία χαρακτηρίζεται από ένα μέτριο ρυθμό, από την απορρόφηση της από το έντερο, από παράγοντες που καθορίζουν και διατηρούν μια διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ των ενδοκυττάριων και εξωκυττάριων δεξαμενών της καρνιτίνης και τέλος από την αποβολή και την επαναρρόφηση της από τούς νεφρούς. (82,84).

Οι μεταβολές της καρνιτίνης και των κλασμάτων της μελετήθηκαν σε δύο φάσεις. Η πρώτη φάση ήταν σε κατάσταση νηστείας. Το πρώτο στάδιο της ολικής νηστείας χαρακτηρίζεται από προϊούσα υπερκετοναιμία, η οποία οφείλεται πρωτίστως στην αυξημένη παραγωγή κετονικών σωμάτων. Ένας λόγος για την αύξηση του αριθμού της κετογένεσης είναι η κινητοποίηση των FFA μέσω λιπόλυσης, που παρέχει προς καύση περισσότερα FFA στο ήπαρ μέσω της β-οξειδωσης. (291). Η δεύτερη φάση του πειράματος ήταν η φάση της επανασίτισης, μετά τη λήψη υδατανθρακούχου γεύματος. Στη φάση αυτή, αυξάνονται τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης στο πλάσμα, αναστέλλεται η λιπόλυση και μειώνεται η κετονογένεση όπως αναπτύχθηκαν στο Γενικό Μέρος, Κεφάλαιο 1. Οι μεταβολές της καρνιτίνης και των κλασμάτων της, μετρήθηκαν στις δύο φάσεις. Στην ομάδα των φυσιολογικών γυναικών εκτός εγκυμοσύνης, δεν μετρήθηκαν οι τιμές της καρνιτίνης και των κλασμάτων της μετά το γεύμα, γιατί ήδη έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές και καλά τεκμηριωμένες μελέτες πάνω στο θέμα αυτό. (82,84)

Οι έγκυες γυναίκες της μελέτης μας, τόσο οι φυσιολογικές όσο και αυτές που έπασχαν από διαβήτη της κύησης (gestational diabetes, GD), παρουσίασαν χαμηλά επίπεδα ολικής καρνιτίνης κατά τη νηστεία σε σχέση με τον υγιή μη έγκυο πληθυσμό ($P < 0.001$ και $P < 0.001$ αντίστοιχα).

Αυτό το εύρημα είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία, που υποστηρίζουν ότι η ολική καρνιτίνη μειώνεται κατά τη διάρκεια της κύησης. (84,140,144). Ενδιαφέρον είναι, ότι οι δύο ομάδες εγκύων NP και GDM, δεν παρουσίαζαν μεταξύ τους, στατιστικά σημαντική

διαφορά στα επίπεδα ολικής καρνιτίνης νηστείας ($P = 0.838$). Τα επίπεδα ολικής καρνιτίνης που παρατηρήθηκαν στις εν λόγω ομάδες, φτάνουν στα επίπεδα ολικής καρνιτίνης ασθενών που πάσχουν από έλλειψη καρνιτίνης, η οποία όπως τονίσαμε και στην εισαγωγή (Γενικό Μέρος, Κεφάλαιο 3.6) μπορεί να δώσει ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων, από απλή μυϊκή αδυναμία έως μεταβολική εγκεφαλοπάθεια. Εντούτοις, καμία από τις έγκυες γυναίκες ακόμη και αυτές που εμφάνισαν τα χαμηλότερα επίπεδα, δεν παρουσίασε κλινική σημειολογία.

Όσον αφορά τη φάση της επανασίτισης, μετά τη λήψη της τροφής, τα φυσιολογικά άτομα εκτός εγκυμοσύνης και κάτω από φυσιολογικές διαιτητικές συνθήκες, παρουσιάζουν μια μικρή αλλά όχι σταθερή αύξηση της καρνιτίνης (λιγότερο από 10%). (82,84) Συνήθως, η αύξηση αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική. Η καρνιτίνη απορροφάται βραδέως στο έντερο, αμέσως μετά τη λήψη της τροφής, περίπου μέσα σε 3-4 h και η συμμετοχή και κατανάλωσή της στις μεταβολικές οδούς δεν επιτρέπουν εμφανή μεταγευματική άνοδο των τιμών της στο πλάσμα. Εξ' άλλου, η βιοσύνθεση της καρνιτίνης, δεν αυξάνεται μετά το γεύμα. Μόνο η διαιτητική πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων λυσίνης, τριμεθυλλυσίνης ή βουτυροβεταΐνης των προβαθμίδων δηλαδή της καρνιτίνης, θα μπορούσαν να αυξήσουν τη βιοσύνθεση της καρνιτίνης, αλλά οι συνηθισμένες δίαιτες δεν περιέχουν τις συγκεκριμένες πρόδρομες ουσίες σε τόσο μεγάλες ποσότητες. (82,84).

Ανάλογα φαινόμενα φαίνεται να ισχύουν και σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Όπως αποδεικνύεται και στη μελέτη μας, τα επίπεδα ολικής καρνιτίνης μετά το γεύμα δεν παρουσίασαν μεγάλες μεταβολές τόσο στις φυσιολογικές έγκυες όσο και στις έγκυες που έπασχαν από GD. Εντούτοις, η αύξηση που σημειώθηκε μεταγευματικά ήταν στατιστικά μη σημαντική στις φυσιολογικές έγκυες ($P = 0.408$) και στατιστικά σημαντική στην GDM ομάδα ($P = 0.012$). Παρόλα αυτά, και στις δύο ομάδες, η αύξηση δεν ξεπέρασε το 10% των αρχικών επιπέδων. Επιπρόσθετα, τα μεταγευματικά επίπεδα ολικής καρνιτίνης, δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων των εγκύων γυναικών ($P = 0.451$). Τα ευρήματα αυτά αποδεικνύουν, ότι ο διαβήτης της κύησης δεν ασκεί επιπλέον επιβαρυντική επίδραση στα ολικά επίπεδα καρνιτίνης τόσο σε κατάσταση νηστείας, όσο και μετά τη λήψη τροφής, κατά τη φάση της επανασίτισης.

Είναι ενδιαφέρον, ότι στη φάση της νηστείας η ομάδα GDM παρουσίασε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις FC και μικρότερες AC σε σχέση με την ομάδα NP ($P < 0.001$ και $P = 0.010$ αντίστοιχα). Παράλληλα η NNP ομάδα εμφάνισε υψηλότερα επίπεδα FC νηστείας σε σχέση με τις ομάδες NP και GDM ($P < 0.001$ και στις δύο περιπτώσεις) ενώ το κλάσμα της AC κυμαινόταν στα ίδια επίπεδα με την ομάδα NP ($P = 0.661$) και ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με την ομάδα GDM ($P < 0.001$).

Μελέτες σε υγιή πληθυσμό εκτός κύησης, έχουν δείξει ότι τόσο σε λεπτές όσο και σε παχύσαρκες γυναίκες, η οξεία υποϊνσουλιναίμια προκαλεί αύξηση FFA και κετονικών σωμάτων, μεγάλη αύξηση της AC, και κυρίως των κλασμάτων που συνδέονται με μακρές αλυσούς των λιπαρών οξέων, και μείωση της FC. Στη συνέχεια, καθώς αυξάνεται το γλυκαγόνο, υποστρέφει η υπερκετοναιμία και παύει να αυξάνεται η AC, ενώ η μείωση της FC επιτείνεται. Το γλυκαγόνο επάγει την έκκριση ινσουλίνης με αποτέλεσμα να ελαττώνονται τα FFA και τα κετονοσώματα και να έχουμε απότομη πτώση της FC. Από αυτά προκύπτει ότι:(292)

1. Η έλλειψη ινσουλίνης κατά τη νηστεία, οδηγεί σε αύξηση της AC του πλάσματος
2. Η παράλληλη μείωση στο πλάσμα της FC οφείλεται στην έλλειψη ινσουλίνης και στην αύξηση του γλυκαγόνου
3. Η αντίσταση των παχύσαρκων ατόμων στην κέτωση δεν φαίνεται να οφείλεται σε έλλειψη καρνιτίνης ή σε διαταραχές της CAT.

Σε ανάλογη μελέτη, οι Horpel και συν., αναφέρουν ότι η AC αυξάνεται και η FC μειώνεται στο πλάσμα σε καταστάσεις κέτωσης το ίδιο γρήγορα και στον ίδιο βαθμό τόσο σε παχύσαρκα όσο και σε λεπτά άτομα. Η καθυστερημένη κέτωση στα παχύσαρκα άτομα, είναι πιθανότερο να οφείλεται στην αρχική υπερϊνσουλιναίμια και τη βραδύτερη μείωση της παραγωγής ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος σε κατάσταση νηστείας και όχι στο σύστημα της καρνιτίνης. (293)

Επίσης είναι γνωστό ότι στη διάρκεια της κύησης, η νηστεία επάγει μία ταχεία και άμεση αύξηση της οξειδωσης των FFA με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα κετονικά σωμάτια και η AC. Αντιθέτως, σε διαβητικές έγκυες που τους χορηγείται ινσουλίνη, παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα AC γιατί η ινσουλίνη αναστέλλει τη λιπόλυση και κατ' επέκταση την κετονογένεση. Στη μελέτη μας παρατηρήσαμε ότι η ομάδα NP έχει την ίδια συμπεριφορά με την ομάδα NNP. Τα χαμηλότερα επίπεδα της FC νηστείας στις φυσιολογικές έγκυες, σε σχέση με την NNP ομάδα, δεν οφείλονται μόνο στα αυξημένα επίπεδα της AC που όπως αναφέραμε αυξάνονται στη νηστεία, αλλά και στο ότι η συνολική συγκέντρωση καρνιτίνης στο πλάσμα είναι μειωμένη στη διάρκεια της κύησης. Η AC δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών ομάδων ($P = 0.661$) γιατί όπως περιγράψαμε και στην εισαγωγή (Γενικό Μέρος, Κεφάλαιο 3.7) το κλάσμα της AC δεν επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό κατά τη διάρκεια της κύησης. Από την άλλη πλευρά, η απάντηση των εγκύων γυναικών στην νηστεία αλλά και η ήδη εγκαθιδρυμένη τάση του μεταβολισμού προς την οξειδωση των λιπών σε αυτό το τρίμηνο, έχει σαν αποτέλεσμα την ταχεία κινητοποίηση και αυξημένη οξειδωση των FFA που τελικά οδηγεί σε αύξηση της AC. Αυτό άλλωστε επιβεβαιώνεται και από τα επίπεδα του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος κατά τη νηστεία. Όπως φαίνεται από τη σύγκριση των επιπέδων τους, υπάρχει διαφορά μεταξύ των ομάδων NP και NNP αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($P = 0.063$), με λίγο υψηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται στην ομάδα NP, λόγω της εκτροπής του μεταβολισμού κατά την κύηση.

Είναι γνωστό ότι, η διαφόρου βαθμού κέτωση που συμβαίνει στη διάρκεια της κύησης, είναι πιο έκδηλη σε έγκυες με συνυπάρχοντα διαβήτη οποιουδήποτε τύπου (δηλαδή είτε τύπου 1 ή GD). Στη μελέτη μας, στη φάση της νηστείας, παρόλο που έχουμε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος στο πλάσμα των γυναικών με GD (που ουσιαστικά αποτελεί και την ομάδα που εμφανίζει πιο έντονη κέτωση) σε σχέση με τις ομάδες NP και NNP ($P = 0.011$ και $P < 0.001$ αντίστοιχα), εντούτοις συνυπάρχουν χαμηλότερα επίπεδα AC και υψηλότερα επίπεδα FC σε σχέση με τις φυσιολογικές έγκυες ($P = 0.010$ και $P < 0.001$, αντίστοιχα).

Επιπρόσθετα, ενώ στην ομάδα GD έχουμε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος σε σχέση με την ομάδα NP ($P = 0.011$), δεν παρουσιάζεται παράλληλα αντίστοιχη σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων FFA ($P = 0.130$).

Εάν θεωρήσουμε ότι η αύξηση της κετογένεσης επιτυγχάνεται μέσω αύξησης της δραστηριότητας της CPT I στις γυναίκες με GD, τότε θα έπρεπε να περιμένουμε παράλληλη αύξηση της AC, γεγονός το οποίο όμως δεν συμβαίνει. Επομένως, οδηγούμεθα στο συμπέρασμα, ότι στις έγκυες γυναίκες με GD, ο μηχανισμός της κετογένεσης ενισχύεται, μέσω άλλων βιοχημικών οδών, πέρα από τη β-οξειδωση.

Πιο πιθανή εκδοχή για την ερμηνεία του φαινομένου αυτού, φαίνεται να είναι μια δυνητική αύξηση στον ρυθμό της κετογένεσης κατά τη διάρκεια της νηστείας, με υπόστρωμα το οξαλοξικό ή το γαλακτικό οξύ (κύκλος του Cori). Πιο συγκεκριμένα, όταν τα FFA είναι σε αφθονία στην κυκλοφορία, προσλαμβάνονται από τα μυϊκά κύτταρα και χρησιμοποιούνται ως πηγή ενέργειας αντί της γλυκόζης που δεν επαρκεί. Τα FFA όμως προσλαμβάνονται και από τα ηπατικά κύτταρα, στα μιτοχόνδρια των οποίων υφίστανται β-οξειδωση με αποτέλεσμα να παράγεται ακετυλ-CoA. Η αυξημένη παραγωγή ακετυλ-CoA στα μιτοχόνδρια, ανατρέπει την υπεροχή του πυροσταφυλικού οξέος στο κλάσμα πυροσταφυλικό οξύ/ακετυλ-CoA, μια υπεροχή που διατηρείται όταν, παρουσία ινσουλίνης, λειτουργεί στα ηπατικά κύτταρα σωστά η γλυκολυτική οδός. Η διαταραχή του κλάσματος,

εμποδίζει την μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε ακετυλ-CoA, ενώ αντίθετα προάγει τη μετατροπή του σε οξαλοξικό οξύ. Το οξαλοξικό οξύ, παρουσία $\text{NADH} + \text{H}^+$ το οποίο παράγεται σε αφθονία λόγω της β -οξειδωσης των FFA, ανάγεται ταχύτατα σε μηλικό οξύ. Η ταχεία όμως απώλεια του οξαλοξικού οξέος, δεν επιτρέπει τη σύνδεση του με το ακετυλ-CoA που θα οδηγούσε το ακετυλ-CoA προς οξειδωση στον κύκλο του κιτρικού οξέος (κύκλος του Krebs). Έτσι, το ακετυλ-CoA που υπάρχει σε περίσσεια συνδέεται με το ακετοακετυλ-CoA που είναι πρόδρομο του ακετυλ-CoA κατά τη β -οξειδωση των FFA. Στη συνέχεια αποβάλλεται το CoA, και το ακετυλ-CoA, και σχηματίζεται το ακετοοξικό οξύ. Περαιτέρω, το ακετοοξικό οξύ, αποβάλλει το CO_2 και μετατρέπεται σε ακετόνη, ή παρουσία $\text{NADH} + \text{H}^+$ ανάγεται σε β -υδροξυ-βουτυρικό οξύ.

Στις έγκυες λοιπόν με GD, μια επιπλέον πηγή κετονοσωμάτων εκτός από τη β -οξειδωση, είναι και τα προϊόντα από την καύση γλυκόζης, που προέρχεται από τη νεογλυκογένεση στο ήπαρ. Έτσι, ενώ η παραγωγή κετονοσωμάτων μέσω αυξημένου ρυθμού β -οξειδωσης οδηγεί σε παράλληλη αύξηση της AC, η παραγωγή κετονοσωμάτων μέσω προϊόντων γλυκόλυσης, δεν επηρεάζει άμεσα τα κλάσματα της καρνιτίνης. Αυτό εξηγεί ενδεχομένως τον λόγο που ο GD δεν προκαλεί περαιτέρω αύξηση στο κλάσμα AC κατά την διάρκεια της νηστείας.

Μετά τη λήψη της τροφής, το κλάσμα της AC τόσο στη ομάδα NP όσο και στην ομάδα GDM δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά ($P = 0.986$ και $P = 0.779$ αντίστοιχα). Το κλάσμα της FC δεν μεταβλήθηκε σημαντικά στην ομάδα NP ($P = 0.113$) ενώ παρουσίασε μια αύξηση στατιστικά σημαντική στην ομάδα GDM ($P = 0.040$). Αυτή η μικρή αύξηση οδηγεί ουσιαστικά στην αύξηση του ολικού κλάσματος καρνιτίνης που αναφέρθηκε ανωτέρω και κυμαίνεται στα πλαίσια του φυσιολογικού. Οι μεταγευματικές τιμές του β -υδροξυ-βουτυρικού οξέος παρουσιάζουν την αναμενόμενη πτώση σε όλες της ομάδες, όπως επίσης και τα FFA. Οι εκδηλώσεις αυτές είναι αναμενόμενες, και οφείλονται στην έκκριση ινσουλίνης μετά την πρόσληψη τροφής. Όπως είναι γνωστό, η ινσουλίνη αναστέλλει έμμεσα την αύξηση της AC, διότι αναστέλλει την λιπόλυση και την κετογένεση, ενώ παράλληλα προκαλεί

πτώση των FFA και του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος. Η αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη που παρουσιάζουν οι έγκυες, αντικατοπτρίζεται τόσο στα επίπεδα του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος όσο και στα επίπεδα των FFA.

Τόσο πριν όσο και μετά το γεύμα, υψηλότερα επίπεδα β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος παρουσιάζουν κατά σειρά οι ομάδες GDM, NP και NNP. Για τα FFA παρατηρούμε ότι ενώ στη νηστεία δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ NP και GDM, μεταγευματικά τα FFA παραμένουν υψηλότερα στην ομάδα GDM ($P = 0.004$), υποδηλώνοντας την αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη που είναι μεγαλύτερη σε έγκυες ασθενείς με GD.

Στη μελέτη του Horpel και συν. για τις μεταβολές της καρνιτίνης σε παχύσαρκα και φυσιολογικού βάρους άτομα, τόσο σε κατάσταση νηστείας, όσο και μετά από γεύμα, απεδείχθη ότι η χορήγηση τροφής αύξησε τα επίπεδα ινσουλίνης και μείωσε την AC, το β-υδροξυβουτυρικό οξύ και τα FFA. (291).

Σχετικά με τις τιμές του γαλακτικού οξέος, προγευματικά δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διάφορα μεταξύ των δύο ομάδων των εγκύων γυναικών ($P = 0.898$), ενώ παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος στην GDM ομάδα σε σχέση με την NNP ($P = 0.036$) και αξιοσημείωτη αλλά όχι στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NP και NNP ($P \sim 0.05$).

Το γαλακτικό οξύ παράγεται μόνο από το πυροσταφυλικό οξύ μέσω μιας αμφίδρομης αντίδρασης που καταλύεται από την γαλακτική αφυδρογονάση.

Τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος ρυθμίζονται από την παραγωγή και την κατανάλωση του. Όλοι οι ιστοί στο σώμα έχουν την ικανότητα να παράγουν γαλακτικό οξύ με αναερόβια γλυκόλυση αλλά όχι σε μεγάλες ποσότητες, δεδομένου ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες ο οργανισμός προτιμά την πλήρη οξειδωση του πυροσταφυλικού οξέος που θα αποφέρει μεγαλύτερες ποσότητες ATP. Οι υψηλές συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος, αντικατοπτρίζουν υψηλές συγκεντρώσεις πυροσταφυλικού οξέος ή /και NADH στο κυτταρόπλασμα. Στις ομάδες των εγκύων της παρούσας Διατριβής, δικαιολογημένα παρατηρούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος στο πλάσμα σε σχέση με την ομάδα NNP. Κατά τη διάρκεια της κύησης και ειδικά στο τρίτο τρίμηνο που αφορά την παρούσα

Διατριβή, η αυξημένη οξειδωση των FFA καθώς και η ταχεία ανακύκλωση γλυκόζης τόσο από την μητέρα όσο και από την εμβρυοπλακουντιακή μονάδα, έχουν σαν αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή πυροσταφυλικού οξέος και NADH καθώς και ακετυλ-CoA που οδηγούν σε αναστολή της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και αύξηση του γαλακτικού οξέος (294). Επιπλέον, ο πλακούς παράγει αυξημένα ποσά γαλακτικού οξέος κατά την κύηση τα οποία αυξάνονται ανάλογα με την ηλικία κύησης (295). Η ενεργειακή κάλυψη του πλακούντος βασίζεται κυρίως στη γλυκόζη, την οποία αποκομίζει από τη μητέρα και κατόπιν την μοιράζεται με το έμβρυο, ανάλογα με τις ενεργειακές απαιτήσεις **του εμβρύου** (295).

Η περιεκτικότητα ενός φυσιολογικού πλακούντος σε γλυκογόνο, μειώνεται με την πρόοδο της κύησης (296). Κατά τη διάρκεια της κύησης, σε γυναίκες που πάσχουν από διαβήτη καθώς και σε μοντέλο διαβητικών ποντικών μετά από χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης, ανιχνεύθηκαν 2-10 φορές υψηλότερα επίπεδα γλυκογόνου στον πλακούντα. Το εύρημα αυτό αφορούσε τόσο το διαβήτη τύπου 1 όσο και το διαβήτη της κύησης και η συσσώρευση του γλυκογόνου στον πλακούντα ήταν ανεξάρτητη από τις συγκεντρώσεις του σε άλλα όργανα, όπως το μητρικό ήπαρ στο οποίο το γλυκογόνο εξαφανίζεται. (296). Επιπλέον, τα ενζυμικά συστήματα του πλακούντος που αφορούν την ανακύκλωση της γλυκόζης, δεν φαίνεται να επηρεάζονται από την ινσουλίνη. Η βιοδιαθεσιμότητα του γλυκογόνου του πλακούντος ως πηγή ενέργειας για τον πλακούντα έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέος *in vivo* και *in vitro* σε διαβητικά και μη διαβητικά ποντίκια. (296) Έτσι λοιπόν εξηγούνται τα ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα γαλακτικού οξέος νηστείας στην εργασία μας, αφού οι διαβητικές έγκυες θα ανεμένετο να έχουν αυξημένα επίπεδα γλυκογόνου στον πλακούντα τους.

Μετά το γεύμα, παρατηρήθηκε αύξηση του γαλακτικού οξέος μέσα όμως στα φυσιολογικά όρια (≤ 15 mg/dl). Παρατηρήθηκε επίσης μικρή αλλά όχι στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων GD και NP ($P = 0.056$). Πιθανώς, αυτή η διαφορά να οφείλεται στην αύξηση της αντίστασης της ινσουλίνης που εμφανίζεται στις δύο ομάδες των εγκύων. Λόγω του ότι

όμως η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι πιο έντονη στις έγκυες με GD αναφύεται το ερώτημα γιατί δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων των εγκύων. Αυτό ενδεχομένως μπορεί να οφείλεται στο ότι οι γυναίκες με GD παρουσιάζουν αυξημένη γλυκόλυση.

ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Η έλλειψη καρνιτίνης απεδείχθη ότι αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό τόσο στην ομάδα των φυσιολογικών εγκύων όσο και στις έγκυες που ανέπτυξαν GD. Σε καμία γυναίκα όμως από τις δύο ομάδες των εγκύων δεν παρουσιάσθηκαν κλινικά συμπτώματα. Παρόλα αυτά, δεν μπορεί να γενικευθεί η διαπίστωση ότι η έλλειψη καρνιτίνης στην κύηση δεν προκαλεί προβλήματα. Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η κύηση μπορεί να επιπλακεί, ιδίως εάν η έγκυος πάσχει ταυτόχρονα και από μεταβολικό νόσημα. Επίσης, μερικοί προτείνουν τη χορήγηση L-καρνιτίνης εξωγενώς, σε κυήσεις υψηλού κινδύνου. Η χορήγηση όμως καρνιτίνης εξωγενώς, δυνητικά δημιουργεί ποικίλες επιδράσεις στον μεταβολισμό, οι οποίες εξαρτώνται από το μεταβολική κατάσταση (status) του ασθενούς. Έτσι συμπληρώματα καρνιτίνης άλλες φορές είναι αποτελεσματικά και ισορροπούν το μεταβολισμό των FA και την κετογένεση σε ασθενείς με μυϊκή κυρίως έλλειψη της καρνιτίνης, ενώ άλλες μελέτες δείχνουν ότι η χορήγηση καρνιτίνης μπορεί να προκαλέσει κέτωση, λήθαργο, ευερεθιστότητα και αλλαγές προσωπικότητας. Η συνδρομή αυτή αναστρέφεται με τη διακοπή της χορήγησης καρνιτίνης. (84) Ο Yeh (297) προσπάθησε να δώσει εξήγηση στο φαινόμενο της εκ διαμέτρου αντίθετης απάντησης μετά τη χορήγηση καρνιτίνης. Έτσι σε πειράματα σε ποντίκια βρέθηκε ότι η καρνιτίνη δεν επηρεάζει την χρήση των κετονικών σωμάτων από τους περιφερικούς ιστούς και ότι κάτω από φυσιολογικές συνθήκες μπορεί να αναστείλει την κετογένεση στο ήπαρ. Μελέτες σε απομονωμένα ηπατοκύτταρα δείχνουν επίσης ότι υψηλές συγκεντρώσεις καρνιτίνης στα κύτταρα αυτά αναστέλλουν την παραγωγή κετονικών σωμάτων, ενώ συμβαίνει το αντίστροφο σε μικρές συγκεντρώσεις. Συμπεραίνουμε λοιπόν, ότι η καρνιτίνη μπορεί να έχει δράση είτε κετογόνο είτε αντικετογόνο αναλόγως των συγκεντρώσεων της και της μεταβολικής κατάστασης (status) του ατόμου. Επομένως, σε ασθενείς που ευρίσκονται υπό θεραπεία με καρνιτίνη, θα πρέπει να παρακολουθούνται συστηματικά τα επίπεδα κετονών στο πλάσμα, για την αποφυγή ανεπιθύμητων αντιδράσεων.

Πριν δοκιμασθεί η χορήγηση καρνιτίνης εξωγενώς, ειδικά σε κυήσεις υψηλού κινδύνου, θα πρέπει να προηγηθούν μελέτες σε μεγάλο αριθμό πληθυσμών, ενώ συγχρόνως θα πρέπει να διερευνηθεί η ακριβής αιτία του φαινομένου της έλλειψης καρνιτίνης στην κύηση, προκειμένου η θεραπεία να καταστεί ορθολογική.

Είναι ήδη γνωστό ότι ο σακχαρώδης διαβήτης τόσο ο τύπου 1 όσο και ο τύπου 2, συνοδεύεται από μείωση καρνιτίνης. Στη μελέτη μας όμως, αποδείχθη για πρώτη φορά διεθνώς ότι η παρουσία του διαβήτη της κύησης δεν επεβάρυνε αθροιστικά τη μείωση της καρνιτίνης που ήδη υπήρχε και επισυμβαίνει φυσιολογικά λόγω της κύησης. Η ήπια αυτή επίπτωση του διαβήτη της κύησης στον μεταβολισμό της καρνιτίνης, μπορεί να εξηγηθεί από την συνυπάρχουσα αυξημένη νεογλυκογένεση, μία διενέργεια η οποία δεν επηρεάζει τα κλάσματα της καρνιτίνης.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Χριστακόπουλος Π. Ο μεταβολισμός του φυσιολογικού ανθρώπου. Ετήσια Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα για τον Σακχαρώδη Διαβήτη. 22^ο 2000;4
2. Harris RA, Crabb DW. Starve-feed cycle. In Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Devlin TM (Ed.), Fifth ed., Wiley-Liss, New York, 2002; pp864
3. Χριστακόπουλος Π. Ο μεταβολισμός του φυσιολογικού ατόμου επί νηστείας. Ετήσια Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα για τον Σακχαρώδη Διαβήτη, 22^ο 2000;7
4. Harris RA, Crabb DW. Starve-feed cycle. In Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Devlin TM (Ed.) Fifth Ed., Wiley-Liss, 2002; pp866
5. Harris RA, Crabb DW. Starve-feed cycle. In Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Devlin TM (Ed), Fifth Ed., Wiley-Liss, 2002; pp869
6. **Catalano PM, Tyzbit ED, Roman NM. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in non-obese pregnant women. Am J Obstet Gynecol 1991;165:1667**
7. **Catalano PM, Tyzbit ED, Wolfe RR, et al. Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression during insulin infusion in normal pregnant women. Am J Obstet Gynecol 1992;167:913**
8. **Kuhl C. Aetiology of gestational diabetes. Bailliere's Clin Obstet Gynaecol 1991;5:279**
9. **Halstead AC, Lockitch G, Vallance H, et al. Handbook of Diagnostic Biochemistry and Hematology in Normal Pregnancy. CRC Press Boca Raton 1993; pp3**
10. **Knopp RH, Zhu X, Bonnet B. Effect of estrogens on lipoprotein metabolism and cardiovascular disease in women. Atherosclerosis 1994;110:S83**
11. **Sattar N, Greer IA, Loudon J, et al. Lipoprotein subfractions changes in normal pregnancy: threshold effect of plasma triglyceride on appearance of small, dense low density lipoprotein. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:2483**
12. **Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, et al. Longitudinal study on the lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. J Lipid Res 1996;37:299**
13. **Silliman K, Tall AR, Kretchmer N, et al. Unusual high density lipoprotein subclass distribution during late pregnancy. Metabolism 1993;42:1592**
14. **Iglesias A, Montelongo A, Herrera E, et al. Changes in cholesterol ester transfer protein activity during normal gestational and postpartum. Clin Biochem 1994;27:63**
15. **Silliman K, Shore V, Forte TM, et al. Hypertriglyceridemia during late pregnancy is associated with the formation of small dense low density lipoproteins and the presence of large buoyant high density lipoproteins. Metabolism 1994;43:1035**

- 16. Hubel CA, Shakir Y, Gallaher MJ, et al. Low density lipoprotein particle size decreases during normal pregnancy in association with triglyceride increases. J Soc Gynecol Invest 1998;5:244**
- 17. Sattar N, Bedomir A, Berry C, et al. Lipoprotein subfraction concentrations in preeclampsia: pathogenic parallels to atherosclerosis. Obstet Gynecol 1997;89:403**
18. Buchanan TA, Metzger BE, Freinkel N. Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1008
 19. Ryan EA, O'Sullivan MJ, Skyler JS. Insulin action during pregnancy: studies with euglycemic clamp technique. *Diabetes* 1985;34:380
 20. Sivan E, Chen X, Homko CJ, et al. Longitudinal study of carbohydrate metabolism in healthy obese pregnant women. *Diabetes Care* 1997;20:1470
 21. Cianni GD, Miccoli R, Volpe L, et al. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2003;19:259
 22. Kautzky-Willer A, Pacini G, Tura A et al. Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia* 2001;44:164
 23. Stock SM, Bremme K. Elevation of plasma leptin during pregnancy in normal and diabetic women. *Metabolism* 1998;47:840
 24. Lewandowski K, O'Callaghan CJ, Dunlop D, et al. Free leptin bound leptin and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:300
 25. Del Prato S, Castellino P, Simonson DC, et al. Hyperglucagonemia and insulin-mediated glucose metabolism. *J Clin Invest* 1987;79:547
 26. Grigorakis SI, Alevizaki M, Beis C, et al. Hormonal parameters in gestational diabetes mellitus during the third trimester: high glucagon levels. *Gynecol Obstet Inves* 2000;49:106
 27. Arner P. Insulin resistance in type 2 diabetes: role of fatty acids. *Diabetes Metab Res Rev* 2002;18:S5-S9
 28. Butte NF, Hopkinson JM, Metha N, et al. Adjustments in energy expenditure and substrate utilization during late pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 1999;69:299
 29. Kalhan S, Rossi K, Gruca L, et al. Glucose turnover and gluconeogenesis in human pregnancy. *J Clin Invest* 1997;100:1775
 30. Metzger BE, Phelps RL, Freinkel N, et al. Effects of gestational diabetes on diurnal profiles of plasma glucose, lipids, and individual amino acids. *Diabetes Care* 1980;3:402
 31. Metzger BE. Biphasic effects of maternal metabolism on fetal growth. Quintessential expression of fuel-mediated teratogenesis. *Diabetes* 1991;40:99
 32. Del Prato S, Marchetti P, Bonadonna RC. Phasic insulin release and metabolic regulation in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:S109
 33. Person B, Hanson U, Hartling SG, et al. Follow-up of women with previous GDM: insulin, C-peptide and proinsulin responses to oral glucose load. *Diabetes* 1999;40:136
 34. Metzger BE, Cho NH, Roston SM, et al. Prepregnancy weight and antepartum insulin secretion predict glucose tolerance five years after gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993;16:1598

35. Damm P, Kuhl C, Bertelsen A, et al. Predictive factors for the development of diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:607
36. Ryan EA, O'Sullivan MJ, Skiller JS. Insulin action during pregnancy: studies with the euglycemic glucose clamp technique. *Diabetes* 1985;34:380
37. Ward WK, Jonhston CLW, Beard JC, et al. Abnormalities of islet B-cell function insulin action and fat distribution in women with a history of gestational diabetes: relation to obesity. *J Clin Endocr Metab* 1985;61:1039
38. Xiang AH, Ruth K, Trigo E, et al. Multiple metabolic defects during late pregnancy in women at high risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 1999;48:848
39. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subject and women with gestational diabetes. *Am J Physiol* 1993;264:E60
40. Butte NF, Wong WW, Treuth MS, et al. Energy requirements during pregnancy based on total energy expenditure and energy deposition. *Am J Clin Nutr* 2004;79:1078
- 41. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2000;71:S1256**
- 42. Catalano P.M., Kirwan J.P., Mouzon S. H., King J. Gestational Diabetes and Insulin Resistance: Role in Short- and Long-Term Implications for Mother and Fetus. *J Nutr* 2003;133:1674S**
- 43. Buchanan TA, Catalano PM. The pathogenesis of GDM: implication for diabetes after pregnancy. *Diabetes* 1995;3:584**
44. Kautzky-Willer A, Prager R, Waldhausl W, et. al. Pronounced insulin resistance and inadequate beta-cell secretion characterize lean gestational diabetes during and after pregnancy. *Diabetes Care* 1997;20:1717
45. Bowers SB, Hennessy TR, Umpleby AM., et. al. Measurement of glucose metabolism and insulin secretion during normal pregnancy and pregnancy complicated by gestational diabetes. *Diabetologia* 1996;39:976
46. Sivan E., Chen X., Homko CL., et. al. The effect of insulin on fat metabolism during and after normal pregnancy. *Diabetes* 1999;48:834
47. Leturque A., Ferre P., Burnol AF., et. al. Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats. *Diabetes* 1986;35:172
48. Buchanan TA. Metabolic changes during normal and diabetic pregnancy. In *Diabetes Mellitus in Pregnancy*, Reece EA, Coustant DR Churchil Livingstone: New York 1995;59
49. Swinn RA., Wareham NJ., Gregory R., et. al. Excessive secretion of insulin precursor characterizes and predict gestational diabetes. *Diabetes* 1995;44:911
50. Damm P., Kühn C., Hornnes P. et. al. A Longitudinal study of plasma insulin and glucagons in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care* 1995;18:654
51. Van Assche FA., Aerts L., De Prins F. A morphological study of the endocrine pancreas in human pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1978;85:818

52. Chiu KC., Go RC., Aoki M., et. al. Glucokinase gene in gestational diabetes mellitus: population association study and molecular scanning. *Diabetologia* 1994;37:104
53. Damm P., Köhl C., Buschard K., et. al. Prevalence and predictive value of islet cell autoantibodies and Insulin antibodies in women with gestational diabetes. *Diabet Med* 1994;11:558
54. Catalano PM., Drago NM., Amini SB. Longitudinal changes in pancreatic beta-cell function and metabolic clearance rate of insulin women with normal and abnormal glucose tolerance. *Diabetes Care* 1998;21:403
55. Homko C., Sivan E., Chen X., et. al. Insulin secretion during and after pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:568
56. Catalano PM., Huston L., Amini SB., et. al. Longitudinal change in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:903
57. Knopp RH., Magee MS., Walden CE., et. al. Prediction of infant birth weight by GDM screening test : importance of plasma triglyceride. *Diabetes Care* 1992;15:1605
58. Knopp RH., Chapman M., Bergelin RO., et. al. Relationship of lipoprotein lipids to mild fasting hyperglycemia and diabetes in pregnancy. *Diabetes Care* 1980;3:416
59. Montelongo A., Lasuncion MA., Pallardo LF., et. al. Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. *Diabetes* 1992;41:1651
60. Catalano PM., Nizielski SE., Shao J., et. al. Downregulated IRS-1 and PPARgamma in obese women with gestational diabetes: relationship to FFA during pregnancy. *Am J Physiol* 2002;282:E522
61. Ravichandran LV., Esposito DL., Chen J. et. al. Protein kinase C-zeta phosphorylates insulin receptor substrate-1 and impairs its ability to activate phosphatidylinositol 3-kinase in response to insulin. *J Biol Chem* 2000;276:3543
62. Saltiel AR., Kahn R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001;414:799
63. Dresner A., Laurent D., Marcucci M., et. al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 1999;103:253
64. Borkman M., Storlien LH., Pan DA., et. al. The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal muscle phospholipids. *N Engl J Med* 1993;328:238
65. Hawkins M., Barzilai N., Liu R., et. al. Role of the glucosamine pathway in fat- induced insulin resistance. *J Clin Invest* 1997;99:2173
66. Long SD., Pekala PH. Regulation of Glut4 gene expression by arachidonic acid:evidence for multiple pathways, one of which requires oxidation to prostaglandin E2. *J Biol Chem* 1996;271:1138
67. Gastaldelli A., Toschi E., Pettiti M., et. al. Effect of physiological hyperinsulinemia on gluconeogenesis in nondiabetic subjects and in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001;50:1807
68. Edgerton DS., Carin S., Emshwiller M., et. al. Small increases in insulin inhibit hepatic glucose production solely caused by an effect of glycogen metabolism. *Diabetes* 2001;50:1872

69. Boden G., Cheung P., Stein TP., et. al. FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *Am J Physiol* 2002;283:E12
70. Lam TKT., Yoshi H., Haber A., et. al. Free fatty acid-induced hepatic insulin resistance: a potential role for protein kinase C-beta. *Am J Physiol* 2002;283:E12
71. Crespino SR., Greenough WB., Steinberg D. Stimulation of insulin secretion by long-chain free fatty acids. *J Clin Invest* 1973;52:1979
72. Boden G., Chen X., Rosner J., et. al. Effects of a 48-hour fat infusion on insulin secretion and glucose utilization. *Diabetes* 1995;44:1239
73. Santomauro A., Boden G., Silva M., et. al. Overnight lowering of free fatty acids with acipimox improves insulin resistance and glucose tolerance in obese diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes* 1999;48:1836
74. Boden G., Chen X., Iqbal N. Acute lowering of plasma fatty acids lowers basal insulin secretion in diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes* 1998;47:1609
75. Glueck CJ., Goldenberg N., Streicher P., et. al. Metformin and Gestational Diabetes. *Curr Diab Rep* 2003;3:303
76. Gestational diabetes mellitus. American Diabetes Association (no authors listed). *Diabetes Care* 2003;26:5103
77. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynaecologists. Number 30, September 2001 (replaces Technical Bulletin Number 200, December, 1994). Gestational diabetes (no authors listed). *Obstet Gynecol* 2001;98:525
78. O'Sullivan JB., Mahan CM., Charles D. Screening criteria for high-risk gestational diabetic patients. *Am J Obstet Gynecol* 1973;116:895
79. Frayn KN. The glucose fatty acid cycle 1963-2003: A tribute to Sir Philip Randle. *Bioc. Soc. Transactions* 2003;31:1115.
80. Gulewitsch W, Krimberg R. Zur Kenntnis der extraktivstoffe der muskeln I. Mitteilung. Über das carnitine. *Hoppe Seyler's Z. Physiol Chem* 1905;45:326
81. Tomita M, Sendju Y. Über die oxyaminverbindungen welche die biuretreaktion zeigen. III. Spaltung der p-amino-b-oxymuttersäure in die optisch-aktiven komponenten. *Hoppe Seyler's Z. Physiol Chem* 1927;169:263
82. Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr* 1998;18:39
83. Tanphaichitr V, Leelahagul P. Carnitine metabolism and human carnitine deficiency. *Am J Physiol* 1985;248:E1
- 84. Rebouche CJ, Paulson DJ. Carnitine metabolism and function in humans. *Annu Rev Nutr* 1986;6:41**
85. Gross CJ, Henderson LM. Absorption of D- and L- carnitine by the intestine and kidney tubule in the rat. *Biochim Biophys* 1984;772:209
86. Gudjonsson H, Li B, Shug A, et al. In vivo studies of intestinal carnitine absorption in rats. *Gastroenterology* 1985;88:1880
87. Hamilton JW, Li B, Shug A, et al. Studies of L-carnitine absorption in man. *Gastroenterology* 1983;84:1180
88. Rebouche CJ, Engel AG. Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the human carnitine deficiency

- syndromes. Evidence for alteration in tissue carnitine transport. *J Clin Invest* 1984;73:857
89. Rebouche CJ, Engel AG. Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the dog. *Arch Biochem Biophys* 1983;220:60
 90. Rebouche CJ, Mack DL, Edmonson PF. L-carnitine dissimilation in the gastrointestinal tract of the rat. *Biochemistry* 1984;23:6422
 91. Rebouche CJ, Engel AG. Carnitine metabolism and deficiency syndromes. *Mayo Clin Proc* 1983;58:533
 92. Rebouche CJ. Carnitine function and requirements during the life cycle. *FASEB J* 1992;6:3379
 93. Lennon DL, Stratman FW, Shrago E, et al. Effects of acute moderate intensity exercise on carnitine metabolism in men and women. *J Appl Physiol Respirat Environ Exercise Physiol* 1983;55:489
 94. Bohles H, Evangeliou A, Bervoets K, et al. Carnitine esters in metabolic disease. *Eur J Pediatrics* 1994;153 :57
 95. Seccombe DW, Hahn P, Novak M. The effect of diet and development on blood levels of free and esterified carnitine in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1978; 528:483
 96. Frohlich J, Seccombe DW, Hahn P, et al. Effect of fasting on free and esterified carnitine levels in human serum and urine. *Metabolism* 1978;27:555
 96. Rebouche CJ, Mack DL. Sodium gradient stimulated transport of L-carnitine into renal brush border membrane vesicles: Kinetics, specificity and regulation of dietary carnitine. *Arch Biochem Biophys* 1984;235:393
 97. Engel AG, Rebouche CJ, Wilson DM. Primary systemic carnitine deficiency II. Renal handling of carnitine, *Neurology* 1981;31:819
 98. Rebouche CJ, Engel AG. Significance of renal γ -butyrobetaine hydroxylase for carnitine biosynthesis in man. *J Biol Chem* 1980;255:8700
 99. Chalmers RA, Roe CR, Stacey TE, et al. Urinary excretion of L-carnitine and acylcarnitines by patients with disorders of organic acid metabolism:evidence of secondary insufficiency of L-carnitine. *Pediatr Res* 1984;18:1328
 100. DiDonato S, Rimoldi M, Garavaglia B, et al. Propionylcarnitine excretion in propionic and methylmalonic acidurias: a cause of carnitine deficiency. *Clin Chim* 1984;139:13
 101. Sugiyama N, Morishita H, Nagaya S, et al. Biochemical evidence of carnitine effect on propionate elimination. *J Inherited Metabol Dis* 1984;7:137
 102. Maebashi M, Kawamura N, Sato M. Urinary excretion of carnitine in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism:augmentation by thyroid hormone. *Metabolism* 1977;26:351
 103. Hoppel CL, Genuth SM. Carnitine metabolism in normal weight and obese human subjects during fasting. *Am J Physiol* 1980;238:E409
 104. Evangeliou A, Vlassopoulos D. Carnitine metabolism and deficit-when supplementation is necessary? *Curr Pharm Biotechnol* 2003;4:211
 105. Debska-Slizien A, Kawecka A, Wojnarowski K, et al. Correlation between plasma carnitine, muscle carnitine and glycogen

- levels in maintenance hemodialysis patients. *I Art Organs* 2000;23:90
106. Vesela E, Racek J, Trefil L, et al. Effect of L-carnitine supplementation in hemodialysis patients. *Nephron* 2001;88:218
 107. Matsumoto. Y, Amano, 1, Hirose, S, et al. *Blood Purif* 2001;19:24
 108. Horl WH. *Nephrol. Dial Transplant* 1999 ;14 :50
 109. Pliakogiannis T, Chatzidimitriou C, Evangelidou A, et al. Serum carnitine levels, lipid profile, and metabolic status of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Pent Dial mt* 1993;13:s440
 110. Murthy MSR, Pande SV Molecular biology of carnitine palmitoyltransferases and role of carnitine in gene transcription. In: de Simone C, Famularo G (eds) *Carnitine today*. Springer, Berlin Heidelberg New York 1997; pp 39
 111. Peluso G, Nicolai R, Reda E, et al. Cancer and anticancer therapy-induced modifications on metabolism mediated by carnitine system. *J Cell Physiol* 2000;182:339
 112. Ricciolini R, Scalibastri M, Kelleher JK, et al. Role of acetyl-L-carnitine in rat brain lipogenesis: implications for polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *J Neurochem* 1998;71:2510
 113. Peluso G, Barbarisi A, Savica V, et al. Carnitine: an osmolyte that plays a metabolic role. *J Cell Biochem* 2001;80:1
 114. Peluso G, Petillo O, Barbarisi A, et al. Carnitine protects the molecular chaperone activity of lens alpha-crystallin and decreases the post-translation protein modifications induced by oxidative stress. *FASEB J* 2001;15:1604
 115. Wächter WS, Vogt M, Kreis R, et al. Long-term administration of L-carnitine to humans:effect on skeletal muscle carnitine content and physical performance. *Clin Chim Acta* 2000;318:51
 116. Hiatt WR, Regensteiner JG, Wolfel EE, et al. Effect of exercise training on skeletal muscle histology and metabolism in peripheral arterial disease. *J Appl Physiol* 1996;81:780
 117. McGarry JD. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system: its broadening role in fuel homeostasis and new insights into its molecular features. *Biochem Soc Trans* 1995;23:321
 118. Lee JK, Kim KH. Roles of acetyl-CoA carboxylase beta in muscle cell differentiation and in mitochondrial fatty acid oxidation. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;254:657
 119. Abu-Elheiga L, Matzuk MM, Abo-Hashema KAH, et al. Continuous fatty acid oxidation and reduced fat storage in mice lacking acetyl-CoA carboxylase 2. *Science* 2001;291:2613
 120. Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, et al. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol* 1999;276:E1
 121. McGarry JD. Travels with carnitine palmitoyltransferase I: from liver to germ cell with stops in between. *Biochem Soc Trans* 2001;29:241
 122. Eaton S. Control of mitochondrial beta-oxidation flux. *Progress Lipid Res* 2002;41:197
 123. Dobbins RL, Szczepaniak LS, Bentley B, et al. Prolonged inhibition of muscle carnitine palmitoyltransferase-1 promotes intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance in rats. *Diabetes* 2001;50:123
 124. Ellis BA, Poynten A, Lowy AJ, et al. Long-chain acyl-CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rat

- and human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;279:E554
125. Simoneau JA, Veerkamp JH, Turcotte LP, et al. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J* 1999;13:2051
 126. Kim JY, Hickner RC, Cortright RL, et al. Lipid oxidation is reduced in obese human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;42:E1039
 127. Colberg SR, Simoneau JA, Thaete FL, et al. Skeletal muscle utilization of free fatty acids in women with visceral obesity. *J Clin Invest* 1995;95:1846
 128. Peluso G, Mingrone G, Barbarisi A, et al. Decreased skeletal muscle carnitine translocase impairs utilization of fatty acids in insulin-resistant human muscle. *Front Biosci* 2002;7:A109
 129. Engel AG, Angelini C. Carnitine deficiency of human skeletal muscle with associated lipid storage: a new syndrome. *Science* 1973;179:899
 130. Werneck LC, DiMauro S. Muscle carnitine deficiency: report of 8 cases with clinical, electromyographic, histochemical and biochemical studies. *Arq Neuropsiquiatr* 1985;43:281
 131. Kimura S, Miyake S. Type II fibre myolysis in a patient with hypocarnitinemia. *Brain Dev* 1989;11:263
 132. Miyagawa J, Kuwajima M, Hanafusa T, et al. Mitochondrial abnormalities of muscle tissue in mice with juvenile visceral steatosis associated with systemic carnitine deficiency. *Virchows Arch* 1995;426:271
 133. Hotta K, Kuwajima M, Ono A, et al. Disordered expression of glycolytic and gluconeogenic liver-enzymes of juvenile visceral steatosis mice with systemic carnitine deficiency. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;32:117
 134. Kaido M, Fujimura H, Ono A, et al. Mitochondrial abnormalities in a murine model of primary carnitine deficiency. Systemic pathology and trial of replacement therapy. *Eur Neurol* 1997;38:302
 135. Tomomura M, Nakagawa K, Saheki T. Proto-oncogene c-jun and c-fos messenger RNAs increase in the liver of carnitine-deficient juvenile visceral steatosis (JVS) mice. *FEBS Lett* 1992;311:63
 136. Tomomura M, Imamura Y, Horiuchi M, et al. Abnormal expression of urea cycle enzyme genes in juvenile visceral steatosis (JVS) mice. *Biochim Biophys Acta* 1992;1138:167
 137. Ricciolini R, Scalibastri M, Carminati P, et al. The effect of pivalate treatment of pregnant rats on body mass and insulin levels in the adult offspring. *Life Sci* 2001;69:1733
 138. Barga-Lockner C, Hahn P, Wittman B. Plasma carnitine in pregnancy. *Am J Obstet Gyn* 1981;140:412
 139. Scholte HR, Stinis JT, Jennekens FGI. Low carnitine levels in serum of pregnant women. *N Engl J Med* 1979;299:1079
 140. Novak M, Monkus EF, Chung D, et al. Carnitine in perinatal metabolism of lipids. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitines. *Pediatrics* 1981;67:95
 141. Cederblad G, Fahraeus L, Lindgren K. Plasma carnitine and renal carnitine clearance during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1986;44:379

142. Borrum PR. Regulation of the carnitine concentration in plasma. In: carnitine biosynthesis. Metabolism and functions of carnitine. New York Academic Press 1980; pp115
143. Winter SC, Linn LS, Helton E. Plasma carnitine concentrations in pregnancy, cord blood, and neonates and children. Clin Chim Acta 1995;243:87
144. Novak M, Monkus EF, Chung D, et al: Carnitine in the perinatal metabolism of lipids I. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitines. Pediatrics 1981;67:95
145. Kashyap ML, Sivasambo R, Sothy SP, et al: Carbohydrate and lipid metabolism during human labor:Free fatty acids, glucose, insulin and lactic acid metabolism during normal and oxytocin-induced labor for post-maturity. Metabolism 1976;25:865
146. Cederblad G, Fahraeus L, Lindgren K. Plasma carnitine and renal-carnitine clearance during pregnancy. Am J Clin Nutr 1986;44:379
147. Schoderbeck M, Auer B, Legenstein E, et al. Pregnancy-related changes of carnitine and acylcarnitine concentrations of plasma and erythrocytes. J Perinat Med 1995;23:477
148. Cederblad G, Larsson J, Nordstrom H, et al. Urinary excretion of carnitine in burned patients. Burns 1980;8:102
149. Carrol JE, Brooke MH, Shumate JB, et al. Carnitine intake and excretion in neuromuscular diseases. Am J Clin Nutr 1981;34:2693
150. Scholte HR, Stinis JT, Jennekens FGI. Low carnitine levels in serum of pregnant women. New Engl J Med 1979;299:1079
151. Cederblad G, Fahraeus L, Lindgren K. Plasma carnitine and renal-carnitine clearance during pregnancy. Am J Clin Nutr 1986;44:379
152. Marzo A, Cardace G, Corbelletta C, et al. Plasma concentration urinary excretion and renal clearance of L-carnitine during pregnancy: a reversible secondary L-carnitine deficiency. Gynecol Endocrinol 1994;8:115
153. Angelini C, Govoni E, Bragaglia MM, et al. Carnitine deficiency: acute postpartum crisis. Ann Neurol 1978;4:558
154. Rebouche CJ. Comparative aspects of carnitine biosynthesis in microorganisms and mammals with attentions to carnitine biosynthesis in man, in Frenkel and Mc Garry p57
155. Hahn P. The development of carnitine synthesis from γ -butyrobetaine in the rat. Life Sci 1981;23:1923
156. Shenai JP, Borum PR. Tissue carnitine reserves of newborn infants. Pediatr Res 1984;18:679
157. Schmidt-Sommerfeld E, PennD, Novak M, et al Carnitine in human perinatal fat metabolism. J Perinat Med 1985;13:107
158. Battistella PA, Vergani L, Filiberto D, et al. Plasma and urine carnitine levels during development. Pediatr Res 1980;14:1379
159. Michael T, Murray ND, Joseph E. Pizzorno Jr ND. Carnitine. Textbook of Natural Medicine 2nd ed., Churchill Livingstone Inc 1999, pp633
160. Soltesz G, Melegh B, Sandor A. The relationship between carnitine and ketone body levels in diabetic children. 1 Paediatr Scand 72:511
161. Wachter S, Vogt M, Kreis R, et al. Clin Chim Acta 2002;318:51
Lee S, Turner M, Lee G. in Brain Chip for Biochemzistiy, Blackwell Publishing Company 2002, p.196
162. Cederblad G, Hermansson G, Ludvigsson J. Plasma and urine carnitine in children with diabetes mellitus. C/in. Chim Acta 1982;27:207

163. Tamamogullari N, Silig Y, Icagasioglu S, et al. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications. *Diabetes Complications* 1999;13:251
164. Calvani, M, Reda, E, Arrigoni-Martelli E, et al. Regulation by carnitine of myocardial fatty acid and carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions. *Basic Res Cardiol* 2000;95:75
165. Zhou YP, Ostenson CG, Ling ZC, et al. Deficiency of pyruvate dehydrogenase activity in pancreatic islets of diabetic GK rats. *Endocrinology* 1995;136:3546
166. M.Greco AV, Capristo E, Benedetti G, et al. *Am Co/i. Nutr* 1999;18:77
167. Tanner CJ, Barakat HA, Dohm GL, et al. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282:E1191
168. James DE, Jenkins AB, Kraegen EW. Heterogeneity of insulin action in individual muscles in vivo: euglycemic clamp studies in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1985;248:E567
169. He J, Watkins S, Kelly DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes* 2001;50:817
170. Anderson RC. Carnitine palmitoyltransferase: a viable target for the treatment of NIDDM? *Curr Pharm Des* 1998;4:1
171. Gunter HH, Peulecke W, Oehler K, et al. Die konzentration der carnitinfunktionen im III trimenon der schwangerschaft in abhangigkeit von der glukosetoleranz. *Zentralbl Gynakol* 2002;124:533
172. Treem WR. Pregnancy and Liver Disease. *Beta Oxidation Defects Biochemistry and Clinical. Clinics in Liver Disease* 1999;3:50
173. Barlett K. Methods for the investigation of hypoglycemia with particular reference to inherited disorders of mitochondrial beta-oxidation. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1993;7:643
174. Bartlett K., Eaton S. Mitochondrial β -oxidation. *Eur J Biochem* 2004;271:462
175. Eaton S. Control of mitochondrial β -oxidation flux. *Prog Lipid Res* 2002;41:197
176. McGarry JD., Foster DW. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann. Rev. Biochem* 1980;49:395
177. Velasco G., Gomez dP., Carling D. et. al. Evidence that thw AMP-activated protein kinase stimulates rat liver carnitine palmitoyltransferase I by phosphorylating cytoskeletal components. *FEBS Lett* 1998;439:317
178. Schifferdecker J., Schulz H. The inhibitor of L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase by acetoacetyl-CoA and the possible effect of this inhibitor on fatty acid oxidation. *Life Sci* 1974;14:1487
179. Powell PJ., Lau SM., Killian D., et. al. Interaction of acyl coenzyme A substrates and analogues with pig kidney medium-chain acyl-CoA dehydrogenase. *Biochemistry* 1987;26:3704
180. Davidson B., Schultz H. Separation properties and regulation of acyl coenzyme A dehydrogenases from bovine heart and liver. *Arch Biochem Biophys* 1982;213:155
181. Watmough N., Bindoff L., Birch-Machin M. Impaired mitochondrial beta-oxidation in a patient with an abnormality of the respiratory chain. *Studies in skeletal muscle mitochondria. J Clin Invest* 1990;85:177

182. Eaton S., Pourfarzam M., Barlett K. The effect of respiratory chain impaired on beta-oxidation in rat heart mitochondria. *Biochem J* 1996;319:633
183. Stanley KK., Tubbs PK. The role of intermediates in mitochondrial fatty acid oxidation. *Biochem. J.* 1975;150:77
184. Lopez-Cardozo M., Klazinga W., van den Bergh SG. Accumulation of carnitine esters of beta-oxidation intermediates during palmitate oxidation in rat liver mitochondria. *Eur J Biochem* 1978;83:629
185. Moore KH., Radloff JF., Hull FE. Incomplete fatty acid oxidation by ischaemic heart: beta-hydroxy fatty acid production. *Am J Physiol* 1980;239:H257
186. Eaton S., Turnbull DM., Bartlett K. Redox control of beta-oxidation in rat liver mitochondria. *Eur J Biochem* 1994;220:671
187. He X-Y., Yang S., Schultz H. Assay of 1-3-hydroxyacyl-coenzyme-a dehydrogenase with substrates of different chain lengths. *Annal Biochem* 1989;180:105
188. Waterson R., Hill R. Enoyl coenzyme A hydratase (crotonase). Catalytic properties of crotonase and its possible regulatory role in fattyacid oxidation. *J Biol Chem* 1972;247:5258
189. Wang HY., Baxter CF., Schultz H. Regulation of fatty acid beta-oxidation in rat heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1991;289:274
190. Yao KW., Schultz H. Intermediate channelling on the trifunctional beta-oxidation complex from pig-heart mitochondria. *J Biol Chem* 1996;271:17816
191. Oram JF., Bennetch SL., Neely JR. Regulation of fatty acid utilization in isolated perfused rat hearts. *J Biol Chem* 1973;248:5299
192. Eaton S., Bhuiyan AKMJ., Kler RS., et. al. Intramitochondrial control of the oxidation of hexadecanoate in skeletal muscle. A study of the acyl-CoA esters which accumulate during rat skeletal-muscle mitochondrial beta-oxidation of [U-14C]hexadecanoate and [U-14C]hexadecanoyl-carnitine. *Biochem* 1993;289:161
193. Grimbart S., Fisch C., Deschamps D., et. al. Effects of female sex hormones on mitochondria: Possible role in acute fatty liver of pregnancy. *Am J Physiol* 1995;268:G107
194. Wasfi I., Weinstein I., Heimberg M. Increased formation of triglyceride from oleate in perfused livers from pregnant rats. *Endocrinology* 1980;107:584
195. Grimbart S., Fromenty B., Fish C., et. al. Decreased mitochondrial oxidation of fatty acids in pregnant mice: Possible relevance to development of acute fatty liver of pregnancy. *Hepatology* 1993;17:628
196. Phelps RL., Metzger BE., Freinkel N. Carbohydrate metabolism in pregnancy: XVIII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol and individual amino acids in late normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:730
197. Grimbart S, Fisch C, Deschamps D, et al. Effects of female sex hormones on mitochondria : Possible role in acute fatty liver of pregnancy. *Am J Physiol* 1995;268:G107
198. Wasfi I, Weinstein I, Heimberg M. Increased formation of triglyceride from oleate in perfused livers from pregnant rats. *Endocrinology* 1980;107:584
199. Grimbart S, Fromenty B, Fisch C, et al. Decreased mitochondrial oxidation of fatty acids in pregnant mice: Possible relevance to

- development of acute fatty liver of pregnancy. *Hepatology* 1993;17:628
200. Phelps RL, Metzger BE, Freinkel N. Carbohydrate metabolism in pregnancy: XVIII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol and individual amino acids in late normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:730
 201. Barlett K. Methods for the investigation of hypoglycemia with particular reference to inherited disorders of mitochondrial beta-oxidation. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1993;7:643
 202. Eaton S. Control of mitochondrial β -oxidation flux. *Prog Lipid Res* 2002;41:197
 203. McGarry JD, Foster DW. Regulation on hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann Rev Biochem* 1980;49:395
 204. Watmough N, Bindoff L, Birch-Machin M, et al. Impaired mitochondrial beta-oxidation in a patient with an abnormality of the respiratory chain. *Studies in skeletal muscle mitochondria. J Clin Invest* 1990;85:177
 205. Schifferedecker J, Schulz H. The inhibitor of L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase by acetoacetyl-CoA and the possible effect of this inhibitor on fatty acid oxidation. *Life Sci* 1974;14:1487
 206. Eaton S, Pourfarzam M, Bartlett K. The effect of respiratory chain impairment on beta-oxidation in rat heart mitochondria. *Biochem J* 1996;319:633
 207. Stanley KK, Tubbs PK. The role of intermediates in mitochondrial fatty acid oxidation. *Biochem J* 1975;150:77
 208. Lopez-Cardozo M, Klazinga W, van den Bergh SG. Accumulation of carnitine esters of beta-oxidation intermediates during palmitate oxidation in rat liver mitochondria. *Eur J Biochem* 1978;83:629
 209. Moore KH, Radloff JF, Hull FE, Sweely CC. Incomplete fatty acid oxidation by ischaemic heart: beta-hydroxy fatty acid production. *Am J Physiol* 1980;239:H257
 210. Eaton S, Turnbull DM, Bartlett K. Redox control of beta-oxidation in rat liver mitochondria. *Eur J Biochem* 1994;220:671
 211. He XY, Yang S, Schulz H. Assay of 1-3-hydroxyacyl-coenzyme-a dehydrogenase with substrates of different chain lengths. *Anal Biochem* 1989;180:105
 212. Waterson R, Hill R. Enoyl coenzyme A hydratase (crotonase). Catalytic properties of crotonase and its possible regulatory role in fatty acid oxidation. *J Biol Chem* 1972;247:5258
 213. Davidson B, Schulz H. Separation, properties, and regulation of acyl coenzyme A dehydrogenases from bovine heart and liver. *Arch Biochem Biophys* 1982;213:155
 214. Yao KW, Schulz H. Intermediate channelling on the trifunctional beta-oxidation complex from pig-heart mitochondria. *J Biol Chem* 1996;271:17816
 215. Oram JF, Bennetch SL, Neely JR. Regulation of fatty acid utilization in isolated perfused rat hearts. *J Biol Chem* 1973;248:5299
 216. Eaton S, Bhuiyan AKMJ, Kler RS, et al. Intramitochondrial control of the oxidation of hexadecanoate in skeletal muscle. A study of the acyl-CoA esters which accumulate during rat skeletal-muscle mitochondrial beta-oxidation of [U-14C]hexadecanoate and [U-14C]hexadecanoyl-carnitine. *Biochem J* 1993;289:161
 217. Owen OE, Felig P, Morgan AP, et al. Liver and kidney metabolism during prolonged starvation. *J Clin Invest* 1969;48:574
 218. Foster DW. Diabetes mellitus, in: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK (Eds.).

- Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill New York NY, 1991; pp. 1739
219. Bonnefont JP, Specola NB, Vassault A, et al. The fasting test in paediatrics: application to the diagnosis of pathological hypo- and hyperketotic states. *Eur J Pediatr* 1990;150:80
 220. Cahill G, Herrera MG, Morgan AP, et al. Hormone-fuel interrelationships during fasting, *J Clin Invest* 1966;45:1751
 221. Page MM, Alberti KG, Greenwood R, et al. Treatment of diabetic coma with continuous low-dose infusion of insulin. *Br Med J* ii 1974;687
 222. DeFronzo R, Ferrannini E. Regulation of intermediary metabolism during fasting and feeding, in: L.J. DeGroot, J.L. Jameson (Eds.), *Endocrinology* Saunders WB, Philadelphia 2001; pp. 737
 223. Polonsky KS, O'Meara NM. Secretion and metabolism of insulin, proinsulin and C peptide, in: L.J. DeGroot, J.L. Jameson (Eds.). *Endocrinology* Saunders WB, Philadelphia 2001; pp. 697
 224. Flatt JP. On the maximal possible rate of ketogenesis. *Diabetes* 1972;21:50
 225. Garber AJ, Menzel PH, Boden G, et al. Hepatic ketogenesis and gluconeogenesis in humans. *J Clin Invest* 1974;54:981
 226. Reichard Jr. GA, Owen OE, Haff AC, et al. Ketone-body production and oxidation in fasting obese humans. *J Clin Invest* 1974;53:508
 227. Mitchell GA, Fukao T. Inborn errors of ketone body metabolism, in: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, (Eds.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* McGraw-Hill New York 2001; pp. 2327
 228. Des Rosiers C, David F, Garneau M, et al. Nonhomogeneous labeling of liver mitochondrial Acetyl-CoA. *J Biol Chem* 1991;266:1574
 229. Williamson DH, Bates MW, Page MA, et al. Activities of enzymes involved in acetoacetate utilization in adult mammalian tissues. *Biochem J* 1971;121:41
 230. Balasse EO et al. Ketone body production and disposal: effects of fasting, diabetes, and exercise. *Diabetes Metab Rev* 1989;5:247
 231. Hawkins RA, Williamson DH, Krebs HA. Ketone-body utilization by adult and suckling rat brain in vivo. *Biochem J* 1971;122;13
 232. Wick AN, Drury DR. The effect of concentration on the rate of utilization of beta-hydroxybutyric acid by the rabbit. *J Biol Chem* 1941;138:129
 233. Williamson DH. Ketone body production and metabolism in the fetus and newborn, in: R.A. Polin, W.W. Fox (Eds.). *Fetal and Neonatal Physiology* Saunders WB. Philadelphia 1992;pp. 330
 234. Pardridge WM. Blood-brain barrier transport of glucose, free fatty acids, and ketone bodies, in: Vranic M, Efendic S, Hollenberg CH (Eds.). *Fuel Homeostasis and the Nervous System* Plenum Press New York 1991; pp. 43
 235. Owen OE, Morgan AP, Kemp HG, et al. Brain metabolism during fasting. *J Clin Invest* 1967;46:1589
 236. Boukaftane Y, Duncan A, Wang S, et al. Human mitochondrial HMG CoA synthase (mHCS): liver cDNA and partial genomic cloning, chromosome mapping to 1p12-13 and possible role in vertebrate evolution. *Genomics* 1994;23:552
 237. Holm C, Osterlund T, Laurell H, et al. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Annu Rev Nutr* 2000;20:365
 238. Kraemer FB, Shen WJ. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-)

- acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis, *J. Lipid. Res.* 2002;43:1585
239. Anthonen MW, onnstrand LR, Wernstedt C, et al. Identification of novel phosphorylation sites in hormone-sensitive lipase that are phosphorylated in response to isoproterenol and govern activation properties in vitro. *J Biol Chem* 1998;273:215
 240. Greenberg AS, Shen WJ, Muliro K, et al. Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J Biol Chem* 2001;276:45456–45461
 - T. Fukao et al. / *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2004;70:243
 241. Garton AJ, Campbell DG, Carling D, et al. Phosphorylation of bovine hormone-sensitive lipase by the AMP-activated protein kinase. A possible antilipolytic mechanism. *Eur J Biochem* 1989;179:249
 242. Degerman E, Belfrage P, Manganiello VC. Structure, Localization, and Regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE3). *J Biol Chem* 1997;272:6823
 243. Shen WJ, Liang Y, Hong R, et al. Characterization of the functional interaction of adipocyte lipid-binding protein with hormone-sensitive lipase. *J Biol Chem* 2001;276:49443
 244. Egan JJ, Greenberg AS, Chang MK, et al. Mechanism of hormone-stimulated lipolysis in adipocytes: translocation of hormone-sensitive lipase to the lipid storage droplet. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1992;89:8537
 245. Osuga JI, Ishibashi S, Oka T, et al. Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *PNAS* 2000;97:787
 246. Wang SP, Laurin N, Himms-Hagen J, et al. The adipose tissue phenotype of hormone-sensitive lipase deficiency in mice. *Obes Res* 2001;9:119
 247. Haemmerle G, Zimmermann R, Hayn M, et al. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. *J Biol Chem* 2002;277:4806
 248. Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J, et al. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6494
 249. Martinez-Botas J, Anderson J, Tessier D, et al. Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet* 2000;26:474
 250. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur J Biochem* 1997;244:1
 251. McGarry JD, Foster DW. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu Rev Biochem* 1980;49:395
 252. Kerner J, Hoppel CL. Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management. *Annu Rev Nutr* 1998;18:179
 253. Nicot C, Hegardt FG, Woldegiorgis G, et al. Pig liver carnitine palmitoyltransferase I, with low K_m for carnitine and high sensitivity to malonyl-CoA inhibition, is a natural chimera of rat liver and muscle enzymes? *Biochemistry* 2001;40:2260
 254. Fraser F, Zammit VA. Enrichment of carnitine palmitoyltransferases I and II in the contact sites of rat liver mitochondria. *Biochem J* 1998;329:225–229
 255. Fraser F, Corstorphine CG, Zammit VA. Evidence that both the acyl-CoA and malonyl-CoA binding sites of mitochondrial overt

- carnitine palmitoyltransferase (CPT I) are exposed on the cytosolic face of the outer membrane. *Biochem Soc Trans* 1996;24:184S
256. Zammit VA, Fraser F, Corstorphine CG. Regulation of mitochondrial outer-membrane carnitine palmitoyltransferase (CPT I): role of membrane-topology. *Adv Enzyme Regul* 1997;37:297
 257. Shi J, Zhu H, Arvidson D, et al. The first 28 N-terminal amino acid residues of human heart muscle carnitine palmitoyltransferase I are essential for malonyl CoA sensitivity and high-affinity binding. *Biochemistry* 2000;39:712
 258. Merrill GF, Kurth GF, Hardie DG, et al. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *Am J Physiol* 1997;273:E1107
 259. Saha AK, Schwarsin AJ, Roduit R, et al. Activation of malonyl-CoA decarboxylase in rat skeletal muscle by contraction and the AMP-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside. *J Biol Chem* 2000;275:24279
 260. Kudo N, Barr AJ, Barr RL, et al. High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5⁰-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase. *J Biol Chem* 1995;270:17513
 261. Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase—fuel gauge of the mammalian cell? *Eur J Biochem* 1997;246:259
 262. Witters LA, Kemp BE. Insulin activation of acetyl-CoA carboxylase accompanied by inhibition of the 5⁰-AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1992;267:2864
 263. Park SH, Gammon SH, Knippers JD, et al. Phosphorylation-activity relationships of AMPK and acetyl-CoA carboxylase in muscle. *J Appl Physiol* 2002;92:2475
 266. Stumpf DA, Parker D, Angelini C: Carnitine deficiency, organic acidemias and Reye's syndrome. *Neurology* 1985;35:1041
 267. Cyr D, Giguere R, Giguere Y, Lemieux B: Determination of urinary acylcarnitines: a complementary aid for the high-risk screening of several organic acidurias using a simple and reliable GC/MS-based method. *Clin Biochem* 2000;33:151
 268. Reddi AS, Moquete M, Keshav G, DeAngelis B, Frank O, Baker H: Plasma carnitine levels in patients undergoing hemodialysis. *Nephron* 1998;80:87
 269. Thomas S, Fischer FP, Mettang T, Pauli-Magnus C, Weber J, Kuhlmann U: Effects of L-Carnitine on leucocyte function and viability in hemodialysis patients: a double-blind randomized trial. *Am J Kidney Dis* 1999;34:678
 270. Tein I, Sloane AE, Donner EJ, Lehotay DC, Millington DS, Kelley RI: Fatty acid oxidation abnormalities in childhood-onset spinal muscular atrophy: primary or secondary defect(s)? *Pediatr Neurol* 1995;12:21
 271. Rubio JC, de Bustos F, Molina JA, Jimenez-Jimenez FJ, Benito-Leon J, Martin MA, Campos Y, Orti-Pareja M, Cabrera-Valdivia F, Arenas J: Cerebrospinal fluid carnitine levels in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1998;155:192
 272. Plochl E, Sperl W, Wermuth B, Colombo JP: Carnitine deficiency and carnitine therapy in a patient with a Rett syndrome. *Klin Padiatr* 1996;208:129

273. Cederblad G, Hermansson G, Ludvigsson J: Plasma and urine carnitine in children with diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1982;125:207
274. Karagianni C, Gouriotis D: Carnitine deficiency in children with IDDM. *J Ped Endocr Metab* 1997;10:38
275. Morabito E, Corsico N, Marzo A, Arrigoni Martelli E: Serum and urine levels of levocarnitine family components in genetically diabetic rats. *Arzneimittel-Forsch* 1994;44:965
276. Pregant P, Schernthaner G, Legenstein E, Bruck S, Schnack C, Kaiser E: Decreased plasma carnitine in type I diabetes mellitus. *Klin Wochenschr* 1991;69:511
277. McGarry JD, Foster DW. An important and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine. *J Lipid Res* 1976;12:277
278. Olbrich H, Evangelidou A, Tabatabaei, et al. Correlation between long chain acylcarnitine in serum and myocardium after heart transplantation in humans. *Am J Clin Nutr* 1994;60:414
279. Minkowski O. Uber das vorkommen von oxybuttersaure in ham bei diabetes mellitus. *Arch Exptl Pathol Pharmacol* 1984;18:35
280. Kulz E. Uber eine neue linksdrehende saure (Pseudo-oxybuttersaure). *Z Biol* 1984;20:167
281. Bondy PK, Bloom WL, Whitner VS, et al. studies of the role of the liver in human carbohydrate metabolism by venous catheter technique. II. Patients with diabetic ketosis, before and after the administration of insulin. *J Clin Invest* 1949;28:1126
282. Li PK: β -hydroxybutyrate. *Clin Chem News* 1985;11:13
283. Mercer DW, Losos FJ, Mason L. monitoring therapy with insulin in ketoacidotic patients by quantifying 3-hydroxybutyrate with a commercial kit. *Clin Chem* 1986;32:225
284. Williamson DH, Mellanby J, Krebs HA. Enzymatic determination of D(-)b-hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. *Biochem J* 1962;82:90
285. Marbach EP, Weil MH. Rapid enzymatic measurement of blood lactate and pyruvate. *Clin Chem* 1967;13:314
286. Field M, Block JB, Leven R, et al. Significance of blood lactate elevations among patients with acute leukemia and other neoplastic proliferative disorders. *Am J Med* 1966;40:528
287. Goto I, Peters HA, Reese HH. Pyruvic and lactic acid metabolism in muscular dystrophy, neuropathies and other neuromuscular disorders. *Am J Med Sci* 1967;253:431
288. Galloway RE, Morgan JM. Serum pyruvate and lactate in uremia. *Metabolism* 1964;13:818
289. Shimizu S., Tani Y., Yamada H., et.al. Enzymatic determination of serum-free fatty acids: a colorimetric method. *Anal Biochem* 1980;107:193
290. Harris RJ. Plasma nonesterified fatty acid and blood glucose levels in healthy and hypoxemic newborn infants. *J Pediatr* 1974;84:578
291. Hoppel LC, Genuth SM. Carnitine metabolism in normal weight and obese human subjects during fasting. *Am.J.Physiol.* 1980;E409.
292. Genuth SM, Hoppel LC. Acute hormonal effects on carnitine metabolism in thin and obese subjects: responses to somatostatin, glucagon, and insulin. *Metabolism* 1981;30:393.
293. Hoppel LC, Genuth SM. Urinary excretion of acylcarnitine during human diabetic and fasting ketosis. *Am.J.Physiol.* 1982;E168.

294. Luft FC. Lactic acidosis update for critical care clinicians. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:S15.
295. Hay WJ. Regulation of placental metabolism by glucose supply. *Reprod Fert Dev.* 1995;7:365.
296. Shafrir E, Barash V. Placental glycogen metabolism in diabetic pregnancy. *Isr J Med Sci.* 1991;27:449.
297. Yeh YY. Antiketoneic and antiketogenic actions of carnitine in vivo and in vitro in rats. *J Nutr* 1981;111:831.