



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Ο ρόλος του θηλασμού ως τροποποιητικού παράγοντα στη γενετική προδιάθεση για παιδική παχυσαρκία.



Φοιτήτρια | Χατζή Σοφία – Μαρία

Υπεύθυνος καθηγητής | Δεδούσης Γεώργιος

Τριμελής επιτροπή | Δεδούσης Γεώργιος
Μανιός Ιωάννης
Παπανικολάου Γεώργιος

Αθήνα, 22 Φεβρουαρίου 2016

Πίνακας περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1	Παιδική και εφηβική παχυσαρκία	2
1.1.1	Διαγνωστικά κριτήρια για την παιδική και εφηβική παχυσαρκία	2
1.1.2	Επιπολασμός παιδικής και εφηβικής παχυσαρκίας	4
1.1.3	Επιπτώσεις	5
1.1.4	Αίτια	6
1.2	Μητρικός θηλασμός	8
1.2.1	Οφέλη-επιδράσεις μητρικού θηλασμού	9
1.2.2	Επιδημιολογικά στοιχεία για τον θηλασμό	9
1.2.3	Η επίδραση του μητρικού θηλασμού στην παιδική παχυσαρκία	10
1.2.4	Πιθανοί μηχανισμοί επίδρασης του θηλασμού στην εμφάνιση παιδικής παχυσαρκίας	13
1.3	Γενετική της παχυσαρκίας	16
1.3.1	Περιοχές γονιδιώματος για δείκτες παχυσαρκίας ενηλίκων	16
1.3.2	Περιοχές γονιδιώματος για δείκτες παχυσαρκίας σε παιδιά - εφήβους	17
1.3.3	Ο ρόλος του θηλασμού στη γενετική της παχυσαρκίας	18
2	ΣΚΟΠΟΣ	23
3	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	24
3.1	Πληθυσμός – δείγμα μελέτης	24
3.2	Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών	25
3.3	Αξιολόγηση δημογραφικών στοιχείων, οικογενειακού ιστορικού και περιγεννητικών δεδομένων	26
3.4	Γονοτύπηση	27
3.5	Στατιστική ανάλυση	27
3.6	Γονιδιακή ανάλυση	28
4	Αποτελέσματα	32
4.1	Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος	32
4.2	Θηλασμός και δείκτες παχυσαρκίας	36
4.3	Επιδράσεις γενετικών παραγόντων στον WHR	38
4.4	Αλληλεπιδράσεις γενετικών παραγόντων και θηλασμού στον WHR	41
5	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
5.1	Περιγραφικά δεδομένα	46
5.2	Επίδραση γενετικών παραγόντων στον WHR	48
5.3	Αλληλεπίδραση πολυμορφισμών-θηλασμού στον WHR	49
	Βιβλιογραφικές πηγές	52

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Παιδική και εφηβική παχυσαρκία

Ως υπέρβαρο και παχυσαρκία ορίζεται η μη φυσιολογική ή υπερβολική συσσώρευση λίπους που οδηγεί σε κίνδυνο της υγείας του ατόμου [1]. Η παιδική παχυσαρκία έχει χαρακτηριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) ως μια από τις σοβαρότερες προκλήσεις του 21ου αιώνα για τη δημόσια υγεία.

1.1.1 Διαγνωστικά κριτήρια για την παιδική και εφηβική παχυσαρκία

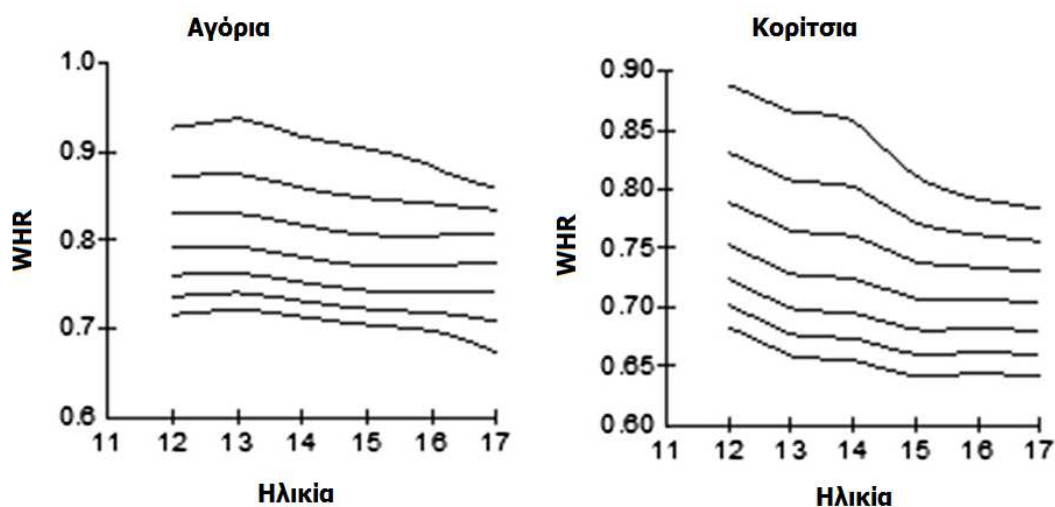
Ο πιο διαδεδομένος τρόπος για την αξιολόγηση του σωματικού βάρους των παιδιών είναι ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) που ορίζεται ως ο λόγος του βάρους/ύψος² (kg/m²) [2]. Στους ενήλικες, τα όρια του ΔΜΣ για την κατηγοριοποίηση του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας είναι ίδια για τα δύο φύλα και για όλες τις ηλικίες. Στα άτομα κάτω των 18 ετών, τα όρια του ΔΜΣ διαφέρουν μεταξύ των δύο φύλων και αλλάζουν με την ηλικία, γι' αυτό για την αξιολόγηση του ΔΜΣ χρησιμοποιούνται καμπύλες αναφοράς όπως έχουν κατά καιρούς σχεδιαστεί από διάφορους οργανισμούς.

Η Διεθνής Ομάδα Δράσης για την Παχυσαρκία (International Obesity Task Force, IOFT) έχει υιοθετήσει διεθνείς οριακές τιμές για το ΔΜΣ ανάλογα με την ηλικία και το φύλο, που είναι αντίστοιχες των ενηλίκων για τις οριακές τιμές 25 kg/m² για το υπέρβαρο και 30 kg/m², όπως προτάθηκαν από την μετα-ανάλυση των Cole et al. το 2000 [3]. Αντίστοιχα, το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Centers for Disease and prevention, CDC) ανέπτυξε το 2000 καμπύλες ανάπτυξης του ΔΜΣ σε σχέση με την ηλικία για αγόρια και κορίτσια των Ηνωμένων Πολιτειών από 2 έως 20 ετών, στις οποίες τα παιδιά με ΔΜΣ πάνω από το 85^ο εκατοστημόριο θεωρούνται υπέρβαρα και τα παιδιά πάνω από το 95^ο εκατοστημόριο παχύσαρκα [4]. Ο ΠΟΥ για την κάλυψη της ανάγκης για ευρύτερα εφαρμόσιμων καμπυλών ανάπτυξης, κυκλοφόρησε το 2007 τις καμπύλες ανάπτυξης ΔΜΣ-ηλικίας (εκατοστημόρια αλλά και z-scores) για παιδιά και εφήβους από 5 έως 19 ετών, σύμφωνα με τις οποίες υπέρβαρα θεωρούνται τα παιδιά που βρίσκονται πάνω από +1 τυπική απόκλιση (SD), που ισοδυναμεί με ΔΜΣ 25 kg/ m² στα 19 έτη, ενώ παχύσαρκα θεωρούνται τα παιδιά που βρίσκονται πάνω από +2SD (ισοδύναμο με ΔΜΣ 30 kg/m² στα 19 έτη) [5]. Ενδιαφέρον έχουν τα διαγράμματα με την σύγκριση των τριών παραπάνω πρότυπων

καμπυλών μεταξύ τους, που μπορεί να βρεθούν στην ιστοσελίδα του ΠΟΥ http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ (τελευταία πρόσβαση: 7 Ιανουαρίου 2016).

Αν και ο ΔΜΣ είναι ένας εύχρηστος και γρήγορος τρόπος αξιολόγησης της παχυσαρκίας στα παιδιά, δεν μπορεί να εκτιμήσει την κατανομή του σωματικού λίπους και γι' αυτό έχει προταθεί η μέτρηση της περιφέρειας μέσης (waist circumference, WC) ως ένας δείκτης για την εκτίμηση της παχυσαρκίας στα παιδιά και ειδικότερα της εκτίμησης της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας [6]. Ακόμα, η περιφέρεια του βραχίονα (mid-upper arm circumference, MUAC) μπορεί να είναι μια χρήσιμη παράμετρος για την αξιολόγηση της παχυσαρκίας και της κατανομής του σωματικού λίπους στα παιδιά ηλικίας 6 έως 17 ετών [7]. Ένας άλλος δείκτης που έχει προταθεί για την αξιολόγηση της παχυσαρκίας στα παιδιά και τους εφήβους είναι ο λόγος περιφέρειας μέσης/ύψος (waist-to-height ratio, WHtR) [8]. Ένας ακόμη λόγος τιμών που χρησιμοποιείται για την ανθρωπομετρική αξιολόγηση της παχυσαρκίας στα παιδιά είναι ο λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχίου (waist-to-hip ratio, WHR).

Το 2015, σχεδιάστηκαν από τους Βακορουλου et al. [9] καμπύλες αναφοράς για την τον λόγο περιφέρεια μέσης/περιφέρεια ισχύων (**Εικόνα 1**), περιφέρεια μέσης και λόγο περιφέρεια μέσης/ύψος, με σκοπό την έγκαιρη ανίχνευση της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας σε Έλληνες εφήβους ηλικίας 12-17 ετών, ενώ ακόμα επιβεβαίωσαν πως για τον δείκτη WHtR μπορούσε να χρησιμοποιηθεί το κατώφλι του 0,5 για την διάγνωση της παχυσαρκίας και σε αυτή την ηλικιακή ομάδα.



Εικόνα 1 Πρότυπες καμπύλες αναφοράς για τον WHR σε παιδιά ηλικίας 12-17 ετών [9].

1.1.2 Επιπολασμός παιδικής και εφηβικής παχυσαρκίας

Ο επιπολασμός του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας στα παιδιά και στους εφήβους έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια σε παγκόσμιο επίπεδο, ενώ σημαντικότερο πρόβλημα εμφανίζουν οι χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος χώρες, ιδιαίτερα στις αστικές περιοχές [10]. Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, τα ποσοστά του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας διαφέρουν από χώρα σε χώρα (επιπολασμός υπέρβαρου 18%-57% στα αγόρια και 18%- 50% στα κορίτσια και επιπολασμός παχυσαρκίας 6-31% στα αγόρια και 5-21% στα κορίτσια), με τα υψηλότερα ποσοστά να παρατηρούνται σε χώρες της Νότιας Ευρώπης [11].

Στην Ελλάδα, τα δεδομένα από την συγχρονική επιδημιολογική μελέτη των Kyriazis et al. [12] αναφέρουν ότι σε παιδιά σχολικής ηλικίας 6-12 ετών ο επιπολασμός των υπέρβαρων παιδιών ήταν 23,9% και των παχύσαρκων παιδιών 7,3%, με το ποσοστό των υπέρβαρων και παχύσαρκων αγοριών να είναι σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό των κοριτσιών. Ακόμα, υπολόγισαν πως το ποσοστό της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας (αγόρια $n = 1206$, κορίτσια $n = 1168$), δεν διέφερε μεταξύ των δύο φύλων και υπολογίστηκε στο 35,5% των παιδιών. Τα ίδια περίπου αποτελέσματα εξάχθηκαν και από την πιο πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη για τον επιπολασμό της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας στον ελληνικό παιδικό πληθυσμό στην οποία συμμετείχαν 124,1132 παιδιά της τρίτης και πέμπτης δημοτικού [13]. Το ποσοστό της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας (που ορίστηκε ως $WHtR \geq 0.5$) ήταν 33,4%, αλλά σε αυτή τη μελέτη οι ερευνητές βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων ($P < 0.001$). Συνολικά, υπολογίστηκε πως η συντριπτική πλειοψηφία των παχύσαρκων παιδιών εμφάνιζαν κεντρικού τύπου παχυσαρκία (95%), όπως επίσης και τα περισσότερα υπέρβαρα παιδιά (69,5%), αλλά και ακόμα και ένα ποσοστό των φυσιολογικού βάρους παιδιών (12%) εμφάνιζε την κεντρικού τύπου συσσώρευση λίπους.

Όσον αφορά την τάση εξέλιξης των ποσοστών της παιδικής και εφηβικής παχυσαρκίας από την μετα-ανάλυση της Kotanidou et al. [14] υπολογίστηκε πως κατά τη δεκαετία 2001-2010 τα ποσοστά παχυσαρκίας στα παιδιά είχαν αυξητικές τάσεις, ενώ φαίνεται να σταθεροποιήθηκαν περίπου από το 2005 και μετά. Σε αντίστοιχα αποτελέσματα για την τάση της παιδικής παχυσαρκίας από το 1997 έως το 2007 κατέληξαν και οι Tambalis et. al. [15] με το ποσοστό της παχυσαρκίας να υπολογίζεται πως αυξήθηκε από 8,1% σε 12,2% και από 7,2% σε 11,2% στα αγόρια

και στα κορίτσια αντίστοιχα, ενώ φαίνεται πως έχει σταθεροποιηθεί από το 2004 και μετά.

1.1.3 Επιπτώσεις

Οι συνέπειες που έχει η παχυσαρκία στην υγεία των παιδιών είναι παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται και στους ενήλικες, επηρεάζοντας ουσιαστικά όλα τα συστήματα οργάνων με δυσμενή τρόπο [16]. Τα παιδιά που είναι παχύσαρκα σε αυτή την ηλικία έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες να είναι παχύσαρκα και ως ενήλικες με όλες τις επιπτώσεις στην υγεία που μπορεί αυτό να συνεπάγεται [17]. Η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης είναι μία προοδευτική διαδικασία που ξεκινά από την παιδική κιόλας ηλικία [16] συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων στην ενήλικη ζωή [18], ενώ ακόμα παχυσαρκία σχετίζεται με την υπέρταση όχι μόνο στους ενήλικες αλλά και στα παιδιά [18, 19]. Η παιδική παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με δυσλιπιδαιμία [16, 18] και συγκεκριμένα σε μελέτη που έχει γίνει σε ελληνικό πληθυσμό παιδιών προσχολικής ηλικίας φάνηκε πως τα υπέρβαρα και τα παχύσαρκα παιδιά είχαν υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων και λόγου ολικής/HDL-χοληστερόλης, ενώ είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης σε σχέση με τα φυσιολογικού βάρους παιδιά [20]. Επίσης, αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη παρατηρήθηκε όσο αυξανόταν ο ΔΜΣ σε μία μελέτη παιδιών από την Κρήτη [21], δεδομένα που επιβεβαιώνουν το γεγονός πως η παιδική παχυσαρκία σχετίζεται και με αυξημένη ινσουλινοαντίσταση [18] και κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου II στην ενήλικη ζωή [22]. Επιπλέον, παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος όπως το άσθμα και η υπνική άπνοια φαίνεται πως εμφανίζονται πιο συχνά στα παχύσαρκα παιδιά [23].

Έχουν μελετηθεί επίσης και ορισμένες διατροφικές ανεπάρκειες στην παιδική ηλικία που πιθανώς σχετίζονται με την παχυσαρκία. Ο λιπώδης ιστός και ο αυξημένος ΔΜΣ έχουν σχετιστεί με χαμηλότερη συγκέντρωση βιταμίνης D στα παιδιά, χωρίς όμως να υπάρχει ξεκάθαρος μηχανισμός πίσω από αυτή τη σχέση, πιθανώς λόγω του μεγαλύτερου βαθμού αποθήκευσης βιταμίνης D στον λιπώδη ιστό [24]. Ακόμα, σε ελληνική μελέτη που έγινε σε 2492 παιδιά και εφήβους ηλικίας 9-13 ετών, ο επιπολασμός της σιδηροπενίας και της σιδηροπενικής αναιμίας υπολογίστηκε υψηλότερος στα παχύσαρκα παιδιά σε σχέση με τα φυσιολογικού βάρους παιδιά [25].

Ακόμα, η εμφάνιση παχυσαρκίας σε μικρή παιδική ηλικία οδηγεί στην πρόωρη

εφηβική ωρίμανση στα αγόρια και την πρόωρη εμμηναρχή στα κορίτσια [26], ακόμα φαίνεται να σχετίζεται με δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των οστών και ορθοπεδικά προβλήματα [27].

Τελός, είναι πολύ σημαντική η επίδραση που μπορεί να έχει η παχυσαρκία στην ψυχική υγεία του παιδιού, καθώς το υπερβάλλον σωματικό βάρος σε αυτήν την ηλικία σχετίζεται με χαμηλότερη αυτοεκτίμηση, αρνητική εικόνα σώματος, χαμηλότερες ακαδημαϊκές επιδόσεις ή και κατάθλιψη, ενώ και οι κοινωνικές συνέπειες μπορεί να είναι εμφανείς, με τα παχύσαρκα παιδιά να εμφανίζουν λιγότερες κοινωνικές συναναστροφές και να αντιμετωπίζουν δυσκολίες συμπεριλαμβανομένων των αρνητικών στερεοτύπων, των διακρίσεων και της κοινωνικής περιθωριοποίησης [28].

1.1.4 Αίτια

Η μονογονιδιακή αιτιολογία της παχυσαρκίας, δηλαδή αυτή που οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου (πάνω από 20 σύνδρομα που προκαλούνται από γενετικές διαταραχές ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν χαρακτηριστικό την εμφάνιση παχυσαρκίας) είναι αρκετά σπάνιες στον γενικό πληθυσμό. Η κοινή παχυσαρκία είναι πολυπαραγοντική και συγκεκριμένα είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης γενετικών, συμπεριφορικών, περιβαλλοντικών, κοινωνικών και ψυχολογικών παραγόντων [28].

Οι αλλαγές στις διαιτητικές συνήθειες, το παχυσσαρκιογενές περιβάλλον και η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας είναι οι κυριότερες περιβαλλοντικές αιτίες της παιδικής παχυσαρκίας. Τα κυριότερα αίτια που έχουν ερευνηθεί να περιλαμβάνουν την συνολική ενεργειακή πρόσληψη, όπου ακόμα και μία μικρή ενεργειακή ανισορροπία (έστω και 100kcal) αν διατηρείται για μακροχρόνιο διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση βάρους, ενώ για τη μακροχρόνια αυτή διαταραχή του ισοζυγίου ενέργειας συνήθως οφείλεται αλλαγές στο είδος και την ποσότητα των καταναλισκόμενων τροφίμων, όπως για παράδειγμα η αύξηση της κατανάλωσης αναψυκτικών και φρουτοποτών. Η αύξηση της διαθεσιμότητας των τροφίμων στο περιβάλλον του παιδιού, οικογενειακό, σχολικό και κοινωνικό, έχει οδηγήσει στην αλλαγή των διατροφικών επιλογών [29], ενώ ακόμα έχουν μελετηθεί και ορισμένες διατροφικές συμπεριφορές, όπως η παράλειψη κατανάλωσης πρωϊνού, η μείωση της κατανάλωσης γευμάτων στο σπίτι και η αύξηση της κατανάλωσης γευμάτων τύπου

fastfood και η συχνότητα κατανάλωσης μικρογευμάτων (snack) [30]. Η μειωμένη φυσική δραστηριότητα και η καθιστικού τύπου συνήθειες (τηλεόραση, ηλεκτρονικά παιχνίδια κλπ) αυξάνουν επίσης τον κίνδυνο παιδικής παχυσαρκίας.

Ερευνητικό ενδιαφέρον υπάρχει και στους περιγεννητικούς παράγοντες που πιθανώς αποτελούν μέρος της αιτιολογίας της παιδικής παχυσαρκίας, όπως είναι η σίτηση του παιδιού μετά την γέννηση και ο θηλασμός, το βάρος της μητέρας πριν την εγκυμοσύνη, το κάπνισμα και το αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και το βάρος του παιδιού κατά τη γέννηση [31].

Εκτός από του περιβαλλοντικούς και κοινωνικούς παράγοντες, είναι πλέον σαφές πως η παχυσαρκία καθορίζεται σε έναν βαθμό και από γενετικούς παράγοντες [31] και πιθανώς αυτοί οι παράγοντες να είναι αυτοί που καθορίζουν την αντίδραση του κάθε ατόμου στο εκάστοτε περιβάλλον. Οι συνθήκες του περιβάλλοντος και της κοινωνίας να αυξάνουν τον κίνδυνο για την παιδική παχυσαρκία, αλλά ίσως η επίδραση αυτή να είναι εντονότερη στα άτομα με αυξημένη γενετική προδιάθεση [32].

1.2 Μητρικός θηλασμός

Το μητρικό γάλα έχει αναγνωρισθεί ως η ιδανική τροφή για τα βρέφη και θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως η φυσική συνέχεια της εγκυμοσύνης, καθώς το βρέφος εξακολουθεί να τρέφεται από το σώμα της μητέρας [33]. Η πηγή της διατροφής του βρέφους κατά τους πρώτους μήνες της ζωής του αποτελείται συνήθως από μητρικό γάλα ή/και βρεφικές φόρμουλες (υποκατάσταστα μητρικού γάλακτος) ή/και από άλλες συμπληρωματικές τροφές. Για τη μελέτη του μητρικού θηλασμού στον ελληνικό πληθυσμό [34], έχουν χρησιμοποιηθεί οι εξής ορισμοί που βασίζονται στην κατηγοριοποίηση που έχει προταθεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) [35]:

- **Αποκλειστικός θηλασμός** (exclusive breastfeeding): δεν παρέχεται στο βρέφος κανενός είδους τροφή σε υγρή ή στερεή μορφή εκτός από το μητρικό γάλα, με μόνη εξαίρεση βιταμίνες, μέταλλα ή φάρμακα.
- **Επικρατής ή σχεδόν αποκλειστικός θηλασμός** (predominant breastfeeding): εκτός από το μητρικό γάλα παρέχονται στο βρέφος και άλλα υγρά όπως νερό, χυμό, διαλύματα επανυδάτωσης, αφεψήματα και βιταμίνες, μέταλλα ή φάρμακα.
- **Συμπληρωματικός θηλασμός** (complementary breastfeeding): το βρέφος λαμβάνει παράλληλα με το μητρικό γάλα και στέρεες τροφές.
- **Πλήρης μητρικός θηλασμός** (full breastfeeding): το άθροισμα αποκλειστικού και σχεδόν αποκλειστικού μητρικού θηλασμού. Αν από το σύνολο των βρεφών αφαιρεθούν αυτά που υπάγονται στην κατηγορία του πλήρους μητρικού θηλασμού εξάγεται ποσοστό συμπληρωματικό του πλήρους μητρικού θηλασμού, που αντιστοιχεί στα βρέφη που λαμβάνουν τροποποιημένο γάλα αγελάδος.
- **Μητρικός θηλασμός** (breastfeeding): θηλασμός, ανεξάρτητα αν είναι αποκλειστικός, σχεδόν αποκλειστικός ή σε συνδυασμό με τεχνητό γάλα ή άλλη τροφή. Αν από το σύνολο των βρεφών αφαιρεθούν αυτά που υπάγονται στην κατηγορία του μητρικού θηλασμού εξάγεται ποσοστό συμπληρωματικό του μητρικού θηλασμού, που αντιστοιχεί στα βρέφη που λαμβάνουν αποκλειστικά τροποποιημένο γάλα αγελάδος.

Αναγνωρισμένοι οργανισμοί έχουν εκδώσει συστάσεις για τη διάρκεια και το είδος του θηλασμού, με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) να συνιστά αποκλειστικό θηλασμό έως την ηλικία των 6 μηνών και συνέχιση του θηλασμού μαζί με κατάλληλα συμπληρωματικά τρόφιμα έως την ηλικία των 2 ετών ή παραπάνω [36] ενώ αντίστοιχα, η Αμερικανική Παιδιατρική Ακαδημία προτείνει αποκλειστικό θηλασμό για περίπου 6 μήνες, συνεχιζόμενο από θηλασμό παράλληλα με εισαγωγή συμπληρωματικών τροφών έως το πρώτο έτος ή και περισσότερο, για όσο αμοιβαία επιθυμείται από τη μητέρα και το βρέφος [37].

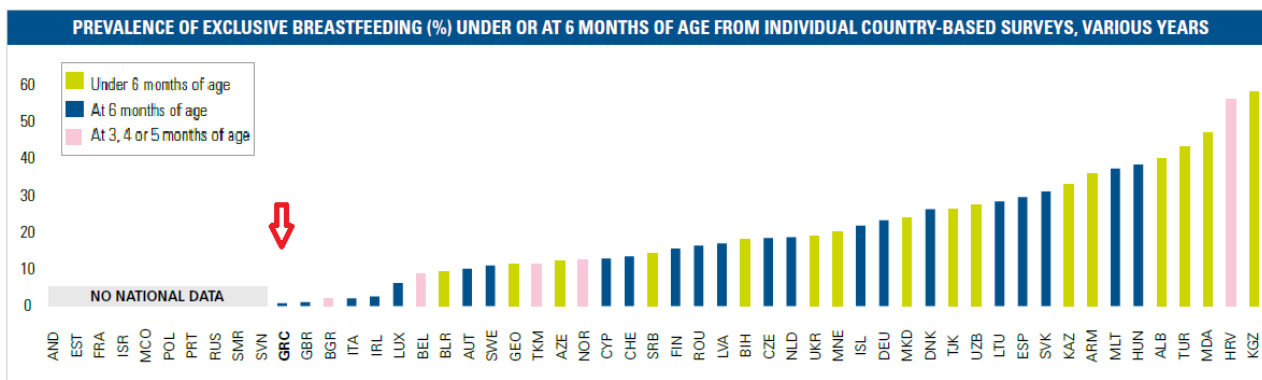
1.2.1 Οφέλη-επιδράσεις μητρικού θηλασμού

Τα οφέλη του μητρικού γάλακτος και του μητρικού θηλασμού έχουν επανειλημμένα αποδειχθεί και αφορούν τόσο το ίδιο το παιδί όσο και την μητέρα, την οικογένεια, τη δημόσια υγεία και την οικονομία [38]. Το μητρικό γάλα αποτελεί την ιδανική τροφή για το βρέφος για τη σωματική, νοητική και ψυχική του ανάπτυξη. Βραχυπρόθεσμα, παρέχει προστασία από τις λοιμώξεις και τις ασθένειες του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος, ενώ επίσης σχετίζεται με μείωση της εμφάνισης άσθματος, ατοπικής δερματίτιδας, κοιλιοκάκης, φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και αιφνίδιου βρεφικού θανάτου [37]. Μακροπρόθεσμα έχει συσχετισθεί με μείωση των ποσοστών εμφάνισης παχυσαρκίας, σακχαρώδη διαβήτη τύπου I, λευχαιμίας και λεμφώματος, ενώ φαίνεται να σχετίζεται και με την νοητική ανάπτυξη. Κατά συνέπεια, τα οφέλη του θηλασμού όσον αφορά τις χρόνιες παθήσεις μπορεί να έχουν σημαντικό αντίκτυπο και στη δημόσια υγεία και την οικονομία [37]. Τέλος, αξιολογήσιμες είναι οι επιδράσεις του θηλασμού στην υγεία της μητέρας, στην ψυχική ανάπτυξη του βρέφους αλλά και την ανάπτυξη του ψυχικού δεσμού μεταξύ τους [39].

1.2.2 Επιδημιολογικά στοιχεία για τον θηλασμό

Παρά τα αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία και την ανάπτυξη του βρέφους, τα ποσοστά των βρεφών στην Ευρώπη που θηλάζουν αποκλειστικά στους 6 μήνες ζωής ή λιγότερο, ήταν τα χαμηλότερα παγκοσμίως [40], με τα ποσοστά αυτά να διαφέρουν μεταξύ των διάφορων χωρών, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**.

Όσον αφορά την Ελλάδα, σύμφωνα με στοιχεία του ΠΟΥ, το 2009, θηλάζαν αποκλειστικά στους 6 μήνες ζωής μόλις το 0,4%-0,9% των βρεφών. Τα ιδιαίτερα αυτά χαμηλά ποσοστά μητρικού θηλασμού αναδεικνύονται και από την έρευνα του



Εικόνα 2 Αποκλειστικός θηλασμός στους 6 μήνες ανα χώρα, πηγή: WHO Regional Office for Europe grey literature from 2012 on breastfeeding.

Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού το 2009, σύμφωνα με την οποία, τις πρώτες ημέρες μετά τον τοκετό θήλασαν αποκλειστικά λιγότερες από τις μισές γυναίκες (41,1%), ενώ στο τέλος του πρώτου μήνα θήλαζαν αποκλειστικά μόνο μία στις πέντε (20,7%). Τα ποσοστά αυτά μειώθηκαν στους επόμενους μήνες και συγκεκριμένα 11,1% και 0,9 % στο τέλος του 3ου και 6ου μήνα αντίστοιχα [34]. Από τα στοιχεία αυτά φαίνεται πως στον ελληνικό πληθυσμό η συντριπτική πλειοψηφία των μητέρων δεν καταφέρνει να ακολουθήσει τις συστάσεις των οργανισμών για αποκλειστικό θηλασμό έως τους 6 μήνες.

1.2.3 Η επίδραση του μητρικού θηλασμού στην παιδική παχυσαρκία

Νεότερα δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες και μετα-αναλύσεις, εκτός από τα πολυάριθμα άλλα οφέλη του μητρικού θηλασμού, υποδεικνύουν και μία μετρίου βαθμού προστατευτική δράση έναντι της εμφάνισης παιδικής παχυσαρκίας, αλλά η ελάχιστη διάρκεια θηλασμού που απαιτείται για να μειωθεί ο κίνδυνος παχυσαρκίας στα παιδιά παραμένει ακόμα αβέβαιη [41].

Δυσκολίες στην μελέτη της επίδρασης του μητρικού θηλασμού

Αν και συνολικά η επιρροή που έχει ο θηλασμός στον κίνδυνο για την εμφάνιση παχυσαρκίας σε παιδιά, εφήβους και ενήλικες φαίνεται να είναι μετρίως προστατευτική, υπάρχουν αρκετές έρευνες όπως αυτή των Gillman et. al. [42] που αντικρούουν την υπόθεση αυτή με τα αποτελέσματά τους να δείχνουν πως δεν

υπάρχει επίδραση. Τα αποτελέσματα των μελετών πάνω σε αυτό το θέμα είναι δύσκολο να συγκριθούν καθώς έχουν διαφορετικά κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού των ατόμων ενώ ακόμα δεν χρησιμοποιούνται πάντα οι ίδιοι ορισμοί για τον αποκλειστικό θηλασμό και τη διάρκειά του, η ίδια κατηγοριοποίηση του θηλασμού ή οι ίδιοι ορισμοί για την παιδική παχυσαρκία. [41]. Επίσης, φαίνεται πως υπάρχουν πολλοί συγχετιτικοί παράγοντες στη σχέση θηλασμού-παχυσαρκίας, όπως το βάρος της μητέρας πριν την εγκυμοσύνη, η μόρφωσή της, το κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο κ.α. [43], που πιθανώς αποκρύπτουν ή/και αλλάζουν τελικά τον ρόλο του θηλασμού [41]. Τέλος, έχει αναφερθεί πως η φυλή ή/και η εθνικότητα μπορεί να επηρεάζουν την επίδραση του θηλασμού στην εμφάνιση παιδικής παχυσαρκίας [44].

Νεότερα δεδομένα

Στην πιο πρόσφατη μετανάλυση των Yan et al. [45] στην οποία συμπεριλήφθηκαν έρευνες από 12 χώρες συμπεριλαμβανομένης και μίας έρευνας που αφορά ελληνικό πληθυσμό, φάνηκε πως ο θηλασμός είναι ένας σημαντικός προστατευτικός παράγοντας κατά της παιδικής παχυσαρκίας, με τα παιδιά που θηλάσαν (όχι απαραίτητα αποκλειστικά) για ≥ 7 μήνες να υπολογίζεται πως έχουν σημαντικά λιγότερες πιθανότητες να γίνουν παχύσαρκα (AOR = 0.79, 95% CI: 0,70, 0.88), ενώ εκείνα που θηλάσαν για < 3 μήνες να έχουν περίπου 10% μείωση του κινδύνου παιδικής παχυσαρκίας. Οι ερευνητές ανέφεραν πως τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μια δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της διάρκειας του θηλασμού και της μείωσης του κινδύνου παιδικής παχυσαρκίας.

Η δοσοεξαρτώμενη αυτή συσχέτιση αναφέρεται και στην μετα-ανάλυση των Harder et al. [46], στην οποία βρέθηκε πως η διάρκεια του θηλασμού συνδέεται αντίστροφα και γραμμικά με τον κίνδυνο υπέρβαρου και συγκεκριμένα, πως από τον πρώτο μήνα θηλασμού και έπειτα, ο κίνδυνος της μεταγενέστερα εμφάνισης υπέρβαρου μειώνεται κατά 4%/μήνα θηλασμού, μέχρι και τη μείωση άνω του 30%, φτάνοντας σε ένα πλατώ στους 9 μήνες θηλασμού. Η επίδραση αυτή ήταν ανεξάρτητη του ορισμού του υπέρβαρου και της ηλικίας των ατόμων κατά την παρακολούθηση, ενώ επειδή αναλύθηκαν και μελέτες που υπολόγιζαν τον μικτό τύπου θηλασμό, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως πέρα από τον αποκλειστικό θηλασμό, μεγαλύτερης διάρκειας μικτού τύπου θηλασμού έως και τους 9 μήνες οδηγεί σε μεγαλύτερη μείωση του κινδύνου εμφάνισης υπέρβαρου στη μετέπειτα ζωή.

Στην επίσης πρόσφατη μετανάλυση των Weng et al [47] στην οποία αναζητήθηκαν διάφοροι παράγοντες κινδύνου για την παιδική παχυσαρκία κατά τη διάρκεια της βρεφικής περιόδου, όσον αφορά τον θηλασμό οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως τα βρέφη τα οποία θήλασαν κάποια στιγμή στο πρώτο έτος της ζωής τους (αποκλειστικά ή/και με μικτού τύπου) μείωσαν τις πιθανότητες να είναι υπέρβαρα στην παιδική ηλικία κατά 15% σε σχέση με τα βρέφη που τρέφονταν αποκλειστικά με βρεφικό γάλα. Όμως μικτές ήταν οι ενδείξεις για την προστατευτική δράση της μεγαλύτερης διάρκειας του θηλασμού με τις 4 από τις 5 μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στην μετανάλυση και είχαν στοιχεία για τη διάρκεια του θηλασμού, να μην αναφέρουν σημαντική σχέση μεταξύ της διάρκειας και της παιδικής παχυσαρκίας.

Όσον αφορά την επίδραση του θηλασμού στον ΔΜΣ όχι μόνο στην παιδική και εφηβική ηλικία αλλά και στην ενήλικη ζωή, οι Owen et al. [48] υπολόγισαν πως μεταξύ των παιδιών που θήλασαν με μητρικό γάλα και των παιδιών που θήλασαν μόνο με βρεφικό γάλα, ο μέσος όρος του ΔΜΣ κατά τη διάρκεια της ζωής ήταν μικρότερος, αν και η διαφορά υπολογίστηκε μικρή και έντονα επηρεαζόμενη από πολλούς συγχρητικούς παράγοντες.

Ο θηλασμός ήταν ένας από τους 7 στατιστικά σημαντικούς παράγοντες που συμπεριλήφθηκαν στον αλγόριθμο για την πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης παιδικής παχυσαρκίας που δημιούργησαν οι Weng et al. [49] διότι υπολογίστηκε πως τα βρέφη που δεν είχαν θηλάσει καθόλου κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους, είχαν 25% μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι υπέρβαρα στην παιδική ηλικία από τα παιδιά που είχαν θηλάσει.

Δεδομένα από τον ελληνικό πληθυσμό

Τα περισσότερα δεδομένα από τον ελληνικό πληθυσμό που αφορούν τη σχέση θηλασμού-παχυσαρκίας προέρχονται από μελέτες για τους περιγεννητικούς παράγοντες κινδύνου για την παιδική παχυσαρκία.

Οι Papandreou et al. [50] οι οποίοι μελέτησαν 205 υπέρβαρα και παχύσαρκα παιδιά ηλικίας 7-15 ετών από από τη Θεσσαλονίκη, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η διάρκεια του θηλασμού (>3μήνες) ήταν προστατευτικός παράγοντας κατά της παιδικής παχυσαρκίας (OR 0,88 p=0,001).

Στα αποτελέσματα από τη μελέτη των Panagiotakos et al. [51] σε δείγμα 700 παιδιών ηλικίας 10-12 ετών, ο θηλασμός διάρκειας >3 μήνες συσχετίστηκε με 72% μικρότερη πιθανότητα στα αγόρια να είναι υπέρβαρα ή παχύσαρκα και 81% μικρότερη πιθανότητα στα κορίτσια. Η προστατευτική επίδραση του θηλασμού φάνηκε πως επιτυγχάνεται μόνο όταν ο θηλασμός διαρκεί για μία περίοδο τουλάχιστον 3 μηνών.

Οι Moschonis et al. [52] σε αντιπροσωπευτικό δείγμα 2374 παιδιών προσχολικής ηλικίας 1-5 ετών, υπολόγισαν πως ο αποκλειστικός μητρικός θηλασμός για τους πρώτους 6 μήνες της ζωής μείωσε τον κίνδυνο του υπερβολικού βάρους στην ηλικία των 6 και 12 μηνών, αλλά πως δε υπάρχει κάποια επίδραση στις ηλικίες από 1 έως 5 ετών. Αντίστοιχα, οι Risvas et al. [53] δεν βρήκαν κάποια συσχέτιση μεταξύ της διάρκειας του αποκλειστικού θηλασμού και της εμφάνισης παιδικής παχυσαρκίας.

1.2.4 Πιθανοί μηχανισμοί επίδρασης του θηλασμού στην εμφάνιση παιδικής παχυσαρκίας

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η διατροφή του βρέφους κατά τους πρώτους μήνες της ζωής επιδρά τόσο στην μετέπειτα εμφάνιση παχυσαρκίας όσο και σε άλλους δείκτες υγείας δεν είναι ακόμα ξεκάθαροι. Όσον αφορά τον μητρικό θηλασμό, αρκετοί είναι οι παράγοντες που πιθανώς εμπλέκονται, όπως η σύνθεση του γάλακτος (θρεπτικές ουσίες και βιοδραστικοί παράγοντες), η στιγμή της εισαγωγής των στερεών τροφών, η ποσότητα της προσλαμβανόμενης τροφής και η ανάπτυξη ρυθμιστικών μηχανισμών πρόσληψης τροφής [54]. Συνοπτικά, έχουν προταθεί σε διάφορες αναλύσεις οι παρακάτω μηχανισμοί:

Πτυχές της συμπεριφοράς:

- **Μοτίβο σίτισης:** φαίνεται πως η σίτιση του βρέφους από μπουκάλι σε σχέση με τη σίτιση από το στήθος συνδέεται με υψηλότερη αύξηση του βάρους κατά το πρώτο έτος της ζωής και πιθανώς σχετίζεται με τον μεγαλύτερο έλεγχο που έχουν τα βρέφη πάνω στον καταναλισκόμενο όγκο γάλακτος και με την ανάπτυξη αυτορυθμιζόμενων μηχανισμών πρόσληψης τροφής, καθώς τρέφονται όταν το ζητούν κάτι που δεν διευκολύνεται από τη σίτιση με φόρμουλα [55].
- **Ψυχολογικές και συμπεριφορικές πτυχές:** η διαίτα της μητέρας επηρεάζει τη γεύση του μητρικού γάλακτος και υπάρχουν ενδείξεις ότι η εμπειρία με διαφορετικές γεύσεις κατά τη διάρκεια του θηλασμού διευκολύνει την αποδοχή των νέων και

ποικίλων τροφίμων από το παιδί στο μέλλον [54]. Ακόμα οι θετικές πτυχές του θηλασμού που αφορούν τη σχέση μητέρας-βρέφους, μπορεί να συμβάλλουν σε μία ομαλότερη διατροφική μετάβαση και στο σχηματισμό υγιεινότερων διατροφικών συνηθειών [56].

Σύνθεση γάλακτος:

- Μόρια ελέγχου της όρεξης: τὸ σύστημα ελέγχου της όρεξης κατά τη διάρκεια της βρεφικής ηλικίας δεν έχει ακόμη ωριμάσει και είναι αποδεκτό ότι το περιβάλλον στο οποίο εκτείνεται το έντερο του βρέφους βοηθά στην ανάπτυξη του ελέγχου της όρεξης [52]. Ορεξιογόνες ορμόνες που ανακαλύφθηκαν στο μητρικό γάλα, ενώ αντίθετα δεν υπάρχουν στις βρεφικές φόρμουλες, υποδηλώνουν έναν ρόλο στη ρύθμιση της όρεξης σε μωρά που θηλάζουν [55].
- Πρόσληψη πρωτεΐνης: είναι πιθανόν οι πρωτεΐνες να ρυθμίζουν την όρεξη τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα. Η υψηλότερη πρόσληψη πρωτεϊνών από νωρίς στη ζωή έχει συσχετιστεί με το υπέρβαρο στην παιδική ηλικία, ενώ υπάρχουν κάποια στοιχεία που δείχνουν ότι η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των βρεφικών σκευασμάτων σε σύγκριση με το μητρικό γάλα μπορεί να σχετίζεται και με προβλήματα υγείας στα πρώτα χρόνια της ζωής [55].
- Γαστρική κένωση: ο όγκος και η σύνθεση της τροφής επηρεάζουν τη γαστρική κένωση και εν συνεχεία η γαστρική κένωση επηρεάζει τη ρύθμιση της όρεξης και τη μετέπειτα πέψη και την απορρόφηση της τροφής. Η βρεφική φόρμουλα οδηγεί σε αργότερη κένωση του στομάχου απ' ό τι το μητρικό γάλα και αυτό σχετίζεται εν μέρη με την υψηλότερη αναλογία καζεΐνης προς ορρού στη φόρμουλα σε σύγκριση με μητρικό γάλα, στα βιοενεργά πεπτίδια προερχόμενα από την καζεΐνη και στο σύστημα των ορεξιογόνων ορμονών στο μητρικό γάλα [55].
- Μεταβολική αποτύπωση: έχει μελετηθεί πώς μία πρώιμη διατροφική εμπειρία κατά τη διάρκεια μιας κρίσιμης και συγκεκριμένης περιόδου ανάπτυξης θα μπορούσε να οδηγήσει σε μία μακροχρόνια και δια βίου επίδραση [57]. Έτσι, έχει προταθεί πως η συγκεκριμένη σύνθεση του μητρικού γάλακτος θα μπορούσε να εμπλέκεται στη μεταβολική αποτύπωση, αλλάζοντας, για παράδειγμα, τον αριθμό ή/και το μέγεθος των λιποκυττάρων ή επάγωντας την διαφοροποίηση του μεταβολισμού παρεμβαίνοντας στο ρυθμιστικό μηχανισμό του υποθαλάμου, διαμορφώνοντας ενδοκρινείς αποκρίσεις, παρεμβαίνοντας στην έκφραση των γονιδίων ή ακόμη

μέσω άλλων μηχανισμών που δεν έχουν οριστεί ακόμα [54].

- Έχει προταθεί πως οι ευεργετικές επιδράσεις του μητρικού θηλασμού μπορεί εν μέρει να μεσολαμβάνονται από την καλύτερη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας που προκαλείται από ορισμένα συστατικά του γάλακτος (άπεπτων ολιγοσακχαριτών) [58].

Επιγενετικές επιδράσεις του μητρικού γάλακτος

Η πολυπλοκότητα του νευροενδοκρινικού δικτύου που ρυθμίζει το ενεργειακό ισοζύγιο και ο μεγάλος αριθμός βιοδραστικών παραγόντων στο ανθρώπινο γάλα, υποδειλώνει τον τεράστιο αριθμό των πιθανών επιγενετικών επιδράσεων του μητρικού γάλακτος [54] και γι αυτό ο ρόλος του μητρικού γάλακτος και των συστατικών του στην ρύθμιση των επιγενετικών αλλαγών αποτελούν πεδίο μελέτης [58]. Το γεγονός πως ο προγραμματισμός που πραγματοποιείται στα πρώτα στάδια της ζωής μπορεί να μεταβάλλει τη λειτουργία των ιστών και την ανταπόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα έπεται πως οι διατροφικές εμπειρίες στα πρώτα στάδια της ζωής μπορεί να καθορίζουν σε έναν βαθμό την ανταπόκριση του ατόμου σε διάφορα διατροφικά ερεθίσματα στην μετέπειτα ζωή του [57]. Σε επιγενετικό επίπεδο η διατροφική κατάσταση επηρεάζει την έκφραση των γονιδίων και μέσω των μεταγραφικών παραγόντων όπως οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς των πολλαπλασιαστών των υπεροξυσωμάτων (Peroxisome proliferator activated receptors PPARs) ή των πυρηνικών υποδοχέων [57].

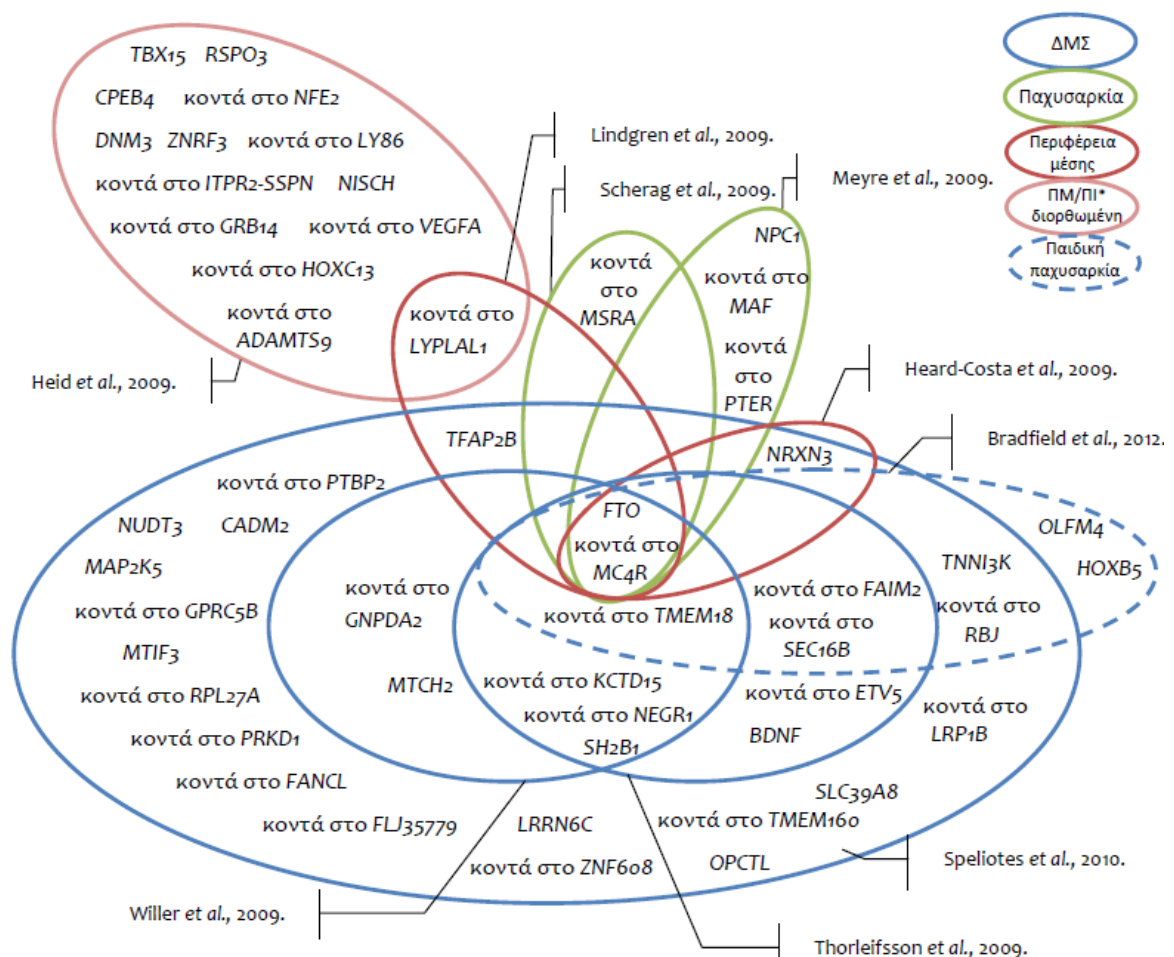
Το περιεχόμενο του μητρικού γάλακτος σε θρεπτικά συστατικά είναι ποιοτικώς και ποσοτικώς διαφορετικά από αυτό των βρεφικών γάλακτων. Επιπλέον, οι διάφοροι βιοδραστικοί παράγοντες που βρίσκονται στο ανθρώπινο γάλα, όπως αυξητικές ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες, οι οποίοι δρουν στην ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και τη λειτουργική ωρίμανση συγκεκριμένων οργάνων, επηρεάζουν πολλές πτυχές της ανάπτυξης [54]. Σε σχέση με τον θηλασμό ή και την περιεκτικότητά τους στο μητρικό γάλα έχουν μελετηθεί αρκετές ορμόνες που εμπλέκονται στην δημιουργία της παχυσαρκίας, όπως η ινσουλίνη και ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1R), η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη, η γκρελίνη, η ομπεστατίνη και η ρεζιστίνη, αλλά και φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως η ιντερλευκίνη 6 και ο TNF-alpha [41].

1.3 Γενετική της παχυσαρκίας

1.3.1 Περιοχές γονιδιώματος για δείκτες παχυσαρκίας ενηλίκων

Τα τελευταία έτη έχει μελετηθεί εκτεταμένα ο ρόλος της γενετικής στην εμφάνιση της πολυπαραγοντικής παχυσαρκίας και έχουν αναγνωρισθεί συγκεκριμένοι γενετικοί τόποι που συσχετίζονται με διάφορες παραμέτρους της παχυσαρκίας στους ενήλικες και στα παιδιά, όπως συγκεντρωτικά απεικονίζονται στην **Εικόνα 3**.

Όσον αφορά το ΔΜΣ το FTO ήταν από τις πρώτες περιοχές του γονιδιώματος που σχετίστηκε με την εμφάνιση παχυσαρκίας στους ενήλικες όσο και στα παιδιά [59]. Πολλαπλοί γενετικοί τόποι έχουν σχετιστεί με το ΔΜΣ στους ενήλικες μέσα από



Εικόνα 3 Περιοχές του γονιδιώματος που συσχετίστηκαν με δείκτες παχυσαρκίας σε μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος [60].

μεγάλες GWAS αναλύσεις όπως η πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση του GIANT consortium [61] στην οποία εντοπίστηκαν 32 κοινοί πολυμορφισμοί με ισχυρή συσχέτιση με τον ΔΜΣ (FTO, TMEM18, MC4R, GNPDA2, BDNF, NEGR1, SH2B1, ETV5, MTCH2, KCTD15, SEC16B, FAIM2, TFAP2B2B, NRXN3, RBJ, GPRC5BC, MAP2K5, QPCTL, TNNT3, SLC39A8, FLJ35779, LRRN6C, TMEM160, FANCL, CADM2, PRKD1, LRP1B, PTBP2, MTIF3, ZNF608, RPL27A και NUDT3).

Αντίστοιχα έχουν πραγματοποιηθεί αναλύσεις συσχέτισης του γονιδιώματος και για άλλες παραμέτρους της παχυσαρκίας, όπως η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια ισχίων και ο λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχίων (WHR) [62], με τις συσχετίσεις που προκύπτουν να αποδεικνύουν ότι η γενετική ρύθμιση της κατανομής του σωματικού λίπους περιλαμβάνει γενετικούς τόπους και διαδικασίες σε μεγάλο βαθμό διαφορετικές από εκείνες που επηρεάζουν τον ΔΜΣ, ενώ ακόμα πολλοί γενετικοί τόποι που σχετίστηκαν με τον WHR εμφάνιζαν διμορφισμό μεταξύ αντρών και γυναικών [63]. Στην πρόσφατη μετα-ανάλυση GWAS δεδομένων των Shungin et al. [62] εντοπίστηκαν 49 γενετικοί τόποι, 16 ήδη γνωστοί και 33 καινούργιοι, σχετιζόμενοι με τον WHR μετά από προσαρμογή για τον ΔΜΣ (DCST2, GORAB, MEIS1, CALCRL, PLXND1, LEKR1, NMU, FAM13A, SPATA5-FGF2, MAP3K1, FGFR4, BTNL2, HMGA1, HOXA11, NKX26, MSC, ABCA1, SFXN2, MACROD1-VEGFB, CCDC92, KLF13, RFX7, SMAD6, CMIP, PEMT, KCNJ2, BCL2, JUND, CEBPA, BMP2, GDF5, EYA2, SNX10, TBX15-WARS2, DNMT3-PIGC, LYPLAL1, GRB14-COBLL1, PPARG, PBRM1, ADAMTS9, TNFAIP8-HSD17B4, CPEB4, LY86, VEGFA, RSPO3, NFE2L3, ITPR2-SSPN, HOXC13, ZNRF3). Από αυτούς, οι 20 πολυμορφισμοί είχαν στατιστικά σημαντικά διαφορετικές επιδράσεις μεταξύ των δύο φύλων και μάλιστα οι 19 από αυτούς εμφάνιζαν μεγαλύτερη επίδραση στις γυναίκες.

1.3.2 Περιοχές γονιδιώματος για δείκτες παχυσαρκίας σε παιδιά - εφήβους

Για τη συσχέτιση του γονιδιώματος με την παιδική παχυσαρκία πραγματοποιήθηκε το 2012 η πρώτη μεγάλη μετα-ανάλυση 14 μελετών, η EGG consortium (ασθενείς: ΔΜΣ $\geq 95^\circ$ εκατοστημόριο (n=5.530) και μάρτυρες: ΔΜΣ $< 50^\circ$ εκατοστημόριο (n=8.318)) [64]. Μετά την ανάλυση 2,7 εκατομμυρίων SNPs, εντοπίστηκαν 9 περιοχές του γονιδιώματος που σχετίστηκαν στατιστικώς σημαντικά με την παιδική παχυσαρκία (OLFM4, HOXB5, FTO, TMEM18, POMC, MC4R, FAIM2, TNNT3 και SEC16B), από τις οποίες οι 7 τελευταίες είχαν ήδη αναφερθεί προηγουμένως σε μελέτες παιδιατρικού

πληθυσμού. Ακόμα, το FTO γονίδιο εμφάνισε την πιο ισχυρή συσχέτιση και τα γονίδια TNNI3K και POMC ανιχνεύτηκαν σχετικά εύκολα στον μικρό δείγμα παιδιών, αν και για τις αναλύσεις σε ενήλικες είχε απαιτηθεί μεγάλο μέγεθος δείγματος.

Όσον αφορά την Ελλάδα, έχει βρεθεί ότι τα αλληλόμορφα υψηλού κινδύνου rs17782313 του γονιδίου MC4R και rs9939609 του γονιδίου FTO έχουν σημαντική επίπτωση στην εμφάνιση παχυσαρκίας στα παιδιά και εφήβους, επηρεάζοντας τον ΔΜΣ κυρίως μέσω της αύξημένης πρόσληψης βάρους, ενώ ακόμα, η δράση των γονιδίων αυτών είναι συνεργιστική με αποτέλεσμα η συνδυασμένη παρουσία 3 ή παραπάνω αλληλόμορφων κινδύνου τόσο του FTO όσο και του MC4R γονιδίων να οδηγεί σε 4 φορές υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης παιδικής και εφηβικής παχυσαρκίας [65].

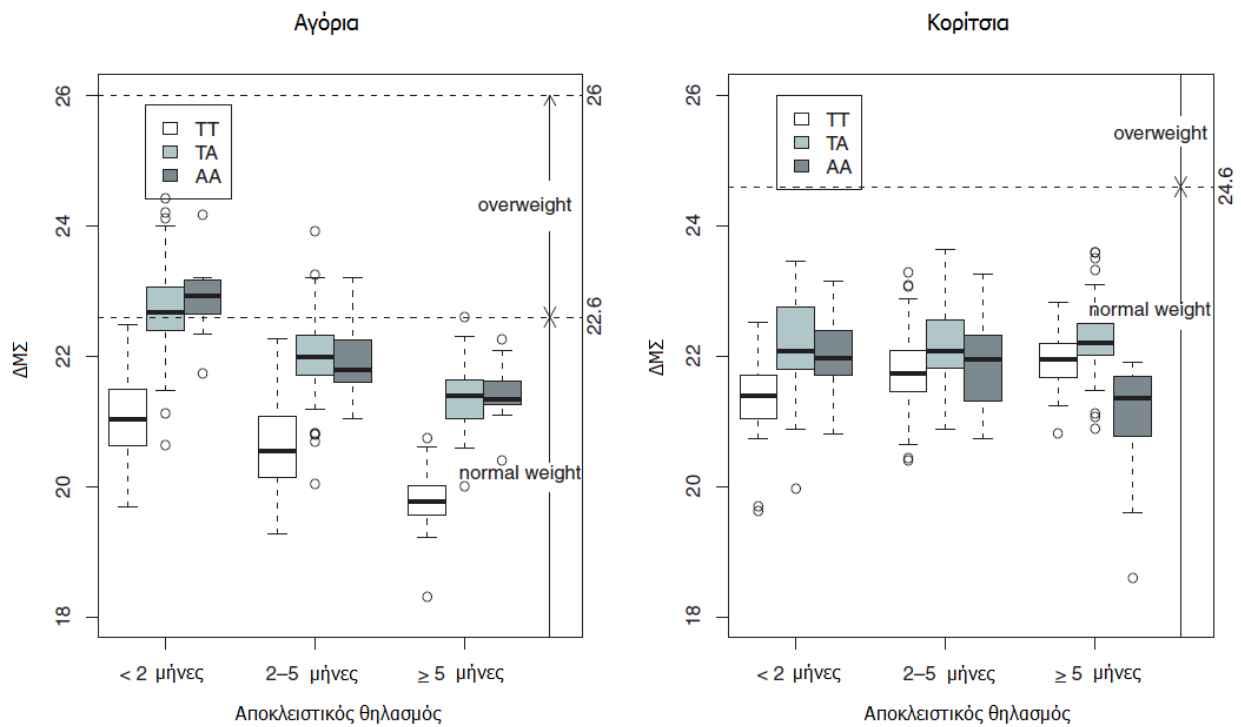
Στη μελέτη TEENAGE (TEENS of Attica: Genes & Environment) εξετάστηκε σε δείγμα 707 Ελλήνων εφήβων η επίδραση 34 ήδη γνωστών γενετικών τόπων που συνδέονται με τον ΔΜΣ ενηλίκων και παιδιών [66]. Οι πολυμορφισμοί κοντά στα γονίδια FTO, TMEM18, FAIM2, QPCTL, ZNF608, RBJ, TFAP2B και NEGR1 συσχετίστηκαν με τον ΔΜΣ των εφήβων ή/και τον κίνδυνο παχυσαρκίας.

1.3.3 Ο ρόλος του θηλασμού στη γενετική της παχυσαρκίας

Καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής, τα μονοπάτια που οδηγούν από οποιαδήποτε δεδομένη γενετική προδιάθεση, μπορούν να τροποποιηθούν από διατροφικούς και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έτσι, οι επιδράσεις ενός ή πολλαπλών SNPs δύνανται να μεταβληθούν τόσο από τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση, όσο και από την επίδραση επιγενετικών παραγόντων που τελικά ελέγχουν την έκφραση αυτών των γονιδίων [57]. Όσον αφορά τη γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση παχυσαρκίας, ένας από τους επιγενετικούς παράγοντες που έχει μελετηθεί για την τροποποιητική του δράση είναι και ο μητρικός θηλασμός [58].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η προοπτική έρευνα των Abarin et al [67], από την οποία εξήχθησε το συμπέρασμα πως παρ' όλο που ο γονότυπος για το *FTO* γονίδιο συσχετίζεται με αυξημένο ΔΜΣ στα παιδιά και στους ενήλικες, ο αποκλειστικός θηλασμός πιο μακράς διάρκειας θα μπορούσε να αντιστρέψει τη γενετική αυτή συσχέτιση. Πιο αναλυτικά, οι ερευνητές παρακολούθησαν 1096 παιδιά από τη Δυτική Αυστραλία έως την ηλικία των 14 ετών και κατέγραψαν, μεταξύ άλλων, το χρονικό διάστημα που θήλασαν αποκλειστικά με μητρικό γάλα και το ΔΜΣ καθ' όλη τη

διάρκεια της ανάπτυξης, ενώ πραγματοποιήθηκε γονοτύπηση για τον πολυμορφισμό rs9939609 του FTO γονιδίου. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων, υποδεικνύουν την επίδραση της διάρκειας του αποκλειστικού θηλασμού στο ΔΜΣ των αγοριών και κοριτσιών στην ηλικία των 14 ετών, όπως γραφικά διαφαίνεται στο διάγραμμα της **Εικόνας 4**.



Εικόνα 4 Ποσοστό ατόμων στις διαφορετικές κατηγορίες ΔΜΣ και γονότυπου ηλικίας 14 ετών από τη μελέτη Raine [67].

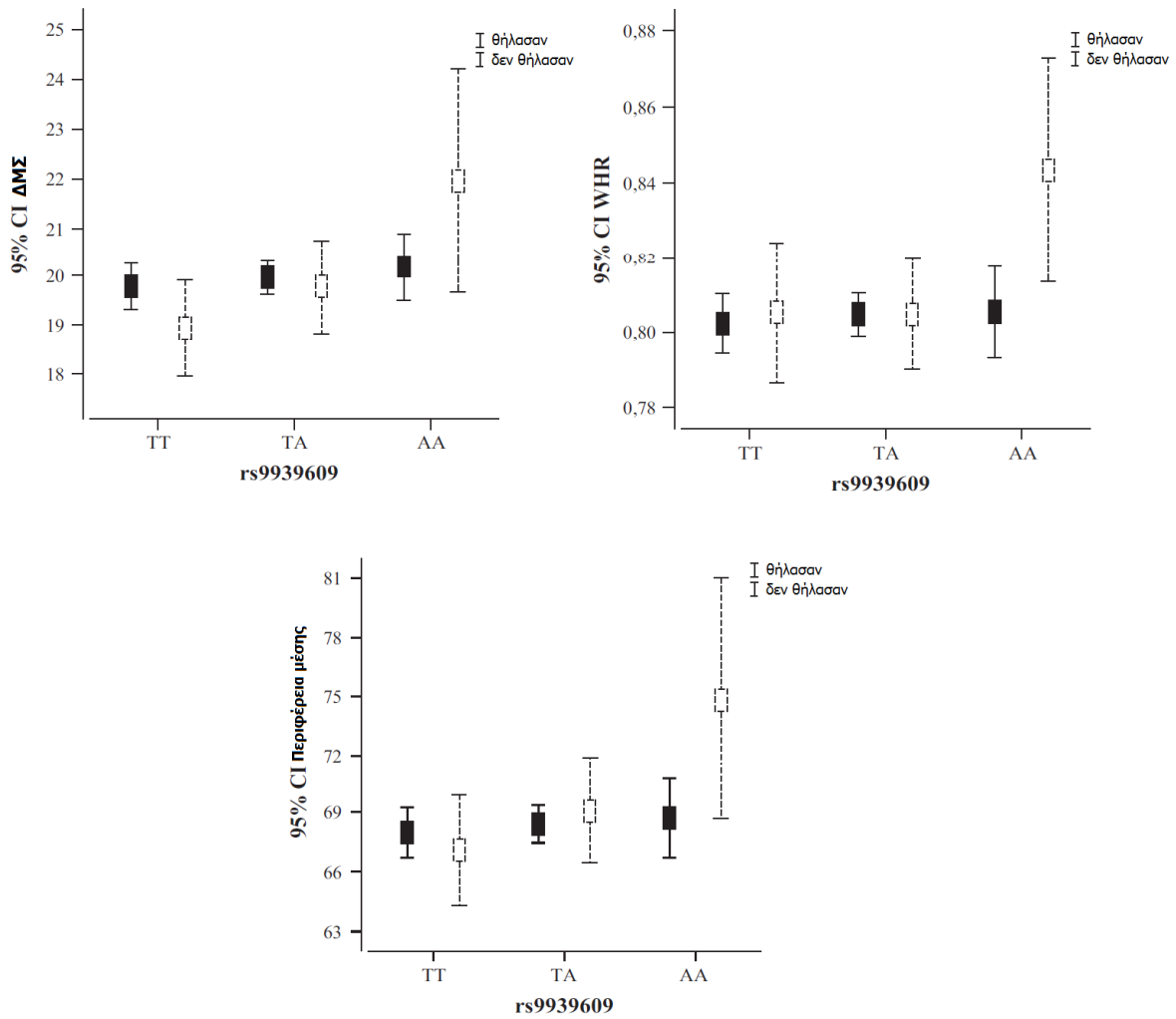
Συγκεκριμένα, αυτό που παρατηρήθηκε στα αγόρια, είναι η επίδραση του αποκλειστικού θηλασμού σε όλες τις κατηγορίες του γονότυπου, με εμφανή μείωση του μέσου όρου του ΔΜΣ καθώς αυξάνεται η διάρκεια του αποκλειστικού θηλασμού. Χαρακτηριστικό είναι πως στα αγόρια που φέρουν το αλληλόμορφο A, που θεωρείται το αλληλόμορφο «κινδύνου», ο μέσος όρος του ΔΜΣ όσων θήλασαν λιγότερο από 2 μήνες είναι στην κατηγορία του υπέρβαρου, ενώ ο μέσος όρος του ΔΜΣ όσων θήλασαν παραπάνω από 2 μήνες είναι στην κατηγορία του φυσιολογικού. Από τα

αποτελέσματα φάνηκε πως τα αγόρια με γονότυπο AT και AA που θήλασαν αποκλειστικά για 6 μήνες είχαν την ίδια εξέλιξη του ΔΜΣ με τα αγόρια με γονότυπο TT που δεν είχαν θηλάσει καθόλου. Στα κορίτσια, αυτή η επίδραση δεν είναι τόσο εμφανής, παρ' όλα αυτά παρατηρείται μία μείωση του μέσου όρου του ΔΜΣ μεταξύ των κοριτσιών με γονότυπο AA όσο αυξάνει η διάρκεια του αποκλειστικού θηλασμού.

Ακόμα, οι ερευνητές κατέληξαν πως το μοτίβο της συχέτισης μεταξύ του ΔΜΣ, του γονότυπου για το FTO γονίδιο και του αποκλειστικού θηλασμού είναι περίπλοκο και διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων. Μόνο στα κορίτσια παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ του αποκλειστικού θηλασμού και του γονότυπου, με τα κορίτσια που φέρουν το γονότυπο AT να έχουν μία ουσιώδη μείωση του ΔΜΣ κατά 0,119 kg/m² (95% CI 0.001–0.237; P=0.043) για κάθε μήνα αποκλειστικού θηλασμού και κατά 0,180 kg/m² (95% CI 0.002–0.358; P=0.045) στους φορείς του γονοτύπου AA.

Η επίδραση του θηλασμού στην συσχέτιση του *γονιδίου FTO* με δείκτες παχυσαρκίας έχει μελετηθεί και σε ελληνικό παιδιατρικό πληθυσμό από τους Dedoussis et al [68], χωρίς όμως να έχει γίνει διαχωρισμός μεταξύ αποκλειστικού μητρικού θηλασμού και άλλης κατηγορίας μητρικού θηλασμού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μεταξύ των παιδιών που θήλασαν για χρονικό διάστημα μικρότερο του ενός μηνός, οι φορείς του A αλληλομόρφου του FTO γονιδίου είχαν υψηλότερο ΔΜΣ, WHR και περιφέρεια μέσης, ενώ αντίθετα στα παιδιά που είχαν θηλάσει για περισσότερο από ένα μήνα δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στους παραπάνω δείκτες παχυσαρκίας ακόμα και μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό γονότυπο για το FTO γονίδιο (**Εικόνα 5**). Το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξαν τελικά οι ερευνητές ήταν πως η περίοδος τουλάχιστον ενός μηνός θηλασμού σχετίζεται με μείωση των δεικτών παχυσαρκίας (ΔΜΣ, WHR, δερματοπτυχή τρικεφάλου) σε παιδιά διαφορετικών ηλικιών που είναι ομόζυγα για το αλληλόμορφο A του FTO γονιδίου, αν και για όλα τα άτομα συνολικά δεν φάνηκε κάποια προστατευτική επίδραση του θηλασμού στους δείκτες παχυσαρκίας. Τα αποτελέσματα αυτά δεν επαληθεύτηκαν στη Βρετανική μελέτη ALSPAC (Avon Longitudinal Study of Parents and Children).

Ο τροποποιητικός ρόλος του μητρικού θηλασμού έχει μελετηθεί και στην επίδραση του *PPARG2 γονιδίου* σε δείκτες παχυσαρκίας στους εφήβους [69]. Το δείγμα των εφήβων της μελέτης HELENA (The Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence) προερχόταν από 10 Ευρωπαϊκές πόλεις, μεταξύ των οποίων και δύο ελληνικές (Αθήνα και Ηράκλειο) και παρ' όλο που δεν βρέθηκε κάποια σημαντική



Εικόνα 5 Διάστημα εμπιστοσύνης (CI %) για τον ΔΜΣ, WHR και την περιφέρεια μέσης με βάση τον γονότυπο για το FTO γονίδιο, ανάλογα με την κατηγορία θηλασμού στην μελέτη GENDAI (τα άτομα που θήλασαν απεικονίζονται με μαύρο χρώμα και τα άτομα που δεν θήλασαν με λευκό) [68].

συσχέτιση μεταξύ του Pro12Ala πολυμορφισμού και των δεικτών παχυσαρκίας (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης και δερματοπτυχές), οι ερευνητές ανίχνευσαν μία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του Pro12Ala πολυμορφισμού και του θηλασμού κατά την εξέταση του ΔΜΣ, της περιφέρειας μέσης και των δερματοπτυχών. Συγκεκριμένα, από τα άτομα τα οποία δεν είχαν θηλάσει οι φορείς του Ala12 αλληλομόρφου είχαν υψηλότερες τιμές των δεικτών παχυσαρκίας σε σχέση με τα άτομα που ήταν φορείς του Pro12Pro αλληλομόρφου, ενώ αντίθετα δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των ατόμων που είχαν θηλάσει, ανεξάρτητα από τον γονότυπο για το PPARG2 γονίδιο ή τη διάρκεια του θηλασμού. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα για την επίδραση του θηλασμού στην σχέση του PPARG2 Pro12Ala αλληλομόρφου με δείκτες παχυσαρκίας έχουν βρεθεί και σε παιδιά ηλικίας 1,5 έτους [70].

Ακόμα, η μείωση της μεθυλίωσης του *γονιδίου της λεπτίνης* θα μπορούσε να είναι ένας από τους μηχανισμούς με τους οποίους ο θηλασμός συμβάλλει στην προστασία έναντι της παιδικής παχυσαρκίας, σύμφωνα με την έρευνα των Obermann-Borst et al [71]. Τα παιδιά στην ηλικία των 17 μηνών που είχαν θηλάσει από 1 έως 3 μήνες είχαν υψηλότερη συγκέντρωση λεπτίνης ορού από τα παιδιά που τράφηκαν με βρεφικό γάλα (2.8 vs. 2.6 nmol/l; $P = 0.025$), ενώ ακόμα, η διάρκεια του θηλασμού συσχετίστηκε αρνητικά με τη μεθυλίωση του γονιδίου της λεπτίνης (-2.9% ; $P = 0.011$). Δεδομένου ότι λιγότερη μεθυλίωση του γονιδίου της λεπτίνης οδηγεί σε αυξημένη έκφραση και τελικά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις λεπτίνης, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το μητρικό γάλα πιθανώς εμπλέκεται στη νευροενδοκρινή ρύθμιση της όρεξης και ίσως αυτός είναι ένας μηχανισμός με τον οποίο ο θηλασμός δρα προστατευτικά έναντι της παιδικής παχυσαρκίας.

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών ενισχύουν την άποψη πως ένας περιγεννητικός παράγοντας (στη συγκεκριμένη περίπτωση ο θηλασμός) μπορεί να μεταβάλλει τη φαινοτυπική έκφραση ενός γονιδίου και υποστηρίζουν την υπόθεση πως ο θηλασμός έχει πιθανώς προστατευτική επίδραση έναντι του κινδύνου εμφάνισης παχυσαρκίας σε μία ομάδα όμως γενετικά προδιαθετημένων ατόμων [69].

2 ΣΚΟΠΟΣ

Έχει αναγνωριστεί πως η αιτιολογία της κοινής παχυσαρκίας είναι πολυπαραγοντική και μάλιστα είναι ένας συνδυασμός γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, αλλά και των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων. Ο θηλασμός είναι αδιαμφισβήτητα ένας πολύ σημαντικός και εύκολα τροποποιήσιμος περιγεννητικός παράγοντας για την υγεία του παιδιού και τα στοιχεία για τις ευεργετικές του επιδράσεις εμπλουτίζονται συνέχεια. Οι ενδείξεις για την επίδραση που έχει στον κίνδυνο παιδικής παχυσαρκίας είναι συνολικά θετικές, αλλά πολλές φορές ποικίλουν, ενώ ακόμα δεν έχουν διαλευκανθεί οι μηχανισμοί με τους οποίους επιδρά. Έχει εκφραστεί η υπόθεση πως οι διαφορές στις μελέτες της επίδρασης που έχει ο θηλασμός στον κίνδυνο παιδικής παχυσαρκίας μπορεί εν μέρη να οφείλονται στη γενετική ποικιλομορφία των ατόμων [45, 58].

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη γίνεται ανάλυση της αλληλεπίδρασης γενετικών-περιβαλλοντικών παραγόντων σε δείκτες παιδικής παχυσαρκίας και συγκεκριμένα σκοπός είναι να διερευνηθεί ο τροποποιητικός ρόλος που έχει ο θηλασμός στην επίδραση των γενετικών παραγόντων στην εμφάνιση παιδικής παχυσαρκίας.

3 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η μελέτη TEENAGE (TEENS of Attica: Genes & Environment) [60] είναι μία συγχρονική μελέτη που επιπλέον συνδιάζει την αναδρομική συλλογή ορισμένων πληροφοριών και πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια των ετών 2008-2010. Η μελέτη TEENAGE έλαβε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου και του Υπουργείου Παιδείας, Δια Βίου Μάθησης και Θρησκευμάτων και συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

3.1 Πληθυσμός – δείγμα μελέτης

Το δείγμα της μελέτης TEENAGE αποτελείται από παιδιά εφηβικής ηλικίας 13-15 ετών που ήταν μαθητές και των τριών τάξεων Γυμνασίων διαφόρων περιοχών στον νομό Αττικής, που αποτελείται από 80% αστικές περιοχές (3.812.330 κάτοικοι, σύμφωνα με τα στοιχεία που παρέχονται από το Εθνική Στατιστική Υπηρεσία της Ελλάδας, απογραφή 2001). Τα σχολεία τα οποία επιλέχθηκαν για τη συλλογή του δείγματος ήταν όλα σε αστικές περιοχές, ενώ για να αποκλειστούν οι οικονομικές ανισότητες κλήθηκαν να συμμετάσχουν αποκλειστικά δημόσια σχολεία. Η επιλογή των σχολείων έγινε με τυχαίο τρόπο, ενώ έγινε προσπάθεια να υπάρξει συμμετοχή σχολείων από διάφορες περιοχές, ώστε οι συμμετέχοντες να προέρχονταν από οικογένειες με διαφορετικό μορφωτικό επίπεδο και κοινωνικο-οικονομική κατάσταση. Τελικά, από τα 285 δημόσια Γυμνάσια του νομού Αττικής, τα 24 από αυτά συμμετείχαν στη μελέτη.

Για τη διαδικασία συλλογής του δείγματος, στάλθηκε ενημερωτική επιστολή με όλες τις απαραίτητες πληροφορίες για την μελέτη και την έγκριση από το Υπουργείο Παιδείας στους διευθυντές του κάθε σχολείου, ενώ αντίστοιχες πληροφορίες έλαβαν και οι γονείς/κηδεμόνες των παιδιών που κλήθηκαν να συμμετάσχουν, μαζί με το συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής. Συνολικά από τους 1.440 μαθητές που προσκληθηκαν να συμμετάσχουν, δέχτηκαν οι 857. Το τελικό αυτό δείγμα της μελέτης αντιστοιχούσε στο 0,7% του συνολικού αριθμού των εφήβων ηλικίας 13-15 ετών που κατοικούν στον Νομό Αττικής (119.840 έφηβοι, σύμφωνα με δεδομένα της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας, απογραφή 2001).

Στο επόμενο στάδιο της μελέτης, ο κάθε εθελοντής αξιολογήθηκε ξεχωριστά και συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε ιατρική εξέταση, αιμοληψία, ανθρωπομετρία, διατροφική αξιολόγηση, αξιολόγηση σωματικής δραστηριότητας, λήψη οικογενειακού ιστορικού και δημογραφικών δεδομένων και δεδομένων ανάπτυξης από την βρεφική ηλικία. Η ερευνητική ομάδα απαρτιζόταν από επιστήμονες διατροφής και παιδίατρος, οι οποίοι είχαν εκπαιδευτεί και αξιολογηθεί για να την εξασφάλιση της ακριβούς συλλογής των δεδομένων, ενώ ήταν σε διαθεσιμότητα για να βοηθήσουν τους συμμετέχοντες κατά τη διάρκεια συμπλήρωσης των ερωτηματολογίων.

3.2 Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών

Η αξιολόγηση του σωματικού βάρους και του ύψους πραγματοποιήθηκε χωρίς παπούτσια και με ελαφρύ ρουχισμό. Το σωματικό βάρος μετρήθηκε με ζυγό ακριβείας στο πλησιέστερο 0,1 kg, ενώ το ύψος μετρήθηκε στο πλησιέστερο 0,1 cm με φορητό αναστημόμετρο SECA, με τον εκάστοτε εθελοντή να στέθκεται ίσια με την πλάτη στην κάθετη κλίμακα του αναστημόμετρου, τα πόδια ενωμένα και το κεφάλι παράλληλο με το οριζόντιο επίπεδο (Frankfort Horizontal Plane). Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε ως Βάρος / Ύψος² (kg/m²) και η κατηγοριοποίηση των ατόμων με βάση τον ΔΜΣ σε λιποβαρή, φυσιολογικού βάρους, υπέρβαρα ή παχύσαρκα έγινε σύμφωνα με τις οριακές τιμές του ΔΜΣ που έχουν αναπτύξει οι Cole et al. [3].

Μετρήθηκαν ακόμα οι περιφέρειες μέσης, ισχίων και βραχίονα με χρήση πλαστικής μεζούρας στο πλησιέστερο 0,1 cm. Συγκεκριμένα, η περιφέρεια βραχίονα μετρήθηκε σε γυμνό βραχίονα στη μισή απόσταση μεταξύ του ακρωμίου και την εσωτερική κορυφή του αγκώνα, η περιφέρεια μέσης μετρήθηκε απουσία ρουχισμού στο μέσο της απόστασης μεταξύ του τελευταίου πλευρού και του άκρου του λαγόνιου οστού και η περιφέρεια ισχίων μετρήθηκε στο σημείο που παρουσίαζε την μεγαλύτερη περίμετρο. Επίσης, υπολογίστηκε ο λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρεια ισχίων, WHR (cm/cm) και ο λόγος περιφέρειας μέσης/ύψος (cm/cm).

Τέλος, μετρήθηκαν οι δερματοπτυχές τρικεφάλου, υπερλαγόνιου και υποωμοπλατταίου μυός στο πλησιέστερο 0,2 mm με δερματοπτυχόμετρο Lange (Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, MA, USA). Για την εκτίμηση της δερματοπτυχής τρικέφαλου μετρήθηκε πρώτα με μεζούρα κάθετα στο πίσω μέρος του δεξιού βραχίονα η απόσταση μεταξύ του κατώτερου ορίου του ακρωμίου οστού και του ωλέκranου (εσωτερικής κορυφής του αγκώνα), ενώ το χέρι σχημάτιζε ορθή

γωνία και στη συνέχεια ο ερευνητής πραγματοποίησε τη μέτρηση προσέχοντας να περιλαμβάνεται όλη η δερματοπτυχή αφήνοντας εκτός τον μυϊκό ιστό. Στη συνέχεια η μέτρηση επαναλήφθηκε και υπολογίστηκε ο μέσος όρος των μετρήσεων. Η δερματοπτυχή υπο-ωμοπλατιαίου μυός μετρήθηκε δύο εκατοστά κάτω από την έσω γωνία του οστού της ωμοπλάτης σε μία νοητή διαγώνια γραμμή (45° με το οριζόντιο ή/και κάθετο επίπεδο). Με βάση το άθροισμα των δερματοπτυχών τρικέφαλου και υπο-ωμοπλάτιου μυός εκτιμήθηκε το ποσοστό σωματικού λίπους ξεχωριστά για τα δύο φύλα, σύμφωνα με τις εξισώσεις Slaughter [72].

3.3 Αξιολόγηση δημογραφικών στοιχείων, οικογενειακού ιστορικού και περιγεννητικών δεδομένων

Οι γονείς ή κηδεμόνες των παιδιών που συμμετείχαν στη μελέτη είχαν κληθεί να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο με τα δημογραφικά και άλλα κοινωνικο-οικονομικά στοιχεία της οικογένειας. Στο συγκριμένο ερωτηματολόγιο υπήρχε ένα σκέλος που αφορούσε περιγεννητικά δεδομένα του παιδιού, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 6**, στο οποίο συμπεριλαμβάνονταν και ερωτήσεις σχετικά με τον θηλασμό και τις πρακτικές σίτισης του παιδιού μετά τη γέννησή του. Συγκεκριμένα, οι ερωτήσεις που αφορούσαν τον θηλασμό και χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις ήταν οι εξής:

- «Θηλάσατε το παιδί σας;» (ΝΑΙ/ΟΧΙ)
- «Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας αποκλειστικά με μητρικό γάλα;» (μήνες)
- «Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας με μητρικό γάλα και με άλλο βρεφικό γάλα;» (μήνες)
- «Το βρεφικό γάλα που χρησιμοποιήσατε είχε βάση το:» (Αγελαδινό γάλα/Γάλα σόγιας)

A2.3 Στοιχεία που αφορούν στο παιδί που συμμετέχει στη μελέτη		
Φυσιολογικός τοκετός <input type="checkbox"/>	Τοκετός με καισαρική τομή <input type="checkbox"/>	
Πρόωρος τοκετός;	1. ΝΑΙ (μήνες)	0. ΟΧΙ
Το παιδί πήρε οξυγόνο ή παρέμεινε σε θερμοκοιτίδα;	1. ΝΑΙ	0. ΟΧΙ
Βάρος γέννησης συμμετέχοντος παιδιού:		
Θηλάσατε το παιδί σας;	1. ΝΑΙ	0. ΟΧΙ
Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας αποκλειστικά με μητρικό γάλα;	_____	
Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας με μητρικό γάλα και με άλλο βρεφικό γάλα;	_____	
Το βρεφικό γάλα που χρησιμοποιούσατε είχε βάση το :		
<input type="checkbox"/> Αγελαδινό γάλα	<input type="checkbox"/> Γάλα σόγιας	

Εικόνα 6 Τμήμα του ερωτηματολογίου που αφορά τα περιγεννητικά δεδομένα [60].

3.4 Γονοτύπηση

Η απομόνωση του γενετικού υλικού στα άτομα της μελέτης TEENAGE [60] είχε πραγματοποιηθεί με τα αντιδραστήρια iPrep™ PureLink™ gDNA (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA), που επιτρέπουν την γρήγορη απομόνωση γενωμικού DNA (gDNA) από ολικό αίμα ή διαλύματα λευκοκυττάρων σε αυτοματοποιημένο σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων iPrep™Purification Instrument (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA). Στα δείγματα gDNA πραγματοποιήθηκε σάρωση του γονιδιώματος με τη χρήση του Illumina HumanOmniExpress BeadChips (Illumina, San Diego, USA) στο ερευνητικό κέντρο Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, UK και συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε γονοτύπηση ευρείας σάρωσης σε 748 άτομα της μελέτης. Ακόμα, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός έλεγχος των γενετικών δεδομένων σε ατομικό επίπεδο και επίπεδο πολυμορφισμών με αποκλεισμό των ατόμων με ποσοστό καλέσματος γονοτύπων < 95%, ατόμων με ασυμφωνία του φύλου μεταξύ των ποιοτικών και γενετικών δεδομένων, ατόμων με αυξημένο βαθμό ομοζυγωτίας ή ετεροζυγωτίας, ατόμων μη Ευρωπαϊκής καταγωγής και από άτομα που παρουσίαζαν βαθμό συγγένειας αποκλείστηκαν αυτά με το μικρότερο ποσοστό καλέσματος γονοτύπων. Στα κριτήρια αποκλεισμού των πολυμορφισμών περιλαμβανόταν $p < 0,0001$ για την ισορροπία Hardy Weinberg, συχνότητα σπάνιου αλληλομόρφου MAF < 1%, ενώ αποκλείστηκαν οι πολυμορφισμοί με ποσοστό καλέσματος γονοτύπων < 95% (με MAF $\geq 5\%$) ή ποσοστό καλέσματος γονοτύπων < 99% (με MAF < 5%) [66].

3.5 Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των φαινοτυπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 20. Η στατιστική σημαντικότητα όλων των ελέγχων εκτιμήθηκε σε (οριακό) επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$ και η κανονική κατανομή των συνεχών μεταβλητών εκτιμήθηκε με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov. Για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικοί έλεγχοι. Τα αποτελέσματα των συνεχών μεταβλητών παρουσιάζονται ως μέσος όρος (\pm τυπική απόκλιση) και των κατηγορικών μεταβλητών ως απόλυτα ποσοστά.

Οι φαινοτυπικές μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις ήταν το βάρος (kg), ύψος (m), ΔΜΣ (kg/m²) ως συνεχής μεταβλητή και ως κατηγορική (4

κατηγορίες σύμφωνα με τις οριακές τιμές του IOFT), περιφέρεια μέσης (cm), περιφέρεια ισχύων (cm), λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχύων (WHR), περιφέρεια βραχίονα (cm), δερματοπτυχή τρικεφάλου (mm), δερματοπτυχή υποωμοπλατταίου (mm), δερματοπτυχή υπερλαγόνιου (mm) και ποσοστό σωματικού λίπους (%) Μεταβλητές που αναλύθηκαν (όλες). Για τον θηλασμό χρησιμοποιήθηκαν οι συνεχείς μεταβλητές σε μήνες (διάρκεια αποκλειστικού θηλασμού και διάρκει θηλασμού και άλλου βρεφικού γάλακτος) και η δίτιμη μεταβλητή (παιδιά που θήλασαν / παιδιά που δεν θήλασαν).

Έλέχθηκε η συσχέτιση όλων των ανθρωπομετρικών μεταβλητών με όλες τις μεταβλητές του θηλασμού. Οι διαφορές στις αναλογίες των κατηγορικών μεταβλητών εκτιμήθηκαν με τον έλεγχο χ^2 (chi squared test), η σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ υποομάδων των μεταβλητών έγινε με τον Student's t test και την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) ή των αντίστοιχων μη παραμετρικών ελέγχων για τις μη κανονικής κατανομής συνεχείς μεταβλητές. Η συσχέτιση των συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με απλή γραμμική ή λογαριθμική παλινδρόμηση.

3.6 Γονιδιακή ανάλυση

Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση της επίδρασης των πολυμορφισμών στους δείκτες παχυσαρκίας αλλά και την διερεύνηση της αλληλεπίδρασης των πολυμορφισμών με τον θηλασμό στους δείκτες παχυσαρκίας ήταν το Plink [73]. Για τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων αυτών, επιλέχθηκαν οι δείκτες παχυσαρκίας (φαινότυποι) που βρέθηκαν να σχετίζονται στατιστικώς σημαντικά με τον θηλασμό. Συγκεκριμένα ο λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχύων (WHR) ήταν η μόνος φαινότυπος που ξεπέρασε το κατώφλι στατιστικής σημαντικότητας για την σχέση με τον θηλασμό και γι' αυτό επιλέχθηκε για τις περαιτέρω γονιδιακές αναλύσεις.

Για τον ποιοτικό έλεγχο των δεδομένων αποκλείστηκαν τα άτομα με ποσοστό γονοτύπησης πολυμορφισμών <95% και πολυμορφισμοί με $p < 0,0001$ για τον έλεγχο ισορροπίας Hardy-Weinberg, με συχνότητα σπάνιου αλληλομόρφου <1% και με ποσοστό γονοτύπησης <98%. Για τη διερεύνηση των συσχετίσεων μεταξύ των πολυμορφισμών και του φαινότυπου (WHR) και των συσχετίσεων μεταξύ των πολυμορφισμών και του θηλασμού στον φαινότυπο (WHR), έγινε διόρθωση για την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ. Η στατιστική σημαντικότητα των αναλύσεων

εκτιμήθηκε σε επίπεδο διορθωμένο για το πλήθος των ελέγχων που πραγματοποιήθηκαν ($p=0,05/N$ πολυμορφισμών).

Όλες οι συσχετίσεις για την επίδραση του θηλασμού διερευνήθηκαν τόσο με την δίτιμη μεταβλητή (άτομα που θήλασαν ή όχι) όσο και με την τρίτιμη μεταβλητή (διάρκεια θηλασμού: 0 μήνες, έως 3 μήνες και >3 μήνες). Επίσης πραγματοποιήθηκαν συσχετίσεις σε δύο στάδια:

1. Έλεγχος συσχέτισης όλων των πολυμορφισμών (GWAS)

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την συσχέτισω όλων των πολυμορφισμών που υπήρχαν στη βάση της μελέτης TEENAGE. Η στατιστική σημαντικότητα των συσχετίσεων διορθώθηκε για το πλήθος των πολυμορφισμών που μελετήθηκαν και τέθηκε στο επίπεδο $p=8*10^{-8}$.

2. Έλεγχος συσχέτισης συγκεκριμένων πολυμορφισμών

Μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση, επιλέχθηκαν συγκεκριμένοι ήδη γνωστοί πολυμορφισμοί που έχουν συσχετιστεί i) με την παιδική παχυσαρκία (ΔΜΣ) σε ελληνικό πληθυσμό, ii) με τον WHR σε ενήλικες (δεν βρέθηκαν συγκεκριμένα σε ελληνικό πληθυσμό ή σε παιδιά) και iii) πολυμορφισμοί που έχουν μελετηθεί για την επίδραση που έχει ο θηλασμός στη σχέση τους με την παχυσαρκία. Από αυτούς τους πολυμορφισμούς, εκείνοι οι οποίοι υπήρχαν στη βάση της μελέτης TEENAGE, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1 Στοιχεία επιλεγμένων πολυμορφισμών

αναφορές	πολυμορφισμός	Γονίδιο ή κοντινό γονίδιο	bp	Χρ	επίσημο όνομα γονιδίου
Ntalla et al. [66]	rs2867125	TMEM18	622827	2	Transmembrane protein 18
	rs7138803	FAIM2	50247468	12	Fas apoptotic inhibitory molecule 2
	rs2287019	QPCTL (GIPR)	46202172	19	Gastric inhibitory polypeptide receptor
Rask-Andersen et al. [74]	rs2241423	MAP2K5	68086838	15	Mitogen-activated protein kinase kinase 5
Lazopoulou et al. [65]	rs17782313	MC4R	57851097	18	Melanocortin 4 receptor
Vasilopoulos et al. [75]	rs731236	VDR	48238757	12	Vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D3) receptor
Heid et al. [63]	rs1358980	VEGFA	43764551	6	Vascular endothelial growth factor A
	rs2645294	TBX15-WARS2	119574587	1	T-box 15, Mitochondrial tryptophanyl tRNA synthetase 2
	rs1011731	DNM3-PIGC	172346548	1	Dynamin 3, Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class C
	rs718314	ITPR2-SSPN	26453283	12	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2, Sarcospan
Shungin et al. [62]	rs1443512	HOXC13	54342684	12	Homeobox C13
	rs1294410	LY86	6738752	6	Lymphocyte antigen 86
	rs10919388	GORAB	170372503	1	Golgin RAB6-interacting
	rs1385167	MEIS1	66200648	2	Meis homeobox 1
	rs10804591	PLXND1	129334233	3	Plexin D1
	rs17451107	LEKR1	156797609	3	Leucine, glutamate and lysine rich 1

συνέχεια **Πίνακα 1** Στοιχεία επιλεγμένων πολυμορφισμών

Shungin et al. [62]	rs9991328	FAM13A	89713121	4	Family with sequence similarity 13 member A
	rs303084	SPATA5-FGF2	124066948	4	Spermatogenesis associated 5, Fibroblast growth factor 2
	rs6556301	FGFR4	176527577	5	Fibroblast growth factor receptor 4
	rs1776897	HMGA1	34195011	6	High mobility group AT-hook 1
	rs10991437	ABCA1	107735920	9	ATP binding cassette subfamily A member 1
	rs11231693	MACROD1- VEGFB	63862612	11	MACRO domain containing 1, Vascular endothelial growth factor B
	rs2925979	CMIP	81534790	16	c-Maf inducing protein
	rs12454712	BCL2	60845884	18	B-cell CLL/lymphoma 2
	rs12608504	JUND	18389135	19	jun D proto-oncogene
Dedoussis et al. [68]	rs979012	BMP2	6623374	20	Bone morphogenetic protein 2
	rs17817449	FTO	53813367	16	Fat mass and obesity associated

4 Αποτελέσματα

4.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος

Για την περαιτέρω ανάλυση των δεδομένων, απορρίφθηκαν οι ακραίες τιμές (outliers: μέσος όρος ± 3 τυπικές αποκλίσεις) για όλες τις συνεχείς μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν. Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των παιδιών του δείγματος παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2**. Συνολικά το δείγμα αποτελούνταν από 636 παιδιά στην εφηβεία εκ των οποίων το 44,3% ήταν αγόρια και το 55,7% κορίτσια, με τον μέσο όρο ηλικίας τους να κυμαίνεται στα $13,4 \pm 0,9$ έτη. Από τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν, διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο φύλων το βάρος (kg) ($58,1 \pm 13,4$ για τα αγόρια και $54,1 \pm 10$ για τα κορίτσια, $p=0,001$), το ύψος (m) ($1,64 \pm 0,09$ για τα αγόρια και $1,60 \pm 0,06$ για τα κορίτσια, $p<0,001$), η περιφέρεια μέσης (cm) ($73,0 \pm 8,7$ για τα αγόρια και $69,3 \pm 8,2$ για τα κορίτσια, $p<0,001$), η περιφέρεια ισχύων (cm) ($91,2 \pm 8,6$ για τα αγόρια και $93,2 \pm 8,1$ για τα κορίτσια, $p=0,001$), ο λόγος WHR ($0,80 \pm 0,05$ για τα αγόρια και $0,74 \pm 0,06$ για τα κορίτσια, $p<0,001$), η περιφέρεια βραχίονα (cm) ($26,3 \pm 3,4$ για τα αγόρια και $25,5 \pm 3,0$ για τα κορίτσια, $p=0,008$), η δερματοπτυχή τρικεφάλου (mm) ($14,5 \pm 6,2$ για τα αγόρια και $16,3 \pm 5,2$ για τα κορίτσια, $p<0,001$) και ωμοπλατταίου (mm) ($12,0 \pm 6,8$ για τα αγόρια και $12,9 \pm 5,5$ για τα κορίτσια, $p<0,001$), ενώ διέφερε στατιστικά σημαντικά και το ποσοστό σωματικού λίπους (%) ($24,9 \pm 12,1$ για τα αγόρια και $28,6 \pm 7,2$ για τα κορίτσια, $p<0,001$).

Ο επιπολασμός του υπέρβαρου και του παχύσαρκου στο σύνολο του δείγματος όσο και επιμέρους στα δύο φύλα, παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3**. Παρατηρούμε πως υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων ($p<0,001$) για όλες τις κατηγορίες του ΔΜΣ. Στο σύνολο του δείγματος υπήρχαν 28 παιδιά (το 4,4%) τα οποία ήταν ελλιποβαρή, 403 παιδιά (63,4%) φυσιολογικού βάρους, 161 παιδιά (25,3%) ήταν υπέρβαρα και 44 παιδιά (6,9%) παχύσαρκα. Δηλαδή, τα παιδιά με βάρος άνω του φυσιολογικού αποτελούσαν συνολικά το 32,2% του δείγματος και αναλυτικά για τα δύο φύλα, το 37,2% των αγοριών είχαν ΔΜΣ υπέρβαρου ή παχύσαρκου και το 28,3% των κοριτσιών ήταν αντίστοιχα υπέρβαρα ή παχύσαρκα. Διαγραμματικά, η ποσοστιαία κατανομή των αγοριών και κοριτσιών στις 4 κατηγορίες του ΔΜΣ παρουσιάζεται στην **Εικόνα 7**.

Πίνακας 2 Περιγραφικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος και ανα φύλο

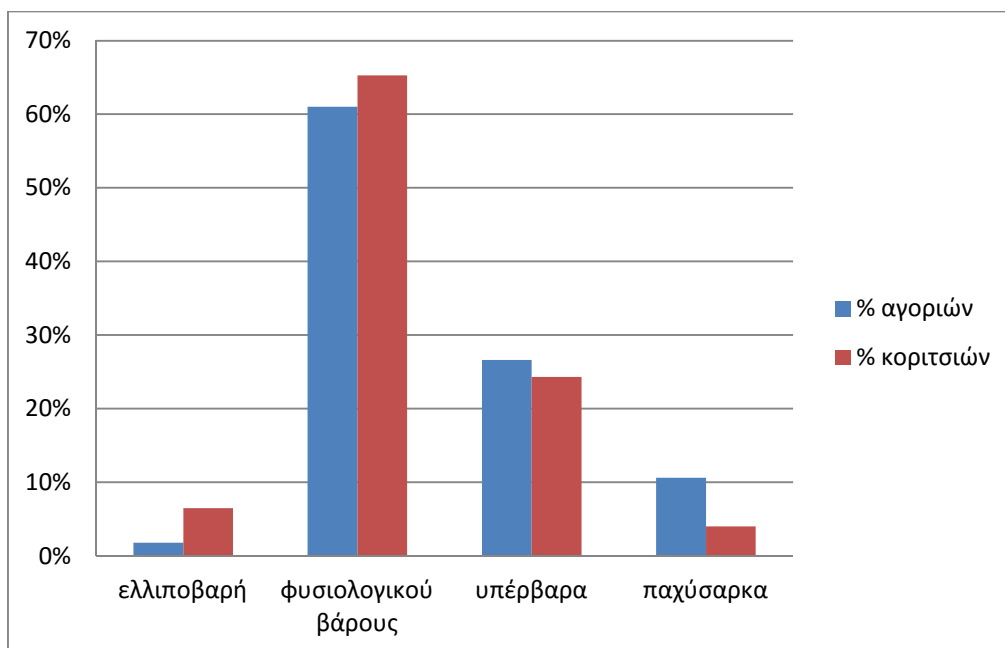
	Σύνολο		Αγόρια		Κορίτσια		P*
	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	
Ηλικία (έτη)	13,4	0,9	13,4	0,9	13,4	0,9	0,784
Βάρος (kg)	55,8	11,8	58,1	13,4	54,1	10,0	0,001
Ύψος (m)	1,62	0,08	1,64	0,09	1,60	0,06	<0,001
ΔΜΣ (kg/m ²)	21,3	3,6	21,6	3,8	21,0	3,4	0,283
Περιφέρεια μέσης (cm)	70,9	8,6	73,0	8,7	69,3	8,2	<0,001
Περιφέρεια ισχύων (cm)	92,3	8,3	91,2	8,6	93,2	8,1	0,001
Περιφέρεια μέσης/περιφέρεια ισχύων (WHR)	0,77	0,06	0,80	0,05	0,74	0,06	<0,001
Περιφέρεια βραχίονα (cm)	25,9	3,2	26,3	3,4	25,5	3,0	0,008
Δερματοπτυχή τρικεφάλου (mm)	15,5	5,7	14,5	6,2	16,3	5,2	<0,001
Δερματοπτυχή υποωμοπλατταίου (mm)	12,5	6,1	12,0	6,8	12,9	5,5	<0,001
Δερματοπτυχή υπερλαγόνιου (mm)	17,6	9,2	17,5	10,4	17,7	8,2	0,074
Ποσοστό σωματικού λίπους (%)	27,0	9,8	24,9	12,1	28,6	7,2	<0,001

* έλεγχος Mann-Whitney για τις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων

Πίνακας 3 κατηγορίες ΔΜΣ ανα φύλο και στο σύνολο του δείγματος

	αγόρια		κορίτσια		σύνολο		p*
	n	% αγοριών	n	% κοριτσιών	n	ποσοστό	
ελλιποβαρή	5	1,8%	23	6,5%	28	4,4%	
φυσιολογικού βάρους	172	61,0%	231	65,3%	403	63,4%	
υπέρβαρα	75	26,6%	86	24,3%	161	25,3%	<0,001
παχύσαρκα	30	10,6%	14	4%	44	6,9%	
σύνολο	282	100%	354	100%	636	100%	

* έλεγχος Χ² για τη σύγκριση μεταξύ αγοριών και κοριτσιών



Εικόνα 7 Επιπολασμός αγοριών και κοριτσιών ανα κατηγορία ΔΜΣ σύμφωνα με τις οριακές τιμές της Διεθνούς Ομάδας Δράσης για την Παχυσαρκία, IOFT [3].

Τα περιγεννητικά δεδομένα σχετικά με τον θηλασμό που λήφθηκαν από τα ερωτηματολόγια που συμπλήρωσαν οι γονείς, περιγράφονται στον **Πίνακα 4**. Τα παιδιά που θήλασαν αποκλειστικά για οποιοδήποτε χρονικό διάστημα ήταν 466 (73,3%), ενώ ο μέσος όρος της διάρκειας του αποκλειστικού θηλασμού ήταν $2,86 \pm 3,18$ μήνες. Η διάρκεια σίτησης με μητρικό και άλλο βρεφικό γάλα για το σύνολο των παιδιών υπολογίστηκε στους $5,17 \pm 6,43$ μήνες.

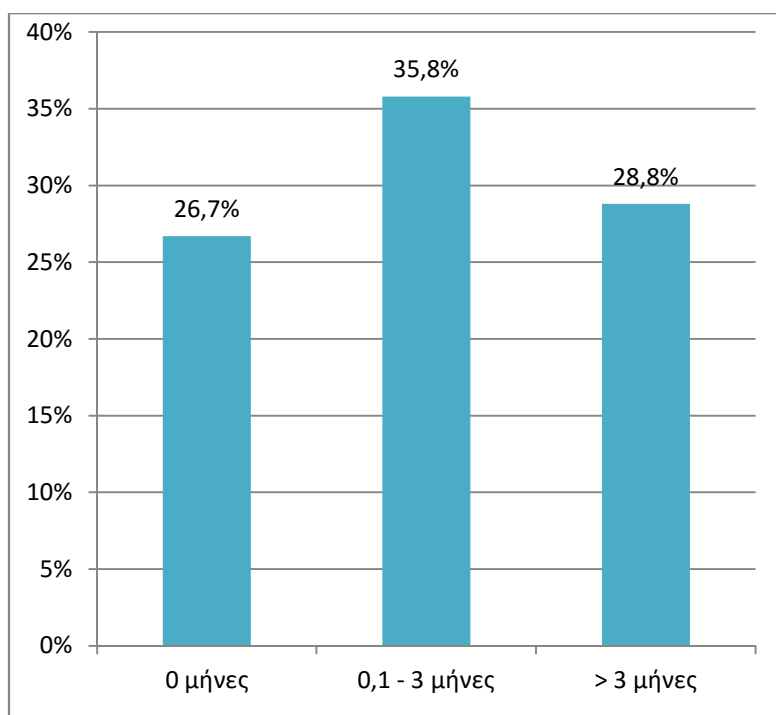
Για την καλύτερη ανάλυση των δεδομένων που αφορούν τον αποκλειστικό θηλασμό, δημιουργήθηκε μία καινούργια κατηγορική μεταβλητή στην οποία ταξινομήθηκαν τα παιδιά σε 3 κατηγορίες ανάλογα με την διάρκεια που θήλασαν: παιδιά που δεν θήλασαν καθόλου (0 μήνες), παιδιά που θήλασαν έως και 3 μήνες (0,1 - 3 μήνες) και παιδιά που θήλασαν για διάστημα μεγαλύτερο των 3 μηνών. Ο αριθμός των ατόμων σε κάθε κατηγορία και το ποσοστό επί του δείγματος παρουσιάζονται στον **Πίνακα 5**, ενώ διαγραμματικά απεικονίζονται στην **Εικόνα 8**.

Πίνακας 4 Δεδομένα της σίτισης των παιδιών μετά την γέννηση

	n	%	μέσος όρος	τυπική απόκλιση
Αποκλειστικός θηλασμός				
Θήλασαν αποκλειστικά	466	73,3		
Δεν θήλασαν αποκλειστικά	170	26,7		
Είδος βρεφικού γάλακτος				
Αγελαδινό γάλα	563	97,6		
Γάλα σόγιας	14	2,4		
Διάρκεια θηλασμού				
διάρκεια θηλασμού αποκλειστικά με μητρικό γάλα (μήνες)			2,86	3,18
διάρκεια σίτισης με μητρικό γάλα και άλλο βρεφικό γάλα (μήνες)			5,17	6,43

Πίνακας 5 Κατηγορίες της διάρκειας του αποκλειστικού θηλασμού

διάρκεια αποκλειστικού θηλασμού	n	%
0 μήνες	170	26,7%
έως 3 μήνες	228	35,8%
> 3 μήνες	183	28,8%



Εικόνα 8 Ποσοστό παιδιών ανα κατηγορία διάρκειας του θηλασμού.

4.2 Θηλασμός και δείκτες παχυσαρκίας

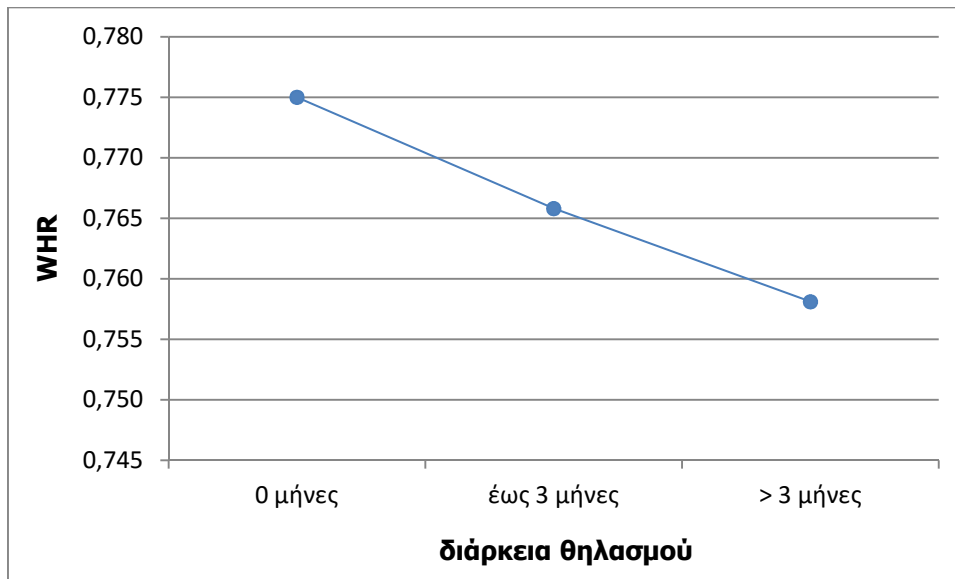
Στον **Πίνακα 6** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των συσχετίσεων της δίτιμης μεταβλητής (άτομα που θήλασαν ή όχι) με τους ανθρωπομετρικούς παράγοντες του δείγματος. Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των παιδιών που θήλασαν και των παιδιών που δεν θήλασαν παρατηρείται μόνο στον λόγο περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχύων (WHR) ($p=0,038$) με τον μέσο όρο της τιμής του WHR των παιδιών που δεν θήλασαν να είναι $0,76\pm 0,06$ και τον μέσο όρο του WHR στα παιδιά που θήλασαν να είναι $0,77\pm 0,06$. Στον **Πίνακα 7** παρουσιάζονται αντίστοιχα τα αποτελέσματα της συσχέτισης της τρίτιμης μεταβλητής με τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των παιδιών, ενώ παρατηρείται και εδώ πως μόνο ο WHR εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0,026$) μεταξύ των τριών ομάδων ανάλογα με τη διάρκεια του θηλασμού.

Πίνακας 6 Σχέση θηλασμού ή μη, με ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

	μέσος όρος ± τυπική απόκλιση		p
	θήλασαν	δεν θήλασαν	
ΔΜΣ (kg/m ²) (συνεχής μεταβλητή)	21,2±3,6	21,5±3,6	0,229
Περιφέρεια μέσης (cm)	70,6±8,5	71,8±9,1	0,284
Περιφέρεια ισχύων (cm)	92,3±8,2	92,5±8,7	0,798
Περιφέρεια μέσης/περιφέρεια ισχύων (WHR)	0,76±0,06	0,77±0,06	0,038
Περιφέρεια βραχίονα (cm)	25,7±3,2	26,2±3,4	0,137
Δερματοπτυχή τρικεφάλου (mm)	15,5±5,8	15,5±5,4	0,866
Δερματοπτυχή υποωμοπλατιαίου (mm)	12,5±6,2	12,4±5,9	0,947
Δερματοπτυχή υπερλαγόνιου (mm)	17,9±9,4	16,9±8,8	0,266
Ποσοστό σωματικού λίπους (%)	27±9,9	27,0±9,4	0,892

Πίνακας 7 Σχέση διάρκειας θηλασμού (τρίτημη μεταβλητή) με ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

	διάρκεια θηλασμού (μέσος όρος±τυπική απόκλιση)			p
	0 μήνες	έως 3 μήνες	> 3 μήνες	
	ΔΜΣ (kg/m ²) (συνεχής μεταβλητή)	21,5±3,6	21,0±3,6	
Περιφέρεια μέσης (cm)	71,8±9,1	70,3±8,9	70,2±7,8	0,169
Περιφέρεια ισχύων (cm)	92,5±8,7	91,8±8,2	92,6±8,2	0,645
Περιφέρεια μέσης/περιφέρεια ισχύων (WHR)	0,78±0,06	0,77±0,06	0,76±0,05	0,026
Περιφέρεια βραχίονα (cm)	26,2±3,4	25,7±3,3	25,6±3,0	0,147
Δερματοπτυχή τρικεφάλου (mm)	15,5±5,4	15,5±5,7	15,2±5,7	0,83
Δερματοπτυχή υποωμοπλατιαίου (mm)	12,4±5,9	12,5±6,2	12,1±6,1	0,801
Δερματοπτυχή υπερλαγόνιου (mm)	16,9±8,8	17,7±9,4	17,2±9,0	0,646
Ποσοστό σωματικού λίπους (%)	27,0±9,4	26,8±9,6	26,4±9,7	0,849



Εικόνα 9 μέσος όρος WHR ανα κατηγορία διάρκειας θηλασμού.

Στην **Εικόνα 9** απεικονίζεται διαγραμματικά η διαφορά στον μέσο όρο του λόγου WHR μεταξύ των τριών ομάδα στις οποίες κατηγοριοποιήθηκαν τα άτομα ανάλογα με τη διάρκεια του θηλασμού.

4.3 Επιδράσεις γενετικών παραγόντων στον WHR

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης συσχέτισης όλων των πολυμορφισμών με τον WHR παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8** με σειρά στατιστικής σημαντικότητας. Κανένας πολυμορφισμός δεν ξεπέρασε το διορθωμένο κατώφλι σημαντικότητας $p=8*10^{-8}$, με πέντε πολυμορφισμούς να σχετίζονται με τον WHR σε $p<2*10^{-6}$. Συνολικά 87 πολυμορφισμοί από τους 629.590 που συσχετίστηκαν ξεπέρασαν το κατώφλι στατιστικής σημαντικότητας $p=10^{-5}$ και στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται οι 20 πρώτοι.

Τα αποτελέσματα της συσχέτισης των συγκεκριμένων πολυμορφισμών που επιλέχθηκαν με τον WHR παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9** με σειρά στατιστικής σημαντικότητας. Ο πολυμορφισμός rs12608504 κοντά στο γονίδιο JUND σχετίστηκε οριακά σημαντικά ($p<0,05$) με τον WHR σε σύνολο 535 ατόμων (διορθωμένο $p=0,002$).

Πίνακας 8 Στατιστικώς σημαντικότερα ευρήματα συσχέτισης όλων των πολυμορφισμών με τον WHR

πολυμορφισμός	Θέση (bp)	Χρ	σπάνιο αλληλόμορφο	β	SE	p
rs4382935	86303326	11	G	-0.01489	0.003046	1.35E-06
rs1353090	152915667	5	A	0.027	0.005568	1.63E-06
rs12153763	29028609	5	T	0.01822	0.004034	7.76E-06
rs3863396	25334086	15	T	0.01304	0.002894	8.14E-06
rs7164606	40645133	15	A	0.01842	0.004123	9.63E-06
rs9357418	12580740	6	C	0.0141	0.003162	1.01E-05
rs12594112	25350127	15	A	0.01368	0.003073	1.04E-05
rs9297594	120218302	8	T	0.01296	0.002934	1.20E-05
rs1349992	138745144	2	A	0.01358	0.00308	1.27E-05
rs28555597	52004560	15	T	0.01553	0.003553	1.48E-05
rs6491817	104736365	13	G	0.01784	0.00408	1.48E-05
rs4977517	19239168	9	G	0.01927	0.004424	1.60E-05
rs6695362	195444261	1	T	0.01612	0.003729	1.85E-05
rs857011	10456485	20	G	0.01319	0.003054	1.86E-05
rs268819	58032340	14	C	-0.01724	0.003997	1.91E-05
rs7541885	107925625	1	G	0.01596	0.0037	1.92E-05
rs10149488	74059252	14	T	0.03929	0.009118	1.96E-05
rs1168417	38757459	14	C	0.0158	0.003668	1.97E-05
rs4977291	19234830	9	T	0.0211	0.004909	2.05E-05
rs10514819	7978514	9	T	0.02018	0.0047	2.09E-05

Πίνακας 9 Συσχέτιση των επιλεγμένων πολυμορφισμών με τον WHR

πολυμορφισμός	γονίδιο	Χρ	Θέση (bp)	σπάνιο αλληλόμορφο	β	SE	p
rs12608504	JUND	19	18389135	A	-0,0073	0,0030	0,016
rs9991328	FAM13A	4	89713121	C	0,0059	0,0030	0,050
rs17817449	FTO	16	53813367	G	0,0050	0,0030	0,092
rs2645294	TBX15- WARS2	1	119574587	C	0,0045	0,0031	0,138
rs2287019	QPCTL	19	46202172	T	0,0052	0,0038	0,170
rs6556301	FGFR4	5	176527577	T	0,0041	0,0033	0,213
rs7138803	FAIM2	12	50247468	A	0,0037	0,0030	0,227
rs1011731	DNM3-PIGC	1	172346548	G	0,0036	0,0030	0,237
rs12454712	BCL2	18	60845884	C	-0,0035	0,0030	0,243
rs10919388	GORAB	1	170372503	A	-0,0034	0,0032	0,300
rs1443512	HOXC13	12	54342684	A	-0,0032	0,0032	0,317
rs2867125	TMEM18	2	622827	T	0,0037	0,0037	0,320
rs11231693	MACROD1- VEGFB	11	63862612	A	0,0060	0,0069	0,380
rs731236	VDR	12	48238757	G	-0,0027	0,0031	0,384
rs1385167	MEIS1	2	66200648	G	0,0041	0,0049	0,410
rs1294410	LY86	6	6738752	T	-0,0025	0,0030	0,411
rs10804591	PLXND1	3	129334233	C	-0,0030	0,0036	0,416
rs2241423	MAP2K5	15	68086838	A	-0,0025	0,0035	0,469
rs718314	ITPR2	12	26453283	G	-0,0025	0,0035	0,485
rs10991437	ABCA1	9	107735920	A	0,0027	0,0046	0,561
rs17451107	LEKR1	3	156797609	C	-0,0017	0,0030	0,580
rs979012	BMP2	20	6623374	T	-0,0011	0,0031	0,716
rs17782313	MC4R	18	57851097	C	0,0012	0,0034	0,719
rs1358980	VEGFA	6	43764551	T	-0,0008	0,0028	0,768
rs303084	SPATA5- FGF2	4	124066948	G	0,0006	0,0032	0,847
rs1776897	HMGA1	6	34195011	G	0,0009	0,0069	0,895
rs2925979	CMIP	16	81534790	T	-0,0002	0,0033	0,956

4.4 Αλληλεπιδράσεις γενετικών παραγόντων και θηλασμού στον WHR

Εκτός από το φύλο και την ηλικία, για να εξετάσουμε αν ο ΔΜΣ επηρέαζε την σχέση των πολυμορφισμών με τον θηλασμό στον WHR, προσθέσαμε στο μοντέλο παλινδρόμησης και την εντολή για διερεύνηση της πολυμορφισμός*ΔΜΣ αλληλεπίδρασης.

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των επιλεγμένων πολυμορφισμών με την διάρκεια του θηλασμού (ως τρίτιμη μεταβλητή) στον WHR, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10** με σειρά στατιστικής σημαντικότητας. Η αλληλεπίδραση του πολυμορφισμού rs718314 που βρίσκεται κοντά στα γονίδια ITPR2-SSPN υπολογίστηκε σε 537 άτομα και υπολογίστηκε σε οριακά στατιστικό επίπεδο ($p=0,047$) με τον συντελεστή συσχέτισης να ισούται με $\beta=-0,0092$. Η στατιστική σημαντικότητα είναι μεν μικρότερη από το επίπεδο $p=0,05$ αλλά όχι μικρότερη από το διορθωμένο επίπεδο $p=0,002$. Υπολογίστηκε πως από τα άτομα που φέρουν το σπάνιο αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs718314, όσα είχαν θηλάσει για έως και 3 μήνες (δεύτερη κατηγορία μεταβλητής θηλασμού) είχαν κατά μέσο όρο 0,0092 μικρότερο WHR από τα άτομα που δεν είχαν θηλάσει καθόλου (πρώτη κατηγορία μεταβλητής θηλασμού) και αντίστοιχα τα άτομα που είχαν θηλάσει για πάνω από 3 μήνες (τρίτη κατηγορία μεταβλητής θηλασμού) είχαν κατά μέσο όρο 0,0092 μικρότερο WHR από τα άτομα που είχαν θηλάσει για διάστημα έως 3 μήνες (δεύτερη κατηγορία). Κανένας άλλος πολυμορφισμός από αυτούς που είχαν επιλεχθεί δεν έφτασε την οριακά στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση.

Τα αποτελέσματα από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των επιλεγμένων πολυμορφισμών με τον θηλασμό (δίτιμη μεταβλητή, παιδιά που θήλασαν ή όχι) στον WHR παρουσιάζονται στον **Πίνακα 11** με σειρά στατιστικής σημαντικότητας. Κανένας πολυμορφισμός δεν ξεπέρασε το κατώφλι σημαντικότητας. Όμως ο πολυμορφισμός rs1443512 συσχετίστηκε σε οριακά σημαντικό επίπεδο ($p=0,051$) με $\beta=-0,0145$, δηλαδή από τα άτομα με το σπάνιο αλληλόμορφο με τη βάση A του πολυμορφισμού rs1443512, αυτά θήλασαν (δεύτερη κατηγορία της μεταβλητής θηλασμού) έχουν κατά μέσο όρο 0,0145 μικρότερο WHR από τα άτομα που δεν θήλασαν καθόλου (πρώτη κατηγορία μεταβλητής θηλασμού). Κανένας άλλος πολυμορφισμός δεν συσχετίστηκε στατιστικώς σημαντικά ή έστω οριακώς.

Για τη ευρεία συσχέτιση όλων των πολυμορφισμών με τον θηλασμό στον WHR,

επιλέχθηκαν αυτοί που είχαν δώσει την στατιστικώς σημαντικότερη συσχέτιση όταν είχε μελετηθεί η επίδρασή τους στον WHR (βλ Πίνακα 8). Συγκεκριμένα επιλέχθηκαν οι πολυμορφισμοί με $p \leq 10^{-4}$, δηλαδή 629 πολυμορφισμοί. Τα ευρήματα από την μελέτη της αλληλεπίδρασης των 692 αυτών πολυμορφισμών με τη διάρκεια του θηλασμού (τρίτιμη μεταβλητή) στην τιμή του WHR, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 12** με σειρά στατιστικής σημαντικότητας. Το επίπεδο σημαντικότητας διορθώθηκε για τον αριθμό των συσχετίσεων και υπολογίστηκε σε $p=8*10^{-5}$, κανένας όμως πολυμορφισμός δεν ξεπέρασε αυτό το κατώφλι. Ο πολυμορφισμός rs11630324 συσχετίστηκε με $p=4,5*10^{-3}$ για την επίδραση που έχει ο θηλασμός στη σχέση του με τον WHR με συντελεστή συσχέτισης $\beta=-0,0108$.

Πίνακας 10 Ευρήματα αλληλεπίδρασης των επιλεγμένων πολυμορφισμών με τη διάρκεια θηλασμού (τρίτιμη μεταβλητή) στον WHR

πολυμορφισμός	γονίδιο	Χρ	Θέση (bp)	σπάνιο αλληλόμορφο	β	SE	p
rs718314	ITPR2	12	26453283	G	-0,0092	0,0046	0,047
rs2287019	QPCTL	19	46202172	T	0,0079	0,0050	0,114
rs1385167	MEIS1	2	66200648	G	0,0086	0,0060	0,150
rs2867125	TMEM18	2	622827	T	0,0070	0,0051	0,172
rs1358980	VEGFA	6	43764551	T	-0,0048	0,0036	0,185
rs1776897	HMGA1	6	34195011	G	-0,0110	0,0090	0,224
rs303084	SPATA5-FGF2	4	124066948	G	-0,0049	0,0041	0,239
rs1294410	LY86	6	6738752	T	0,0044	0,0039	0,266
rs10991437	ABCA1	9	107735920	A	-0,0059	0,0056	0,293
rs17782313	MC4R	18	57851097	C	-0,0045	0,0045	0,319
rs9991328	FAM13A	4	89713121	C	0,0036	0,0038	0,340
rs1443512	HOXC13	12	54342684	A	-0,0036	0,0041	0,384
rs2241423	MAP2K5	15	68086838	A	-0,0037	0,0044	0,405
rs979012	BMP2	20	6623374	T	0,0030	0,0039	0,433
rs2925979	CMIP	16	81534790	T	-0,0026	0,0043	0,544
	TBX15-						
rs2645294	WARS2	1	119574587	C	-0,0025	0,0041	0,546
rs10919388	GORAB	1	170372503	A	-0,0018	0,0041	0,664
rs1011731	DNM3-PIGC	1	172346548	G	-0,0015	0,0038	0,684
	MACROD1-						
rs11231693	VEGFB	11	63862612	A	0,0036	0,0092	0,695
rs12454712	BCL2	18	60845884	C	-0,0014	0,0039	0,711
rs12608504	JUND	19	18389135	A	0,0012	0,0039	0,752
rs6556301	FGFR4	5	176527577	T	-0,0011	0,0043	0,806
rs731236	VDR	12	48238757	G	-0,0008	0,0039	0,828
rs7138803	FAIM2	12	50247468	A	-0,0006	0,0039	0,871
rs17451107	LEKR1	3	156797609	C	0,0006	0,0040	0,883
rs10804591	PLXND1	3	129334233	C	0,0007	0,0046	0,884
rs17817449	FTO	16	53813367	G	-0,0004	0,0038	0,925

Πίνακας 11 Ευρήματα αλληλεπίδρασης των επιλεγμένων πολυμορφισμών με τον θηλασμό ή μη, στον WHR

πολυμορφισμός	γονίδιο	Χρ	σπάνιο αλληλόμορφο	Θέση (bp)	β	SE	p
rs1443512	HOXC13	12	A	54342684	-0,0145	0,0074	0,051
rs1385167	MEIS1	2	G	66200648	0,0210	0,0120	0,080
rs1776897	HMGA1	6	G	34195011	-0,0287	0,0167	0,086
rs303084	SPATA5- FGF2	4	G	124066948	-0,0124	0,0079	0,115
rs1358980	VEGFA	6	T	43764551	-0,0104	0,0071	0,140
rs2867125	TMEM18	2	T	622827	0,0126	0,0088	0,152
rs2287019	QPCTL	19	T	46202172	0,0105	0,0097	0,282
rs17817449	FTO	16	G	53813367	0,0074	0,0072	0,307
rs2645294	TBX15- WARS2	1	C	119574587	-0,0073	0,0080	0,361
rs718314	ITPR2	12	G	26453283	-0,0073	0,0086	0,399
rs1294410	LY86	6	T	6738752	0,0064	0,0077	0,404
rs12454712	BCL2	18	C	60845884	-0,0059	0,0073	0,419
rs12608504	JUND	19	A	18389135	0,0054	0,0075	0,467
rs7138803	FAIM2	12	A	50247468	-0,0045	0,0072	0,529
rs2241423	MAP2K5	15	A	68086838	-0,0048	0,0084	0,569
rs10804591	PLXND1	3	C	129334233	-0,0046	0,0085	0,590
rs979012	BMP2	20	T	6623374	0,0039	0,0073	0,597
rs6556301	FGFR4	5	T	176527577	0,0035	0,0080	0,665
rs11231693	MACROD1- VEGFB	11	A	63862612	0,0076	0,0202	0,707
rs10919388	GORAB	1	A	170372503	-0,0027	0,0077	0,728
rs17451107	LEKR1	3	C	156797609	0,0022	0,0072	0,754
rs1011731	DNM3-PIGC	1	G	172346548	-0,0020	0,0069	0,774
rs9991328	FAM13A	4	C	89713121	0,0017	0,0069	0,812
rs2925979	CMIP	16	T	81534790	0,0019	0,0082	0,817
rs10991437	ABCA1	9	A	107735920	-0,0023	0,0112	0,834
rs17782313	MC4R	18	C	57851097	0,0013	0,0087	0,884
rs731236	VDR	12	G	48238757	-0,0008	0,0071	0,907

Πίνακας 12 Ευρήματα αλληλεπίδρασης όλων των πολυμορφισμών με τη διάρκεια θηλασμού (τρίτιμη μεταβλητή) στον WHR

πολυμορφισμός	Χρ	σπάνιο αλληλόμορφο	Θέση (bp)	β	SE	p
rs11630324	15	A	70553996	-0,0108	0,00379	0,0045
rs12458323	18	G	13303864	0,0239	0,00854	0,0052
rs17060347	13	T	40189028	0,0362	0,01304	0,0058
rs11659895	18	C	13301705	0,0237	0,00857	0,0058
rs9521106	13	T	89179012	0,0100	0,00371	0,0073
rs1234797	20	C	10591451	0,0097	0,00385	0,0119
rs10149488	14	T	74059252	-0,0274	0,01095	0,0126
rs1549102	12	A	99282746	0,0093	0,00372	0,0131
rs979119	4	A	58671636	0,0142	0,00591	0,0165
rs11662290	18	A	8770608	0,0225	0,00938	0,0171
rs11046571	12	A	22890730	0,0097	0,00405	0,0171
rs733258	13	C	32656200	0,0101	0,00434	0,0203
rs4262389	9	C	19205996	-0,0151	0,00649	0,0206
rs9455669	6	C	168991469	0,0095	0,00413	0,0212
rs7338358	13	G	45772011	-0,0095	0,00423	0,0247
rs4986988	8	T	18079213	0,0167	0,007423	0,0249
rs9534084	13	G	45843321	-0,0095	0,00426	0,0269
rs6444268	3	C	187766215	0,0114	0,00514	0,0271
rs4397972	13	C	89237155	0,0083	0,00374	0,0273
rs4605539	3	T	64634736	-0,0107	0,00490	0,0296
rs9316125	13	A	45811273	-0,0092	0,00429	0,0330
rs6730977	2	G	51181831	0,0081	0,00384	0,0355
rs1075421	12	C	18891079	0,0079	0,00382	0,0390
rs9595241	13	G	45701154	-0,0092	0,00444	0,0392
rs9534059	13	A	45768759	-0,0092	0,00444	0,0395
rs878067	13	T	26642921	-0,0278	0,01353	0,0402
rs7485517	12	G	18888456	0,0079	0,003834	0,0407
rs9357849	6	C	55092069	-0,0082	0,00405	0,0423
rs9829565	3	A	79730175	-0,0092	0,00453	0,0426
rs656478	20	C	10562658	0,0076	0,00374	0,0436
rs1549477	15	C	25332118	-0,0078	0,00387	0,0449
rs9475214	6	T	55109189	-0,0081	0,00403	0,0462
rs4129937	6	T	13023788	-0,0091	0,00457	0,0481
rs7328051	13	G	45709018	-0,0088	0,00445	0,0491

5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Περιγραφικά δεδομένα

Η ηλικία των παιδιών της μελέτης ήταν κατά μέσο όρο $13,4 \pm 0,9$ έτη και ο επιπολασμός των υπέρβαρων και παχύσαρκων παιδιών υπολογίστηκε στο 32,2% με τα ποσοστά στα αγόρια να είναι σημαντικά υψηλότερα από αυτά των κοριτσιών. Τα υψηλά αυτά ποσοστά παιδικής/εφηβικής παχυσαρκίας αναδεικνύονται και από άλλες μελέτες στον ελληνικό πληθυσμό που αναφέρουν πως περίπου το 1/3 των παιδιών έχει βάρος άνω του φυσιολογικού [14]. Ο μέσος όρος του WHR υπολογίστηκε σε $0,77 \pm 0,06$ για το σύνολο των παιδιών και διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο φύλων ($p < 0,001$) με τα αγόρια να έχουν υψηλότερες τιμές WHR ($0,80 \pm 0,005$) από τα κορίτσια ($0,74 \pm 0,06$). Ο μέσος όρος του WHR ήταν μικρότερος από 0,90 και 0,85 που είναι οι οριακές τιμές για τους άντρες και τις γυναίκες αντίστοιχα ως προς τον αυξημένο κίνδυνο για την υγεία, σύμφωνα με τον ΠΟΥ [76]. Σύμφωνα με τις καμπύλες για τον WHR που σχεδίασαν οι Βακορουλίου et al. [9] για τον ελληνικό πληθυσμό ηλικίας 12-17 ετών, η μέση τιμή του WHR των αγοριών της μελέτης βρίσκεται μεταξύ του 50^{ου} και 75^{ου} εκατοστημορίου και των κοριτσιών αντίστοιχα.

Υπολογίστηκε πως το 26,7% των παιδιών δεν θήλασαν καθόλου, ενώ από τα παιδιά που θήλασαν μόλις το 44,5% θήλασε για πάνω από 3 μήνες (δηλαδή το 28,8% του συνόλου των παιδιών). Η μέση διάρκεια που θήλασαν τα παιδιά του δείγματος ήταν λιγότερο από 3 μήνες ($2,86 \pm 3,18$ μήνες). Τα ιδιαίτερα χαμηλά ποσοστά επιβεβαιώνουν τα ευρήματα της Εθνικής μελέτης για τον μητρικό θηλασμό που πραγματοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού [34] και αναδεικνύει το πρόβλημα σχετικά με τα χαμηλά ποσοστά αποκλειστικού και μη θηλασμού στη χώρα μας.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να τονίσουμε το γεγονός πως στην μελέτη της επίδρασης του θηλασμού στις ανθρωπομετρικές μετρήσεις των παιδιών δεν λήφθηκαν υπόψη αρκετοί συγχετικοί παράγοντες που φαίνεται βιβλιογραφικά πως επιδρούν στη σχέση αυτή [41, 45], όπως η κοινωνικοοικονομική κατάσταση, το βάρος των γονέων, το κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη κλπ, λόγω της έλλειψης των δεδομένων αυτών. Όσον αφορά την ποιότητα των περιγραφικών δεδομένων για τον θηλασμό πρέπει να ληφθούν 2 παράγοντες υπόψη, i) η αναδρομική συγκέντρωση των δεδομένων αυτών και ii) η αυτοσυμπλήρωση των ερωτηματολογίων από τους γονείς/κηδεμόνες. Πιο

αναλυτικά, όλες οι πληροφορίες για το είδος και τη διάρκεια του θηλασμού λήφθηκαν αναδρομικά και βασίζονταν στη μνήμη των γονέων καθώς και στην υποκειμενική τους κρίση, ενώ ακόμα τα ερωτηματολόγια ήταν αυτοσυμπληρούμενα και οι απαντήσεις βασίζονταν αποκλειστικά στον βαθμό κατανόησης του εκάστοτε ζητούμενου από τους γονείς/κηδεμόνες. Οι πιθανοί κίνδυνοι κατά την συμπλήρωση είναι πως δεν είναι όλοι οι γονείς εξοικειωμένοι με τον όρο του «αποκλειστικού» θηλασμού, μπορεί για παράδειγμα κάποιος γονέας να θεωρεί αποκλειστικό τον θηλασμό ακόμα και αν χορηγούνται στο παιδί συμπληρωματικές τροφές ή βρεφικό γάλα. Γι αυτόν τον λόγο κατά την επεξήγηση των δεδομένων αποφεύγεται η χρήση του όρου αποκλειστικού θηλασμού και χρησιμοποιείται απλά ο όρος θηλασμός. Ακόμα, η ερώτηση «Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας με μητρικό γάλα και με άλλο βρεφικό γάλα;» (**Εικόνα 6**) δεν ήταν ξεκάθαρο για πολλούς γονείς αν αναφερόταν συνολικά στον χρόνο αποκλειστικού και μικτού θηλασμού ή μόνο στη διάρκεια του μικτού θηλασμού και αυτό φάνηκε από τις πολλές φορές αντικρουόμενες μεταξύ τους απαντήσεις. Αυτή ήταν η αιτία που η συγκεκριμένη μεταβλητή δεν χρησιμοποιήθηκε στις περαιτέρω αναλύσεις.

Ο θηλασμός συσχετίστηκε σημαντικά με τον λόγο περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχύων (WHR) των παιδιών. Τα παιδιά που είχαν θηλάσει έστω και για κάποιο χρονικό διάστημα είχαν κατά μέσο όρο $WHR=0,76\pm 0,06$, ενώ τα παιδιά που δεν είχαν θηλάσει καθόλου είχαν μέσο όρο $WHR=0,77\pm 0,06$ ($p=0,038$). Ακόμα η συσχέτιση αυτή φάνηκε να είναι δόσοεξαρτώμενη καθώς ο θηλασμός συσχετίστηκε σημαντικά με τον WHR ($p=0,026$) ακόμα και όταν εξετάστηκε ως τρίτιμη μεταβλητή, με τα παιδιά που θήλασαν για περισσότερο από 3 μήνες να έχουν κατά μέσο όρο 0,01 μικρότερη τιμή WHR από τα παιδιά που θήλασαν για λιγότερο από 3 μήνες και αντίστοιχα τα παιδιά που θήλασαν για λιγότερο από 3 μήνες είχαν κατά μέσο όρο 0,01 μικρότερη τιμή WHR από τα παιδιά που δεν θήλασαν καθόλου.

Αν και ο θηλασμός έχει συσχετιστεί σε πολλές μελέτες με τον ΔΜΣ που είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης παιδικής παχυσαρκίας, στη συγκεκριμένη μελέτη δεν υπήρχε συσχέτιση του θηλασμού με τον ΔΜΣ. Η δόσοεξαρτώμενη σχέση του θηλασμού με τον WHR έχει καταγραφεί από τους de Kroon et al. [77] σε πληθυσμό ηλικίας 18-28 ετών από την Ολλανδία και συγκεκριμένα αναφέρουν πως για κάθε μήνα αποκλειστικού θηλασμού ο WHR ήταν μειωμένος κατά 0,003.

5.2 Επίδραση γενετικών παραγόντων στον WHR

Ο αριθμός των ατόμων των οποίων υπήρχαν όλα τα δεδομένα για να πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις κυμαινόταν περίπου από 532-538 για κάθε πολυμορφισμό. Ο αριθμός αυτός είναι σαφώς μικρότερος από τα 636 άτομα του δείγματος και αυτό οφείλεται στα ελλιπή δεδομένα γονοτύπων. Η ηλικία, το φύλο και ο ΔΜΣ συμπεριλήφθηκαν στο μοντέλο παλινδρόμησης αλλά δεν πραγματοποιήθηκαν συσχετίσεις ξεχωριστά για τα δύο φύλα, γεγονός που αποτελεί μειονέκτημα στην παρούσα μελέτη λόγω της φύσης του δείκτη WHR.

Από τη συσχέτιση όλων των πολυμορφισμών (GWAS) με τον WHR δεν εντοπίστηκε κάποιος που η συσχέτισή του να ξεπερνάει το διορθωμένο κατώφλι στατιστικής σημαντικότητας. Από τους πολυμορφισμούς που συσχετίστηκαν πιο σημαντικά (**Πίνακας 8**) δεν υπήρχε κάποιος που να αναφέρετε στην πρόσφατες μετα-αναλύσεις των Heid et al. [63] ή των Shungin et al. [62] στις οποίες εντοπίστηκαν πολυμορφισμοί που σχετίζονται με τον WHR. Το μικρό μέγεθος του δείγματος ήταν σίγουρα περιοριστικός παράγοντας για την εξαγωγή σημαντικών συσχετίσεων.

Από τη συσχέτιση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών που είχαν επιλεγεί για μελέτη, στατιστικά σημαντικά συσχετίστηκε με τον WHR ο πολυμορφισμός rs12608504 ($p=0,015$) με αρνητικό συντελεστή συσχέτισης $\beta=-0,0073$. Δηλαδή τα άτομα με 2 σπάνια αλληλόμορφα A για τον πολυμορφισμό rs12608504 είχαν κατά 0,0073 μικρότερη μέση WHR από τα άτομα που φέρουν ένα σπάνιο αλληλόμορφο και αντίστοιχα αυτά τα άτομα είχαν 0,0073 μικρότερη μέση τιμή WHR από τα άτομα που δεν έφεραν κανένα σπάνιο αλληλόμορφο. Ο πολυμορφισμός rs12608504 βρίσκεται κοντά στο γονίδιο JUND (ONCOGENE JUN-D) στο 19 χρωμόσωμα και έχει συσχετιστεί στους ενήλικες με τον WHR σε μετα-ανάλυση ατόμων ευρωπαϊκής καταγωγής με θετικό όμως συντελεστή συσχέτισης [62] σε αντίθεση με τα δικά μας αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα για το σπάνιο αλληλόμορφο A από τη μετα-ανάλυση των Shungin et al. παρουσιάζονται στον **Πίνακα 13**.

Πίνακας 13 Αποτελέσματα συσχέτισης πολυμορφισμού rs12608504 (κοντινό γονίδιο JUND) με τον WHR

μελέτη TEENAGE			Shungin et al. 2015 [62] (ενήλικες), $p_{\text{sign}} < 5 \cdot 10^{-8}$								
σύνολο			σύνολο			άντρες			γυναίκες		
n	β	p	n	β	p	n	β	p	n	β	p
535	-0,0073	0,015	209.990	0,022	$8,8^* \cdot 10^{-10}$	93.435	0,028	$1,05^* \cdot 10^{-7}$	116.689	0,017	$2,6^* \cdot 10^{-4}$

Ο διαφορετικός συντελεστής συσχέτισης αλλά και τα αποτελέσματα γενικότερα μπορεί να οφείλονται σε τυχαίο σφάλμα λόγω του αρκετά μικρού δείγματος στο οποίο έγιναν οι αναλύσεις. Επίσης, για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων με την μετα-ανάλυση των Shungin et al. [62] πρέπει να λάβουμε υπόψη τους διαφορετικούς πληθυσμούς, τόσο όσον αφορά την ηλικία για την επίδραση που έχει στον WHR, αφού στην μελέτη μας εξετάζουμε παιδιά εφηβικής ηλικίας ενώ στη μετα-ανάλυση ενήλικες, όσο και το γενετικό υπόβαθρο καθώς στη μελέτη μας εξεταστηκαν άτομα μόνο της Ελληνικής επικράτειας ενώ στη μετα-ανάλυση άτομα ευρύτερα Ευρωπαϊκής καταγωγής.

5.3 Αλληλεπίδραση πολυμορφισμών-θηλασμού στον WHR

Από την μελέτη της αλληλεπίδρασης των πολυμορφισμών με τον θηλασμό στον WHR, ο αριθμός των ατόμων για τα οποία υπολογίστηκαν οι αλληλεπιδράσεις ήταν περίπου 353, αρκετά μικρό μέγεθος για έλεγχο γενετικών-περιβαλλοντικών αλληλεπιδράσεων. Επίσης, παρατηρούμε πως στη μελέτη των επιλεγμένων πολυμορφισμών τα αποτελέσματα διέφεραν σημαντικά ανάλογα με τη μορφή της μεταβλητής του θηλασμού γεγονός που πιθανώς οφείλεται στο μικρό δείγμα και σε τυχαίο σφάλμα, αλλά πιθανώς αποτελεί ένδειξη για τη δόσοεξαρτώμενη μορφή που έχει η επίδραση του θηλασμού.

Ο μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs718314 ($p=0,047$) ξεπέρασε το κατώφλι στατιστικής σημαντικότητας $p=0,05$ όχι όμως το διορθωμένο κατά Bonferoni κατώφλι $p=0,0019$. Λόγω του μικρού δείγματος (537 άτομα) θεωρούμε τη στατιστική σημαντικότητα του πολυμορφισμού οριακά σημαντική και θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε πως ο παράγοντας του θηλασμού τροποποιεί την επίδραση που έχει ο γονότυπος για τον πολυμορφισμό rs718314 στον WHR. Υπολογίστηκε πως από τα άτομα που φέρουν το σπάνιο αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού rs718314, όσα

είχαν θηλάσει για έως και 3 μήνες είχαν κατά μέσο όρο 0,0092 μικρότερο WHR από τα άτομα που δεν είχαν θηλάσει καθόλου και αντίστοιχα τα άτομα που είχαν θηλάσει για πάνω από 3 μήνες είχαν κατά μέσο όρο 0,0092 μικρότερο WHR από τα άτομα που είχαν θηλάσει για διάστημα έως 3 μήνες. Ο rs718314 δεν φάνηκε να επιδρά απευθείας στον WHR ($p=0,485$ για τη συσχέτισή του με τον WHR), ενώ δεν ήταν στατιστικά σημαντική η αλληλεπίδρασή του με τον θηλασμό στον WHR, όταν εισήχθησε στο μοντέλο η δίτιμη τιμή του θηλασμού ($p=0,399$).

Ο πολυμορφισμός rs718314 βρίσκεται κοντά στο ITPR2 γονίδιο, 28 kb έξω από την 3' αμετάφραστη περιοχή. Το γονίδιο ITPR2 (inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 2) γνωστό επίσης και με τις ονομασίες ANHD, IP3R2, CFAP48, INSP3R2, βρίσκεται στην περιοχή 12p11.23 και κωδικοποιεί πρωτεΐνη που λειτουργεί ως δεύτερος αγγελιαφόρος στην απελευθέρωση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου. Βιολογικά, η σχέση του γονιδίου ITPR2 (IP₃R2) με τον ενεργειακό μεταβολισμό έχει μελετηθεί από τους Futatsugi et al. [78] σε ποντίκια. Οι ερευνητές απενεργοποίησαν τη λειτουργία του γονιδίου IP₃R2 και IP₃R3 και παρατήρησαν την πως η διαταραγμένη ενδοκυτταρική απελευθέρωση ασβεστίου στα κύτταρα των σιελογόνων αδένων και του παγκρέατος οδήγησαν σε εξωκρινή δυσλειτουργία και δυσκολίες στην πέψη των συστατικών. Έτσι, παρ' όλο που τα ποντίκια είχαν κανονική θερμιδική πρόσληψη, είχαν χαμηλά επίπεδα γλυκόζης αίματος και ήταν αδύνατα, συμπτώματα παρόμοια με αυτά στους ανθρώπους και που όπως αναφέρουν υποδεικνύουν εμπλοκή των IP3R2 και IP3R3 στον ενεργειακό μεταβολισμό.

Ο πολυμορφισμός rs718314 βρίσκεται κοντά και σε διάφορες άλλες πιθανώς ρυθμιστικές περιοχές περιλαμβανομένης μίας περιοχής υπερευαισθησίας στη DNase I (DNase I hypersensitive sites, DHSs), σημεία τροποποίησης ιστόνης H3K27Ac (histone marks representing active regulatory elements), και ένα σύμπλεγμα από περιοχές πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων [79]. Πρόσφατα, συσχετίστηκε με τον WHR σε μετα-ανάλυση GWAS μελετών [63] με θετικό συντελεστή συσχέτισης ($\beta=0,030$), με την επίδραση να είναι ισχυρότερη στις γυναίκες απ' ότι στους άνδρες, ενώ παρουσιάζει διαφορετική έκφραση μεταξύ του κοιλιακού λίπους και του λίπους στην περιοχή των γλουτών [63]. Στη δική μας μελέτη δεν συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τον WHR ($p=0,485$). Επίσης εντοπίστηκε από τους Wu et al. [80] σε μελέτη GWAS για το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (renal cell carcinoma, RCC), με τους ερευνητές να υποστηρίζουν πως υπάρχει η πιθανότητα η επίδραση του ITPR2 στο RCC να επηρεάζεται εν μέρει τουλάχιστον από οδούς που σχετίζονται με την

παχυσαρκία και για να υποστηρίξουν την υπόθεση αυτή, σχολιάζουν τη θετική συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ και του WHR στον κίνδυνο RCC. Ο πολυμορφισμός rs718314 έχει μελετηθεί και για την αλληλεπίδραση του με τη δίαιτα και συγκεκριμένα έχει φανεί πως ο διαφορετικός γονότυπος του γονιδίου επηρεάζει την επίπτωση που έχει η δυτικού τύπου δίαιτα στην εμφάνιση RCC, πιθανώς επιδρώντας στο μεταβολισμό των θρεπτικών συστατικών [79].

Υπάρχουν ενδείξεις για την πιθανή επίδραση του rs718314 στον WHR και πως αυτή η επίδραση ίσως τροποποιείται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως είναι ο θηλασμός. Το μικρό δείγμα της μελέτης δεν διευκολύνει την εξαγωγή στατιστικά σημαντικών συμπερασμάτων και για την επιβεβαίωση των ευρημάτων είναι απαραίτητος ο έλεγχος σε μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού.

Βιβλιογραφικές πηγές

1. WHO, *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. 1997, WHO Technical Report series: Geneva.
2. Macdonald, F.C., *Quetelet index as indicator of obesity*. Lancet, 1986. **1**(8488): p. 1043.
3. Cole, T.J., et al., *Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey*. BMJ, 2000. **320**(7244): p. 1240-3.
4. Kuczmarski, R.J., et al., *CDC growth charts: United States*. Adv Data, 2000(314): p. 1-27.
5. de Onis, M., et al., *Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents*. Bull World Health Organ, 2007. **85**(9): p. 660-7.
6. Taylor, R.W., et al., *Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y*. Am J Clin Nutr, 2000. **72**(2): p. 490-5.
7. Mazicioglu, M.M., et al., *Waist circumference and mid-upper arm circumference in evaluation of obesity in children aged between 6 and 17 years*. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2010. **2**(4): p. 144-50.
8. Weili, Y., et al., *Waist-to-height ratio is an accurate and easier index for evaluating obesity in children and adolescents*. Obesity (Silver Spring), 2007. **15**(3): p. 748-52.
9. Bacopoulou, F., et al., *Waist circumference, waist-to-hip ratio and waist-to-height ratio reference percentiles for abdominal obesity among Greek adolescents*. BMC Pediatr, 2015. **15**: p. 50.
10. WHO, *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. 2010: Geneva.
11. Wijnhoven, T.M., et al., *WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative: body mass index and level of overweight among 6-9-year-old children from school year 2007/2008 to school year 2009/2010*. BMC Public Health, 2014. **14**: p. 806.
12. Kyriazis, I., et al., *Prevalence of obesity in children aged 6-12 years in Greece: nutritional behaviour and physical activity*. Arch Med Sci, 2012. **8**(5): p. 859-64.
13. Grigorakis, D.A., et al., *Prevalence and lifestyle determinants of central obesity in children*. Eur J Nutr, 2015.
14. Kotanidou, E.P., et al., *Ten-year obesity and overweight prevalence in Greek children: a systematic review and meta-analysis of 2001-2010 data*. Hormones (Athens), 2013. **12**(4): p. 537-49.
15. Tambalis, K.D., et al., *Eleven-year prevalence trends of obesity in Greek children: first evidence that prevalence of obesity is leveling off*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(1): p. 161-6.
16. Daniels, S.R., *Complications of obesity in children and adolescents*. Int J Obes (Lond), 2009. **33** Suppl 1: p. S60-5.
17. Lobstein, T., et al., *Obesity in children and young people: a crisis in public health*. Obes Rev, 2004. **5** Suppl 1: p. 4-104.
18. de Onis, M., et al., *Association between WHO cut-offs for childhood overweight and obesity and cardiometabolic risk*. Public Health Nutr, 2013. **16**(4): p. 625-30.

19. Sorof, J. and S. Daniels, *Obesity hypertension in children: a problem of epidemic proportions*. Hypertension, 2002. **40**(4): p. 441-7.
20. Manios, Y., et al., *Behavioral and physiological indices related to BMI in a cohort of primary schoolchildren in Greece*. Am J Hum Biol, 2004. **16**(6): p. 639-47.
21. Manios, Y., et al., *Prevalence and independent predictors of insulin resistance in children from Crete, Greece: the Children Study*. Diabet Med, 2008. **25**(1): p. 65-72.
22. Morrison, J.A., et al., *Childhood predictors of adult type 2 diabetes at 9- and 26-year follow-ups*. Arch Pediatr Adolesc Med, 2010. **164**(1): p. 53-60.
23. Gilliland, F.D., et al., *Obesity and the risk of newly diagnosed asthma in school-age children*. Am J Epidemiol, 2003. **158**(5): p. 406-15.
24. Alemzadeh, R., et al., *Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season*. Metabolism, 2008. **57**(2): p. 183-91.
25. Manios, Y., et al., *The double burden of obesity and iron deficiency on children and adolescents in Greece: the Healthy Growth Study*. J Hum Nutr Diet, 2013. **26**(5): p. 470-8.
26. Mamun, A.A., et al., *Early overweight and pubertal maturation--pathways of association with young adults' overweight: a longitudinal study*. Int J Obes (Lond), 2009. **33**(1): p. 14-20.
27. Taylor, E.D., et al., *Orthopedic complications of overweight in children and adolescents*. Pediatrics, 2006. **117**(6): p. 2167-74.
28. Sahoo, K., et al., *Childhood obesity: causes and consequences*. J Family Med Prim Care, 2015. **4**(2): p. 187-92.
29. Xu, S. and Y. Xue, *Pediatric obesity: Causes, symptoms, prevention and treatment*. Exp Ther Med, 2016. **11**(1): p. 15-20.
30. Newby, P.K., *Are dietary intakes and eating behaviors related to childhood obesity? A comprehensive review of the evidence*. J Law Med Ethics, 2007. **35**(1): p. 35-60.
31. Tounian, P., *Programming towards childhood obesity*. Ann Nutr Metab, 2011. **58 Suppl 2**: p. 30-41.
32. Loos, R.J., *Genetic determinants of common obesity and their value in prediction*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2012. **26**(2): p. 211-26.
33. Ζαμπέλας, Α., *Η Διατροφή στα στάδια της ζωής*. 2003: Π.Χ. Πασχαλίδης.
34. Ελένη Γάκη, Δ.Π., Γιασεμή Σαραφίδου, Τάκης Παναγιωτόπουλος, Ιωάννα Αντωνιάδου-Κουμάτου, *ΕΘΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΘΗΛΑΣΜΟΥ*. 2009: Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού.
35. World Health Organization, *Indicators for Assessing Breastfeeding Practices. Reprinted report of an informal meeting*. Geneva, 1991.
36. World Health Organization. *Infant and young child feeding, Fact sheet N°342*. 23 January 2016]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs342/en/>.
37. American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding, *Breastfeeding and the use of human milk (policy statement)*. Pediatrics, 2012. **129**(3): p. e827-41.
38. Binns, C., M. Lee, and W.Y. Low, *The Long-Term Public Health Benefits of Breastfeeding*. Asia Pac J Public Health, 2016. **28**(1): p. 7-14.
39. Dieterich, C.M., et al., *Breastfeeding and health outcomes for the mother-infant dyad*. Pediatr Clin North Am, 2013. **60**(1): p. 31-48.

40. WHO. *Greece profile, Nutrition, Physical Activity and Obesity*. 2013 [cited 22 January 2016]; Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/country-work/greece>.
41. Marseglia, L., et al., *Obesity and breastfeeding: The strength of association*. *Women Birth*, 2015. **28**(2): p. 81-6.
42. Gillman, M.W., et al., *Developmental origins of childhood overweight: potential public health impact*. *Obesity (Silver Spring)*, 2008. **16**(7): p. 1651-6.
43. Bernardo L. Horta, C.G.V., *Long-term effects of breastfeeding: A Systematic Review*. 2007, WHO.
44. Burdette, H.L. and R.C. Whitaker, *Differences by race and ethnicity in the relationship between breastfeeding and obesity in preschool children*. *Ethn Dis*, 2007. **17**(3): p. 467-70.
45. Yan, J., et al., *The association between breastfeeding and childhood obesity: a meta-analysis*. *BMC Public Health*, 2014. **14**: p. 1267.
46. Harder, T., et al., *Duration of breastfeeding and risk of overweight: a meta-analysis*. *Am J Epidemiol*, 2005. **162**(5): p. 397-403.
47. Weng, S.F., et al., *Systematic review and meta-analyses of risk factors for childhood overweight identifiable during infancy*. *Arch Dis Child*, 2012. **97**(12): p. 1019-26.
48. Owen, C.G., et al., *The effect of breastfeeding on mean body mass index throughout life: a quantitative review of published and unpublished observational evidence*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(6): p. 1298-307.
49. Weng, S.F., et al., *Estimating overweight risk in childhood from predictors during infancy*. *Pediatrics*, 2013. **132**(2): p. e414-21.
50. Papandreou, D., P. Malindretos, and I. Rousso, *Risk factors for childhood obesity in a Greek paediatric population*. *Public Health Nutr*, 2010. **13**(10): p. 1535-9.
51. Panagiotakos, D.B., et al., *Birthweight, breast-feeding, parental weight and prevalence of obesity in schoolchildren aged 10-12 years, in Greece; the Physical Activity, Nutrition and Allergies in Children Examined in Athens (PANACEA) study*. *Pediatr Int*, 2008. **50**(4): p. 563-8.
52. Moschonis, G., E. Grammatikaki, and Y. Manios, *Perinatal predictors of overweight at infancy and preschool childhood: the GENESIS study*. *Int J Obes (Lond)*, 2008. **32**(1): p. 39-47.
53. Risvas, G., et al., *Perinatal and family factors associated with preadolescence overweight/obesity in Greece: the GRECO study*. *J Epidemiol Glob Health*, 2012. **2**(3): p. 145-53.
54. Balaban, G. and G.A. Silva, *[Protective effect of breastfeeding against childhood obesity]*. *J Pediatr (Rio J)*, 2004. **80**(1): p. 7-16.
55. Hassiotou, F. and D.T. Geddes, *Programming of appetite control during breastfeeding as a preventative strategy against the obesity epidemic*. *J Hum Lact*, 2014. **30**(2): p. 136-42.
56. Fisher, J.O., et al., *Breast-feeding through the first year predicts maternal control in feeding and subsequent toddler energy intakes*. *J Am Diet Assoc*, 2000. **100**(6): p. 641-6.
57. Langley-Evans, S.C., *Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review*. *J Hum Nutr Diet*, 2015. **28 Suppl 1**: p. 1-14.
58. Verduci, E., et al., *Epigenetic effects of human breast milk*. *Nutrients*, 2014. **6**(4): p. 1711-24.
59. Frayling, T.M., et al., *A common variant in the FTO gene is associated with*

- body mass index and predisposes to childhood and adult obesity.* Science, 2007. **316**(5826): p. 889-94.
60. Ντάλλα, Ι., *Αλληλεπιδράσεις γονιδίων και διατροφικών παραγόντων στην παιδική παχυσαρκία.* 2013, Διδακτορική διατριβή, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο: Αθήνα.
 61. Speliotes, E.K., et al., *Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index.* Nat Genet, 2010. **42**(11): p. 937-48.
 62. Shungin, D., et al., *New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution.* Nature, 2015. **518**(7538): p. 187-96.
 63. Heid, I.M., et al., *Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution.* Nat Genet, 2010. **42**(11): p. 949-60.
 64. Bradfield, J.P., et al., *A genome-wide association meta-analysis identifies new childhood obesity loci.* Nat Genet, 2012. **44**(5): p. 526-31.
 65. Lazopoulou, N., et al., *The combined effect of MC4R and FTO risk alleles on childhood obesity in Greece.* Hormones (Athens), 2015. **14**(1): p. 126-33.
 66. Ntalla, I., et al., *Replication of established common genetic variants for adult BMI and childhood obesity in Greek adolescents: the TEENAGE study.* Ann Hum Genet, 2013. **77**(3): p. 268-74.
 67. Abarin, T., et al., *The impact of breastfeeding on FTO-related BMI growth trajectories: an application to the Raine pregnancy cohort study.* Int J Epidemiol, 2012. **41**(6): p. 1650-60.
 68. Dedoussis, G.V., et al., *Does a short breastfeeding period protect from FTO-induced adiposity in children?* Int J Pediatr Obes, 2011. **6**(2-2): p. e326-35.
 69. Verier, C., et al., *Breast-feeding modulates the influence of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARG2) Pro12Ala polymorphism on adiposity in adolescents: The Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence (HELENA) cross-sectional study.* Diabetes Care, 2010. **33**(1): p. 190-6.
 70. Mook-Kanamori, D.O., et al., *Breast-feeding modifies the association of PPARGgamma2 polymorphism Pro12Ala with growth in early life: the Generation R Study.* Diabetes, 2009. **58**(4): p. 992-8.
 71. Obermann-Borst, S.A., et al., *Duration of breastfeeding and gender are associated with methylation of the LEPTIN gene in very young children.* Pediatr Res, 2013. **74**(3): p. 344-9.
 72. Slaughter, M.H., et al., *Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth.* Hum Biol, 1988. **60**(5): p. 709-23.
 73. Purcell, S., et al., *PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses.* Am J Hum Genet, 2007. **81**(3): p. 559-75.
 74. Rask-Andersen, M., et al., *The MAP2K5-linked SNP rs2241423 is associated with BMI and obesity in two cohorts of Swedish and Greek children.* BMC Med Genet, 2012. **13**: p. 36.
 75. Vasilopoulos, Y., et al., *VDR TaqI is associated with obesity in the Greek population.* Gene, 2013. **512**(2): p. 237-9.
 76. WHO, *Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation 8-11 December 2008:* Geneva.
 77. De Kroon, M.L., et al., *The Terneuzen Birth Cohort. Longer exclusive breastfeeding duration is associated with leaner body mass and a healthier diet in young adulthood.* BMC Pediatr, 2011. **11**: p. 33.
 78. Futatsugi, A., et al., *IP3 receptor types 2 and 3 mediate exocrine secretion*

- underlying energy metabolism*. Science, 2005. **309**(5744): p. 2232-4.
79. Melkonian, S.C., et al., *Gene-environment interaction of genome-wide association study-identified susceptibility loci and meat-cooking mutagens in the etiology of renal cell carcinoma*. Cancer, 2016. **122**(1): p. 108-15.
80. Wu, X., et al., *A genome-wide association study identifies a novel susceptibility locus for renal cell carcinoma on 12p11.23*. Hum Mol Genet, 2012. **21**(2): p. 456-62.