



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ-ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ,
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΙΣΤΙΚΩΝ, ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ, ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ
ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2.
ΔΕΚΑΕΤΗΣ ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012)»**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ευσταθία Κολοβέρου

ΑΘΗΝΑ, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Η Διδακτορική Διατριβή εξετάστηκε από την κάτωθι Επταμελή Επιτροπή:

Παναγιωτάκος Δημοσθένης (Επιβλέπων)

Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Πίτσαβος Χρήστος

Ομότιμος Καθηγητής Καρδιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Πολυχρονόπουλος Ευάγγελος

Καθηγητής Διαιτολογίας - Διατροφής και Προληπτικής Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τσίγκος Κωνσταντίνος

Καθηγητής Ενδοκρινολογίας, Διατροφής και Μεταβολισμού, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τεντολούρης Νίκος

Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας – Σακχαρώδης Διαβήτης, Ιατρική Σχολή, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κοντογιάννη Μερόπη

Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Παπακωνσταντίνου Αιμιλία

Λέκτορας Διατροφής και Μεταβολισμού, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου δεν υποδηλώνει και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.

Για την εκπόνηση της παρούσας Διδακτορικής διατριβής η συγγραφέας έλαβε υποτροφία από το Ίδρυμα Χαροκόπου και την Ελληνική Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης.

Η Ευσταθία Κολοβέρου δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα 087 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Στους γονείς μου,

για την αμέριστη συμπαράστασή τους σε κάθε μου βήμα.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής μου, η οποία πραγματοποιήθηκε κατά τα έτη 2014-2017 στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της πολυετούς προσπάθειας.

Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω από τα βάθη της καρδιάς μου τον επιβλέποντά μου, Καθηγητή Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Δημοσθένη Παναγιωτάκο, ο οποίος άναψε μέσα μου τη σπίθα του ερευνητή και μου δίδαξε υποδειγματικά τον επιστημονικό τρόπο σκέψης. Με την πολύτιμη, μη επιεική, ανατροφοδότησή του, και την τάση του να μην ακολουθεί την ερευνητική πεπατημένη, συνέβαλε στη εξέλιξη μου και την απόκτηση ενός πλούσιου ερευνητικά βιογραφικού. Τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και ελπίζω να συνεχίσουμε τη συνεργασία μας στο άμεσο μέλλον. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και να εκφράσω τη βαθιά εκτίμηση μου στον Ομότιμο Καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Χρήστο Πίτσαβο, μέλος της τριμελούς επιτροπής μου, και πρωταγωνιστή στην έμπνευση, το σχεδιασμό και την υλοποίηση της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, χωρίς τον οποίο η παρούσα διατριβή δε θα ήταν εφικτή. Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή Προληπτικής Ιατρικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ευάγγελο Πολυχρονόπουλο για τις γνώσεις που μου προσέφερε σε όλα τα χρόνια της φοιτητικής μου σταδιοδρομίας και το χρόνο που αφιέρωσε στον έλεγχο και τη βελτίωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της ομάδας ΑΤΤΙΚΗ, και κυρίως τους επιμελητές - ιατρούς Χριστίνα Χρυσοχόου και Ιωάννη Σκούμα, που συμμετείχαν στο βασικό σχεδιασμό της μελέτης και τη συλλογή του δείγματος σε όλη τις φάσεις της. Επίσης όλους τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές που εργάστηκαν για τη συλλογή των δεδομένων στο 10ετή επανέλεγχο της μελέτης, και ιδιαίτερα την Εκάβη Γεωργουσοπούλου, που είχε τον συντονιστικό ρόλο και τη μεγαλύτερη ευθύνη στην προσπάθεια αυτή.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο "ευχαριστώ" στους γονείς μου, Κατερίνα και Βασίλη, που μόνο αγάπη και υποστήριξη με γέμιζαν όλα τα χρόνια της επιστημονικής μου σταδιοδρομίας, καθώς και για την εμπιστοσύνη που ανέκαθεν έδειχναν στις επιλογές μου. Επίσης, τα αδέλφια μου, Θοδωρή και Σταυρούλα, που όντας δίπλα μου βίωσαν όλες τις

καλές και δύσκολες στιγμές κατά τη διάρκεια αυτής της προσπάθειας, με συμβούλεψαν, με στήριξαν και με βοήθησαν με κάθε τρόπο να συνεχίσω και να δώσω τον καλύτερό μου εαυτό για την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Τέλος, ευχαριστώ τους φίλους μου, και ιδιαίτερα τη φίλη μου Ζωή, για την έμπρακτη συμπαράστασή της και συμβουλή της να προσπαθώ πάντα για το καλύτερο.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ	10
ABSTRACT Η ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ	11
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	24
1.1 Ο ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	24
1.1.1 Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη	26
1.1.2 Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη στην Ελλάδα.....	31
1.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	35
Α. Γενετικοί Παράγοντες	35
Β. Περιβαλλοντικοί Παράγοντες	39
1.3 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	44
1.3.1 Τρόφιμα, ομάδες τροφίμων και ανάπτυξη διαβήτη	45
1.3.2 Διατροφικά πρότυπα και ανάπτυξη Σακχαρώδη Διαβήτη.....	50
1.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	58
1.4.1 Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών.....	58
1.4.2 Μηχανισμοί προστασίας της Μεσογειακής Διατροφής	65
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	75
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	76
3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	76
3.2 Το ΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	76
3.3 Βιοθίκη.....	78
3.4 ΜΕΤΡΗΣΙΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	78
3.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	86
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	88
4.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	88
4.2. Ο ρόλος της Μεσογειακής Διατροφής στη Δεκαετή Επιπτώση Διαβήτη.....	93
4.3 ΑΝΑΔΕΙΞΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	99
4.4 Ο ρόλος του αλκοολ στη Δεκαετή Επιπτώση Διαβήτη	100
4.5 Ο ρόλος του καφέ στη Δεκαετή Επιπτώση Διαβήτη	103
4.6 Ο ρόλος της φυσικής δραστηριότητας στη Δεκαετή Επιπτώση Διαβήτη	105
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	110
5.1 Επιδημιολογία του διαβήτη	111
5.2 Ο ρόλος της διατροφής στην αναπτύξη διαβήτη.....	112
5.3 Ο ρόλος του καφέ και του αλκοολ στην αναπτύξη διαβήτη.....	114
5.4 Ο ρόλος της σωματικής δραστηριότητας στην αναπτύξη διαβήτη.....	116
5.5 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ	117
5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	118
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	120

Περίληψη στα Ελληνικά

Σκοπός: η αποτίμηση της δεκαετούς επίπτωσης του διαβήτη καθώς επίσης και η διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων παραγόντων στην ανάπτυξή του, εστιάζοντας κυρίως στη διατροφική συνιστώσα. **Υλικό-Μέθοδος:** από το Μάιο του 2001 έως το Δεκέμβριο του 2002, 1514 άνδρες και 1528 γυναίκες άνω των 18 ετών, που κατοικούσαν στην ευρύτερη περιοχή της Αθήνας και ήταν ελεύθεροι καρδιαγγειακής νόσου και άλλων χρόνιων νόσων, αποτέλεσαν το δείγμα της μελέτης. Αρκετά κοινωνικά δημογραφικά, βιοχημικά, κλινικά, διατροφικά και άλλα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής αξιολογήθηκαν. Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών στην αρχική φάση της μελέτης έγινε με έγκυρο ημι-ποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Ο βαθμός προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή (ΜΔ) μετρήθηκε με το *MedDietScore* (εύρος 0-55). Η διάγνωση διαβήτη προσδιορίστηκε ως γλυκόζη νηστείας >125 mg/dL ή /και λήψη αντιδιαβητικής αγωγής. Κατά τα έτη 2011-12, πραγματοποιήθηκε ο 10-ετής επανέλεγχος. Η πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των σχετικών λόγων ανάπτυξης διαβήτη. **Αποτελέσματα:** 191 νέες περιπτώσεις διαβήτη καταγράφηκαν, διαμορφώνοντας τη δεκαετή επίπτωση στο 12.9%. Η μεσαία και υψηλή υιοθέτηση της ΜΔ μείωσαν κατά 49% ($\Sigma\Lambda=0.51$; 95%ΔΕ: 0.30, 0.88) και 62% ($\Sigma\Lambda=0.38$; 95%ΔΕ: 0.16, 0.88) τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, μέσω λογαριθμικής σχέσης. Τα άτομα με σπλαγχνική παχυσαρκία βρέθηκαν να ωφελούνται περισσότερο, γεγονός που αποδόθηκε στα αυξημένα επίπεδα δεικτών φλεγμονής. Συγκεκριμένα, αυξημένες τιμές IL-6, CRP και ινωδογόνου, μεμονωμένα ή συνδυαστικά, συσχετίστηκαν ισχυρά με την ανάπτυξη διαβήτη. Η εκ των υστέρων ανάλυση ανέδειξε ότι ένα διατροφικό πρότυπο πλούσιο σε φρούτα, λαχανικά, όσπρια και δημητριακά ολικής μειώνει τον κίνδυνο της νόσου κατά 40%. Η μέτρια κατανάλωση καφέ ($\geq 250mL/\text{ημέρα}$ σταθμισμένο για 28% περιεκτικότητα καφεΐνης) ημερησίως και η χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ (<1 ποτήρι/ ημέρα, έως 12γρ αιθανόλης/ημέρα) μείωσαν κατά 54% και 53% τον κίνδυνο διαβήτη, σε σχέση με την πλήρη αποχή. Αντίστοιχη βρέθηκε η μείωση του κινδύνου για τη μέτρια άσκηση (331-1484 vs. <150 MET-λεπτά/εβδομάδα). **Συμπεράσματα:** τα παραπάνω ευρήματα ενισχύουν την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, αναδεικνύοντας τη σημασία μη φαρμακολογικών προσεγγίσεων στην πρωτογενή πρόληψη του διαβήτη τύπου 2. Ένα πρότυπο διατροφής βασισμένο στα φρούτα, τα λαχανικά, τα όσπρια και τα δημητριακά ολικής άλεσης, όπως η ΜΔ, η μέτρια κατανάλωση καφέ, η χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ και η μέτρια φυσική δραστηριότητα ασκούν ευεργετική επίδραση ενάντια στην ανάπτυξη διαβήτη.

Λέξεις-Κλειδιά: διαβήτης, Μεσογειακή Διατροφή, αλκοόλ, καφές, άσκηση, φλεγμονή

Abstract ή Περίληψη στα Αγγλικά

Aim: to record the 10-year diabetes incidence, along with the investigation of the effect of several factors in its development, particularly nutritional parameters. **Materials and methods:** from May 2001 to December 2002, 1514 men and 1528 women (>18 y) without any clinical evidence of CVD or any other chronic disease, at baseline, living in greater Athens area, in Greece, were enrolled. Several socio-demographic, biochemical, clinical and dietary characteristics were evaluated. Dietary habits were assessed through a validated semi-quantitative, food frequency questionnaire. The level of adherence to Mediterranean diet pattern was assessed using the *MedDietScore* (range 0-55). Diabetes diagnosis was defined as glucose>125mg/dL or the use of antidiabetic medication. In 2011-2012, the 10-year follow-up was performed. Multiple logistic regression was used for the estimation of the odds ratio of developing diabetes. **Results:** 191 incident cases of diabetes were documented, yielding to an incidence of 12.9%. Moderate and high adherence of Mediterranean diet decreased diabetes risk by 49% (OR= 0.51; 95%CI: 0.30, 0.88) and 62% (OR=0.38; 95%CI: 0.16, 0.88), through a logarithmic trend. Individuals with visceral obesity were found to be most benefited, due to increased levels of inflammatory markers. Specifically, higher, single or combined, levels of IL-6, CRP and fibrinogen were positively associated with diabetes development. A-posteriori analysis revealed that a pattern high in fruits, vegetables, legumes and whole grain cereals decreases diabetes risk by 40%. Moderate coffee consumption ($\geq 250\text{mL}$, adjusted for 28% caffeine containment) and low alcohol consumption (<1 glass, <12g ethanol/day) decreased by 54% and 53% diabetes risk, compared to abstention. A relative decrease of the risk was observed for moderate physical activity level (331-1484 vs. <150 MET min/week). **Conclusions:** The present work extended the current knowledge about the importance of non-pharmacological interventions in the primary prevention of diabetes. A dietary pattern high in fruits, vegetables, whole grains and legumes, as MD, moderate coffee consumption, low alcohol consumption, and moderate physical activity exert a beneficial effect against diabetes onset.

Keywords: diabetes, Mediterranean diet, alcohol, coffee, physical activity

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ. 1. Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή (Υπουργείο Υγείας, 1999) (εκδοχή 1).....	54
Εικ. 2. Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή (Υπουργείο Υγείας, 1999) (εκδοχή 2)	55
Εικ. 3. Η σύγχρονη εκδοχή της μεσογειακής διατροφής.....	58
Εικ. 4. Γραφική απεικόνιση του μηχανισμού ελέγχου του σωματικού βάρους.....	73
Εικ. 5. Μηχανισμοί που συνδέουν τη μεσογειακή διατροφή με χαμηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη ΣΔτ2	74
Εικ.6. Ανάλυση τάσης στους ΣΔ εμφάνισης ΣΔτ2, ανά τριτημόριο MedDietScore.....	95

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίν.1: Κριτήρια Διάγνωσης Διαβήτη (American Diabetes Association 2017).....	25
Πίν.2: Κατηγορίες ατόμων σε υψηλό κίνδυνο για διαβήτη (Προδιαβήτης).....	26
Πίν.3: Γονίδια που έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη διαβήτη.....	38
Πίν.4: Κριτήρια διάγνωσης Μεταβολικού Συνδρόμου.....	43
Πίν.5: Μεταβλητότητα του ορισμού της Μεσογειακής διατροφής μεταξύ μελετών.....	56
Πίν.6: Συνοπτική περιγραφή του ρόλου διατροφικών συστατικών, ομάδων τροφίμων και διατροφικών προτύπων στην ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη.....	65
Πίν.7: The Mediterranean diet score (<i>MedDietScore</i>).....	85

ΕΝΟΤΗΤΑ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίν. 4.1: Κοινωνικο-δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, κλινικά και χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με την εμφάνιση ή όχι διαβήτη μέχρι το δεκαετή επανέλεγχο (n=1485)	91
Πίν.4.2: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης για τη συσχέτιση διαφόρων χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485).....	92
Πίν.4.3: Κοινωνικο-δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, κλινικά και χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με το βαθμό προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή (n=1485)	96
Πίν. 4.4: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485)	97
Πίν. 4.5: Πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2.....	101
Πίν. 4.6: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της κατανάλωσης αλκοόλ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485).	102
Πίν. 4.7: Πρότυπο κατανάλωσης καφέ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2 (n=1440)	104
Πίν. 4.8: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485).....	105
Πίν. 4.9: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485)	106
Πίν. 4.10: Κατανομή των δεικτών γλυκαιμικού ελέγχου και φλεγμονής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2 (n=1485).....	107
Πίν. 4.11: Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση επιπέδων IL-6 των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1254).....	108

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφ. 1: Εκτιμώμενος αριθμός ατόμων με διαβήτη παγκοσμίως και ανά περιοχή το 2015 και το 2040.....	27
Γράφ. 2: Οι 10 χώρες με τα υψηλότερα ποσοστά διαβήτη.....	28
Γράφ. 3: Παγκόσμιο κόστος περίθαλψης ατόμων με διαβήτη.....	29
Γράφ. 4: Οι 10 χώρες με τις υψηλότερες δαπάνες, που σχετίζονται με το διαβήτη.....	29
Γράφ. 5: Διαχρονική εξέλιξη του επιπολασμού και της επίπτωσης του διαβήτη ενηλίκων (20-79 ετών) στις Η.Π.Α. (1980-2014)	30
Γράφ. 6: Δενδρόγραμμα των προοπτικών μελετών που αξιολόγησαν την επίδραση της, μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη ΣΔτ2.....	64
Γράφ. 7: Δεκαετής επίπτωση (2002-2012) του διαβήτη ανά φύλο και ηλικία (3 ηλικιακές ομάδες)....	88
Γράφ. 8: Δεκαετής επίπτωση (2002-2012) του διαβήτη ανά φύλο και ηλικία (6 ηλικιακές ομάδες)....	88
Γράφ. 9: Λόγος των επιπτώσεων της νόσου στους άνδρες προς τις γυναίκες, ανά ηλικία.....	89
Γράφ. 10: Διαχρονική εξέλιξη της επίπτωσης ΣΔτ2 (2002 - 2007 - 2012), ανά φύλο.....	90
Γράφ. 11: Συμμόρφωση με τη ΜΔ, συνολικά και ανά φύλο, μεταξύ των ατόμων που ανέπτυξαν διαβήτη στο 10ετή επανέλεγχο.....	94

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ADA	American Diabetes Association
CRP	Καντιδρώσα πρωτεΐνη
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
FPG	Fasting Plasma Glucose, Γλυκόζη Πλάσματος νηστείας
HbA1c	Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη
HDL	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
HOMA	εκτίμηση του Μοντέλου Ομοιόστασης, Homeostatic model Assessment
IDDM	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Ινσουλινοεξαρτώμενος Διαβήτης
IFG	Διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (Impaired Fasting Glucose)
IGT	Impaired Glucose Tolerance: Διαταραγμένη Γλυκόζη Νηστείας
IL-6	Ιντερλευκίνη - 6
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
LDL	Χαμηλής Πυκνότητας σε χοληστερόλη Λιποπρωτεΐνη
MDP	Mediterranean Dietary Pattern
MedDietScore	Δεύτης Αποτίμησης της προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
MUFA	Μονοακόρεστο Λιπαρό Οξύ
NDDG	Εθνική Ομάδα Δεδομένων Διαβήτη
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
NIDDM	Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus: Μη Ινσουλινοεξαρτώμενος
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test: Δοκιμασία Ανοχής στην Γλυκόζη
NO	Μονοξείδιο του Αζώτου
PUFA	Πολυακόρεστο Λιπαρό Οξύ
PGI2	Prostaglandin I2
ROS	Reactive Oxygen Species, Αντιδραστικά Είδη Οξυγόνου.
SFA	Κορεσμένο Λιπαρό Οξύ
TG	Τριγλυκερίδια
TNF-α	Tumor Necrosis Factor α: Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων α.
WHR	Λόγος Περιφέρειας Μέσης προς Περιφέρεια Ισχίων
WHtR	Λόγος Περιφέρειας Μέσης προς Ύψος
ΔΜΣ	Δεύτης Μάζας Σώματος
ΔΕ	Διάστημα Εμπιστοσύνης
ΕΣΚΤ	Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων
ΜΔ	Μεσογειακή Διατροφή (Δίαιτα)
ΠΟΥ	Πλαγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΣΔ	Σακχαρώδης Διαβήτης
ΣΔτ2	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2
ΣΛ	Σχετικός Λόγος
ΣΚ	Σχετικός Κίνδυνος

Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

Η **Ευσταθία (Εφη) Κολοβέρου** είναι απόφοιτος του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (2010, Βαθμός Πτυχίου 9,2/10, πρωτεύσασα στο έτος της) και κάτοχος του μεταπτυχιακού τίτλου (MSc) «Έλεγχος του Στρες και Προαγωγή της Υγείας» από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών (Βαθμός πτυχίου 9,6/10), με θέμα «Πιλοτική εφαρμογή προγράμματος διαχείρισης του στρες σε ασθενείς εξωτερικών ιατρείων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2». Κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών και μεταπτυχιακών του σπουδών υπήρξε υπότροφος του Ιδρύματος Λάτση. Κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών της σπουδών εκπαιδεύτηκε στη διατροφική διαχείριση του σακχαρώδη διαβήτη στο Διαβητολογικό κέντρο Joslin στη Βοστώνη με υποτροφία του Ευρωπαϊκού Οργανισμού για τη μελέτη του Διαβήτη (EASD). Η διδακτορική της διατριβή με θέμα «Διερεύνηση της συσχέτισης κοινωνικό-οικονομικών, συμπεριφοριστικών, διατροφικών, κλινικών και βιοχημικών παραμέτρων με την ανάπτυξη και διαχείριση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ATTICA» εκπονήθηκε στο τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας–Διατροφής, στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, σε συνεργασία με την Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Η κα. Κολοβέρου έχει συμμετάσχει σε ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα πρόληψης της παιδικής παχυσαρκίας στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, ενώ εργάζεται 7 έτη και ως κλινική διαιτολόγος με έμφαση σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Η κα. Κολοβέρου έχει διδακτικό έργο σε προπτυχιακό επίπεδο (βοηθός διδασκαλίας) και πρόσφατα σε μεταπτυχιακό επίπεδο, ενώ παρουσιάζει σημαντικό ερευνητικό έργο στο γνωστικό αντικείμενο του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Έχει 9 δημοσιεύσεις (όλες ως 1η συγγραφέας) σε έγκριτα διεθνή και επιστημονικά περιοδικά, καθώς και >30 ανακοινώσεις σε Διεθνή και Ελληνικά συνέδρια. Οι ετεροαναφορές στο έργο της ανέρχονται σε >80. Είναι κριτής στα επιστημονικά περιοδικά JAMA, BMJ, Nutrition, European Journal of Nutrition κ.ά.

Δημοσιεύσεις που προέκυψαν από τη Διδακτορική Διατριβή

Ελληνικά περιοδικά

- Κολοβέρου Ε, Παναγιωτάκος Δ, Η Μεσογειακή Δίαιτα στην πρωτογενή πρόληψη του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (2015). Υπεύθυνοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί. Ελλ. Επιθ. Αθηροσκλ. **5** (3): 200-206**

Διεθνή περιοδικά

2. **Koloverou, E.**, D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, E. N. Georgousopoulou, E. Pitaraki, V. Metaxa and C. Stefanadis (2014). "10-year incidence of diabetes and associated risk factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012)." Rev Diabet Stud **11**(2): 181-189.
3. **Koloverou, E.**, D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, E. N. Georgousopoulou, A. Grekas, A. Christou, M. Chatzigeorgiou, I. Skoumas, D. Tousoulis and C. Stefanadis (2016). "Adherence to Mediterranean diet and 10-year incidence (2002-2012) of diabetes: correlations with inflammatory and oxidative stress biomarkers in the ATTICA cohort study." Diabetes Metab Res Rev **32**(1): 73-81.
4. **Koloverou, E.**, D. B. Panagiotakos, E. N. Georgousopoulou, A. Grekas, A. Christou, M. Chatzigeorgiou, C. Chrysohoou, D. Tousoulis, C. Stefanadis and C. Pitsavos (2016). "Dietary Patterns and 10-year (2002-2012) Incidence of Type 2 Diabetes: Results from the ATTICA Cohort Study." Rev Diabet Stud **13**(4): 246-256.
5. **Koloverou, E.**, D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, E. N. Georgousopoulou, V. Metaxa and C. Stefanadis (2015). "Effects of alcohol consumption and the metabolic syndrome on 10-year incidence of diabetes: the ATTICA study." Diabetes Metab **41**(2): 152-159.
6. **Koloverou, E.**, D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, E. N. Georgousopoulou, A. Laskaris and C. Stefanadis (2015). "The evaluation of inflammatory and oxidative stress biomarkers on coffee-diabetes association: results from the 10-year follow-up of the ATTICA Study (2002-2012)." Eur J Clin Nutr **69**(11): 1220-1225.

Ανακοινώσεις σε συνέδρια

Προφορικές Ανακοινώσεις (ενδεικτικά)

1. **Έφη Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Δ. Τουσούλης, Χ. Πίτσαβος, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Μεμονωμένες και συνδυαστικές συσχετίσεις δεικτών φλεγμονής με την ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Ο μεσολαβητικός ρόλος της παχυσαρκίας: δεκαετής επανέλεγχος της μέλετης ΑΤΤΙΚΗ. 15ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο. Αθήνα 2017 (Γ' Βραβείο)

2. **Κολοβέρου Ε**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χατζηνικολάου, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Χ. Σταμούλη, Α. Γκρέκας, Α. Λάσκαρης, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Πίτσαβος, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η Μεσογειακή δίαιτα προστατεύει ενάντια στον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2. Ο διαμεσολαβητικός ρόλος της φλεγμονής. Αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012), 6ο Συμπόσιο Ομάδων Εργασίας της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2015 (Α' ΒΡΑΒΕΙΟ)
3. **Κολοβέρου Ε**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ν. Σκουρλής, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Ο διαμεσολαβητικός ρόλος της φλεγμονής στην προστατευτική επίδραση που ασκεί η Μεσογειακή Δίαιτα ενάντια στον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012), 36ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2015
4. **Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ν. Σκουρλής, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Ο λόγος τριγλυκεριδίων / HDL αποτελεί τον βέλτιστο προβλεπτικό δείκτη, μεταξύ των λιπιδίων, του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002 -2012), 36ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2015 (υποψήφια για Βραβείο)
5. **Ευσταθία Κολοβέρου¹**, Δημοσθένης Παναγιωτάκος¹, Χρήστος Πίτσαβος², Εκάβη Γεωργουσοπούλου¹, Χριστίνα Χρυσοχόου², Ιωάννης Σκούμας², Βασιλική Μεταξά², Δημήτριος Τουσούλης², Χριστόδουλος Στεφανάδης² Μεσογειακή δίαιτα και δεκαετής κίνδυνος ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2. Πιθανή διαμεσολάβηση της σχέσης από παράγοντες φλεγμονής: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012). 13ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διαιτολογίας - Διατροφής, Αθήνα 2015
6. **Ευσταθία Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Βασιλική Μεταξά² Ντερτιμάνη Μαρία, Χριστίνα Χατζηνικολάου, Ν. Σκουρλής, Αιμιλία Χρήστου, Αντέλα Ζάνα, Γεωργία-Μαρία Κούλη, Κατερίνα Καλογεροπούλου, Ευαγγελία Πιταράκη, Α. Γκρέκας, Μ. Χατζηγεωργίου, Α. Λάσκαρης, Ελένη Κόκκου, Λ. Παπαδημητρίου, Κωνσταντίνα Μασούρα, Χαρά Σταμούλη, Μ. Κάμπαξης, Γ. Γεωργιόπουλο², Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Μεσογειακή δίαιτα και δεκαετής ανάπτυξη διαβήτη. Πιθανή διαμεσολάβηση της σχέσης από παράγοντες

φλεγμονής και οξειδωτικού στρες: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012).

14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015. (Γ' ΒΡΑΒΕΙΟ)

7. **Ευσταθία Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Βασιλική Μεταξά' Ντερτιμάνη Μαρία, Χριστίνα Χατζηνικολάου, Ν. Σκουρλής, Αιμιλία Χρήστου, Αντέλα Ζάνα, Γεωργία-Μαρία Κούλη, Κατερίνα Καλογεροπούλου, Ευαγγελία Πιταράκη, Α. Γκρέκας, Μ. Χατζηγεωργίου, Α. Λάσκαρης, Ελένη Κόκκου, Λ. Παπαδημητρίου, Κωνσταντίνα Μασούρα, Χαρά Σταμούλη, Μ. Κάμπαξης, Γ. Γεωργιόπουλο², Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Κατανάλωση καφέ και ανάπτυξη διαβήτη: αποτελέσματα από το δεκαετή επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012). 14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015.
8. **Ευσταθία Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Βασιλική Μεταξά' Ντερτιμάνη Μαρία, Χριστίνα Χατζηνικολάου, Ν. Σκουρλής, Αιμιλία Χρήστου, Αντέλα Ζάνα, Γεωργία-Μαρία Κούλη, Κατερίνα Καλογεροπούλου, Ευαγγελία Πιταράκη, Α. Γκρέκας, Μ. Χατζηγεωργίου, Α. Λάσκαρης, Ελένη Κόκκου, Λ. Παπαδημητρίου, Κωνσταντίνα Μασούρα, Χαρά Σταμούλη, Μ. Κάμπαξης, Γ. Γεωργιόπουλο², Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Η σχέση μεταξύ κεντρικής παχυσαρκίας και δεικτών φλεγμονής στην ανάπτυξη διαβήτη: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012). 14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015.
9. **Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Γ.Μ. Κούλη, Α. Γκρέκας, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Κατανάλωση καφέ και Δεκαετής Επίπτωση του Διαβήτη (2002-2012): Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. 35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014.
10. **Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ε. Πιταράκη, Ζ. Αντέλα, Λ. Παπαδημητρίου Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η τροποποιητική επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στη σχέση οικογενειακού ιστορικού και δεκαετούς επίπτωσης διαβήτη: Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2014.
11. **Κολοβέρου Έ.**, Τεντολούρης Ν., Μπακούλα Χ., Δαρβίρη Χ., Χρούσος Γ. Πιλοτική εφαρμογή προγράμματος διαχείρισης του στρες σε ασθενείς εξωτερικών ιατρείων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή, ΠΜΣ «Έλεγχος Διαχείρισης του στρες και Προαγωγή της Υγείας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου

Αθηνών, 1^ο Διεπιστημονικό Συνέδριο: Παχυσαρκία-Διαβήτης, Βιοψυχοκοινωνικές Προσεγγίσεις, 8-10/11/2013, Ξενοδοχείο Royal Olympic, Αθήνα.

Αναρτημένες Ανακοινώσεις (ενδεικτικά)

12. **Ε. Κολοβέρου, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Α. Γκρέκας, Α. Χρήστου, Μ. Χατζηγεωργίου, Χ. Χρυσοχόου, Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ.** Ο ρόλος των διατροφικών προτύπων στο δεκαετή κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012). 7ο συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2017
13. **Ε. Κολοβέρου, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Α. Λάσκαρης, Χ. Χατζηνικολάου, Μ. Χατζηγεωργίου, Χ. Σταμούλη, Α. Γκρέκας, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Πίτσαβος, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ.** Αξιολόγηση της συσχέτισης της C-αντιδρωσας πρωτεΐνης (CRP) με την παχυσαρκία στην ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012). 7ο συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2017
14. **E. Koloverou, D.B. Panagiotakos, E. Georgousopoulou, A. Grekas, A. Christou, M. Chatzigeorgiou, C. Chrysohoou, D. Tousoulis, C. Stefanidis, C. Pitsavos and the ATTICA study group.** The role of dietary patters in 10-year (2002-2012) diabetes incidence. Europrevent 2017, Malaga, Spain.
15. **E. Koloverou, D.B. Panagiotakos, E. Georgousopoulou, A. Laskaris, C. Chatzinikolaou, C. Chrysohoou, I. Skoumas, D. Tousoulis, C. Pitsavos, C. Stefanidis, and the ATTICA study group.** Investigation of the association of CRP with the 10-year (2002-2012) diabetes incidence; the mediating role of central obesity. Europrevent 2017, Malaga, Spain.
16. **Koloverou E., Panagiotakos D B., Chrysohoou C., Georgousopoulou E., Tousoulis D., Pitsavos C., Stefanidis C.** Single and combined effects of inflammatory markers on diabetes development; the mediating role of obesity: 10-year follow up of the ATTICA study. ESC Congress 2017, Barcelona, Spain.
17. **Koloverou E., Panagiotakos D B., Chrysohoou C., Georgousopoulou E., Tousoulis D., Pitsavos C., Stefanidis C.** Diabetes risk assessment of cardiovascular free individuals, through the calculation and evaluation of a lifestyle index; results of the 10-year follow up of the ATTICA study. ESC Congress 2017, Barcelona, Spain.

- 18. Έ. Κολοβέρου¹, Δ.Β. Παναγιωτάκος¹, Ε. Γεωργουσοπούλου¹, Α. Λάσκαρης¹, Χ. Χατζηνικολάου¹, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Χ. Σταμούλη², Α. Γκρέκας¹, Χ. Χρυσοχόου², Ι. Σκούμας², Δ. Τουσούλης², Χ. Πίτσαβος², Χ. Στεφανάδης², και η ομάδα Αττική. Ο λόγος τριγλυκεριδίων/ HDL αποτελεί το βέλτιστο προβλεπτικό δείκτη, μεταξύ των λιπιδίων, του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2: Δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012), 6ο Συμπόσιο Ομάδων Εργασίας της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2015**
- 19. Έ. Κολοβέρου¹, Δ.Β. Παναγιωτάκος¹, Ε. Γεωργουσοπούλου¹, Α. Γκρέκας¹, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Α. Λάσκαρης¹, Χ. Χρυσοχόου², Ν. Σκουρλής¹, Ι. Σκούμας², Δ. Τουσούλης², Χ. Πίτσαβος², Χ. Στεφανάδης², και η ομάδα Αττική. Συσχέτιση ινσουλίνης νηστείας – σπλαγχνικής παχυσαρκίας στο 10ετή κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002 – 2012). 6ο Συμπόσιο Ομάδων Εργασίας της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2015**
- 20. Έ. Κολοβέρου, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ν. Σκουρλής, Μ. Χατζηγεωργίου¹, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η μελέτη της σχέσης ινσουλίνης νηστείας - σπλαγχνικής παχυσαρκίας σε συνάρτηση με την επίπτωση διαβήτη: αποτελέσματα από το δεκαετή επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012)36ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2015**
- 21. Efi Koloverou, Demosthenes Panagiotakos, Christina Chrysohoou, Ekavi Georgousopoulou, Vassiliki Metaxa, Ioannis Skoumas, Dimitris Tousoulis, Christodoulos Stefanidis, Christos Pitsavos. Adherence to Mediterranean diet reduces ten-year diabetes risk. The role of TNF-α and homocysteine as potential mediators. Ευρωπαϊκή Ένωση για τη μελέτη του Διαβήτη (EASD) Στοκχόλμη, Σεπτέμβριος 2015**
- 22. Ευσταθία Κολοβέρου, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Βασιλική Μεταξά' Ντερτιμάνη Μαρία, Χριστίνα Χατζηνικολάου, Ν. Σκουρλής, Αιμιλία Χρήστου, Αντέλα Ζάνα, Γεωργία-Μαρία Κούλη, Κατερίνα Καλογεροπούλου, Ευαγγελία Πιταράκη, Α. Γκρέκας, Μ. Χατζηγεωργίου, Α. Λάσκαρης, Ελένη Κόκκου, Λ. Παπαδημητρίου, Κωνσταντίνα Μασούρα, Χαρά Σταμούλη, Μ. Κάμπαξης, Γ. Γεωργιόπουλο², Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Η τροποποιητική επίθραση της φυσικής δραστηριότητας στη σχέση οικογενειακού ιστορικού διαβήτη και ανάπτυξης διαβήτη: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012). 14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015**

- 23. Ευσταθία Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Εκάβη Γεωργουσοπούλου, Χριστίνα Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Βασιλική Μεταξά' Ντερτιμάνη Μαρία, Χριστίνα Χατζηνικολάου, Ν. Σκουρλής, Αιμιλία Χρήστου, Αντέλα Ζάνα, Γεωργία-Μαρία Κούλη, Κατερίνα Καλογεροπούλου, Ευαγγελία Πιταράκη, Α. Γκρέκας, Μ. Χατζηγεωργίου, Α. Λάσκαρης, Ελένη Κόκκου, Λ. Παπαδημητρίου, Κωνσταντίνα Μασούρα, Χαρά Σταμούλη, Μ. Κάμπαξης, Γ. Γεωργιόπουλο², Δ. Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Κατανάλωση αλκοόλ και δεκαετής επίπτωση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012). 14ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015
- 24. Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ν. Σκουρλής, Μ. Χατζηγεωργίου, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η Μεσογειακή Δίαιτα προστατεύει από την ανάπτυξη του σακχαρώδη διαβήτη. Η τροποποιητική επίδραση της ηλικίας: 10ετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ. 35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014.
- 25. Έ. Κολοβέρου**, Δ.Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χατζηνικολάου, Α. Χρήστου, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η σχέση μεταξύ κεντρικής παχυσαρκίας και δεικτών φλεγμονής στην πρόβλεψη της 10ετους επίπτωσης σακχαρώδη διαβήτη: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. 35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014.
- 26. Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Α. Λάσκαρης, Ε. Κόκκου, Β. Μεταξά, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η σχέση της κατανάλωσης αλκοόλ με τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ. 35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014..
- 27. Έ. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου' Ε. Πιταράκη, Ζ. Αντέλα, Λ. Παπαδημητρίου, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η τροποποιητική επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στο ρόλο του οικογενειακού ιστορικού διαβήτη στην εμφάνιση της νόσου: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ. 35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014.
- 28. Έ. Κολοβέρου**, Δ.Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χατζηνικολάου, Α. Χρήστου, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η σχέση μεταξύ κεντρικής παχυσαρκίας και δεικτών φλεγμονής στην ανάπτυξη διαβήτη: Δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2014.

29. **Ε. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Α. Λάσκαρης, Ε. Κόκκου, Β. Μεταξά, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Άλληλεπίδραση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ, του Μεταβολικού Συνδρόμου και της Μεσογειακής Διατροφής στη δεκαετή επίπτωση σακχαρώδη διαβήτη: μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2014.
30. **Ε. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Γ.Μ. Κούλη, Α. Γκρέκας, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η επίδραση του καφέ στη δεκαετή επίπτωση του διαβήτη: μελέτη Αττική. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2014.
31. **Ε. Κολοβέρου**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Πίτσαβος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Ν. Σκουρλής, Μ. Χατζηγεωργίου, Χ. Χρυσοχόου, Ι. Σκούμας, Χ. Στεφανάδης, και η ομάδα Αττική. Η ηλικία διαφοροποιεί την επίδραση της Μεσογειακής Διατροφής στη δεκαετή επίπτωση του διαβήτη: αποτελέσματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, Αθήνα 2014.
32. Demosthenes Panagiotakos, Christos Pitsavos, **Efi Koloverou**, Christina Chrysohoou, Ekavi Georgousopoulou, Vassiliki Metaxa, Georgia-Maria Kouli, Manolis Kambasis, Christodoulos Stefanidis. Alcohol drinking and 10-year incidence of diabetes mellitus: the ATTICA study. European Society of Cardiology Congress, Barcelona 2014
33. Demosthenes Panagiotakos, Christos Pitsavos, **Efi Koloverou**, Christina Chrysohoou, Ekavi Georgousopoulou, Vassiliki Metaxa, Georgia-Maria Kouli, Christodoulos Stefanidis. Physical activity moderates the effect of lipid levels on diabetes incidence: 10-year (2002-2012) follow-up of the ATTICA study. European Society of Cardiology Congress, Barcelona 2014
34. Demosthenes B. Panagiotakos¹, Christos Pitsavos², **Efstathia Koloverou**¹, Christina Chrysohoou², Christodoulos Stefanidis² Mediterranean Diet and Diabetes Development: A meta-analysis of 12 studies and 140,001 individuals, ¹ Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, School of Health, Science and Education,² First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, 63th Annual Scientific Sessions & Expo, American College of Cardiology, 29-31/03/2014, Washington DC.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ο σακχαρώδης διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μία ετερογενής μεταβολική νόσος, με κεντρικό σημείο τη διαταραχή ή/και απώλεια της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος, με αποτέλεσμα το σώμα να αδυνατεί να παράγει αρκετή ινσουλίνη, ή να τη χρησιμοποιήσει σωστά. Η ινσουλίνη είναι η ορμόνη-κλειδί, που εκκρίνεται από τα β-παγκρεατικά κύτταρα, κατόπιν σήματος παρουσίας γλυκόζης στην κυκλοφορία, με σκοπό να καταστήσει δυνατή την είσοδο της γλυκόζης στους ινσουλινο-ευαίσθητους ιστούς (σκελετικούς μύες, λιπώδη ιστό) μέσω των GLUT-4 υποδοχέων.

Διακρίνονται 3 κύριοι τύποι διαβήτη:

- ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1, με αυτοάνοση αιτιολογία,
- ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, με ισχυρό πολυγονιαδιακό υπόβαθρο αλλά και τη συμβολή περιβαλλοντικών επιδράσεων, και
- ο σακχαρώδης διαβήτης κύησης, που πρωτεμφανίζεται μετά την 24^η εβδομάδα της κύησης.

Λιγότερο συχνοί τύποι διαβήτη είναι ο μονογονιδιακός διαβήτης (MODY), αποτέλεσμα μετάλλαξης/μεταλλάξεων σε ένα μόνο γονίδιο, καθώς και ο δευτεροπαθής διαβήτης, που εκδηλώνεται ως επιπλοκή άλλης νόσου, όπως ορμονικές διαταραχές (σύνδρομο Cushing) ή νοσήματα του παγκρέατος.

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔτ2) αποτελεί την πιο συχνή εκδήλωση της νόσου και χαρακτηρίζεται από **α)** προοδευτική μείωση της εκκριτικής ικανότητας των β-κυττάρων του παγκρέατος για ινσουλίνη, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει και σε απόλυτη ένδεια αυτής, και **β)** ποικίλου βαθμού αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι δύο αυτοί παράγοντες οδηγούν σε υπεργλυκαιμία και σε διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των πρωτεΐνων και των λιπιδίων (International Diabetes Federation 2015).

Διάγνωση του ΣΔτ2

Σύμφωνα με την Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρεία (αναθεώρηση 2016), η διάγνωση του ΣΔ2 τίθεται με την ύπαρξη συγκεκριμένων κριτηρίων (*Πίνακας 1*).

Πίνακας 1. Κριτήρια Διάγνωσης Διαβήτη (American Diabetes Association 2017)

Γλυκόζη νηστείας ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)

*Νηστεία ορίζεται η αποχή από θερμιδική πρόσληψη για τουλάχιστον 8 ώρες

ή

Γλυκόζη 2 ώρες κατόπιν φόρτισης με 75 g γλυκόζης ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)

ή

Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (A1C) $> 6,5\%$ (48 mmol/mol)

ή

Τυχαίο εύρημα γλυκόζης ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) σε άτομα με κλασικά συμπτώματα

υπεργλυκαιμίας ή υπεργλυκαιμική κρίση

*Σε περίπτωση απουσίας των συμπτωμάτων, χρειάζεται επιβεβαίωση με επανέλεγχο.

Εκτός από τα άτομα με ΣΔτ2 υπάρχει και μια ομάδα ατόμων που δεν πληρού τα κριτήρια της νόσου, ωστόσο παρουσιάζει κάποιου βαθμού διαταραχή στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Αυτή η κατάσταση, ο λεγόμενος προδιαβήτης, που προηγείται της εμφάνισης διαβήτη, διακρίνεται σε διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (impaired fasting glucose, IFG) και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (impaired glucose tolerance, IGT). Στην περίπτωση της διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στην κατάσταση νηστείας, ενώ στην περίπτωση της διαταραγμένης ανοχής γλυκόζης, παρατηρείται αύξηση της γλυκόζης στο μεταγευματικό στάδιο. Και οι δύο καταστάσεις χαρακτηρίζονται από μικρότερου βαθμού υπεργλυκαιμία σε σχέση με το ΣΔτ2 και συνήθως προηγούνται της επίσημης διάγνωσης με ΣΔτ2. Τα τελευταία χρόνια μάλιστα έχει προστεθεί και η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, ως κριτήριο διάγνωσης της ύπαρξης προδιαβήτη. Ωστόσο, αρκετά συχνά η ομάδα αυτή των ασθενών δεν αντιμετωπίζεται με την αυστηρότητα που απαιτείται, με αποτέλεσμα, στην πλειονότητα των περιπτώσεων να παρατηρείται εξέλιξη σε ΣΔ2. Μάλιστα, έχει προταθεί πως ο ΣΔ2 εμφανίζεται σε ένα έως τρία τέταρτα των ατόμων με διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης μέσα σε μια δεκαετία από την αρχική της διάγνωση (Pan, Li et al. 1997).

Πίνακας 2. Κατηγορίες ατόμων σε υψηλό κίνδυνο για διαβήτη (Προδιαβήτης) (American Diabetes Association 2017)

Γλυκόζη νηστείας: 100 - 125 mg/dl (5.6 - 6.9 mmol/L) (IFG)

ή

Γλυκόζη 2 ώρες κατόπιν φόρτισης με 75 g γλυκόζης: 140 – 199 mg/dL (7.8 – 11mmol/L) (IGT)

ή

Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη: 5.7 – 6.4% (39 – 46 mmol/L)

* Και για τα 3 τεστ, ο κίνδυνος είναι συνεχής, ξεκινώντας ακόμα και πιο κάτω από το κατώτερο όριο του εύρους και αυξανόμενος δυσανάλογα στη μεγαλύτερη τιμή του εύρους

1.1.1 Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη

Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

Σύμφωνα με στοιχεία του ΠΟΥ ο αριθμός των ατόμων με διαβήτη αυξήθηκε από 108 εκ. το 1980 σε 347 εκ. το 2008 και 422 εκ. το 2014, ιδιαίτερα στην Αμερική, Αφρική και Δυτική Ευρώπη. Ο παγκόσμιος επιπολασμός της νόσου στους ενήλικες αυξήθηκε από 4.7% το 1980 στο 8.5% το 2014. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, ο διαβήτης προκάλεσε 1.5 εκ. θανάτους το 2014 και η υπεργλυκαιμία επιπλέον 2.2 εκ. θανάτους (World Health Organization 2016).

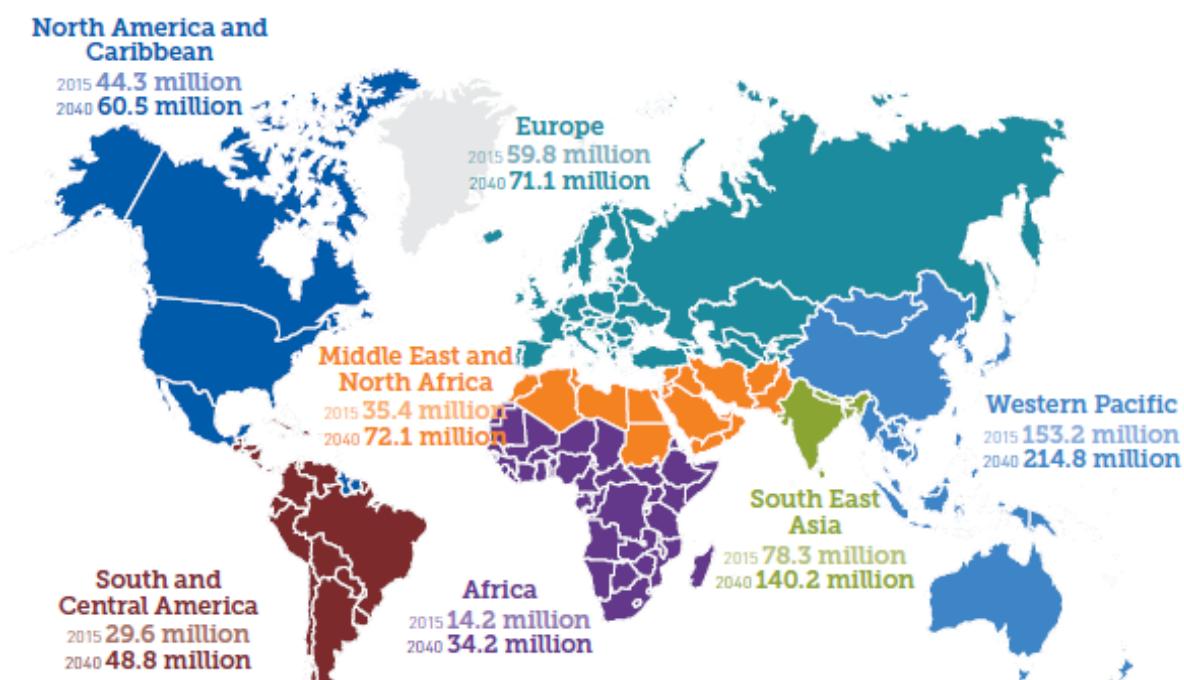
Διεθνής Ομοσπονδία για το Διαβήτη (IDF)(International Diabetes Federation 2015)

Σύμφωνα με τη 5^η έκδοση του Παγκόσμιου Άτλαντα για το Διαβήτη που εξέδωσε η IDF, το 2012, περισσότεροι από 371 εκ. άνθρωπου έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη, με πρόβλεψη να αγγίξουν τα 552 εκ. μέχρι το 2030.

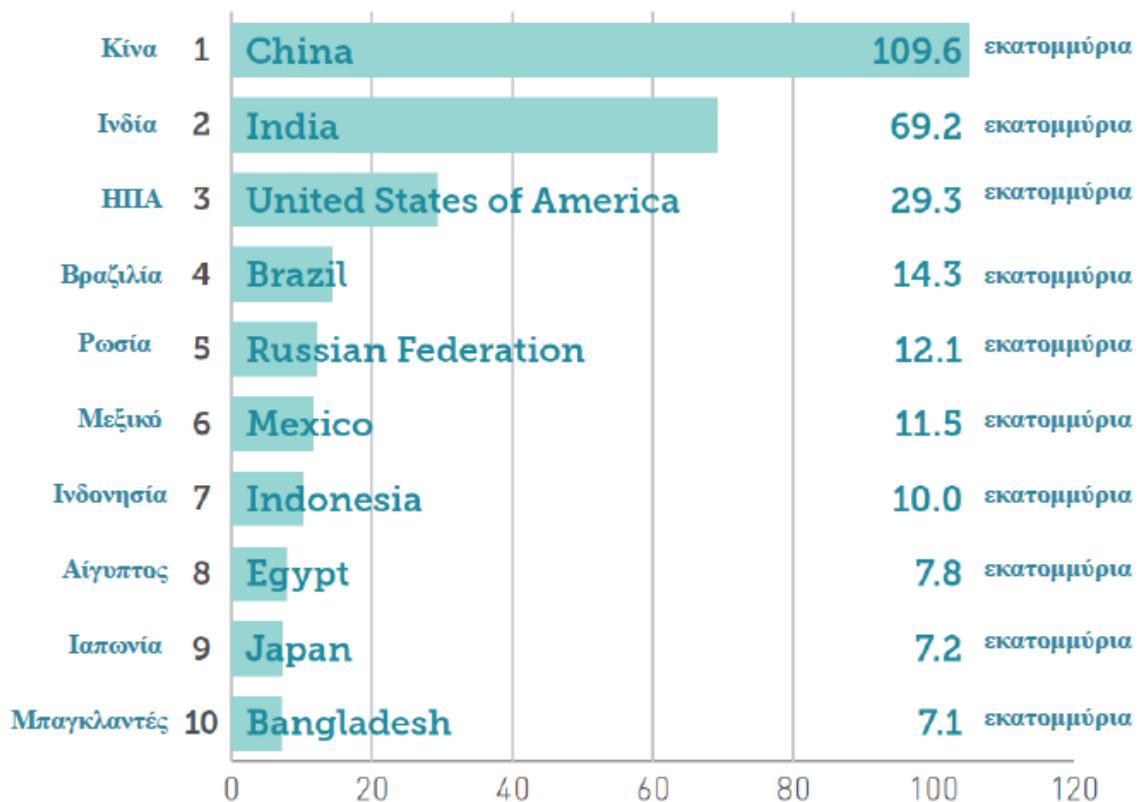
Το 2013, η 6η έκδοση, ανέφερε αύξηση των κρουσμάτων παγκοσμίως κατά 11 εκ. (382 εκ.), με πρόβλεψη να φτάσουν τα 592 εκ. το 2035, μια αύξηση της τάξεως του 55%. Ιδιαίτερα ανησυχητικό ήταν το εύρημα ότι 46% των ατόμων με διαβήτη παραμένουν αδιάγνωστοι με αποτέλεσμα την ταχύτερη εξέλιξη της νόσου και την πρόωρη εμφάνιση μικρο- και μάκρο- επιπλοκών. Σύμφωνα με τα στοιχεία του 2013, η πλειονότητα των ατόμων με διαβήτη ήταν ηλικίας 40-59 ετών και 80% αυτών διαβιούσαν σε χώρες χαμηλού ή μεσαίου κοινωνικο-οικονομικού επιπέδου. Οι χώρες με τα υψηλότερα ποσοστά διαβήτη

τύπου 2 βρέθηκαν με μεγάλη διαφορά η Κίνα και η Ινδία, και ακολουθούσαν οι ΗΠΑ, η Βραζιλία, η Ρωσία και το Μεξικό.

Το 2015, δημοσιεύτηκε η τελευταία, 7^η έκδοση της IDF, όπου επιβεβαιώθηκε ότι ο διαβήτης αποτελεί σαρωτική επιδημία. Μέσα σε μόλις 2 έτη, ο αριθμός των ατόμων με διαβήτη αυξήθηκε κατά 33 εκ. (415 εκ.), δηλαδή 16 περίπου εκ. κάθε έτος, ένα ρυθμό κατά πολύ μεγαλύτερο των προηγούμενων ετών, διαμορφώνοντας τον παγκόσμιο επιπολασμό στο 9% μεταξύ των ενηλίκων. Ιδιαίτερα ανησυχητικό ήταν και το ότι για 1^η φορά καταγράφηκαν περισσότερα από 0.5 εκ. άτομα με διαβήτη τύπου 1. Αντίστοιχα, η 25ετής πρόβλεψη άγγιξε το δυσθεώρητο νούμερο των 642 εκ. ή 1 στους 10 ενήλικες. Σταθερή ωστόσο παρέμεινε η κατανομή του διαβήτη τύπου 2 στις διάφορες χώρες, ηλικιακές και κοινωνικο-οικονομικές ομάδες. Ο αδιάγνωστος διαβήτης αυξήθηκε ελάχιστα, και εκτιμήθηκε στο 46.5%, με την πρωτιά, σε ποσοστό, να φέρει η Αφρική (66.7%) και στη συνέχεια χώρες του Δυτικού Ειρηνικού (52.1%) και Νοτιοανατολικής Ασίας (52.1%).



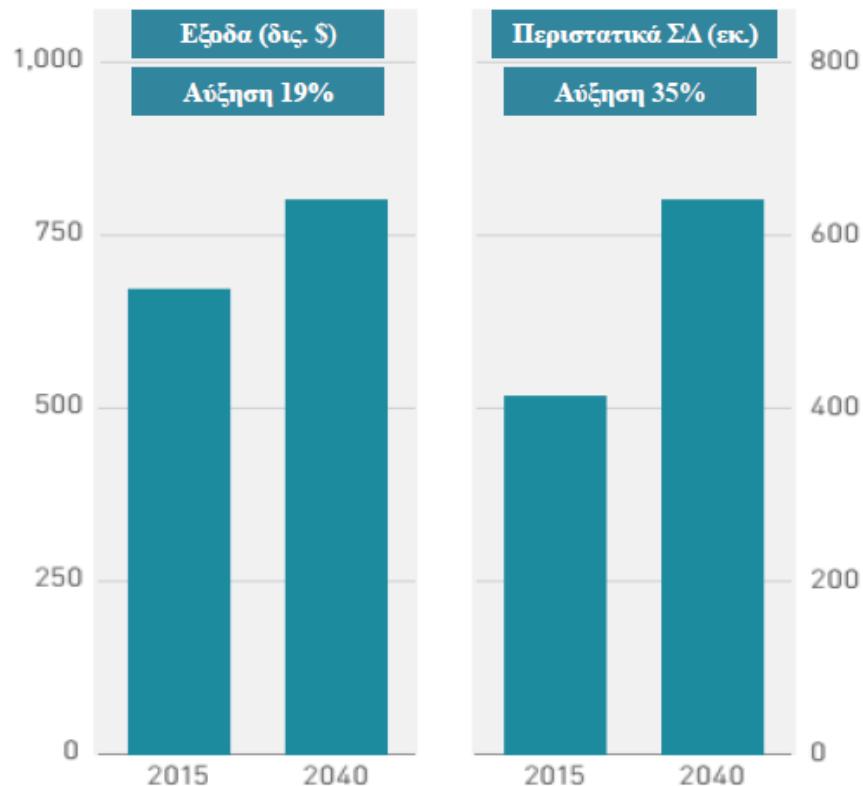
Γράφημα 1. Εκτιμώμενος αριθμός ατόμων με διαβήτη παγκοσμίως και ανά περιοχή το 2015 και το 2040



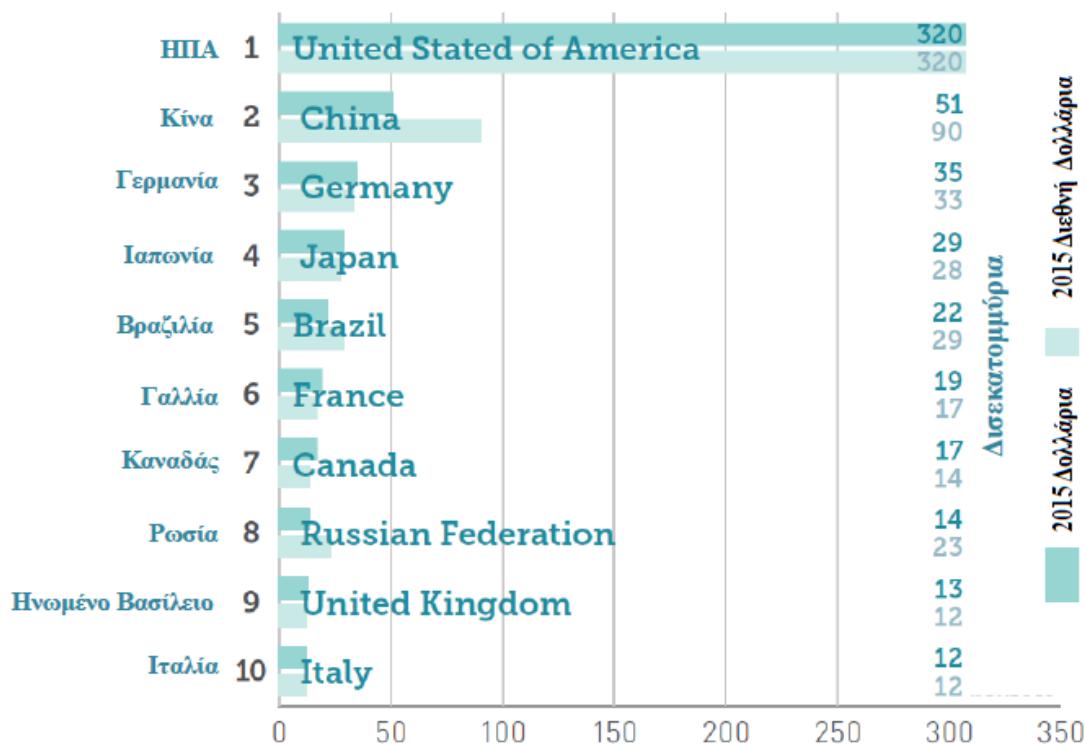
Γράφημα 2. Οι 10 χώρες με τα υψηλότερα ποσοστά διαβήτη (IDF, 7η έκδοση, 2015).

Το 2015, η νόσος κόστισε τη ζωή σε 5 εκ. άτομα παγκοσμίως, σύμφωνα με τελευταία δεδομένα της Διεθνούς Ομοσπονδίας Διαβήτη, ενώ ταυτόχρονα επιβάλλει ένα σημαντικό οικονομικό κόστος τόσο στις οικογένειες ατόμων με διαβήτη, όσο και στις χώρες με υψηλό επιπολασμό της νόσου, καταλαμβάνοντας 5-20% του συνολικού κόστους υγειονομικής περίθαλψης. Αυτές οι δαπάνες προκύπτουν κυρίως από τη φροντίδα ή θεραπεία των επιπλοκών που προκαλεί ο διαβήτης, με εξέχουσες τη μικρο- και μακροαγγειοπάθεια (αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια, καρδιαγγειακά προβλήματα) και τη νευροπάθεια. Αν και 1^η στα ποσοστά διαβήτη είναι η Κίνα, η χώρα με τις υψηλότερες δαπάνες είναι οι Η.Π.Α, γεγονός που ίσως να οφείλεται στην συγκριτικά ανώτερη οικονομική κατάσταση της χώρας, την αυξανόμενη ευαισθησία των ασθενών με διαβήτη ή/και την ταχύτερη εξέλιξη της νόσου, απόρροια του κακού τρόπου ζωής (παχυσαρκία, κάπνισμα, σωματική αδράνεια κ.α.) (International Diabetes Federation 2015). Στην Ελλάδα, σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα από μελέτη ιατρικών φακέλων δεκαετίας, το μέσο συνολικό ετήσιο κόστος διαχείρισης του διαβήτη, υπολογίστηκε σε 6366 ευρώ/ασθενή για τους ασθενείς καλή

ρύθμιση ($\text{HbA1c}=7\%$) και 7111 ευρώ/ασθενή για εκείνους με κακή ρύθμιση $\text{HbA1c} > 7\%$) (Migdalis, Rombopoulos et al. 2015).



Γράφημα 3. Παγκόσμιο κόστος περίθαλψης ατόμων με διαβήτη (IDF, 7η έκδοση, 2015)

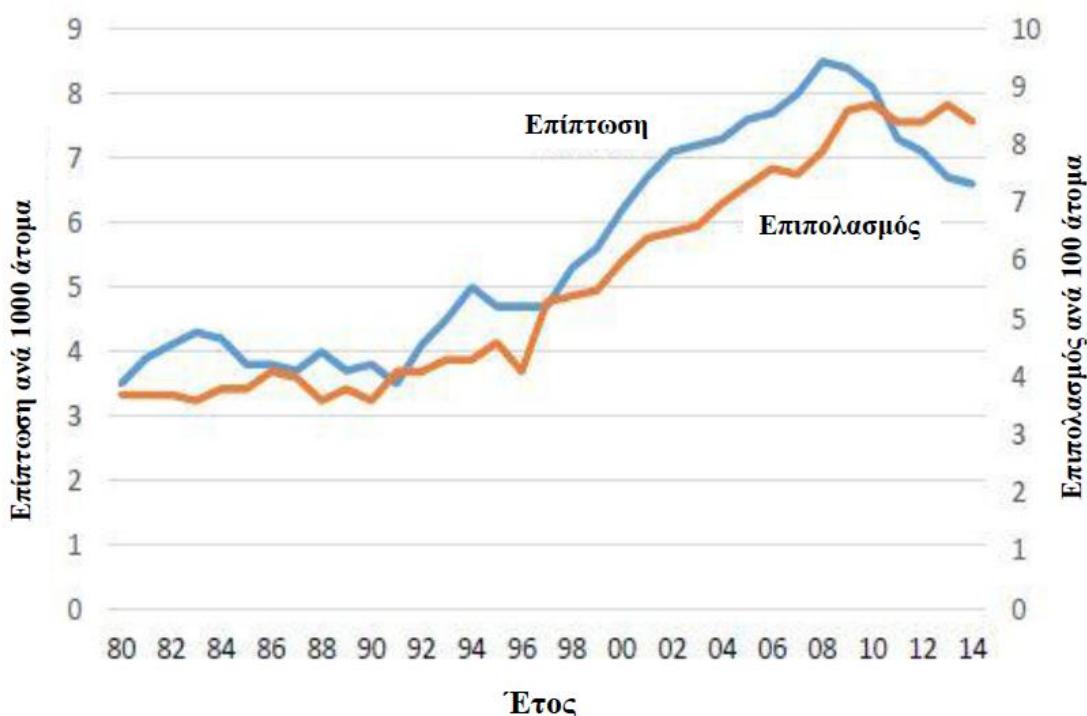


Γράφημα 4. Οι 10 χώρες με τις υψηλότερες δαπάνες, που σχετίζονται με το διαβήτη (IDF, 7η έκδοση, 2015).

Επιδημιολογία Σακχαρώδη Διαβήτη στις Η.Π.Α. (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)

Το δελτίο τύπου του CDC του 2014, αναφέρει ότι στις Η.Π.Α. περισσότεροι από 29 εκ. άνθρωποι έχουν διαβήτη, 25% των οποίων δεν το γνωρίζει, ενώ επιπλέον 86 εκ. έχουν προδιαβήτη, 90% των οποίων το αγνοεί. Όπως φαίνεται και στο παρακάτω γράφημα, παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση τόσο της επίπτωσης όσο και του επιπολασμού του διαβήτη στα τέλη της δεκαετίας του 1990-2000. Αντίθετα, μετά το 2010 παρατηρείται στις Η.Π.Α. μείωση του ρυθμού νέων περιπτώσεων με διαβήτη, χωρίς ωστόσο αυτό να αντανακλά και μείωση του επιπολασμού. Αυτό πιθανόν να εξηγείται λόγω προαναφερόμενων υψηλότατων δαπανών των Η.Π.Α. για τη διαχείριση του διαβήτη και των σχετιζόμενων με αυτόν επιπλοκών, που οδηγούν σε καλύτερη εξέλιξη της νόσου και μειωμένη θνησιμότητα (Centers for Disease Control and Prevention).

Συνολικά, ο διαβήτης αποτελεί μια σοβαρή, νόσο φθοράς, που μπορεί να βαίνει χρόνια αδιάγνωστη. Η συνεχώς ανοδική τάση που παρουσιάζει, σε συνδυασμό με τις επιπλοκές υγείας και τις οικονομικές του επιπτώσεις, το καθιστούν πρόβλημα δημόσιας υγείας ανά την Υφήλιο.



Γράφημα 5. Διαχρονική εξέλιξη του επιπολασμού και της επίπτωσης του διαβήτη ενηλίκων (20-79 ετών) στις Η.Π.Α. (1980-2014)

1.1.2 Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη στην Ελλάδα

Παρά το γεγονός ότι η Ελλάδα εμφανίζει πολύ χαμηλά ποσοστά διαβήτη τύπου 1 (Dacou-Voutetakis, Karavanaki et al. 1995, Bartsocas 1999, Lionis, Bathianaki et al. 2001), δεν ισχύει το ίδιο για το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, που αυξάνεται με ταχύ ρυθμό τόσο σε αστικές όσο και σε αγροτικές περιοχές.

Δεδομένα από τη Στερεά Ελλάδα (Διαχρονική εξέλιξη από το 1990 έως το 2006)

Η 1^η μελέτη που επιχείρησε να καταγράψει τον επιπολασμό του διαβήτη τύπου 2 στην Ελλάδα ήταν αυτή του Κατσιλάμπρου και συνεργατών (Katsilambros, Aliferis et al. 1993). Στην εν λόγω μελέτη στη περιοχή Αιγάλεω της Αττικής (80,000 κάτοικοι) βρέθηκε ότι ο επιπολασμός του διαβήτη αυξήθηκε από 2.4% το έτος 1974, όπως αξιολογήθηκε σε $n=21410$ άτομα, σε 3.1%, το έτος 1990 μεταξύ $n=12836$ ατόμων. Σε αντίθεση με την ταχεία εξάπλωση του διαβήτη σήμερα, η συγκεκριμένη μελέτη κατέγραψε μια πολύ μικρή αύξηση στον επιπολασμό σε διάστημα 15ετίας, γεγονός που αντανακλά τον συγκριτικά πιο υγιή τρόπο ζωής, σε επίπεδο διατροφής και άσκησης, των ατόμων τις προηγούμενες 3-4 δεκαετίες στην Ελλάδα. Ωστόσο, περιορισμό της μελέτης αποτελούσε η διαδικασία συλλογής πληροφοριών, μέσω τηλεφώνου, και η μη πραγματοποίηση βιοχημικών εξετάσεων για την ανίχνευση της διάγνωσης με διαβήτη. Συνεπώς τα ευρήματα πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή.

➤ Μελέτη Αττική

Ωστόσο, η μελέτη-κορμός στη συλλογή, ανάλυση και αξιολόγηση δεδομένων σχετικών με πολλά χρόνια νοσήματα, μεταξύ των οποίων και ο διαβήτης, στην περιοχή της Αττικής, είναι η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. Η εν λόγω μελέτη ξεκίνησε την περίοδο 2001-2002 στην ευρύτερη περιοχή της Αττικής συμπεριλαμβάνοντας 3042 άτομα (1514 άνδρες και 1528 γυναίκες). Ο επιπολασμός του διαβήτη υπολογίστηκε αρχικά στο 7.6% των ανδρών και 5.9% των γυναικών, ενώ για 1^η φορά υπήρξαν δεδομένα για το ποσοστό των ατόμων που αγνοούν την ύπαρξη της νόσου στην Ελλάδα, και ήταν της τάξης του 24% μεταξύ ανδρών και 30% μεταξύ των γυναικών (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2005). Στον πρώτο επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, πέντε χρόνια αργότερα, αξιολογήθηκε, για 1^η φορά στην Ελλάδα, η επίπτωση της νόσου, μεταξύ 1806 ατόμων, οι οποίοι δεν έπασχαν από διαβήτη κατά την έναρξη της μελέτης. Η σταθμισμένη για την ηλικία 5-ετής επίπτωση του διαβήτη βρέθηκε 5.5% (άνδρες, 5.8%; γυναίκες, 5.2%), που αντιστοιχεί σε 330000 νέα περιστατικά με

διαβήτη στην 5ετία (ή 66000 κάθε έτος) Ακόμα, παρατηρήθηκε γραμμική τάση μεταξύ της επίπτωσης του διαβήτη και της ηλικίας (5.6% αύξηση της επίπτωσης για κάθε 1-έτος διαφορά στην ηλικία, $p<0,001$) (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008). Οι ερευνητές επισημαίνουν ότι η δραματική αυτή αύξηση της νόσου μπορεί να αποδοθεί είτε στην πραγματική αύξηση της επίπτωσης, είτε στην καλύτερη διάγνωση της νόσου, είτε στον συνδυασμό αυτών. Φαίνεται όμως, ότι μάλλον πρόκειται για μια πραγματική αύξηση του επιπολασμού καθώς το διάστημα των 5 ετών δεν είναι αρκετό για να πραγματοποιηθούν σημαντικές αλλαγές στην ιατρική φροντίδα και καλύτερη ανίχνευση του διαβήτη (Eliasson, Lindahl et al. 2002). Επιπλέον, όπως παρατηρείται, ο επιπολασμός του διαβήτη στην Ελλάδα πλησιάζει τον επιπολασμό της νόσου στις ΗΠΑ (π.χ. 9.6%) (Geiss, Pan et al. 2006), στην Ισπανία (π.χ. 11%) (Valverde, Tormo et al. 2006) και στην Κύπρο (π.χ. 10.3%) (Loizou, Poulopoulos et al. 2006).

➤ **Μελέτη Σαλαμίνα (Διαχρονική εξέλιξη από το 2002 έως το 2008)**

Σε μια ιδιαίτερα συστηματική μελέτη για το σακχαρώδη διαβήτη, το 2002, ο Γκίκας και συν., μελέτησαν δείγμα 2805 Ελλήνων, ηλικίας 20-94 ετών, από την περιοχή της Σαλαμίνας. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι ο επιπολασμός του διαβήτη τύπου 2 αγγίζει το 8.7% στην περιοχή αυτή (Gikas, Sotiropoulos et al. 2004). Λίγα χρόνια αργότερα, οι ίδιοι ερευνητές, επανεξέτασαν δείγμα 3478 ενηλίκων στην ίδια περιοχή, όπου κατέγραψαν αύξηση του επιπολασμού στο 10.3%, δηλαδή αύξηση 16% σε διάστημα μόλις τεσσάρων χρόνων (Gikas, Sotiropoulos et al. 2008). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνει την διαχρονικά εκθετική επιδείνωση του τρόπου ζωής των ελλήνων, κυρίως σε επίπεδο διατροφής, άσκησης, παράγοντες-κλειδιά, όπως θα αναλυθεί και στη συνέχεια, για την ανάπτυξη διαβήτη. Βέβαια, και στη συγκεκριμένη μελέτη, δεν πραγματοποιήθηκε βιοχημικός έλεγχος για τη διάγνωση διαβήτη, αλλά οι ερευνητές βασίστηκαν σε αυτό-αναφορά, με αποτέλεσμα να χρειάζεται προσοχή στην εξαγωγή συμπερασμάτων.

Δεδομένα από την Πελοπόννησο

➤ **Αργολίδα (2006)**

Η πρώτη απόπειρα καταγραφής του επιπολασμού του διαβήτη στην ευρύτερη περιοχή της Αργολίδας έγινε από τους Μελιδώνη και συνεργάτες. Οι ερευνητές πραγματοποίησαν διαγνωστικά τεστ σε συνολικά 880 άτομα από τις περιοχές Άγιος

Δημήτριος, Μετόχι και Αδάμι, ηλικίας 1-99 ετών, για την παρουσία ή μη διαβήτη. Σε περίπτωση γλυκόζης νηστείας $>126\text{ mg/dL}$, πραγματοποιούνταν επαναληπτικός έλεγχος 1 εβδομάδα αργότερα. Αν στον επαναληπτικό έλεγχο η γλυκόζη νηστείας ήταν μεταξύ 110-126 mg/dL, ακολουθούσε καμπύλη σακχάρου. Στην εν λόγω μελέτη, που παρουσιάζει πολύ καλό σχεδιασμό και μεθοδολογική επάρκεια για τη έγκυρη διάγνωση του διαβήτη, ο επιπολασμός της νόσου βρέθηκε 7.8% (5.3% διαγνωσμένος και 2.5% αδιάγνωστος διαβήτης). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το ποσοστό παχυσαρκίας, που ανιχνεύτηκε στο 20.8%, και ακόμα περισσότερο το ποσοστό κεντρικής παχυσαρκίας, η οποία αξιολογήθηκε με το δείκτη πηλίκο μέσης προς ισχία (Waist-to-Hip Ratio, WHR), θέτοντας όριο το >0.90 για τους άνδρες και >0.85 για τις γυναίκες), το οποίο βρέθηκε στο 63% των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη (Melidonis, Tournis et al. 2006).

Δεδομένα από τη Θεσσαλία (Διαχρονική εξέλιξη από το 1995 έως το 2016)

Το 1995, οι Παπάζογλου και συνεργάτες, μελετώντας 581 υπερηλίκους (≥ 65 ετών), από την περιοχή Καλαμπάκα του νομού Τρικάλων (συνολικός πληθυσμός 5875 άτομα), διαπίστωσαν διαγνωσμένο διαβήτη στο 9.7% των ατόμων, ενώ μετά από βιοχημικό έλεγχο (γλυκόζη νηστείας ή/και φόρτιση 75γρ. γλυκόζης) ανίχνευσαν επιπλέον 10.1% και 9.3% των ατόμων να έχουν την νόσου, αντίστοιχα. Ο συνολικός επιπολασμός διαμορφώθηκε στο 29.1% των ατόμων, δηλαδή 1 στους 3 περίπου ≥ 65 ετών. Το ποσοστό IGT βρέθηκε στο 15.1% επίσης (Papazoglou, Manes et al. 1995).

Πρόσφατα, η Τσιρόνα και συνεργάτες μελέτησαν δείγμα 805 ατόμων (420 γυναίκες και 385 άνδρες), ηλικίας 18-80 ετών, που διαβιούσαν στην περιοχή της Θεσσαλίας. Μετά από προσδιορισμό της γλυκόζης νηστείας ή/ και διεξαγωγής καμπύλης σακχάρου, στα άτομα με γλυκόζη 100-125mg/dL, ο επιπολασμός του διαβήτη υπολογίστηκε στο 6.96% του πληθυσμού της μελέτης, βάσει των αποτελεσμάτων της γλυκόζης νηστείας, ενώ εκτοξεύτηκε στο 11.8%, βάσει και των αποτελεσμάτων της καμπύλης, και κατόπιν στάθμισης για την ηλικία. Τα ποσοστά με προδιαβήτη βρέθηκαν επίσης αρκετά υψηλά (5.84% η διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας, και 2.86% η διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη), γεγονός δυσοίωνο για τα μελλοντικά ποσοστά διαβήτη στην περιοχή (Tsirona, Katsaros et al. 2016).

Δεδομένα από τη Μακεδονία

➤ Θεσσαλονίκη

Αν και δεν υπάρχουν δεδομένα για τον επιπολασμό του διαβήτη στη Θεσσαλονίκη, οι Συμεωνίδης και συνεργάτες, εξετάζοντας 385 ιατρικούς φακέλους ασθενών με ΣΔτ2 που απευθύνθηκαν στο διαβητολογικό τμήμα του νοσοκομείου Άγιος Δημήτριος στη Θεσσαλονίκη μεταξύ 1992 και 2000, κατέληξαν στην εξής διαπίστωση: οι 183 ασθενείς για τους οποίους η διάγνωση του διαβήτη έγινε μεταξύ των ετών 1997 – 2000 ήταν σημαντικά νεότεροι (~51 ετών), συγκρινόμενοι με τους 202 ασθενείς για τους οποίους η διάγνωση του διαβήτη έγινε μεταξύ των ετών 1992 – 1996 (~68 ετών), ενώ ήταν και σε μεγαλύτερο ποσοστό παχύσαρκοι (Symeonidis, Papanas et al. 2003). Η εν λόγω μελέτη παρατήρησης επιβεβαιώνει τα προαναφερθέντα συμπεράσματα για τη σταδιακή επιδείνωση του τρόπου ζωής στον ελληνικό πληθυσμό, που είναι σε σημαντικό βαθμό υπεύθυνος για την ανάπτυξη και την ηλικία εμφάνισης ΣΔτ2.

Δεδομένα από την Κρήτη (Διαχρονική εξέλιξη από το 1996 έως το 2001)

Μεταξύ 1988 – 1993, πραγματοποιήθηκε απόπειρα καταγραφής του επιπολασμού του διαβήτη τύπου 2 και στην Κρήτη από τους Λιονή και συνεργάτες (Lionis, Sasarolis et al. 1996). Οι ερευνητές εξέτασαν 47.151 ιατρικούς φακέλους ασθενών από ιατρικά κέντρα της περιοχής Σπήλι, καταλήγοντας ότι ο επιπολασμός του ΣΔτ2 για τον αγροτικό αυτό πληθυσμό ήταν 1,5%, δηλαδή ένας επιπολασμός λίγο χαμηλότερος από αυτόν που βρέθηκε από τους Κατσιλάμπρο και συνεργάτες την ίδια περίοδο στην Αττική. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει πιθανώς την καλύτερη ζωή της επαρχίας εκείνη την περίοδο, μακριά από τις αστικές περιβαλλοντικές επιρροές. Ωστόσο, σχεδόν μία δεκαετία αργότερα, το 2001, οι ίδιοι ερευνητές κατόπιν εξέτασης 4282 ιατρικών φακέλων ασθενών, που διαβιούσαν στην περιοχή Αχαρνές της Κρήτης, κατέληξαν ότι ο επιπολασμός του διαβήτη αγγίζει το 5.2% (Lionis, Bathianaki et al. 2001).

Δεδομένα για το σύνολο του ελληνικού πληθυσμού (Διαχρονική εξέλιξη από το 1995 έως το 2016)

Μεταξύ 1995-1996, οι Τεντολούρης και συνεργάτες συγκέντρωσαν δείγμα 8547 ατόμων ≥ 19 ετών από 7 περιοχές της βόρειας, κεντρικής και νότιας Ελλάδας (αστικές, ημι-αστικές και αγροτικές) και τυχαίο δείγμα 2100 ατόμων από μία αγροτική και μία ημι-αστική περιοχή (συνολικά 10647 άτομα, δείγμα αντιπροσωπευτικό του ελληνικού πληθυσμού). Από τα

8740 áτομα που δέχτηκαν να συμμετάσχουν, 360 áτομα είχαν διαγνωσμένο ΣΔτ2 (4.11%). Φυσικά, όπως σε όλες τις μελέτες αυτής της κλίμακας, η διάγνωση με διαβήτη δεν επιβεβαιώθηκε με βιοχημικό έλεγχο, με αποτέλεσμα πιθανή υποεκτίμηση του πραγματικού επιπολασμού (Tentolouris, Andrianakos et al. 2009).

Πριν ένα χρόνο, το 2016, πραγματοποιήθηκε μια πολύ ενδιαφέρουσα, και πρωτότυπη, μελέτη από τους Λιάτη και συνεργάτες με σκοπό τον προσδιορισμό του επιπολασμού του διαβήτη (τύπου 1 και 2), που αντιμετωπίζεται μέσω φαρμακευτικής αγωγής, στο σύνολο του ελληνικού πληθυσμού καθώς και την περιγραφή της εν λόγω φαρμακευτικής αγωγής. Οι ερευνητές μελέτησαν την ηλεκτρονική βάση συνταγογράφησης φαρμάκων του Εθνικού Οργανισμού Παροχής Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ) μεταξύ 2014-2015. 10222779 áτομα ήταν καταγεγραμμένα στον ΕΟΠΥΥ, αριθμός που αντιστοιχεί στο 95% του ελληνικού πληθυσμού. Ο ΣΔτ2 βρέθηκε στο 7% του συνολικού πληθυσμού (0.08% σε παιδιά και εφήβους, 8.2% σε ενήλικες και στο 30.3% σε áτομα >75 ετών), ενώ ο τύπου 1 στο 0.24% μόλις. Η μετφορμίνη είναι το πιο συχνά συνταγογραφούμενο φάρμακο (77.4%) των ατόμων με ΣΔτ2, ακολουθούμενο από τους αναστολείς DPP-4 (44.8%) και τις σουλφονυλουρίες (35.4%). Χρήση ινσουλίνης βρέθηκε στο 19.4% των ατόμων με ΣΔτ2. Φυσικά η εν λόγω μελέτη δεν συμπεριέλαβε áτομα με διαγνωσμένο διαβήτη που δε λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή, είτε διότι προσπαθούν να ελέγξουν το διαβήτη μέσω υγιεινοδιαιτητικής παρέμβασης, είτε λόγω άγνοιας ύπαρξης της νόσου, ενώ απέκλεισε και την κατηγορία των ασθενών που αγοράζουν απευθείας την αγωγή τους από το φαρμακείο (ειδικά στην περίπτωση πολύ φτηνών φαρμάκων, όπως η μετφορμίνη), χωρίς επίσκεψη στον ιατρό, συνταγογράφηση και áρα καταγραφή στο σύστημα (Liatis, Dafoulas et al. 2016).

1.2 Παράγοντες Κινδύνου ανάπτυξης Σακχαρώδη Διαβήτη

Από πλήθος μελετών έχει προκύψει ότι η ανάπτυξη διαβήτη είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Στην ενότητα αυτή θα αναφερθούν οι βασικότεροι γενετικοί και περιβαλλοντικοί προσδιοριστές του ΣΔτ2.

A. Γενετικοί Παράγοντες

Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερη έρευνα γίνεται με στόχο τη διερεύνηση της σημασίας των γονιδίων στην ανάπτυξη διαβήτη, καθώς και τον προσδιορισμό των υπεύθυνων γονιδίων. Ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 2000,

προοπτική μελέτη παρατήρησης σε μονοζυγωτικούς διδύμους, έδειξε ότι η πιθανότητα και τα δύο αδέρφια να έχουν ταυτόχρονα τη νόσο είναι 17%, 33%, 57% και 76% στο 1o, 5o, 10o και 15o έτος παρακολούθησης αντίστοιχα, ενώ η πιθανότητα διαταραχής στο μεταβολισμό της γλυκόζης (ΣΔτ2 ή IGT) άγγιζε το 96% στο 15o έτος παρακολούθησης (Medici, Hawa et al. 1999). Επίσης, μελέτες οικογενειών έχουν δείξει ότι τα αδέλφια των μελών της οικογένειας με ΣΔτ2 έχουν τέσσερις φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν διαβήτη τύπου 2 στη διάρκεια της ζωής τους από ότι ο γενικός πληθυσμός (Hitman and Sudagani 2004).

Μελέτες που σχεδιάστηκαν για την ανίχνευση υπεύθυνων για το διαβήτη γονιδίων

- 1. Μελέτες σύνδεσης:** Σύνδεση ονομάζεται η τάση των γονιδίων και άλλων γενετικών παραγόντων, να κληρονομούνται ταυτόχρονα εξαιτίας της κοντινής θέσης του ενός με το άλλο πάνω στο ίδιο χρωμόσωμα. Οι μελέτες σύνδεσης αποδείχτηκαν αποτελεσματικές μόνο για την ανίχνευση σπάνιων γονιδιακών πολυμορφισμών με μεγάλο μέγεθος επίδρασης, που ευθύνονται για μονογονιδιακές διαταραχές (π.χ. διαβήτης τύπου MODY), αλλά όχι για την αναγνώριση γονιδίων που εμπλέκονται σε πολυγονιδιακές ασθένειες (Billings and Florez 2010) Οι παραπάνω έρευνες αποκάλυψαν δύο μόνο γονίδια: το calpain 10 (CAPN10) και τον μεταγραφικό παράγοντα 7-like 2 (TCF7L2).
- 2. Μελέτες υποψήφιων γονιδίων:** Σε αυτό το είδος μελετών, επιλέγονταν προς μελέτη συγκεκριμένα γονίδια τα οποία θεωρούνται ότι εμπλέκονται στην παθογένεια του διαβήτη (π.χ. στο μεταβολισμό της γλυκόζης, την έκκριση ινσουλίνης, τους υποδοχείς ινσουλίνης, τη σηματοδότηση από τους υποδοχείς και τον μεταβολισμό των λιπιδίων). Ωστόσο, τα αποτελέσματα δεν ήταν ενθαρρυντικά. Τα λίγα υποψήφια γονίδια που βρέθηκε ότι σχετίζονται με τον διαβήτη τύπου 2 περιλαμβάνουν τον υποδοχέα γ που ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό των περοξεισωμάτων (PPARG) και το κανάλι 11 ενδομεταφοράς καλίου της υπο-οικογένειας J (KCNJ11), που κωδικοποιούν αμφότερα στόχους αντιδιαβητικών φαρμάκων (Billings and Florez 2010).
- 3. Μελέτες ευρείας σάρωσης του γονιδιώματος** (Genome-wide association studies, GWAS): χάρη στη Χαρτογράφηση του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (Human Genome Project) αναπτύχθηκε η τεχνολογία γονοτύπησης SNPs υψηλής ανάλυσης και με τη

διαθεσιμότητα των δεδομένων του Διεθνούς Προγράμματος HapMap (International HapMap Project), έγινε δυνατή η σάρωση εκατοντάδων χλιάδων SNPs που βρίσκονταν σε διαταραχή ισορροπίας σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD) με εκατομμύρια SNPs σε ολόκληρο το γονιδίωμα. Το γονίδιο TCF7L2, το οποίο αναγνωρίστηκε από μελέτες σύνδεσης, αποτελεί το σημαντικότερο και πιο συχνά επαναλαμβανόμενο γονίδιο που έχει βρεθεί σε μελέτες ευρείας σάρωσης γονιδιώματος. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και το γεγονός ότι πολλά από τα γονίδια που αυξάνουν τον κίνδυνο παχυσαρκίας, όπως το FTO και το MC4R, αυξάνουν και τον κίνδυνο για διαβήτη, αποδεικνύοντας τη στενή σχέση της νόσου και με την παχυσαρκία, όπως θα δούμε και παρακάτω. Τα σημαντικότερα γονίδια που σχετίζονται με το διαβήτη, ανεξάρτητα της παχυσαρκίας είναι τα TCF7L2, HHEX, SLC30A8, CDKN2A/B και IGF2BP2 (Billings and Florez 2010).

Τα τελευταία χρόνια, ο αριθμός των προτεινόμενων πολυμορφισμών που σχετίζονται με το διαβήτη τύπου 2 έχει ανέλθει σε πάνω από 60, ορισμένα από τα οποία φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Ωστόσο, στο σύνολό τους μπορούν να εξηγήσουν μόνο το 10% της κληρονομικότητας της νόσου (Billings and Florez 2010). Όσον αφορά στο μηχανισμό δράσης των εν λόγω γονιδίων, η πλειοψηφία των γενετικών πολυμορφισμών που αυξάνουν τον κίνδυνο για διαβήτη σχετίζεται με δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος και όχι με αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, που μέχρι σήμερα θεωρείται η βασική διαταραχή της νόσου (Herder and Roden 2011). Αυτό μπορεί να σημαίνει είτε ότι είναι πιο σπάνια τα αλληλόμορφα που αυξάνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη, είτε ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν μεγαλύτερο ρόλο στην μεταβολή της ευαισθησίας της, επομένως επικαλύπτουν τους γενετικούς παράγοντες κινδύνου.

Πίνακας 3. Γονίδια που έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη διαβήτη (Billings, 2010)

	Πολυμορφισμός	Αλληλόμορφο (επιβαρυντικό/ φυσιολογικό)	Χρωμό- σωμα	Έτος	Συχνότητα του «επικίνδυνου» αλληλόμορφου	ΣΛ (95% ΔΕ) για την ανάπτυξη ΣΔτ2
1. <i>NOTCH2</i>	rs10923931	T/G	1	2008	0.11	1.13 (1.08-1.17)
2. <i>PROX1</i>	rs340874	C/T	1	2010	0.50	1.07 (1.05-1.09)
3. <i>IRS1</i>	rs2943641	C/T	2	2009	0.61	1.19 (1.13-1.25)
4. <i>THADA</i>	rs7578597	T/C	2	2008	0.92	1.15 (1.10-1.20)
5. <i>BCL11A</i>	rs243021	A/G	2	2010	0.46	1.08 (1.06-1.10)
6. <i>GCKR</i>	rs780094	C/T	2	2010	0.62	1.06 (1.04-1.08)
7. <i>IGF2BP2</i>	rs4402960	T/G	3	2007	0.29	1.17 (1.10-1.25)
8. <i>PPARG</i>	rs1801282	C/G	3	2000	0.92	1.14 (1.08-1.20)
9. <i>ADCY5</i>	rs11708067	A/G	3	2010	0.78	1.12 (1.09-1.15)
10. <i>ADAMTS9</i>	rs4607103	C/T	3	2008	0.81	1.09 (1.06-1.12)
11. <i>WFS1</i>	rs1801214	G/A	4	2010	0.27	1.13 (1.07-1.18)
12. <i>ZBED3</i>	rs4457053	G/A	5	2010	0.26	1.08 (1.06-1.11)
13. <i>CDKAL1</i>	rs7754840	C/G	6	2007	0.31	1.12 (1.08-1.16)
14. <i>JAZF1</i>	rs864745	T/C	7	2008	0.52	1.10 (1.07-1.13)
15. <i>GCK</i>	rs4607517	A/G	7	2010	0.20	1.07 (1.05-1.10)
16. <i>KLF14</i>	rs972283	G/A	7	2010	0.55	1.07 (1.05-1.10)
17. <i>DGKB/TMEM195</i>	rs2191349	T/G	7	2010	0.47	1.06 (1.04-1.08)
18. <i>SLC30A8</i>	rs13266634	C/T	8	2007	0.75	1.12 (1.07-1.16)
19. <i>TP53INP1</i>	rs896854	T/C	8	2010	0.48	1.06 (1.04-1.09)
20. <i>CDKN2A/B</i>	rs10811661	T/C	9	2007	0.79	1.20 (1.14-1.25)
21. <i>TLE4</i>	rs13292136	C/T	9	2010	0.93	1.11 (1.07-1.15)
22. <i>TCFL7L2</i>	rs7903146	T/C	10	2006	0.25	1.37 (1.28-1.47)
23. <i>HHEX</i>	rs1111875	C/T	10	2007	0.56	1.13 (1.08-1.17)
24. <i>CDC123/CAMK1D</i>	rs12779790	G/A	10	2008	0.23	1.11 (1.07-1.14)
25. <i>KCNQ1</i>	rs2237892 rs231362 ^c	C/T G/A	11	2008	0.61 0.52	1.4 (1.34-1.47) 1.08 (1.06-1.10)
26. <i>KCNJ11/ABCC8</i>	rs5219/ rs757110	T/C G/T	11	2003	0.50 0.40	1.15 (1.09-1.21)
27. <i>CENTD2</i>	rs1552224	A/C	11	2010	0.88	1.14 (1.11-1.17)
28. <i>MTNR1B</i>	rs10830963	G/C	11	2010	0.30	1.09 (1.06-1.12)
29. <i>HMGA2</i>	rs1531343	C/G	12	2010	0.10	1.10 (1.07-1.14)
30. <i>HNF1A</i>	rs7957197	T/A	12	2010	0.85	1.07 (1.05-1.10)
31. <i>TSPAN8/LGR5</i>	rs7961581	C/T	12	2008	0.23	1.09 (1.06-1.12)
32. <i>PRC1</i>	rs8042680	A/G	15	2010	0.22	1.07 (1.05-1.09)
33. <i>ZFAND6</i>	rs11634397	G/A	15	2010	0.56	1.06 (1.04-1.08)
34. <i>FTO</i>	rs8050136	A/C	16	2007	0.45	1.15 (1.09-1.22)

35. <i>HNF1B</i>	rs757210	A/G	17	2007	0.43	1.12 (1.07-1.18)
36. <i>DUSP9</i>	rs5945326	G/A	X	2010	0.12	1.27 (1.18-1.37)

Γενικότερα, φαίνεται ότι η παράμετρος «περιβάλλον» είναι ιδιαίτερα σημαντική και φαίνεται απαραίτητη για να πυροδοτήσει και την έκφραση των πιθανά υπεύθυνων, για την ανάπτυξη διαβήτη, γονιδίων, πράγμα που δικαιολογεί την έξαρση της νόσου τα τελευταία χρόνια (Herder and Roden 2011). Αυτό επιβεβαιώθηκε και το 2010 σε Φινλανδική προοπτική μελέτη, 3 σχεδόν δεκαετιών, σε 4076 μονοζυγωτικούς και 9019 διζυγωτικούς διδύμους, στην οποία βρέθηκε ότι μόνο το 20% της διακύμανσης του ΔΜΣ και της ανάπτυξης διαβήτη μπορεί να αποδοθεί σε γενετικούς παράγοντες (Lehtovirta, Pietilainen et al. 2010).

Β. Περιβαλλοντικοί Παράγοντες

Όπως προαναφέρθηκε, τόσο μελέτες, όσο και η παρατηρούμενη ραγδαία αύξηση του επιπολασμού του διαβήτη καταδεικνύουν το σημαντικό ρόλο του περιβάλλοντος στην ανάπτυξη της νόσου.

Ακολουθούν οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη διαβήτη όπως αναφέρονται στην τελευταία έκθεση της Διεθνούς Ομοσπονδίας Διαβήτη και οι πιο πρόσφατες επίσημες κατευθυντήριες οδηγίες για τον έλεγχο του διαβήτη στα άτομα υψηλού κινδύνου της Αμερικάνικης Διαβητολογικής Εταιρείας

Διεθνής Ομοσπονδία για το Διαβήτη (International Diabetes Federation 2015)

Οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη ΣΔτ2 είναι οι εξής:

- Ηλικία
- Υπερβάλλον βάρος / Παχυσαρκία
- Σωματική Αδράνεια
- Φτωχή διατροφή
- Γενετικό υπόβαθρο – εθνικότητα
- Οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2
- Ατομικό ιστορικό διαβήτη κύησης

Αμερικάνικη Διαβητολογική Εταιρεία (American Diabetes Association 2017)

Με μεγαλύτερη λεπτομέρεια παρατίθενται οι παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη για παιδιά και ενήλικες στην τελευταία έκθεση της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας:

❖ **Παιδιά, έφηβοι (<18 ετών)**

Αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη διαβήτη έχουν τα παιδιά με:

Αυξημένο σωματικό βάρος ($\Delta M \geq 850$ εκατοστημόριο για ηλικία και φύλο ή βάρος/ύψος ≥ 850 εκατοστημόριο ή βάρος $>120\%$ του ιδανικού για το ύψος του παιδιού) και έχουν τουλάχιστον 2 από τους παρακάτω παράγοντες κινδύνου:

1. Φυλή/ Εθνικότητα υψηλού κινδύνου (Αμερικανοί, Αφροαμερικανοί, Λατίνοι, Ασιάτες Αμερικανοί Ειρηνικού ωκεανού)
2. Οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2 σε συγγενείς 1ου ή 2ου βαθμού
3. Οικογενειακό διαβήτη κύησης (μητέρας)
4. Σημεία - σημάδια αντίστασης στην ινσουλίνη (μελανίζουσα ακάνθωση, υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών, μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό)

Ο έλεγχος πρέπει να ξεκινάει στην ηλικία των 10 ετών ή στην έναρξη της εφηβείας (αν η εφηβεία ξεκινάει σε νεότερη ηλικία) και πρέπει να επαναλαμβάνεται κάθε τριετία.

❖ **Ενήλικες (>18 ετών)**

Αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη διαβήτη έχουν οι ενήλικες με:

1. Ηλικία >45 ετών: όλα τα άτομα πρέπει να ελέγχονται για διαβήτη σε αυτή την ηλικία, ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων κινδύνου
2. Αυξημένο σωματικό βάρος ($\Delta M \geq 25 \text{kg/m}^2$ ή $\Delta M \geq 23 \text{kg/m}^2$, για Ασιάτες-Αμερικανούς), και επιπρόσθετους παράγοντες κινδύνου:
 - Σωματική αδράνεια
 - Οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2 σε συγγενείς 1ου βαθμού συγγενείς
 - Φυλή/ Εθνικότητα υψηλού κινδύνου (Αμερικανοί, Αφροαμερικανοί, Λατίνοι, Ασιάτες Αμερικανοί, Ειρηνικού ωκεανού)
 - Ιστορικό διαβήτη κύησης ή γέννηση βρέφους $>4 \text{ kg}$ (9lb)

- Υπέρταση (Συστολική Αρτηριακή Πίεση (ΣΑΠ) ≥ 140 mmHg ή/και Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (ΔΑΠ) ≥ 90 mmHg ή θεραπεία για την υπέρταση)
- HDL χοληστερόλη <35mg/dL (0.90 mmol/L) και/ή τριγλυκερίδια >250 mg/dL (2.82 mmol/L)
- Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών
- HbA1c $\geq 5.7\%$ (39mmol/mol), IGT ή IFG σε προηγούμενο έλεγχο
- Ιστορικό Καρδιαγγειακών παθήσεων
- Άλλες κλινικές καταστάσεις που σχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη (μελανίζουσα ακάνθωση, νοσογόνος παχυσαρκία κ.ά.)

Εάν τα αποτελέσματα είναι καλά, ο επανέλεγχος πρέπει να επαναλαμβάνεται σε μία τριετία, ενώ πιο συχνοί επανέλεγχοι (ετήσιοι) κρίνονται απαραίτητοι στα άτομα με προδιαβήτη.

Παράγοντες κινδύνου για Δτ2 στον ελληνικό πληθυσμό

Ακολουθεί αναφορά στους βασικότερους παράγοντες κινδύνου για διαβήτη, όπως αναδείχτηκαν από ορισμένες από τις προαναφερθείσες μελέτες που έχουν διεξαχθεί στον ελληνικό πληθυσμό:

Στη συγχρονική μελέτη των Melidώνη και συνεργατών, οι βασικότεροι παράγοντες που βρέθηκαν να σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με την ύπαρξη διαβήτη ήταν η ηλικία, η παχυσαρκία, το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, η υπέρταση και τα αυξημένα τριγλυκερίδια (Melidonis, Tournis et al. 2006).

Στη συγχρονική μελέτη της Τσιρόνα και συνεργατών ότι ο επιπολασμός του διαβήτη σχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την ηλικία, το ανδρικό φύλο, την υπέρταση και τη διαμονή σε αγροτικές περιοχές ($p_s < 0.001$) (Tsirona, Katsaros et al. 2016).

Τέλος, στην προοπτική μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, κατά τον πρώτο επανέλεγχο της μελέτης το 2006, οι σημαντικότεροι προγνωστικοί παράγοντες εμφάνισης διαβήτη, αναδείχτηκαν η ηλικία ($\Sigma\Lambda=1.04$ για κάθε 1 έτος, 95%ΔΕ: 1.02, 1.06), η περιφέρεια μέσης ($\Sigma\Lambda=1.02$ για κάθε 1 εκατοστό, 95% ΔΕ: 1.01, 1.003), η φυσική δραστηριότητα ($\Sigma\Lambda=0.62$, 95%ΔΕ: 0.35, 1.02), το οικογενειακό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη ($\Sigma\Lambda=2.65$, 95%ΔΕ 1.58, 4.53), τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας ($\Sigma\Lambda=1.05$ για κάθε 1 mg/dl, 95%ΔΕ: 1.03, 1.07) και η παρουσία μεταβολικού συνδρόμου ($\Sigma\Lambda=2.95$, 95%ΔΕ: 1.89, 4.61) (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008)

Μεταβολικό Σύνδρομο

Ένας ακόμα σημαντικός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη διαβήτη που έχει αναδειχθεί από πλήθος μελετών και σε διάφορους πληθυσμούς (Lorenzo, Okoloise et al. 2003, Cameron, Zimmet et al. 2007, Hadaegh, Ghasemi et al. 2008) είναι η παρουσία μεταβολικού συνδρόμου, που δεν είναι τίποτα άλλο από το άθροισμα παραγόντων κινδύνου μεταβολικής αιτιολογίας. Σε προοπτική μελέτη των Wilson και συνεργατών βρέθηκε ότι το 50% των ατόμων που ανέπτυξαν διαβήτη σε μια 8ετία είχαν μεταβολικό σύνδρομο στην αφετηρία της μελέτης (Wilson, D'Agostino et al. 2005), αντίστοιχα με την προαναφερθείσα μελέτη των Παναγιωτάκου και συνεργατών όπου ο 5 ετής κίνδυνος ανάπτυξης διαβήτη ήταν 3 φορές μεγαλύτερος, παρουσία του συνδρόμου (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008). Αξίζει να αναφερθεί ότι το μεταβολικό σύνδρομο αυξάνει σημαντικά και τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας (Papakonstantinou, Lambadiari et al. 2013).

Για την ύπαρξη μεταβολικού συνδρόμου έχουν διατυπωθεί διάφορα κριτήρια, ξεκινώντας από το 1998 με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ, WHO) και συνεχίζοντας μεταξύ άλλων με την Αμερικανική Επιτροπή Ειδικών (NCEP ATP III), την IDF, την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA) και το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος (National Heart, Lung and Blood Institute, NHLBI). Οι διάφορες προτάσεις τεκμηρίωσης του συνδρόμου από τους εκάστοτε οργανισμούς συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4)

Πίνακας 4. Κριτήρια διάγνωσης Μεταβολικού Συνδρόμου

	WHO (1998) (Alberti and Zimmet 1998)	NCEP/ATP III (2001) (National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection 2002)	IDF (2005) (International Diabetes Federation 2006)	AHA/NHLBI (2005) (Grundy, Cleeman et al. 2005)
Πώς τίθεται η διάγνωση;	IGT, IFG, ΣΔτ2 ή χαμηλή ινσουλινοευασθησία και 2 επιπλέον κριτήρια	3 τουλάχιστον κριτήρια	Κοιλιακή παχυσαρκία και 2 επιπλέον κριτήρια	3 τουλάχιστον κριτήρια
<i>Προτεινόμενα κριτήρια / συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου</i>				
1. Αντίσταση στην ινσουλίνη	IFG ή IGT ή ΣΔτ2 ή χαμηλή ευασθησία στην ινσουλίνη ^a	Καμία	Καμία	Καμία
2. Αυξημένο βάρος ▪ ΔΜΣ ▪ Περιφέρεια Μέση (WC) ▪ Πηλίκο μέσης/ισχίων (WHR)	Άνδρες: WHR >0.90 Γυναίκες: WHR >0.85 ή/και ΔΜΣ >30kg/m ²	Άνδρες: ≥102cm Γυναίκες: ≥88cm ^b	Άνδρες: ≥94cm Γυναίκες: ≥80cm ^{**}	Άνδρες: ≥102cm Γυναίκες: ≥88cm ^{***}
3. Τριγλυκερίδια ορού (TG)		≥ 150mg/dL	≥150mg/dL ή Αγωγή για αυξημένα TG	
4. HDL χοληστερόλη (HDL-C)		Άνδρες: <40mg/dL Γυναίκες: <50mg/dL	Άνδρες: <40mg/dL / Γυναίκες: <50mg/dL ή Αγωγή για χαμηλή HDL-C	
5. Σάκχαρο νηστείας	IFG ή IGT ή ΣΔτ2	≥ 110mg/dL [*]	≥100mg/dL ή Αντιδιαβητική αγωγή για υψηλό σάκχαρο	
6. Αρτηριακή Πίεση (ΣΑΠ/ΔΑΠ)	≥ 140/90 mmHg	≥ 130/85 mmHg	ΣΑΠ ≥130mmHg ή ΔΑΠ ≥85mmHg ή Αντι-υπερτασική αγωγή σε ασθενή με ιστορικό υπέρτασης	

^a Η ινσουλινοευασθησία αξιολογείται με υπερινσουλιναμικό ευγλυκαμικό clamp: η πρόσληψη γλυκόζης να είναι κάτω από το χαμηλότερο τεταρτημόριο για τον πληθυσμό αναφοράς.

^b Ορισμένοι ασθενείς μπορεί να αναπτύξουν μεταβολικές διαταραχές ακόμα και αν η περιφέρεια μέσης είναι οριακά αυξημένη (π.χ. 94-102cm). Αυτά τα άτομα ίσως έχουν ισχυρή γενετική προδιάθεση για αντίσταση στην ινσουλίνη.

* Το όριο τροποποιήθηκε το 2004, ≥100mg/dL, σε συμφωνία με τα ανανεωμένα κριτήρια της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας για τη διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας.

** ή διαφορετικό ανάλογα την εθνικότητα

*** Για Ασιάτες κρίνεται σκόπιμη η χρήση χαμηλότερου κατωφλιού περιφέρειας μέσης (≥90cm για άνδρες και ≥80cm για γυναίκες)

Η σημασία της κατανομής του λίπους

Αξίζει να σημειωθεί ότι στις περισσότερες προτάσεις διάγνωσης του συνδρόμου, ο ανθρωπομετρικός δείκτης αξιολόγησης του αυξημένου σωματικού βάρους που έχει προταθεί είναι δείκτης κεντρικής κατανομής του λίπους, δηλαδή η περιφέρεια μέσης (ΠΜ) ή το πηλίκο μέσης προς ισχία (Waist-to-Hip Ratio, WHR), κάτι που έχει παθοφυσιολογική

βάση, δεδομένης της μεγαλύτερης συμμετοχής του σπλαγχνικά συσσωρευμένου λίπους στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη και λοιπών μεταβολικών διαταραχών.

Η ανωτερότητα της περιφέρειας μέσης έναντι του δείκτη μάζας σώματος ως προγνωστικού δείκτη για την ανάπτυξη διαβήτη και καρδιαγγειακών νοσημάτων αναδείχθηκε σε συστηματική ανασκόπηση 27 μελετών το 2010. Μάλιστα, στην εν λόγω ανασκόπηση ακόμα πιο αποτελεσματικό και από την περιφέρεια μέσης βρέθηκε το Πηλίκο Μέσης προς ύψος (Waist-to-Height Ratio, WHtR) με τιμή-κατώφλι το 0.5, που μεταφέρει το εύληπτο για τη δημόσια υγεία μήνυμα «Διατηρήστε τη μέση σας τουλάχιστον στο μισό του ύψους σας» (Browning, Hsieh et al. 2010). Η υπεροχή της χρήσης δείκτη κεντρικής έναντι γενικευμένης κατανομής του λίπους στον εντοπισμό ατόμων που διατρέχουν υψηλό καρδιομεταβολικό κίνδυνο επιβεβαιώθηκε και σε μετανάλυση 32 μελετών το 2013. Στις 24 συγχρονικές μελέτες που συμπεριλήφθησαν, το WHtR βρέθηκε να σχετίζεται πιο ισχυρά με την παρουσία διαβήτη και μεταβολικού συνδρόμου σε σχέση με το ΔΜΣ, ενώ στις 10 προοπτικές μελέτες βρέθηκε να προβλέπει καλύτερα τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων, την καρδιαγγειακή θνησιμότητα και την θνησιμότητα από κάθε αιτία (Savva, Lamnisos et al. 2013).

1.3 Διατροφή και ανάπτυξη διαβήτη

Η διατροφή αποτελεί ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη γενικότερη υγεία του ατόμου.

Πλήθος ερευνών έχουν αναδείξει το όφελος αλλαγών στον τρόπο ζωής στην πρόληψη ή την καθυστέρηση ανάπτυξης διαβήτη. Στη Μελέτη Πρόληψης του Διαβήτη στη Φινλανδία (Finnish Diabetes Prevention Study), που στρατολόγησε υπέρβαρα μέσης-ηλικίας άτομα υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη διαβήτη (με διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη), βρέθηκε ότι η μείωση του σωματικού βάρους μέσω διατροφικών αλλαγών ή/και αύξησης της φυσικής δραστηριότητας, μειώνει 58% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη. Η παρέμβαση περιελάμβανε συμβουλευτική με στόχο τη μείωση βάρους, τη συνολική πρόσληψη λίπους, την πρόσληψη κορεσμένου λίπους και την αύξηση των ινών και της φυσικής δραστηριότητας) (Tuomilehto, Lindstrom et al. 2001). Μάλιστα, η μείωση του κινδύνου βρέθηκε ακόμα μεγαλύτερη, της τάξης του 64%, μεταξύ των ατόμων ηλικίας >61 ετών (Lindstrom, Peltonen et al. 2008). Το όφελος των αλλαγών του τρόπου ζωής για την

πρόληψη εμφάνισης της νόσου αναδείχτηκε και από την ερευνητική ομάδα πρόληψης του διαβήτη στις ΗΠΑ, μεταξύ παχύσαρκων ατόμων υψηλού κινδύνου. Συγκεκριμένα στην ομάδα που έλαβε οδηγίες με στόχο 7% μείωση του σωματικού βάρους και επίτευξη 150 λεπτών φυσικής δραστηριότητας ημερησίως, παρατηρήθηκε 58% μείωση του κινδύνου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, μια μείωση που ήταν ακόμα μεγαλύτερη από τη μείωση που παρατηρήθηκε στην ομάδα που έλαβε μεταφορμίνη (μείωση 31%) (Knowler, Barrett-Connor et al. 2002).

Στη δευτερογενή πρόληψη του διαβήτη, η ιατρική διατροφική φροντίδα (Medical Nutrition Therapy, MNT) έχει και πάλι εξέχουσα σημασία (Nyenwe, Jenkins et al. 2011), με την απώλεια βάρους να αποτελεί πρωταρχική οδηγία για την πλειοψηφία των ατόμων με διαβήτη, που είναι υπέρβαροι ή παχύσαρκοι (Yoon, Kwok et al. 2013). Ωστόσο, σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας με διαβήτη, φαίνεται ότι η απώλεια βάρους χρειάζεται προσεκτικούς διαιτητικούς χειρισμούς, έτσι ώστε να αποφευχθεί η μείωση άλιπης μάζας και διατροφικές ανεπάρκειες (Kyrou and Tsigos 2009)

1.3.1 Τρόφιμα, ομάδες τροφίμων και ανάπτυξη διαβήτη

Όσον αφορά την πρωτογενή πρόληψη του διαβήτη, αρκετά τρόφιμα και συστατικά τροφίμων έχουν αναδειχθεί ότι ασκούν προστατευτική η επιβαρυντική δράση, δηλαδή ότι η κατανάλωσή τους σχετίζεται με μειωμένο ή αυξημένο κίνδυνο για διαβήτη. Αν και η συγκεκριμένη διατριβή εστιάζει στη μελέτη διατροφικών προτύπων, στην ενότητα που ακολουθεί θα γίνει μια βασική περιγραφή των επιμέρους ομάδων τροφίμων, οι οποίες αποτελούν τις πιο συχνά αναδυόμενες συνιστώσες των εκάστοτε προτύπων, και του ρόλου τους στην ανάπτυξη ΣΔτ2, όπως έχει προκύψει από τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών.

Γαλακτοκομικά προϊόντα

Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών υποστηρίζουν ότι η υψηλή κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (γάλα, γιαούρτι, τυρί), καλές πηγές ασβεστίου και μαγνησίου, πιθανά να σχετίζεται αντίστροφα με την ανάπτυξη διαβήτη, και την εμφάνιση παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου. Μετανάλυση 14 προοπτικών μελετών βρήκε αντίστροφη γραμμική συσχέτιση με τη συνολική κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (13 μελέτες), χαμηλών σε λιπαρά προϊόντων (8 μελέτες), τυριού (7 μελέτες) και γιαούρτιού (7 μελέτες).

200γρ/ ημέρα γαλακτοκομικά ή χαμηλά σε λιπαρά προϊόντα μειώνουν κατά 6% (95%ΔΕ: 0.91, 0.97) και 12% (95%ΔΕ: 0.84, 0.93) αντίστοιχα τον κίνδυνο για διαβήτη. 30γρ τυριού και 50γρ γιαουρτιού ημερησίως οδηγούν σε 20% και 9% μείωση του κινδύνου (95%ΔΕ: 0.69, 0.93 και 95%ΔΕ: 0.82, 1). Οι ερευνητές ωστόσο κατέληξαν ότι χρειάζονται περισσότερες μελέτες, ιδιαίτερα κλινικές δοκιμές, πριν εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα (Gao, Ning et al. 2013). Ένα χρόνο αργότερα, συστηματική ανασκόπηση 10 μελετών παρέμβασης, κατέληξε ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν ευεργετική ή ουδέτερη επίδραση στην ινσουλινοευαισθησία, όπως αξιολογήθηκε από το δείκτη HOMA. Οι εν λόγω μελέτες δεν περιελάμβαναν απώλεια βάρους, κάτι που θα αποτελούσε συγχυτικό παράγοντα, λόγω της βελτίωσης της ινσουλινοευαισθησίας που θα επέφερε (Turner, Keogh et al. 2014).

Δημητριακά ολικής άλεσης

Σε μετανάλυση 16 προοπτικών μελετών η κατανάλωση 3 μερίδων δημητριακών ολικής άλεσης (ψωμί ολικής άλεσης, καστανό ρύζι, πίτουρο σταριού, δημητριακά ολικής άλεσης) βρέθηκε ότι μειώνει τον κίνδυνο για ΣΔτ2 κατά 32% ($\Sigma K=0.68$, 95%ΔΕ: 0.58, 0.81) (Aune, Norat et al. 2013). Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα και σε συστηματική ανασκόπηση 45 προοπτικών μελετών και 21 τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών. Τα άτομα που κατανάλωναν 48-80γρ δημητριακά ολικής (3-5 μερίδες) είχαν 26% χαμηλότερο κίνδυνο για ΣΔτ2 ($\Sigma K=0.74$, 95%ΔΕ: 0.69, 0.80) καθώς και χαμηλότερη πρόσληψη βάρους (1.27kg vs. 1.64kg), συγκριτικά με τα άτομα που κατανάλωναν σπάνια ή καθόλου δημητριακά ολικής (Ye, Chacko et al. 2013). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και σε πολύ πρόσφατη ανασκόπηση 21 μεταναλύσεων, εκ των οποίων όλες υποστήριζαν την ύπαρξη αρνητικής σχέσης ανάμεσα στην κατανάλωση δημητριακών ολικής άλεσης και την εμφάνιση ΣΔτ2 ($\Sigma K = 0.68-0.80$). Οι ερευνητές προτείνουν ότι η αύξηση στην κατανάλωση δημητριακών ολικής άλεσης από το γενικό πληθυσμό, με στόχο τα 45γρ την ημέρα (=2-3 μερίδες) είναι εφικτή και με πολλαπλά οφέλη για την υγεία, πέρα από τη μείωση του κινδύνου για ανάπτυξη ΣΔτ2 (McRae 2017). Ωστόσο, όταν αξιολογήθηκαν συστηματικά οι διαθέσιμες αποδείξεις βάσει των οποίων το USDA δημιούργησε ισχυρισμό υγείας για την προστατευτική δράση των δημητριακών ολικής άλεσης στην πρόληψη του διαβήτη, οι συγγραφείς κατέληξαν ότι είναι πολύ περιορισμένα τα διαθέσιμα ευρήματα για την εν λόγω διατύπωση ισχυρισμού υγείας (Yamini and Trumbo 2016).

Φρούτα και λαχανικά

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει μελετηθεί εκτεταμένα σε σχέση με πολλές εκβάσεις υγείας, ιδιαίτερα τα καρδιαγγειακά νοσήματα, με θετικά αποτελέσματα στην πρωτογενή πρόληψη καρδιαγγειακών, σύμφωνα με πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών (Hartley, Igbinion et al. 2013). Ωστόσο, όσον αφορά στην πρόληψη του διαβήτη, τα αποτελέσματα είναι μερικώς διφορούμενα, ακόμα και μεταξύ μεταναλύσεων. Πιο συγκεκριμένα, το 2007 οι Hamer και συνεργάτες βρήκαν ότι η κατανάλωση ≥ 3 μερίδων φρούτων και λαχανικών ημερησίως δε σχετίζεται με σημαντική μείωση του κινδύνου για διαβήτη (Hamer and Chida 2007), που έρχεται εν μέρει σε αντίθεση με πιο πρόσφατη μετανάλυση των Cooper και συνεργατών, οι οποίοι βρήκαν οριακά σημαντική, και σχετικά μικρή μείωση του κινδύνου, της τάξης του 7% (95%ΔΕ: 0.87, 1) συγκρίνοντας το υψηλότερο με το χαμηλότερο τεταρτημόριο κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών. Ωστόσο, βρήκαν ότι η κατανάλωση σε ρίζες ή πράσινα φυλλώδη λαχανικά σχετίζεται ανεξάρτητα από τη συνολική κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, με μείωση του κινδύνου ($\Sigma\Lambda=0.87$, 95%ΔΕ: 0.77, 0.99 και $\Sigma\Lambda= 0.84$, 95%ΔΕ: 0.74, 0.94) (Cooper, Forouhi et al. 2012).

Κρέας και Πουλερικά

Πολλές μελέτες έχουν υποστηρίξει αυξημένο κίνδυνο για διαβήτη από την κατανάλωση κόκκινου κρέατος, ιδιαίτερα επεξεργασμένου, κάτι που επιβεβαιώθηκε σε πρόσφατη μετανάλυση (Feskens, Sluik et al. 2013). Ωστόσο, η σχέση δεν είναι πλήρως εξακριβωμένη. Μετανάλυση 3 μεγάλων προοπτικών μελετών στις ΗΠΑ, της Μελέτης Παρακολούθησης των Επαγγελματιών Υγείας (Health Professionals Follow-up Study) και των Ερευνών Υγείας των Νοσηλευτριών (Nurses' Health Study) I και II, κατέληξε ότι αύξηση του κόκκινου κρέατος κατά 0.5 μερίδα/ ημέρα σχετίζεται με 48% αύξηση (95%ΔΕ: 1.37, 1.59) του κινδύνου για ανάπτυξη διαβήτη, που εν μέρει βρέθηκε να αποδίδεται και στην αύξηση του βάρους, που προκαλεί η αύξηση της κατανάλωσης κρέατος ($\Sigma\Lambda =1.30$, 95%ΔΕ: 1.21, 1.41, με προσθήκη του ΔΜΣ στο μοντέλο) (Pan, Sun et al. 2013). Τέλος, σε άλλες μελέτες έχει φανεί η επιλεκτική επιβαρυντική δράση μόνο του επεξεργασμένου, αλλά όχι του κόκκινου κρέατος στην επύπτωση διαβήτη (Micha, Wallace et al. 2010) ή η μόνο σε άνδρες και όχι σε γυναίκες (Kurotani, Nanri et al. 2013). Σε πολύ πρόσφατη δημοσίευση η κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος για 4 μόλις εβδομάδες βρέθηκε ότι

μειώνει την ινσουλινοευαισθησία, σε άτομα με κάποιου βαθμού αντίσταση στην ινσουλίνη (Kim, Keogh et al. 2017).

Ψάρια

Αρκετές μελέτες τα τελευταία χρόνια έχουν ασχοληθεί με τη μελέτη της κατανάλωσης ψαριών (ή και θαλασσινών) στην επίπτωση διαβήτη τύπου 2. Η μελέτη EPIC βρήκε ότι η συνολική πρόσληψη ψαριών (τουλάχιστον 1 φορά/εβδομάδα vs. <1 φορά/εβδομάδα) οδηγεί σε χαμηλότερο κίνδυνο για διαβήτη ($\Sigma\Lambda= 0.70$, 95%ΔΕ: 0.58, 0.96], ενώ τα θαλασσινά σχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο ($\Sigma\Lambda= 1.36$, 95%ΔΕ: 1.02, 1.81) (Patel, Sharp et al. 2009). Αντίθετα, μελέτη σε 4472 Γερμανούς ηλικίας >55 ετών υποστήριξε αυξημένη 15ετή επίπτωση διαβήτη από την κατανάλωση ψαριών ($\Sigma\kappa=1.32$, 95%ΔΕ: 1.02, 1.70) (van Woudenberg, van Ballegooijen et al. 2009). Συστηματική ανασκόπηση 16 προοπτικών μελετών και 527441 συμμετεχόντων ανέδειξε σημαντική γεωγραφική ετερογένεια στα αποτελέσματα με μελέτες στην Αμερική να υποστηρίζουν συνολικά επιβαρυντική σχέση ($\Sigma\kappa=1.05$, 95%ΔΕ: 1.02, 1.09), μελέτες στην Ευρώπη να μην καταλήγουν σε στατιστικά σημαντικό εύρημα ($\Sigma\kappa=1.03$, 95%ΔΕ: 0.96, 1.11) και μελέτες στην Αυστραλία να προτείνουν μια πολύ μικρή αρνητική σχέση ($\Sigma\kappa=0.98$, 95%ΔΕ: 0.97, 1.00) (Wallin, Di Giuseppe et al. 2012). Πιο πρόσφατη μελέτη καταδεικνύει μια περισσότερο προστατευτική σχέση (κυρίως για τα άπαχα ψάρια) ενάντια στην ανάπτυξη διαβήτη, αλλά υπό συνθήκες μεγάλης πρόσληψης, από 75γρ/ ημέρα ($\Sigma\kappa=0.71$, 95%ΔΕ: 0.51, 0.98) και 100γρ/ ημέρα ($\Sigma\kappa=0.67$, 95%ΔΕ: 0.46, 0.98).

Αυγά

Σχετικά με την κατανάλωση αυγών και τον κίνδυνο για ΣΔτ2, αποτελέσματα 2 μεγάλων προοπτικών μελετών (Physicians' Health Study και Women's Health Study) έδειξαν ότι η κατανάλωση τουλάχιστον 7 αυγών την εβδομάδα (ή 1 αυγού ημερησίως) αυξάνει 58% και 77% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη σε άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα (Djousse, Gaziano et al. 2009). Ωστόσο, η κατανάλωση αυγών, ακόμα και 3 την ημέρα, δεν έχει φανεί ότι επηρεάζει, άμεσα τουλάχιστον, τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα (Mutungi, Ratliff et al. 2008).

Ελαιόλαδο

Η κατανάλωση ελαιολάδου δεσπόζει στις χώρες της Μεσογείου, αν και τελευταία χρόνια γίνεται ολοένα και πιο δημοφιλές και σε άλλες χώρες, ακόμα και εκτός Ευρώπης. Η μεγάλη κατανάλωση ελαιολάδου σε χώρες της Μεσογείου (25-40% της ενεργειακής πρόσληψης) (Serra-Majem, de la Cruz et al. 2003) οδηγεί σε υψηλή αναλογία μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα.

Μεγάλο είναι και το όφελος του ελαιολάδου στη απώλεια βάρους, καθώς η αντικατάσταση κορεσμένων λιπαρών οξέων με μονοακόρεστα λιπαρά οξέα οδήγησε σε σημαντική μείωση του συνολικού βάρους και λίπους σε υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα μετά από 4 εβδομάδες παρέμβασης (Piers, Walker et al. 2003). Επιπλέον, η χορήγηση ελαιολάδου έναντι κρέμας αύξησε τη μεταγευματική οξείδωση του λίπους και τη θερμογένεση λόγω τροφής σε γυναίκες με κεντρικού τύπου παχυσαρκία (Soares, Cummings et al. 2004). Το ελαιϊκό οξύ, το κύριο ακόρεστο λιπαρό οξύ στο ελαιόλαδο, έχει σχετιστεί με βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, του γλυκαιμικού ελέγχου και του λιπιδαιμικού προφίλ (Ryan, McInerney et al. 2000, Soriguer, Esteva et al. 2004, Weinbrenner, Fito et al. 2004, Schroder 2007), ενώ μελέτη σε πειραματόζωα αύξηση του παλμιτικού οξέος της διατροφής μειώνει την οξείδωση του λίπους και την ημερήσια ενεργειακή δαπάνη, ενώ το ελαιϊκό οξύ επιφέρει τα αντίθετα αποτελέσματα (Rodriguez, Portillo et al. 2002). Η υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής, της οποίας το ελαιόλαδο είναι σήμα κατατεθέν, έχει βρεθεί να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας, ωστόσο το εύρημα αυτό ήταν ανεξάρτητο τη ύπαρξη ή μη ελαιολάδου στη δίαιτα (Schroder, Marrugat et al. 2004), γεγονός που υποδηλώνει τη συνδυαστική δράση των επιμέρους συνιστωσών του προτύπου. Το ελαιόλαδο αποτελεί ακόμα άριστη πηγή πολυφαινολών, που αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά με δυνητικά προστατευτική δράση έναντι του διαβήτη (Fito, Cladellas et al. 2005). Τέλος, αξιοσημείωτο είναι ότι η κατανάλωση του ελαιολάδου προσδίδει και το όφελος της κατανάλωσης φυτικών ινών, μιας και προωθεί την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων λαχανικών σε μορφή σαλάτας καθώς και μεγάλων ποσοτήτων οσπρίων (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2006)

Αλκοόλ και Καφές

Το αλκοόλ έχει προταθεί ότι μπορεί να εμπλέκεται στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό ανάπτυξης διαβήτη. Μετανάλυση 20 προοπτικών μελετών ανέδειξε μια σχέση σχήματος U μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και τον κινδύνου για διαβήτη, με τη μέτρια

και υψηλή κατανάλωση να ασκεί προστατευτική και επιβαρυντική δράση αντίστοιχα (Baliunas, Taylor et al. 2009). Ωστόσο, διφορούμενα ευρήματα έχουν δημοσιευτεί για διαφορετικούς πληθυσμούς. Για παράδειγμα, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει βρεθεί ωφέλιμη σε μελέτες σε Αμερικανούς (Kerr and Ye 2010) και Σουηδούς (Rasouli, Ahlbom et al. 2013), αλλά όχι Ιάπωνες (Teratani, Morimoto et al. 2012). Επίσης, το είδος του αλκοολούχου ποτού φαίνεται να διαδραματίζει κάποιο ρόλο, με το κρασί να αναδεικνύεται ως το πιο ωφέλιμο (Beulens, van der Schouw et al. 2012, Rasouli, Ahlbom et al. 2013). Η σχέση αλκοόλ - διαβήτη έχει φανεί ότι εξαρτάται και από άλλους παράγοντες, όπως το φύλο (Beulens, van der Schouw et al. 2012, Rasouli, Ahlbom et al. 2013), η χοληστερόλη (Jang, Jang et al. 2012) και ο δείκτης μάζας σώματος (Seike, Noda et al. 2008), γεγονός που αυξάνει την αβεβαιότητα για την πραγματική φύση της σχέσης αυτής.

Σχετικά με την κατανάλωση καφέ, η κατανάλωση τουλάχιστον 2 φλιτζ. καφέ την ημέρα έχει σχετιστεί με 50% χαμηλότερο κίνδυνο για διαβήτη σε μεγάλη προοπτική μελέτη (van Dam and Feskens 2002). Μερικά χρόνια αργότερα, μετανάλυση σχεδόν 0.5 εκ. ατόμων επιβεβαίωσε τον προστατευτικό ρόλο του καφέ (με ή χωρίς καφεΐνη), οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η αντιδιαβητική δράση του καφέ ίσως να μην οφείλεται στην καφεΐνη (Huxley, Lee et al. 2009).

1.3.2 Διατροφικά πρότυπα και ανάπτυξη Σακχαρώδη Διαβήτη

Τα τελευταία χρόνια η διατροφική έρευνα στον τομέα των χρόνιων νοσημάτων, μεταξύ των οποίων και ο δυψηιαβήτης, έχει στραφεί από τη μελέτη μεμονωμένων τροφίμων ή διατροφικών συστατικών, στην ολιστική προσέγγιση της διατροφής και τη μελέτη διατροφικών προτύπων, τόσο για πρακτικούς όσο και για μεθοδολογικούς λόγους. Καταρχάς, τα τρόφιμα έχουν συνεργιστικές ή ανταγωνιστικές ιδιότητες, που μπορεί να διαφοροποιούν την πραγματική σχέση τροφίμου - υγείας (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2009). Επίσης, οι άνθρωποι δεν καταναλώνουν μόνο ένα τρόφιμο (π.χ. κρέας, Φάρι, φρούτα, αλκοόλ) ή μεμονωμένα θρεπτικά συστατικά (π.χ. πρωτεΐνη, ω-3 λιπαρά οξέα), αλλά γεύματα που αποτελούνται από ποικιλία τροφίμων με πολύπλοκους συνδυασμούς θρεπτικών συστατικών. Τέλος, ένα πρότυπο μπορεί να εύκολα να μεταφραστεί σε οδηγίες διατροφής στην καθημερινή διαιτολογική πράξη, σε σχέση με συγκεκριμένα τρόφιμα ή συστατικά.

Σχετικά με την ανάπτυξη διαβήτη, μεγάλη προοπτική μελέτη σε 42504 άνδρες, φαινομενικά υγιείς, με 12 έτη παρακολούθησης, κατέληξε ότι το "Δυτικό" πρότυπο διατροφής (Western diet), που χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση σε κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας, αυγά, επεξεργασμένους υδατάνθρακες, γλυκά και επιδόρπια, τηγανητές πατάτες και πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρείται επιβλαβές ως προς την ανάπτυξη διαβήτη, αυξάνοντας τον κίνδυνο 59% ($\Sigma K=1.59$, 95%ΔΕ: 1.32, 1.93). Αντίθετα, το "Συνετό" πρότυπο διατροφής (prudent pattern), με υψηλή περιεκτικότητα σε φρούτα, λαχανικά, όσπρια, ψάρια, ολικής άλεσης δημητριακά, πουλερικά και χαμηλής λιποπεριεκτικότητας γαλακτοκομικά προϊόντα βρέθηκε να σχετίζεται με 12% χαμηλότερο κίνδυνο για διαβήτη ($\Sigma K=0.84$, 95%ΔΕ: 0.70, 1.00) (van Dam, Rimm et al. 2002).

Μια πρόσφατη μετανάλυση 10 προοπτικών μελετών, με ισότιμη συμμετοχή διαφόρων φυλών (καυκάσια, μαύρη, κίτρινη, ισπανική), κατέληξε ότι ένα "υγιεινό" πρότυπο διατροφής, που χαρακτηρίζεται από φρούτα, λαχανικά και ολικής άλεσης δημητριακά, μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη 14% ($\Sigma K=0.86$, 95%ΔΕ: 0.82, 0.90), ενώ το "ανθυγιεινό" πρότυπο, υψηλό σε κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας, μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο έως 30% ($\Sigma K=1.30$, 95%ΔΕ: 1.18, 1.43) (Maghsoudi, Ghiasvand et al. 2016).

Στη συγκεκριμένη διατριβή θα εστιάσουμε σε ένα πολύ γνωστό και καλά μελετημένο, όσον αφορά τα καρδιαγγειακά νοσήματα, πρότυπο διατροφής, τη Μεσογειακή διατροφή, προσπαθώντας να παραθέσουμε τη μέχρι τώρα γνώση όσον αφορά το ρόλο της στην πρωτογενή πρόληψη του ΣΔτ2.

➤ Η Μεσογειακή Διατροφή

Η ιδέα της Μεσογειακής διατροφής (δίαιτας) προέρχεται από τη μελέτη των Επτά Χωρών, που οργανώθηκε από τον Ancel Keys (1904-2004) τη δεκαετία του '50. Στη μελέτη φάνηκε ότι παρά την υψηλή κατανάλωση λίπους ο πληθυσμός της Κρήτης είχε πολύ χαμηλά ποσοστά στεφανιαίας νόσου και κάποιων τύπων καρκίνου και μεγαλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης. Οι παραδοσιακές διατροφικές συνήθειες της Κρήτης, κοινές για την υπόλοιπη Ελλάδα και τη Νότια Ιταλία στις αρχές του '60 θεωρήθηκαν υπεύθυνες για την καλή υγεία που παρατηρήθηκε σε αυτές τις περιοχές (Keys, Menotti et al. 1986).

Οστόσο, ο ορισμός της μεσογειακής διατροφής ως αυτοτελή οντότητα είναι αρκετά δύσκολος, καθώς στη βιβλιογραφία έχουν προταθεί ποικίλα διαιτητικά σχήματα

μεσογειακού τύπου, τα οποία προτείνουν ότι δεν υπάρχει «μια ιδανική Μεσογειακή διατροφή», αλλά πιο πολύ ένα μεσογειακό πρότυπο διατροφής που μοιράζεται διάφορα βασικά διαιτητικά συστατικά (Noah and Truswell 2001). Επιπλέον, το να χρησιμοποιήσουμε τον όρο μεσογειακή διατροφή για να περιγράψουμε το διατροφικό πρότυπο των ανθρώπων που ζουν στη μεσογειακή λεκάνη θα ήταν εντελώς λάθος, αφού υπάρχουν τουλάχιστον δεκαοκτώ χώρες που βρέχονται από τη μεσόγειο θάλασσα, καθεμία με διαφορετικές διαιτητικές συνήθειες, θρησκείες, ήθη και έθιμα. Στην πραγματικότητα οι Ferro-Luzzi και Sette υποστήριξαν δεκαετίες πριν ότι “ο όρος μεσογειακή διατροφή, αν και πολύ ελκυστικός, δεν πρέπει να χρησιμοποιείται από την επιστημονική κοινότητα μέχρι η σύσταση της διατροφής αυτής σε φαγητά και θρεπτικά συστατικά να γίνει πιο ξεκάθαρη και η μεταβολική βάση των ευεργετικών για την υγεία ιδιοτήτων της να αποσαφηνιστούν” (Ferro-Luzzi and Sette 1989). Από την άλλη πλευρά, οι Τριχοπούλου και Λάγιου επεσήμαναν ότι παρόλο που οι διάφορες περιοχές στη λεκάνη της Μεσογείου έχουν τις δικές τους διαιτητικές συνήθειες, είναι θεμιτό να τις θεωρήσει κανείς ως παραλλαγές ενός κοινού μοντέλου, της μεσογειακής διατροφής (Trichopoulou and Lagiou 1997).

Πράγματι, οι διάφορες διατροφικές συνήθειες που εμφανίζονται στην περιοχή της Μεσογείου έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά, με κυριότερο το γεγονός ότι το ελαιόλαδο καταλαμβάνει κεντρική θέση σε όλες. Το ελαιόλαδο είναι σημαντικό όχι μόνο επειδή έχει αρκετές ευεργετικές ιδιότητες, αλλά και γιατί επιτρέπει την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων λαχανικών με τη μορφή της σαλάτας και εξίσου μεγάλες ποσότητες από όσπρια με τη μορφή μαγειρεμένου φαγητού. Έτσι, θα μπορούσε να οριστεί -όχι όμως με απόλυτη ακρίβεια- ότι η Μεσογειακή διατροφή είναι το πρότυπο διατροφής που συναντάει κανείς στις ελαιοπαραγωγικές περιοχές της περιοχής της Μεσογείου στα τέλη της δεκαετίας του '50 και αρχές της δεκαετίας του '60, όπου οι συνέπειες του 2ου παγκοσμίου πολέμου είχαν ξεπεραστεί, ενώ ο πολιτισμός των «fast – food» δεν είχε ακόμη εισβάλει.

Άλλα απαραίτητα συστατικά της μεσογειακής διατροφής είναι τα σιτηρά, οι ελιές, τα σταφύλια και τα ποικίλα προϊόντα τους. Η ολική πρόσληψη λίπους μπορεί να είναι υψηλή (κοντά ή και πάνω από το 30% της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας) στην Ελλάδα, ή μέτρια (κοντά στο 30% της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας) στην Ιταλία. Σε κάθε περίπτωση όμως ο λόγος μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι κατά πολύ υψηλότερος από ότι σε άλλα μέρη του κόσμου, συμπεριλαμβανομένης της βόρειας Ευρώπης και της βόρειας Αμερικής. Η Ιταλική παραλλαγή της μεσογειακής διατροφής

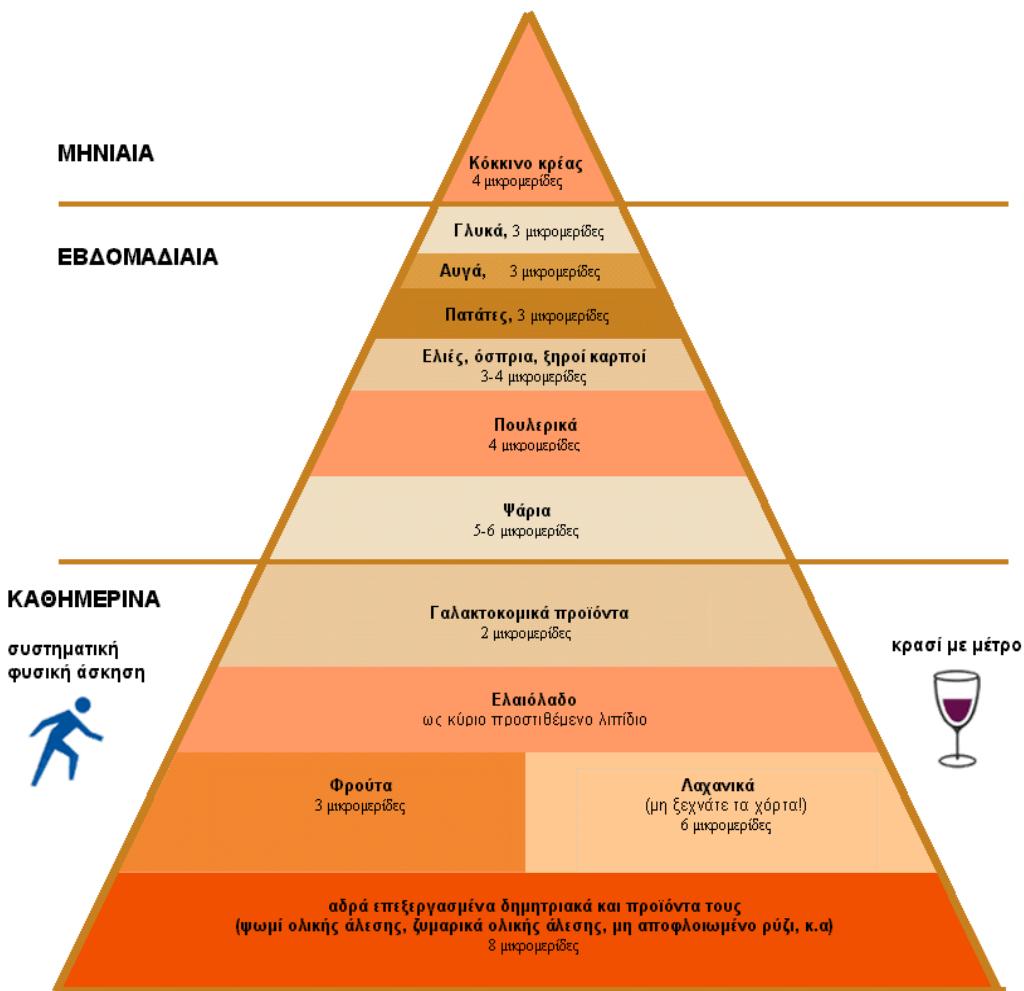
χαρακτηρίζεται από υψηλή πρόσληψη ζυμαρικών, ενώ στην Ισπανία είναι ιδιαίτερα υψηλή η κατανάλωση ψαριού.

Η μεσογειακή διατροφή απεικονίζεται γραφικά με τη μορφή μιας πυραμίδας (τρίγωνο) (Υπουργείο Υγείας & Πρόνοιας 1999) η οποία χωρίζεται σε τρία επίπεδα, βάσει της συχνότητας των τροφίμων που απεικονίζεται (σε μηνιαία, εβδομαδιαία και καθημερινή βάση). Η πυραμίδα έχει στη βάση της τα τρόφιμα που πρέπει να καταναλώνονται καθημερινά και σε σημαντικές ποσότητες, ενώ αντίθετα στην κορυφή της βρίσκονται οι τροφές που πρέπει να καταναλώνονται αραιά και σε μικρότερες ποσότητες.

Η παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή και ειδικά η ελληνική εκδοχή της, μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει 9 χαρακτηριστικά: υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου, οσπρίων, δημητριακών, φρούτων και λαχανικών, μέτρια με υψηλή κατανάλωση ψαριού, μέτρια κατανάλωση κρασιού, γαλακτοκομικών, κυρίως τυριού και γιαουρτιού και χαμηλή κατανάλωση κρέατος και παραγώγων του. Ειδικότερα, αυτό το πρότυπο διατροφής προϋποθέτει:

- ✓ καθημερινή κατανάλωση:
 - μη επεξεργασμένων δημητριακών και προϊόντων τους (ψωμί και ζυμαρικά ολικής αλέσεως, καφέ ρύζι κ.τ.λ.) (8 μερίδες ανά ημέρα),
 - λαχανικών (2 – 3 μερίδες ανά ημέρα),
 - φρούτων (4 – 6 μερίδες ανά ημέρα),
 - ελαιολάδου (ως το κυριότερο προστιθέμενο λίπος) και
 - άπαχα ή χαμηλής λιποπεριεκτικότητας γαλακτοκομικά προϊόντα (1 – 2 μερίδες ανά ημέρα),
- ✓ εβδομαδιαία κατανάλωση
 - πατάτας (4 – 5 μερίδες ανά εβδομάδα),
 - ψαριού (4 – 5 μερίδες ανά εβδομάδα),
 - ελιάς, οσπρίων και καρυδιών (>4 μερίδες ανά εβδομάδα) και
- ✓ σπανιότερα
 - πουλερικών (1 – 3 μερίδες ανά εβδομάδα),
 - αυγών και γλυκών (1 – 3 μερίδες ανά εβδομάδα) και
- ✓ μηνιαία κατανάλωση
 - κόκκινου κρέατος και παραγώγων αυτού (4 – 5 μερίδες ανά μήνα).

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ



Μία μικρομερίδα αντιστοιχεί περίπου στο μισό της μερίδας που καθορίζουν οι αγορανομικές διατάξεις

Θυμηθείτε επίσης:

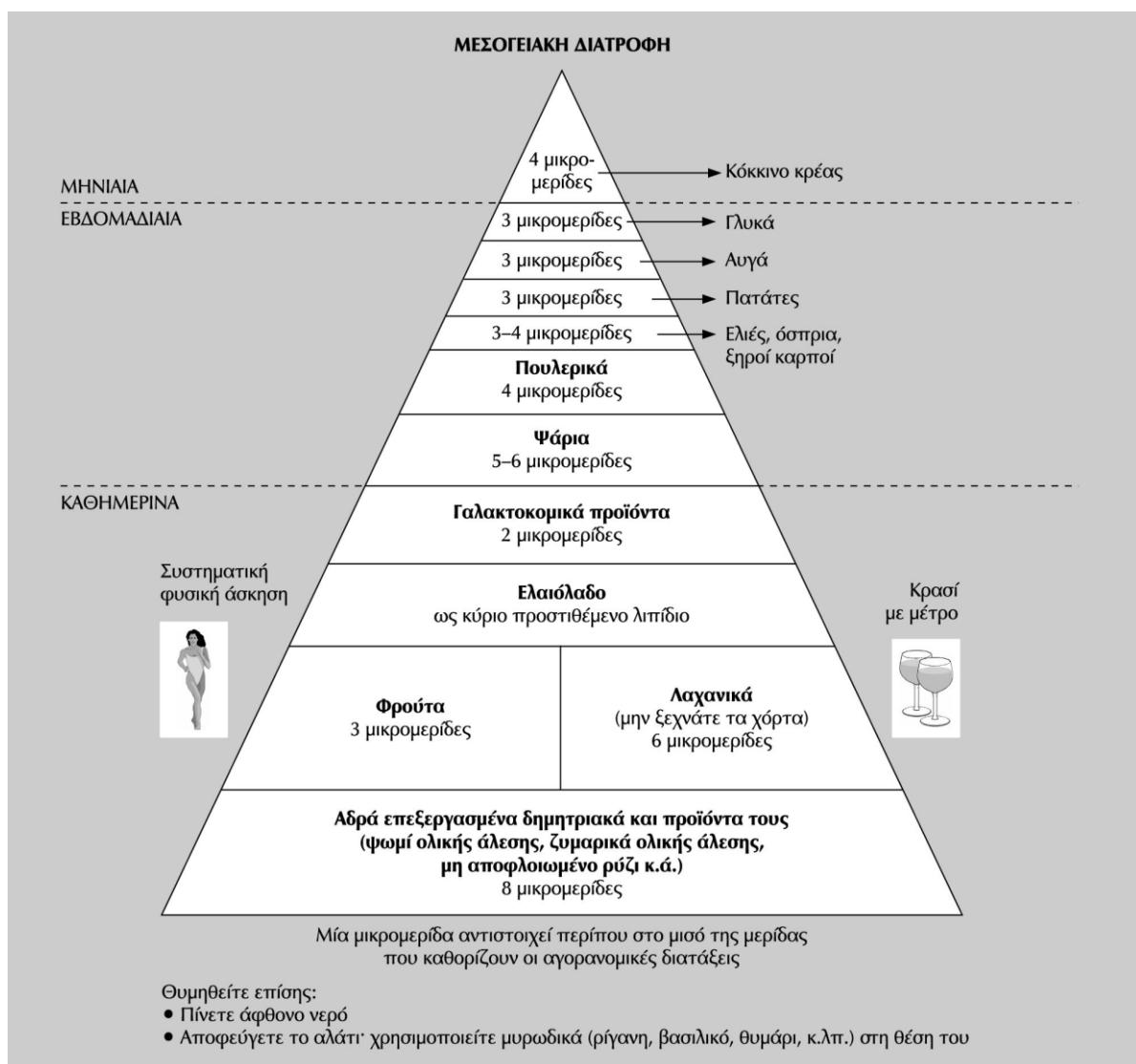
- πίνετε άφθονο νερό
- αποφεύγετε το αλάτι χρησιμοποιείτε μυρωδικά (ρίγανη, βασιλικό, θυμάρι, κλπ) στη θέση του

Πηγή: Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας, Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας

Εικόνα 1. Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή (Υπουργείο Υγείας, 1999) (εκδοχή 1)

Επίσης, χαρακτηρίζεται από μέτρια κατανάλωση κρασιού (1–2 ποτήρια κρασιού ανά ημέρα) και υψηλό λόγο μονοακόρεστων προς κορεσμένα (>2). Η δίαιτα αυτή είναι χαμηλή σε κορεσμένα λιπαρά ($\leq 7\text{-}8\%$ της συνολικής ενέργειας) με την ολική πρόσληψη λίπους να κυμαίνεται από <30% έως > 40% της ενέργειας στις διάφορες περιοχές (Willett, Sacks et al. 1995).

Επιπρόσθετα, ενώ η κατανάλωση γάλακτος είναι μέτρια, η κατανάλωση τυριού και γιαουρτιού είναι σχετικά υψηλή. Το τυρί φέτα συχνά προστίθεται στις σαλάτες και συνοδεύει βραστά λαχανικά και λαδερά φαγητά. Η υψηλή περιεκτικότητα της διατροφής σε λαχανικά, φρούτα και δημητριακά και η μεγάλη χρήση ελαιολάδου εξασφαλίζει μια επαρκή πρόσληψη σε β-καροτένιο, βιταμίνη C, τοκοφερόλες, α-λινολενικό οξύ και ποικίλα σημαντικά ανόργανα στοιχεία και αρκετές πιθανώς σημαντικές, ευεργετικές ουσίες που δεν περιλαμβάνονται στα θρεπτικά συστατικά, όπως οι πολυφαινόλες και οι ανθοκυανίνες. Το κρασί καταναλώνεται σε μέτρια ποσότητα και σχεδόν πάντα κατά τη διάρκεια των γευμάτων (Trichopoulou and Lagiou 1997).



Εικόνα 2. Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή (Υπουργείο Υγείας, 1999) (εκδοχή 2)

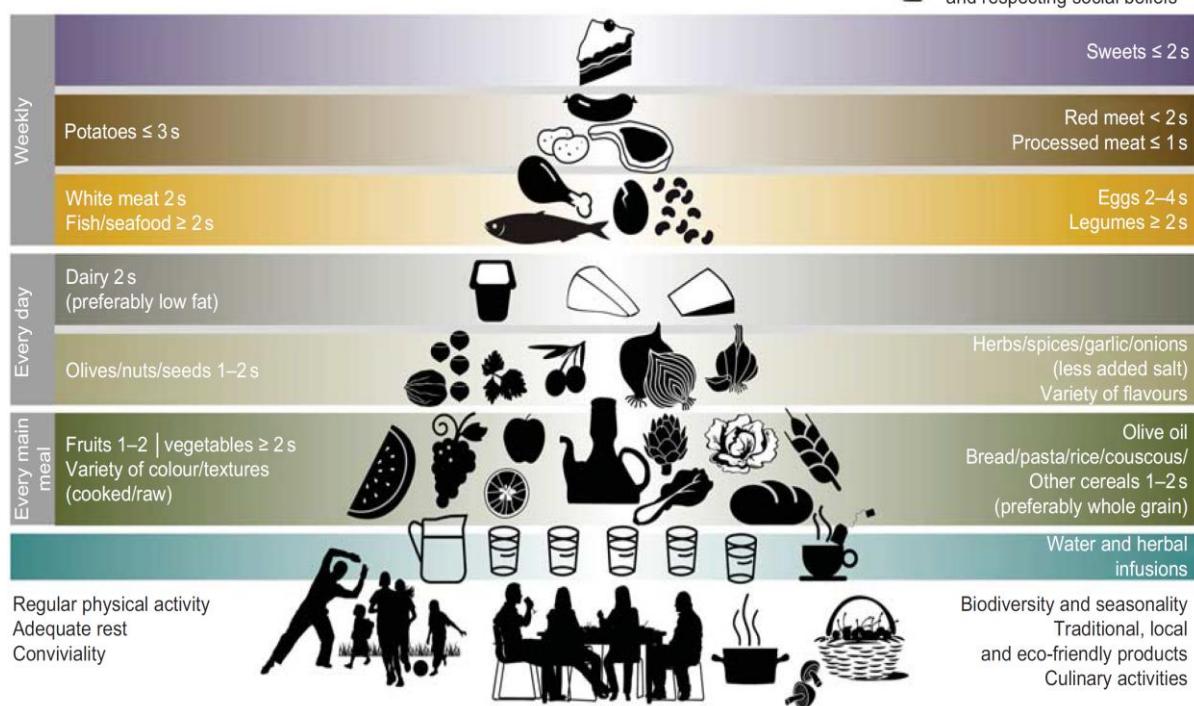
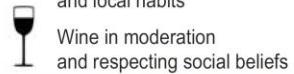
Πίνακας 5. Μεταβλητότητα του ορισμού της Μεσογειακής διατροφής μεταξύ μελετών

Έρευνα	Τύπος έρευνας	Περιγραφή των επιμέρους συνιστώσων της μεσογειακής διατροφής
Renaud et al., 1995 (Renaud, de Lorgeril et al. 1995) "Κρητική μεσογειακή διατροφή"	Τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή	<p>Έξι διαιτητικές οδηγίες:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ περισσότερο ψωμί, ▪ περισσότερα λαχανικά και όσπρια ▪ περισσότερα ψάρια ▪ λιγότερο κρέας (μοσχάρι, αρνί, χοιρινό) και αντικατάσταση με πουλερικά ▪ φρούτα κάθε μέρα ▪ όχι πια βούτυρο και κρέμα γάλακτος. Αντικατάσταση με συγκεκριμένες μαργαρίνες <p>Η συνετή κατανάλωση αλκοόλ, κυρίως κόκκινου κρασιού, επιτρεπόταν ή ακόμα μια συστήνοταν στα γεύματα</p>
Sondergaard et al., 2003 (Sondergaard, Moller et al. 2003) "Μεσογειακή δίαιτα"	Τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή	Κατανάλωση τουλάχιστον 600g φρούτων και λαχανικών ημερησίων, τροποποίηση της πρόσληψης λιπαρών (μείωση των κορεσμένων λιπαρών οξέων από το κρέας και τα γαλακτοκομικά και αύξηση της κατανάλωσης λιπαρών ψαριών τουλάχιστον μία φορά την εβδομάδα ή και περισσότερες αν είναι δυνατόν), κατανάλωση πολλών δημητριακών και ψωμιού και αντικατάσταση των εξευγενισμένων, σκληρών, ζωικών μαργαρινών με φυτικά έλαια, κατά προτίμηση λάδι κανόλα
Trichopoulou et al., 2004 (Trichopoulou 2004) "Παραδοσιακή Μεσογειακή Δίαιτα"	Ανασκόπηση	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Υψηλό ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων προς κορεσμένα (κυρίως ελαιόλαδο) ▪ Μέτρια κατανάλωση αιθανόλης ▪ Υψηλή κατανάλωση λαχανικών ▪ Υψηλή κατανάλωση ανεπεξέργαστων δημητριακών, συμπεριλαμβανομένου του ψωμιού ▪ Υψηλή κατανάλωση φρούτων ▪ Υψηλή κατανάλωση οσπρίων ▪ Χαμηλή κατανάλωση κρέατος και προϊόντων αυτού ▪ Μέτρια κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών
Fung et al., 2005 (Fung, McCullough et al. 2005) "Εναλλακτικό σκορ της μεσογειακής διατροφής (aMED)"	Προοπτική	Το παραδοσιακό σκορ βασίστηκε στην πρόσληψη 9 συστατικών: λαχανικά, όσπρια, φρούτα, ξηροί καρποί, γαλακτοκομικά, δημητριακά, κρέας και προϊόντα αυτού, ψάρια, αλκοόλ, και ο λόγος μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα. Υπήρξε τροποποίηση ως προς την πρωτότυπη κλίμακα βαθμολόγησης, λόγω: αποκλεισμού της πατάτας από την ομάδα των λαχανικών, διαχωρισμού φρούτων και ξηρών καρπών σε δύο κατηγορίες, περιορισμού των γαλακτοκομικών, ένταξης μόνο των ολικής άλεσης δημητριακών και μόνο του κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος από την ομάδα του κρέατος στο σκορ και καθορισμού της θετικά βαθμολογούμενης ημερήσιας πρόσληψης αλκοόλ μεταξύ 5 και 15g
Dalziel et al., 2006 (Dalziel, Segal et al. 2006) "Μεσογειακή δίαιτα"	Ανάλυση κόστους - χρησιμότητας	Σημεία κλειδιά της διατροφής είναι τα εξής: περισσότερο ψωμί ολικής άλεσης, περισσότερα φρούτα και πράσινα λαχανικά, περισσότερο ψάρι, λιγότερο κόκκινο κρέας, όχι βούτυρο και κρέμα γάλακτος και περιορισμός των ελαίων στο ελαιόλαδο. Τέλος, μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (κρασιού) συνήθως επιτρέπεται.
Ambring et al., 2006 (Ambring, Johansson et al. 2006)	Τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή	Η MID απαρτίζεται από τη διπλάσια ποσότητα σε διαιτητικές ίνες της σουηδικής διατροφής, 3-4 φορές περισσότερα αντιοξειδωτικά, περίπου 3 φορές το περιεχόμενο αυτής σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και 2 φορές το

"Διατροφή εμπνευσμένη από τη μεσογειακή δίαιτα (MID)"		περιεχόμενό της σε ω-3, τη μισή ποσότητα κορεσμένων και χοληστερόλης και μια μείωση του γλυκαιμικού δείκτη της τάξης του 35%. Επιπλέον, εστέρες στερολών ως συστατικό της μαργαρίνης προσλαμβάνονταν σε ποσότητα 2g την ημέρα.
Harriss et al., 2007 (Harriss, English et al. 2007) "Ο Μεσογειακός παράγοντας"	Προοπτική	Ο παράγοντας της μεσογειακής διατροφής χαρακτηρίστηκε από τη συχνή κατανάλωση τροφίμων, όπως το σκόρδο, το αγγούρι, το ελαιόλαδο, οι σαλάτες, η πράσινη πιπεριά, τα όσπρια, τα τυριά φέτα και ρικότα, οι ελιές, τα ψάρια στον ατμό και το βραστό κοτόπουλο. Ο συγκεκριμένος παράγοντας σχετίστηκε αρνητικά με την κατανάλωση τσαγιού, μαργαρίνης, μπισκότων με ζάχαρη και κέικ
Salas-Salvado et al., 2008 (Salas-Salvado, Garcia-Arellano et al. 2008) "Διατροφικό πρότυπο τύπου μεσογειακής δίαιτας"	Προοπτική (PREDIMED)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ «Ευεργετικά» τρόφιμα: ελαιόλαδο, λαχανικά, όσπρια, φρούτα, ξηροί καρποί, ψάρια, θαλασσινά, λευκό αντί για κόκκινο κρέας, σπιτικές σάλτσες, κόκκινο κρασί. ▪ «Επιβλαβή» τρόφιμα: κόκκινο κρέας, πλήρη γαλακτοκομικά, αρτοσκευάσματα και σνακ εμπορίου, αφεψήματα με τεχνητά γλυκαντικά

Η «σύγχρονη» εκδοχή της Μεσογειακής Διατροφής

Το 2011 οι Bach-Faig και συνεργάτες της παρουσίασαν τη Μεσογειακή πυραμίδα ως ένα νέο τρόπο ζωής (Bach-Faig, Berry et al. 2011). Χρησιμοποιήθηκε μία νέα γραφική απεικόνιση ως ένα απλοποιημένο κύριο πλαίσιο, με σκοπό να προσαρμοστεί κατάλληλα στις διαφορετικές περιοχές της Μεσογείου, ανάλογα τις διατροφικές ιδιαιτερότητες και κοινωνικο-οικονομικές συνθήκες. Η αναθεώρηση αυτή συγκεντρώνει επικαιροποιημένες συστάσεις σχετικά με τις σύγχρονες διατροφικές, κοινωνικο-πολιτισμικές, περιβαλλοντικές και υγειονομικές προκλήσεις, που οι πληθυσμοί της Μεσογείου αντιμετωπίζουν. Πολλές είναι οι καινοτομίες της νέας αυτής πρότασης σε σχέση με προηγούμενες γραφικές αναπαραστάσεις. Πρώτον, η έννοια της σύνθεσης των «κύριων γευμάτων» εισάγεται για την ενίσχυση της φυτικού πυρήνα αυτού του διατροφικού προτύπου. Δεύτερον, η λιτότητα και η μετριοπάθεια τονίζονται, λόγω της μεγάλης πρόκλησης για τη δημόσια υγεία που αποτελεί η παχυσαρκία πια. Τρίτον, ποιοτικά στοιχεία για τον πολιτισμό και τον τρόπο ζωής λαμβάνονται υπόψη, όπως η ευθυμία, οι γαστρονομικές δραστηριότητες, η σωματική δραστηριότητα και η επαρκής ανάπτυξη, μαζί με τις συστάσεις περί συχνότητας των εκάστοτε τροφίμων και της μερίδας αυτών. Αυτές οι καινοτομίες γίνονται χωρίς να παραλείπονται βέβαια άλλα στοιχεία που σχετίζονται με την παραγωγή, επιλογή, επεξεργασία και κατανάλωση των τροφίμων, όπως η εποχικότητα, η βιοποικιλότητα, καθώς και παραδοσιακά, τοπικά και φιλικά προς το περιβάλλον προϊόντα.



2010 edition

s = Serving

Εικόνα 3. Η σύγχρονη εκδοχή της μεσογειακής διατροφής

1.4. Ο ρόλος της μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη διαβήτη

Αν και η Μεσογειακή διατροφή έχει εδραιωθεί πια ως ένα καρδιοπροστατευτικό πρότυπο διατροφής (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2004), ο ρόλος της στην πρωτογενή πρόληψη του διαβήτη δεν είναι πλήρως ξεκάθαρος.

1.4.1 Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών

- **Συγχρονικές μελέτες (ή μελέτες που αξιοποίησαν και συγχρονικά τα δεδομένα τους)**

Από τις πρώτες μελέτες που αξιολόγησαν την προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή σε σχέση με την ανάπτυξη διαβήτη, ήταν η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη με δείγμα 3042 φαινομενικά υγιών ατόμων, 20-89 ετών, από την ευρύτερη περιοχή της Αττικής (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003). Μεγαλύτερη συμμόρφωση με τη μεσογειακή διατροφή, και συγκεκριμένα αύξηση κατά 10 μονάδες του δείκτη *MedDietScore* (εύρος 0-55) (Panagiotakos, Milias et al. 2006), το οποίο θα αναλυθεί

και στη συνέχεια, σχετίστηκε με 21% μειωμένη πιθανότητα ύπαρξης διαβήτη στην αρχή της μελέτης ($\Sigma\Lambda=0.79$, 95%ΔΕ: 0.65, 0.94), αφού λίγηθηκαν υπόψη κλασικοί συγχυτικοί παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, οι καπνιστικές συνήθειες και η φυσική δραστηριότητα (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2005).

Η ευεργετική δράση της μεσογειακής διατροφής προτάθηκε και από μία άλλη μελέτη συγχρονικής φύσης, που διεξήχθη στην Κύπρο. Η υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής (ανά 10 μονάδες αύξηση του δείκτη *MedDietScore*), σχετίστηκε με 6% μειωμένη πιθανότητα να έχει κάποιος διαβήτη, μετά από στάθμιση για τους ίδιους παράγοντες, σε δείγμα 150 ηλικιωμένων ατόμων, 65-100 ετών (Panagiotakos, Polystipioti et al. 2007).

Μια πολύ σημαντική μελέτη είναι η μελέτη PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterránea, δηλαδή Πρόληψη μέσω της Μεσογειακής Διατροφής), μια τυχαιοποιημένη, μονά τυφλή, παράλληλου σχεδιασμού για την πρωτογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων, ου διεξήχθη σε 8 πόλεις της Ισπανίας. Πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν να αξιολογήσει την επίδραση 2 παραλλαγών της μεσογειακής διατροφής υψηλών σε συνολικό και ακόρεστο λίπος, - η μία εμπλουτισμένη με έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (1λίτρο/εβδομάδα) και η δεύτερη με ξηρούς καρπούς (30γρ/ημέρα) - στη συνολική καρδιαγγειακή θνησιμότητα (έμφραγμα του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό επεισόδιο), σε σύγκριση με μία διατροφή χαμηλού λίπος (συνήθης θεραπεία). Στην εν λόγω μελέτη ο ΣΔτ2 αποτελούσε δευτερογενές τελικό σημείο. Οι συμμετέχοντες ήταν άνδρες (55–80 ετών) και γυναίκες (60–80 ετών), χωρίς καρδιαγγειακή νόσο στην αρχή της μελέτης, αλλά υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακό νόσημα (δηλαδή, με ΣΔτ2 ≥ 3 βασικούς παράγοντες κινδύνου: κάπνισμα στο παρόν, υπέρταση ή δυσλιπιδαιμία, υπερβαρότητα ή οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου). Στην αρχή της μελέτης αξιολογήθηκε επίσης ο βαθμός υιοθέτησης της μεσογειακής διατροφής των ατόμων που στρατολογήθηκαν ($n=3204$) με μία κλίμακα (σκορ 0-14).

Στην αρχή της μελέτης, η συγχρονική ανάλυση των δεδομένων σε $n=3204$ άτομα υψηλού κινδύνου έδειξε ότι τα άτομα τα οποία ανήκαν στην ομάδα υψηλής συμμόρφωσης με τη μεσογειακή διατροφή (σκορ>9) είχαν 15% μικρότερη πιθανότητα να έχουν διαβήτη, συγκριτικά με την ομάδα χαμηλής συμμόρφωσης (σκορ <9) ($\Sigma\kappa=0.85$, 95%ΔΕ: 0.74, 0.98), αφού λίγηθηκαν υπόψη το φύλο, η ηλικία, η φυσική δραστηριότητα, η οικογενειακή κατάσταση, το κάπνισμα, το μορφωτικό επίπεδο και ο ΔΜΣ (Sanchez-Tainta, Estruch et al. 2008). Σε αντίστοιχη δημοσίευση της ίδιας ομάδας σε μεγαλύτερο δείγμα $n=7305$ ατόμων,

τα άτομα με διαβήτη στην αρχή της μελέτης είχαν 13% αυξημένη πιθανότητα να είναι μακριά από τη μεσογειακή διατροφή ($\Sigma\Lambda=1.13$, 95%ΔΕ: 1.03, 1.24), κατόπιν στάθμισης για τους παραπάνω συγχυτικούς παράγοντες και επιπλέον υπέρταση, οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου, κατανάλωση αλκοόλ και υπερχοληστερολαιμία (Hu, Toledo et al. 2013).

Οι Garcia-Arenzana και συνεργάτες διεξήγαγαν μια ακόμα συγχρονική μελέτη σε δείγμα 3564 Ισπανών γυναικών, ηλικίας 45-68 ετών, οι οποίες έκαναν προσυμπτωματικό έλεγχο για καρκίνο του μαστού. Το εναλλακτικό σκορ Μεσογειακής διατροφής (alternate Mediterranean diet score, aMED), ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας τροφίμων που απαρτίζεται από 14 ερωτήσεις, με εύρος σκορ 0-9, χρησιμοποιήθηκε για να αντληθούν οι διατροφικές πληροφορίες. Οι γυναίκες που δήλωσαν μικρότερη από το μέσο όρο συμμόρφωση με τη μεσογειακή διατροφή (σκορ <9), ήταν κατά 1.08 φορές πιο πιθανό να έχουν διαβήτη, συγκριτικά με την ομάδα που σημείωσε σκορ >9, κατόπιν στάθμισης για την ενεργειακή πρόσληψη και το κέντρο προσυμπτωματικού ελέγχου (Garcia-Arenzana, Navarrete-Munoz et al. 2012).

Τέλος, σε μία πάλι Ισπανική μελέτη, οι 5076 συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε 3 ομάδες βάσει των αποτελεσμάτων από καμπύλη σακχάρου (OGTT τεστ): φυσιολογικοί, με προδιαβήτη ή μη διαγνωσμένο διαβήτη και τέλος με διαγνωσμένο διαβήτη. Ο σκοπός της διάκρισης ήταν να αποφευχθεί η συγχυτική επίδραση των διαιτητικών αλλαγών, που ακολουθεί της διάγνωσης με διαβήτη. Ο δείκτης MedScore, ένα ποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, χρησιμοποιήθηκε για να βαθμολογηθεί η συμμόρφωση με τη μεσογειακή διατροφή. Ομοίως με τις προηγούμενες μελέτες, τα άτομα με προδιαβήτη και μη διαγνωσμένο διαβήτη συμμορφώνονταν λιγότερο με τις αρχές της μεσογειακής διατροφής, συγκριτικά με τα άτομα χωρίς διαβήτη ($\Sigma\Lambda=0.79$, 95%ΔΕ: 0.63, 0.98). Αντίθετα, καμία στατιστική διαφορά όσον αφορά την προσκόλληση με τη μεσογειακή διατροφή δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των ατόμων με διαγνωσμένο ΣΔτ2 και των φυσιολογικών ατόμων ($\Sigma\Lambda=1.11$, 95%ΔΕ: 0.82, 1.48). Αυτό το ενδιαφέρον εύρημα αποδίδεται πιθανά στη θεραπευτική προσέγγιση του ΣΔτ2 στην Ισπανία, η οποία ενθαρρύνει την υιοθέτηση ενός μεσογειακού τρόπου διατροφής ή αποτελεί προσωπική επιλογή των ατόμων με στόχο την καλύτερη διαχείριση της νόσου (Ortega, Franch et al. 2013).

Συμπερασματικά, πρέπει να τονίσουμε ότι για όλες τις μελέτες που αξιοποίησαν συγχρονικά τα δεδομένα τους, για να εξετάσουν την επίδραση της μεσογειακής διατροφής στον επιπολασμό του ΣΔτ2, χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων τους, καθώς πάντα εγκυμονεί το σφάλμα αντίστροφης αιτιολογίας (reverse causation bias), όπως για παράδειγμα το ότι η νόσος οδηγεί στη βελτίωση των διατροφικών συνηθειών των ατόμων. ωστόσο, αυτή η δυσκολία παρακάμπτεται σε μελέτες με προοπτικό σχεδιασμό λόγω της διασφάλισης της χρονικής αλληλουχίας μεταξύ έκθεσης (π.χ. διατροφικές συνήθειες) και έκβασης (π.χ. ανάπτυξη διαβήτη), ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα σφάλματος πληροφόρησης σχετικά με τις διατροφικές συνήθειες μετά τη διάγνωση της νόσου.

➤ Προοπτικές μελέτες

Πράγματι, η σχέση μεταξύ μεσογειακής διατροφής και του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη έχει αξιολογηθεί και σε πολλές προοπτικές μελέτες, συμπεριλαμβάνοντας πληθυσμούς όχι μόνο από τις χώρες της μεσογείου, αλλά και από το Ηνωμένο Βασίλειο και τις ΗΠΑ, βελτιώνοντας έτσι τη γενικευσιμότητα των αποτελεσμάτων.

Στα πλαίσια της προαναφερθείσας μελέτης PREDIMED, η πολυπαραγοντική ανάλυση σε 418 άτομα χωρίς διαβήτη, σε ένα από τα 8 κέντρα της μελέτης (PREDIMED-Reus), έδειξε ότι οι 2 ομάδες παρέμβασης είχαν μικρότερο κίνδυνο να αναπτύξουν διαβήτη, ανεξάρτητα από το είδος του ακόρεστου λίπους που χορηγήθηκε: $\Sigma K=0.49$, 95%ΔΕ: 0.25, 0.97, και $\Sigma K=0.48$, 95%ΔΕ: 0.24, 0.96, στην ομάδα με το ελαιόλαδο και τους ξηρούς καρπούς αντίστοιχα. Λήφθηκαν υπόψη το φύλο, η ηλικία, η ενεργειακή πρόσληψη, ο δείκτης μάζας σώματος, η περιφέρεια μέσης, η φυσικής δραστηριότητα, το κάπνισμα, η γλυκόζη νηστείας, η χρήση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, το σκορ Μεσογειακής Διατροφής και αλλαγές στο βάρος κατά τη διάρκεια της μελέτης (Salas-Salvado, Bullo et al. 2011).

Η μελέτη EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) είναι μια πολυκεντρική προοπτική μελέτη, που σχεδιάστηκε με σκοπό να διερευνήσει τη σχέση διατροφής - καρκίνου, αφήνοντας ανοιχτό το ενδεχόμενο μελέτης και άλλων νοσημάτων, όπως ο διαβήτης. Δύο ερευνητές έχουν αξιοποιήσει τη βάση της μελέτης EPIC για να εξετάσουν την επίδραση της διατροφής στο διαβήτη. Ο Romaguera και συνεργάτες ανέλυσαν δεδομένα από 27792 συμμετέχοντες (11994 άτομα με διαβήτη και ένα διαστρωματοποιημένο δείγμα υγιών). Το σχετικό σκορ προσκόλλησης στη μεσογειακή

διατροφή (relative Mediterranean diet score, rMED), που κατασκευάστηκε από ερευνητές της ομάδας της EPIC (Buckland, Agudo et al. 2010) και αποτελεί μια παραλλαγή του παραδοσιακού σκορ (Trichopoulou, Costacou et al. 2003), χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή. Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο, η υψηλή υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής βρέθηκε να μειώνει κατά 12% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη ($\Sigma K=0.88$, 95%ΔΕ: 0.79, 0.97), συγκριτικά με τη φτωχή συμμόρφωση σε αυτή, μετά από στάθμιση για φύλο, ΔΜΣ, φυσικής δραστηριότητα, μορφωτικό επίπεδο, ενεργειακή πρόσληψη (Romaguera, Guevara et al. 2011). Επιπλέον, ο Rossi και συνεργάτες μελετώντας το ελληνικό δείγμα της EPIC, δηλαδή 22295 άτομα, χρησιμοποιώντας το παραδοσιακό σκορ μεσογειακής διατροφής (MDS) και σταθμίζοντας για παρόμοιους συγχυτικούς παράγοντες, παρατήρησε παρόμοια μείωση του 12ετή κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη ($\Sigma K=0.88$, 95%ΔΕ: 0.78, 0.99) (Rossi, Turati et al. 2013).

Η πιθανή αντιδιαβητική δράση της Μεσογειακής διατροφής έχει μελετηθεί και μεταξύ ασθενών με πρόσφατο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ο Mozaffarian και συνεργάτες παρακολούθησαν προοπτικά 8291 άτομα από την Ιταλία, που πέρασαν έμφραγμα τους προηγούμενους 3 μήνες, για 3.5 χρόνια. Άτομα με σκορ >10 στην σκορ Μεσογειακής διατροφής (εύρος 0-15) παρουσίαζαν 0.65 φορές χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, σε σχέση με τα άτομα που συγκέντρωναν σκορ <5 ($\Sigma K=0.65$, 95%ΔΕ: 0.49, 0.85) (Mozaffarian, Marfisi et al. 2007).

Η ευεργετική επίδραση της μεσογειακής διατροφής έχει καταγραφεί και σε πληθυσμούς εκτός Ευρώπης. Πρώτα, ο Koning και συνεργάτες μελέτησαν για 20 χρόνια 41615 άνδρες από τη Μελέτη Παρακολούθησης των Επαγγελματιών Υγείας, χωρίς διαβήτη, καρδιαγγειακή νόσο ή καρκίνο στην αφετηρία. Η υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής εκτιμήθηκε με το δείκτη aMED και έγινε κατηγοριοποίηση σε πεμπτημόρια. Στο πολυπαραγοντικό μοντέλο, σταθμισμένο για κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, κατανάλωση καφέ, οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, ΔΜΣ και ενεργειακή πρόσληψη, τα άτομα που ανήκαν στο υψηλότερο πεμπτημόριο σε σχέση με τα άτομα στο χαμηλότερο πεμπτημόριο είχαν 35% χαμηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν διαβήτη στην εικοσαετία ($\Sigma K=0.75$, 95%ΔΕ: 0.66, 0.86) (de Koning, Chiuve et al. 2011). Αυτό το εύρημα επιβεβαιώθηκε δύο χρόνια αργότερα από τον Tobias και συνεργάτες σε 4413 γυναίκες με ιστορικό διαβήτη κύησης. Η μείωση του κινδύνου και εδώ άγγιζε το 34% (με οριακή

στατιστική σημαντικότητα βέβαια) για τα άτομα κοντά στη μεσογειακή διατροφή ($\Sigma K=0.76$, 95%CI: 0.55, 1.05) (Tobias, Hu et al. 2012).

Τέλος, η μεγαλύτερη διαφορά κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη λόγω της μεσογειακής διατροφής, παρατηρήθηκε σε μια Ισπανική μελέτη, με 13380 φοιτητές ή αποφοίτους, ηλικίας 20-90 ετών χωρίς διαβήτη, στην αφετηρίας της μελέτης. Σε αυτή τη μελέτη, οι συμμετέχοντες που συμμορφώνοντας πιο πολύ με τη μεσογειακή διατροφή ($MDS>6$) είχαν 83% χαμηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν τη νόσο, μέσα στα επόμενα 4.4 χρόνια, συγκριτικά πάντα με τα άτομα που σημείωσαν τη χαμηλότερη συμμόρφωση ($MDS<3$) ($\Sigma K=0.17$, 95%ΔΕ: 0.04, 0.72) (Martinez-Gonzalez, de la Fuente-Arrillaga et al. 2008).

Διαφορές μεταξύ των μελετών

Οι προηγούμενες μελέτες είχαν ποικίλες μεθοδολογικές διαφορές, στις οποίες μπορεί να αποδοθεί και η ετερογένεια που υπήρχε στα αποτελέσματα.

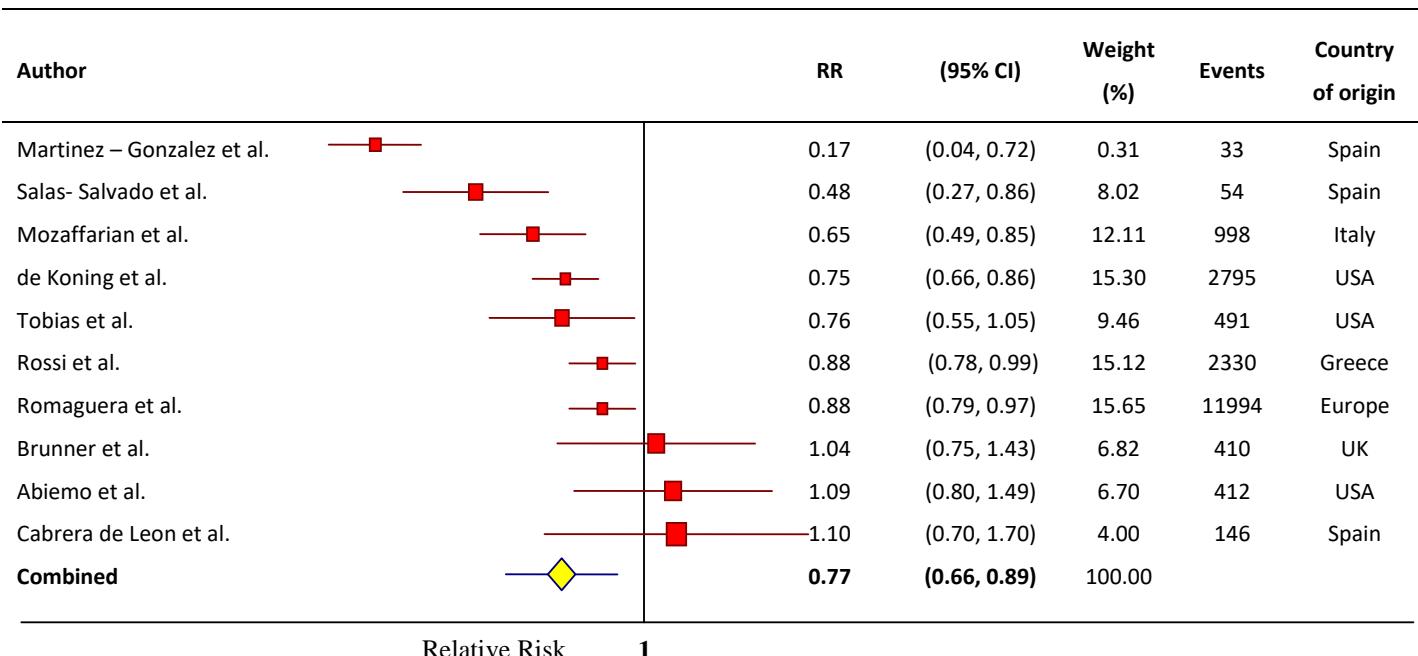
Η υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής αξιολογήθηκε με διαφορετικό τρόπο σε κάθε μελέτη. Στις περισσότερες μελέτες χρησιμοποιήθηκε κάποιο σκορ (a-priori), με εξαίρεση τη μελέτη του Salas Salvado και συνεργατών (Salas-Salvado, Bullo et al. 2011), όπου το σκορ χρησιμοποιήθηκε μόνο στην αξιολόγηση στην αφετηρία της μελέτης. Οι υπόλοιπες μελέτες χρησιμοποίησαν 5 διαφορετικά σκορ, τα οποία ήταν το MDS (Martinez-Gonzalez, de la Fuente-Arrillaga et al. 2008, Rossi, Turati et al. 2013), rMED (Romaguera, Guevara et al. 2011), aMED (de Koning, Chiuve et al. 2011, Tobias, Hu et al. 2012), MedDietScore (Panagiotakos, Milius et al. 2006) και ένα 15-βάθμιο ερωτηματολόγιο (Mozaffarian, Marfisi et al. 2007)

Τα φρούτα, τα λαχανικά, το ελαιόλαδο και η πρόσληψη ψαριού ήταν συνιστώσες κάθε σκορ. Τα δημητριακά, οι ξηροί καρποί και τα όσπρια υπήρχαν στα περισσότερα σκορ, με εξαίρεση μία μελέτη (Mozaffarian, Marfisi et al. 2007). Η ποιότητα του λίπος αξιολογήθηκε με διαφορετικό τρόπο: μέσα από το κρέας, τα γαλακτοκομικά και το ελαιόλαδο ή υπολογίστηκε ως λόγος μονοακόρεστων /κορεσμένων λιπαρών οξέων. Η συχνότητα (μερίδες/ημέρα ή εβδομάδα) ή/και η ποσότητα (γραμμάρια) χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί η καταναλισκόμενη μερίδα. Επιπλέον, για τις προοπτικές μελέτες η διάρκεια του επανελέγχου κυμαινόταν από 3.5 έως 14 χρόνια. Οι συγχυτικοί παράγοντες που λήφθηκαν υπόψη σε κάθε μελέτη δεν ήταν ίδιοι, αλλά οι περισσότεροι ήταν οι κλασικοί παράγοντες, όπως το φύλο, η ηλικίας, ο ΔΜΣ, η φυσική δραστηριότητα, το

κάπνισμα, το κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο. Ένα άλλο ενδιαφέρον σχόλιο είναι το ότι περισσότερες μελέτες έχουν διεξαχθεί σε μεσογειακούς πληθυσμούς, υποδεικνύοντας ότι οι διατροφικές συνήθειες ενός πληθυσμού είναι σε θέση να διαμορφώσου, ή έστω να επηρεάσουν σε ένα βαθμό, τις ερευνητικές υποθέσεις.

➤ Μεταναλύσεις

Η πρώτη συστηματική προσπάθεια να αξιολογηθεί ο ρόλος της μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη διαβήτη έγινε από την Κολοβέρου και συνεργάτες το 2014. Η συνδυαστική επίδραση των προαναφερθεισών μελετών, μαζί με ακόμα 3 μελέτες, οι οποίες δεν βρήκαν στατιστικά σημαντικές σχέσεις (Brunner, Mosdol et al. 2008, de Leon, Coello et al. 2011, Abiemo, Alonso et al. 2013) βρέθηκε προστατευτική. Πιο συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι η μεγαλύτερη προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή επιφέρει 23% μείωση του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη ($S\!K=0.77$, 95%CI: 0.66, 0.89), ανεξάρτητα από την περιοχή και το επίπεδο στάθμισης για συγχυτικούς παράγοντες. Το όφελος βρέθηκε μεγαλύτερο για άτομα υψηλού κινδύνου, και πιο συγκεκριμένα γυναίκες με ιστορικό διαβήτη κύησης ή άτομα υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακό νόσημα, σύμφωνα με τη meta-regression που ακολούθησε (Koloverou, Esposito et al. 2014).



Γράφημα 6. Δενδρόγραμμα των προοπτικών μελετών που αξιολόγησαν την επίδραση της μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη ΣΔτ2

Πίνακας 6. Συνοπτική περιγραφή του ρόλου διατροφικών συστατικών, ομάδων τροφίμων και διατροφικών προτύπων στην ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη (Salas-Salvado, Martinez-Gonzalez et al. 2011)

	Αυξάνουν τον κίνδυνο	Μειώνουν τον κίνδυνο
Διατροφικά συστατικά	<ul style="list-style-type: none"> – Κορεσμένα λιπαρά οξέα * – Trans λιπαρά οξέα * 	<ul style="list-style-type: none"> – Διαιτητικές ίνες** – Ακόρεστα λιπαρά οξέα** – Αντιοξειδωτικά* – Μαγνήσιο*
Τρόφιμα και ομάδες τροφίμων	<ul style="list-style-type: none"> – Αφεψήματα με ζάχαρη, χυμοί φρούτων** – κρέας και επεξεργασμένο κρέας** – Υδρογονωμένα λιπαρά και μαργαρίνες* – Αυγά* 	<ul style="list-style-type: none"> – Δημητριακά ολικής άλεσης** – Καφές και τσάι** – Χαμηλών λιπαρών γάλα και γαλακτοκομικά* – Μέτρια κατανάλωση αλκοόλ* – Φρούτα και λαχανικά – Μυρωδικά* – Ξηροί καρποί (γυναίκες)* – Whole grains** – Coffee and tea*
Πρότυπα διατροφής	<ul style="list-style-type: none"> – Υψηλού γλυκαιμικού δείκτη δίαιτες** – Δυτικού τύπου δίαιτες** 	<ul style="list-style-type: none"> – Χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη δίαιτες* – Μεσογειακή διατροφή *** – Χαμηλού λίπος "συνετό" πρότυπο διατροφής***

***Υψηλού επιπέδου ενδείξεις από πλήθος προσπτικών μελετών και τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών

**Μετρίου επιπέδου ενδείξεις από πλήθος προσπτικών μελετών ή μετανάλυση

*Ορισμένες ενδείξεις από κάποιες προσπτικές μελέτες ή γνώμες ειδικών

1.4.2 Μηχανισμοί προστασίας της Μεσογειακής Διατροφής

Πολλοί μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν την προστατευτική δράση που φαίνεται να ασκεί η μεσογειακή διατροφή ενάντια στην εμφάνιση διαβήτη, καθώς πολλά μικρο-και μακροσυστατικά και τρόφιμα έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση της νόσου. Ακολουθεί αναφορά στους προτεινόμενους μηχανισμούς:

➤ Αντιφλεγμονώδης δράση

Η χρόνια υποκλινική φλεγμονή έχει αναγνωριστεί ως κοινό υπόστρωμα πολλών χρόνιων μεταβολικών παθήσεων, όπως ο διαβήτης (Donath and Shoelson 2011), γι' αυτό και στρατηγικές καταπολέμησης της φλεγμονώδους διεργασίας έχουν ήδη προταθεί για την πρόληψη και θεραπεία του. Πρόσφατη μετανάλυση κατέληξε ότι υπάρχει ισχυρή θετική

συσχέτιση ανάμεσα σε αυξημένες τιμές C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και την επίπτωση του διαβήτη (Wang, Bao et al. 2013).

Είναι συνάμα λογικό ότι η Μεσογειακή διατροφή, ένα διατροφικό πρότυπο πλούσιο σε αντιφλεγμονώδη συστατικά (π.χ. ω3 λιπαρά οξέα, βιταμίνες C, E, D, πολυφαινόλες) και φτωχό σε προ-φλεγμονώδη συστατικά (κορεσμένα και trans λιπαρά οξέα) (Kontogianni, Zampelas et al. 2006), μπορεί να δρα προστατευτικά στην ανάπτυξη διαβήτη και μέσω αυτού του μηχανισμού. Πράγματι, η Χρυσοχόου και συνεργάτες, μελετώντας συγχρονικά δείγμα 3042 ατόμων χωρίς καρδιαγγειακή νόσο, βρήκαν ότι η προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή συσχετίζεται αρνητικά με τη συγκέντρωση C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), Ιντερλευκίνης-6 (IL-6), ομοκυστεΐνης και ινωδιογόνου, ενώ σε στατιστικά οριακό επίπεδο με τη συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF- α) (Chrysohoou, Panagiotakos et al. 2004). Προοπτικά, έχει φανεί ότι ακολουθώντας τη μεσογειακή διατροφή για 2 έτη επιτυγχάνεται μείωση της CRP και της ιντερλευκίνη-18 (IL-18) (Esposito, Marfella et al. 2004). Στα πλαίσια της μελέτης PREDIMED, μάλιστα, παρατηρήθηκε πολύ σύντομα όφελος από την προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή. Πιο συγκεκριμένα, οι δύο διαφορετικού τύπου μεσογειακές διατροφές που χορηγήθηκαν (με ελαιόλαδο ή ξηρούς καρπούς), μείωσαν σε μόλις 3 μήνες στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα της CRP σε σχέση με τη δίαιτα χαμηλού λίπους (Estruch, Martinez-Gonzalez et al. 2006).

➤ Αντιοξειδωτική δράση

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός εμπλέκει τα αντιοξειδωτικά, στα οποία η μεσογειακή διατροφή είναι άφθονη. Άτομα με διαβήτη έχουν υψηλότερα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες, καθώς επίσης και ένα έλλειμμα στους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (Rani and Mythili 2014). Έχει υποστηριχθεί ότι η ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και η δυσλειτουργία των β-κυττάρων ίσως να μεσολαβείται από το οξειδωτικό στρες (Evans, Goldfine et al. 2003). Επίσης ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι τα β-κύτταρα του παγκρέατος σε σχέση με άλλους ιστούς είναι πιο επιφρεπή στο οξειδωτικό στρες, καθώς έχουν λιγότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) (Grankvist, Marklund et al. 1981, Lenzen, Drinkgern et al. 1996). Επίσης, η υπεργλυκαιμία επάγει με τη σειρά της επιπρόσθετα τη δημιουργία ελευθέρων ριζών, οδηγώντας σε αυξημένο οξειδωτικό στρες

στα β-κύτταρα (Rehman, Nourooz-Zadeh et al. 1999). Εξαιτίας της ικανότητας των β-κυττάρων να καταστρέφουν και να οξειδώνουν κατευθείαν το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια, καθώς επίσης να ενεργοποιούν πολλά κυτταρικά μονοπάτια, που συνδέονται με την έκκριση και δράση της ινσουλίνης, η εξέλιξη της νόσου καθώς και η διαχείρισή της επιδεινώνονται (Evans, Goldfine et al. 2003). Όλα αυτά έχουν οδηγήσει στην υπόθεση ότι το αντιοξειδωτικό προφίλ μιας διατροφής ίσως είναι το σημείο-κλειδί της προστασίας που προσφέρει. Μια μετανάλυση 9 προοπτικών μελετών έδειξε 13% μείωση του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη ($\Sigma K=0.87$, 95%ΔΕ: 0.79, 0.98) για το υψηλότερο σε σχέση με το χαμηλότερο επίπεδο πρόσληψης αντιοξειδωτικών, που αποδόθηκε κυρίως στη βιταμίνη E (Hamer and Chida 2007).

Πέρα από την πρόσληψη αντιοξειδωτικών, η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα, δηλαδή η συνδυαστική δράση όλων των αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο πλάσμα και τα σωματικά υγρά, έχει μελετηθεί και θεωρείται καλύτερος δείκτης σε σχέση με την πρόσληψη αντιοξειδωτικών μέσω της διατροφής. Πιο συγκεκριμένα, σε τυχαίο δείγμα 1018 φαινομενικά υγιών ατόμων από τη μελέτη ATTICΗ, διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και γλυκαιμικών δείκτων. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αποτιμήθηκε με 3 διαφορετικές μεθόδους i) τη μέθοδο μέτρησης της αντιοξειδωτικής ισχύος με αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου (Ferric Reducing Activity Power, FRAP), ii) την αντιοξειδωτική ικανότητα βασισμένη σε ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC) και iii) το συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου (Total Radical Trapping Antioxidant Potential, TRAP). Αντίστροφη συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της τιμής FRAP και των λογαρίθμου της γλυκόζης ($r=-0.149$, $p=0.001$), της ινσουλίνης ($r=-0.221$, $p=0.001$) και του δείκτη HOMA-IR ($r=-0.186$, $p=0.001$), ενώ αντίστοιχες ήταν οι συσχετίσεις και τους άλλους δύο δείκτες (Psaltopoulou, Panagiotakos et al. 2011). Η μεσογειακή διατροφή, άφθονη σε αντιοξειδωτικά συστατικά, έχει μελετηθεί σε σχέση με δείκτες οξειδωτικού στρες. Σε τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή 192 υπέρβαρων ανδρών η προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή για 2 συναπτά έτη, ανεξάρτητα από την ενεργειακή πρόσληψη, έχει συσχετιστεί με σημαντική βελτίωση μεταξύ άλλων των δεικτών οξειδωτικού στρες (Esposito, Di Palo et al. 2011). Επίσης, η επίδραση της μεσογειακής διατροφής στα μεταγευματικά επίπεδα οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας συγκρίθηκε με μία Δυτικού τύπου δίαιτα (υψηλή σε κορεσμένο λίπος) και μία χαμηλού λίπους/ υψηλών υδατανθράκων δίαιτα, εμπλουτισμένη σε ω3 λιπαρά οξέα, στο πλαίσιο μια

κλινικής δοκιμής, διασταυρούμενου σχεδιασμού, σε 25 ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες (κάθε δίαιτα για 4 εβδομάδες). 2 ώρες μετά την κατανάλωση των τροφίμων της μεσογειακής διατροφής παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση στην αντιδραστική υπεραιμία μετά από ισχαιμία (δείκτης της κατάστασης του αγγειακού συστήματος) και μεγαλύτερη μείωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), της νιτροτυροσίνης, της οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας σε χοληστερόλη (ox-LDL) και της δραστηριότητας της καταλάσης στο πλάσμα ($p_s < 0.05$ για όλες τις συσχετίσεις) (Yubero-Serrano, Garcia-Rios et al. 2011). Τέλος, για να αποφευχθεί οποιαδήποτε συγχυτική επίδραση γονιδίων ή κοινών περιβαλλοντικών παραγόντων, σε μία καλά ελεγχόμενη μελέτη μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων, αξιολογήθηκε η επίδραση της μεσογειακής διατροφής στο λόγο ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG), που αποτελεί δείκτη οξειδωτικού στρες. Αύξηση κατά 1 μονάδα στο σκορ μεσογειακής διατροφής συσχετίστηκε με 7% υψηλότερο λόγο GSH/GSSG ($p=0.03$) κατόπιν στάθμισης για συγχυτικούς παράγοντες. Μεταξύ διδύμων, ο βαθμός μείωσης ανερχόταν στο 10%, χωρίς διαφοροποίηση μεταξύ μονο- και διζυγωτικών ζευγαριών (Dai, Jones et al. 2008).

➤ Υδατάνθρακες / Διαιτητικές ίνες

Τόσο η ποσότητα όσο και η ποιότητα των υδατανθράκων θεωρείται ότι διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο. Οι διαιτητικές ίνες, προερχόμενες κυρίως από την κατανάλωση σιτηρών, θεωρείται ότι συνεισφέρουν σημαντικά στο προστατευτικό όφελος της μεσογειακής διατροφής (Lau, Faerch et al. 2005, Liese, Schulz et al. 2005). Οι ευεργετικές τους ιδιότητες πιθανόν να προέρχονται από την υψηλή περιεκτικότητα του φλοιού των σιτηρών σε μαγνήσιο ή και από την καθυστερημένη γαστρική κένωση που προκαλούν, άρα την πιο ομαλή πέψη και απορρόφηση των υδατανθράκων. Το γεγονός αυτό με τη σειρά του μετριάζει τις απαιτήσεις από τα β-κύτταρα σε ινσουλίνη (Chandalia, Garg et al. 2000).

Ο γλυκαιμικός δείκτης και το γλυκαιμικό φορτίο των τροφίμων, δείκτες της ποιότητας ή/και ποσότητας των υδατανθράκων που περιέχουν, καθορίζουν ταυτόχρονα την ταχύτητα με την οποία ανεβαίνει το σάκχαρο αμέσως μετά την κατανάλωση του εκάστοτε τροφίμου, και ταυτόχρονα και τις απαιτήσεις σε ινσουλίνη, έχουν επίσης αξιολογηθεί ως μηχανισμός προστασίας. Πιο συγκεκριμένα, ένα γεύμα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη οδηγεί σε ταχεία αύξηση της γλυκόζης και ινσουλίνης, που σε μακροχρόνια βάση οδηγεί σε

υπερφόρτωση των β-κυττάρων και καταστροφή τους, οδηγώντας σε διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Αυτός ο θεωρητικός μηχανισμός επιβεβαιώθηκε από συστηματική ανασκόπηση το 2008, η οποία βρήκε ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης διαβήτη είναι 27% υψηλότερος για την ομάδα στο υψηλότερο vs. χαμηλότερο πεμπτημόριο γλυκαιμικού δείκτη ($\Sigma K=1.27$, 95%ΔΕ: 1.12, 1.45) (Barclay, Petocz et al. 2008). Αν και η μεσογειακή διατροφή και η χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη δίαιτα χρησιμοποιούνται συνήθως σαν διαφορετικά διαιτητικά σχήματα, προτείνεται ότι η μεσογειακή διατροφή μπορεί να θεωρηθεί ένα διατροφικό πρότυπο χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη και ίσως και χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου. Αν και οι πατάτες, τα φρούτα, τα όσπρια και τα δημητριακά, όλα υψηλά σε υδατάνθρακες, είναι στη βάση της μεσογειακής διατροφής, συνοδεύονται από ένα υψηλό φορτίο διαιτητικών ινών, το οποίο μειώνει το γλυκαιμικού φορτίο του γεύματος. Επιπλέον, το ελαιόλαδο και τα λαχανικά όχι επηρεάζουν ελάχιστα το γλυκαιμικού φορτίο αλλά επιπρόσθετα το μειώνουν, εξαιτίας στην περιεκτικότητά τους σε λιπαρά οξέα και διαιτητικές ίνες αντίστοιχα.

➤ **Λίπος**

Το διαιτητικό λίπος είχε πάντα κλινικό ενδιαφέρον εξαιτίας της επίδρασης του στο μεταβολισμό της γλυκόζης, καθώς φαίνεται ότι υπάρχει απευθείας σχέση ανάμεσα στα λιπαρά οξέα και τη δράση της ινσουλίνης. Σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση, το προφίλ κορεσμένου λίπους, όπως μετρήθηκε σε σκελετικούς μύες, και το οποίο αντανακλά υψηλότερη πρόσληψη κορεσμένου σε σχέση με ακόρεστο λίπος, προβλέπει την αντίσταση στην ινσουλίνη και την ανάπτυξη διαβήτη τύπου 2. Αντίστροφα, το προφίλ ω-6 λιπαρών οξέων ευνοεί τη δράση της ινσουλίνης, αν και καμία συσχέτιση δεν υπάρχει για τα ω-3 λιπαρά οξέα. Οι μελέτες που αξιολογούν την πρόσληψη διαιτητικού λίπους (ερωτηματολόγια, ημερολόγια καταγραφής κλπ) συμφωνούν με τα αποτελέσματα μελετών που έχουν χρησιμοποιήσει βιοχημικούς δείκτες ορού, δηλαδή έχουν δείξει αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην πρόσληψη ω-6 λιπαρών οξέων και την ανάπτυξη διαβήτη. Μάλιστα η μεγαλύτερη μείωση κινδύνου προκύπτει όταν γίνεται αντικατάσταση του κορεσμένου λίπους από ω-6 λιπαρά οξέα (Riserus, Willett et al. 2009). Η Μελέτη Υγείας των Νοσηλευτριών έχει και αυτή επιβεβαιώσει τη θετική σχέση ανάμεσα στην πρόσληψη trans λιπαρών οξέων και τον κίνδυνο για διαβήτη, με ξεκάθαρη δοσοεξαρτώμενη σχέση (Salmeron, Hu et al. 2001). Τέλος, η μελέτη PREDIMED αξιολόγησε τη διαφορετική επίδραση

μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFAs) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), με τη χρήση ελαιολάδου (πηγή MUFAs) ή ξηρών καρπών (πηγή MUFAs και PUFAs), στη ανάπτυξη διαβήτη, μεταξύ ατόμων υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι ερευνητές βρήκαν παρόμοια ευεργετική επίδραση, που υποδηλώνει ότι το ακόρεστο λίπος είναι προστατευτικό, όταν συγκριθεί με το κορεσμένο ή trans, ανεξάρτητα από το είδος του (Salas-Salvado, Bullo et al. 2011). Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι ακόμα πλήρως διευκρινισμένος, αν και φαίνεται ότι υπάρχει σχέση μεταξύ του διαιτητικού λίπους και της σύστασης των κυτταρικών μεμβρανών σε φωσφολιπίδια, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει τη λειτουργία τους, δηλαδή, τη μεμβρανική διαπερατότητα, τη συγγένεια/ δέσμευση του υποδοχέα της ινσουλίνης και την ικανότητα να επιτρέπει τη διαπερατότητα ιόντων και την κυτταρική σηματοδότηση (Schroder 2007). Πιο πρόσφατα πειραματικά δεδομένα δείχνουν και προς άλλες κατευθύνσεις, όπως η έκφραση γονιδίων και η ρύθμιση της ενζυμικής δραστηριότητας από ελεύθερα λιπαρά οξέα. Για παράδειγμα, τα PUFAs (λινελαϊκό οξύ και ω-3 λιπαρά οξέα) έχει φανεί ότι καταστέλλουν την έκφραση γονιδίων που προάγουν τη λιπογένεση και ενεργοποιούν τον οξειδωτικό μεταβολισμό. Από την άλλη πλευρά τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα το παλμιτικό οξύ, έχουν δυσμενή επίδραση (Clarke 2004, Staiger, Staiger et al. 2005). Τέλος, πειραματικές μελέτες αναφέρουν ότι η σηματοδότηση του ανάλογου των Toll υποδοχέα (Toll-Like Receptor, TLR), που αποτελεί διαμεσολαβητή-κλειδί μεταξύ της αντίστασης στην ινσουλίνη και της χρόνιας φλεγμονής, καθορίζεται από τον τύπο των λιπαρών οξέων (π.χ. ξεκινάει από το κορεσμένο λαουρικό οξύ) (Kim 2006).

➤ Αλκοόλ

Η μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται ακόμα και από μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, ιδιαίτερα μαζί με τα γεύματα. Όπως προαναφέρθηκε, από πρόσφατη μετανάλυση 20 προοπτικών μελετών, που ανέδειξε μία σχέση σχήματος U μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται ότι δρα προστατευτικά ενάντια στην ανάπτυξη διαβήτη (Baliunas, Taylor et al. 2009). Ο μηχανισμός πίσω από αυτό το εύρημα έγκειται στη μειωμένη βασική έκκριση ινσουλίνης και γλυκαγόνης πλάσματος (Konrat, Mennen et al. 2002, Bonnet, Disse et al. 2012) και τη βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη (Bonnet, Disse et al. 2012), που μπορεί να αποδοθεί σε αλλαγές στη ενδοκρινική λειτουργία του λιπώδους ιστού, σε μονοπάτια φλεγμονής ή στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπαρών οξέων. Η μελέτη ATTIKH έχει συσχετίσει τη

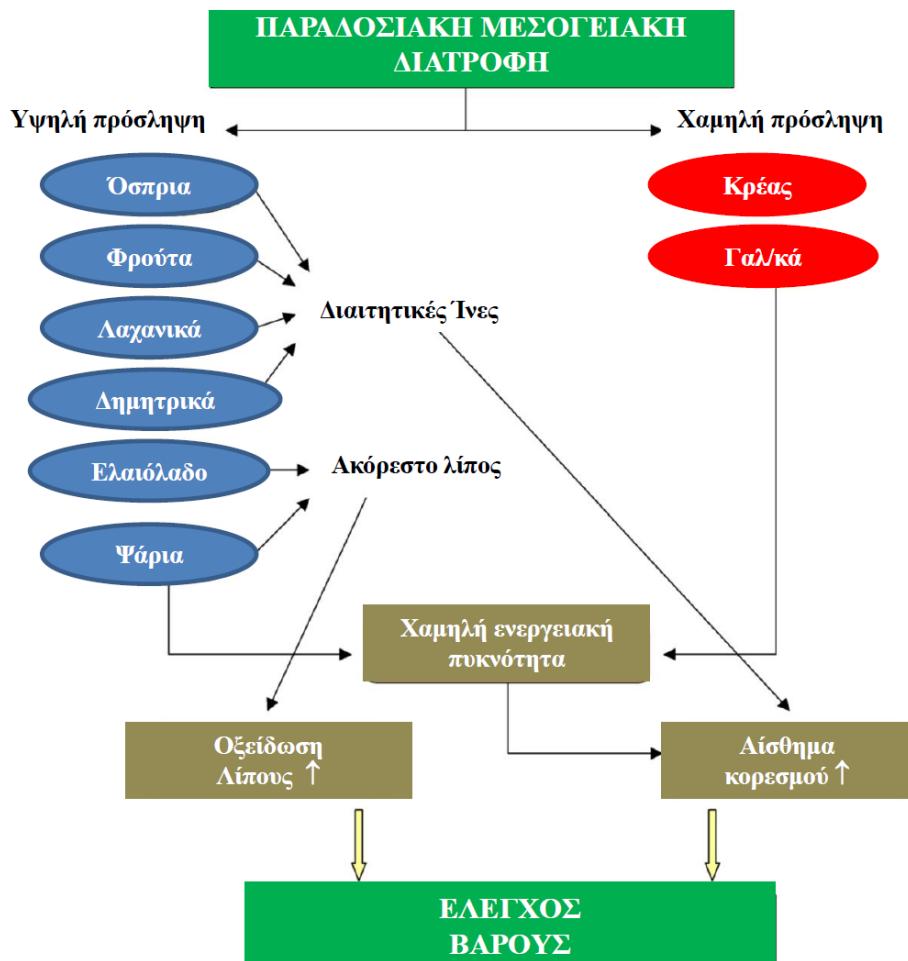
μέτρια πρόσληψη αλκοόλ (1-2 μερίδες/ ημέρα) με χαμηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων και CRP και υψηλότερες τιμές HDL-χοληστερόλης (Chrysanthou, Panagiotakos et al. 2003). Χαμηλότερος λόγο τριγλυκεριδίων/HDL έχει αναφερθεί και από άλλη μελέτη (Shimomura and Wakabayashi 2013) καθώς και αύξηση της αντιπονεκτίνης, ορμόνης με αντιφλεγμονώδη δράση, που προάγει την ινσουλινοευαισθησία (Beulens, van der Schouw et al. 2013). Επίσης, ένα νέος δείκτης, η φετουίνη-Α πλάσματος, μια γλυκοπρωτεΐνη που απελευθερώνεται από το ήπαρ και αναστέλλει τη δραστηριότητα της τυροσινικής κινάσης του υποδοχέα της ινσουλίνης επηρεάζοντας τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης, έχει βρεθεί ότι μειώνεται από τη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (Ley, Sun et al. 2014). Η αιθανόλη μπορεί να εξασθενήσει τη θετική συσχέτιση μεταξύ του γλυκαιμικού δείκτη ή του γλυκαιμικού φορτίου και του διαβήτη, όταν η κατανάλωση αλκοόλ υπερβαίνει τα 15γ/ημέρα (Mekary, Rimm et al. 2011). Τέλος, η βελτίωση της αρτηριακής πίεσης έχει επίσης προταθεί ως πιθανός μηχανισμός πίσω από την αντιδιαβητική προστασία της διατροφής. Όσον αφορά τον τύπο του αλκοολούχου ποτού, το κρασί έχει βρεθεί να παρέχει τη μεγαλύτερη προστασία, πιθανά λόγω της περιεκτικότητάς του σε αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές πολυφαινόλες, ιδιαίτερα ρεσβερατρόλη, που έχει φανεί ότι βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Liu, Zhou et al. 2014).

➤ **Μαγνήσιο**

Πολλά μακροσυστατικά και μικροσυστατικά της μεσογειακής διατροφής έχουν μελετηθεί σε σχέση με την ανάπτυξη διαβήτη ή αντίστασης στην ινσουλίνη. Το μαγνήσιο είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό μικροστοιχείο. Έχει υποστηριχθεί ότι μειωμένη ενδοκυττάρια ενζυμική δραστηριότητα, εξαιτίας της έλλειψης μαγνησίου, μπορεί να οδηγήσει σε αντίσταση στην ινσουλίνη (Barbagallo, Dominguez et al. 2003). Η συγκέντρωση εξωκυττάριου μαγνησίου είναι επίσης σημαντική ώστε να αποφευχθεί αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, το οποίο μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω την αντίσταση στην ινσουλίνη (McCarty 2006). Η κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε μαγνήσιο, όπως τα λαχανικά, οι ξηροί καρποί, τα όσπρια, άφθονα στη μεσογειακή διατροφή, μπορούν να προλάβουν μια έλλειψη μαγνησίου. Πράγματι, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η μεσογειακή διατροφή συνεισφέρει σημαντικά στην αύξηση του μαγνησίου ορού σε ομάδα ατόμων με στεφανιαία νόσο (Bahreini, Gharipour et al. 2013).

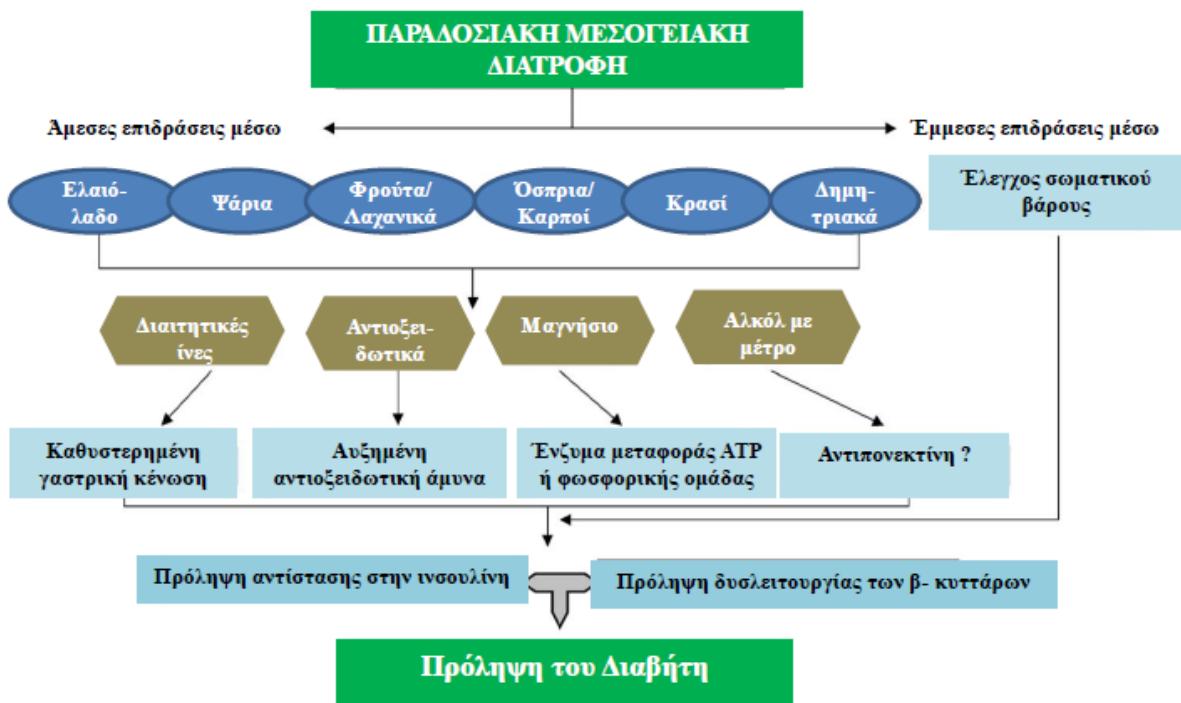
➤ Διαχείριση βάρους

Καταρχάς, έχει προταθεί ότι η μεσογειακή διατροφή μπορεί να αντιδιαβητική προστασία, μέσω της συνεισφοράς της στον έλεγχο του βάρους (Schroder, Marrugat et al. 2004), που είναι ιδιαίτερα σημαντικό, λαμβάνοντας υπόψη ότι η σπλαγχνική παχυσαρκία είναι, όπως προαναφέρθηκε, σημαντικός παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και διαβήτη (Hu, Manson et al. 2001). Η κοιλιακή παχυσαρκία οδηγεί σε απελευθέρωση μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων, αναστέλλοντας την εξαρτώμενη από την ινσουλίνη πρόσληψη γλυκόζης από τους σκελετικούς μύες και επάγοντας τη γλυκονεογένεση στο ήπαρ, που επιβαρύνει τον ηπατικό μεταβολισμό. Επιπλέον, η απώλεια βάρους σχετίζεται με μείωση των αντιποκινών (Ko, Park et al. 2014), μορίων που δυσχεραίνουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης (Schroder 2007). Η προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή προάγει την απώλεια βάρους, ρυθμίζοντας την πρόσληψη τροφής, λόγω μεγαλύτερου κορεσμού εξαιτίας των διαιτητικών ινών (Howarth, Saltzman et al. 2001) και καλύτερης οξείδωσης του λίπους λόγω υψηλότερου λόγου ακόρεστων/κορεσμένων λιπαρών οξέων, όπως περιγράφηκε και παραπάνω (DeLany, Windhauser et al. 2000).



Εικόνα 4. Γραφική απεικόνιση του μηχανισμού ελέγχου του σωματικού βάρους (Υιοθέτηση από το (Schroder 2007)

Με εξαίρεση τον τελευταίο μηχανισμό, την απώλεια βάρους, η οποία μπορεί να επιτευχθεί με ποικίλα διαιτητικά σχήματα, οι υπόλοιποι μηχανισμοί, που εμπλέκουν το αντιφλεγμονώδες και αντιοξειδωτικό προφίλ, την υψηλή πρόσληψη διαιτητικών ινών, το μαγνήσιο, το λόγο ακόρεστων/ κορεσμένων λιπαρών οξέων, τη ρεσβερατρόλη κλπ μπορούν δύσκολα να συνδυαστούν σε κάποιο άλλο από τα γνωστά διατροφικά πρότυπα. Για παράδειγμα, μία δίαιτα χαμηλού λίπους θα μπορούσε να είναι χαμηλή σε ψάρια, ξηρούς καρπούς και ελαιόλαδο, ενώ μία δίαιτα χαμηλών υδατανθράκων θα μπορούσε να είναι ιδιαίτερα φτωχή σε φρούτα, γαλακτοκομικά και όσπρια. Γι' αυτό το λόγο η μεσογειακή διατροφή θεωρείται ένα σπάνια διατροφικό σχήμα με πλειοτροπικές ευεργετικές δράσεις.



Εικόνα 5. Μηχανισμοί που συνδέουν τη μεσογειακή διατροφή με χαμηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη ΣΔτ2 (Schroder 2007)

2. ΣΚΟΠΟΣ

Στόχοι της παρούσας διατριβής ήταν:

1. η αποτίμηση της 10-ετούς επίπτωσης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε επαρκές, αντιπροσωπευτικό και τυχαία επιλεγμένο δείγμα του ενήλικου αστικού ελληνικού πληθυσμού
 - και η μελέτη της επίδρασης διαφόρων κοινωνικο-οικονομικών, συμπεριφοριστικών, διατροφικών, κλινικών και βιοχημικών παραμέτρων στην ανάπτυξη αυτού
2. η μελέτη της επίδρασης της προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή (εκ-των προτέρων διατροφικό πρότυπο) στη 10ετή επίπτωση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.
3. η ανάδειξη εκ-των υστέρων αποτιμούμενων διατροφικών προτύπων και η επίδρασή τους στη 10ετή επίπτωση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Σχεδιασμός της μελέτης

Η μελέτη «ATTIKH» είναι μία προοπτική μελέτη παρατήρησης με 10-ετή περίοδο παρακολούθησης (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003).

3.2 Το δείγμα της μελέτης

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε για το σκοπό της παρούσας εργασίας είναι οι συμμετέχοντες της μελέτης ATTIKH που συμμετείχαν στο 10-ετή επανέλεγχο. Η μελέτη ATTIKH είναι η πρώτη επιδημιολογική μελέτη καταγραφής του επιπολασμού των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου στον ελληνικό πληθυσμό και πραγματοποιήθηκε από την Α' Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Η αρχική φάση της συλλογής και αξιολόγησης του δείγματος έλαβε χώρα κατά τα έτη 2001-2002 (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003), ενώ η 10-ετής παρακολούθηση ολοκληρώθηκε το 2012 (Panagiotakos, Georgousopoulou et al. 2014).

Η αρχική συλλογή του δείγματος της μελέτης ATTIKH πραγματοποιήθηκε στη ευρύτερη περιοχή του νομού Αττικής (78% αστικές και 22% αγροτικές περιοχές) τα έτη 2001-2002. Βασικοί στόχοι ήταν η καταγραφή της κατανομής των διάφορων κλινικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε δείγμα ενήλικων ανδρών και γυναικών, να εξετάσει τις συσχετίσεις αυτών των παραγόντων με κοινωνικο-οικονομικές και ψυχολογικές παραμέτρους, καθώς και με χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής και τέλος, να αξιολογήσει την προγνωστική τους αξία στην επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου μέσα από περιοδικές επαναξιολογήσεις της κατάστασης υγείας του δείγματος έπειτα από 5 και 10 έτη.

Η δειγματοληψία ήταν τυχαία και διαστρωματοποιημένη ανά πόλη (με βάση τον πληθυσμό των Δήμων και Κοινοτήτων της Υπερνομαρχίας Αττικής, καθώς επίσης και των νομαρχιών Ανατολικής και Δυτικής Αττικής), ηλικιακή κατηγορία και φύλο. Με βάση την πληθυσμιακή στρωματοποίηση της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδος (Ε.Σ.Υ.Ε.) δημιουργήθηκαν «χάρτες» ανά περιοχή μελέτης, έτσι ώστε να προσδιορίζεται επακριβώς ο πληθυσμός-στόχος. Η συνεισφορά των ευρύτερων περιοχών της ATTIKH στο τελικό δείγμα της μελέτης ήταν η εξής:

- Δήμος Αθηναίων (20%),
- Δήμος Πειραιώς (8%),
- Ευρύτερη περιφέρεια πρωτεύουσας (41%),

- «Υπόλοιπο» ΑΤΤΙΚΗΣ (29%) και
- Νήσοι Σαρωνικού (2%).

Στο δείγμα συμπεριλήφθηκαν άτομα αστικών, ημιαστικών και αγροτικών περιοχών.

Καθώς στην Αττική διαβιεί περίπου το 40% του πληθυσμού ολόκληρης της χώρας, τα αποτελέσματα και επαγόμενα συμπεράσματα από τη μελέτη -και με δεδομένη την αντιπροσώπευση στο δείγμα και ημιαστικών και αγροτικών περιοχών- δύνανται να θεωρούνται γενικεύσιμα για όλη την ηπειρωτική Ελλάδα, το δε δείγμα αντιπροσωπευτικό αφού παρατηρήθηκαν ελάσσονες μόνο, μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ως προς την κατανομή του φύλου και της ηλικίας ανάμεσα στο δείγμα και στον ελληνικό πληθυσμό. Μετά τον ορισμό των περιοχών, ο σχεδιασμός απαιτούσε την τυχαία επιλογή εργασιακών χώρων -δημόσιων και ιδιωτικών-, κέντρων συγκέντρωσης ηλικιωμένων καθώς και δημοτικών χώρων. Κατόπιν, διενεργείτο τυχαία επιλογή ατόμων (με την μέθοδο της δυαδικής ακολουθίας τυχαίων αριθμών 100011010101..., όπου 1=ένταξη στην μελέτη, 0=μη ένταξη στην μελέτη), από τις λίστες που είχαν δημιουργηθεί για κάθε χώρο. Με τον τρόπο αυτό, επιτεύχθηκε ελαχιστοποίηση του σφάλματος επιλογής. Το πρωτόκολλο προέβλεπε ακόμα, την επιλογή ενός ατόμου ανά οικογένεια, οικοδομικό συγκρότημα και τετράγωνο.

Κριτήρια ένταξης στη μελέτη ήταν η διαβίωση του ατόμου στο νομό Αττικής και η ηλικία του, που έπρεπε να είναι τουλάχιστον 18 ετών. Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη ήταν το ατομικό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου, καθώς και η παρουσία άλλης χρόνια νόσου. Τα άτομα έπρεπε επίσης να μην έχουν πρόσφατη οξεία νόσο, όπως κοινό κρυολόγημα, οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού, οδοντιατρικά προβλήματα που προκαλούν φλεγμονή, να μην έχουν υποστεί οποιαδήποτε μείζονα χειρουργική επέμβαση ή ελάσσονα χειρουργική πράξη, μία εβδομάδα προ της έναρξης της μελέτης.

Με βάση τα παραπάνω κριτήρια, ερωτήθηκαν για τη συμμετοχή τους αρχικά 4,056 άτομα με τυχαία δειγματοληψία, αλλά πάντα με βάση τα στοιχεία της απογραφής του 2001 για την αναλογία ανδρών και γυναικών στον ελληνικό πληθυσμό, καθώς και το ποσοστό συμμετοχής ανά ηλικιακή ομάδα. Από τους 4,056 οι 3,042 δέχτηκαν να συμμετάσχουν (75% ποσοστό συμμετοχής). Από τους 3,042, οι άνδρες ήταν 1,514 (49.8%) και το ηλικιακό τους εύρος ήταν 18-87 έτη, ενώ οι υπόλοιπες 1,528 (50.2%) ήταν γυναίκες, με ηλικιακό εύρος 18-89 έτη.

Πραγματοποιήθηκαν δύο επαναξιολογήσεις των συμμετεχόντων της μελέτη από τους ερευνητές. Η πρώτη έγινε μετά από 5 έτη, το 2006, σε 2,101 άτομα (70% ποσοστό

συμμετοχής) και καταγράφηκε η εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου από το ιατρικό προσωπικό της μελέτης. Κατά τα έτη 2011-12 πραγματοποιήθηκε ο 10-ετής επανέλεγχο (διάμεσος χρόνος παρακολούθησης 8.4 έτη).

Στο 10-ετή επανέλεγχο συμμετείχαν 2,583 από τους 3,042 εθελοντές της μελέτης (85% ποσοστό συμμετοχής). Από τα 459 άτομα που χάθηκαν στη δεκαετία, οι 224 χάθηκαν λόγω λανθασμένων ή άκυρων στοιχείων επικοινωνίας, και οι 235 αρνήθηκαν τη συμμετοχή τους. Αφού αποκλείστηκαν περαιτέρω τα $n=210$ άτομα με σακχαρώδη διαβήτη στην αφετηρία της μελέτης και $n=888$ άτομα για τα οποία δεν υπήρχε πληροφορία για την ύπαρξη ή όχι διαβήτη στη 10ετία, καταλήξαμε σε 1485 συμμετέχοντες, οι οποίοι αποτέλεσαν και το τελικό δείγμα της παρούσας εργασίας. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των $n=1485$ ατόμων, και των $n=1347$ ατόμων για τα οποία δεν υπήρχαν στοιχεία για την ύπαρξη διαβήτη στο δεκαετή επανέλεγχο, οπότε και αποκλείστηκαν από τις αναλύσεις, διαπιστώθηκαν για την ηλικία (43 ± 13 vs. 45 ± 13 ετών, $p<0.001$), το ποσοστό υπερτασικών (30% vs. 26%, $p=0.036$), το ποσοστό καπνιζόντων (58% vs. 54%, $p=0.028$), τη γλυκόζη νηστείας (88 ± 12 vs. 80 ± 13 , $p=0.005$) και την ινσουλίνη νηστείας (12 ± 3.0 , $13\pm3.4\mu\text{U}/\text{ml}$, $p=0.014$). Δεν υπήρχαν διαφορές ως προς το φύλο, τα έτη εκπαίδευσης, την υπερχοληστερολαιμία, το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, τη φυσική δραστηριότητα, την ύπαρξη μεταβολικού συνδρόμου, το ΔΜΣ και την ενεργειακή πρόσληψη ($p_s>0.05$).

3.3 Βιοηθική

Όλα τα άτομα ενημερώθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης και έδωσαν την έγκριση τους για την συμμετοχή. Η μελέτη είχε επιπλέον την έγκριση της Επιστημονικής Επιτροπής της Α' Καρδιολογικής Κλινικής, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, πληρώντας τις προϋποθέσεις της διακήρυξης του Ελσίνκι (World Medical Association 2000).

3.4 Μετρήσιμα χαρακτηριστικά

Αξιολόγηση κοινωνικο-δημογραφικών χαρακτηριστικών.

Το φύλο των ατόμων καταγράφηκε από τους ερευνητές πεδίου στο ερωτηματολόγιο που συμπλήρωναν οι εθελοντές, ενώ καταγράφηκε και η ακριβής ημερομηνία γέννησής τους, από την οποία υπολογίστηκε η τρέχουσα ηλικία των εθελοντών. Τα άτομα ερωτήθηκαν από τους εκπαίδευμένους ερευνητές τα έτη σπουδών τους (6 για το δημοτικό,

3 για το γυμνάσιο, 3 για το λύκειο, 2-4 για την ανώτερη και ανώτατη βαθμίδα εκπαίδευσης, 1-2 για μεταπτυχιακή εξειδίκευση και 3 για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής).

Κλινική Αξιολόγηση

➤ Μέτρηση Αρτηριακής Πίεσης

Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε στο τέλος της φυσικής εξέτασης κι αφού ο εξεταζόμενος βρισκόταν σε καθιστή θέση τουλάχιστον για 30 λεπτά. Λαμβανόταν από καρδιολόγο, τρεις φορές στο δεξί χέρι, -το οποίο έπρεπε να είναι χαλαρό και καλά υποστηριζόμενο από τραπέζι- σε γωνία 45ο από τον κορμό (με τη χρήση σφυγμομανομέτρου ELKA, της γερμανικής εταιρείας Von Schlieben Co). Αν για κάποιο λόγο, η μέτρηση γινόταν στο άλλο χέρι, αυτό σημειωνόταν στην κάρτα-ερωτηματολόγιο του ατόμου. Επίσης, σημειωνόταν τυχόν διαφορά στην ψηλάφηση του σφυγμού στις κερκιδικές αρτηρίες των δύο χεριών, οπότε σ' αυτήν την περίπτωση, η αρτηριακή πίεση μετριόταν και στα δύο άκρα. Ο χρόνος που μεσολαβούσε μεταξύ των μετρήσεων ήταν ακριβώς όσος απαιτούνταν για την καταγραφή της προηγούμενης μέτρησης και το πλήρες ξεφούσκωμα της περιχειρίδας. Προ της μέτρησης της αρτηριακής πιέσεως ελεγχόταν ότι η στήλη υδραργύρου ήταν στο 0 mmHg της κλίμακας, όταν η περιχειρίδα ήταν εντελώς ξεφουσκωμένη. Το επίπεδο της συστολικής αρτηριακής πίεσης καθορίζόταν από τον πρώτο ήχο καλής ακουστικής ποιότητας, ενώ η διαστολική πίεση από την πλήρη εξαφάνιση των επαναλαμβανόμενων ήχων (φάση V). Άλλαγές στην ένταση των ήχων δεν αξιολογήθηκαν. Τα άτομα με μέσα επίπεδα αρτηριακής πιέσεως ίσα ή μεγαλύτερα των 140/90 mmHg καθώς και εκείνοι υπό αντι-υπερτασική φαρμακευτική αγωγή καταγράφηκαν ως υπερτασικοί.

Αξιολόγηση τρόπου ζωής

Τα άτομα ρωτήθηκαν αρχικά αν κάπνιζαν τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Όσοι απάντησαν όχι, ερωτήθηκαν αν διέκοψαν το κάπνισμα τον τελευταίο χρόνο. Όσοι απάντησαν αρνητικά καταγράφηκαν ως μη καπνιστές. Όσοι απάντησαν καταφατικά, ρωτήθηκαν στη συνέχεια πόσα τσιγάρα κάπνιζαν κατά μέσο όρο ημερησίως, πόσα χρόνια κάπνισαν και αν έχουν διακόψει ποτέ το κάπνισμα. Καπνιστές ορίστηκαν τα άτομα που

κάπνιζαν τουλάχιστον ένα τσιγάρο ανά ημέρα τον τελευταίο χρόνο, καθώς και τα άτομα που διέκοψαν το κάπνισμα το τελευταίο έτος.

Για την αξιολόγηση του επιπέδου σωματικής δραστηριότητας χρησιμοποιήθηκε το διεθνές ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας International Physical Activity Questionnaire (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009). Η σύντομη εκδοχή του IPAQ (7 ερωτήσεων) που χρησιμοποιήθηκε παρέχει πληροφορίες σχετικά με τον εβδομαδιαίο χρόνο που δαπανά το άτομα σε περπάτημα, έντονης ένταση, μέτριας έντασης και καθιστικής δραστηριότητα. Οι συμμετέχοντες έλαβαν οδηγίες να αναφερθούν σε όλους τους τομείς της φυσικής δραστηριότητας και να αναφέρουν μόνο τα επεισόδια των δραστηριοτήτων που διαρκούν τουλάχιστον 10 λεπτά, αφού αυτό είναι το ελάχιστο που απαιτείται για να επιτευχθεί όφελος για την υγεία. Στη συνέχεια, λαμβάνοντας υπόψη το MET (Metabolic Equivalent of Task) κάθε επιπέδου άσκησης και της διάρκειας της δηλωθείσας δραστηριότητας υπολογίστηκαν τα MET-minutes για κάθε συμμετέχοντα, και κατασκευάστηκαν τα τεταρτημόρια της μεταβλητής, οδηγώντας σε τέσσερα επίπεδα δραστηριότητας, δηλαδή πολύ χαμηλό, χαμηλό, μέτριο και υψηλό επίπεδο. Αυτός ο τύπος ανάλυσης προτιμήθηκε, προκειμένου να εκτιμηθεί η επίδραση της συνολικής φυσικής δραστηριότητας σχετικά με την ανάπτυξη διαβήτη.

Ανθρωπομετρική αξιολόγηση

Το ύψος των ατόμων μετρήθηκε μια φορά, στρογγυλοποιημένο στο πλησιέστερο μισό του εκατοστού του μέτρου. Κατά την μέτρηση του αναστήματος, τα άτομα του δείγματος δεν έφεραν υποδήματα, είχαν την πλάτη ίσια και ακουμπισμένη σε μέτρο του τοίχου και τους οφθαλμούς να κοιτάζουν ίσια εμπρός. Το βάρος των ατόμων -χωρίς υποδήματα, με ελαφρά ένδυση- μετρήθηκε μια φορά, με ράβδο εξισορρόπησης. Η ζυγαριά ρυθμιζόταν και ελεγχόταν πριν και μετά από κάθε ζύγιση. Οι μετρήσεις στρογγυλοποιήθηκαν στην πλησιέστερη εκατοντάδα γραμμαρίων. Στη συνέχεια, ο δείκτης μάζας σώματος υπολογίστηκε ως το πηλίκο του βάρους (σε χιλιόγραμμα) προς το τετράγωνο του ύψους (σε μέτρα). Σύμφωνα με τις ισχύουσες οδηγίες, ως παχυσαρκία ορίζεται δείκτης μάζας σώματος $> 29,9 \text{ Kg/m}^2$ ενώ υπέρβαρο χαρακτηρίζεται το άτομο με δείκτη μάζας σώματος $25-29,9 \text{ Kg/m}^2$ (WHO 1997). Μετρήθηκε επίσης η περιφέρεια μέσης σε εκατοστά (στο μέσο μεταξύ 12ου πλευρού και λαγόνιας ακρολοφίας), καθώς και η

περιφέρεια ισχίων, στο πιο προεξέχον σημείο. Οι περίμετροι αυτές χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της κεντρικής παχυσαρκίας. Η κεντρική παχυσαρκία ορίστηκε με τους εξής τρόπους: ο λόγος περιφέρεια μέσης προς περίμετρο ισχίων (Π.Μ/Π.Ι.) >0.95 στους άνδρες και >0.8 στις γυναίκες (Dobbelsteijn, Joffres et al. 2001) ή ΠΜ >94 εκατοστά στους άνδρες και >80 εκατοστά στις γυναίκες ή/και >108 εκατοστά στους άνδρες και >88 εκατοστά στις γυναίκες

Εργαστηριακές αναλύσεις

Για την αξιολόγηση των βιοχημικών παραμέτρων συλλέχθηκε δείγμα πρωινού αίματος, μετά από 12-ωρη νηστεία και αποχή από αλκοόλ. Η βιοχημική ανάλυση διενεργήθηκε, για όλες τις περιπτώσεις, στο ίδιο εργαστήριο, που πληροί τα κριτήρια των Εργαστηρίων Αναφοράς του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

➤ **Γενική εξέταση αίματος:** διενεργήθηκε με χρήση αυτόματου αιματολογικού αναλυτή H1 ή H2 της Medicon.

➤ **Μέτρηση λιπιδίων αίματος**

Στον ορό, αφού διαχωρίστηκε με φυγοκέντρηση, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της HDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων με ενζυμική μέθοδο χρωματογραφίας, σε αυτόματο αναλυτή Technicon RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Ως υπερλιπιδαιμία ορίστηκαν επίπεδα ολικής χοληστερόλης νηστείας >200 mg/dl ή η λήψη υπολιπιδαιμικής αγωγής. Η LDL-χοληστερόλη υπολογίστηκε με τη χρήση του τύπου Friedewald: (ολική χοληστερόλη) – (HDL χοληστερόλη) – 1/5 (τριγλυκερίδια) (Friedewald, Levy et al. 1972). Πραγματοποιήθηκε εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος για την αξιολόγηση της εγκυρότητας των μεθόδων μέτρησης της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και της HDL. Οι συντελεστές μεταβλητότητας των επιπέδων χοληστερόλης δεν έπρεπε να υπερβαίνουν το 9%, των τριγλυκεριδίων το 4% και της HDL το 4%.

➤ **Μέτρηση γλυκόζης, ινσουλίνης**

Τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στον ορό μετρήθηκαν με τον αναλυτή Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης (μ U/ml) μετρήθηκαν με ανοσοδοκιμασία (RIA-100, Pharmacia Co., Erlangen, Germany), με

ακρίβεια 12% για τα χαμηλά (3 μU/ml) και 5% για τα υψηλά (90 μU/ml) επίπεδα ορού, με συντελεστή μεταβλητότητας 9%.

- Διάγνωση Διαβήτη τύπου 2: Επίπεδα σακχάρου νηστείας >125 mg/dl ή χρήση αντιδιαβητικής –διαιτητικής ή φαρμακευτικής- αγωγής καθόρισε την παρουσία σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.
- Αντίσταση στην ινσουλίνη: εκτιμήθηκε με τον υπολογισμό του μοντέλου εκτίμησης της ομοιόστασης της ινσουλίνης HOMA-R, σύμφωνα με τον τύπο (γλυκόζη σε mmol/l x ινσουλίνη σε μU/ml/22,5) (προκειμένου να μετατραπούν τα mg/dl γλυκόζης σε mmol/l, πολλαπλασιάστηκαν επί 0,055),
- Διάγνωση Μεταβολικού Συνδρόμου; Η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου βασίστηκε στα κριτήρια του AHA/NHLBI 2005 και ορίστηκε η συνύπαρξη τουλάχιστον τριών χαρακτηριστικών από τα εξής: 1) Κεντρικού τύπου παχυσαρκία (περιφέρεια μέσης για τους άνδρες >102 cm και για τις γυναίκες >88 cm), 2) Τριγλυκερίδια ορού >150 mg/dl (ή χρήση φαρμάκων για υπερτριγλυκεριδαιμία), 3) HDL-χοληστερόλη <40 mg/dl στους άνδρες και <50 mg/dl στις γυναίκες (ή χρήση αναλόγων φαρμάκων), 4) Συστολική αρτηριακή πίεση 130 ή διαστολική 85 mmHg (ή αντιυπερτασική αγωγή), 5) Επίπεδα γλυκόζης νηστείας >100mg (ή χρήση αντιδιαβητικών φαρμάκων) (Grundy, Cleeman et al. 2005).

➤ **Μέτρηση δεικτών φλεγμονής**

Το ινωδογόνο (mg/dl), η υψηλής ευαισθησίας (hs) CRP (mg/l) και το αμυλοειδές ορού-A (SAA) (mg/l) μετρήθηκαν με αυτόματο νεφελομετρητή (BNII της Dade Behring, Marburg GmbH, Marburg, Germany). Για τον καθορισμό του ινωδογόνου, τα αίμα τέθηκε σε αντιπηκτικό με 3,8% κιτρικό νάτριο (αναλογία όγκων 9:1) και ψύχθηκε ωσότου φυγοκεντρηθεί. Η hs-CRP είχε εύρος τιμών από 0,175 ως 1100mg/L και συντελεστές μεταβλητότητας μικρότερους από 5%, το ίδιο και το SAA ενώ οι αντίστοιχοι συντελεστές για το ινωδογόνο δεν ξεπερνούσαν το 9%.

Η ιντερλευκίνη 6 (pg/ml) μετρήθηκε με υψηλής ευαισθησίας (ενζυμο-προσδεδεμένη) ανοσοδοκιμασία και είχε συντελεστή μεταβλητότητας <10%.

Η ομοκυστεΐνη μετρήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο φθορισμού pulsar. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του TNF- α (pg/ml) αντιγράφου στα δείγματα από τον ορό των

συμμετεχόντων, χρησιμοποιήθηκε το «κιτ» ανοσοδοκιμασίας «Quantikine HS/human TNF-alpha» (R&D Systems Inc., Minneapolis, Minnesota)

➤ **Μέτρηση οξειδωτικού στρες**

Η οξειδωμένη LDL-χοληστερόλη (U/L) μετρήθηκε στο πλάσμα με τη χρήση ενζυμικά-προσδεδεμένου αντιδραστηρίου, σε δοκιμασία ανοσοαπορρόφησης (Mercodia, Uppsala, Sweden) και τεχνική ELISA. Το αναμενόμενο εύρος τιμών της οξειδωμένης LDL ήταν 30 -120 U/L και οι συντελεστές μεταβλητότητας δεν ξεπερνούσαν το 3%.

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα-TAC (mol/L) μετρήθηκε με χρωματομετρική δοκιμασία στον ορό (ImAnOx - Immunodiagnostik AG, Bensheim, Germany). Ο καθορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας βασίστηκε στην αντίδραση των αντιοξειδωτικών του δειγματος με ένα καθορισμένο ποσό υπεροξειδίου του υδρογόνου που χορηγήθηκε εξωγενώς. Η τιμή των 280μmol/l θεωρήθηκε χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα ενώ τιμές υψηλότερες από 320 μmol/l θεωρήθηκαν υψηλές, σύμφωνα με τον προμηθευτή. Όλοι οι συντελεστές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν ξεπερνούσαν το 7%

Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών

Η αξιολόγηση ων διατροφικών συνηθειών στην αρχική φάση της μελέτης έγινε με το έγκυρο ημι-ποσοτικό Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων¹ που παραχωρήθηκε από την Ιατρική Σχολή Αθηνών και συγκεκριμένα από τη ελληνική ομάδα της μελέτης EPIC (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). Το ερωτηματολόγιο αυτό περιλαμβάνει ερωτήσεις που αφορούν την κατανάλωση της πλειονότητας των τροφίμων που καταναλώνονται στη χώρα, σε όλες τις εποχές του χρόνου. Ζητήθηκε από όλους τους συμμετέχοντες να αναφέρουν τη μέση ημερήσια ή εβδομαδιαία πρόσληψη διαφόρων τροφίμων που κατανάλωναν στην διάρκεια των τελευταίων δώδεκα μηνών, καθώς και το μέγεθος της μερίδας αυτών (μικρή, μεσαία και μεγάλη, σε σύγκριση με αυτής του εστιατορίου). Κατόπιν, η συχνότητα κατανάλωσης κάθε τροφίμου ποσοτικοποιήθηκε κατά

¹ Να σημειωθεί ότι τα ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων αποτελούν τη συνηθέστερη μέθοδο συλλογής διατροφικών πληροφοριών σε επιδημιολογικές έρευνες διότι αντικατοπτρίζουν πιο αποτελεσματικά την έκθεση του ατόμου σε διατροφικούς παράγοντες και έτσι επαρκούν για την εκτίμηση συσχετίσεων μεταξύ διατροφής και διατροφοεξαρτώμενων νοσημάτων, όπως στην παρούσα μελέτη. Αντίθετα, οι μέθοδοι ανάκλησης 24ώρου ή τήρησης ημερολογίου καταγραφής τροφίμων προτιμώνται όταν ο στόχος της έρευνας είναι η σύγκριση της πρόσληψης τροφίμων και θρεπτικών συστατικών διαφόρων πληθυσμιακών ομάδων ή η παρακολούθηση της αποδοχής διατροφικών συστάσεων από τον πληθυσμό.

προσέγγιση, αποδιδόμενη σε φορές ανά μήνα. Έτσι, η ημερήσια κατανάλωση πολλαπλασιάστηκε επί τριάντα και η εβδομαδιαία επί τέσσερα ενώ μηδενική τιμή αποδόθηκε σε τρόφιμα που καταναλώνονταν σπάνια ή ουδέποτε. Τα στοιχεία που καταγράφηκαν συμπεριλαμβάνουν 156 φαγητά και ποτά που συνηθίζεται να καταναλώνονται στην Ελλάδα που περιέχονταν στο ερωτηματολόγιο ορισμένα από τα οποία είναι τα ακόλουθα: ψωμί (λευκό ή ολικής άλεσης), δημητριακά, ρύζι, πατάτες, ζυμαρικά μαγειρεμένα με διάφορους τρόπους (με κιμά, με σάλτσα ντομάτας άλλες σάλτσες), φρούτα (μπανάνα, μήλο, πορτοκάλι, αχλάδι, καρπούζι, πεπόνι, μανταρίνια, φράουλες σύκα, ανανάς, φρούτα αποξηραμένα ή κομπόστα και άλλα), λαχανικά τόσο ωμά (ντομάτα, αγγούρι, καρότα, μαρούλι και άλλα) όσο και μαγειρεμένα (κολοκυθάκια, αγκινάρα, πράσινα χόρτα, σπανάκι και άλλα), διάφορα είδη σαλάτας (ταραμοσαλάτα, ρώσικη, μελιτζανοσαλάτα, χωριάτικη και άλλες), όσπρια (φακές, ρεβίθια, φασόλια και άλλα), μυρωδικά, γαλακτοκομικά (γάλα, γιαούρτι, τυρί, κρέμες) με κατηγοριοποίηση ως προς τη περιεκτικότητα σε λίπος, κρεατικά (κοτόπουλο, χοιρινό, βοδινό, αρνί, κεφτεδάκια, σουβλάκια, συκώτι και άλλα), ψάρια, αβγά, διάφορα είδη πιτών (τυρόπιτα, σπανακόπιτα, κρεατόπιτα και άλλα) γλυκά (κέικ, μπισκότα, σοκολάτες, παγωτά, γλυκίσματα, μπακλαβάς, κανταΐφι, γαλακτομπούρεκο, χαλβάς, ραβανί και άλλα), διάφορα λίπη (διάφοροι τύποι λαδιού, βούτυρο, μαργαρίνη) αφεψήματα (καφές, τσάι, χαμομήλι, αναψυκτικά) και αλκοολούχα ποτά.

Η κατανάλωση αλκοόλ (μπύρα, ουίσκι, βότκα/τζιν, κονιάκ/ μπράντι, ούζο και άλλα ποτά) μετρήθηκε με ποτήρια του κρασιού (100 ml) και ποσοτικοποιήθηκε αναλόγως της πρόσληψης αιθανόλης (γραμμάρια ανά ποτό). Ένα ποτήρι του κρασιού ισοδυναμούσε με συγκέντρωση αιθανόλης 12%.

Όσον αφορά τα μη αλκοολούχα ποτά και ροφήματα, υπήρχαν ερωτήσεις σχετικά με την κατανάλωση διαφόρων ειδών καφέ και τσαγιού. Σχετικά με την κατανάλωση καφέ, όλα τα είδη καφέ καταγράφηκαν (στιγμιαίος, φίλτρου, ελληνικός, καπουτσίνο κλπ) σε mL και επαναυπολογίστηκαν σε mL κατόπιν στάθμισης για 28% περιεκτικότητα καφεΐνης, για λόγους ανάλυσης (Bunker and McWilliams 1979). 1 "σταθμισμένο" φλιτζάνι ορίστηκε ισοδύναμο με 150mL καφέ (ίσο με 450ml καφέ φίλτρου ή 300mL στιγμιαίου καφέ).

Η προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή

Στη παρούσα εργασία έγινε χρήση του δείκτη αποτίμησης της συμμόρφωσης στις αρχές της μεσογειακής διατροφής, *MedDietScore* (Πίνακας 7). Για κάθε συμμετέχοντα χρησιμοποιήθηκαν οι πληροφορίες από το ερωτηματολόγιο κατανάλωσης τροφίμων για να υπολογιστεί ο εν λόγω δείκτης. Προκειμένου να εκτιμηθεί το σύνολο της διατροφικής πρόσληψης, χρησιμοποιήθηκαν σύνθετοι πίνακες βαθμολόγησης, που είναι απαραίτητοι για την εκτίμηση επιδημιολογικών συσχετίσεων. Όπως φαίνεται και στον παρακάνω πίνακα το *MedDietScore*, περιλαμβάνει τις ακόλουθες κατηγορίες τροφίμων: μη-επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής άλεσης ψωμί, δημητριακά, ζυμαρικά, ρύζι, μπισκότα κλπ), φρούτα, λαχανικά, όσπρια, ψάρια, πατάτες, κρέας και κρεατοσκευάσματα, πουλερικά, γαλακτοκομικά (τυρί, γιαούρτι, γάλα), ελαιόλαδο και τα αλκοολούχα ποτά. Για τα τρόφιμα που θεωρούνται κοντά στις αρχές της Μεσογειακής διατροφής (αυτά που συστήνονται σε καθημερινή βάση ή >4 μερίδες/εβδομάδα, δηλαδή, τα μη-επεξεργασμένα δημητριακά, τα φρούτα και λαχανικά, τα όσπρια, το ελαιόλαδο, τα ψάρια και οι πατάτες) κάποιος βαθμολογείται με 0 όταν δηλώνει ότι δεν τα καταναλώνει, με 1 όταν καταναλώνει 1-4 μερίδες/μήνα, 2 για 5-8 μερίδες/μήνα, 3 για 9-12 μερίδες/μήνα, 4 για 13-18 μερίδες/μήνα και 5 για >18 μερίδες/μήνα. Οι πατάτες αν και δεν είναι στη βάση της μεσογειακής πυραμίδας, περιλαμβάνονται στον δείκτη διότι είναι πολύ καλές πηγές βιταμινών C, B1 και B2, νιασίνης, υδατανθράκων, διαιτητικών ινών, καλίου, μαγνησίου.

Πίνακας 7. The Mediterranean diet score (*MedDietScore*)

Συχνότητα κατανάλωσης (μερίδες / εβδομάδα)						
	Ποτέ	1-6	7-12	13-18	19-31	>32
<i>Μη επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής άλεσης ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι)</i>	0	1	2	3	4	5
<i>Πατάτες</i>	Ποτέ	1-4	5-8	9-12	13-18	>18
	0	1	2	3	5	4
<i>Φρούτα</i>	Ποτέ	1-4	5-8	9-15	16-21	>22
	0	1	2	3	4	5
<i>Λαχανικά</i>	Ποτέ	1-6	7-12	13-20	21-32	>33
	0	1	2	3	4	5
<i>Όσπρια</i>	Ποτέ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
	0	1	2	3	4	5
<i>Ψάρια</i>	Ποτέ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
	0	1	2	3	4	5
<i>Κόκκινο κρέας και παράγωγα</i>	≤1	2-3	4-5	6-7	8-10	>10
	5	4	3	2	1	0

	≤ 3	4-5	5-6	7-8	9-10	>10
Πουλερικά	5	4	3	2	1	0
Γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτι, γάλα)	≤ 10	11-15	16-20	21-28	29-30	>30
Χρήση ελαιόλαδου στο μαγείρεμα (φορές /εβδομάδα)	Ποτέ	Σπάνια	<1	1-3	3-5	Καθημερινά
Αλκοολούχα ποτά (ml/ημέρα, 100ml = 1 ποτήρι)	0	1	2	3	4	5
	<300	300	400	500	600	>700 ή 0
	5	4	3	2	1	0

Αντιθέτως, για τα τρόφιμα που θεωρούνται μακριά από τη μεσογειακή διατροφή (για τα οποία συστήνεται σπάνια ή μηνιαία κατανάλωση, δηλαδή το κρέας και τα κρεατοσκευάσματα, τα πουλερικά και τα γαλακτοκομικά προϊόντα) χρησιμοποιείται αντίστροφη κλίμακα βαθμολόγησης. Δηλαδή το άτομο βαθμολογείται με 5 όταν δηλώνει μηδενική ή πολύ χαμηλή κατανάλωση μέχρι και 0 όταν αναφέρει σχεδόν καθημερινή κατανάλωση. Ειδικά για το αλκοόλ, σκορ 5 δίνεται στο άτομο που καταναλώνει <300ml/ημέρα, 0 για >700 ml/ημέρα και 1-4 για 300, 400-500, 600 και 700 ml/ημέρα αντίστοιχα (τα 100 ml περιέχουν 12g αιθανόλης). Συνεπώς το συνολικό σκορ που προκύπτει μετά από άθροιση του σκορ για κάθε κατηγορία τροφίμου κυμαίνεται από 0-55. Υψηλά σκορ υποδεικνύουν και μεγαλύτερη συμμόρφωση στη μεσογειακή διατροφή (Panagiotakos, Milias et al. 2006).

3.5 Στατιστική ανάλυση

Η επίπτωση του ΣΔτ2 υπολογίστηκε ως ο λόγος των νέων περιστατικών διαβήτη από την έναρξη της μελέτης μέχρι το δεκαετή επανέλεγχο, προς το σύνολο των ατόμων που συμμετείχαν στον επανέλεγχο αφού αφαιρέθηκαν τα άτομα που είχαν διαγνωστεί με διαβήτη κατά την έναρξη της μελέτης. Τα άτομα με ελλείπουσες τιμές δε συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση, οπότε τα στοιχεία από 1485 συμμετέχοντες εισήχθησαν στα μοντέλα.

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm τυπική απόκλιση. Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες και σχετικές συχνότητες (%). Οι συγκρίσεις των μέσων όρων των κανονικά κατανεμημένων ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ μεταβλητών με 2 κατηγορίες (π.χ. μεταξύ όσων εμφάνισαν διαβήτη ή όσων δεν εμφάνισαν) πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό έλεγχο Student's t-test, αφού ελέγχθηκε η ισότητα

των διακυμάνσεων με τον έλεγχο του Levene. Ο αντίστοιχος έλεγχος για τις μη κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές έγινε με τον μη-παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney. Οι συγκρίσεις μεταξύ των μέσων όρων των κανονικά κατανεμημένων ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ μεταβλητών με >2 κατηγορίες (π.χ. μεταξύ των 3 κατηγοριών προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή: χαμηλή, μεσαία, υψηλή) πραγματοποιήθηκαν με ανάλυση διακύμανσης ANOVA αφού εξασφαλίστηκε η ομοιογένεια των διακυμάνσεων της κάθε μεταβλητής μεταξύ των κατηγοριών με τον έλεγχο του Levene. Ο αντίστοιχος έλεγχος για τις μη κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές ή για τις μεταβλητές στις οποίες η διασπορά των της συνεχούς μεταβλητής δεν ήταν ίδια σε κάθε κατηγορία έγινε με τον μη-παραμετρικό έλεγχο Kruskal-Wallis. Η Η κανονικότητα των μεταβλητών ελέγχθηκε γραφικά με P-P plots και ιστογράμματα. Οι συσχετίσεις μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών εξετάστηκαν με τον έλεγχο χ^2 .

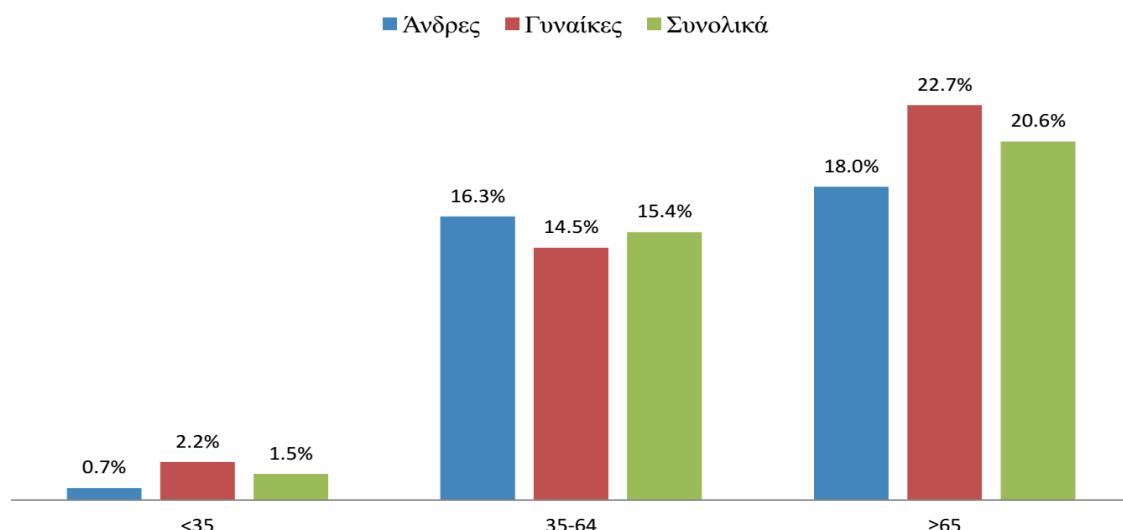
Ο σχετικός λόγος εμφάνισης ΣΔτ2 στη διάρκεια της δεκαετίας ανάλογα με την εκάστοτε μεταβλητή προς διερεύνηση πραγματοποιήθηκε με πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση. Γνωστοί συγχυτικοί παράγοντες (π.χ. ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, εκπαιδευτικό επίπεδο, κάπνισμα, οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, υπερχοληστερολαιμία, υπέρταση κλπ) συμπεριλήφθησαν στα μοντέλα. Για την έλεγχο της καλής προσαρμογής των υποδειγμάτων της πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης στα δεδομένα, χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο Hosmer – Lemeshow.

Όλες οι αναλύσεις εκτιμήθηκαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p=0,05$. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το λογισμικό SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago, USA).

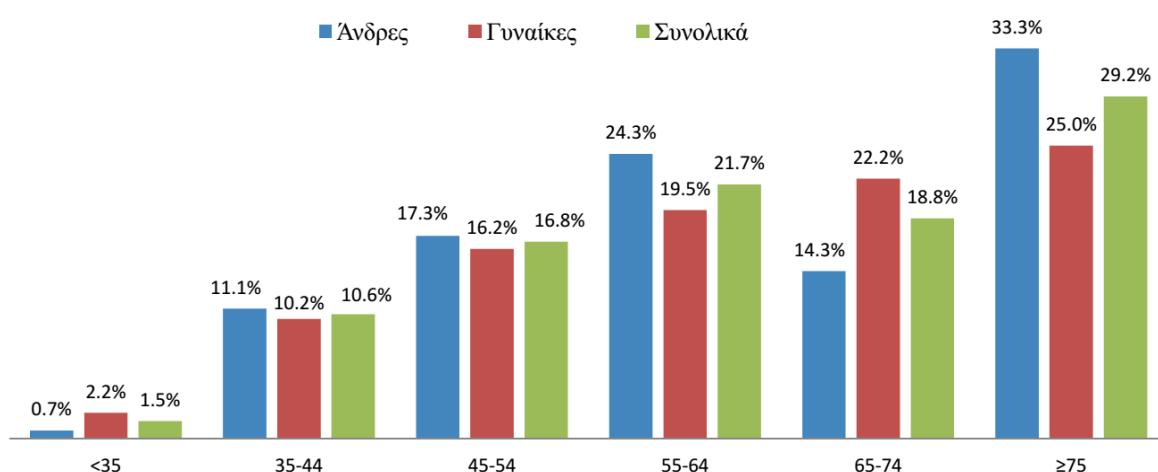
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Περιγραφικά στοιχεία για τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Από τα 1485 άτομα για τα οποία είχαμε διαθέσιμα δεδομένα για την εμφάνιση ή όχι ΣΔΤ2, τα 191 εμφάνισαν τη νόσο, διαμορφώνοντας την επίπτωση 12.9%. Αυτό σημαίνει ότι αναμένουμε 129 νέα περιστατικά διαβήτη σε μία δεκαετία ή περίπου 130 νέες εκδηλώσεις κάθε χρόνο για κάθε 10000 άτομα ελεύθερα καρδιαγγειακής νόσου. Από το σύνολο των 726 ανδρών, 97 εξ' αυτών εκδήλωσαν τη νόσο (13.4%), ενώ από το σύνολο των 759 γυναικών, 94 εξ' αυτών εκδήλωσαν εμφάνισαν διαβήτη (12.4%) ($p<0.001$ για τη διαφορά των επιπτώσεων στα δύο φύλα).

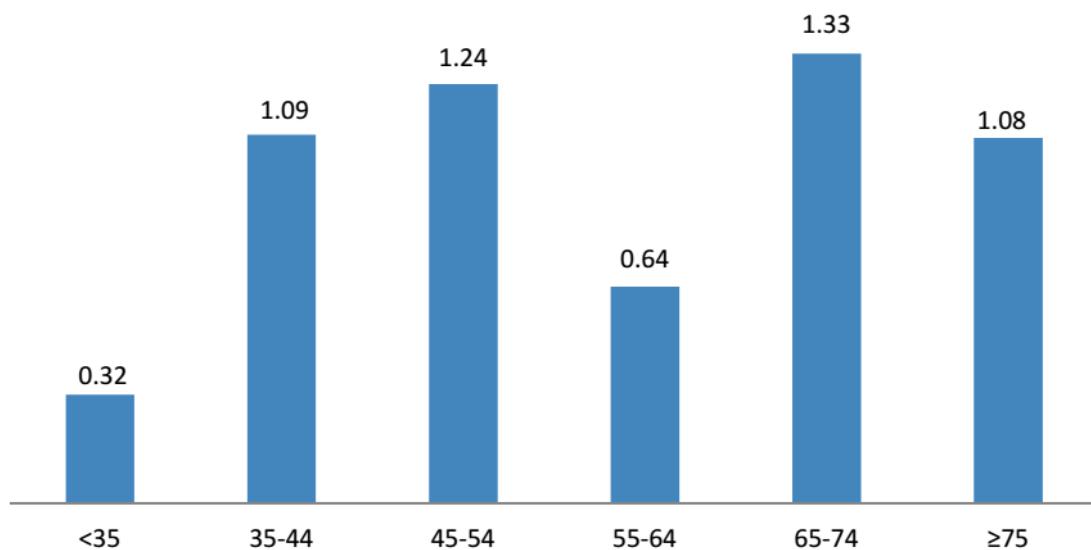


Γράφημα 7. Δεκαετής επίπτωση (2002-2012) του διαβήτη ανά φύλο και ηλικία (3 ηλικιακές ομάδες)



Γράφημα 8. Δεκαετής επίπτωση (2002-2012) του διαβήτη ανά φύλο και ηλικία (6 ηλικιακές ομάδες)

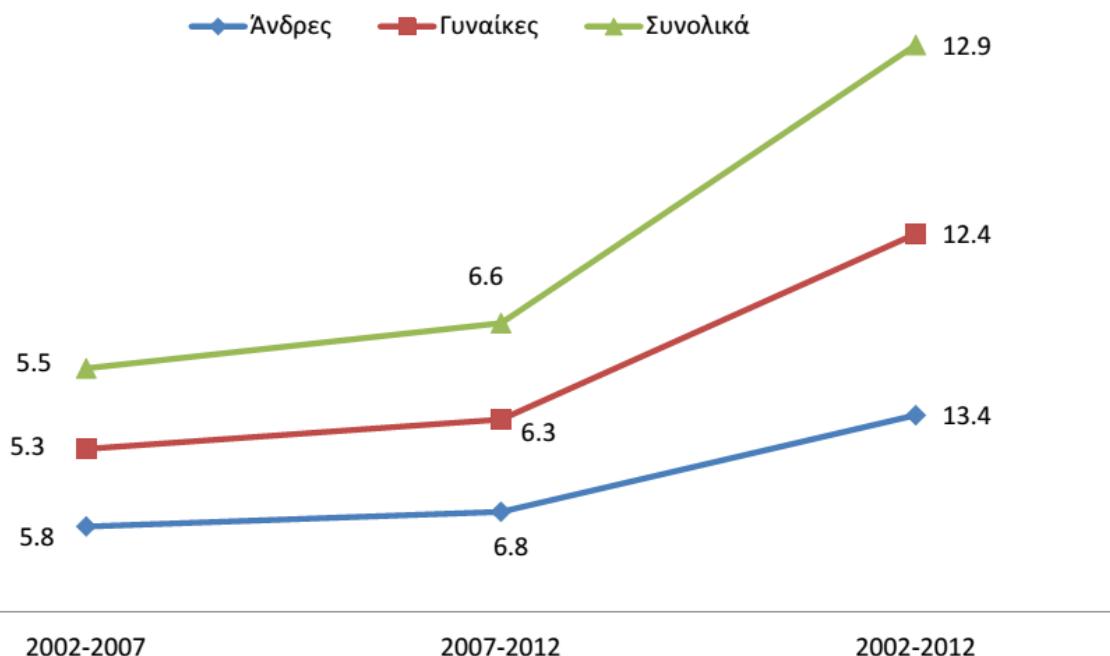
Ο λόγος των επιπτώσεων της νόσου ανδρών και γυναικών ήταν σχεδόν 1-1 σε όλες τις ηλικιακές ομάδες με εξαίρεση τις γυναίκες κάτω των 35 ετών και μεταξύ 65-74 ετών, οι οποίες βρέθηκαν να έχουν 0.32 φορές και 0.64 φορές μικρότερη πιθανότητα να εκδηλώσουν διαβήτη συγκριτικά με τους άνδρες της ίδιας ηλικιακής ομάδας. Αντίθετα, μεταξύ των συμμετεχόντων ≥ 75 ετών, οι άνδρες βρέθηκαν να έχουν 1.33 μεγαλύτερη πιθανότητα σε σχέση με τις γυναίκες του εν λόγω ηλικιακού γκρουπ.



Γράφημα 9. Λόγος των επιπτώσεων της νόσου στους άνδρες προς τις γυναίκες, ανά ηλικία

Διαχρονική εξέλιξη της επίπτωσης του διαβήτη στη Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012)

Η επίπτωση του διαβήτη παρουσίασε αυξητική τάση κατά τη διάρκεια της μελέτης (2002-2012). Αφού αποκλείστηκαν 100 περιπτώσεις διαβήτη που εκδηλώθηκαν πριν το 2007, οι υπόλοιπες 91 περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστεί η πενταετής επίπτωση της νόσου μεταξύ των 1385 ατόμων. Η επίπτωση είχε υπολογιστεί 5.5% στην 1η πενταετία της μελέτης, με βάση τα άτομα που είχαν συμμετάσχει στον πρώτο επανέλεγχο (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008) και τώρα υπολογίστηκε στο 6.6% για τη 2η πενταετία της μελέτης, με ομοιόμορφη αυξητική τάση και για τα 2 φύλα. Ωστόσο, όταν λήφθηκε υπόψη η ηλικία, η διαφορά των επιπτώσεων μεταξύ των 2 περιόδων δεν ήταν πια στατιστικά σημαντική ($p > 0.05$).



Γράφημα 10. Διαχρονική εξέλιξη της επίπτωσης ΣΔτ2 (2002 - 2007 - 2012), ανά φύλο

Κατανομή των χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων στη μελέτη

Τα κοινωνικο-δημογραφικά, κλινικά, ανθρωπομετρικά και χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των εθελοντών συμμετεχόντων της μελέτης, ανάλογα με το αν εμφάνισαν ή όχι διαβήτη στο 10ετή επανέλεγχο, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.1**. Μη σταθμισμένη ανάλυση έδειξε ότι τα άτομα που εμφάνισαν διαβήτη στο δεκαετή επανέλεγχο ήταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό κατά 10 έτη μεγαλύτερη σε ηλικία, κατά 1 έτος πιο μορφωμένα, είχαν υψηλότερες μέσες τιμές γλυκόζης και ινσουλίνης, και είχαν σε υψηλότερο ποσοστό υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό διαβήτη και μεταβολικό σύνδρομο. Επίσης, είχαν υψηλότερες μέσες τιμές ΔΜΣ, περιφέρειας μέσης και αντίστοιχα σε υψηλότερο ποσοστό κεντρική παχυσαρκία (χρησιμοποιώντας ως δείκτη είτε το αυξημένο πηλίκο μέσης προς ισχία, είτε το πηλίκο μέσης προς ύψος, είτε την περιφέρεια μέσης (οποιοδήποτε από τα 2 κατώφλια, το 102/88 εκ ή 94/80 εκ. για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα). Από την άλλη πλευρά, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές

για το φύλο, τις καπνιστικές συνήθειες, την ενεργειακή πρόσληψη και τη φυσική δραστηριότητα

Πίνακας 4.1. Κοινωνικο-δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, κλινικά και χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με την εμφάνιση ή όχι διαβήτη μέχρι το δεκαετή επανέλεγχο ($n=1485$).

	Δεν εμφάνισαν	Εμφάνισαν		p
	διαβήτη	διαβήτη		
	($n = 1294$)	($n = 191$)		
Ηλικία, έτη	44±13	53±11	<0.001	
Ανδρικό φύλο, n (%)	629 (49)	97 (51)	0.57	
Έτη εκπαίδευσης	13±3.4	14±3.4	<0.001	
Καπνιστές στο παρόν, n (%)	702 (54)	100 (52)	0.62	
Οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2, n (%)	230 (20)	61 (36)	<0.001	
Υπαρξη μεταβολικού συνδρόμου, n (%)	152 (12)	58 (30)	<0.001	
Σωματικά ενεργοί, n (%)	552 (43)	73 (38)	0.25	
Γλυκόζη νηστείας, mg/dL	88±12	95±14	<0.001	
Ινσουλίνη νηστείας, μU/mL	13±3.4	14±3.4	<0.001	
Ενεργειακή πρόσληψη, θερμίδες/ ημέρα	2335±917	2616±1095	0.10	
Υπερτασικοί, n (%)	333 (27)	82 (46)	<0.001	
Υπερχοληστερολαιμικοί, n (%)	475 (37)	106 (56)	<0.001	
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	26±4.0	29±5.0	<0.001	
Περιφέρεια μέσης, εκατοστά	88±14	98±16	<0.001	
Πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ισχίων	0.85±0.10	0.89±0.11	<0.001	
> Άνδρες	0.92±0.11	0.94±0.10	0.02	
> Γυναίκες	0.79±0.07	0.83±0.08	<0.001	
Πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ισχίων >0.8 για γυναίκες και >0.95 για άνδρες	375 (34)	94 (59)	<0.001	
Πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ύψος >0.5	661 (60)	139 (86)	<0.001	

Αυξημένη περιφέρεια μέσης				
>102εκ. για άνδρες και >88εκ. για γυναίκες	303 (27)	92 (57)		<0.001
>94εκ. για άνδρες και >80εκ. για γυναίκες	598 (54)	129 (80)		<0.001

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση, ώστε να προσδιοριστεί η προβλεπτική ικανότητα διαφόρων από τους προαναφερθέντες παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη διαβήτη (**Πίνακας 4.2**). Τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

- Πηλίκο περιφέρειας μέσης προς 'Υψος >0.5 : τιμή του δείκτη >0.5 σε σχέση με <0.5 σχετίστηκε με 3.27 φορές αυξημένο κίνδυνο ΣΔτ2
- Οικογενειακό Ιστορικό ΣΔ: η ύπαρξη ιστορικού βρέθηκε να αυξάνει τον κίνδυνο ΣΔτ2 κατά 2.79 φορές
- Ηλικία: κάθε 1 έτος αύξησης σχετίστηκε με 14% αυξημένο κίνδυνο ΣΔτ2
- Γλυκόζη νηστείας: αύξηση κατά 10 mg/dL οδηγεί σε 50% αυξημένο κίνδυνο
- Ενεργειακή πρόσληψη: αύξηση των ημερήσιων θερμίδων κατά 500 βρέθηκε να αυξάνει τον κίνδυνο ΣΔτ2 κατά 20%

Πίνακας 4.2 Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης για τη συσχέτιση διαφόρων χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων στη μελέτη ATTICU με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1485).

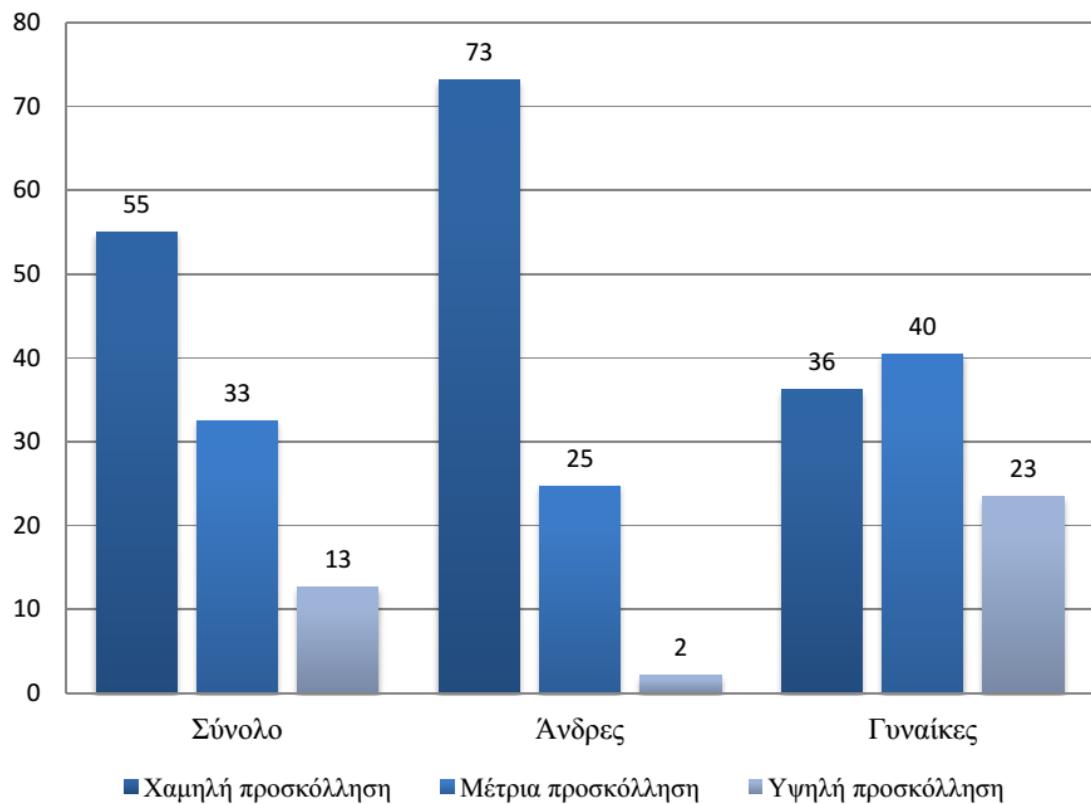
	Σχετικός Λόγος	95% ΔΕ
Ηλικία (κατά 1 έτος)	1.14	1.09, 1.19
Ανδρικό φύλο	1.12	0.51, 2.46
Εκπαίδευση (κατά 1 έτος)	1.04	0.94, 1.16
Κάπνισμα (ναι/ όχι)	0.97	0.47, 2.0
Οικογενειακό Ιστορικό ΣΔτ2 (ναι/ όχι)	2.80	1.30, 6.03
Ενεργειακή πρόσληψη (κατά 500kcal)	1.20	1.01, 1.35
Φυσική δραστηριότητα (ναι/ όχι)	0.51	0.24, 1.01
Πηλίκο μέσης προς ύψος >0.5	3.27	1.07, 10.0
Γλυκόζη νηστείας (κατά 1 mg/dL)	1.05	1.02, 1.08
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	1.05	0.51, 2.19
Υπέρταση (ναι/ όχι)	0.96	0.46, 2.00

Να σημειωθεί ότι όλοι οι προαναφερθέντες ανθρωπομετρικοί δείκτες σχετίστηκαν με θετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη, ωστόσο για το τελικό μοντέλο επιλέχθηκε το πηλίκο μέσης προς ύψος καθώς εμφάνιζε την καλύτερη προσαρμογή (goodness of fit) και χαμηλότερη τιμή -2 log likelihood=224.1. Ο ΔΜΣ ήταν ο μόνος δείκτης με αντίστοιχα καλή προσαρμογή και τιμή -2 log likelihood =223.6 ($\Sigma\lambda = 1.11$, 95%ΔΕ: 1.01-1.22), ωστόσο μεταξύ των δύο επιλέχθηκε το πηλίκο μέσης-ύψος, λόγω της ιδιότητάς του να αντανακλά την κατανομή του βάρους, δηλαδή αντικατοπτρίζει καλύτερα την κεντρική συσσώρευση του λίπους, που αποτελεί σημείο - κλειδί στην ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη και διαβήτη.

4.2. Ο ρόλος της Μεσογειακής Διατροφής στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

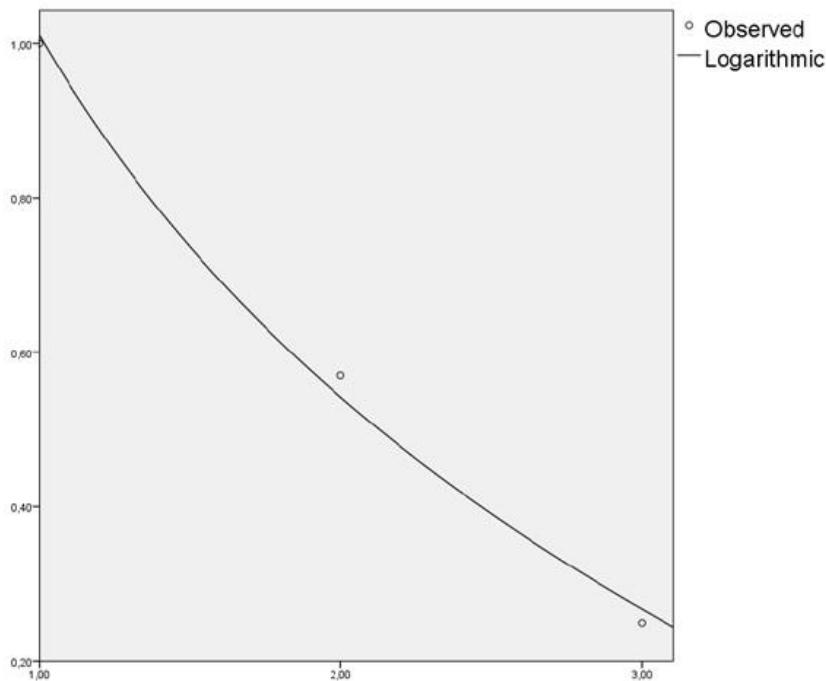
Μεταξύ των συμμετεχόντων στο 1ο τριτημόριο του *MedDietScore* (χαμηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής), $n=83$ άτομα (21%) εμφάνισαν διαβήτη στη 10ετία. Μεταξύ των ατόμων στο 2ο τριτημόριο του *MedDietScore* (μεσαίου βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής), $n=38$ άτομα (8%) εμφάνισαν διαβήτη και από τα άτομα στο 3ο τριτημόριο του *MedDietScore* (υψηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής), $n=8$ άτομα (5%) εμφάνισαν διαβήτη ($p < 0.001$).

Τα άτομα που ανέπτυξαν διαβήτη ήταν στο μεγαλύτερο ποσοστό τους μακριά από τη μεσογειακή διατροφή (55%, 33% και 13% για τις 3 ομάδες, αντίστοιχα). Αναλυτικά φαίνονται τα ποσοστά και κατά φύλο, με τους άνδρες να παρουσιάζουν το μεγαλύτερο (73%) και μικρότερο (2%) ποσοστό εμφάνισης ΣΔτ2, για την ομάδα που εμφανίζει χαμηλή και υψηλή προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή αντίστοιχα (Γράφημα 11). Αντίθετα, οι συμμετέχοντες που δεν ανέπτυξαν διαβήτη ήταν ισότιμα κατανεμημένοι στα 3 τριτημόρια (30%, 35% and 35% για τη χαμηλή, μέτρια και υψηλή προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή αντίστοιχα).



Γράφημα 11. Συμμόρφωση με τη ΜΔ, συνολικά και ανά φύλο, μεταξύ των ατόμων που ανέπτυξαν διαβήτη στο 10ετή επανέλεγχο.

Η ανάλυση τάσης των ΣΛ που προέκυψαν από μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης σταθμισμένο για φύλο και ηλικία, ανά κατηγορία υιοθέτησης της μεσογειακής διατροφής, αποκάλυψαν σημαντική λογαριθμική σχέση, ανάμεσα στην υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής και την ανάπτυξη ΣΔτ2 (R^2 για λογαριθμική σχέση = 0.99, $p=0.042$). Η ύπαρξη γραμμικής, εκθετικής και τετραγωνικής συνάρτησης ελέχθησαν, αλλά βρέθηκαν μη στατιστικά σημαντικές, $p > 0.10$).



Εικόνα 6. Ανάλυση τάσης στους ΣΛ εμφάνισης ΣΔτ2, ανά τριτημόριο MedDietScore

Τα περιγραφικά στοιχεία των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με το βαθμό υιοθέτησης της μεσογειακής διατροφής φαίνονται αναλυτικά στον **Πίνακα 4.3**. Στην αφετηρία της μελέτης, 2001-2002, οι συμμετέχοντες που ακολουθούσαν πιο πιστά τη μεσογειακή διατροφή, ήταν σε μεγαλύτερο ποσοστό γυναίκες, νεότεροι σε ηλικία, με περισσότερη έτη εκπαίδευσης και είχαν χαμηλότερο ΔΜΣ, περίμετρο μέσης και σε χαμηλότερα ποσοστά υπέρταση και υπερχοληστερολαιμία. Οι μέσες τιμές χοληστερόλης, LDL και τριγλυκεριδίων ήταν επίσης χαμηλότερες, ενώ οι μέση τιμή HDL-χοληστερόλης ήταν υψηλότερη. Επίσης, οι συμμετέχοντες στο 3ο τριτημόριο της μεσογειακής διατροφής είχαν υψηλότερη ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, χαμηλότερη οξειδωμένη-LDL και χαμηλότερες τιμές γλυκόζης, ινσουλίνης και όλων των δεικτών φλεγμονής. Το ποσοστό καπνιστών, οικογενειακού ιστορικού ΣΔτ2 και φυσικής δραστηριότητας δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ των 3 τριτημορίων.

Πίνακας 4.3. Κοινωνικο-δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, κλινικά και χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με το βαθμό προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή ($n=1485$).

	Βαθμός προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή			p
	Χαμηλός (n= 490)	Μέτριος (n=518)	Υψηλός (n=477)	
Περιστατικά ΣΔ, ν (%)	105 (21)	62 (12)	24 (5)	<0.001
Ηλικία, έτη	54 ± 12	46 ± 10*	36 ± 10*	<0.001
Ανδρικό φύλο, ν (%)	371 (76)	289 (56)	66 (14)	<0.001
Έτη εκπαίδευσης	11 ± 3.8	12 ± 3.6**	14 ± 2.8**	<0.001
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	29 ± 4.2	27 ± 2.8*	22 ± 2.5*	<0.001
Περιφέρεια μέσης, εκατοστά	100 ± 12	92 ± 11*	78 ± 10*	<0.001
Οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2, ν (%)	98 (22)	96 (21)	97 (22)	0.91
Υπερτασικοί, ν (%)	215 (46)	156 (32)	45 (10)	<0.001
Υπερχοληστερολαιμικοί, ν (%)	215 (44)	257 (50)	109 (23)	<0.001
– Ολική χοληστερόλη, mg/dL	202 ± 39	203 ± 42	177 ± 39*	<0.001
– HDL-χοληστερόλη, mg/dL	45 ± 10	48 ± 17*	54 ± 14*	<0.001
– LDL-χοληστερόλη, mg/dL	131 ± 35	130 ± 36	109 ± 35*	<0.001
– Τριγλυκερίδια, mg/dL	136 ± 80	129 ± 93*	78 ± 37**	<0.001
Καπνιστές στο παρόν, ν (%)	263 (54)	298 (58)	241 (51)	0.091
Σωματικά ενεργοί, ν (%)	212 (43)	202 (39)	211 (44)	0.20
Γλυκόζη νηστείας, mg/dL	92 ± 13	90 ± 12*	86 ± 12**	<0.001
Ινσουλίνη νηστείας, μU/mL	14 ± 5.3	13 ± 1.6**	12 ± 1.3**	<0.001
Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, μmol/L	225 ± 42	229 ± 32	250 ± 45**	<0.001
Οξειδωμένη-LDL, mg/dL	66 ± 30	63 ± 28	54 ± 26**	<0.001
Ιντερλευκίνη-6, pg/mL	1.6 ± 0.48	1.5 ± 0.52**	1.3 ± 0.40**	<0.001
Παράγοντας νέκρωσης όγκων- α , pg/mL	8.2 ± 3.9	6.2 ± 3.3**	4.8 ± 4.8**	<0.001
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/L	2.3 ± 2.7	1.9 ± 2.3	1.3 ± 1.9**	<0.001

Ομοκυστεΐνη, μμοι/λ	13 ± 5.1	12 ± 6.0*	11 ± 7.7**	<0.001
Αμυλοειδές ορού-Α, mg/dL	4.7 ± 4.6	4.3 ± 3.8	4.3 ± 5.1*	0.050
Ινωδιογόνο, mg/dL	320 ± 75	311 ± 63	292 ± 65**	<0.001

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση, ώστε να ληφθούν υπόψη κλασικοί συγχυτικοί παράγοντες (**Πίνακας 4.4**). Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο (για ηλικία, φύλο, κάπνισμα, υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2, έτη εκπαίδευσης, φυσική δραστηριότητα και αυξημένη περίμετρο μέσης (>94εκ. για άνδρες και >80εκ. για γυναίκες). Η αλληλεπίδραση *MedDietScore* και κατηγορίας ΠΜ βρέθηκε σημαντική ($p=0.045$) και παρέμεινε στο τελικό μοντέλο. Τα άτομα με μεσαίου και υψηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής βρέθηκαν να έχουν 49% ($\Sigma\Lambda = 0.51$; 95%ΔΕ: 0.30, 0.88) και 62% ($\Sigma\Lambda = 0.38$; 95%ΔΕ: 0.16, 0.88), αντίστοιχα, χαμηλότερο δεκαετή κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, συγκριτικά με τα άτομα με χαμηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής.

Πίνακας 4.4. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης ($\Sigma\Lambda$, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη ($n=1485$).

ΣΛ για αύξηση του MedDietScore κατά 1 μονάδα	Βαθμός προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή		
	Χαμηλός (n= 490)	Μέτριος (n=518)	Υψηλός (n=477)
	Anaf.	0.57; 0.38, 0.84	0.25; 0.13, 0.47
Μοντέλο 1 0.99; 0.97, 1.02	Anaf.	0.53; 0.34, 0.83	0.28; 0.14, 0.57
Μοντέλο 2 0.99; 0.96, 1.02	Anaf.	0.54; 0.35, 0.85	0.31; 0.15; 0.62
Μοντέλο 3 0.99; 0.96, 1.02	Anaf.	0.51; 0.30, 0.88	0.38; 0.16, 0.88
Μοντέλο 4 1.04; 0.99; 1.09	Anaf.		

Για να αναγνωριστούν οι συνιστώσες της μεσογειακής διατροφής που συνεισφέρουν περισσότερο στην παραπάνω προστατευτική σχέση, ο συνιστώσες του προτύπου εισήχθησαν μία προς μία στο τελικό μοντέλο και οι τιμές -2 log likelihood υπολογίστηκαν

(χαμηλότερες τιμές υποδεικνύουν καλύτερη προβλεπτική ικανότητα). Οι τρεις πιο προστατευτικές συνιστώσες της μεσογειακής διατροφής βρέθηκαν τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα φρούτα και τα όσπρια, με τιμές -2 log likelihood ίσες με 189.1, 189.5 and 189.9, αντίστοιχα.

Επίσης, η λογιστική παλινδρόμηση πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για τα άτομα με υψηλή ($n=727$) και τα άτομα με φυσιολογική περίμετρο μέσης ($n=549$). Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο, η αντίστροφη σχέση επιβεβαιώθηκε μόνο για τα άτομα με υψηλή περίμετρο μέσης. Συγκεκριμένα, τα άτομα με μεσαίου και υψηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής βρέθηκαν να έχουν 56% ($\Delta\Lambda=0.44$, 95%ΔΕ: 0.25, 0.77) και 74% ($\Delta\Lambda=0.26$, 95% CI: 0.10, 0.70), αντίστοιχα, χαμηλότερο δεκαετή κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, συγκριτικά με τα άτομα με χαμηλού βαθμού υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής.

Τέλος, για να διερευνηθεί ο πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου η μεσογειακή διατροφή προσφέρει αντιδιαβητική προστασία, μεταξύ των ατόμων με αυξημένο περίμετρο μέσης, διάφοροι δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες εισήχθησαν σταδιακά στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο. Η λογιστική παλινδρόμηση ανέδειξε τον πιθανό διαμεσολαβητικό ρόλο τόσο της φλεγμονής όσο και του οξειδωτικού στρες, καθώς με την προσθήκη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, του TNF-α, και της ομοκυστεΐνης η στατιστικά σημαντική σχέση της μεσογειακής διατροφής εξαλειφόταν.

Διαχείριση του Διαβήτη, Μεσογειακή Διατροφή και Καρδιαγγειακός Κίνδυνος

Ο διαβήτης αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Για το λόγο αυτό στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε το κατά πόσο η υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής από τα $n=210$ άτομα, που είχαν διαγνωσθεί με διαβήτη στην αφετηρία της μελέτης, μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων (οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, άλλη καρδιοπάθεια) στη δεκαετία. Από τα $n=210$ άτομα με διαβήτη στην αφετηρία της μελέτης, $n=68$ ανέπτυξαν καρδιαγγειακή νόσο, $n=77$ άτομα δεν ανέπτυξαν και για $n=65$ άτομα δεν υπήρχαν διαθέσιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη ή μη καρδιαγγειακού νοσήματος.

Στην πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση, βρέθηκε ότι η αύξηση του *MedDietScore* (εύρος 0-55) κατά μόλις 1 μονάδα μειώνει κατά 13% τον δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο,

σε οριακά σημαντικό βαθμό ($\Sigma\Lambda=0.87$, $95\%\Delta\epsilon: 0.73, 1.03$). Στην ανάλυση λήφθηκαν υπόψη πολλοί συγχυτικοί παράγοντες, και συγκεκριμένα φύλο, ηλικία, έτη εκπαίδευσης, οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, κάπνισμα, υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, φυσική δραστηριότητα, και δείκτης μάζας σώματος.

Ωστόσο, να επισημάνουμε ότι το αρχικό δείγμα των ατόμων με διαβήτη, που χρησιμοποιήθηκε για την παρούσα ανάλυση, είναι μικρό ($n=210$ άτομα) με αποτέλεσμα να χρειάζεται προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4.3 Ανάδειξη διατροφικών προτύπων στον ελληνικό πληθυσμό και ο ρόλος τους στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Η παραγοντική ανάλυση ανέδειξε έξι παράγοντες (διατροφικά πρότυπα) που εξηγούσαν το 54% της κατανάλωσης τροφίμων:

- *Πρότυπο 1: Κρέας, πουλερικά και πατάτες*
- *Πρότυπο 2: Φρούτα, λαχανικά, όσπρια και δημητριακά ολικής άλεσης (ψωμί, ζυμαρικά, παξιμάδια)*
- *Πρότυπο 3: Επεξεργασμένο κρέας και τυριά*
- *Πρότυπο 4: Ψάρια (μεγάλα και μικρά)*
- *Πρότυπο 5: Γλυκά και ξηροί καρποί*
- *Πρότυπο 6: Γάλα και δημητριακά πρωινού*

Για να αξιολογηθεί η επίδραση της υιοθέτησης των εν λόγω προτύπων στην 10ετή επίπτωση διαβήτη, πραγματοποιήθηκε λογιστική παλινδρόμηση, ανά ηλικιακή ομάδα καθώς βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της ηλικίας και του σκορ των διατροφικών προτύπων. Η ανάλυση σταθμίστηκε για φύλο, περίμετρο μέσης, οικογενειακό ιστορικό διαβήτη και κάπνισμα. Το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση "καλής ποιότητας υδατανθράκων", δηλαδή φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, και ολικής αλέσεως δημητριακών, βρέθηκε να μειώνει κατά 40% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, σε οριακά στατιστικά σημαντικό βαθμό, σε άτομα μεσης ηλικίας (45-55 ετών) ($\Sigma\Lambda = 0.60$, $95\%\Delta\epsilon: 0.34, 1.07$). Κανένα άλλο διατροφικό πρότυπο δε βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την ανάπτυξη διαβήτη.

Πρόσθετη στάθμιση για το ποσοστό των υδατανθράκων στη διατροφή επέφερε εξάλειψη της στατιστικής σημαντικότητας ($\Sigma\Lambda=0.62$, 95% CI: 0.34, 1.13), γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή διαμεσολάβηση της σχέσης από την υψηλή περιεκτικότητα στη διατροφή των υδατανθράκων και όχι του λίπους ή της πρωτεΐνης, ή και άλλων μικροστοιχείων που απαντώνται στα εν λόγω υψηλά σε υδατάνθρακες τρόφιμα όπως μαγνήσιο, διαιτητικές ίνες, αντιοξειδωτικά. Το ίδιο εύρημα παρατηρήθηκε και όταν πραγματοποιήθηκε στάθμιση για την ενεργειακή πρόσληψη ($\Sigma\Lambda=0.72$, 95%ΔΕ: 0.35, 1.49). Υποδεικνύοντας τη σημασία της ποσότητας, όχι μόνο της ποιότητας, στην ανάπτυξη διαβήτη.

4.4 Ο ρόλος του αλκοόλ στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.5**, τα άτομα που ανέπτυξαν διαβήτη δεν κατανάλωναν αλκοόλ στην αφετηρία της μελέτης, σε σχέση με τα άτομα που δεν ανέπτυξαν διαβήτη. Ωστόσο, μεταξύ των ατόμων που κατανάλωναν αλκοόλ, η ποσότητα αλκοόλ ήταν μεγαλύτερη μεταξύ αυτών που ανέπτυξαν διαβήτη συγκριτικά με όσους δεν ανέπτυξαν. Μεταξύ των 4 κατηγοριών κατανάλωσης αλκοόλ (αποχή, χαμηλή, μέτρια, υψηλή κατανάλωση), τα άτομα στην κατηγορία χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ (<1 ποτήρι/ ημέρα) εμφάνισαν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό διαβήτη σε σχέση με τις τρεις άλλες κατηγορίες ($p<0.001$). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά όταν η ανάλυση πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για κάθε τύπο αλκοολούχου ποτού.

Πίνακας 4.5. Πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2

	Δεν εμφάνισαν	Εμφάνισαν		<i>p</i>
	διαβήτη	διαβήτη		
	(n = 1294)	(n = 191)		
Κατανάλωση αλκοόλ, ν (%)	669 (59)	76 (44)	<0.001	
Πρόσληψη αλκοόλ (g/ημέρα)	14 ± 16	21 ± 16	<0.001	
Πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλ, ν (%)			<0.001	
• Αποχή (0 ποτήρια/ημέρα)	492 (44)	100 (58)		
• Χαμηλή κατανάλωση (<1 ποτήρι/ημέρα)	345 (30)	21 (12)		
• Μέτρια κατανάλωση (1-2 ποτήρια/ημέρα)	179 (16)	29 (17)		
• Υψηλή κατανάλωση (>2 ποτήρια/ημέρα)	114 (16)	23 (13)		
Είδος αλκοολούχου ποτού				
• Κρασί (ποτήρια/ημέρα)	2.2 ± 0.84	2.2 ± 0.89	0.74	
• Μπύρα (ποτήρια/ημέρα)	2.0 ± 0.85	1.9 ± 0.89	0.74	
• Άλλα ποτά (ποτήρια/ημέρα) (ουίσκι, βότκα, μαρτίνι, λικέρ, ούζο, μπράντι)	8.7 ± 1.8	9.0 ± 2.1	0.26	

*1 ποτήρι = 12 g αλκοόλ

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, το παραπάνω εύρημα επιβεβαιώθηκε (**Πίνακας 4.6**). Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο (για ηλικία, φύλο, κάπνισμα, υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2, έτη εκπαίδευσης, φυσική δραστηριότητα, περίμετρο μέσης, προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή), τα άτομα που ανήκαν στην ομάδα χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ (<1 ποτήρι /ημέρα) διέτρεχαν 53% χαμηλότερο 10ετή κίνδυνο για διαβήτη, σε σχέση με τα άτομα που απείχαν εντελώς από την κατανάλωση αλκοόλ ($\Sigma\Lambda=0.47$; 95%ΔΕ: 0.26, 0.83). Για τη μεσαία και υψηλή κατανάλωση αλκοόλ, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις ($\Sigma\Lambda=1.05$; 95%ΔΕ: 0.57, 1.93 και $\Sigma\Lambda=1.25$; 95%ΔΕ: 0.65, 2.37, αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια, και όταν οι τρεις κατηγορίες (αποχή, μέτρια και υψηλή κατηγορία) συγχωνεύτηκαν και συγκρίθηκαν με την ομάδα χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ. Τα άτομα της τελευταίας κατηγορίας, είχαν 56% χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη στη 10ετία ($\Sigma\Lambda= 0.44$; 95%ΔΕ: 0.25, 0.76) σε σχέση με τις άλλες ομάδες. Η ανάλυση τάσης των σχετικών λόγων

από μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης σταθμισμένο για φύλο και ηλικία ανέδειξε την ύπαρξη σχέσης παραβολικού τύπου (σχέση τύπου U) ($R^2 = 0.63$, $P < 0.001$)

Πίνακας 4.6. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης ($\Sigma\Lambda$, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της κατανάλωσης αλκοόλ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη ($n=1485$).

Κατηγορίες κατανάλωσης αλκοόλ						
Οποιαδήποτε						
	ε κατανάλωση αλκοόλ (n=745)	Αποχή (n=592)	Χαμηλή (n=366)	Μέτρια (n=208)	Υψηλή (n=137)	Χαμηλή vs. άλλες κατηγορίες
<i>Μοντέλο 1</i>	0.71; 0.50, 1.00	Αναφ. Αναφ.	0.46; 0.28, 0.70	0.83; 0.52; 1.31	1.13; 0.69, 1.92	0.47; 0.29, 0.77
						0.23; 0.05, 1.12
<i>Μοντέλο 2</i>	0.72; 0.49, 1.07	Αναφ. Αναφ.	0.47; 0.28, 0.81	0.96; 0.55, 1.66	0.99; 0.56, 1.74	0.50; 0.29, 0.80
						0.15; 0.03, 0.83
<i>Μοντέλο 3</i>	0.76; 0.49, 1.19	Αναφ. Αναφ.	0.47; 0.26, 0.83	1.05; 0.57, 1.93	1.25; 0.65, 2.37	0.44; 0.25, 0.76
						0.11; 0.02, 0.67

Στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση βρέθηκε ανάμεσα στη κατανάλωση αλκοόλ με το *MedDietScore* και την ύπαρξη μεταβολικού συνδρόμου. Διαστρωματοποιημένες αναλύσεις έδειξαν ότι η προστατευτική δράση της χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ είναι σημαντική μόνο για τα άτομα με υψηλή προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή ($\Sigma\Lambda=0.08$; 95%ΔΕ: 0.011, 0.70) και χωρίς μεταβολικό σύνδρομο στην αφετηρία της μελέτης ($\Sigma\Lambda= 0.34$; 95%ΔΕ: 0.16, 0.70). Όσον αφορά τις επιμέρους συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου, σημαντική προστατευτική δράση παρατηρήθηκε μεταξύ των ατόμων με γλυκόζη νηστείας <110mg/dL ($\Sigma\Lambda=0.35$; 95%ΔΕ: 0.18, 0.67, τριγλυκερίδια <150mg/dL ($\Sigma\Lambda=0.43$; 95%ΔΕ: 0.22, 0.85) και περίμετρο μέσης <102εκ (άνδρες) και 88εκ. (γυναίκες) ($\Sigma\Lambda=0.28$; 95%ΔΕ: 0.11, 0.70)

Τύπος αλκοολούχου ποτού και 10ετής επίπτωση ΣΔτ2

Ο τύπου κάθε αλκοολούχου ποτού (κρασί, μπύρα, βότκα, ουίσκι, ούζο, μαρτίνι, μπράντι, λικέρ) αξιολογήθηκε μεμονωμένα, αλλά δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση με την ανάπτυξη διαβήτη για κανένα είδος ποτού. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη δυσκολία διάκρισης των ατόμων που πίνουν μόνο ένα είδος ποτού. Συνεπώς, δημιουργήθηκε ένα πηλίκο, με αριθμητή την κατανάλωση κρασιού, μπύρας ή βότκας (καθώς αναφέρονταν πιο συχνά στο δείγμα της μελέτης) και παρονομαστή την κατανάλωση των υπολοίπων αλκοολούχων ποτών. Αύξηση κατά 1 μονάδα του λόγου σχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο ($\Sigma\Lambda = 0.11$; $95\%\Delta E: 0.02, 0.67$).

4.5 Ο ρόλος του καφέ στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Η επίπτωση του διαβήτη ήταν $n=23$ περιστατικά (9.6%) στα άτομα που απείχαν από την κατανάλωση καφέ, $n=57$ (7.0%) στην ομάδα των ατόμων με περιστασιακή κατανάλωση και $n=20$ (5.2%) στην ομάδα της συνήθους κατανάλωσης. Στον **πίνακα 4.7**, παρουσιάζεται το μοτίβο κατανάλωσης καφέ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ ανάλογα με τον αν ανέπτυξαν ή όχι διαβήτη έως το 10ετή επανέλεγχο. Οι συμμετέχοντες που δεν ανέπτυξαν διαβήτη κατανάλωναν σε μεγαλύτερο ποσοστό καφέ και σε μεγαλύτερες ποσότητες

Η ανάλυση τάσης στους σχετικούς λόγους που προέκυψαν από σταθμισμένα για ηλικία και φύλο μοντέλο, ανά κατηγορία κατανάλωσης καφέ, ανέδειξε μια γραμμική σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ (αποχή, <200ml, 200-400ml, >400ml) και την επίπτωση του διαβήτη (R^2 για τη γραμμική σχέση 0.97, $p=0.017$). Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όταν συγκεκριμένοι τύποι καφέ συμπεριλήφθηκαν στις αναλύσεις. Τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται λόγω του μικρού αριθμού περιστατικών διαβήτη σε κάθε κατηγορία τύπου καφέ.

Όπως φαίνεται στον **πίνακα 4.8**, στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο της πολυπαραγοντικής ανάλυσης (σταθμισμένο για ηλικία, φύλο, κάπνισμα, υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό ΣΔτ2, έτη εκπαίδευσης, φυσική δραστηριότητα, περίμετρο μέσης, προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή), τα άτομα που

κατανάλωναν $\geq 250mL$ καφέ ημερησίως διέτρεχαν 54% χαμηλότερο 10ετή κίνδυνο για διαβήτη, σε σχέση με τα άτομα που απείχαν εντελώς από την κατανάλωση καφέ ($\Sigma\Lambda=0.46$; 95%ΔΕ: 0.24, 0.90). Επίσης, όταν λήφθηκε υπόψη η κατανάλωση άλλων καφεινούχων ροφημάτων (π.χ. τσάι, κόκα κόλα), η προστατευτική σχέση διατηρήθηκε ($\Sigma\Lambda=0.23$; 95%ΔΕ: 0.04, 1.04). Για τα άτομα με περιστασιακή κατανάλωση καφέ τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά.

Πίνακας 4.7. Πρότυπο κατανάλωσης καφέ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2 ($v=1440$)*

	Δεν ανέπτυξαν	Ανέπτυξαν	
	διαβήτη	διαβήτη	p
	($n=1253$)	($n=187$)	
Κατανάλωση καφέ, v (%)	1057 (84)	144 (77)	0.012
Ποσότητα καφέ, $mL/\text{ημέρα}$	117 ± 123	103 ± 123	0.004
Κατηγορίες κατανάλωσης καφέ, v (%)			0.014
– <i>Αποχή</i>	196 (16)	43 (23)	
– <i>Περιστασιακή κατανάλωση, $<250mL/\text{ημέρα}$</i>	710 (57)	106 (57)	
– <i>Συνήθης κατανάλωση καφέ, $\geq 250mL/\text{ημέρα}$</i>	347 (28)	38 (20)	

*Αναλύθηκαν $v=1440$ άτομα για τα οποία υπήρχαν πληροφορίες για την κατανάλωση καφέ.

**1 "σταθμισμένο" φλιτζάνι ορίστηκε ισοδύναμο με $150mL$ καφέ (ίσο με $450ml$ καφέ φίλτρου ή $300mL$ στιγμιαίου καφέ). Σύμφωνα με την παρατηρούμενη κατανομή του μοτίβου κατανάλωσης καφέ τέσσερις κατηγορίες καφέ δημιουργήθηκαν: αποχή, χαμηλή ($<250 ml/\text{ημέρα}$), μέτρια ($250-400 ml / \text{ημέρα}$) και υψηλή ($\geq 400ml / \text{ημέρα}$) κατανάλωση. Ωστόσο, λόγω του πολύ μικρού αριθμού συμμετεχόντων στην υψηλότερη κατηγορία (δηλ, $v=64$), οι δύο υψηλότερες ομάδες συγχωνεύτηκαν (δηλ, $\geq 250 ml / \text{ημέρα}$). Η κατανάλωση $<250 ml/\text{ημέρα}$ (<1.5 σταθμισμένο φλιτζάνι) ορίστηκε ως «περιστασιακή» και $\geq 250ml/\text{ημέρα}$ (≥ 1.5 σταθμισμένο φλιτζάνι) ως «συνήθης». Επίσης, καταγράφηκε η κατανάλωση καφέ χωρίς καφεΐνη, αλλά δεν χρησιμοποιήθηκε στις αναλύσεις λόγω του πολύ μικρού αριθμού συμμετεχόντων που δήλωσαν την κατανάλωση αυτού του τύπου καφέ ($v=47$).

Πίνακας 4.8. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη ($n=1485$).

Κατανάλωση καφέ vs. αποχή (n=1201)	Κατηγορίες κατανάλωσης καφέ			
	Αποχή (n=239)	Περιστασιακή (n=816)	Συνήθης (n=385)	
	0ml/ημέρα	<250mL/ημέρα	≥250mL/ημέρα	
Μοντέλο 1	0.75; 0.50, 1.11	Αναφ.	0.77; 0.52, 1.16	0.67; 0.40, 1.11
Μοντέλο 2	0.61; 0.37, 0.99	Αναφ.	0.66; 0.40, 1.10	0.45; 0.24, 0.85
Μοντέλο 3	0.62; 0.37, 1.04	Αναφ.	0.66; 0.40, 1.12	0.49; 0.26, 0.95
Μοντέλο 4	0.61; 0.36, 1.01	Αναφ.	0.66; 0.39, 1.11	0.46; 0.24, 0.90

Για να διερευνηθεί ο πιθανός μηχανισμός πίσω από την παρατηρηθείσα αντιδιαβητική δράση του καφέ, διάφοροι δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες εισήχθησαν σταδιακά στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο. Η λογιστική παλινδρόμηση ανέδειξε τον πιθανό διαμεσολαβητικό ρόλο τόσο της φλεγμονής όσο και του οξειδωτικού στρες, καθώς με την προσθήκη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, της οξειδωμένης LDL, της CRP, ή του αμυλοειδούς-Α η στατιστικά σημαντική σχέση του καφέ εξαλειφόταν (p -values >0.05).

4.6 Ο ρόλος της φυσικής δραστηριότητας στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Η 10ετής επίπτωση διαβήτη ήταν $n=68$ περιστατικά (13%), $n=48$ (14%), $n=25$ (9.0%) και $n=50$ (14%), αντίστοιχα στα τέσσερα τεταρτημόρια φυσικής δραστηριότητας (πολύ χαμηλή, χαμηλή, μέτρια και έντονη). Η κατανομή των ατόμων που ανάπτυξαν διαβήτη ανά τεταρτημόριο ΦΔ (34%, 22%, 19% και 25%) ήταν παρόμοια με αυτή των ατόμων που δεν ανέπτυξαν διαβήτη (36%, 25%, 13% και 26%) αντίστοιχα.

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, που παρουσιάζεται στον **πίνακα 4.9**, λήφθηκαν υπόψη κλασικοί συγχυτικοί παράγοντες (π.χ. οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, κάπνισμα), καθώς και παράγοντες που διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην αφετηρία της μελέτης (π.χ. τριγλυκερίδια, γλυκόζη νηστείας). Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο, η μέτρια φυσική δραστηριότητα (MET λεπτά/εβδομάδα 331-1484), συγκριτικά με την πολύ χαμηλή

φυσική δραστηριότητα MET λεπτά/εβδομάδα <150), επέφερε μείωση του δεκαετούς κινδύνου για διαβήτη κατά 53% ($\Sigma\Lambda_{30}$ vs. 10 τεταρτημόριο=0.47; 95%ΔΕ: 0.24, 0.93). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση για την επίδραση του χαμηλού και υψηλού επιπέδου φυσικής δραστηριότητας, σε σχέση με το πολύ χαμηλό, στη δεκαετή ανάπτυξη διαβήτη.

Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο λήφθηκε υπόψη και η περιφέρεια μέσης ώστε να ελεγχθεί αν η προστατευτική δράση της μέτριας ΦΔ είναι ανεξάρτητη του σωματικού βάρους. Ωστόσο, όταν το μοντέλο σταθμίστηκε για την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ή την οξειδωμένη LDL η στατιστική σημαντικότητα εξαλείφθηκε, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μέτρια φυσική δραστηριότητα πιθανόν να προστατεύει ενάντια στην εμφάνιση διαβήτη, μέσω μείωσης του οξειδωτικού στρες.

Τέλος, η επίτευξη των 600 MET-λεπτών/εβδομάδα (το ελάχιστο συνιστώμενο επίπεδο σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, ένας στόχος που επιτυγχάνεται από το 37% του δείγματος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ), φάνηκε πως δεν αρκεί για να επιτευχθεί όφελος ($\Sigma\Lambda=0.91$, 95%ΔΕ: 0.66, 1.26).

Πίνακας 4.9. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης ($\Sigma\Lambda$, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη ($n=1485$).

Επίπεδο φυσικής δραστηριότητας				
	Πολύ χαμηλό (n=509)	Χαμηλό (n=334)	Μέτριο (n=271)	Υψηλό (n=371)
<i>Μοντέλο</i>	<i>Αναφ.</i>	0.83; 0.55, 1.26	0.56; 0.34, 0.92	0.91; 0.61, 1.37
1				
<i>Μοντέλο</i>	<i>Αναφ.</i>	0.81; 0.51, 1.31	0.51; 0.29, 0.89	0.98; 0.62, 1.54
2				
<i>Μοντέλο</i>	<i>Αναφ.</i>	0.71; 0.39, 1.30	0.47; 0.25, 0.90	0.95; 0.56, 1.62
3				
<i>Μοντέλο</i>	<i>Αναφ.</i>	0.77; 0.41, 1.49	0.47; 0.24, 0.93	1.04; 0.59, 1.82
4				

Μοντέλο 1: σταθμισμένο για ηλικία και φύλο

Μοντέλο 2: σταθμισμένο για τα παραπάνω, συν το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, κάπνισμα, υπέρταση και υπερχοληστερολαιμία

Μοντέλο 3: σταθμισμένο για τα παραπάνω, συν έτη εκπαίδευση, MedDietScore, γλυκόζη νηστείας και τριγλυκερίδια

Μοντέλο 4: σταθμισμένο για τα παραπάνω, συν περίμετρο μέσης

4.7. Ο ρόλος της χρόνιας φλεγμονής στη δεκαετή επίπτωση διαβήτη

Τα $n=191$ άτομα που ανέπτυξαν διαβήτη μέχρι το 10ετή επανέλεγχο παρουσίαζαν στην αφετηρία της μελέτης υψηλότερες μέσες τιμές γλυκόζης, ινσουλίνης, αντίστασης στην ινσουλίνη καθώς και υψηλότερες μέσες τιμές CRP, IL-6, TNF-α και ινωδογόνου (**Πίνακας 4.10**).

Πίνακας 4.10. Κατανομή των δεικτών γλυκαιμικού ελέγχου και φλεγμονής των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη 10ετή επίπτωση ΣΔτ2 ($n=1485$).

	Δεν ανέπτυξαν διαβήτη	Ανέπτυξαν διαβήτη	p
Δείκτες γλυκαιμικού ελέγχου			
• Γλυκόζη νηστείας, mg/dL	88±12	95±14	<0.001
• Ινσουλίνη νηστείας, μ U/mL	13±3.4; 12	14±3.4; 13	<0.001
• Δείκτης HOMA-IR	2.8±0.65	3.2±0.81	<0.001
Δείκτες φλεγμονής			
• C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/L	1.7±2.3	2.7±2.8	<0.001
• Ιντερλευκίνη-6, pg/mL	1.4±0.49	1.6±0.42	<0.001
• Παράγοντας νέκρωσης όγκων-α, pg/mL	6.1±4.4	6.8±3.6	<0.001
• Ινωδογόνο, mg/dL	302±66	336±77	<0.001
• Αμυλοειδές ορού-Α, mg/dL	4.4±4.6	4.6±3.8	0.05
• Ομοκυστεΐνη, μ mol/L	12±6.6	12±5.5	0.15

Στον **πίνακα 4.11**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης. Σε σταθμισμένα για φύλο και ηλικία μοντέλα, διαπιστώθηκε η επιβαρυντική σχέση της CRP και της IL-6 με την ανάπτυξη διαβήτη ($\Sigma\Lambda_{30}$ vs. 10 τριτημόριο =1.88; 95%ΔΕ: 1.21, 2.94 και $\Sigma\Lambda_{30}$ vs. 10 τριτημόριο=2.74; 95%ΔΕ: 1.56, 4.81). Ωστόσο, κατόπιν στάθμισης για όλους τους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (Μοντέλο 3), παρέμεινε η ισχυρή ανεξάρτητη επιβαρυντική επίδραση των αυξημένων τιμών μόνο της IL-6 στην

επίπτωση του διαβήτη ($\Sigma\Lambda_{30}$ vs. 1ο τριτημόριο = 2.20; 95%ΔΕ: 1.13, 4.28). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση των δεικτών φλεγμονής με το φύλο ή την ηλικία.

Πίνακας 4.11. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση επιπέδων IL-6 των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη (n=1254)

	1ο τριτημόριο	2ο τριτημόριο	3ο τριτημόριο	p
IL-6 (pg/mL)	0.3 – 1.25	1.26 – 1.46	1.47 – 7.1	
Περιστατικά ΔΔ; επίπτωση	21; 4.9%	39; 9.8%	100; 23.4%	<0.001
Μοντέλο 1	Αναφ.	1.40; 0.80 – 2.47	2.74; 1.56 – 4.81	<0.05
Μοντέλο 2	Αναφ.	1.19; 0.64 – 2.25	2.32; 1.23 – 4.40	<0.05
Μοντέλο 3	Αναφ.	1.07; 0.55 – 2.08	2.20; 1.13 – 4.28	<0.05
Μοντέλο 3+HOMA-IR	Αναφ.	0.99; 0.51 – 1.95	1.84; 0.94 – 3.63	0.034
Μοντέλο 3+ΔΜΣ**	Αναφ.	0.87; 0.44 – 1.70	1.30; 0.65 – 2.60	0.30

Σημαντικές θετικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ των επιπέδων CRP, IL-6 και ινωδογόνου με το ΔΜΣ ($r=0.38$, $r=0.22$ και $r=0.23$ αντίστοιχα, $p_s<0.001$), και την περίμετρο μέσης ($r=0.33$, $r=0.16$ και $r=0.21$ αντίστοιχα $p_s<0.001$) σταθμισμένες για φύλο και ηλικία. Πιο μέτριες συσχετίσεις βρέθηκαν για την IL-6 και τη CRP με τη γλυκόζη, την ινσουλίνη και το δείκτη HOMA-IR ($r_s<0.1$, $p_s<0.05$), σταθμισμένες για φύλο, ηλικία και ΔΜΣ. Στη συνέχεια αξιολογήθηκε ο πιθανός διαμεσολαβητικός ρόλος του ΔΜΣ και της αντίστασης στην ινσουλίνη στην εν λόγω σχέση, προσθέτοντας ξεχωριστά το ΔΜΣ και το δείκτη HOMA στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο. Σημαντική μείωση της στατιστικής σημαντικότητας παρατηρήθηκε τόσο με την προσθήκη του δείκτη HOMA-IR, αλλά κυρίως με το ΔΜΣ, γεγονός που υποδηλώνει τη διαμεσολάβηση της σχέσης φλεγμονής-διαβήτη από την παχυσαρκία. Στη συνέχεια αξιολογήθηκε η επίδραση της συνδυαστικής αύξησης δυο δεικτών φλεγμονής, που ορίστηκε ως η ταυτόχρονη αύξηση των επιπέδων των δεικτών φλεγμονής >75ο εκατοστημόριο της κατανομής τους. Βρέθηκε ότι η συνδυαστική αύξηση CRP ($\geq 75^{\text{th}}$ percentile=2.16mg/L) - IL-6 ($\geq 75^{\text{th}}$ percentile=1.57 pg/mL) καθώς και CRP - ινωδογόνου ($\geq 75^{\text{th}}$ percentile=343 mg/dL) οδηγεί σε αυξημένο δεκαετή κίνδυνο για διαβήτη της τάξης του 93% ($\Sigma\Lambda=1.93$, 95%ΔΕ: 1.20, 3.08) και 137% ($\Sigma\Lambda=2.37$, 95%ΔΕ: 1.37, 4.16)

αντίστοιχα. Και εδώ, ο δείκτης HOMA-IR, αλλά κυρίως ο ΔΜΣ αναδείχθηκαν σημαντικοί μεσολαβητές της υπό μελέτη σχέσης.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η αποτίμηση της δεκαετούς επίπτωσης του διαβήτη σε επαρκές, αντιπροσωπευτικό και τυχαία επιλεγμένο δείγμα του ενήλικου αστικού ελληνικού πληθυσμού, ελεύθερο καρδιαγγειακής νόσου, καθώς επίσης και η διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων παραγόντων στην ανάπτυξή του, εστιάζοντας κυρίως στη διατροφική συνιστώσα.

Από την ανάλυση των στοιχείων προκύπτουν τα εξής:

- η δεκαετής επίπτωση του διαβήτη υπολογίστηκε στο 12.9% (130 περίπου νέα περιστατικά ανά 1000 άτομα ελεύθερα καρδιαγγειακής νόσου ανά δεκαετία, με σταθερή διαχρονική εξέλιξη).
- το πηλίκο περιφέρειας μέσης/ ύψους >0.5 , το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, η ηλικία και η γλυκόζη νηστείας αναγνωρίστηκαν ως οι κλινικά σημαντικότεροι προσδιοριστές της δεκαετούς επίπτωσης της νόσου.
- η μέτρια και υψηλή υιοθέτηση της Μεσογειακή διατροφής μειώνουν 49% και 62% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, μέσω λογαριθμικής σχέσης.
- τα άτομα με σπλαγχνική παχυσαρκία βρέθηκε να ωφελούνται ακόμα περισσότερο από την υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής (56% και 72% μείωση του κινδύνου), που αποδόθηκε στα αυξημένα επίπεδα δεικτών φλεγμονής μεταξύ των ατόμων αυτών.
- η ανεξάρτητη μελέτη της σχέσης χρόνιας φλεγμονής-διαβήτη ανέδειξε την ανεξάρτητη επιβαρυντική επίδραση της IL-6, και των συνδυαστικά αυξημένων τιμών CRP-IL-6 και της CRP-ινωδιογόνου, ενώ αναδείχτηκε η διαμεσολαβητική δράση του αυξημένου σωματικού βάρους.
- το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, και ολικής αλέσεως δημητριακών (ψωμί, ζυμαρικά, παξιμάδια) βρέθηκε να μειώνει 40% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, μεταξύ των ατόμων ηλικίας 45-55 ετών, (εκ των υστέρων ανάδειξη διατροφικών προτύπων)
- κατανάλωση $\geq 250mL$ καφέ ημερησίως (σταθμισμένο για 28% περιεκτικότητα καφεΐνης) μειώνει 54% το δεκαετή κίνδυνο για διαβήτη σε σχέση με την αποχή από την κατανάλωση καφέ

- η χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ (<1 ποτήρι/ ημέρα, έως 12γρ αιθανόλης/ημέρα) μειώνει 53% το δεκαετή κίνδυνο για διαβήτη σε σχέση με την αποχή. Το κρασί και η μπύρα ενδεχομένως να υπερέχουν έναντι των άλλων αλκοολούχων ροφημάτων
- όσον αφορά, τέλος, το ρόλο της άσκησης, η επίτευξη 331-1484 MET λεπτών/εβδομάδα συγκριτικά με την πολύ χαμηλή φυσική δραστηριότητα (MET λεπτά/εβδομάδα <150), επέφερε 53% μείωση του δεκαετούς κινδύνου για διαβήτη, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση για την επίδραση του χαμηλού, αλλά ούτε και του υψηλού επιπέδου φυσικής δραστηριότητας.

Ακολουθεί λεπτομερής ανάπτυξη των ευρημάτων.

5.1 Επιδημιολογία του διαβήτη

Από το σύνολο των ατόμων, ηλικίας 18-89 ετών, 191 άτομα ανέπτυξαν διαβήτη στη δεκαετία, διαμορφώνοντας τη συνολική επίπτωση στο 12.9%. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η ετήσια επίπτωση του διαβήτη υπολογίστηκε ως 130 νέα περιστατικά για κάθε 10000 άτομα, ελεύθερα καρδιαγγειακής νόσου. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις επιπτώσεις της νόσου στα 2 φύλα, ούτε στη διαχρονική εξέλιξη της νόσου (2002-2007 και 2007-2012), αφού λήφθηκε υπόψη η αύξηση της ηλικία.

Στο επιδημιολογικό μοντέλο οι παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη αναδείχτηκαν οι εξής: το πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ύψος >0.5 (3.27 φορές αυξημένος κίνδυνος), η ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού διαβήτη (2.79 φορές αυξημένος κίνδυνος), η ηλικία (1.4 φορές αυξημένος κίνδυνος για κάθε δεκαετία), η γλυκόζη νηστείας (0.5 φορές αυξημένος κίνδυνος για κάθε 10mg/dL αύξηση) και η ενεργειακή πρόσληψη (20% αυξημένος κίνδυνος για κάθε 500 θερμίδες αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης). Αυτές οι επιδράσεις ήταν ανεξάρτητες και άλλων συγχυτικών παραγόντων, όπως το φύλο, η φυσική δραστηριότητα, τα έτη εκπαίδευσης, το κάπνισμα, η υπέρταση και η υπερχοληστερολαιμία. Συγκεκριμένα, το πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ύψος βρέθηκε ανώτερο στην πρόβλεψη διαβήτη έναντι άλλων κλασικών ανθρωπομετρικών δεικτών, όπως η περιφέρεια μέσης, το πηλίκο περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων ή η αυξημένη περιφέρεια μέσης (>94/80εκ ή >102/88 εκ. για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα), αλλά ισοδύναμο του δείκτη μάζας σώματος, ο οποίος στο αντίστοιχο μοντέλο επέφερε αύξηση του κινδύνου για διαβήτη 11% με κάθε 1 μονάδα αύξησή του.

Ιδιαίτερα ελπιδοφόρο είναι ότι ο παράγοντας πηλίκο περιφέρειας μέσης προς ύψος >0.5, είναι τροποποιήσιμος, που μεταφέρει το απλό μήνυμα δημόσιας υγείας για διατήρηση της περιφέρειας μέσης στο μισό του ύψους. Επίσης, οι στρατηγικές πρωτογενούς πρόληψης προτείνεται να εστιάσουν στην ομάδα ατόμων με υπάρχον οικογενειακό ιστορικό διαβήτη, λόγω της μεγάλης επιβάρυνσης για ανάπτυξη της νόσου που επιβεβαιώθηκε και στη συγκεκριμένη διατριβή.

5.2 Ο ρόλος της διατροφής στην ανάπτυξη διαβήτη

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής υποστηρίζουν την ευεργετική δράση του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου αναφορικά με τη δεκαετή επίπτωση διαβήτη. Από τα άτομα που ανέπτυξαν διαβήτη στη δεκαετία, πάνω από τους μισούς βρίσκονταν μακριά από τη Μεσογειακή διατροφή, και συγκεκριμένα σχεδόν 4 στις 10 γυναίκες και 7 στους 10 άνδρες. Τόσο η μεσαία όσο και η υψηλή υιοθέτηση του προτύπου βρέθηκαν να μειώνουν 49% και 62% αντίστοιχα τον κίνδυνο για διαβήτη, μέσω μια λογαριθμικής σχέσης, που σημαίνει ότι το όφελος μετακίνησης ενός ατόμου από την ομάδα χαμηλής στην ομάδα μέτριας υιοθέτησης της μεσογειακής διατροφής είναι μεγαλύτερο από τη μετακίνηση ενός ατόμου από τη μέτρια στην υψηλή υιοθέτηση. Συνεπώς, προτείνεται οι στρατηγικές πρωτογενούς πρόληψης να εστιάσουν στην αναγνώριση των ατόμων που βρίσκονται πολύ μακριά από το μεσογειακό πρότυπο ($MedDietScore \leq 25$), με σόχο μικρές διατροφικές αλλαγές που θα μετακινήσουν τα άτομα στην κατηγορία μέτριας τουλάχιστον υιοθέτησης της μεσογειακής διατροφής ($26 \leq MedDietScore \leq 28$).

Τα άτομα με σπλαγχνική παχυσαρκία βρέθηκε να ωφελούνται επί το πλείστον από την υιοθέτηση του μεσογειακού προτύπου (μείωση του κινδύνου 56% και 72% για τη μεσαία και υψηλή, vs. χαμηλή, υιοθέτηση του προτύπου αντίστοιχα). Το εύρημα αυτό αποδόθηκε στη μείωση της αυξημένης φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες, απότοκων της κεντρικής συσσώρευσης λίπους στα άτομα αυτά. Αυτή η παρατήρηση επιβεβαιώθηκε, από περαιτέρω διερεύνηση της ανεξάρτητης επίδρασης της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής στην ανάπτυξη διαβήτη. Στην αντίστοιχη εργασία αναδείχθηκε η σημαντική επιβαρυντική επίδραση της αυξημένης IL-6, και οι συνδυαστικές αυξήσεις της CRP-IL-6 και της CRP-ινωδογόνου, οι οποίες όμως βρέθηκαν ότι πυροδοτούνται από το αυξημένο σωματικό βάρος. Όσον αφορά τη μεμονωμένη σχέση δεικτών φλεγμονής με την ανάπτυξη διαβήτη,

μετανάλυση 10 προοπτικών μελετών βρήκε αύξηση κατά 31% του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη για κάθε 1 log pg/mL αύξηση της IL-6, σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, αλλά και 26% αύξηση του κινδύνου για κάθε 1 log mg/L αύξηση της CRP, κάτι που δεν αναδείχθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (Wang, Bao et al. 2013). Το ινωδογόνο έχει επίσης συσχετιστεί με την ανάπτυξη διαβήτη (Festa, D'Agostino et al. 2002), αν και σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα δεν έχει μέχρι τώρα βρεθεί μεμονωμένη συσχέτιση (Barzilay, Abraham et al. 2001, Bertoni, Burke et al. 2010). Από την άλλη πλευρά, η συνδυαστική αύξηση δεικτών φλεγμονής έχει ελάχιστα μελετηθεί σε σχέση με την ανάπτυξη διαβήτη.

Όσον αφορά το ρόλο της παχυσαρκίας στη σχέση φλεγμονή - διαβήτης, οι Shimoda και συνεργάτες επίσης βρήκαν ότι ο δείκτης μάζας σώματος είναι προγνωστικός δείκτης αυξημένων τιμών CRP μόνο μεταξύ παχύσαρκων, και όχι νορμοβαρών, ατόμων (Shimoda, Kaneto et al. 2016). Στην παχυσαρκία ο λιπώδης ιστός γίνεται ο βασικός ιστός - παραγωγός μορίων φλεγμονής (Calder, Ahluwalia et al. 2011). Τα τριγλυκερίδια συσσωρεύονται καταρχάς στα λιποκύτταρα, όμως στη συνέχεια και έκτοπα, σε όργανα όπως το ήπαρ, επάγοντας το κυτταρικό στρες και ενεργοποιώντας τη σηματοδότηση των JNK και IKKβ/NF-κβ μονοπατιών. Αυτά με τη σειρά τους οδηγούν σε απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης της IL-6 και του TNF-α, που από τη μια οδηγούν σε παραγωγή πρωτεΐνων οξείας φάσης (CRP, ινωδογόνο) από την άλλη ανατροφοδοτούν θετικά το μονοπάτι (Shoelson, Lee et al. 2006). Τα στρατολογημένα μακροφάγα επίσης εμπλέκονται στην όλη διαδικασία, με τελικό αποτέλεσμα τη συστηματική φλεγμονή, που προάγει την αντίσταση στην ινσουλίνη σε ινσουλινο-ευαίσθητους ιστούς. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η CRP, που κλασικά πιστευόταν ότι παράγεται αποκλειστικά από το ήπαρ (Moshage, Roelofs et al. 1988), φαίνεται ότι απελευθερώνεται και από το λιπώδη ιστό, σε προφλεγμονώδες περιβάλλον (Calabro, Chang et al. 2005), ενδυναμώνοντας τα ευρήματά μας για τη σημασία του υπερβάλλοντος λιπώδους ιστού στη σχέση φλεγμονή-διαβήτης.

Οι τρεις πιο προστατευτικές συνιστώσες της μεσογειακής διατροφής βρέθηκαν τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα φρούτα και τα όσπρια. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία και με την εκ των υστέρων ανάλυση που ακολουθήθηκε για εντοπισμό διατροφικών προτύπων και προσδιορισμό του ρόλου τους στην ανάπτυξη διαβήτη.

Συγκεκριμένα, η παραγοντική ανάλυση σε 18 τρόφιμα και ομάδες τροφίμων, που προέκυψαν από 156 τρόφιμα του ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, ανέδειξε 6 διατροφικά πρότυπα. Εξ' αυτών, το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση "καλής ποιότητας υδατανθράκων", δηλαδή φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, και ολικής αλέσεως δημητριακών (ψωμί, ζυμαρικά, παξιμάδια), βρέθηκε να μειώνει κατά 40% τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, αν και σε οριακά στατιστικά σημαντικό βαθμό. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ταύτιση των 2 αναλύσεων, που επιβεβαιώνουν τη σημαντική προστατευτική δράση των εν λόγω ομάδων τροφίμων στην ανάπτυξη διαβήτη.

Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί πίσω από την αντιδιαβητική δράση αυτών των τροφίμων είναι πολλοί. Καταρχάς, οι διαιτητικές ίνες δρουν προστατευτικά, λόγω της καθυστερημένης γαστρικής κένωσης, και κατά συνέπεια της πιο σταδιακής απορρόφησης γλυκόζης που οδηγεί σε μειωμένες ανάγκες για έκκριση ινσουλίνης (Liese, Schulz et al. 2005). Επίσης, ανεπάρκεια μαγνησίου, καλές πηγές του οποίου είναι τα όσπρια και το πίτουρο των δημητριακών ολικής άλεσης, οδηγεί σε μειωμένη ενδοκυτταρική δραστηριότητα που δύναται να ενισχύσει την αντίσταση στην ινσουλίνη (Barbagallo, Dominguez et al. 2003). Τέλος, τα αντιοξειδωτικά, άφθονα σε φρούτα και λαχανικά, δύναται να αναστείλουν, επαγόμενες από το οξειδωτικό στρες βλάβες στα παγκρεατικά β-κύτταρα, που επηρεάζουν το δυναμικό τους για παραγωγή και έκκριση ινσουλίνης (Evans, Goldfine et al. 2003).

5.3 Ο ρόλος του καφέ και του αλκοόλ στην ανάπτυξη διαβήτη

Στο πλαίσιο της αξιολόγησης του ρόλου της διατροφής στην ανάπτυξη διαβήτη, αξιολογήθηκε επιπρόσθετα ο ανεξάρτητος ρόλος του καφέ και του αλκοόλ στη δεκαετή επίπτωση της νόσου.

'Οσον αφορά τη σχέση καφέ-διαβήτη, η παρούσα διατριβή υποστηρίζει προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης καφέ σε ποσότητα $\geq 250\text{mL}$ καφέ ημερησίως (σταθμισμένο για 28% περιεκτικότητα καφεΐνης). Αν και παρατηρήθηκε μια γραμμική σχέση, μόνο τα άτομα που κατανάλωναν $\geq 250\text{mL}$ καφέ ημερησίως βρέθηκε να διατρέχουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό 54% χαμηλότερο δεκαετή κίνδυνο για διαβήτη, σε σχέση με τα άτομα που δεν κατανάλωναν καφέ, μια σχέση που ήταν ανεξάρτητη άλλων καφεΐνούχων ροφημάτων (π.χ. τσάι, κόκα κόλα). Με εξαίρεση ορισμένες μελέτες (Reunanen, Heliovaara

et al. 2003, Saremi, Tulloch-Reid et al. 2003), έχει υποστηριχθεί από πολλούς ερευνητές μια αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση αλκοόλ και τον κίνδυνο για διαβήτη (van Dam and Hu 2005, Jiang, Zhang et al. 2013), ενώ έχει προταθεί και η ύπαρξη δοσοεξαρτώμενης σχέσης (Jiang, Zhang et al. 2013). Ωστόσο, όπως και με το αλκοόλ, μεγάλη ετερογένεια υπάρχει στη βιβλιογραφία σχετικά με τον ορισμό της "μέτριας" ή "υψηλής" κατανάλωσης καφέ, με την υψηλή κατανάλωση καφέ, να έχει οριστεί έως και 7 φλιτζάνια/ ημέρα (Carlsson, Hammar et al. 2004).

Ως μίγμα πολλών συστατικών (καφεΐνη, χλωρογενικό οξύ, μικροστοιχεία) η ευεργετική επίδραση του καφέ μπορεί να αποδοθεί σε πολλούς μηχανισμούς. Στη συγκεκριμένη διατριβή προτάθηκε η πιθανή διαμεσολάβηση της σχέσης από μείωση δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες. Πράγματι, και σε άλλες μελέτες έχει φανεί ότι ο καφές μειώνει τη CRP (Lopez-Garcia, van Dam et al. 2006, Kotani, Tsuzaki et al. 2008, Pham, Wang et al. 2011, Yamashita, Yatsuya et al. 2012), που όπως προαναφέρθηκε έχει σχετιστεί και ανεξάρτητα με την ανάπτυξη διαβήτη, ενώ αυξάνει και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος (Natella, Nardini et al. 2002) παρέχοντας προστασία ενάντια στις ελεύθερες ρίζες και στη βλάβη που επιφέρουν στο "ευαίσθητο στο οξειδωτικό στρες" πάγκρεας. Σε μια ανασκόπηση του Akash και συνεργατών προτάθηκαν και άλλοι μηχανισμοί (Akash, Rehman et al. 2014). Συγκεκριμένα, η μακροχρόνια χρήση καφέ βοηθά στη διατήρησης φυσιολογικής ανοχής στη γλυκόζη και βελτιώνει την ινσουλινοευαισθησία. Το χλωρογενικό οξύ αναστέλλει τη δράση της 6-φώσφο-γλυκόζης, ενώ φαινολικά συστατικά του καφέ ενεργοποιούν τους GLUT-4 υποδοχείς, αυξάνοντας την περιφερική πρόσληψη γλυκόζης. Τέλος μακροχρόνια χρήση καφέ αυξάνει τα επίπεδα μαγνησίου ορού, ανεπάρκεια του οποίου αυξάνει, όπως προαναφέρθηκε, την αντίσταση στην ινσουλίνη (Barbagallo, Dominguez et al. 2003), ενώ βοηθά και στην απώλεια βάρους αυξάνοντας τη θερμογένεση και το μεταβολισμό του λίπους.

Όσον αφορά το αλκοόλ, αναδείχθηκε η ευεργετική επίδραση της χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ (<1 ποτήρι/ ημέρα, έως 12γρ αιθανόλης/ημέρα) ενάντια στην ανάπτυξη διαβήτη (μείωση κατά 53% του κινδύνου), σε σχέση με την πλήρη αποχή από το αλκοόλ, ωστόσο δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές σχέσεις για υψηλότερες προσλήψεις αλκοόλ. Ο λόγος κρασιού/ μπύρας/ βότκας προς άλλα ροφήματα βρέθηκε επίσης να σχετίζεται ισχυρά με μείωση του κινδύνου, αναδεικνύοντας την πιθανή υπεροχή των

προαναφερθέντων ροφημάτων στην ανάπτυξη διαβήτη. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με τις περισσότερες μελέτες, οι οποίες έχουν αναδείξει ότι η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ προστατεύει σε σχέση με την αποχή ή τη βαριά κατανάλωση (Baliunas, Taylor et al. 2009, Rasouli, Ahlbom et al. 2013, Shi, Shu et al. 2013), αν και πρέπει να επισημανθεί ότι υπάρχει μεγάλη διακύμανση στη βιβλιογραφία όσον αφορά τον ορισμό της "μέτριας" κατανάλωσης αλκοόλ. Σχετικά με το είδος του αλκοολούχου ποτού, οι περισσότερες μελέτες δεν έχουν εντοπίσει σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων ποτών (Clerc, Nanchen et al. 2010), γεγονός που υποστηρίζει ότι το όφελος μπορεί να αποδίδεται στην αιθανόλη. Σε γενικές γραμμές πολλοί μηχανισμοί έχουν προταθεί για τον αντιδιαβητικό ρόλο της αιθανόλης, όπως η αύξηση της κυκλοφορούσας αντιπονεκτίνης, που αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία και μειώνει τη φλεγμονή (Beulens, Rimm et al. 2008), η μείωση της φετούΐνης-Α, μιας γλυκοπρωτεΐνης που αλλοιώνει την δραστηριότητα της τυροσινικής κινάσης του υποδοχέα της ινσουλίνης (Ley, Sun et al. 2014) καθώς και η μείωση της ινσουλίνης και γλυκαγόνης πλάσματος (Konrat, Mennen et al. 2002, Bonnet, Disse et al. 2012). Βέβαια, οι Καο και συνεργάτες υποστήριξαν ότι και το είδος του αλκοόλ ενδέχεται να παίζει κάποιο ρόλο, με τη μπύρα και το κρασί να είναι ίσως τα πιο ευεργετικά (Kao, Puddey et al. 2001), υποδεικνύοντας την πιθανή συμμετοχή και άλλων συστατικών, πέραν της αιθανόλης, όπως η ρεσβερατρόλη, που έχει βρεθεί ότι αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Liu, Zhou et al. 2014).

5.4 Ο ρόλος της σωματικής δραστηριότητας στην ανάπτυξη διαβήτη

Στο πλαίσιο ενός υγιεινού τρόπου ζωής, η σωματική δραστηριότητα έχει εξέχουσα σημασία και σε συνδυασμό με την υγιεινή διατροφή αποτελούν ακρογωνιαίους λίθους στην πρόληψη του ΣΔτ2. Στην παρούσα διατριβή αναδείχθηκε η ευεργετική δράση της μέτριας σωματικής δραστηριότητας στην ανάπτυξη διαβήτη. Συγκεκριμένα, η επίτευξη 331-1484 MET λεπτών/εβδομάδα συγκριτικά με την πολύ χαμηλή φυσική δραστηριότητα (MET λεπτά/εβδομάδα <150), επέφερε μείωση του δεκαετούς κινδύνου για διαβήτη κατά 53%, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση για την επίδραση του χαμηλού, αλλά ούτε και του υψηλού επιπέδου φυσικής δραστηριότητας, σε σχέση με το πολύ χαμηλό. Το παρατηρηθέν αποτέλεσμα ενδέχεται να μεσολαβείται από μείωση του οξειδωτικού στρες. Επίσης, η επίτευξη των 600 MET-λεπτών/εβδομάδα (το ελάχιστο συνιστώμενο επίπεδο

σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, ένας στόχος που βρέθηκε να επιτυγχάνεται μόνο από το 37% του δείγματος της μελέτης ATTIKΗ), φάνηκε πως δεν είναι αρκετός για να παραχθεί σημαντική αντιδιαβητική προστασία.

Σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, μετανάλυση 55 μελετών, κατέληξε ότι το μέγιστο όφελος της άσκησης ενάντια στην ανάπτυξη διαβήτη παρατηρείται σε χαμηλότερο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, ενώ σε πάνω από 3000-4000 MET λεπτά/ εβδομάδα, το όφελος μειωνόταν (Kyu, Bachman et al. 2016). Από την άλλη πλευρά όμως, υπάρχουν συστηματικές εργασίες που δείχνουν προς την ύπαρξη δοσοεξαρτώμενης σχέσης (Aune, Norat et al. 2015, Huai, Han et al. 2016). Συνεπώς, φαίνεται πως χρειάζονται περισσότερες εργασίες προκειμένου να διαπιστωθεί το κατώφλι MET-λεπτών/ εβδομάδα πάνω από το οποίο παρατηρείται σημαντική διαφορά και να διαμορφωθεί το βέλτιστο προπονητικό πρόγραμμα (ένταση, διάρκεια, συχνότητα) με στόχο την πρωτογενή πρόληψη του διαβήτη.

Η άσκηση ενεργοποιεί τη σύσπαση μεγάλων και μικρότερων μυϊκών ομάδων με αποτέλεσμα την αυξημένη παροχή αίματος προς τους σκελετικούς μυς και την άμεση απομάκρυνση της γλυκόζης από την κυκλοφορία, μέσω των GLUT-4 υποδοχέων. Η άσκηση υποβοηθά στην αποκατάσταση της ηπατικής και μυϊκής αντίστασης στην ινσουλίνη, όχι μόνο απευθείας (μέσω ενεργοποίησης της AMP-κινάσης και ομαλοποίησης της βιογένεσης των μιτοχονδρίων) αλλά και δευτερογενώς μέσω της μείωσης του σωματικού βάρους, ιδιαίτερα του σπλαγχνικού λίπους (Yeo and Coker 2008, Way, Hackett et al. 2016). Μάλιστα, ορισμένα είδη άσκησης επιφέρουν και αύξηση της υπάρχουσας μυϊκής μάζας, οδηγώντας σε αύξηση του βασικού μεταβολικού ρυθμού, που βοηθά περαιτέρω στην απώλεια βάρους, αλλά και σε επιπλέον αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη.

5.5 Περιορισμοί

Η μελέτη ATTIKΗ είναι προοπτική μελέτη παρατήρησης που αποτίμησε, μεταξύ άλλων, και την επίπτωση του ΣΔτ2 σε μεγάλο βάθος χρόνου (10 έτη) και χρησιμοποίησε δείγμα αντιπροσωπευτικό του αστικού ελληνικού πληθυσμού. Όπως κάθε μελέτη, έχει και περιορισμούς που πρέπει να αναφερθούν. Η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών μετρήθηκε μόνο κατά την ένταξη των εθελοντών στη μελέτη, το 2001-2002, επομένως εγείρεται το θέμα της σταθερότητας των χαρακτηριστικών των εθελοντών – ιδιαίτερα των συμπεριφοριστικών- κατά τη διάρκεια της 10ετίας που ακολούθησε. Σε κάθε περίπτωση,

αυτή είναι η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται στις περισσότερες αντίστοιχες μελέτες σε παγκόσμιο επίπεδο. Η μελέτη συμπεριέλαβε στο δείγμα άτομα που διαβιούσαν στην περιοχή της Αττικής, επομένως η όποια γενίκευση αφορά ως επί το πλείστον τον αστικό πληθυσμό της χώρας. Από την αρχική αξιολόγηση αποκλείστηκαν άτομα με καρδιαγγειακή νόσο, που επίσης επηρεάζει τη γενικευσιμότητα των αποτελεσμάτων.

Καθώς η ακριβή ημερομηνία διάγνωσης του διαβήτη στη δεκαετία που παρακολουθήθηκαν τα άτομα δεν ήταν γνωστή, προτιμήθηκε η χρήση του Σχετικού Λόγου για εκτίμηση του Σχετικού Κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη, ώστόσο η μεθοδολογική αυτή τακτική είναι δόκιμη για νόσους μικρού επιπολασμού. Είναι ακόμα πιθανή η υποεκτίμηση της νόσου, καθώς κάποια άτομα δεν εξετάστηκαν, αλλά αυτοδήλωσαν τη νόσο, ενώ η σχετικά χαμηλή επίπτωσή της μπορεί να οδήγησε σε υποεκτίμηση των παραγόντων κινδύνου.

5.6 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, τα παραπάνω ευρήματα ενισχύουν ακόμη περισσότερο την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, αναδεικνύοντας τη σημασία μη φαρμακολογικών προσεγγίσεων στην πρωτογενή πρόληψη του διαβήτη τύπου 2. Ωστόσο, είναι έκδηλη η ανάγκη διεξαγωγής περισσότερων μελετών προκειμένου να επιβεβαιωθούν περισσότερο ή όχι τα εν λόγω αποτελέσματα. Η επίπτωση του διαβήτη αυξάνεται δραματικά τα τελευταία χρόνια τόσο στον ελληνικό πληθυσμό όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι μέχρι τώρα στρατηγικές πρόληψης δεν είναι αποτελεσματικές. Δεδομένης της οικονομικής κρίσης που μαστίζει τη χώρα τα τελευταία 8 χρόνια, η αναχαίτιση κοστοβόρων παθήσεων με ταυτόχρονη μείωση του κόστους πρόληψης αποτελεί προτεραιότητα για τον τομέα της υγείας. Στην αναζήτηση τέτοιων λύσεων, είναι απαραίτητη η έγκαιρη και έγκυρη αναγνώριση των εν δυνάμει διαβητικών ασθενών και από την άλλη των παραγόντων εκείνων, όπως η διατροφή και η σωματική δραστηριότητα, που επηρεάζουν αιτιολογικά την πορεία της νόσου.

Η εκ των προτέρων και εκ των υστέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων οδήγησαν στην εξαγωγή παρόμοιων αποτελεσμάτων καθώς ανέδειξαν την ευεργετική επίδραση τόσο του Μεσογειακού προτύπου, όσο και ενός προτύπου βασισμένου στα φρούτα, τα λαχανικά, τα όσπρια και τα δημητριακά ολικής άλεσης, επισημαίνοντας την αξία να δοθεί έμφαση στα

τρόφιμα αυτά, ειδικά για τα άτομα σε αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη διαβήτη. Η σύσταση αυτή πέραν του ότι είναι αποτελεσματική, αποτελεί συνάμα μια οικονομική και εύκολα αποδεκτή λύση για τον ελληνικό πληθυσμό που είναι εξοικειωμένος με το συγκεκριμένο διατροφικό πρότυπο. Τα άτομα με σπλαγχνική παχυσαρκία βρέθηκε να ωφελούνται περισσότερο από την υιοθέτηση της μεσογειακής διατροφής, ένα εύρημα που μπορεί να αποδοθεί στις αυξημένες τιμές δεικτών φλεγμονής που παρουσιάζουν. Η φλεγμονή βρέθηκε ότι ασκεί σημαντική επιβαρυντική δράση στην ανάπτυξη διαβήτη, που όμως μεσολαβείται από το αυξημένο σωματικό βάρος, κάτι που ενδυναμώνει το παραπάνω εύρημα. Το αλκοόλ και ο καφές βρέθηκαν να παρέχουν όφελος, σε χαμηλές και μέτριες προσλήψεις αντίστοιχα.

Τέλος, η μέτρια, αλλά όχι η υψηλή, φυσική δραστηριότητα δύναται να μειώσει τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη, ωστόσο προς αυτή την κατεύθυνση φαίνεται πως απαιτούνται μεγαλύτερες και πιο στοχευμένες μελέτες, με σκοπό την ανάδειξη του βέλτιστου προπονητικού σχεδιασμού (διάρκεια, ένταση, συχνότητα) στο κομμάτι της πρωτογενούς πρόληψης του διαβήτη.

Παρ' όλους τους περιορισμούς της συγκεκριμένης μελέτης, τα ευρήματα, σταθμισμένα για ποικίλους συγχυτικούς παράγοντες, αναδεικνύουν ένα σημαντικό μήνυμα για τη δημόσια υγεία, αυτό της πρόληψης του σακχαρώδη διαβήτη δια μέσου της διατροφής και του γενικότερου τρόπου ζωής. Τα στοιχεία που αναδείχθηκαν πρέπει να διδάσκονται μέσα στην ίδια την οικογένεια, αλλά και στο σχολικό περιβάλλον, από τα πρώτα χρόνια της μαθητικής εκπαίδευσης, και να υιοθετηθούν ουσιαστικά από την Πολιτεία και τους φορείς δημόσιας υγείας στο στρατηγικό σχεδιασμό για την πρόληψη του σακχαρώδη διαβήτη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abiemo, E. E., A. Alonso, J. A. Nettleton, L. M. Steffen, A. G. Bertoni, A. Jain and P. L. Lutsey (2013). "Relationships of the Mediterranean dietary pattern with insulin resistance and diabetes incidence in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)." *Br J Nutr* **109**(8): 1490-1497.
- Akash, M. S., K. Rehman and S. Chen (2014). "Effects of coffee on type 2 diabetes mellitus." *Nutrition* **30**(7-8): 755-763.
- Alberti, K. G. and P. Z. Zimmet (1998). "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation." *Diabet Med* **15**(7): 539-553.
- Ambring, A., M. Johansson, M. Axelsen, L. Gan, B. Strandvik and P. Friberg (2006). "Mediterranean-inspired diet lowers the ratio of serum phospholipid n-6 to n-3 fatty acids, the number of leukocytes and platelets, and vascular endothelial growth factor in healthy subjects." *Am J Clin Nutr* **83**(3): 575-581.
- American Diabetes Association (2017). "Standards of Medical Care in Diabetes-2017: Summary of Revisions." *Diabetes Care* **40**(Suppl 1): S4-S5.
- Aune, D., T. Norat, M. Leitzmann, S. Tonstad and L. J. Vatten (2015). "Physical activity and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis." *Eur J Epidemiol* **30**(7): 529-542.
- Aune, D., T. Norat, P. Romundstad and L. J. Vatten (2013). "Whole grain and refined grain consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies." *Eur J Epidemiol* **28**(11): 845-858.
- Bach-Faig, A., E. M. Berry, D. Lairon, J. Reguant, A. Trichopoulou, S. Dernini, F. X. Medina, M. Battino, R. Belahsen, G. Miranda and L. Serra-Majem (2011). "Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates." *Public Health Nutr* **14**(12A): 2274-2284.
- Bahreini, N., M. Gharipour, H. Khosravi-Boroujeni, H. Rouhi-Boroujeni, A. Shiranian, A. Salehi-Abargouei and G. Sharifzadeh (2013). "Pivotal role of mediterranean dietary regimen in the increase of serum magnesium concentration in patients with coronary artery disease." *J Nutr Metab* **2013**: 431070.
- Baliunas, D. O., B. J. Taylor, H. Irving, M. Roerecke, J. Patra, S. Mohapatra and J. Rehm (2009). "Alcohol as a risk factor for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis." *Diabetes Care* **32**(11): 2123-2132.
- Barbagallo, M., L. J. Dominguez, A. Galioto, A. Ferlisi, C. Cani, L. Malfa, A. Pineo, A. Busardo and G. Paolisso (2003). "Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X." *Mol Aspects Med* **24**(1-3): 39-52.
- Barclay, A. W., P. Petocz, J. McMillan-Price, V. M. Flood, T. Prvan, P. Mitchell and J. C. Brand-Miller (2008). "Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk--a meta-analysis of observational studies." *Am J Clin Nutr* **87**(3): 627-637.
- Bartsocas, C. S. (1999). "The Greek contribution to diabetes research." *Diabetes Metab Res Rev* **15**(5): 362-372.
- Barzilay, J. I., L. Abraham, S. R. Heckbert, M. Cushman, L. H. Kuller, H. E. Resnick and R. P. Tracy (2001). "The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study." *Diabetes* **50**(10): 2384-2389.
- Bertoni, A. G., G. L. Burke, J. A. Owusu, M. R. Carnethon, D. Vaidya, R. G. Barr, N. S. Jenny, P. Ouyang and J. I. Rotter (2010). "Inflammation and the incidence of type 2 diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)." *Diabetes Care* **33**(4): 804-810.
- Beulens, J. W., E. B. Rimm, F. B. Hu, H. F. Hendriks and K. J. Mukamal (2008). "Alcohol consumption, mediating biomarkers, and risk of type 2 diabetes among middle-aged women." *Diabetes Care* **31**(10): 2050-2055.
- Beulens, J. W., Y. T. van der Schouw, M. M. Bergmann, S. Rohrmann, M. B. Schulze, B. Buijsse, D. E. Grobbee, L. Arriola, S. Cauchi, M. J. Tormo, N. E. Allen, A. D. van der, B. Balkau, H. Boeing, F. Clavel-Chapelon, B. de Lauzon-Guillan, P. Franks, P. Froguel, C. Gonzales, J. Halkjaer, J. M. Huerta, R. Kaaks, T. J. Key, K. T. Khaw, V. Krogh, E. Molina-Montes, P. Nilsson, K. Overvad, D. Palli, S. Panico, J. Ramon Quiros, O. Rolandsson, I. Romieu, D. Romaguera, C. Sacerdote, M. J. Sanchez, A. M. Spijkerman, B. Teucher, A. Tjonneland, R. Tumino, S. Sharp, N. G. Forouhi, C. Langenberg, E. J. Feskens, E. Riboli and N. J. Wareham (2012). "Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes in European men and women: influence of beverage type and body size The EPIC-InterAct study." *J Intern Med* **272**(4): 358-370.
- Beulens, J. W., Y. T. van der Schouw, K. G. Moons, H. C. Boshuizen, A. D. van der and R. H. Groenwold (2013). "Estimating the mediating effect of different biomarkers on the relation of alcohol consumption with the risk of type 2 diabetes." *Ann Epidemiol* **23**(4): 193-197.

- Billings, L. K. and J. C. Florez (2010). "The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS?" *Ann N Y Acad Sci* **1212**: 59-77.
- Bonnet, F., E. Disse, M. Laville, A. Mari, K. Hojlund, C. H. Anderwald, P. Piatti and B. Balkau (2012). "Moderate alcohol consumption is associated with improved insulin sensitivity, reduced basal insulin secretion rate and lower fasting glucagon concentration in healthy women." *Diabetologia* **55**(12): 3228-3237.
- Browning, L. M., S. D. Hsieh and M. Ashwell (2010). "A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value." *Nutr Res Rev* **23**(2): 247-269.
- Brunner, E. J., A. Mosdol, D. R. Witte, P. Martikainen, M. Stafford, M. J. Shipley and M. G. Marmot (2008). "Dietary patterns and 15-y risks of major coronary events, diabetes, and mortality." *Am J Clin Nutr* **87**(5): 1414-1421.
- Buckland, G., A. Agudo, L. Lujan, P. Jakuszyn, H. B. Bueno-de-Mesquita, D. Palli, H. Boeing, F. Carneiro, V. Krogh, C. Sacerdote, R. Tumino, S. Panico, G. Nesi, J. Manjer, S. Regner, I. Johansson, R. Stenling, M. J. Sanchez, M. Dorronsoro, A. Barricarte, C. Navarro, J. R. Quiros, N. E. Allen, T. J. Key, S. Bingham, R. Kaaks, K. Overvad, M. Jensen, A. Olsen, A. Tjønneland, P. H. Peeters, M. E. Numans, M. C. Ocke, F. Clavel-Chapelon, S. Morois, M. C. Boutron-Ruault, A. Trichopoulou, P. Lagiou, D. Trichopoulos, E. Lund, E. Couto, P. Boffeta, M. Jenab, E. Riboli, D. Romaguera, T. Mouw and C. A. Gonzalez (2010). "Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study." *Am J Clin Nutr* **91**(2): 381-390.
- Bunker, M. L. and M. McWilliams (1979). "Caffeine content of common beverages." *J Am Diet Assoc* **74**(1): 28-32.
- Calabro, P., D. W. Chang, J. T. Willerson and E. T. Yeh (2005). "Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation." *J Am Coll Cardiol* **46**(6): 1112-1113.
- Calder, P. C., N. Ahluwalia, F. Brouns, T. Buetler, K. Clement, K. Cunningham, K. Esposito, L. S. Jonsson, H. Kolb, M. Lansink, A. Marcos, A. Margioris, N. Matusheski, H. Nordmann, J. O'Brien, G. Pugliese, S. Rizkalla, C. Schalkwijk, J. Tuomilehto, J. Warnberg, B. Watzl and B. M. Winklhofer-Roob (2011). "Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity." *Br J Nutr* **106 Suppl 3**: S5-78.
- Cameron, A. J., P. Z. Zimmet, S. Soderberg, K. G. Alberti, R. Sicree, J. Tuomilehto, P. Chitson and J. E. Shaw (2007). "The metabolic syndrome as a predictor of incident diabetes mellitus in Mauritius." *Diabet Med* **24**(12): 1460-1469.
- Carlsson, S., N. Hammar, V. Grill and J. Kaprio (2004). "Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in Finnish twins." *Int J Epidemiol* **33**(3): 616-617.
- Centers for Disease Control and Prevention "Working to Reverse the US Epidemic. At a glance 2016."
- Chandalia, M., A. Garg, D. Lutjohann, K. von Bergmann, S. M. Grundy and L. J. Brinkley (2000). "Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus." *N Engl J Med* **342**(19): 1392-1398.
- Chrysohou, C., D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, U. N. Das and C. Stefanadis (2004). "Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study." *J Am Coll Cardiol* **44**(1): 152-158.
- Chrysohou, C., D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, J. Skoumas, M. Toutouza, I. Papaioannou, P. K. Toutouzas and C. Stefanadis (2003). "Effects of chronic alcohol consumption on lipid levels, inflammatory and haemostatic factors in the general population: the 'ATTICA' Study." *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **10**(5): 355-361.
- Clarke, S. D. (2004). "The multi-dimensional regulation of gene expression by fatty acids: polyunsaturated fats as nutrient sensors." *Curr Opin Lipidol* **15**(1): 13-18.
- Clerc, O., D. Nanchen, J. Cornuz, P. Marques-Vidal, G. Gmel, J. B. Daepen, F. Paccaud, V. Mooser, G. Waeber, P. Vollenweider and N. Rodondi (2010). "Alcohol drinking, the metabolic syndrome and diabetes in a population with high mean alcohol consumption." *Diabet Med* **27**(11): 1241-1249.
- Cooper, A. J., N. G. Forouhi, Z. Ye, B. Buijsse, L. Arriola, B. Balkau, A. Barricarte, J. W. Beulens, H. Boeing, F. L. Buchner, C. C. Dahm, B. de Lauzon-Guillain, G. Fagherazzi, P. W. Franks, C. Gonzalez, S. Grioni, R. Kaaks, T. J. Key, G. Masala, C. Navarro, P. Nilsson, K. Overvad, S. Panico, J. Ramon Quiros, O. Rolandsson, N. Roswall, C. Sacerdote, M. J. Sanchez, N. Slimani, I. Sluijs, A. M. Spijkerman, B. Teucher, A. Tjønneland, R. Tumino, S. J. Sharp, C. Langenberg, E. J. Feskens, E. Riboli and N. J. Wareham (2012). "Fruit and vegetable intake and type 2 diabetes: EPIC-InterAct prospective study and meta-analysis." *Eur J Clin Nutr* **66**(10): 1082-1092.

- Dacou-Voutetakis, C., K. Karavanaki and H. Tsoka-Gennatas (1995). "National data on the epidemiology of IDDM in Greece. Cases diagnosed in 1992. Hellenic Epidemiology Study Group." *Diabetes Care* **18**(4): 552-554.
- Dai, J., D. P. Jones, J. Goldberg, T. R. Ziegler, R. M. Bostick, P. W. Wilson, A. K. Manatunga, L. Shallenberger, L. Jones and V. Vaccarino (2008). "Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress." *Am J Clin Nutr* **88**(5): 1364-1370.
- Dalziel, K., L. Segal and M. de Lorgeril (2006). "A mediterranean diet is cost-effective in patients with previous myocardial infarction." *J Nutr* **136**(7): 1879-1885.
- de Koning, L., S. E. Chiuve, T. T. Fung, W. C. Willett, E. B. Rimm and F. B. Hu (2011). "Diet-quality scores and the risk of type 2 diabetes in men." *Diabetes Care* **34**(5): 1150-1156.
- de Leon, A. C., S. D. Coello, D. A. Gonzalez, B. B. Diaz, J. C. Rodriguez, A. G. Hernandez, A. Aguirre-Jaime and C. Perez Mdel (2011). "Impaired fasting glucose, ancestry and waist-to-height ratio: main predictors of incident diagnosed diabetes in the Canary Islands." *Diabet Med* **29**(3): 399-403.
- DeLany, J. P., M. M. Windhauser, C. M. Champagne and G. A. Bray (2000). "Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans." *Am J Clin Nutr* **72**(4): 905-911.
- Djousse, L., J. M. Gaziano, J. E. Buring and I. M. Lee (2009). "Egg consumption and risk of type 2 diabetes in men and women." *Diabetes Care* **32**(2): 295-300.
- Dobbelsteyn, C. J., M. R. Joffres, D. R. MacLean and G. Flowerdew (2001). "A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian Heart Health Surveys." *Int J Obes Relat Metab Disord* **25**(5): 652-661.
- Donath, M. Y. and S. E. Shoelson (2011). "Type 2 diabetes as an inflammatory disease." *Nat Rev Immunol* **11**(2): 98-107.
- Eliasson, M., B. Lindahl, V. Lundberg and B. Stegmayr (2002). "No increase in the prevalence of known diabetes between 1986 and 1999 in subjects 25-64 years of age in northern Sweden." *Diabet Med* **19**(10): 874-880.
- Esposito, K., C. Di Palo, M. I. Maiorino, M. Petrizzo, G. Bellastella, I. Siniscalchi and D. Giugliano (2011). "Long-term effect of mediterranean-style diet and calorie restriction on biomarkers of longevity and oxidative stress in overweight men." *Cardiol Res Pract* **2011**: 293916.
- Esposito, K., R. Marfella, M. Cirotola, C. Di Palo, F. Giugliano, G. Giugliano, M. D'Armiento, F. D'Andrea and D. Giugliano (2004). "Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial." *JAMA* **292**(12): 1440-1446.
- Estruch, R., M. A. Martinez-Gonzalez, D. Corella, J. Salas-Salvado, V. Ruiz-Gutierrez, M. I. Covas, M. Fiol, E. Gomez-Gracia, M. C. Lopez-Sabater, E. Vinyoles, F. Aros, M. Conde, C. Lahoz, J. Lapetra, G. Saez and E. Ros (2006). "Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial." *Ann Intern Med* **145**(1): 1-11.
- Evans, J. L., I. D. Goldfine, B. A. Maddux and G. M. Grodsky (2003). "Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?" *Diabetes* **52**(1): 1-8.
- Ferro-Luzzi, A. and S. Sette (1989). "The Mediterranean Diet: an attempt to define its present and past composition." *Eur J Clin Nutr* **43 Suppl 2**: 13-29.
- Feskens, E. J., D. Sluik and G. J. van Woudenberg (2013). "Meat consumption, diabetes, and its complications." *Curr Diab Rep* **13**(2): 298-306.
- Festa, A., R. D'Agostino, Jr., R. P. Tracy and S. M. Haffner (2002). "Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study." *Diabetes* **51**(4): 1131-1137.
- Fito, M., M. Cladellas, R. de la Torre, J. Marti, M. Alcantara, M. Pujadas-Bastardes, J. Marrugat, J. Bruguera, M. C. Lopez-Sabater, J. Vila and M. I. Covas (2005). "Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial." *Atherosclerosis* **181**(1): 149-158.
- Friedewald, W. T., R. I. Levy and D. S. Fredrickson (1972). "Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge." *Clin Chem* **18**(6): 499-502.
- Fung, T. T., M. L. McCullough, P. K. Newby, J. E. Manson, J. B. Meigs, N. Rifai, W. C. Willett and F. B. Hu (2005). "Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction." *Am J Clin Nutr* **82**(1): 163-173.
- Gao, D., N. Ning, C. Wang, Y. Wang, Q. Li, Z. Meng and Y. Liu (2013). "Dairy products consumption and risk of type 2 diabetes: systematic review and dose-response meta-analysis." *PLoS One* **8**(9): e73965.

- Garcia-Arenzana, N., E. M. Navarrete-Munoz, M. Peris, D. Salas, N. Ascunce, I. Gonzalez, C. Sanchez-Contador, C. Santamarina, P. Moreo, M. P. Moreno, J. A. Carrete, F. Collado-Garcia, C. Pedraz-Pingarron, M. Ederra, J. Miranda-Garcia, C. Vidal, N. Aragones, B. Perez-Gomez, J. Vioque and M. Pollan (2012). "Diet quality and related factors among Spanish female participants in breast cancer screening programs." *Menopause* **19**(10): 1121-1129.
- Geiss, L. S., L. Pan, B. Cadwell, E. W. Gregg, S. M. Benjamin and M. M. Engelgau (2006). "Changes in incidence of diabetes in U.S. adults, 1997-2003." *Am J Prev Med* **30**(5): 371-377.
- Gikas, A., A. Sotiropoulos, D. Panagiotakos, V. Pastromas, E. Paraskevopoulou, E. Skliros and S. Pappas (2008). "Rising prevalence of diabetes among Greek adults: findings from two consecutive surveys in the same target population." *Diabetes Res Clin Pract* **79**(2): 325-329.
- Gikas, A., A. Sotiropoulos, D. Panagiotakos, T. Peppas, E. Skliros and S. Pappas (2004). "Prevalence, and associated risk factors, of self-reported diabetes mellitus in a sample of adult urban population in Greece: MEDICAL Exit Poll Research in Salamis (MEDICAL EXPRESS 2002)." *BMC Public Health* **4**: 2.
- Grankvist, K., S. L. Marklund and I. B. Taljedal (1981). "CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse." *Biochem J* **199**(2): 393-398.
- Grundy, S. M., J. I. Cleeman, S. R. Daniels, K. A. Donato, R. H. Eckel, B. A. Franklin, D. J. Gordon, R. M. Krauss, P. J. Savage, S. C. Smith, Jr., J. A. Spertus and F. Costa (2005). "Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement." *Circulation* **112**(17): 2735-2752.
- Hadaegh, F., A. Ghasemi, M. Padyab, M. Tohidi and F. Azizi (2008). "The metabolic syndrome and incident diabetes: Assessment of alternative definitions of the metabolic syndrome in an Iranian urban population." *Diabetes Res Clin Pract* **80**(2): 328-334.
- Hamer, M. and Y. Chida (2007). "Intake of fruit, vegetables, and antioxidants and risk of type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis." *J Hypertens* **25**(12): 2361-2369.
- Harris, L. R., D. R. English, J. Powles, G. G. Giles, A. M. Tonkin, A. M. Hodge, L. Brazionis and K. O'Dea (2007). "Dietary patterns and cardiovascular mortality in the Melbourne Collaborative Cohort Study." *Am J Clin Nutr* **86**(1): 221-229.
- Hartley, L., E. Igbinodion, J. Holmes, N. Flowers, M. Thorogood, A. Clarke, S. Stranges, L. Hooper and K. Rees (2013). "Increased consumption of fruit and vegetables for the primary prevention of cardiovascular diseases." *Cochrane Database Syst Rev* **6**: CD009874.
- Herder, C. and M. Roden (2011). "Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance." *Eur J Clin Invest* **41**(6): 679-692.
- Hitman, G. A. and J. Sudagani (2004). "Searching for genes in diabetes and the metabolic syndrome." *Int J Clin Pract Suppl*(143): 3-8.
- Howarth, N. C., E. Saltzman and S. B. Roberts (2001). "Dietary fiber and weight regulation." *Nutr Rev* **59**(5): 129-139.
- Hu, E. A., E. Toledo, J. Diez-Espino, R. Estruch, D. Corella, J. Salas-Salvado, E. Vinyoles, E. Gomez-Gracia, F. Aros, M. Fiol, J. Lapetra, L. Serra-Majem, X. Pinto, M. P. Portillo, R. M. Lamuela-Raventos, E. Ros, J. V. Sorli and M. A. Martinez-Gonzalez (2013). "Lifestyles and risk factors associated with adherence to the Mediterranean diet: a baseline assessment of the PREDIMED trial." *PLoS One* **8**(4): e60166.
- Hu, F. B., J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. Colditz, S. Liu, C. G. Solomon and W. C. Willett (2001). "Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women." *N Engl J Med* **345**(11): 790-797.
- Huai, P., H. Han, K. H. Reilly, X. Guo, J. Zhang and A. Xu (2016). "Leisure-time physical activity and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies." *Endocrine* **52**(2): 226-230.
- Huxley, R., C. M. Lee, F. Barzi, L. Timmermeister, S. Czernichow, V. Perkovic, D. E. Grobbee, D. Batty and M. Woodward (2009). "Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis." *Arch Intern Med* **169**(22): 2053-2063.
- International Diabetes Federation (2006). "The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome."
- International Diabetes Federation (2015). "IDF Atlas 7th edition."
- Jang, H., W. M. Jang, J. H. Park, J. Oh, M. K. Oh, S. H. Hwang, Y. I. Kim and J. S. Lee (2012). "Alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: effect modification by hypercholesterolemia: the Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2005)." *Asia Pac J Clin Nutr* **21**(4): 588-593.
- Jiang, X., D. Zhang and W. Jiang (2013). "Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies." *Eur J Nutr* **53**(1): 25-38.

- Kao, W. H., I. B. Puddey, L. L. Boland, R. L. Watson and F. L. Brancati (2001). "Alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: atherosclerosis risk in communities study." *Am J Epidemiol* **154**(8): 748-757.
- Katsilambros, N., K. Aliferis, C. Darviri, P. Tsapogas, Z. Alexiou, N. Tritos and M. Arvanitis (1993). "Evidence for an increase in the prevalence of known diabetes in a sample of an urban population in Greece." *Diabet Med* **10**(1): 87-90.
- Katsouyanni, K., E. B. Rimm, C. Gnardellis, D. Trichopoulos, E. Polychronopoulos and A. Trichopoulou (1997). "Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers." *Int J Epidemiol* **26 Suppl 1**: S118-127.
- Kerr, W. C. and Y. Ye (2010). "Relationship of life-course drinking patterns to diabetes, heart problems, and hypertension among those 40 and older in the 2005 U.S. National Alcohol Survey." *J Stud Alcohol Drugs* **71**(4): 515-525.
- Keys, A., A. Menotti, M. J. Karvonen, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, B. S. Djordjevic, A. S. Dontas, F. Fidanza, M. H. Keys and et al. (1986). "The diet and 15-year death rate in the seven countries study." *Am J Epidemiol* **124**(6): 903-915.
- Kim, J. K. (2006). "Fat uses a TOLL-road to connect inflammation and diabetes." *Cell Metab* **4**(6): 417-419.
- Kim, Y., J. B. Keogh and P. M. Clifton (2017). "Consumption of red and processed meat and refined grains for 4 weeks decreases insulin sensitivity in insulin-resistant adults: A randomized crossover study." *Metabolism* **68**: 173-183.
- Knowler, W. C., E. Barrett-Connor, S. E. Fowler, R. F. Hamman, J. M. Lachin, E. A. Walker and D. M. Nathan (2002). "Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin." *N Engl J Med* **346**(6): 393-403.
- Ko, B. J., K. H. Park and C. S. Mantzoros (2014). "Diet patterns, adipokines, and metabolism: where are we and what is next?" *Metabolism* **63**(2): 168-177.
- Koloverou, E., K. Esposito, D. Giugliano and D. Panagiotakos (2014). "The effect of Mediterranean diet on the development of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 10 prospective studies and 136,846 participants." *Metabolism* **63**(7): 903-911.
- Konrat, C., L. I. Mennen, E. Caces, P. Lepinay, F. Rakotozafy, A. Forhan and B. Balkau (2002). "Alcohol intake and fasting insulin in French men and women. The D.E.S.I.R. Study." *Diabetes Metab* **28**(2): 116-123.
- Kontogianni, M. D., A. Zampelas and C. Tsigos (2006). "Nutrition and inflammatory load." *Ann N Y Acad Sci* **1083**: 214-238.
- Kotani, K., K. Tsuzaki, Y. Sano, M. Maekawa, S. Fujiwara, T. Hamada and N. Sakane (2008). "The relationship between usual coffee consumption and serum C-reactive protein level in a Japanese female population." *Clin Chem Lab Med* **46**(10): 1434-1437.
- Kurotani, K., A. Nanri, A. Goto, T. Mizoue, M. Noda, S. Oba, M. Kato, Y. Matsushita, M. Inoue and S. Tsugane (2013). "Red meat consumption is associated with the risk of type 2 diabetes in men but not in women: a Japan Public Health Center-based Prospective Study." *Br J Nutr* **110**(10): 1910-1918.
- Kyrou, I. and C. Tsigos (2009). "Obesity in the elderly diabetic patient: is weight loss beneficial? No." *Diabetes Care* **32 Suppl 2**: S403-409.
- Kyu, H. H., V. F. Bachman, L. T. Alexander, J. E. Mumford, A. Afshin, K. Estep, J. L. Veerman, K. Delwiche, M. L. Iannarone, M. L. Moyer, K. Cercy, T. Vos, C. J. Murray and M. H. Forouzanfar (2016). "Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013." *BMJ* **354**: i3857.
- Lau, C., K. Faerch, C. Glumer, I. Tetens, O. Pedersen, B. Carstensen, T. Jorgensen and K. Borch-Johnsen (2005). "Dietary glycemic index, glycemic load, fiber, simple sugars, and insulin resistance: the Inter99 study." *Diabetes Care* **28**(6): 1397-1403.
- Lehtovirta, M., K. H. Pietilainen, E. Levalahti, K. Heikkila, L. Groop, K. Silventoinen, M. Koskenvuo and J. Kaprio (2010). "Evidence that BMI and type 2 diabetes share only a minor fraction of genetic variance: a follow-up study of 23,585 monozygotic and dizygotic twins from the Finnish Twin Cohort Study." *Diabetologia* **53**(7): 1314-1321.
- Lenzen, S., J. Drinkgern and M. Tiedge (1996). "Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues." *Free Radic Biol Med* **20**(3): 463-466.
- Ley, S. H., Q. Sun, M. C. Jimenez, K. M. Rexrode, J. E. Manson, M. K. Jensen, E. B. Rimm and F. B. Hu (2014). "Association between alcohol consumption and plasma fetuin-A and its contribution to incident type 2 diabetes in women." *Diabetologia* **57**(1): 93-101.

- Liatis, S., G. E. Dafoulas, C. Kani, A. Politi, P. Litsa, P. P. Sfikakis and K. Makrilakis (2016). "The prevalence and treatment patterns of diabetes in the Greek population based on real-world data from the nation-wide prescription database." *Diabetes Res Clin Pract* **118**: 162-167.
- Liese, A. D., M. Schulz, F. Fang, T. M. Wolever, R. B. D'Agostino, Jr., K. C. Sparks and E. J. Mayer-Davis (2005). "Dietary glycemic index and glycemic load, carbohydrate and fiber intake, and measures of insulin sensitivity, secretion, and adiposity in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study." *Diabetes Care* **28**(12): 2832-2838.
- Lindstrom, J., M. Peltonen, J. G. Eriksson, S. Aunola, H. Hamalainen, P. Ilanne-Parikka, S. Keinanen-Kiukaanniemi, M. Uusitupa and J. Tuomilehto (2008). "Determinants for the effectiveness of lifestyle intervention in the Finnish Diabetes Prevention Study." *Diabetes Care* **31**(5): 857-862.
- Lionis, C., M. Bathianaki, N. Antonakis, S. Papavasiliou and A. Philalithis (2001). "A high prevalence of diabetes mellitus in a municipality of rural Crete, Greece." *Diabet Med* **18**(9): 768-769.
- Lionis, C. D., S. M. Sasarolis, A. D. Koutis, N. A. Antonakis, A. Benos, S. Papavasiliou and M. Fioretos (1996). "Measuring the prevalence of diabetes mellitus in a Greek primary health care district." *Fam Pract* **13**(1): 18-21.
- Liu, K., R. Zhou, B. Wang and M. T. Mi (2014). "Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials." *Am J Clin Nutr*.
- Loizou, T., S. Poulopoulos, C. Tountas, A. Thanopoulou and V. Karamanos (2006). "An epidemiologic study on the prevalence of diabetes, glucose intolerance, and metabolic syndrome in the adult population of the Republic of Cyprus." *Diabetes Care* **29**(7): 1714-1715.
- Lopez-Garcia, E., R. M. van Dam, L. Qi and F. B. Hu (2006). "Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women." *Am J Clin Nutr* **84**(4): 888-893.
- Lorenzo, C., M. Okoloise, K. Williams, M. P. Stern and S. M. Haffner (2003). "The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study." *Diabetes Care* **26**(11): 3153-3159.
- Maghsoudi, Z., R. Ghiasvand and A. Salehi-Abargouei (2016). "Empirically derived dietary patterns and incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis on prospective observational studies." *Public Health Nutr* **19**(2): 230-241.
- Martinez-Gonzalez, M. A., C. de la Fuente-Arrillaga, J. M. Nunez-Cordoba, F. J. Basterra-Gortari, J. J. Beunza, Z. Vazquez, S. Benito, A. Tortosa and M. Bes-Rastrollo (2008). "Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study." *BMJ* **336**(7657): 1348-1351.
- McCarty, M. F. (2006). "PKC-mediated modulation of L-type calcium channels may contribute to fat-induced insulin resistance." *Med Hypotheses* **66**(4): 824-831.
- McRae, M. P. (2017). "Health Benefits of Dietary Whole Grains: An Umbrella Review of Meta-analyses." *J Chiropr Med* **16**(1): 10-18.
- Medici, F., M. Hawa, A. Ianari, D. A. Pyke and R. D. Leslie (1999). "Concordance rate for type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis." *Diabetologia* **42**(2): 146-150.
- Mekary, R. A., E. B. Rimm, E. Giovannucci, M. J. Stampfer, W. C. Willett, D. S. Ludwig and F. B. Hu (2011). "Joint association of glycemic load and alcohol intake with type 2 diabetes incidence in women." *Am J Clin Nutr* **94**(6): 1525-1532.
- Melidonis, A. M., S. M. Tournis, M. K. Kompoti, I. L. Lentzas, V. R. Roussou, S. L. Iraklianou, I. M. Michail and A. M. Mariolis (2006). "Increased prevalence of diabetes mellitus in a rural Greek population." *Rural Remote Health* **6**(1): 534.
- Micha, R., S. K. Wallace and D. Mozaffarian (2010). "Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis." *Circulation* **121**(21): 2271-2283.
- Migdalidis, I., G. Rombopoulos, M. Hatzikou, C. Manes, N. Kypraios and N. Tentolouris (2015). "The Cost of Managing Type 2 Diabetes Mellitus in Greece: A Retrospective Analysis of 10-Year Patient Level Data "The HERCULES Study"." *Int J Endocrinol* **2015**: 520759.
- Moshage, H. J., H. M. Roelofs, J. F. van Pelt, B. P. Hazenberg, M. A. van Leeuwen, P. C. Limburg, L. A. Aarden and S. H. Yap (1988). "The effect of interleukin-1, interleukin-6 and its interrelationship on the synthesis of serum amyloid A and C-reactive protein in primary cultures of adult human hepatocytes." *Biochem Biophys Res Commun* **155**(1): 112-117.
- Mozaffarian, D., R. Marfisi, G. Levantesi, M. G. Silletta, L. Tavazzi, G. Tognoni, F. Valagussa and R. Marchioli (2007). "Incidence of new-onset diabetes and impaired fasting glucose in patients with recent myocardial infarction and the effect of clinical and lifestyle risk factors." *Lancet* **370**(9588): 667-675.

- Mutungi, G., J. Ratliff, M. Puglisi, M. Torres-Gonzalez, U. Vaishnav, J. O. Leite, E. Quann, J. S. Volek and M. L. Fernandez (2008). "Dietary cholesterol from eggs increases plasma HDL cholesterol in overweight men consuming a carbohydrate-restricted diet." *J Nutr* **138**(2): 272-276.
- Natella, F., M. Nardini, I. Giannetti, C. Dattilo and C. Scaccini (2002). "Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans." *J Agric Food Chem* **50**(21): 6211-6216.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, E., and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III); (2002). "Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report." *Circulation* **106**(25): 3143-3421.
- Noah, A. and A. S. Truswell (2001). "There are many Mediterranean diets." *Asia Pac J Clin Nutr* **10**(1): 2-9.
- Nyenwe, E. A., T. W. Jenkins, G. E. Umpierrez and A. E. Kitabchi (2011). "Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes." *Metabolism* **60**(1): 1-23.
- Ortega, E., J. Franch, C. Castell, A. Goday, L. Ribas-Barba, F. Soriguer, J. Vendrell, R. Casamitjana, A. Bosch-Comas, E. Bordiu, A. Calle-Pascual, R. Carmena, L. Castano, M. Catala, E. Delgado, S. Gaztambide, J. Girbes, A. Lopez-Alba, M. T. Martinez-Larrad, E. Menendez, I. Mora-Peces, G. Pascual-Manich, G. Rojo-Martinez, M. Serrano-Rios, I. Urrutia, S. Valdes, J. A. Vazquez and R. Gomis (2013). "Mediterranean diet adherence in individuals with prediabetes and unknown diabetes: the Di@bet.es Study." *Ann Nutr Metab* **62**(4): 339-346.
- Pan, A., Q. Sun, A. M. Bernstein, J. E. Manson, W. C. Willett and F. B. Hu (2013). "Changes in red meat consumption and subsequent risk of type 2 diabetes mellitus: three cohorts of US men and women." *JAMA Intern Med* **173**(14): 1328-1335.
- Pan, X. R., G. W. Li, Y. H. Hu, J. X. Wang, W. Y. Yang, Z. X. An, Z. X. Hu, J. Lin, J. Z. Xiao, H. B. Cao, P. A. Liu, X. G. Jiang, Y. Y. Jiang, J. P. Wang, H. Zheng, H. Zhang, P. H. Bennett and B. V. Howard (1997). "Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study." *Diabetes Care* **20**(4): 537-544.
- Panagiotakos, D. B., E. N. Georgousopoulou, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, V. Metaxa, G. A. Georgopoulos, K. Kalogeropoulou, D. Tousoulis and C. Stefanadis (2014). "Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: the ATTICA Study." *Int J Cardiol* **180**: 178-184.
- Panagiotakos, D. B., G. A. Milias, C. Pitsavos and C. Stefanadis (2006). "MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to cardiovascular disease risk." *Comput Methods Programs Biomed* **83**(1): 73-77.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos, C. Chrysohoou and C. Stefanadis (2005). "The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study." *Diabet Med* **22**(11): 1581-1588.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos, E. Polychronopoulos, C. Chrysohoou, A. Zampelas and A. Trichopoulou (2004). "Can a Mediterranean diet moderate the development and clinical progression of coronary heart disease? A systematic review." *Med Sci Monit* **10**(8): RA193-198.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos, Y. Skoumas, Y. Lentzas and C. Stefanadis (2008). "Five-year incidence of type 2 diabetes mellitus among cardiovascular disease-free Greek adults: findings from the ATTICA study." *Vasc Health Risk Manag* **4**(3): 691-698.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos and C. Stefanadis (2006). "Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk." *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **16**(8): 559-568.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos and C. Stefanadis (2009). "Inclusion of dietary evaluation in cardiovascular disease risk prediction models increases accuracy and reduces bias of the estimations." *Risk Anal* **29**(2): 176-186.
- Panagiotakos, D. B., A. Polystipioti, N. Papairakleous and E. Polychronopoulos (2007). "Long-term adoption of a Mediterranean diet is associated with a better health status in elderly people; a cross-sectional survey in Cyprus." *Asia Pac J Clin Nutr* **16**(2): 331-337.
- Papakonstantinou, E., V. Lambadiari, G. Dimitriadis and A. Zampelas (2013). "Metabolic syndrome and cardiometabolic risk factors." *Curr Vasc Pharmacol* **11**(6): 858-879.
- Papathanasiou, G., G. Georgoudis, M. Papandreou, P. Spyropoulos, D. Georgakopoulos, V. Kalfakakou and A. Evangelou (2009). "Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults." *Hellenic J Cardiol* **50**(4): 283-294.

- Papazoglou, N., C. Manes, P. Chatzimitrofanous, E. Papadeli, K. Tzounas, G. Scaragas, I. Kontogiannis and D. Alexiades (1995). "Epidemiology of diabetes mellitus in the elderly in northern Greece: a population study." *Diabet Med* **12**(5): 397-400.
- Patel, P. S., S. J. Sharp, R. N. Luben, K. T. Khaw, S. A. Bingham, N. J. Wareham and N. G. Forouhi (2009). "Association between type of dietary fish and seafood intake and the risk of incident type 2 diabetes: the European prospective investigation of cancer (EPIC)-Norfolk cohort study." *Diabetes Care* **32**(10): 1857-1863.
- Pham, N. M., Z. Wang, M. Morita, K. Ohnaka, M. Adachi, H. Kawate, R. Takayanagi and S. Kono (2011). "Combined effects of coffee consumption and serum gamma-glutamyltransferase on serum C-reactive protein in middle-aged and elderly Japanese men and women." *Clin Chem Lab Med* **49**(10): 1661-1667.
- Piers, L. S., K. Z. Walker, R. M. Stoney, M. J. Soares and K. O'Dea (2003). "Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4-week diet affects body weight and composition of overweight and obese men." *Br J Nutr* **90**(3): 717-727.
- Pitsavos, C., D. B. Panagiotakos, C. Chrysohoou and C. Stefanadis (2003). "Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study." *BMC Public Health* **3**: 3-32.
- Psaltopoulou, T., D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, P. Detopoulou, J. Skoumas and C. Stefanadis (2011). "Dietary antioxidant capacity is inversely associated with diabetes biomarkers: the ATTICA study." *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21**(8): 561-567.
- Rani, A. J. and S. V. Mythili (2014). "Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus." *J Clin Diagn Res* **8**(3): 108-110.
- Rasouli, B., A. Ahlbom, T. Andersson, V. Grill, K. Midthjell, L. Olsson and S. Carlsson (2013). "Alcohol consumption is associated with reduced risk of Type 2 diabetes and autoimmune diabetes in adults: results from the Nord-Trondelag health study." *Diabet Med* **30**(1): 56-64.
- Rehman, A., J. Nourooz-Zadeh, W. Moller, H. Tritschler, P. Pereira and B. Halliwell (1999). "Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus." *FEBS Lett* **448**(1): 120-122.
- Renaud, S., M. de Lorgeril, J. Delaye, J. Guidollet, F. Jacquard, N. Mamelle, J. L. Martin, I. Monjaud, P. Salen and P. Toublot (1995). "Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease." *Am J Clin Nutr* **61**(6 Suppl): 1360S-1367S.
- Reunanen, A., M. Heliovaara and K. Aho (2003). "Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus." *Lancet* **361**(9358): 702-703; author reply 703.
- Riserus, U., W. C. Willett and F. B. Hu (2009). "Dietary fats and prevention of type 2 diabetes." *Prog Lipid Res* **48**(1): 44-51.
- Rodriguez, V. M., M. P. Portillo, C. Pico, M. T. Macarulla and A. Palou (2002). "Olive oil feeding up-regulates uncoupling protein genes in rat brown adipose tissue and skeletal muscle." *Am J Clin Nutr* **75**(2): 213-220.
- Romaguera, D., M. Guevara, T. Norat, C. Langenberg, N. G. Forouhi, S. Sharp, N. Slimani, M. B. Schulze, B. Buijsse, G. Buckland, E. Molina-Montes, M. J. Sanchez, M. C. Moreno-Iribas, B. Bendinelli, S. Grioni, Y. T. van der Schouw, L. Arriola, J. W. Beulens, H. Boeing, F. Clavel-Chapelon, V. Cottet, F. L. Crowe, B. de Lauzon-Guillan, P. W. Franks, C. Gonzalez, G. Hallmans, R. Kaaks, T. J. Key, K. Khaw, P. Nilsson, K. Overvad, L. Palla, D. Palli, S. Panico, J. R. Quiros, O. Rolandsson, I. Romieu, C. Sacerdote, A. M. Spijkerman, B. Teucher, A. Tjonneland, M. J. Tormo, R. Tumino, A. D. van der, E. J. Feskens, E. Riboli and N. J. Wareham (2011). "Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project." *Diabetes Care* **34**(9): 1913-1918.
- Rossi, M., F. Turati, P. Lagiou, D. Trichopoulos, L. S. Augustin, C. La Vecchia and A. Trichopoulou (2013). "Mediterranean diet and glycaemic load in relation to incidence of type 2 diabetes: results from the Greek cohort of the population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)." *Diabetologia* **56**(11): 2405-2413.
- Ryan, M., D. McInerney, D. Owens, P. Collins, A. Johnson and G. H. Tomkin (2000). "Diabetes and the Mediterranean diet: a beneficial effect of oleic acid on insulin sensitivity, adipocyte glucose transport and endothelium-dependent vasoreactivity." *QJM* **93**(2): 85-91.
- Salas-Salvado, J., M. Bullo, N. Babio, M. A. Martinez-Gonzalez, N. Ibarrola-Jurado, J. Basora, R. Estruch, M. I. Covas, D. Corella, F. Aros, V. Ruiz-Gutierrez and E. Ros (2011). "Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial." *Diabetes Care* **34**(1): 14-19.
- Salas-Salvado, J., A. Garcia-Arellano, R. Estruch, F. Marquez-Sandoval, D. Corella, M. Fiol, E. Gomez-Gracia, E. Vinoles, F. Aros, C. Herrera, C. Lahoz, J. Lapetra, J. S. Perona, D. Munoz-Aguado, M. A. Martinez-Gonzalez

- and E. Ros (2008). "Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease." *Eur J Clin Nutr* **62**(5): 651-659.
- Salas-Salvado, J., M. A. Martinez-Gonzalez, M. Bullo and E. Ros (2011). "The role of diet in the prevention of type 2 diabetes." *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21 Suppl 2**: B32-48.
- Salmeron, J., F. B. Hu, J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. A. Colditz, E. B. Rimm and W. C. Willett (2001). "Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women." *Am J Clin Nutr* **73**(6): 1019-1026.
- Sanchez-Tainta, A., R. Estruch, M. Bullo, D. Corella, E. Gomez-Gracia, M. Fiol, J. Algorta, M. I. Covas, J. Lapetra, I. Zazpe, V. Ruiz-Gutierrez, E. Ros and M. A. Martinez-Gonzalez (2008). "Adherence to a Mediterranean-type diet and reduced prevalence of clustered cardiovascular risk factors in a cohort of 3,204 high-risk patients." *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **15**(5): 589-593.
- Saremi, A., M. Tulloch-Reid and W. C. Knowler (2003). "Coffee consumption and the incidence of type 2 diabetes." *Diabetes Care* **26**(7): 2211-2212.
- Savva, S. C., D. Lamnisos and A. G. Kafatos (2013). "Predicting cardiometabolic risk: waist-to-height ratio or BMI. A meta-analysis." *Diabetes Metab Syndr Obes* **6**: 403-419.
- Schroder, H. (2007). "Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes." *J Nutr Biochem* **18**(3): 149-160.
- Schroder, H., J. Marrugat, J. Vila, M. I. Covas and R. Elosua (2004). "Adherence to the traditional mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a spanish population." *J Nutr* **134**(12): 3355-3361.
- Seike, N., M. Noda and T. Kadokawa (2008). "Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in Japanese: a systematic review." *Asia Pac J Clin Nutr* **17**(4): 545-551.
- Serra-Majem, L., J. N. de la Cruz, L. Ribas and L. Salleras (2003). "Mediterranean diet and health: is all the secret in olive oil?" *Pathophysiol Haemost Thromb* **33**(5-6): 461-465.
- Shi, L., X. O. Shu, H. Li, H. Cai, Q. Liu, W. Zheng, Y. B. Xiang and R. Villegas (2013). "Physical Activity, Smoking, and Alcohol Consumption in Association with Incidence of Type 2 Diabetes among Middle-Aged and Elderly Chinese Men." *PLoS One* **8**(11): e77919.
- Shimoda, M., H. Kaneto, H. Yoshioka, S. Okauchi, H. Hirukawa, T. Kimura, Y. Kanda-Kimura, K. Kohara, S. Kamei, F. Kawasaki, T. Mune and K. Kaku (2016). "Influence of atherosclerosis-related risk factors on serum high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with type 2 diabetes: Comparison of their influence in obese and non-obese patients." *J Diabetes Investig* **7**(2): 197-205.
- Shimomura, T. and I. Wakabayashi (2013). "Inverse associations between light-to-moderate alcohol intake and lipid-related indices in patients with diabetes." *Cardiovasc Diabetol* **12**(1): 104.
- Shoelson, S. E., J. Lee and A. B. Goldfine (2006). "Inflammation and insulin resistance." *J Clin Invest* **116**(7): 1793-1801.
- Soares, M. J., S. J. Cummings, J. C. Mamo, M. Kenrick and L. S. Piers (2004). "The acute effects of olive oil v. cream on postprandial thermogenesis and substrate oxidation in postmenopausal women." *Br J Nutr* **91**(2): 245-252.
- Sondergaard, E., J. E. Moller and K. Egstrup (2003). "Effect of dietary intervention and lipid-lowering treatment on brachial vasoreactivity in patients with ischemic heart disease and hypercholesterolemia." *Am Heart J* **145**(5): E19.
- Soriguer, F., I. Esteva, G. Rojo-Martinez, M. S. Ruiz de Adana, M. C. Dobarganes, J. M. Garcia-Almeida, F. Tinahones, M. Beltran, S. Gonzalez-Romero, G. Olveira and J. M. Gomez-Zumaquero (2004). "Oleic acid from cooking oils is associated with lower insulin resistance in the general population (Pizarra study)." *Eur J Endocrinol* **150**(1): 33-39.
- Staiger, H., K. Staiger, C. Haas, M. Weisser, F. Machicao and H. U. Haring (2005). "Fatty acid-induced differential regulation of the genes encoding peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha and -1beta in human skeletal muscle cells that have been differentiated in vitro." *Diabetologia* **48**(10): 2115-2118.
- Symeonidis, G., N. Papanas, G. Mavridis and E. Maltezos (2003). "Evidence that patients at diagnosis of type 2 diabetes mellitus in Northern Greece are increasingly younger and more obese during the last years." *Acta Diabetol* **40**(1): 1-2.
- Tentolouris, N., A. Andrianakos, G. Karanikolas, D. Karamitsos, P. Trontzas, P. Krachtis, F. Christoyannis, E. Tavaniotou, Z. Nikolia, E. Kaskani, L. Kontelis and P. P. Sfikakis (2009). "Prevalence of diabetes mellitus and obesity in the general adult population of Greece: a door-to-door epidemiological study." *Diabet Med* **26**(4): 451-452.

- Teratani, T., H. Morimoto, K. Sakata, M. Oishi, K. Tanaka, S. Nakada, K. Nogawa and Y. Suwazono (2012). "Dose-response relationship between tobacco or alcohol consumption and the development of diabetes mellitus in Japanese male workers." *Drug Alcohol Depend* **125**(3): 276-282.
- Tobias, D. K., F. B. Hu, J. Chavarro, B. Rosner, D. Mozaffarian and C. Zhang (2012). "Healthful dietary patterns and type 2 diabetes mellitus risk among women with a history of gestational diabetes mellitus." *Arch Intern Med* **172**(20): 1566-1572.
- Trichopoulou, A. (2004). "Traditional Mediterranean diet and longevity in the elderly: a review." *Public Health Nutr* **7**(7): 943-947.
- Trichopoulou, A., T. Costacou, C. Bamia and D. Trichopoulos (2003). "Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population." *N Engl J Med* **348**(26): 2599-2608.
- Trichopoulou, A. and P. Lagiou (1997). "Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle." *Nutr Rev* **55**(11 Pt 1): 383-389.
- Tsirona, S., F. Katsaros, A. Bargiota, S. A. Polyzos, G. Arapoglou and G. N. Koukoulis (2016). "Prevalence and determinants of type 2 diabetes mellitus in a Greek adult population." *Hormones (Athens)* **15**(1): 88-98.
- Tuomilehto, J., J. Lindstrom, J. G. Eriksson, T. T. Valle, H. Hamalainen, P. Ilanne-Parikka, S. Keinanen-Kiukaanniemi, M. Laakso, A. Louheranta, M. Rastas, V. Salminen and M. Uusitupa (2001). "Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance." *N Engl J Med* **344**(18): 1343-1350.
- Turner, K. M., J. B. Keogh and P. M. Clifton (2014). "Dairy consumption and insulin sensitivity: A systematic review of short- and long-term intervention studies." *Nutr Metab Cardiovasc Dis*.
- Valverde, J. C., M. J. Tormo, C. Navarro, M. Rodriguez-Barranco, R. Marco, J. M. Egea, D. Perez-Flores, J. B. Ortolá, L. Gonzalez-Sicilia, J. Tebar, M. Sanchez-Pinilla, M. Flores and J. Cava (2006). "Prevalence of diabetes in Murcia (Spain): a Mediterranean area characterised by obesity." *Diabetes Res Clin Pract* **71**(2): 202-209.
- van Dam, R. M. and E. J. Feskens (2002). "Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus." *Lancet* **360**(9344): 1477-1478.
- van Dam, R. M. and F. B. Hu (2005). "Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review." *JAMA* **294**(1): 97-104.
- van Dam, R. M., E. B. Rimm, W. C. Willett, M. J. Stampfer and F. B. Hu (2002). "Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men." *Ann Intern Med* **136**(3): 201-209.
- van Woudenbergh, G. J., A. J. van Ballegooijen, A. Kuijsten, E. J. Sijbrands, F. J. van Rooij, J. M. Geleijnse, A. Hofman, J. C. Witteman and E. J. Feskens (2009). "Eating fish and risk of type 2 diabetes: A population-based, prospective follow-up study." *Diabetes Care* **32**(11): 2021-2026.
- Wallin, A., D. Di Giuseppe, N. Orsini, P. S. Patel, N. G. Forouhi and A. Wolk (2012). "Fish consumption, dietary long-chain n-3 fatty acids, and risk of type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of prospective studies." *Diabetes Care* **35**(4): 918-929.
- Wang, X., W. Bao, J. Liu, Y. Y. Ouyang, D. Wang, S. Rong, X. Xiao, Z. L. Shan, Y. Zhang, P. Yao and L. G. Liu (2013). "Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis." *Diabetes Care* **36**(1): 166-175.
- Way, K. L., D. A. Hackett, M. K. Baker and N. A. Johnson (2016). "The Effect of Regular Exercise on Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Diabetes Metab J* **40**(4): 253-271.
- Weinbrenner, T., M. Fito, R. de la Torre, G. T. Saez, P. Rijken, C. Tormos, S. Coolen, M. F. Albaladejo, S. Abanades, H. Schroder, J. Marrugat and M. I. Covas (2004). "Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men." *J Nutr* **134**(9): 2314-2321.
- Willett, W. C., F. Sacks, A. Trichopoulou, G. Drescher, A. Ferro-Luzzi, E. Helsing and D. Trichopoulos (1995). "Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating." *Am J Clin Nutr* **61**(6 Suppl): 1402S-1406S.
- Wilson, P. W., R. B. D'Agostino, H. Parise, L. Sullivan and J. B. Meigs (2005). "Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus." *Circulation* **112**(20): 3066-3072.
- World Health Organization (2016). "Diabetes Fact Sheet."
- World Medical Association (2000). "World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects." *JAMA* **284**(23): 3043-3045.
- Yamashita, K., H. Yatsuya, T. Muramatsu, H. Toyoshima, T. Murohara and K. Tamakoshi (2012). "Association of coffee consumption with serum adiponectin, leptin, inflammation and metabolic markers in Japanese workers: a cross-sectional study." *Nutr Diabetes* **2**: e33.

- Yamini, S. and P. R. Trumbo (2016). "Qualified health claim for whole-grain intake and risk of type 2 diabetes: an evidence-based review by the US Food and Drug Administration." *Nutr Rev* **74**(10): 601-611.
- Ye, E. Q., S. A. Chacko, E. L. Chou, M. Kugizaki and S. Liu (2013). "Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain." *J Nutr* **142**(7): 1304-1313.
- Yeo, S. and R. Coker (2008). "Aerobic exercise training versus the aetiology of insulin resistance." *Eur J Sport Sci* **8**(1): 3-14.
- Yoon, U., L. L. Kwok and A. Magkidis (2013). "Efficacy of lifestyle interventions in reducing diabetes incidence in patients with impaired glucose tolerance: a systematic review of randomized controlled trials." *Metabolism* **62**(2): 303-314.
- Yubero-Serrano, E. M., A. Garcia-Rios, J. Delgado-Lista, N. Delgado-Casado, P. Perez-Martinez, F. Rodriguez-Cantalejo, F. Fuentes, C. Cruz-Teno, I. Tunez, I. Tasset-Cuevas, F. J. Tinahones, F. Perez-Jimenez and J. Lopez-Miranda (2011). "Postprandial effects of the Mediterranean diet on oxidant and antioxidant status in elderly men and women." *J Am Geriatr Soc* **59**(5): 938-940.
- Υπουργείο Υγείας & Πρόνοιας, A. E. E. Σ. Y. (1999). "Διατροφικές Οδηγίες για Ενήλικες στην Ελλάδα." *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* **16**: 516-524, 615-625.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Δημοσιευμένα άρθρα από τη διδακτορική διατριβή

(τα κείμενα των άρθρων αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα της διατριβής, και έχουν παρουσιαστεί στο κυρίως σώμα αυτής, στο Κεφάλαιο Αποτελέσματα)

10-YEAR INCIDENCE OF DIABETES AND ASSOCIATED RISK FACTORS IN GREECE: THE ATTICA STUDY (2002-2012)²

Koloverou^a E, Panagiotakos^a DB, Pitsavos^b C, Chrysohoou^b C, Georgousopoulou^a EN, Pitaraki^a E, Metaxa^b V, Stefanadis^b C, and the ATTICA Study Group

^a Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

ABSTRACT

Background: The incidence of diabetes in the general population is increasing world-wide. The increase is attributed to the consumption of saturated fatty acids, obesity, lack of physical activity, genetic predisposition, and other factors, but knowledge about the reasons, biological mechanisms, and late complications is insufficient. It is therefore important to clarify the reasons more exactly through long-term clinical trials to stop the rise of diabetes and its complications. **Aim:** To evaluate the 10-year incidence of type 2 diabetes in apparently healthy Greek adults. **Methods:** In 2001-2002, a random sample of 1514 men (18-87 years old) and 1528 women (18-89 years old) was selected to participate in the ATTICA study. During 2011-2012, the 10-year follow-up was performed. Patients diagnosed with diabetes at baseline ($n = 210$) and those lost at follow-up ($n = 1347$) were excluded, yielding a final sample of 1485 participants. **Results:** During the period of investigation, diabetes was diagnosed in 191 cases corresponding to a 12.9% incidence (95%CI: 10.4-15.4), with 13.4% (95%CI: 10.8-16) in men and 12.4% (95%CI: 10.1-14.7) in women. A relative increase was observed in the second half of the 10-year follow-up when age became significant. Multiple logistic regression analysis revealed that age (OR = 1.14, 95%CI: 1.09-1.19), abnormal waist-to-height ratio (OR = 3.27, 95%CI: 1.07-10.0), fasting blood glucose (OR per 1 mg/dl = 0.05, 95%CI: 1.02-1.08), energy intake (OR per 500 kcal = 1.02, 95%CI: 1.01-1.35), and family history of diabetes (OR = 2.8, 95%CI: 1.30-6.03) were the most significant baseline predictors for diabetes, after adjusting for potential confounders. Waist-to-height ratio showed the best explanatory power of all anthropometric variables. Physical activity exerts an effect on risk factors. Being active was found to eliminate the aggravating effect of diabetes family history and fasting blood glucose. **Conclusions:** The findings confirm the escalating increase of type 2 diabetes incidence in Greece, which is in line with global trends. A lifestyle change in individuals at risk of developing diabetes towards healthier eating and increased physical activity would be an effective and inexpensive means of reducing diabetes.

Keywords: diabetes, incidence, risk factor, epidemiology

Abbreviations

ADA – American Diabetes Association

CI – confidence interval

CVD – cardiovascular disease

BMI – body mass index

EASD – European Association for the Study of Diabetes

ESC – European Society of Cardiology

NCEP-ATP III – National Cholesterol Education Program

Adult Treatment Panel III

IPAQ – International Physical Activity Questionnaire

² Δημοσίευση στο **Review of Diabetic Studies** (*Rev Diabet Stud.* 2014 Summer; 11(2):181-9) doi: 10.1900/RDS.2014.11.181

OR – odds ratio
P-P plot – probability-probability plot
RIA – radioimmunoassay
SPSS – statistical package for social sciences
WH – waist-to-hip
WHO – World Health Organization
Wht – waist-to-height

Introduction

Despite ongoing advances in treatment and management of diabetes and its complications, the disease is developing into a constantly advancing epidemic. Since 1980, the number of patients with diabetes worldwide has more than doubled, particularly in America, Africa, and Western Europe (Danaei, Finucane et al. 2011), and is expected to almost quadruple within the next 20 years, i.e., before 2030, amounting to 552 million cases (International Diabetes Federation 2013). This prospect is alarming, given that diabetes is a well-established risk factor for the development of micro- and macrovascular complications; it increases the risk for coronary artery disease, neuropathy, nephropathy, eye disease, and others (Fox 2010).

The exponential growth of diabetes is accompanied by a serious financial burden. The joint statement of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) has underlined that the healthcare expenditure for diabetes in Europe is expected to increase from 75 billion euro in 2011 to 90 billion in 2030 (Ryden, Grant et al. 2013), or 123 euro/person, based on the population of Europe in 2011 (United Nations Department of Economic and Social Affairs). Since no curative treatment exists, primary prevention should be the cornerstone of the global response to the disease. Lifestyle interventions, including nutrition therapy, regular exercise, and cessation of smoking and alcohol, have been found to exert a significant beneficial effect on diabetes onset (Beziaud, Halimi et al. 2004, Mayor 2007, Baliunas, Taylor et al. 2009). Multifactorial treatment combining lifestyle with medication has been proven beneficial (Athyros, Elisaf et al. 2012).

Since diabetes has a “metabolic memory”, which can extend the beneficial effect of therapy over many years, early prevention and effective intervention are of utmost importance (Bianchi and Del Prato 2011). As a result, quantifying the extent of type 2 diabetes is fundamental for managing patients in health service delivery systems. Unfortunately, long-term investigations of diabetes incidence are rare in the literature, especially in Mediterranean populations. Greece experienced the lowest rates of cardiovascular disease (CVD) and diabetes in the 1960s and 1970s. Researchers from the Salamis Study found that the self-reported prevalence of diabetes was 8.7% in 2002 (Gikas, Sotiropoulos et al. 2004) and 10.3% in 2006 (Gikas, Sotiropoulos et al. 2008).

The most recent study to provide incidence data about diabetes was the ATTICA study (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003). Specifically, the prevalence of type 2 diabetes in 2001-2012 was calculated as 7.6% in men and 5.9% in women (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2005), while the age-adjusted 5-year incidence (2006) of diabetes was found to be 5.5% (men: 5.8%; women: 5.2%) (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008). These results are in line with the alarming incidence rates of diabetes worldwide. However, many findings are limited in statistical power due to the small number of incident cases studied, or the lack of representative samples; therefore accurate estimates of the determinants of diabetes could not be made. In the present work, the 10-year diabetes incidence (2002-2012) and the impact of several clinical, biological, and lifestyle factors relevant for diabetes development was examined within the context of the ATTICA study.

Methods

Baseline sampling (2001-2002)

The ATTICA epidemiological study (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003) is a large prospective study carried out during 2001-2002 in the Athens metropolitan area including 78% urban and 22% rural subjects. Baseline random sampling suggested that it would be enough to enroll only one participant per household. The sampling process was multistage, based on age (5 strata), sex (2 strata), and distribution of the catchment area (i.e., 27 strata, census of 2001) in order to be as representative as possible.

People with cardiovascular disease or chronic viral infections or those living in institutions were not eligible. Exclusion of CVD at baseline was ensured with a detailed clinical evaluation, following standard

criteria. From the 4056 inhabitants, randomly invited to participate, 3042 were finally enrolled in the study (75% participation rate); 1514 were men (46 ± 13 years) and 1528 were women (45 ± 13 years). All participants were interviewed by trained personnel (i.e., cardiologists, general practitioners, dietitians, and nurses) who used a standard questionnaire. Further details about the aims, design, and methods applied in the ATTICA study can be found elsewhere in the literature (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003).

Baseline measurements

The baseline evaluation included information about: socio-demographic characteristics (age, sex, and years of school), personal history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of CVD, dietary and other lifestyle habits (i.e., smoking and physical activity status). Smokers were defined as persons who smoked at least one cigarette per day or had quitted within the previous year; the rest were defined as non-smokers. The International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009)) as an index of the weekly energy expenditure status which included frequency (times per week), duration (in minutes per time), and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time). Participants were classified into two groups:

1. Sedentary lifestyle.
2. At least moderately active during a substantial part of the day.

Body mass index (BMI) was calculated as weight (in kilograms) divided by standing height (in square meters). Dietary information was extracted from a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). The participants were asked to report their average intake of several foods and liquids consumed during the previous 12 months. Energy intake, in kcal/day, was calculated based on the participants' responses in this questionnaire.

Blood samples were collected from the antecubital vein between 8 and 10 am, in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Diagnosis of type 2 diabetes was based on the criteria of the American Diabetes Association (American Diabetes Association 1997), i.e., participants who had fasting blood glucose >125 mg/dl during the examination or who reported the use of antidiabetic medication were defined as having diabetes. Blood glucose levels (mg/dl) were measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Serum insulin concentrations were assayed by radioimmunoassay (RIA100, Pharmacia Co., Erlangen, Germany).

Obesity was defined as BMI > 29.9 kg/m², according to WHO criteria (2000). Waist and hip circumferences were measured (in cm), and waist-to-hip (WH) and waist-to-height (WHT) ratios were calculated. Abnormal WH ratio was considered to be >0.8 for women and >1 for men; abnormal WHT ratio was >0.5 for both sexes. Regarding other clinical characteristics, arterial blood pressure (3 recordings) was measured at the end of the physical examination with the subject in the sitting position after having rested for at least 30 minutes. Participants whose average blood pressure levels were $\geq 140/90$ mmHg or those who were under antihypertensive medication were classified as being hypertensive. Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol >200 mg/dl or by the use of lipid-lowering agents. The intra- and inter-assay coefficients of variation for cholesterol levels did not exceed 9%. The metabolic syndrome was defined according to ATP III criteria (Grundy, Cleeman et al. 2005).

Follow-up evaluation (2011-2012)

During 2011-2012, a 10-year follow-up was performed. Of the 3042 participants, 2583 completed the follow-up (85% participation rate). Participants were initially reached through telephone calls. Afterwards, face-to-face interviews were performed. In 35% of the participants, data were retrieved only through telephone calls. The study investigators performed a detailed evaluation of the participants' medical status using standardized procedures.

Among other endpoints, the re-examination included information about the development and management of diabetes during the 10-year period. Diagnosis of diabetes was based on ADA criteria, as performed in the baseline examination. Participants who did not provide biological samples—those who were reached only by telephone—were asked whether they had been diagnosed by a physician. Patients diagnosed with diabetes at baseline (n = 210) and those with no data of diabetes status at the 10-year follow-up (n = 1347 cases) were excluded from the analysis. Thus, the working sample consisted of 1485 participants who were free of diabetes at baseline and who developed diabetes during the 10-year follow-up period. This sample was sufficient to achieve 92% statistical power and to evaluate a relative risk of 0.70 between the null hypothesis

and the alternative two-sided hypothesis with a significance level (alpha) of 0.05, when the exposure variable was increased by 1 unit.

Statistical analysis

The incidence of diabetes (and corresponding 95% CI) was calculated as the ratio of new cases among the 1485 participants, who were free of diabetes at baseline, and who participated in the follow-up. Continuous variables are presented as mean values \pm standard deviation and categorical variables as frequencies. Associations between categorical variables were tested using the chi-square test. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those who developed diabetes and the rest of the participants were performed using Student's *t*-test, after controlling for equality of variances using Levene's test. For continuous variables which were not normally distributed (i.e., years of school), the Mann-Whitney non-parametric test was applied to evaluate the differences in the distributions of the skewed variables.

Continuous variables were tested for normality through P-P plots. Since the exact time to event (i.e., development of diabetes) was not known, the relative risk of developing the disease during the 10-year follow-up period was estimated using odds ratios (OR) and their corresponding 95% confidence intervals (CIs) by stepwise multiple logistic regression analysis. Interactions between gender and other covariates were tested in all steps, and when significant, they remained in the final model. The Hosmer-Lemeshow test was applied to evaluate the model's goodness-of-fit. The -2 log-likelihood ratio of the initial vs. final model was also calculated to evaluate the model's performance (the lower the better).

All known confounders were included in the models, after testing for collinearity. The SPSS version 18 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, U.S.A.) software was used for all statistical calculations.

Results

Diabetes incidence

During the period of investigation, diabetes was diagnosed in 191 cases corresponding to a 12.9% incidence (95%CI: 10.4-15.4), or 129 per 1000 free of diabetes participants at baseline, with 13.4% (95%CI: 10.8-16) in men and 12.4% (95%CI: 10.1-14.7) in women. It could be speculated (assuming a constant annual increment) that the annual incidence was 1.29% overall, or 1.34% and 1.24% for men and women, respectively. Stratified by age group, the analysis revealed that the incidence of diabetes was the lowest (1.5%) in people under 35 years of age, but has risen to 29.2% for participants over 74 years of age. The men-to-women incidence was approximately 1-to-1 in almost all age groups. However, women under 35 years and between 65-74 years were 3.18-times and 1.55-times more likely to develop diabetes compared to men of the same age group. Conversely, among participants >74 years old, men were 1.33-times more likely to develop the disease than women (**Table 1**).

Table 1. Ten-year diabetes incidence in ATTICA study participants by sex and age group.

Age-group	Overall			Men			Women			Men-to-women Ratio
	Cases	All	Incidence (%)	Cases	All	Incidence (%)	Cases	All	Incidence (%)	
<35	5	326	1.5	1	144	0.69	4	182	2.2	0.32
35-44	43	404	10.6	22	198	11.1	21	206	10.2	1.09
45-54	66	393	16.8	38	220	17.3	28	173	16.2	1.24
55-64	49	226	21.7	25	103	24.3	24	123	19.5	0.64
65-74	21	112	18.8	7	49	14.3	14	63	22.2	1.33
≥75	7	24	29.2	4	12	33.3	3	12	25.0	1.08
Overall	191	1485	12.9	97	726	13.4	94	759	12.4	

* Diabetes cases among participants <35 and ≥75 years old are too few for a reliable estimate, so the calculated incidence should be carefully interpreted.

Diabetes incidence during the second mid-term of the 10-year follow-up of the ATTICA study (i.e., 2007-2012) showed a relative increase. After excluding 100 diabetes cases before 2007, the remaining 91 new cases were used to calculate the preceding 5-year incidence over the 1385 participants. A relative increase

between the two periods was observed overall, i.e., from 5.5% (2002-2007) to 6.6% (2007-2012), and by gender, i.e., from 5.8% to 6.8% for men and from 5.3% to 6.3% for women (**Table 2**). However, when age was included in the analysis, the difference in incidence rates between the two time periods was not significant for both sexes ($p > 0.05$).

Table 2. Progression of diabetes incidence during the preceding 10-year period, i.e., at baseline, at 2007, and the 2012 follow-up of the ATTICA study.

	Sex	New cases	All	Incidence (%)
2002 (Baseline)		210*	3042	-
2002-2007 (Baseline to 1 st follow up)	Overall	100	1806	5.5
	Men	51	880	5.8
	Women	49	926	5.3
2007 – 2012 (1 st to 2 nd follow up)	Overall	91	1385	6.6
	Men	46	675	6.8
	Women	45	710	6.3
2002-2012 (Baseline to 2 nd follow up)	Overall	191	1485	12.9
	Men	97	726	13.4
	Women	94	759	12.4

*n=210 people with diabetes at baseline were excluded from this analysis

The distribution of the baseline demographic, lifestyle, and clinical parameters of ATTICA study participants, based on their diabetes status at the 10-year follow-up, is presented in **Table 3**. Non-adjusted analysis revealed that people who developed diabetes were approximately 10 years older, had higher fasting glucose, fasting insulin, and they were more likely to be hypertensive, hypercholesterolemic, and predisposed to diabetes. With regards to anthropometric characteristics, patients with diabetes had higher BMI and waist circumference, and were more likely to have abnormal waist circumference, either using 102/88 cm or 94/80cm cut-off values for men and women, respectively. Diabetics also had abnormal WHR and WHT ratios. As expected, metabolic syndrome occurred more often in this group. However, smoking status, energy intake, and physical activity did not differ significantly between the two groups.

Table 3. Baseline characteristics of the ATTICA study participants according to 10-year diabetes incidence (n = 1485).

Baseline factors:	Status at 10-year follow-up		
	Without diabetes (n = 1294)	With diabetes (n = 191)	p
Age, y	44±13	53±11	<0.001
Male sex, n (%)	629 (49)	97 (51)	0.57
Education, years of school	13±3.4	14±3.4	<0.001
Current smokers, n (%)	702 (54)	100 (52)	0.62
Family history of diabetes, n (%)	230 (20)	61 (36)	<0.001
Metabolic syndrome occurrence, n (%)	152 (12)	58 (30)	<0.001
Physically active, n (%)	552 (43)	73 (38)	0.25
Fasting glucose, mg/dL	88±12	95±14	<0.001
Fasting insulin, µU/mL	13±3.4	14±3.4	<0.001
Energy intake, kcal/day	2335±917	2616±1095	0.10
Hypertensive subjects, n (%)	333 (27)	82 (46)	<0.001
Hypercholesterolemic subjects, n (%)	475 (37)	106 (56)	<0.001
Body mass index, kg/m ²	26±4.0	29±5.0	<0.001
Waist circumference, cm	88±14	98±16	<0.001
Abnormal WHR ratio (>0.8 for women and 0.95 for men)	375 (34)	94 (59)	<0.001
Abnormal WHT ratio (>0.5)	661 (60)	139 (86)	<0.001

Abnormal waist			
>102cm for men and 88cm for women	303 (27)	92 (57)	<0.001
>94 cm for men and 80cm for women	598 (54)	129 (80)	<0.001

Significant, meaningful differences in the baseline characteristics were observed between individuals for whom information on 10-year diabetes status was available ($n = 1485$) and those for whom it was not ($n = 1347$). The differences related to hypertension status (30% vs. 26%, $p = 0.036$), smoking habits (58% vs. 54%, $p = 0.028$), abnormal waist circumference (50% vs. 54%, $p = 0.027$), fasting glucose levels (88 ± 12 vs. 80 ± 13 mg/dl, $p = 0.005$), and fasting insulin levels (12 ± 3.0 , 13 ± 3.4 μ U/ml, $p = 0.014$). No differences were found regarding the distribution of gender, years of education, family history of diabetes, physical activity status, metabolic syndrome, hypercholesterolemia status, BMI, abnormal waist-to-hip and waist-to-height ratios, and energy intake (all p -values > 0.05).

Determinants of 10-year diabetes risk

All the aforementioned comparisons are prone to confounders. Therefore, a multi-adjusted analysis was performed. The most predictive variables for 10-year diabetes incidence included age, family history of diabetes, abnormal WHt ratio, energy intake, and fasting glucose levels (**Table 4**). Specifically, a difference in baseline age of 1 year, and in fasting glucose of 1 mg/dl, were associated with a 14%, and almost 5%, higher risk of developing diabetes within a decade, whereas increasing daily energy intake by 500 Kcal was found to increase the risk by 2%. However, the highest risk of developing diabetes was observed among participants with a family history of diabetes or abnormal WHt ratio. The latter factors were associated with a 2.79-fold and 3.27-fold increase in diabetes incidence. Physical activity was found not to predict diabetes development regarding either intensity levels (low, moderate, vigorous) or type (aerobic, resistance, combo) ($p_s > 0.05$, results not shown).

All anthropometric variables determining visceral obesity, including waist circumference (in cm), abnormal waist circumference (using both cut-off values of $>94/80$ and $>102/88$), and abnormal WHR ratio, were entered separately into the models. They were all positively correlated with diabetes risk at a significant level (results not shown). Abnormal WHt ratio was maintained in the final model as it showed the best explanatory power compared to the other variables; it had a better goodness of fit of the estimated models, which also included gender, years of school, physical activity, smoking, hypercholesterolemia and hypertension status, and the lowest -2log-likelihood value.

BMI was also a significant predictor of diabetes ($OR = 1.11$, 95%CI: 1.01-1.22). However, it was removed from the final model because it was correlated with WHt ratio ($r = -0.42$, $p < 0.05$) and induced undesirable collinearity. BMI and WHt ratio showed similar goodness-of-fit and -2log-likelihood values (223.6 and 224.1, respectively) when included in the model alone. However, the final decision to maintain WHt ratio was made because of its ability to represent more clearly abdominal obesity, which plays a crucial role in diabetes development. No difference in the predictive power of anthropometric measurements was observed between genders (p for interaction of all anthropometric variables with gender was >0.05 in the age-adjusted model). All aforementioned relationships were independent of gender, years of education, physical activity, smoking habits, and history of hypercholesterolemia and hypertension.

Table 4. Results from multiple logistic regression performed to evaluate various baseline characteristics in relation to the 10-year incidence of diabetes among ATTICA study participants ($n = 1485$).

Baseline characteristics	Odds ratio	95% CI
Age (per 1 year)	1.14	1.09, 1.19
Men vs. women	1.12	0.51, 2.46
Years of school (per 1 yr)	1.04	0.94, 1.16
Smokers vs. non-smokers	0.97	0.47, 2.0
Family history of diabetes (y/n)	2.80	1.30, 6.03
Energy intake (per 500 Kcal)	1.02	1.01, 1.35
Physically active vs. inactive	0.51	0.24, 1.10
Abnormal WHt ratio (>0.5)	3.27	1.07, 10.0
Fasting blood glucose (per 1 mg/dL)	1.05	1.02, 1.08
Hypercholesterolemia (y/n)	1.05	0.51, 2.19
Hypertension (y/n)	0.96	0.46, 2.00

Finally, even though physical activity was found not to play a significant role in diabetes incidence, stratified analysis revealed a moderating effect (p for interaction <0.05). Specifically, being active was found to eliminate the previously observed aggravating effect of diabetes family history and fasting blood glucose levels. In the active group, the only significant risk factor apart from age was the abnormal WHt ratio, which increased diabetes risk by the factor 10.1.

Discussion

We studied the long-term incidence of diabetes in Greece based on prospective data from the ATTICA study. It showed that 129 new cases of diabetes per 1000 people were diagnosed during the ten years' observation period (2002-2012), with almost equal representation of both genders (13.4% for men and 12.4% for women). Given that the entire Greek population amounts to 10.8 million in 2011 (Demographics of Greece), an estimate of 1.5 million new cases within the past 10 years means a serious rise in diabetes incidence. This alarming trend is in accordance with diabetes incidence rates worldwide; for example, 14% in Mexico (18-year follow up) (Gonzalez-Villalpando, Davila-Cervantes et al. 2014), 10.3% in Iran (9-year follow up) (Derakhshan, Sardarinia et al. 2014), and 19.7% (including type 1 diabetes) in Spain (13-year follow up) (Vega, Gil et al. 2014).

The trend towards rising incidence rates is also reflected by the higher rate in the second five-year follow-up period, compared with the first one. Since screening for diabetes is not carried out systematically, but remains a matter of people's voluntary decision, the increase is a true increase in number, and is not due to improved screening procedures. In this regard, the financial impact of the epidemic spread of the disease becomes more critical and deserves particular consideration. Based on the accelerating increase in diabetes incidence and improved type 2 diabetes prognosis (Andresdottir, Jensen et al. 2014), it becomes clear that the health care cost for diabetes management per person will escalate continuously, which represents a current global trend (International Diabetes Federation).

Diabetes development results from a continuous interplay between genes and environmental/behavioral factors (Murea, Ma et al. 2012). In this study, the observed increase in diabetes incidence was mainly a result of population aging, abnormal WHt ratio, elevated fasting glucose level, and family history of diabetes. Among all anthropometric variables, WHt ratio, along with BMI, was found to have the best explanatory power of diabetes risk prediction, with a 3.27- and 1.11-times increased risk per unit, respectively. While BMI is already well known as a risk factor for diabetes (Mokdad, Bowman et al. 2001), WHt ratio is relatively new. One of the suggested advantages in choosing WHt ratio instead of BMI is the ability to use one single cut-off point (0.5), irrespectively of age, sex, or ethnicity (Browning, Hsieh et al. 2010), resulting in an immediate and simple message, namely to "keep the waist circumference to less than half the height". A recent meta-analysis of epidemiological studies found that the WHt ratio represents a superior diagnostic tool in detecting subjects with high cardiometabolic risk, including diabetes; however, this has proved more useful in Asian populations (Savva, Lamnisos et al. 2013). The latter may explain why the two measurements (BMI and WHt) were found to be equal in predicting diabetes risk.

Family history of diabetes was the second risk factor to play a crucial role in diabetes development in our study. It increased the risk by factor 2.8, thus confirming the disease's genetic component (Harrison, Hindorff et al. 2003). Age, blood glucose level, and energy intake also had an aggravating effect. Specifically, diabetes risk was found to increase by 14% per 1 year's increase in age, by 5% per 1 mg/dl fasting glucose increase (or 50% per 10mg/dl), and 500 kcal more were found to raise the risk by 2%.

It is generally thought that regular physical activity substantially reduces the risk of developing type 2 diabetes, with recent studies suggesting a tailored exercise program, instead of a "one size fits all" approach (Gill and Cooper 2008). Surprisingly, in our study, physical activity was not found to exert a beneficial effect on diabetes incidence, similarly to the 5-year follow-up (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008). This points to a change in the importance of this factor over time, even though the Greek population is moving towards a more active lifestyle (Tzormpatzakis and Sleap 2007). However, the observed moderating effect of exercise, which to the best of our knowledge has not been reported elsewhere, needs to be discussed. It was reported, that even though family predisposition to diabetes and elevated fasting glucose increase the risk of developing diabetes, being active outweighs the aggravating effect of both risk factors. This emphasizes the particular importance of exercise in stabilizing health. Surprisingly, active participants with a WHt ratio of >0.5 show a 10.1-fold increased risk of developing diabetes, while for inactive participants WHt was not significant. This finding seems strange, but may be explained by the intense stress for the body when engaging in physical activity, which may conflict with its beneficial effect. More studies are needed to investigate this phenomenon.

Limitations

There are some limitations to the present study. Firstly, the baseline evaluation was performed only once, and may be prone to measurement error. Secondly, the exact date of diabetes development was not available and was thus not included in the study. Instead, we included the date of diabetes diagnosis, which was available. In consequence, calculation of person-time and incidence rates was not feasible, and was thus not performed.

Participants with CVD at baseline, for whom information about diabetes status was not available in the 10-year follow-up, were excluded from the current analysis, along with 1347 participants for whom diabetes status was not known at baseline. This may have influenced diabetes incidence. Moreover, the true incidence of diabetes may have been underestimated in participants whose medical information was retrieved only through telephone interviews.

As for diabetes determinants, relative risks were estimated by odds ratios through multiple logistic regression analysis, which may overestimate the actual relative risk. However, it has been reported that for low-prevalence diseases, odds ratio is an accurate estimate of the relative risk. Another issue in prospective studies is that associations with disease incidence are based entirely on baseline information, but many lifestyle factors such as energy intake, physical activity, and smoking status may have changed during the long 10-year period and no timely information updates have been carried out.

Finally, the diabetes risk model was adjusted for most major confounders except psychological parameters, such as perceived stress and anxiety, which have significantly increased within the past 5 years in Greece because of the socioeconomic crisis.

The advantages of the present study include a large, representative sample, a prospective design for a fairly long period of 10 years, and the assessment of various lifestyle characteristics and, therefore, the ability to control for potential confounders.

Conclusions

Despite continuous progress in medical science, the results presented are discouraging and point to a continuous increase in diabetes incidence. The prevalence of the disease has risen in Greece during the past 10 years, which confirms global trends. Given that population aging is inevitable, the aggravating effects of a family history of diabetes and obesity may be balanced by an active lifestyle. This implies a need for the promotion of healthier nutrition and more physical activity to decrease the incidence rates of diabetes.

The new findings on the reasons for diabetes development reported here include the significantly predictive power of the WtH ratio (vs. other anthropometric measures). This finding may be helpful for the design of future clinical trials with tailored intervention protocols.

References

1. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, Lin JK, Farzadfar F, Khang YH, Stevens GA, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2011. 378(9785):31-40.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, sixth edition.
3. Fox CS. Cardiovascular disease risk factors, type 2 diabetes mellitus, and the Framingham Heart Study. *Trends Cardiovasc Med* 2010. 20(3):90-95.
4. Ryden L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, Deaton C, Escaned J, Hammes HP, Huikuri H, et al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J* 2013. 34(39):3035-3087.
5. World Population Prospects: The 2012 Revision. <http://esa.un.org/unpd/wpp/Excel-Data/population.htm>.
6. Mayor S. International Diabetes Federation consensus on prevention of type 2 diabetes. *Int J Clin Pract* 2007. 61(10):1773-1775.
7. Beziaud F, Halimi JM, Lecomte P, Vol S, Tichet J. Cigarette smoking and diabetes mellitus. *Diabetes Metab* 2004. 30(2):161-166.
8. Baliunas DO, Taylor BJ, Irving H, Roerecke M, Patra J, Mohapatra S, Rehm J. Alcohol as a risk factor for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2009. 32(11):2123-2132.

9. Athyros VG, Elisaf MS, Alexandrides T, Achimastos A, Ganotakis E, Bilianou E, Karagiannis A, Liberopoulos EN, Tziomalos K, Mikhailidis DP. Long-term impact of multifactorial treatment on new-onset diabetes and related cardiovascular events in metabolic syndrome: a post hoc ATTEMPT analysis. *Angiology* 2012; 63(5):358-366.
10. Bianchi C, Del Prato S. Metabolic memory and individual treatment aims in type 2 diabetes--outcome-lessons learned from large clinical trials. *Rev Diabet Stud* 2011; 8(3):432-440.
11. Gikas A, Sotiropoulos A, Panagiotakos D, Peppas T, Skliros E, Pappas S. Prevalence, and associated risk factors, of self-reported diabetes mellitus in a sample of adult urban population in Greece: MEDICAL Exit Poll Research in Salamis (MEDICAL EXPRESS 2002). *BMC Public Health* 2004; 4:2.
12. Gikas A, Sotiropoulos A, Panagiotakos D, Pastromas V, Paraskevopoulou E, Skliros E, Pappas S. Rising prevalence of diabetes among Greek adults: findings from two consecutive surveys in the same target population. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 79(2):325-329.
13. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysanthou C, Stefanadis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003; 3:32.
14. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysanthou C, Stefanadis C. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. *Diabet Med* 2005; 22(11):1581-1588.
15. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas Y, Lentzas Y, Stefanadis C. Five-year incidence of type 2 diabetes mellitus among cardiovascular disease-free Greek adults: findings from the ATTICA study. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4(3):691-698.
16. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009; 50(4):283-294.
17. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 1997; 26 Suppl 1:S118-127.
18. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20(7):1183-1197.
19. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000; 894:i-xii, 1-253.
20. Grundy SM, Cleeman JL, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Jr., et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112(17):2735-2752.
21. http://en.wikipedia.org/wiki/Demographics_of_Greece.
22. Gonzalez-Villalpando C, Davila-Cervantes CA, Zamora-Macorra M, Trejo-Valdivia B, Gonzalez-Villalpando ME. Incidence of type 2 diabetes in Mexico: results of the Mexico City Diabetes Study after 18 years of follow-up. *Salud Publica Mex* 2014; 56(1):11-17.
23. Derakhshan A, Sardarinia M, Khalili D, Momenan AA, Azizi F, Hadaegh F. Sex Specific Incidence Rates of Type 2 Diabetes and Its Risk Factors over 9 Years of Follow-Up: Tehran Lipid and Glucose Study. *PLoS One* 2014; 9(7):e102563.
24. Vega T, Gil M, Lozano J. Age and sex differences in the incidence of diabetes mellitus in a population-based Spanish cohort. *J Diabetes* 2014.
25. Andredottir G, Jensen ML, Carstensen B, Parving HH, Rossing K, Hansen TW, Rossing P. Improved survival and renal prognosis of patients with type 2 diabetes and nephropathy with improved control of risk factors. *Diabetes Care* 2014; 37(6):1660-1667.
26. Murea M, Ma L, Freedman BI. Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications. *Rev Diabet Stud* 2012; 9(1):6-22.
27. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2001; 286(10):1195-1200.
28. Browning LM, Hsieh SD, Ashwell M. A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. *Nutr Rev* 2010; 23(2):247-269.
29. Savva SC, Lamnisos D, Kafatos AG. Predicting cardiometabolic risk: waist-to-height ratio or BMI. A meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2013; 6:403-419.
30. Harrison TA, Hindorff LA, Kim H, Wines RC, Bowen DJ, McGrath BB, Edwards KL. Family history of diabetes as a potential public health tool. *Am J Prev Med* 2003; 24(2):152-159.

31. Gill JM, Cooper AR. Physical activity and prevention of type 2 diabetes mellitus. *Sports Med* 2008. 38(10):807-824.

32. Tzormpatzakis N, Sleap M. Participation in physical activity and exercise in Greece: a systematic literature review. *Int J Public Health* 2007. 52(6):360-371.

ADHERENCE TO MEDITERRANEAN DIET AND 10-YEAR INCIDENCE (2002–2012) OF DIABETES: CORRELATIONS WITH INFLAMMATORY AND OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE ATTICA COHORT STUDY³

E. Koloverou^a, D. B. Panagiotakos^a, C. Pitsavos^b, C. Chrysohoou^b, E. N. Georgousopoulou^a, A. Grekas^a, A. Christou^a, M. Chatzigeorgiou^a, I. Skoumas^b, D. Tousoulis^b, C. Stefanadis^b; and the ATTICA Study group

^a Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

ABSTRACT

Background: The purpose of this work was to investigate the links between oxidative stress, inflammation and coagulation and their effect on Mediterranean diet–diabetes relationship.

Methods: In 2001–2002, a random sample of 1514 men (18–87 years old) and 1528 women (18–89 years old) was selected to participate in the ATTICA study, where Athens is the major metropolis. A validated questionnaire was used to assess lifestyle and dietary factors. Adherence to Mediterranean diet was recorded using MedDietScore. Among others, oxidative stress and inflammatory biomarkers were recorded. During 2011–2012, the 10-year follow-up was performed. Diabetes incidence was defined according to the American Diabetes Association criteria.

Results: A total of 191 incident cases of diabetes were documented, yielding an incidence of 12.9% (13.4% in men and 12.4% in women). Medium and high adherence was found to decrease diabetes risk by 49% (95% CI: 0.30, 0.88) and 62% (95% CI: 0.16, 0.88), respectively, compared with low adherence. A logarithmic trend between Mediterranean diet and diabetes incidence was also revealed (*p* for trend = 0.042). Individuals with abnormal waist circumference (>94 for men, >80 for women) were benefited the most. Wholegrain cereals, fruits and legumes had the greatest predictive ability. The anti-diabetic effect of Mediterranean diet correlated with measurements of tumour necrosis factor- α , homocysteine and total antioxidant capacity.

Conclusions: The reported results support the role of Mediterranean diet as a promising dietary tool for the primary prevention of diabetes, by attenuating inflammation and fostering total antioxidant capacity. This dietary pattern may have therapeutic potential for many cardiometabolic disorders associated with inflammation and/or oxidative stress.

Keywords: cohort study; Mediterranean diet; risk; type 2 diabetes; oxidative stress; inflammation

Introduction

The worldwide diabetes epidemic seems to be unstoppable, affecting approximately 8% of the adult population; and the global health expenditure for diabetes treatment, i.e. \$548bn in 2013, continuously escalates with catastrophic consequences for vulnerable economies and people with diabetes [1]. Lack of treatment makes primary prevention a cornerstone of the global response to the disease. Although many dietary strategies are available for diabetes secondary prevention [2], no definite consensus regarding the best diet against diabetes onset has been achieved.

Mediterranean diet is a nutritional model inspired by the traditional dietary habits of people living in the Mediterranean basin [3]. It is primarily characterized by high consumption of olive oil, legumes, whole grain cereals, fruits and vegetables and moderate wine drinking and secondarily characterized by moderate consumption of fish, dairy products and low consumption of poultry, meat and its products, highly processed foods, refined grains and sugars [4]. Recently, Mediterranean diet, which has long been celebrated for its

³ Δημοσίευση στο **Diabetes Metabolism Research & Reviews** (*Diabetes Metab Res Rev.* 2016 Jan;32(1):73–81) doi: 10.1002/dmrr.2672. Epub 2015 Jul 27.)

cardiovascular health benefits [5], was systematically reviewed in relation to diabetes incidence. Koloverou et al. reported that higher adherence to Mediterranean diet is associated with 23% reduced risk of diabetes development (combined RR for upper versus lowest available centile: 0.77; 95% CI: 0.66, 0.89) [6]. However, it cannot be ignored that statistical heterogeneity was detected, while it still remains unclear whether this protection is exhibited when adherence to Mediterranean diet is medium, not high.

The underlying pathway of this potential protection re-quires even more investigation. As a combination of many different foods, Mediterranean diet could exert its anti-diabetic effect variously. For example, because insulin production and secretion get defective, when pancreas is chronically exposed to high oxidative stress levels [7], Mediterranean diet, which has been associated with elevated total antioxidant capacity (TAC) levels and low-oxidized low-density lipoprotein (LDL) cholesterol [8], could avert this deficiency. In addition, adherence to Mediterranean diet has been found to attenuate inflammation and coagulation in healthy adults [9], a process also implicated in diabetes pathophysiological mechanism [10]. Finally, the tested relationship could be mediated by Mediterranean diet's positive effect on abdominal fat and obesity [11]; however, this still re-mains unclear, considering a recent study, reporting that Mediterranean diet did not protect from abdominal obesity in the long term [12], as well as the study of Sacks et al., who found that reduction of calories is enough to achieve clinically meaningful weight loss, regardless of diet composition [13].

Until now, only two prospective studies, examining Mediterranean diet–diabetes link, have attempted to iden-tify potential mediators. Among patients with recent myocardial infarction, higher high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and lower triglycerides levels have been found to mediate the protective effect of Mediterranean diet [14] and among women with prior gestational diabetes lower body mass index (BMI) [15]. To the best of our knowledge no previous study has assessed the mediating effect of inflammatory, coagulation and oxidative stress biomarkers, especially among apparently healthy individuals. Thus, and under the context of the ATTICA study [16], in the present work, the effect of Mediterranean diet on 10-year diabetes incidence in a Greek sample was evaluated, while oxidative stress, inflammation and coagulation markers of the participants were examined as plausible mediators.

Materials and methods

Baseline sampling procedure (2001–2002)

The ATTICA study is a large-scale, health and nutrition, prospective survey, which was carried out during 2001– 2002, in the province of Attica, where Athens is a major metropolis. People with history of cardiovascular disease (CVD) or other atherosclerotic disease or having chronic viral infections or living in institutions were excluded from participation. Of the initially invited 4056 Of the initially invited 4056 individuals and after excluding those with CVD ($n = 117$) or those having chronic viral infections ($n = 107$), 3042 finally agreed to participate (75% participation rate). 1514 of the participants were men (aged 46 ± 13 years; range 18–87 years), and 1528 were women (aged 45 ± 13 years; range 18–89 years). Trained personnel (i.e. cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses) interviewed the participants, using a standard questionnaire.

More details about the aims, design and methods used in the ATTICA study may be found elsewhere in the literature [17].

Baseline measurements

Baseline assessment included information about sociodemographic characteristics (age, sex and years of school), history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of CVD, dietary habits; smoking status and physical activity. Smokers were de-fined as those who smoked at least one cigarette per day or had quitted within the previous year; the rest were de-fined as non-smokers. The International Physical Activity Questionnaire was used to evaluate the level of physical activity. The International Physical Activity Questionnaire is an index of weekly energy expenditure using frequency (times per week), duration (in minutes per time) and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time) [18].

The evaluation of the nutritional habits was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire, the EPIC-Greek questionnaire that was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School; participants were asked to report the average intake of several food items and liquids consumed during the previous year [19]. Adherence to Mediterranean diet was evaluated using the MedDietScore (range 0–55, with higher values indicating greater adherence) [20]. The tertiles of the score were also calculated, yielding three categories, i.e. low, medium and high levels of adherence.

Weight (in kilogram), height (in metre), waist (in centimetre) and hip (in centimetre) circumferences, as well as clinical characteristics, were measured using standardized procedures. Arterial blood pressure was measured three times by using the right arm. All measurements were made at the end of the physical examination, while subjects were in a sitting position for at least 30 min. Patients whose average blood pressure was $\geq 140/90$ mmHg or those under antihypertensive medication were classified as hypertensive. Hypercholesterolemia was defined as the total serum cholesterol concentration >200 mg/dL or the use of lipid-lowering agents. Diagnosis of diabetes mellitus (type 2) was based on the criteria of the American Diabetes Association [16], i.e. fasting blood glucose >125 mg/dL or the use of anti-diabetic medication.

Biochemical measurements were carried out in the same laboratory that followed the criteria of the World Health Organization Lipid Reference Laboratories. Blood samples were collected from the antecubital vein from 8 to 10 am, in a sitting position after 12 h of fasting and avoiding of alcohol. Serum total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and glucose concentrations were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyser RA-1000. LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formulae. Serum insulin concentrations were assayed by means of radioimmunoassay. Inflammatory markers were assayed using the following techniques: C-reactive protein (CRP) and serum amyloid-A (SAA) by particle-enhanced immunonephelometry, interleukin 6 (IL-6) by a high-sensitivity enzyme-linked immunoassay, human tumour necrosis factor- α (TNF- α) by the enzyme-linked immunosorbent assay method for the quantitative determination, homocysteine levels by an automatic analyser based on the technology of fluorescence polarization immunoassay and fibrinogen by automatic nephelometry. Finally, serum TAC was measured with a colorimetric test and plasma oxidized LDL cholesterol with an enzyme-linked immunosorbent assay kit.

The 10-year follow-up evaluation (2011–2012)

During 2011–2012, the 10-year follow-up was performed. Of the $n = 3042$ participants, $n = 2583$ were allocated during the follow-up (85% participation rate). A detailed evaluation of the participants' medical status was performed. Among various endpoints, development of diabetes mellitus was recorded; $n = 210$ patients were diagnosed with diabetes at baseline, and $n = 1347$ participants with no data regarding diabetes status at the 10-year follow-up were not included in the present analyses, yielding a working sample of $n = 1485$ participants with-out diabetes at baseline. The sample size was adequate to achieve 92% statistical power to evaluate relative risk (RR) of 0.70 between the null and alternative two-sided hypotheses, when the exposure variable (i.e. level of adherence to Mediterranean diet or MedDietScore) was increased by 1 unit and with a significance level (alpha) of 0.05. Further details about the baseline procedures and the 10-year follow-up of the study have been presented elsewhere [17,21].

Statistical analysis

Incidence of diabetes was calculated as the ratio of new cases ($n = 191$) to the total number ($n = 1485$) of participants in the follow-up. Incidence by Mediterranean diet group was calculated as the ratio of new cases to the number of participants in each group. Continuous variables are presented as mean values \pm standard deviation and categorical variables as frequencies. Associations between categorical variables were tested using chi-squared test. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those who developed diabetes and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after ensuring equality of variances using Levene's test. Analysis of variance was performed to compare the mean values of normally distributed variables by Mediterranean diet group. Post hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type I error. For non-normally distributed variables, the Kruskall–Wallis test was applied, and the Mann–Whitney test was performed between every two groups, so as to detect significant mean differences. Continuous variables were tested for normality through histograms. The relative risk of developing diabetes during the 10-year period according to the participants' base-line characteristics was estimated through the odds ratio and the 95% corresponding confidence interval, as derived from logistic regression model. This type of analysis was preferred because there were no accurate data about diabetes onset, but only diagnosis. All known confounders were included in the models after testing for collinearity. Interactions with MedDietScore were checked in all steps and when significant sub-group analyses were performed. Trend analysis was applied by fitting smoothing lines (linear, logarithmic, quadratic or cubic) on odds ratios derived by age–sex adjusted analysis, by Mediterranean diet category; the corresponding R-squared values indicated which line best fits the observed data. The predictive ability of the components of Mediterranean diet was ranked, calculating the 2 log likelihood of each model (the lower the better). The SPSS version 18 (Statistical Package for Social Sciences, IBM Hellas SA, Greece) soft-ware was used for all statistical calculations.

Results

The 10-year diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, 191 diabetes cases were documented, yielding to a crude incidence of 129 per 1000 participants (or 12.9%), of them, 97 (13.4%) were men, and 94 (12.4%) were women ($p = 0.79$ for gender difference) [21].

Participants' baseline characteristics by level of adherence to the Mediterranean diet

Demographic and clinical characteristics of the participants by adherence to the Mediterranean diet status are presented in Table 1. As the level of adherence to Mediterranean diet increased, participants were more likely to be women, younger, better educated and to have lower BMI and waist circumference (WC). Hypertension and hypercholesterolemia were also less frequent; total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides mean concentrations were lower, whereas HDL cholesterol was higher. With regard to oxidative stress biomarkers, participants who adopted the Mediterranean diet had the highest TAC and the lowest oxidized LDL values. Similarly, mean concentrations of fasting glucose and insulin, as well as all inflammatory and coagulation biomarkers, were the lowest. Family history of diabetes, smoking status and physical activity status did not differ significantly between the three groups (Table 1).

Table 1. Distribution of baseline lifestyle and clinical characteristics² of the ATTICA study's participants, according to the level of adherence to Mediterranean diet ($n=1485$).

Baseline characteristics	Level of adherence to Mediterranean Diet			p
	Low (n= 490)	Medium (n= 518)	High (n=477)	
Diabetes cases, n (%)	105 (21)	62 (12)	24 (5)	<0.001
Age, years	54 ± 12	46 ± 10*	36 ± 10*	<0.001
Male sex, n (%)	371 (76)	289 (56)	66 (14)	<0.001
Education, years of school	11 ± 3.8	12 ± 3.6**	14 ± 2.8**	<0.001
Body mass index, kg/m ²	29 ± 4.2	27 ± 2.8*	22 ± 2.5*	<0.001
Waist circumference, cm	100 ± 12	92 ± 11*	78 ± 10*	<0.001
Family history of diabetes, n (%)	98 (22)	96 (21)	97 (22)	0.91
Hypertensive subjects, n (%)	215 (46)	156 (32)	45 (10)	<0.001
Hypercholesterolemic subjects, n (%)	215 (44)	257 (50)	109 (23)	<0.001
– Total cholesterol, mg/dL	202 ± 39	203 ± 42	177 ± 39*	<0.001
– HDL-cholesterol, mg/dL	45 ± 10	48 ± 17*	54 ± 14*	<0.001
– LDL-cholesterol, mg/dL	131 ± 35	130 ± 36	109 ± 35*	<0.001
– Triglycerides, mg/dL	136 ± 80	129 ± 93*	78 ± 37**	<0.001
Current smokers, n (%)	263 (54)	298 (58)	241 (51)	0.091
Physically active, n (%)	212 (43)	202 (39)	211 (44)	0.20
Fasting glucose, mg/dL	92 ± 13	90 ± 12*	86 ± 12**	<0.001
Fasting insulin, µU/mL	14 ± 5.3	13 ± 1.6**	12 ± 1.3**	<0.001
TAC, µmol/L	225 ± 42	229 ± 32	250 ± 45**	<0.001
ox-LDL, mg/dL	66 ± 30	63 ± 28	54 ± 26**	<0.001
IL-6, pg/mL	1.6 ± 0.48	1.5 ± 0.52**	1.3 ± 0.40**	<0.001
TNF-α, pg/mL	8.2 ± 3.9	6.2 ± 3.3**	4.8 ± 4.8**	<0.001
CRP, mg/L	2.3 ± 2.7	1.9 ± 2.3	1.3 ± 1.9**	<0.001
Homocysteine, µmol/L	13 ± 5.1	12 ± 6.0*	11 ± 7.7**	<0.001
SAA, mg/dL	4.7 ± 4.6	4.3 ± 3.8	4.3 ± 5.1*	0.050
Fibrinogen, mg/dL	320 ± 75	311 ± 63	292 ± 65**	<0.001

^a TAC= Total Antioxidant Capacity, ox-LDL=oxidized LDL-cholesterol, IL-6=Interleykin-6, TNF-a= Tumor Necrosis factor-a, CRP=C-reactive protein, SAA=Serum Amyloid-A.

^b Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. P-values derived from ANOVA, for the normally distributed variables and Kruskall-Wallis test for the non-normally distributed variables (i.e., triglycerides, years of school, fasting glucose, fasting insulin, TAC, ox-LDL, TNF-a, IL-6, CRP, homocysteine, SAA, fibrinogen), or chi-square test for the categorical variables.

* $p<0.05$ and ** $p<0.001$ from post-hoc analyses using the Bonferroni rule, using small adherence to the Mediterranean Diet as the reference category, or from the Mann-Whitney test (every two groups) for non-normally distributed variables.

The 10-year diabetes incidence and Mediterranean diet

The 10-year incidence of diabetes was $n = 83$ cases (21%) among participants away from the Mediterranean diet, $n = 38$ (8.0%) among participants with medium adherence and $n = 8$ (5.0%) in the high-adherence group ($p < 0.001$) (Table 1). Participants who did not develop diabetes within the 10-year follow-up period were equally distributed among the three Mediterranean diet groups (30%, 35% and 35% for low, medium and high adherence, respectively), whereas participants who developed diabetes were mostly away from the pattern (55%, 33% and 13% for the three groups, respectively). Trend analysis on the odds ratios derived from age–sex adjusted models per Mediterranean diet group revealed a significant logarithmic trend between diabetes incidence and level of adherence to the Mediterranean diet (R^2 for logarithmic trend = 0.99, $p = 0.042$) (other trends, i.e. linear, exponential and quadratic, were also tested but found insignificant, $p > 0.10$).

In order to control for potential confounding, multiadjusted analysis was performed through nested models. In age–sex adjusted model (Table 2, model 1), a significant inverse association was observed for participants with both medium and high, compared with low, adherence to Mediterranean diet ($RR = 0.57$, 95% CI: 0.38, 0.84 and $RR = 0.25$, 95% CI: 0.13, 0.47, respectively). This finding remained significant even after controlling for family history of diabetes and cardiovascular risk factors (i.e. hypertension, hypercholesterolemia and smoking status) (Table 2, model 2), educational status and physical activity status (Table 2, model 3), as well as abnormal WC (i.e. WC > 94 cm for men or >80 cm for women) (Table 2, model 4). The interaction between MedDietScore and WC category was found significant ($p = 0.045$) and was kept in the final model. Specifically, in the fully adjusted model, individuals with medium adherence to the Mediterranean diet experienced 49% lower risk for developing diabetes, within the next 10 years ($RR = 0.51$; 95% CI: 0.30, 0.88), whereas for individuals with high adherence, the risk was found to decrease by 62% ($RR = 0.38$; 95% CI: 0.16, 0.88), compared with participants with low level of adherence to the pattern.

Table 2. Results from multiple logistic regression models (odds ratios and the corresponding confidence intervals) that evaluated participants' adherence to Mediterranean diet as well as other characteristics, in relation to 10-year incidence of diabetes ($n=1485$)

Odds ratio for MedDietScore (per 1 unit)	Level of adherence to the Mediterranean Diet			
	Low	Medium	High	
	(n= 490)	(n=518)	(n=477)	
Model 1	0.99; 0.97, 1.02	Ref	0.57; 0.38, 0.84	0.25; 0.13, 0.47
Model 2	0.99; 0.96, 1.02	Ref	0.53; 0.34, 0.83	0.28; 0.14, 0.57
Model 3	0.99; 0.96, 1.02	Ref	0.54; 0.35, 0.85	0.31; 0.15; 0.62
Model 4	1.04; 0.99; 1.09	Ref	0.51; 0.30, 0.88	0.38; 0.16, 0.88

To identify which components of Mediterranean diet contribute the most to the observed inverse association, all Mediterranean diet components were added to model 4, one by one, and 2 log likelihood values were compared, with the lowest values indicating better predictive ability. The three components with the lowest values were wholegrain cereals, fruits and legumes with 2 log likelihood values equal to 189.1, 189.5 and 189.9, respectively. Because of the aforementioned significant interaction between WC category and MedDietScore, logistic regression analysis was additionally performed after stratification by WC, i.e. $n = 727$ participants with increased WC (WC > 94 cm for men and >80 cm for women) versus $n = 549$ participants with normal WC. In the fully adjusted model, an inverse association was observed between MedDietScore and diabetes development, only among participants with increased abdominal fat ($RR = 0.44$, 95% CI: 0.25, 0.77 for medium adherence to Mediterranean diet and $RR = 0.26$, 95% CI: 0.10, 0.70 for high adherence). For individuals with normal WC, results were not significant ($RR = 0.97$, 95% CI: 0.29, 3.25 and $RR = 0.89$, 95% CI: 0.16, 4.90 for medium and high

adherence, respectively); nevertheless, the interpretation of these findings warrants caution due to the small number of events ($n = 32$), among participants with WC < 90/84 cm.

To investigate the potential mechanism underlying the protective effect of Mediterranean diet for individuals with increased abdominal fat, biomarkers of oxidative stress (i.e. ox-LDL and TAC), inflammation (i.e. IL-6, SAA, TNF- α , CRP and homocysteine) and coagulation (i.e. fibrinogen) were sequentially, and separately, entered to the fully adjusted model. Stratification by WC category was maintained. For men with WC > 94 cm and women >80 cm, statistical analysis revealed the mediating effect of TAC, TNF- α and homocysteine in the examined relationship (all p-values > 0.05) (Table 3). The mediating effect of these biomarkers was enhanced by the fact that their mean concentrations significantly increased in parallel with the level of adherence to the Mediterranean diet (Table 1). Oxidized LDL, IL-6, CRP, SAA and fibrinogen did not influence the tested association (Table 3). Among individuals with normal WC, results remained not significant in all steps (data not shown).

Table 3. Results (odds ratio and 95% confidence interval) from multiple logistic regression models, among $n=727$ participants with WC>94/80, that evaluated participants' adherence to Mediterranean diet in relation to 10-year incidence of diabetes, after one-by-one inclusion of various biomarkers in the fully-adjusted model.

	Level of adherence to the Mediterranean Diet		
	Low (n= 305)	Medium (n=288)	High (n=134)
<i>Oxidative stress</i>			
• TAC, $\mu\text{mol/L}$	Ref	0.08; 0.01, 1.11	0.24; 0.01, 5.98
• ox-LDL, mg/dL	Ref	0.31; 0.15, 0.64	0.17; 0.05, 0.62
<i>Inflammatory</i>			
• IL-6, pg/mL	Ref	0.47; 0.26, 0.84	0.28; 0.09, 0.88
• TNF- α , pg/mL	Ref	0.60; 0.31, 1.16	0.35; 0.12, 1.02
• CRP, mg/L	Ref	0.47; 0.26, 0.84	0.28; 0.09, 0.88
• Homocysteine, $\mu\text{mol/L}$	Ref	0.56; 0.29, 1.10	0.31; 0.09, 1.07
• SAA, mg/dL	Ref	0.47; 0.25, 0.88	0.22; 0.07, 0.75
<i>Coagulation</i>			
• Fibrinogen, mg/dL	Ref	0.45; 0.25, 0.83	0.28; 0.10, 0.81

Discussion

Mediterranean diet is a well-known 'heart-healthy' pattern, with a potential to extend its health benefits beyond CVD. In the present work, the 10-year diabetes incidence was studied in relation to Mediterranean diet. Medium adherence to Mediterranean pattern was found to decrease the 10-year diabetes risk by almost 50% whereas high adherence more than 60%. Trend analysis also revealed a significant logarithmic relationship between diabetes development and adherence to the Mediterranean diet, suggesting that shifting from low to medium adherence was followed by a greater relative risk reduction compared with shifting from medium to high. Among MedDietScore components, wholegrain cereals, fruits and legumes had the greatest predictive ability on diabetes risk; in other words exerted the greatest protection. Furthermore, abdominal fat was found to have a moderating effect on the tested relationship; the protective effect of the diet was limited, though strengthened, when WC exceeded 94/80 cm for men and women, respectively. Finally, an effort to identify potential mediators of the Mediterranean diet-diabetes inverse association was attempted. It was revealed that changes in TAC, TNF- α and homocysteine concentrations may underlie diabetes pathogenesis mechanism, suggesting that adherence to the Mediterranean diet may offer its antidiabetic effect through a decrease in oxidative stress and subclinical inflammation. Despite the limitations of the present observational study, the large, representative sample, the prospective design and follow-up of 10 years, as well as the detailed assessment of lifestyle information and, therefore, the ability to adjust for several known confounders, may guarantee that the reported findings are of considerable public health importance, as they shed light into the underlying pathway of Mediterranean's diet anti-diabetic effect, as well as the group of people that seem to benefit most by the pattern's long-term high adherence.

Mediterranean diet has been consistently linked to lower diabetes incidence, a finding confirmed recently by the meta-analysis of Koloverou et al. [6]. De Koning et al. have also observed that Mediterranean diet yields its benefit only in the presence of high BMI [22]; similar to the present study, where increased WC, an even better than BMI predictor of diabetes [23] was found to maximize Mediterranean diet's beneficial effect. Considering the higher levels of oxidative stress and inflammation among individuals with abdominal obesity [24,25], and the observed mediating effect of TAC, homocysteine and TNF- α on the examined relationship, this finding does make sense, and further confirms the inflammatory and oxidative stress component in diabetes pathogenesis [7,10].

Mediterranean diet's anti-inflammatory potential is well known. Whole grains, vegetables, fruit and fish, in all of which Mediterranean diet is abundant, as well as vitamin C, vitamin E and carotenoids are associated with lower circulating concentrations of inflammatory markers [26]. Two long-term randomized clinical trials have proven the effectiveness of Mediterranean diet in lowering inflammatory markers, such as CRP and IL-6, either following weight loss in post-menopausal women [27] or independent of weight loss among patients with metabolic syndrome [28].

In this article, three other biomarkers were identified as plausible mediators of Mediterranean diet–diabetes inverse association: homocysteine, TNF- α , and TAC. Mediterranean diet has previously been reported to decrease homocysteine [29], an inflammatory score including TNF- α [30], and to increase TAC [31]. Regarding homocysteine, a recent meta-analysis highlighted that hyperhomocysteinemia is causally linked to diabetes development [32], which makes the present finding even more robust. TNF- α , a proinflammatory cytokine, has long been studied in relation to obesity-related insulin resistance, and it is found to deteriorate insulin-signalling pathways [33,34]. Furthermore, TNF- α antagonists improve insulin sensitivity among non-diabetic patients with rheumatoid arthritis [35]. However, a direct association between TNF- α and diabetes incidence has not been established. Finally, TAC has been inversely associated with diabetes biomarkers among healthy participants [36]; nevertheless, similarly with TNF- α , it has not been definitively linked to diabetes incidence.

The proposed effect of Mediterranean diet against diabetes development was postulated to be the interplay between the pattern's nutritional components. As it was observed, wholegrain cereals, legumes and fruits consumption were primarily linked to the pattern's anti-diabetic effect. Cereal-oriented dietary fibre has been suggested to act beneficially [37] because of delayed gastric emptying, which slows down glucose absorption and reduces insulin levels, as well as the bran's high magnesium concentration. Decreased intracellular enzymatic activity, due to magnesium deficiency, fosters insulin resistance [38]. Legumes are also excellent magnesium sources. With regard to fruits, their significant antioxidant content may be responsible for their high predictive ability. As mentioned earlier, dietary antioxidants may suspend oxidative stress accumulation, which inflicts damage on pancreatic b-cell's dynamic for insulin production and secretion [7]. Other dietary components may act protectively. Alcohol consumption in moderation improves insulin sensitivity, reduces basal insulin secretion rate and lowers fasting glucagon concentration [39]. Moreover, fish and nut derived n-3 free fatty acids, along with olive oil polyphenols, shift metabolic balance towards a more anti-inflammatory state [40], which as mentioned earlier contributes to diabetes onset detriment.

Limitations

This study has some limitations that should be considered. Because the exact time of diabetes onset was not known in all cases, only the date of diabetes diagnosis, hazard ratios was estimated through odds ratios, which may have over-estimated the true effect. However, for low-frequency diseases, odds ratio is suggested to be an accurate estimate (converges) of the relative risk. Furthermore, considering that individuals with CVD were excluded in baseline assessment, as well as the possibility of misclassification of diabetes status for patients interviewed by phone, there may have been an underestimation of diabetes incidence. The difficulty of an accurate evaluation of Mediterranean diet with possible underreporting and misclassification should be acknowledged, as in all observational studies. Finally, the fact that some participants might have changed their dietary habits during the long follow-up of 10 years, without timely information updates, should also be acknowledged.

Conclusions

The present study confirmed the favorable effect of Mediterranean dietary pattern against diabetes onset and identified potential mechanisms. Specifically, the novelty of this work is that Mediterranean diet was found to exert its protection, through attenuation of inflammation process and oxidative stress, especially among individuals with increased WC. Although focused studies are deemed necessary to draw firm

conclusions

regarding Mediterranean diet's anti-diabetic pathways, the reported results underline the crucial role of Mediterranean diet not only as a promising dietary tool for the primary prevention of diabetes but also as a plethora of cardiometabolic disorders, with an inflammatory or oxidative stress component.

References

1. International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas, sixth edition.
2. Khazrai YM, Defeudis G, Pozzilli P. Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: a review. *Diabetes Metab Res Rev* 2014; 30(Suppl 1): 24–33.
3. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 1986; 124(6): 903–915.
4. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr* 1995; 61(6 Suppl): 1402S–1406S.
5. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Polychronopoulos E, Chrysohoou C, Zampelas A, Trichopoulou A. Can a Mediterranean diet moderate the development and clinical progression of coronary heart disease? A systematic review. *Med Sci Monit* 2004; 10(8): RA193–198.
6. Koloverou E, Esposito K, Giugliano D, Panagiotakos D. The effect of Mediterranean diet on the development of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 10 prospective studies and 136 846 participants. *Metabolism* 2014; 63(7): 903–911.
7. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52(1): 1–8.
8. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(3): 694–699.
9. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: the ATTICA study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(1): 152–158.
10. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(2): 98–107.
11. Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Pitsavos C, Stefanadis C. Association between the prevalence of obesity and adherence to the Mediterranean diet: the ATTICA study. *Nutrition* 2006; 22(5): 449–456.
12. Funtikova AN, Benítez-Arciniega AA, Gomez SF, Fitó M, Elosua R, Schröder H. Mediterranean diet impact on changes in abdominal fat and 10-year incidence of abdominal obesity in a Spanish population. *Br J Nutr* 2014; 111(8): 1481–1487.
13. Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med* 2009; 360(9): 859–873.
14. Mozaffarian D, Marfisi R, Levantesi G, et al. Incidence of new-onset diabetes and impaired fasting glucose in patients with recent myocardial infarction and the effect of clinical and lifestyle risk factors. *Lancet* 2007; 370(9588): 667–675.
15. Tobias DK, Hu FB, Chavarro J, Rosner B, Mozaffarian D, Zhang C. Healthful dietary patterns and type 2 diabetes mellitus risk among women with a history of gestational diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 2012; 172(20): 1566–1572.
16. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20(7): 1183–1197.
17. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Stefanadis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003; 3: 3–32.
18. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009; 50(4): 283–294.
19. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semiquantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 1997; 26(Suppl 1): S118–S127.
20. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean

- diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 16(8): 559–568.
21. Koloverou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. 10-year incidence of diabetes and associated risk factors in Greece: the ATTICA study (2002–2012). *Rev Diabet Stud* 2014; 11(2): 181–189.
 22. de Koning L, Chiuve SE, Fung TT, Willett WC, Rimm EB, Hu FB. Diet-quality scores and the risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care* 2011; 34(5): 1150–1156.
 23. Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(3): 555–563.
 24. Esser N, Paquot N, Scheen A. Antiinflammatory agents to treat or prevent type 2 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Expert Opin Invest Drugs* 2015; 24(3): 283–307.
 25. Stefanovic A, Kotur-Stevuljević J, Spasić S, Bogavac-Stanojević N, Bujisić N. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 79(1): 156–163.
 26. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr* 2011; 106(Suppl 3): S5–S78.
 27. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003; 289(14): 1799–1804.
 28. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, et al. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292(12): 1440–1446.
 29. Dedousis GV, Panagiotakos DB, Chrysohou C, et al. Effect of interaction between adherence to a Mediterranean diet and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T mutation on homocysteine concentrations in healthy adults: the ATTICA Study. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(4): 849–854.
 30. Richard C, Couture P, Desroches S, Lamarche B, et al. Effect of the Mediterranean diet with and without weight loss on markers of inflammation in men with metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21(1): 51–57.
 31. Kavouras SA, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. Physical activity and adherence to Mediterranean diet increase total antioxidant capacity: the ATTICA study. *Cardiol Res Pract* 2011; 2011: 248626.
 32. Huang T, Ren J, Huang J, Li D. Association of homocysteine with type 2 diabetes: a meta-analysis implementing Mendelian randomization approach. *BMC Genomics* 2013; 14: 867.
 33. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G, et al. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes* 2002; 51(7): 2005–2011.
 34. Frayn KN. Visceral fat and insulin resistance – causative or correlative? *Br J Nutr* 2000; 83(Suppl 1): S71–S77.
 35. Kiortsis DN, Mavridis AK, Vasakos S, Nikas SN, Drosos AA. Effects of infliximab treatment on insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(5): 765–766.
 36. Psaltopoulou T, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. Dietary antioxidant capacity is inversely associated with diabetes biomarkers: the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21(8): 561–567.
 37. Liese AD et al. Dietary glycemic index and glycemic load, carbohydrate and fiber intake, and measures of insulin sensitivity, secretion, and adiposity in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2005; 28(12): 2832–2838.
 38. Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A, et al. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Mol Aspects Med* 2003; 24(1–3): 39–52.
 39. Bonnet F, Disse E, Laville M, et al. Moderate alcohol consumption is associated with improved insulin sensitivity, reduced basal insulin secretion rate and lower fasting glucagon concentration in healthy women. *Diabetologia* 2012; 55(12): 3228–3237.
 40. Scoditti E, Capurso C, Capurso A, Massaro M. Vascular effects of the Mediterranean diet part II: role of omega-3 fatty acids and olive oil polyphenols. *Vascul Pharmacol* 2014; 63(3): 127–134.

DIETARY PATTERNS AND 10-YEAR (2002-2012) INCIDENCE OF TYPE 2 DIABETES: RESULTS FROM THE ATTICA COHORT STUDY⁴

Efi Kolverou¹, Demosthenes B. Panagiotakos¹, Ekavi N. Georgousopoulou¹, Athanasios Grekas¹, Aimilia Christou¹, Michail Chatzigeorgiou¹, Christina Chrysohou², Dimitrios Tousoulis², Christodoulos Stefanadis², Christos Pitsavos², and the ATTICA Study Group

¹ Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

² First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Abstract

AIM: Identification of dietary patterns among apparently healthy individuals and determination of their long-term effect on diabetes incidence.

METHODS: During 2001-2002, a random sample of 3,042 men and women (18-89 years old), living in Athens greater area, was randomly selected to participate in the study. During 2011-2012, the 10-year follow-up was performed in 2,583 participants (15% drop-out rate). After excluding participants with diabetes at baseline and those from whom no information on diabetes status was available at follow-up, the working sample consisted of 1,485 participants. Dietary habits were assessed by means of a validated semi-quantitative, food frequency questionnaire. Factor analysis was performed to extract dietary patterns from 18 food groups.

RESULTS: Diabetes diagnosis at follow-up was made in 191 participants, yielding an incidence rate of 12.9%. Six factors were extracted explaining 54% of the variation in consumption. After adjusting for major confounders, stratification by age-group logistic regression revealed that the most healthful pattern consisted of the consumption of fruits, vegetables, legumes, bread, rusks, and pasta which reduced the 10-year diabetes risk by 40%, among participants aged 45-55 years. However, the association reached statistical significance only marginally (95% CI: 0.34, 1.07). For the other age-groups no significant association was observed. When the analysis was additionally adjusted for carbohydrate percentage, statistical significance was lost completely, suggesting a possibly mediating effect of this macronutrient.

CONCLUSIONS: The results confirm the potentially protective effect of a plant-based dietary pattern in the primary prevention of diabetes, in particular among middle-aged people. Carbohydrate content may be a specific factor in this relationship; other micronutrients found in plant-based food groups may also play a role.

Keywords: type 2 diabetes, cohort study, dietary patterns, diabetes incidence, factor analysis

Abbreviations

BMI	body mass index
CVD	cardiovascular disease
CI	confidence interval
HDL	high-density lipoprotein
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
LDL	low-density lipoprotein
OR	odds ratio
WC	waist circumference

⁴ Δημοσίευση στο **Review of Diabetic Studies** (Rev Diabet Stud. 2016 Winter;13(4):246-256. doi: 10.1900/RDS.2016.13.246. Epub 2017 Feb 10.)

Introduction

The World Health Day 2016 campaign was dedicated to the devastating impacts and consequences of type 2 diabetes which has reached epidemic dimensions. The World Health Organization reported that, in 2014, 9% of the adult population was diagnosed with diabetes; it is estimated that the disease will rise to the 7th place of leading diseases by 2030 (Mathers and Loncar 2006, Mendis, Davis et al. 2015). Patients are facing a 2-4 times higher risk of cardiovascular disease (CVD) or death from any cause associated with the disease (Fox, Coady et al. 2007). These alarming figures necessitate the need for effective therapeutic means and preventive strategies, especially in middle- and low-income countries.

Genetic susceptibility is an important factor in the pathogenesis of diabetes, but acts mainly as trigger in relation with specific environmental factors. Therefore, weight management and regular physical activity are common targets of interventional programs as they have been inversely associated with diabetes development and progression (Mayor 2007). Although diet has long been recognized to be necessary for an effective diabetes management (Khazrai, Defeudis et al. 2014), its role on primary disease prevention still remains unclear. The effects of specific food groups on the onset of diabetes and its complications have been studied extensively. Several food groups such as whole grain, low-fat dairy products, fruits, vegetables, pulses, and nuts (in women) have been found to be positive correlated with reduced risk of diabetes, while sugar-rich beverages, meat, processed meat, hydrogenated oils, margarines, and eggs seem to increase the risk of diabetes [6]. In recent times, the use of the patterns approach has shown advantages over the consideration of separate food groups, for both practical and methodological reasons (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2009):

1. Foods may have synergistic or competing properties, which may alter the true food-health relationship.
2. Individuals consume a variety of food combinations. Therefore, eating patterns reflect more adequately dietary habits.
3. A pattern is more easily translatable into guidelines in everyday clinical practice, compared to the intake of specific nutrients.

Nutritional epidemiology has used the following two statistical approaches for the identification of dietary patterns:

1. *A-priori* method (based on an already described pattern)
2. *A-posteriori* method (based on a study describing a new pattern that has been derived empirically) [8]

Various studies have used *a-priori* methods to evaluate the relation of the adherence to a dietary pattern to diabetes pathogenesis among initially healthy individuals. The most common pattern tested is the Mediterranean diet, which has consistently been found to lower diabetes risk (Martinez-Gonzalez, de la Fuente-Arrillaga et al. 2008, Salas-Salvado, Bullo et al. 2011, Koloverou, Panagiotakos et al. 2015). The pattern is characterized by:

1. Abundant consumption of plant foods and olive oil as the principal source of fat.
2. Moderate consumption of fish, poultry, eggs, dairy products, and alcohol.
3. Low consumption of meat, its products, processed foods, and sugar (Willett, Sacks et al. 1995).

Some studies have used *a-posteriori* methods to find new dietary patterns, and evaluate their long-term effects on the risk of diabetes (van Dam, Rimm et al. 2002, Hodge, English et al. 2007, Brunner, Mosdol et al. 2008). Apart from the method applied, the results of studies on the relation of diet to risk of diabetes are inconsistent. A meta-analysis of 10 prospective studies, with equal representation of Caucasians, Africans, Hispanics, and Chinese, concluded that “healthful” patterns, consisting of fruits, vegetables, and whole grain products, may reduce diabetes risk by 14%, whereas “unhealthful” patterns, including high contents of red and processed meat, high-fat dairy, and refined grains, may increase the risk by 30% (Maghsoudi, Ghiasvand et al. 2016). However, a very recent case-control study did not find a significant association between healthful dietary patterns and diabetes risk (Zaroudi, Yazdani Charati et al. 2016). Furthermore, most studies have focused on subjects aged over 40 years, meaning a lack of data in younger ages. This is particularly relevant as type 2 diabetes patients are becoming increasingly younger. To the best of our knowledge, no study has investigated the potential differentiated effect of a dietary pattern by age group until today. Finally, no relevant study has been conducted in Greece, a country that experienced low CVD rates in the 1960s and 1970s, but high diabetes rates today, with 13 new cases per 1000 adults per year (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014), which is consistent with the global trend.

Therefore, in the present work, we investigated the effects of dietary patterns on the 10-year incidence of diabetes in a large, representative sample of CVD-free Greek adults, aged over 18 years.

2. Methods

2.1 Baseline sampling procedure (2001-2002)

The ATTICA study is a large-scale, prospective, health- and nutrition-related survey. The baseline sampling of participant data was conducted during 2001-2002 in the province of Attica, where Athens is the major metropolis. In each area, the information was collected during all four seasons to eliminate the potential confounding effect of seasonality on dietary habits. Of the 4,056 inhabitants of the above area invited initially, and after excluding those with CVD (i.e., n = 117) and those with chronic viral infections (n = 107), 3,042 individuals agreed to participate (75% participation rate); 1,514 of the participants were men (aged 46 ± 13 yr; range 18-87 yr) and 1,528 were women (aged 45 ± 13 yr; range: 18-89 yr). Trained personnel (i.e., cardiologists, general practitioners, dietitians, and nurses) interviewed the participants following a standard methodology. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines; all procedures involving human subjects were approved by the ethics committee of the First Cardiology Department of the University of Athens. Written informed consent was obtained from all individuals. General information about the aims, design, and methods of the ATTICA study may be found elsewhere (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003).

2.2 Baseline measurements (2001-2002) - dietary assessment

The evaluation of the dietary habits was based on a validated, semi-quantitative food-frequency questionnaire, the EPIC-Greek questionnaire, which was kindly provided by the Unit of Nutrition from the Athens Medical School (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). The participants were instructed by trained personnel to complete the questionnaire, which included 156 foods and beverages commonly used in Greece. In this work, we focused on major food groups, including dairy products (milk, yogurt, and cheese), fruits, vegetables, legumes, starchy foods (cereals, bread, pasta, potatoes, and rice), meat (red, white, and processed), small and big fish, eggs, nuts, and sweets. Beverages such as alcohol, coffee, soda drinks, and tea were not considered. Added fat was recorded, but also not considered in the analysis since the majority of participants (about 95%) reported the use of olive oil as the main fat added, causing this variable to be almost constant. In this population, the exclusive use of olive oil as added oil and in cooking is a tradition carried on until today.

2.3 Socio-demographic and other lifestyle variables

Information about socio-demographic characteristics (age, sex, and years of school), personal and family history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of CVD, smoking status, and physical activity were collected. Smokers were defined as persons who smoked at least one cigarette per day or who had quitted within the previous year; the rest were defined as non-smokers. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), an index of weekly energy expenditure recording frequency (times/week), duration (in minutes), and intensity of physical activity (in expended calories per time), was used to determine the level of physical activity (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009).

2.4 Anthropometric, clinical, and biochemical characteristics

Weight (in kg), height (in m), waist and hip circumference (in cm), and clinical characteristics were measured using standard procedures. Arterial blood pressure was measured 3 times by using the right arm. All measurements were performed at the end of the physical examination, while subjects were in a sitting position for at least 30 min. When average blood pressure was ≥140/90 mm Hg or when antihypertensive medication was used, the participant was classified as hypertensive. Blood samples were collected from the antecubital vein between 8 to 10 a.m., in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Serum total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, and glucose concentrations were measured using the chromatographic enzymic method by a Technicon automatic analyzer RA-1000. LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formulae. Hypercholesterolemia was defined as total serum cholesterol concentrations >200 mg/dl or the use of lipid-lowering agents. Serum insulin concentrations were assayed by means of a radioimmunoassay. Diagnosis of type 2 diabetes was conducted according to American Diabetes Association criteria (American Diabetes Association 1997), i.e., fasting blood glucose >125 mg/dl or the use of antidiabetic agents and/or insulin.

2.5 Ten-year follow-up evaluation (2011-2012)

The 10-year follow-up was performed during 2011-2012. Of the 3,042 participants, 2,583 completed the follow-up (85% participation rate). A detailed evaluation of the participants' medical status was performed. Among various endpoints, development of diabetes mellitus was recorded. Patients who had diabetes at baseline ($n = 210$), and those for whom information about diabetes status were not available at the 10-year follow up ($n = 888$), were excluded from the present analyses, yielding a working sample of $n = 1,485$ participants. The sample size was adequate to achieve 92% statistical power for the evaluation of a relative risk of 0.70 between the null and the alternative two-sided hypothesis, when the exposure variable was increased by 1 unit and with a significance level (alpha) of 0.05. Further details about the baseline and 10-year follow-up procedures of the study are described elsewhere (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003, Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

2.6 Statistics - food factor derivation

Factor analysis, using the principal component method, was applied to identify dietary patterns that show protection against diabetes pathogenesis. The correlation matrix of the food variables used here showed that there were several correlation coefficients with $r > 0.4$. Moreover, the phi coefficient (a measure of the inter-association of variables) was 0.89, which is close to 1. Both approaches implied high interrelationships between the food-variables. Therefore, factor analysis was effective for assessing the food patterns.

From the entire food database, 18 food categories were selected to represent all major food groups, i.e., dairy products, fruits, vegetables, legumes, cereals, etc. (**Table 2**). Food groups that entered the analysis were coded as servings per month. The orthogonal rotation (rotation with varimax option) was used to derive optimal non-correlated factors. The factors are dietary patterns that are characterized by the main consumption of specific food groups, e.g. red or white meat and potatoes for one factor. The information was rotated to increase the representation of each food or food group to a factor.

Eigenvalues were derived from the correlation matrix of the standardized variables. The eigenvalue is a value that indicates the proportion of the variance in consumption explained by each factor. The scree plot of the eigenvalues was examined to decide about the number of factors retained. According to Kaiser's criterion, the factors that should be retained are those with eigenvalues > 1 . In our analysis, a six-factor solution was selected (six dietary patterns), because six of the 18 extracted factors had eigenvalues > 1 . We have then calculated factor scores, which are interpreted similarly to correlation coefficients, i.e., higher absolute values indicate that the food variable contributes most to the construction of the factor. The patterns were indicated according to the scores of the food groups that correlated most with the factors (scores 0.4).

2.7 Descriptive and basic statistical analyses

The incidence of diabetes was calculated as the ratio of new cases ($n = 191$) to the total number ($n = 1,485$) of participants in the follow-up. Continuous variables were indicated as mean values \pm standard deviation and categorical variables as frequencies. After ensuring equality of variances using Levene's test, comparisons of mean values of normally distributed variables between participants who developed diabetes and those who did not were performed using Student's *t*-test. For non-normally distributed variables, the Mann-Whitney test was applied. Continuous variables were tested for normality by the Kolmogorov-Smirnov test. For categorical variables, the chi-squared test was used. Since the extracted factors (i.e., dietary patterns) were not normally distributed, their correlations with diabetes risk were tested using Spearman's rho test for continuous variables or Mann-Whitney test for categorical variables.

Slightly adjusted, multiple linear regression models were constructed using factor scores as dependent variables and major confounders as independent variables. The results were indicated as b-coefficient \pm SE. The risk of developing diabetes during the 10-year study period in relation with the adherence to a dietary pattern was estimated using odds ratios (OR) in combination with the respective 95% confidence intervals derived from multiple logistic regression. This type of analysis was preferred (instead of survival analysis) as there were no data on diabetes onset, but only diagnosis. Interactions of each confounder with extracted dietary patterns were checked in all steps of the analysis. Known confounders were included in the models after testing for collinearity. The significance level (alpha) of 0.05 was used, and all reported p-values were based on two-sided tests. SPSS software (Statistical Package for Social Sciences, IBM Hellas SA, Greece, version 18) was used for all statistical calculations.

3. Results

3.1 10-year diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, 191 diabetes cases were recorded, yielding a crude incidence of 129 per 1000 participants (or 12.9%). Of the 191 cases, 97 (13.4%) were men and 94 (12.4%) were women ($p = 0.79$ for gender difference) (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

3.2 Participants' baseline characteristics by diabetes status at 10-year follow-up

Demographic and clinical characteristics of the ATTICA study participants by diabetes status at 10-year follow-up are presented in **Table 1**. Unadjusted analysis revealed that, at baseline, participants who developed diabetes were older by almost a decade, were more likely to be predisposed to diabetes, had higher fasting glucose levels, and a greater proportion had hypertension, hypercholesterolemia, and the metabolic syndrome, compared to those that did not develop diabetes. They also had a higher initial body mass index (BMI) and waist circumference, and were more likely to have an abnormal waist-to-hip ratio. Smoking status, years of education, energy intake, and physical activity did not differ significantly between the two groups at baseline.

Some slight differences in some baseline characteristics were noted between those for whom information about 10-year diabetes status was available ($n = 1,485$) and those for whom it was not ($n = 1,347$). These characteristics concerned the distribution of age (43 ± 13 vs. 45 ± 13 years, $p < 0.001$), hypertension (30% vs. 26%, $p = 0.036$), smoking status (58% vs. 54%, $p = 0.028$), abnormal waist circumference (50% vs. 54%, $p = 0.027$), and fasting glucose level (88 ± 12 vs. 80 ± 13 , $p = 0.005$). No differences were found in the distribution of sex, years of education, family history of diabetes, physical activity, metabolic syndrome, hypercholesterolemia, BMI, abnormal waist-to-hip ratio, and energy intake (all $p > 0.05$).

Table 1. Baseline characteristics of the ATTICA study's participants according to the 10-year diabetes incidence ($n=1485$).

Baseline factors:	Status at 10-year follow – up		
	Without diabetes (n=1294)	With diabetes (n=191)	<i>p</i>
Age, years	44±13	53±11	<0.001
Male sex, n (%)	629 (49)	97 (51)	0.57
Education, years of school	13±3.4	14±3.4	<0.001
Body mass index, kg/m ²	26±4.0	29±5.0	<0.001
Waist circumference, cm	88±14	98±16	<0.001
Abnormal WHR ratio ^a	375 (34)	94 (59)	<0.001
Energy intake, kcal/day	2335±917	2616±1095	0.10
Physically active, n (%)	552 (43)	73 (38)	0.25
Current smokers, n (%)	702 (54)	100 (52)	0.62
Hypertensive subjects, n (%)	333 (27)	82 (46)	<0.001
Hypercholesterolemic subjects, n (%)	475 (37)	106 (56)	<0.001
Family history of diabetes, n (%)	230 (20)	61 (36)	<0.001
Fasting glucose, mg/dL	88±12	95±14	<0.001
Metabolic syndrome occurrence, n (%)	152 (12)	58 (30)	<0.001

Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. P-values derived from Student's t-test for the normally distributed variables and Mann-Whitney test for the non-normally distributed variables (i.e., years of school, fasting glucose), or chi-square test for the categorical variables. ^a>0.8 for women and >1.0 for men.

3.3 Dietary patterns

Factor analysis identified six factors (dietary patterns) that explained the 54% of the total variation in consumption. The scores for the six factors are presented in **Table 2** (the coefficients with absolute value greater than 0.4 are presented in bold). As mentioned previously, the higher the absolute value of a specific food or food group the higher is its participation in the development of the factor. We have derived the following six factors (dietary patterns) that are characterized by the main consumption of the food groups indicated:

- Factor 1: Red or white meat (beef, pork, and poultry) and potatoes (fried, boiled, or baked)
- Factor 2: Fruits, vegetables, legumes, bread, pasta, rusks (the healthful pattern)

- Factor 3: Processed meat and all kind of cheese
 Factor 4: Fish (small and big)
 Factor 5: Nuts and sweets
 Factor 6: Dairy and cereals

Interestingly, some food groups were not as inter-correlated as expected, e.g., cheese not with milk and yogurt, or poultry not with fish; this led to the classification of these food products into different food patterns. Factor 1 was the most dominant pattern and explained 15.5% of the total variation in consumption. Each of the remaining five factors explained between 5.9% (Factor 6) to 10% (Factor 2) of the variance in consumption.

Correlations between participants' characteristics (i.e., age, sex, years of education, waist circumference, physical activity status, family history of diabetes, smoking, and status of hypertension and hypercholesterolemia) and factor scores were tested (for descriptive reasons). We received the following results for the different factors:

- Factor 1 was associated inversely with age ($\rho = -0.23$, $p < 0.001$) and physical activity status ($p = 0.018$).
- Factor 2 was associated positively with age ($\rho = 0.194$, $p < 0.001$) and inversely associated with hypertension ($p = 0.008$) and hypercholesterolemia status ($p = 0.049$).
- Other Factors: correlations between diabetes risk and the other factors were not existent because they explained only a small proportion of the total variation in consumption.

Finally, multiple adjusted regression models were constructed, with Factors 1 and 2 as dependent variables, and age, sex, family history of diabetes, waist circumference, physical activity, smoking, and hypertension and hypercholesterolemia status as independent variables. Factor 1 was inversely associated only with age ($b = -0.029 \pm 0.005$, $p < 0.001$) and Factor 2 positively associated with age ($b = 0.016 \pm 0.004$, $p = 0.001$) and hypertension status ($b = 0.26 \pm 0.11$, $p = 0.021$).

Table 2. Factor coefficients regarding foods or food groups consumed by Greek ATTICA study participants ($n = 1485$) at baseline

Food / food group	Factor ^b					
	1	2	3	4	5	6
Dairy (milk, yogurt)	0.037	0.106	0.085	-0.068	-0.197	0.744
Fruits	0.007	0.550	0.081	0.354	0.358	0.224
Vegetables	0.143	0.655	0.110	0.281	-0.020	0.158
Legumes (lentils, beans etc)	0.016	0.692	-0.048	0.009	-0.012	-0.053
Bread, rusks, pasta	-0.061	0.554	0.096	-0.351	0.199	-0.124
Cereals	-0.138	-0.105	-0.024	0.143	0.281	0.676
Beef	0.583	-0.022	0.320	0.368	-0.064	-0.055
Pork	0.670	-0.059	0.156	-0.071	0.212	-0.075
Chicken	0.651	0.144	-0.219	0.043	-0.149	0.379
Processed meat	0.336	-0.106	0.455	-0.358	0.177	0.107
Fish, small	0.094	0.156	0.255	0.668	-0.029	-0.188
Fish, big	-0.040	0.022	-0.094	0.618	0.095	0.173
Potatoes, fried	0.574	-0.033	-0.038	-0.169	0.326	-0.136
Potatoes boiled/baked	0.484	0.329	-0.056	0.123	0.090	-0.053
Feta cheese (traditional cheese)	-0.031	0.126	0.686	0.049	0.087	-0.098
Hard cheese	0.030	-0.010	0.782	0.066	-0.008	0.124
Nuts	0.082	0.034	0.021	0.002	0.752	-0.093
Sweets	0.219	0.156	0.118	0.044	0.614	0.119

^aScore coefficients are similar to the correlation coefficients, with higher absolute values indicative of higher correlation between the (food) variable and the respective factor

^bThe patterns are mainly characterized by the consumption of: meat and potatoes (Factor 1), fruits, vegetables, legumes, bread, rusk and pasta (Factor 2), processed meat and cheese (Factor 3), fish (Factor 4), nuts and sweets (Factor 5), dairy and cereals (Factor 6).

3.4 10-year diabetes incidence and dietary patterns

To evaluate the associations between the extracted factors and the 10-year risk of developing type 2 diabetes, logistic regression was performed. The interaction between factor scores and age-groups of subjects was statistically significant, so the analysis was continued with the stratification by age groups. As the data was stratified, we included only major confounders in the analysis (i.e., sex, family history of diabetes, waist circumference, and smoking status) to avoid over-adjustment.

The results are shown in **Table 3**. The healthful pattern characterized by the consumption of fruits, vegetables, and starchy foods showed a 40% lower 10-year risk of developing diabetes (OR = 0.60, 95% CI: 0.34, 1.07) for participants aged 45-55 years at baseline. This result also shows that age plays a particular role in the effect, i.e., mid-aged people seem to benefit most from the carbohydrate-rich, vegetarian diet. No other food pattern reached statistical significance.

As Factor 2 represented almost all of the carbohydrate-rich foods consumed in Greece (i.e., bread, rusks, pasta, legumes, fruits, and vegetables), we also included the percentage of calories from carbohydrates in the analysis to test whether the marginally protective effect found for the vegetarian, carbohydrate-rich diet is mediated by the high carbohydrate content. This approach led to statistical significance to be lost (OR = 0.62, 95% CI: 0.34, 1.13), indicating that there may be a mediating effect caused by carbohydrates. When the model was adjusted for total energy intake (instead of calories by carbohydrates), the marginally significant effect of Factor 2 was lost again (OR = 0.72, 95% CI: 0.35, 1.49), indicating the importance of the total amount of calories consumed on the tested relationship.

Table 3. Results (odds ratio and 95% confidence interval) from multiple logistic regression, by age-group, among 1,485 participants of ATTICA study, which evaluated the association between food factors and the 10-year diabetes risk

	Odds Ratio	95% CI
Age group <45 years		
Factor 1: meat, poultry and potatoes	0.99	0.49 – 2.03
Factor 2: fruits, vegetables, legumes, bread, rusks, pasta	1.89	0.85 – 4.18
Factor 3: processed meat and cheese	0.86	0.39 – 1.88
Factor 4: fish	1.12	0.44 – 2.84
Factor 5: nuts and sweets	1.19	0.58 – 2.53
Factor 6: dairy and cereals	1.23	0.60 – 2.50
Age group: 45-55 years		
Factor 1: meat, poultry and potatoes	0.79	0.39 – 1.59
Factor 2: fruits, vegetables, legumes, bread, rusks, pasta	0.60	0.34 – 1.07
Factor 3: processed meat and cheese	0.80	0.38 – 1.69
Factor 4: fish	1.43	0.75 – 2.72
Factor 5: nuts and sweets	1.37	0.84 – 2.25
Factor 6: dairy and cereals	1.12	0.62 – 2.03
Age group: >55 years		
Factor 1: meat, poultry and potatoes	0.93	0.11 – 7.47
Factor 2: fruits, vegetables, legumes, bread, rusks, pasta	0.19	0.02 – 2.03
Factor 3: processed meat and cheese	0.18	0.004 – 7.6
Factor 4: fish	10.6	0.062 – 18.34
Factor 5: nuts and sweets	1.40	0.32 – 6.18
Factor 6: dairy and cereals	22.3	0.25 – 20.2

^aThe analysis was adjusted for major confounders, i.e., gender, family history of diabetes, waist circumference and smoking status. ^bSince the 1-unit increase in Factors' scores is not meaningful (i.e., 1-unit increase does not mean 1 serving increase) the reader could only evaluate the direction of the effect size (i.e., hazard ratio >1= "unprotective" or <1= "protective")

4. Discussion

Using factor analysis in a sample of 1,485 adult men and women free of cardiovascular disease, we derived six factors (patterns) that explained 54% of the total variation in dietary habit. Factor 1 was characterized by the consumption of red or white meat and potatoes, a typical Greek eating behavior; it had the largest part of variance in consumption, namely 15.5%. Factor 2 could be described as a healthful pattern, as it featured good quality carbohydrate-rich foods, specifically fruits, vegetables, legumes, bread, rusks, and pasta. This pattern explained 10% of the variance in nutrition. The rest of the patterns represented other foods and food groups, including processed meat, cheese, fish, nuts, sweets, dairy products, and cereals, which explained approximately 6-8% of the total variance.

The abovementioned dietary patterns were studied in relation to 10-year diabetes risk. The analysis showed that age has a significant influence on the impact of diet on diabetes development. After sample stratification by age group, only the healthful pattern was found to significantly decrease the 10-year diabetes risk by 40% among participants aged 45-55 years. The inclusion of the percentage of carbohydrates in the fully adjusted model caused a slight change in the 95% CI, which means that the protective effect of the plant-based pattern (Factor 2) may partially be attributed to their greater amount of carbohydrates and smaller amount of fat.. Of course, the observed antidiabetic effect may be induced by different aspects of the diet, including other micronutrients, present in the food groups as well as potential nutritional interactions. It may be speculated that a high percentage of “good-quality carbohydrates” in the diet leads to a higher intake of antioxidants, magnesium, and fiber (which is linked to decreased diabetes risk), and a smaller intake of saturated and trans fatty acids (which is supposed to increase the risk) [6]. Finally, adjustment for calories had the same effect as the adjustment for carbohydrates, highlighting the importance of quantity, i.e., calories consumed, apart from quality, of a dietary pattern

Despite the observational nature of the present study, the large, representative sample, the prospective design, and the long follow-up period of 10 years in combination with the detailed assessment of lifestyle information, which allowed the adjustment for several known confounders, made the analysis meaningful and robust against overestimation. The finding supports the claim for healthful eating as it has a protective effect against diabetes development. As a new outcome, mid-aged people seem to benefit most from long-term adherence to the healthy eating pattern.

Pattern analysis has emerged as a complementary statistical approach when attempting to investigate the multidimensional essence of nutrition and its relationship with a chronic disease. A diet is more than the sum of its components. The synergistic effects of a diet exceed the combined effects of single food components, an insight that has led to fundamental concerns against food-specific, single-variable approaches. Therefore, studying food patterns may better delineate the variation in proportions, combinations, and frequencies of consumed foods and beverages. Furthermore, traditional, single-variable analysis is afflicted with methodological deficits, because the high level of inter-correlation between food variables makes the estimation of the effect size of single foods or nutrients in regression models difficult.

As discussed above, there are two methods available to identify food patterns. *A-priori* analysis intends to measure the level of adherence to a pre-specified healthful dietary pattern, using diet indexes. On the other hand, *a-posteriori* analyses (principal component, cluster, or factor) do not share the limitations of a “static” evaluation based on “expert” opinion, rather they generate dietary patterns incorporating characteristics of individual choices in relation to the development of a disease (Panagiotakos 2008). Previous studies have used the *a-posteriori* methodology to identify dietary patterns in relation to diabetes pathogenesis.

The present study also followed the *a-posteriori* method to identify the most healthful pattern, which was a vegetarian-like diet, rich in fruits, vegetables, legumes, and wholegrain cereals, and short in animal products. Similar patterns have already been described in other studies. Using cluster analysis, Brunner *et al.* studied 7,731 men and women (mean age 50 years) for 15 years, and detected a healthful pattern that included fruits, vegetables, whole-meal bread, low-fat dairy products, and small amounts of alcohol (Brunner, Mosdol *et al.* 2008). Montonen *et al.* studied 4,303 men (aged 40-69 years) for 23 years, and described a pattern labeled “prudent” that was characterized by increased consumption of fruits and vegetables (Montonen, Knek *et al.* 2005). Similarly, in a 4-year prospective study, Hodge *et al.* observed 36,787 adults from the Melbourne Collaborative Cohort, and described a similar pattern that was characterized by higher consumption of salad and cooked vegetables (Hodge, English *et al.* 2007). Finally, in a larger sample consisting of 42,504 men aged 40-75 years, the “prudent” pattern was not only characterized by fruits and vegetables,

but also fish, poultry, and whole grains (van Dam, Rimm et al. 2002). In all previous studies, the healthful patterns were associated with a reduced risk of diabetes. Although there is no standard definition of a "healthful pattern", it shows that fruits and vegetables were part of all healthful patterns detected in these studies. Interestingly, a very recent meta-analysis of 10 prospective studies concluded that a reduced risk of 14% may be achieved when adopting a healthful pattern consisting of fruits, vegetables, and whole grains (Maghsoudi, Ghiasvand et al. 2016). These results further confirm the existence of a healthful, anti-diabetic vegetarian-based diet.

Another interesting finding of the present study was the effect of age-groups on the tested relationship. The pattern characterized by rich amounts of fruits, vegetables, and complex carbohydrates was significantly associated with reduce diabetes risk, but only among middle-aged participants (45-55 years). It is well known that diabetes risk increases with age, with every year adding approximately 14% to the risk, and it has been previously reported that ATTICA study participants aged 45-54 years at baseline belong to the age-group with the most diabetes cases at 10-year follow-up (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014). It may thus be hypothesized that this group of participants benefited most from a healthy diet since this decade is critical for diabetes onset. To the best of our knowledge, no previous study has reported this finding; more studies are necessary to confirm it.

The proposed effect of the healthful pattern against diabetes development may be ascribed to several mechanisms. Following a food approach, this pattern is high in fruits and vegetables, which have been reviewed systematically and found recently to be inversely linked to diabetes development (Cooper, Forouhi et al. 2012). Antioxidants in fruits and vegetables have been hypothesized to protect against diabetes, suspending oxidative stress accumulation, which inflicts damage on pancreatic beta-cell's dynamic for insulin production and secretion [9]. Yet, supplementation with β-carotene and vitamins C and E has reported null associations with the risk of developing diabetes in women at high risk of CVD (Song, Cook et al. 2009). The interplay of a complex mixture of fruits and vegetables found in whole fruits and vegetables may be the key to a healthy nutritional behavior (Liu 2003). Bread, pasta, and rusks are also present in this pattern. It has been suggested that grain-oriented dietary fibers may act favorably against diabetes development because they cause delayed gastric emptying, which results in a decelerated glucose absorption, thus reducing the necessary insulin level to be provided by pancreatic beta-cells (Liese, Schulz et al. 2005). The bran of cereals is also very high in magnesium, which has been studied a lot in relation to diabetes. Decreased intracellular enzymatic activity due to magnesium deficiency promotes insulin resistance (Barbagallo, Dominguez et al. 2003). Legumes are excellent sources of magnesium and dietary fibers. Finally, the vegetarian-based pattern is poor in total and saturated fat. Consumption of dietary patterns high in total and saturated fat is directly and indirectly (fostering overweight) linked to impaired insulin resistance (Riccardi, Giacco et al. 2004). In summary, it is believed that single foods may have antidiabetic properties, but the antidiabetic potential of a healthful dietary pattern is postulated to be higher than the combined effects of single nutritional components.

We have applied statistical analysis of the data so as to realize as robust estimates as possible. Because the exact time of diabetes onset was unknown in all cases (only the date of diabetes diagnosis was known), the hazard ratios were estimated through odds ratios, which may have overestimated the true effect. However, for low-frequency diseases, odds ratio is suggested to be an accurate estimate (converging) of the relative risk. Furthermore, an underestimation of diabetes incidence was possible considering that individuals with CVD were excluded at baseline assessment. Another limitation was that a misclassification of diabetes status was possible for patients interviewed by phone. Also, the baseline nutritional evaluation was performed once; this may be influenced by seasonal variation and lacks reproducibility of the collected information. However, the food frequency questionnaire used has been found to be reproducible and reliable, while the sampling was performed over a year, and therefore, on average, nutritional habits from all seasons were included.

Stratification of the sample by age group may have led to decreased power and robustness in estimations of the effect sizes. However, the stratification was deemed necessary because of the significant interaction that existed. The lost-to follow-up rate was medium (about 15%), and mainly attributed to the wrong or missing contact information at baseline; this may have influenced our findings. However, it should be mentioned that only slight differences in the baseline characteristics were observed between those who participated in the follow-up and those who were lost. Finally, the fact that some participants might have changed their dietary habits during the long follow-up of 10 years, without timely information updates, as well as residual confounding due to unmeasured factors, are common limitations of this type of study.

5. Conclusions

The present work confirmed the protective effect of a pattern high in fruits, vegetables, legumes, and grains against diabetes development. The novelty is that the healthful dietary pattern included plant-based foods only, no fish, dairy, or poultry, and that the antidiabetic effect was documented only among middle-aged participants who are in a critical age for diabetes development. Since diet is a lifestyle factor that people can learn to control, this work carries a significant public health message, underlining the role of adherence to a plant-based pattern not only for diabetes, but also for primary prevention of a wide range of cardio-metabolic diseases.

Acknowledgments:

The authors would like to thank the following investigators from the ATTICA Study Group: Yannis Skoumas, Natassa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstadina Palliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatsas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Georgia-Maria Kouli, Aimilia Christou, Adella Zana, Maria Ntertimani, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitarki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou, and Athanasios Grekas for their assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation. We are also grateful to Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation, and to the laboratory team, including Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constadina Tseliaka, and Sia Poulopoulou (biochemical analysis), and Maria Toutouza (database management).

Conflict of interest: None to declare.

Funding: The ATTICA study has been funded by research grants from the Hellenic Cardiology Society (HCS/2002), and the Hellenic Atherosclerosis Society (HAS/2004/2015). Demosthenes Panagiotakos and Ekavi Georgousopoulou received research grants by Coca-Cola SA (10.9.2013).

Authorship: EK performed literature search and statistical analysis, and wrote the paper. EG, AG, AC, MC, CC, and DT carried out data collection and critically reviewed the paper. CS and CP designed the study. DBP was guarantor of the work; he designed the study, supervised the data-analysis, and critically reviewed the paper.

References

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Plos Med* 2006. 3(11):e442.
2. Mendis S, Davis S, Norrving B. Organizational update: the world health organization global status report on noncommunicable diseases 2014; one more landmark step in the combat against stroke and vascular disease. *Stroke* 2015. 46(5):e121-e122.
3. Fox CS, Coady S, Sorlie PD, D'Agostino RB, Pencina MJ Sr, Vasan RS, Meigs JB, Levy D, Savage PJ. Increasing cardiovascular disease burden due to diabetes mellitus: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2007. 115(12):1544-1550.
4. Mayor S. International Diabetes Federation consensus on prevention of type 2 diabetes. *Int J Clin Pract* 2007. 61(10):1773-1775.
5. Khazraei YM, Defeudis G, Pozzilli P. Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: a review. *Diabetes Metab Res Rev* 2014. 30(Suppl 1):24-33.
6. Salas-Salvado J, The role of diet in the prevention of type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011. 21(Suppl 2):B32-B48.
7. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanidis C. Inclusion of dietary evaluation in cardiovascular disease risk prediction models increases accuracy and reduces bias of the estimations. *Risk Anal* 2009. 29(2):176-186.
8. Brunner EJ, Mosdol A, Witte DR, Martikainen P, Stafford M, Shipley MJ, Marmot MG. Dietary patterns and 15-y risks of major coronary events, diabetes, and mortality. *Am J Clin Nutr* 2008. 87(5):1414-1421.
9. Martinez-Gonzalez MA, de la Fuente-Arrillaga C, Nunez-Cordoba JM, Basterra Gortari FJ, Beunza JJ, Vazquez Z, Benito S, Tortosa A, Bes-Rastrollo M. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. *BMJ* 2008. 336(7657):1348-1351.
10. Koloverou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Georgousopoulou EN, Grekas A,

- Christou A, Chatzigeorgiou M, Skoumas I, Tousoulis D, et al. Adherence to Mediterranean diet and 10-year incidence (2012-2014) of diabetes; the mediating effect of inflammatory and oxidative stress biomarkers: results from ATTICA cohort study. *Diabetes Metab Res Rev* 2015. 32(1):73-81.
11. Salas-Salvado J, Martinez-Gonzalez MA, Bullo M, Ros E. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care* 2011. 34(1):14-19.
 12. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr* 1995. 61(6 Suppl):1402S-1406S.
 13. van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med* 2002. 136(3):201-209.
 14. Hodge AM, English DR, O'Dea K, Giles GG. Dietary patterns and diabetes incidence in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2007. 165(6):603-610.
 15. Maghsoudi Z, Ghiasvand R, Salehi-Abargouei A. Empirically derived dietary patterns and incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis on prospective observational studies. *Public Health Nutr* 2016. 19(2):230-241.
 16. Zaroudi M, Yazdani Charati J, Mehrabi S, Ghorbani, E, Norouzkhani J, Shirashiani H, Nikzad B, Seiedpour M, Izadi M, Mirzaei M, et al. Dietary Patterns Are Associated with Risk of Diabetes Type 2: A Population-Based Case-Control Study. *Arch Iran Med* 2016. 19(3):166-172.
 17. Koloverou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Georgousopoulou EN, Pitarka E, Metaxa V, Stefanidis C. 10-year incidence of diabetes and associated risk factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012). *Rev Diabet Stud* 2014. 11(2):181-189.
 18. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Stefanidis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003. 3:3-32.
 19. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 1997. 26(Suppl 1):S1181-S1127.
 20. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009. 50(4):283-294.
 21. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997. 20(7): 1183-1197.
 22. Panagiotakos D. A-priori versus a-posterior methods in dietary pattern analysis: a review in nutrition epidemiology. *Nutrition Bulletin* 2008. 33:311-315.
 23. Mantonen J, Knekt P, Harkanen T, Jarvinen R, Heliovaara M, Aromaa A, Reunanen A. Dietary patterns and the incidence of type 2 diabetes. *Am J Epidemiol* 2005. 161(3):219-227.
 24. Cooper AJ, Forouhi NG, Ye Z, Buijsse B, Arriola L, Balkau B, Barricarte A, Beulens JW, Boeing H, Buchner FL, et al. Fruit and vegetable intake and type 2 diabetes: EPIC-InterAct prospective study and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2012. 66(10):1082-1092.
 25. Song Y, Cook NR, Albert CM, Van Denburgh M, Manson JE. Effects of vitamins C and E and beta-carotene on the risk of type 2 diabetes in women at high risk of cardiovascular disease: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2009. 90(2):429-437.
 26. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003. 78(3 Suppl):517S-520S.
 27. Liese AD, Schulz M, Fang F, Wolever TM, D'Agostino RB, Jr. Sparks KC, Mayer-Davis EJ. Dietary glycemic index and glycemic load, carbohydrate and fiber intake, and measures of insulin sensitivity, secretion, and adiposity in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2005. 28(12):2832-2838.
 28. Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A, Ferlisi A, Cani C, Malfa L, Pineo A, Busardo A, Paolisso G. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Mol Aspects Med* 2003. 24(1-3):39-52.
 29. Riccardi G, Giacco R, Rivellese AA. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr* 2004. 23(4):447-456.

EFFECTS OF ALCOHOL CONSUMPTION AND THE METABOLIC SYNDROME ON 10-YEAR INCIDENCE OF DIABETES: THE ATTICA STUDY⁵

E. Kolverou^a, D. B. Panagiotakos^a, C. Pitsavos^b, C. Chrysohoou^b, E. N. Georgousopoulou^a, V. Metaxa^b, C. Stefanadis^b and the ATTICA Study group

^a Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Abstract

Aim: The purpose of this prospective study was to investigate the effect of alcohol consumption on the 10-year diabetes incidence.

Methods: In 2001–2002, a random sample of 1514 men (18–89 years old) and 1528 women (18–87 years old) was selected to participate in the ATTICA study (Athens metropolitan area, Greece). Among various other characteristics, average daily alcohol intakes (abstention, low, moderate, high) and type of alcoholic drink were evaluated. Diabetes was defined according to American Diabetes Association criteria. During 2011–2012, the 10-year follow-up was performed.

Results: The 10-year incidence of diabetes was 13.4% in men and 12.4% in women. After making various adjustments, those who consumed up to 1 glass/day of alcohol had a 53% lower diabetes risk ($RR = 0.47$; 95% CI: 0.26, 0.83) compared with abstainers, while trend analysis revealed a significant U-shaped relationship between quantity of alcohol drunk and diabetes incidence ($P < 0.001$ for trend). Specific types of drinks were not associated with diabetes incidence; however, a one-unit increase in ratio of wine/beer/vodka vs. other spirits was associated with an 89% lower risk of diabetes ($RR = 0.11$; 95% CI: 0.02, 0.67). The protective effect of low alcohol consumption on diabetes incidence was more prominent among individuals with stricter adherence to the Mediterranean diet ($RR = 0.08$; 95% CI: 0.011, 0.70) and without the metabolic syndrome ($RR = 0.34$; 95% CI: 0.16, 0.70).

Conclusion: This work revealed the protective effect of modest alcohol consumption of particularly wine and beer against the long-term incidence of diabetes, possibly due to their pleiotropic health effects.

Keywords: diabetes; incidence; alcohol consumption; drinking; ethanol

Introduction

Alcohol has been implicated among the pathophysiological sequelae leading to diabetes [1,2]. Alcohol consumption spans a continuum ranging from abstention to alcoholism. Its impact on diabetes development is predominantly determined by quantity and frequency—in other words, the drinking pattern—with the usual quantity per drinking occasion being more influential than the weekly drinking frequency [3]. A meta-analysis of 20 cohort studies reported a U-shaped relationship between alcohol and diabetes development, with moderate and high intakes being protective and hazardous, respectively [4]. However, not all recent studies have confirmed this finding; moderate consumption has been found beneficial in US [5] and Swedish [6], but not Japanese [7], populations whereas, for southern Europe, no data are available. Apart from that, even within the same ethnic group, there is still controversy; both positive and negative associations have been revealed among Japanese [7,8] and US populations [5,9]. Moreover, there is conflicting evidence from recent prospective studies regarding the effect of heavy alcohol consumption or absolute abstention on diabetes development [7,10,11]. Furthermore, the type of alcoholic beverages has been suggested to play a significant role, with wine tending to be the most protective [6,12]. Last, but not least, the alcohol–diabetes association has been postulated to be dependent on other factors, such as gender [6,12], cholesterol [13] and body mass

5 Δημοσίευση στο **Diabetes and Metabolism** (*Diabetes Metab.* 2015 Apr;41(2):152-9) doi: 10.1016/j.diabet.2014.06.003. Epub 2014 Sep 2

index (BMI) [14], thereby enhancing the uncertainty regarding the exact nature of the relationship. Thus, despite a large amount of data, the true dose–effect relationship between alcohol drinking and diabetes incidence among apparently healthy volunteers has been neither conclusively understood nor appreciated.

The aim of the present work was to investigate the effect of the quantity and type of alcoholic beverages drunk on the 10-year risk for type 2 diabetes (T2D) among apparently healthy individuals. Secondary goals included identification of the potential mediating or moderating effects of gender, BMI, lipid levels, adherence to the Mediterranean diet as well as socioeconomic status on the evaluated relationship.

Methods

Sampling procedure at baseline examination (2001–2002)

The ATTICA epidemiological study [15] was a large prospective study carried out during 2001–2002 in the Athens metropolitan area (including all urban and rural regions). The baseline random sampling anticipated enrolling only one participant per household; it was multistage, and based on age (five strata), gender (two strata) and distribution of the catchment area (27 strata based on the census of 2001) to be as representative as possible. People with a history of cardiovascular disease (CVD), or living in institutions or having chronic viral infections were not eligible for participation. Of the initially invited 4056 individuals, after excluding those with CVD [$n = 72$ (5%) men and $n = 45$ (3%) women] and those with chronic viral infections ($n = 107$), 3042 people ultimately agreed to participate (75% participation rate); 1514 of the participants were men (18–87 years) and 1528 were women (18–89 years). All participants were interviewed by trained personnel (cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses), using a standard questionnaire. Exclusion of CVD at baseline was ensured by detailed clinical evaluation according to standard criteria.

Baseline measurements

The baseline evaluation included information on sociodemographic characteristics: age, gender, years of schooling and annual income to categorize participants into low, intermediate and high socioeconomic status (SES); personal history of hypertension, hypercholesterolaemia and diabetes; family history of CVD; and dietary and other lifestyle habits. Evaluation of nutritional habits was based on a validated semiquantitative food-frequency questionnaire [16] in which participants were asked to report their average intakes of several foods and liquids over the previous 12 months. Adherence to the Mediterranean diet was assessed using the MedDietScore [17]. Smokers were defined as those who smoked at least one cigarette per day or who had quit within the previous year. Physical activity status was defined as a sedentary lifestyle, or moderately or hardly active, using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) [18]. Weight (in kg), height (in m), and waist and hip circumferences (in cm), as well as clinical characteristics such as arterial blood pressure, total serum cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL) cholesterols, triglycerides and blood glucose levels (in mg/dL) were measured using standardized procedures. Baseline diagnosis of T2D was based on criteria of the American Diabetes Association [19], including fasting blood glucose > 125 mg/dL or the use of antidiabetic medication. The metabolic syndrome was defined according to the US National Cholesterol Education Program's Third Adult Treatment Panel (ATP III) criteria [20].

To determine alcohol intakes, alcoholic beverages usually consumed in Greece such as wine, beer, whisky, traditional alcoholic drinks such as retsina, tsipouro and ouzo, and other spirits, liqueur) were recorded in a seven-day food record. For the present analyses, alcohol intake was categorized into five groups:

- abstention;
- low intake (> 0 but < 1 glass/day);
- moderate intake (1–2 glasses/day);
- high (> 2 but < 4 glasses/day);
- very high (> 4 glasses/day).

One standard glass was the equivalent of 12 g of alcohol. Due to the very small number of participants in the highest category ($n = 28$), the two highest classes were combined into one (> 2 glasses/day). Daily alcohol intake (in g) was calculated using food composition tables [21]. Details concerning the aims, design and methods of the ATTICA study can be found elsewhere [15].

Ten-year follow-up evaluation (2011–2012)

The 10-year follow-up was performed during 2011–2012. Of the original 3042 participants, 2583 were available for the follow-up (85% participation rate). Detailed evaluation of the participants' medical status was performed. As before, diabetes at follow-up was defined as either fasting glucose levels > 125 mg/dL or the use of antidiabetic medications [19]. Patients diagnosed with diabetes at baseline ($n = 210$) were excluded from the present analysis, thus taking into account those with no data of diabetes status at the 10-year follow up ($n = 1347$ cases), the working sample consisted of $n = 1485$ participants free of diabetes at baseline. The study

sample size was sufficient to achieve 92% statistical power to evaluate a relative risk (RR) of 0.70 between the null and alternative two-sided hypothesis when the exposure variable (alcohol consumption category) was increased by one-unit, with a significance (alpha) level of 0.05.

Statistical analysis

The incidence of diabetes was calculated as the ratio of new cases ($n = 191$) to the total number ($n = 1485$) of participants in the follow-up. Continuous variables were presented as means \pm standard deviation (SD), and categorical variables as frequencies. Associations between categorical variables were tested using Chi² tests. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those who developed diabetes and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after controlling for equality of variances with Levene's test. For continuous variables that were not normally distributed (such as years of schooling), the Mann-Whitney non-parametric test was applied to evaluate differences in the distributions of skewed variables. Comparisons of mean values of normally distributed variables between the alcohol consumption categories were performed using analysis of variance (ANOVA) tests after ensuring equality of variance with Levene's test whereas, for non-normally distributed variables, the Kruskal-Wallis test was applied. Post-hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for inflation of the probability of type I error. Continuous variables were tested for normality through P-P plots. The RR for developing T2D during the 10-year followup according to the participants' baseline characteristics was estimated, using the odds ratio (OR) and corresponding 95% confidence interval (CI) derived from logistic regression models. (This type of analysis was preferable as there were no accurate data for diabetes onset, only its diagnosis). The Hosmer-Lemeshow test was applied to evaluate the models' goodness of fit. All known confounders were included in the models after testing for collinearity. In addition, subgroup analyses by gender, physical activity status, metabolic syndrome occurrence, metabolic syndrome components, adherence to Mediterranean diet, SES and cholesterol levels were also performed. Trend analysis was applied by fitting smoothing lines (linear, quadratic or cubic) on diabetes incidence rates by alcohol intake category; the corresponding R-squared values indicated which line best fit the observed data. Because several multiple comparisons were being made, the Bonferroni correction rule was applied, and all presented P values have been corrected for the number of comparisons made. SPSS version 18 software (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for all statistical calculations.

Results

Diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, the incidence of T2D was 191 cases (129 per 1000 participants or 12.9%); 97 (13.4%) were men and 94 (12.4%) were women ($P = 0.79$ for gender difference).

Baseline characteristics according to alcohol consumption

Demographic and clinical characteristics of the participants by alcohol drinking status are presented in Table 1. Participants who drank < 1 glass/day were younger and more physically active, reported greater adherence to the Mediterranean diet, had lower levels of total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides, and were also less likely to have the metabolic syndrome, hypertension, hypercholesterolemia or central obesity at baseline compared with the other alcohol intake categories. On the other hand, male gender, occurrence of the metabolic syndrome and BMI levels increased in parallel with increasing alcohol consumption. Family history of diabetes and HDL cholesterol levels did not differ across alcohol intake groups (Table 1).

Table 1. Baseline lifestyle and clinical characteristics of ATTICA study participants according to alcohol intake (n = 1303^a).

Baseline characteristics	Abstention (0 glass/day) (n=592)	Low intake (0 to <1 glass/day) (n=366)	Moderate intake (1-2 glasses/day) (n=208)	High intake (>2 glasses/day) (n=137)	p
Age, years	49 ± 14 ^a	39 ± 11*	49 ± 12	46 ± 13	<0.001
Male gender, n(%)	206 (35)	153 (42)	144 (69)	115 (84)	<0.001
Family history of diabetes, n(%)	114 (23)	84 (24)	30 (16)	23 (20)	0.15
Metabolic syndrome, n (%)	77 (13)	43 (12)	29 (14)	35 (26)	<0.001
Education (years of schooling)	1.2 ± 3.7	13 ± 3.0**	12 ± 3.4	12 ± 3.8	<0.001
Physical activity (now), n (%)	223 (38)	178 (44)	89 (43)	61 (45)	<0.001
<i>MedDietScore</i> (0-55)	25 ± 5.7	28 ± 9.0*	24 ± 6.3	25 ± 5.4	<0.001
Body mass index, kg/m ²	26 ± 43	26 ± 4.5*	27 ± 4.0	27 ± 3.8*	<0.001
Obesity, n(%)	101 (17)	51 (14)	41 (20)	20 (22)	0.12
Waist circumference, cm	87 ± 14	87 ± 14	92 ± 15*	97 ± 14	<0.001
Waist-to-hip ratio	0.83 ± 0.10	0.84 ± 0.11	0.88 ± 0.12*	0.92 ± 0.08*	<0.001
Current smokers, n (%)	255 (43)	196 (54)	142 (68)	102 (75)	<0.001
Hypertension, n (%)	173 (31)	76 (22)	71 (37)	50 (39)	<0.001
Hypercholesterolemia, n (%)	264 (45)	97 (26)	83 (40)	75 (55)	<0.001
<i>Total cholesterol</i> , mg/dL	199 ± 44	181 ± 35*	199 ± 41	208 ± 39	<0.001
<i>HDL-cholesterol</i> , mg/dL	50 ± 15	50 ± 13	47 ± 11	48 ± 23	0.073
<i>LDL-cholesterol</i> , mg/dL	129 ± 39	112 ± 33	127 ± 37	134 ± 35	<0.001
<i>Triglycerides</i> , mg/dL	121 ± 74	95 ± 59*	124 ± 79	144 ± 13*	<0.001

HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein. Data are presented as means ± standard deviation or absolute and relative frequencies; *P* values are from analysis of variance for normally distributed variables and Kruskal–Wallis test for non-normally distributed variables (triglycerides) or Chi² test for categorical variables. * *P* < 0.05, ***P* < 0.01 from post-hoc analyses using Bonferroni rule, with alcohol abstention as reference category. ^aFor *n*=182 ATTICA study participants, information about alcohol consumption was missing. Analyses presented here were conducted among *n*=1303 participants

Diabetes incidence and alcohol consumption

As regards alcohol intakes, individuals who developed diabetes were less likely to consume any alcoholic beverage at baseline compared with those who did not develop diabetes; however, the quantity of alcohol consumed was higher among those who developed diabetes in comparison to the rest. Stratification by alcohol intake class revealed that the 10-year incidence of diabetes was higher in the abstainers, and moderate (1–2 glasses/day) and high (> 2 glasses/day) drinking groups compared with the low (< 1 glass/day) drinkers (*P* < 0.001). There were no significant differences between the abstainers, and moderate and high alcohol intake groups (*P* > 0.05 for all). Also, no differences were observed as regards the 10-year incidence of diabetes when the analysis was stratified by type of alcoholic beverage drunk (Table 2).

Table 2. Alcohol drinking pattern of the ATTICA study's participants at baseline examination, according to the 10-year diabetes incidence (n=1485)

Baseline characteristics	Status at 10-year follow – up		<i>p</i>
	Did not develop diabetes (n=1294)	Developed diabetes (n=191)	
Any alcohol consumption , %	669 (59)	76 (44)	<0.001
Alcohol intake (g/day)	14 ± 16	21 ± 16	<0.001
Alcohol drinking pattern, n (%)			<0.001
• Abstention (0 glass/day)	492 (44)	100 (58)	
• Low alcohol drinking (0 to <1 glass/day)	345 (30)	21 (12)	
• Moderate alcohol drinking (1-2 glasses/day)	179 (16)	29 (17)	
• High alcohol drinking (>2 glasses/day)	114 (16)	23 (13)	
Type of alcohol consumed			
• Wine (glasses/day)	2.2 ± 0.84	2.2 ± 0.89	0.74
• Beer (glasses/day)	2.0 ± 0.85	1.9 ± 0.89	0.74
• Other spirits (glasses/day) (whisky, vodka, martini, liquor, ouzo, brandy)	8.7 ± 1.8	9.0 ± 2.1	0.26

Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. P-values derived from t-test or chi-square test.

To further evaluate the dose–response relationship between alcohol drinking and diabetes development, the quantity and type of alcoholic beverages were also taken into account. Compared with abstinence, a strong inverse relationship between low alcohol intake (0 to < 1 glass/day) and diabetes risk was revealed, and remained significant even in the fully adjusted model. Specifically, individuals who consumed < 1 glass per day had a 53% lower risk of developing T2D during the 10 years of follow-up compared with abstainers (RR = 0.47; 95% CI: 0.26, 0.83), taking into account age, gender, waist circumference, education level, adherence to the Mediterranean diet, physical activity, family history of diabetes and various CVD risk factors. However, moderate and high alcohol intakes were not associated with diabetes incidence (RR = 1.05; 95% CI: 0.57, 1.93 and RR = 1.25; 95% CI: 0.65, 2.37, respectively). Yet, when the three categories (abstention, moderate and high alcohol consumption) were merged into one and considered the reference category and compared with low alcohol drinking, a similar inverse association was evident in all nested models. Low alcohol intakes were associated with a 56% lower 10-year risk of diabetes compared with abstention or moderate or high alcohol intakes in the fully adjusted model (RR = 0.44; 95% CI: 0.25, 0.76). Furthermore, trend analyses using age- and gender-adjusted diabetes development rates per alcohol drinking group (abstention, low, moderate and high alcohol consumption) revealed a significant U-shaped relationship (R-squared for quadratic trend = 0.63, *P* < 0.001; Table 3).

Table 3. Results from multiple logistic regression models regarding 10-year diabetes incidence according to quantity and type of alcohol drinking.

	Any alcohol consumption (n=745)	Abstention (n=592)	Low (n=366)	Moderate (n=208)	High (n=137)	Low vs. all others ^a	Wine/beer/vodka vs. other ratio
<i>Model 1^b</i>	0.71; 0.50, 1.00	Ref.	0.46; 0.28, 0.70	0.83; 0.52; 1.31	1.13; 0.69, 1.92	0.47; 0.29, 0.77	0.23; 0.05, 1.12
<i>Model 2^c</i>	0.72; 0.49, 1.07	Ref.	0.47; 0.28, 0.81	0.96; 0.55; 1.66	0.99; 0.56, 1.74	0.50; 0.29, 0.80	0.15; 0.03, 0.83
<i>Model 3^d</i>	0.76; 0.49, 1.19	Ref.	0.47; 0.26, 0.83	1.05; 0.57, 1.93	1.25; 0.65, 2.37	0.44; 0.25, 0.76	0.11; 0.02, 0.67

^a Including abstention. ^b Adjusted for age and gender.

^c Adjusted as for model 1 plus waist circumference, years of schooling, MedDietScore and physical activity status.

^d Adjusted as for models 1 and 2 plus family history of diabetes and cardiovascular disease risk factors (smoking, hypertension and hypercholesterolemia).

To visualize the potential moderating effects of gender, physical activity, SES, hypercholesterolaemia, the metabolic syndrome and its components, and Mediterranean diet adherence on the hypothesis being tested (low alcohol intake vs. other categories of intake on 10-year diabetes incidence) stratified by the above-mentioned factors, other analyses were additionally performed. The protective effect of low alcohol consumption on diabetes development was more evident in women ($RR = 0.39$; 95% CI: 0.18, 0.87), in individuals with normal cholesterol levels (< 200 mg/dL; $RR = 0.30$; 95% CI: 0.14, 0.68), in the physically active ($RR = 0.30$; 95% CI: 0.09, 0.67), with greater adherence to the Mediterranean diet ($RR = 0.08$; 95% CI: 0.011, 0.70) and without the metabolic syndrome ($RR = 0.34$; 95% CI: 0.16, 0.70). A borderline significance was also observed in men ($RR = 0.50$; 95% CI: 0.23, 1.09), but no significance was achieved among participants with a sedentary lifestyle ($RR = 0.60$; 95% CI: 0.30, 1.20), hypercholesterolemia ($RR = 0.35$; 95% CI: 0.31, 1.49), in the lowest and middle tertiles of adherence to the Mediterranean diet ($RR = 0.53$; 95% CI: 0.25, 1.14, and $RR = 0.56$; 95% CI: 0.21, 1.48, respectively) and with the metabolic syndrome ($RR = 0.40$; 95% CI: 0.28, 1.69). At this point it should be noted that the interaction between alcohol drinking and the metabolic syndrome in relation to the 10-year diabetes incidence was significant ($P = 0.047$), as was the interaction with MedDietScore ($P < 0.001$), whereas no significant interaction was observed with gender ($P = 0.44$), physical activity ($P = 0.09$), SES ($P = 0.77$) or hypercholesterolemia ($P = 0.18$). Regarding the number of components of the metabolic syndrome, no significant effect was observed in those with either three, four or five components ($P > 0.15$ for all). As for the specific components, significant effects were observed among those with glucose levels < 110 mg/dL ($RR = 0.35$; 95% CI: 0.18, 0.67), triglycerides < 150 mg/dL ($RR = 0.43$; 95% CI: 0.22, 0.85) and waist circumferences < 102 cm (men) or < 88 cm (women) ($RR = 0.28$; 95% CI: 0.11, 0.70). For individuals with glucose > 110 mg/dL, triglycerides > 150 mg/dL and waist circumferences $> 102/88$ cm, the effect of low alcohol consumption was not significant ($P > 0.10$ for all). No moderating effect was observed when the analysis was stratified according to HDL cholesterol and blood pressure criteria of the metabolic syndrome, as the effect was similar (to that of the entire sample population) whether or not they fulfilled the above-mentioned criteria (data not presented). Similarly, stratification by SES revealed no changes in the observed effect of low vs. other alcohol intakes between the entire sample and the SES categories for diabetes incidence (data not presented).

Type of alcoholic beverages drunk and diabetes incidence

The type of alcoholic beverage consumed (wine, beer, vodka, whisky, ouzo, martini, brandy, liqueur) was evaluated, but no significant association was found for any of these types with the 10-year diabetes incidence ($P > 0.20$ for all). However, a potential explanation could be the difficulty in distinguishing those individuals who drank solely one specific type of alcoholic beverage. Thus, a ratio was calculated, consisting of the combined consumption of wine, beer and vodka (because these were reported more often by the study sample) over the other spirits. Data analysis revealed that a one-unit increase in the ratio was associated with an 89% decrease in the 10-year risk of diabetes ($RR = 0.11$; 95% CI: 0.02, 0.67) in the fully adjusted model (Table 3).

Discussion

In the present work, the 10-year incidence of T2D was studied in relation to alcohol intake. A beneficial effect of low alcohol consumption was observed, with individuals who drank up to 1 glass per day having a 53% lower risk of developing diabetes within a decade compared with abstainers, while moderate or high alcohol intakes were not associated with diabetes risk. In addition, a U-shaped trend between the daily average amount of alcohol consumed and diabetes incidence was revealed, highlighting the protective effect of low vs. moderate or high intakes and abstention. This protective effect was more evident among participants without the metabolic syndrome, including those with normal cholesterol, glucose and triglyceride levels and waist circumference, as well as those who were physically active and had greater adherence to the Mediterranean diet at baseline. Although no significant association was found with each individual type of drink, the ratio of the combined effect of wine, beer and vodka over the other spirits was associated with a lower 10-year diabetes risk. Despite the observational nature of our present study and the difficulties in accurately assessing alcohol drinking, the reported findings carry a considerable public health message concerning the beneficial, long-term effects of low alcohol intakes on diabetes prevention.

Various biological mechanisms behind the alcohol–diabetes relationship have already been proposed. It has been suggested that modest alcohol consumption enhances peripheral insulin sensitivity [22]. Changes in fat-tissue endocrine function, inflammatory pathways, and glucose and fatty-acid metabolism may underlie the insulin sensitivity improvement [23]. Specifically, the ATTICA study previously reported a link between moderate alcohol consumption (1–2 glasses) and lower triglyceride and C-reactive protein (CRP) levels, and higher HDL cholesterol levels [24]. Furthermore, a lower triglyceride-to-HDL cholesterol ratio, both components of the metabolic syndrome, has also been found [25]. Increases in circulating adiponectin, which has insulin-sensitizing and anti-inflammatory properties, has been reported among middleaged women as well [26]. Recently, another biomarker, plasma fetuin-A, a liver-secreted glycoprotein that inhibits insulin receptor tyrosine kinase activity, has been implicated in the altered insulin signaling induced by moderate alcohol consumption [27]. Moderate alcohol consumption has also been associated with lower fasting plasma insulin and glucagon [22,28]. As far as type of alcohol is concerned, wine has been suggested to offer the greatest benefit, probably due to its high content in anti-inflammatory polyphenols, especially resveratrol, which further enhances insulin sensitivity [29]. In fact, red wine polyphenols were able to prevent the commonly increased accumulation of 3-nitrotyrosine (3-NT) and PARylated [poly(ADP-ribosyl)ated] proteins associated with diabetic complications in an animal study [30]. Finally, red wine has been found to decrease free radicals produced by food absorption, or meal-induced oxidative stress [31], which has been reported to mediate the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction [32].

Previous studies have revealed the significant effect of alcohol, among other factors, on endothelial function [33], acute coronary syndrome [34] and blood pressure [24]. Focusing on the alcohol–diabetes relationship, most studies have reported a beneficial impact of moderate alcohol consumption on diabetes incidence among healthy individuals compared with abstention or heavy drinking [4–6,35,36]. However, most prospective studies have enrolled Asian or US populations [8,36], whereas populations from southern Europe have not been studied so far. It is also essential to highlight the wide heterogeneity when defining alcohol categories. For example, moderate alcohol consumption might refer to 6–12 g/day [12], 10–15 g/day [6], 14–23 g/day [3] and even 5–30 g/day [11]. A meta-analysis of 20 prospective studies found that daily alcohol consumption was most protective at 22 g and 24 g for women and men, respectively. In our study, however, the highest protective activity was observed when alcohol consumption did not exceed 12 g/day, which was defined as the ‘low’ category. This finding is in line with the results of another European study, where the greatest effect was observed for alcohol consumption at 6–12 g/day, which it defined as “moderate” [12]. Furthermore, that study reported a U-shaped alcohol–diabetes association [4] as well, perhaps an indication that, regardless of the exact cut-off values, the alcohol intake group in the middle tends to benefit the most from its antidiabetic properties.

The type of alcoholic beverage may have a mediating effect, but the data are limited and no systematic work is available. In some studies, it was not found to play a significant role, indicating an ethanol-mediating effect of the relationship [37]. However, Kao et al. [38] reported that wine and beer tend to be more protective compared with other spirits. Consumption of wine has been found to be primarily linked to reduced diabetes risk in other studies as well [6,12]. In the present work, a significant inverse association was found with the ratio between wine/vodka/beer and other spirits. To the best of our knowledge, no previous study has reported the significance of such a ratio over individual drinks. As mentioned above, in the present work the moderating effect of several variables was evident. In agreement with our findings, previous studies have revealed the beneficial effect of modest drinking only among women [12], physically active participants [11] and individuals with normal cholesterol levels [13]. Even though the moderating effects of the metabolic syndrome or its components have not been supported before, it has been found that individuals with low risk lifestyle behaviors (normal weight, physically active, non-smoking, consuming a healthy diet) benefit the most. This is in accordance with our present findings that following a Mediterranean diet more closely and being physically active offer the greatest benefits. These results probably suggest that the protective effect of modest drinking is most prominent among individuals with a healthier lifestyle; in other words, the earlier (in terms of diabetes onset) the moderate consumption of alcohol begins, the greater the protection.

Limitations

Because the exact time of diabetes onset was not known in all cases, but only diabetes diagnosis, it was decided to estimate RRs through ORs; it has been reported that, for low-frequency diseases, the OR is an accurate estimate (converges) of RR. Also, the difficulty of achieving an accurate evaluation of alcohol consumption despite possible underreporting and misclassification should be acknowledged, as in all

observational studies. However, the semiquantitative food-frequency questionnaire used here is the most commonly used tool in observational studies, and its validation properties as well as careful dietary assessment guarantee the robustness of the reported findings. The fact that individual types of drinks did not correlate with diabetes incidence could be explained by the difficulty of assessing the consumption of each type separately, as most participants consumed a combination of drinks. The use of alcoholic beverage ratio partially solved this problem. However, the way alcohol is consumed (during meals, bingeing on weekends) as well as the distinction between lifetime and current abstainers were not recorded.

Conclusions

Based on the strengths of the present work, including a large representative sample, a prospective design with a fairly long duration of 10 years, the assessment of various lifestyle information and, therefore, the ability to control for potential confounders, a strong conclusion was revealed for the protective effect of low alcohol consumption against the 10-year diabetes risk. Such a finding has rarely been reported and, although it needs further confirmation, it may be considered a future diabetes prevention strategy. Nevertheless, it would not be wise to advise abstainers with a predisposition for diabetes to start drinking, as the potent deleterious effects of alcoholism far outweigh any benefit of moderate alcohol consumption. In addition, this work has revealed the protective effect of mainly wine and beer over other spirits on diabetes risk, a finding that may highlight their pleiotropic health effects.

Appendix A.

Supplementary data (French abstract) associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabet.2014.06.003>.

References

1. Koppes, L.L., et al., *Moderate alcohol consumption lowers the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective observational studies*. Diabetes Care, 2005. **28**(3): p. 719-25.
2. Carlsson, S., N. Hammar, and V. Grill, *Alcohol consumption and type 2 diabetes Meta-analysis of epidemiological studies indicates a U-shaped relationship*. Diabetologia, 2005. **48**(6): p. 1051-4.
3. Heianza, Y., et al., *Role of alcohol drinking pattern in type 2 diabetes in Japanese men: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 11 (TOPICS 11)*. Am J Clin Nutr, 2013. **97**(3): p. 561-8.
4. Baliunas, D.O., et al., *Alcohol as a risk factor for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis*. Diabetes Care, 2009. **32**(11): p. 2123-32.
5. Kerr, W.C. and Y. Ye, *Relationship of life-course drinking patterns to diabetes, heart problems, and hypertension among those 40 and older in the 2005 U.S. National Alcohol Survey*. J Stud Alcohol Drugs, 2010. **71**(4): p. 515-25.
6. Rasouli, B., et al., *Alcohol consumption is associated with reduced risk of Type 2 diabetes and autoimmune diabetes in adults: results from the Nord-Trøndelag health study*. Diabet Med, 2013. **30**(1): p. 56-64.
7. Teratani, T., et al., *Dose-response relationship between tobacco or alcohol consumption and the development of diabetes mellitus in Japanese male workers*. Drug Alcohol Depend, 2012. **125**(3): p. 276-82.
8. Sato, K.K., et al., *Relationship between drinking patterns and the risk of type 2 diabetes: the Kansai Healthcare Study*. J Epidemiol Community Health, 2012. **66**(6): p. 507-11.
9. Joosten, M.M., et al., *Changes in alcohol consumption and subsequent risk of type 2 diabetes in men*. Diabetes, 2011. **60**(1): p. 74-9.
10. Cullmann, M., A. Hilding, and C.G. Ostenson, *Alcohol consumption and risk of prediabetes and type 2 diabetes development in a Swedish population*. Diabet Med, 2012. **29**(4): p. 441-52.
11. Joosten, M.M., et al., *Combined effect of alcohol consumption and lifestyle behaviors on risk of type 2 diabetes*. Am J Clin Nutr, 2010. **91**(6): p. 1777-83.
12. Beulens, J.W., et al., *Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes in European men and women: influence of beverage type and*

- body size *The EPIC-InterAct study*. J Intern Med, 2012. **272**(4): p. 358-70.
13. Jang, H., et al., *Alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: effect modification by hypercholesterolemia: the Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2005)*. Asia Pac J Clin Nutr, 2012. **21**(4): p. 588-93.
 14. Seike, N., M. Noda, and T. Kadowaki, *Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in Japanese: a systematic review*. Asia Pac J Clin Nutr, 2008. **17**(4): p. 545-51.
 15. Pitsavos, C., et al., *Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study*. BMC Public Health, 2003. **3**: p. 32.
 16. Katsouyanni, K., et al., *Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers*. Int J Epidemiol, 1997. **26 Suppl 1**: p. S118-27.
 17. Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(8): p. 559-68.
 18. Papathanasiou, G., et al., *Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults*. Hellenic J Cardiol, 2009. **50**(4): p. 283-94.
 19. American Diabetes Association, *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care, 1997. **20**(7): p. 1183-97.
 20. Grundy, S.M., et al., *Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement*. Circulation, 2005. **112**(17): p. 2735-52.
 21. USDA, *National Nutrient Database for Standard Reference. Composition of Foods Raw, Processed, Prepared. Release 26*, Available at: <http://ndb.nal.usda.gov/>. 2013.
 22. Bonnet, F., et al., *Moderate alcohol consumption is associated with improved insulin sensitivity, reduced basal insulin secretion rate and lower fasting glucagon concentration in healthy women*. Diabetologia, 2012. **55**(12): p. 3228-37.
 23. Hendriks, H.F., *Moderate Alcohol Consumption and Insulin Sensitivity: Observations and Possible Mechanisms*. Ann Epidemiol, 2007. **17**(5): p. 40-42.
 24. Chrysohoou, C., et al., *Effects of chronic alcohol consumption on lipid levels, inflammatory and haemostatic factors in the general population: the 'ATTICA' Study*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2003. **10**(5): p. 355-61.
 25. Shimomura, T. and I. Wakabayashi, *Inverse associations between light-to-moderate alcohol intake and lipid-related indices in patients with diabetes*. Cardiovasc Diabetol, 2013. **12**(1): p. 104.
 26. Beulens, J.W., et al., *Alcohol consumption, mediating biomarkers, and risk of type 2 diabetes among middle-aged women*. Diabetes Care, 2008. **31**(10): p. 2050-5.
 27. Ley, S.H., et al., *Association between alcohol consumption and plasma fetuin-A and its contribution to incident type 2 diabetes in women*. Diabetologia, 2014. **57**(1): p. 93-101.
 28. Konrat, C., et al., *Alcohol intake and fasting insulin in French men and women. The D.E.S.I.R. Study*. Diabetes Metab, 2002. **28**(2): p. 116-23.
 29. Liu, K., et al., *Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials*. Am J Clin Nutr, 2014.
 30. Drel, V.R. and N. Sybirna, *Protective effects of polyphenolics in red wine on diabetes associated oxidative/nitrative stress in streptozotocin-diabetic rats*. Cell Biol Int, 2010. **34**(12): p. 1147-53.
 31. Ceriello, A., et al., *Red wine protects diabetic patients from meal-induced oxidative stress and thrombosis activation: a pleasant approach to the prevention of cardiovascular disease in diabetes*. Eur J Clin Invest, 2001. **31**(4): p. 322-8.
 32. Evans, J.L., et al., *Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?* Diabetes, 2003. **52**(1): p. 1-8.
 33. Vlachopoulos, C., et al., *Effect of alcohol on endothelial function in healthy subjects*. Vasc Med, 2003. **8**(4): p. 263-5.
 34. Pitsavos, C., et al., *The J-shape effect of alcohol intake on the risk of developing acute coronary syndromes in diabetic subjects: the CARDIO2000 II Study*. Diabet Med, 2005. **22**(3): p. 243-8.

35. Shi, L., et al., *Physical Activity, Smoking, and Alcohol Consumption in Association with Incidence of Type 2 Diabetes among Middle-Aged and Elderly Chinese Men*. PLoS One, 2013. **8**(11): p. e77919.
36. Liu, C., et al., *Associations of alcohol consumption with diabetes mellitus and impaired fasting glycemia among middle-aged and elderly Chinese*. BMC Public Health, 2010. **10**: p. 713.
37. Clerc, O., et al., *Alcohol drinking, the metabolic syndrome and diabetes in a population with high mean alcohol consumption*. Diabet Med, 2010. **27**(11): p. 1241-9.
38. Kao, W.H., et al., *Alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: atherosclerosis risk in communities study*. Am J Epidemiol, 2001. **154**(8): p. 748-57.

THE EVALUATION OF INFLAMMATORY AND OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS ON COFFEE-DIABETES ASSOCIATION: RESULTS FROM THE 10-YEAR FOLLOW UP OF ATTICA STUDY (2002 – 2012)⁶

E. Koloverou^a, D. B. Panagiotakos^a, C. Pitsavos^b, C. Chrysohoou^b, E. N. Georgousopoulou^a, A. Laskaris^a, C. Stefanadis^b and the ATTICA Study group

^a Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Abstract

Background/Objectives: the purpose of this work was to investigate the association between coffee drinking and diabetes development and potential mediation by oxidative stress and inflammatory biomarkers.

Subjects/Methods: in 2001-02, a random sample of 1514 men (18-87 years old) and 1528 women (18-89 years old) was selected to participate in the ATTICA study (Athens metropolitan area, Greece). A validated food-frequency questionnaire was used to assess coffee drinking (abstention, casual, habitual) and other lifestyle and dietary factors. Evaluation of oxidative stress and inflammatory markers was also performed. During 2011-2012, the 10-year follow-up of the ATTICA study was carried out. The outcome of interest in this work was incidence of type 2 diabetes, defined according to American Diabetes Association criteria.

Results: during follow up, 191 incident cases of diabetes were documented (incidence 13.4% in men and 12.4% in women). After various adjustments, individuals who consumed ≥ 250 ml of coffee (≈ 1.5 cup) had 54% lower odds of developing diabetes (95%CI: 0.24, 0.90), as compared with abstainers. A dose-response linear trend between coffee drinking and diabetes incidence was also observed (p for trend=0.017). When controlling for several oxidative stress and inflammatory biomarkers, the inverse association between habitual coffee drinking and diabetes was found to be mediated by serum amyloid-A levels.

Conclusions: this work highlights the significance of long-term habitual coffee drinking against diabetes onset. The anti-inflammatory effect of several coffee components may be responsible for this protection.

Keywords: coffee, diabetes incidence, oxidative stress, inflammation, serum amyloid-A

Abbreviations

CVD	Cardiovascular disease
BMI	Body Mass Index
WC	Waist Circumference
SAA	Serum amyloid-A
IL-6	Interleukin-6
TNF-a	Tumor necrosis factor -a
CRP	C-reactive protein
ox-LDL	oxidized LDL
TAC	Total antioxidant capacity
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
FFQ	Food Frequency Questionnaire

⁶ Δημοσίευση στο European Journal of Clinical Nutrition (Eur J Clin Nutr. 2015 Nov; 69 (11):1220-5) doi: 10.1038/ejcn.2015.98. Epub 2015 Jul 1.

Introduction

The past decades chronic diseases, like cardiovascular, diabetes, cancer, have rapidly spread in the developed as well as developing world, rocketing health costs and degrading patients' quality of life. Type 2 diabetes mellitus is among these chronic health conditions that according to the International Diabetes Federation is responsible for 5.1 million deaths in 2013, or 1 death every 6 seconds (International Diabetes Federation). Modifiable risk factors, like diet, lifestyle, physical activity, smoking, are considered as a major intervention target, especially in primary prevention, since they can be handled and modified (Mursu, Virtanen et al. 2014). Based on the trade statistics of the International Coffee Organization, coffee constitutes the most famous beverage in the world, that exceed 60 million kg annual consumption (International Coffee Organization). Extensive research has revealed that coffee drinking exhibit both beneficial (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2003) and aggravating health effects (Vlachopoulos, Panagiotakos et al. 2005). An inverse relation between coffee intake and diabetes has been reported in many prospective studies (van Dam and Feskens 2002, Boggs, Rosenberg et al. 2010), whereas some have yielded insignificant results (Reunanen, Heliavaara et al. 2003, Saremi, Tulloch-Reid et al. 2003). In 2005, a systematic review of 9 cohort studies and 193,473 participants (8394 cases) supported that habitual coffee drinking of ≥6 cups/day or 4-6 cups/day decreases diabetes risk by 35% and 28% respectively, compared to ≤2 cups/day. The findings were consistent, irrespective of sex and obesity status (van Dam and Hu 2005). In 2013, a larger meta-analysis, including 31 cohort studies and 1,096,647 participants (50,595 diabetes cases) strengthened the coffee-diabetes inverse, dose-response relationship, i.e., every 2 cups/day increment in coffee intake was related to 12% less diabetes risk, suggesting a log-linear trend; moreover, subgroup analyses underlined that women and individuals with Body Mass Index (BMI)<25 kg/m² were found to benefit the most (Jiang, Zhang et al. 2013). As a result, comparing the two meta-analyses, it still remains unclear whether the antidiabetic effect of coffee is altered by sex and weight. Moreover, little is known about the potential mediators of the coffee-diabetes association. As a mixture of many chemicals (e.g., caffeine, chlorogenic acid, micronutrients etc), coffee may exhibit its benefits variously, with its antioxidant and anti-inflammatory effects playing a crucial role (Akash, Rehman et al. 2014). It has been suggested that oxidative stress may inflict damage on pancreatic b-cell's dynamic for insulin production and secretion (Evans, Goldfine et al. 2003), and antioxidant supplementation with zinc and chromium has been shown to reduce oxidative stress (Anderson, Roussel et al. 2001). Inflammation has also been implicated in diabetes biological sequale (Donath and Shoelson 2011), and a clinical trial that used Interleukin-1 receptor antagonists, as an anti-inflammatory agent, supported this notion (Donath and Mandrup-Poulsen 2008). Therefore, coffee drinking may antagonize the harmful effects of oxidative stress and inflammation process, since it has been related to increased plasma antioxidant capacity (Natella, Nardini et al. 2002) and decreased subclinical inflammation (Kempf, Herder et al. 2010).

To the best of our knowledge, no previous study has assessed the mediating effect of the aforementioned biomarkers parameters on the coffee-diabetes association in the long-term, with the exception of one study, which assessed only two inflammation-related biomarkers, namely CRP and adiponectin (Jacobs, Kroger et al. 2014). Thus, and under the context of the ATTICA study [20], in the present work the effect of coffee drinking on 10-year diabetes incidence in a Greek sample of cardiovascular disease (CVD) free adults was evaluated, under the light of potential effect modification by oxidative stress and inflammation status of the participants.

Subjects and methods

Baseline sampling procedure (2001-2002)

The "ATTICA" study is a large-scale, health and nutrition, prospective survey, which was carried out during 2001-2002, in the province of Attica, where Athens is a major metropolis. Exclusion criteria included people with history of CVD or other atherosclerotic disease (ensured with a detailed standardized clinical evaluation), or having chronic viral infections as well as living in institutions. Of the initially invited 4056 individuals, and after excluding those with CVD (i.e., n=72 (5%) men and n=45 (3%) women) or those having chronic viral infections (n=107), 3042 finally agreed to participate (75% participation rate); 1514 of the participants were men (aged 46±13 y; range 18-87 y) and 1528 were women (aged 45±13 y; range: 18-89 y). Trained personnel (i.e., cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses) performed the interviews, using a standard questionnaire. The study was approved by the Bioethics Committee of Athens Medical School. Further details about the aims, design and methods used in the ATTICA Study may be found elsewhere in the literature (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003).

Baseline measurements

At baseline, information about socio-demographic characteristics (age, sex, years of school and mean annual income in the previous year), history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of CVD, dietary and lifestyle habits, such as smoking status and physical activity were collected through face-to-face interviews and clinical examination. Smokers were defined as those who smoked at least one cigarette per day or had stopped smoking during the preceding year; the rest of the participants were defined as non-smokers. For the ascertainment of physical activity status the International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ), as an index of weekly energy expenditure using frequency (times per week), duration (in minutes per time) and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time) (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009). The evaluation of the nutritional habits was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire, the EPIC-Greek questionnaire that was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School; participants were asked to report the average intake of several foods and liquids consumed during the previous 12 months (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). Adherence to the Mediterranean diet was assessed using the *MedDietScore* (range 0-55, higher values greater adherence) (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2006). Regarding the main exposure factor in the present work, participants were asked about average coffee drinking habits during the preceding year. All reported types of coffee (i.e., instant coffee, brewed coffee, Greek-type coffee, cappuccino or filtered coffee) were recorded in mL, and then recalculated in mL, after adjustment for 28% caffeine containment (Bunker and McWilliams 1979) for analytical reasons. After this re-calculation, 1 "adjusted" cup of coffee (i.e., 150 ml) could be equivalent to 450 ml brewed coffee or 300 ml instant coffee. According to the observed distribution of coffee drinking pattern four coffee categories were created: abstention, low (<250 ml/day), moderate (250-400 ml/day) and high (≥ 400 ml/day). However, due to the very small number of participants in the highest category (i.e., n=64), the two higher groups were combined into one (i.e., ≥ 250 ml/day). Coffee drinking of <250 ml/day was defined here as "casual" and ≥ 250 ml/day as "habitual". Information of decaffeinated coffee drinking was also recorded, but not used in the analyses because of the very small number of participants reported drinking this type of coffee (i.e., n=47).

Moreover, baseline measurement of weight (in Kg), height (in m), waist (in cm) and hip (in cm) and evaluation of clinical characteristics was performed in all participants using a standard protocol. Body mass index (BMI) was calculated as weight (in kilograms) divided by standing height (in square meters). Biochemical measurements were carried out in the same laboratory that followed the criteria of the World Health Organization Lipid Reference Laboratories. The blood samples were collected from the antecubital vein between 8 to 10 a.m., in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Serum total cholesterol, High Density Lipoprotein (HDL)-cholesterol, triglycerides, Low Density Lipoprotein (LDL)-cholesterol, as well as glucose and insulin concentrations were assayed using standardized techniques [20]. Diagnosis of type 2 diabetes mellitus (T2DM) was based on the criteria of the American Diabetes Association (American Diabetes Association 1997), i.e., fasting blood glucose >125 mg/dl or the use of antidiabetic medication. Furthermore, inflammatory markers (i.e., C-reactive protein (CRP), serum amyloid-A (SAA), human tumor necrosis factor -a (TNF-a), homocysteine, fibrinogen, Interleykin-6 (IL-6) and oxidative stress markers (serum Total Antioxidant Capacity (TAC) and plasma oxidized LDL-cholesterol (ox-LDL)), were also measured.

10-year follow-up evaluation (2011-2012)

During 2011-2012, the 10-year follow-up was performed. Of the n=3042 participants, n=2583 were allocated during the follow-up (85% participation rate). A detailed evaluation of the participants' medical status was performed and blood sampling was repeated. Patients diagnosed with diabetes at baseline examination (n=210) were excluded from the present analysis; taking into account those with no data of diabetes status at the 10-year follow up (n=1347 cases) and those excluded, the working sample consisted of n=1485 participants free of diabetes at baseline. Diagnosis of T2DM at follow-up was based on the same criteria as in the baseline examination (i.e., the American Diabetes Association (American Diabetes Association 1997)). The working sample size was adequate to achieve 92% statistical power to evaluate relative risk of 0.70 between the null and the alternative two-sided hypothesis, when the exposure variable (i.e., coffee drinking category) was increased by 1-unit and with a significance level (alpha) of 0.05. Further details about the baseline procedures and the 10-year follow-up of the study have been presented elsewhere (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003, Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

Statistical analysis

Incidence of diabetes was calculated as the ratio of new cases to the total number of participants in the follow-up (n=1485). Incidence by coffee drinking status was calculated as the ratio of new cases in each coffee

category to the number of participants in this category. Continuous variables are presented as mean values \pm standard deviation and categorical variables are presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested using chi-squared test. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those who developed diabetes and the rest of the participants were performed using Student's t-test, using Levene's test to test for equality of variances. Comparisons of mean values of normally distributed variables by coffee drinking status were performed using analysis of variance (ANOVA) and post-hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type-I error. For non-normally distributed variables, the Kruskall-Wallis test was applied, and next the Mann-Whitney test was applied between every two groups, so as to detect significant mean differences between groups. Histograms were used to test for normality. The relative risk of developing diabetes during the 10-year period according to the participants' baseline characteristics was estimated through the odds ratio (OR) and the 95% corresponding confidence interval, as derived from logistic regression models. This type of analysis was used since there were no accurate data in n=102 participants about the time of diabetes onset (i.e., exact date was not recorded in participants' medical files or could not be verified). The Hosmer-Lemeshow test was applied to evaluate the models' goodness of fit. All known confounders were included in the models after testing for collinearity. Interactions with coffee categories were checked in all steps, and when significant sub-group analyses would perform. Trend analysis was applied by fitting smoothing lines (linear, quadratic or cubic) on the odds ratios derived by age-sex adjusted analysis, by coffee drinking category (coffee was categorized in 4 categories to perform this analysis, abstention, <200 ml, 200-400 ml, >400 ml); the corresponding R-squared values indicated which line best fit the observed data. The SPSS version 18 (Statistical Package for Social Sciences, IBM Hellas SA, Greece) software was used for all statistical calculations.

Results

Ten-year diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, the incidence of T2DM was 191 cases (129 per 1000 participants or 12.9%); 97 (13.4%) were men and 94 (12.4%) were women ($p = 0.79$ for gender difference) (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

Participants' baseline characteristics by coffee drinking status

Demographic and clinical characteristics of the participants by coffee drinking status are presented in **Table 1**. Casual and habitual coffee drinkers were younger and had lower levels of total cholesterol, compared to abstainers, but habitual drinkers had additionally lower LDL- and HDL-cholesterol levels, higher adherence to the Mediterranean diet and were more likely to be men and smokers. Family history of diabetes and hypercholesterolemia were less frequent in casual and habitual drinkers, respectively. BMI, years of education, waist circumference and physical activity status did not differ significantly between coffee categories. As for oxidative stress biomarkers, TAC was higher among coffee drinkers, but ox-LDL was lower only among casual drinkers. With the exception of TNF-a, and homocysteine, for which higher values were observed among drinkers, the rest inflammatory biomarkers, i.e., IL-6, fibrinogen and SAA were lower in habitual coffee drinkers. CRP, glucose and insulin levels did not differ significantly by coffee drinking status (**Table 1**).

Table 1. Distribution of baseline lifestyle and clinical characteristics² of the ATTICA study's participants, according to coffee drinking (n=1440)³.

Baseline characteristics	Abstention (n= 239)	Casual coffee drinking (< 250 mL/day) (n=816)	Habitual coffee drinking (≥ 250 mL/day) (n=385)	p
Age, years	50 ± 13	46 ± 13*	41 ± 13*	<0.001
Male sex, n (%)	70 (29)	362 (44)	251 (65)	<0.001
Education, years of school	12 ± 3.6	12 ± 3.6	12 ± 3.5	0.15
Body mass index, kg/m ²	27 ± 4.1	26 ± 4.4	26 ± 4.1	0.24
Waist circumference, cm	88 ± 13	89 ± 14	90 ± 14	0.07
Family history of diabetes, n (%)	51 (24)	138 (19)	89 (25)	0.04
Hypertensive subjects, n (%)	109 (29)	449 (30)	216 (27)	0.46
Hypercholesterolemic subjects, n (%)	66 (49)	231 (38)	97 (35)	0.001
– Total cholesterol, mg/dL	208 ± 42	192 ± 40*	189 ± 44*	<0.001
– HDL-cholesterol, mg/dL	52 ± 14	49 ± 16	48 ± 14*	0.009
– LDL-cholesterol, mg/dL	137 ± 39	122 ± 35*	116 ± 39*	<0.001
– Triglycerides, mg/dL	121 ± 59	111 ± 68*	114 ± 81*	0.001
Current smokers, n (%)	118 (46)	310 (55)	135 (56)	0.021
Physically active, n (%)	89 (37)	357 (44)	160 (42)	0.19
MedDietScore, 0-55	25 ± 5.5	26 ± 7.0	27 ± 7.0*	0.003
Fasting glucose, mg/dL	89 ± 12	90 ± 13	89 ± 12	0.12
Fasting insulin, µU/mL	13 ± 3.6	13 ± 3.3	13 ± 3.7	0.49
TAC, µmol/L	227 ± 46	235 ± 42*	233 ± 37*	0.001
ox-LDL, mg/dL	75 ± 22	52 ± 27*	75 ± 28	<0.001
IL-6, pg/mL	1.5 ± 0.59	1.4 ± 0.43	1.4 ± 0.52*	<0.001
TNF-α, pg/mL	5.9 ± 5.8	6.2 ± 4.2*	6.3 ± 4.1*	0.006
CRP, mg/L	2.2 ± 2.7	1.9 ± 2.4	1.6 ± 2.1	0.06
Homocysteine, µmol/L	11 ± 4.9	12 ± 6.7	12 ± 6.8*	0.018
Fibrinogen, mg/dL	327 ± 84	308 ± 67*	295 ± 61*	<0.001
SAA, mg/dL	5.0 ± 4.9	4.6 ± 4.5	3.8 ± 4.3*	0.001

¹ TAC= Total Antioxidant Capacity, ox-LDL=oxidized LDL-cholesterol, IL-6=Interleukin-6, TNF-a= Tumor Necrosis factor-a, CRP=C-reactive protein, SAA=Serum Amyloid-A. ² Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. P-values derived from ANOVA, for the normally distributed variables and Kruskall-Wallis test for the non-normally distributed variables (i.e., triglycerides), or chi-square test for the categorical variables. *p<0.05 from post-hoc analyses using the Bonferroni rule, using coffee abstention as the reference category, or from the Mann-Whitney test (every two groups) for non-normally distributed variables. ³ For n=45 ATTICA study participants, information about coffee drinking was missing. Analyses presented here were conducted among n = 1440 participants

Ten-year diabetes incidence and coffee drinking

The 10-year incidence of diabetes was n=23 cases (9.6%) among coffee abstainers, n=57 (7.0%) among casual coffee drinkers and n=20 (5.2%) among habitual coffee drinkers (p=0.012). As it can be seen in **Table 2**, participants who did not develop diabetes within the 10-year follow-up period were more likely to consume any type of coffee and at greater quantities. Moreover, trend analysis using age- and sex-adjusted models per coffee drinking group (abstention, <200, 200-400 and >400ml) revealed a significant linear relationship between diabetes incidence and coffee drinking pattern (R-squared for linear trend = 0.97, p=0.017). No differences were observed when specific types of coffee were considered in the analyses (data are not presented here because of the small number of incident diabetes cases in each type of coffee category).

Table 2. Coffee drinking & biochemical pattern of the ATTICA study's participants at baseline examination, according to the 10-year diabetes incidence (n=1440)

Baseline characteristics	Did not develop diabetes (n=1253)	Developed diabetes (n=187)	P
Any coffee drinking, n (%)	1057 (84)	144 (77)	0.012
Coffee drinking, mL/day	117 ± 123	103 ± 123	0.004
Coffee drinking categories, n (%)			0.014
– <i>Abstention</i>	196 (16)	43 (23)	
– <i>Casual coffee drinking, <250mL/day</i>	710 (57)	106 (57)	
– <i>Habitual coffee drinking, ≥ 250mL/day</i>	347 (28)	38 (20)	

Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. P-values derived from t-test or chi-square test.

However, all the aforementioned comparisons are prone to bias due to potential confounding; therefore, multivariate analysis was performed, controlling for various covariates. Age-sex adjusted analysis did not reveal any significant association between coffee drinking and diabetes incidence (**Table 3, model 1**); however, when waist circumference and family history of diabetes were taken into consideration, the highest coffee category was found to be inversely associated with diabetes incidence, compared to abstention (**Table 3, model 2**). The observed shift towards statistical significance could be attributed to the established effect that family history of diabetes and waist circumference have on diabetes development. Significance remained ($p<0.05$) even after adjustment for cardiovascular disease risk factors (smoking, hypertension, hypercholesterolemia), education, physical activity status and adherence to the Mediterranean diet (**Table 3, model 3 and model 4**). Specifically, in the fully adjusted model, individuals who drank ≥ 250 ml coffee daily experienced 54% lower risk of developing diabetes within 10 years, as compared to coffee abstainers (OR=0.46; 95%CI: 0.24, 0.90). Moreover, caffeinated drinks consumption (i.e., tea, cola) was taken into account and did not alter the protective association of coffee drinking on diabetes outcome, when added in the final model (OR for ≥ 250 ml coffee daily vs. abstainers =0.23; 95%CI: 0.04, 1.04). For casual coffee drinking results were not significant (**Table 3**).

Table 3. Results from multiple logistic regression models on 10-year diabetes incidence according to coffee drinking pattern.

Any coffee drinking vs. Abstention (n=1201)	Categories of coffee intake		
	Abstention (n=239)	<250mL/day (n=816)	≥250mL/day (n=385)
Model 1	0.75; 0.50, 1.11	Ref	0.77; 0.52, 1.16
Model 2	0.61; 0.37, 0.99	Ref	0.45; 0.24, 0.85
Model 3	0.62; 0.37, 1.04	Ref	0.49; 0.26, 0.95
Model 4	0.61; 0.36, 1.01	Ref	0.46; 0.24, 0.90

Model 1: Adjusted for age and sex.

Model 2: Adjusted for the above plus waist circumference and family history of diabetes.

Model 3: Adjusted for the above plus CVD risk factors (i.e., hypertension and hypercholesterolemia and smoking status).

Model 4: Adjusted for the above plus social and lifestyle factors (years of school, *MedDietScore* and physical activity status).

The interactions between coffee drinking pattern and participants' sex and BMI status were not found significant ($p_s>0.05$); suggesting that no moderating effect exists. Next, several biomarkers were entered consecutively and separately in the fully adjusted model (model 4) and produced ORs of coffee consumption were re-assessed. Both oxidative stress biomarkers, i.e., TAC and ox-LDL-cholesterol, as well as two inflammatory markers, i.e., CRP and SAA, were further investigated as possible mediators, since they shifted coffee – diabetes association towards insignificance (p -values >0.05). The potential mediating effect of SAA was enhanced by the fact that it had lower mean concentrations among habitual coffee drinkers. Regarding, CRP,

TAC and ox-LDL, their mean differences did not differ between abstainers and habitual coffee drinkers, so the interpretation of these results warrants consideration. Also, TAC values were available for only n=330 participants, which may explain the large 95%CI (**Table 4**), when entered in the model. IL-6, TNF- α , homocysteine, fibrinogen, did not influence the tested association (**Table 4**); similarly, glucose and insulin baseline levels did not influence the association between coffee drinking and diabetes incidence (data not shown).

Table 4. Results from multiple logistic regression regarding the effect of inflammatory and oxidative stress biomarkers as potential mediators of coffee–diabetes relationship.

Biomarker*	Categories of coffee drinking		
	Abstention (n=239)	<250mL/day (n=816)	≥250mL/day (n=385)
<i>Oxidative Stress Biomarkers</i>			
– TAC, μ mol/L	Ref	0.46; 0.02, 8.83	0.27; 0.011, 7.1
– ox-LDL, mg/dL	Ref	0.65; 0.32, 1.32	0.61; 0.55, 1.6
<i>Pro-inflammatory Biomarkers</i>			
– IL-6, pg/mL	Ref	0.66; 0.38, 1.14	0.48, 0.24, 0.97
– TNF- α , pg/mL	Ref	0.74; 0.39, 1.14	0.41; 0.18, 0.93
– CRP, mg/L	Ref	0.68; 0.39, 1.18	0.51; 0.25, 1.03
– Homocysteine, μ mol/L	Ref	0.81; 0.39, 1.66	0.39; 0.16, 0.94
– Fibrinogen, mg/dL	Ref	0.62; 0.38, 1.10	0.34; 0.16, 0.72
– SAA, mg/dL	Ref	0.66; 0.35, 1.26	0.53; 0.22, 1.27

*Biomarkers were entered separately (one by one) in the fully adjusted model (see Table 3, model 4).

Discussion

In the present work the 10-year diabetes incidence was studied in relation to coffee drinking. Habitual coffee drinking, i.e., ≥250 ml/day, versus abstention, was found to exhibit significant protection against diabetes development, decreasing the risk more than 50%. In addition to this, an effort to identify potential mediators of this inverse relationship was attempted, with SAA indicating a potential mediating effect. Thus, it may be speculated that long term coffee drinking decreases subclinical inflammation, lowering SAA levels, which then in turn detains diabetes pathogenesis. For CRP, TAC and ox-LDL, no firm conclusions could be made. Despite the observational nature of the present study, the reported findings carry a considerable public health message concerning the beneficial, long-term effect of habitual coffee drinking on diabetes prevention.

With the exception of a few studies (Reunanen, Heliovaara et al. 2003, Saremi, Tulloch-Reid et al. 2003), it has been concluded that there is an inverse association between coffee drinking and diabetes risk (van Dam and Hu 2005, Jiang, Zhang et al. 2013). Dose-response analysis reports that diabetes risk is lowered by 12% for every 2 cups of coffee per day (Jiang, Zhang et al. 2013), which makes the causal association even more possible. A high heterogeneity regarding habitual and high coffee drinking is notable, with the highest coffee category defined as ≥7 cups of coffee (Carlsson, Hammar et al. 2004). In this study a similar beneficial effect was found for lower drinking, i.e. ≥250ml. It may be speculated that different coffee quantity may offer similar benefits in different populations; therefore universal coffee drinking guidelines may not be effective. However, randomized clinical trials are needed to confirm the beneficial effect of long term coffee drinking of diabetes incidence.

Various mechanistic factors involved in the pathogenesis of T2DM have been documented to be altered by coffee drinking. In this work, regarding inflammatory markers, SAA was found to exert a mediating effect in coffee-diabetes relationship, whereas for CRP results require caution. Coffee drinking has many times been inversely associated with CRP levels (Lopez-Garcia, van Dam et al. 2006, Kotani, Tsuzaki et al. 2008, Pham, Wang et al. 2011, Yamashita, Yatsuya et al. 2012). However, this is the first time to suggest SAA as a potential mediator of coffee-inflammation-diabetes association. Our findings are backed up by a 2013 prospective study in 836 initially free of diabetes participants, followed for 7 years, where elevated levels of SAA and CRP were found to precede the onset of T2DM, independently of other risk factors, including parameters of glucose metabolism (Marzi, Huth et al. 2013). As for, oxidative stress biomarkers, it is possible a small mediating effect to exist for TAC and ox-LDL, although not depicted in this work. Oxidative stress has been shown to accelerate the dysfunctioning of pancreatic b-cells (Evans, Goldfine et al. 2003), and antioxidants intake have been shown

to decrease diabetes risk (Montonen, Knekt et al. 2004), so the antioxidant components of coffee may be beneficial; but still more research is needed towards this direction.

The observed anti-diabetic effect of coffee may be ascribed to other mechanisms as well, which were extensively reviewed by Akash et al. (Akash, Rehman et al. 2014). To begin with, long term, habitual coffee drinking helps maintain normal glucose tolerance and improves insulin sensitivity. Caffeine has been also found to stimulate pancreatic insulin secretion and CGA is believed to act as a potent inhibitor of glucose-6-phosphatase, which releases glucose to circulation, and when abnormal disturbs normoglycaemia. Both caffeine and CGA decrease glucose gastric absorption, modulating GIP and GLP-1 secretion. Another mechanism implicates glucose uptake from peripheral tissues. Previous studies have shown that phenolic compounds can activate GLUT-4 insulin receptors, stimulating insulin-mediated uptake of glucose. Moreover, coffee may affect pro-inflammatory cellular signaling pathways, as chlorogenic acid has been shown to inhibit the activation of NF-kB in cultured cells. Hypomagnesaemia is also related to increased risk for T2DM. Long-term drinking of coffee significantly increases serum magnesium levels, targeting existing hypomagnesaemia. Finally, coffee may assist in weight loss in patients with T2DM by increasing thermogenesis, lipid metabolism or lipolysis.

Limitations

Despite the importance of the findings a number of limitations warrant consideration. Firstly, since the exact time of diabetes onset was not accurate in some cases as reported above, hazard ratios were estimated through odds ratios that may have over-estimated the true effect; however, it has been reported that for low frequency diseases, odds ratio is an accurate estimate (converges) of the relative risk. Secondly, the difficulty of an accurate evaluation of coffee drinking with possible underreporting and misclassification should be of concern, along with the fact that some participants might have changed their coffee habits during the long follow-up of 10 years. However, results from dietary validation studies suggest that coffee drinking constitutes a well-reported and permanent hobby (van Dam and Feskens 2002), and that the use of FFQ for coffee self-report assessment is highly reproducible and agrees well with assessments using diet records (Bohlscheid-Thomas, Hoting et al. 1997). Furthermore, at follow-up 15% of participants were lost, which could introduce selection bias; however the probability of somebody terminating the study seems to be related to outcome and not to exposure, which is not a concern in this case, since coffee consumption was assessed at baseline. Next, for patients interviewed by phone, there is the possibility of misclassification of T2DM status, which may have led to an underestimation of the associations. As for mediation analysis, it should be noted that the interpretation of the results warrants caution, considering the small number of diabetes cases (n=191) in the study sample. Last but not least, coffee biomarkers (such as caffeine, chlorogenic acid etc) were not evaluated, and results may be partially biased by the fact that some coffee components, e.g. caffeine, is found in other beverages as well, such as cocoa and tea, which were not measured.

The strengths of this work include a large, representative sample, a prospective design for a fairly long time period of 10 years, as well as the assessment of lifestyle information, and, therefore, the ability to control for potential confounders.

Conclusions

Coffee is a widely accepted beverage with pleiotropic health effects. This study confirmed the beneficial effect of coffee on diabetes prevention, for drinking of approximately 1-2 cups/day. What was novel in this work is that among inflammatory factors, SAA was found to mediate this coffee-diabetes inverse association. Regarding CRP, IL-6 and TAC, no firm conclusions could be drawn. Although evidence from long-term clinical trials is ideal to assess coffee's efficacy in delaying diabetes development, they are difficult to implement, especially when the exposure variable is coffee consumption. Taking into consideration the strengths of cohort studies, and meta-analyses followed, it is suggested that coffee could be recommended to patients with or at risk of T2DM, as an adjunct to current guidelines, particularly if put in place of aggravating high in calorie or sugar beverages.

References

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, sixth edition.
2. Mursu J, Virtanen JK, Tuomainen TP, Nurmi T, Voutilainen S. Intake of fruit, berries, and vegetables and risk of type 2 diabetes in Finnish men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* 2014; **99**: 328-333.
3. <http://www.ico.org/prices/m3.htm>.
4. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysanthou C, Kokkinos P, Toutouzas P, Stefanadis C. The J-

- shaped effect of coffee consumption on the risk of developing acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control study. *J Nutr* 2003; **133**: 3228-3232.
5. Vlachopoulos C, Panagiotakos D, Ioakeimidis N, Dima I, Stefanadis C. Chronic coffee consumption has a detrimental effect on aortic stiffness and wave reflections. *Am J Clin Nutr* 2005; **81**: 1307-1312.
 6. van Dam RM, Feskens EJ. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2002; **360**: 1477-1478.
 7. Boggs DA, Rosenberg L, Ruiz-Narvaez EA, Palmer JR. Coffee, tea, and alcohol intake in relation to risk of type 2 diabetes in African American women. *Am J Clin Nutr* 2010; **92**: 960-966.
 8. Saremi A, Tulloch-Reid M, Knowler WC. Coffee consumption and the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; **26**: 2211-2212.
 9. Reunanen A, Heliovaara M, Aho K. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003; **361**:702-703
 10. van Dam RM, Hu FB. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA* 2005; **294**: 97-104.
 11. Jiang X, Zhang D, Jiang W. Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. *Eur J Nutr* 2013; **53**: 25-38.
 12. Akash MS, Rehman K, Chen S. Effects of coffee on type 2 diabetes mellitus. *Nutrition* 2014; **30**: 755-763.
 13. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003; **52**: 1-8.
 14. Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Kerkeni A. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 2001; **20**: 212-218.
 15. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011; **11**: 98-107.
 16. Donath MY, Mandrup-Poulsen T. The use of interleukin-1-receptor antagonists in the treatment of diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; **4**: 240-241.
 17. Natella F, Nardini M, Giannetti I, Dattilo C, Scaccini C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *J Agric Food Chem* 2002; **50**: 6211-6216.
 18. Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M et al. Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes: a clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2010; **91**: 950-957.
 19. Jacobs S, Kroger J, Floegel A, Boeing H, Drogan D, Pischon T et al. Evaluation of various biomarkers as potential mediators of the association between coffee consumption and incident type 2 diabetes in the EPIC-Potsdam Study. *Am J Clin Nutr* 2014; **100**: 891-900.
 20. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Stefanadis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003; **3**:32.
 21. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009; **50**:283-294.
 22. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 1997; **26** (Suppl 1): S118-127.
 23. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; **16**: 559-568.
 24. Bunker ML, McWilliams M. Caffeine content of common beverages. *J Am Diet Assoc* 1979; **74**: 28-32.
 25. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; **20**: 1183-1197.
 26. Koloverou E, Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrysohoou C, Georgousopoulou E, Pitaraki E et al. 10-year Incidence of Diabetes and Associated Risk Factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012). *Rev Diabet Stud* (in press)
 27. Carlsson S, Hammar N, Grill V, Kaprio J. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in Finnish twins. *Int J Epidemiol* 2004; **33**: 616-617.
 28. Kotani K, Tsuzaki K, Sano Y, Maekawa M, Fujiwara S, Hamada T et al. The relationship between usual coffee consumption and serum C-reactive protein level in a Japanese female population. *Clin Chem Lab Med* 2008; **46**: 1434-1437.
 29. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr* 2006; **84**: 888-893.

30. Yamashita K, Yatsuya H, Muramatsu T, Toyoshima H, Murohara T, Tamakoshi K. Association of coffee consumption with serum adiponectin, leptin, inflammation and metabolic markers in Japanese workers: a cross-sectional study. *Nutr Diabetes* 2012; **2**: e33.
31. Pham NM, Wang Z, Morita M, Ohnaka K, Adachi M, Kawate H et al. Combined effects of coffee consumption and serum gamma-glutamyltransferase on serum C-reactive protein in middle-aged and elderly Japanese men and women. *Clin Chem Lab Med* 2011; **49**: 1661-1667.
32. Marzi C, Huth C, Herder C, Baumert J, Thorand B, Rathmann W et al. Acute-phase serum amyloid A protein and its implication in the development of type 2 diabetes in the KORA S4/F4 study. *Diabetes Care* 2013; **36**: 1321-1326.
33. Mantonen J, Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A. Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; **27**: 362-366.
34. Bohlscheid-Thomas S, Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J. Reproducibility and relative validity of food group intake in a food frequency questionnaire developed for the German part of the EPIC project. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Epidemiol* 1997; **26** (Suppl 1): S59-70.

MODERATE, HABITUAL PHYSICAL ACTIVITY REDUCES 10-YEAR (2002-2012) DIABETES INCIDENCE: RESULTS FROM ATTICA COHORT STUDY; THE MEDIATING ROLE OF OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS⁷

Efi Koloverou^{1a}, Konstantinos Tampalis^{1a}, Demosthenes Panagiotakos¹, Ekavi Georgousopoulou¹, Christina Chrysohoou², Ioannis Skoumas², Dimitrios Tousoulis², Christodoulos Stefanidis², Christos Pitsavos² and the ATTICA study group

^a *The first two authors contributed equally to the manuscript*

¹ Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

² First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Abstract

Objectives: to evaluate the effect of physical activity levels on 10-year diabetes incidence and investigate the potential mechanism.

Methods: In 2001–2002, a random sample of apparently healthy 3042 men and women (18–89 years) was selected to participate in ATTICA study. Several socio-demographic, clinical and lifestyle characteristics were recorded. Habitual physical activity level was recorded through a translated, validated, version of International Physical Activity Questionnaire (IPAQ); MET minutes/week were calculated and quartiles constructed. Diabetes diagnosis was defined according to ADA criteria. During 2011–2012, the 10-year follow-up was performed.

Results: n=191 cases were recorded, yielding an incidence of 12.9%. In multivariable analysis, moderate physical activity level (331–1484 MET minutes/week) was found to decrease 10-year diabetes incidence by 53% compared to very low physical activity (<150 MET minutes/week) (OR =0.47; 95%CI: 0.24, 0.93). For high physical activity level (>1484 MET minutes/week), results were not significant. The antidiabetic effect was found to be mediated by oxidized LDL and total antioxidant capacity.

Conclusions: the current work revealed the significant beneficial role of moderate physical activity against diabetes development, potentially through attenuating oxidative stress.

Keywords: physical activity, diabetes incidence, oxidative stress

INTRODUCTION

The last decades, the prevalence of T2DM is increasing rapidly worldwide, mainly because of changes in environmental factors, particularly obesity and physical inactivity, which interact with individual genetic susceptibility (Gill and Cooper 2008). It has been estimated that the world prevalence of diabetes in 2030 will be 7.7%, affecting 439 million adults (aged 20 to 79 years) (Shaw, Sicree et al. 2010). In Greece, the 10-year diabetes incidence was recently recorded, indicating an increase in diabetes prevalence, in line with global trends (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014). Lack of treatment makes primary prevention a cornerstone of the global response to the disease.

Physical activity seems to be beneficial for individuals with type 2 diabetes, along with diet and medication (Wasserman and Zinman 1994), as it can prevent, delay or even treat various diabetes-related complications, such as cardiovascular disease, hyperlipidemia, hypertension, fibrinolysis, and obesity, and help achieving better glycemic control (American Diabetes Association 2004). Physical activity may also reduce the

⁷ Υπό κρίση στο International Journal of Public Health

incidence of stroke, ischemic heart disease and decrease all-cause mortality (Wei, Gibbons et al. 2000). However, only almost 2 out of 3 elder patients poorly adhere to current physical activity recommendations (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2008); i.e., 150 minutes per week of moderate physical activity, “spread out during at least 3 days during the week, with no more than 2 consecutive days between bouts of aerobic activity” (Colberg, Sigal et al. 2010).

Physical activity may also be a promising strategy in diabetes primary prevention. It was early demonstrated that physical activity is associated with lower diabetes risk, in a dose-response way (Hu, Sigal et al. 1999). Modest levels of physical activity are associated with reduced diabetes risk (Fretts, Howard et al. 2012), both from leisure-time exercise or daily activity (Villegas, Shu et al. 2006), whereas a deleterious association of increasing sedentary behavior and diabetes development has been proposed (Joseph, Echouffo-Tcheugui et al. 2016), which was confirmed by a recent metanalysis (Cloostermans, Wendel-Vos et al. 2015). Physical activity has been suggested to ameliorate the detrimental effects of obesity on insulin resistance (Kavouras, Panagiotakos et al. 2007); nevertheless a recent meta-analysis proposed that the benefit is not entirely attributed to reduced adiposity (Aune, Norat et al. 2015).

Despite the well stated effect of physical activity on diabetes, debate still exists regarding i] the level of physical activity that confers the greatest antidiabetic effect, i.e. whether there is a dose-response relationship, ii] the exact mechanism through which exercise exerts its antidiabetic effect (i.e., whether it is adiposity related or not). Thus, the aim of this work was to investigate the relationship between habitual physical activity levels and 10-year diabetes development taking into consideration several socio-demographic, lifestyle and clinical factors, and evaluate the potential mediating effect of obesity, as well as several inflammatory and oxidative stress biomarkers, under the context of a large-scale prospective cohort study of the Greek adult population (i.e., the ATTICA Study).

METHODS

Baseline sampling procedure (2001-2002)

The ATTICA study is a large-scale prospective study, which was carried out during 2001-2002, in Athens metropolitan area (including 78% urban and 22% rural areas). People with cardiovascular disease or people living in institutions or having chronic viral infections were not eligible for participation. Exclusion of cardiovascular disease at baseline was ensured with a detailed clinical evaluation, following standard criteria. From the 4056 inhabitants, randomly invited to participate, 3042 were finally enrolled in the study (75% participation rate); 1514 were men, 46 ± 13 years and 1528 were women, 45 ± 13 years.

All participants were interviewed by trained personnel (i.e., cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses) who used a standard questionnaire. Protocols were submitted to and approved by our Institutional Ethics Committee. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study."Further details about the aims, design and methods used in the ATTICA study can be found elsewhere.(Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003)

Baseline measurements

The baseline evaluation included information about: socio-demographic characteristics (age, sex and years of school), personal history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of cardiovascular disease, dietary and other lifestyle habits (i.e., smoking and physical activity status). Smokers were defined as those who smoked at least one cigarette per day or had quitted, within the previous year. Dietary habits were evaluated using a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire, from the Unit of Nutritional Epidemiology of Athens Medical School (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). Based on the Mediterranean – diet pyramid a diet score ranged from 0 to 55, MedDietScore, was also electronically calculated (Panagiotakos, Milius et al. 2006, Panagiotakos, Pitsavos et al. 2007).

Body Mass Index (BMI) was calculated as weight (in kilograms) divided by standing height (in meters squared). Waist (in cm) was also measured; Regarding other clinical characteristics, arterial blood pressure (3 recordings) was measured at the end of the physical examination with subject in sitting position and being at least 30 minutes at rest. Participants whose average blood pressure levels were $\geq 140/90$ mmHg or were under antihypertensive medication were classified as being hypertensive.

Physical activity was assessed through a translated version of the validated “International Physical Activity Questionnaire” (IPAQ), suitable for assessing population levels of self-reported habitual activities (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009). The short version of IPAQ (7 items) that we used provided information on weekly time spent walking, in vigorous intensity, moderate intensity and sedentary activity.

Participants were instructed to refer to all domains of physical activity and report only episodes of activities of at least 10 minutes, since this is the minimum required to achieve health benefit. After, the sum of MET (Metabolic Equivalent) minutes/week was calculated for each participants, and the quartiles of MET minutes/week were constructed, yielding four categories, i.e. very low, low, moderate and high physical activity level. This type of analysis was preferred in order to quantify total physical activity across all domains and thus provide an overall picture of physical activity's effect on diabetes development.

Biochemical measurements were carried out in the same laboratory that followed the criteria of the World Health Organization Lipid Reference Laboratories. Blood samples were collected from the antecubital vein between 8 to 10 am, in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Serum total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and glucose concentrations were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyser RA-1000. LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formulae. Diagnosis of diabetes was based on the criteria of the American Diabetes Association (American Diabetes Association 1997); i.e., participants who had fasting blood glucose >125 mg/dL during the examination or reported use of antidiabetic medication, were defined as having diabetes. Blood glucose levels (mg/dL) were measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels >200 mg/dL or the use of lipids lowering agents. The intra and inter-assay coefficients of variation of cholesterol levels did not exceed 9%. Serum insulin concentrations were assayed by means of radioimmunoassay. Inflammatory markers were assayed using the following techniques: C-reactive protein (CRP) and serum amyloid-A (SAA) by particle-enhanced immunonephelometry, interleukin 6 (IL-6) by a highsensitivity enzyme-linked immunoassay, human tumour necrosis factor- α (TNF- α) by the enzyme-linked immunosorbent assay method for the quantitative determination, homocysteine levels by an automatic analyser based on the technology of fluorescence polarization immunoassay and fibrinogen by automatic nephelometry. Finally, serum TAC was measured with a colorimetric test and plasmaoxidized LDL cholesterol with an enzyme-linked immunosorbent assay kit.

10-year follow-up evaluation (2011-2012)

During 2011-2012, the 10-year follow-up was performed. Of the n=3042 participants, n=2583 were found during the follow-up (85% participation rate). Specifically, 224 individuals were lost due to false contact details (telephone numbers or addresses) provided at baseline and n=235 participants refused to participate. No statistical significant differences existed between those who participated and those who did not. n=210 participants were further excluded due to baseline diabetes, and for n=888 participants no information about diabetes status was available at the 10-year follow up, since some participants refused clinical evaluation and did not know if they had diabetes or not (diagnosed by a physician). Thus, the final working sample consisted of n=1485 participants without diabetes at baseline. Diabetes diagnosis was based on American Diabetes Association criteria, as performed in the baseline examination. This sample was adequate to achieve 92% statistical power to evaluate relative risk of 0.70 between the null hypothesis and the alternative two-sided hypothesis, when the exposure variable is increased by 1-unit (by level increase of physical activity) and with a significance level (alpha) of 0.05.

Statistical analysis

Incidence of T2DM was calculated as the ratio of new cases to the n=1485 participants, free of T2DM at baseline, who participated in the follow-up. For the description of participant's characteristics by level of physical activity, continuous variables are presented as mean values and standard deviation, while categorical variables are presented as relative frequencies. In the case of categorical variables the tested hypotheses were performed by the use of contingency tables and the calculation of chi-squared test (e.g. incidence of T2DM by physical activity level). Comparisons between differences of mean values of normally distributed variables between groups of exercise were tested using the analysis of variance (ANOVA), after ensuring normality (assessed through Shapiro-Wilk test and Q-Q plots) and homogeneity of variances. Post-hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type-I error. For non-normally distributed variables or if homogeneity of variances was not fulfilled, Kruskal-Wallis test was performed. In order to assess the potential effect of physical activity levels on diabetes incidence, binary logistic regression analysis was performed in the whole of participants and odds ratios (OR) with the corresponding 95% confidence intervals (CI) were calculated, since the exact time to event (i.e., development T2DM) was not known. All known confounders were included in the models after testing for collinearity. Interactions of all variables with physical activity status were checked in all steps, and if significant they would remain in the model. The Hosmer and Lemeshow's goodness of-fit test was calculated in order to evaluate the model's goodness-of-fit and residual analysis was implicated using the dbeta, the leverage, and Cook's distance D

statistics in order to identify outliers and influential observations. All reported P-values are based on two-sided hypotheses and compared to a significance level of 5%. For all the statistical calculations the SPSS version 18, statistical software was used (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

10-year diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, 191 subjects were classified as having diabetes; yielding a crude incidence of 129 per 1000 participants (or 12.9%); 97 being men (13.4%) and 94 being women (12.4%) ($p = 0.79$ for gender difference) (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

Participants' baseline characteristics, by physical activity level.

Demographic and clinical characteristics of participants, by physical activity level at baseline are presented in Table 1. Unadjusted analysis revealed slight differences in age and gender distribution along the four quartiles. Similar differences were noted for education status, fasting plasma glucose, BMI and MedDietScore. Participants who engaged in moderate physical activity at baseline had significantly lower mean values in waist circumference and triglycerides, compared to participants in the other quartiles. Small significant differences were also observed for some inflammatory markers, i.e., IL-6, homocysteine and TNF- α as well as for the two oxidative stress biomarkers, i.e., ox-LDL and TAC. Smoking status decreased accordingly with physical activity level. No significant differences existed for family history of diabetes, hypertension, hypercholesterolemia, fasting insulin levels, CRP, SAA and fibrinogen ($p > 0.05$).

Table 1. Distribution of baseline lifestyle and clinical characteristics of the ATTICA study's participants, according to physical activity level, assessed through MET minutes/week ($n=1485$).

	Physical activity level (MET minutes/week)				p
	Very low (n=509)	Low (n=334)	Moderate (n=271)	High (n=371)	
MET minutes/week, range	0 - 150	150 - 330	331 - 1484	1484-8500	<0.001
Diabetes cases (n, %)	68 (13)	48 (14)	25 (9)	50 (14)	0.25
Age	44 ± 12	49 ± 13	46 ± 15	45 ± 14	<0.001
Male sex, n (%)	244 (48)	162 (48)	118 (44)	202 (54)	0.048
Education, years of school	12 ± 3.4	11 ± 3.6	12 ± 3.7	13 ± 3.6	<0.001
Body mass index, kg/m ²	26 ± 4.6	27 ± 4.0	26 ± 4.1	26 ± 4.3	<0.001
Waist circumference, cm	90 ± 15	91 ± 16	87 ± 13	88 ± 14	0.013
MedDietScore (range 0-55)	26 ± 7.8	25 ± 5.0	27 ± 7.7	25 ± 5.9	<0.001
Hypertensive, n (%)	144 (29)	96 (32)	72 (28)	103 (30)	0.65
Hypercholesterolemic, n (%)	197 (39)	134 (40)	110 (41)	140 (38)	0.87
Total cholesterol, mg/dL	191 ± 37	201 ± 47	194 ± 44	191 ± 40	0.11
LDL-cholesterol, mg/dL	121 ± 34	127 ± 40	126 ± 40	120 ± 37	0.28
HDL-cholesterol, mg/dL	48 ± 13	49 ± 19	50 ± 12	50 ± 15	0.058
Triglycerides, mg/dL	114 ± 70	126 ± 84	103 ± 53	110 ± 68	0.007
Current smokers, n (%)	289 (57)	195 (58)	138 (51)	180 (49)	0.02
Family history of diabetes	107 (22)	65 (23)	55 (23)	64 (19)	0.54
Fasting glucose, mg/dL	89 ± 13	88 ± 12	92 ± 12	89 ± 13	0.007
Fasting insulin, μU/mL	13 ± 3.4	14 ± 5.4	13 ± 1.5	13 ± 2.1	0.89
TAC, μmol/L	233 ± 36	232 ± 46	234 ± 46	235 ± 42	0.017
ox-LDL, mg/dL	57 ± 25	67 ± 30	59 ± 27	61 ± 30	0.001
IL-6, pg/mL	1.44 ± 0.40	1.44 ± 0.52	1.46 ± 0.48	1.39 ± 0.56	0.024
TNF- α , pg/mL	6.4 ± 4.0	5.7 ± 4.8	6.0 ± 4.4	6.3 ± 4.5	0.011
CRP, mg/L	1.98 ± 2.48	1.96 ± 2.55	1.84 ± 2.42	1.54 ± 2.02	0.13
Homocysteine, μmol/L	11.7 ± 6.8	12.2 ± 4.2	12.5 ± 6.7	12.1 ± 6.8	0.049

SAA, mg/dL	4.28 ± 4.1	4.52 ± 4.1	4.88 ± 5.3	4.15 ± 4.6	0.19
Fibrinogen, mg/dL	312 ± 64	310 ± 69	303 ± 74	298 ± 70	0.11

^a TAC= Total Antioxidant Capacity, ox-LDL=oxidized LDL-cholesterol, IL-6=Interleykin-6, TNF-a= Tumor Necrosis factor-a, CRP=C-reactive protein, SAA=Serum Amyloid-A. ^b Data are presented as mean values and standard deviation or absolute and relative frequencies. p-values are derived from ANOVA for the normally distributed variables for which homogeneity of variances existed in all groups (glucose) and Kruskall-Wallis test for the non-normally distributed variables (MET-minutes, fasting insulin, years of school, triglyceride, HDL, TAC, ox-LDL, TNF-a, IL-6, CRP, homocysteine, SAA, fibrinogen) or variables for which homogeneity of variances test did not exist (age, waist circumference, BMI, MedDietScore, LDL, total cholesterol). For categorical variables, chi-square test was performed.

The 10-year diabetes incidence and physical activity level

The 10-year incidence of diabetes was n=68 cases (13%) among participants reporting very low physical activity level (Quartile 1), n=48 (14%) in the low physical activity group (Quartile 2), n=25 (9.0%) in the moderate physical activity group (Quartile 3) and n=50 (14%) in the high physical activity group (Quartile 4) ($p=0.25$) (Table 1). The distribution of participants who developed diabetes at the 10-year follow up among the four physical activity groups (34%, 22%, 19% and 25% for Quartiles 1 to 4) was similar to the distribution of participants who did not develop diabetes (36%, 25%, 13% and 26% respectively).

In order to control for known confounders (e.g. family history of diabetes, smoking, diet etc) as well as variables that were found to differ significantly at baseline (i.e., triglycerides) multiadjusted analysis was performed through nested models. In age-sex adjusted model (Table 2, Model 1) a significant inverse association was observed for participants with moderate physical activity level (MET minutes/week 331-1484), compared to participants with very low physical activity level (MET minutes/week <150) (OR=0.56, 95% CI: 0.34, 0.92). For participants in low and high physical activity groups an inverse trend were observed, though not statistical significant. The protective effect of moderate physical activity remained significant even after controlling for family history of diabetes and cardiovascular risk factors (i.e. hypertension, hypercholesterolemia and smoking status) (Table 2, model 2) and educational status, MedDietScore, triglycerides and fasting glucose (Table 2, model 3). To test for the potential mediating effect of adiposity in the observed association, waist circumference was added in the model. However, results remained unchanged, indicating that the observed effect is not attributed to body weight (Table 2, Model 4). Thus, in the fully adjusted models individuals reporting moderate level of physical activity experienced 53% lower risk for developing diabetes within a decade, compared to completely inactive individuals (OR= 0.47; 95%CI: 0.24, 0.93).

Finally, it was further evaluated whether achieving 600 MET minutes/week (the minimum level recommended by WHO, achieved by 37% of the study sample) confers any benefit against diabetes mellitus; however, results were not significant in age-sex adjusted model (OR=0.91, 95%CI: 0.66, 1.26), indicating that not all participants with >600 MET minutes/week are benefited, and further strengthening the aforementioned results about the importance of moderate physical activity.

Table 2. Results from multiple logistic regression models (ORs and 95%CIs) that evaluated participants physical activity status, assessed through MET minutes/week, as well as other characteristics, in relation to 10-year incidence of diabetes (n=1485)

	Physical activity level			
	Very low (n=509)	Low (n=334)	Moderate (n=271)	High (n=371)
Model 1	Ref	0.83; 0.55, 1.26	0.56; 0.34, 0.92	0.91; 0.61, 1.37
Model 2	Ref	0.81; 0.51, 1.31	0.51; 0.29, 0.89	0.98; 0.62, 1.54
Model 3	Ref	0.71; 0.39, 1.30	0.47; 0.25, 0.90	0.95; 0.56, 1.62
Model 4	Ref	0.77; 0.41, 1.49	0.47; 0.24, 0.93	1.04; 0.59, 1.82

Model 1 was adjusted for age and sex; Model 2= model 1, plus family history of diabetes, smoking status, hypercholesterolemia and hypertension; Model 3=model 2, plus years of school, adherence to the Mediterranean diet, blood glucose and triglycerides; Model 4 = Model 3, plus waist circumference

To investigate an alternative potential mechanism underlying the protective effect of moderate physical activity, baseline biomarkers of oxidative stress (i.e. ox-LDL and TAC) and inflammation (i.e. IL-6, SAA, TNF-a, CRP, fibrinogen and homocysteine) were sequentially, and separately, entered in the fully adjusted model

(Model 4). Statistical analysis revealed the mediating effect of TAC and ox-LDL in the examined relationship (p -values>0.05) (Table 3), suggesting that physical activity may ameliorate oxidative stress, decreasing through this mechanism the risk for developing diabetes. No change in statistical significance was observed after the inclusion of any of the inflammatory markers.

Table 3. Results (OR and 95% CI) from multiple logistic regression models, that evaluated participants physical activity status, assessed through MET minutes/week, in relation to 10-year incidence of diabetes, after one-by-one inclusion of various biomarkers in the fully-adjusted model (Model 4).

	Physical activity Level			
	Very low (n=509)	Low (n=334)	Moderate (n=271)	High (n=371)
Oxidative stress				
TAC, $\mu\text{mol/L}$	Ref	2.53; 0.44, 14.6	0.70; 0.10, 4.82	1.04; 0.24, 4.5
ox-LDL, mg/dL	Ref	0.85; 0.38, 1.86	0.12; 0.001, 1.31	1.31; 0.65, 2.67
Inflammatory markers				
IL-6, pg/mL	Ref	0.73; 0.36, 1.45	0.418; 0.20, 0.84	1.02; 0.57, 1.81
TNF- α , pg/mL	Ref	0.68; 0.31, 1.48	0.37; 0.17, 0.80	0.54; 0.28, 1.06
CRP, mg/L	Ref	0.76; 0.38, 1.52	0.40; 0.20, 0.83	1.05; 0.59, 1.87
Homocysteine, $\mu\text{mol/L}$	Ref	0.91; 0.41, 2.02	0.38; 0.17, 0.84	0.45; 0.22, 0.91
SAA, mg/dL	Ref	0.92; 0.45, 1.89	0.46; 0.21, 1.01	1.33; 0.71, 2.47
Fibrinogen, mg/dL	Ref	0.92; 0.47, 1.78	0.53; 0.27, 1.05	1.001; 0.57, 1.79

^a TAC= Total Antioxidant Capacity, ox-LDL=oxidized LDL-cholesterol, IL-6=Interleykin-6, TNF- α = Tumor Necrosis factor- α , CRP=C-reactive protein, SAA=Serum Amyloid-A.

DISCUSSION

Physical activity is an established “heart-healthy” strategy, with a potential to extend its benefit beyond cardiovascular disease. In this work the effect of physical activity levels on diabetes incidence was evaluated, in a prospective cohort of Greek adult population. After adjusting for several known confounders, participants engaged in moderate physical activity activities (331 - 1484 MET minutes/week) faced 53% lower 10-year diabetes risk, compared to completely inactive individuals (MET minutes/week <150). It was interesting that no benefit was observed for high physical activity group, i.e. MET minutes/week >1484. Finally, an effort to identify potential mediators of physical activity-diabetes inverse association was attempted. It was revealed that changes in TAC and ox-LDL may underlie diabetes pathogenesis mechanism, suggesting that moderate physical activity may offer its antidiabetic effect through a decrease in oxidative stress. Despite the limitations of the present observational study, the large, representative sample, prospective design and follow-up of 10 years, as well as the detailed assessment of lifestyle information and, therefore, the ability to adjust for several known confounders, may guarantee that the reported findings have important public health implications and shed light into physical activity's anti-diabetic effect, as well as the level of activity that exerts the greatest effect; thus, confirming the importance of modesty even in this aspect of diabetes primary prevention.

In line with the present findings, other studies have also reported that a physical active lifestyle can protect against diabetes development. In a review of 20 prospective studies, high physical activity level was associated with 20-30% decrease in diabetes risk (Gill and Cooper 2008), while in another review of 10 prospective studies, moderate physical activity was also connected to a 30% lower risk, compared to being sedentary (Jeon, Lokken et al. 2007). In this work, moderate physical activity was found to be beneficial, however more intense activity did not confer any benefit. This finding was recently proposed by a metaanalysis of 55 studies, which documented that the major gains for diabetes incidence occurred at lower levels of activity and there were diminishing returns at levels higher than 3000-4000 MET minutes/week (Kyu, Bachman et al. 2016). On the other hand, two other metanalyses point towards a dose-response relationship. Specifically, Huai

et al. concluded that moderate and high level of leisure time physical activity were associated with 21% and 31% lower diabetes risk (Huai, Han et al. 2016); while Aune et al., reported 32% and 39% risk reductions, respectively from moderate and vigorous activity (Aune, Norat et al. 2015).

The effectiveness of physical activity against the development of diabetes lies with its ability to alter several mechanistic factors, involved in diabetes pathogenesis. Firstly, exercise can normalize liver and skeletal muscle insulin resistance, not only by itself but also through the weight loss process (Yeo and Coker 2008). When exercising large changes in energy utilization occur, which require the motivation of fatty acids and glucose in the blood. In muscles, exercise enhances insulin-stimulated glycogen synthesis via an increased expression of glucose transporter type four (GLUT4), a transporter that plays a significant role in glucose uptake from insulin-sensitive tissues, and increased activity of glycogen synthase. Moreover, exercise increases muscle mass, resulting in an elevated proportion of insulin sensitive types of muscle fibers which further improves insulin sensitivity (Goodyear and Kahn 1998). It is important to note that the aforementioned beneficial effects last a few days, thus, the consistency in a physical activity module throughout the year is a key concept for improving insulin resistance and delaying diabetes development (Morrato, Hill et al. 2007).

In this article, two oxidative stress biomarkers were identified as mediators of the studied association: ox-LDL and TAC, which seems plausible since insulin production and secretion gets defective, when pancreas is chronically exposed to high oxidative stress levels (Evans, Goldfine et al. 2003). Regular exercise attenuates oxidative damage in the brain, liver, kidney, skeletal muscles, blood and heart (Sallam and Laher 2016), as well as oxidative stress, derived from white adipose tissue, under obesity state (Sakurai, Ogasawara et al. 2017). Our results for a moderate-specific effect are backed up by two studies with regard to exercise intensity. Moderate exercise has been proven more effective in reducing the susceptibility of oxidative damage following a high fat meal, compared to rest or high intensity exercise (Lopes Kruger, Costa Teixeira et al. 2016), while high-intensity exercise for 12 weeks has been shown to increase indices of oxidative stress in young men (Goto, Higashi et al. 2003).

Regardless of the aforementioned findings shown in the present study, we cannot rule out the limitations of an observational study. These include the baseline evaluation which was performed once, and may be prone to measurement error. The diagnosis of diabetes in this study was based upon self-report and/or physician-diagnosis, but this is common for prospective studies. Moreover, the accurate date of diabetes development was not accessible (only the date of diagnosis was identified); as a result hazard ratios were estimated through ORs that may have overestimated the true effect; however, it has been reported that, for low frequency diseases, OR is an accurate estimate (converges) of the relative risk. Furthermore, physical activity was quantified by a questionnaire-based method and not an accelerometer; which may have underestimated the strength of the reported relationships.(Celis-Morales, Perez-Bravo et al. 2012) Another concern in prospective studies is that associations with disease incidence are based on baseline information; however, many lifestyle factors (i.e., physical activity, energy intake) may have changed during the 10-year time period without timely information updates. However, this study has several strengths including a prospective design for a time period of 10 years, a large, representative sample, the detailed assessment of physical activity levels using a previously validated questionnaire and the assessment of numerous lifestyle factors which gave us the ability to control for potential confounders.

Conclusions

In conclusion, the current study has provided additional evidence in the literature concerning the benefits of physical activity levels on 10 years incidence of type 2 diabetes mellitus. The presented results concerning physical activity levels are discouraging as two out of three participants were physically inactive, not meeting WHO recommendations for 600 MET minutes/week, in line with global trends towards an increasingly sedentary lifestyle. However, our results carry a hopeful public health message for individuals suggesting that especially moderate, not high, physical activity independently of body weight and other lifestyle and clinical factors decreases diabetes risk by more than 50%. This suggests that targeting very sedentary individuals might be particularly important from a public health perspective. It is consequently imperative to promote strategies to increase physical activity levels especially among inactive individuals, while it is also important to recognize facilitators and barriers that patients with established diabetes deal with, in terms of physical activity compliance. For example, long-term monitoring and support have been proven essential for these individuals, not only to participate in a supervised exercise programme, but also to adhere to it after the programme's

completion (Casey, De Civita et al. 2010). More studies are deemed necessary to define the best “physical activity prevention module”, in terms of duration, frequency and intensity, against type 2 diabetes mellitus.

REFERENCES

- American Diabetes Association (1997) Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20: 1183-97.
- American Diabetes Association (2004) Physical activity/exercise and diabetes. *Diabetes Care* 27 Suppl 1: S58-62.
- Aune D, Norat T, Leitzmann M, Tonstad S, Vatten LJ (2015) Physical activity and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 30: 529-42. doi: 10.1007/s10654-015-0056-z
- Casey D, De Civita M, Dasgupta K (2010) Understanding physical activity facilitators and barriers during and following a supervised exercise programme in Type 2 diabetes: a qualitative study. *Diabet Med* 27: 79-84. doi: DME2873 [pii] 10.1111/j.1464-5491.2009.02873.x
- Celis-Morales CA, Perez-Bravo F, Ibanez L, Salas C, Bailey ME, Gill JM (2012) Objective vs. self-reported physical activity and sedentary time: effects of measurement method on relationships with risk biomarkers. *PLoS One* 7: e36345. doi: 10.1371/journal.pone.0036345PONE-D-12-06438 [pii]
- Cloostermans L, Wendel-Vos W, Doornbos G, Howard B, Craig CL, Kivimaki M, Tabak AG, Jefferis BJ, Ronkainen K, Brown WJ, Picavet SH, Ben-Shlomo Y, Laukkonen JA, Kauhanen J, Bemelmans WJ (2015) Independent and combined effects of physical activity and body mass index on the development of Type 2 Diabetes - a meta-analysis of 9 prospective cohort studies. *Int J Behav Nutr Phys Act* 12: 147. doi: 10.1186/s12966-015-0304-310.1186/s12966-015-0304-3 [pii]
- Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, Chasan-Taber L, Albright AL, Braun B (2010) Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes Care* 33: e147-67. doi: 33/12/e147 [pii]10.2337/dc10-9990
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2003) Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 52: 1-8.
- Fretts AM, Howard BV, McKnight B, Duncan GE, Beresford SA, Calhoun D, Kriska AM, Storti KL, Siscovick DS (2012) Modest levels of physical activity are associated with a lower incidence of diabetes in a population with a high rate of obesity: the strong heart family study. *Diabetes Care* 35: 1743-5. doi: dc11-2321 [pii]10.2337/dc11-2321
- Gill JM, Cooper AR (2008) Physical activity and prevention of type 2 diabetes mellitus. *Sports Med* 38: 807-24. doi: 2 [pii]
- Goodyear LJ, Kahn BB (1998) Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med* 49: 235-61. doi: 10.1146/annurev.med.49.1.235
- Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I (2003) Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation* 108: 530-5. doi: 10.1161/01.CIR.0000080893.55729.2801.CIR.0000080893.55729.28 [pii]
- Hu FB, Sigal RJ, Rich-Edwards JW, Colditz GA, Solomon CG, Willett WC, Speizer FE, Manson JE (1999) Walking compared with vigorous physical activity and risk of type 2 diabetes in women: a prospective study. *JAMA* 282: 1433-9. doi: joc90446 [pii]
- Huai P, Han H, Reilly KH, Guo X, Zhang J, Xu A (2016) Leisure-time physical activity and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Endocrine* 52: 226-30. doi: 10.1007/s12020-015-0769-510.1007/s12020-015-0769-5 [pii]
- Jeon CY, Lokken RP, Hu FB, van Dam RM (2007) Physical activity of moderate intensity and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 30: 744-52. doi: 30/3/744 [pii]10.2337/dc06-1842
- Joseph JJ, Echouffo-Tcheugui JB, Golden SH, Chen H, Jenny NS, Carnethon MR, Jacobs D, Jr., Burke GL, Vaidya D, Ouyang P, Bertoni AG (2016) Physical activity, sedentary behaviors and the incidence of type 2 diabetes mellitus: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *BMJ Open Diabetes Res Care* 4: e000185. doi: 10.1136/bmjdrc-2015-000185bmjdrc-2015-000185 [pii]
- Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A (1997) Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 26 Suppl 1: S118-27.

- Kavouras SA, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Anastasiou CA, Lentzas Y, Stefanadis C (2007) Physical activity, obesity status, and glycemic control: The ATTICA study. *Med Sci Sports Exerc* 39: 606-11. doi: 10.1249/mss.0b013e31803084eb00005768-200704000-00005 [pii]
- Koloverou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Georgousopoulou EN, Pitaraki E, Metaxa V, Stefanadis C (2014) 10-year incidence of diabetes and associated risk factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012). *Rev Diabet Stud* 11: 181-9. doi: 10.1900/RDS.2014.11.181
- Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, Mumford JE, Afshin A, Estep K, Veerman JL, Delwiche K, Iannarone ML, Moyer ML, Cercy K, Vos T, Murray CJ, Forouzanfar MH (2016) Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *BMJ* 354: i3857.
- Lopes Kruger R, Costa Teixeira B, Boufleur Farinha J, Cauduro Oliveira Macedo R, Pinto Boeno F, Rech A, Lopez P, Silveira Pinto R, Reischak-Oliveira A (2016) Effect of exercise intensity on postprandial lipemia, markers of oxidative stress, and endothelial function after a high-fat meal. *Appl Physiol Nutr Metab* 41: 1278-1284. doi: 10.1139/apnm-2016-0262
- Morrato EH, Hill JO, Wyatt HR, Ghushchyan V, Sullivan PW (2007) Physical activity in U.S. adults with diabetes and at risk for developing diabetes, 2003. *Diabetes Care* 30: 203-9. doi: 30/2/203 [pii]10.2337/dc06-1128
- Panagiotakos DB, Milius GA, Pitsavos C, Stefanadis C (2006) MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to cardiovascular disease risk. *Comput Methods Programs Biomed* 83: 73-7. doi: S0169-2607(06)00105-2 [pii]10.1016/j.cmpb.2006.05.003
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C (2007) Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med* 44: 335-40. doi: S0091-7435(06)00558-5 [pii]10.1016/j.ypmed.2006.12.009
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Lentzas Y, Skoumas Y, Papadimitriou L, Zeimbekis A, Stefanadis C (2008) Determinants of physical inactivity among men and women from Greece: a 5-year follow-up of the ATTICA study. *Ann Epidemiol* 18: 387-94. doi: S1047-2797(07)00464-4 [pii]10.1016/j.annepidem.2007.11.002
- Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A (2009) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50: 283-94.
- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Stefanadis C (2003) Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 3: 3-32. doi: 10.1186/1471-2458-3-321471-2458-3-32 [pii]
- Sakurai T, Ogasawara J, Shirato K, Izawa T, Oh-Ishi S, Ishibashi Y, Radak Z, Ohno H, Kizaki T (2017) Exercise Training Attenuates the Dysregulated Expression of Adipokines and Oxidative Stress in White Adipose Tissue. *Oxid Med Cell Longev* 2017: 9410954. doi: 10.1155/2017/9410954
- Sallam N, Laher I (2016) Exercise Modulates Oxidative Stress and Inflammation in Aging and Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016: 7239639. doi: 10.1155/2016/7239639
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ (2010) Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 87: 4-14. doi: S0168-8227(09)00432-X [pii]10.1016/j.diabres.2009.10.007
- Villegas R, Shu XO, Li H, Yang G, Matthews CE, Leitzmann M, Li Q, Cai H, Gao YT, Zheng W (2006) Physical activity and the incidence of type 2 diabetes in the Shanghai women's health study. *Int J Epidemiol* 35: 1553-62. doi: dyl209 [pii]10.1093/ije/dyl209
- Wasserman DH, Zinman B (1994) Exercise in individuals with IDDM. *Diabetes Care* 17: 924-37.
- Wei M, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN (2000) Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 132: 605-11. doi: 200004040-00034 [pii]
- Yeo S, Coker R (2008) Aerobic exercise training versus the aetiology of insulin resistance. *Eur J Sport Sci* 8: 3-14. doi: 10.1080/17461390701832645

SINGLE AND COMBINED EFFECTS OF INFLAMMATORY MARKERS ON 10-YEAR DIABETES INCIDENCE; THE MEDIATING ROLE OF ADIPOSITY: RESULTS FROM THE ATTICA COHORT STUDY⁸

Efi Koloverou^a, Demosthenes B. Panagiotakos^a, Ekavi N. Georgousopoulou^a, Christina Chrysohoou^b, Dimitrios Tousoulis^b, Christodoulos Stefanadis^b, Christos Pitsavos^b, and the ATTICA study group

^a Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

ABSTRACT

Background: the role of inflammation in diabetes development is not fully elucidated. The aim of this work was to investigate the independent effect of individual inflammatory markers and combinations of them on diabetes incidence and the potential mediating role of obesity.

Methods: incident diabetes was recorded in a random sample of 3042 apparently healthy men and women 18–89 years, under the context of ATTICA study, where Athens is a major metropolis. IL-6, CRP, TNF-a, SAA, fibrinogen and homocysteine were measured at baseline (2001–2002). Covariates included various clinical, demographic and lifestyle characteristics, assessed with standard procedures. Diabetes diagnosis was defined according to American Diabetes Association criteria.

Results: 191 incident cases of diabetes were documented, yielding to an incidence of 12.9% (13.4% in men and 12.4% in women). After adjustments only elevated IL-6 increased by 2.2 times the 10-year diabetes risk (3rd vs. 1st tertile, 95%CI: 1.13, 4.28). After investigating combinations of inflammatory markers, combined elevated levels of CRP and IL-6 or CRP and fibrinogen (both markers >75th percentile vs. <75th percentile), increased the risk by 1.93 times (95%CI: 1.20, 3.08) and 2.37 times (95%CI: 1.37, 4.16) respectively. Body mass index was found to significantly mediate the aggravating effect of inflammation.

Conclusions: the reported results underline the significant role of individual IL-6, or combinations of CRP-IL-6 and CRP-fibrinogen in diabetes prediction. Adiposity seems to be primarily responsible for an increase in inflammatory markers, enhancing through this mechanism insulin resistance and increasing diabetes risk.

Keywords: diabetes, inflammation, IL6, CRP, fibrinogen, obesity

INTRODUCTION

Type 2 diabetes is an epidemic public health concern. The past two decades research has been intensified towards the investigation of immune system subclinical activation and subsequent low-grade inflammation, due to its suggested participation in various metabolic diseases, including obesity, metabolic syndrome and diabetes (Sjoholm and Nystrom 2006, Cruz, Sousa et al. 2013, Esser, Legrand-Poels et al. 2014). Patients with diabetes display typical features of inflammation process, including higher levels of acute phase proteins, such as c-reactive protein (CRP) and fibrinogen and proinflammatory cytokines, such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) (Pitsavos, Tampourlou et al. 2007, Bertoni, Burke et al. 2010); which raise significantly the risk for micro- and macrovascular complications (Nguyen, Shaw et al. 2012, Lowe, Woodward et al. 2014). Elevated biomarkers of inflammation have been also reported to increase diabetes risk (Julia, Czernichow et al. 2014).

However, whether the elevation of inflammatory markers precedes or follows diabetes onset cannot be easily answered, especially because insulin resistance process is initiated many years before the diagnosis is set. For example, a recent meta-analysis found that elevated levels of IL-6 and CRP increase significantly diabetes risk; but 10 out of the 19 studies included had a short follow up time (≤ 6 years) (Wang, Bao et al.

⁸ Υπό κρίση στο **Diabetes Metabolism Research and Reviews**

2013), which means that glucose and insulin metabolic disorders could be present at baseline, inducing or enhancing inflammation state. Also, very few and conflicting data exist on how inflammatory markers act in combinations, contributing to diabetes pathogenesis. A combined elevation of IL-6 and IL-1 β better predicted diabetes incidence (Bertoni, Burke et al. 2010), whereas the associations of CRP, IL-6 and serum amyloid alpha (SAA) with adiponectin did not improve diabetes prediction (Ley, Harris et al. 2008).

Nonetheless, findings are inconsistent with regards to the mechanism of inflammation-diabetes relationship. Adiposity and insulin resistance may be closely associated with increased inflammation, as after adjustment for obesity indexes, such as body mass index (BMI), or insulin resistance indexes, such as HOMA-IR, the effects of CRP and IL-6 on diabetes risk lost their significance (Barzilay, Abraham et al. 2001, Ley, Harris et al. 2008). However, in other cases the respective effects were attenuated but remained significant (Spranger, Kroke et al. 2003, Dehghan, Kardys et al. 2007, Bertoni, Burke et al. 2010), suggesting an independent role for CRP or IL-6 in the development of diabetes.

The objective of the present work was 1) to investigate associations of various baseline inflammatory markers, namely CRP, IL-6, serum amyloid-alpha (SAA), TNF-a, fibrinogen and homocysteine individually and in combinations, with the 10-year diabetes incidence and 2) to separately evaluate the mediating effect of obesity and insulin resistance, in a large representative sample of cardiovascular free Greek adults, aged over 18 years old, under the context of the ATTICA study.

MATERIALS AND METHODS

The ATTICA study is a large-scale, health and nutrition, prospective survey, which was initiated at 2001-2002 in the province of Attica, and had 2 follow up examination periods, at 5 and 10-years. Its primary goal was to determine the incidence of cardiovascular disease in Athens greater area. 4056 subjects, free of cardiovascular disease, were initially invited to participate in the study. After excluding n=117 subjects for having CVD and n=107 for having chronic viral infections, 3042 individuals agreed to participate (75% participation rate); 1514 of the participants were men (aged 46±13 y; range 18-87 y) and 1528 were women (aged 45±13 y; range: 18-89 y). This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects/patients were approved by the ethics committee of the First Cardiology Department of the University of Athens. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Baseline Measurements (2001-2002)

During the baseline examination, standardized questionnaires and calibrated devices were utilized by trained personnel (i.e., cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses) to obtain information about socio-demographic data (age, sex, education status), tobacco usage, anthropometric data (weight, height, waist and hip circumferences), medical conditions, use of medication, and family history of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and CVD.

Smokers were defined as those who smoked at least one cigarette per day or had quitted within the previous year; the rest were defined as non-smokers. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), an index of weekly energy expenditure was used to evaluate the level of physical activity (Papathanasiou, Georgoudis et al. 2009). The evaluation of the dietary habits was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire, the EPIC-Greek questionnaire, which was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School (Katsouyanni, Rimm et al. 1997). Adherence to Mediterranean diet was evaluated using the *MedDietScore* (range 0-55, with higher values indicating greater adherence) (Panagiotakos, Pitsavos et al. 2006).

Weight (in kilogram), height (in meter), waist (in centimeter) and hip (in centimeter) circumferences, as well as clinical characteristics, were measured using standardized procedures. BMI was calculated as weight (kilograms)/ height (meters)². Arterial blood pressure was measured three times by using the right arm, at the end of the physical examination while subjects were in a sitting position for at least 30 min. Hypertension was defined based on the use of antihypertensive medication or average blood pressure ≥140/90 mmHg.

Biochemical measurements were carried out in the same laboratory that followed the criteria of the World Health Organization Lipid Reference Laboratories. Blood samples were collected from the antecubital

vein between 8 to 10 a.m., in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Serum total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and glucose concentrations were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyzer RA-1000. LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formulae. Serum insulin concentrations were assayed by means of radioimmunoassay. Insulin resistance was assessed by the calculation of a homeostasis model assessment (HOMA-IR) approach (glucose (mmol/l) x insulin (μ U/mL) /22.5 (Matthews, Hosker et al. 1985). Serum total cholesterol and glucose concentrations were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyzer RA-1000. Hypercholesterolemia was defined as total serum cholesterol concentrations >200 mg/dL or the use of lipid-lowering agents. Diabetes diagnosis was based on American Diabetes Association criteria (American Diabetes Association 1997), i.e. the use of antidiabetic medication (hypoglycemic drugs and/or insulin use) or having fasting plasma glucose \geq 126 mg/dL. Inflammatory markers were assayed using the following techniques: CRP and SAA by particle-enhanced immunonephelometry; IL-6 by a high-sensitivity enzyme-linked immunoassay; TNF-a by the enzyme-linked immunosorbent assay method for the quantitative determination; homocysteine levels by an automatic analyzer based on the technology of fluorescence polarization immunoassay and fibrinogen by automatic nephelometry.

10-year follow up evaluation (2011-2012)

During 2011-2012, the 10-year follow-up was performed. Of the n=3042 participants, n=2583 completed the follow-up (85% participation rate). Diagnosis of diabetes was based on ADA criteria, as performed in the baseline examination. Participants who did not provide biological samples—those who were reached only by telephone—were asked whether they had been diagnosed by a physician. Participants with diabetes at baseline (n=210) or with no information about diabetes status at the 10-year follow up (n=1347) were excluded for these analyses, yielding to a final sample of n=1485 subjects. The working sample size was adequate to achieve 95% statistical power to evaluate relative risk (RR) of 1.20, between the null and alternative two-sided hypotheses, when the exposure variable was increased by 1-unit (e.g., tertile of CRP) and with a significance level (alpha) of 0.05. Further details about the baseline procedures and the 10-year follow-up of the study have been presented elsewhere (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2003, Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

Statistical analysis

Descriptive statistics were utilized to compare participants', who developed diabetes, characteristics at the 10-year follow up with those who did not. Continuous variables are presented as mean values \pm standard deviation for normally distributed variables, plus median for non-normally distributed variables. Categorical variables were summarized using frequencies. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those who developed diabetes and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after ensuring equality of variances using Levene's test. For non-normally distributed variables, Mann-Whitney test was used. Continuous variables were tested for normality through histograms. For categorical variables chi-squared test was used. Distributions of inflammatory markers were skewed, so their natural log transformations were used in subsequent analyses when continuous, along with the tertiles of the markers, which were also calculated. To assess baseline cross-sectional associations between inflammatory markers, glycemic and anthropometric indexes, Spearman's partial correlation test was used, adjusted for basic covariates. Multivariate logistic regression analysis was performed to evaluate independent associations. This type of analysis was preferred (instead of survival) because there were no accurate data about diabetes onset, but only diagnosis. As previously demonstrated, the estimation of the OR approximated the relative risk given an infrequent disease occurrence (Cornfield 1951). All known confounders were included in the models after testing for collinearity. Interactions with inflammatory markers were checked in all steps. Nested models were constructed, gradually adjusted for known confounders. To investigate the combined effect of cytokines (IL-6*TNF-a), acute phase proteins (CRP*SAA, CRP*fibrinogen), and homocysteine with both CRP and IL-6 dichotomized subgroups were created. The 75th percentile was used as the cut-off point for all inflammatory markers (setting individuals who were \geq 75th percentile for both markers of each pair as 1 and those $<$ 75th as 0). New variables were then constructed adding the values of the respective markers (range 0-2). Finally, BMI and HOMA-IR were separately added in the final regression models to evaluate their mediating effect on inflammation-diabetes relationship. All reported P-values were based on two-sided tests. SPSS software (Statistical Package for Social Sciences, IBM Hellas SA, Greece, version 18) was used for all statistical calculations.

RESULTS

10-year diabetes incidence

During the 10-year follow-up period, 191 subjects were classified as having diabetes; yielding to a crude incidence of 129 per 1000 participants (or 12.9%); 97 (13.4%) and 94 (12.4%) being men and women respectively ($p = 0.79$ for gender difference) (Koloverou, Panagiotakos et al. 2014).

Participants' baseline characteristics

Participant' characteristics, stratified by diabetes status as the 10-year follow up are presented in **Table 1**. Unadjusted analysis revealed that, at baseline, participants who developed diabetes, compared to those who did not, tended to be older by almost a decade, less educated, had a poorer adherence to the Mediterranean diet, were more likely to be predisposed to diabetes and tended to have higher BMI and waist circumference to a statistically significant extent. Similarly, they had higher values in glucose, insulin and insulin resistance index HOMA-IR, as well as higher CRP, IL-6, TNF-a, and fibrinogen values. However, mean differences in the prevalence of smoking and physical activity as well as SAA and homocysteine were not significant.

Slight differences in the baseline characteristics were noted between those for whom information about 10-year diabetes status was available (n=1485) and the rest (n=1347), regarding the distribution of age (43±13 vs. 45±13 years, $p<0.001$), hypertension (30% vs. 26%, $p=0.036$), smoking status (58% vs. 54%, $p=0.028$) and fasting glucose levels (88±12 vs. 80±13, $p=0.005$). No differences were reported regarding the distribution of sex, years of education, family history of diabetes, physical activity and BMI (all $p_s > 0.05$)

Table 1. Demographic, lifestyle and clinical characteristics of the ATTICA study's participants, according to their diabetes status at the 10-year follow up (n=1485)

Baseline factors	Status at 10-year follow – up		
	Did not develop diabetes (n=1294)	Developed diabetes (n=191)	<i>p</i>
Age, years	44±13	53±11	<0.001
Male sex, n (%)	629 (49)	97 (51)	0.57
Education, years of school	13±3.4; 12	11±3.9; 12	<0.001
<i>MedDietScore</i> (range 0-55)	26±6.8; 27	24±6.4; 25	<0.001
Physical activity, n (%)	552 (43)	73 (38)	0.25
Smoking status, n (%)	702 (54)	100 (52)	0.62
Family history of diabetes, n (%)	230 (20)	61 (36)	<0.001
Hypertension, n (%)	333 (27)	82 (46)	<0.001
Hypercholesterolemia, n (%)	475 (37)	106 (56)	<0.001
Body mass index, kg/m ²	26±4.0	29±5.0	<0.001
Waist circumference, cm	88±14	98±16	<0.001
Glycemic indices			
<i>Fasting glucose, mg/dL</i>	88±12	95±14	<0.001
<i>Fasting insulin, µU/mL</i>	13±3.4; 12	14±3.4; 13	<0.001
<i>HOMA-IR</i>	2.8±0.65	3.2±0.81	<0.001
Inflammatory markers			
<i>CRP, mg/L</i>	1.7±2.3; 0.86	2.7±2.8; 1.60	<0.001
<i>IL-6, pg/mL</i>	1.4±0.49; 1.3	1.6±0.42; 1.5	<0.001
<i>TNF-a, pg/mL</i>	6.1±4.4; 5.8	6.8±3.6; 7	<0.001
<i>Fibrinogen, mg/dL</i>	302±66; 295	336±77; 334	<0.001
<i>SAA, mg/dL</i>	4.4±4.6; 3.1	4.6±3.8; 3.8	0.05
<i>Homocysteine, µmol/L</i>	12±6.6; 10	12±5.5; 11	0.15

Data are presented as mean values and standard deviations for normally distributed variables; mean values, standard deviations and median for non-normally distributed variables (i.e., years of school, *MedDietScore*, fasting insulin, inflammatory markers); and absolute and relative frequencies for categorical variables. P-values derived from Student's t-test for the normally distributed variables and Mann-Whitney test for the non-normally distributed variables, or chi-square test for the categorical variables.

10-year diabetes incidence and inflammatory markers (single effects)

In **Table 2**, results of multi-adjusted analysis are presented, in order to control for potential confounding. Diabetes incidence was twofold and fivefold higher among participants whose baseline levels of CRP and IL-6 were in the third versus the first tertile respectively. In age-sex adjusted models, a significant positive association was observed between the highest versus the lowest CRP and IL-6 tertile with diabetes development (OR = 1.88; 95%CI: 1.21, 2.94 and OR = 2.74; 95%CI: 1.56, 4.81, respectively) (Model 1). These associations were slightly attenuated, but remained significant, after adjusting for lifestyle behaviors, smoking status and family history of diabetes, for both markers (Model 2). When adjusting for hypertension and hypercholesterolemia status, relationship between IL-6 and diabetes was further attenuated, but still significant (OR = 2.20; 95%CI: 1.13, 4.28), whereas CRP slightly lost its significance (OR = 1.46; 0.89, 2.40, p=0.08) (Model 3). For all other inflammatory markers their individual effects were not significant even in age-sex adjusted models (results not shown). Sex differences in inflammatory markers – diabetes link have been suggested (Thorand, Baumert et al. 2007). However, in our sample interactions between the studied markers and sex, in age-adjusted models, were not statistical significant (p>0.05).

To investigate the potential mechanism through which inflammation is linked to diabetes development, firstly, the baseline partial correlation coefficients between inflammatory markers with anthropometric and glycemic indexes were calculated. Significant positive associations existed between CRP and IL-6 with BMI ($r=0.38$ and $r=0.22$, $p_s<0.001$) and a slight correlation between fibrinogen and BMI ($r=0.23$, $p<0.001$), adjusted for age and sex. Similar results existed between the three markers and waist circumference (WC) ($r=0.33$, $r=0.16$ and $r=0.21$ respectively, $p_s<0.001$). Significant but slight relationships existed between CRP and IL-6 with insulin, blood glucose and HOMA-IR ($r_s<0.1$, $p_s<0.05$), adjusted for age, sex and BMI. All other associations were not significant. Next, the role of insulin resistance and BMI in inflammation – diabetes relationship was further examined, by separately adding HOMA-IR and BMI in the fully adjusted models. A significant loss in statistical significance for IL-6 was observed, especially with the addition of BMI (OR=1.30; 95%CI: 0.65, 2.60), while CRP further lost statistical significance with the addition of both BMI and HOMA-IR (OR=0.82; 95%CI: 0.47, 1.41 and OR=1.18; 95%CI: 0.70, 1.97 respectively). These results indicate a potential mediating effect of both variables, but mostly BMI, underlying inflammation – diabetes link (**Table 2**).

Table 2. Results from multiple logistic regression models that evaluated CRP and IL-6 levels, in relation to 10-year incidence of diabetes: the ATTICA study

	Per 1-unit increase*	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	<i>p</i>
<i>n</i> = 1225 (n=159 cases)					
CRP (mg/dL)	0.01 – 0.58	0.59 – 1.60	1.61 – 15.9		
Cases; incidence	35; 8.5%	44; 10.9%	80; 19.5%		<0.001
<i>Model 1</i>	2.15; 1.48 – 3.13	1 (referent)	1.07; 0.66 – 1.76	1.88; 1.21 – 2.94	<0.05
<i>Model 2</i>	1.88; 1.25 – 2.81	1 (referent)	0.99; 0.59 – 1.68	1.63; 1.01 – 2.64	<0.05
<i>Model 3</i>	1.66; 1.09 – 2.53	1 (referent)	0.87; 0.51 – 1.50	1.46; 0.89 – 2.40	0.078
<i>Model 3 +HOMA-IR</i>	1.41; 0.90 – 2.19	1 (referent)	0.83; 0.48 – 1.46	1.18; 0.70 – 1.97	0.40
<i>Model 3 +BMI**</i>	1.02; 0.64 – 1.62	1 (referent)	0.61; 0.34 – 1.09	0.82; 0.47 – 1.41	0.23
<i>n</i> = 1254 (n=160 cases)					
IL-6 (pg/mL)	0.3 – 1.25	1.26 – 1.46	1.47 – 7.1		
Cases; incidence	21; 4.9%	39; 9.8%	100; 23.4%		<0.001
<i>Model 1</i>	5.69; 1.43 – 22.7	1 (referent)	1.40; 0.80 – 2.47	2.74; 1.56 – 4.81	<0.05
<i>Model 2</i>	3.97; 0.78 – 20.0	1 (referent)	1.19; 0.64 – 2.25	2.32; 1.23 – 4.40	<0.05
<i>Model 3</i>	2.65; 0.48 – 14.6	1 (referent)	1.07; 0.55 – 2.08	2.20; 1.13 – 4.28	<0.05
<i>Model 3 +HOMA-IR</i>	1.56; 0.28 – 8.59	1 (referent)	0.99; 0.51 – 1.95	1.84; 0.94 – 3.63	0.034
<i>Model 3 +BMI**</i>	1.08; 0.19 – 6.09	1 (referent)	0.87; 0.44 – 1.70	1.30; 0.65 – 2.60	0.30

Data are ORs; 95%CI. Model 1 is adjusted for age and sex; Model 2 = model 1, plus family history of diabetes, smoking, adherence to the Mediterranean diet and physical activity; Model 3 = model 2, plus hypertension and hypercholesterolemia status. *P* value for trend across tertiles is noted.

*Per 1-unit increase in the natural logarithm of CRP or IL-6 **Results were similar when adding WC in the fully adjusted model, however there was a significant correlation between waist circumference and sex ($r=-0.496$), which might have led to unwanted multi-collinearity. That is why BMI was chosen for the final model.

10-year diabetes incidence and inflammatory markers (combined effects)

In **Table 3**, results of the combined effect of increased inflammatory markers on diabetes incidence are presented. In order to evaluate the composite outcome, new variables were constructed, as described in Methods section. The combined effect of CRP and IL-6 was tested, as they were found to be the most potent predictors of diabetes risk in above analyses, as well as the combined cytokines effect (IL-6 – TNF- α), acute phase protein effect (CRP – fibrinogen, CRP – SAA) and homocysteine effect with both CRP and IL-6. In the fully adjusted models, when elevated values of CRP, i.e. $\geq 75^{\text{th}}$ percentile=2.16mg/L, were combined with either elevated values of IL-6, i.e. $\geq 75^{\text{th}}$ percentile=1.57 pg/mL, or fibrinogen, i.e. $\geq 75^{\text{th}}$ percentile=343 mg/dL, the 10-year risk to develop diabetes was increased by 93% (OR= 1.93, 95%CI: 1.20, 3.08) and 137% (OR=2.37, 95%CI: 1.37, 4.16) respectively. Finally, and in order to confirm the mediating effect of insulin resistance and BMI, model 3 in both cases was further adjusted for HOMA-IR and BMI. Again, insulin resistance was found to exert a small mediating effect, whereas BMI was found to be a significant mediator of the relationship.

Table 3. Results from multiple logistic regression models that evaluated the combined effect of inflammatory markers on diabetes incidence

	Both markers $<75^{\text{th}}$ percentile	At least one marker $\geq 75^{\text{th}}$ percentile	Both markers $\geq 75^{\text{th}}$ percentile	p
CRP*IL-6 (n=1225; 159 cases)				
Cases; incidence	76; 9.1%	27; 16%	56; 26%	<0.05
<i>Model 1</i>	1 (referent)	1.04; 0.61 – 1.78	2.30; 1.52 – 3.50	<0.05
<i>Model 2</i>	1 (referent)	1.01; 0.56 – 1.82	2.10; 1.34 – 3.30	<0.05
<i>Model 3</i>	1 (referent)	1.13; 0.63 – 2.05	1.93; 1.20 – 3.08	<0.05
<i>Model 3 + HOMA-IR</i>	1 (referent)	1.05; 0.57 – 1.93	1.67; 1.02 – 2.73	0.10
<i>Model 3 + BMI</i>	1 (referent)	0.97; 0.53 – 1.77	1.25; 0.75 – 2.08	0.62
CRP*fibrinogen (n=1059; 129 cases)				
Cases; incidence	55; 8.3%	36; 14%	38; 28.1%	<0.05
<i>Model 1</i>	1 (referent)	1.27; 0.79 – 2.05	3.32; 2.02 – 5.46	<0.05
<i>Model 2</i>	1 (referent)	1.16; 0.70 – 1.92	2.53; 1.48 – 4.33	<0.05
<i>Model 3</i>	1 (referent)	1.26; 0.76 – 2.12	2.37; 1.37 – 4.16	<0.05
<i>Model 3 + HOMA-IR</i>	1 (referent)	1.29; 0.75 – 2.19	1.95; 1.07 – 3.54	0.09
<i>Model 3 + BMI</i>	1 (referent)	1.14; 0.67 – 1.92	1.37; 0.74 – 2.53	0.60

Data are ORs; 95%CI. 75th percentiles are for CRP = 2.16 mg/L, IL= 1.57 pg/mL and fibrinogen = 343 mg/dL

DISCUSSION

In the present work, the single and combined effects of various inflammatory markers on diabetes incidence were evaluated. The only marker which could individually predict diabetes risk was found to be IL-6. Participants with elevated baseline levels of IL-6 (3rd vs. 1st tertile) were found to have more than twofold increased 10-year diabetes risk, whereas the single effect of CRP was not significant in the fully adjusted model. With regards to the combined effects, participants with a combined elevation ($>75^{\text{th}}$ percentile) of either CRP and IL-6 or CRP and fibrinogen, had a substantial increase of their diabetes risk, of 93% and 137% respectively, indicating that increased CRP becomes an important predictor, if combined with IL-6 or even better with fibrinogen. Body mass index and insulin resistance were found to be linked with inflammation state. It is suggested that increased adiposity is primarily responsible for an increase in inflammation status, enhancing through this mechanism insulin resistance and increasing diabetes risk.

Similarly to our study, Thorand et al. (Thorand, Baumert et al. 2007) and Duncan et al (Duncan, Schmidt et al. 2003), reported a significant independent effect of IL-6, but not CRP, on diabetes risk, among German and US men and women respectively. However, most prospective studies have reported an independent aggravating effect of both markers on diabetes incidence, which was confirmed by a recent meta-analysis (Wang, Bao et al. 2013). In relation to the composite effects of inflammatory markers, to the best of our knowledge there are only two relevant studies. A simultaneous increase in IL-6 and IL1 β has been found to predict diabetes risk, even better than isolated IL-6 (Spranger, Kroke et al. 2003), while combinations of leptin, CRP, IL-6 and/or SAA did not improve diabetes prediction (Ley, Harris et al. 2008). In our study, the CRP-IL-6 combined effect was expected, due to the single aggravating effect of both markers, however, this is the first

study to document the potential combined action of two acute phase proteins, CRP and fibrinogen on diabetes incidence.

Various biological mechanisms are postulated to be involved in inflammation-diabetes relationship. In this study, the main mediator was found to be BMI, which is in line with the recent study of Shimoda et al, who demonstrated that BMI is an important predictor of CRP only among obese patients with diabetes (Shimoda, Kaneto et al. 2016). Obesity-induced insulin resistance begins in adipose tissue. Under obesity state triglycerides are firstly accumulated in adipocytes and then also in hepatocytes inducing a process of cellular stress and JNK, IKK β /NF- $k\beta$ signaling, which lead to elevated levels of proinflammatory cytokines, including IL-6, TNF- α and other adipokines. Recruited macrophages are also involved in this process. The produced cytokines, further activate JNK and IKK β /NF κ B pathways, through a feed-forward mechanism (Shoelson, Lee et al. 2006). IL-6 also downregulates PPAR- γ expression (Tanaka, Itoh et al. 1999). Fat, liver and associated immune cells finally create a systemic inflammatory diathesis, promoting insulin resistance in insulin dependent tissues, which can further lead to hepatic cell apoptosis (Civera, Urios et al. 2010), aggravating the whole process. Following stimulation by cytokines, acute phase proteins are released. CRP has been thought to be produced exclusively in the liver (Moshage, Roelofs et al. 1988); however extrahepatic synthesis of CRP has been demonstrated to occur under similar proinflammatory conditions in adipose tissue, too (Calabro, Chang et al. 2005); suggesting a new link between obesity and inflammation and further strengthening our findings of the mediating role of obesity in inflammation-diabetes link. Finally, fibrinogen is involved in clotting but is also an acute phase reactant, and has been previously linked to diabetes (Festa, D'Agostino et al. 2002), however similarly to the present study it is not considered an independent predictor of diabetes by most studies (Barzilay, Abraham et al. 2001, Bertoni, Burke et al. 2010). As mentioned above, our finding for a combined effect with CRP has not been stated elsewhere.

Limitations

Despite the importance of the presented findings, a number of limitations warrant consideration. Fasting plasma glucose was measured once, not twice as recommended by ADA, and was used as the only method for the screening of diabetes, thus misclassification is inevitable; however, this screening procedure is common for large epidemiological studies. Also, as the exact time of diabetes onset was not accurate in some cases, hazard ratios were estimated through ORs that may have overestimated the true effect; however, it has been reported that, for low frequency diseases, OR is an accurate estimate (converges) of the relative risk (Cornfield 1951). For patients interviewed by phone, there is always the possibility of misclassification of T2DM status, which may have led to an underestimation of the associations. Finally, by design, ATTICA study excluded subjects with prevalent CVD, potentially limiting the generalizability of these results. The strengths of this work include a large, representative sample, a prospective design for a fairly long time period of 10 years, as well as the assessment of lifestyle information, and, therefore, the ability to control for potential confounders

Conclusions

The reported findings are of considerable public health importance, as they shed light into the optimum inflammation indexes to be incorporated individually or in combinations in screening programs, in order to identify individuals at risk of diabetes. Further studies are needed to investigate whether the combined reduction in the proposed inflammatory markers may be of benefit, especially for high-risk individuals. Lifestyle strategies to combat or better prevent obesity are of utmost importance, as this work confirmed its significant underlying role in initiating and/or sustaining inflammatory process and increasing diabetes risk.

REFERENCES

1. Esser, N., et al., *Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes*. Diabetes Res Clin Pract, 2014. **105**(2): p. 141-50.
2. Cruz, N.G., et al., *The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus*. Diabetes Res Clin Pract, 2013. **99**(2): p. 85-92.
3. Sjoholm, A. and T. Nystrom, *Inflammation and the etiology of type 2 diabetes*. Diabetes Metab Res Rev, 2006. **22**(1): p. 4-10.
4. Pitsavos, C., et al., *Association Between Low-Grade Systemic Inflammation and Type 2 Diabetes Mellitus Among Men and Women from the ATTICA Study*. Rev Diabet Stud, 2007. **4**(2): p. 98-104.
5. Bertoni, A.G., et al., *Inflammation and the incidence of type 2 diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*. Diabetes Care, 2010. **33**(4): p. 804-10.
6. Lowe, G., et al., *Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications*

- and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the ADVANCE study.* Diabetes, 2014. **63**(3): p. 1115-23.
7. Nguyen, D.V., L.C. Shaw, and M.B. Grant, *Inflammation in the pathogenesis of microvascular complications in diabetes.* Front Endocrinol (Lausanne), 2012. **3**: p. 170.
 8. Julia, C., et al., *Relationships between adipokines, biomarkers of endothelial function and inflammation and risk of type 2 diabetes.* Diabetes Res Clin Pract, 2014. **105**(2): p. 231-8.
 9. Wang, X., et al., *Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis.* Diabetes Care, 2013. **36**(1): p. 166-75.
 10. Ley, S.H., et al., *Adipokines and incident type 2 diabetes in an Aboriginal Canadian [corrected] population: the Sandy Lake Health and Diabetes Project.* Diabetes Care, 2008. **31**(7): p. 1410-5.
 11. Barzilay, J.I., et al., *The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study.* Diabetes, 2001. **50**(10): p. 2384-9.
 12. Spranger, J., et al., *Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study.* Diabetes, 2003. **52**(3): p. 812-7.
 13. Dehghan, A., et al., *Genetic variation, C-reactive protein levels, and incidence of diabetes.* Diabetes, 2007. **56**(3): p. 872-8.
 14. Papathanasiou, G., et al., *Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults.* Hellenic J Cardiol, 2009. **50**(4): p. 283-94.
 15. Katsouyanni, K., et al., *Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers.* Int J Epidemiol, 1997. **26 Suppl 1**: p. S118-27.
 16. Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk.* Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(8): p. 559-68.
 17. Matthews, D.R., et al., *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.* Diabetologia, 1985. **28**(7): p. 412-9.
 18. American Diabetes Association, *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.* Diabetes Care, 1997. **20**(7): p. 1183-97.
 19. Pitsavos, C., et al., *Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study.* BMC Public Health, 2003. **3**: p. 3-32.
 20. Koloverou, E., et al., *10-year Incidence of Diabetes and Associated Risk Factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012).* Rev Diabet Stud, 2014. **In Press**.
 21. Cornfield, J., *A method of estimating comparative rates from clinical data; applications to cancer of the lung, breast, and cervix.* J Natl Cancer Inst, 1951. **11**(6): p. 1269-75.
 22. Koloverou, E., et al., *10-year incidence of diabetes and associated risk factors in Greece: the ATTICA study (2002-2012).* Rev Diabet Stud, 2014. **11**(2): p. 181-9.
 23. Thorand, B., et al., *Sex differences in the prediction of type 2 diabetes by inflammatory markers: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002.* Diabetes Care, 2007. **30**(4): p. 854-60.
 24. Duncan, B.B., et al., *Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study.* Diabetes, 2003. **52**(7): p. 1799-805.
 25. Shimoda, M., et al., *Influence of atherosclerosis-related risk factors on serum high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with type 2 diabetes: Comparison of their influence in obese and non-obese patients.* J Diabetes Investig, 2016. **7**(2): p. 197-205.
 26. Shoelson, S.E., J. Lee, and A.B. Goldfine, *Inflammation and insulin resistance.* J Clin Invest, 2006. **116**(7): p. 1793-801.
 27. Tanaka, T., et al., *Down regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression by inflammatory cytokines and its reversal by thiazolidinediones.* Diabetologia, 1999. **42**(6): p. 702-10.
 28. Civera, M., et al., *Relationship between insulin resistance, inflammation and liver cell apoptosis in patients with severe obesity.* Diabetes Metab Res Rev, 2010. **26**(3): p. 187-92.
 29. Moshage, H.J., et al., *The effect of interleukin-1, interleukin-6 and its interrelationship on the synthesis of serum amyloid A and C-reactive protein in primary cultures of adult human hepatocytes.* Biochem Biophys Res Commun, 1988. **155**(1): p. 112-7.
 30. Calabro, P., et al., *Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation.* J Am Coll Cardiol, 2005. **46**(6): p. 1112-3.
 31. Festa, A., et al., *Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study.* Diabetes, 2002. **51**(4): p. 1131-7.