ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

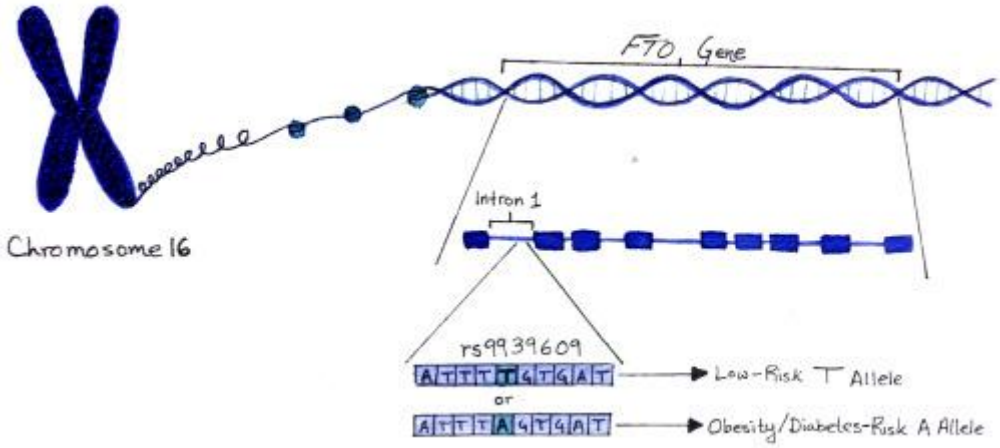
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Προοπτική Μελέτη Δεικτών Παχυσαρκίας σε σχέση με το Γονότυπο στο γονίδιο του FTO

Πτυχιακή εργασία

Δέσποινα Μπρέκου



Αθήνα, 2017

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Δεδούσης Γεώργιος
Καθηγητής Κυτταρικής & Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Καλιώρα Ανδριάνα
Επίκουρη Καθηγήτρια Διατροφής του Ανθρώπου και Τρόφιμα, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τσίγκος Κωνσταντίνος
Καθηγητής Διατροφής & Μεταβολισμού, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Δέσποινα Μπρέκου δηλώνω υπεύθυνα ότι:

1) Είμαι η 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 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΔΑ
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ, ΥΠΕΡΒΑΡΟ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	8
1.1. Ορισμός και Διάγνωση Υπέρβαρου-Παχυσαρκίας-Κεντρικής Παχυσαρκίας	8
1.2. Επιπολασμός Παχυσαρκίας και Υπέρβαρου	9
1.3. Επιπτώσεις Παχυσαρκίας	10
2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	11
3. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	12
3.1. Γονίδια σχετιζόμενα με την παχυσαρκία	12
3.2. Το γονίδιο FTO και οι πολυμορφισμοί του	13
3.3. Αλληλεπιδράσεις FTO και Διατροφής	14
4. ΣΚΟΠΟΣ	15
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	16
1. ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΙ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ	16
2. ΜΕΤΡΗΣΙΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	18
2.1. Κοινωνικά και Δημογραφικά Χαρακτηριστικά	18
2.2. Χαρακτηριστικά Τρόπου Ζωής	18
2.3. Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά	19
2.4. Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό	20
2.5. Κλινικά Χαρακτηριστικά	21
2.6. Διατροφικές Συνήθειες	23

2.7. Γενετική Ανάλυση 24
3. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΥ 27
Ηλεκτρονική Καταχώρηση Δεδομένων 27
4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ 27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 28
ΣΥΖΗΤΗΣΗ 34
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 35
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 36

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η παχυσαρκία θεωρείται πλέον ως μία νόσος με αυξανόμενο επιπολασμό, η οποία ορίζεται από υπέρμετρη συσσώρευση λίπους και εγκυμονεί κίνδυνο για την υγεία. Ο σπουδαιότερος γενετικός παράγοντας της παχυσαρκίας φαίνεται να είναι το γονίδιο FTO. Αυτήν την περίοδο, το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι αυξημένο για τη διερεύνηση των γενετικών παραγόντων που επιδρούν στην αύξηση, τη μείωση και τη διατήρηση του σωματικού βάρους αλλά και για την αλληλεπίδραση αυτών με περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η παρουσίαση των περιγραφικών χαρακτηριστικών δείγματος ατόμων με διαφορετικό FTO γονότυπο και η διερεύνηση συσχετίσεων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO γονιδίου, δεικτών παχυσαρκίας (BMI, WC, WHR, ποσοστό σωματικού λίπους και ποσοστό κοιλιακού λίπους) και διατροφικών συνηθειών.

Μεθοδολογία: Η πτυχιακή αυτή εργασία είναι μέρος προοπτικής μελέτης με δείγμα 115 άτομα 18–65 ετών (73 γυναίκες και 42 άνδρες), τα οποία υποβλήθηκαν σε υπερηχογράφημα ήπατος-χοληφόρων, ανθρωπομέτρηση, αιμοληψία και συνέντευξη που περιλάμβανε την καταγραφή δημογραφικών χαρακτηριστικών, τη λήψη ατομικού και οικογενειακού ιατρικού ιστορικού, ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας και FFQ.

Αποτελέσματα: Το 67,6% του δείγματος είχε τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO. Βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές BMI στην ομάδα με γονότυπο AT/AA σε σχέση με εκείνη με γονότυπο TT κατά 2,3 Kg/m^2 στο Baseline ($p = 0,019$) και κατά 2 Kg/m^2 στο Follow-up ($p = 0,044$). Επίσης βρέθηκαν υψηλότερες τιμές της WC στην ομάδα με γονότυπο AT/AA στο Follow-up κατά 6,1 cm ($p = 0,037$) αλλά όχι στο Baseline ($p = 0,49$). Λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη και το PAL, επιβεβαιώθηκε η συσχέτιση του πολυμορφισμού με το BMI στο Baseline και με τη WC στο Follow-up, ενώ δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τους υπόλοιπους δείκτες παχυσαρκίας.

Συμπεράσματα: Επαληθεύτηκε η επίδραση του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO στο BMI και τη WC, ακόμα και διορθώνοντας για την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη και το PAL αλλά όχι η αλληλεπίδρασή του με άλλους δείκτες παχυσαρκίας, ούτε ήταν δυνατή η διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων αναφορικά με την αλληλεπίδρασή του με τις διατροφικές συνήθειες, εξαιτίας του μικρού μεγέθους του δείγματος.

Λέξεις κλειδιά: δείκτες παχυσαρκίας, FTO, πολυμορφισμός rs9939609, προοπτική μελέτη

ABSTRACT

Introduction: Obesity is now considered as a disease with increasing prevalence, defined by excessive fat accumulation, which poses health risks. The most important genetic factor of obesity appears to be the FTO gene. Currently, there is a lot of research interest in the genetic factors that affect body weight as well as their interaction with environmental factors.

Purpose: The purpose of this study is to present the descriptive statistics of groups with different FTO genotypes and to investigate the effect of FTO SNP rs9939609 on obesity markers (BMI, WC, WHR, body fat percentage and abdominal fat percentage) and nutritional habits.

Methodology: The study sample consisted of 115 people aged 18–65 years (73 female and 42 male), who underwent liver-biliary ultrasound, anthropometry, blood-sampling, as well as an interview that included demographics, individual and family medical history, physical activity questionnaire and FFQ.

Results: The majority of the sample (67.6%) had at least one risk allele of FTO SNP rs9939609. Statistically significant higher BMI values were found in the AT/AA genotype group compared with the TT genotype group, by 2.3 Kg/m^2 at Baseline ($p = 0.019$) and by 2 Kg/m^2 at Follow-up ($p = 0.044$). Higher WC values were also found in the AT/AA genotype group in the Follow-up study by 6.1 cm ($p = 0.037$) but not at Baseline ($p = 0.49$). Taking into account age, gender, energy intake, and PAL, the correlation of rs9939609 SNP with BMI at Baseline and with WC at Follow-up was confirmed but no statistically significant correlations with other obesity markers were found.

Conclusions: The effect of FTO rs9939609 SNP on BMI and WC was verified, even after adjusting for age, gender, energy intake and PAL, however its interaction with other obesity markers was not, nor was it possible to draw reliable conclusions concerning its interaction with diet, due to the small size of the sample.

Keywords: obesity markers, FTO, SNP rs9939609, prospective study

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

WHO	World Health Organization (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας)
BMI	Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)
DXA	Dual-energy X-ray Absorptiometry (Απορροφησιομετρία Ακτινών Χ Διπλής Ενέργειας)
BIA	Bioelectrical Impedance Analysis (Ανάλυση Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης)
WC	Waist Circumference (Περίμετρος/Περιφέρεια Μέσης)
HC	Hip Circumference (Περίμετρος/Περιφέρεια Ισχίων)
WHR	Waist to Hip Ratio (Λόγος Περιμέτρου Μέσης προς Περιμέτρου Ισχίων)
AMA	American Medical Association (Αμερικανική Ιατρική Ένωση)
AHA	American Heart Association (Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία)
ΣΔΙΙ	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου ΙΙ
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease **(**Μη Αλκοολική Λιπώδης Νόσος του Ήπατος)
SNP	Single-nucleotide Polymorphism (Μονονουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός)
GWAS	Genome-Wide Association Study (Μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος)
FTO	Fat mass and obesity associated gene (γονίδιο σχετιζόμενο με τη λιπώδη μάζα και την παχυσαρκία)
FFQ	Food Frequency Questionnaire (Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων)
PAL	Physical Activity Level (Επίπεδο Φυσικής Δραστηριότητας)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ, ΥΠΕΡΒΑΡΟ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

1.1. Ορισμός και Διάγνωση Υπέρβαρου-Παχυσαρκίας-Κεντρικής Παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία και το υπέρβαρο ορίζονται από τον WHO ως μη φυσιολογική ή υπέρμετρη συσσώρευση λίπους, η οποία εγκυμονεί κίνδυνο για την υγεία.

Ένα μέτρο που χρησιμοποιείται ευρέως στην κλινική πράξη για την εκτίμηση της παχυσαρκίας, είναι ο Δείκτης Μάζας Σώματος ή BMI. Το BMI υπολογίζεται διαιρώντας το σωματικό βάρος (σε Kg) με το τετράγωνο του ύψους (σε m^2) και όταν λαμβάνει τιμές μικρότερες των 18,5 (Kg/m^2), θεωρείται ότι υποδηλώνει ελλιπές σωματικό βάρος, ενώ όταν λαμβάνει τιμές μεγαλύτερες ή ίσες του 18,5 και μικρότερες του 25, υποδεικνύει φυσιολογικό σωματικό βάρος. Ένα άτομο με BMI μεγαλύτερο ή ίσο του 25 αλλά μικρότερο του 30, θεωρείται υπέρβαρο, ενώ ένα άτομο με BMI μεγαλύτερο ή ίσο του 30 λέγεται παχύσαρκο. Μάλιστα αξίζει να σημειωθεί ότι η παχυσαρκία κατατάσσεται περαιτέρω σε πρώτου βαθμού (BMI <35), δευτέρου βαθμού (BMI <40) και τέλος τρίτου βαθμού ή νοσογόνος ή νοσηρά παχυσαρκία (BMI >40) *(Kramer et al., 2013).*

Ωστόσο, όπως διαφαίνεται και από τον ορισμό της παχυσαρκίας από τον WHO, δεν είναι το σωματικό βάρος καθεαυτό που θέτει σε κίνδυνο την υγεία και ορίζει την παχυσαρκία αλλά το υπερβάλλον σωματικό λίπος. Επόμενο είναι λοιπόν το ποσοστό σωματικού λίπους να χρησιμοποιείται επίσης ως δείκτης παχυσαρκίας. Η ανάλυση της σύστασης του σώματος σε λιπώδη και άλιπη μάζα πραγματοποιείται με απεικονιστικές μεθόδους, όπως η αξονική τομογραφία, η μαγνητική τομογραφία *(Otto et al., 2015)*, η απορροφησιομετρία ακτινών Χ διπλής ενέργειας (DXA) *(Clasey et al., 1999),* καθώς και με τις μεθόδους της υποβρύχιας ζύγισης και του διπλά σεσημασμένου νερού. Οι μέθοδοι που εφαρμόζονται ως επί το πλείστον στην κλινική πράξη είναι αυτή της βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) *(Gomez-Ambrosi et al., 2017)* και οι μετρήσεις δερματοπτυχών και περιφερειών.

Μάλιστα η περίμετρος μέσης (WC) όπως και ο λόγος της προς την περίμετρο των ισχίων (WHR), αποτελούν δείκτες κεντρικής παχυσαρκίας *(Okosun et al., 2001).* Ως κεντρική παχυσαρκία ονομάζεται η συσσώρευση υπέρμετρης ποσότητας ενδοκοιλιακού ή σπλαχνικού λίπους, η οποία μπορεί να συνυπάρχει με τη συσσώρευση υποδορίου λίπους σε όλο το σώμα και άρα την τυπική εικόνα της παχυσαρκίας, ή και όχι. Έτσι υπάρχουν περιπτώσεις ατόμων φυσιολογικού BMI, με αυξημένο ενδοκοιλιακό λίπος, τα οποία διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο

για μεταβολικά νοσήματα από αυτόν που διατρέχουν άτομα με αυξημένο BMI αλλά όχι ενδοκοιλιακό λίπος *(Sahakyan et al., 2015, Kramer et al., 2013)*. Συνεπώς, δύο ακόμα ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες παχυσαρκίας είναι η ποσότητα κοιλιακού λίπους (trunk fat) σε Kg και το αντίστοιχο ποσοστό κοιλιακού λίπους *(Lu et al., 2011)*.

Σε αντίθεση με το BMI, οι υπόλοιποι δείκτες παχυσαρκίας που αναφέρθηκαν έχουν διαφορετικά εύρη φυσιολογικών τιμών για τα δύο φύλα. Πιο συγκεκριμένα, τιμές WC μεγαλύτερες των 102 cm για τους άνδρες και των 88 cm για τις γυναίκες συνδέονται με αυξημένες πιθανότητες για Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου ΙΙ (ΣΔΙΙ), υπέρταση και καρδιαγγειακή νόσο. Αναφορικά με το WHR, άνδρες με τιμές μεγαλύτερες του 0,85 και γυναίκες με τιμές μεγαλύτερες του 0,90 θεωρούνται κεντρικά παχύσαρκοι. Για τη μάζα και το ποσοστό σωματικού λίπους δεν έχουν οριστεί ευρέως αποδεκτά εύρη φυσιολογικών τιμών. Μερικοί ερευνητές έχουν προτείνει τιμές για τον ορισμό του υπερβάλλοντος σωματικού λίπους προσαρμοσμένες για κάθε φύλο και για κάθε ηλικιακή ομάδα ως εξής: για τους άνδρες 20–39 ετών >19% και για τις γυναίκες >32%, για τους άνδρες 40–59 ετών >21% και για τις γυναίκες 33%, για τους άνδρες 60–79 ετών >24% και για τις γυναίκες 35% *(Gallagher et al., 2000, Oliveros et al., 2014)*.

1.2. Επιπολασμός Παχυσαρκίας και Υπέρβαρου

Παλαιότερα η παχυσαρκία και το υπέρβαρο θεωρούνταν από τον WHO ως πρόβλημα που αφορά μόνο τις ανεπτυγμένες χώρες, ωστόσο από το 1995 και έπειτα ο επιπολασμός τους είναι τόσο υψηλός στις αναπτυσσόμενες χώρες, που και εκεί πλέον θεωρείται μεγαλύτερο πρόβλημα από το λιποβαρές *(James, 2008)*.

Σύμφωνα με μια συγκεντρωτική ανάλυση 1.698 μελετών από 200 χώρες, ο παγκόσμιος επιπολασμός της παχυσαρκίας (BMI ≥30 Kg/m²) αυξήθηκε από το 3,2% το 1975 στο 10,8% το 2014 για τους άνδρες και από το 6,4% στο 14,9% για τις γυναίκες, ενώ ο παγκόσμιος επιπολασμός της νοσογόνου παχυσαρκίας (BMI ≥40 Kg/m²) ήταν 0,64% για τους άνδρες και 1,6% για τις γυναίκες το 2014. Μάλιστα οι ερευνητές προβλέπουν ότι εάν ο επιπολασμός της παχυσαρκίας συνεχίσει να αυξάνεται με την ίδια τάση με την οποία αυξάνεται από το έτος 2000, έως το 2025 θα έχει φτάσει το 18% για τους άνδρες και το 21% για τις γυναίκες *(Lancet, 2016)*.

Στην Ευρώπη έχει βρεθεί ότι ο επιπολασμός της παχυσαρκίας (BMI ≥30 Kg/m²) κυμαίνεται μεταξύ 4,0% και 28,3% στους άνδρες και μεταξύ 6,2% και 36,5% στις γυναίκες, για τις διάφορες χώρες *(Berghofer et al., 2008)*. Τα πιο πρόσφατα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με τον επιπολασμό της παχυσαρκίας και του υπέρβαρου για τον ελληνικό πληθυσμό, προέρχονται από τη μελέτη ATTICA. Σύμφωνα με αυτήν, ο μέσος όρος του BMI

ήταν 27,4 ± 3,8 Kg/m² για τους άνδρες και 25,3 ± 4,9 Kg/m² για τις γυναίκες. Οι επιπολασμοί του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας ήταν αντίστοιχα 53% και 20% για τους άνδρες, ενώ για τις γυναίκες ήταν 31% και 15%, αντίστοιχα ($p < 0,05$). Επιπλέον, το 1% των ανδρών και των γυναικών ήταν νοσηρά παχύσαρκοι (BMI ≥40 Kg/m²) *(Panagiotakos et al., 2004).*

1.3. Επιπτώσεις Παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία έχει ανακηρυχθεί ως νόσος από την Αμερικανική Ιατρική Ένωση (AMA) *(Stoner and Cornwall, 2014)*, όπως και από άλλους οργανισμούς και συνδέεται με την αύξηση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων και της θνησιμότητας από όλες τις αιτίες *(Flegal et al., 2013, Kramer et al., 2013).* Αυτό οφείλεται στο ότι η παχυσαρκία αλλά και το υπέρβαρο αποτελούν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για πολλά χρόνια νοσήματα. Σύμφωνα με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA), η παχυσαρκία συμβάλλει στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, εμφράγματος μυοκαρδίου, ινσουλινοαντίστασης, ΣΔΙΙ, υπέρτασης, δυσλιπιδαιμιών, στεφανιαίας νόσου, NAFLD, χολολιθίασης, συνδρόμου αποφρακτικής άπνοιας ύπνου, ακόμα και κακοηθειών όπως ο καρκίνος του ενδομητρίου, του μαστού και του κόλου.

Έτσι η παχυσαρκία συμβάλλει στη μείωση όχι μόνο του προσδόκιμου επιβίωσης αλλά και της ποιότητας ζωής πολλών ανθρώπων που πάσχουν από χρόνια μεταβολικά νοσήματα, πολύ συχνά πολλαπλά. Οι ασθενείς αυτοί βέβαια οδηγούνται στην πολυφαρμακία, γεγονός που επιβαρύνει και την ποιότητα ζωής τους αλλά και το εθνικό σύστημα υγείας και κατ' επέκταση την οικονομία κάθε χώρας. Είναι χαρακτηριστική η περίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου που ορίζεται από κεντρική παχυσαρκία σε συνδυασμό με υπέρταση, υπεργλυκαιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία ή και χαμηλή HDL χοληστερόλη *(Kaur, 2014).*

2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Η παχυσαρκία κατά βάση είναι αποτέλεσμα του θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, δηλαδή της πρόσληψης μεγαλύτερου ποσού ενέργειας σε σχέση με αυτό που καταναλώνεται για τις διάφορες λειτουργίες του οργανισμού, τη φυσική δραστηριότητα και την πέψη των τροφών και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, διότι η περίσσεια ενέργειας αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό υπό τη μορφή τριακυλογλυκερολών.

Συνεπώς, οι διατροφικές συνήθειες και η χαμηλή φυσική δραστηριότητα αποτελούν τους σπουδαιότερους παράγοντες της παχυσαρκίας. Η παχυσαρκία έχει συνδεθεί με τη λεγόμενη Δυτικού τύπου διατροφή, ένα διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από αυξημένη κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος, επεξεργασμένων δημητριακών και γλυκών, καθώς και από μειωμένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, ολικής άλεσης δημητριακών, οσπρίων και ψαριού. Επομένως η Δυτικού τύπου διατροφή χαρακτηρίζεται από αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών, απλών υδατανθράκων, νατρίου και μειωμένη πρόσληψη διαιτητικών ινών, πολυακόρεστων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων *(Cordain et al., 2005)*.

Άλλοι παράγοντες κινδύνου της παχυσαρκίας είναι το χαμηλό βάρος γέννησης, το σύνδρομο Cushing, ο υποθυρεοειδισμός, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, το ινσουλίνωμα *(Sikaris, 2004)*, ωστόσο όλοι οι παραπάνω παράγοντες συνολικά δεν είναι ικανοί να εξηγήσουν εξολοκλήρου τη διαφορετικότητα μεταξύ των ατόμων ως προς την αύξηση, την απώλεια και τη διατήρηση του σωματικού βάρους. Το 40 με 70% της διακύμανσης αυτής φαίνεται ότι μπορεί να ερμηνευτεί από τις διαφορές στο γονιδίωμα μεταξύ των ατόμων, δηλαδή σε γενετικούς παράγοντες τις παχυσαρκίας και στις αλληλεπιδράσεις τους με τις διατροφικές συνήθειες και τους υπόλοιπους παράγοντές της *(Elks et al., 2012, Maes et al., 1997)*.

3. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

3.1. Γονίδια σχετιζόμενα με την παχυσαρκία

Βάσει των γενετικών παραγόντων της, η παχυσαρκία κατατάσσεται στις εξής τέσσερις κατηγορίες:

- Μονογονιδιακή: είναι σπάνια, εμφανίζεται στα πρώτα στάδια της ζωής και σχετίζεται με ενδοκρινικές διαταραχές. Οφείλεται κυρίως σε μεταλλάξεις των γονιδίων της λεπτίνης και της μελανοκορτίνης (LEP, LEPR, POMC, PC1) και εξαρτάται σε πολύ μικρό βαθμό από περιβαλλοντικούς παράγοντες *(Huvenne et al., 2016)*. Οι μεταλλάξεις αυτές αφορούν λιγότερο από το 0,01% του πληθυσμού *(Frayling et al., 2007)* και ως επί το πλείστον επηρεάζουν το κέντρο κορεσμού του εγκεφάλου *(Farooqi and O'Rahilly, 2007)*.
- Συνδρομική: είναι σοβαρή (BMI ≥35 Kg/m²) και συνοδεύεται από νοητική υστέρηση, δυσμορφίες ή ανωμαλίες στην κατασκευή συγκεκριμένων οργάνων. Τα δύο συχνότερα σύνδρομα είναι το Prader-Willi (1/25.000 γεννήσεις) και το Bardet-Biedl (από 1/125.000 έως 1/175.000 γεννήσεις) αλλά συνολικά έχουν βρεθεί άνω των 100 *(Huvenne et al., 2016)*.
- Ολιγογονιδιακή: χαρακτηρίζεται από διακύμανση στη σοβαρότητά της, καθώς εξαρτάται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Συνδέεται με το γονίδιο του υποδοχέα 4 της μελανοκορτίνης (MC4R) και άλλα γονίδια και ευθύνεται για το 2–3% του επιπολασμού της παχυσαρκίας *(Huvenne et al., 2016)*.
- Πολυγονιδιακή: η κοινή πολυπαραγοντική παχυσαρκία.

Από το 2005 οι μελέτες σάρωσης γονιδιώματος (GWAS) κατέστησαν δυνατή την ταυτοποίηση 119 ξεχωριστών γενετικών τόπων (loci) που σχετίζονται με το BMI. Μεταξύ αυτών, το πιο συχνά απαντώμενο γονίδιο είναι το FTO (γονίδιο σχετιζόμενο με τη λιπώδη μάζα και την παχυσαρκία) σε παχύσαρκα παιδιά και ενήλικες. Από τις GWAS φάνηκε επίσης ότι σχεδόν όλα τα γονίδια που εμπλέκονται στην μονογονιδιακή και την ολιγογονιδιακή μορφή της παχυσαρκίας (LEPR, POMC, MC4R, PC1), έχουν και πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την πολυγονιδιακή παχυσαρκία *(Huvenne et al., 2016, Yazdi et al., 2015)*.

Σε μία μετανάλυση μελετών σάρωσης γονιδιώματος του 2010, επιβεβαιώθηκε η συσχέτιση του BMI με τους 10 γενετικούς τόπους με τους οποίους είχε ήδη συσχετιστεί (σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 5\times10^{-8}$) σε προηγούμενες μελέτες: FTO, MC4R, TMEM18,

GNPDA2, BDNF, NEGR1, SH2B1, ETV5, MTCH2, και KCTD15 αλλά βρέθηκαν επιπλέον 22 γενετικοί τόποι που συσχετίζονται στατιστικά σημαντικά ($p < 5\times10^{-8}$) με το BMI: FAIM2, SEC16B, TFAP2B GPRC5B, MAP2K5/LBXCOR1, TNNI3K, LRRN6C, FLJ35779/HMGCR, PRKD1, RBJ/ADCY3/POMC, QPCTL/GIPR, SLC39A8, TMEM160, FANCL, CADM2, LRP1B, PTBP2, MTIF3/GTF3A, ZNF608, RPL27A/TUB, NUDT3/HMGA1και NRXN3 *(Speliotes et al., 2010).*

3.2. Το γονίδιο FTO και οι πολυμορφισμοί του

Το FTO, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 16 στην περιοχή 16q12,2, έγινε το πρώτο γονίδιο προδιάθεσης της παχυσαρκίας που ταυτοποιήθηκε από τις μελέτες GWAS το 2007 και συνεχίζει να είναι ο πιο συχνά απαντώμενος γενετικός τόπος, με τη μεγαλύτερη επίδραση στο BMI και τον κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής και για πολλές εθνικότητες *(Lu and Loos, 2013).*

Συγκεκριμένα για τους πληθυσμούς Ευρωπαϊκής καταγωγής, κάθε επιπρόσθετο αλληλόμορφο κινδύνου συσχετίζεται με αύξηση του BMI κατά 0,39 Kg/m² (που ισοδυναμεί με αύξηση βάρους κατά 1,13 g για ένα άτομο ύψους 1,70 m) και με 1,2 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας. Περίπου το 43% του Ευρωπαϊκού πληθυσμού φέρει τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου, ενώ το 20% φέρει δύο *(Speliotes et al., 2010).* Για τις υπόλοιπες εθνικότητες το FTO είναι επίσης ο σπουδαιότερος ή από τους σπουδαιότερους γενετικούς τόπους που συνδέονται με την παχυσαρκία αλλά συσχετίζεται με μικρότερη αύξηση του BMI και χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας απ' ότι για τους Ευρωπαίους *(Li et al., 2012, Monda et al., 2013).*

Από όλους τους γενετικούς τόπους που έχουν συνδεθεί με το BMI έως τώρα, αυτός του FTO εξηγεί την πλειονότητα της διατομικής διακύμανσης του BMI, έστω και μόνο το 0,34% *(Speliotes et al., 2010).* Αν και οι πολυμορφισμοί του FTO δεν επηρεάζουν το βάρος γέννησης, προοπτικές μελέτες έχουν δείξει ότι επηρεάζουν το σωματικό βάρος ήδη από την ηλικία των 3 ετών. Έπειτα η επίδραση που ασκούν αυξάνεται έως τα πρώτα χρόνια της ενήλικης ζωής, κατά τη διάρκεια της οποίας μειώνεται *(Loos and Yeo, 2014).*

Ένας από τους σημαντικότερους μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNP) του FTO είναι ο rs9939609, ο οποίος προκύπτει με αντικατάσταση μιας θυμίνης (T) από αδενίνη (A). Έτσι τα ομόζυγα άτομα για το αλληλόμορφο κινδύνου έχουν γονότυπο AA, τα ετερόζυγα AT και αυτά που δεν εμφανίζουν το συγκεκριμένο πολυμορφισμό TT. Σε έρευνες με δείγματα ελληνικούς πληθυσμούς έχει βρεθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τους δείκτες

παχυσαρκίας των πολυμορφισμών του FTO rs9930506 *(Goutzelas et al., 2017)* και rs1421085 *(Rouskas et al., 2012).*

3.3. Αλληλεπιδράσεις FTO και Διατροφής

Η βιβλιογραφία που υποστηρίζει ότι το FTO διαδραματίζει ρόλο στη ρύθμιση των διατροφικών συνηθειών, σταδιακά αυξάνεται. Τα αλληλόμορφα κινδύνου των πολυμορφισμών του FTO έχουν συσχετιστεί με αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη, αυξημένη πρόσληψη λιπαρών οξέων και πρωτεΐνης, αυξημένη όρεξη και μειωμένο κορεσμό, καθώς και απώλεια του ελέγχου κατά την κατανάλωση τροφής *(Loos and Yeo, 2014, Tanaka et al., 2013).*

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι πολυμορφισμοί του FTO δεν έχουν συσχετιστεί με το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας (PAL), αν και έχει βρεθεί ότι για τους ενήλικες με υψηλό PAL η επίδραση που ασκεί το FTO στο BMI είναι κατά 30% χαμηλότερη από αυτή που ασκεί στους ενήλικες που κάνουν καθιστική ζωή *(Kilpelainen et al., 2011).* Επομένως τα άτομα με γενετική προδιάθεση θα μπορούσαν να ωφεληθούν από τη σωματική άσκηση.

Όσον αφορά τις παρεμβάσεις απώλειας βάρους, σύμφωνα με μία πρόσφατη μετανάλυση, τα ομόζυγα άτομα για τον πολυμορφισμό rs9939609 (AA) πέτυχαν μεγαλύτερη απώλεια βάρους από αυτά που δεν έφεραν το αλληλόμορφο κινδύνου (TT) *(Xiang et al., 2016).*

4. ΣΚΟΠΟΣ

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα νόσημα με ολοένα αυξανόμενο επιπολασμό και πολυπαραγοντική αιτιολογία, τόσο περιβαλλοντική όσο και γενετική, που συνδέεται άμεσα με τη θνησιμότητα λόγω των συνοδών μεταβολικών νοσημάτων της. Οι διατροφικές συνήθειες συνιστούν τον κυριότερο περιβαλλοντικό παράγοντά της, ενώ σύμφωνα με την πιο πρόσφατη βιβλιογραφία η σπουδαιότερη γενετική συνιστώσα της φαίνεται να είναι αυτή του γονιδίου FTO. Αυτή τη χρονική περίοδο, το ερευνητικό ενδιαφέρον εμφανίζεται ιδιαίτερα αυξημένο για τη διερεύνηση των γενετικών παραγόντων που επιδρούν στην αύξηση, τη μείωση και τη διατήρηση του σωματικού βάρους, αλλά και για την αλληλεπίδραση αυτών με περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθώς δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα προς αυτή την κατεύθυνση.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η παρουσίαση των περιγραφικών χαρακτηριστικών δείγματος ατόμων με διαφορετικό FTO γονότυπο και η διερεύνηση συσχετίσεων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO γονιδίου, δεικτών παχυσαρκίας (BMI, WC, WHR, ποσοστό σωματικού λίπους και ποσοστό κοιλιακού λίπους) και διατροφικών συνηθειών.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αποτελεί μέρος της προοπτικής μελέτης της επιδημιολογικής μελέτης ασθενών-μαρτύρων με τίτλο «NAFLD – Μη Αλκοολική Λιπώδης Διήθηση Ήπατος», η οποία ξεκίνησε το Μάιο του 2012, ολοκληρώθηκε τον Δεκέμβριο του 2014 και είχε ως στόχο τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων και του κινδύνου εμφάνισης της νόσου.

1. ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΙ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

Η στρατολόγηση των εθελοντών (n=404) πραγματοποιήθηκε έπειτα από επίσκεψή τους στα εξωτερικά ιατρεία του ηπατολογικού τμήματος και του τμήματος παχυσαρκίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο). Ο επανέλεγχός τους πραγματοποιήθηκε από τον Δεκέμβριο του 2016 έως και τον Ιούνιο του 2017 στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο), έπειτα από τηλεφωνική επικοινωνία κατά την οποία ερωτούνταν για αλλαγές στην υγεία ή τη φαρμακευτική αγωγή τους, αλλαγές στην κατανάλωση αλκοόλ· ενώ για τις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας διερευνήθηκε επιπλέον το αν ήταν εγκυμονούσες ή θηλάζουσες. Οι εθελοντές ενημερώνονταν ότι έχουν τη δυνατότητα να συμμετάσχουν στον επανέλεγχο της μελέτης, ώστε να επαναξιολογηθεί η κατάσταση της υγείας τους πραγματοποιώντας ακριβώς την ίδια διαδικασία με αυτή του πρώτου μέρους της μελέτης. Εφόσον ήταν σύμφωνοι προγραμματιζόταν το ραντεβού και την προηγούμενη ημέρα τηλεφωνικά τους δίνονταν περαιτέρω διευκρινιστικές οδηγίες.

Συνολικά τηλεφωνική επικοινωνία έγινε με το 50,2% (n=203) των εθελοντών. Το ποσοστό συμμετοχής στο follow-up έφτασε το 14,5% του δείγματος του Baseline (n=117). Από τους εθελοντές που συμμετείχαν το 36,5% ήταν άντρες (n=42) και το 63,5% γυναίκες (n=73). Από αυτούς με τους οποίους έγινε τηλεφωνική επικοινωνία, το 10,9% αρνήθηκε να συμμετάσχει ξανά, ενώ το 10,4% ήταν μεν πρόθυμο να συμμετάσχει αλλά λόγω προσωπικών κωλυμάτων που συνέτρεχαν τη δεδομένη χρονική περίοδο δεν κατάφερε να προγραμματίσει το ραντεβού.

Προκειμένου οι εθελοντές να ενταχθούν στη μελέτη, έπρεπε να πληρούν τα παρακάτω κριτήρια:

- Η ηλικία τους να κυμαίνεται μεταξύ 18-65 ετών
- Η τρέχουσα ή συστηματική τους κατανάλωση αλκοόλ να μην υπερβαίνει τα 20 g/ημέρα για τις γυναίκες και τα 30 g/ημέρα για τους άνδρες

- Να μην έχουν διαγνωσθεί με κάποια από τις εξής νόσους: Ηπατίτιδα Β ή C, Αυτοάνοση ηπατική νόσο, ασθένεια Wilson, αιμοχρωμάτωση, Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Οι εθελοντές κατά την προσέλευσή τους δήλωναν ενυπόγραφα τη συγκατάθεση τους για τη συμμετοχή τους σε όλα τα στάδια της μελέτης.

Η έγκριση για τη διεξαγωγή της μελέτης δόθηκε από την Επιτροπή Έρευνας του Επιστημονικού Συμβουλίου του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο) και από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

2. ΜΕΤΡΗΣΙΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η καταγραφή των δημογραφικών χαρακτηριστικών, η λήψη του ατομικού και του οικογενειακού ιστορικού, καθώς και το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) πραγματοποιήθηκαν έπειτα από συνέντευξη με τα άτομα του δείγματος.

2.1. Κοινωνικά και Δημογραφικά Χαρακτηριστικά

Τα κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά συμπεριλάμβαναν: ηλικία, φύλο, οικογενειακή κατάσταση, τόπο διαμονής, συγκατοίκους, αριθμό παιδιών, συνολικά έτη εκπαίδευσης, μορφωτικό επίπεδο, επαγγελματική κατάσταση και τύπο εργασίας, όπως και το ετήσιο οικογενειακό εισόδημα. Πιο συγκεκριμένα, το μορφωτικό επίπεδο κατατάχθηκε σε πρωτοβάθμια εκπαίδευση (≤ 6 έτη – Δημοτικό Σχολείο), υποχρεωτική εκπαίδευση (≤ 9 έτη – Γυμνάσιο), δευτεροβάθμια εκπαίδευση (≤ 12 έτη – Λύκειο), ανώτερη εκπαίδευση (≤ 15 έτη – Επαγγελματικές σχολές/ΙΕΚ), ανώτατη εκπαίδευση (≤16 έτη – ΑΕΙ/ΤΕΙ), μεταπτυχιακές σπουδές (≥17 έτη – Μεταπτυχιακό/Διδακτορικό). Η οικονομική κατάσταση στη συνέχεια ταξινομήθηκε στα εξής επίπεδα ετήσιου εισοδήματος: < 8.000 €, 8.000–15.000 €, 15.000–25.000 € και > 25.000 €.

2.2. Χαρακτηριστικά Τρόπου Ζωής

Σε αυτήν την ενότητα ερωτήσεων, ερωτήθηκε το κατά πόσο ο εθελοντής καπνίζει ή κάπνιζε στο παρελθόν, καθημερινά ή περιστασιακά. Στην περίπτωση που κάπνιζε ερωτούνταν η ηλικία έναρξης (και η ηλικία που το διέκοψε στη περίπτωση που ήταν πρώην καπνιστής), τα χρόνια καπνίσματος, το είδος τους τσιγάρου και η ποσότητα σε ημερήσια βάση, καθώς και αν ήταν παθητικός καπνιστής. Αξιοποιώντας τις απαντήσεις για τα συνολικά χρόνια καπνίσματος και τον αριθμό τσιγάρων ανά ημέρα υπολογίστηκε η μεταβλητή Pack-Years που αφορά τους καπνιστές και ορίζεται ως 20 τσιγάρα ανά ημέρα για ένα έτος.

Η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε από ένα έγκυρο και ορθά μελετημένο ερωτηματολόγιο, το HPAQ (Harokopio Physical Activity Questionnaire). Το ερωτηματολόγιο αυτό διαθέτει 3 ενότητες: τη φυσική δραστηριότητα στην εργασία, στο σπίτι και την ψυχαγωγία και αναφέρεται σε δραστηριότητες που αφορούν ακριβώς την εβδομάδα που προηγήθηκε της

αξιολόγησης. Βάσει του ανωτέρω ερωτηματολογίου υπολογίστηκε ο δείκτης φυσικής δραστηριότητας PAL.

2.3. Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά

Οι ερωτήσεις που αφορούσαν τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ζητούσαν τις εξής πληροφορίες: πλήρες ιστορικό βάρους, το σύνηθες βάρος, το ύψος, το σωματικό βάρος γέννησης, η διάρκεια κύησης, οι μήνες θηλασμού, το επικρατές χέρι, το χρώμα και το σχήμα των μαλλιών, το χρώμα των ματιών και τέλος ο τύπος και η ηλικία έναρξης της ανδρογενετικής αλωπεκίας. Από την άλλη μεριά, η ανθρωπομέτρηση των εθελοντών από τους ερευνητές περιλάμβανε την εκτίμηση της περιμέτρου μέσης και αυτής των ισχίων, τη ζύγιση και την ανάλυση της σύστασης σώματος μέσω βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA).

Για την εκτίμηση της περιμέτρου μέσης ο εξεταζόμενος στεκόταν σε όρθια θέση και του ζητούνταν να απαλλαγεί από τον ρουχισμό στην περιοχή της κοιλιάς. Τα χέρια του βρίσκονταν χαλαρά στο πλάι, ενώ τα πόδια του βρίσκονταν σε ευθεία θέση και ενωμένα. Η μέτρηση γινόταν με τη χρήση μη εκτατής ταινίας (seca) στην πιο στενή περιοχή της μέσης. Στην περίπτωση παχυσάρκων ή αυξημένης συσσώρευσης λίπους στην κοιλιά η μέτρηση πραγματοποιούταν κατά προσέγγιση στην περιοχή του αφαλού εξασφαλίζοντας την σωστή τοποθέτηση της μεζούρας. Ζητούταν από τον εξεταζόμενο να εκπνεύσει ελαφρά καθώς γινόταν η μέτρηση και καταγραφόταν η τιμή με ακρίβεια ± 0,1 cm.

Ακριβώς μετά τη μέτρηση της WC και ενώ ο εξεταζόμενος βρισκόταν στην ίδια θέση, ο εξεταστής τοποθετημένος στο πλάι με τη χρήση μη εκτατής ταινίας (seca) με ακρίβεια ± 0,1 cm μετρούσε την περιφέρεια στο ύψος όπου παρατηρείται η μέγιστη περιφέρεια των γλουτών ελέγχοντας ότι είναι τοποθετημένη παράλληλα με το δάπεδο. Από τις παραπάνω μετρήσεις υπολογιζόταν ο λόγος WHR. Ως παθολογική WC ορίστηκε η WC > 88 cm ή > 102 cm για γυναίκες και άντρες αντίστοιχα, ενώ ως παθολογικός WHR ορίστηκε ο WHR ≥ 0,85 ή ≥ 0,90 για γυναίκες και άντρες αντίστοιχα *(WHO, 8-11 December 2008)*.

Η ανάλυση της σύστασης σώματος και η ζύγιση πραγματοποιήθηκε με συσκευή TANITA BODY COMPOSITION ANALYZER BC-418. Ο εξεταζόμενος απομάκρυνε οποιοδήποτε μεταλλικό αντικείμενο ερχόταν σε επαφή με το σώμα του, αφαιρούσε τα παπούτσια του και τις κάλτσες του, βαριά αντικείμενα από τις τσέπες του και τον βαρύ ρουχισμό. Ο εξεταστής ρύθμιζε τη συσκευή έτσι ώστε να αφαιρεί 1 Kg για το ρουχισμό του εξεταζόμενου, εισήγαγε το φύλο, την ηλικία και το ύψος του και τέλος επέλεγε το είδος του σωματότυπού του – standard ή

athletic. Έπειτα τοποθετούταν ο εξεταζόμενος στη συσκευή πατώντας στις μεταλλικές επιφάνειες με γυμνό πόδι και κρατούσε με τα χέρια τις χειρολαβές σε απόσταση ~45° από τον κορμό του. Τα αποτελέσματα που εξάγει ο αναλυτής εκτιμούν το ποσοστό του σωματικού λίπους, το συνολικό νερό, την λιπώδη, την άλιπη και τη μυϊκή μάζα· τόσο συνολικά όσο και τμηματικά στα μέρη του σώματος. Επιπλέον μετρά το βάρος και υπολογίζει το ΔΜΣ.

Η TANITA BODY COMPOSITION ANALYZER BC-418 είναι ένας αναλυτής σύστασης σώματος που η αρχή της μεθόδου του στηρίζεται σε δεδομένα DXA μέσω BIA. Η BIA εκτιμά αυτές τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν μετρώντας την αντίσταση του σώματος. Το λίπος δεν είναι διαπερατό στον ηλεκτρισμό σε αντίθεση με το νερό, το περισσότερο από το οποίο βρίσκεται στο μυϊκό ιστό. Ο βαθμός δυσκολίας με τον οποίο ο ηλεκτρισμός διαπερνά μια ουσία είναι γνωστός ως ηλεκτρική αντίσταση και το ποσοστό λίπους, όπως και άλλοι παράμετροι μπορούν να εκτιμηθούν μετρώντας τα επίπεδα της. Μέσω της χρήσης 8 ηλεκτροδίων, ο αναλυτής κάνει δυνατή την εκτίμηση διαφορετικής σύστασης σώματος για τα άκρα και την περιοχή της κοιλιάς. Αποτελεί ένα απλό, γρήγορο και μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της σύστασης σώματος. Ωστόσο, η αντίσταση του σώματος μπορεί να ποικίλει λόγω αλλαγών στην ποσότητα και την κατανομή του σωματικού νερού (60% του σωματικού βάρους) και αλλαγών στην θερμοκρασία του, ενώ είναι δυνατό να εμφανίζει μεταβολές και μέσα στην ημέρα. Στην παρούσα μελέτη, για να μειωθεί το σφάλμα που προκύπτει από αυτή την διακύμανση, η μέτρηση πραγματοποιήθηκε:

- 3 τουλάχιστον ώρες μετά την αφύπνιση (το άτομο απέφευγε οποιαδήποτε έντονη σωματική δραστηριότητα έως τη μέτρηση)
- 3 τουλάχιστον ώρες μετά το τελευταίο γεύμα
- 12 τουλάχιστον ώρες μετά από έντονη σωματική δραστηριότητα
- Μετά από διούρηση

2.4. Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό

Κατά τη λήψη του ατομικού ιατρικού ιστορικού οι εθελοντές ερωτούνταν εάν έχουν διαγνωσθεί είτε στο παρελθόν είτε στην περίοδο της εθελοντικής συμμετοχής τους στη μελέτη, με κάποιες ιατρικές παθήσεις. Ενδεικτικά αναφέρονται ο σακχαρώδης διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, οι νεοπλασίες, η κατάθλιψη, η ηπατίτιδα, οι πολυκυστικές ωοθήκες, η νόσος Wilson κ.α. Επιπλέον καταγράφηκαν η φαρμακευτική αγωγή, οι χειρουργικές επεμβάσεις, η

ομάδα αίματος, οι πόνοι σε ισχία, γόνατα και πλάτη, τα κατάγματα μετά την ηλικία των 16 ετών και για τις γυναίκες ο αριθμός των κυήσεων, των τέκνων και οι μήνες θηλασμού αυτών.

Κατά τη λήψη του οικογενειακού ιατρικού ιστορικού οι εθελοντές ερωτούνταν εάν με τις ίδιες ιατρικές παθήσεις έχουν διαγνωσθεί οι γονείς τους και τα αδέρφια τους. Σε περίπτωση που οι γονείς ή οι γονείς των γονέων τους δεν ήταν εν ζωή ζητούταν η ηλικία και η αιτία θανάτου τους.

2.5. Κλινικά Χαρακτηριστικά

Υπερηχογράφημα Ήπατος-Χοληφόρων

Πραγματοποιούνταν υπερηχογράφημα άνω κοιλίας από ιατρό Ακτινολόγο, με χρήση του συστήματος υπερήχων SonoAce X8 Ultrasound System (Samsung Medison) και γινόταν κλινική εκτίμηση για λιπώδη διήθηση ήπατος, χολολιθίαση και debris. Να σημειωθεί ότι ο εθελοντής καλούταν να έχει τελέσει νηστεία 10–12 ωρών και να μην είχε καταναλώσει αλκοόλ το προηγούμενο 24ωρο.

Αρτηριακή Πίεση και Καρδιακή Συχνότητα

Εκτίμηση της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής συχνότητας του εκάστοτε εθελοντή πραγματοποιούταν χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό πιεσόμετρο μπράτσου. Για την τοποθέτηση του πιεσόμετρου στο χέρι αφαιρούταν ο ρουχισμός και το χέρι στηριζόταν σε οριζόντια επιφάνεια στο ύψος της καρδιάς. Λαμβάνονταν τρεις μετρήσεις και την τελική τιμή αποτελούσε ο μέσος όρος των δύο τελευταίων μετρήσεων. Πριν τις διαδοχικές μετρήσεις ο εξεταζόμενος παρέμενε σε κατάσταση ηρεμίας για 5 min και κάθε μέτρηση απείχε από την επόμενη 1 min.

Αιμοληψία και Απομόνωση Βιολογικού Υλικού

Σε όλους τους συμμετέχοντες πραγματοποιούταν πρωινή αιμοληψία συνολικού όγκου 20cc από ιατρό Παθολόγο, μετά από 12ωρη νηστεία και ζητούταν να μη γίνει λήψη της φαρμακευτικής αγωγής – εφόσον λάμβαναν – πριν από την αιμοληψία. Ζητούταν από τον εθελοντή να καθίσει σε αναπαυτική καρέκλα, αφαιρούταν ο ρουχισμός από το χέρι και εφαρμοζόταν το λάστιχο περίδεσης 7–8 cm πάνω από την περιοχή που αναμενόταν να

φλεβοκεντηθεί. Μετά την εφαρμογή του υπήρχε η δυνατότητα ψηλάφησης του κερκιδικού σφυγμού. Ζητούταν από τον εθελοντή να ανοιγοκλείσει την παλάμη του και στη συνέχεια να παραμείνει με την παλάμη σε γροθιά. Επιλεγόταν από τον εξεταστή η κατάλληλη φλέβα και με τη χρήση πεταλούδας γινόταν λήψη της απαραίτητης ποσότητας αίματος. Το αίμα μεταφερόταν σε σωληνάρια αιμοληψίας με EDTA και κιτρικό νάτριο ως αντιπηκτικό και σε σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό.

Ακολουθούσε η φυγοκέντρηση των σωληναρίων στις 3000 rpm, για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 4˚C, με τη φυγόκεντρο Hettich Universal 32R (DJB Labcare). Η απομόνωση του ορού γινόταν από τα φυγοκεντρημένα σωληνάρια χωρίς το αντιπηκτικό και αφού ήταν πλέον ευδιάκριτος ο διαχωρισμός του όρου από τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος, ο όρος απομακρυνόταν με τη χρήση πιπέτας Pasteur και μοιραζόταν στα eppendorfs.

Μετά τη φυγοκέντρηση των σωληναρίων τα οποία περιείχαν αντιπηκτικό EDTA παρατηρούταν διαχωρισμός των συστατικών του αίματος στις εξής φάσεις: στο κάτω μέρος καταβυθίζονταν τα ερυθροκύτταρα, ακολουθούσε η πολύ λεπτή στιβάδα των λευκοκυττάρων (Buffy Coat) και τέλος στο πάνω μέρος βρισκόταν το πλάσμα με τα αιωρούμενα αιμοπετάλια. Χρησιμοποιώντας πιπέτες Pasteur απομακρυνόταν αρχικά το πλάσμα και μοιραζόταν σε eppendorfs και στη συνέχεια η στιβάδα των λευκοκυττάρων που μεταφερόταν σε 2 eppendorfs.

Ένα μέρος των δειγμάτων αίματος που συλλέχτηκαν ακολούθησε πορεία βιοχημικής και αιματολογικής ανάλυσης και ένα άλλο αποθηκεύτηκε σε βαθειά κατάψυξη (-80) για μελλοντικούς σκοπούς.

Βιοχημική και Αιματολογική Ανάλυση

Η ανάλυση της γενικής εξέτασης αίματος και ο προσδιορισμός των επιπέδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) πραγματοποιούνταν στα εργαστήρια του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών. Οι βιοχημικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν από δείγμα ορού σε συνεργασία με εξωτερικό ιατρικό εργαστήριο και προσδιορίστηκαν ο σίδηρος (Fe), η φερριτίνη (Fer), η γλυκόζη νηστείας (Glu), η ολική χοληστερόλη (TC), οι λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL-C), οι τριακυλογλυκερόλες (TG), η οξαλοξική τρανσαμινάση (SGOT), η πυροσταφυλική τρανσαμινάση (SGPT), η αλκαλική φωσφατάση (ALP), η γ-γλουταμυλοτρανσφεράση (γ-GT), η κρεατινίνη, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), η ολική χολερυθρίνη, η άμεση χολερυθρίνη, η αλβουμίνη (Alb), τα λευκώματα ορού και η ινσουλίνη ορού (Ins).

Τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τον τύπο Friedewald *(Friedewald et al., 1972)*. Ο δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη (HOMA-IR) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο των *Matthews* και *συν. (Matthews et al., 1985)*. Η παρουσία μεταβολικού συνδρόμου ορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια που δημοσιεύτηκαν από τους *Alberti* και *συν. (Alberti et al., 2005)*. Επιπλέον εκτιμήθηκαν οι δείκτες Nafld fibrosis score (NFS) – χρησιμοποιώντας τον τύπο **(1)** των Angulo και συν. *(Angulo et al., 2007)* και Fibrosis-4 (FIB-4) – σύμφωνα με τον τύπο **(2)** που ανέπτυξαν οι Richard και συν. *(Sterling et al., 2006)*.

NFS = (-1,675 + 0,037 x age (yr) + 0,094 x BMI (kg/m^2) + 1,13 x IFG/diabetes (ναι = 1, όχι = 0) + 0,99 x AST/ALT ratio – 0,013 x platelet count (x 10^9/L) – 0,66 x albumin (g/dl) **(1)**

FIB-4 = age (yr) x AST Level (U/L) / Platelet Count (10^9/L) x $\sqrt{ALT}$ (U/L) **(2)**

2.6. Διατροφικές Συνήθειες

Οι εθελοντές ερωτούνταν πόσο συχνά παράγγελναν ή έτρωγαν γεύματα εκτός σπιτιού, πόσο συχνά έτρωγαν πρωινό, πόσα γεύματα κατανάλωναν μέσα στην ημέρα συμπεριλαμβανομένων των σνακ, πόσα κυρίως γεύματα είχαν μέσα στην ημέρα και τέλος εάν κατανάλωναν βιολογικά προϊόντα σόγιας.

Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών των εθελοντών για το προηγούμενο έτος αξιολογούνταν επιπλέον μέσω ενός εκτενούς FFQ. Συγκεκριμένα το ερωτηματολόγιο περιείχε ερωτήσεις για 172 τρόφιμα (FFQ 172 Food Items) από όλες τις ομάδες τροφίμων: γαλακτοκομικά προϊόντα, ακατέργαστα δημητριακά και παράγωγα τους, κατεργασμένα δημητριακά και παράγωγά τους, λαχανικά, φρούτα, ξηροί καρποί, ψάρια, πουλερικά, όσπρια, αυγά, κόκκινο κρέας και παράγωγά του, γλυκά, λίπη, junk food, αναψυκτικά, αλκοόλ και ροφήματα. Ο εθελοντής μέσω συνέντευξης από Διαιτολόγο-Διατροφολόγο καλούνταν να προσδιορίσει τη συχνότητα και την ποσότητα κατανάλωσης για κάθε τρόφιμο, συγκρίνοντας τις καταναλισκόμενες ποσότητες με τις προτεινόμενες, οι οποίες εμφανίζονταν είτε ως εικόνες μερίδων είτε ως ποσότητες εκφρασμένες στα ισοδύναμα του τροφίμου ή σε κοινώς κατανοητές μονάδες μέτρησης (π.χ. 1 κλαμπ σάντουιτς). Η συχνότητα της κατανάλωσης των παραπάνω τροφίμων ποσοτικοποιήθηκε προσεγγιστικά σε όρους ημερήσιας κατανάλωσης και υπολογίστηκαν η πρόσληψη ενέργειας του κάθε εθελοντή ημερησίως σε θερμίδες, καθώς και η κατανάλωση διάφορων ομάδων τροφίμων σε μερίδες ανά ημέρα.

2.7. Γενετική Ανάλυση

Η γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο πρώτο μέρος της μελέτης και περιλάμβανε τρία στάδια: την απομόνωση των λευκών αιμοσφαιρίων από δείγματα αίματος, την απομόνωση γενετικού υλικού από τα λευκά αιμοσφαίρια και τέλος την ανάλυση του γονιδιώματος.

Απομόνωση Γενετικού Υλικού

Το γενετικό υλικό των ατόμων της μελέτης απομονώθηκε από λευκά αιμοσφαίρια περιφερικού αίματος στο αυτοματοποιημένο σύστημα έκλουσης iPrep™ Purification Instrument (Life Technologies), με χρήση του πακέτου iPrep™ PureLink® gDNA Blood Kit (Life Technologies).

Η χρήση του πακέτου iPrep™ PureLink® gDNA Blood Kit επιτρέπει την γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση γενωμικού DNA (gDNA) από buffy coat. Η απομόνωση του gDNA γίνεται με χρήση των μαγνητικών μικροσφαιριδίων Dynabeads MyOne™ SILANE, στο σύστημα iPrep™ Purification Instrument, και το gDNA που εκλούεται είναι κατάλληλο για εφαρμογές όπως η PCR, η γονοτύπηση και η ανάλυση του γονιδιώματος. Το αυτοματοποιημένο σύστημα iPrep™ Purification Instrument είναι ένα ρομποτικό σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων. Χάρη στην ενσωματωμένη σύριγγα και την ενσωματωμένη μαγνητική μονάδα του, παρέχει την δυνατότητα εκχύλισης 13 δειγμάτων ταυτόχρονα, βάσει της τεχνολογίας μαγνητικών μικροσφαιριδίων. Η τεχνολογία των μαγνητικών μικροσφαιριδίων παρέχει μια επιφάνεια εναλλασσόμενου φορτίου που εξαρτάται από το pH του περιβάλλοντος του διαλύματος και διευκολύνει τον διαχωρισμό του DNA. Σε συνθήκες χαμηλού pH, τα σφαιρίδια έχουν θετικό φορτίο και έτσι προσδένονται στο αρνητικά φορτισμένο DNA. Οι πρωτεΐνες και τα κυτταρικά υπολείμματα δε προσδένονται και δε ξεπλένονται με τα υδατικά διαλύματα έκπλυσης. Προκειμένου να ληφθεί το DNA, το φορτίο στην επιφάνεια των σφαιριδίων εξουδετερώνεται αυξάνοντας το pH στο 8,5 με την χρήση ενός διαλύματος έκπλυσης χαμηλής αλατότητας. Τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOne™ SILANE είναι μαγνητικά σφαιρίδια διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) – διαμέτρου 1μm – στην επιφάνεια των οποίων προσροφάται το DNA. Η χρήση της τεχνολογίας των μικροσφαιριδίων για την έκλουση του gDNA έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή μεθόδων όπως η φυγοκέντρηση ή η χρήση αντλίας κενού.

Το πρωτόκολλο της μεθόδου είναι καταγεγραμμένο στην κάρτα iPrep™Card:gDNA blood που αναγνωρίζεται από το αυτοματοποιημένο σύστημα και κωδικοποιεί παραμέτρους της μεθόδου όπως ο όγκος των αντιδραστηρίων, τα βήματα ανάμειξής τους και οι χρόνοι επώασης.

Ποσοτικός Προσδιορισμός και Έλεγχος Καθαρότητας

Ο ποσοτικός προσδιορισμός και ο έλεγχος της καθαρότητας του gDNA που απομονώθηκε, διενεργήθηκε με τη χρήση του φασματοφωτομέτρου P330 NanoPhotometer® P-Class (IMPLEN), βάσει της ιδιότητάς του να απορροφά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm. Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) διαλύματος DNA σε νερό σε μήκη κύματος 260 και 280 nm. Ο λόγος OD260/OD280 χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της καθαρότητας του DNA και της επιμόλυνσης του από πρωτεΐνες, εφόσον αυτές απορροφούν στα 280 nm. Τιμές μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA. Ο λόγος OD260/OD280 χρησιμοποιείται σαν δεύτερη μέτρηση ένδειξης καθαρότητας νουκλεϊκών οξέων με επιθυμητές τιμές 2–2,2. Μικρότερες τιμές υποδεικνύουν παρουσία μορίων που απορροφούν στα 230 nm, όπως EDTA και φαινόλες.

Ενίσχυση Σήματος και Διάκριση Αλληλομόρφων

Η γονοτύπηση είναι το τελευταίο πειραματικό στάδιο για τον προσδιορισμό του γονοτύπου άγνωστων δειγμάτων. Το καθαρό απομονωμένο γενετικό υλικό προορίζεται για σάρωση του γονιδιώματος με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real-Time PCR). Η Real-Time PCR αποτελεί παραλλαγή της κλασικής PCR, με τη διαφορά ότι η παρακολούθηση της αύξησης των προϊόντων της PCR κατά την διάρκεια της αντίδρασης γίνεται σε οθόνη υπολογιστή. Υπάρχει επίσης η δυνατότητα να σημανθούν τα προϊόντα της PCR με φθορίζουσα ουσία, προσαρμοσμένη για την αλληλουχία-στόχο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κατά τη σύνδεση του ανιχνευτή ή εκκινητή με την αλληλουχία-στόχο, να αποσυνδέεται ο αδρανοποιητής από τη φθορίζουσα ουσία και να εκπέμπεται σήμα. Η γονοτυπική ταυτοποίηση έγινε με την χρήση του μηχανήματος StepOnePlus™, με την βοήθεια της ανάλυσης TaqMan® SNP Genotyping. Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη συλλογή αντιστοιχισμένων εκκινητών και ανιχνευτών, που οδηγούν στον προσδιορισμό μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP) σε ανθρώπινα δείγματα DNA. Χρησιμοποιείται ειδικό αντιδραστήριο για την ενίσχυση και ανίχνευση συγκεκριμένων SNP σε καθαρισμένα δείγματα γονιδιωματικού DNA. Αφού έχει γίνει η αραίωση όπως περιγράφηκε παραπάνω, προστίθενται 4,5μl gDNA σε κάθε well. Επίσης, σε κάθε plate προστίθενται 2 αρνητικοί δείκτες (με νερό) και 2 θετικοί δείκτες με DNA από γνωστό δείγμα. Στη συνέχεια, προστίθενται 5,5 μl reaction mix (αποτελούμενο από 5μl Master mix και 0,5μl Genotyping Assay) σε κάθε well. Το plate καλύπτεται με ειδικό πλαστικό κάλυμμα, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και εισάγεται στο StepOnePlus™.

3. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΥ

Οι ερωτήσεις που δέχθηκαν οι εθελοντές κατά τον επανέλεγχο ήταν ακριβώς οι ίδιες με αυτές που ερωτήθηκαν και στο πρώτο μέρος της μελέτης, εφόσον ο στόχος ήταν να καταγραφούν και να αξιολογηθούν οι αλλαγές στην υγεία τους. Εντούτοις, έγιναν και κάποιες επιπλέον ερωτήσεις με στόχο τον εμπλουτισμό των πληροφοριών για τον τρόπο ζωής τους και την κατάσταση της υγείας τους. Οι ερωτήσεις αυτές αναφέρονται στην μεθοδολογία αλλά δεν αναλύθηκαν στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

Το πρωτόκολλο των μετρήσεων σε μεγάλο βαθμό διατηρήθηκε σταθερό. Οι διαφορές του έγκεινται στις βιοχημικές αναλύσεις, οι οποίες στον επανέλεγχο δίνονταν σε εξωτερικό ιατρικό εργαστήριο αναλύσεων και στο υπερηχογράφημα άνω κοιλίας που πραγματοποιήθηκε ως επί το πλείστον από μια συσκευή νεότερης τεχνολογίας.

Ηλεκτρονική Καταχώρηση Δεδομένων

Σε συνεργασία με τον απόφοιτο του μεταπτυχιακού προγράμματος του τμήματος Τηλεματικής και Πληροφορικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Κωνσταντίνο Παπαγιαννόπουλο, δημιουργήθηκε μια ηλεκτρονική πλατφόρμα καταχώρησης των ερωτηματολογίων η οποία έχει χαρακτηριστικά διαδικτυακής εφαρμογής. Οι ενότητες των ερωτηματολογίων που περιέχει είναι τρεις. Η πρώτη αποτελείται από τις ερωτήσεις που γίνονται κατά την τηλεφωνική επικοινωνία, η δεύτερη αποτελεί συγκερασμό του ερωτηματολογίου της μελέτης HELIC και της μελέτης NAFLD και συμπεριλαμβάνει τα αποτελέσματα των εξετάσεων αίματος, της ανάλυσης σύστασης σώματος, καθώς και του υπερηχογραφήματος, ενώ η τρίτη είναι το FFQ 172 Food Items, μαζί με εικόνες για τον προσδιορισμό της μερίδας.

Τα πλεονεκτήματα που παρέχει η πλατφόρμα στον ερευνητή είναι το φιλικό προς το χρήστη περιβάλλον της, η καταγραφή και η διατήρηση των δεδομένων, η εξαγωγή τους σε μορφή αρχείου ικανού για στατιστική επεξεργασία, ο απευθείας υπολογισμός ορισμένων δεικτών – όπως ο δείκτης φυσικής δραστηριότητας – και η παρουσίαση υπό μορφή γραφημάτων των απαντήσεων των ερωτήσεων κλειστού τύπου. Παρόλα αυτά, η πρόσβαση στην πλατφόρμα μπορεί να γίνει μόνο online μέσω vpn του Χαροκοπείου Πανεπιστήμιου, κάτι το οποίο δυσχεραίνει την παράκαμψη της έντυπης καταχώρησης. Για τις ανάγκες της παρούσας ερευνητικής εργασίας καταχωρήθηκαν όλα τα δεδομένα του πρώτου και του δεύτερου μέρους της μελέτης ώστε να γίνει η εξαγωγή των αρχείων για την στατιστική επεξεργασία.

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

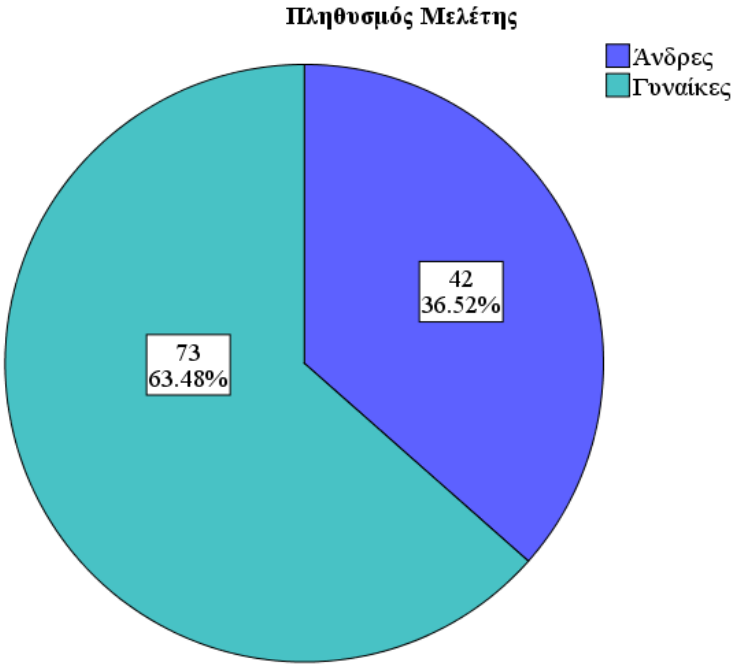
Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων διενεργήθηκε με τη χρήση του προγράμματος IBM SPSS Statistics 23.0 for Windows (International Business Machines Corporation, Armonk, New York, United States).

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις, ενώ οι κατηγορικές ως απόλυτες τιμές και ποσοστά. Η κανονικότητα της κατανομής των συνεχών μεταβλητών κρίθηκε από τον έλεγχο Kolmogorov-Smirnov. Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο X^2 του Pearson, ενώ μεταξύ δύο συνεχών μεταβλητών ή μίας κατηγορικής και μίας συνεχούς μεταβλητής χρησιμοποιήθηκαν οι έλεγχοι T-test για δύο εξαρτημένα δείγματα, Wilcoxon για δύο εξαρτημένα δείγματα, T-test για δύο ανεξάρτητα δείγματα, καθώς και ο έλεγχος Mann-Whitney U.

Περαιτέρω έλεγχος των συσχετίσεων διεξήχθη με τη δημιουργία μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, τα οποία συμπεριλάμβαναν ενδεχομένως συγχυτικούς παράγοντες. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των παλινδρομήσεων παρουσιάζονται οι τυποποιημένοι συντελεστές β (beta). Οι συχνότητες των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs9939609 του γονιδίου FTO στο δείγμα, συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες συχνότητες σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg, με τη βοήθεια του κριτηρίου X^2 του Pearson. Τέλος, η στατιστική σημαντικότητα σε όλους τους ελέγχους εκτιμήθηκε σε επίπεδο $\alpha = 0,05$ (ή 5%).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην προοπτική αυτή μελέτη συμμετείχαν 115 εθελοντές εκ των οποίων 73 ήταν γυναίκες και 42 άνδρες, όπως φαίνεται στο σχήμα:



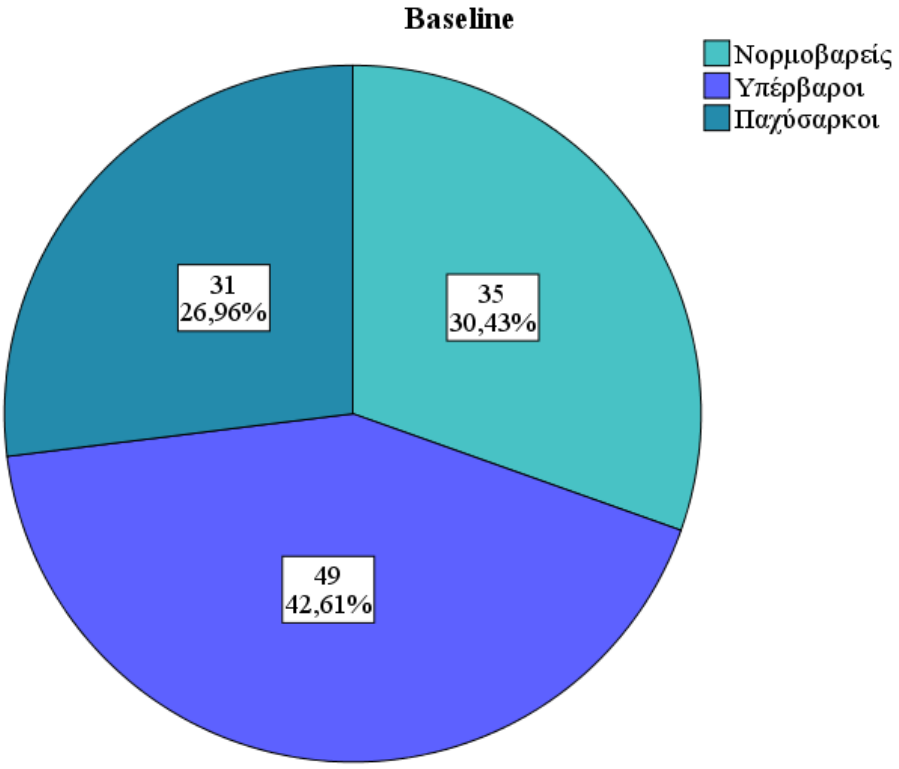
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα συνεχή περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών παχυσαρκίας, στη μελέτη ασθενών-μαρτύρων (Baseline) και την προοπτική μελέτη (Follow-up):

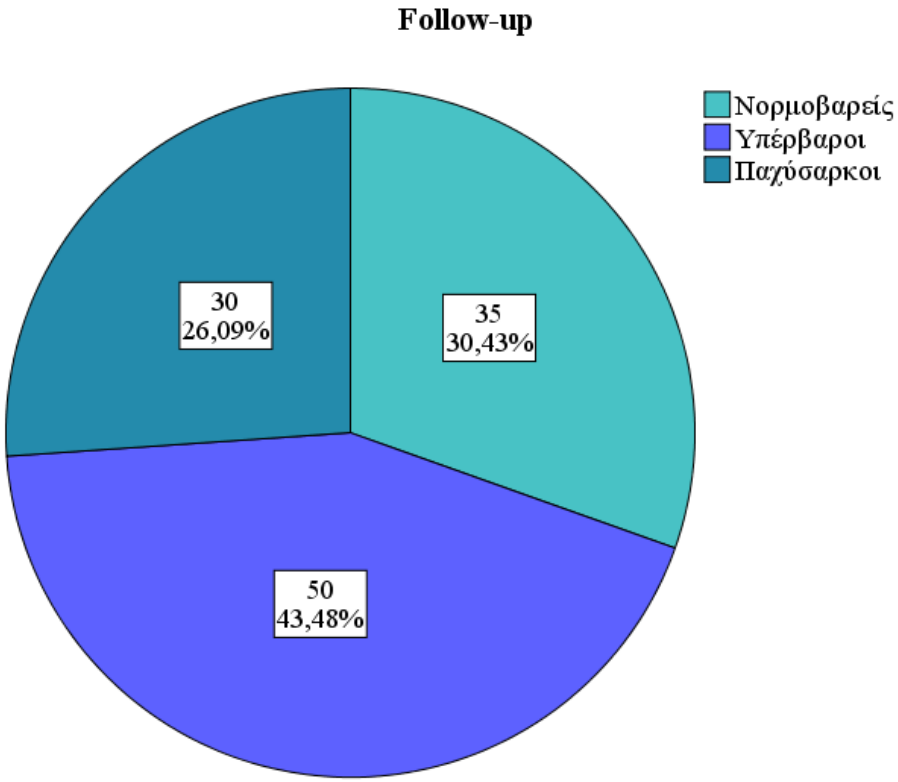
Πίνακας 1: Συνεχή Περιγραφικά Χαρακτηριστικά (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)

	Baseline	*Follow-up*	*p-value*
Ηλικία (έτη)	50,3 ± 10,5	53,9 ± 10,6	<0,001*
Βάρος (Kg)	78,7 ± 15,1	78,5 ± 15,5	0,755
Ύψος (m)	1,68 ± 0,09	1,68 ± 0,09	0,002*
BMI (Kg/m^2)	27,7 ± 4,8	27,8 ± 5	0,558*
WC (cm)	92,9 ± 13,8	93,6 ± 14,3	0,781
WHR	0,86 ± 0,09	0,88 ± 0,1	0,001
Σωματικό λίπος (%)	30,6 ± 8,8	32,4 ± 9	0,001
Κοιλιακό λίπος (%)	29,4 ± 7,9	31,1 ± 7,8	0,001

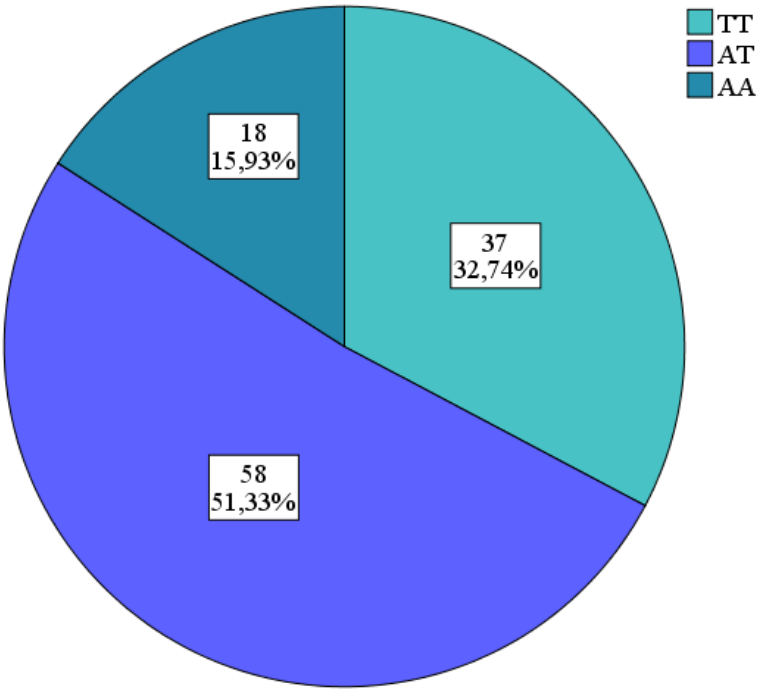
*Για τα μεγέθη αυτά πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος Wilcoxon για δύο εξαρτημένα δείγματα, καθώς δεν είχαν κανονική κατανομή, ενώ για τα υπόλοιπα πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος T-test για δύο εξαρτημένα δείγματα.

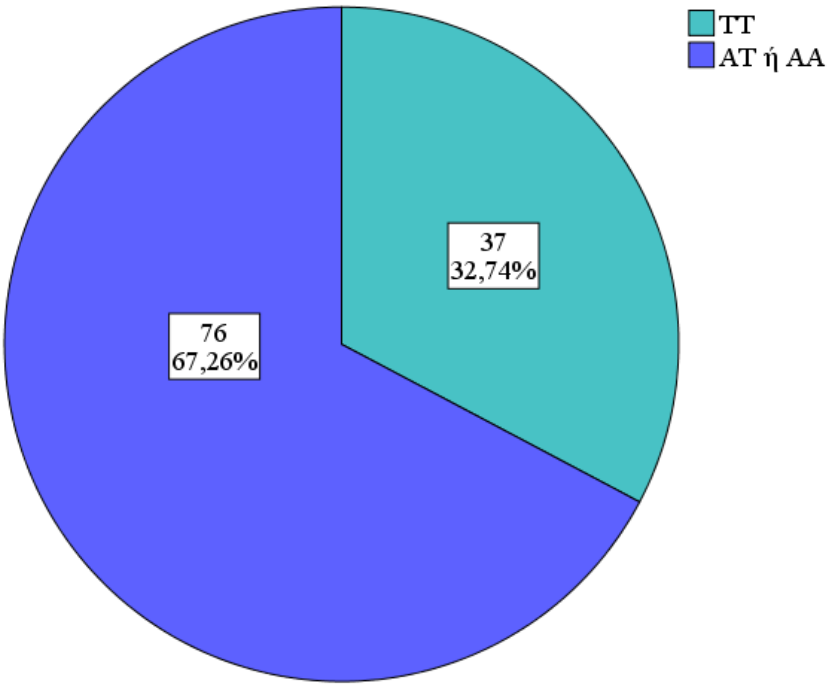
Όσον αφορά τους επιπολασμούς του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας στο δείγμα μας, αυτοί φαίνονται στα εξής σχήματα, στο Baseline και έπειτα στο Follow-up:



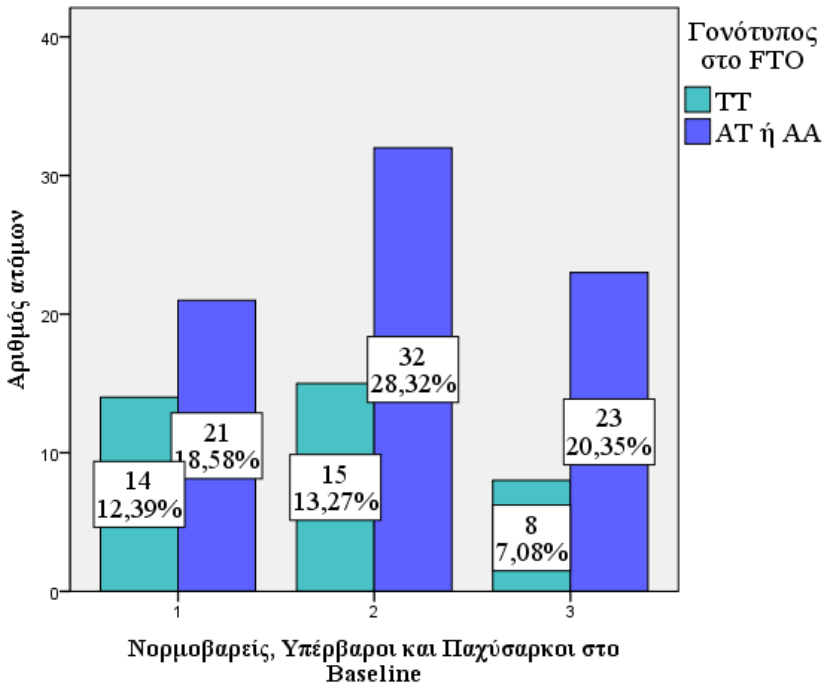


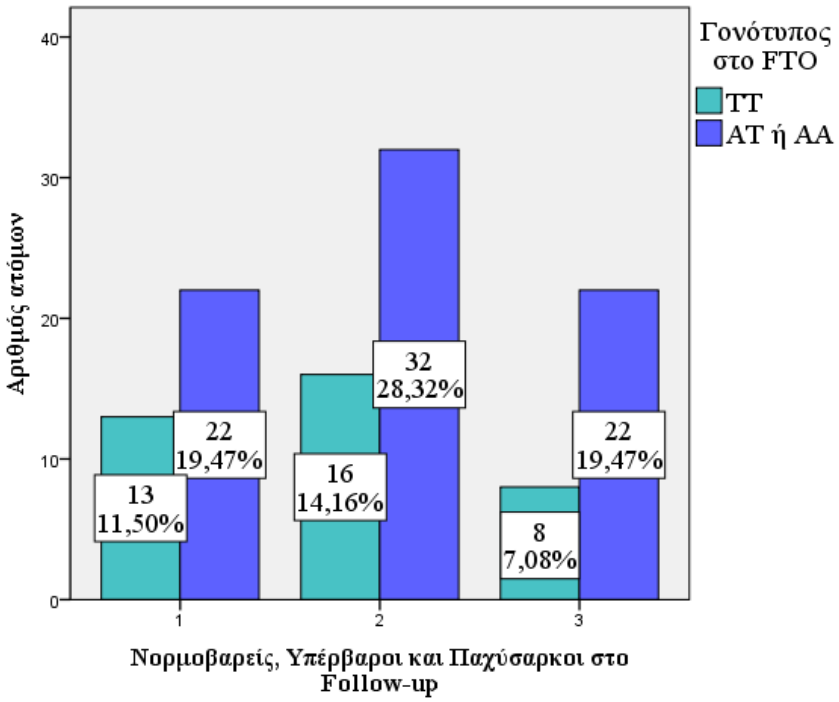
Στα δύο επόμενα σχήματα, φαίνονται οι πληθυσμοί των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη οι οποίοι είχαν στον πολυμορφισμό rs9939609 του FTO γονότυπο TT, AT και AA και εν συνεχεία ο πληθυσμός των ατόμων με γονότυπο είτε AT είτε AA και άρα ο επιπολασμός του αλληλομόρμου κινδύνου. Οι συχνότητες του αλληλομόρφου T (p = 0,58) και του αλληλομόρφου κινδύνου A (q = 0,42), βρέθηκαν σε ισορροπία Hardy-Weinberg (X^2 = 0,36 < 3,84). Σε όλους τους μετέπειτα ελέγχους η μεταβλητή του FTO χρησιμοποιείται ως δίτιμη κατηγορική μεταβλητή.





Σύμφωνα με το κριτήριο X^2 του Pearson, οι τρεις ομάδες στις οποίες διαχωρίζεται το δείγμα βάσει του επιπέδου BMI (Νορμοβαρείς, Υπέρβαροι και Παχύσαρκοι) δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς το αν είχαν ή όχι το αλληλόμορφο κινδύνου, ούτε στο Baseline (p = 0,466) ούτε στο Follow-up (p = 0,664):





Κατά τον έλεγχο T-test για την ύπαρξη σχέσης μεταξύ του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO και των δεικτών παχυσαρκίας, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και του BMI στο Baseline αλλά και στο Follow-up. Επίσης βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και της περιμέτρου μέσης (WC) στο Follow-up αλλά όχι στο Baseline, ενώ δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και των υπόλοιπων δεικτών παχυσαρκίας (WHR, ποσοστό σωματικού λίπους και ποσοστό κοιλιακού λίπους), όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2: Συσχέτιση του FTO με τους δείκτες παχυσαρκίας με τον έλεγχο T-test

	Baseline			*Follow-up*		
	TT	*AT ή AA*	*p-value*	*TT*	*AT ή AA*	*p-value*
BMI (Kg/m^2)	**26,2 ± 4,1**	**28,5 ± 5**	**0,019**	**26,5 ± 4,4**	**28,5 ± 5,2**	**0,044**
WC (cm)	94,2 ± 9,8	92,2 ± 15,6	0,49	**89,5 ± 12,9**	**95,6 ± 14,8**	**0,037**
WHR	0,85 ± 0,09	0,85 ± 0,1	0,958	0,86 ± 0,1	0,89 ± 0,11	0,235
Σωματικό λίπος (%)	29,1 ± 7,9	31,6 ± 9,2	0,156	30,5 ± 8,1	33,6 ± 9,3	0,079
Κοιλιακό λίπος (%)	27,6 ± 7,1	30,4 ± 8,3	0,099	29,6 ± 7,3	32 ± 8,1	0,147

Μάλιστα διορθώνοντας για την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη (Kcal) και τη φυσική δραστηριότητα (PAL), μέσω πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και του BMI στο Baseline αλλά όχι στο Follow-up, καθώς και στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και της περιμέτρου μέσης (WC) στο Follow-up αλλά όχι στο Baseline:

Πίνακας 3: Συσχέτιση του FTO με τους δείκτες παχυσαρκίας με γραμμική παλινδρόμηση, λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη (Kcal) και τη φυσική δραστηριότητα (PAL)

	Baseline		*Follow-up*	
	Beta	*p-value*	*Beta*	*p-value*
BMI (Kg/m^2)	**0,201**	**0,036**	0,174	0,065
WC (cm)	-0,039	0,691	**0,195**	**0,027**
WHR	0,049	0,565	0,124	0,141
Σωματικό λίπος (%)	0,084	0,24	0,101	0,116
Κοιλιακό λίπος (%)	0,125	0,145	0,095	0,266

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά παρουσιάστηκαν τα δημογραφικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στη μελέτη στο Baseline και στο Follow-up, καθώς και ο γονότυπός τους στο γονίδιο FTO. Έπειτα παρουσιάστηκαν οι συσχετίσεις του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO με το επίπεδο BMI και με τους δείκτες παχυσαρκίας (BMI, WC, WHR, ποσοστό σωματικού λίπους και ποσοστό κοιλιακού λίπους).

Αναφορικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, η πλειοψηφία του πληθυσμού της μελέτης ήταν γυναίκες (63,48%), ενώ η μέση ηλικία των εθελοντών ήταν 50,3 ± 10,5 έτη στο Baseline και 53,9 ± 10,6 στο Follow-up και διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ Baseline και Follow-up. Το 69,57% των εθελοντών ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι και στο Baseline και στο Follow-up. Το βάρος, το BMI και η WC δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ Baseline και Follow-up, ενώ το WHR, το ποσοστό σωματικού λίπους και το ποσοστό κοιλιακού λίπους είχαν αυξηθεί στατιστικά σημαντικά στο Follow-up σε σχέση με το Baseline. Από τη γονοτύπηση προέκυψε ότι το 67,6% του δείγματος είχε τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO.

Από τους ελέγχους T-test για δύο ανεξάρτητα δείγματα βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές BMI στην ομάδα με γονότυπο AT ή AA σε σχέση με εκείνη με γονότυπο TT, κατά 2,3 Kg/m^2 στο Baseline ($p = 0,019$) και κατά 2 Kg/m^2 στο Follow-up ($p = 0,044$). Επίσης βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της WC στην ομάδα με γονότυπο AT ή AA στο Follow-up κατά 6,1 cm ($p = 0,037$) αλλά όχι στο Baseline ($p = 0,49$). Λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη (Kcal) και τη φυσική δραστηριότητα (PAL) μέσω των μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, επιβεβαιώθηκε η στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και του BMI στο Baseline ($p = 0,036$) αλλά όχι στο Follow-up ($p = 0,065$). Επίσης επιβεβαιώθηκε η στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού rs9939609 και της WC στο Follow-up ($p = 0,027$), ενώ δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του αλληλομόρφου κινδύνου και των υπόλοιπων δεικτών παχυσαρκίας.

Επιπλέον των παραπάνω διερευνήθηκε η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO και της πρόσληψης ενέργειας με τη χρήση του ελέγχου Mann-Whitney U αλλά δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα ούτε στο Baseline ούτε στο Follow-up. Όσον αφορά τη σχέση του πολυμορφισμού με τις ομάδες τροφίμων, για τις οποίες εκτιμήθηκαν οι μερίδες ανά ημέρα, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μόνο με την ομάδα των γαλακτοκομικών light (γάλα, γιαούρτι και τυρί με χαμηλά λιπαρά) και μόνο στο Follow-up. Πιο

συγκεκριμένα, για την ομάδα των εθελοντών με γονότυπο TT η μέση κατανάλωση γαλακτοκομικών light ήταν 0,5 ± 0,7 μερίδες ανά ημέρα, ενώ για την ομάδα με γονότυπο AT ή AA ήταν 0,7 ± 0,7 (p = 0,017).

Το γεγονός ότι δε βρέθηκαν παραπάνω στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα όσον αφορά τη συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 με τους δείκτες παχυσαρκίας αλλά και τις διατροφικές συνήθειες, ενδεχομένως να οφείλεται στους εξής περιορισμούς της μελέτης:

- Το μέγεθός του δείγματος ήταν σχετικά μικρό (n=115)
- Η αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος είναι αμφίβολη, εφόσον δεν πραγματοποιήθηκε διαστρωματοποίηση κατά τη δειγματοληψία
- Η διατροφική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του FFQ 172 Food Items, το οποίο δεν είναι αρκετά αξιόπιστο ώστε να επιτρέπει την εκτίμηση της πρόσληψης μακροθρεπτικών συστατικών, ενώ είναι πιθανή η υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση της κατανάλωσης των διαφόρων τροφίμων από τους εθελοντές, ιδίως στο Baseline, κατά το οποίο συμπλήρωναν το ερωτηματολόγιο χωρίς τη βοήθεια διαιτολόγου-διατροφολόγου.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα προοπτική μελέτη επαληθεύτηκε η αυξητική επίδραση του πολυμορφισμού rs9939609 του FTO στο BMI και τη WC, ακόμα και διορθώνοντας για την ηλικία, το φύλο, την ενεργειακή πρόσληψη (Kcal) και τη φυσική δραστηριότητα (PAL). Ωστόσο δεν επαληθεύτηκε η αλληλεπίδραση του πολυμορφισμού αυτού με άλλους δείκτες παχυσαρκίας και κεντρικής παχυσαρκίας, καθώς και με την ενεργειακή πρόσληψη, ούτε είναι δυνατή η διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων αναφορικά με την αλληλεπίδρασή του με τις διατροφικές συνήθειες, εξαιτίας του μικρού μεγέθους του δείγματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

WHO [Online]. Available: http://www.who.int/en/ [Accessed].

ALBERTI, K. G., ZIMMET, P., SHAW, J. & GROUP, I. E. T. F. C. 2005. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet,* 366**,** 1059-62.

ANGULO, P., HUI, J. M., MARCHESINI, G., BUGIANESI, E., GEORGE, J., FARRELL, G. C., ENDERS, F., SAKSENA, S., BURT, A. D., BIDA, J. P., LINDOR, K., SANDERSON, S. O., LENZI, M., ADAMS, L. A., KENCH, J., THERNEAU, T. M. & DAY, C. P. 2007. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology,* 45**,** 846-54.

BERGHOFER, A., PISCHON, T., REINHOLD, T., APOVIAN, C. M., SHARMA, A. M. & WILLICH, S. N. 2008. Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *BMC Public Health,* 8**,** 200.

CLASEY, J. L., BOUCHARD, C., TEATES, C. D., RIBLETT, J. E., THORNER, M. O., HARTMAN, M. L. & WELTMAN, A. 1999. The use of anthropometric and dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) measures to estimate total abdominal and abdominal visceral fat in men and women. *Obes Res,* 7**,** 256-64.

CORDAIN, L., EATON, S. B., SEBASTIAN, A., MANN, N., LINDEBERG, S., WATKINS, B. A., O'KEEFE, J. H. & BRAND-MILLER, J. 2005. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr,* 81**,** 341-54.

ELKS, C. E., DEN HOED, M., ZHAO, J. H., SHARP, S. J., WAREHAM, N. J., LOOS, R. J. & ONG, K. K. 2012. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. *Front Endocrinol (Lausanne),* 3**,** 29.

FAROOQI, I. S. & O'RAHILLY, S. 2007. Genetic factors in human obesity. *Obes Rev,* 8 Suppl 1**,** 37-40.

FLEGAL, K. M., KIT, B. K., ORPANA, H. & GRAUBARD, B. I. 2013. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA,* 309**,** 71-82.

FRAYLING, T. M., TIMPSON, N. J., WEEDON, M. N., ZEGGINI, E., FREATHY, R. M., LINDGREN, C. M., PERRY, J. R., ELLIOTT, K. S., LANGO, H., RAYNER, N. W., SHIELDS, B., HARRIES, L. W., BARRETT, J. C., ELLARD, S., GROVES, C. J., KNIGHT, B., PATCH, A. M., NESS, A. R., EBRAHIM, S., LAWLOR, D. A., RING, S. M., BEN-SHLOMO, Y., JARVELIN, M. R., SOVIO, U., BENNETT, A. J., MELZER, D., FERRUCCI, L., LOOS, R. J., BARROSO, I., WAREHAM, N. J., KARPE, F., OWEN, K. R., CARDON, L. R., WALKER, M., HITMAN, G. A., PALMER, C. N., DONEY, A. S., MORRIS, A. D., SMITH, G. D., HATTERSLEY, A. T. & MCCARTHY, M. I. 2007. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science,* 316**,** 889-94.

FRIEDEWALD, W. T., LEVY, R. I. & FREDRICKSON, D. S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem,* 18**,** 499-502.

GALLAGHER, D., HEYMSFIELD, S. B., HEO, M., JEBB, S. A., MURGATROYD, P. R. & SAKAMOTO, Y. 2000. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr,* 72**,** 694-701.

GOMEZ-AMBROSI, J., GONZALEZ-CRESPO, I., CATALAN, V., RODRIGUEZ, A., MONCADA, R., VALENTI, V., ROMERO, S., RAMIREZ, B., SILVA, C., GIL, M. J., SALVADOR, J., BENITO, A., COLINA, I. & FRUHBECK, G. 2017. Clinical usefulness of abdominal bioimpedance (ViScan) in the determination of visceral fat and its application in the diagnosis and management of obesity and its comorbidities. *Clin Nutr*.

GOUTZELAS, Y., KOTSA, K., VASILOPOULOS, Y., TSEKMEKIDOU, X., STAMATIS, C., YOVOS, J. G., SARAFIDOU, T. & MAMURIS, Z. 2017. Association analysis of FTO gene polymorphisms with obesity in Greek adults. *Gene,* 613**,** 10-13.

HUVENNE, H., DUBERN, B., CLEMENT, K. & POITOU, C. 2016. Rare Genetic Forms of Obesity: Clinical Approach and Current Treatments in 2016. *Obes Facts,* 9**,** 158-73.

JAMES, W. P. 2008. WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J Obes (Lond),* 32 Suppl 7**,** S120-6.

KAUR, J. 2014. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract,* 2014**,** 943162.

KILPELAINEN, T. O., QI, L., BRAGE, S., SHARP, S. J., SONESTEDT, E., DEMERATH, E., AHMAD, T., MORA, S., KAAKINEN, M., SANDHOLT, C. H., HOLZAPFEL, C., AUTENRIETH, C. S., HYPPONEN, E., CAUCHI, S., HE, M., KUTALIK, Z., KUMARI, M., STANCAKOVA, A., MEIDTNER, K., BALKAU, B., TAN, J. T., MANGINO, M., TIMPSON, N. J., SONG, Y., ZILLIKENS, M. C., JABLONSKI, K. A., GARCIA, M. E., JOHANSSON, S., BRAGG-GRESHAM, J. L., WU, Y., VAN VLIET-OSTAPTCHOUK, J. V., ONLAND-MORET, N. C., ZIMMERMANN, E., RIVERA, N. V., TANAKA, T., STRINGHAM, H. M., SILBERNAGEL, G., KANONI, S., FEITOSA, M. F., SNITKER, S., RUIZ, J. R., METTER, J., LARRAD, M. T., ATALAY, M., HAKANEN, M., AMIN, N., CAVALCANTI-PROENCA, C., GRONTVED, A., HALLMANS, G., JANSSON, J. O., KUUSISTO, J., KAHONEN, M., LUTSEY, P. L., NOLAN, J. J., PALLA, L., PEDERSEN, O., PERUSSE, L., RENSTROM, F., SCOTT, R. A., SHUNGIN, D., SOVIO, U., TAMMELIN, T. H., RONNEMAA, T., LAKKA, T. A., UUSITUPA, M., RIOS, M. S., FERRUCCI, L., BOUCHARD, C., MEIRHAEGHE, A., FU, M., WALKER, M., BORECKI, I. B., DEDOUSSIS, G. V., FRITSCHE, A., OHLSSON, C., BOEHNKE, M., BANDINELLI, S., VAN DUIJN, C. M., EBRAHIM, S., LAWLOR, D. A., GUDNASON, V., HARRIS, T. B., SORENSEN, T. I., MOHLKE, K. L., HOFMAN, A., UITTERLINDEN, A. G., TUOMILEHTO, J., LEHTIMAKI, T., RAITAKARI, O., ISOMAA, B., NJOLSTAD, P. R., FLOREZ, J. C., LIU, S., NESS, A., SPECTOR, T. D., TAI, E. S., FROGUEL, P., BOEING, H., LAAKSO, M., MARMOT, M., et al. 2011. Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children. *PLoS Med,* 8**,** e1001116.

KRAMER, C. K., ZINMAN, B. & RETNAKARAN, R. 2013. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions?: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med,* 159**,** 758-69.

LANCET 2016. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet,* 387**,** 1377-1396.

LI, H., KILPELAINEN, T. O., LIU, C., ZHU, J., LIU, Y., HU, C., YANG, Z., ZHANG, W., BAO, W., CHA, S., WU, Y., YANG, T., SEKINE, A., CHOI, B. Y., YAJNIK, C. S., ZHOU, D., TAKEUCHI, F., YAMAMOTO, K., CHAN, J. C., MANI, K. R., BEEN, L. F., IMAMURA, M., NAKASHIMA, E., LEE, N., FUJISAWA, T., KARASAWA, S., WEN, W., JOGLEKAR, C. V., LU, W., CHANG, Y., XIANG, Y., GAO, Y., LIU, S.,

SONG, Y., KWAK, S. H., SHIN, H. D., PARK, K. S., FALL, C. H., KIM, J. Y., SHAM, P. C., LAM, K. S., ZHENG, W., SHU, X., DENG, H., IKEGAMI, H., KRISHNAVENI, G. V., SANGHERA, D. K., CHUANG, L., LIU, L., HU, R., KIM, Y., DAIMON, M., HOTTA, K., JIA, W., KOONER, J. S., CHAMBERS, J. C., CHANDAK, G. R., MA, R. C., MAEDA, S., DORAJOO, R., YOKOTA, M., TAKAYANAGI, R., KATO, N., LIN, X. & LOOS, R. J. 2012. Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia,* 55**,** 981-95.

LOOS, R. J. & YEO, G. S. 2014. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol,* 10**,** 51-61.

LU, H., FU, X., MA, X., WU, Z., HE, W., WANG, Z., ALLISON, D. B., HEYMSFIELD, S. B. & ZHU, S. 2011. Relationships of percent body fat and percent trunk fat with bone mineral density among Chinese, black, and white subjects. *Osteoporos Int,* 22**,** 3029-35.

LU, Y. & LOOS, R. J. 2013. Obesity genomics: assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations. *Genome Med,* 5**,** 55.

MAES, H. H., NEALE, M. C. & EAVES, L. J. 1997. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet,* 27**,** 325-51.

MATTHEWS, D. R., HOSKER, J. P., RUDENSKI, A. S., NAYLOR, B. A., TREACHER, D. F. & TURNER, R. C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia,* 28**,** 412-9.

MONDA, K. L., CHEN, G. K., TAYLOR, K. C., PALMER, C., EDWARDS, T. L., LANGE, L. A., NG, M. C., ADEYEMO, A. A., ALLISON, M. A., BIELAK, L. F., CHEN, G., GRAFF, M., IRVIN, M. R., RHIE, S. K., LI, G., LIU, Y., LU, Y., NALLS, M. A., SUN, Y. V., WOJCZYNSKI, M. K., YANEK, L. R., ALDRICH, M. C., ADEMOLA, A., AMOS, C. I., BANDERA, E. V., BOCK, C. H., BRITTON, A., BROECKEL, U., CAI, Q., CAPORASO, N. E., CARLSON, C. S., CARPTEN, J., CASEY, G., CHEN, W. M., CHEN, F., CHEN, Y. D., CHIANG, C. W., COETZEE, G. A., DEMERATH, E., DEMING-HALVERSON, S. L., DRIVER, R. W., DUBBERT, P., FEITOSA, M. F., FENG, Y., FREEDMAN, B. I., GILLANDERS, E. M., GOTTESMAN, O., GUO, X., HARITUNIANS, T., HARRIS, T., HARRIS, C. C., HENNIS, A. J., HERNANDEZ, D. G., MCNEILL, L. H., HOWARD, T. D., HOWARD, B. V., HOWARD, V. J.,

JOHNSON, K. C., KANG, S. J., KEATING, B. J., KOLB, S., KULLER, L. H., KUTLAR, A., LANGEFELD, C. D., LETTRE, G., LOHMAN, K., LOTAY, V., LYON, H., MANSON, J. E., MAIXNER, W., MENG, Y. A., MONROE, K. R., MORHASON-BELLO, I., MURPHY, A. B., MYCHALECKYJ, J. C., NADUKURU, R., NATHANSON, K. L., NAYAK, U., N'DIAYE, A., NEMESURE, B., WU, S. Y., LESKE, M. C., NESLUND-DUDAS, C., NEUHOUSER, M., NYANTE, S., OCHS-BALCOM, H., OGUNNIYI, A., OGUNDIRAN, T. O., OJENGBEDE, O., OLOPADE, O. I., PALMER, J. R., RUIZ-NARVAEZ, E. A., PALMER, N. D., PRESS, M. F., RAMPERSAUD, E., RASMUSSEN-TORVIK, L. J., RODRIGUEZ-GIL, J. L., SALAKO, B., SCHADT, E. E., SCHWARTZ, A. G., et al. 2013. A meta-analysis identifies new loci associated with body mass index in individuals of African ancestry. *Nat Genet,* 45**,** 690-6.

OKOSUN, I. S., CHOI, S., DENT, M. M., JOBIN, T. & DEVER, G. E. 2001. Abdominal obesity defined as a larger than expected waist girth is associated with racial/ethnic differences in risk of hypertension. *J Hum Hypertens,* 15**,** 307-12.

OLIVEROS, E., SOMERS, V. K., SOCHOR, O., GOEL, K. & LOPEZ-JIMENEZ, F. 2014. The concept of normal weight obesity. *Prog Cardiovasc Dis,* 56**,** 426-33.

OTTO, M., FARBER, J., HANEDER, S., MICHAELY, H., KIENLE, P. & HASENBERG, T. 2015. Postoperative changes in body composition--comparison of bioelectrical impedance analysis and magnetic resonance imaging in bariatric patients. *Obes Surg,* 25**,** 302-9.

PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C., CHRYSOHOOU, C., RISVAS, G., KONTOGIANNI, M. D., ZAMPELAS, A. & STEFANADIS, C. 2004. Epidemiology of overweight and obesity in a Greek adult population: the ATTICA Study. *Obes Res,* 12**,** 1914-20.

ROUSKAS, K., KOUVATSI, A., PALETAS, K., PAPAZOGLOU, D., TSAPAS, A., LOBBENS, S., VATIN, V., DURAND, E., LABRUNE, Y., DELPLANQUE, J., MEYRE, D. & FROGUEL, P. 2012. Common variants in FTO, MC4R, TMEM18, PRL, AIF1, and PCSK1 show evidence of association with adult obesity in the Greek population. *Obesity (Silver Spring),* 20**,** 389-95.

SAHAKYAN, K. R., SOMERS, V. K., RODRIGUEZ-ESCUDERO, J. P., HODGE, D. O., CARTER, R. E., SOCHOR, O., COUTINHO, T., JENSEN, M. D., ROGER, V. L., SINGH, P. & LOPEZ-JIMENEZ, F. 2015. Normal-Weight Central Obesity: Implications for Total and Cardiovascular Mortality. *Ann Intern Med,* 163**,** 827-35.

SIKARIS, K. A. 2004. The clinical biochemistry of obesity. *Clin Biochem Rev,* 25**,** 165-81.

SPELIOTES, E. K., WILLER, C. J., BERNDT, S. I., MONDA, K. L., THORLEIFSSON, G., JACKSON, A. U., LANGO ALLEN, H., LINDGREN, C. M., LUAN, J., MAGI, R., RANDALL, J. C., VEDANTAM, S., WINKLER, T. W., QI, L., WORKALEMAHU, T., HEID, I. M., STEINTHORSDOTTIR, V., STRINGHAM, H. M., WEEDON, M. N., WHEELER, E., WOOD, A. R., FERREIRA, T., WEYANT, R. J., SEGRE, A. V., ESTRADA, K., LIANG, L., NEMESH, J., PARK, J. H., GUSTAFSSON, S., KILPELAINEN, T. O., YANG, J., BOUATIA-NAJI, N., ESKO, T., FEITOSA, M. F., KUTALIK, Z., MANGINO, M., RAYCHAUDHURI, S., SCHERAG, A., SMITH, A. V., WELCH, R., ZHAO, J. H., ABEN, K. K., ABSHER, D. M., AMIN, N., DIXON, A. L., FISHER, E., GLAZER, N. L., GODDARD, M. E., HEARD-COSTA, N. L., HOESEL, V., HOTTENGA, J. J., JOHANSSON, A., JOHNSON, T., KETKAR, S., LAMINA, C., LI, S., MOFFATT, M. F., MYERS, R. H., NARISU, N., PERRY, J. R., PETERS, M. J., PREUSS, M., RIPATTI, S., RIVADENEIRA, F., SANDHOLT, C., SCOTT, L. J., TIMPSON, N. J., TYRER, J. P., VAN WINGERDEN, S., WATANABE, R. M., WHITE, C. C., WIKLUND, F., BARLASSINA, C., CHASMAN, D. I., COOPER, M. N., JANSSON, J. O., LAWRENCE, R. W., PELLIKKA, N., PROKOPENKO, I., SHI, J., THIERING, E., ALAVERE, H., ALIBRANDI, M. T., ALMGREN, P., ARNOLD, A. M., ASPELUND, T., ATWOOD, L. D., BALKAU, B., BALMFORTH, A. J., BENNETT, A. J., BEN-SHLOMO, Y., BERGMAN, R. N., BERGMANN, S., BIEBERMANN, H., BLAKEMORE, A. I., BOES, T., BONNYCASTLE, L. L., BORNSTEIN, S. R., BROWN, M. J., BUCHANAN, T. A., et al. 2010. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet,* 42**,** 937-48.

STERLING, R. K., LISSEN, E., CLUMECK, N., SOLA, R., CORREA, M. C., MONTANER, J., S SULKOWSKI, M., TORRIANI, F. J., DIETERICH, D. T., THOMAS, D. L., MESSINGER, D., NELSON, M. & INVESTIGATORS, A. C. 2006. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology,* 43**,** 1317-25.

STONER, L. & CORNWALL, J. 2014. Did the American Medical Association make the correct decision classifying obesity as a disease? *Australas Med J,* 7**,** 462-4.

TANAKA, T., NGWA, J. S., VAN ROOIJ, F. J., ZILLIKENS, M. C., WOJCZYNSKI, M. K., FRAZIER-WOOD, A. C., HOUSTON, D. K., KANONI, S., LEMAITRE, R. N., LUAN, J., MIKKILA, V., RENSTROM, F., SONESTEDT, E., ZHAO, J. H., CHU, A. Y., QI, L., CHASMAN, D. I., DE OLIVEIRA OTTO, M. C., DHURANDHAR, E. J., FEITOSA, M. F., JOHANSSON, I., KHAW, K. T., LOHMAN, K. K., MANICHAIKUL, A., MCKEOWN, N. M., MOZAFFARIAN, D., SINGLETON, A., STIRRUPS, K., VIIKARI, J., YE, Z., BANDINELLI, S., BARROSO, I., DELOUKAS, P., FOROUHI, N. G., HOFMAN, A., LIU, Y., LYYTIKAINEN, L. P., NORTH, K. E., DIMITRIOU, M., HALLMANS, G., KAHONEN, M., LANGENBERG, C., ORDOVAS, J. M., UITTERLINDEN, A. G., HU, F. B., KALAFATI, I. P., RAITAKARI, O., FRANCO, O. H., JOHNSON, A., EMILSSON, V., SCHRACK, J. A., SEMBA, R. D., SISCOVICK, D. S., ARNETT, D. K., BORECKI, I. B., FRANKS, P. W., KRITCHEVSKY, S. B., LEHTIMAKI, T., LOOS, R. J., ORHO-MELANDER, M., ROTTER, J. I., WAREHAM, N. J., WITTEMAN, J. C., FERRUCCI, L., DEDOUSSIS, G., CUPPLES, L. A. & NETTLETON, J. A. 2013. Genome-wide meta-analysis of observational studies shows common genetic variants associated with macronutrient intake. *Am J Clin Nutr,* 97**,** 1395-402.

WHO 8-11 December 2008. Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation. Geneva: WHO.

XIANG, L., WU, H., PAN, A., PATEL, B., XIANG, G., QI, L., KAPLAN, R. C., HU, F., WYLIE-ROSETT, J. & QI, Q. 2016. FTO genotype and weight loss in diet and lifestyle interventions: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr,* 103**,** 1162-70.

YAZDI, F. T., CLEE, S. M. & MEYRE, D. 2015. Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. *PeerJ,* 3**,** e856.