ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Αξιολόγηση γενετικού δείκτη στην προδιάθεση για αθλητικές επιδόσεις σε έφηβους αθλητές υδατοσφαίρισης

Διπλωματική Εργασία

Σπυρίδων Τσιούτσιας

Αθήνα, 2018

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Γεώργιος Δεδούσης (Επιβλέπων)
Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ιωάννης Μανιός
Αναπληρωτής Καθηγητής Διατροφικής Αγωγής και Αξιολόγησης
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ελένη Σουλτανάκη
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κολύμβησης, Τομέας Υγρού Στίβου
Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο Σπυρίδων Τσιούτσιας

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 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Αφιέρωση

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία αφιερώνεται στη σύζυγό μου Νίκη, τους γονείς μου, τα αδέρφια και τα ανίψια μου, για την υποστήριξη και αγάπη τους σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της, αλλά και κατά το υπόλοιπο χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ πολύ τον επιβλέποντα Καθηγητή μου, κ. Γεώργιο Δεδούση, αρχικά για την τιμή να με επιλέξει ως μέλος της ερευνητικής του ομάδας. Εκτιμώ ιδιαίτερα την εμπιστοσύνη, την οποία έδειξε στο πρόσωπό μου, καθώς και την ευκαιρία που μου έδωσε να συνδυάσω ερευνητικά δύο ιδιαίτερα αγαπητούς για μένα τομείς, όπως ο Αθλητισμός και η Γενετική. Οι γνώσεις και οι εμπειρίες, τις οποίες μου μετέφερε τόσο στις διαλέξεις των μαθημάτων Διατροφογενετικής και Επιγενετικής, όσο και στις συζητήσεις για τη διεξαγωγή της παρούσας έρευνας, αποτελούν για μένα μία πολύ εποικοδομητική και διδακτική διαδικασία επαναπροσέγγισης των σύγχρονων επιστημονικών εξελίξεων.

Ευχαριστώ πολύ τον Καθηγητή μου στο μάθημα της Εργομετρίας, κ. Ιωάννη Αρναούτη, για την εμπνευσμένη καθοδήγηση και εκπαίδευση που μου προσέφερε, καθώς και για τις διευκολύνσεις, τις οποίες είχα για τη διεξαγωγή των πειραμάτων στο χώρο του Εργαστηρίου Εργομετρίας.

Ευχαριστώ πολύ τη συνάδελφο Βιολόγο και υποψήφια διδάκτωρ Έφη Κατσαρέλη, για την πολύτιμη βοήθειά της στη συλλογή και επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Οι γνώσεις που μου μετέφερε, η εμπειρία της στις εργαστηριακές τεχνικές, καθώς και η άριστη καθοδήγηση και αξιοποίηση του χρόνου αποτελούν για μένα σπουδαία διδάγματα. Ήταν ιδιαίτερη τιμή για μένα να συνεργαστούμε στην ίδια ερευνητική ομάδα και χωρίς την αμέριστη συμπαράστασή της η μελέτη δε θα είχε την ίδια επιτυχή πορεία. Θα ήθελα να εκφράσω και την ευγνωμοσύνη μου στην επίσης συνάδελφο Βιολόγο και υποψήφια διδάκτωρ Χαρά Αμερικάνου, η οποία ήταν πάντα πρόθυμη να συνεισφέρει στην έρευνά μου, παρόλο το δικό της φόρτο εργασίας.

Ευχαριστώ πολύ την κ. Αντιγόνη Τσιαφίτσα για την πολύτιμη βοήθειά της και την άψογη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια των αιμοληψιών.

Ευχαριστώ πολύ τη Διαιτολόγο κ. Ευανθία Παγουρτζή για την προθυμία της να με ενημερώσει για τη μεθοδολογία και τα αποτελέσματα της δικής της Μεταπτυχιακής Διατριβής, συνέχεια της οποίας αποτέλεσε και η δική μου.

Ευχαριστώ πολύ τις συμφοιτήτριες Διαιτολόγους Μαρία Κοντοέ και Ειρήνη Κωνσταντάκου, για την ανιδιοτελή και άρτια συμβολή τους στη συλλογή των δεδομένων.

Τέλος, ευχαριστώ τους εφόρους, τους προπονητές, τους αθλητές και τους γονείς-κηδεμόνες των ομάδων υδατοσφαίρισης του Παναθηναϊκού Α.Ο. και του Α.Ο. Ολυμπιάδα Πετρούπολης για την εθελοντική συμμετοχή τους στην έρευνα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη στα Ελληνικά..... 06
Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract)..... 07
Κατάλογος Εικόνων..... 08
Κατάλογος Πινάκων..... 09
Κατάλογος Σχημάτων..... 11
Συντομογραφίες..... 12
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... 13
1.1. Παχυσαρκία και Γενετική Ποικιλομορφία..... 13
1.1.1. Η Παχυσαρκία ως Παγκόσμιο Πρόβλημα..... 13
1.1.2. Συμβολή των GWAS στις μελέτες για την Παχυσαρκία..... 14
1.1.3. Η ανακάλυψη της συσχέτισης του FTO με την Παχυσαρκία. 14
1.2. Η Γενική Βιολογία του FTO..... 15
1.2.1. Το Γονίδιο FTO..... 15
1.2.2. Η Πρωτεΐνη FTO δρα ως Απομεθυλάση Νουκλεϊκών Οξέων 16
1.2.3. Ο Ρόλος της Μεθυλίωσης στα Ευκαρυωτικά Κύτταρα..... 18
1.2.4. Η Δράση του FTO διενεργείται μέσω των Επιπέδων Μεθυλίωσης των mRNAs..... 18
1.3. Οι Πολυμορφισμοί του FTO επηρεάζουν Διαιτολογικές Παραμέτρους..... 20
1.3.1. Συχνότητα Εμφάνισης Πολυμορφισμών του FTO σε Διάφορους Πληθυσμούς..... 20
1.3.2. Επίδραση των Πολυμορφισμών του FTO σε Δείκτες Παχυσαρκίας..... 21
1.3.3. Η Επίδραση του FTO σε Ασθένειες σχετιζόμενες με την Παχυσαρκία..... 22
1.3.4. Η Επίδραση του FTO σε Διάφορες Ηλικιακές Ομάδες..... 23
1.3.5. Αλληλεπίδραση Πολυμορφισμών του FTO και Πρόσληψης Θρεπτικών Συστατικών..... 24
1.3.6. Το FTO ως Αισθητήρας Συγκέντρωσης Θρεπτικών Στοιχείων..... 24
1.4. Μεταλλάξεις του FTO και Συνέπειες..... 25
1.4.1. Μεταλλάξεις στα Εξώνια του FTO που σχετίζονται με Αυξημένο Κίνδυνο Παχυσαρκίας..... 25
1.4.2. Συνέπειες από την Έλλειψη του Γονιδίου FTO..... 26
1.4.3. Συνέπειες από την Έλλειψη Λειτουργικής Πρωτεΐνης FTO... 26
1.5. FTO και Μοριακοί Μηχανισμοί Ρύθμισης..... 27
1.5.1. Πιθανές Αλληλεπιδράσεις του FTO με Γειτονικά Γονίδια..... 27
1.5.2. Το FTO συμμετέχει σε Μονοπάτι Μεταγωγής Σήματος μέσω του mTORC1..... 29
1.6. Ανάπτυξη και Ομοιόσταση επηρεάζονται από το FTO..... 31
1.6.1. Το FTO σχετίζεται με τη Λειτουργία πολλών Οργάνων..... 31

1.6.2. Το FTO συμμετέχει στην 0μοιόσταση της Ενέργειας..... 31
1.7. Η Επίδραση του Τρόπου Ζωής στη Συσχέτιση FTO και Παχυσαρκίας.. 32
1.8. Σκοπός της Μελέτης..... 34
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ..... 35
2.1. Σχεδιασμός της Έρευνας..... 35
2.2. Δείγμα της Έρευνας..... 35
2.3. Μετρήσιμα Χαρακτηριστικά..... 36
2.3.1. Αιμοληψία..... 36
2.3.2. Απομόνωση Γενετικού Υλικού (gDNA)..... 37
2.3.3. Υπολογισμός Συγκέντρωσης DNA..... 37
2.3.4. Γονοτύπηση [Real Time PCR – Genotyping Protocol (Taqman Method)]..... 38
2.3.5. Περιγραφικά – Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά..... 40
2.3.6. Ανάλυση Σύστασης Σώματος..... 40
2.3.7. Ισοκινητική Δυναμομέτρηση..... 41
2.3.8. Εργομετρικές Δοκιμασίες Κολύμβησης – Ευστοχίας..... 42
2.3.9. Διατροφική Αξιολόγηση – Αξιολόγηση Πρόσληψης Θρεπτικών Συστατικών..... 42
2.4. Στατιστική Ανάλυση..... 43
2.5. Βιοηθική..... 44
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... 46
3.1. Περιγραφικά – Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά..... 46
3.2. Χαρακτηριστικά Μέσης Ημερήσιας Διαιτητικής Πρόσληψης..... 47
3.3. Αθλητικές Επιδόσεις – Εργομετρικές Δοκιμασίες..... 48
3.4. Χαρακτηριστικά Βιοχημικών Εξετάσεων Αίματος..... 49
3.5. Έλεγχος Κανονικής Κατανομής..... 50
3.6. Έλεγχος Μέσων Όρων Τιμών σε κάθε Κατηγορία Γονοτύπου FTO για τις Μεταβλητές με μη Κανονική Κατανομή..... 50
3.7. Ανάλυση Διακύμανσης Κατά Ένα Παράγοντα (One-Way ANOVA) για τις Μεταβλητές με Κανονική Κατανομή..... 51
3.8. Έλεγχος Ύπαρξης Γραμμικής Σχέσης Ανάμεσα σε Συνεχείς Μεταβλητές..... 53
3.9. Απλή και Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την Πρόβλεψη του BMI..... 55
3.10. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την Πρόβλεψη των Αθλητικών Επιδόσεων..... 56
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ..... 62
4.1. Τα Κύρια Ευρήματα της Μελέτης..... 62
4.2. Περιορισμοί της Μελέτης..... 64
4.3. Συμπεράσματα – Προοπτικές..... 65
Βιβλιογραφία..... 66
Παράρτημα..... 83

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η μέγιστη έκφραση του γονιδίου FTO γίνεται στην περιοχή του υποθαλάμου, η οποία είναι υπεύθυνη για την ομοιόσταση ενέργειας, τον τοξοειδή πυρήνα, και μπορεί να επηρεάσει το σωματικό βάρος. Η διατροφική κατάσταση του οργανισμού μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα έκφρασης του FTO, ενώ η έκφρασή του μπορεί να επηρεάσει την απομεθυλίωση διαφόρων mRNAs ρυθμίζοντας την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων κινδύνου του FTO και η επίδραση τους στο BMI παρατηρείται στους Ευρωπαίους. Οι πολυμορφισμοί του FTO δεν επηρεάζουν το σωματικό βάρος κατά την γέννηση, αλλά ξεκινούν την επιρροή τους από την πρώιμη παιδική ηλικία, περίπου στα 3 έτη. Η επίδραση αυτή μεγεθύνεται στα επόμενα χρόνια φτάνοντας στη μέγιστη τιμή της στην εφηβεία και τα πρώτα έτη ενηλικίωσης. Η έντονη φυσική δραστηριότητα και η άσκηση μπορούν να τροποποιήσουν τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία.

Σκοπός: Η αξιολόγηση του κοινού πολυμορφισμού rs9939609 του FTO στην προδιάθεση για αθλητικές επιδόσεις έφηβων αθλητών υδατοσφαίρισης. Αξιολογήθηκε επίσης η πιθανότητα η υδατοσφαίριση να τροποποιεί τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία στους εφήβους και την αλληλεπίδραση των SNPs με τη διαιτητική πρόσληψη συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών.

Μεθοδολογία: 66 έφηβοι αθλητές υδατοσφαίρισης συμμετείχαν σε αιμοληψία για βιοχημικές εξετάσεις, γονοτύπηση για πολυμορφισμό του FTO, μετρήσεις ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, ανάλυση σύστασης σώματος με τη μέθοδο DEXA, Εργομετρικές Δοκιμασίες σε Ισοκινητικό Δυναμομέτρο και πισίνα, ανακλήσεις 24ώρου για την ανάλυση πρόσληψης θρεπτικών συστατικών (λογισμικό Nutritionist Pro). Η στατιστική ανάλυση έγινε με το SPSS 19.

Αποτελέσματα: Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις αθλητικές επιδόσεις των εφήβων ανάμεσα στις γονοτυπικές κατηγορίες. Επίσης, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, τις βιοχημικές εξετάσεις και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών μεταξύ των εφήβων ανάμεσα στις γονοτυπικές κατηγορίες. Οι αθλητικές επιδόσεις επηρεάζονται από την ηλικία και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους.

Συμπεράσματα: Ο πολυμορφισμός rs9939609 του FTO δεν επηρεάζει τις αθλητικές επιδόσεις των εφήβων. Η υδατοσφαίριση αναιρεί τη γενετική προδιάθεση λόγω FTO για αυξημένο BMI.

Λέξεις κλειδιά: FTO, πολυμορφισμός, ΔΜΣ, έφηβοι, υδατοσφαίριση

ABSTRACT

Introduction: A common variant in the FTO gene, rs9939609, associates with BMI. The highest FTO gene expression is noted in the area of hypothalamic control of the energy balance, namely, the arcuate nucleus, suggesting that it plays a key role in regulating appetite and energy metabolism. Recent studies revealed that specific macronutrient diet composition can influence in different ways the FTO expression. The role of m6A demethylation by FTO in the regulation of energy homeostasis and body composition is important. FTO SNPs are associated with satiety, appetite ratings and overeating. FTO genotype is not associated with fetal growth but the effect on BMI is evident in adolescents, especially of European ancestry. Moreover, it appears that exercise can act as a modifying agent of this genetic predisposition to obesity.

Purpose: Assessment of the FTO polymorphism rs9939609 as a genetic index for the athletic performance of water-polo adolescent players. Our aim was also to examine if water-polo training can act as a modifying agent of the genetic predisposition to obesity in adolescents and the associations of the FTO genotype with diet composition.

Methodology: This study involved 66 water-polo adolescent players. Isolation of genetic material and genotyping with Taqman method was held. We measured and evaluated anthropometric characteristics, biochemical markers by blood tests, body composition by DEXA method and diet history using three 24-hour recalls within 10 days. We measured and evaluated athletic performance with isokinetic and swimming tests. The SPSS 19.0 software was used to carry out statistical analyses.

Results: There were no statistically significant differences ($p > 0,05$) among individuals with different genotypes in athletic performance, in anthropometric characteristics, in diet composition and in biochemical markers. Athletic performance is influenced by the age and the Body Fat Percentage.

Conclusions: The common variant in the FTO gene, rs9939609, is not associated with the athletic performance of water-polo adolescent players. Intense physical activity of water-polo players acts as a modifying agent of the genetic predisposition to obesity, reducing the influence of FTO polymorphism in obesity-related indicators, such as BMI.

Keywords: FTO, polymorphisms, BMI, adolescents, water-polo

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ.1. Η μέθοδος ανάλυσης σύστασης σώματος DEXA..... 40
Εικ.2. Ισοκινητική Δυναμομέτρηση με αρχική θέση τις 90° πλάγιας απαγωγής του βραχίονα..... 41

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίν.01: Κατάταξη των ανθρώπων με κριτήριο το BMI από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας…… 13
Πίν.02: Περιγραφικά - Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των αθλητών που συμμετείχαν στις μετρήσεις…… 47
Πίν.03: Χαρακτηριστικά της Μέσης Ημερήσιας Διαιτητικής Πρόσληψης των αθλητών…… 47
Πίν.04: Χαρακτηριστικά της επίδοσης των αθλητών στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο…… 48
Πίν.05: Επιδόσεις των αθλητών κατά τις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα…… 49
Πίν.06: Χαρακτηριστικά των Βιοχημικών Εξετάσεων Αίματος των αθλητών…… 49
Πίν.07: Έλεγχος Kruskal-Wallis για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών χαρακτηριστικών που δεν παρουσιάζουν Κανονική Κατανομή με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 50
Πίν.08: One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των περιγραφικών-ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 51
Πίν.09: One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των επιδόσεων των αθλητών στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 51
Πίν.10: One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των επιδόσεων των αθλητών στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 52
Πίν.11: One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών της Εκατοστιαίας Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 53
Πίν.12: One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των αποτελεσμάτων των εξετάσεων αίματος με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO…… 53
Πίν.13: Συσχέτιση με το συντελεστή Pearson για την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών με Κανονική Κατανομή (για τις αθλητικές επιδόσεις)…… 54
Πίν.14: Συσχέτιση με το συντελεστή Pearson για την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών με Κανονική Κατανομή (για το BMI)…… 55
Πίν.15: Απλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την επίδραση του γονοτύπου FTO στο BMI…… 55
Πίν.16: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την επίδραση γονοτύπου FTO και ηλικίας στο BMI…… 56
Πίν.17: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής…… 57
Πίν.18: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής - 1ο μοντέλο…… 57
Πίν.19: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής - 2ο μοντέλο…… 58

Πίν.20: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής - 3ο μοντέλο..... 58
Πίν.21: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Απαγωγής..... 58
Πίν.22: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής - 1ο μοντέλο.... 59
Πίν.23: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής - 2ο μοντέλο.... 59
Πίν.24: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Απαγωγής..... 60
Πίν.25: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Προσαγωγής..... 60
Πίν.26: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 25 m..... 60
Πίν.27: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 200 m..... 61

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχ.1: Απεικόνιση της χρωμοσωμικής περιοχής του γονιδίου FTO και των πιο γνωστών συσχετιζόμενων με την παχυσαρκία SNPs του εσωνίου 1…… 16
Σχ.2: Η βιοχημική λειτουργία του FTO…… 17
Σχ.3: Διαγραμματική απεικόνιση του FTO και των γειτονικών γονιδίων στο μεγάλο βραχίονα του χρωμασώματος 16…… 27
Σχ.4: Διαγραμματική απεικόνιση των σχέσεων αλληλεπίδρασης μεταξύ του FTO και των γειτονικών γονιδίων…… 29
Σχ.5: Ο ρόλος του FTO ως ανιχνευτής αμινοξέων…… 30
Σχ.6: Η μέθοδος Taqman – Real Time PCR…… 39
Σχ.7: Πλήθος αθλητών σε κάθε γονοτυπική κατηγορία…….. 46

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

γ-GT	gamma-glutamyltransferase
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ζ.β.	ζεύγη βάσεων
ΟΑΚΑ	Ολυμπιακό Αθλητικό Κέντρο Αθηνών
AA	Amino Acid
ABH1	alkB homolog 1
ABH2	alkB homolog 2
alkB	alpha-ketoglutarate-dependent hydroxylase
ALKBH5	alkB homolog 5
ALP	Alkaline Phospatase
ANOVA	Analysis of Variance
BMI	Body Mass Index
cDNA	complementary DeoxyriboNucleic Acid
CRP	C-reactive protein
CUX1	Cut-like Homeobox 1
DEXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
EDTA	EthyleneDiamineTetraacetic Acid
FTO	FaT and Obesity-associated gene
gDNA	Genomic DeoxyriboNucleic Acid
GWAS	Genome Wide Association Studies
HDL	High-Density Lipoprotein
HEK	Human Embryonic Kidney cells
IRX3	Iroquois homeobox 3
IRX5	Iroquois homeobox 5
ld	linkage disequilibrium
METTL3	Methyltransferase Like 3
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
mTORC1	mammalian Target Of Rapamycin Complex 1
NFIA-AS2	Nuclear Factor I A Antisense RNA 2
OD	Optical Density
PCR	Polymerase Chain Reaction
RBFOX1	RNA Binding protein, Fox-1 homolog (C. elegans) 1
RNA	RiboNucleic Acid
RPGRIP1L ή Ftm	Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator-Interacting Protein-1-Like
rpm	revolutions per minute
rRNA	ribosomal Ribonucleic Acid
RUNX1T1	runt related transcription factor 1 translocation partner 1
SGOT	Serum Glutamil Oxaloacetic Transaminase
SGPT	Serum Glutamic Pyruvic Transaminase
SNPs	Single Nucleotide Polymorphisms
SPSS	Statistical Package for the Social Science
SRSF2	serine and arginine rich splicing factor 2
2OG	2-oxoglutarate
3meU	3 methyl uracil
6meA	6 methyl adenosine

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Παχυσαρκία και Γενετική Ποικιλομορφία

1.1.1. Η Παχυσαρκία ως Παγκόσμιο Πρόβλημα

Η παχυσαρκία έχει καταστεί πλέον παγκόσμιο πρόβλημα λαμβάνοντας επιδημικές διαστάσεις στις περισσότερες αναπτυγμένες οικονομίες. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, οι υπέρβαροι και παχύσαρκοι άνθρωποι έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να βλάψουν την υγεία τους εξαιτίας της συσσώρευσης και της μη φυσιολογικής κατανομής του σωματικού λίπους [1]. Για τη μελέτη των ανθρώπινων πληθυσμών, ο Δείκτης Μάζας Σώματος (Δ.Μ.Σ., Body Mass Index, BMI) είναι ο πιο σημαντικός για τη διάγνωση της παχυσαρκίας, ενώ η μέτρηση της Περιφέρειας Μέσης δείχνει το βαθμό συσσώρευσης κοιλιακού λίπους. Η κατάταξη των ανθρώπων από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας γίνεται με βάση τον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 01. Κατάταξη των ανθρώπων με κριτήριο το BMI από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Μονάδα Μέτρησης: Kg / m^2).

Χαρακτηρισμός των ανθρώπων για το βαθμό παχυσαρκίας με βάση το BMI	
ελλιποβαρής	BMI < 18,5
φυσιολογικού βάρους	18,5 ≤ BMI < 25,0
υπέρβαρος	25,0 ≤ BMI < 30,0
παχύσαρκος 1ου βαθμού	30,0 ≤ BMI < 35,0
παχύσαρκος 2ου βαθμού (σοβαρή παχυσαρκία)	35,0 ≤ BMI < 40,0
παχύσαρκος 3ου βαθμού (νοσηρή παχυσαρκία)	BMI ≥ 40,0

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας υπολογίζει σε περίπου 1.400.000.000 τους ανθρώπους με βάρος μεγαλύτερο από το φυσιολογικό, με συνεπακόλουθη αύξηση των μεταβολικών ασθενειών, αλλά και των κοινωνικο-οικονομικών συνεπειών [2,3].

1.1.2. Συμβολή των GWAS στις μελέτες για την Παχυσαρκία

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ένα ποσοστό περίπου 40 - 70 % των διαφορών σε επιδεκτικότητα για παχυσαρκία, που παρατηρούνται στον πληθυσμό, οφείλεται στις γενετικές διαφορές μεταξύ των ανθρώπων [4,5]. Οι διαφορές αυτές ήταν δύσκολο να εντοπιστούν για πολλά χρόνια λόγω των περιορισμένων γνώσεών μας για την αρχιτεκτονική του ανθρωπίνου γονιδιώματος, καθώς και των βιολογικών μονοπατιών, τα οποία καθορίζουν την παχυσαρκία και τις συσχετιζόμενες ασθένειες [6]. Τα τελευταία χρόνια οι ερευνητικές προσπάθειες συνέκλιναν προς αυτήν την κατεύθυνση και, από το 2005 και μετά, ήταν ιδιαίτερα σημαντική η συνεισφορά των Μελετών Συσχέτισης Γονιδιώματος (Genome Wide Association Studies, GWAS), με τη βοήθεια των οποίων έχουν εντοπιστεί τουλάχιστον 75 γονίδια, που επηρεάζουν την προδιάθεση για παχυσαρκία [7,8].

1.1.3. Η ανακάλυψη της συσχέτισης του FTO με την Παχυσαρκία

Το 2007 προσδιορίστηκε το πρώτο γονίδιο που φαίνεται να έχει ισχυρή συσχέτιση με την παχυσαρκία κατά την εφαρμογή των GWAS [9,10], και αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο πήρε και επισήμως την ονομασία FTO (FaT mass and Obesity-associated gene, γονίδιο συσχετιζόμενο με τη λιπώδη μάζα και παχυσαρκία). Το FTO συνεχίζει από τότε να αποτελεί το γενετικό τόπο με τη μεγαλύτερη επίδραση στο BMI και το σχετικό κίνδυνο παχυσαρκίας. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί για πολλούς ποσοτικούς δείκτες παχυσαρκίας, καθώς και άλλα σχετιζόμενα χαρακτηριστικά σε πολλούς πληθυσμούς διαφορετικής καταγωγής ή ηλικίας [8].

Πιο συγκεκριμένα, μέσα σε διάστημα λίγων μηνών το 2007, τρεις ανεξάρτητες μελέτες ανακοίνωσαν την ανακάλυψη του FTO ως υπεύθυνου για τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία. Η πρώτη μελέτη ήταν GWAS ασθενών-μαρτύρων σε Ευρωπαίους και αφού αρχικά εντόπισε απλούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) στο πρώτο εσώνιο του FTO ως στατιστικά σημαντικά συσχετιζόμενους με τον διαβήτη τύπου 2, στη συνέχεια αυτή η συσχέτιση εξαφανίστηκε όταν έγινε στάθμιση ως προς το BMI [9]. Κατά συνέπεια θεωρήθηκε ότι το FTO έχει πρωτευόντως σημαντική επίδραση στο BMI, με δευτερεύον αποτέλεσμα τη συσχέτισή του με το διαβήτη τύπου 2 στην GWAS. Οκτώ εβδομάδες αργότερα, σε μία δεύτερη GWAS που έγινε σε κατοίκους της Σαρδηνίας, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση διαφόρων SNPs, που εδράζονται επίσης στο

πρώτο εσώνιο του FTO, με το BMI [10]. Περίπου το ίδιο χρονικό διάστημα, εντελώς συγκυριακά και κατά τη διάρκεια ελέγχων για τη διαστρωματοποίηση των χαρακτηριστικών των εθελοντών σε μία τρίτη μελέτη ασθενών-μαρτύρων, εντοπίστηκε η ίδια περιοχή του FTO ως συσχετιζόμενη με την παχυσαρκία [11].

Οι τρεις αυτές μελέτες του 2007 καθιέρωσαν το FTO ως το πρώτο γονίδιο με κοινούς πολυμορφισμούς, που επηρεάζουν την προδιάθεση του γενικού πληθυσμού για παχυσαρκία. Σημαντικό συμπέρασμα από αυτές τις μελέτες ήταν ότι ο απλός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs9939609 στο πρώτο εσώνιο του FTO ήταν ο πιο αντιπροσωπευτικός απ΄ όσους SNPs του γονιδίου έδειξαν συσχέτιση με την παχυσαρκία κι όχι μόνο για το διαβήτη. Όπως ανακοινώθηκε [9] το 16 % των εθελοντών ήταν ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου (AA), ενώ παράλληλα ζύγιζαν 3 Kg περισσότερο και εμφάνιζαν 1,67 φορές αυξημένο κίνδυνο για παχυσαρκία σε σχέση με τους μη φορείς του αλληλομόρφου.

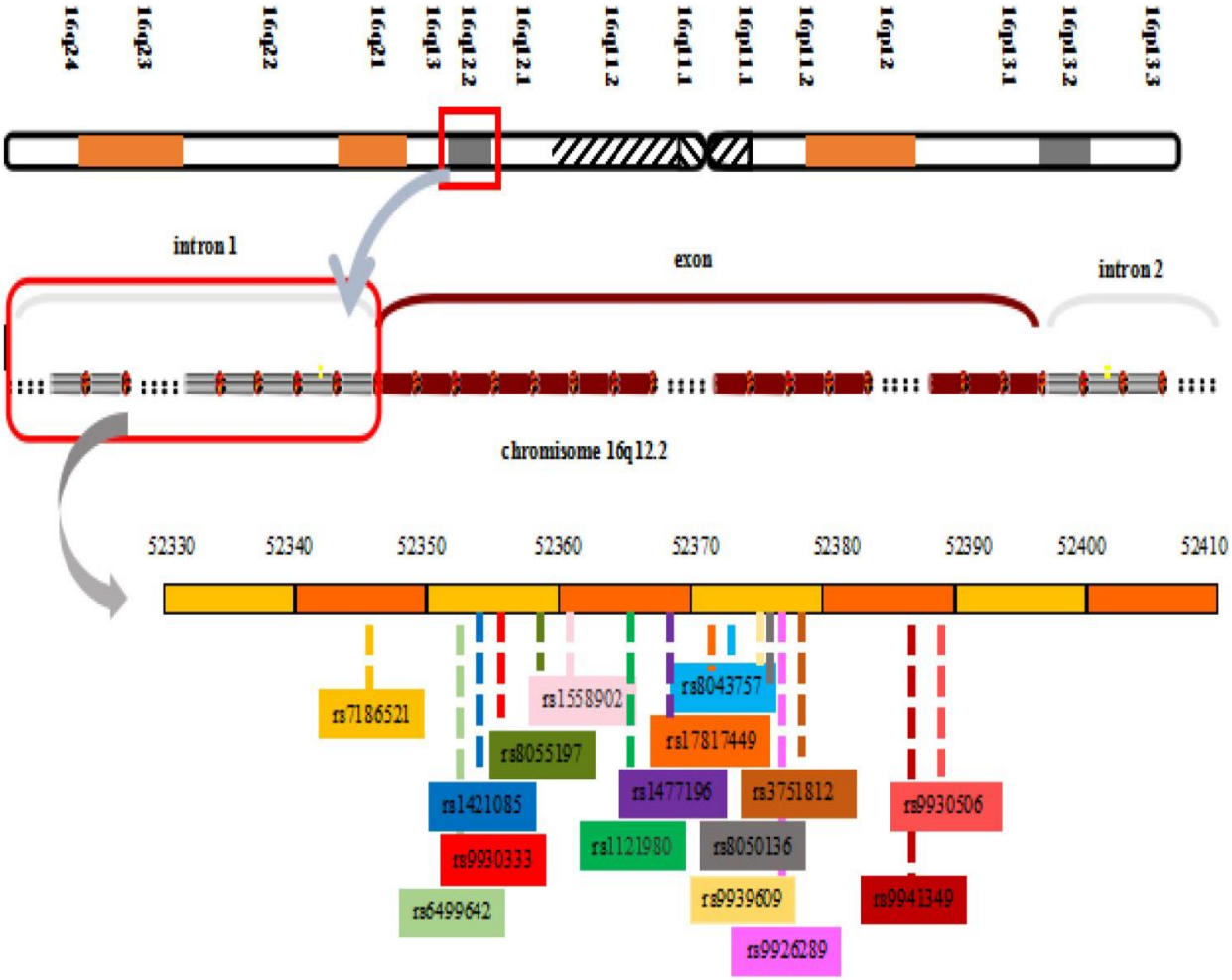
1.2. Η Γενική Βιολογία του FTO

1.2.1. Το Γονίδιο FTO

Το FTO είχε ανακαλυφθεί από το 1999 σε ποντίκια, που εμφάνιζαν το φαινότυπο «ενωμένα δάκτυλα» (fused toes) λόγω έλλειψης ενός μεγάλου τμήματος του χρωμοσώματος 8 [12]. Στους ανθρώπους, το γονίδιο FTO καταλαμβάνει ένα σημαντικό τμήμα του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 16 και συγκεκριμένα της περιοχής 16q12.2, η οποία έχει μέγεθος 417.979 ζεύγη βάσεων (ζ.β.) και εκτείνεται από το 53.737.875 ζ.β. έως το 54.155.853 ζ.β. [9,13], ενώ αποτελείται από 9 εξώνια, όπως και το αντίστοιχο γονίδιο στα ποντίκια [12]. Οι SNPs που επιλέγονται για τη μεγαλύτερη συσχέτιση στις GWAS βρίσκονται στα εσώνια 1 και 2, ενώ το συνολικό μήκος της περιοχής που συσχετίζεται με την παχυσαρκία και το BMI είναι 47.000 ζ.β. και για την ακρίβεια έχουν προσδιοριστεί σ΄ αυτήν 89 κοινοί πολυμορφισμοί [9,14].

Η ομολογία του γονιδίου σε πλήθος οργανισμών, από τα διάτομα μέχρι τα σπονδυλόζωα, δείχνει ότι έχει ιστορία περίπου 450.000.000 ετών [15]. Αναλύσεις ομολογίας έχουν δείξει ότι η αλληλουχία του cDNA του FTO των χοίρων είναι κατά 88 % ίδια με την αντίστοιχη των ποντικών και κατά 83 % ίδια με την αντίστοιχη των ανθρώπων [16,17], ενώ σε επίπεδο πρωτεΐνης η ομολογία είναι 87 % ανάμεσα στις αντίστοιχες FTO ποντικών και

ανθρώπου [18,19]. Στους χοίρους το ομόλογο FTO γονίδιο εδράζεται στο χρωμόσωμα 6, όπου έχουν χαρτογραφηθεί αρκετοί γενετικοί τόποι για τη ρύθμιση του λίπους [20].

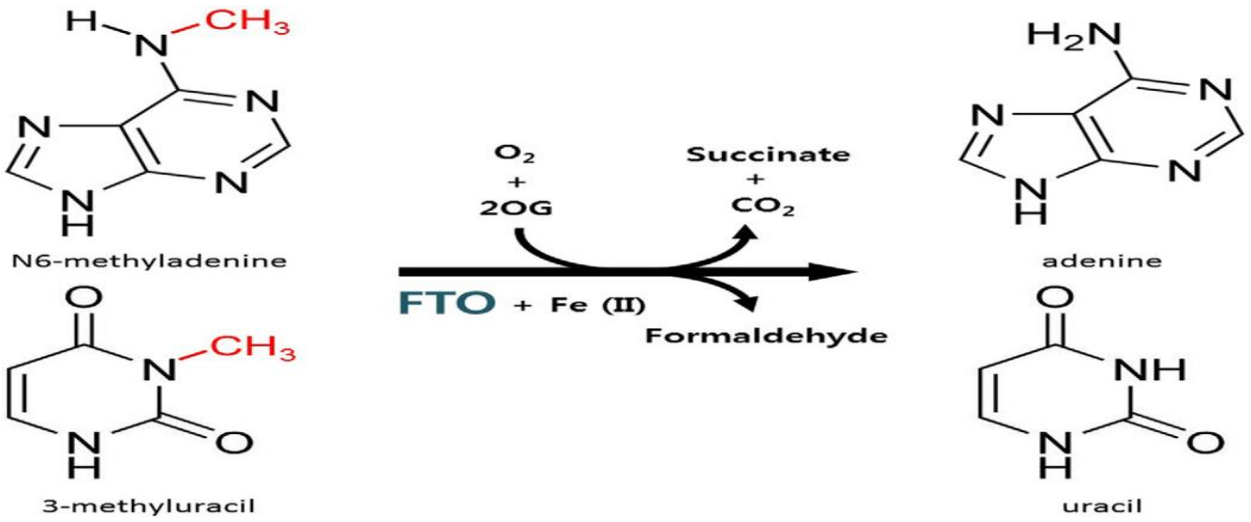


Σχήμα 1. Απεικόνιση της χρωμοσωμικής περιοχής του γονιδίου FTO και των πιο γνωστών συσχετιζόμενων με την παχυσαρκία SNPs του εσωνίου 1. [21]

1.2.2. Η Πρωτεΐνη FTO δρα ως Απομεθυλάση Νουκλεϊκών Οξέων

Μετά την ανακάλυψη του FTO, Κινέζοι ερευνητές είναι οι πρώτοι που ανέλυσαν την κρυσταλλική δομή της πρωτεΐνης, η οποία έδειξε ότι ανήκει στον τύπο των απομεθυλασών νουκλεϊκών οξέων [22]. Χρησιμοποιώντας εργαλεία βιοπληροφορικής, προβλέφθηκε ότι η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο είναι μία απομεθυλάση εξαρτώμενη από το 2-κετο-γλουταρικό και το δισθενή σίδηρο (Fe^{2+}), συγγενική με τη βακτηριακή DNA απομεθυλάση alkB και τις ομόλογές της ABH1 και ABH2 στα θηλαστικά [13,22,23]. Σε in vitro πειράματα η πρωτεΐνη FTO καταλύει την εξαρτώμενη από 2-κετο-γλουταρικό και Fe^{2+} οξειδωτική

απομεθυλίωση της 3-μεθυλ-θυμιδίνης του μονόκλωνου DNA [13,24], της 3-μεθυλ-ουρακίλης (3meU) [13,24], αλλά και της 6-μεθυλ-αδενοσίνης (6meA) [25] του μονόκλωνου RNA, η οποία μάλλον είναι το φυσιολογικό της υπόστρωμα μέσα στα κύτταρα [25].



Σχήμα 2. Η βιοχημική λειτουργία του FTO. Η απομεθυλίωση της 3meU, που εντοπίζεται ευρέως στα rRNAs, και της 6meA, που εντοπίζεται στα mRNAs, εξαρτάται από το δισθενή σίδηρο (Fe II) και το 2-κετο-γλουταρικό (2OG). [26]

Η ανάλυση της κρυσταλλικής δομής αποκαλύπτει ότι το αμινοτελικό άκρο περιέχει το ενεργό κέντρο του ενζύμου, ενώ το καρβοξυτελικό άκρο είναι μία καινοφανής δομή, που όμως θεωρείται απαραίτητη για την καταλυτική λειτουργία [22]. Το ενεργό κέντρο αποτελείται εκτός των άλλων από 5 συντηρημένα αμινοξέα, κοινά σε όλα τα αντίστοιχα ένζυμα, και συγκεκριμένα από μία ιστιδίνη και ένα ασπαρτικό οξύ, που είναι απαραίτητα για την πρόσδεση του Fe^{2+}, ενώ μία ιστιδίνη και δύο αργινίνες είναι απαραίτητες για την πρόσδεση του 2-κετο-γλουταρικού [22,27]. Η εξειδίκευση για τα μονόκλωνα νουκλεϊκά οξέα ως υποστρώματα του ενζύμου οφείλεται σε στερεοδιατακτική παρεμπόδιση της εισόδου των δίκλωνων νουκλεϊκών οξέων στο ενεργό κέντρο, λόγω της ύπαρξης ενός ειδικού L1 βρόχου κατά την αναδίπλωση της πρωτεΐνης, ενώ παράλληλα αυτός ο βρόχος παρεμποδίζει και την πρόσδεση της μη μεθυλιωμένης DNA αλυσίδας στο ενεργό κέντρο [22,24].

Η 6meA, που αποτελεί πιθανό in vivo ενδοκυτταρικό υπόστρωμα του ενζύμου FTO, αποτελεί το πιο συχνά μεθυλιωμένο νουκλεοσίδιο του mRNA [28] και μάλιστα η απομεθυλίωση της 6meA από την πρωτεΐνη FTO γίνεται με 50 φορές μεγαλύτερη συγγένεια πρόσδεσης υποστρώματος απ΄ ό,τι η απομεθυλίωση της 3meU [25], η οποία αποτελεί το πιο συχνά μεθυλιωμένο νουκλεοσίδιο του rRNA [29]. Επειδή όμως το συντριπτικά μεγαλύτερο

ποσοστό του RNA στο κύτταρο είναι το rRNA και κατά συνέπεια η ποσότητα 3meU είναι εκατονταπλάσια απ΄ αυτήν της 6meA, δεν είναι ξεκάθαρο αν τελικά κάποιο απ΄ αυτά τα δύο νουκλεοσίδια αποτελεί το πραγματικό υπόστρωμα της απομεθυλάσης FTO μέσα στο κύτταρο.

1.2.3. Ο Ρόλος της Μεθυλίωσης στα Ευκαρυωτικά Κύτταρα

Η μεθυλίωση έχει ανακαλυφθεί από τη δεκαετία του ΄70 ως μέσο τροποποίησης των ευκαρυωτικών mRNAs [28,30]. Η λειτουργική σημασία της μεθυλίωσης αφορά στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, τη δημιουργία εναλλακτικών μεταγράφων, την ικανότητα μεταφοράς των mRNAs μέσα στο κύτταρο και τη σταθερότητά τους [31,32,33,34]. Το ένζυμο που καταλύει τη μεθυλίωση της αδενοσίνης σε 6-μεθυλ-αδενοσίνη είναι το METTL3 [35]. Η απομεθυλίωση της 6meA γίνεται από δύο ένζυμα-απομεθυλάσες, τα ALKBH5 [36] και FTO [25]. Η 6meA εμφανίζεται συνήθως σε στοχευμένες περιοχές, όπως στο τελευταίο εξώνιο ή σε εναλλακτικά μετάγραφα με μικρότερου μήκους 3΄ αμετάφραστη περιοχή [37,38,39,40,41].

Έχει προταθεί επίσης ότι μεταβολικά μονοπάτια, που επηρεάζονται από την ύπαρξη 6meA στα mRNAs, εμπλέκονται στην εκδήλωση παχυσαρκίας [42,43]. Σύμφωνα με έρευνα που έγινε σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, η απομεθυλάση FTO μπορεί να απομακρύνει μεθυλομάδες όχι μόνο από το mRNA, αλλά χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα και το DNA, και μάλιστα τα αυξημένα επίπεδα FTO συσχετίστηκαν με μικρότερα επίπεδα μεθυλίωσης του γονιδιώματος σ΄ αυτούς τους ασθενείς [44]. Με δεδομένο, επίσης, ότι στα καρκινικά κύτταρα παρατηρείται μειωμένο ποσοστό μεθυλίωσης του DNA, ίσως ο ρόλος του FTO ως ενζύμου απομεθυλίωσης να είναι κρίσιμος στη ρύθμιση των μεθυλιωμένων σε αδενίνες γονιδίων σε διάφορους τύπους καρκίνου [45].

1.2.4. Η Δράση του FTO διενεργείται μέσω των Επιπέδων Μεθυλίωσης των mRNAs

Η δράση του ενζύμου υποδεικνύει έναν πιθανό ρόλο του FTO στην επιδιόρθωση ή τροποποίηση των νουκλεϊκών οξέων και κατά συνέπεια ίσως στη ρύθμιση της έκφρασης κάποιων γονιδίων. Πειράματα έχουν δείξει ότι κατά προτίμηση απομεθυλιώνει τα RNAs, όπου υπάρχει 6meA, μέσα στον πυρήνα [25,46]. Η ύπαρξη 6meA στα διάφορα mRNAs έχει χαρτογραφηθεί ήδη σε κύτταρα ανθρώπων και ποντικών [39,40] και φαίνεται ότι είναι αρκετά συχνή, κυρίως κοντά σε κωδικόνια λήξης, σημαντικά συντηρημένη στα δύο είδη οργανισμών,

ενώ ακολουθεί αναπτυξιακά και ιστοειδικά πρότυπα ρύθμισης. Η τροποποίηση των mRNAs με 6meA στα κατάλληλα σημεία της αλληλουχίας τους έχει ισχυρό ρυθμιστικό ρόλο για τη γονιδιακή έκφραση και επηρεάζει την ωρίμανση και τη μεταφορά των mRNAs μέσα στο κύτταρο.

Όπως αναφέρθηκε, τα ένζυμα που γνωρίζουμε ότι απομακρύνουν τη μεθυλομάδα είναι το ALKBH5 [36] αλλά και το FTO, όπως έχει δείξει έρευνα στις κυτταρικές σειρές HEK, όπου η έκφραση του FTO μείωσε τα επίπεδα 6meA στο ολικό mRNA [40]. Σε μελέτες, κατά τις οποίες ποντίκια δεν εξέφραζαν το γονίδιο FTO είτε συνολικά είτε ειδικά σε νευρώνες, βρέθηκε μεγαλύτερο ποσοστό 6meA σε mRNAs του ντοπαμινεργικού μονοπατιού και μειωμένη έκφραση των αντίστοιχων γονιδίων σε κύτταρα του εγκεφάλου [39,47,48,49,50,51]. Μία πρωτοποριακή μελέτη έδειξε ότι η απομεθυλίωση της 6meA στα mRNAs έχει ρυθμιστικό ρόλο στον έλεγχο της ωρίμανσής τους, γεγονός που ίσως εξηγεί και το ρόλο του FTO στη διαφοροποίηση των προ-λιποκυττάρων και το σχηματισμό του λιπώδους ιστού [43,52,53]. Γενικότερα, επικρατεί η άποψη ότι η πιο σημαντική λειτουργία του FTO είναι να ρυθμίζει τη δημιουργία εναλλακτικών μεταγράφων κατά την ωρίμανση των mRNAs μέσω της απομεθυλίωσης της 6meA [40,54,55]. Για παράδειγμα, το FTO μέσω της απομεθυλίωσης ρυθμίζει την εναλλακτική ωρίμανση του mRNA του μεταγραφικού παράγοντα RUNX1T1, ο οποίος σχετίζεται με τη διαφοροποίηση του λιπώδους ιστού, ελέγχοντας τη δυνατότητα πρόσδεσης σ΄ αυτό του παράγοντα ωρίμανσης SRSF2 [53,55,56,57,58].

Η ικανότητα απομεθυλάσης για την πρωτεΐνη FTO ίσως έχει σημασία για το ρόλο της στη ρύθμιση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών ελέγχοντας τα κατάλληλα μονοπάτια μεταγωγής σήματος. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με έρευνες έχει βρεθεί ότι τα αλληλόμορφα κινδύνου των SNPs του FTO επηρεάζουν τα επίπεδα μεθυλίωσης, άρα και ικανότητας έκφρασης, τόσο των mRNAs γονιδίων που συμμετέχουν στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος της ντοπαμίνης όσο και του mRNA της γκρελίνης [48,59]. Μία πρωτότυπη μελέτη συσχέτισε πολυμορφισμούς του FTO με τη δυνατότητα απομεθυλίωσης της 6meA ειδικά για το mRNA της γκρελίνης και συνεπώς πρότεινε ότι η συσχέτιση του FTO με την πρόσληψη τροφής γίνεται μέσω ρύθμισης της παραγωγής αυτού του πεπτιδίου [59]. Είναι πιθανόν, λοιπόν, η συσχέτιση των SNPs του FTO με το αυξημένο BMI να διενεργείται μέσω της ενζυμικής ιδιότητας απομεθυλίωσης διαφόρων mRNAs και των αλλαγών που προκαλούνται στα μονοπάτια μεταγωγής σήματος της ντοπαμίνης και της γκρελίνης, ακόμα και μέσω του mTORC1, όπως θα αναφερθεί στη συνέχεια.

1.3. Οι Πολυμορφισμοί του FTO επηρεάζουν Διαιτολογικές Παράμετρους

1.3.1. Συχνότητα Εμφάνισης Πολυμορφισμών του FTO σε Διάφορους Πληθυσμούς

Οι πιο κοινοί πολυμορφισμοί του πρώτου εσωνίου είναι οι rs9939609, rs9926289, rs8050136, rs9930501, rs9930506, rs17817449, rs9940646, rs9940128, rs1421085, rs8043757 και συσχετίζονται με αυξημένο σωματικό βάρος, σωματικό λίπος, BMI, περιφέρεια μέσης, περιφέρεια ισχίου και πρόσληψη ενέργειας, ενώ εμφανίζουν μεταξύ τους ισχυρή ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium, ld), σε όλους τους ανθρώπους [9,60,61,62,63,64]. Η επιρροή του FTO φαίνεται να είναι παγκόσμια, καθώς μετά τις πρώτες δημοσιεύσεις του 2007 που αφορούσαν σε Ευρωπαίους, έχουν γίνει αρκετές GWAS σε πληθυσμούς με διαφορετικές καταγωγές, όπως Ασιατική [65], Αφρικανική [66] και Αμερικανική [67]. Σε αυτές τις μελέτες έχουν εντοπιστεί διαφορετικοί SNPs ως στατιστικά σημαντικότεροι για το συσχετισμό τους με την παχυσαρκία, όμως όλοι εδράζονται στην ίδια περιοχή του FTO. Για παράδειγμα, ενώ οι δύο πρώτες δημοσιεύσεις του 2007 εντόπισαν τους πολυμορφισμούς rs9939609 και rs9930506 αντίστοιχα, σε μία άλλη GWAS πάλι με εθελοντές Ευρωπαϊκής καταγωγής, εντοπίστηκε ο πολυμορφισμός rs1558902 [68]. Στους Ευρωπαίους όλοι οι SNPs που έχουν εντοπιστεί είναι στενά συνδεδεμένοι (με συντελεστή ανισορροπίας σύνδεσης, $r^2 > 0,80$) και έχουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση τόσο με το BMI όσο και με άλλα ποσοτικά χαρακτηριστικά της παχυσαρκίας. Η περιοχή, όπου εντοπίζονται αυτοί οι SNPs, εκτείνεται για τους Ευρωπαίους σε περίπου 46.000 ζεύγη βάσεων στο πρώτο εσώνιο του FTO.

Παρόμοια είναι και η ομάδα των SNPs, οι οποίοι εντοπίστηκαν σε εθελοντές της Ανατολικής Ασίας να είναι στατιστικά σημαντικά συσχετιζόμενοι με το BMI και την προδιάθεση για παχυσαρκία. Τρεις ευρείας έκτασης GWAS που έγιναν σε πληθυσμούς Κορεατών [69], Κινέζων [70] και Ιαπώνων [71] εντόπισαν η κάθε μία ένα διαφορετικό SNP ως σημαντικότερο στατιστικά συσχετιζόμενο με το BMI (rs9939609, rs17817449, rs12149832 αντίστοιχα), αλλά και οι τρεις SNPs είναι στενά συνδεδεμένοι τόσο μεταξύ τους όσο και με τους αντίστοιχους SNPs των Ευρωπαίων (ld, $r^2 > 0,90$).

Ωστόσο, σε πληθυσμούς Αφρικανικής καταγωγής η σύνδεση μεταξύ των αντίστοιχων SNPs στο πρώτο εσώνιο του FTO είναι πιο αδύναμη συγκριτικά με ό,τι αναφέρθηκε για τους Ευρωπαίους και τους Ανατολικοασιάτες. Σε μελέτη που έγινε με εθελοντές Αφρικανικής καταγωγής εντοπίστηκε ως πιο σημαντικός στατιστικά συσχετιζόμενος με το BMI πολυμορφισμός ο rs17817964 [66]. Σε άλλη μελέτη με Αφρο-Αμερικανούς εντοπίστηκε ως στατιστικά σημαντικότερος συσχετιζόμενος με το BMI ο πολυμορφισμός rs56137030 [72]. Οι δύο τελευταίοι πολυμορφισμοί βρίσκονται σε στενή σύνδεση με λιγότερους SNPs απ΄ ό,τι βρέθηκε για τους πολυμορφισμούς στους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, που μάλιστα βρίσκονται κατά μήκος μικρότερης περιοχής του πρώτου εσωνίου του FTO, με συνέπεια να μας διευκολύνουν στον περιορισμό του εύρους αναζήτησής μας για την υπεύθυνη για τη γενετική προδιάθεση προς παχυσαρκία ποικιλομορφία του FTO. Μάλιστα η μικρή αυτή ομάδα των SNPs εντοπίζεται μέσα σε ρυθμιστικά στοιχεία του εσωνίου, δύο από τα οποία προβλέπεται ότι έχουν συγγένεια σύνδεσης για διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ο CUX1, που ίσως επηρεάζουν τη μεταγραφή του FTO [73,74].

1.3.2. Επίδραση των Πολυμορφισμών του FTO σε Δείκτες Παχυσαρκίας

Οι πολυμορφισμοί του FTO θεωρούνται μέχρι σήμερα το σημαντικότερο εύρημα των GWAS όχι μόνο γιατί βρίσκονται σε μεγάλη συχνότητα στους ανθρώπινους πληθυσμούς και εξηγούν την ποικιλομορφία προδιάθεσης για παχυσαρκία κυρίως στους Ευρωπαίους, αλλά και γιατί έχουν με μεγάλη διαφορά από άλλους πολυμορφισμούς τη σημαντικότερη επίδραση σε δείκτες παχυσαρκίας όπως το BMI. Ειδικότερα, κάθε επιπλέον αλληλόμορφο κινδύνου συσχετίζεται με μεγαλύτερο BMI κατά 0,39 Kg / m^2, (δηλαδή 1,130 Kg για κάποιον με ύψος 1,70 m) και 1,20 φορές αυξημένο κίνδυνο για παχυσαρκία στους Ευρωπαίους [68]. Σε μετά-ανάλυση που συνδύασε δεδομένα από εθελοντές Ασιατικής καταγωγής βρέθηκε ότι κάθε επιπλέον αλληλόμορφο κινδύνου του FTO συσχετίζεται με μεγαλύτερο BMI κατά 0,26 Kg / m^2 (δηλαδή 0,750 Kg για κάποιον με ύψος 1,70 m) και αυξάνει τον κίνδυνο για παχυσαρκία κατά 1,25 φορές [75].

Σε ό,τι αφορά στην πρόβλεψη της ατομικής ποικιλομορφίας για παχυσαρκία και ειδικά για το BMI οι πολυμορφισμοί του FTO μπορούν να δικαιολογήσουν μόνο το 0,34 % στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό, ποσοστό που είναι βέβαια ιδιαίτερα μικρό, αλλά είναι πολύ πιο σημαντικό από κάθε άλλο γενετικό τόπο [68,76]. Στους διάφορους Ασιατικούς πληθυσμούς, το

αντίστοιχο ποσοστό είναι ακόμα μικρότερο, καθώς οι πολυμορφισμοί του FTO μπορούν να δικαιολογήσουν μόνο το 0,16 – 0,20 % της ατομικής ποικιλομορφίας για την παχυσαρκία και ειδικά το BMI. Η μείωση του ποσοστού οφείλεται αφενός στην μικρότερη επίδραση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών στο BMI, όπως αναφέρθηκε, αλλά και στη μικρότερη συχνότητα εμφάνισής τους στους Ασιάτες. Κατά προσέγγιση το 42 % του Ευρωπαϊκού πληθυσμού φέρει τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου, και το 20 % φέρει δύο αλληλόμορφα κινδύνου, με μικρές διαφορές στις γονοτυπικές συχνότητες ανάμεσα στους διάφορους πληθυσμούς Ευρωπαϊκής καταγωγής [68]. Αντίθετα, στη Νότια Ασία το ποσοστό εμφάνισης αλληλομόρφου κινδύνου κυμαίνεται μεταξύ 30 –33 %, ενώ στην Ανατολική Ασία είναι ακόμα μικρότερο, όπως στους Κορεάτες 12 – 14 % και στους Ιάπωνες 18 – 20 % [75].

Σε ό,τι αφορά στους πληθυσμούς Αφρικανικής καταγωγής, η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου κινδύνου είναι επίσης πολύ χαμηλή, μόλις 12 %. Κατά συνέπεια το ποσοστό της ατομικής ποικιλομορφίας για την παχυσαρκία και ειδικά το BMI που μπορεί να δικαιολογηθεί λόγω πολυμορφισμών στο FTO είναι επίσης πολύ χαμηλό, μόλις 0,10 %, αν και η επίδραση των αλληλομόρφων κινδύνου στο BMI είναι παραπλήσια με αυτή στους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς [66].

Συγκεντρωτικά, καθώς εκτός των άλλων η επίδραση των SNPs του γονιδίου FTO στη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία έχει επιβεβαιωθεί και σε πληθυσμούς Ισπανικής / Λατινικής καταγωγής [77,78,79,80], μπορούμε να πούμε ότι η επίδραση αυτή παρατηρείται στην πλειοψηφία των ανθρώπινων πληθυσμών, όμως η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων κινδύνου και η επίδραση τους στο BMI παρατηρείται στους Ευρωπαίους.

1.3.3. Η Επίδραση του FTO σε Ασθένειες σχετιζόμενες με την Παχυσαρκία

Γνωρίζουμε ότι η παχυσαρκία είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά και μεταβολικά νοσήματα. Κατά συνέπεια και λόγω της ισχυρής συσχέτισης των πολυμορφισμών του γονιδίου FTO με το BMI, είναι αναμενόμενο αρκετές έρευνες να δείξουν ότι οι προαναφερόμενοι SNPs συσχετίζονται επίσης με πολλούς δείκτες καρδιαγγειακών νοσημάτων [68,81,82]. Σημαντικές μελέτες έδειξαν ότι διάφοροι SNPs του FTO σχετίζονται εκτός από την παχυσαρκία [83] και το BMI [84], με την ινσουλινοαντίσταση [85], το μεταβολικό σύνδρομο [86], την υπέρταση [87], την αρτηριοσκλήρυνση [88] και τα

επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης [89]. Επίσης, σε μία ευρείας κλίμακας μετά-ανάλυση 36 μελετών, τα αλληλόμορφα κινδύνου για αυξημένο BMI συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο για διαβήτη τύπου 2, καρδιακή ανεπάρκεια, στεφανιαία νόσο, ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια, υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, μεταβολικό σύνδρομο, θνησιμότητα, αυξημένα επίπεδα γλυκόζης νηστείας και ινσουλίνης, αυξημένη πίεση και λιπίδια αίματος, καθώς και αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων και δεικτών φλεγμονής [82]. Η επίδραση πολυμορφισμών του FTO ειδικά για τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2, ακόμα και ανεξάρτητα από την επίδρασή τους στο BMI, έχει δειχτεί και σε αρκετές άλλες μελέτες [75,90,91].

Καθώς η παχυσαρκία σχετίζεται και με αυξημένο κίνδυνο για ορισμένους τύπους καρκίνου, έχει διερευνηθεί και το κατά πόσο οι πολυμορφισμοί του γονιδίου FTO δημιουργούν γενετική προδιάθεση όχι μόνο για παχυσαρκία, αλλά και με κάποιους απ΄ αυτούς τους τύπους καρκίνου. Στο συγκεκριμένο τομέα υπάρχουν αντικρουόμενες μελέτες, καθώς κάποιες υποστηρίζουν μία τέτοια συσχέτιση [92,93,94,95,96,97,98], ενώ κάποιες άλλες όχι [99,100,101,102]. Ειδικότερα, δύο ευρείας κλίμακας μετά-αναλύσεις έχουν δείξει συσχέτιση πολυμορφισμών του γονιδίου FTO με τον καρκίνο του μαστού [103] και το μελάνωμα [104]. Όμως οι SNPs, που βρέθηκαν ότι συσχετίζονται με τον καρκίνο στις δύο αυτές περιπτώσεις, εδράζονται στο δεύτερο και όγδοο εσώνιο του γονιδίου αντίστοιχα, και μάλιστα δεν εμφανίζουν ισχυρή σύνδεση ούτε μεταξύ τους (ld, $r^2 < 0,10$) ούτε φυσικά με τους SNPs του πρώτου εσωνίου. Μάλιστα, το δεδομένο ότι η συσχέτισή των SNPs με τον καρκίνο δε γίνεται μέσω επίδρασης τους και στο BMI [103,104] ίσως δείχνει ότι η δράση του FTO δεν περιορίζεται μόνο στη ρύθμιση του σωματικού βάρους, αλλά επεκτείνεται και σε άλλες βιολογικές λειτουργίες.

1.3.4. Η Επίδραση του FTO σε Διάφορες Ηλικιακές Ομάδες

Αν και αρχικά η επίδραση του FTO ανακαλύφθηκε σε έρευνες που αφορούσαν ενήλικες, στη συνέχεια επιβεβαιώθηκε και σε έρευνες που αφορούσαν στην παιδική και εφηβική ηλικία. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι πολυμορφισμοί του FTO μπορεί να μην επηρεάζουν το σωματικό βάρος κατά την γέννηση [105,106,107,108,109], αλλά σύμφωνα με προοπτικές μελέτες ξεκινούν να επηρεάζουν το σωματικό βάρος από την πρώιμη παιδική ηλικία, περίπου στα 3 έτη. Η επίδραση αυτή μεγεθύνεται στα επόμενα χρόνια φτάνοντας στη μέγιστη τιμή της στην εφηβεία και τα πρώτα έτη ενηλικίωσης, ενώ στη συνέχεια η επίδραση μειώνεται κατά τη διάρκεια της υπόλοιπης ενήλικης ζωής [105,106,107,110,111,112,113].

1.3.5. Αλληλεπίδραση Πολυμορφισμών του FTO και Πρόσληψης Θρεπτικών Συστατικών

Υπάρχουν κάποιες τελευταίες ενδείξεις ότι το FTO έχει ρυθμιστικό ρόλο στην πρόσληψη τροφής, καθώς προσδιορίστηκε ότι τα αλληλόμορφα κινδύνου των υπεύθυνων για την αύξηση του BMI πολυμορφισμών του FTO σχετίζονται με αυξημένη πρόσληψη τροφής [114,115,116,117], αυξημένη διαιτητική πρόσληψη λίπους [116,118,119] ή πρωτεΐνης [117,120], αύξηση της όρεξης και μείωση του κορεσμού [121,122], χαμηλής ποιότητας επιλογές τροφίμων και διατροφικών συνηθειών [123,124] και απώλεια ελέγχου κατά τη διάρκεια του γεύματος [125].

Ειδικότερα, μία GWAS που αφορούσε στη διαιτητική πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών βρήκε πολύ σημαντική συσχέτιση των SNPs του γονιδίου FTO με την αυξημένη πρόσληψη πρωτεΐνης [126]. Επίσης, κάποιες μελέτες έχουν δείξει και την αντίστροφη αλληλεπίδραση, δηλαδή ότι συγκεκριμένες διαιτητικές συνήθειες και ποσότητες ενεργειακής πρόσληψης μπορούν να μετριάσουν τις επιπτώσεις των πολυμορφισμών του γονιδίου FTO στην προδιάθεση για παχυσαρκία [117,120,127].

Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών αναφέρει ότι οι SNPs του FTO σχετίζονται με τον κορεσμό, την όρεξη και την υπερφαγία. Μία μετά-ανάλυση 37 μελετών επιβεβαίωσε ότι ο πολυμορφισμός rs9939609 έχει σημαντική επίδραση στην πρόσληψη υδατανθράκων και τη συνολική ενεργειακή πρόσληψη, ειδικά όταν ο φορέας του αλληλομόρφου κινδύνου A έχει σημαντικά μειωμένα επίπεδα πρόσληψης φυτικών ινών και αυξημένα επίπεδα πρόσληψης πρωτεΐνης [123]. Για άλλους γνωστούς πολυμορφισμούς του FTO υπάρχουν επίσης πολύ σημαντικά ευρήματα, όπως συσχέτιση με το ποσοστό λίπους, το ποσοστό υδατανθράκων και το ποσοστό πρωτεΐνης στην τροφή, αλλά και με τη συνολική ενεργειακή πρόσληψη [48,64,119,126,128,129,130].

1.3.6. Το FTO ως Αισθητήρας Συγκέντρωσης Θρεπτικών Στοιχείων

Είναι γενικότερα αποδεκτό ότι αφενός η έκφραση του FTO μπορεί να επηρεάσει τη διαιτητική πρόσληψη και αφετέρου η διατροφική κατάσταση του οργανισμού μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα έκφρασής του γονιδίου. Μάλιστα, μία μελέτη προσπάθησε να

διερευνήσει αν το κρίσιμο θρεπτικό στοιχείο, που θα αποτελούσε το συνδετικό κρίκο με το FTO σε έναν τέτοιο μηχανισμό ανίχνευσης, είναι το 2-κετο-γλουταρικό, το οποίο αποτελεί απαραίτητο συμπαράγοντα για να δράσει το ένζυμο, αλλά και ταυτόχρονα γνωρίζουμε ότι αποτελεί σημαντικό μόριο για το μεταβολισμό των αμινοξέων και τον κύκλο του κιτρικού οξέος [131]. Όμως η συνήθης ενδοκυτταρική συγκέντρωση του 2-κετο-γλουταρικού είναι δεκαπλάσια από την υπολογισμένη Km του για το ένζυμο FTO, κάτι που καθιστά απίθανο το ενδεχόμενο να αποτελεί εκτός από συμπαράγοντα του ενζύμου και το μόριο που ρυθμίζει την ενεργότητά του ανάλογα με τα επίπεδα συγκέντρωσης των αμινοξέων [131].

Επιπλέον στοιχεία από έρευνες αναφέρουν ότι η πλήρης στέρηση ορισμένων αμινοξέων σε κυτταρικές σειρές ανθρώπων και ποντικών, προκαλεί μεγάλη μείωση των ποσοτήτων τόσο του mRNA του FTO όσο και της αντίστοιχης πρωτεΐνης [132]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι η παρατήρηση αυτή αφορά αποκλειστικά τα απαραίτητα αμινοξέα. Θα μπορούσε να θεωρηθεί τελικά ότι το FTO λειτουργεί ως αισθητήρας των απαραίτητων αμινοξέων κι όχι του 2-κετο-γλουραρικού και πιθανότατα επηρεάζει τα επίπεδα μεταφραστικής δραστηριότητας, όπως άλλωστε φαίνεται και από τις αναπτυξιακές διαταραχές σε ποντίκια φορείς μεταλλάξεων του FTO [132,133,134,135,136,137,138], οι οποίες μπορεί να επηρεάζονται από τη σωστή διαχείριση των συγκεντρώσεων αμινοξέων.

1.4. Μεταλλάξεις του FTO και Συνέπειες

1.4.1. Μεταλλάξεις στα Εξώνια του FTO που σχετίζονται με Αυξημένο Κίνδυνο Παχυσαρκίας

Τρεις μελέτες έχουν εντοπίσει πάνω από 45 σπάνιες μεταλλάξεις σε εξώνια του γονιδίου FTO μετά από αλληλούχισή τους, κάποιες από τις οποίες μάλιστα έχει προβλεφθεί ότι έχουν καταστρεπτικές συνέπειες στη λειτουργία του. Παρόλα αυτά όμως, καμία απ΄ αυτές τις μελέτες δεν έδειξε ότι κάποια απ΄ αυτές τις μεταλλάξεις ή συνδυασμός τους εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα είτε σε παχύσαρκους είτε σε ελλιποβαρείς ανθρώπους [27,139,140].

Σε άλλες μελέτες προσπάθησαν να διερευνήσουν αν μεταλλάξεις αντικατάστασης αμινοξέων στο ένζυμο εντοπίζονται με διαφορετική συχνότητα σε παχύσαρκους ή ελλιποβαρείς ανθρώπους, αλλά τα αποτελέσματα δεν έδειξαν κάποια διαφορά στη συχνότητα ακόμα και σε προοπτικές μελέτες [27,141].

1.4.2. Συνέπειες από την Έλλειψη του Γονιδίου FTO

Γνωρίζουμε ότι το FTO είναι το ένα από έξι διαδοχικά γονίδια, μαζί με τα Ftl, Ftm, Irx3, Irx5 και Irx6, τα οποία βρίσκονται στο μεγέθους 1.600.000 ζ.β. τμήμα χρωμοσώματος, που λείπει στα μεταλλαγμένα ποντίκια με το φαινότυπο «ενωμένα δάκτυλα» (fused toes) [12]. Τα ομόζυγα για τη μετάλλαξη ποντίκια πεθαίνουν στην εμβρυική ηλικία έχοντας υποανεπτυγμένα χαρακτηριστικά προσώπου, ενώ τα ετερόζυγα έχουν σοβαρές αναπτυξιακές διαταραχές με ελαττωματική ανάπτυξη του υποθαλάμου, ασυμμετρία σώματος, υπερπλασία του θύμου αδένα, μεταβολικές αλλαγές και ενωμένα δάκτυλα [19,142,143].

Πειράματα με στοχευμένη έλλειψη μόνο του γονιδίου FTO δεν εμφάνισαν όλους τους προηγούμενους φαινοτύπους στα ποντίκια, αλλά προκάλεσαν υψηλή θνησιμότητα λίγο μετά τη γέννηση, μειωμένη λιπώδη μάζα και αυξημένη κατανάλωση τροφής [142], θνησιμότητα σε συνδυασμό με μειωμένο βάρος και ύψος κατά τη γέννηση [42], καθυστέρηση ανάπτυξης, μειωμένη λιπώδη και άλιπη μάζα, αλλά και αυξημένη πρόσληψη τροφής σε σχέση με την άλιπη μάζα των ποντικιών [42,142]. Δύο ακόμα ανεξάρτητες μελέτες επιβεβαίωσαν το φαινότυπο της μη φυσιολογικής ανάπτυξης μετά τη γέννηση [142,144]. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν τον κρίσιμο ρόλο του FTO στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα για τον έλεγχο της ανάπτυξης του σώματος.

Η έλλειψη του FTO στους ανθρώπους οδηγεί επίσης σε ένα σοβαρό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται κυρίως από την καθυστέρηση ανάπτυξης μετά τη γέννηση, δυσμορφίες προσώπου, μικροκεφαλία, ψυχοκινητική καθυστέρηση και ελαττωματικές λειτουργίες του εγκεφάλου [141].

1.4.3. Συνέπειες από την Έλλειψη Λειτουργικής Πρωτεΐνης FTO

Όπως προαναφέρθηκε, στους ανθρώπους έχει βρεθεί ότι μία μετάλλαξη, που προκαλεί απώλεια λειτουργίας της πρωτεΐνης FTO, έχει ως φαινοτυπικά αποτελέσματα μειωμένη ανάπτυξη, μικροκεφαλία, ψυχοκινητική καθυστέρηση, χαρακτηριστικές δυσμορφίες προσώπου, καθώς και δυσλειτουργίες σε εγκέφαλο, καρδιά και γεννητικά όργανα [141]. Ομόζυγα άτομα για τη μετάλλαξη εντοπίστηκαν σε μία οικογένεια και παρουσίασαν τις πολλαπλές μορφολογικές και λειτουργικές, ανωμαλίες που αναφέρθηκαν, αλλά και

θνησιμότητα σε μικρή ηλικία [145]. Η μετάλλαξη αυτή αφορά την αντικατάσταση του αμινοξικού καταλοίπου της αργινίνης από γλουταμίνη, η οποία αποτελεί ένα από τα συντηρημένα και απολύτως απαραίτητα αμινοξέα για την πρόσδεση στο ενεργό κέντρο του ενζύμου του 2-κετο-γλουταρικού. Αυτό το γεγονός έχει ως συνέπεια το ένζυμο να χάνει την καταλυτική του δράση [27] και να εμφανίζονται αυτές οι τόσο σοβαρές συνέπειες στο φαινότυπο, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι φαίνεται να είναι τόσο κρίσιμος ο ρόλος του ενζύμου FTO ως απομεθυλάση για την ομαλή φυσιολογία του ανθρώπινου οργανισμού, ώστε κανένα από τα νεογνά που εμφάνισαν την παραπάνω μετάλλαξη δεν ξεπέρασε τελικά την ηλικία των 30 μηνών.

Μία ακόμα πρόσφατη καινοφανής μελέτη σε κορίτσι 1 έτους και 9 μηνών με πολλά προβλήματα ακοής, όρασης, καρδιακή υπερτροφία, γενικευμένη καθυστέρηση ανάπτυξης και χαρακτηριστικές δυσμορφίες στο πρόσωπο έδειξε ότι η αντικατάσταση μίας σερίνης από φαινυλαλανίνη, κοντά στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, οδηγεί σε απώλεια ενεργότητας του ενζύμου κι ότι αυτό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του Νευρικού και του Καρδιαγγειακού Συστήματος στα βρέφη. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το ένζυμο έδειξε μειωμένη ενεργότητα απομεθυλάσης και πρόσδεσης του 2-κετο-γλουταρικού [134].

1.5. FTO και Μοριακοί Μηχανισμοί Ρύθμισης

1.5.1. Πιθανές Ζλληλεπιδράσεις του FTO με Γειτονικά Γονίδια

Πολύ κοντά στους SNPs του πρώτου εσωνίου του FTO βρίσκεται το σημείο έναρξης της μεταγραφής του γονιδίου RPGRIP1L (ορθόλογο με το γονίδιο Ftm των ποντικιών) [73] και γι΄ αυτό το λόγο έχει διερευνηθεί ο ρόλος κι αυτού του γονιδίου στη ρύθμιση του σωματικού βάρους.

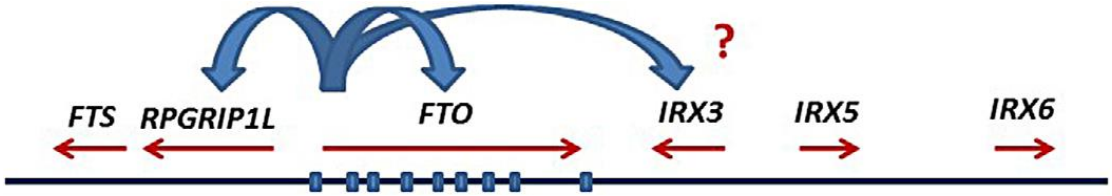
Σχήμα 3. Διαγραμματική απεικόνιση του FTO και των γειτονικών γονιδίων στο μεγάλο βραχίονα του χρωμασώματος 16. [21]

Σε ασθενείς που έφεραν επιβλαβή μετάλλαξη του RPGRIP1L, η οποία προκαλεί το σύνδρομο Joubert τύπου B, δεν παρατηρήθηκαν φαινότυποι σχετιζόμενοι με το σωματικό βάρος, αν και φυσικά κάτι τέτοιο δεν είναι εύκολο να διακριθεί όταν κάποιος εμφανίζει ταυτόχρονα πολλούς άλλους σοβαρούς φαινοτύπους, όπως εγκεφαλικές, ηπατικές και νεφρικές ανωμαλίες λόγω του συνδρόμου [146]. Παρόμοια αποτελέσματα προκαλεί και στα ποντίκια η έλλειψη του ορθόλογου γονιδίου Ftm [146].

Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα γονίδια FTO και RPGRIP1L υπόκεινται σε κοινούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς, με πιθανή κοινή ρυθμιστική περιοχή μέσα στο πρώτο εσώνιο του γονιδίου FTO, όπου εντοπίζονται τουλάχιστον δύο υποψήψιες αλληλουχίες πρόσδεσης του μεταγραφικού παράγοντα CUX1, μία από τις οποίες περιέχει συσχετιζόμενους με την παχυσαρκία SNPs [72,73], όπως προαναφέρθηκε. Ίσως λοιπόν οι SNPs του πρώτου εσωνίου να ελέγχουν την έκφραση τόσο του FTO όσο και του RPGRIP1L, αν και τουλάχιστον στον υποθάλαμο παρατηρούμε διαφορική έκφραση μόνο του FTO κι όχι του RPGRIP1L ως απόκριση στη διαιτητική σύσταση [13].

Άλλες μελέτες έδειξαν ότι οι πολυμορφισμοί του FTO δρουν έμμεσα επηρεάζοντας την έκφραση του γονιδίου RPGRIP1L [147,148], καθώς η μείωση της έκφρασης του FTO οδηγεί σε μείωση της έκφρασης και του RPGRIP1L.

Η ομάδα των SNPs του FTO, οι οποίοι εμφανίζουν ισχυρή ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους, βρίσκεται σε μία περιοχή του γονιδίου που περιέχει ένα μεγάλο αριθμό συντηρημένων μη κωδικών αλληλουχιών. Αυτές οι αλληλουχίες μπορούν να δράσουν ως ρυθμιστικά στοιχεία, που επηρεάζουν άλλα γονίδια-στόχους. Έχει βρεθεί ότι το γειτονικό γονίδιο IRX3 ακολουθεί το ίδιο πρότυπο έκφρασης με το FTO. Με δεδομένο ότι το IRX3 εκφράζεται σε μεγάλες ποσότητες στο πάγκρεας, είναι πιθανό η συσχέτιση που έχουν οι πολυμορφισμοί του FTO τουλάχιστον με το διαβήτη τύπου 2 να οφείλεται ουσιαστικά στο γονίδιο IRX3 [149]. Πειράματα με εγκεφαλικό ιστό από ποντίκια έχουν επιβεβαιώσει ότι υπάρχουν cis ρυθμιστικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο FTO και το IRX3 [150]. Κατά συνέπεια η περιοχή των SNPs, που συσχετίζεται με την παχυσαρκία, λειτουργεί όχι μόνο ελέγχοντας τη λειτουργία του FTO αλλά κι ως μακρινός ενισχυτής του IRX3, που τελικά αποτελεί αποφασιστικό παράγοντα για το σωματικό βάρος και τη σύστασή του.

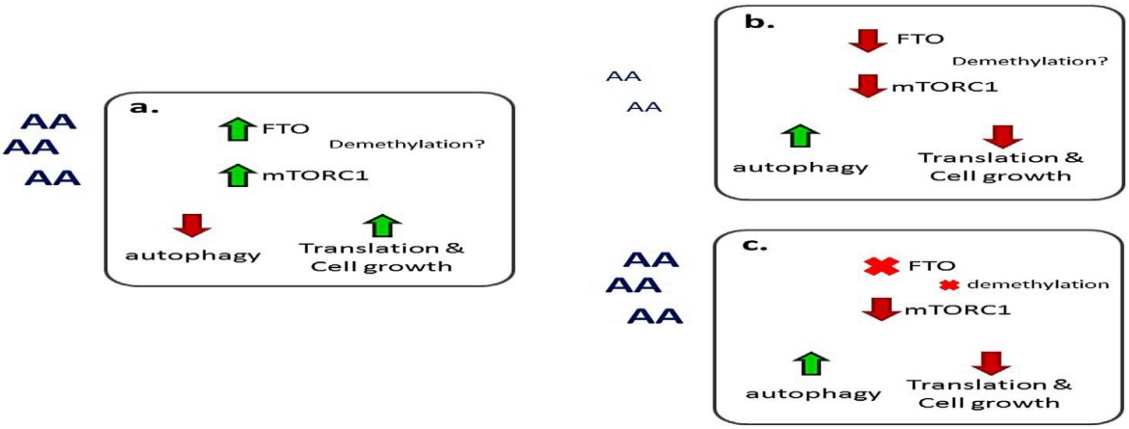


Σχήμα 4. Διαγραμματική απεικόνιση των σχέσεων αλληλεπίδρασης μεταξύ του FTO και των γειτονικών γονιδίων. [26]

Μέχρι τώρα οι μελέτες έδειχναν ότι η λειτουργία του γονιδίου FTO συσχετίζεται με την παχυσαρκία και ρυθμίζεται από τον υποθάλαμο, την περιοχή του εγκεφάλου που ελέγχει το αίσθημα της όρεξης και τη φυσική δραστηριότητα [151,152]. Νέες μελέτες δείχνουν ότι οι πολυμορφισμοί του FTO έχουν τη μεγαλύτερη επίδρασή τους στα προ-λιποκύτταρα και αυτό γίνεται ανεξάρτητα από τη λειτουργία του εγκεφάλου. Η θερμογένεση είναι ένας τρόπος κατανάλωσης ενέργειας στα λιποκύτταρα, που εξαρτάται από την κινητικότητα, τη δίαιτα και τη θερμοκρασία [153]. Νέοι μηχανισμοί ρύθμισης ελέγχουν τη μετατροπή του λευκού λιπώδους ιστού σε φαιό και μπορούν να επηρεάσουν την ομοιόσταση ενέργειας στον οργανισμό [154,155]. Έρευνες αποδεικνύουν ότι η απενεργοποίηση του γονιδίου IRX3, αλλά και του IRX5, οδηγεί σε απώλεια βάρους και μείωση των αποθηκών λίπους, επηρεάζοντας και τη δυνατότητα χρήσης του λίπους για τη θερμογένεση, με τη λειτουργία των γονιδίων να εντοπίζεται κυρίως στα λιποκύτταρα [156,157,158].

1.5.2. Το FTO συμμετέχει σε Μονοπάτι Μεταγωγής Σήματος μέσω του mTORC1

Η μειωμένη μεταγωγή σήματος μέσω του mTORC1 και η επακόλουθη ενεργοποίηση της Αυτοφαγίας προκαλείται από τη στέρηση αμινοξέων στα κύτταρα. Σε κύτταρα με έλλειψη δράσης του γονιδίου FTO έχει παρατηρηθεί μειωμένη ενεργοποίηση του μονοπατιού μεταγωγής σήματος μέσω του mTORC1 και συνεπώς αυξημένα επίπεδα Αυτοφαγίας, γεγονότα που θα μπορούσαν να εξηγήσουν τους φαινοτύπους μειωμένης ανάπτυξης, οι οποίοι παρατηρούνται τόσο σε ομόζυγα για την έλλειψη δράσης του FTO ποντίκια [42] όσο και σε ομόζυγους για μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας του ενζύμου ανθρώπους [141]. Κατά συνέπεια, η εισαγωγή και έκφραση εξωγενούς FTO στα κύτταρα θα μπορούσε ίσως να προκαλέσει συνέχιση λειτουργίας της μεταγωγής του σήματος με κάποια άμεση ή έμμεση εμπλοκή του FTO στην ενεργοποίηση του mTORC1.



Σχήμα 5. Ο ρόλος του FTO ως ανιχνευτής αμινοξέων. **a.** Με επαρκή επίπεδα αμινοξέων διατηρούνται τα επίπεδα του FTO και η δραστικότητα του mTORC1, οδηγώντας σε αναστολή της Αυτοφαγίας και φυσιολογική μεταφραστική δραστηριότητα και κυτταρική ανάπτυξη. **b.** Όταν υπάρχει έλλειψη αμινοξέων, τα επίπεδα του FTO και η δραστικότητα του mTORC1 μειώνονται, οδηγώντας σε επαγωγή της Αυτοφαγίας και μειωμένη μεταφραστική δραστηριότητα και κυτταρική ανάπτυξη. Ο μηχανισμός αυτός εξασφαλίζει στο κύτταρο τη διατήρηση των ενεργειακών του επιπέδων. **c.** Όταν το FTO δε λειτουργεί, το κύτταρο συμπεριφέρεται σαν να στερείται αμινοξέα, με αποτέλεσμα να μειώνει τη μεταγωγή σήματος μέσω του mTORC1 και να επάγει την Αυτοφαγία. AA: αμινοξύ, mTORC1: mammalian target of rapamycin complex 1. [26]

Πραγματικά, σε έρευνα, που χρησιμοποίησε κύτταρα ποντικών ομόζυγων για την έλλειψη λειτουργίας του FTO, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της μεταφραστικής διαδικασίας, η οποία επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα με την επανέκφραση σε αυτά τα κύτταρα του FTO, υποδεικνύοντας έτσι το ρόλο του γονιδίου στην αύξηση των επιπέδων μεταφραστικής δραστηριότητας [159]. Μπορούμε, λοιπόν, να υποθέσουμε ότι ένα κύτταρο χωρίς το FTO γονίδιο συμπεριφέρεται σαν να στερείται αμινοξέα, μειώνει τη μεταγωγή σήματος μέσω του mTORC1 και αυξάνει την Αυτοφαγία στην προσπάθειά του να διατηρήσει τα επίπεδα παραγωγής ενέργειας. Οι συνέπειες αυτών των γεγονότων φαίνονται σε μία άλλη μελέτη, όπου η στοχευμένη έλλειψη του FTO σε ποντίκια οδήγησε σε μείωση του σωματικού βάρους, με το μεγαλύτερο ποσοστό αυτής της μείωσης να αντιστοιχεί στην άλιπη μάζα σώματος, δηλαδή κυρίως στους σκελετικούς μύες, οι οποίοι γνωρίζουμε ότι αποτελούν τη μεγαλύτερη δεξαμενή πρωτεϊνών στο σώμα και συνεπώς το βασικό στόχο για την επαγωγή της Αυτοφαγίας [142].

1.6. Ανάπτυξη και Ομοιόσταση επηρεάζονται από το FTO

1.6.1. Το FTO σχετίζεται με τη Λειτουργία πολλών Οργάνων

Γνωρίζουμε ότι το FTO εκφράζεται σχεδόν σε όλους τους ιστούς και τα όργανα σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια [13]. Θεωρείται ότι συμμετέχει στη συμμετρία του σώματος, την κρανιοπροσωπική ανάπτυξη και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο [18], ενώ φαινότυποι όπως ανισομαστία, δυσμορφίες στο πρόσωπο, διανοητική καθυστέρηση και παχυσαρκία συσχετίζονται με γενετικές ποικιλομορφίες στη χρωμοσωμική του περιοχή, η οποία περιέχει κι άλλα γονίδια [14]. Υψηλά επίπεδα έκφρασης του γονιδίου παρατηρούνται στο λιπώδη ιστό και τους σκελετικούς μύες [9], αλλά θεωρείται ότι η επίδραση, που έχει στην ομοιόσταση ενέργειας, οφείλεται κυρίως στα επίπεδα έκφρασής του στον εγκέφαλο και συγκεκριμένα στον υποθάλαμο, όπου βρίσκεται το κέντρο ελέγχου της διαιτητικής πρόσληψης [13].

1.6.2. Το FTO συμμετέχει στην Ομοιόσταση της Ενέργειας

Η μέγιστη έκφρασή του FTO γίνεται στην περιοχή του υποθαλάμου, η οποία είναι υπεύθυνη για την ομοιόσταση ενέργειας, τον τοξοειδή πυρήνα [13], και πιθανότατα υποδηλώνει το ρόλο-κλειδί, που διαδραματίζει στη ρύθμιση της όρεξης και του ενεργειακού μεταβολισμού. Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι τα ίδια αρνητικά φαινοτυπικά αποτελέσματα, που προαναφέρθηκε ότι προκαλεί η έλλειψη του FTO από όλα τα κύτταρα του οργανισμού, μπορεί να προκαλέσει και η στοχευμένη έλλειψή του μόνο από κύτταρα του εγκεφάλου [144].

Γνωρίζουμε ότι στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου η έκφραση του γονιδίου FTO υφίσταται ρύθμιση ανάλογα με τη διατροφική κατάσταση του οργανισμού, μειούμενη μετά από 48 ώρες νηστείας και αυξανόμενη μετά από 10 εβδομάδες χορήγησης τροφής πλούσιας σε λίπος [13]. Έχει αναφερθεί, επίσης, ότι ρυθμίζοντας τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου FTO στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου μπορούμε να επηρεάσουμε τη διαιτητική πρόσληψη [160].

Έρευνες που έγιναν σε ποντίκια έδειξαν ότι τα ομόζυγα για την έλλειψη του FTO άτομα παρουσίασαν υπερφαγία, ενώ τα ετερόζυγα άτομα παρουσιάζουν αντίσταση κατά της πρόκλησης παχυσαρκίας με χορήγηση τροφής πλούσιας σε λίπος [42]. Σε μία άλλη έρευνα με διαγονιδιακά ποντίκια, τα οποία έφεραν επιπλέον αντίγραφα του γονιδίου FTO,

παρατηρήθηκε ότι αυτά παρουσίασαν μία δοσοεξαρτώμενη αύξηση στη λιπώδη μάζα και στο σωματικό τους βάρος και αυτό μάλιστα συνέβη ανεξάρτητα από τη χορήγηση ισορροπημένης ή πλούσιας σε λίπος τροφής [83]. Επιπλέον, τα συγκεκριμένα ποντίκια παρουσίασαν μείωση των επιπέδων λεπτίνης στο αίμα τους, γεγονός που ίσως εξηγεί και την αύξηση στο βάρος τους.

Ποντίκια που είναι φορείς μεταλλαγμένων FTO γονιδίων εμφανίζουν αύξηση της κατανάλωσης τροφής [42,161] ή σε άλλες περιπτώσεις αρχική αύξηση της μάζας τους, η οποία ακολουθείται από ανορεξιγονικά φαινόμενα λόγω αύξησης της λεπτίνης [162] ή ακόμα και αυξημένους ρυθμούς ανταλλαγής αναπνευστικών αερίων και κατανάλωσης ενέργειας [144,163,164]. Άλλα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, τα οποία έφεραν επιπλέον αντίγραφα του FTO, παρουσίασαν αύξηση της λιπώδους και της συνολικής μάζας τους ανεξάρτητα από την ποιότητα τροφής που τους χορηγήθηκε [47,165]. Σε ποντίκια, όπου απενεργοποιήθηκε πλήρως η δράση των FTO, γονιδίων παρατηρήθηκε μείωση του βάρους λόγω αύξησης της κατανάλωσης ενέργειας [142].

Κατά συνέπεια, οι ενδείξεις αυτές, σε συνδυασμό με τις προαναφερόμενες έρευνες για το ρόλο των αλληλομόρφων κινδύνου στην αύξηση της διαιτητικής πρόσληψης, υποστηρίζουν την υπόθεση ότι το FTO συμμετέχει στους μηχανισμούς ομοιόστασης της ενέργειας στον οργανισμό και μπορεί να επηρεάσει το σωματικό βάρος.

1.7. Η Επίδραση του Τρόπου Ζωής στη Συσχέτιση FTO και Παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία ως παγκόσμια επιδημία αποτελεί κίνδυνο για τη δημόσια υγεία και οφείλεται κύρια στον τρόπο ζωής μας, όπως είναι η μεγάλη πρόσληψη ενέργειας, η έλλειψη άσκησης αλλά και επαρκούς ύπνου [166]. Η πρόσληψη τροφής και η άσκηση είναι οι βασικοί ρυθμιστές του σωματικού βάρους και της ομοιόστασης ενέργειας, οπότε είναι πιθανό να υπάρχει αλληλεπίδραση και της άσκησης με τους πολυμορφισμούς του FTO στην προδιάθεση για παχυσαρκία. Πρόσφατες μελέτες τονίζουν ότι οι άνθρωποι, που έχουν τα αλληλόμορφα κινδύνου του FTO και συνεπώς γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία, έχουν σημαντικό όφελος για τη ρύθμιση του σωματικού τους βάρους από την αυξημένη φυσική δραστηριότητα, χωρίς όμως να γνωρίζουμε ακόμα τους βιολογικούς μηχανισμούς που ευθύνονται για τη σχέση αυτή.

Διερευνώντας την επίδραση των SNPs στα επίπεδα άσκησης-φυσικής δραστηριότητας, διάφορες μελέτες [120,167,168,169,170,171,172] έδειξαν ότι οι πολυμορφισμοί δεν αυξάνουν, αλλά ούτε και μειώνουν τη φυσική δραστηριότητα. Μία ευρείας κλίμακας μετά-ανάλυση επιβεβαίωσε αυτές τις ενδείξεις, ενισχύοντας όμως παράλληλα και τη διαπίστωση μίας αντίστροφης αλληλεπίδρασης [173]. Συγκεκριμένα, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι σε ανθρώπους με αυξημένη φυσική δραστηριότητα μειώνονται κατά περίπου 30 % οι επιδράσεις των πολυμορφισμών του FTO στην αύξηση του BMI και στον αυξημένο κίνδυνο για παχυσαρκία, σε σχέση με τους ανθρώπους που ακολουθούν κυρίως καθιστική ζωή. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί και από πλήθος άλλων ανεξάρτητων μελετών [167,170,171,172,174,175].

Σε ό,τι αφορά στους εφήβους, βρέθηκε ότι η συμμετοχή τους για 1 ώρα σε μέτρια ή έντονη άσκηση καθημερινά έχει ως αποτέλεσμα να μην επηρεάζονται από την επίδραση του αλληλομόρφου κινδύνου A στην αύξηση του BMI και της περιφέρειας μέσης, η οποία γνωρίζουμε ότι ισχύει για τους εφήβους, οι οποίοι δεν ακολουθούν το ίδιο καθημερινό πρόγραμμα [177]. Πολλές άλλες πρόσφατες ανεξάρτητες μελέτες έχουν δείξει ότι ο τρόπος ζωής και ειδικά η φυσική δραστηριότητα μπορούν να τροποποιήσουν τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία είτε σε ενήλικες είτε σε εφήβους. Μία μεγάλη μετά-ανάλυση αποκάλυψε ότι οι ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs9939609 μπορούν να μειώσουν το σωματικό τους βάρος, εφόσον έχουν αυξημένη φυσική δραστηριότητα, αναιρώντας τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία [173]. Οι μελέτες έχουν επεκταθεί σε πληθυσμούς παιδιών και ενηλίκων με καταγωγή από διάφορες ηπείρους, όπως Ευρώπη, Ανατολική και Νότια Ασία, Αφρική, Αμερική, και όλες έχουν αποδείξει στατιστικά σημαντική συσχέτιση της φυσικής δραστηριότητας με τη δράση των πολυμορφισμών του πρώτου εσωνίου [152,178,179].

Μία μελέτη έδειξε ότι ακόμα και το κάπνισμα επηρεάζει την επίδραση των πολυμορφισμών του γονιδίου FTO στη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία [180], και καθώς κάποιοι πολυμορφισμοί στο πρώτο εσώνιο έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με το βαθμό μεθυλίωσης, ίσως η αλληλεπίδραση αυτή εξαρτάται και από επιγενετικά φαινόμενα [181,182,183]. Ο συνδυασμός της γενετικής προδιάθεσης και περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η φυσική δραστηριότητα, οι διαιτητικές συνήθειες [184,185,186] και το κάπνισμα [180] μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές της σύστασης του σώματός μας, που εξαρτώνται από τον ιδιαίτερο γονότυπο του καθενός μας. Αν και οι παράγοντες αυτοί δεν είναι ιδιαίτερα ακριβείς ως προς τη μέτρησή τους, αξίζει να μελετηθούν περισσότερο για το πώς αλληλεπιδρούν με τη

γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία. Ειδικότερα για την επίδραση των πολυμορφισμών του γονιδίου FTO στην παχυσαρκία, υπάρχουν, όπως αναφέρθηκε, ενδείξεις ότι η αυξημένη φυσική δραστηριότητα όχι μόνο μπορεί να μετριάσει τις επιπτώσεις τους, αλλά κι ό,τι ίσως αυτό να σχετίζεται και με κάποια προκαλούμενη αλλαγή στην αλληλεπίδραση των SNPs με τη διαιτητική πρόσληψη συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών.

1.8. Σκοπός της Μελέτης

Η παρούσα μελέτη έχει ως βασικό σκοπό τη διερεύνηση της συσχέτισης του πολυμορφισμού rs9939609 του γονιδίου FTO με τη γενετική προδιάθεση για τις αθλητικές επιδόσεις των εφήβων, που ασχολούνται με την υδατοσφαίριση. Μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχθεί κάτι παρόμοιο και δεν έχει χαρακτηριστεί κάποιος πολυμορφισμός σχετιζόμενος με την παχυσαρκία ως γενετικός δείκτης αθλητικών επιδόσεων στην υδατοσφαίριση. Παράλληλα, όμως, γίνεται γενικότερη αξιολόγηση αυτού του γενετικού δείκτη σε σχέση με την επιρροή του στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εφήβων, τις αιματολογικές-βιοχημικές τους εξετάσεις και την καθημερινή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Αξιολογείται, επίσης, η επίδραση της συστηματικής ενασχόλησης με την υδατοσφαίριση στα αποτελέσματα της γενετικής προδιάθεσης για παχυσαρκία, όπως η αύξηση του BMI, την οποία είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι προκαλεί στους εφήβους ο πολυμορφισμός του FTO. Στους επιθυμητούς σκοπούς της μελέτης είναι και η εύρεση των συχνοτήτων εμφάνισης κάθε γονοτυπικής κατηγορίας (TT, AT, AA) στο δείγμα του πληθυσμού, που επιλέγηκε, και η σύγκρισή τους με τα ήδη γνωστά από τη βιβλιογραφία στο γενικό πληθυσμό.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Σχεδιασμός της Έρευνας

Η συγκεκριμένη συγχρονική μελέτη αποτελεί σύνθεση των αποτελεσμάτων της έρευνας, που έγινε σε έφηβους αθλητές υδατοσφαίρισης κατά τη διάρκεια του έτους 2017, και της αντίστοιχης έρευνας, η οποία έγινε ακολουθώντας ακριβώς την ίδια μεθοδολογία κατά τη διάρκεια του έτους 2014 [187]. Τα δεδομένα των δύο ερευνών συμπεριλήφθηκαν από κοινού σε όλους τους υπολογισμούς και η συλλογή τους έγινε στα εργαστήρια του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, στα ανοιχτά κολυμβητήρια του Ολυμπιακού Αθλητικού Κέντρου Αθηνών (Ο.Α.Κ.Α.) και του Δήμου Πετρούπολης, καθώς και με τηλεφωνικές κλήσεις.

Η έρευνα περιελάμβανε αξιολόγηση κάθε αθλητή με μέτρηση αρτηριακής πίεσης και σφυγμών, αιμοληψία, βιοχημικές και γενικές εξετάσεις αίματος, απομόνωση DNA και εύρεση γονιδιακών πολυμορφισμών, ανθρωπομετρία, ανάλυση σύστασης σώματος με τη μέθοδο DEXA, Ισοκινητική Δυναμομέτρηση, Εργομετρικές Δοκιμασίες στο κολυμβητήριο, διατροφική αξιολόγηση, λήψη οικογενειακού ιστορικού και δημογραφικών δεδομένων. Η ερευνητική ομάδα απαρτίστηκε από Επιστήμονες Διατροφής, Ιατρούς και Βιολόγους. Όλοι εκπαιδεύτηκαν για να εξασφαλισθεί η ακριβής συλλογή όλων των δεδομένων και ήταν διαθέσιμοι να βοηθήσουν τους συμμετέχοντες κατά τη διάρκεια συμπλήρωσης των ερωτηματολογίων [187].

2.2. Δείγμα της Έρευνας

Το συνολικό δείγμα αυτής της συγχρονικής μελέτης αποτέλεσαν 66 έφηβοι αθλητές των ομάδων υδατοσφαίρισης του Παναθηναϊκού Α.Ο. (43 αθλητές το 2014 – 17 αθλητές το 2017) και του Α.Ο. Ολυμπιάδα Πετρούπολης (6 αθλητές το 2017). Οι συγκεκριμένες αθλητικές ομάδες επιλέγηκαν λόγω της εθελοντικής συμμετοχής τους και της ευκολίας πρόσβασης στους χώρους προπόνησής τους. Τα κριτήρια επιλογής των αθλητών ήταν το φύλο (αγόρια), η ηλικία (έφηβοι από 12 έως 18 ετών) και η συνεχής συμμετοχή τους στις προπονήσεις και τους αγώνες υδατοσφαίρισης. Η συλλογή των δεδομένων έγινε με μετρήσεις στα εργαστήρια του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου και στους χώρους προπόνησης των αθλητών (ανοιχτό κολυμβητήριο Ο.Α.Κ.Α. και ανοιχτό Κολυμβητήριο Δήμου Πετρούπολης), με προσωπικές συνεντεύξεις και με τηλεφωνικές κλήσεις.

2.3. Μετρήσιμα Χαρακτηριστικά

2.3.1. Αιμοληψία

Οι αθλητές, μετά από ολονύκτια νηστεία (≥10 ώρες), προσήλθαν στα εργαστήρια του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, όπου ειδικοί επιστήμονες τους τοποθέτησαν σε αναπαυτική καρέκλα, μέτρησαν την αρτηριακή πίεση και τους σφυγμούς τους, και τους προετοίμασαν για την αιμοληψία. Οι ερευνητές συνέλεξαν 23 ml περιφερικού αίματος από κάθε αθλητή, με σκοπό να απομονωθούν ορός, πλάσμα και λευκά αιμοσφαίρια, για να πραγματοποιηθούν στη συνέχεια οι απαραίτητες γενικές και βιοχημικές αναλύσεις, καθώς και η απομόνωση DNA. Οι γενικές εξετάσεις αίματος και οι βιοχημικές αναλύσεις έγιναν σε συνεργασία με το αιματολογικό εργαστήριο του ομίλου της Βιοϊατρικής, ενώ η απομόνωση DNA έγινε στα εργαστήρια του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου. Ο αναφερόμενος όγκος αίματος μοιράστηκε σε 3 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες ως εξής:

Α. 10 ml αίματος κάθε αθλητή τοποθετήθηκαν σε ειδικό αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα [BD Vacutainer®, K2E (EDTA), 18,0 mg, BD-Plymouth PL6 7BP, UK] για το διαχωρισμό της στιβάδας των λευκών αιμοσφαιρίων και φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 rpm για 10 min, σε θερμοκρασία 4 ^{o}C. Μετά τη φυγοκέντρηση 3 ml από την άνω στιβάδα του πλάσματος απομονώθηκαν με ειδική πιπέτα Παστέρ και αποθηκεύτηκαν σε δύο eppendorfs των 1,5 ml στους – 80 ^{o}C. Με ειδική πιπέτα Παστέρ απομονώθηκαν, επίσης, περίπου 3 ml από τη μεσαία στιβάδα των λευκών αιμοσφαιρίων (buffy-coat) και αποθηκεύτηκαν σε δύο eppendorfs των 1,5 ml στους – 30 ^{o}C, ώστε να χρησιμοποιηθούν αργότερα για την απομόνωση DNA.

Β. 10 ml αίματος κάθε αθλητή τοποθετήθηκαν σε ειδικό αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα [BD Vacutainer®, CAT (Clot Activator Tube), BD-Plymouth PL6 7BP, UK] για το διαχωρισμό του ορού από το υπόλοιπα συστατικά του αίματος και φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 rpm για 10 min, σε θερμοκρασία 4 ^{o}C. Μετά τη φυγοκέντρηση απομονώθηκαν με ειδική πιπέτα Παστέρ 1,5 ml ορού σε eppendorf, που αποθηκεύτηκε στους – 80 ^{o}C, ενώ άλλα 3 ml ορού απομονώθηκαν με ειδική πιπέτα Παστέρ σε δύο eppendorfs των 1,5 ml, τα οποία στάλθηκαν στη Βιοϊατρική για βιοχημικές αναλύσεις την ίδια μέρα. Οι αναλύσεις αφορούσαν μέτρηση των ακόλουθων παραμέτρων: ινσουλίνη, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ορού (CRP), σάκχαρο (γλυκόζη), ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη , τριγλυκερίδια, φερριτίνη, σίδηρος,

λευκωματίνες (αλβουμίνη), οξαλεική τρανσαμινάση (SGOT), πυροσταφυλική τρανσαμινάση (SGPT), γ-γλουτάμυλο-τρανσφεράση ορού (γ-GT) και αλκαλική φωσφατάση (ALP).

Γ. 3 ml αίματος κάθε αθλητή τοποθετήθηκαν σε ειδικό δοκιμαστικό σωλήνα [BD Vacutainer®, K3E, 5,4 mg, BD-Plymouth PL6 7BP, UK], ο οποίος στάλθηκε για γενικές εξετάσεις αίματος στη Βιοϊατρική την ίδια μέρα. Οι εξετάσεις αφορούσαν μέτρηση των ακόλουθων παραμέτρων: λευκά αιμοσφαίρια, ερυθρά αιμοσφαίρια, αιμοσφαιρίνη, αιματοκρίτης, μέσος όγκος ερυθρών, μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης, μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης, αιμοπετάλια, κατανομή μεγέθους ερυθρών αιμοσφαιρίων, μέσος όγκος αιμοπεταλίων, πολυμορφοπύρηνα, λεμφοκύτταρα, μονοπύρηνα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα.

2.3.2. Απομόνωση Γενετικού Υλικού (gDNA)

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν 300 μl από τη στιβάδα των λευκών αιμοσφαιρίων (buffy-coat) κάθε αθλητή, αφού τα eppendorfs με τα δείγματα των αθλητών αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να ξεπαγώσουν πλήρως από τους - 30 ^{o}C. Η απομόνωση έγινε με το ρομποτικό σύστημα iPrep της Invitrogen [αντιδραστήρια iPrep™ PureLink™ gDNA Blood kit (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA)], που επιτρέπει τη γρήγορη απομόνωση γενωμικού DNA (gDNA) από ολικό αίμα ή διαλύματα λευκών αιμοσφαιρίων (buffy-coat) σε αυτοματοποιημένο σύστημα εκχύλισης νουκλεϊκών οξέων [iPrep™Purification Instrument (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA)]. Η λύση των κυτταρικών μεμβρανών επιτυγχάνεται με το διάλυμα Lysis και η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών με το ενζύμο πρωτεϊνάση Κ. Το διάλυμα στη συνέχεια αναμιγνύεται με τα μικροσφαιρίδια (Dynabeads® MyOne™SILANE), τα οποία δεσμεύουν το gDNA και διαχωρίζονται από το υπόλοιπο διάλυμα με μαγνητικό διαχωρισμό. Τα μικροσφαιρίδια ξεπλένονται με τα διαλύματα πλύσης για την απομάκρυνση των προσμίξεων και το gDNA εκχυλίζεται στο τελικό διάλυμα. Ως τελικός όγκος παραλαβής των δειγμάτων απομόνωσης γενωμικού DNA από το μηχάνημα ορίστηκαν τα 100 μl για κάθε αθλητή.

2.3.3. Υπολογισμός Συγκέντρωσης DNA

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA σε κάθε δείγμα αθλητή έγινε με τη βοήθεια του φασματοφωτομέτρου IMPLEN P330, καθώς γνωρίζουμε ότι το DNA απορροφά την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μήκους κύματος 260 nm. Χρησιμοποιήθηκε μικρή ποσότητα

από κάθε δείγμα, ώστε να μετρηθεί η απορρόφηση στα 260 nm (OD260) και καταγράφηκε η ένδειξη συγκέντρωσης DNA για το καθένα. Το συγκεκριμένο φασματοφωτόμετρο μας επιτρέπει και την εκτίμηση της καθαρότητας του DNA λόγω επιμόλυνσης των δειγμάτων από πρωτεΐνες κατά την απομόνωση. Για το λόγο αυτό μετρήθηκε ταυτόχρονα η απορρόφηση της μικρής ποσότητας κάθε δείγματος και στα 280 nm (OD280), καθώς οι πρωτεΐνες απορροφούν σε αυτό το μήκος κύματος. Στην συνέχεια υπολογίστηκε ο λόγος OD260 / OD280. Τιμές μεταξύ 1,7 και 1,9 δηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA. Επίσης, για την εκτίμηση της επιμόλυνσης με μόρια όπως EDTA και φαινόλες μετρήθηκε και η απορρόφηση του κάθε δείγματος στο αντίστοιχο μήκος κύματος, 230 nm (OD230), και υπολογίστηκε ο λόγος OD260 / OD230 ως δεύτερη μέτρηση ένδειξης καθαρότητας του DNA. Οι επιθυμητές τιμές κυμαίνονται μεταξύ 2,0 - 2,2.

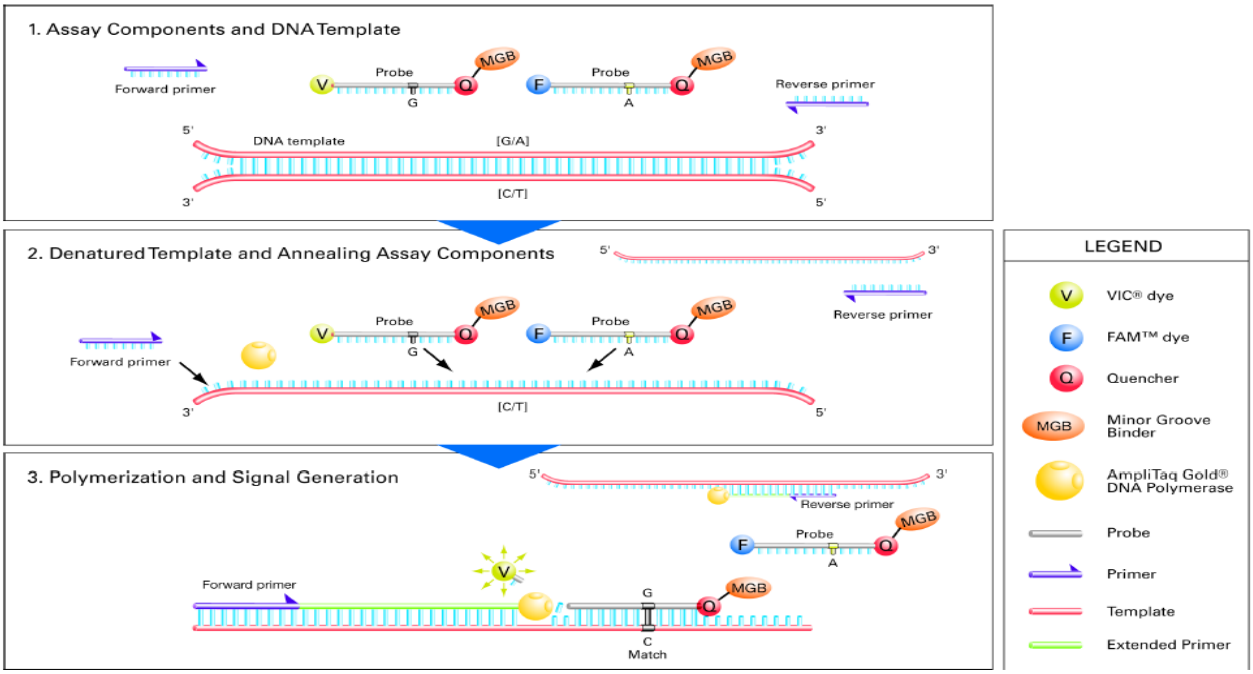
Μετά την εύρεση της συγκέντρωσης DNA για κάθε δείγμα, μικρή ποσότητα από το καθένα αραιώθηκε με κατάλληλες ποσότητες H_2O, ώστε να δημιουργηθούν αντιπροσωπευτικά νέα δείγματα συνολικού όγκου 100 μl και συγκέντρωσης DNA 2 ng / μl για κάθε αθλητή.

2.3.4. Γονοτύπηση [Real Time PCR – Genotyping Protocol (Taqman Method)]

Η τεχνολογία της γονοτύπησης που χρησιμοποιήθηκε είναι η μεθοδολογία Taqman και συγκεκριμένα το πρωτόκολλο Taqman SNP Genotyping Assays Protocol της Applied Biosystems. Από το κάθε νέο δείγμα με συγκέντρωση 2 ng / μl αντλήθηκαν με ειδική μικροπιπέτα 4,5 μl, καθώς για τη γονοτύπηση αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν 9 ng γενωμικού DNA από κάθε αθλητή (για προτεινόμενο εύρος τιμών της μεθόδου από 1 έως 20 ng). Αυτή η ποσότητα των 4,5 μl τοποθετήθηκε στο αντίστοιχο για κάθε δείγμα πηγαδάκι ενός ειδικού για τη μέθοδο πιάτου. Ως αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν πηγαδάκια με H_2O και ως θετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν ομόζυγα για κάθε πολυμορφισμό δείγματα, γνωστά από προηγούμενη γονοτύπηση. Σε κάθε πηγαδάκι προστέθηκαν επίσης από 5 μl Master mix και 0,5 μl Genotyping Assay, ώστε ο τελικός όγκος του δείγματος στο καθένα να είναι συνολικά 10 μl. Τα πηγαδάκια καλύφθηκαν και το πιάτο τοποθετήθηκε στο ειδικό μηχάνημα StepOnePlus™ της Applied Biosystems StepOne™, το οποίο τέθηκε σε λειτουργία για τη γονοτύπηση. Στο τέλος της διαδικασίας αποδόθηκε ο σωστός γονότυπος για τον πολυμορφισμό σε κάθε δείγμα, καθώς έγινε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων από την

ποσοτικοποίηση του σήματος φθορισμού χρησιμοποιώντας το κατάλληλο λογισμικό της μεθόδου σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Η μεθοδολογία Taqman αποτελεί έναν τρόπο ελέγχου της προόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR), καθώς η αύξηση των PCR προϊόντων παρακολουθείται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης σε οθόνη υπολογιστή. Η μέθοδος περιλαμβάνει μία ολοκληρωμένη συλλογή εκκινητών και ανιχνευτών ιχνηθετημένων με ειδική φθορίζουσα ουσία, που οδηγούν στο προσδιορισμό αντίστοιχων απλών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε ανθρώπινα δείγματα DNA. Ο κάθε ανιχνευτής περιέχει ένα φθορίζον μόριο στο 5΄ άκρο και ένα μόριο απόσβεσης (αδρανοποιητής) στο 3΄ άκρο του, οπότε ο συνδυασμός των κατάλληλα ιχνηθετημένων ανιχνευτών δίνει τη δυνατότητα να ανιχνεύονται τα διαφορετικά προϊόντα της PCR. Όταν ο κάθε ανιχνευτής Taqman δεν υβριδίζεται στο πρότυπο DNA, τότε δεν εκπέμπεται το αντίστοιχο σήμα φθορισμού, διότι τα δύο μόρια (φθορίζον και απόσβεσης) στα άκρα του βρίσκονται κοντά. Όταν όμως ο σωστός ανιχνευτής συνδεθεί με την αλληλουχία-στόχο, τότε κατά τη διάρκεια της PCR το μόριο απόσβεσης (αδρανοποιητής) απομακρύνεται από το φθορίζον μόριο, καθώς αυτό αποσυνδέεται από τον ανιχνευτή λόγω της 5΄→ 3΄ εξωνουκλεοτιδικής δράσης της Taq DNA πολυμεράσης, με συνέπεια να εκπέμπεται σήμα φθορισμού. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη του προϊόντος της PCR που παράγεται και έτσι επιτυγχάνεται η ποσοτικοποίηση της αντίδρασης.



Σχήμα 6. Η μέθοδος Taqman – Real Time PCR.

2.3.5. Περιγραφικά - Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά

Τα περιγραφικά-ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των αθλητών μετρήθηκαν με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια. Το σωματικό βάρος μετρήθηκε με ζυγό ακριβείας SECA, και το ύψος επίσης με αναστημόμετρο SECA, όπου ζητήθηκε από κάθε αθλητή να σταθεί με ίσια την πλάτη στην κάθετη κλίμακα του αναστημόμετρου, με ενωμένα πέλματα και το κεφάλι παράλληλο με το έδαφος. Υπολογίστηκε επίσης ο ΔΜΣ (BMI) με τον τύπο: ΔΜΣ = Βάρος (kg) / Ύψος^2 (m^2).

Για κάθε αθλητή μετρήθηκε με πλαστική μεζούρα η Περιφέρεια βραχίονα, η Περιφέρεια μέσης, η Περιφέρεια ισχίων και υπολογίστηκε ο λόγος Περιφέρεια Μέσης / Περιφέρεια Ισχίων. Η Περιφέρεια Βραχίονα μετρήθηκε σε γυμνό βραχίονα στο μέσο της απόστασης μεταξύ του ακρωμίου και της εσωτερικής κορυφής του αγκώνα. Η Περιφέρεια Μέσης μετρήθηκε απουσία ρουχισμού στο μέσο της απόστασης μεταξύ του τελευταίου πλευρού και του άκρου του λαγόνιου οστού. Η Περιφέρεια Ισχίων μετρήθηκε στο σημείο που παρουσίαζε τη μεγαλύτερη περίμετρο [187].

2.3.6. Ανάλυση Σύστασης Σώματος

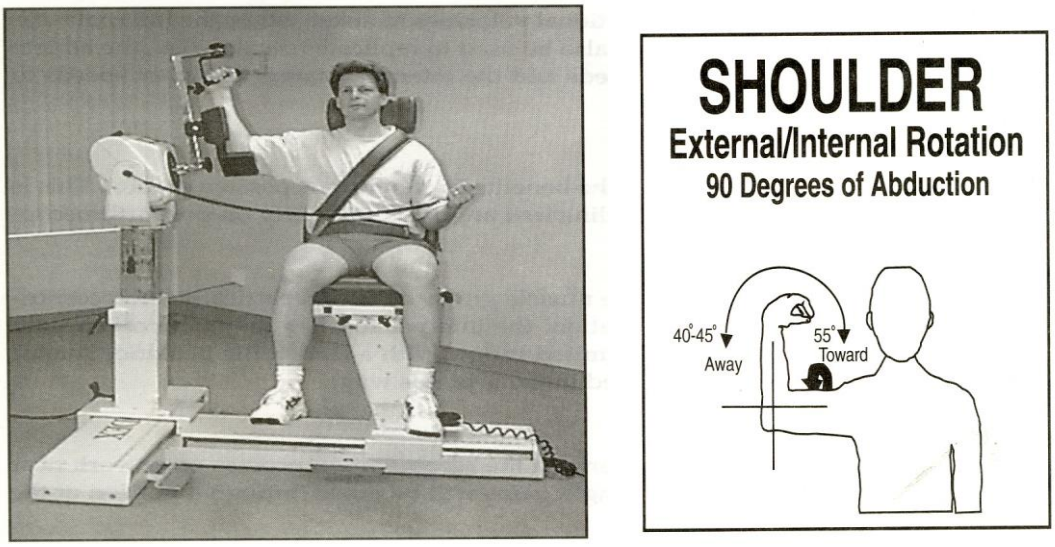
Η ανάλυση σύστασης σώματος των αθλητών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της Απορροφησιομετρίας Ακτίνων-Χ Διπλής Ενέργειας (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA) στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Ο κάθε αθλητής αφαίρεσε παπούτσια και μεταλλικά αντικείμενα πριν τοποθετηθεί από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό ανάσκελα, σε οριζόντια θέση στο ειδικό μηχάνημα.

Εικόνα 1. Η μέθοδος ανάλυσης σύστασης σώματος DEXA.

Η μέτρηση για κάθε αθλητή είχε διάρκεια περίπου 15 λεπτών, καθώς το μηχάνημα τον σάρωνε από την κορυφή του κεφαλιού μέχρι και τα πέλματα, ενώ σε όλο το χρονικό διάστημα ο αθλητής παρέμεινε εντελώς ακίνητος και χωρίς να μιλάει. Από το σύνολο των παραμέτρων, που υπολογίστηκαν, επιλέγηκε να αξιολογηθούν τα αποτελέσματα, τα οποία αφορούσαν στο ποσοστό Συνολικού Σωματικού Λίπους.

2.3.7. Ισοκινητική Δυναμομέτρηση

Το Ισοκινητικό Δυναμόμετρο έχει τη βάση του στην προκαθορισμένη κίνηση κάποιου μέλους του σώματος υπό σταθερή γωνιακή ταχύτητα καθ' όλο το εύρος της κίνησης και με αυτό τον τρόπο κινητοποιεί συγκεκριμένες μυϊκές ομάδες. Η Ισοκινητική Δυναμομέτρηση πραγματοποιήθηκε στο χώρο του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο BIODEX, και αφορούσε στο χέρι που χρησιμοποιεί ο αθλητής κατά τη διάρκεια της υδατοσφαίρισης. Η κίνηση που αξιολογήθηκε αφορούσε στην περιστροφή γύρω από την άρθρωση της ωμοπλάτης και συγκεκριμένα στη στάση κατά την οποία το χέρι βρίσκεται στις 90° της πλάγιας απαγωγής του βραχίονα. Η κίνηση έγινε με θέση εκκίνησης τις 45° κλίσης προς τα πίσω και ο αθλητής έκανε περιστροφή μέχρι τις 55° κλίσης προς τα εμπρός (η κίνηση στα αποτελέσματα εμφανίζεται ως ¨προσαγωγή¨), ακολουθώντας στη συνέχεια επιστροφή προς την αρχική θέση (η κίνηση στα αποτελέσματα εμφανίζεται ως ¨απαγωγή¨).



Εικόνα 2.Ισοκινητική Δυναμομέτρηση με αρχική θέση τις 90° πλάγιας απαγωγής του βραχίονα.

Ο κάθε αθλητής έκανε προθέρμανση και εξοικειώθηκε με τη χρήση του Ισοκινητικού Δυναμομέτρου υπό την καθοδήγηση του ερευνητή για περίπου 3 λεπτά πριν την πραγματοποίηση των μετρήσεων. Υπό τις παραμέτρους που προαναφέρθηκαν για το εύρος

της κίνησης, ο κάθε αθλητής εκτέλεσε 3 σετ που περιελάμβαναν το καθένα από 5 επαναλήψεις περιστροφών και προς τα εμπρός (προσαγωγή) και προς τα πίσω (απαγωγή) προσπαθώντας να έχει την καλύτερη δυνατή Εργομετρική Επίδοση. Το καθένα από τα 3 σετ έγινε με μία προεπιλεγμένη γωνιακή ταχύτητα περιστροφής στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο. Από το σύνολο των αποτελεσμάτων αξιολογήθηκαν η Μέγιστη Ροπή, η Σχετική Μέγιστη Ροπή, η Μέση Μέγιστη Ροπή και η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή κατά την προσαγωγή και την απαγωγή, οι οποίες αφορούσαν στο πρώτο σετ στη μέγιστη δύναμη (στις 60° / sec γωνιακή ταχύτητα), στο δεύτερο σετ στην ταχυδύναμη (στις 180° / sec γωνιακή ταχύτητα) και στο τρίτο σετ στην εκρηκτικότητα (στις 300° / sec γωνιακή ταχύτητα). Μεταξύ των σετ μεσολαβούσε διάλειμμα 90 sec για ξεκούραση και διατάσεις των αθλητών.

2.3.8. Εργομετρικές Δοκιμασίες Κολύμβησης - Ευστοχίας

Οι κολυμβητικές επιδόσεις των αθλητών αξιολογήθηκαν στο χώρο προπόνησης τους (ανοιχτά κολυμβητήρια Ο.Α.Κ.Α. και Δήμου Πετρούπολης). Πριν την έναρξη των δοκιμασιών έγινε προθέρμανση των αθλητών, που περιελάμβανε κολύμβηση και ασκήσεις με πάσες μεταξύ τους για τουλάχιστον 30 λεπτά. Κάθε αθλητής χρονομετρήθηκε σε δύο δοκιμασίες, 200 μέτρων και 25 μέτρων κολύμβησης, στο μέγιστο της προσπάθειάς του με ελεύθερο στυλ. Μεταξύ των δύο δοκιμασιών μεσολάβησε διάλειμμα 2 λεπτών για ξεκούραση και διατάσεις. Επίσης, κάθε αθλητής συμμετείχε σε δοκιμασία αντοχής ποδιών, όπου κρατώντας με τα χέρια του βάρος 5 κιλών ανυψωμένο έξω από το νερό μετρήθηκε η μέγιστη διάρκεια αντοχής του. Η δοκιμασία τερματίζονταν όταν είτε το βάρος είτε οι αγκώνες ή το σαγόνι του αθλητή ακουμπούσε στο νερό. Για τη μέτρηση του ποσοστού ευστοχίας, ο κάθε αθλητής εκτέλεσε 6 συνολικά σουτ από το σημείο του πέναλτι σε στόχους στις δύο γωνίες του τέρματος (3 σουτ σε κάθε γωνία). Ως στόχοι χρησιμοποιήθηκαν τα σκουφάκια των αθλητών.

2.3.9. Διατροφική Αξιολόγηση - Αξιολόγηση Πρόσληψης Θρεπτικών Συστατικών

Η αξιολόγηση της διαιτητικής πρόσληψης πραγματοποιήθηκε με την χρήση τριών ανακλήσεων 24ώρου για κάθε αθλητή, όπου ζητήθηκε από τον εξεταζόμενο να θυμηθεί λεπτομερώς όλα τα τρόφιμα και ποτά που κατανάλωσε στο διάστημα των τελευταίων εικοσιτεσσάρων ωρών. Ο ερευνητής βοηθούσε τον εξεταζόμενο με διευκρινιστικές ερωτήσεις (για παράδειγμα, αν καταναλώνει φαγητό κατά τη διάρκεια της νύχτας, αν συνδυάζει το

φαγητό στις διάφορες δραστηριότητες, όπως στο σχολείο, στην προπόνηση κ.ά.). Όσον αφορά το μέγεθος της μερίδας, χρησιμοποιήθηκαν προπλάσματα και άλλα βοηθητικά σκεύη π.χ. φλιτζάνια, καθώς και εικόνες από ηλεκτρονικό υπολογιστή [187]. Η ανάκληση 24ώρου ως μία αναδρομική μέθοδος, βασίζεται κυρίως στη μνήμη του εξεταζόμενου για το τι κατανάλωσε, στην αξιοπιστία του εξεταζόμενου, ώστε να περιγράφει με ειλικρίνεια την τροφή που κατανάλωσε, και τέλος στην ικανότητά του να κρίνει το μέγεθος της μερίδας.

Οι επαναλαμβανόμενες ανακλήσεις είναι πιο αντιπροσωπευτικές από μία ανάκληση, γι΄ αυτό πραγματοποιήθηκαν τρεις ανακλήσεις. Η πρώτη ανάκληση πραγματοποιήθηκε με κατά πρόσωπο συνέντευξη. Η δεύτερη και η τρίτη ανάκληση πραγματοποιήθηκαν τηλεφωνικά και πάντα σε διαφορετική ημέρα σε σχέση με την πρώτη ανάκληση, το αργότερο μέσα σε τρεις έως δέκα ημέρες. Η μία από τις τρεις ανακλήσεις αφορούσε σε Σάββατο ή Κυριακή.

Οι πληροφορίες σε σχέση με τη διατροφική πρόσληψη του ατόμου καταγράφηκαν, ελέγχθηκαν για παραλείψεις ή λάθη και στη συνέχεια κωδικοποιήθηκαν για να γίνει η ανάλυση. Τα δεδομένα από τις τρεις ανακλήσεις καταχωρήθηκαν στη βάση του λογισμικού Nutritionist Pro v2.2. Η βάση δεδομένων του Nutritionist Pro v2.2 εμπλουτίστηκε προσθέτοντας αναλύσεις ελληνικών παραδοσιακών τροφίμων και συνταγών [187]. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η μέση ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη καθώς και η μέση ημερήσια πρόσληψη μικρο- και μακρο-θρεπτικών συστατικών για κάθε αθλητή. Η μέση ημερήσια πρόσληψη κάθε μακρο-θρεπτικού συστατικού υπολογίστηκε και ως ποσοστό της μέσης ημερήσιας συνολικής πρόσληψης μακρο-θρεπτικών συστατικών (υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιπιδίων).

2.4. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος ¨Statistical Package for the Social Science (SPSS) software, Version 19.0 for the Windows¨.

Κατασκευάστηκε ραβδόγραμμα για το πλήθος των αθλητών ανά γονοτυπική κατηγορία του πολυμορφισμού rs9939609 και πίνακες για τα αποτελέσματα των μετρήσεων κάθε ποσοτικής μεταβλητής, όπου υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις.

Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Κανονικής Κατανομής Ποσοτικής Μεταβλητής One Sample Kolmogorov-Smirnov test, ώστε να συμπεράνουμε αν τα συνολικά δεδομένα για κάθε ποσοτική μεταβλητή ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Στη συνέχεια οι εθελοντές διακρίθηκαν σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με το γονότυπό τους. Για κάθε ποσοτική μεταβλητή, που επιβεβαίωσε τον έλεγχο Κανονικής Κατανομής, έγινε Ανάλυση Διακύμανσης Κατά Ένα Παράγοντα (One-Way ANOVA), ώστε να διερευνήσουμε την ύπαρξη συσχέτισης αυτών των χαρακτηριστικών με τις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO, δηλαδή αν υπάρχει διαφορά στους μέσους όρους τιμών των μεταβλητών στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες. Η διόρθωση για πολλαπλούς ελέγχους έγινε κατά Bonferroni. Για όσες ποσοτικές μεταβλητές βρέθηκε ότι δεν ακολουθούν Κανονική Κατανομή χρησιμοποιήθηκε, αντί για One-Way ANOVA, ο έλεγχος Kruskal-Wallis, ώστε να συγκριθούν οι μέσοι όροι τιμών μεταξύ των γονοτυπικών κατηγοριών και να βρεθεί αν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Ως στατιστικό κριτήριο για τη συσχέτιση και τον έλεγχο ύπαρξης γραμμικής σχέσης μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson για όσες μεταβλητές ακολουθούσαν την Κανονική Κατανομή. Αν έστω και μία ποσοτική μεταβλητή δεν ακολουθούσε την Κανονική Κατανομή, για τον έλεγχο της γραμμικής σχέσης χρησιμοποιήθηκε ως στατιστικό κριτήριο ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman.

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Απλής Γραμμικής Παλινδρόμησης, ώστε να εκτιμηθεί ποσοτικά η επίδραση μίας ανεξάρτητης μεταβλητής σε μία ποσοτική μεταβλητή. Όταν επιλέγησαν ταυτόχρονα μία σειρά από ανεξάρτητες μεταβλητές για να προβλεφθεί η τιμή μίας ποσοτικής μεταβλητής, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Πολλαπλής Γραμμικής Παλινδρόμησης.

Σε όλους τους υπολογισμούς θεωρήθηκε ως όριο στατιστικής σημαντικότητας το p-value < 0,05.

2.5. Βιοηθική

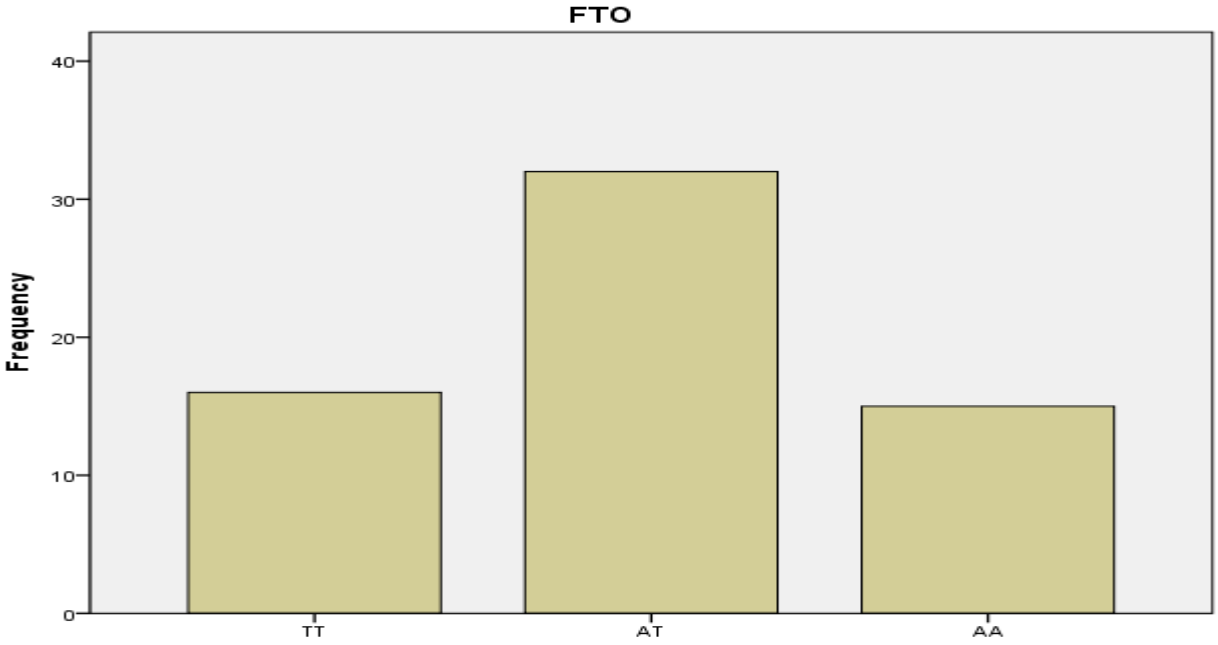
Η έρευνα έγινε με βάση τις αρχές Βιοηθικής για ανθρώπους και ζώα, όπως ορίζει η Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής και η ελληνική νομοθεσία. Τηρήθηκε η Διακήρυξη του Ελσίνκι (1989) και οι συμμετέχοντες έφηβοι άθλητες, όπως και οι γονείς / κηδεμόνες τους,

ενημερώθηκαν αναλυτικά για τους σκοπούς της μελέτης, καθώς έλαβαν γραπτή περιγραφή της μεθοδολογίας και του σκοπού της μελέτης. Όλοι συναίνεσαν εγγράφως για την συμμετοχή τους και υπέγραψαν το συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής, όπου διασφαλίζονταν και το απόρρητο των δεδομένων. Σε κάθε αθλητή αποδόθηκε ένας μοναδικός αναγνωριστικός κωδικός. Διευκρινίζεται επίσης από το συγγραφέα ότι δεν υπήρξε σύγκρουση συμφερόντων κατά τη διεξαγωγή της έρευνας.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Περιγραφικά - Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με τη γονοτύπηση, η οποία έγινε για τους 66 αθλητές και αφορούσε στην ταυτοποίηση του πολυμορφισμού rs9939609, οι 16 αθλητές (ποσοστό 24,24 %) ήταν ομόζυγοι για το φυσιολογικό αλληλόμορφο T (TT), οι 32 αθλητές (ποσοστό 48,48 %) ήταν ετερόζυγοι (AT) και οι 15 αθλητές (ποσοστό 22,73 %) ήταν ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου A (AA).



Σχήμα 7. Πλήθος αθλητών σε κάθε γονοτυπική κατηγορία.

Οι γονότυποι 3 αθλητών (ποσοστό 4,55 %) δεν κατορθώθηκε να ταυτοποιηθούν για το συγκεκριμένο πολυμορφισμό με τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε, αλλά συμμετείχαν στις υπόλοιπες μετρήσεις. Ο ένας από τους αθλητές, που ταυτοποιήθηκε ως ομόζυγος για το φυσιολογικό αλληλόμορφο T (TT), δε συμμετείχε στη συνέχεια στις υπόλοιπες μετρήσεις παρά μόνο στην ανάλυση της δίαιτας και της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών. Ο ένας από τους αθλητές, που ταυτοποιήθηκε ως ετερόζυγος (AT) για τον πολυμορφισμό, συμμετείχε σε όλες τις μετρήσεις εκτός από την ανάλυση της δίαιτας και της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών. Επίσης, ο ένας από τους αθλητές, που ταυτοποιήθηκε ως ετερόζυγος (AT) για τον πολυμορφισμό, δε συμμετείχε στη μέτρηση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους με τη μέθοδο DEXA. Οι βιοχημικές εξετάσεις αίματος δεν έγιναν για έναν αθλητή, που ταυτοποιήθηκε ως ομόζυγος για το φυσιολογικό αλληλόμορφο T (TT), και για έναν αθλητή που ταυτοποιήθηκε ως ετερόζυγος για τον πολυμορφισμό (AT).

Τα αποτελέσματα για κάθε περιγραφικό-ανθρωπομετρικό χαρακτηριστικό των αθλητών, οι οποίοι συμμετείχαν στην έρευνα, απεικονίζονται στον Πίνακα 2:

Πίνακας 02. Περιγραφικά - Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των αθλητών που συμμετείχαν στις μετρήσεις.

Χαρακτηριστικό	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση	n
Ηλικία (έτη)	15,04 ± 1,38	65
Βάρος (Kg)	69,42 ± 10,45	65
Ύψος (m)	1,73 ± 0,07	65
BMI (kg / m^2)	23,08 ± 2,52	65
Περιφέρεια Μέσης (cm)	78,11 ± 5,64	65
Περιφέρεια Ισχίων (cm)	96,97 ± 6,80	65
Περιφέρεια Μέσης / Περιφέρεια Ισχίων	0,806 ± 0,034	65
Περιφέρεια Βραχίονα (cm)	29,55 ± 2,71	65
Ποσοστό Σωματικού Λίπους (%)	17,83 ± 6,63	64

3.2. Χαρακτηριστικά Μέσης Ημερήσιας Διαιτητικής Πρόσληψης

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τους 64 αθλητές, οι οποίοι συμμετείχαν στις ανακλήσεις 24ώρου για την ανάλυση της Δίαιτας και της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, απεικονίζονται στον Πίνακα 3:

Πίνακας 03. Χαρακτηριστικά της Μέσης Ημερήσιας Διαιτητικής Πρόσληψης των αθλητών.

Χαρακτηριστικό Ημερήσιας Διαιτητικής Πρόσληψης	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Ενέργειας (Kcal)	3918,24 ± 4549,45
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Πρωτεΐνης (g)	162,24 ± 183,17
% Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Πρωτεΐνης (%)	21,57 ± 2,86
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Υδατανθράκων (g)	425,83 ± 546,56
% Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Υδατανθράκων (%)	55,26 ± 5,59
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Λίπους (g)	172,59 ± 181,05
% Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Λίπους (%)	23,16 ± 3,95

3.3. Αθλητικές Επιδόσεις - Εργομετρικές Δοκιμασίες

Οι επιδόσεις των 65 αθλητών, οι οποίοι συμμετείχαν στις Εργομετρικές Δοκιμασίες τόσο στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο όσο και στην πισίνα, απεικονίζονται στους Πίνακες 4 και 5:

Πίνακας 04. Χαρακτηριστικά της επίδοσης των αθλητών στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο.

Χαρακτηριστικό Ισοκινητικής Δυναμομέτρησης	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση
Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (N*M)	38,82 ± 15,54
Σχετική Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (N*M/Kg)	54,96 ± 18,21
Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (N*M)	35,49 ± 14,38
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (N*M/Kg)	50,23 ± 16,89
Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής(N*M)	53,52 ± 20,37
Σχετική Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (N*M/Kg)	76,24 ± 24,64
Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (N*M)	48,86 ± 19,47
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής(N*M/Kg)	69,61 ± 23,95
Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής (N*M)	34,99 ± 12,69
Σχετική Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής (N*M/Kg)	49,79 ± 14,92
Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής (N*M)	32,65 ± 12,33
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής (N*M/Kg)	46,40 ± 14,48
Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής (N*M)	48,06 ± 19,18
Σχετική Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής (N*M/Kg)	68,28 ± 22,89
Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής (N*M)	44,38 ± 21,50
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής (N*M/Kg)	63,00 ± 26,84
Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής (N*M)	34,01 ± 9,81
Σχετική Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής(N*M/Kg)	48,77 ± 11,88
Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής (N*M)	31,71 ± 9,11
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής (N*M/Kg)	45,44 ± 10,90
Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (N*M)	48,50 ± 19,37
Σχετική Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (N*M/Kg)	69,02 ± 24,04
Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (N*M)	44,27 ± 18,22
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (N*M/Kg)	63,01 ± 22,86

Πίνακας 05. Επιδόσεις των αθλητών κατά τις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα.

Χαρακτηριστικό Εργομετρικής Δοκιμασίας	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση
Ευστοχία από το σημείο του πέναλτι (%)	0,331 ± 0,20
Αντοχή ποδιών με βάρος 5 Kg (sec)	43,36 ± 43,89
Ελεύθερη κολύμβηση 25 m (sec)	14,55 ± 1,09
Ελεύθερη κολύμβηση 200 m (min)	2,56 ± 0,21

3.4. Χαρακτηριστικά Βιοχημικών Εξετάσεων Αίματος

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τους 63 αθλητές, οι οποίοι συμμετείχαν στις αιματολογικές εξετάσεις για τον υπολογισμό βιοχημικών χαρακτηριστικών, απεικονίζονται στον Πίνακα 6:

Πίνακας 06. Χαρακτηριστικά των Βιοχημικών Εξετάσεων Αίματος των αθλητών.

Χαρακτηριστικό Βιοχημικών Εξέτασεων Αίματος	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση
Γλυκόζη (mg/ dl)	88,02 ± 7,13
Ολική χοληστερόλη (mg / dl)	145,41 ± 25,42
HDL χοληστερόλη (mg / dl)	61,05 ± 17,74
Τριγλυκερίδια (mg / dl)	55,65 ± 28,49
Φεριτίνη (ng / ml)	48,58 ± 35,70
Σίδηρος (μg / dl)	101,57 ± 43,92
Αλβουμίνη (g / dl)	4,71 ± 0,24
SGOT (iu / l)	24,00 ± 6,13
SGPT (iu / l)	18,00 ± 12,45
γ-GT (iu / l)	14,37 ± 7,31
ALP (iu / l)	179,70 ± 76,93
Ινσουλίνη (μIU / ml)	9,20 ± 3,69

3.5. Έλεγχος Κανονικής Κατανομής

Σύμφωνα με τον έλεγχο Κανονικής Κατανομής Ποσοτικής Μεταβλητής One Sample Kolmogorov-Smirnov test, διαπιστώθηκε ότι τα δεδομένα για όλες τις ποσοτικές μεταβλητές, που προαναφέρθηκαν, ακολουθούν στατιστικά σημαντικά την Κανονική Κατανομή (p-value > 0,05), εκτός της ευστοχίας από το σημείο του πέναλτι, της αντοχής ποδιών με βάρος 5 Kg, της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων, της συγκέντρωσης φεριτίνης, της SGPT, της γ-GT, της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Ενέργειας, της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Πρωτεΐνης, της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Υδατανθράκων και της Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Λίπους.

3.6. Έλεγχος Μέσων Όρων Τιμών σε κάθε Κατηγορία Γονοτύπου FTO για τις Μεταβλητές με μη Κανονική Κατανομή

Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis για τον έλεγχο συσχέτισης των μέσων όρων τιμών, τους οποίους έχουν οι ποσοτικές μεταβλητές που βρέθηκαν να μην έχουν Κανονική Κατανομή, στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες. Διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στους μέσους όρους τιμών των ποσοτικών μεταβλητών, που προαναφέρθηκαν, μεταξύ των διαφορετικών γονοτυπικών κατηγοριών (p-value > 0,05) [Πίνακας 7].

Πίνακας 07. Έλεγχος Kruskal-Wallis για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών χαρακτηριστικών που δεν παρουσιάζουν Κανονική Κατανομή με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Χαρακτηριστικό	p-value
Ευστοχία από το σημείο του πέναλτι	0,220
Αντοχή ποδιών με βάρος 5 Kg	0,184
Τριγλυκερίδια Αίματος	0,350
Φεριτίνη Αίματος	0,948
SGPT	0,381
γ-GT	0,454
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Ενέργειας	0,608
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Πρωτεϊνών	0,541
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Υδατανθράκων	0,941
Μέση Ημερήσια Πρόσληψη Λίπους	0,389

3.7. Ανάλυση Διακύμανσης Κατά Ένα Παράγοντα (One-Way ANOVA) για τις Μεταβλητές με Κανονική Κατανομή

Για όλα τα περιγραφικά-ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, που βρέθηκε ότι ακολουθούν Κανονική Κατανομή, έγινε στη συνέχεια Ανάλυση Διακύμανσης Κατά Ένα Παράγοντα (One-Way ANOVA), ώστε να διερευνήσουμε την ύπαρξη συσχέτισης αυτών των χαρακτηριστικών με το γονότυπο FTO. Όπως απεικονίζεται στον παρακάτω πίνακα, ο γονότυπος FTO δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με κάποιο από τα χαρακτηριστικά (p-value > 0,05), δηλαδή δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους μέσους όρους τιμών των χαρακτηριστικών στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες [Πίνακας 8].

Πίνακας 08. One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των περιγραφικών-ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Χαρακτηριστικό	TT (n = 15)	AT (n = 32)	AA (n = 15)	p-value
Ηλικία (έτη)	15,20 ± 1,29	15,16 ± 1,42	14,52 ± 1,24	0,272
Βάρος (Kg)	66,25 ± 6,76	70,08 ± 10,87	69,08 ± 11,40	0,489
Ύψος (m)	1,72 ± 0,06	1,74 ± 0,06	1,71 ± 0,07	0,224
BMI (Kg / m^2)	22,48 ± 2,01	22,98 ± 2,45	23,49 ± 3,14	0,554
Περιφέρεια Μέσης (cm)	75,62 ± 4,19	78,69 ± 5,67	78,40 ± 5,87	0,185
Περιφέρεια Ισχίων (cm)	94,55 ± 5,24	97,48 ± 6,70	96,97 ± 7,26	0,371
Περιφέρεια Μέσης / Περιφέρεια ισχίων	0,801 ± 0,038	0,808 ± 0,035	0,809 ± 0,031	0,755
Περιφέρεια βραχίονα (cm)	29,93 ± 2,15	29,67 ± 3,03	29,67 ± 2,61	0,666
Ποσοστό Σωματικού Λίπους (%)	15,17 ± 5,44	17,95 ± 5,81	18,69 ± 8,50	0,283

Η σύγκριση ανά γονότυπο των επιδόσεων, που είχαν οι 62 αθλητές στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα κατά τη διάρκεια της προπόνησης στην πισίνα, απεικονίζεται στον Πίνακα 9 μετά την ανάλυση One-Way ANOVA:

Πίνακας 09. One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των επιδόσεων των αθλητών στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Δοκιμασία	TT (n = 15)	AT (n = 32)	AA (n = 15)	p-value
25 m κολύμβηση (sec)	14,57 ± 1,06	14,40 ± 1,22	14,89 ± 0,86	0,293
200 m κολύμβηση (min)	2,55 ± 0,16	2,55 ± 0,26	2,58 ± 0,13	0,916

Παρατηρούμε ότι ο γονότυπος FTO δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τις επιδόσεις των αθλητών στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα (p-value > 0,05), δηλαδή δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους μέσους όρους τιμών των επιδόσεων στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες.

Η σύγκριση ανά γονότυπο των επιδόσεων, που είχαν οι 62 αθλητές στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο, απεικονίζεται στον Πίνακα 10 μετά την ανάλυση One-Way ANOVA:

Πίνακας 10. One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των επιδόσεων των αθλητών στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Δοκιμασία	TT (n = 15)	AT (n = 32)	AA (n = 15)	p-value
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (N*M)	50,00 ± 12,71	52,85 ± 18,14	45,45 ± 17,19	0,375
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (N*M)	73,96 ± 22,52	70,55 ± 23,76	64,89 ± 26,66	0,584
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής (N*M)	47,49 ± 11,78	48,61 ± 15,20	42,28 ± 14,85	0,370
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής (N*M)	66,46 ± 17,52	61,26 ± 22,14	65,29 ± 42,56	0,800
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής (N*M)	47,42 ± 7,34	46,36 ± 11,74	42,86 ± 12,29	0,482
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (N*M)	67,46 ± 23,73	61,88 ± 23,28	62,88 ± 23,80	0,746

Παρατηρούμε ότι ο γονότυπος FTO δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τις επιδόσεις των αθλητών στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο (p-value > 0,05), δηλαδή δεν υπάρχει διαφορά στους μέσους όρους τιμών των τριών γονοτυπικών κατηγοριών.

Η σύγκριση ανά γονότυπο της Ποσοστιαίας Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, όπως μετρήθηκε για 62 αθλητές, απεικονίζεται στον Πίνακα 11 μετά την ανάλυση One-Way ANOVA για τις ποσοτικές μεταβλητές, οι οποίες εμφάνισαν Κανονική Κατανομή:

Πίνακας 11. One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών της Εκατοστιαίας Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Χαρακτηριστικό	TT (n = 16)	AT (n = 31)	AA (n = 15)	p-value
% πρωτεΐνη	21,8 ± 2,8	21,7 ± 2,9	21,5 ± 2,9	0,945
% υδατάνθρακες	53,8 ± 4,9	54,8 ± 5,6	56,9 ± 5,4	0,277
% λίπη	24,3 ± 3,5	23,5 ± 3,9	21,6 ± 3,9	0,133

Παρατηρούμε ότι ο γονότυπος FTO δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την Ποσοστιαία Ημερήσια Πρόσληψη θρεπτικών συστατικών των αθλητών (p-value > 0,05), δηλαδή δεν υπάρχει διαφορά στους μέσους όρους τιμών των τριών γονοτυπικών κατηγοριών.

Η σύγκριση ανά γονότυπο των βιοχημικών εξετάσεων αίματος για 61 αθλητές, φαίνεται στον Πίνακα 12 σύμφωνα με την ανάλυση One-Way ANOVA:

Πίνακας 12. One-Way ANOVA για τη συσχέτιση των μέσων όρων τιμών των αποτελεσμάτων των εξετάσεων αίματος με τις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες του FTO.

Εξέταση	TT (n = 15)	AT (n = 31)	AA (n = 15)	p-value
Γλυκόζη (mg/ dl)	89,27 ± 7,61	87,84 ± 6,98	87,40 ± 7,52	0,755
Ολική χοληστερόλη (mg / dl)	137,93 ± 25,38	149,71 ± 25,87	142,93 ± 24,52	0,321
HDL χοληστερόλη (mg / dl)	59,60 ± 11,10	62,32 ± 22,11	60,53 ± 14,41	0,882
Σίδηρος (μg / dl)	101,47 ± 23,60	112,00 ± 52,78	83,00 ± 35,82	0,114
Αλβουμίνη (g / dl)	4,66 ± 0,25	4,74 ± 0,25	4,69 ± 0,20	0,517
SGOT (iu / l)	23,64 ± 6,25	24,97 ± 7,13	22,47 ± 3,52	0,431
ALP (iu / l)	165,53 ± 55,21	179,35 ± 87,12	189,80 ± 65,97	0,679
Ινσουλίνη (μIU / ml)	8,187 ± 2,940	9,513 ± 3,765	9,647 ± 4,430	0,474

Παρατηρούμε ότι ο γονότυπος FTO δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τις βιοχημικές αιματολογικές εξετάσεις, όπως π.χ. συγκέντρωση γλυκόζης (p-value > 0,05), δηλαδή δεν υπάρχει διαφορά στους μέσους όρους τιμών των τριών γονοτυπικών κατηγοριών.

3.8. Έλεγχος Ύπαρξης Γραμμικής Σχέσης Ανάμεσα σε Συνεχείς Μεταβλητές

Ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson (Pearson Correlation) χρησιμοποιήθηκε για να ελεγχθεί η γραμμική σχέση μεταξύ των περιγραφικών-ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και των επιδόσεων στις Εργομετρικές Δοκιμασίες, που είχαν Κανονική Κατανομή [Πίνακας 13].

Πίνακας 13. Συσχέτιση με το συντελεστή Pearson για την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών με Κανονική Κατανομή (για τις αθλητικές επιδόσεις).

	Ηλικία		Περιφέρεια Βραχίονα		Ποσοστό Σωματικού Λίπους	
	Pearson Correlation	p-value	Pearson Correlation	p-value	Pearson Correlation	p-value
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής	0,695	0,000	0,449	0,000	- 0,217	0,085
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής	0,710	0,000	0,316	0,010	- 0,400	0,001
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής	0,642	0,000	0,424	0,000	- 0,143	0,258
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής	0,569	0,000	0,304	0,014	- 0,298	0,017
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής	0,415	0,001	0,220	0,079	- 0,132	0,299
Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής	0,479	0,000	0,306	0,013	- 0,181	0,153
Ελεύθερη κολύμβηση 25 m	- 0,311	0,012	- 0,282	0,023	0,220	0,080
Ελεύθερη κολύμβηση 200 m	- 0,201	0,109	0,017	0,895	0,390	0,001

Παρατηρηρούμε ότι η ηλικία εμφανίζει στατιστικά σημαντικά γραμμική σχέση με όλες τις Εργομετρικές Δοκιμασίες (p-value < 0,05), εκτός της ελεύθερης κολύμβησης 200 m, και ειδικά με τη Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής έχει συντελεστή συσχέτισης που προσεγγίζει το 0,800. Η Περιφέρεια Βραχίονα και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους έχουν στατιστικά σημαντική γραμμική σχέση με αρκετές Εργομετρικές Δοκιμασίες (p-value < 0,05), αλλά ο συντελεστής συσχέτισης τους είναι αρκετά χαμηλότερος από 0,800.

Επίσης, ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson (Pearson Correlation) χρησιμοποιήθηκε για να ελεγχθεί η γραμμική σχέση μεταξύ του BMI και της ηλικίας, καθώς και της Ποσοστιαίας

Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, τα οποία εμφάνισαν Κανονική Κατανομή [Πίνακας 14].

Πίνακας 14. Συσχέτιση με το συντελεστή Pearson για την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών με Κανονική Κατανομή (για το BMI).

	BMI	
	Pearson Correlation	p-value
Ηλικία	0,307	0,013
Ποσοστό Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Πρωτεϊνών	- 0,101	0,425
Ποσοστό Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Υδατανθράκων	0,096	0,452
Ποσοστό Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης Λίπους	- 0,062	0,627

Παρατηρηρούμε ότι η ηλικία εμφανίζει στατιστικά σημαντικά γραμμική σχέση με το BMI (p-value < 0,05), αλλά ο συντελεστής συσχέτισης δεν είναι μεγάλος. Τα Ποσοστά Μέσης Ημερήσιας Πρόσληψης θρεπτικών συστατικών δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικά γραμμική σχέση με το BMI (p-value > 0,05).

3.9. Απλή και Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την Πρόβλεψη του BMI

Πραγματοποιήθηκε ποσοτική εκτίμηση του BMI με ανεξάρτητη μεταβλητή το γονότυπο FTO χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της Απλής Γραμμικής Παλινδρόμησης. Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της τιμής του BMI (p-value > 0,05) [Πίνακας 15].

Πίνακας 15. Απλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την επίδραση του γονοτύπου FTO στο BMI (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής B	p-value
Γονότυπος FTO	0,507	0,275

Πραγματοποιήθηκε επίσης ποσοτική εκτίμηση του BMI με ανεξάρτητες μεταβλητές όχι μόνο το γονότυπο FTO, αλλά και την ηλικία, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της Πολλαπλής Γραμμικής Παλινδρόμησης, εφόσον είχε εμφανίσει στατιστικά σημαντικά γραμμική σχέση κατά τη χρήση του συντελεστή Pearson.

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της τιμής του BMI, ενώ η ηλικία συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της τιμής του BMI (p-value > 0,05). Πιο συγκεκριμένα για κάθε επιπλέον έτος ηλικίας, προβλέπεται αύξηση του BMI κατά 0,643 μονάδες, όταν παραμένει σταθερός ο γονότυπος FTO [Πίνακας 16].

Πίνακας 16. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την επίδραση γονοτύπου FTO και ηλικίας στο BMI (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής B	p-value
Γονότυπος FTO	0,723	0,108
Ηλικία	0,643	0,007

3.10. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την Πρόβλεψη των Αθλητικών Επιδόσεων

Πραγματοποιήθηκε ποσοτική εκτίμηση της απόδοσης των αθλητών στις Εργομετρικές Δοκιμασίες, τόσο στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο όσο και στην πισίνα, με τη μέθοδο της Πολλαπλής Γραμμικής Παλινδρόμησης. Χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές ο γονότυπος FTO και ποσοτικές μεταβλητές, εφόσον αυτές είχαν εμφανίσει στατιστικά σημαντική γραμμική σχέση με τις Εργομετρικές Δοκιμασίες κατά τη χρήση του συντελεστή Pearson, όπως η ηλικία, η Περιφέρεια Βραχίονα και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους.

Διευκρινίζεται ότι όλα τα μοντέλα Πολλαπλής Γραμμικής Παλινδρόμησης που παρουσιάζονται στη συνέχεια είναι στατιστικά σημαντικά (p-value < 0,05) και έγινε προσπάθεια να διερευνήσουμε ξεχωριστά τη στατιστική σημαντικότητα κάθε ανεξάρτητης μεταβλητής.

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής αυξάνει κατά 8,389 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 17].

Πίνακας 17. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Απαγωγής (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	0,429	0,854
Ηλικία	8,389	0,000
Περιφέρεια Βραχίονα	0,334	0,640

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχουν η ηλικία και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής αυξάνει κατά 11,234 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος, η Περιφέρεια Βραχίονα και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους. Επίσης, για κάθε αύξηση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους κατά 1 % η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής μειώνεται κατά 1,219 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος, η ηλικία και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 18].

Πίνακας 18. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value < 0,05) – 1^{ο} Μοντέλο.

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	1,100	0,714
Ηλικία	11,234	0,000
Περιφέρεια Βραχίονα	0,805	0,498
Ποσοστό Σωματικού Λίπους	- 1,219	0,004

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχουν η ηλικία και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής αυξάνει κατά 12,330 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους. Επίσης, για κάθε αύξηση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους κατά 1 % η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής μειώνεται κατά 1,041 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και η ηλικία [Πίνακας 19].

Πίνακας 19. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value < 0,05) - 2ο Μοντέλο.

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	1,452	0,621
Ηλικία	12,330	0,000
Ποσοστό Σωματικού Λίπους	- 1,041	0,002

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής αυξάνει κατά 14,520 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 20].

Πίνακας 20. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Μέγιστης Δύναμης Προσαγωγής (p-value < 0,05) – 3ο Μοντέλο.

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	0,860	0,787
Ηλικία	14,520	0,000
Περιφέρεια Βραχίονα	- 1,372	0,162

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Απαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Απαγωγής αυξάνει κατά 6,893 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 21].

Πίνακας 21. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Απαγωγής (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	- 0,420	0,836
Ηλικία	6,893	0,000
Περιφέρεια Βραχίονα	0,376	0,546

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχουν η ηλικία και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής αυξάνει κατά 9,779 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος, η Περιφέρεια Βραχίονα και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους. Επίσης, για κάθε αύξηση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους κατά 1 % η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής μειώνεται κατά 1,202 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος, η ηλικία και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 22].

Πίνακας 22. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής (p-value < 0,05) – 1^{ο} Μοντέλο.

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	4,288	0,307
Ηλικία	9,779	0,003
Περιφέρεια Βραχίονα	1,467	0,376
Ποσοστό Σωματικού Λίπους	- 1,202	0,041

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής αυξάνει κατά 11,776 N*M, όταν παραμένουν σταθερά ο γονότυπος και το Ποσοστό Σωματικού Λίπους. Η στατιστικά σημαντική συσχέτιση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους με τη Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Ταχυδύναμης Προσαγωγής χάνεται οριακά όταν κρατήσουμε σταθερά μόνο το γονότυπο και την ηλικία (p-value > 0,05) [Πίνακας 23].

Πίνακας 23. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Ταχυδύναμης Προσαγωγής (p-value < 0,05) – 2^{ο} Μοντέλο.

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	4,929	0,233
Ηλικία	11,776	0,000
Ποσοστό Σωματικού Λίπους	- 0,879	0,052

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Απαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Απαγωγής αυξάνει κατά 3,392 N*M, όταν παραμένει σταθερός ο γονότυπος [Πίνακας 24].

Πίνακας 24. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Απαγωγής (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	- 1,137	0,542
Ηλικία	3,392	0,001

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει η ηλικία (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε 1 έτος αύξησης της ηλικίας η Σχετική Μέση Μέγιστη Ροπή Εκρηκτικότητας Προσαγωγής αυξάνει κατά 8,380 N*M, όταν παραμένει σταθερός ο γονότυπος και η Περιφέρεια Βραχίονα [Πίνακας 25].

Πίνακας 25. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της Σχετικής Μέσης Μέγιστης Ροπής κατά τη Δοκιμασία Εκρηκτικότητας Προσαγωγής (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	0,410	0,917
Ηλικία	8,380	0,001
Περιφέρεια Βραχίονα	0,338	0,779

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 25 m (p-value > 0,05) [Πίνακας 26].

Πίνακας 26. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 25 m (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	0,121	0,549
Ηλικία	- 0,189	0,137
Περιφέρεια Βραχίονα	- 0,073	0,243

Διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στην πρόβλεψη της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 200 m (p-value > 0,05). Στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην πρόβλεψη έχει το Ποσοστό Σωματικού Λίπους (p-value < 0,05). Πιο συγκεκριμένα, για κάθε αύξηση κατά 1 % του Ποσοστού Σωματικού Λίπους η επίδοση στην ελεύθερη κολύμβηση 200 m αυξάνει κατά 0,013 min, όταν παραμένει σταθερός ο γονότυπος [Πίνακας 27].

Πίνακας 27. Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση για την εκτίμηση της επίδοσης κατά την κολύμβηση με ελεύθερο στυλ για 200 m (p-value < 0,05).

Ανεξάρτητη Μεταβλητή	Συντελεστής Β	p-value
Γονότυπος FTO	- 0,008	0,839
Ποσοστό Σωματικού Λίπους	0,013	0,002

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Τα Κύρια Ευρήματα της Μελέτης

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι ο πολυμορφισμός rs9939609 δεν επηρεάζει τις αθλητικές επιδόσεις των εφήβων είτε στο Ισοκινητικό Δυναμόμετρο είτε στις Εργομετρικές Δοκιμασίες στην πισίνα. Οι αθλητικές επιδόσεις επηρεάζονται θετικά από την ηλικία των εφήβων και αρνητικά από το Ποσοστό Σωματικού Λίπους, όταν είναι σταθερός ο γονότυπος και η Περιφέρεια Βραχίονα. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εφήβων που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως το BMI και η Περιφέρεια Μέσης, δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των αθλητών που ανήκουν στις τρεις διαφορετικές γονοτυπικές κατηγορίες (TT, AT, AA). Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν υπάρχει μεταξύ των εφήβων αθλητών, που ανήκουν στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες, τόσο για τις βιοχημικές εξετάσεις αίματος, όσο και για την Εκατοστιαία Μέση Ημερήσια Πρόσληψη θρεπτικών συστατικών.

Η αρχική κατάταξη των αθλητών σε γονοτυπικές κατηγορίες έδειξε ότι ποσοστό 24,24 % ήταν ομόζυγοι για το φυσιολογικό αλληλόμορφο (TT), ποσοστό 48,48 % ήταν ετερόζυγοι (AT) και ποσοστό 22,73 % ήταν ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου (AA) (οι γονότυποι 3 αθλητών, ποσοστό 4,55 %, δεν κατορθώθηκε να ταυτοποιηθούν). Τα ποσοστά αυτά είναι παραπλήσια με τα γνωστά από τη βιβλιογραφία και προηγούμενες έρευνες σε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς [9,68]. Οι αθλητικές επιδόσεις των έφηβων υδατοσφαιριστών δεν επηρεάστηκαν από το γονότυπο FTO, γεγονός που συμβαδίζει με τα γνωστά αποτελέσματα άλλων μελετών, που επίσης δεν κατάφεραν να συσχετίσουν την επίδραση των SNPs με τα επίπεδα άσκησης-φυσικής δραστηριότητας [120,167,168,169,170,171,172], δηλαδή δεν έδειξαν αν οι πολυμορφισμοί αυξάνουν ή μειώνουν τη φυσική δραστηριότητα. Βέβαια, θα πρέπει να σημειώσουμε στο σημείο αυτό ότι κάποιοι από τους αθλητές της μελέτης μας ακολουθούν προπονητικό πρόγραμμα πολύ υψηλού επιπέδου, καθώς αποτελούν τους πρωταθλητές Ελλάδος για το έτος 2017 στην αντίστοιχη ηλικιακή κατηγορία. Οπότε, τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητάς τους είναι κατά τεκμήριο πολύ υψηλότερα από αυτά του γενικού πληθυσμού των εφήβων και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν είναι απολύτως συγκρίσιμα με όσα καταγράφονται στις προηγούμενες έρευνες για την επίδραση του γονοτύπου FTO.

Αν και θα περιμέναμε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και ειδικά στην τιμή του BMI σε κάθε κατηγορία γονοτύπου, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι μέσοι όροι των τιμών ήταν ίδιοι. Αυτό είναι πιθανό να οφείλεται στη συστηματική ενασχόληση των εφήβων με την υδατοσφαίριση, η οποία αναιρεί τη γενετική προδιάθεση, που έχουν οι φορείς του αλληλομόρφου κινδύνου A, για παχυσαρκία. Η ευεργετική επίδραση της αυξημένης φυσικής δραστηριότητας στην αναίρεση της δράσης των πολυμορφισμών του FTO έχει επιβεβαιωθεί και από πλήθος άλλων ανεξάρτητων μελετών [167,170,171,172,174,175]. Δεδομένα από 45 μελέτες και μετά-ανάλυση έχουν αποδείξει ότι η συσχέτιση των SNPs με το BMI μπορεί να τροποποιηθεί [173], καθώς αποκαλύφθηκε ότι οι ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs9939609 μπορούν να μειώσουν το σωματικό τους βάρος, εφόσον έχουν αυξημένη φυσική δραστηριότητα, αναιρώντας τη γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία. Σημειώνεται, επίσης, ότι στη διάρκεια της εφηβείας ολοκληρώνεται η ανάπτυξη του αθλητή και διαμορφώνεται ο βαθμός παχυσαρκίας, οπότε είναι πολύ κρίσιμος ο ρόλος οποιασδήποτε θετικής παρέμβασης στον τρόπο ζωής, όπως ο αθλητισμός [188].

Η αύξηση της ηλικίας συσχετίζεται με καλύτερες επιδόσεις στις Εργομετρικές Δοκιμασίες, όπως η Μέγιστη Δύναμη Απαγωγής και Προσαγωγής, η Ταχυδύναμη Απαγωγής και Προσαγωγής, η Εκρηκτικότητα Απαγωγής και Προσαγωγής. Τα ευρήματα αυτά είναι αναμενόμενα, καθώς η μεγαλύτερη ηλικία σημαίνει και περισσότερα χρόνια συστηματικής προπόνησης και βελτίωσης των αθλητικών επιδόσεων, ενώ γνωρίζουμε ότι στη διάρκεια της εφηβείας συνεχίζεται η αύξηση του Μυοσκελετικού Συστήματος.

Η αύξηση του Ποσοστού Σωματικού Λίπους συσχετίζεται με χειρότερες αθλητικές επιδόσεις στις Εργομετρικές Δοκιμασίες, όπως η Μέγιστη Δύναμη Προσαγωγής, η Ταχυδύναμη Προσαγωγής και η ελεύθερη κολύμβηση για 200 m. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες που συσχετίζουν το αυξημένο Ποσοστό Σωματικού Λίπους με μείωση των επιπέδων φυσικής κατάστασης [189]. Στους υπολογισμούς έγινε στάθμιση όχι μόνο ως προς το γονότυπο και την ηλικία, αλλά και την Περιφέρεια Βραχίονα. Η αυξημένη Περιφέρεια Βραχίονα θα περίμενε κανείς ότι θα οδηγούσε σε αύξηση των αθλητικών επιδόσεων [190], όμως, όπως φαίνεται από τη στατιστική ανάλυση, αυτό δεν ισχύει και η επίδραση γίνεται κυρίως από το Ποσοστό Σωματικού Λίπους. Το γεγονός εξηγείται αν θεωρήσουμε ότι στην ηλικία αυτή η διαμόρφωση της μυϊκής κατανομής δεν έχει ολοκληρωθεί και στον καθορισμό της Περιφέρειας Βραχίονα συμμετέχει ακόμα σε μεγάλο ποσοστό τόσο ο λιπώδης ιστός όσο

και ο μυϊκός, που κυρίως συνεισφέρει στις αθλητικές επιδόσεις [191]. Κατά συνέπεια, το μεγαλύτερο Ποσοστό Σωματικού Λίπους λειτουργεί ως μειονέκτημα στις αθλητικές επιδόσεις των εφήβων στην υδατοσφαίριση.

Η Εκατοστιαία Μέση Ημερήσια Πρόσληψη θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λίπους) δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον πολυμορφισμό του FTO, δηλαδή οι αθλητές και των τριών γονοτυπικών κατηγοριών ακολουθούν παραπλήσιο διαιτολόγιο. Φαίνεται ότι η καθημερινή προπόνηση στην υδατοσφαίριση αναιρεί την οποιαδήποτε γενετική προδιάθεση υπάρχει λόγω του αλληλομόρφου κινδύνου A για διαφορετικές διαιτολογικές προτιμήσεις των εφήβων. Οι έφηβοι που προπονούνται καθημερινά για αρκετές ώρες όχι μόνο έχουν τις ευεργετικές επιδράσεις του αθλητισμού στη σωματική τους διάπλαση, αλλά ακολουθούν συνήθως και ένα πιο προσεκτικά επιλεγμένο διαιτολόγιο σε σχέση με τους μη αθλούμενους συνομηλίκους τους [192].

Οι αιματολογικές – βιοχημικές εξετάσεις των αθλητών ήταν, επίσης, παρόμοιες για όλους ανεξάρτητα από τη γονοτυπική κατηγορία, στην οποία ανήκαν. Με δεδομένο ότι το FTO αρχικά συσχετίστηκε με το διαβήτη τύπου 2 και κατόπιν διευκρινίστηκε η επίδρασή του στο BMI [9], είναι σημαντικό ότι ο πολυμορφισμός δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα. Όλοι οι αθλητές είχαν παραπλήσιες και απόλυτα φυσιολογικές τιμές γλυκόζης αίματος ανεξάρτητα από το γονότυπό τους, κάτι που φυσικά αποδεικνύει τον κομβικό ρόλο της υδατοσφαίρισης στη διατήρηση της υγείας τους.

4.2. Περιορισμοί της Μελέτης

Η παρούσα μελέτη έγινε μόνο σε έφηβους αθλητές υδατοσφαίρισης, οπότε τα αποτελέσματά της δεν μπορούν να επεκταθούν και στα κορίτσια. Το μέγεθος του δείγματος (66 αθλητές) δεν είναι ιδιαίτερο υψηλό και προήλθε από δύο μόνο ομάδες υδατοσφαίρισης της Αττικής με αθλητές ελληνικής καταγωγής, οπότε περιορίζει την αντιπροσωπευτικότητα των αποτελεσμάτων. Αν και το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε κατά τις Εργομετρικές Δοκιμασίες των αθλητών παρέμεινε σταθερό, το γεγονός ότι δεν πραγματοποιήθηκε για όλους την ίδια χρονική περίοδο ίσως περιορίζει την ομοιομορφία των μετρήσεων, καθώς στη διάρκεια της χρονιάς η φυσική κατάσταση των αθλητών παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάλογα με την προπονητική επιβάρυνση.

4.3. Συμπεράσματα - Προοπτικές

Οι αθλητές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές του BMI, της Περιφέρειας Μέσης, του Ποσοστού Σωματικού Λίπους και των υπόλοιπων ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στις τρεις γονοτυπικές κατηγορίες, στις οποίες ανήκουν (TT, AT, AA). Γνωρίζουμε ότι η εφηβεία είναι η περίοδος της ζωής του ατόμου, η οποία ξεκινά με την εμφάνιση των δευτερογενών χαρακτηριστικών της ήβης και φτάνει μέχρι την ενηλικίωση, όπου και ολοκληρώνεται η ανάπτυξη του οργανισμού, και αποτελεί ένα από τα πιο κρίσιμα στάδια στην ανάπτυξη του ατόμου για την ανάπτυξη και διατήρηση της παχυσαρκίας [193]. Οι αλλαγές, που συντελούνται κατά την διάρκεια της εφηβείας, συμπεριλαμβανομένων αλλαγών στη σωματική σύνθεση, τη σεξουαλική, γνωστική και κοινωνική ωρίμανση του ατόμου, καθώς επίσης και οι αλλαγές στη δίαιτα και τη διατροφική συμπεριφορά, αλλά και σε άλλες συμπεριφορές του τρόπου ζωής, αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας στους εφήβους [188]. Κατά συνέπεια, η συστηματική ενασχόληση των εφήβων με την υδατοσφαίριση όχι μόνο τους προφυλάσσει γενικότερα από την παχυσαρκία, αλλά και ειδικότερα, όπως φαίνεται και από την παρούσα μελέτη, από τη γενετική προδιάθεση, την οποία προκαλεί το αλληλόμορφο κινδύνου A.

Ο πολυμορφισμός rs9939609 του FTO δε συνεισφέρει στατιστικά σημαντικά στη γενετική προδιάθεση για αθλητικές επιδόσεις σε έφηβους αθλητές υδατοσφαίρισης. Είναι πιθανόν η γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία να επηρεάζει κάποια άλλη Εργομετρική Δοκιμασία, εκτός αυτών στις οποίες υποβλήθηκαν οι αθλητές, οπότε μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να αξιολογήσουν την επίδραση του πολυμορφισμού rs9939609 σε κάποια άλλη αθλητική επίδοση. Επίσης, αντίστοιχες έρευνες θα μπορούσαν να συσχετίσουν τα αποτελέσματα των Εργομετρικών Δοκιμασιών της παρούσας έρευνας με άλλους γνωστούς πολυμορφισμούς. Ενδεικτικά, αξίζει να αναφερθεί ότι σε πρόσφατη μελέτη εντοπίστηκαν αρκετοί πολυμορφισμοί, οι οποίοι συνεισφέρουν στατιστικά σημαντικά στην αντοχή και την αερόβια αθλητική επίδοση κορυφαίων αθλητών [194]. Ο πολυμορφισμός rs1572312 του γονιδίου NFIA-AS2 ίσως σχετίζεται με την αυξημένη ερυθροποίηση, ενώ ο πολυμορφισμός rs7191721 του γονιδίου RBFOX1 ίσως σχετίζεται με αυξημένη μυϊκή λειτουργία, όπως αναφέρεται στη μελέτη, και αυτά είναι απαραίτητα χαρακτηριστικά και στους αθλητές υδατοσφαίρισης. Οι αντίστοιχες μελέτες θα μπορούσαν να επεκταθούν και στα κορίτσια, αλλά και σε πληθυσμούς διαφορετικής καταγωγής.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Malik VS, Willett WC, Hu FB. *Global obesity: trends, risk factors and policy implications.* Nature Reviews Endocrinology. 2013; 9: 13-27.

2. Anis AH, et al. *Obesity and overweight in Canada: an updated cost-of-illness study.* Obes Rev. 2010; 11: 31-40.

3. Laurson KR, Welk GJ, Eisenmann JC. *Diagnostic performance of BMI percentiles to identify adolescents with metabolic syndrome.* Pediatrics. 2014; 133: e330-8.

4. Elks CE, et al. *Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression.* Front Endocrinol (Lausanne). 2012; 3: 29.

5. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. *Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity.* Behav Genet. 1997; 27: 325-51.

6. Loos, Ruth J.F. *The Genetic Determinants of Common Obesity-Susceptibility.* In: Symonds, Michael E, editors, Adipose Tissue Biology, Springer, 2012: 317-378.

7. Day FR, Loos RJ. *Developments in obesity genetics in the era of genome-wide association studies.* J Nutrigenet Nutrigenomics. 2011; 4: 222–38.

8. Lu Y, Loos RJ. *Obesity genomics: assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations.* Genome Med. 2013; 5: 55.

9. Frayling TM, et al. *A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity.* Science. 2007; 316: 889-94.

10. Scuteri A, et al. *Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits.* PLoS Genet. 2007; 3: e115.

11. Dina C, et al. *Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity.* Nat Genet. 2007; 39: 724–6.

12. Peters T, Ausmeier K, Rüther U. *Cloning of Fatso (Fto), a novel gene deleted by the Fused toes (Ft) mouse mutation.* Mamm Genome. 1999; 10: 983-6.

13. Gerken T, et al. *The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase.* Science. 2007; 318: 1469-72.

14. Stratakis CA, et al. *Anisomastia associated with interstitial duplication of chromosome 16, mental retardation, obesity, dysmorphic facies, and digital anomalies: molecular mapping of a new syndrome by fluorescent in situ hybridization and microsatellites to 16q13 (D16S419-D16S503).* J Clin Endocrinol Metab. 2000; 85: 3396-401.

15. Robbens S, et al. *The FTO gene, implicated in human obesity, is found only in vertebrates and marine algae.* J Mol Evol. 2008; 66: 80-4.

16. Fontanesi L, et al. *The porcine fat mass and obesity associated (FTO) gene is associated with fat deposition in Italian Duroc pigs.* Anim Genet. 2009; 40: 90-3.

17. Sanchez-Pulido L, Andrade-Navarro MA. *The FTO (fat mass and obesity associated) gene codes for a novel member of the non-heme dioxygenase superfamily.* BMC Biochem. 2007; 8: 23.

18. Peters T, Ausmeier K, Dildrop R, Ruther U. *The mouse Fused toes (Ft) mutation is the result of a 1.6-Mb deletion including the entire Iroquois B gene cluster.* Mamm Genome. 2002; 13: 186-8.

19. van der Hoeven F, et al. *Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft).* Development. 1994; 120: 2601-7.

20. Fan B, Du ZQ, Rothschild MF. *The fat mass and obesity-associated (FTO) gene is associated with intramuscular fat content and growth rate in the pig.* Anim Biotechnol. 2009; 20: 58-70.

21. Yang Q, Xiao T, Guo J, Su Z. *Complex Relationship between Obesity and the Fat Mass and Obesity Locus.* Int J Biol Sci. 2017; 13: 615-29.

22. Han Z, et al. *Crystal structure of the FTO protein reveals basis for its substrate specificity.* Nature. 2010; 464: 1205-9.

23. Fedeles BI, et al. *The AlkB family of Fe (II)/α-ketoglutarate-dependent dioxygenases: repairing nucleic acid alkylation damage and beyond.* J Biol Chem. 2015; 290: 20734-42.

24. Jia G, et al. *Oxidative demethylation of 3-methylthymine and 3-methyluracil in single-stranded DNA and RNA by mouse and human FTO.* FEBS Lett. 2008; 582: 3313-9.

25. Jia G, et al. *N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO.* Nat Chem Biol. 2011; 7: 885-7.

26. Yeo GS. *The role of the FTO (Fat Mass and Obesity Related) locus in regulating body size and composition.* Mol Cell Endocrinol. 2014; 397: 34-41.

27. Meyre D, et al. *Prevalence of loss-of-function FTO mutations in lean and obese individuals.* Diabetes. 2010; 59: 311-8.

28. Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. *Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1974; 71: 3971–5.

29. Kowalak JA, et al. *A novel method for the determination of post-transcriptional modification in RNA by mass spectrometry.* Nucleic Acids Res. 1993; 21: 4577–85.

30. Wei CM, Moss B. *Nucleotide sequences at the N6-methyladenosine sites of HeLa cell messenger ribonucleic acid.* Biochemistry. 1977; 16: 1672-6.

31. Lee M, Kim B, Kim VN. *Emerging roles of RNA modification: m(6)A and U-tail.* Cell. 2014; 158: 980-7.

32. Wang X, et al. *N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability.* Nature. 2014; 505: 117-20.

33. Lin S, Gregory RI. *Methyltransferases modulate RNA stability in embryonic stem cells.* Nat Cell Biol. 2014; 16: 129-31.

34. Wang X, et al. *N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency.* Cell. 2015; 161: 1388-99.

35. Bokar JA, et al. *Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase.* RNA. 1997; 3: 1233–47.

36. Zheng G, et al. *ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility.* Mol. Cell. 2013; 49: 18-29.

37. Ke S, et al. *A majority of m6A residues are in the last exons, allowing the potential for 3' UTR regulation.* Genes Dev. 2015; 29: 2037-53.

38. Batista PJ, et al. *m(6)A RNA modification controls cell fate transition in mammalian embryonic stem cells.* Cell Stem Cell. 2014; 15: 707-19.

39. Dominissini D, et al. *Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq.* Nature. 2012; 485: 201-6.

40. Meyer KD, et al. *Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons.* Cell. 2012; 149: 1635-46.

41. Molinie B, et al. *m(6)A-LAIC-seq reveals the census and complexity of the m(6)A epitranscriptome.* Nat Methods. 2016; 13: 692-8.

42. Fischer J, et al. *Inactivation of the Fto gene protects from obesity.* Nature. 2009; 458: 894-8.

43. Zhao X, et al. *FTO-dependent demethylation of N6-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis.* Cell Res. 2014; 24: 1403-19.

44. Huang W, et al. *Determination of DNA adenine methylation in genomes of mammals and plants by liquid chromatography/mass spectrometry.* RSC Adv. 2015; 5: 64046-54.

45. Liang D, et al. *The decreased N(6)-methyladenine DNA modification in cancer cells.* Biochem Biophys Res Commun. 2016; 480: 120-5.

46. Fu Y, et al. *FTO-mediated formation of N6-hydroxymethyladenosine and N6-formyladenosine in mammalian RNA.* Nat Commun. 2013; 4: 1798.

47. Merkestein M, et al. *Changes in gene expression associated with FTO overexpression in mice.* PloS One. 2014; 9: e97162.

48. Hess ME, et al. *The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity of the dopaminergic midbrain circuitry.* Nat Neurosci. 2013; 16: 1042-8.

49. Sevgi M, et al. *An Obesity-predisposing variant of the FTO gene regulates D2R-dependent reward learning.* J Neurosci. 2015; 35: 12584-92.

50. Davis W, et al. *The fat mass and obesity-associated FTO rs9939609 polymorphism is associated with elevated homocysteine levels in patients with multiple sclerosis screened for vascular risk factors.* Metab Brain Dis. 2014; 29: 409-19.

51. Bravard A, et al. *The expression of FTO in human adipose tissue is influenced by fat depot, adiposity, and insulin sensitivity.* Obesity (Silver Spring). 2013; 21: 1165-73.

52. Jeong HS, Hayashi G, Okamoto A. *Diazirine photocrosslinking recruits activated FTO demethylase complexes for specific N(6)-methyladenosine recognition.* ACS Chem Biol. 2015; 10: 1450-5.

53. Zhang M, et al. *The Demethylase Activity of FTO (Fat Mass and Obesity Associated Protein) Is Required for Preadipocyte Differentiation.* PLoS One. 2015; 10: e0133788.

54. Dominissini D, et al. *Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq.* Nature. 2012; 485: 201-6.

55. Zhao X, et al. *FTO-dependent demethylation of N6-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis.* Cell Res. 2014; 24: 1403-19.

56. Merkestein M, et al. *FTO influences adipogenesis by regulating mitotic clonal expansion.* Nat Commun. 2015; 6: 6792

57. Rochford JJ, et al. *ETO/MTG8 is an inhibitor of C/EBPbeta activity and a regulator of early adipogenesis.* Mol Cell Biol. 2004; 24: 9863-72.

58. Qiong W, et al. *The obesity-associated Fto gene is a transcriptional coactivator.* Biochem Biophys Res Commun. 2010; 401: 390-5.

59. Karra E, et al. *A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity.* J Clin Invest. 2013; 123: 3539-51.

60. González JR, et al. *FTO Risk Haplotype Among Early Onset and Severe Obesity Cases in a Population of Western Spain.* Obesity (Silver Spring). 2012; 20: 909–15.

61. Albuquerque D, Nobrega C, Manco L. *Association of FTO polymorphisms with obesity and obesity-related outcomes in Portuguese children.* PloS One. 2013; 8: e54370.

62. Zermeno-Rivera JJ, et al. *Association of the FTO gene SNP rs17817449 with body fat distribution in Mexican women.* Genet Mol Res. 2014; 13: 8561-7.

63. Prakash J, et al. *Association of FTO rs17817449 SNP with obesity and associated physiological parameters in a north Indian population.* Ann Hum Biol. 2011; 38: 760-3.

64. Chuenta W, et al. *Common variations in the FTO gene and obesity in Thais: a family-based study.* Gene. 2015; 558: 75-81.

65. Fawwad A, et al. *Common variant within the FTO gene, rs9939609, obesity and type 2 diabetes in population of Karachi, Pakistan.* Diabetes Metab Syndr. 2016; 10: 43-7.

66. Monda KL, et al. *A meta-analysis identifies new loci associated with body mass index in individuals of African ancestry.* Nat Genet. 2013; 45: 690-6.

67. Keaton JM, et al. *A comparison of type 2 diabetes risk allele load between African Americans and European Americans.* Hum Genet. 2014; 133: 1487-95.

68. Speliotes EK, et al. *Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index.* Nat Genet. 2010; 42: 937–48.

69. Cho YS, et al. *A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits.* Nat Genet. 2009; 41: 527–34.

70. Wen W, et al. *Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians.* Nat Genet. 2012; 44: 307–11.

71. Okada Y, et al. *Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations.* Nat Genet. 2012; 44: 302–6.

72. Peters U, et al. *A systematic mapping approach of 16q12.2/FTO and BMI in more than 20,000 African Americans narrows in on the underlying functional variation: results from the Population Architecture using Genomics and Epidemiology (PAGE) study.* PLoS Genet. 2013; 9: e1003171.

73. Stratigopoulos G, et al. *Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008; 294: R1185–96.

74. Stratigopoulos G, LeDuc CA, Cremona ML, Chung WK, Leibel RL. *Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIP1L) genes and coordinates leptin receptor signaling.* J Biol Chem. 2011; 286: 2155–70.

75. Li H, et al. *Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians.* Diabetologia. 2012; 55: 981–95.

76. Li S, et al. *Cumulative effects and predictive value of common obesity-susceptibility variants identified by genome-wide association studies.* Am J Clin Nutr. 2010; 91: 184-90.

77. Wing MR, et al. *Analysis of FTO gene variants with measures of obesity and glucose homeostasis in the IRAS Family Study.* Hum Genet. 2009; 125: 615–26.

78. Villalobos-Comparan M, et al. *The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population.* Obesity (Silver Spring). 2008; 16: 2296–301.

79. Dong C, et al. *Genome-wide linkage and peak-wide association study of obesity-related quantitative traits in Caribbean Hispanics.* Hum Genet. 2011; 129: 209–19.

80. Song Y, et al. *FTO polymorphisms are associated with obesity but not diabetes risk in postmenopausal women.* Obesity (Silver Spring). 2008; 16: 2472–80.

81. Freathy RM, et al. *Common variation in the FTO gene alters diabetes-related metabolic traits to the extent expected given its effect on BMI.* Diabetes. 2008; 57: 1419–26.

82. Fall T, et al. *The Role of Adiposity in Cardiometabolic Traits: A Mendelian Randomization Analysis.* PLoS Med. 2013; 10: e1001474.

83. Church C, et al. *Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity.* Nat Genet. 2010; 42: 1086-92.

84. Hubacek JA, Dlouha D, Lanska V, Adamkova V. *Strong Gender-Specific Additive Effects of the NYD-SP18 and FTO Variants on BMI Values.* Physiol Res. 2015; 64: S419-26.

85. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Pacheco D. *Role of rs9939609 FTO gene variant in weight loss, insulin resistance and metabolic parameters after a high monounsaturated vs a high polyunsaturated fat hypocaloric diets.* Nutr Hosp. 2015; 32: 175-81.

86. Elouej S, et al. *Association of rs9939609 Polymorphism with Metabolic Parameters and FTO Risk Haplotype Among Tunisian Metabolic Syndrome.* Metab Syndr Relat Disord. 2016; 14: 121-8.

87. He D, Fu M, Miao S, Hotta K, Chandak GR, Xi B. *FTO gene variant and risk of hypertension: A meta-analysis of 57,464 hypertensive cases and 41,256 controls.* Metabolism. 2014; 63: 633-9.

88. Aijala M, et al. *The fat mass and obesity-associated (FTO) gene variant rs9939609 predicts long-term incidence of cardiovascular disease and related death independent of the traditional risk factors.* Ann Med. 2015; 47: 655-63.

89. Ligthart S, et al. *Pleiotropy among common genetic loci identified for cardiometabolic disorders and C-reactive protein.* PLoS One. 2015; 10: e0118859.

90. Rees SD, et al. *An FTO variant is associated with Type 2 diabetes in South Asian populations after accounting for body mass index and waist circumference.* Diabet Med. 2011; 28: 673–80.

91. Hertel JK, et al. *FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41,504 subjects from the Scandinavian HUNT, MDC, and MPP studies.* Diabetes. 2011; 60: 1637–44.

92. Brennan P, et al. *Obesity and cancer: Mendelian randomization approach utilizing the FTO genotype.* Int J Epidemiol. 2009; 38: 971–5.

93. Delahanty RJ, et al. *Association of obesity-related genetic variants with endometrial cancer risk: a report from the Shanghai Endometrial Cancer Genetics Study.* Am J Epidemiol. 2011; 174: 1115–26.

94. Machiela MJ, et al. *Association of type 2 diabetes susceptibility variants with advanced prostate cancer risk in the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium.* Am J Epidemiol. 2012; 176: 1121–9.

95. Lurie G, et al. *The obesity-associated polymorphisms FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 and endometrial cancer risk in non-Hispanic white women.* PLoS ONE. 2011; 6: e16756.

96. Long J, et al. *Evaluating genome-wide association study-identified breast cancer risk variants in African-American women.* PLoS ONE. 2013; 8: e58350.

97. Pierce BL, Austin MA, Ahsan H. *Association study of type 2 diabetes genetic susceptibility variants and risk of pancreatic cancer: an analysis of PanScan-I data.* Cancer Causes Control. 2011; 22: 877–83.

98. Lewis SJ, et al. *Associations between an obesity related genetic variant (FTO rs9939609) and prostate cancer risk.* PLoS ONE. 2010; 5: e13485.

99. Gaudet MM, et al. *No association between FTO or HHEX and endometrial cancer risk.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2010; 19: 2106–9.

100. Lim U, et al. *Susceptibility variants for obesity and colorectal cancer risk: the multiethnic cohort and PAGE studies.* Int J Cancer. 2012; 131: E1038–43.

101. Li G, Chen Q, Wang L, Ke D, Yuan Z. *Association between FTO gene polymorphism and cancer risk: evidence from 16,277 cases and 31,153 controls.* Tumour Biol. 2012; 33: 1237–43.

102. Zheng W, et al. *Common genetic determinants of breast-cancer risk in East Asian women: a collaborative study of 23 637 breast cancer cases and 25 579 controls.* Hum Mol Genet. 2013; 22: 2539–50.

103. Garcia-Closas M, et al. *Genome-wide association studies identify four ER negative-specific breast cancer risk loci.* Nat Genet. 2013; 45: 392–8.

104. Iles MM, et al. *A variant in FTO shows association with melanoma risk not due to BMI.* Nat Genet. 2013; 45: 428–32.

105. Rzehak P, et al. *Associations between BMI and the FTO Gene Are Age Dependent: Results from the GINI and LISA Birth Cohort Studies up to Age 6 Years.* Obes Facts. 2010; 3: 173–80.

106. Cauchi S, et al. *Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations.* J Mol Med. 2009; 87: 537–46.

107. Jess T, et al. *Impact on weight dynamics and general growth of the common FTO rs9939609: a longitudinal Danish cohort study.* Int J Obes. 2008; 32: 1388–94.

108. Kilpelainen TO, et al. *Obesity-susceptibility loci have a limited influence on birth weight: a meta-analysis of up to 28,219 individuals.* Am J Clin Nutr. 2011; 93: 851–60.

109. Horikoshi M, et al. *New loci associated with birth weight identify genetic links between intrauterine growth and adult height and metabolism.* Nat Genet. 2013; 45: 76–82.

110. Graff M, et al. *Genome-wide analysis of BMI in adolescents and young adults reveals additional insight into the effects of genetic loci over the life course.* Hum Mol Genet. 2013; 22: 3597-607.

111. Hardy R, et al. *Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size.* Hum Mol Genet. 2010; 19: 545–52.

112. Qi L, et al. *Fat mass-and obesity-associated (FTO) gene variant is associated with obesity: longitudinal analyses in two cohort studies and functional test.* Diabetes. 2008; 57: 3145–51.

113. Sovio U, et al. *Association between common variation at the FTO locus and changes in body mass index from infancy to late childhood: the complex nature of genetic association through growth and development.* PLoS Genet. 2011; 7: e1001307.

114. Cecil JE, Tavendale R, Watt P, Hetherington MM, Palmer CNA. *An Obesity-Associated FTO Gene Variant and Increased Energy Intake in Children.* N Engl J Med. 2008; 359: 2558–66.

115. Speakman JR, Rance KA, Johnstone AM. *Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure.* Obesity (Silver Spring). 2008; 16: 1961–5.

116. Timpson NJ, et al. *The fat mass-and obesity-associated locus and dietary intake in children.* Am J Clin Nutr. 2008; 88: 971–8.

117. Sonestedt E, et al. *Fat and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the FTO genotype and obesity.* Am J Clin Nutr. 2009; 90: 1418–25.

118. Lee HJ, et al. *Effects of common FTO gene variants associated with BMI on dietary intake and physical activity in Koreans.* Clin Chim Acta. 2010; 411: 1716–22.

119. Park SL, et al. *Association of the FTO Obesity Risk Variant rs8050136 With Percentage of Energy Intake From Fat in Multiple Racial/Ethnic Populations: the PAGE study.* Am J Epidemiol. 2013; 178: 780-90.

120. Ahmad T, et al. *Lifestyle Interaction With Fat Mass and Obesity-Associated (FTO) Genotype and Risk of Obesity in Apparently Healthy U.S. Women.* Diabetes Care. 2011; 34: 675–80.

121. Wardle J, et al. *Obesity Associated Genetic Variation in FTO Is Associated with Diminished Satiety.* J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 3640–3.

122. Wardle J, Llewellyn C, Sanderson S, Plomin R. *The FTO gene and measured food intake in children.* Int J Obes. 2009; 33: 42–5.

123. McCaffery JM, et al. *Obesity susceptibility loci and dietary intake in the Look AHEAD Trial.* Am J Clin Nutr. 2012; 95: 1477-86.

124. Brunkwall L, et al. *Genetic variation in the fat mass and obesity-associated gene (FTO) in association with food preferences in healthy adults.* Food Nutr Res. 2013; 57: 20028.

125. Tanofsky-Kraff M, et al. *The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating.* Am J Clin Nutr. 2009; 90: 1483–8.

126. Tanaka T, et al. *Genome-wide meta-analysis of observational studies shows common genetic variants associated with macronutrient intake.* Am J Clin Nutr. 2013; 97: 1395-402.

127. Corella D, et al. *A High Intake of Saturated Fatty Acids Strengthens the Association between the Fat Mass and Obesity-Associated Gene and BMI.* J Nutr. 2011; 141: 2219–25.

128. Cecil J, Dalton M, Finlayson G, Blundell J, Hetherington M, Palmer C. *Obesity and eating behaviour in children and adolescents: contribution of common gene polymorphisms.* Int Rev Psychiatry. 2012; 24: 200-10.

129. Scheid JL, et al. *FTO polymorphisms moderate the association of food reinforcement with energy intake.* Physiol Behav. 2014; 132: 51-6.

130. Xiang L, et al. *FTO genotype and weight loss in diet and lifestyle interventions: a systematic review and meta-analysis.* Am J Clin Nutr. 2016; 103: 1162-70.

131. Ma M, Harding HP, O'rahilly S, Ron D, Yeo GS. *Kinetic analysis of FTO (fat mass and obesity-associated) reveals that it is unlikely to function as a sensor for 2-oxoglutarate.* Biochem J. 2012; 444: 183-7.

132. Cheung MK, Gulati P, O'Rahilly S, Yeo GS. *FTO expression is regulated by availability of essential amino acids.* Int J Obes (Lond). 2013; 37: 744–7.

133. Huang T, et al. *FTO genotype, dietary protein, and change in appetite: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial.* Am J Clin Nutr. 2014; 99: 1126-30.

134. Daoud H, et al. *Identification of a pathogenic FTO mutation by next-generation sequencing in a newborn with growth retardation and developmental delay.* J Med Genet. 2016; 53: 200-7.

135. Pitman RT, Fong JT, Billman P, Puri N. *Knockdown of the fat mass and obesity gene disrupts cellular energy balance in a cell-type specific manner.* PLoS One. 2012; 7: e38444.

136. Lin L, Hales CM, Garber K, Jin P. *Fat mass and obesity-associated (FTO) protein interacts with CaMKII and modulates the activity of CREB signaling pathway.* Hum Mol Genet. 2014; 23: 3299-306.

137. Caruso V, Bahari H, Morris MJ. *The beneficial effects of early short-term exercise in the offspring of obese mothers are accompanied by alterations in the hypothalamic gene expression of appetite regulators and FTO (fat mass and obesity associated) gene.* J Neuroendocrinol. 2013; 25: 742-52.

138. Gulati P, Yeo GS. *The biology of FTO: from nucleic acid demethylase to amino acid sensor.* Diabetologia. 2013; 56: 2113-21.

139. Deliard S, et al. *The missense variation landscape of FTO, MC4R, and TMEM18 in obese children of African Ancestry.* Obesity (Silver Spring). 2013; 21: 159–63.

140. Zheng Z, et al. *Screening for Coding Variants in FTO and SH2B1 Genes in Chinese Patients with Obesity.* PLoS ONE. 2013; 8: e67039.

141. Boissel S, et al. *Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations.* Am J Hum Genet. 2009; 85: 106-11.

142. McMurray F, et al. *Adult onset global loss of the fto gene alters body composition and metabolism in the mouse.* PLoS Genet. 2013; 9: e1003166.

143. Anselme I, Laclef C, Lanaud M, Ruther U, Schneider-Maunoury S. *Defects in brain patterning and head morphogenesis in the mouse mutant Fused toes.* Dev Biol. 2007; 304: 208–20.

144. Gao X, Shin YH, Li M, Wang F, Tong Q, Zhang P. *The fat mass and obesity associated gene FTO functions in the brain to regulate postnatal growth in mice.* PLoS One. 2010; 5: e14005.

145. Meyre D, et al. *Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations.* Nat Genet. 2009; 41: 157-9.

146. Delous M, et al. *The ciliary gene RPGRIP1L is mutated in cerebello-oculo-renal syndrome (Joubert syndrome type B) and Meckel syndrome.* Nat Genet. 2007; 39: 875–81.

147. Stratigopoulos G, LeDuc CA, Cremona ML, Chung WK, Leibel RL. *Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIP1L) genes and coordinates leptin receptor signaling.* J Biol Chem. 2011; 286: 2155-70.

148. Stratigopoulos G, et al. *Hypomorphism for RPGRIP1L , a ciliary gene vicinal to the FTO locus, causes increased adiposity in mice.* Cell Metab. 2014; 19: 767-79.

149. Raqvin A, et al. *Long-range gene regulation links genomic type 2 diabetes and obesity risk regions to HHEX, SOX4, and IRX3.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2010; 107: 775-80.

150. Smemo S, et al. *Obesity- ssociated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3.* Nature. 2014; 507: 371-5.

151. Huang T, et al. *FTO genotype, dietary protein, and change in appetite: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial.* Am J Clin Nutr. 2014; 99: 1126-30.

152. Muc M, Padez C, Manco L. *Influence of physical activity on the association between the FTO variant rs9939609 and adiposity in young adults.* Am J Hum Biol. 2015; 27: 734-8.

153. Claussnitzer M, et al. *FTO Obesity Variant Circuitry and Adipocyte Browning in Humans.* N Engl J Med. 2015; 373: 895-907.

154. Virtanen KA, et al. *Functional brown adipose tissue in healthy adults.* N Engl J Med. 2009; 360: 1518-25.

155. Sidossis L, Kajimura S. *Brown and beige fat in humans: thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis.* J Clin Invest. 2015; 125: 478-86.

156. Tönjes A, et al. *Association of FTO variants with BMI and fat mass in the self-contained population of Sorbs in Germany.* Eur J Hum Genet. 2010; 18: 104-10.

157. Li C, Cao W. *Advances in CRISPR/Cas9-mediated gene editing.* Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao = Chinese journal of biotechnology. 2015; 31: 1531-42.

158. Steyer B, et al. *High content analysis platform for optimization of lipid mediated CRISPR-Cas9 delivery strategies in human cells.* Acta Biomater. 2016; 34: 143-58.

159. Gulati P, et al. *Role for the obesity-related FTO gene in the cellular sensing of amino acids.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110: 2557–62.

160. Tung YC, et al. *Hypothalamic-specific manipulation of Fto, the ortholog of the human obesity gene FTO, affects food intake in rats.* PLoS One. 2010; 5: e8771.

161. Ronkainen J, et al. *Fat mass-and obesity-associated gene Fto affects the dietary response in mouse white adipose tissue.* Sci Rep. 2015; 5: 9233.

162. Tung YL, et al. *FTO is necessary for the induction of leptin resistance by high-fat feeding.* Mol Metab. 2015; 4: 287-98.

163. Tschöp MH, et al. *A guide to analysis of mouse energy metabolism.* Nat Methods. 2011; 9: 57-63.

164. Church C, et al. *A mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated FTO gene.* PLoS Genet. 2009; 5: e1000599.

165. Church C, et al. *Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity.* Nat Genet. 2010; 42: 1086-92.

166. Simmons AL, Schlezinger JJ, Corkey BE. *What are we putting in our food that is making us fat? Food additives, contaminants, and other putative contributors to obesity.* Curr Obes Rep. 2014; 3: 273-85.

167. Karasawa S, et al. *Association of the common fat mass and obesity associated (FTO) gene polymorphism with obesity in a Japanese population.* Endocr J. 2010; 57: 293–301.

168. Holzapfel C, et al. *Genes and lifestyle factors in obesity: results from 12,462 subjects from MONICA/KORA.* Int J Obes (Lond). 2010; 34: 1538-45.

169. Franks PW, et al. *Assessing gene-treatment interactions at the FTO and INSIG2 loci on obesity related traits in the Diabetes Prevention Program.* Diabetologia. 2008; 51: 2214-23.

170. Rampersaud E, et al. *Physical activity and the association of common FTO gene variants with body mass index and obesity.* Arch Intern Med. 2008; 168: 1791–7.

171. Ahmad T, et al. *The fat-mass and obesity-associated (FTO) gene, physical activity, and risk of incident cardiovascular events in white women.* Am Heart J. 2010; 160: 1163–169.

172. Vimaleswaran KS, et al. *Physical activity attenuates the body mass index increasing influence of genetic variation in the FTO gene.* Am J Clin Nutr. 2009; 90: 425–8.

173. Kilpeläinen TO, et al. *Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children.* PLoS Med. 2011; 8: e1001116.

174. Demerath EW, et al. *Interaction of FTO and physical activity level on adiposity in African-American and European-American adults: the ARIC study.* Obesity (Silver Spring). 2011; 19: 1866–72.

175. Andreasen CH, et al. *Low physical activity accentuates the effect of the FTO rs9939609 polymorphism on body fat accumulation.* Diabetes. 2008; 57: 95-101.

176. Sonestedt E, et al. *Association between fat intake, physical activity and mortality depending on genetic variation in FTO.* Int J Obes (Lond). 2011; 35: 1041-9.

177. Hakanen M, et al. *FTO genotype is associated with body mass index after the age of seven years but not with energy intake or leisure-time physical activity.* J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94: 1281-7.

178. Marsaux CF, et al. *Changes in Physical Activity Following a Genetic-Based Internet-Delivered Personalized Intervention: Randomized Controlled Trial (Food4Me).* J Med Internet Res. 2016; 18: e30.

179. Celis-Morales C, et al. *Physical activity attenuates the effect of the FTO genotype on obesity traits in European adults: The Food4Me study.* Obesity (Silver Spring). 2016; 24: 962-9.

180. Fesinmeyer MD, et al. *Effects of smoking on the genetic risk of obesity: the population architecture using genomics and epidemiology study.* BMC Med Genet. 2013; 14: 6.

181. Bell CG, et al. *Integrated genetic and epigenetic analysis identifies haplotype-specific methylation in the FTO type 2 diabetes and obesity susceptibility locus.* PLoS One. 2010; 5: e14040.

182. Toperoff G, et al. *Genome-wide survey reveals predisposing diabetes type 2-related DNA methylation variations in human peripheral blood.* Hum Mol Genet. 2012; 21: 371–83.

183. Almen MS, et al. *Genome wide analysis reveals association of a FTO gene variant with epigenetic changes.* Genomics. 2012; 99: 132-7.

184. Dougkas A, Yaqoob P, Givens DI, Reynolds CK, Minihane AM. *The impact of obesity-related SNP on appetite and energy intake.* Br J Nutr. 2013; 110: 1151-6.

185. Livingstone KM, et al. *Associations between FTO genotype and total energy and macronutrient intake in adults: a systematic review and meta-analysis.* Obes Rev. 2015; 16: 666-78.

186. Qi Q, et al. *FTO genetic variants, dietary intake, and body mass index: insights from 177,330 individuals.* Hum Mol Genet. 2014; 23: 6961-72.

187. Παγουρτζή Ε. *Γενετική προδιάθεση παχυσαρκίας σε έφηβους αθλητές της υδατοσφαίρισης.* Μεταπτυχιακή Διατριβή, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. 2016; 24-30.

188. Alberga AS, et al. *Overweight and obese teenagers: why is adolescence a critical period?* Pediatr Obes, 2012; 7: 261-73.

189. Mattila VM, et al. *Physical fitness and performance. Body composition by DEXA and its association with physical fitness in 140 conscripts.* Med Sci Sports Exerc. 2007; 39: 2242-7.

190. Knechtle B, et al. *Upper arm circumference is associated with race performance in ultra-endurance runners.* Br J Sports Med. 2008; 42: 295-9.

191. Mayhew JL, Piper FC, Ware JS. *Anthropometric correlates with strength performance among resistance trained athletes.* J Sports Med Phys Fitness. 1993; 33: 159-65.

192. Scott JM, Deuster PA. *Sports Nutrition and the Athlete.* 4th ed. In: Birrer RB, ed. Musculoskeletal and Sports Medicine for The Primary Care Practitioner. Boca Raton, FL: CRC Press, 2016: 125-133.

193. Dietz WH. Periods of risk in childhood for the development of adult obesity--what do we need to learn? J Nutr. 1997; 127: 1884S-1886S.

194. Ahmetov I, et al. *Genome-wide association study identifies three novel genetic markers associated with elite endurance performance.* Biol Sport. 2015; 32: 3-9.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κωδικός WP_ _

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ
Να συμπληρωθεί από το γονέα/ κηδεμόνα

Α. Γενικά Στοιχεία

Καταγωγή πατέρα (περιοχή, χώρα): _____	**Καταγωγή μητέρας(περιοχή, χώρα):** _____
Έτος γέννησης πατέρα: _____	**Έτος γέννησης μητέρας:** _____
	Πόσα χρόνια έχετε έμμηνο ρύση: _____

Περιοχή μόνιμης διαμονής (> 5 τελευταία έτη) (βάλτε √ στο κουτί που σας ταιριάζει)
☐ Αθήνα ☐Πειραιάς ☐Περιφέρεια Αθηνών ☐Υπόλοιπο Αττικής ☐Δυτική Αττική
☐ Ανατολική Αττική ☐Νήσοι

Α1. Ανθρωπομετρικά στοιχεία – Ομάδα αίματος:

ΠΑΤΕΡΑ **Βάρος (Kg):** _____ **Ύψος (cm):** _____ **Ομάδα αίματος:** _____	**ΜΗΤΕΡΑΣ** **Βάρος (Kg):** _____ **Ύψος (cm):** _____ **Ομάδα αίματος:** _____

Α2. Κοινωνικό – οικονομικό επίπεδο

Επάγγελμα τα τελευταία 5 έτη…	**ΠΑΤΕΡΑΣ**	**ΜΗΤΕΡΑ**
Επαγγελματική κατάσταση (βάλτε √ στο κουτί που σας ταιριάζει)	☐ Συνταξιούχος ☐ Δημόσιος υπάλληλος ☐ Ιδιωτικός υπάλληλος ☐ Ελεύθερος επαγγελματίας ☐ Άνεργος ☐ Οικιακά	☐ Συνταξιούχος ☐ Δημόσιος υπάλληλος ☐ Ιδιωτικός υπάλληλος ☐ Ελεύθερος επαγγελματίας ☐ Άνεργος ☐ Οικιακά

Είδος επαγγέλματος πατέρα (βαθμολογείστε με ότι σας ταιριάζει καλύτερα)	*Αποκλειστικά Χειρωνακτική εργασία*	*Κυρίως Χειρωνακτική εργασία*	*Κυρίως Πνευματική εργασία*	*Αποκλειστικά Πνευματική εργασία*
	1	2	3	4

Έτη σπουδών πατέρα (π.χ. 6 για Δημοτικό, 12 για Λύκειο, 16 για Α.Ε.Ι. κ.λ.π.): _____

Είδος επαγγέλματος μητέρας (βαθμολογείστε με ότι σας ταιριάζει καλύτερα)	*Αποκλειστικά Χειρωνακτική εργασία*	*Κυρίως Χειρωνακτική εργασία*	*Κυρίως Πνευματική εργασία*	*Αποκλειστικά Πνευματική εργασία*
	1	2	3	4

Έτη σπουδών μητέρας (π.χ. 6 για Δημοτικό, 12 για Λύκειο, 16 για Α.Ε.Ι. κ.λ.π.): _____

Α2.1 Οικογενειακή κατάσταση

Είστε … (βάλτε √ στο κουτί που σας ταιριάζει)	☐ Άγαμος ☐ Έγγαμος ☐ Διαζευγμένος ☐ Χήρος
Αριθμός παιδιών: _____	**Αριθμός προστατευόμενων μελών**(εκτός από παιδιά): _____

Α2.2 Οικονομική κατάσταση

Μέσο ετήσιο ατομικό εισόδημα των τελευταίων 3 ετών	☐ < 9000 € ετησίως ☐ 9 – 15000 € ετησίως ☐ 15 – 20000 € ετησίως ☐ > 20000 € ετησίως

Πόσα άτομα κατοικούν στο σπίτι: _____
Αριθμός αυτοκινήτων στην οικογένεια: _____
Αριθμός τετραγωνικών σπιτιού: _____
Κατοικείτε σε ιδιόκτητη κατοικία 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ

Α2.3 Στοιχεία που αφορούν στο παιδί που συμμετέχει στη μελέτη

Βάρος γέννησης συμμετέχοντος παιδιού: _____
Θηλάσατε το παιδί σας; 1. ΝΑΙ 0. ΟΧΙ
Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας αποκλειστικά με μητρικό γάλα; _____
Για πόσο καιρό θηλάσατε το παιδί σας με μητρικό γάλα και με άλλο βρεφικό γάλα; _____
Το βρεφικό γάλα που χρησιμοποιούσατε είχε βάση το :
☐ Αγελαδινό γάλα ☐ Γάλα σόγιας

Ο ερευνητής _____

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

✓ Να συμπληρωθεί από το γονέα/ κηδεμόνα

✓ **Έχει κάνει το παιδί χρόνια χρήση φαρμάκων ?ΝΑΙ** ☐ **Αιτία**_____ **ΟΧΙ** ☐

Σημειώστε τα μέλη της οικογένειας σας που πάσχουν από τις παρακάτω ασθένειες / κλινικά συμπτώματα:

Ασθένειες/ Κλινικά συμπτώματα	Αδέλφια παιδιού			Πατέρας παιδιού	Μητέρα παιδιού	Γονείς πατέρα		Γονείς μητέρας	
	1	2	3			Πατέρας	Μητέρα	Πατέρας	Μητέρα
Διαβήτης									
Υπέρταση									
Υψηλή χοληστερόλη (& την τιμή)									
Υψηλή LDL χοληστερόλη (& την τιμή)									
Παχυσαρκία									
Καρδιακή προσβολή > 50 ετών									
Καρδιακή προσβολή < 50 ετών									
Στηθάγχη									
Εγκεφαλικό επεισόδιο									
Θρόμβωση									
Χειρουργική επέμβαση καρδιάς									
Καρκίνο (&τον τύπο)									
Άλλο:									

✓ Αν μέλος της οικογένειας σας έχει πεθάνει, σημειώστε την **αιτία θανάτου** και γράψτε μέσα στο πλαίσιο **Α** (Απεβίωσε) και την **ηλικία θανάτου.**

✓ Αν κάποιο μέλος της οικογένειας έχει περισσότερα από ένα προβλήματα υγείας, σημειώνονται όλα.

Κωδικός WP_ _

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΑ- ΣΥΣΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ

Ημερομηνία γέννησης _____

Ηλικία: _____ **χρ.** _____**μην.**

Φύλο Κ_____ **Α** _____

Βάρος:_____ kg

Ύψος: _____ cm

BMI: _____ kg/m²

Περιφέρεια μέσης: _____ cm

Περιφέρεια ισχίου: _____ cm

Waist to Hip Ratio: _____

Περιφέρεια βραχίονα: _____ cm

Δερματικές πτυχές		**1η**	**2η**	**Μ.Ο**
Τρικέφαλου	(mm)	_____	_____	_____
Υποωμοπλατιαίου	(mm)	_____	_____	_____

Ημερομηνία ...../...../..... Ο Ερευνητής .....

Κωδικός WP_ _

Ανάκληση 24ώρου

Ώρα	Περιγραφή Τροφίμου	Ποσότητα	Μάρκα	Τόπος κατανάλωσης

Ημερομηνία _____ **Ο ερευνητής** _____

Code _____

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΜΕΛΕΤΗ

Με το παρόν έγγραφο δηλώνω την εθελοντική συμμετοχή μου στην κλινική μελέτη με τίτλο «Γενετική προδιάθεση παχυσαρκίας και αθλητικών επιδόσεων σε αθλητές της υδατοσφαίρισης»

Η μελέτη διεξάγεται στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο υπό την επίβλεψη και καθοδήγηση του Καθηγητή Γιώργου Δεδούση με την συνεργασία διαιτολόγων και πτυχιούχων φυσικής αγωγής. Σκοπός του προτεινόμενου έργου είναι να μελετήσουμε έφηβους αθλητές της υδατοσφαίρισης και να διερευνήσουμε την γενετική τους προδιάθεση για παχυσαρκία. Επιπλέον θα μελετήσουμε αθλητικές επιδόσεις στο συγκεκριμένο άθλημα και θα τις συσχετίσουμε με γενετικούς δείκτες. Η μελέτη αυτή έχει ως σκοπό να συμβάλλει με τα αποτελέσματα της στην πρόληψη και αντιμετώπιση της παχυσαρκίας και των επιπλοκών της καθώς επίσης και στην ανάδειξη γενετικών δεικτών που συνδέονται με αθλητικές επιδόσεις. Βεβαιώνω ότι έχω ενημερωθεί προφορικά για το πειραματικό πρωτόκολλο στο οποίο θα συμμετέχει το παιδί μου.

Τα δεδομένα και οι μετρήσεις που θα πραγματοποιηθούν είναι οι ακόλουθες:

1. Συμπλήρωση ερωτηματολογίου που θα περιλαμβάνει:
   - δημογραφικά στοιχεία
   - κατάσταση υγείας (ιατρικό ιστορικό)
   - καπνιστικές συνήθειες
   - διατροφικές συνήθειες
   - φυσική δραστηριότητα.

   Γνωρίζω ότι η συμπλήρωση του ερωτηματολογίου θα γίνει υπό την επίβλεψη έμπειρου Κλινικού Διαιτολόγου

2. Μετρήσεις ανθρωπομετρικών παραμέτρων, δηλαδή ύψους, σωματικού βάρους, περιφέρειας μέσης, περιφέρειας γλουτών.

3. Μέτρηση της σωματικής σύστασης με μέτρηση της απορρόφησης ακτίνων Χ διπλής ενέργειας (Dual Energy X-ray absorptiometry, DXA)

   Γνωρίζω ότι οι μετρήσεις στα στάδια 2 & 3 θα γίνουν από έμπειρους Κλινικό Διαιτολόγο και επιστήμονα φυσικής αγωγής και ότι δεν προκαλούν καμία ενόχληση ούτε ενέχουν οποιονδήποτε κίνδυνο για την υγεία μου.

4. Μέτρηση δοκιμασίας ισοκινητικής δυναμομέτρησης

5. Λήψη αίματος όγκου 20cc

Code _____

Το δείγμα αίματος θα χρησιμοποιηθεί για βιοχημικές και αιματολογικές αναλύσεις καθώς και για την απομόνωση DNA και τον έλεγχο κάποιων γονιδίων, που φαίνεται να σχετίζονται τόσο με την παχυσαρκία όσο και με μυική ανάπτυξη.

- **Είμαι σύμφωνος/η** για την εθελοντική συμμετοχή του παιδιού μου στην μελέτη αυτή.
- **Κατανοώ** ότι οποιαδήποτε ερωτήματα που αφορούν στη διαδικασία θα απαντηθούν πλήρως από τον Δρ. Δεδούση Γεώργιο
- **Κατανοώ** ότι οποιαδήποτε πληροφορία αφορά εμένα ή το παιδί μου και τα αποτελέσματα των εξετάσεων, τα οποία θα προκύψουν κατά τη διάρκεια της μελέτης, θα παραμείνουν απόρρητα ως προς το όνομά μου, δηλαδή δεν θα δημοσιευθούν ονομαστικά σε δημοσίευση που πιθανά προκύψει από τη μελέτη.

Εγώ ο/η υπογραφόμενος δίνω με ελεύθερη βούληση τη συναίνεσή μου για την **αυστηρά εθελοντική** συμμετοχή του παιδιού μου στην μελέτη αυτή.

Ονοματεπώνυμο γονέα/κηδεμόνα _____

Διεύθυνση _____ ✉ _____

Τηλ.☎ Fax E-mail

Ημερομηνία ____/____/_____

Υπογραφή Εθελοντή Υπογραφή γονέα/κηδεμόνα

_____ _____