



**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Γενετική προδιάθεση παχυσαρκίας. Ο ρόλος της φυσικής δραστηριότητας ως  
τροποποιητικός παράγοντας σε ενήλικες εθελοντές**  
Πτυχιακή εργασία

**Πασχαλίδου Αικατερίνη (ΑΜ: 214079)**



Αθήνα, 2018



# **ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

## **Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή**

**Δεδούσης Γεώργιος (Επιβλέπων)**

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

**Τσίγκος Κωνσταντίνος**

**Καθηγητής Διατροφής & Μεταβολισμού, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας &  
Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Μανιός Ιωάννης**

**Καθηγητής Διατροφικής Αγωγής και Αξιολόγησης, Τμήμα Επιστήμης  
Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Πασχαλίδου Αικατερίνη

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1)** Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δεν συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει 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.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας, αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Δεδούση Γεώργιο, Καθηγητή Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, που μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ με ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον θέμα, που απασχολεί τόσο την επιστημονική κοινότητα όσο και την ευρύτερη κοινωνία. Ήταν ιδιαίτερα σημαντική για μένα, η συνεχής καθοδήγησή του και η εμπιστοσύνη που μου έδειξε, με τις αρμοδιότητες που μου ανέθεσε, κατά τη διεξαγωγή της έρευνας, αλλά και κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Δρ. Αποστόλου Κωνσταντίνο, ο οποίος αφιερώνοντας χρόνο από τις δικές του ασχολίες, βοήθησε σημαντικά στη διεξαγωγή της στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Στο σύνολό τους οι υποδείξεις του ήταν εύστοχες και πολύτιμες.

Ακόμη, οφείλω να ευχαριστήσω θερμά και τη Βέζου Χαρά, η οποία με καθοδήγησε σημαντικά κατά τη διεξαγωγή της ερευνητικής διαδικασίας, παρέχοντάς μου αναλυτικές οδηγίες αναφορικά με το πρωτόκολλο της επιδημιολογικής μελέτης και δίνοντάς μου τη δυνατότητα να συμμετέχω, ως ερευνήτρια, στην όλη διαδικασία.

Τέλος, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου, για την πολύτιμη στήριξη και κατανόηση που έδειξαν, κατά την πραγματοποίηση αυτού μου του εγχειρήματος.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....                                                             | 7  |
| ABSTRACT.....                                                             | 8  |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....                                                    | 9  |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....                                                    | 10 |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....                                                   | 11 |
| ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....                                                       | 12 |
| ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ                                                           |    |
| 1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ.....                                                        | 14 |
| 1.1.Ορισμός και Γενικές Πληροφορίες Παχυσαρκίας.....                      | 14 |
| 1.2.Επιπολασμός Παχυσαρκίας .....                                         | 14 |
| 1.2.1. Επιπολασμός ανά τον Κόσμο.....                                     | 14 |
| 1.2.2. Επιπολασμός ανά την Ευρώπη και την Ελλάδα.....                     | 15 |
| 1.3.Δείκτες Παχυσαρκίας.....                                              | 15 |
| 1.3.1. Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI).....                                   | 15 |
| 1.3.2. Περιφέρεια Μέσης (WC) και Περιφέρεια Μέσης/Ισχύων (WHR).....       | 16 |
| 1.4.Μέτρηση Σύστασης Σώματος.....                                         | 17 |
| 1.5. Συνέπειες Παχυσαρκίας.....                                           | 19 |
| 1.6. Αιτιολογία Παχυσαρκίας.....                                          | 20 |
| 2. ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ.....                                              | 22 |
| 2.1.Ορισμός και Γενικές πληροφορίες.....                                  | 22 |
| 2.2.Συστάσεις για Φυσική Δραστηριότητα.....                               | 23 |
| 2.3.Δείκτης Φυσικής Δραστηριότητας (PAL).....                             | 24 |
| 3. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....                                              | 25 |
| 3.1.Τύποι Παχυσαρκίας.....                                                | 25 |
| 3.2.Γονίδια συχετιζόμενα με Δείκτες Παχυσαρκίας.....                      | 26 |
| 3.3.Το Γονίδιο FTO.....                                                   | 27 |
| 3.4.Το Γονίδιο MC4R.....                                                  | 28 |
| 3.4.1. Ο Άξονας Λεπτίνης/Ινσουλίνης-Μελανοκορτίνης.....                   | 28 |
| 3.4.2. Ο Υποδοχέας MC4R.....                                              | 31 |
| 3.4.3. Ο Πολυμορφισμός rs17782313 του MC4R.....                           | 32 |
| 3.4.4. Ο Πολυμορφισμός rs12970134 του MC4R.....                           | 34 |
| 3.4.5. Σύνοψη Αποτελεσμάτων Ερευνών για τους Πολυμορφισμούς του MC4R..... | 36 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ                                                         |    |
| 1. ΣΚΟΠΟΣ.....                                                            | 37 |
| 2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....                                                       | 37 |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| 3. ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ.....                                | 38 |
| 3.1. Δειγματοληψία.....                               | 38 |
| 3.2. Κριτήρια Συμμετοχής στη Μελέτη.....              | 39 |
| 3.3. Μετρήσιμα Χαρακτηριστικά.....                    | 39 |
| 3.3.1. Κοινωνικά και Δημογραφικά Χαρακτηριστικά.....  | 39 |
| 3.3.2. Χαρακτηριστικά του Τρόπου Ζωής.....            | 40 |
| 3.3.3. Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά.....             | 40 |
| 3.3.4. Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό..... | 42 |
| 3.3.5. Κλινικά Χαρακτηριστικά.....                    | 43 |
| 3.3.6. Διατροφικές Συνήθειες.....                     | 45 |
| 3.3.7. Γενετική Ανάλυση.....                          | 45 |
| 3.4. Πρωτόκολλο Επανελέγχου.....                      | 47 |
| 3.5. Ηλεκτρονική Καταχώρηση των Δεδομένων.....        | 48 |
| 3.6. Στατιστική Ανάλυση.....                          | 49 |
| 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....                                  | 50 |
| 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....                                      | 66 |
| 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....                                  | 68 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                                     | 70 |

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παχυσαρκία αποτελεί μια νόσο, η οποία συχνά οδηγεί σε διάφορες άλλες νόσους και μεταβολικές διαταραχές. Η αύξηση του επιπολασμού της τα τελευταία χρόνια, αποδίδεται σε ένα πλήθος παραγόντων, περιβαλλοντικής ή γενετικής αιτιολογίας. Ένα γονίδιο που έχει συσχετιστεί με την παχυσαρκία είναι αυτό του MC4R. Μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν στο ίδιο το γονίδιο αλλά και ορισμένες βάσεις κάτωθι αυτού. Οι πολυμορφισμοί rs17782313 και rs12970134, κάτωθι του MC4R, δύνανται να επηρεάσουν τη λειτουργία του υποδοχέα MC4R και συνεπακόλουθα την όρεξη και την ενεργειακή ομοιόσταση. Από τις περιβαλλοντικές επιρροές, το ισοζύγιο ενέργειας καθορίζουν παράγοντες όπως οι διατροφικές συνήθειες, αλλά και η δαπάνη ενέργειας που επιτυγχάνεται μέσω της φυσικής δραστηριότητας. Το ερώτημα που τίθεται είναι το κατά πόσο μια διαφοροποίηση στον τρόπο ζωής, όπως η άθληση ή όχι των ατόμων, είναι ικανή να μετριάσει τη γενετική προδιάθεση της παχυσαρκίας.

Σκοπό της παρούσας πτυχιακής εργασίας αποτελεί η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 του MC4R και δεικτών παχυσαρκίας, εστιάζοντας κυρίως στο BMI. Ταυτόχρονα, διερευνάται η ύπαρξη τυχόν αλληλεπιδράσεων μεταξύ του εκάστοτε πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας, αναφορικά με το BMI.

Το δείγμα της μελέτης στο οποίο πραγματοποιήθηκε η στατιστική ανάλυση περιλαμβάνει 327 άτομα, από τα οποία 135 είναι άνδρες και 192 γυναίκες. Το 1<sup>ο</sup> στάδιο της μελέτης, στο οποίο βασίστηκε και η στατιστική ανάλυση, αποτελεί μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων. Οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε συνέντευξη αναφορικά με διάφορα κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά, ατομικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, καθώς και σε ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας και αναλυτικό FFQ. Ακόμη, υποβλήθηκαν σε ανθρωπομέτρηση, αιμοληψία κι υπερηχογράφημα ήπατος-χοληφόρων.

Μετά την εφαρμογή πολλαπλή γραμμικής παλινδρόμησης, είτε θεωρώντας τις μεταβλητές των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 ως κατηγορικές είτε ως διατάξιμες, βρέθηκε μα θετική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με το BMI. Προσθέτοντας έναν όρο αλληλεπίδρασης γονοτύπου και φυσικής δραστηριότητας, βρέθηκε μια επίσης στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με το BMI. Στα συγκεκριμένα μοντέλα, έγινε στάθμιση ως προς το φύλο, το κάπνισμα, τα επίπεδα ινσουλίνης ορού, την παρουσία υπέρτασης και τη φυσική δραστηριότητα.

**Λέξεις κλειδιά:** δείκτες παχυσαρκίας, πολυμορφισμός rs17782313, πολυμορφισμός rs12970134, φυσική δραστηριότητα

## ABSTRACT

Obesity is a disease that often leads to various other diseases and metabolic disorders. During the last years, there is an increase of its prevalence, due to a number of environmental or genetic factors. A gene associated with obesity is that of MC4R. Mutations can occur in the gene itself, but also some bases below it. The rs17782313 and rs12970134 polymorphisms, below MC4R, may affect the function of the MC4R receptor, and result in appetite and energy homeostasis. From environmental influences, energy balance is determined by factors such as eating habits and energy expenditure, which is achieved through physical activity. The question is whether a difference in lifestyle, such as being active or not, is able to mitigate the genetic predisposition of obesity.

The purpose of this dissertation is to investigate the correlation between the rs17782313 and rs12970134 polymorphisms of MC4R, and various obesity indicators, focusing on BMI. At the same time, the possible interactions between the polymorphism and the physical activity are been investigated, in relation to the BMI.

The sample of the study in which the statistical analysis was performed, includes 327 individuals, of whom 135 are men and 192 are women. The 1st stage of the study, in which statistical analysis was based on, is a case-control study. The volunteers were interviewed on various social and demographic facts and both individual and family medical history. Furthermore, there was a physical activity questionnaire and a detailed FFQ. In addition, individuals were subjected to anthropometric measurements, blood sampling and liver-biliary ultrasound.

After applying multiple regression, either considering the variables of the rs17782313 and rs12970134 polymorphisms, as nominal or as ordered variables, a positive, statistically significant correlation with BMI was found. By adding an interaction term of genotype and physical activity, a statistically significant correlation with BMI was also found. In these particular models, gender, smoking habits, serum insulin levels, presence of hypertension and physical activity were taken into account.

**Key words:** obesity indicators, polymorphism rs17782313, polymorphism rs12970134, physical activity

## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ**

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Εικόνα 1: Ρύθμιση ορεξιογόνων και ανορεξιογόνων οδών από λεπτίνη και ινσουλίνη ..... | 30 |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

|                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Πίνακας 1: Κατωφλικές τιμές WC και WHR αναφορικά με τον κίνδυνο καρδιομεταβολικών διαταραχών.....                                                                                                                       | 17 |
| Πίνακας 2: Συσχετισμός BMI και WC αναφορικά με τον κίνδυνο νοσηρότητας.....                                                                                                                                             | 17 |
| Πίνακας 3: Υπερβάλλοντα ποσοστά σωματικού λίπους (%), ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα.....                                                                                                                                  | 19 |
| Πίνακας 4: Αντιπροσωπευτικές δραστηριότητες των επιπέδων PAL.....                                                                                                                                                       | 24 |
| Πίνακας 5: Σημαντικότερα αποτελέσματα μελετών αναφορικά με τα SNPs rs17782313 και rs12970134 του MC4R και δεικτών παχυσαρκίας.....                                                                                      | 36 |
| Πίνακας 6: T-test και Mann-Whitney U test-Συσχέτιση πολυμορφισμών με δείκτες παχυσαρκίας.....                                                                                                                           | 55 |
| Πίνακας 7.1.: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα.....                                                      | 58 |
| Πίνακας 7.2.: Μέσος Όρος BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs17782313 και φυσικής δραστηριότητας.....                                                                                                              | 58 |
| Πίνακας 8.1.: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα.....                                                      | 60 |
| Πίνακας 8.2.: Μέσος Όρος BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs12970134 και φυσικής δραστηριότητας.....                                                                                                              | 60 |
| Πίνακας 9: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 με την WC και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα.....                                                         | 61 |
| Πίνακας 10: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση/Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα.....                                  | 63 |
| Πίνακας 11: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα.....                                  | 63 |
| Πίνακας 12: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα (ενσωμάτωση μεταβλητής «ηλικία»)..... | 65 |
| Πίνακας 13: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση/Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα (ενσωμάτωση μεταβλητής «ηλικία»)..... | 65 |

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

|                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Σχήμα 1: Συχνότητα ανδρών και γυναικών στο δείγμα μελέτης.....                                                         | 50 |
| Σχήμα 2: Συχνότητα νορμοβαρών, υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων στο δείγμα μελέτης.....                                 | 51 |
| Σχήμα 3: Συχνότητα γονοτύπων (3 υποομάδες) για το SNP rs17782313 του MC4R στο δείγμα μελέτης.....                      | 52 |
| Σχήμα 4: Συχνότητα γονοτύπων (2 υποομάδες) για το SNP rs17782313 του MC4R στο δείγμα μελέτης.....                      | 53 |
| Σχήμα 5: Συχνότητα γονοτύπων (3 υποομάδες) για το SNP rs12970134 του MC4R στο δείγμα μελέτης.....                      | 54 |
| Σχήμα 6: Συχνότητα γονοτύπων (2 υποομάδες) για το SNP rs12970134 του MC4R στο δείγμα μελέτης.....                      | 54 |
| Σχήμα 7: Συσχέτιση δείκτη PAL με την άθληση ή μη άθληση των εθελοντών στο δείγμα μελέτης.....                          | 56 |
| Σχήμα 8: Σχηματική αναπαράσταση μέσω BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs17782313 και φυσικής δραστηριότητας..... | 59 |
| Σχήμα 9: Σχηματική αναπαράσταση μέσω BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs17782313 και φυσικής δραστηριότητας..... | 61 |

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

|       |                                                                                                 |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MC4R  | Melanocortin 4 Receptor (Υποδοχέας 4 της Μελανοκορτίνης)                                        |
| BMI   | Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)                                                         |
| WC    | Waist Circumference (Περιφέρεια Μέσης)                                                          |
| WHR   | Waist-Hip Ratio (Αναλογία Περιφέρειας Μέσης προς Περιφέρεια Ισχύων)                             |
| HC    | Hip Circumference (Περιφέρεια Ισχύων)                                                           |
| FFQ   | Food Frequency Questionnaire (Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων)                   |
| WHO   | World Health Organization (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας)                                        |
| DXA   | Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (Απορροφησιμετρία Ακτίνων Χ Διπλής Ενέργειας)                  |
| CT    | Computed Tomography (Αξονική Τομογραφία)                                                        |
| MRI   | Magnetic Resonance Imaging (Μαγνητική Τομογραφία)                                               |
| BIA   | Bioelectrical Impedance Analysis (Βιοηλεκτρική Εμπέδηση)                                        |
| FM    | Fat Mass (Λιπώδης Μάζα)                                                                         |
| FFM   | Fat-Free Mass (Άλιπη Μάζα)                                                                      |
| TBW   | Total Body Water (Ολικό Νερό Σώματος)                                                           |
| NAFLD | Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (Μη Αλκοολική Λιπώδης Διήθηση του Ήπατος)                     |
| AHA   | American Heart Association (Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία)                                  |
| ACC   | American College of Cardiology (Αμερικανικό Κολλέγιο Καρδιολογίας)                              |
| PAL   | Physical Activity Level (Επίπεδο Φυσικής Δραστηριότητας)                                        |
| LEP   | Leptin (Λεπτίνη)                                                                                |
| LEPR  | Leptin Receptor (Υποδοχέας Λεπτίνης)                                                            |
| POMC  | Pro-Opiomelanocortin (Προοπιομελανοκορτίνη)                                                     |
| PC1   | Proprotein Convertase 1 (Προκομβερτάση 1)                                                       |
| PWS   | Prader-Willi Syndrome (Σύνδρομο Prader-Willi)                                                   |
| BBS   | Bardet-Biedl Syndrome (Σύνδρομο Bardet-Biedl)                                                   |
| FTO   | Fat Mass and Obesity-Associated Gene (Γονίδιο σχετιζόμενο με τη Λιπώδη Μάζα και την Παχυσαρκία) |
| T     | Thymine (Θυμίνη)                                                                                |
| A     | Adenine (Αδενίνη)                                                                               |
| G     | Guanine (Γουανίνη)                                                                              |
| C     | Cytosine (Κυτοσίνη)                                                                             |
| NPY   | Neuropeptide Y (Νευροπεπτίδιο Υ)                                                                |
| AgRP  | Agouti-Related Protein (Πρωτεΐνη σχετιζόμενη με το Agouti)                                      |
| α-MSH | α-Melanocyte-Stimulating Hormone (α-Ορμόνη Διέγερσης των Μελανοκυττάρων)                        |
| SNP   | Single Nucleotide Polymorphisms (Μονονουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός)                              |
| GWAS  | Μελέτη Συσχέτισης σε Επίπεδο Γονιδιώματος (Genome-Wide Association Study)                       |

|      |                                                                                                                 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HPAQ | Ερωτηματολόγιο Φυσικής Δραστηριότητας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (Harokopio Physical Activity Questionnaire) |
| EDTA | Ethylenediaminetetraacetic Acid (Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό Οξύ)                                                 |

# ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

### 1.1.Ορισμός και Γενικές Πληροφορίες

Η παχυσαρκία ορίζεται κοινώς ως "η ασθένεια κατά την οποία έχει συσσωρευτεί υπερβολικό σωματικό λίπος, σε τέτοιο βαθμό ώστε η υγεία να επηρεάζεται αρνητικά" (WHO, 2000). Η παχυσαρκία έχει χαρακτηριστεί ως επιδημία, αφού παρουσίασε μία ξαφνική και ταχεία αύξηση στα ποσοστά της, από τη δεκαετία του 1980 και έπειτα. Έτσι, το βάρος του συνόλου του πληθυσμού αυξάνει, από τότε, σταδιακά κι ανεξάρτητα από το βάρος εκκίνησης του καθενός. Αυτή η κλιμάκωση των ποσοστών παχυσαρκίας έχει καταστήσει την παχυσαρκία ως μία από τις σοβαρότερες προκλήσεις για την δημόσια υγεία (Hill, 2006). Παλαιότερα, θεωρείτο ότι έπληττε μόνο τις χώρες υψηλού εισοδήματος. Ωστόσο πλέον, τα ποσοστά υπέρβαρου και παχυσαρκίας έχουν αυξηθεί δραματικά και σε χώρες μικρομεσαίου εισοδήματος, ειδικά αν πρόκειται για αστικές περιοχές (WHO, 2018). Πρόκειται για μια σύνθετη ασθένεια με πολυπαραγοντική αιτιολογία. Με άλλα λόγια, γενετικοί, συμπεριφορικοί, κοινωνικοοικονομικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, οδηγούν σε παχυσαρκία και συγχρόνως σε αύξηση του κινδύνου νοσηρότητας και της θνησιμότητας που σχετίζεται με αυτή (Hruby and Hu, 2014). Η παχυσαρκία συνδέεται με πολυάριθμα νοσήματα και συνεπακόλουθα, δυσχεραίνει σημαντικά την ποιότητα ζωής των ανθρώπων. Από την άλλη, επιβαρύνει οικονομικά και μια χώρα στο σύνολό της, καθώς μειώνεται η παραγωγικότητα των ατόμων που την απαρτίζουν και αυξάνεται το κόστος της υγειονομικής περίθαλψης (Berthoud and Klein, 2017). Χρειάζονται πολύπλοκες στρατηγικές θεραπείες και συχνά απαιτείται δια βίου θεραπεία. Μια απώλεια βάρους 5% έως 10% μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την υγεία, την ποιότητα ζωής και την οικονομική επιβάρυνση ενός ατόμου αλλά και μίας ολόκληρης χώρας (Wing et al., 2011).

### 1.2 Επιπολασμός παχυσαρκίας

#### 1.2.1. Επιπολασμός ανά τον Κόσμο

Μετά από συλλογή δεδομένων διαφόρων μελετών σε επίπεδο πληθυσμού, με περισσότερους από 19,2 εκατομμύρια ενήλικες συμμετέχοντες σε 186 χώρες συνολικά, πραγματοποιήθηκαν εκτιμήσεις για τον επιπολασμό της παχυσαρκίας. Συγκεκριμένα, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας στους άντρες, από το 1975 έως το 2014, αυξήθηκε από 3,2% σε 10,8% και στις γυναίκες από 6,4% στο 14,9%. Ταυτόχρονα, 2,3% των ανδρών παγκοσμίως και 5,0% των γυναικών ήταν σοβαρά

παχύσαρκοι ( $\Delta\text{ΜΣ} > 35 \text{ kg/m}^2$ ). Σε παγκόσμιο επίπεδο, ο επιπολασμός της νοσηρής παχυσαρκίας ( $\Delta\text{ΜΣ} > 40 \text{ kg/m}^2$ ) ήταν 0,64% στους άνδρες και 1,6% στις γυναίκες. Από το 1975 έως το 2014, ο μέσος όρος του  $\Delta\text{ΜΣ}$  στους άντρες αυξήθηκε από  $21,7 \text{ kg/m}^2$  σε  $24,2 \text{ kg/m}^2$ , και στις γυναίκες από  $22,1 \text{ kg/m}^2$  σε  $24,4 \text{ kg/m}^2$  (Collaboration, N.C.D.F.R., 2016). Εκτιμάται ότι έως το 2030, αν συνεχιστεί η παρούσα τάση αύξησης των ποσοστών της παχυσαρκίας, το 60% του παγκόσμιου πληθυσμού (~3,3 δισεκατομμύρια) θα είναι υπέρβαρο (~2,2 δισεκατομμύρια) και παχύσαρκο (~1,1 δισεκατομμύρια) (Kelly et al., 2008).

### **1.2.2. Επιπολασμός ανά την Ευρώπη και ανά την Ελλάδα**

Σύμφωνα με τη στατιστική αναφορά του WHO το 2015, στην Ευρώπη ο επιπολασμός της παχυσαρκίας των ενηλίκων είναι 21,5% στους άνδρες και 24,5% στις γυναίκες (Yumuk et al., 2015). Αναφορικά με τον ελληνικό πληθυσμό, δεδομένα υπάρχουν από την επιδημιολογική μελέτη “ΑΤΤΙΚΗ”. Χρονολογικά τοποθετημένη στο 2004, απέδωσε επιπολασμό υπέρβαρου και παχυσαρκίας 53% και 20% αντίστοιχα στους άνδρες και 31% και 15% στις γυναίκες. Ο μέγιστος ηλικιακά επιπολασμός παρατηρήθηκε σε άνδρες ηλικίας άνω των 40 ετών και σε γυναίκες ηλικίας 50 έως 59 ετών (Panagiotakos et al., 2004).

## **1.3. Δείκτες παχυσαρκίας**

### **1.3.1. Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI)**

Ο πρακτικός ορισμός της παχυσαρκίας βασίζεται στο Δείκτη Μάζας Σώματος. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος υπολογίζεται ως εξής:  $\text{BMI} = \text{Σωματικό Βάρος} / \text{Υψος}^2 \text{ (kg/m}^2\text{)}$ . Παρόλο που υπάρχουν μερικοί περιορισμοί στη μέτρηση της παχυσαρκίας από το BMI, είναι ένας αδρός δείκτης εκτίμησης του σωματικού λίπους και συνδέεται με τον κίνδυνο επιπλοκών που σχετίζονται με την παχυσαρκία (π.χ. πρόωρος θάνατος, καρδιαγγειακές παθήσεις, υπέρταση, οστεοαρθρίτιδα, ορισμένοι τύποι καρκίνου, διαβήτη). Είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης παχυσαρκίας καθώς είναι πολύ εύκολος και γρήγορος στον υπολογισμό του. Η πιο πρόσφατη εκδοχή της διεθνούς ταξινόμησης για ενήλικες που αναπτύχθηκε από τον WHO περιλαμβάνει:

- Το ελλιποβαρές ( $\text{BMI} < 18,5 \text{ kg/m}^2$ )
- Το φυσιολογικό βάρος ( $\text{BMI}: 18,5\text{-}24,99 \text{ kg/m}^2$ )
- Το υπερβάλλον σωματικό βάρος ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) που ταξινομείται σε υπέρβαρο ( $\text{BMI}: 25,0\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$ ), και σε παχυσαρκία τάξης 1 ( $\text{BMI}: 30,0\text{-}34,9 \text{ kg/m}^2$ ), τάξης 2 ( $\text{BMI}: 35,0\text{-}39,9 \text{ kg/m}^2$ ), και τάξης 3 ( $\text{BMI} \geq 40,0 \text{ kg/m}^2$ ).

Οι τιμές αυτές έχουν εδραιωθεί μετά και την τελευταία αναθεώρηση του WHO το 2004. Όπως προαναφέρθηκε, το BMI δεν αποτελεί έναν ιδανικό δείκτη εκτίμησης της παχυσαρκίας αφού χαρακτηρίζεται από ορισμένους περιορισμούς (WHO, 2018).

Αρχικά, δε λαμβάνει υπόψη τα διαφορετικά ποσοστά λιπώδους ιστού ανάλογα με την ηλικία. Το ποσοστό του σωματικού λίπους αυξάνεται με την ηλικία ενώ το ποσοστό της μυϊκής μάζας μειώνεται. Έτσι, στο πληθυσμό των ηλικιωμένων, μια μειωμένη άλιπη σωματική μάζα, η λεγόμενη σαρκοπενία, μπορεί να ταξινομηθεί εσφαλμένα ως ένα υγιές BMI (Bray et al., 2018). Δεύτερον, δε λαμβάνει υπόψη τη φυσική δραστηριότητα των ατόμων και συνεπακόλουθα το ποσοστό της μυϊκής μάζας τους. Μία αυξημένη μυϊκή μάζα κατατάσσει εσφαλμένα τα άτομα ως υπέρβαρα και παχύσαρκα (Kruschitz et al., 2013). Τρίτον, δε συνεκτιμά τη διαφοροποίηση του ποσοστού λίπους στα δύο φύλα. Για όλους τους παραπάνω λόγους, αναμένεται ότι το BMI σε ορισμένες περιπτώσεις υπερεκτιμά και σε άλλες υποτιμά το σωματικό λίπος. Ακόμη, το BMI δε διακρίνει την κατανομή του λίπους στο σώμα. Ο προσδιορισμός της κατανομής του σωματικού λίπους βοηθά στην αναγνώριση ατόμων με υψηλότερο κίνδυνο για ορισμένα νοσήματα. Η συσσώρευση του λίπους ενδοκοιλιακά σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο μεταβολικών νοσημάτων (π.χ. διαβήτη, μεταβολικό σύνδρομο) και καρδιαγγειακής νόσου (Bray et al., 2018).

### **1.3.2. Περιφέρεια Μέσης (WC) και Περιφέρεια Μέσης προς Ισχύων (WHR)**

Η Περιφέρεια Μέσης (WC) και ο λόγος Περιφέρειας Μέσης προς Ισχύων (WHR) μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικότερα για την εκτίμηση της κοιλιακής παχυσαρκίας, απ' ό,τι μόνο το BMI (Abdelaal, le Roux and Docherty, 2017). Η ποσότητα του κοιλιακού λίπους μπορεί να εκτιμηθεί χάρη στη WC, η οποία συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την περιεκτικότητα σε λίπος εντός της κοιλιάς. Η WC μετριέται στο οριζόντιο επίπεδο, στο μέσο της απόστασης της άνω λαγόνιας άκανθας και του κατώτερου τμήματος των πλευρών (Yumuk et al., 2015). Η Περιφέρεια του Ισχύου (HR), από την άλλη, μετριέται γύρω από το ευρύτερο τμήμα των γλουτών, με την ταινία να είναι παράλληλη προς το δάπεδο (WHO, 2011).

Η WC θεωρείται ιδιαίτερα χρήσιμη για τον πληθυσμό των ηλικιωμένων. Οι τελευταίοι τείνουν να έχουν μια μετατόπιση του λίπους από τα περιφερειακά στα κεντρικά σημεία του σώματος. Συνεπακόλουθα, παρουσιάζουν μια αυξημένη WHR. Για το σύνολο του πληθυσμού, η WC σε συνδυασμό με το BMI, αντικατοπτρίζει με λογική ακρίβεια την αναλογία του ενδοκοιλιακού λίπους με βάση το υποδόριο λίπος (Rubenstein, 2005).

Ο WHO όρισε ορισμένα κατώφλια για την WC και την WHR αναφορικά με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιομεταβολικών διαταραχών. Συγκεκριμένα:

| <b>Πίνακας 1: Κατωφλικές τιμές WC και WHR αναφορικά με τον κίνδυνο καρδιομεταβολικών διαταραχών</b> |                                        |                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------|
| <b>Δείκτης</b>                                                                                      | <b>Κατωφλικές Τιμές</b>                | <b>Κίνδυνος Καρδιομεταβολικών Διαταραχών</b> |
| Περιφέρεια Μέσης (WC)                                                                               | >94cm (Άντρες)<br>>80cm (Γυναίκες)     | Υψηλός                                       |
| Περιφέρεια Μέσης (WC)                                                                               | >102cm (Άντρες)<br>>88cm (Γυναίκες)    | Σημαντικά Υψηλός                             |
| Περιφέρεια Μέσης προς Ισχύων (WHR)                                                                  | ≥0.90cm (Άντρες)<br>≥0.85cm (Γυναίκες) | Σημαντικά Υψηλός                             |

Για πιο λεπτομερή κατανόηση του κινδύνου νοσηρότητας, ο WHO πρότείνει έναν συσχετισμό του BMI με την WC:

| <b>Πίνακας 2: Συσχετισμός BMI και WC αναφορικά με τον κίνδυνο νοσηρότητας</b> |            |                           |                                                   |                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------|---------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                                                               | <b>BMI</b> | <b>Βαθμός Παχυσαρκίας</b> | <b>Κίνδυνος νοσηρότητας (Αναφορικά με την WC)</b> |                                             |
|                                                                               |            |                           | <b>Άντρες&lt;102cm<br/>Γυναίκες&lt;88cm</b>       | <b>Άντρες&gt;102cm<br/>Γυναίκες&gt;88cm</b> |
| <b>Ελλιποβαρής</b>                                                            | <18,5      |                           |                                                   |                                             |
| <b>Φυσιολογικού Βάρους</b>                                                    | 18,5-24,9  |                           |                                                   |                                             |
| <b>Υπέρβαρος</b>                                                              | 25,0-29,9  |                           | Αυξημένος                                         | Υψηλός                                      |
| <b>Παχύσαρκος</b>                                                             | 30,0-34,9  | I                         | Υψηλός                                            | Πολύ υψηλός                                 |
|                                                                               | 35,0-39,9  | II                        | Πολύ υψηλός                                       | Πολύ υψηλός                                 |
| <b>Σοβαρά παχύσαρκος</b>                                                      | >40,0      | III                       | Εξαιρετικά υψηλός                                 | Εξαιρετικά υψηλός                           |

(WHO, 2011)

#### 1.4. Μέτρηση Σύστασης Σώματος

Γενικώς, υφίσταται μια πληθώρα τεχνικών και μεθόδων για τη μέτρηση της σύστασης σώματος. Οι πιο βασικές από αυτές χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Από τη μία, η πυκνομετρία, η απορροφησιομετρία με ακτίνες X διπλής ενέργειας (DXA), η αξονική τομογραφία (CT) κι η μαγνητική τομογραφία (MRI) αποτελούν τις εργαστηριακές μεθόδους, ενώ από την άλλη, η ανθρωπομετρία (μέτρηση βάρους, ύψους, δερματικών πτυχών, περιφερειών) κι η βιοηλεκτρική

εμπέδηση (BIA) αποτελούν τις μεθόδους πεδίου. Οι τελευταίες, εφαρμόζονται ευκολότερα στην κλινική πρακτική.

Η BIA είναι ένα σημαντικό εργαλείο για τους επαγγελματίες του τομέα της υγείας κι η χρήση της μπορεί να παρέχει ασφαλή δεδομένα σχετικά με τη σύσταση του σώματος. Επιπλέον, παρέχει συμπληρωματικά δεδομένα σχετικά με την κλινική πορεία των ασθενών που παρακολουθούνται βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα. Ορισμένα από τα πλεονεκτήματα της BIA αποτελούν: η υψηλή ταχύτητα επεξεργασίας των πληροφοριών, η μη επεμβατικότητα της μεθόδου, ο φορητός, εύχρηστος και σχετικά φθηνός εξοπλισμός της. Αυτή η τεχνική συνίσταται στη διέλευση μικρής έντασης, ανώδυνου ηλεκτρικού ρεύματος που εφαρμόζεται είτε μέσω καλωδίων συνδεδεμένων με ηλεκτρόδια είτε μέσω αγωγίμων επιφανειών που έρχονται σε επαφή με το δέρμα. Το ηλεκτρικό ρεύμα, κατά τη διέλευσή του συναντά αντίσταση. Η μέτρηση και η ενσωμάτωση αυτής της αντίστασης σε μαθηματικές εξισώσεις επιτρέπει την εκτίμηση των ακόλουθων διαμερισμάτων του σώματος: λιπώδης μάζα (FM), άλιπη μάζα (FFM) και συνολικό νερό του σώματος (TBW) (Mialich M. et al., 2014). Αγώγιμοι θεωρούνται οι ιστοί που περιέχουν μεγάλη ποσότητα νερού (μύς, αίμα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό), ενώ μη αγώγιμος, με μικρή περιεκτικότητα νερού θεωρείται ο λιπώδης ιστός (Μανιος Γ., 2006). Φαίνεται ότι τα μέρη του σώματος με τις μικρότερες εγκάρσιες διατομές καθορίζουν κατά κύριο λόγο τη μετρούμενη αντίσταση. Έτσι, οι αντιστάσεις στο σύνολο του σώματος κυριαρχούνται από τις αντιστάσεις στα άκρα σε σύγκριση με αυτές του κορμού. Αυτό υπονοεί ότι η BIA έχει περιορισμένη ευαισθησία στην αξιολόγηση του κορμού του σώματος κι ως εκ τούτου είναι λιγότερο κατάλληλη για τους ασθενείς με ανομοιόμορφη κατανομή του λίπους. Η μέτρηση της σύστασης του σώματος από τη BIA μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες: θερμοκρασία δέρματος, προηγηθείσα άσκηση και διατροφική πρόσληψη (Fosbøl and Zerahn, 2014). Ορισμένες από τις οδηγίες που δίνονται πριν τη μέτρηση είναι: οκτάωρη νηστεία και απουσία κατανάλωσης αλκοόλ, οκτάωρη απουσία άσκησης, προηγηθείσα κένωση ουροδόχου κύστεως, μέτρηση την ίδια ώρα της ημέρας αν πρόκειται για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις κι απομάκρυνση μεταλλικών αντικειμένων από το άτομο (Kyle G., 2004). Η εγκυρότητα της μέτρησης της σύστασης σώματος μέσω BIA εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το αν το εξεταζόμενο άτομο αντιστοιχεί στον πληθυσμό αναφοράς από τον οποίο λαμβάνονται οι εξισώσεις παλινδρόμησης (Fosbøl and Zerahn, 2014).

Ορισμένοι ερευνητές έχουν προτείνει ποσοστά σωματικού λίπους που θεωρούνται υπερβάλλοντα. Οι τιμές αυτές προέκυψαν με βάση αντίστοιχες τιμές του BMI ( $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) και διαφοροποιούνται ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα.

Πιο αναλυτικά, οι προτεινόμενες τιμές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

| <b>Πίνακας 3: Υπερβάλλοντα ποσοστά σωματικού λίπους (%), ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα</b> |                                      |               |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------|
|                                                                                          | <b>Υπερβάλλον Σωματικό Λίπος (%)</b> |               |
| <b>Ηλικία (έτη)</b>                                                                      | <b>Γυναίκες</b>                      | <b>Άντρες</b> |
| 20-39                                                                                    | ≥33 %                                | ≥20%          |
| 40-59                                                                                    | ≥34 %                                | ≥22 %         |
| 60-79                                                                                    | ≥36 %                                | ≥25 %         |

(Gallagher et al., 2000)

### 1.5. Συνέπειες Παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία ευρύτερα, αλλά και η υπέρμετρη αύξηση του ενδοκοιλιακού λίπους ειδικότερα συσχετίζεται με διάφορες ασθένειες και με τις επιπλοκές που προκύπτουν από αυτές.

Βασικές επιπλοκές τις παχυσαρκίας αποτελούν ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, τα καρδιαγγειακά νοσήματα (υπέρταση, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, έμφραγμα του μυοκαρδίου, στεφανιαία νόσος, καρδιακή συμφορητική ανεπάρκεια), η άπνοια στον ύπνο και η οστεοαρθρίτιδα. Επίσης, υπάρχει αυξημένη συσχέτιση της παχυσαρκίας με ορισμένους τύπους καρκίνου, όπως είναι αυτός του ενδομητρίου, του μαστού και του παχέος εντέρου, κατά κύριο λόγο, αλλά και του παγκρέατος, του ήπατος, της χοληδόχου κύστεως και του οισοφάγου. Γενικώς, η παχυσαρκία είναι η δεύτερη αιτία ανάπτυξης καρκίνου, αμέσως μετά το κάπνισμα. (Fock and Khoo, 2013), (Berthoud and Klein, 2017, Rubenstein, 2005).

Ταυτόχρονα, η παχυσαρκία συνδέεται με διαταραχές στο πεπτικό σύστημα, όπως είναι η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, η εκκολπωμάτωση, η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης διήθηση του ήπατος (NAFLD), η χολολιθίαση και η παγκρεατίτιδα (Berthoud and Klein, 2017).

Όταν η παχυσαρκία είναι επίμονη και διαρκής καταστρέφονται μεταβολικές διεργασίες. Η βασικότερη από αυτές είναι η δράση της ινσουλίνης στον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται ο έλεγχος της γλυκόζης στο αίμα και τα επίπεδα των λιπιδίων (Misra and Khurana, 2008). Αναλυτικότερα, ο αυξημένος λιπώδης ιστός που χαρακτηρίζει την παχυσαρκία εκκρίνει φλεγμονώδεις κυτοκίνες και αδιποκίνες (λεπτίνη, ρεισιστίνη, ιντερλευκίνη-6, αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 και TNF-α), καθώς και μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα. Αυτοί οι παράγοντες δημιουργούν αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης στους σκελετικούς μυς και το ήπαρ, μια κατάσταση που οδηγεί σε υπερινσουλιναίμια. Η αυξημένη συγκέντρωση ινσουλίνης στο αίμα συμβάλλει στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την αθηρογένεση. Τα κυκλοφορούντα λιπαρά οξέα μεταβάλλουν επίσης την παραγωγή των

ηπατικών λιπιδίων προς ένα περισσότερο αθηρογόνο προφίλ που χαρακτηρίζεται από χαμηλή HDL, υψηλή LDL και υψηλά TG. (Potenza M. and Mechanick J., 2009) Τελικά προκύπτει μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από δυσγλυκαιμία, δυσλιπιδαιμία, υπέρταση και μια αθηρογόνο κατάσταση, το λεγόμενο μεταβολικό σύνδρομο. Τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο ευνοούν την ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακής νόσου (Misra and Khurana, 2008).

## **1.6. Αιτιολογία Παχυσαρκίας**

Η παχυσαρκία προκύπτει ως αποτέλεσμα μιας ενεργειακής ανισορροπίας μεταξύ των θερμίδων που προσλαμβάνονται και των θερμίδων που δαπανώνται (Hruby and Hu, 2014). Με τον όρο ενεργειακή πρόσληψη εννοούμε το ποσό ενέργειας που προσλαμβάνει το άτομο από τις τροφές. Από την άλλη, με τον όρο ενεργειακή δαπάνη αναφερόμαστε στο σύνολο της ενέργειας που καταναλώνει ο οργανισμός. Ο οργανισμός δαπανά ενέργεια για 3 σκοπούς: α) για να επιτελέσει τις βασικές λειτουργίες του και να διατηρηθεί στη ζωή, β) για να πέψει και να απορροφήσει τα τρόφιμα που καταναλώνει και γ) για να εκτελέσει οποιαδήποτε φυσική δραστηριότητα οργανωμένη ή μη (Shook, 2016).

Όταν για παρατεταμένη διάρκεια η ενεργειακή πρόσληψη υπερβαίνει την ενεργειακή δαπάνη, δημιουργείται ένα πλεόνασμα ενέργειας, μια κατάσταση θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, δηλαδή, που οδηγεί σε υπερβάλλον σωματικό βάρος. Η πλεονάζουσα ενέργεια αποθηκεύεται ως τριακυλογλυκερόλες, ή αλλιώς τριγλυκερίδια, στο λιπώδη ιστό.

Αυτή η ενεργειακή ανισορροπία είναι, ως ένα βαθμό, αποτέλεσμα κοινωνικών και οικονομικών αλλαγών που απέχουν από τον έλεγχο οποιουδήποτε ατόμου. Τέτοια παραδείγματα αποτελούν, η οικονομική ανάπτυξη, οι μηχανοκίνητες μεταφορές κι η αστικοποίηση που εμφανίστηκαν στις χώρες υψηλού εισοδήματος από τις αρχές του 20ού αιώνα και πλέον εντοπίζονται και στις χώρες με χαμηλό και μεσαίο εισόδημα (Hruby and Hu, 2014).

Ακόμη, τα τρόφιμα έγιναν φθηνότερα, ευρέως διαθέσιμα και άφθονα σε ποσότητα. Η αυξημένη κατανάλωση πλούσιων θερμιδικά τροφίμων, τα μεγάλα μεγέθη μερίδων κι η συχνή κατανάλωση φαγητού εκτός σπιτιού, σε συνδυασμό με μια μειωμένη σωματική δραστηριότητα οδήγησαν σε μία προοδευτική αύξηση του βάρους του πληθυσμού (Racette S. et al., 2003, Belfort-DeAguiar and Seo, 2018). Πολλά από τα καταναλισκόμενα ανθυγιεινά τρόφιμα, αφορούν τα λεγόμενα επεξεργασμένα τρόφιμα. Αυτά έχουν σχεδιαστεί με ακρίβεια ώστε να συνδυάζουν τη βέλτιστη γεύση και εμφάνιση, η οποία συνήθως επιτυγχάνεται με την προσθήκη σημαντικής ποσότητας ζάχαρης και λίπους. Κατά αυτόν τον τρόπο, επηρεάζονται εύκολα οι διατροφικές συνήθειες του

πληθυσμού αφού μειώνεται το αίσθημα του κορεσμού και αυξάνεται η επιθυμία για φαγητό (Belfort-DeAguiar and Seo, 2018).

Παράλληλα, ορισμένες ασθένειες όπως ο υποθυρεοειδισμός, η νόσος του Cushing, η κατάθλιψη καθώς και η χρήση φαρμάκων (π.χ. αντικαταθλιπτικά,αντισυλληπτικά) είναι υπεύθυνα για την υπέρμετρη συσσώρευση λίπους στο σώμα (Fock and Khoo, 2013).

Από την άλλη, πληθυσμοί με παρόμοιο παχυσαρκιογόνο περιβάλλον, περιλαμβάνουν τόσο παχύσαρκους όσο και νορμοβαρείς ανθρώπους (Albuquerque et al., 2017). Τα γονίδια, το οικογενειακό ιστορικό κι οι φυλετικές διαφορές μεταξύ των ατόμων έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τον κίνδυνο παχυσαρκίας ακόμη και σε φαινομενικά παρόμοια περιβάλλοντα (Hruby and Hu, 2014). Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα γονίδια επηρεάζουν τους μηχανισμούς της ενεργειακής ομοιόστασης, προκαλώντας διακύμανση στο σωματικό βάρος σε ένα δεδομένο περιβάλλον, είναι απαραίτητη (Albuquerque et al., 2017). Εκτιμάται ότι το 40% -70% της μεταβλητότητας της ευαισθησίας στην παχυσαρκία οφείλεται στο γενετικό υπόβαθρο. Παρά την ουσιαστική αυτή γενετική συμβολή, η ταυτοποίηση των γονιδίων παχυσαρκίας παρακωλύοταν για πολλά χρόνια λόγω της περιορισμένης κατανόησης της αρχιτεκτονικής του ανθρώπινου γονιδιώματος και των βιολογικών οδών που εμπλέκονται στην παχυσαρκία. Όταν το 2005, με την εξέλιξη της τεχνολογίας, κατέστη δυνατή η γονοτύπηση, αυξήθηκε δραματικά ο ρυθμός ανακάλυψης και κατανόησης των γονιδίων (Loos and Yeo, 2013).

Ωστόσο, τα γονίδια σπάνια έχουν από μόνα τους τη δύναμη να προσδιορίσουν την ανατομία, τη φυσιολογία ή τη συμπεριφορά ενός ατόμου. Τελικά, η αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος σ' όλα τα στάδια του κύκλου ζωής, είναι αυτή που επηρεάζει το σωματικό βάρος (Albuquerque et al., 2017).

Συμπερασματικά, ενώ το γενετικό υπόβαθρο και οι κοινωνικοοικονομικές επιρροές καθορίζουν εν μέρει την ανάπτυξη παχυσαρκίας, οι προσωπικές συμπεριφορές είναι αυτές που μπορούν να τροποποιηθούν κι έτσι παρουσιάζουν κυρίαρχο ρόλο στην πρόληψη της παχυσαρκίας (Hruby and Hu, 2014).

## 2. ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

### 2.1.Ορισμός, Οφέλη και Γενικές Πληροφορίες

Ως φυσική δραστηριότητα ορίζεται οποιαδήποτε σωματική κίνηση παράγεται από τους σκελετικούς μυς και έχει ως αποτέλεσμα την ενεργειακή δαπάνη. Η τελευταία, είθισται να μετράται σε χιλιοθερμίδες (kcal). Φυσική δραστηριότητα μπορεί να εκτελείται κατά την εργασία, την άθληση ή κατά τη διάρκεια οικιακών εργασιών και άλλων δραστηριοτήτων. Εν αντιθέσει, με τον όρο άσκηση εννοείται ένα δομημένο, προγραμματισμένο και επαναλαμβανόμενο υποσύνολο της φυσικής δραστηριότητας που έχει ως τελικό ή ενδιάμεσο στόχο τη διατήρηση ή τη βελτίωση της φυσικής κατάστασης (Caspersen C. et al., 1985).

Η δημιουργία θετικού ενεργειακού ισοζυγίου προκύπτει, όπως προαναφέρθηκε, είτε από αυξημένη πρόσληψη θερμίδων, είτε από μειωμένη σωματική δραστηριότητα, είτε από ένα συνδυασμό των δύο. Έτσι, οι προσωπικές συμπεριφορές πέραν της δίαιτας (φυσική δραστηριότητα, ύπνος, καθιστική εργασία, χρόνος μπροστά στην οθόνη, άγχος) σχετίζονται επίσης με το σωματικό βάρος. Σε συνδυασμό με τη διατροφή, αυτά τα στοιχεία έχουν συνεργιστικές επιδράσεις στην ικανότητα ενός ατόμου να αποκτή και να διατηρεί ένα υγιές ή μη σωματικό βάρος κατά τη διάρκεια της ζωής του (Hruby and Hu, 2014). Παρότι στη σημερινή εποχή υπάρχει ιδιαίτερη μέριμνα για την υγεία και την καλή φυσική κατάσταση, η σωματική αδράνεια αποτελεί μία σημαντική απειλή για τον πληθυσμό. Οι ευκαιρίες για φυσική δραστηριότητα είναι πολυάριθμες (π.χ. μονοπάτια πεζοπορίας και ποδηλασίας, γυμναστήρια με ποικίλες δυνατότητες για αερόβια και αναερόβια άσκηση). Ωστόσο, συγκριτικά με τον γενικότερο καθιστικό τρόπο ζωής του σύγχρονου ανθρώπου, η ενέργεια που δαπανάται για τη σωματική άσκηση κρίνεται ανεπαρκής. Επιπλέον, όσοι αθλούνται σε τακτική βάση αποτελούν μια σχετικά μικρή μερίδα του γενικού πληθυσμού και συχνά περιλαμβάνουν εκείνους που δεν είναι ούτε υπέρβαροι ούτε παχύσαρκοι (Racette S. et al., 2003).

Η σωματική δραστηριότητα από μόνη της δεν είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος για την έναρξη απώλειας βάρους. Παρόλα αυτά, οι περισσότεροι υπέρβαροι και παχύσαρκοι άνθρωποι τείνουν να επιλέγουν την άσκηση ως πρώτη αλλαγή του τρόπου ζωής τους. Εν απουσία θερμιδικού περιορισμού, η απώλεια βάρους που βασίζεται μόνο στην άσκηση είναι της τάξεως του 0,1 kg/εβδομάδα, δηλαδή πάρα πολύ μικρή. Ωστόσο, μπορεί η άσκηση να μη βοηθά δραματικά στην αρχική απώλεια βάρους, αλλά κρίνεται εξαιρετικά σημαντική στη διατήρηση της απώλειας, σε συνδυασμό με την κατάλληλη διατροφή. Μετα-αναλύσεις 493 μελετών έδειξαν ότι άτομα που συνδύαζαν υποθερμιδική διατροφή με άσκηση, διατηρούσαν την απώλεια βάρους τους καλύτερα από εκείνους που βασίζονταν μόνο στη διατροφή (Fock and Khoo, 2013).

Τα οφέλη που προκύπτουν από την εκτέλεση φυσικής δραστηριότητας είναι πολλαπλά. Αρχικά, η άσκηση συμβάλλει στη μείωση του ενδοκοιλιακού λίπους και στην αύξηση της μυϊκής και οστικής μάζας, ενώ ελαττώνει την προκαλούμενη από την απώλεια βάρους μείωση της ενεργειακής κατανάλωσης σε κατάσταση ηρεμίας. Ταυτόχρονα, μειώνει την αρτηριακή πίεση, ενώ βελτιώνει την ανοχή στη γλυκόζη, την ινσουλινοευαισθησία και το λιπιδαιμικό προφίλ των ατόμων. Τέλος, η φυσική δραστηριότητα δρα και σε ψυχολογικό επίπεδο, αφού βελτιώνει τη συμμόρφωση του ατόμου αναφορικά με μια ισορροπημένη διατροφή, αυξάνει την αίσθηση ευημερίας και αυτοεκτίμησης και μειώνει το άγχος και την κατάθλιψη (Yumuk et al., 2015).

## **2.2. Συστάσεις για Φυσική Δραστηριότητα**

Γενικώς, η αυξημένη σωματική δραστηριότητα αποτελεί ένα από τα θεμέλια του συνολικού υγιεινού τρόπου ζωής. Οι οδηγίες των ΑΗΑ/ACC προτείνουν στο γενικό πληθυσμό:

Αερόβια σωματική δραστηριότητα (π.χ. γρήγορο περπάτημα) για περισσότερο από 150 λεπτά την εβδομάδα, δηλαδή > 30 λεπτά/ημέρα, τις περισσότερες ημέρες της εβδομάδας. Επιπρόσθετα, το Αμερικάνικο Κολλέγιο Αθλητικής Ιατρικής πρότεινε 200 με 300 λεπτά/εβδομάδα για μακροχρόνια απώλεια βάρους και μέτριας έντασης σωματική δραστηριότητα, δηλαδή 150 και 250 λεπτά την εβδομάδα για την πρόληψη πρόσληψης βάρους. Το Position Statement που δημοσιεύτηκε από το προαναφερθέν κολλέγιο, έδειξε ότι οι ασκήσεις με αντιστάσεις δεν αυξάνουν την απώλεια βάρους, αλλά μπορούν να αυξήσουν την άλιπη μάζα σώματος, να προωθήσουν την απώλεια λιπώδους μάζας και γενικώς να μειώσουν τον κίνδυνο νοσηρότητας. Οι υπάρχουσες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι τόσο η αερόβια όσο και η αναερόβια άσκηση, ακόμη κι αν αυτές δε συνοδεύονται από απώλεια βάρους, μειώνουν τον κίνδυνο νοσηρότητας (Ryan and Kahan, 2018).

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η αερόβια άσκηση είναι ο βέλτιστος τρόπος άσκησης για τη μείωση της λιπώδους μάζας και του συνολικού βάρους, καθώς μόνο αυτή διαθέτει αρκετά στοιχεία στη βιβλιογραφία που υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά της. Η αναερόβια άσκηση έχει οφέλη που αφορούν την γενικότερη υγεία, αφού αυξάνει την άλιπη μάζα, πράγμα ιδιαίτερα σημαντικό για το μεσήλικο πληθυσμό. Τελικώς, όλες οι επιστημονικές κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν 150 λεπτά/εβδομάδα μέτρια αερόβια άσκηση, σε συνδυασμό με τρεις εβδομαδιαίες συνεδρίες ασκήσεων με αντιστάσεις. Κάποιοι επιπρόσθετοι στόχοι θα πρέπει να είναι η μείωση της καθιστικής συμπεριφοράς (π.χ. τηλεθέαση και η χρήση του υπολογιστή) και η αύξηση των καθημερινών δραστηριοτήτων (π.χ. περπάτημα ή ποδηλασία αντί της χρήσης αυτοκινήτου, προτίμηση σκαλοπατιών αντί ανελκυστήρα κ.τ.λ.) (Yumuk et al., 2015).

### 2.3. Επίπεδο Φυσικής Δραστηριότητας (PAL)

Το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας ή αλλιώς “PAL” είναι ένας τρόπος έκφρασης της συνολικής ενεργειακής δαπάνης ενός ατόμου. Συνεπώς, αντανακλά το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας που προκύπτει από τον τρόπο ζωής ενός ατόμου (τύπος εργασίας, οργανωμένη και μη άσκηση, δραστηριότητες κατά τον ελεύθερο χρόνο κ.τ.λ.). Το PAL αναφέρεται, συγκεκριμένα, στη σωματική δραστηριότητα που εκτελείται συχνότερα σε μια δεδομένη χρονική περίοδο. Αν και δεν υπάρχει ακριβής καθορισμός της διάρκειας αυτής της περιόδου, αφορά περίπου ένα μήνα ή και περισσότερο. Παρακάτω, παρουσιάζεται μια ομαδοποίηση του PAL και συγχρόνως μια αντιστοίχισή του με τις δραστηριότητες που αντιπροσωπεύουν τα διάφορα επίπεδά του.

| <b>Πίνακας 4: Αντιπροσωπευτικές δραστηριότητες των επιπέδων PAL</b> |                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PAL: 1,40-1,69 (Καθιστικός ή Ελαφρά δραστήριος τρόπος ζωής)</b>  | Καθιστικά επαγγέλματα, συχνή χρήση μηχανοκίνητων οχημάτων, μη τακτική άσκηση και συμμετοχή σε ατομικά ή ομαδικά αθλήματα και αξιοποίηση του ελεύθερου του χρόνου σε καθιστικές δραστηριότητες (π.χ. ανάγνωση βιβλίων, παρακολούθηση τηλεόρασης, χρήση Η/Υ). |
| <b>PAL: 1,70-1,99 (Μέτρια δραστήριος τρόπος ζωής)</b>               | Επαγγέλματα με μέτρια ενεργειακή δαπάνη (π.χ. αγρότες, μάστοροι, κατασκευαστές), καθημερινή ή συχνή ενασχόληση με δραστηριότητες όπως το τρέξιμο, η ποδηλασία, ο χορός ή διάφορες άλλες αθλητικές δραστηριότητες.                                           |
| <b>PAL: 2,00-2,40 (Εντονα δραστήριος τρόπος ζωής)</b>               | Επαγγέλματα με υψηλή ενεργειακή δαπάνη (π.χ. μη μηχανοποιημένοι γεωργοί), τακτική συμμετοχή σε επίπονες εργασίες ή δραστηριότητες αναψυχής για αρκετές ώρες (π.χ. κολύμπι, χορός για περισσότερο από 2h/ημέρα).                                             |

(FAO/WHO/UNU Expert Consultation, 2001)

### 3. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

#### 3.1. Τύποι Παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία μπορεί να κατανεμηθεί σε τέσσερις διαφορετικούς τύπους ανάλογα με τα γονίδια που εμπλέκονται έτσι ώστε να εκδηλωθεί ο φαινότυπός της.

- 1) Μονογονιδιακή παχυσαρκία: Εμφανίζεται κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής του ανθρώπου και θεωρείται αρκετά σπάνια μορφή. Σχετίζεται με ενδοκρινικές διαταραχές κι η συμβολή της γενετικής συνιστώσας είναι πολύ μεγάλη, σε τέτοιο βαθμό που οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν ελάχιστα το φαινότυπο. Συνηθέστερα η βλάβη εντοπίζεται στον άξονα λεπτίνης/μελανοκορτίνης, η λειτουργία του οποίου θα συζητηθεί παρακάτω. Μεταλλάξεις συμβαίνουν κυρίως στα γονίδια της λεπτίνης (LEP), του υποδοχέα λεπτίνης (LEPR), της προοπιομελανοκορτίνης (POMC), της προκομβερτάσης-1 (PC1) ή άλλων γονιδίων που εμπλέκονται στη συγκεκριμένη οδό (Huvenne et al., 2016). Οι προαναφερθείσες μεταλλάξεις, εκτός της παχυσαρκίας, σχετίζονται και με άλλες φαινοτυπικές εκδηλώσεις. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της POMC συνδέονται με κόκκινο χρώμα μαλλιών και με επινεφριδιακή ανεπάρκεια, ενώ οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης σχετίζονται με εξασθενημένη ανοσία και μειωμένη γονιμότητα. Μειωμένη γονιμότητα παρουσιάζουν και τα άτομα με μεταλλάξεις στα γονίδια της PC1 και του LEPR. Ο τρόπος κληρονομής των παραπάνω μεταλλάξεων είναι είτε αυτοσωμικός υπολειπόμενος είτε αυτοσωμικός επικρατής (Hinney, Vogel and Hebebrand, 2010).
- 2) Συνδρομική παχυσαρκία: Αφορά σοβαρή παχυσαρκία που σχετίζεται με επιπλέον φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όπως είναι η διανοητική υστέρηση, οι δυσμορφίες και οι αναπτυξιακές ανωμαλίες οργάνων. Τα σύνδρομα Prader-Willi (PWS) και Bardet-Biedl (BBS) αποτελούν τα 2 συνηθέστερα σύνδρομα που σχετίζονται με αυτόν τον τύπο παχυσαρκίας, αν και συνολικά έχουν βρεθεί πάνω από 100 τέτοιου τύπου σύνδρομα.
- 3) Ολιγογονιδιακή παχυσαρκία: Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παχυσαρκία που συνδέεται με τον υποδοχέα της μελανοκορτίνης 4 (MC4R). Παρουσιάζει μια μεταβλητότητα αναφορικά με τη σοβαρότητά της, καθώς επηρεάζεται κι από περιβαλλοντικούς παράγοντες. (Huvenne et al., 2016)
- 4) Πολυγονιδιακή παχυσαρκία: Προκαλείται από ταυτόχρονη παρουσία μεταλλάξεων του DNA σε πολλαπλά γονίδια. Με άλλα λόγια, υπάρχουν γονίδια σε ξεχωριστούς γενετικούς τόπους

που ελέγχουν από κοινού το φαινότυπο της παχυσαρκίας. Κάθε μεμονωμένο αλληλόμορφο έχει μικρή επίδραση στο φαινότυπο και η δράση των αλληλομόρφων στο σύνολό τους μπορεί να είναι προσθετική ή και όχι. Εκτιμάται ότι ο συνολικός αριθμός γονιδίων με μικρή μεμονωμένη επίδραση στο φαινότυπο πιθανότατα υπερβαίνει τα 100. Συμπερασματικά, αν ένα άτομο φέρει πολλά μεταλλαγμένα γονίδια που σχετίζονται με αυξημένο σωματικό βάρος, είναι πιθανό να είναι παχύσαρκο. Και αντίστροφα, οποιαδήποτε απ' τις υπεύθυνες μεταλλάξεις θα εμφανίζεται συχνότερα σε παχύσαρκα απ' ό,τι σε φυσιολογικού βάρους κι αδύνατα άτομα. (Hinney, Vogel and Hebebrand, 2010). Ακόμη, εκτός των γενετικών μεταλλάξεων, ο όρος πολυγονιδιακή παχυσαρκία συχνά ταυτίζεται με αυτόν της κοινής, πολυπαραγοντικής παχυσαρκίας. Συνεπώς, η πολυγονιδιακή παχυσαρκία είναι η πιο κοινή μορφή παχυσαρκίας στις σύγχρονες κοινωνίες, όπου το περιβάλλον ευνοεί την αύξηση του σωματικού βάρους λόγω της αφθονίας των τροφίμων και της έλλειψης σωματικής δραστηριότητας (Albuquerque et al., 2017).

### **3.2. Γονίδια Συσχετιζόμενα με Δείκτες Παχυσαρκίας**

Μελέτες GWAS και μετα-αναλύσεις αυτών αναγνώρισαν πολυάριθμες μεταλλάξεις που συνδέονται με την κοινή, πολυπαραγοντική παχυσαρκία. Η πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση GWAS, περιλάμβανε 339224 Ευρωπαίους ενήλικες και αναγνώρισε 97 γενετικούς τόπους που σχετίζονται με το BMI.

Γονίδια που έχουν συσχετιστεί με το BMI, μαζί με ορισμένους πολυμορφισμούς που εντοπίζονται κοντά σ' αυτά, ήταν τα εξής: AGBL4, ELAVL4, IARS2, LRP1B, NAV1, NEGR1, PTBP2, SEC16B, TAL1, TNNT3K, TXNDC12, ADAM23, CREB1/KLF7, EHBP1, ERBB4, FANCL, FIGN, KCNK3, USP37, ADCY3, SSFA2, TMEM18, UBE2E3, CADM2, ETV5, FHIT, GBE1, RARB, RASA2, GNPDA2, HHIP, SCARB2, SLC39A8, FLJ35779, ZNF608, C6orf106, FOXO3, NUDT3, IFNGR1, LOC285762, MTFR2, PARK2, TDRG1, LRFN2, TFAP2B, ASB4, CALCR, HIP1, PMS2L11, ELP3, PEX2, RALYL, ZBTB10, C9orf93, EPB41L4B, C9orf4, LMX1B, LRRN6C, NTRK2, TLR4, GRID1, HIF1AN, NT5C2, TCF7L2, BDNF, CADM1, CEP295, HSD17B12, MTCH2, RPL27A, TUB, CLIP1, FAIM2, MIR548A2, MIR548X2, PCDH9, MTIF3, OLFM4, NRXN3, PRKD1, STXBP6, LOC100287559, BBS4, MAP2K5, LBXCOR1, DMXL2, CBLN1, FTO, GPRC5B, KAT8, INO80E, NLRC3, SBK1, SH2B1, RABEP1, SMG6, GRP, LOC284260, RIT2, MC4R, RAB27B, PGPEP1, QPCTL, KCTD15, TOMM40, ZC3H4, ETS2 (Albuquerque et al., 2017).

### 3.3. Το Γονίδιο FTO

Ο πρώτος γενετικός τόπος που σχετίζεται αναμφισβήτητα με την παχυσαρκία, επιβεβαιωμένο πολλάκις από μελέτες GWAS είναι αυτός του γονιδίου FTO (Loos and Yeo, 2013). Το FTO (γονίδιο σχετιζόμενο με τη λιπώδη μάζα και την παχυσαρκία) συνεχίζει να αποτελεί το γενετικό τόπο με τη μεγαλύτερη επίδραση στο BMI και τον κίνδυνο παχυσαρκίας (Albuquerque et al., 2017).

Αναλυτικότερα, το γονίδιο FTO εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 16 και αποτελείται από εννέα εξόνια που ξεπερνούν τις 400kb. Εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, στον ιστό των παγκρεατικών νησίδων, στον λιπώδη ιστό και στα επινεφρίδια. Η υψηλή έκφρασή του στον υποθάλαμο, την υπόφυση και τα επινεφρίδια υποδεικνύει έναν σημαντικό ρόλο στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων, που εμπλέκεται στο σωματικό βάρος και στη ρύθμιση του κορεσμού. Επιπλέον, το γονίδιο FTO πιθανόν να συμμετέχει στον έλεγχο της ενεργειακής δαπάνης (Kirac D. et al., 2016).

Έναν από τους σημαντικότερους πολυμορφισμούς του FTO αποτελεί ο rs9939609, ο οποίος προκύπτει από την αντικατάσταση μιας θυμίνης (T) από μια αδερίνη (A). Έτσι, τα ομόζυγα άτομα για το αλληλόμορφο κινδύνου έχουν γονότυπο AA, τα ετερόζυγα AT και τα ομόζυγα χωρίς κανένα αλληλόμορφο κινδύνου TT. Σε μια μετα-ανάλυση πληθυσμιακών μελετών, ο σχετικός κίνδυνος (OR) ανάπτυξης παχυσαρκίας ανά αλληλόμορφο κινδύνου ήταν 1,31. Ταυτόχρονα, για το υπέρβαρο, ήταν 1,18. (Frayling T.M. et al., 2007).

Σε μία μελέτη που περιλάμβανε Ευρωπαίους εθελοντές, εξετάστηκε η αλληλεπίδραση του rs9939609 πολυμορφισμού με τη φυσική δραστηριότητα, αναφορικά με κάποιους δείκτες παχυσαρκίας. Ο γονότυπος FTO συσχετίστηκε με υψηλότερο σωματικό βάρος κατά 1,09 kg, BMI κατά 0,54kg/m<sup>2</sup> και WC κατά 1,07cm, ανά αλληλόμορφο κινδύνου. Η μέτρια φυσική δραστηριότητα εξασθένησε την επίδραση του FTO στο BMI και αυτό κρίθηκε στατιστικά σημαντικό. Μεταξύ των σωματικά αδρανών ατόμων, το FTO αύξησε το BMI κατά 1,06 kg/m<sup>2</sup> ανά αλληλόμορφο κινδύνου, ενώ η αύξηση του BMI μειώθηκε σημαντικά, στα 0,16 kg/m<sup>2</sup>, μεταξύ των φυσικά δραστήριων ατόμων. Αναφορικά με την WC, αυτή αυξήθηκε κατά 2,72 cm ανά αλληλόμορφο κινδύνου μεταξύ σωματικά αδρανών ατόμων αλλά μόλις 0,49 cm σε φυσικά δραστήρια άτομα (Celis-Morales et al., 2016).

### 3.4. Το Γονίδιο MC4R

#### 3.4.1. Ο Άξονας Λεπτίνης/Ινσουλίνης-Μελανοκορτίνης

Όπως προαναφέρθηκε, η παχυσαρκία προκύπτει από μια ανισορροπία μεταξύ της ενεργειακής πρόσληψης και της ενεργειακής δαπάνης. Ένα θετικό ενεργειακό ισοζύγιο προωθεί την αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή τριγλυκεριδίων, εντός των λιποκυττάρων. Οι βασικές λειτουργίες των λιποκυττάρων είναι να αποθηκεύουν ενέργεια όταν οι θερμίδες είναι υπερβάλλουσες και να κινητοποιούν ενέργεια όταν οι ενεργειακές ανάγκες υπερβαίνουν την πρόσληψη (Racette S. et al., 2003). Ωστόσο, δεν είναι ακριβώς γνωστό το πώς προσαρμόζεται το σώμα σε αυτή τη νέα κατάσταση υψηλότερου σωματικού βάρους. Πιθανότατα, υπάρχει κάποιος ομοιοστατικός έλεγχος που προσαρμόζει το σώμα σε ένα υψηλότερο επίπεδο ενεργειακής αποθήκευσης.

Δύο ορμόνες, η λεπτίνη και η ινσουλίνη, φαίνεται να διαδραματίζουν καίριο ρόλο σε αυτόν τον ενεργειακό ομοιοστατικό έλεγχο.

Αρχικά, η ινσουλίνη είναι η κύρια ορμόνη ρύθμισης του μεταβολισμού της γλυκόζης. Εκκρίνεται από τα β-παγκρεατικά κύτταρα ως απόκριση σε ένα γεύμα, ιδίως αν αυτό περιλαμβάνει γλυκόζη (Belfort-DeAguiar and Seo, 2018). Αυτό οδηγεί με τη σειρά του σε απομάκρυνση της γλυκόζης από το πλάσμα, καθώς προσλαμβάνεται και χρησιμοποιείται από τον σκελετικό μυ και το λιπώδη ιστό. Παράλληλα, παρεμποδίζεται η παραγωγή ηπατικής γλυκόζης μέσω αναστολής της ηπατικής γλυκονεογένεσης και γλυκογονόλυσης (Barazzoni et al., 2018). Εκτός των παραπάνω, η προαναφερθείσα μεταγευματική αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης φαίνεται να λειτουργεί ως σήμα κορεσμού στον εγκέφαλο.

Αναλυτικότερα, η ινσουλίνη δύναται να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σε επίπεδα ανάλογα με αυτά της ινσουλίνης που κυκλοφορεί στο αίμα. Εκεί, προσδένεται στους υποδοχείς της, τους ονομαζόμενους IRS-1 και IRS-2. Οι τελευταίοι είναι ευρέως κατανεμημένοι στον εγκέφαλο, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να εντοπίζονται στους οσφρητικούς βολβούς και τον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. Με την εισχώρησή της στον εγκέφαλο, η ινσουλίνη ασκεί ανορεξιογόνο δράση, επηρεάζοντας τη δράση ορεξιογόνων (π.χ. NPY, AgRP) και ανορεξιογόνων (π.χ. POMC) πεπτιδίων (Arora and Anubhuti, 2006).

Από την άλλη, η λεπτίνη είναι μια ορμόνη που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, ο οποίος, πέραν του αποθηκευτικού του ρόλου, ασκεί και ρόλο ενδοκρινικού αδένα. (Klok, Jakobsdottir and Drent, 2007, Racette S. et al., 2003) Δεν είναι ευαίσθητη, ωστόσο, όπως η ινσουλίνη μεταγευματικά (Arora and Anubhuti, 2006). Μετά την απελευθέρωση της στην κυκλοφορία του αίματος, διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και δεσμεύεται στους υποθαλαμικούς υποδοχείς της,

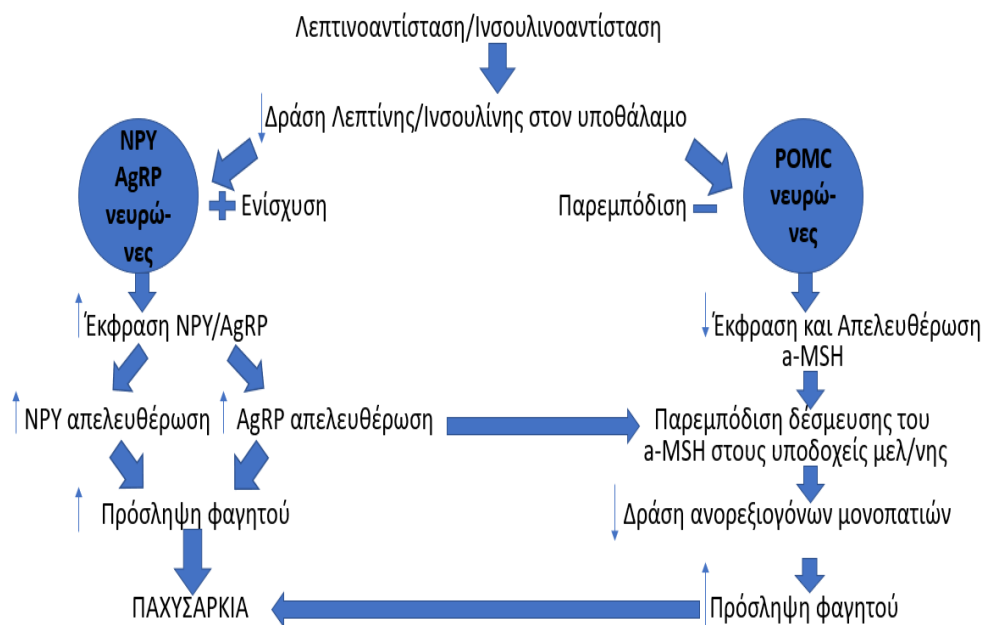
παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση των αποθεμάτων ενέργειας του σώματος. Παράλληλα, επηρεάζει τη δραστηριότητα διαφόρων υποθαλαμικών νευρώνων και την έκφραση διαφόρων ορεξιογόνων (π.χ. AgRP, NPY) και ανορεξιογόνων πεπτιδίων (π.χ. POMC). Συγκεκριμένα, διεγείρει την έκφραση των ανορεξιογόνων πεπτιδίων και καταστέλλει αυτή των ορεξιογόνων (Klok, Jakobsdottir and Drent, 2007).

Κατά αυτόν τον τρόπο, τα επίπεδα της λεπτίνης έχουν συσχετιστεί με το σωματικό βάρος. Στους ανθρώπους, η έλλειψη λεπτίνης ή η αντίσταση στη δράσης της προκαλεί παχυσαρκία, επιβεβαιώνοντας το ρόλο της ως ορμόνη κορεσμού. Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, εντός του εγκεφάλου, ο τοξοειδής πυρήνας του υποθάλαμου φαίνεται να είναι το σημαντικότερο κέντρο ρύθμισης της διατροφικής συμπεριφοράς και του ενεργειακού ισοζυγίου. Τα παχύσαρκα άτομα, σε σύγκριση με άτομα φυσιολογικού βάρους, έχουν αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης και λεπτίνης (Belfort-DeAguiar and Seo, 2018).

Αναφορικά με τη λεπτίνη, το υπερβάλλον σωματικό βάρος αντανakλά μεγαλύτερα ποσοστά λιπώδους ιστού άρα και μεγαλύτερη παραγωγή λεπτίνης. Παρόλο που το αναμενόμενο θα ήταν μια ανορεξιογόνος δράση της λεπτίνης, φαίνεται ότι η όρεξη δεν καταστέλλεται επαρκώς. Αυτό το φαινόμενο καλείται αντίσταση στη λεπτίνη και προκύπτει ως αποτέλεσμα διαταραχών σε διάφορα σημεία του μονοπατιού μετάδοσης σήματος της λεπτίνης. Για παράδειγμα, μπορεί να υφίσταται αδυναμία της λεπτίνης να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και συνεπώς αδυναμία πρόσβασής της στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στους αντίστοιχους νευρωνικούς της στόχους. Ακόμη, ενδέχεται να υπάρχει παρεμπόδιση του μονοπατιού μετάδοσης σήματος της λεπτίνης, ενδοκυττάρια, δηλαδή εντός των νευρώνων. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει μια μειωμένη πρόσβαση της ορμόνης στον υποδοχέα της ή κάποια πρωτεϊνική βλάβη που έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή μετάδοσης ανορεξιογόνου σήματος. Τέλος, κάποια επιγενετική ρύθμιση του μονοπατιού σηματοδότησης της λεπτίνης θα μπορούσε να αποτελεί πιθανό μηχανισμό διαταραχής της λειτουργίας της λεπτίνης (Crujeiras et al., 2015).

Συγκεντρωτικά, η αντίσταση ινσουλίνης και λεπτίνης στο επίπεδο του τοξοειδούς πυρήνα μειώνει την ενεργοποίηση των POMC νευρώνων και αυξάνει την ενεργοποίηση των νευρώνων AgRP/NPY με αποτέλεσμα μειωμένο κορεσμό, αυξημένη πείνα και χαμηλότερη ενεργειακή δαπάνη.

Πρόσφατες μελέτες έχουν επισημάνει ότι η επαγόμενη από λιπαρά οξέα φλεγμονή και η αυξημένη παραγωγή μιτοχονδριακών μορφών ενεργού οξυγόνου σε νευρώνες POMC και AgRP/NPY μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη ινσουλινοαντίστασης και λεπτινοαντίστασης (Belfort-DeAguiar and Seo, 2018).



**Εικόνα 1: Ρύθμιση ορεξιογόνων και ανορεξιογόνων οδών από λεπτίνη και ινσουλίνη**

### 3.4.2. Ο Υποδοχέας MC4R

Ο MC4R είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, 7 λειτουργικών περιοχών, συζευγμένη με πρωτεΐνη G. Αποτελείται από 332 αμινοξέα και κωδικοποιείται από ένα μόνο εξόνιο στο χρωμόσωμα 18q22. Φαίνεται ότι, όπως το γονίδιο FTO, έτσι και το γονίδιο MC4R εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ρυθμίζει, εμπλεκόμενο στη δράση της μελανοκορτίνης, τον ενεργειακό μεταβολισμό (Xi et al., 2012, Kirac D. et al., 2016).

Γενικώς, τα γονίδια που σχετίζονται με την παχυσαρκία και συμμετέχουν σε νευροορμονικές οδούς έχουν συχνά επίδραση τόσο στην πρόσληψη όσο και στη δαπάνη ενέργειας, αν και το πρωταρχικό τους αποτέλεσμα φαίνεται να είναι η ρύθμιση της όρεξης και του κορεσμού. Υπό αυτή την έννοια, το MC4R είναι ένα ισχυρό υποψήφιο γονίδιο παχυσαρκίας (Razquin, Marti and Martinez, 2010).

Άλλωστε, από τις ολιγονουκλεοτιδικές μορφές της παχυσαρκίας, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον Υποδοχέα 4 της Μελανοκορτίνης (MC4R) είναι οι πιο διαδεδομένες (Srivastava et al., 2014).

Ο MC4R εκφράζεται στον εγκέφαλο στις περιοχές του θαλάμου, του υποθαλάμου και του ιππόκαμπου και πιθανώς στα ανθρώπινα επιδερμικά μελανοκύτταρα. Το mRNA του MC4R είναι επίσης παρόν στην οδοντωτή έλικα, το φλοιό και την αμυγδαλή. Συνεπώς, ο MC4R εκφράζεται σε αρκετές τοποθεσίες του εγκεφάλου, εμπλεκόμενο σε αυτόνομες κι ενδοκρινικές λειτουργίες. Ο MC4R, όπως προαναφέρθηκε, διαδραματίζει ρόλο στους μηχανισμούς της όρεξης. Συγκεκριμένα, επηρεάζει το σύστημα σηματοδότησης λεπτίνης-μελανοκορτίνης. Η σηματοδότηση του παραπάνω συστήματος ενεργοποιείται από τη λεπτίνη, η οποία διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, δεσμεύεται στους υποδοχείς της και διεγείρει την έκφραση της POMC (M Valette, 2013). Η POMC αποτελεί πρόδρομο μόριο των μελανοκορτινών. Το γονίδιο της εκφράζεται φυσιολογικά σε διάφορους ιστούς των θηλαστικών όπως είναι η υπόφυση, το δέρμα, το ανοσοποιητικό σύστημα κι οι υποθαλαμικοί νευρώνες (Arora and Anubhuti, 2006). Η POMC που παράγεται, εν τέλει, διασπάται από την επίσης προορμόνη κονβερτάση 2 για να παράγει τις α, β και γ ορμόνες διέγερσης των μελανοκυττάρων. Η δέσμευση αυτών των πεπτιδίων στον MC4R (κυρίως της α-MSH) αναστέλλει την πρόσληψη τροφής (Srivastava et al., 2014).

Ταυτόχρονα, η δέσμευση της ίδιας της λεπτίνης στον MC4R αναστέλλει, επίσης, την έκφραση του πεπτιδίου AgRP, μια ορεξιγόνο πρωτεΐνη που δρα ως ανταγωνιστής του MC4R. Τελικά, ο MC4R ενεργοποιεί τόσο τα σήματα κορεσμού όσο και της πείνας. Το ανορεξιγόνο σήμα παρέχεται από την α-MSH, ενώ το ορεξιγόνο παρέχεται από το πεπτίδιο AgRP (Valette et al., 2012).

Όταν το σώμα βρίσκεται σε αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας ή επικρατεί λεπτινοαντίσταση, η μείωση των επιπέδων λεπτίνης οδηγεί σε χαμηλότερη έκφραση της POMC, η οποία μειώνει τα επίπεδα α-MSH. Παράλληλα, διεγείρεται η έκφραση της AgRP, η οποία είναι ανταγωνιστής του MC4R. Η μείωση της α-MSH σε συνδυασμό με την αύξηση της AgRP οδηγεί σε παρατεταμένη καταστολή του MC4R που οδηγεί με τη σειρά της σε αυξημένη πρόσληψη τροφής, η οποία μπορεί να προκαλέσει παχυσαρκία (Park et al., 2016).

Συμπερασματικά, οι oligονουκλεοτιδικές μορφές της παχυσαρκίας έχουν επιβεβαιώσει ότι το υποθαλάμιο σύστημα λεπτίνης-μελανοκορτίνης είναι εξαιρετικά κρίσιμο για την ενεργειακή ισορροπία στους ανθρώπους, διότι η διαταραχή αυτών των οδών οδηγεί στους σοβαρότερους φαινότυπους παχυσαρκίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι ανάλογη με της λεπτίνης δράση, παρουσιάζει και η ινσουλίνη, όπως προαναφέρθηκε.

Περισσότερες από 100 μεταλλάξεις στο ανθρώπινο MC4R έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα (Razquin, Marti and Martinez, 2010). Αυτές περιλαμβάνουν παρερμηνεύσιμες, ανερμηνεύσιμες και μεταλλάξεις μετατόπισης του αναγνωριστικού πλαισίου. Περίπου στο 50% αυτών των

μεταλλάξεων, ο υποδοχέας έχει μερική ή πλήρη βλάβη ή απώλεια λειτουργίας *in vitro*. Στην πλειοψηφία τους οι μεταλλάξεις ακολουθούν τον επικρατή τρόπο κληρονομησης. Μελέτες έδειξαν ότι πολλές από τις παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις οδηγούν σε απώλεια λειτουργίας του MC4R. Αντίθετα, άλλες μεταλλάξεις (π.χ. Thr11Ser, Arg18Cys) και δύο πολυμορφισμοί (Val103Ile, Ile251Leu) δε φάνηκε να τροποποιούν τη λειτουργία του MC4R *in vitro* (Marti, Martinez-González and Martinez, 2008). Μάλιστα, οι πολυμορφισμοί Ile251Leu και Val103Ile, φάνηκε να συσχετίζονται αρνητικά με την παχυσαρκία. (Valette et al., 2012).

Παρόλο που οι βλάβες στον MC4R φαίνεται να αποτελούν τη συνηθέστερη μορφή ολιγογονιδιακής παχυσαρκίας, τα ποσοστά επικράτησης κυμαίνονται από 0,5 έως 5,8%. Η διαφορετική διείσδυτικότητα ή εκφραστικότητα των μεταλλάξεων και οι πιθανές περιβαλλοντικές αλληλεπιδράσεις οδηγούν σε μια ποικιλία φαινοτύπων παχυσαρκίας (Razquin, Marti and Martinez, 2010).

### **3.4.3. Ο Πολυμορφισμός rs17782313 του MC4R**

Ο rs17782313 είναι ένας πολυμορφισμός που χαρτογραφήθηκε 188kb κάτωθι του MC4R γονιδίου. Το αλληλόμορφο κινδύνου περιλαμβάνει αντικατάσταση της βάσης θυμίνη (T) από μία κυτοσίνη (C) και έχει την ικανότητα να επηρεάσει τη λειτουργία του γονιδίου MC4R, συμμετέχοντας τόσο στη ρύθμιση της έκφρασης όσο και της μετάφρασής του (Bjørnland et al., 2017). Αναλυτικότερα, ο πολυμορφισμός rs17782313 του MC4R επηρεάζει τη δράση των μελανοκορτινών που ελέγχουν τόσο την πρόσληψη όσο και τη δαπάνη ενέργειας (Srivastava et al., 2014). Ως εκ τούτου, έχει φανεί ότι συσχετίζεται με αυξημένο BMI, καθώς και με πρόωμη έναρξη παχυσαρκίας, ήδη κατά την παιδική ηλικία (Bjørnland et al., 2017).

Σε περίπτωση που δεν γονοτυπηθεί ο πολυμορφισμός rs17782313, υπάρχει δυνατότητα γονοτύπησης του rs10871777, ο οποίος θεωρείται ισοδύναμος με τον rs17782313 στους Ευρωπαίους και τους Ασιάτες. Το αλληλόμορφο κινδύνου C του rs17782313 είναι ισοδύναμο με το αλληλόμορφο G του rs10871777 (Grant et al., 2009).

Σε δείγματα 77.228 ενηλίκων, το rs17782313 αύξησε κατά 8%, ανά αλληλόμορφο κινδύνου, την πιθανότητα να είναι κάποιος υπέρβαρος και κατά 12%, ανά αλληλόμορφο κινδύνου, να είναι παχύσαρκος (Loos R.J. et al., 2008). Δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων (Hinney, Vogel and Hebebrand, 2010). Ο κίνδυνος παχυσαρκίας σε παιδιά βρέθηκε ότι είναι 30% υψηλότερος εφόσον φέρουν το συγκεκριμένο πολυμορφισμό.

Επιπλέον, μετα-αναλύσεις των GWAS που διεξήχθησαν σε Καυκάσιο πληθυσμό αποκάλυψαν ότι ο πολυμορφισμός rs17782313 παρουσιάζει ισχυρή θετική συσχέτιση με το BMI. Το αλληλόμορφο

κινδύνου σχετίζεται με μία αυξημένη συνολική ενεργειακή πρόσληψη και πρόσληψη διαιτητικού λίπους. Κάθε επιπλέον αλληλόμορφο κινδύνου συνδέεται με την αύξηση του BMI ~ 0,22 kg / m<sup>2</sup> στους ενήλικες. Επιπλέον, το αλληλόμορφο κινδύνου C συσχετίστηκε με 14% υψηλότερο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2. Το φύλο, σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τη συσχέτιση μεταξύ των rs17782313 και των δεικτών παχυσαρκίας, με τα θηλυκά άτομα να επηρεάζονται σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι τα αρσενικά. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το συγκεκριμένο SNP δεν συνδέεται μόνο με υψηλότερο BMI, αλλά και με αυξημένο ύψος. Παρόμοιο φαινόμενο εμφανίζουν και τα άτομα με μεταλλάξεις πάνω στην περιοχή κωδικοποίησης του MC4R (Leónska-Duniec et al., 2017).

Τέλος, από άλλες μελέτες φαίνεται ότι ο rs17782313 πολυμορφισμός συνδέεται θετικά με το ύψος παιδιών και ενηλίκων. Συνεπώς βρέθηκε ισχυρότερη συσχέτιση με το σωματικό βάρος παρά με το BMI. Οι συσχετίσεις αυτές ήταν ισχυρότερες κατά τη διάρκεια της παιδικής κι εφηβικής ηλικίας, εμφανίζοντας το peak τους κατά τα πρώτα χρόνια της ενηλικίωσης. Σε μεγαλύτερες ηλικίες, οι συσχετίσεις με τους δείκτες παχυσαρκίας φάνηκαν ασθενέστερες. Κάτι τέτοιο, εξηγείται εν μέρει απ' το γεγονός ότι η αύξηση του σωματικού βάρους στην ενήλικη ζωή μπορεί να επηρεάζεται από διάφορους περιβαλλοντικούς και ψυχοκοινωνικούς παράγοντες (Hardy et al., 2009).

Στην Quebec Family Study εξετάστηκε εάν ο πολυμορφισμός rs17782313 μπορεί να επηρέασε τη σωματική δραστηριότητα γονέων καθώς και των απογόνων τους. Οι γονείς που είχαν γονότυπο CC ανέφεραν ότι δαπανούν λιγότερα από 986,1 kcal/εβδομάδα σε μέτρια έως έντονη φυσική δραστηριότητα-αναψυχή από ό,τι τα άτομα με CT γονότυπο και λιγότερα από 1500,6 kcal/εβδομάδα από ό,τι ομοζυγώτες του φυσιολογικού αλληλομόρφου T. Προτείνονται δύο εύλογες εξηγήσεις για τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν: 1) Ένα άτομο με γενετική προδιάθεση για την παχυσαρκία είναι λιγότερο σωματικά ενεργό λόγω της παχυσαρκίας του. 2) Ένα άτομο με γενετική προδιάθεση να είναι λιγότερο σωματικά δραστήριο γίνεται ευκολότερα υπέρβαρο και παχύσαρκο. Και οι δύο εξηγήσεις είναι πιθανές, αλλά τα βιολογικά χαρακτηριστικά των SNPs που εξετάστηκαν φαίνεται να υποστηρίζουν τη δεύτερη εξήγηση (Lee et al., 2015) (Loos et al., 2004). Στους απογόνους, οι φυσιολογικοί ομοζυγώτες TT παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά αδράνειας σε σύγκριση με τα άτομα με γονότυπο CT ή CC. Ωστόσο, παρά τα ποσοστά αδράνειας, οι TT γονότυποι είχαν χαμηλότερο BMI (Loos et al., 2004).

Σε διάφορες μελέτες που περιλάμβαναν Φινλανδούς και Ολλανδούς εφήβους και Γάλλους, Δανούς και Βρετανούς ενήλικες δε φάνηκε καμία αλληλεπίδραση μεταξύ του MC4R rs17782313 και της σωματικής δραστηριότητας αναφορικά με δείκτες παχυσαρκίας (Song et al., 2017).

Επιπλέον, σε δείγμα ενηλίκων της Ισπανίας δε φάνηκε κάποια σημαντική αλληλεπίδραση του αλληλομόρφου κινδύνου με τη φυσική δραστηριότητα. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε μία τάση υψηλότερου BMI και κινδύνου παχυσαρκίας σε άτομα με το αλληλόμορφο κινδύνου που ήταν καθιστικά σε σύγκριση με τα φυσικά δραστήρια. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη τη συνύπαρξη των rs17782313 του MC4R και του rs9939609 του FTO, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση πολυμορφισμού και φυσικής δραστηριότητας τόσο για τον BMI όσο και για τον κίνδυνο παχυσαρκίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι, το μέγεθος της επίδρασης αυτής ήταν αρκετά ισχυρό και μπορεί να θεωρηθεί κλινικά σημαντικό (Corella et al., 2012).

Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Κίνα σε παιδικό πληθυσμό, φάνηκε ότι το rs17782313 σχετίζεται με κίνδυνο παχυσαρκίας σε παιδιά με καθιστική συμπεριφορά >2h /ημέρα ή σε παιδιά που εκτελούν μέτρια ή χαμηλή σωματική δραστηριότητα. Ως ομάδα αναφοράς ορίστηκαν τα παιδιά που δεν είχαν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου, με υψηλή σωματική δραστηριότητα και καθιστική συμπεριφορά <2 ώρες/ημέρα. Συνεπώς, η μελέτη έδειξε ότι παρόλο που ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός προδιαθέτει την εμφάνιση παχυσαρκίας, η ενθάρρυνση για λιγότερο καθιστική συμπεριφορά και για αύξηση των επιπέδων της φυσικής δραστηριότητας μπορεί να αποδειχθεί εξαιρετικά χρήσιμη. Με άλλα λόγια, αυτή η αλλαγή συμπεριφοράς ενδέχεται να μετριάσει τις επιπτώσεις της γενετικής προδιάθεσης για την παιδική παχυσαρκία (Xi et al., 2011, Song et al., 2017).

Ακόμη, κάποια αποτελέσματα αλληλεπίδρασης μεταξύ του πολυμορφισμού rs17782313 και της φυσικής δραστηριότητας έδειξε η μελέτη HUNT, η οποία περιλαμβάνει πληροφορίες από τον πληθυσμό της περιοχής Nord-Trøndelag στη Νορβηγία. Συγκεκριμένα, στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας προέκυψε για το BMI και παραμόνο για το γυναικείο πληθυσμό της μελέτης που άνηκε στο ηλικιακό επίπεδο 20-40 ετών. Οι διαφορές που σχετίζονται με το φύλο μπορούν να αποδοθούν στις ορμονικούς παράγοντες και σε διαφορές στις περιφερειακές αποθήκες λιπώδους ιστού στις οποίες διαφοροποιείται η μεταβολική ρύθμιση καθώς και οι γενετικές επιρροές. Στη συγκεκριμένη υποκατηγορία, τα αποτελέσματά έδειξαν ότι η υψηλή σωματική δραστηριότητα ελαττώνει την επαγόμενη από τον πολυμορφισμό παχυσαρκία (Bjørnland et al., 2017).

#### **3.4.4. Ο Πολυμορφισμός rs12970134 του MC4R**

Ένας άλλος πολυμορφισμός, ο rs12970134, που βρίσκεται επίσης κοντά στο γονίδιο MC4R και συγκεκριμένα 154 kb κάτωθι αυτού, στο γενετικό τόπο 18q21 φάνηκε να σχετίζεται με δείκτες

παχυσαρκίας (Thorleifsson et al., 2008). Το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο προκύπτει μετά από μια αντικατάσταση της βάσης G από μία A.

Μετά από τη συλλογή δειγμάτων από νορμοβαρείς/υπέρβαρους και παχύσαρκους που κατοικούν στην Ισλανδία, την Ολλανδία, τη Δανία καθώς και Αφροαμερικάνους και Ευρωπαίους της Αμερικής, φάνηκε ότι το αλληλόμορφο κινδύνου αυξάνει τον κίνδυνο παχυσαρκίας κατά 12% (Xi et al., 2012, Thorleifsson et al., 2008).

Επίσης, σε μία GWAS μελέτη, το rs12970134 φάνηκε να συσχετίζεται με την περιφέρεια μέσης και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι ομοζυώτες για το αλληλόμορφο κινδύνου βρέθηκε να έχουν κατά ~2 cm μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης και κατά 10% υψηλότερη ινσουλινοαντίσταση σε σύγκριση με όσους είχαν 2 αλληλόμορφα άγριου τύπου. Οι συχνότητα των αλληλόμορφων κινδύνου ήταν υψηλότερη στα άτομα Ασιατικής καταγωγής σε σύγκριση με άτομα Ευρωπαϊκής καταγωγής (Chambers et al., 2008).

Ακόμη, σε άλλη GWAS μελέτη, το rs12970134 φάνηκε να συσχετίζεται με τον πολυμορφισμό rs17782313 που όπως προαναφέρθηκε, συσχετίζεται με το σωματικό λίπος, το βάρος και το ύψος σε πληθυσμό ενηλίκων (Loos R.J., 2008).

Παρόλο που οι περισσότερες μελέτες δείχνουν μια συσχέτιση του rs12970134 με δείκτες παχυσαρκίας, υπάρχουν και ορισμένες μελέτες που δεν επιβεβαιώνουν κάτι αντίστοιχο (Bradnová O. et al., 2015).

Σε μία μελέτη που διεξήχθη στην Κίνα και περιλάμβανε δείγμα από παιδιά κι εφήβους φάνηκε πως το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A συσχετίζεται με υψηλότερο κατά 20% κίνδυνο συνολικά υπέρβαρου και παχυσαρκίας. Ακόμη το rs12970134 φάνηκε να συσχετίζεται και με το BMI, στατιστικά σημαντικά. Οι φορείς του αλληλόμορφου A είχαν υψηλότερο BMI από τα ομόζυγα άτομα του αλληλόμορφου G, με αύξηση 0,33 kg/m<sup>2</sup> για κάθε επιπρόσθετο αλληλόμορφο A. Ακόμη, διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός rs12970134 σχετίζεται με την αυξημένη περιφέρεια ισχίου και το ποσοστό σωματικού λίπους. Στην ίδια μελέτη βρέθηκε μια στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ φυσικής δραστηριότητας και rs12970134 όσον αφορά το BMI. Ο πολυμορφισμός rs12970134 συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο με το BMI παιδιών με φυσική δραστηριότητα <1h/ημέρα και καθιστική συμπεριφορά >2h/ημέρα. Αντιθέτως, σε παιδιά με σωματική δραστηριότητα >2h /d ή καθιστική συμπεριφορά <2h/ημέρα, το rs12970134 δεν συσχετίστηκε με το BMI. Συνεπώς, στα παιδιά από την Κίνα, η φυσική δραστηριότητα και οι καθιστικές συμπεριφορές φάνηκαν να τροποποιούν την επίδραση του πολυμορφισμού rs12970134 στο BMI και στον κίνδυνο υπέρβαρου/παχυσαρκίας (Song et al., 2017).

### 3.4.5. Σύνοψη Αποτελεσμάτων Ερευνών για τους Πολυμορφισμούς του MC4R

Συγκεντρωτικά, τα σημαντικότερα αποτελέσματα που έχουν προκύψει από μελέτες αναφορικά με τους MC4R πολυμορφισμούς rs17782313 (ή rs10871777), rs12970134 και τους δείκτες παχυσαρκίας είναι τα εξής:

| <b>Πίνακας 5: Σημαντικότερα αποτελέσματα μελετών αναφορικά με τα SNPs rs17782313 και rs12970134 του MC4R και δεικτών παχυσαρκίας</b> |                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>rs17782313 ( rs10871777)</b>                                                                                                      |                                                                                     |
| GG                                                                                                                                   | Κατά μέσο όρο 0,44kg/m <sup>2</sup> υψηλότερο BMI από τους φυσιολογικούς ομοζυγώτες |
| AG                                                                                                                                   | Κατά μέσο όρο 0,22kg/m <sup>2</sup> υψηλότερο BMI από τους φυσιολογικούς ομοζυγώτες |
| AA                                                                                                                                   | Φυσιολογικοί ομοζυγώτες                                                             |
| <b>rs12970134</b>                                                                                                                    |                                                                                     |
| AA                                                                                                                                   | Κατά μέσο όρο 1,76cm υψηλότερη WC από τους φυσιολογικούς ομοζυγώτες                 |
| AG                                                                                                                                   | Κατά μέσο όρο 0,88cm υψηλότερη WC από τους φυσιολογικούς ομοζυγώτες                 |
| GG                                                                                                                                   | Φυσιολογικοί ομοζυγώτες                                                             |

(Leońska-Duniec et al., 2017, Chambers et al., 2008)

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΣΚΟΠΟΣ

Η παχυσαρκία αποτελεί μια νόσο, η οποία συνδέεται με διάφορες άλλες νόσους και μεταβολικές διαταραχές. Ο επιπολασμός της έχει εκτοξευθεί τα τελευταία χρόνια και μαζί με αυτόν, η νοσηρότητα και η θνησιμότητα που συνδέεται με αυτήν. Η κατάσταση αυτή, αποδίδεται σε ένα πλήθος παραγόντων που σχετίζονται τόσο με το γενετικό υπόβαθρο όσο και με περιβαλλοντικές συνιστώσες. Από τους γενετικούς παράγοντες, μετά το γονίδιο FTO και τους πολυμορφισμούς του, το επόμενο γονίδιο που έχει συσχετιστεί με την παχυσαρκία και τους διάφορους δείκτες της είναι αυτό του Υποδοχέα 4 της Μελανοκορτίνης (MC4R). Πέραν των μεταλλάξεων που εντοπίζονται στο ίδιο το γονίδιο του υποδοχέα, υπάρχουν και ορισμένοι πολυμορφισμοί που βρίσκονται κάποιες βάσεις κάτωθι του γονιδίου. Ωστόσο, έχει φανεί ότι αυτοί οι πολυμορφισμοί είναι ικανοί να επηρεάσουν τη λειτουργία του υποδοχέα MC4R και συνεπακόλουθα την όρεξη και την ενεργειακή ομοιόσταση. Από τις περιβαλλοντικές επιρροές, το ισοζύγιο ενέργειας καθορίζουν παράγοντες όπως οι διατροφικές συνήθειες, αλλά και η δαπάνη ενέργειας που επιτυγχάνεται μέσω της φυσικής δραστηριότητας. Προς το παρόν, οι υπάρχουσες μελέτες δεν έχουν δείξει κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ των πολυμορφισμών του MC4R και της φυσικής δραστηριότητας στον ενήλικο πληθυσμό.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι: Πρώτον, η παρουσίαση των περιγραφικών χαρακτηριστικών δείγματος ατόμων που προέκυψε από το 1<sup>ο</sup> στάδιο της μελέτης. Δεύτερον, η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών του MC4R rs17782313, rs12970134 και του BMI, που αποτελεί δείκτη παχυσαρκίας. Τρίτον, η διερεύνηση τυχόν αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πολυμορφισμών rs17782313, rs12970134 και της φυσικής δραστηριότητας, αναφορικά με το BMI.

## 2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία περιλαμβάνει δεδομένα από την επιδημιολογική μελέτη ασθενών-μαρτύρων με τίτλο «NAFLD - Μη Αλκοολική Λιπώδης Διήθηση Ήπατος». Η συγκεκριμένη μελέτη ξεκίνησε το Μάιο του 2012 και ολοκληρώθηκε τον Δεκέμβριο του 2014 και είχε ως στόχο τη διερεύνηση των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης της συγκεκριμένης νόσου. Ωστόσο, στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας, ως έκβαση θεωρήθηκε το BMI, ως δείκτης παχυσαρκίας και όχι η NAFLD. Δύο χρόνια μετά από την

ολοκλήρωση της συγκεκριμένης μελέτης ασθενών-μαρτύρων, εν έτει 2016 ξεκίνησε ένας επανέλεγχος, ο οποίος επαναλάμβανε όλες τις διαδικασίες της μελέτης, έχοντας και ορισμένες επιπρόσθετες ερωτήσεις. Ο επανέλεγχος ολοκληρώθηκε το Δεκέμβριο του 2017. Κατά αυτόν τον τρόπο, η μελέτη NAFLD - Μη Αλκοολική Λιπώδης Διήθηση Ήπατος εξελήχθηκε και σε προοπτική μελέτη. Δεδομένα από τη διαδικασία επανελέγχου δε χρησιμοποιήθηκαν για την παρούσα πτυχιακή εργασία.

### **3. ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ**

#### **3.1.Δειγματοληψία**

Η στρατολόγηση των εθελοντών (n=404) πραγματοποιήθηκε έπειτα από επίσκεψή τους στα εξωτερικά ιατρεία του ηπατολογικού και της παχυσαρκίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο). Από την άλλη, ο επανέλεγχός τους έλαβε χώρα έπειτα από τηλεφωνική επικοινωνία κατά την οποία ερωτούνταν για αλλαγές στην υγεία τους, τη φαρμακευτική αγωγή τους και την πρόσληψη αλκοόλ. Επιπλέον, στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας γίνονταν ερωτήσεις που αφορούσαν την πιθανότητα εγκυμοσύνης ή θηλασμού. Κατόπιν, ενημερώνονταν για τη δυνατότητα συμμετοχής τους στον επανέλεγχο της μελέτης. Στον επανέλεγχο, επρόκειτο να πραγματοποιηθεί ακριβώς η ίδια διαδικασία με αυτή του πρώτου μέρους της μελέτης με σκοπό να επαναξιολογηθεί η κατάσταση της υγείας των εθελοντών.

Εφόσον, οι εθελοντές ήταν σύμφωνοι να συμμετάσχουν και στο 2<sup>ο</sup> μέρος της μελέτης, προγραμματίζαν μια συγκεκριμένη ημερομηνία για την πραγματοποίηση του επανελέγχου. Την προηγούμενη του επανελέγχου ημέρα, λαμβάναν εκ νέου τηλεφώνημα ώστε να γίνουν ορισμένες περαιτέρω διευκρινίσεις.

Τηλεφωνική επικοινωνία έγινε με το 50.2% (n=203) των εθελοντών. Ωστόσο, στον επανέλεγχο τελικώς συμμετείχε το 28.9% (n=117) του αρχικού δείγματος. Από τους εθελοντές που συμμετείχαν το 36.5% ήταν άντρες ( $51.8 \pm 9.9$ ) και το 63.5% γυναίκες ( $55.1 \pm 10.8$ ). Το 10.9% αρνήθηκε να συμμετάσχει ξανά, ενώ το 10.4% παρόλο που ήταν πρόθυμο να συμμετάσχει, λόγω υποχρεώσεων τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο δεν κατάφερε να προγραμματίσει το ραντεβού επανελέγχου.

### 3.2. Κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη

Οι εθελοντές για να ενταχθούν στη μελέτη έπρεπε να πληρούν τα παρακάτω κριτήρια:

- Η ηλικία τους να κυμαίνεται μεταξύ 18-65 ετών
- Η τρέχουσα ή συστηματική κατανάλωση αλκοόλ να μην είναι μεγαλύτερη από 20 γρ./ημέρα για τις γυναίκες και μεγαλύτερη από 30 γρ./ημέρα για τους άντρες.
- Να μην έχουν διαγνωσθεί με κάποια από τις παρακάτω νόσους:
  - ✓ Ηπατίτιδα Β ή C
  - ✓ Αυτοάνοση ηπατική νόσο
  - ✓ Ασθένεια Wilson
  - ✓ Αιμοχρωμάτωση
  - ✓ Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Οι εθελοντές κατά την προσέλευσή τους δήλωναν την ενυπόγραφη συγκατάθεση τους για τη συμμετοχή τους σε όλα τα στάδια της μελέτης. Η έγκριση για τη διεξαγωγή της μελέτης δόθηκε από την Επιτροπή Έρευνας του Επιστημονικού Συμβουλίου του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο) και από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

### 3.3. Μετρήσιμα χαρακτηριστικά

Η καταγραφή των κοινωνικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών, η λήψη του ιατρικού, σε ατομικό και οικογενειακό επίπεδο, καθώς και το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) πραγματοποιήθηκαν την προγραμματισμένη με ραντεβού ημέρα. Οι πληροφορίες ελήφθησαν έπειτα από συνέντευξη με τα άτομα του δείγματος.

#### 3.3.1. Κοινωνικά και Δημογραφικά Χαρακτηριστικά

Στα κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά που ερωτήθηκαν συμπεριλήφθησαν: η ηλικία, το φύλο, η οικογενειακή κατάσταση, ο τόπος διαμονής, οι συγγάτοικοι, ο αριθμός παιδιών, τα συνολικά έτη εκπαίδευσης, το μορφωτικό επίπεδο, η επαγγελματική κατάσταση, ο τύπος εργασίας και το ετήσιο οικογενειακό εισόδημα. Πιο αναλυτικά, το μορφωτικό επίπεδο κατατάχθηκε σε πρωτοβάθμια εκπαίδευση ( $\leq 6$  έτη: Δημοτικό Σχολείο), υποχρεωτική εκπαίδευση ( $\leq 9$  έτη: Γυμνάσιο), δευτεροβάθμια εκπαίδευση ( $\leq 12$  έτη: Λύκειο), ανώτερη εκπαίδευση ( $\leq 15$  έτη: Επαγγελματικές σχολές/IEK), ανώτατη εκπαίδευση ( $\leq 16$  έτη: ΑΕΙ/ΤΕΙ), μεταπτυχιακές σπουδές ( $\geq 17$  έτη: Μεταπτυχιακό/Διδακτορικό). Η οικονομική κατάσταση στη συνέχεια ταξινομήθηκε στα εξής επίπεδα ετήσιου εισοδήματος:  $< 8.000$  €,  $8.000-15.000$  €,  $15.000-25.000$  € και  $> 25.000$  €.

### **3.3.2. Χαρακτηριστικά Τρόπου Ζωής**

Τα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής που ερωτήθηκαν, πέραν των διαιτητικών συνηθειών που εξετάστηκαν μέσω του FFQ, ήταν το κάπνισμα και η φυσική δραστηριότητα. Αναφορικά με το κάπνισμα, έγιναν ερωτήσεις για το κατά πόσο ο εθελοντής καπνίζει ή κάπνιζε στο παρελθόν και με τι συχνότητα, δηλαδή καθημερινά ή περιστασιακά. Στην περίπτωση που κάπνιζε ερωτούνταν η ηλικία έναρξης (και η ηλικία διακοπής στη περίπτωση που ήταν πρώην καπνιστής), τα χρόνια καπνίσματος, το είδος του τσιγάρου και η ποσότητα σε ημερήσια βάση, καθώς και αν ήταν παθητικός καπνιστής. Με βάση τις απαντήσεις για τα συνολικά χρόνια καπνίσματος και τον αριθμό τσιγάρων ανά ημέρα υπολογίστηκε για τους καπνιστές η μεταβλητή Pack-Years που ορίζεται ως 20 τσιγάρα ανά ημέρα για ένα έτος.

Από την άλλη, η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε από ένα έγκυρο και ορθά μελετημένο ερωτηματολόγιο, το HPAQ (Harokopio Physical Activity Questionnaire). Το ερωτηματολόγιο αφορά την εβδομάδα που προηγήθηκε της αξιολόγησης και διαθέτει 3 ενότητες: τη φυσική δραστηριότητα στην εργασία, στο σπίτι και στην ψυχαγωγία. Βάσει του συγκεκριμένου ερωτηματολογίου υπολογίστηκε ο δείκτης φυσικής δραστηριότητας PAL.

### **3.3.3. Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά**

Ορισμένα από τα ανθρωπομετρικά δεδομένα συλλέγονταν με ερωτήσεις. Οι τελευταίες αφορούσαν: ένα πλήρες ιστορικό βάρους, το σύνθηρες βάρος, το ύψος, το σωματικό βάρος γέννησης, τη διάρκεια κύησης και τους μήνες θηλασμού (σε περίπτωση γυναίκας με τέκνα), το επικρατές χέρι, το χρώμα και το σχήμα των μαλλιών, το χρώμα των ματιών και τέλος, στους άνδρες, τον τύπο και την ηλικία έναρξης της ανδρογενετικής αλωπεκίας. Από την άλλη μεριά, η ανθρωπομέτρηση των εθελοντών από τους ερευνητές περιλάμβανε τη μέτρηση της περιμέτρου μέσης και αυτής των ισχίων με μεζούρα, καθώς και τη ζύγιση και την ανάλυση της σύστασης σώματος μέσω βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA).

### **Περιφέρεια μέσης (WC)**

Αναλυτικότερα, για τη μέτρηση της περιμέτρου μέσης ο εξεταζόμενος, σύμφωνα με τις οδηγίες των ερευνητών, στεκόταν σε όρθια θέση με τα πόδια ενωμένα, απομάκρυνε το ρουχισμό στην περιοχή της κοιλιάς και διατηρούσε τα χέρια του χαλαρά στο πλάι. Αφού εξέπνεε όλο τον αέρα ξεκινούσε η διαδικασία της μέτρησης. Η τελευταία γινόταν με τη χρήση μη εκτατής ταινίας (seca) στην πιο στενή περιοχή της μέσης. Στην περίπτωση παχύσαρκων ατόμων ή ατόμων με αυξημένη συσσώρευση λίπους στην κοιλιά η μέτρηση πραγματοποιούνταν κατά προσέγγιση στην περιοχή

του αφαλού εξασφαλίζοντας την σωστή τοποθέτηση της μεζούρας. Η τιμή που καταγράφεται είχε ακρίβεια  $\pm 0,1$  cm.

### **Περιφέρεια ισχύων (HC) και λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχύων (WHR)**

Ακριβώς μετά τη μέτρηση της περιφέρειας μέσης και ενώ ο εξεταζόμενος παρέμενε στην ίδια θέση, ο εξεταστής τοποθετημένος στο πλάι με τη χρήση μη εκτατής ταινίας (seca) με ακρίβεια  $\pm 0,1$  cm μετρούσε την περιφέρεια των ισχύων. Η μέτρηση γινόταν στο ύψος όπου παρατηρείται η μέγιστη περιφέρεια των γλουτών ελέγχοντας ότι η ταινία είναι τοποθετημένη παράλληλα με το δάπεδο. Από τις παραπάνω μετρήσεις υπολογιζόταν ο λόγος WHR.

Ως παθολογική WC ορίστηκε η  $WC > 88$  cm ή  $> 102$  cm για γυναίκες και άντρες αντίστοιχα, ενώ ως παθολογικός WHR ορίστηκε ο  $WHR \geq 0,85$  ή  $\geq 0,90$  για γυναίκες και άντρες αντίστοιχα (WHO, 8-11 December 2008).

### **Ανάλυση σύστασης σώματος**

Η ανάλυση της σύστασης σώματος και η ζύγιση πραγματοποιήθηκε με συσκευή TANITA BODY COMPOSITION ANALYZER BC-418. Αρχικά, ζητούνταν από τον εξεταζόμενο να απομακρύνει οποιοδήποτε μεταλλικό αντικείμενο ερχόταν σε επαφή με το σώμα του. Επίσης αφαιρούσε τα παπούτσια και τις κάλτσες του, βαριά αντικείμενα από τις τσέπες του και τον βαρύ ρουχισμό. Ο εξεταστής ρύθμιζε τη συσκευή έτσι ώστε να αφαιρεί 1 kg για το ρουχισμό, εισήγαγε το φύλο, την ηλικία και το ύψος του εξεταζομένου και τέλος επέλεγε το είδος του σωματότυπού του, δηλαδή την επιλογή standard για το γενικό πληθυσμό ή athletic για τους αθλητές. Στη συνέχεια, ο εξεταζόμενος ανέβαινε στη συσκευή πατώντας στις μεταλλικές επιφάνειες με γυμνό πόδι και κρατώντας σφιχτά με τα χέρια του τις υπάρχουσες χειρολαβές σε απόσταση  $\sim 45^\circ$  από τον κορμό του. Ο αναλυτής, μετά από κάποια δευτερόλεπτα εξήγαγε αποτελέσματα που εκτιμούν το ποσοστό του σωματικού λίπους, το συνολικό νερό του σώματος, καθώς επίσης και τη λιπώδη, την άλιπη και τη μυϊκή μάζα· τόσο συνολικά όσο και στα τμηματικά μέρη του σώματος. Επιπλέον, ο αναλυτής λειτουργεί και ως ζυγός αφού μετρά το βάρος και υπολογίζει στη συνέχεια το BMI.

Η TANITA BODY COMPOSITION ANALYZER BC-418 είναι ένας αναλυτής σύστασης σώματος που η αρχή της μεθόδου του στηρίζεται σε δεδομένα DXA μέσω BIA. Η BIA, εκτιμά αυτές τις παραμέτρους σύστασης σώματος μετρώντας την αντίσταση. Το λίπος, όπως προαναφέρθηκε, δεν είναι διαπερατό στον ηλεκτρισμό σε αντίθεση με το νερό, το περισσότερο από το οποίο βρίσκεται στο μυϊκό ιστό. Ο βαθμός δυσκολίας με τον οποίο ο ηλεκτρισμός διαπερνά μια ουσία είναι γνωστός ως ηλεκτρική αντίσταση και το ποσοστό λίπους, όπως και άλλοι παράμετροι μπορούν να εκτιμηθούν μετρώντας τα επίπεδα της αντίστασης αυτής. Μέσω της

χρήσης 8 ηλεκτροδίων, ο αναλυτής κάνει δυνατή την εκτίμηση διαφορετικής σύστασης σώματος για τα άκρα και την περιοχή της κοιλιάς. Αποτελεί ένα απλό, γρήγορο και μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της σύστασης σώματος. Ωστόσο, η αντίσταση του σώματος μπορεί να ποικίλει λόγω αλλαγών στην ποσότητα και την κατανομή του σωματικού νερού (60% του σωματικού βάρους) και αλλαγών στην θερμοκρασία του, ενώ είναι δυνατό να εμφανίζει μεταβολές και μέσα στην ημέρα. Στην παρούσα μελέτη, για να μειωθεί το σφάλμα που προκύπτει από αυτή την διακύμανση, η μέτρηση πραγματοποιήθηκε έχοντας ενημερώσει του εξεταζόμενους για ορισμένους κανόνες που έπρεπε να ακολουθήσουν. Συγκεκριμένα, η μέτρηση έγινε:

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

### **3.3.4. Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό**

Κατά τη λήψη του ατομικού ιατρικού ιστορικού οι εθελοντές ερωτούνταν εάν έχουν διαγνωσθεί είτε στο παρελθόν είτε στην περίοδο της συμμετοχής τους στη μελέτη, με κάποιες ιατρικές παθήσεις. Ενδεικτικά αναφέρονται ο σακχαρώδης διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, οι νεοπλασίες, η κατάθλιψη, η ηπατίτιδα, οι πολυκυστικές ωθήκες, η νόσος Wilson κ.α. Επιπλέον καταγράφηκαν η φαρμακευτική αγωγή, οι χειρουργικές επεμβάσεις, η ομάδα αίματος, οι πόνοι σε ισχία, γόνατα και πλάτη, τα κατάγματα μετά την ηλικία των 16 ετών και για τις γυναίκες ο αριθμός των κυήσεων, των τέκνων και οι μήνες θηλασμού αυτών.

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

### **3.3.5. Κλινικά Χαρακτηριστικά**

#### **Υπερηχογράφημα Ήπατος-Χοληφόρων**

Πραγματοποιούνταν υπερηχογράφημα άνω κοιλίας από ιατρό Ακτινολόγο, με χρήση του συστήματος υπερήχων SonoAce X8 Ultrasound System (Samsung Medison) και γινόταν κλινική εκτίμηση για την παρουσία λιπώδους διήθησης ήπατος και βαθμού αυτής, χολολιθίασης και debris. Προϋπόθεση για την ορθή εφαρμογή της εξέτασης ήταν ο εθελοντής να έχει τελέσει νηστεία 10–12 ωρών και να μην είχε καταναλώσει αλκοόλ το προηγούμενο 24ωρο.

#### **Αρτηριακή Πίεση και Καρδιακή Συχνότητα**

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

#### **Αιμοληψία και Απομόνωση Βιολογικού Υλικού**

Σε όλους τους συμμετέχοντες πραγματοποιούνταν πρωινή αιμοληψία συνολικού όγκου 20cc από ιατρό Παθολόγο, μετά από 12ωρη νηστεία. Επίσης, οι εθελοντές καλούνταν να αποφύγουν τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής – εφόσον λάμβαναν – πριν από την αιμοληψία. Ζητούταν από τον εθελοντή να καθίσει σε αναπαυτική καρέκλα, αφαιρούνταν ο ρουχισμός από το χέρι και εφαρμοζόταν το λάστιχο περίδεσης 7–8 cm πάνω από την περιοχή που αναμενόταν να φλεβοκεντηθεί. Μετά την εφαρμογή του υπήρχε η δυνατότητα ψηλάφησης του κερκιδικού σφυγμού. Ζητούταν από τον εθελοντή να ανοιγοκλείσει την παλάμη του και στη συνέχεια να παραμείνει με την παλάμη σε γροθιά. Επιλεγόταν από τον εξεταστή η κατάλληλη φλέβα και με τη χρήση πεταλούδας γινόταν λήψη της απαραίτητης ποσότητας αίματος. Το αίμα μοιραζόταν σε σωληνάρια αιμοληψίας με EDTA και κιτρικό νάτριο ως αντιπηκτικό και σε σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό.

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

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

Ορισμένα δείγματα αίματος που συλλέχτηκαν ακολούθησα πορεία βιοχημικής και αιματολογικής ανάλυσης ενώ τα υπόλοιπα αποθηκεύτηκαν σε βαθειά κατάψυξη (-80°C) για μελλοντικούς σκοπούς.

### **Βιοχημική και Αιματολογική Ανάλυση**

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

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

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

$$FIB-4 = \text{age (yr)} \times \text{AST Level (U/L)} / \text{Platelet Count (10}^9\text{/L)} \times \text{(U/L)} \text{ (2)}$$

### 3.3.6. Διατροφικές Συνήθειες

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

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

### 3.3.7. Γενετική Ανάλυση

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

#### Απομόνωση Γενετικού Υλικού

Το γενετικό υλικό των ατόμων της μελέτης απομονώθηκε από λευκά αιμοσφαίρια περιφερικού αίματος στο αυτοματοποιημένο σύστημα έκλουσης iPrep™ Purification Instrument (Life Technologies), με χρήση του πακέτου iPrep™ PureLink® gDNA Blood Kit (Life Technologies). Η χρήση του πακέτου iPrep™ PureLink® gDNA Blood Kit επιτρέπει την γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση γενωμικού DNA (gDNA) από buffy coat. Η απομόνωση του gDNA γίνεται με χρήση των μαγνητικών μικροσφαιριδίων Dynabeads MyOne™ SILANE, στο σύστημα iPrep™ Purification Instrument, και το gDNA που εκλύεται είναι κατάλληλο για εφαρμογές όπως η PCR, η γονοτύπηση και η ανάλυση του γονιδιώματος. Το αυτοματοποιημένο

σύστημα iPrep™ Purification Instrument είναι ένα ρομποτικό σύστημα έκλωσης νουκλεϊκών οξέων. Χάρη στην ενσωματωμένη σύριγγα και την ενσωματωμένη μαγνητική μονάδα του, παρέχει την δυνατότητα εκχύλισης 13 δειγμάτων ταυτόχρονα, βάσει της τεχνολογίας μαγνητικών μικροσφαιριδίων. Η τεχνολογία των μαγνητικών μικροσφαιριδίων παρέχει μια επιφάνεια εναλλασσόμενου φορτίου που εξαρτάται από το pH του περιβάλλοντος του διαλύματος και διευκολύνει τον διαχωρισμό του DNA. Σε συνθήκες χαμηλού pH, τα σφαιρίδια έχουν θετικό φορτίο και έτσι προσδένονται στο αρνητικά φορτισμένο DNA. Οι πρωτεΐνες και τα κυτταρικά υπολείμματα δε προσδένονται και δε ξεπλένονται με τα υδατικά διαλύματα έκπλυσης. Προκειμένου να ληφθεί το DNA, το φορτίο στην επιφάνεια των σφαιριδίων εξουδετερώνεται αυξάνοντας το pH στο 8,5 με την χρήση ενός διαλύματος έκπλυσης χαμηλής αλατότητας. Τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOne™ SILANE είναι μαγνητικά σφαιρίδια διοξειδίου του πυριτίου (SiO<sub>2</sub>) – διαμέτρου 1μm – στην επιφάνεια των οποίων προσροφάται το DNA. Η χρήση της τεχνολογίας των μικροσφαιριδίων για την έκλωση του gDNA έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή μεθόδων όπως η φυγοκέντρωση ή η χρήση αντλίας κενού.

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

### **Ποσοτικός Προσδιορισμός και Έλεγχος Καθαρότητας**

Ο ποσοτικός προσδιορισμός και ο έλεγχος της καθαρότητας του gDNA που απομονώθηκε, διενεργήθηκε με τη χρήση του φασματοφωτομέτρου P330 NanoPhotometer® P-Class (IMPLEN), βάσει της ιδιότητάς του να απορροφά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm. Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) διαλύματος DNA σε νερό σε μήκη κύματος 260 και 280 nm. Ο λόγος OD260/OD280 χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της καθαρότητας του DNA και της επιμόλυνσης του από πρωτεΐνες, εφόσον αυτές απορροφούν στα 280nm. Τιμές μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA. Ο λόγος OD260/OD230 χρησιμοποιείται σαν δεύτερη μέτρηση ένδειξης καθαρότητας νουκλεϊκών οξέων με επιθυμητές τιμές 2–2,2. Μικρότερες τιμές υποδεικνύουν παρουσία μορίων που απορροφούν στα 230nm, όπως EDTA και φαινόλες.

### **Ενίσχυση Σήματος και Διάκριση Αλληλομόρφων**

Η γονοτύπηση είναι το τελευταίο πειραματικό στάδιο για τον προσδιορισμό του γονοτύπου άγνωστων δειγμάτων. Το καθαρό απομονωμένο γενετικό υλικό προορίζεται για σάρωση του γονιδιώματος με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real-Time PCR). Η Real-Time PCR αποτελεί παραλλαγή της κλασικής PCR, με τη διαφορά ότι η

παρακολούθηση της αύξησης των προϊόντων της PCR κατά την διάρκεια της αντίδρασης γίνεται σε οθόνη υπολογιστή. Υπάρχει επίσης η δυνατότητα να σημειθούν τα προϊόντα της PCR με φθορίζουσα ουσία, προσαρμοσμένη για την αλληλουχία στόχο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κατά τη σύνδεση του ανιχνευτή ή εκκινητή με την αλληλουχία στόχο, να αποσυνδέεται ο αδρανοποιητής από τη φθορίζουσα ουσία και να εκπέμπεται σήμα. Η γονοτυπική ταυτοποίηση έγινε με την χρήση του μηχανήματος StepOnePlus™, με την βοήθεια της ανάλυσης TaqMan® SNP Genotyping. Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη συλλογή αντιστοιχισμένων εκκινητών και ανιχνευτών, που οδηγούν στον προσδιορισμό μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP) σε ανθρώπινα δείγματα DNA. Χρησιμοποιείται ειδικό αντιδραστήριο για την ενίσχυση και ανίχνευση συγκεκριμένων SNPs σε καθαρισμένα δείγματα γονιδιωματικού DNA. Αφού έχει γίνει η αραίωση όπως περιγράφηκε παραπάνω, προστίθενται 4,5μl gDNA σε κάθε well. Επίσης, σε κάθε plate προστίθενται 2 αρνητικοί δείκτες (με νερό) και 2 θετικοί δείκτες με DNA από γνωστό δείγμα. Στη συνέχεια, προστίθενται 5,5 μl reaction mix (αποτελούμενο από 5μl Master mix και 0,5μl Genotyping Assay) σε κάθε well. Το plate καλύπτεται με ειδικό πλαστικό κάλυμμα, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και εισάγεται στο StepOnePlus™.

### **3.4. Πρωτόκολλο Επανελέγχου**

Οι ερωτήσεις που δέχθηκαν οι εθελοντές κατά τον επανέλεγχο ήταν ακριβώς οι ίδιες με αυτές που ερωτήθηκαν και στο πρώτο μέρος της μελέτης, εφόσον ο στόχος ήταν να καταγραφούν και να αξιολογηθούν οι αλλαγές στην υγεία τους. Εντούτοις, έγιναν και κάποιες επιπρόσθετες ερωτήσεις με στόχο τον εμπλουτισμό των πληροφοριών για τον τρόπο ζωής τους και την κατάσταση της υγείας τους. Αυτές αφορούν ερωτήσεις για ανθρωπομετρικά δεδομένα καθώς και ιατρικού ιστορικού, πράγμα που αναφέρεται στην μεθοδολογία αλλά δεν αναλύθηκε στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

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

### 3.5. Ηλεκτρονική Καταχώρηση των Δεδομένων

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

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

### 3.6. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 21.0 (Chicago, United States), αλλά και της γλώσσας προγραμματισμού R (Vienna, Austria).

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 του MC4R στο δείγμα, συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες συχνότητες της ισορροπίας Hardy-Weinberg. Η μεταξύ τους σύγκριση πραγματοποιήθηκε χάρη στο  $\chi^2$  του Pearson.

Στις παρακάτω αναλύσεις περιέχονται τόσο συνεχείς όσο και κατηγορικές μεταβλητές. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικές αποκλίσεις, ενώ οι κατηγορικές ως απόλυτες αριθμητικές τιμές και ποσοστά. Με σκοπό να ελεγχθεί το κατά πόσο οι συνεχείς μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kolmogorov-Smirnov. Για τη σύγκριση δύο ανεξάρτητων δειγμάτων που ακολουθούν την κανονική κατανομή εφαρμόστηκε ο έλεγχος T-test, ενώ για δύο ανεξάρτητα δείγματα που δεν πληρούσαν την προϋπόθεση της κανονικότητας εφαρμόστηκε ο έλεγχος Mann-Whitney U test.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ξεχωριστή πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση για τον κάθε πολυμορφισμό, με έκβαση (outcome) το BMI, που αποτελεί δείκτη παχυσαρκίας. Ως ανεξάρτητες μεταβλητές, κάθε φορά ορίστηκαν οι πολυμορφισμοί rs17782313 και rs12970134 του MC4R. Ως συγχυτικοί παράγοντες, θεωρήθηκαν το φύλο, το κάπνισμα, τα επίπεδα ινσουλίνης ορού, η παρουσία υπέρτασης και η φυσική δραστηριότητα. Συγχρόνως, προστέθηκε κι ένας όρος αλληλεπίδρασης μεταξύ του εκάστοτε πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας.

Τέλος, η διαδικασία της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης επαναλήφθηκε, αυτή τη φορά θεωρώντας τις μεταβλητές των πολυμορφισμών ως διατάξιμες. Οι συγχυτικοί παράγοντες και οι όροι αλληλεπίδρασης παρέμειναν ως είχαν στο ένα μοντέλο, ενώ στο άλλο προστέθηκε επιπλέον και ο συγχυτικός παράγοντας «ηλικία» ως δίτιμη μεταβλητή. Συγκεκριμένα, οι συμμετέχοντες στην μελέτη ομαδοποιήθηκαν σε δύο υποκατηγορίες, σε εκείνους οι οποίοι είναι μικρότεροι των 55 ετών και σε εκείνους των οποίων η ηλικία είναι ίση ή μεγαλύτερη των 55 ετών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η στατιστική σημαντικότητα στο σύνολο των ελέγχων εκτιμήθηκε σε επίπεδο  $\alpha = 0,05$  (ή 5%).

#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το δείγμα στο οποίο βασίστηκαν οι αναλύσεις προέρχεται από το 1<sup>ο</sup> μέρος της μελέτης NAFLD και αποτελείται από 327 άτομα. Από αυτά, τα 135 (41,28%) είναι άνδρες και τα 192 (58,72%) γυναίκες.

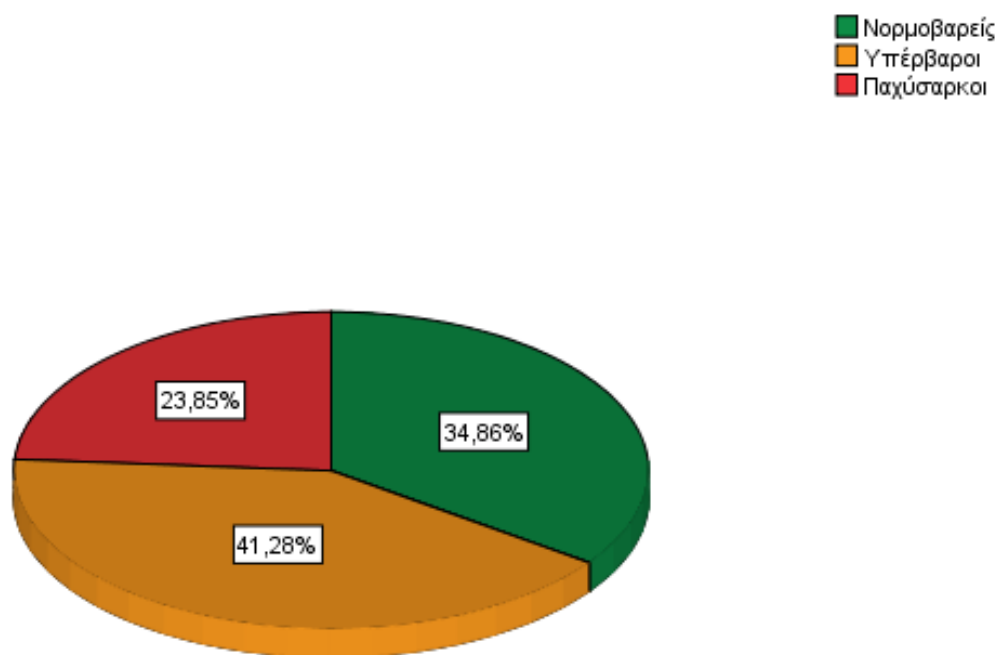
**Σχημα 1: Συχνότητα ανδρών και γυναικών στο δείγμα μελέτης**



Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0

Στο δείγμα μελέτης, ο αριθμός των νορμοβαρών ασθενών είναι 114 (34,86%), των υπέρβαρων 135 (41,28%) και των παχύσαρκων 78 (23,85%).

**Σχήμα 2: Συχνότητα νορμοβαρών, υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων στο δείγμα μελέτης**

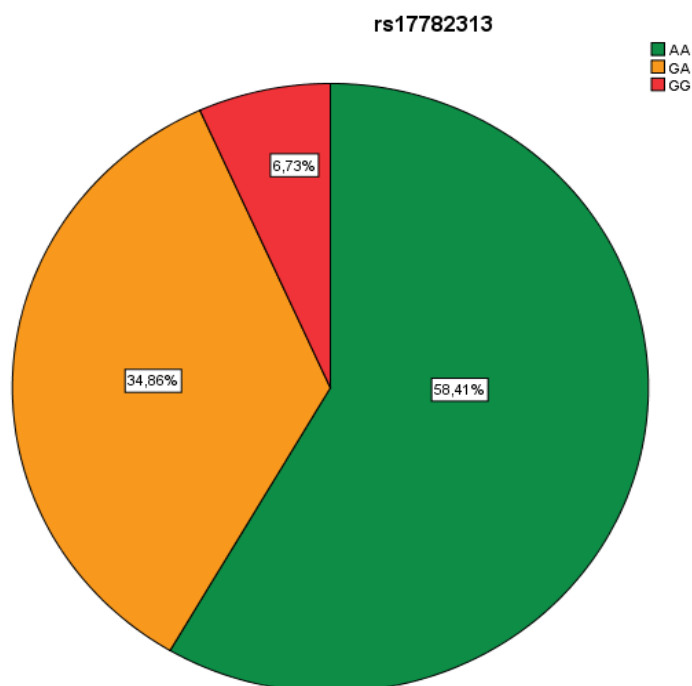


Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0

Στο 1<sup>ο</sup> σχήμα, που ακολουθεί, φαίνεται η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs17782313 του MC4R στο δείγμα μελέτης. Η εκάστοτε κατηγορία περιλαμβάνει διαφορετικό αριθμό αλληλομόρφων κινδύνου, δηλαδή 1, 2 ή 3 αλληλόμορφα κινδύνου αναφορικά με το συγκεκριμένο γενετικό τόπο. Οι πιθανοί γονότυποι, σε αντιστοιχία με τον αριθμό των αλληλομόρφων κινδύνου είναι ο AA (0), ο GA (1) και ο GG (2). Ακόμη ο αριθμός των ατόμων με AA γονότυπο είναι 191 (58,41%), με GA γονότυπο 114 (34,86%) και με GG γονότυπο 22 (6,73%).

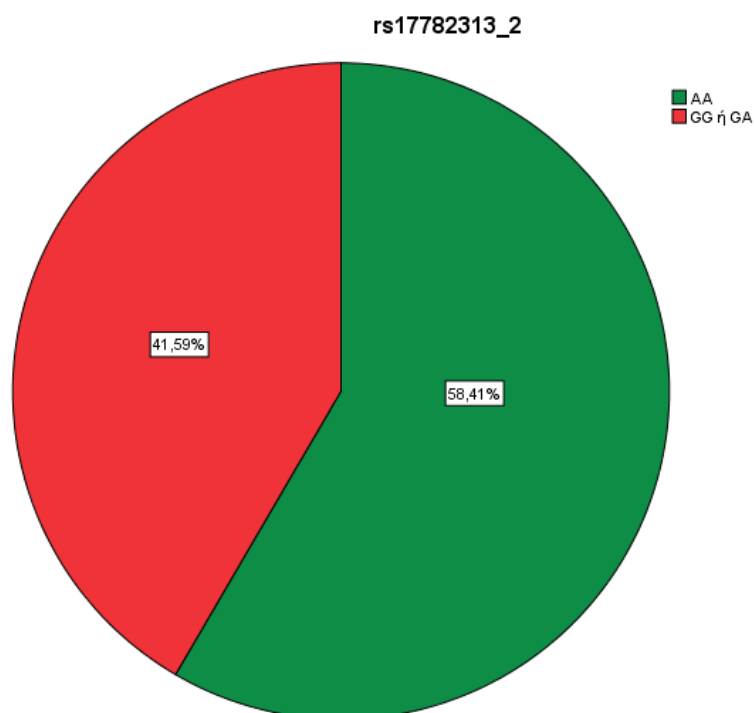
Στο 2<sup>ο</sup> σχήμα, οι εθελοντές που περιέχουν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου, δηλαδή έχουν είτε γονότυπο GA είτε GG, ομαδοποιούνται σε 1 κατηγορία, καθώς ο αριθμός των ατόμων με GG γονότυπο είναι αρκετά μικρός και επιπλέον το παθολογικό αλληλόμορφο κληρονομείται με επικρατή τρόπο. Οι συχνότητες του αλληλομόρφου A ( $p = 0,758$ ) και του αλληλομόρφου κινδύνου G ( $q = 0,242$ ), βρέθηκαν σε ισορροπία Hardy-Weinberg ( $X^2 = 0,772 < 3,84$ ). Αξίζει να αναφερθεί ότι η συχνότητα του σπάνιου αλληλομόρφου στον Καυκάσιο πληθυσμό είναι 24% και συνεπώς συμπίπτει με αυτή της παρούσας μελέτης (Loos R.J. et al., 2008). Στις παρακάτω αναλύσεις, η μεταβλητή του πολυμορφισμού rs17782313 θα χρησιμοποιείται ως δίτιμη. Τα άτομα που φέρουν το μεταλλαγμένο γονότυπο, είτε αυτός προκύπτει από 1 είτε από 2 αλληλόμορφα κινδύνου θα αποτελούν την μία ομάδα (GA ή GG) και τα άτομα που δε φέρουν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου θα αποτελούν την άλλη ομάδα (AA).

**Σχήμα 3: Συχνότητα γονοτύπων (3 υποομάδες) για το SNP rs17782313 του MC4R στο δείγμα μελέτης**



Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0.

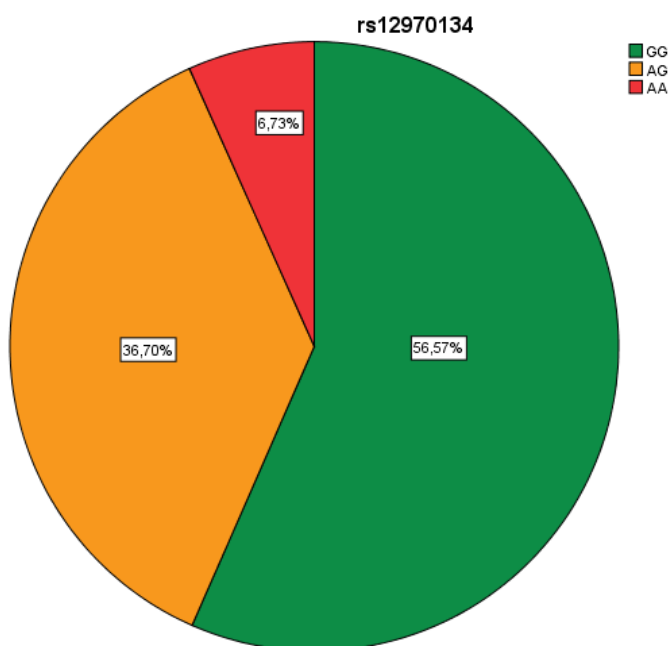
**Σχήμα 4: Συχνότητα γονοτύπων (2 υποομάδες) για το SNP rs17782313 του MC4R στο δείγμα μελέτης**



Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0.

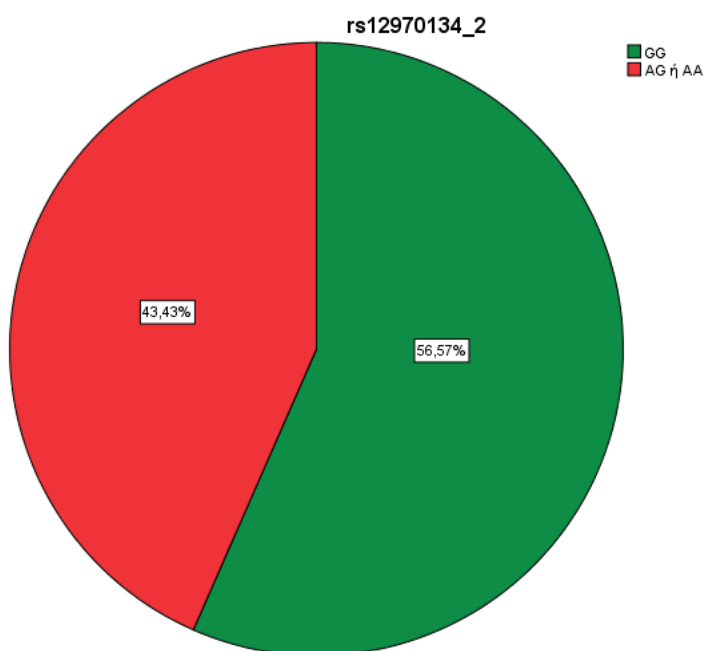
Παρόμοια διαδικασία ακολουθείται και για τον πολυμορφισμό rs12970134 του MC4R. Οι πιθανοί γονότυποι, σε αντιστοιχία με τον αριθμό των αλληλομόρφων κινδύνου είναι ο GG (0), ο AG (1) και ο AA (2). Ακόμη ο αριθμός των ατόμων με GG γονότυπο είναι 185 (56,57%), με AG γονότυπο 120 (36,7%) και με AA γονότυπο 22 (6,73%). Οι συχνότητες του αλληλομόρφου G ( $p = 0,749$ ) και του αλληλομόρφου κινδύνου A ( $q = 0,251$ ), βρέθηκαν σε ισορροπία Hardy-Weinberg ( $X^2 = 0,178 < 3,84$ ). Για το συγκεκριμένο πολυμορφισμό έχει βρεθεί ότι η συχνότητα του σπάνιου αλληλομόρφου είναι 27% στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό, ένα ποσοστό που προσεγγίζει αρκετά τη συχνότητα που βρέθηκε μέσω της παρούσας μελέτης (Chambers et al., 2008).

**Σχήμα 5: Συχνότητα γονοτύπων (3 υποομάδες) για το SNP rs12970134 του MC4R στο δείγμα μελέτης**



Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0.

**Σχήμα 6: Συχνότητα γονοτύπων (2 υποομάδες) για το SNP rs12970134 του MC4R στο δείγμα μελέτης**



Γράφημα που αναπαριστά συχνότητες και δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0.

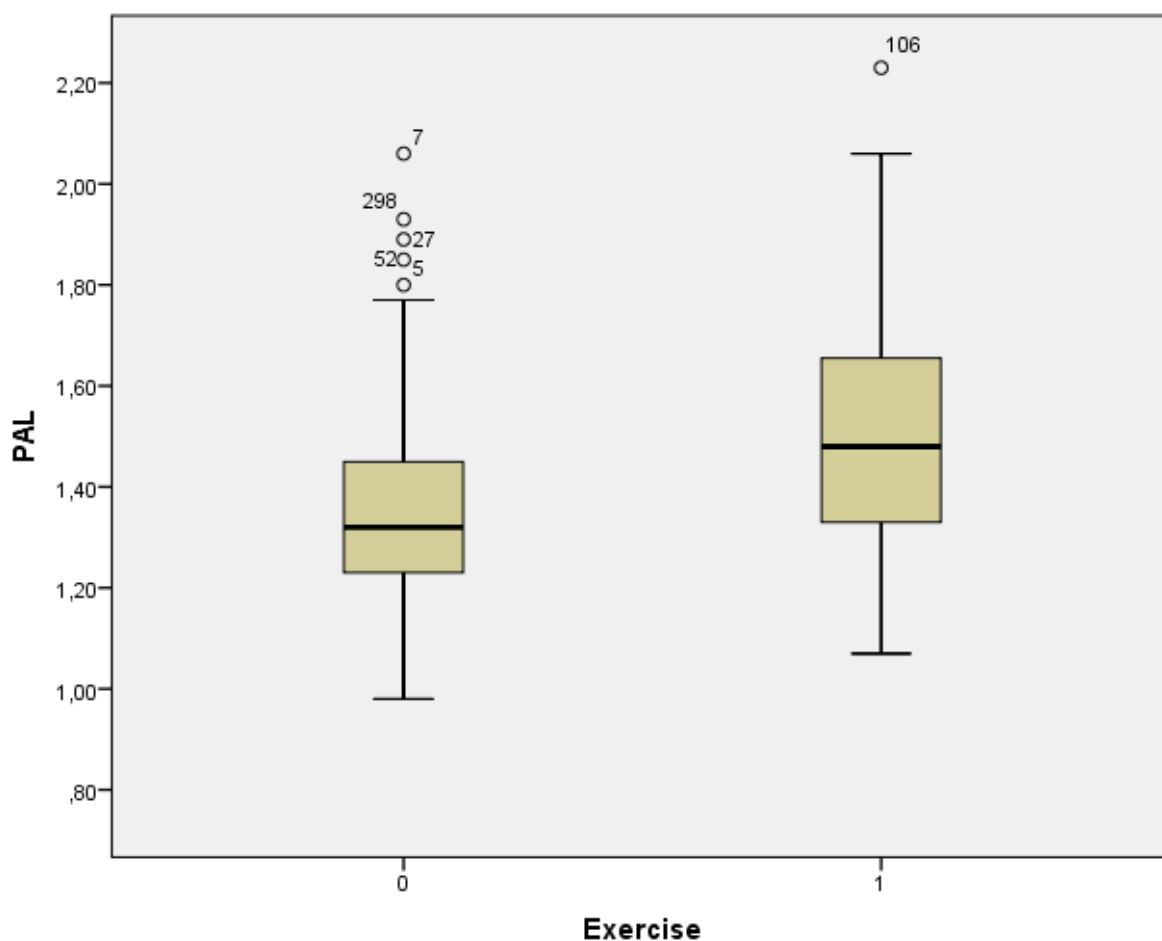
Όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα, κανένας από τους πολυμορφισμούς rs17782313 και rs12970134 του MC4R δε φάνηκε να σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τους δείκτες παχυσαρκίας που μελετήθηκαν (σωματικό βάρος, BMI, WC, WHR, σωματικό λίπος, HC), αλλά ούτε και με το ύψος των εθελοντών.

| <b>Πίνακας 6: T-test και Mann-Whitney U test-Συσχέτιση πολυμορφισμών με δείκτες παχυσαρκίας</b> |                             |                                  |                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------|
| <b>rs17782313</b>                                                                               | <b>AA<br/>(M.O. ± T.A.)</b> | <b>GA ή GG<br/>(M.O. ± T.A.)</b> | <b>p-value</b> |
| Σωματικό Βάρος (kg)                                                                             | 78,6 ±16,2                  | 78,3± 16,1                       | 0,901          |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                                                                        | 27,2 ± 4,9                  | 27,4 ±4,9                        | 0,715          |
| WC (cm)                                                                                         | 92,4 ±14                    | 91,6 ± 14                        | 0,618          |
| WHR                                                                                             | 0,87 ± 0,1                  | 0,85 ± 0,1                       | 0,179          |
| Σωματικό Λίπος (%)                                                                              | 28,85 ± 9,4                 | 29,8 ± 9,6                       | 0,352          |
| Ύψος (cm)*                                                                                      | 1,7 ± 0,1                   | 1,69 ± 0,1                       | 0,431          |
| <b>rs12970134</b>                                                                               | <b>GG<br/>(M.O. ± T.A.)</b> | <b>AG ή AA<br/>(M.O. ± T.A.)</b> | <b>p-value</b> |
| Σωματικό Βάρος (kg)                                                                             | 79,01 ±16,3                 | 77,63± 15,9                      | 0,422          |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                                                                        | 27,2 ± 4,9                  | 27,4 ±4,9                        | 0,808          |
| WC (cm)                                                                                         | 92,7 ±14,1                  | 91,3 ± 13,8                      | 0,378          |
| WHR                                                                                             | 0,87 ± 0,1                  | 0,85 ± 0,1                       | 0,086          |
| Σωματικό Λίπος (%)                                                                              | 28,7 ± 9,2                  | 30 ± 9,7                         | 0,182          |
| Ύψος (cm)*                                                                                      | 1,7 ± 0,1                   | 1,68 ± 0,1                       | 0,112          |
| HC (cm)*                                                                                        | 106,4 ± 10,2                | 107,2 ± 10,6                     | 0,429          |

Το p-value προέκυψε μετά από τον έλεγχο T-test για τις μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή, σε 2 ανεξάρτητα δείγματα. \*Όσον αφορά τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, εφαρμόστηκε μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney U test. Το σύνολο των ελέγχων πραγματοποιήθηκε χάρη στο SPSS 21.0 και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Όπως προαναφέρθηκε ο δείκτης PAL υπολογίστηκε με βάση το ερωτηματολόγιο HPAQ, το οποίο συνεκτίμησε τη φυσική δραστηριότητα κατά την εργασία, το σπίτι αλλά και κατά την ψυχαγωγία. Ωστόσο, η φυσική δραστηριότητα στις 2 πρώτες περιπτώσεις, ενδέχεται να μην είναι συνεχόμενη, να διαφοροποιείται σημαντικά την κάθε ημέρα αλλά και να μην μπορεί να εκτιμηθεί σωστά από τον εθελοντή. Από την άλλη, η φυσική δραστηριότητα κατά την ψυχαγωγία του ατόμου, συνήθως περιλαμβάνει μια πιο οργανωμένη διαδικασία, συγκεκριμένης έντασης και διάρκειας και συχνά συγκεκριμένων ημερών ανά την εβδομάδα. Μάλιστα, στο ερωτηματολόγιο HPAQ υπήρχε ειδική ερώτηση που εξέταζε με μία θετική ή αρνητική απάντηση εάν κάποιος εθελοντής αθλείται ή όχι. Έτσι, μελετήθηκε το κατά πόσο κάποιο άτομο που δήλωσε ότι αθλείται έχει αντίστοιχα και αυξημένο δείκτη PAL κι αντιστρόφως.

**Σχήμα 7: Συσχέτιση δείκτη PAL με την άθληση ή μη άθληση των εθελοντών στο δείγμα μελέτης**



Θηκόγραμμα σύγκρισης συνεχούς κατανομής του δείκτη PAL σε αθλούμενους και μη. Η μεταβλητή PAL δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή, οπότε εφαρμόστηκε μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney U test, για τη σύγκριση των Μ.Ο. στις 2 υποομάδες (αθλούμενων και μη). Το γράφημα δημιουργήθηκε μέσω του SPSS 21.0 και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Φαίνεται ότι οι εθελοντές που αθλούνται εμφανίζουν κατά κανόνα υψηλότερα επίπεδα του δείκτη PAL συγκριτικά με εκείνους που δεν αθλούνται. Βέβαια, από τα ανωτέρω θηκογράμματα γίνεται εμφανές πως τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας των δύο αυτών κατηγοριών (αθλούμενων ή μη) ακολουθούν κατανομές οι οποίες, εν μέρει, επικαλύπτονται. Ωστόσο, οι εικονιζόμενες κατανομές των επιπέδων PAL είναι σαφώς διακριτές μεταξύ τους, και σύμφωνα με τον στατιστικό έλεγχο Mann-Whitney U-test, η διάκριση αυτή είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,001$ ). Συνεπώς, η άθληση ή μη των εθελοντών κατά την ψυχαγωγία τους σχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα της φυσικής δραστηριότητάς τους. Για τον λόγο αυτό, στα μοντέλα που ακολουθούν, η φυσική δραστηριότητα των ατόμων αντικατοπτρίζεται από την δίτιμη μεταβλητή της άθλησης ή μη άθλησης, που λειτουργεί ως ένας ικανός δείκτης των επιπέδων PAL.

Μετά από εφαρμογή πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, στην οποία ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η φυσική δραστηριότητα, το φύλο, το κάπνισμα, τα επίπεδα ινσουλίνης ορού και η υπέρταση, βρέθηκε θετική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού rs17782313 του MC4R και του BMI. Αξίζει να αναφερθεί ότι η μεταβλητή του πολυμορφισμού θεωρείται ως κατηγορική (nominal). Ταυτόχρονα, όταν προστέθηκε ο όρος αλληλεπίδρασης του πολυμορφισμού με τη φυσική δραστηριότητα, βρέθηκε μια αρνητική, επίσης στατιστικώς σημαντική συσχέτιση.

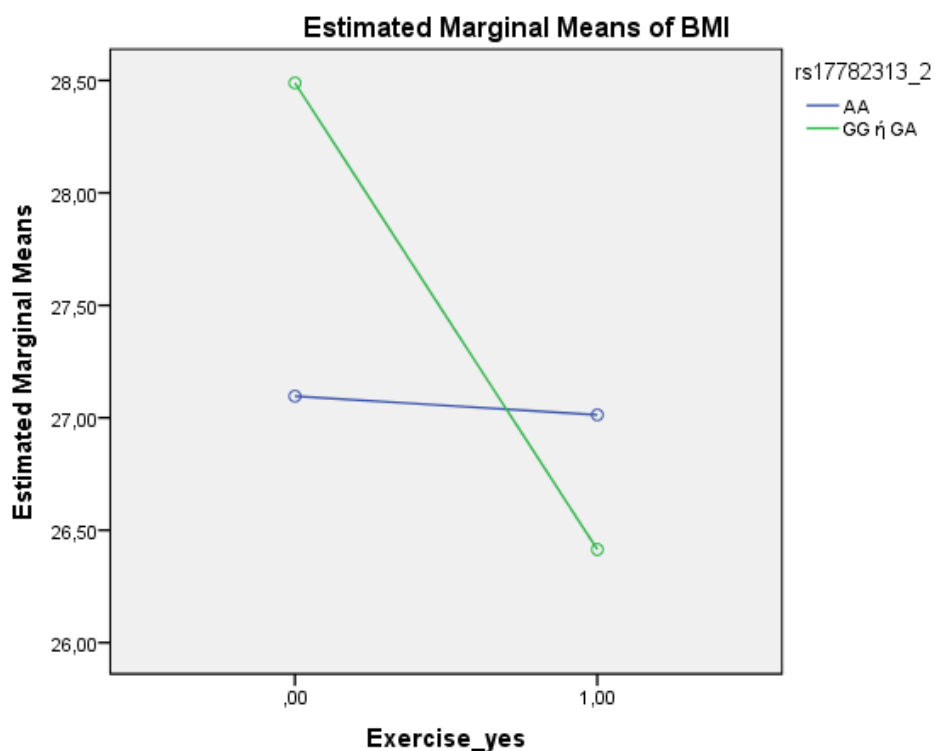
| <b>Πίνακας 7.1.: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα</b> |               |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------|
| Μεταβλητές                                                                                                                                                           | Beta          | p-value          |
| <b>Constant BMI</b>                                                                                                                                                  | <b>23,705</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                                                                                                                                                 | 0,825         | 0,146            |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)                                                                                                                                  | -0,667        | 0,280            |
| <b>Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές)</b>                                                                                                                        | <b>1,347</b>  | <b>0,038</b>     |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>                                                                                                                                        | <b>0,147</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                                                                                                                                                      | <b>2,803</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>GA ή GG</b>                                                                                                                                                       | <b>1,368</b>  | <b>0,036</b>     |
| Φυσική δραστηριότητα                                                                                                                                                 | -0,033        | 0,960            |
| <b>GA ή GG * Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                | <b>-2,096</b> | <b>0,036</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του SPSS 21.0 και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι μέσοι όροι του BMI που προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις των επιπέδων του rs17782313 πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας. Οι μέσοι όροι προέκυψαν αφού λήφθηκαν υπόψη και οι προαναφερθέντες συγχυτικοί παράγοντες. Στο διάγραμμα που ακολουθεί φαίνεται και σχηματικά το περιεχόμενο του πίνακα.

| <b>Πίνακας 7.2.: Μέσος Όρος BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs17782313 και φυσικής δραστηριότητας</b> |            |                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------------------------------------|
| Φυσική Δραστηριότητα                                                                                         | rs17782313 | M.O. BMI (kg/m <sup>2</sup> ) ± T.A. |
| Μη φυσικά δραστήριοι                                                                                         | AA         | 27,104 ± 0,418                       |
|                                                                                                              | GA ή GG    | 28,472 ± 0,496                       |
| Φυσικά δραστήριοι                                                                                            | AA         | 27,071 ± 0,494                       |
|                                                                                                              | GA ή GG    | 26,343 ± 0,571                       |

**Σχήμα 8: Σχηματική αναπαράσταση μέσων όρων BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs17782313 και φυσικής δραστηριότητας**



Covariates appearing in the model are evaluated at the following values: Status\_2 = ,4847, Status\_3 = ,1902, Insulin\_FinalUmL = 12,7818, Hpt = ,40

Η μπλε γραμμή αντιπροσωπεύει τα άτομα που δε φέρουν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου, δηλαδή έχουν γονότυπο AA, για το SNP rs17782313. Αναπαριστά τη διαφορά στο μέσο όρο του BMI των ατόμων που αθλούνται σε σχέση με αυτά που δεν αθλούνται. Η πράσινη γραμμή, αντιπροσωπεύει τη διαφορά στο μέσο όρο του BMI των ατόμων με αλληλόμορφα κινδύνου (GA ή GG γονότυπος) που αθλούνται σε σχέση με αυτά που δεν αθλούνται.

Ομοίως με τον rs17782313, ο rs12970134 βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με το BMI. Ο όρος αλληλεπίδρασης του γονοτύπου με τη φυσική δραστηριότητα βρέθηκε, επίσης, στατιστικά σημαντικός, αναφορικά με το BMI.

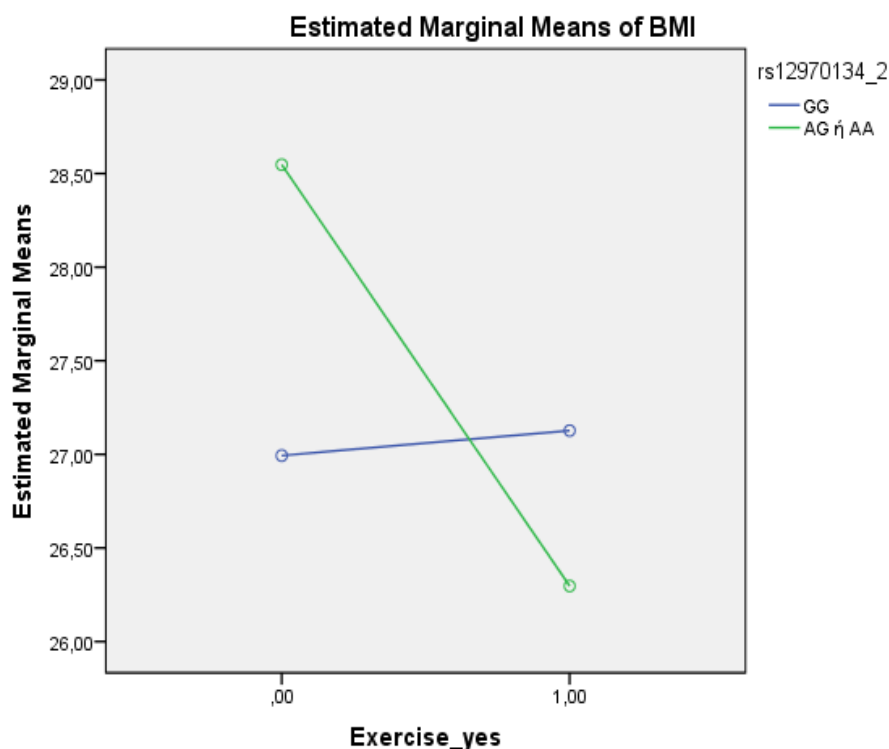
| <b>Πίνακας 8.1.: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα</b> |               |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Μεταβλητές</b>                                                                                                                                                    | <b>Beta</b>   | <b>p-value</b>   |
| <b>Constant BMI</b>                                                                                                                                                  | <b>23,581</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                                                                                                                                                 | 0,806         | 0,119            |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)                                                                                                                                  | -0,680        | 0,214            |
| <b>Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές)</b>                                                                                                                        | <b>1,394</b>  | <b>0,048</b>     |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>                                                                                                                                        | <b>0,148</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                                                                                                                                                      | <b>2,817</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>AG ή AA</b>                                                                                                                                                       | <b>1,554</b>  | <b>0,017</b>     |
| Φυσική δραστηριότητα                                                                                                                                                 | 0,133         | 0,839            |
| <b>AG ή AA * Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                | <b>-2,384</b> | <b>0,016</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του SPSS 21.0 και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Ως ανωτέρω, στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι μέσοι όροι του BMI που προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις των επιπέδων του rs12970134 πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας. Στο διάγραμμα που ακολουθεί φαίνεται και σχηματικά το περιεχόμενο του πίνακα.

| <b>Πίνακας 8.2.: Μέσος Όρος BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs12970134 και φυσικής δραστηριότητας</b> |                   |                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------|
| <b>Φυσική Δραστηριότητα</b>                                                                                  | <b>rs12970134</b> | <b>M.O. BMI (kg/m<sup>2</sup>) ± T.A.</b> |
| Μη φυσικά δραστήριοι                                                                                         | GG                | 26,994 ± 0,427                            |
|                                                                                                              | AG ή AA           | 28,547 ± 0,483                            |
| Φυσικά δραστήριοι                                                                                            | GG                | 27,127 ± 0,495                            |
|                                                                                                              | AG ή AA           | 26,297 ± 0,560                            |

**Σχήμα 9: Σχηματική αναπαράσταση μέσων όρων BMI στα διάφορα επίπεδα αλληλεπίδρασης rs12970134 και φυσικής δραστηριότητας**



Covariates appearing in the model are evaluated at the following values: Female = ,59, Status\_2 = ,4847, Status\_3 = ,1902, Insulin\_FinalUmL = 12,7818, Hpt = ,40

Η μπλε γραμμή αντιπροσωπεύει τα άτομα που δε φέρουν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου, δηλαδή έχουν γονότυπο GG, για το SNP rs12970134. Αναπαριστά τη διαφορά στο μέσο όρο του BMI των ατόμων που αθλούνται σε σχέση με αυτά που δεν αθλούνται. Η πράσινη γραμμή, αντιπροσωπεύει τη διαφορά στο μέσο όρο του BMI των ατόμων με αλληλόμορφα κινδύνου (AG ή AA γονότυπος) που αθλούνται σε σχέση με αυτά που δεν αθλούνται.

Αναφορικά με τον πολυμορφισμό rs12970134 και την WC δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ούτε για το γονίδιο ούτε και για τον όρο αλληλεπίδρασης γονιδίου και φυσικής δραστηριότητας.

| <b>Πίνακας 9: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 με την WC και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα</b> |               |                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Μεταβλητές</b>                                                                                                                                                 | <b>Beta</b>   | <b>p-value</b>   |
| <b>Constant WC</b>                                                                                                                                                | <b>87,239</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Φύλο</b>                                                                                                                                                       | <b>-5,199</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)</b>                                                                                                                        | <b>-2,886</b> | <b>0,046</b>     |
| Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές)                                                                                                                            | 2,572         | 0,166            |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>                                                                                                                                     | <b>0,420</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                                                                                                                                                   | <b>8,895</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| AG ή AA                                                                                                                                                           | 2,784         | 0,103            |
| Φυσική δραστηριότητα                                                                                                                                              | -0,877        | 0,613            |
| AG ή AA * Φυσική δραστηριότητα                                                                                                                                    | -5,047        | 0,053            |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του SPSS 21.0 και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Σε όλες τις προαναφερθείσες περιπτώσεις, η μεταβλητή των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 θεωρήθηκε ως κατηγορική (nominal variable). Μια κατηγορική μεταβλητή, έχει μεν δύο ή περισσότερες κατηγορίες, αλλά δεν υπάρχει αυτονόητη διάταξη ανάμεσα στις κατηγορίες. Στο σύνολο των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν με αυτόν τον τρόπο, η αλληλεπίδραση των πολυμορφισμών με τη φυσική δραστηριότητα βρέθηκε στατιστικώς σημαντική, αναφορικά με το BMI. Παράλληλα, και μεμονωμένα οι πολυμορφισμοί βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί αναφορικά με το BMI. Όσον αφορά τη WC, παρόλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που τη συσχετίζουν με τον πολυμορφισμό rs12970134 του MC4R, δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Από την άλλη, μεμονωμένα η φυσική δραστηριότητα δε φάνηκε να σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με το BMI σε κανένα από τα μοντέλα. Έτσι, δοκιμάστηκε και η περίπτωση θεώρησης των μεταβλητών των πολυμορφισμών ως διατάξιμες ή διατεταγμένες (ordinal variables). Μια διατάξιμη μεταβλητή είναι παρόμοια με μια κατηγορική μεταβλητή. Η διαφορά της έγκειται στο ότι υπάρχει σαφής διάταξη των επιπέδων της μεταβλητής αυτής. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, θεωρείται ότι ο αριθμός των αλληλομόρφων κινδύνου έχει αποδεδειγμένα κάποια δόσοεξαρτώμενη επίδραση στους δείκτες παχυσαρκίας. Εν ολίγοις, θεωρείται ότι: 0 αλληλόμορφα κινδύνου < 1 αλληλόμορφο κινδύνου < 2 αλληλόμορφα κινδύνου. Βέβαια, τα ομόζυγα με αλληλόμορφα κινδύνου άτομα είναι αρκετά περιορισμένα σε αριθμό. Συνεπώς, και σε αυτή την περίπτωση ομαδοποιήθηκαν σε μία κατηγορία όσοι είχαν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου για τον εκάστοτε πολυμορφισμό. Έτσι, η παραπάνω ανίσωση αναφορικά με τις διατάξιμες μεταβλητές τροποποιείται ως εξής:

απουσία αλληλομόρφων κινδύνου < παρουσία αλληλομόρφων κινδύνου. Οι αναλύσεις που ακολουθούν πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος R. Αξίζει να σημειωθεί ότι αναλύσεις που ορίζουν τα SNPs ως διατάξιμες μεταβλητές έχουν πραγματοποιηθεί και σε άλλες μελέτες που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία (Goode et al., 2010, Nan et al., 2009).

Αφού εφαρμόστηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση με τους ίδιους συγχυτικούς παράγοντες, με τη διαφορά ότι οι μεταβλητές των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 ορίστηκαν ως διατάξιμες, βρέθηκε θετική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών και του BMI και συγχρόνως μια αρνητική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ φυσικής δραστηριότητας και BMI. Ταυτόχρονα, όταν προστέθηκε ο όρος αλληλεπίδρασης των πολυμορφισμών με τη φυσική δραστηριότητα, βρέθηκε μια αρνητική, επίσης στατιστικώς σημαντική συσχέτιση. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στους παρακάτω πίνακες.

| <b>Πίνακας 10: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση/Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα</b> |               |                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Μεταβλητές</b>                                                                                                                                                                        | <b>Beta</b>   | <b>p-value</b>   |
| <b>Constant BMI</b>                                                                                                                                                                      | <b>24,389</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                                                                                                                                                                     | 0,825         | 0,111            |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)                                                                                                                                                      | -0,667        | 0,224            |
| Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές)                                                                                                                                                   | 1,347         | 0,058            |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>                                                                                                                                                            | <b>0,147</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                                                                                                                                                                          | <b>2,803</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>GA ή GG</b>                                                                                                                                                                           | <b>0,968</b>  | <b>0,036</b>     |
| <b>Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                                              | <b>-1,081</b> | <b>0,031</b>     |
| <b>GA ή GG * Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                                    | <b>-1,482</b> | <b>0,036</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του στατιστικού προγράμματος R και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

| <b>Πίνακας 11: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα</b> |               |                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Μεταβλητές</b>                                                                                                                                                                        | <b>Beta</b>   | <b>p-value</b>   |
| <b>Constant BMI</b>                                                                                                                                                                      | <b>24,358</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                                                                                                                                                                     | 0,806         | 0,119            |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)                                                                                                                                                      | -0,680        | 0,214            |
| <b>Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές)</b>                                                                                                                                            | <b>1,394</b>  | <b>0,049</b>     |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>                                                                                                                                                            | <b>0,148</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                                                                                                                                                                          | <b>2,817</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>AG ή AA</b>                                                                                                                                                                           | <b>1,099</b>  | <b>0,017</b>     |
| <b>Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                                              | <b>-1,059</b> | <b>0,034</b>     |
| <b>AG ή AA * Φυσική δραστηριότητα</b>                                                                                                                                                    | <b>-1,686</b> | <b>0,016</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του στατιστικού προγράμματος R και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

Αξίζει να σημειωθεί ότι στα παραπάνω μοντέλα δεν έχει ενσωματωθεί η ηλικία μέσα στους συγχυτικούς παράγοντες. Εφόσον ληφθεί υπόψη ως συνεχής μεταβλητή και ενσωματωθεί στα μοντέλα, δεν παρατηρείται κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση του γονοτύπου με το BMI. Αρχικά, αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι συσχετίσεις των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με δείκτες παχυσαρκίας εξασθενούν με την αύξηση της ηλικίας, όπως αναφέρεται σε κάποιες μελέτες (Hardy et al., 2009). Δεδομένου ότι η μελέτη NAFLD περιλαμβάνει ένα ηλικιακό εύρος 18-65 ετών, με μέσο όρο τα 45 έτη, είναι προφανές ότι πολυάριθμοι παράγοντες συσσωρεύονται, εν τω χρόνω, ώστε να συσκοτίσουν τη μεμονωμένη επίδραση του γονοτύπου στο BMI. Κάτι τέτοιο, μπορεί να αποτελέσει έναυσμα, για μελλοντικές έρευνες σε πληθυσμούς παιδιών και εφήβων, στους οποίους δεν έχουν επιδράσει σε τόσο μεγάλο βαθμό περιβαλλοντικοί και ψυχοκοινωνικοί παράγοντες και έτσι φαίνεται πιο ξεκάθαρα ο ρόλος των γονιδίων.

Στη συνέχεια, η ηλικία ως συνεχής μεταβλητή χωρίστηκε σε τεταρτημόρια και έγινε ομαδοποίηση της σε 2 κατηγορίες. Η 1<sup>η</sup> περιλαμβάνει τα άτομα που βρίσκονται έως και το 3<sup>ο</sup> τεταρτημόριο (δηλαδή τα άτομα με ηλικία <55 ετών) και η 2<sup>η</sup> τα άτομα του 4<sup>ου</sup> τεταρτημορίου (δηλαδή τα άτομα με ηλικία >55 ετών). Η ηλικία των 55 ετών επιλέχθηκε ως μια ηλικία αναφοράς του μεσήλικου πληθυσμού, η οποία προσεγγίζει την εμμηνόπαυση στη γυναίκες και διάφορα προβλήματα υγείας, γενικώς στο σύνολο του πληθυσμού, που μπορεί να παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας. Με την ίδια διαδικασία, θεωρώντας τις μεταβλητές των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 ως διατάξιμες και εκτελώντας, εκ νέου, πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα. Για τον πολυμορφισμό rs17782313, ο όρος της φυσικής δραστηριότητας και η αλληλεπίδραση του γονοτύπου με τη φυσική δραστηριότητα αναφορικά με το BMI, παρέμειναν στατιστικά σημαντικοί, ενώ δεν εντοπίστηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση του BMI με τον γονότυπο ως μεμονωμένο όρο. Από την άλλη, για τον πολυμορφισμό rs12970134, βρέθηκε στατιστικά σημαντική τόσο η συσχέτιση του πολυμορφισμού και της φυσικής δραστηριότητας μεμονωμένα με το BMI όσο και ο όρος αλληλεπίδρασης φυσικής δραστηριότητας και γονοτύπου με το BMI. Φαίνεται και παρακάτω ότι οι συντελεστές beta, δεν αλλάζουν ιδιαίτερα συγκριτικά με τα μοντέλα που δεν περιλάμβαναν την ηλικία ως συγχυτικό παράγοντα. Έτσι, βάσει αυτού και δεδομένου ότι, η ενσωμάτωσή της ηλικίας στα μοντέλα ως δίτιμη μεταβλητή δεν είναι και ο πιο συνήθης τρόπος, τελικώς θα ληφθούν υπόψη τα μοντέλα που δεν εισάγει τη μεταβλητή αυτή. Παρακάτω, φαίνονται τα αποτελέσματα, όπως προέκυψαν αφότου ενσωματώθηκε η μεταβλητή «ηλικία».

**Πίνακας 12: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση-Συσχέτιση πολυμορφισμού rs17782313 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα (ενσωμάτωση μεταβλητής «ηλικία»)**

| Μεταβλητές                             | Beta          | p-value          |
|----------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Constant BMI</b>                    | <b>24,416</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                   | 0,528         | 0,319            |
| <b>Ηλικία (&gt;55 ετών)</b>            | <b>1,332</b>  | <b>0,023</b>     |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)    | -0,819        | 0,136            |
| Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές) | 1,140         | 0,110            |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>          | <b>0,142</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                        | <b>2,549</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| GA ή GG                                | 0,792         | 0,088            |
| <b>Φυσική δραστηριότητα</b>            | <b>-1,019</b> | <b>0,041</b>     |
| <b>GA ή GG * Φυσική δραστηριότητα</b>  | <b>-2,113</b> | <b>0,034</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του στατιστικού προγράμματος R και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

**Πίνακας 13: Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση/Συσχέτιση πολυμορφισμού rs12970134 (διατάξιμη μεταβλητή) με το BMI και μελέτη φυσικής δραστηριότητας ως πιθανό τροποποιητικό παράγοντα (ενσωμάτωση μεταβλητής «ηλικία»)**

| Μεταβλητές                             | Beta          | p-value          |
|----------------------------------------|---------------|------------------|
| <b>Constant BMI</b>                    | <b>24,391</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| Φύλο                                   | 0,514         | 0,330            |
| <b>Ηλικία (&gt;55 ετών)</b>            | <b>1,331</b>  | <b>0,023</b>     |
| Status 2 καπνίσματος (μη καπνιστές)    | -0,827        | 0,131            |
| Status 3 καπνίσματος (πρώην καπνιστές) | 1,202         | 0,089            |
| <b>Ινσουλίνη ορού (mg/dl)</b>          | <b>0,143</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Υπέρταση</b>                        | <b>2,554</b>  | <b>&lt;0,001</b> |
| GA ή GG                                | 0,928         | 0,045            |
| <b>Φυσική δραστηριότητα</b>            | <b>-1,002</b> | <b>0,043</b>     |
| <b>GA ή GG * Φυσική δραστηριότητα</b>  | <b>-1,712</b> | <b>0,014</b>     |

Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε μέσω του στατιστικού προγράμματος R και ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0,05$ .

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά, παρουσιάζονται ορισμένα δημογραφικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος. Ο συνολικός αριθμός των ατόμων που μελετήθηκαν ήταν 327. Από αυτά τα περισσότερα ήταν γυναίκες και συγκεκριμένα το 58,72%. Με βάση το BMI τους, τα άτομα ομαδοποιήθηκαν σε 3 κατηγορίες σωματικού βάρους. Το 34,86% αποτελούσαν οι νορμοβαρείς, το 41,28% οι υπέρβαροι και το 23,85% οι παχύσαρκοι εθελοντές. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται ο επιπολασμός των αλληλομορφών κινδύνου, αναφορικά με τους πολυμορφισμούς rs17782313 και rs12970134 του MC4R γονιδίου, στο σύνολο του δείγματος. Για τον rs17782313 πολυμορφισμό, η συχνότητα των αλληλομορφών κινδύνου βρέθηκε 41,59%, ενώ για τον πολυμορφισμό rs12970134 βρέθηκε 43,43%.

Έπειτα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος T-test και Mann-Whitney U-test (ανάλογα με την κανονικότητα κατανομής της εκάστοτε μεταβλητής) για δύο ανεξάρτητα δείγματα, με σκοπό να ελεγχθεί εάν διαφέρουν οι μέσοι όροι των διάφορων δεικτών παχυσαρκίας, ανάλογα με την παρουσία αλληλομορφών κινδύνου. Παρόλα αυτά, σύμφωνα με τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της ανάλυσης, ο rs17782313 κι ο rs12970134 του MC4R δε φάνηκε να σχετίζονται στατιστικώς σημαντικά με τους δείκτες παχυσαρκίας (σωματικό βάρος, BMI, WC, WHR, σωματικό λίπος, HC), αλλά ούτε και με το ύψος των εθελοντών.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney U test, για τη μεταβλητή της φυσικής δραστηριότητας PAL, βάσει του οποίου συγκρίθηκαν οι μέσοι όροι του PAL στις 2 υποομάδες αθλούμενων και μη. Όπως προαναφέρθηκε, το κατά πόσο κάποιος αθλούνταν ή όχι, απαντούνταν μέσω ειδική ερώτησης ενσωματωμένης στο HPAQ ερωτηματολόγιο. Όπως διαπιστώθηκε, η φυσική δραστηριότητα των ατόμων αντικατοπτρίζεται από την δίτιμη μεταβλητή της άθλησης ή μη άθλησης, που λειτουργεί ως ένας ικανός δείκτης των επιπέδων PAL.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση με σκοπό να διερευνηθεί η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 του MC4R και του BMI, ως δείκτη παχυσαρκίας. Ως τροποποιητικός παράγοντας στη συσχέτιση αυτή προστέθηκε η φυσική δραστηριότητα, ως δίτιμη μεταβλητή που διακρίνει μεταξύ αθλούμενων ή μη. Συγχυτικοί παράγοντες, πέραν της φυσικής δραστηριότητας, θεωρήθηκαν το φύλο, το κάπνισμα, τα επίπεδα ινσουλίνης ορού και η υπέρταση. Το κάπνισμα πιθανότατα συνδέεται με το σωματικό βάρος. Η νικοτίνη, ως χολινεργικός αγωνιστής, διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και μπορεί να επιδράσει στην κατανάλωση τροφής, μέσω ενεργοποίησης ορεξιογόνων οδών. Σε μελέτες σε πειραματόζωα, η χορήγηση νικοτίνης οδήγησε σε μειωμένη αποθήκευση ενέργειας και σε

αυξημένο μεταβολικό ρυθμό (Dare, Mackay and Pell, 2015). Ταυτόχρονα, η ινσουλίνη ορού, συνδέεται με τον άξονα ινσουλίνης/μελανοκορτίνης. Αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης ορού αντανakλούν μια ινσουλινοαντίσταση, η οποία ευνοεί τη δράση ορεξιογόνων μονοπατιών και εμποδίζει αυτή των ανορεξιογόνων. Ως αποτέλεσμα οδηγεί σε αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη και συνεπακόλουθα σε ανάπτυξη παχυσαρκίας. Τέλος, η υπέρταση σχετίζεται αμφίδρομα με την παχυσαρκία. Από τη μία, η παχυσαρκία οδηγεί σε υπέρταση αφού επηρεάζει τη φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Πρώτον, τα νεφρά συμπιέζονται λόγω παρουσίας λίπους μέσα και γύρω από αυτά, με αποτέλεσμα να δυσλειτουργούν και να επαναρροφούν μεγαλύτερη ποσότητα νατρίου. Επίσης, λόγω παχυσαρκίας, ενεργοποιείται το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (RAAS), μια κατάσταση που αυξάνει την επαναρρόφηση νατρίου, οδηγώντας σε αυξημένη αρτηριακή πίεση. Τέλος, ο αυξημένος λιπώδης ιστός που χαρακτηρίζει την παχυσαρκία οδηγεί σε αυξημένη έκκριση λεπτίνης, διέγερση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, αυξημένη επαναρρόφηση νατρίου και συνεπώς, αυξημένη αρτηριακή πίεση (Hall et al., 2015). Μελετώντας το μονοπάτι παχυσαρκίας-υπέρτασης αντίστροφα, μία αυξημένη συγκέντρωση αγγειοτενσίνης II, που συνδέεται με την αυξημένη αρτηριακή πίεση, στο λιπώδη ιστό, διευκολύνει την αποθήκευση ενέργειας (Bruce and de Kloet, 2017). Ορισμένοι από τους συγχυτικούς παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν, μπορεί μεν να μην αποτελούν τις συνήθεις μεταβλητές που ενσωματώνονται ως ανεξάρτητες μεταβλητές σε ανάλογα μοντέλα, ωστόσο, ερμηνεύουν μέσω βιολογικών οδών τη συσχέτισή τους με το φαινότυπο της παχυσαρκίας.

Αναφορικά με τον πολυμορφισμό rs17782313, βρέθηκε ότι τα άτομα που έχουν έστω και 1 αλληλόμορφο κινδύνου, δηλαδή έχουν γονότυπο GA ή GG, έχουν κατά μέσο όρο υψηλότερο BMI κατά 1,368 kg/m<sup>2</sup> (p=0,036). Με την προσθήκη του όρου αλληλεπίδρασης γονιδίου και φυσικής δραστηριότητας, φαίνεται ότι όσοι αθλούνται και φέρουν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου, έχουν κατά 2,096 kg/m<sup>2</sup> μικρότερο BMI σε σχέση με όσους έχουν αλληλόμορφο κινδύνου και δεν αθλούνται (p=0,036). Από την άλλη, για τον πολυμορφισμό rs12970134, βρέθηκε ότι τα άτομα με αλληλόμορφο κινδύνου, γονοτύπου AG ή AA, έχουν κατά μέσο όρο υψηλότερο BMI κατά 1,554 kg/m<sup>2</sup> (p=0,017). Συνδυάζοντας γονότυπο και φυσική δραστηριότητα, φαίνεται ότι όσοι αθλούνται και φέρουν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου, έχουν κατά 2,384 kg/m<sup>2</sup> μικρότερο BMI σε σχέση με όσους έχουν αλληλόμορφο κινδύνου και δεν αθλούνται (p=0,016). Αξίζει να σημειωθεί ότι, παρόλο που στη βιβλιογραφία αναφέρεται συσχέτιση του rs12970134 με την WC, στις συγκεκριμένες αναλύσεις δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ούτε για το γονίδιο (p=0,103) ούτε και για τον όρο αλληλεπίδρασης γονιδίου και φυσικής δραστηριότητας (p=0,053).

Αφού εφαρμόστηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση με τους ίδιους συγχυτικούς παράγοντες, με τη διαφορά ότι οι μεταβλητές των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 ορίστηκαν ως

διατάξιμες, βρέθηκε θετική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών και του BMI και συγχρόνως μια αρνητική, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ φυσικής δραστηριότητας και BMI. Συγκεκριμένα, για τον πολυμορφισμό rs17782313, βρέθηκε ότι τα άτομα που έχουν έστω και 1 αλληλόμορφο κινδύνου, έχουν κατά μέσο όρο υψηλότερο BMI κατά  $0,968 \text{ kg/m}^2$  ( $p=0,036$ ). Ανεξαρτήτως γονοτύπου και των υπόλοιπων συγχυτικών παραγόντων, όσοι αθλούνται βρέθηκε ότι έχουν κατά  $1,081 \text{ kg/m}^2$  χαμηλότερο BMI ( $p=0,031$ ). Με την προσθήκη του όρου αλληλεπίδρασης γονιδίου και φυσικής δραστηριότητας, φαίνεται ότι όσοι αθλούνται και φέρουν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου, έχουν κατά  $1,482 \text{ kg/m}^2$  μικρότερο BMI σε σχέση με όσους έχουν αλληλόμορφο κινδύνου και δεν αθλούνται ( $p=0,036$ ).

Για τον πολυμορφισμό rs12970134, βρέθηκε ότι τα άτομα με αλληλόμορφα κινδύνου, έχουν κατά μέσο όρο υψηλότερο BMI κατά  $1,099 \text{ kg/m}^2$  ( $p=0,017$ ). Ανεξαρτήτως γονοτύπου και των υπόλοιπων συγχυτικών παραγόντων, όσοι αθλούνται βρέθηκε ότι έχουν κατά  $1,059 \text{ kg/m}^2$  χαμηλότερο BMI ( $p=0,034$ ). Τέλος, όσοι αθλούνται και φέρουν έστω 1 αλληλόμορφο κινδύνου, έχουν κατά  $1,686 \text{ kg/m}^2$  μικρότερο BMI σε σχέση με όσους έχουν αλληλόμορφο κινδύνου και δεν αθλούνται ( $p=0,016$ ).

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα άτομα που δεν είχαν κάποιο αλληλόμορφο κινδύνου, είτε του ενός είτε του άλλου πολυμορφισμού, δεν είχαν κάποια σημαντική αλλαγή στο BMI τους μέσω της φυσικής δραστηριότητας. Αυτό, ενδεχομένως συνέβη λόγω αυξημένης ενεργειακής πρόσληψης μέσω της δίαιτας, κάτι που δεν συνεκτιμήθηκε στα παραπάνω μοντέλα, εξ αιτίας των πολλαπλών ακραίων τιμών που προέκυψαν από το αυτοσυμπληρούμενο FFQ. Επιπλέον, το BMI αυτών των ατόμων είναι ήδη χαμηλότερο, σε σύγκριση με τα άτομα που έχουν πολυμορφικά, νουκλεοτίδια και συνεπώς δεν επιδέχεται κάποια έντονη μείωση μόνο από τη φυσική δραστηριότητα.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, είναι εξαιρετικά σημαντική η ενσωμάτωση της φυσικής δραστηριότητας στο σύγχρονο τρόπο ζωής. Η άσκηση, σε συνδυασμό με μία κατάλληλη διατροφή, μπορεί εύστοχα να θεωρηθεί ως «όπλο» για το κάθε άτομο που έρχεται αντιμέτωπο με το υπερβάλλον σωματικό βάρος και τις επιπλοκές που το συνοδεύουν. Στην παρούσα μελέτη επαληθεύτηκε η συσχέτιση των πολυμορφισμών rs17782313 και rs12970134 του MC4R με το BMI, σταθμίζοντας ως προς τη φυσική δραστηριότητα, το φύλο, το κάπνισμα, τα επίπεδα ινσουλίνης ορού και την υπέρταση. Μετά την προσθήκη του όρου αλληλεπίδρασης του γονοτύπου με τη φυσική δραστηριότητα, φάνηκε ότι χάρη στην άθληση μπορεί να περιοριστεί η γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία. Συνεπώς, ιδιαίτερα για τα άτομα που τα γονίδια του δείχνουν μια ροπή προς την παχυσαρκία, αφού

η όρεξη τους αυξημένη, η φυσική δραστηριότητα κρίνεται ακόμη πιο σημαντική και απαραίτητη. Τελικώς, η γενετική προδιάθεση της παχυσαρκίας δεν αποτελεί μονόδρομο ούτε αιτία απογοήτευσης και παραίτησης του ατόμου. Χάρη στην άσκηση η γονοτυπική επίδραση εξασθενεί και συχνά εξαλείφεται και αυτό πρέπει να αποτελέσει την κινητήρια δύναμη για τα άτομα αυτά.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abdelaal, M., le Roux, C. and Docherty, N. (2017). Morbidity and mortality associated with obesity. *Annals of Translational Medicine*, 5(7), pp.161-161.
2. Albuquerque, D., Nóbrega, C., Manco, L. and Padez, C. (2017). The contribution of genetics and environment to obesity. *British Medical Bulletin*, 123(1), pp.159-173.
3. Arora, S. and Anubhuti (2006). Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity – A review. *Neuropeptides*, 40(6), pp.375-401.
4. Barazzoni, R., Gortan Cappellari, G., Ragni, M. and Nisoli, E. (2018). Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, 23(2), pp.149-157.
5. Belfort-DeAguiar, R. and Seo, D. (2018). Food Cues and Obesity: Overpowering Hormones and Energy Balance Regulation. *Current Obesity Reports*, 7(2), pp.122-129.
6. Berthoud, H. and Klein, S. (2017). Advances in Obesity: Causes, Consequences, and Therapy. *Gastroenterology*, 152(7), pp.1635-1637.
7. Bjørnland, T., Langaas, M., Grill, V. and Mostad, I. (2017). Assessing gene-environment interaction effects of FTO, MC4R and lifestyle factors on obesity using an extreme phenotype sampling design: Results from the HUNT study. *PLOS ONE*, 12(4), p.e0175071.
8. Bradnová, O., Vejražková, D., Vaňková, M., Lukášová, P., Včelák, J., Stanická, S., Dvořáková, K., Bendlová, B. (2015). Metabolic and hormonal consequences of the "obesity risk" MC4R variant (rs12970134) in Czech women. *Physiological Research*. pp. 187-95.
9. Bray, G., Heisel, W., Afshin, A., Jensen, M., Dietz, W., Long, M., Kushner, R., Daniels, S., Wadden, T., Tsai, A., Hu, F., Jakicic, J., Ryan, D., Wolfe, B. and Inge, T. (2018). The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews*, 39(2), pp.79-132.
10. Bruce, E. and de Kloet, A. (2017). The intricacies of the renin-angiotensin-system in metabolic regulation. *Physiology & Behavior*, 178, pp.157-165.
11. Caspersen, C., Powell, K., Christenson, G. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, pp. 100(2): 126–131
12. Celis-Morales, C., Marsaux, C., Livingstone, K., Navas-Carretero, S., San-Cristobal, R., O'donovan, C., Forster, H., Woolhead, C., Fallaize, R., Macready, A., Kolossa, S., Hallmann, J., Tsigoti, L., Lambrinou, C., Moschonis, G., Godlewska, M., Surwiłło, A., Grimaldi, K., Bouwman, J., Manios, Y., Traczyk, I., Drewnowski, C., Parnell, L., Daniel, H., Gibney, E., Brennan,

- L., Walsh, M., Gibney, M., Lovegrove, J., Martinez, J., Saris, W. and Mathers, J. (2016). Physical activity attenuates the effect of the FTO genotype on obesity traits in European adults: The Food4Me study. *Obesity*, 24(4), pp.962-969.
13. Chambers, J., Elliott, P., Zabaneh, D., Zhang, W., Li, Y., Froguel, P., Balding, D., Scott, J. and Kooner, J. (2008). Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nature Genetics*, 40(6), pp.716-718.
  14. Collaboration, N.C.D.F.R., Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. (2016). *The Lancet*, 387(10026), pp.1377-1396.
  15. Corella, D., Ortega-Azorín, C., Sorlí, J., Covas, M., Carrasco, P., Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M., Arós, F., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Lamuela-Raventos, R., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Pintó, X., Ros, E., Martí, A., Coltell, O., Ordovás, J. and Estruch, R. (2012). Statistical and Biological Gene-Lifestyle Interactions of MC4R and FTO with Diet and Physical Activity on Obesity: New Effects on Alcohol Consumption. *PLoS ONE*, 7(12), p.e52344.
  16. Crujeiras, A., Carreira, M., Cabia, B., Andrade, S., Amil, M. and Casanueva, F. (2015). Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Life Sciences*, 140, pp.57-63.
  17. Dare, S., Mackay, D. and Pell, J. (2015). Relationship between Smoking and Obesity: A Cross-Sectional Study of 499,504 Middle-Aged Adults in the UK General Population. *PLOS ONE*, 10(4), p.e0123579.
  18. FAO/WHO/UNU Expert Consultation. (2001). Human energy requirements. *Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation*. Available at: <http://www.fao.org/docrep/007/y5686e/y5686e07.htm#bm07.3>
  19. Fock, K. and Khoo, J. (2013). Diet and exercise in management of obesity and overweight. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28, pp.59-63.
  20. Fosbøl, M. and Zerahn, B. (2014). Contemporary methods of body composition measurement. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 35(2), pp.81-97.
  21. Frayling, T.M., Timpson, N.J., Weedon, M.N., Zeggini, E., Freathy, R.M., Lindgren, C.M., Perry, J.R., Elliott, K.S., Lango, H., Rayner, N.W., Shields, B., Harries, L.W., Barrett, J.C., Ellard, S., Groves, C.J., Knight, B., Patch, A.M., Ness, A.R., Ebrahim, S., Lawlor, D.A., Ring, S.M., Ben-Shlomo, Y., Jarvelin, M.R., Sovio, U., Bennett, A.J., Melzer, D., Ferrucci, L., Loos, R.J., Barroso, I., Wareham, N.J., Karpe, F., Owen, K.R., Cardon, L.R., Walker, M., Hitman, G.A., Palmer, C.N., Doney, A.S., Morris, A.D., Smith, G.D., Hattersley, A.T., McCarthy, M.I. (2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, pp. 316(5826):889-94.

22. Gallagher, D., Heymsfield, S., Heo, M., Jebb, S., Murgatroyd, P. and Sakamoto, Y. (2000). Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(3), pp.694-701.
23. Goode, E., Maurer, M., Sellers, T., Phelan, C., Kalli, K., Fridley, B., Vierkant, R., Armasu, S., White, K., Keeney, G., Cliby, W., Rider, D., Kelemen, L., Jones, M., Peethambaram, P., Lancaster, J., Olson, J., Schildkraut, J., Cunningham, J. and Hartmann, L. (2010). Inherited Determinants of Ovarian Cancer Survival. *Clinical Cancer Research*, 16(3), pp.995-1007.
24. Grant, S., Bradfield, J., Zhang, H., Wang, K., Kim, C., Annaiah, K., Santa, E., Glessner, J., Thomas, K., Garriss, M., Frackelton, E., Otieno, F., Shaner, J., Smith, R., Imielinski, M., Chiavacci, R., Li, M., Berkowitz, R. and Hakonarson, H. (2009). Investigation of the Locus Near MC4R With Childhood Obesity in Americans of European and African Ancestry. *Obesity*.
25. Hall, J., do Carmo, J., da Silva, A., Wang, Z. and Hall, M. (2015). Obesity-Induced Hypertension: Interaction of Neurohumoral and Renal Mechanisms. *Circulation Research*, 116(6), pp.991-1006.
26. Hardy, R., Wills, A., Wong, A., Elks, C., Wareham, N., Loos, R., Kuh, D. and Ong, K. (2009). Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Human Molecular Genetics*, 19(3), pp.545-552.
27. Hill, J. (2006). Understanding and Addressing the Epidemic of Obesity: An Energy Balance Perspective. *Endocrine Reviews*, 27(7), pp.750-761.
28. Hinney, A., Vogel, C. and Hebebrand, J. (2010). From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 19(3), pp.297-310.
29. Hruby, A. and Hu, F. (2014). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*, 33(7), pp.673-689.
30. Huvenne, H., Dubern, B., Clément, K. and Poitou, C. (2016). Rare Genetic Forms of Obesity: Clinical Approach and Current Treatments in 2016. *Obesity Facts*, 9(3), pp.158-173.
31. Kelly, T., Yang, W., Chen, C., Reynolds, K. and He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity*, 32(9), pp.1431-1437.
32. Kirac, D., Kasimay Cakir, O., Avcilar, T., Deyneli, O., Kurtel, H., Yazici, D., Kaspar, EC, Celik, N., Guney, AI. (2016). Effects of MC4R, FTO, and NMB gene variants to obesity, physical activity, and eating behavior phenotypes. *UBMB Life*, pp. 68(10):806-16.
33. Klok, M., Jakobsdottir, S. and Drent, M. (2007). The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obesity Reviews*, 8(1), pp.21-34.

34. Kruschitz, R., Wallner-Liebmann, S., Hamlin, M., Moser, M., Ludvik, B., Schnedl, W. and Tafeit, E. (2013). Detecting Body Fat–A Weighty Problem BMI versus Subcutaneous Fat Patterns in Athletes and Non-Athletes. *PLoS ONE*, 8(8), p.e72002.
35. Kyle, U. (2004). Bioelectrical impedance analysis?part I: review of principles and methods. *Clinical Nutrition*, 23(5), pp.1226-1243.
36. Lee, H., Ash, G., Angelopoulos, T., Gordon, P., Moyna, N., Visich, P., Zoeller, R., Gordish-Dressman, H., Thompson, P., Hoffman, E., Devaney, J. and Pescatello, L. (2015). Obesity-related Genetic Variants And Their Associations With Physical Activity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 47, p.79.
37. Leońska-Duniec, A., Jastrzębski, Z., Zarębska, A., Smółka, W. and Ciężczyk, P. (2017). Impact of the Polymorphism Near MC4R (rs17782313) on Obesity- and Metabolic-Related Traits in Women Participating in an Aerobic Training Program. *Journal of Human Kinetics*, 58(1), pp.111-119.
38. Loos, R.J., Lindgren, C.M., Li S., Wheeler, E., Zhao, J.H., Prokopenko, I., Inouye, M., Freathy, R.M., Attwood, A.P., Beckmann, J.S., Berndt, S.I.; Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial, Jacobs, K.B., Chanock, S.J., Hayes, R.B., Bergmann, S., Bennett, A.J., Bingham, S.A., Bochud, M., Brown, M., Cauchi, S., Connell, J.M., Cooper, C., Smith, G.D., Day, I., Dina, C., De S., Dermitzakis, E.T., Doney, A.S., Elliott, K.S., Elliott, P., Evans, D.M., Sadaf Farooqi, I., Froguel, P., Ghorri, J., Groves, C.J., Gwilliam, R., Hadley, D., Hall, A.S., Hattersley, A.T., Hebebrand, J., Heid, I.M.; KORA, Lamina, C., Gieger, C., Illig, T., Meitinger, T., Wichmann, H.E., Herrera, B., Hinney, A., Hunt, S.E., Jarvelin, M.R., Johnson, T., Jolley, J.D., Karpe F., Keniry A., Khaw K.T., Luben R.N., Mangino M., Marchini, J., McArdle, W.L., McGinnis, R., Meyre, D., Munroe, P.B., Morris, A.D., Ness, A.R., Neville, M.J., Nica, A.C., Ong, K.K., O'Rahilly, S., Owen, K.R., Palmer, C.N., Papadakis, K., Potter, S., Pouta, A., Qi, L.; Nurses' Health Study, Randall J.C., Rayner N.W., Ring S.M., Sandhu M.S., Scherag A., Sims, M.A., Song, K., Soranzo, N., Speliotes, E.K.; Diabetes Genetics Initiative, Syddall, H.E., Teichmann, S.A., Timpson, N.J., Tobias, JH, Uda, M; SardiNIA Study, Vogel, CI, Wallace, C, Waterworth, DM, Weedon, M.N.; Wellcome Trust Case Control Consortium, Willer, C.J.; FUSION, Wraight, Yuan, X., Zeggini, E., Hirschhorn, J.N., Strachan, D.P., Ouwehand, W.H., Caulfield, M.J., Samani, N.J., Frayling, T.M., Vollenweider, P., Waeber, G., Mooser, V., Deloukas, P., McCarthy, M.I., Wareham, N.J., Barroso, I., Jacobs, K.B., Chanock, S.J., Hayes, R.B., Lamina, C., Gieger, C., Illig, T., Meitinger, T., Wichmann, H.E., Kraft, P., Hankinson, S.E., Hunter, D.J., Hu, F.B., Lyon, H.N., Voight, B.F., Ridderstrale, M., Groop, L., Scheet, P., Sanna, S., Abecasis, G.R., Albai, G., Nagaraja, R., Schlessinger, D., Jackson, A.U., Tuomilehto, J., Collins, F.S., Boehnke, M., Mohlke, K.L. (2008). Common

- variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nature Genetics*, pp. 40(6):768-75
39. Loos, R., Rankinen, T., Tremblay, A., Pérusse, L., Chagnon, Y. and Bouchard, C. (2004). Melanocortin-4 receptor gene and physical activity in the Québec Family Study. *International Journal of Obesity*, 29(4), pp.420-428.
  40. Loos, R. and Yeo, G. (2013). The bigger picture of FTO—the first GWAS-identified obesity gene. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(1), pp.51-61.
  41. Marti, A., Martinez-González, M. and Martinez, J. (2008). Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67(01), pp.1-8.
  42. Mialich, M., Sicchieri, J., Jordao Junior, A. (2014). Analysis of Body Composition: A Critical Review of the Use of Bioelectrical Impedance Analysis. *International Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 2, No. 1, 1-10.
  43. Misra, A. and Khurana, L. (2008). Obesity and the Metabolic Syndrome in Developing Countries. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(11\_supplement\_1), pp.s9-s30.
  44. Nan, H., Qureshi, A., Hunter, D. and Han, J. (2009). Genetic variants in FGFR2 and FGFR4 genes and skin cancer risk in the Nurses' Health Study. *BMC Cancer*, 9(1).
  45. Panagiotakos, D., Pitsavos, C., Chrysoshoou, C., Risvas, G., Kontogianni, M., Zampelas, A. and Stefanadis, C. (2004). Epidemiology of Overweight and Obesity in a Greek Adult Population: the ATTICA Study. *Obesity Research*, 12(12), pp.1914-1920.
  46. Park, S., Daily, J., Zhang, X., Jin, H., Lee, H. and Lee, Y. (2016). Interactions with the MC4R rs17782313 variant, mental stress and energy intake and the risk of obesity in Genome Epidemiology Study. *Nutrition & Metabolism*, 13(1).
  47. Potenza, M., Mechanick, J. (2009). The Metabolic Syndrome: Definition, Global Impact, and Pathophysiology. *Nutrition in Clinical Practice*, pp. 24(5):560-77.
  48. Racette, S., Deusinger, S., Deusinger R. (2003). Obesity: Overview of Prevalence, Etiology, and Treatment. *Physical Therapy*, pp. 83 (3): 276–288
  49. Razquin, C., Marti, A. and Martinez, J. (2010). Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPAR $\gamma$ . Approaches for personalized nutrition. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(1), pp.136-149.
  50. Rubenstein, A. (2005). Obesity: A Modern Epidemic. *Transactions of the American Climatological Association*, pp. 116: 103–113.
  51. Ryan, D. and Kahan, S. (2018). Guideline Recommendations for Obesity Management. *Medical Clinics of North America*, 102(1), pp.49-63.

52. Shook, R. (2016). Obesity and energy balance: What is the role of physical activity?. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 11(6), pp.511-520.
53. Song, J., Song, Q., Wang, S., Ma, J. and Wang, H. (2017). Physical Activity and Sedentary Behaviors Modify the Association between Melanocortin 4 Receptor Gene Variant and Obesity in Chinese Children and Adolescents. *PLOS ONE*, 12(1), p.e0170062.
54. Srivastava, A., Mittal, B., Prakash, J. and Srivastava, N. (2014). Evaluation of MC4R [RS17782313, RS17700633], AGRP [RS3412352] and POMC [RS1042571] polymorphisms with obesity in Northern India. *Molecular Cytogenetics*, 7(Suppl 1), p.P104.
55. Thorleifsson, G., Walters, G., Gudbjartsson, D., Steinthorsdottir, V., Sulem, P., Helgadóttir, A., Styrkarsdóttir, U., Gretarsdóttir, S., Thorlacius, S., Jonsdóttir, I., Jonsdóttir, T., Olafsdóttir, E., Olafsdóttir, G., Jonsson, T., Jonsson, F., Borch-Johnsen, K., Hansen, T., Andersen, G., Jorgensen, T., Lauritzen, T., Aben, K., Verbeek, A., Roeleveld, N., Kampman, E., Yanek, L., Becker, L., Tryggvadóttir, L., Rafnar, T., Becker, D., Gulcher, J., Kiemeny, L., Pedersen, O., Kong, A., Thorsteinsdóttir, U. and Stefansson, K. (2008). Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nature Genetics*, 41(1), pp.18-24.
56. Valette, M., Bellisle, F., Carette, C., Poitou, C., Dubern, B., Paradis, G., Hercberg, S., Muzard, L., Clément, K. and Czernichow, S. (2012). Eating behaviour in obese patients with melanocortin-4 receptor mutations: a literature review. *International Journal of Obesity*, 37(8), pp.1027-1035.
57. Wing, R., Lang, W., Wadden, T., Safford, M., Knowler, W., Bertoni, A., Hill, J., Brancati, F., Peters, A. and Wagenknecht, L. (2011). Benefits of Modest Weight Loss in Improving Cardiovascular Risk Factors in Overweight and Obese Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 34(7), pp.1481-1486.
58. WHO. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. *WHO Technical Report Series 894*.
59. WHO (2011). Waist circumference and waist–hip ratio. *Report of a WHO expert consultation*.
60. WHO (2018). *Obesity and overweight*. Available at: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
61. Xi, B., Chandak, G., Shen, Y., Wang, Q. and Zhou, D. (2012). Association between Common Polymorphism near the MC4R Gene and Obesity Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 7(9), p.e45731.
62. Xi, B., Wang, C., Wu, L., Zhang, M., Shen, Y., Zhao, X., Wang, X. and Mi, J. (2011). Influence of Physical Inactivity on Associations Between Single Nucleotide Polymorphisms and Genetic

- Predisposition to Childhood Obesity. *American Journal of Epidemiology*, 173(11), pp.1256-1262.
63. Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D. and Toplak, H. (2015). European Guidelines for Obesity Management in Adults. *Obesity Facts*, 8(6), pp.402-424.
64. Μανιός Γ. (2006). *Διατροφική Αξιολόγηση: Διαιτολογικό & Ιατρικό Ιστορικό, Σωματομετρικοί, Κλινικοί & Βιοχημικοί Δείκτες*, Broken Hill Publishers LTD: Nicosia