



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ:

Συλλογή και αξιολόγηση περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου νοσηρότητας σε πληθυσμό Πομάκων. Πρωτόκολλο μελέτης HELIC.



Τριμελής επιτροπή:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Γ. ΔΕΔΟΥΣΗΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου

ΜΑΤΑΛΑ ΑΝΤΩΝΙΑ-ΛΗΔΑ

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ανθρωπολογίας της Διατροφής

ΚΑΛΟΓΕΡΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

Επικουρος Καθηγητής Χημείας Τροφίμων και Περιβάλλοντος

Νταουτίδου Κυριακή

ΑΜ. 4421010

Αθήνα Ιούνιος 2012

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου Γ. Δεδούση για την εμπιστοσύνη που έδειξε στην οργάνωση και υλοποίηση του ερευνητικού προγράμματος HELIC στα Πομακοχώρια, αλλά και για όλη την καθοδήγηση που μου έδωσε καθόλα τα 2 χρόνια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Επίσης, ένα ευχαριστώ στην Ελευθερία Ζεγγίνη, της οποίας η επιβράβευση και η βοήθεια μου έδωσε ενέργεια να συνεχίσω παρά τις δυσκολίες που αντιμετώπισα κατά τη συλλογή του δείγματος της μελέτης.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα άτομα που συμμετείχαν στη δειγματοληψία στα χωριά της Ορεινής Ροδόπης, Αθανασιάδη Αντώνη, Φερήτ Ογλού Πουνάρ, Καλδαρίδου Κική, Σελήμ Νιλντέν και Σούλογλου Νεσέ, των οποίων η συμβολή ήταν ανεκτίμητη. Τέλος, σημαντική ήταν βοήθεια της Καραλευθέρη Μαρίας, Διευθύντριας του Κέντρου Υγείας Εχίνου, που μας φιλοξένησε στο Κέντρο Υγείας Εχίνου.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω την υποψήφια Διδάκτορα Αλίκη-Ελένη Φαρμάκη με την οποία είχα μία εξαιρετική συνεργασία στην πραγματοποίηση της μελέτης και την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Αφιερώνω την πτυχιακή μου στους φίλους μου
που χρωμάτισαν τα φοιτητικά μου χρόνια...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
<u>Περίληψη</u>	<u>6</u>
<u>Μέρος 1° : ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ</u>	<u>8</u>
1.1. Εισαγωγή	8
1.2. Νόμος Hardy-Weinberg	8
1.3. Παράγοντες που διαφοροποιούν τις γονιδιακές συχνότητες	9
1.3.1. Μη τυχαία σύζευξη	11
1.3.2. Στρωμάτωση	11
1.3.3. Ομοιοτυπική σύζευξη	11
1.3.4. Συγγένεια εξ αίματος	12
1.4. Απομονωμένοι πληθυσμοί	13
1.4.1. Παραδείγματα γενετικά απομονωμένων πληθυσμών	13
1.4.1.1. Πληθυσμός των Amish	13
1.4.1.2. Φυλή των Afrikaner	14
1.4.1.3. Εβραϊκός πληθυσμός Ashkenazi	14
1.5. Γιατί μελετάμε Γενετικά Απομονωμένους Πληθυσμούς	15
1.6. Ανισορροπία σύνδεσης (Linkage Disequilibrium)	19
1.7. Μελέτες σε απομονωμένους πληθυσμούς	21
1.7.1. Πληθυσμός Ισλανδίας	22
1.7.2. Πληθυσμός Φιλανδίας	23
1.7.3. Άλλοι πληθυσμοί	24
1.8. Μελέτες Γενετικής Ανάλυσης Σάρωσης Γονιδιώματος (GWAS)	25
1.9. Πληθυσμός Πομάκων	27
1.9.1. Η προέλευση της λέξης «Πομάκος»	27
1.9.2. Καταγωγή των Πομάκων	28
1.9.3. Γλώσσα	29
1.9.4. Ο εξισλαμισμός των Πομάκων	29
1.10. Μελέτες στον πληθυσμό των Πομάκων	30

1.10.1. Γενετικές μελέτες	30
1.10.2. Μελέτες επιπολασμού για τον πληθυσμό των Πομάκων	31
1.10.3. Άλλες μελέτες	32
1.11. Παράγοντες Κινδύνου	37
1.11.1. Ορισμός	37
1.11.2. Κατηγοριοποίηση παραγόντων κινδύνου	37
1.11.2.1. Παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο	38
1.11.2.2. Παράγοντες κινδύνου για Υπέρταση	39
1.11.2.3. Παράγοντες κινδύνου για Σακχαρώδη διαβήτη	39
1.11.2.4. Παράγοντες κινδύνου Αγγειακού Εγκεφαλικού Επεισοδίου	40
1.11.2.5. Παράγοντες κινδύνου για Χρόνιες παθήσεις του αναπνευστικού	40
1.11.2.6. Παράγοντες κινδύνου για Ψυχικές Διαταραχές	41

Μέρος 2° : ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ **43**

Μέρος 3° : ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ **44**

3.1. Πληθυσμός και Δείγμα της Μελέτης	44
3.2. Ερευνητική ομάδα	46
3.3. Κωδικοποίηση	47
3.4. Ανθρωπομετρία	47
3.4.1. Σωματικό Βάρος	48
3.4.2. Όρθιο και Καθήμενο ύψος	48
3.4.3. Δείκτης Μάζας Σώματος	49
3.4.4. Απόσταση γονάτου από το πάτωμα	49
3.4.5. Περιφέρεια κεφαλής	50
3.4.6. Περιφέρεια καρπού	51
3.4.7. Περιφέρεια μέσου βραχίονα	51
3.4.8. Περιφέρεια μέσης	52
3.4.9. Περιφέρεια ισχίου	52
3.4.10. Μήκος δείκτη και παράμεσου	53
3.5. Μέτρηση αρτηριακής πίεσης και σφυγμού	53

3.6. Πρωτόκολλο αιμοληψίας	53
3.6.1. Απομόνωση Ορού, Πλάσματος και Λευκοκυττάρων	54
3.7. Βιοχημικές αναλύσεις	55
3.8. Απομόνωση γενετικού υλικού	56
3.8.1. Σύντομο πρωτόκολλο	56
3.9. Γενετική ανάλυση σάρωσης γονιδιώματος	57
3.10. Ερωτηματολόγιο	58
3.11. Εισαγωγή δεδομένων (Data entry)	59
<u>Μέρος 4° : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</u>	<u>60</u>
4.1. Επιβεβαίωση γενετικής ομοιογένειας	60
4.2. Φύλο και ηλικία δείγματος	61
4.3. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά δείγματος	63
4.4. Κλινικά χαρακτηριστικά δείγματος	64
4.5. Κοινωνικοοικονομικό επίπεδο δείγματος	67
<u>Μέρος 5° : ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>	<u>73</u>
5.1. Περιορισμοί	78
5.2. Μελλοντικοί στόχοι	79
<u>Μέρος 6° : ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	<u>81</u>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για πολιτικούς, θρησκευτικούς ή γεωγραφικούς λόγους, ένα υποσύνολο του πληθυσμού μπορεί να απομονωθεί φυσικά ή/και γεωγραφικά από τον υπόλοιπο πληθυσμό, δημιουργώντας μια γενετικά απομονωμένη κοινωνία. Τα ιδρυτικά μέλη μίας τέτοιας απομονωμένης κοινωνίας μπορεί τυχαία να είναι φορείς μεταλλαγμένων αλληλομόρφων για ορισμένα υπολειπόμενα χαρακτηριστικά, οπότε η συχνότητα των αλληλομόρφων στον μικρό αυτό πληθυσμό είναι πολύ υψηλότερη εάν συγκριθεί με το γενικό πληθυσμό. Ένας τέτοιος πληθυσμός είναι και ο πληθυσμός των Πομάκων, που κατοικεί στην οροσειρά της Ροδόπης στη Θράκη. Τα οφέλη της μελέτης γενετικά απομονωμένων πληθυσμών είναι πολλά, μεταξύ αυτών η ομοιογένεια των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου, το αποτέλεσμα της αρχής του ιδρυτή, το φαινόμενο της ενδογαμίας και η δυνατότητα μελέτης μεγάλων γενεαλογικών δένδρων.

Στόχος: Η μελέτη του φαινοτύπου και των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου του γενετικά απομονωμένου πληθυσμού των Πομάκων. Η «γνωριμία» με τον πληθυσμό των Πομάκων, με τη μελέτη των χαρακτηριστικών του τρόπου ζωής και της κουλτούρας τους. Η καταγραφή του πρωτοκόλλου της μελέτης HELIC στα Πομακοχώρια.

Μεθοδολογία: Στη μελέτη HELIC συμμετείχαν συνολικά 1197 ενήλικα άτομα με καταγωγή από τα χωριά της ορεινής Ροδόπης. Συλλέχθηκαν ανθρωπομετρικά δεδομένα, πληροφορίες για το ιατρικό και οικογενειακό ιστορικό, τις διατροφικές συνήθειες, τον τρόπο ζωής και το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Παράλληλα με τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων πραγματοποιήθηκε και αιμοληψία. Έγινε γενική ανάλυση αίματος και βιοχημικός έλεγχος για κάθε δείγμα καθώς επίσης απομόνωση του DNA. Για τα πρώτα 747 δείγματα έγινε αλληλούχιση DNA με την πλατφόρμα Illumina OmniExpress.

Αποτελέσματα: Μετά την αλληλούχιση των 747 δειγμάτων DNA και τη σύγκρισή τους με δείγματα του γενικού ελληνικού πληθυσμού, φάνηκαν υψηλά ποσοστά συγγένειας μεταξύ του πληθυσμού των Πομάκων. Ως αποτέλεσμα, επιβεβαιώνεται η γενετική απομόνωση του πληθυσμού. Όσον αφορά στα κλινικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος, ο επιπολασμός της υπέρτασης φάνηκε αυξημένος (23,6%), ειδικότερα στις ηλικιακές ομάδες 41-55 και >56. Οι δείκτες παχυσαρκίας (BMI και λόγος περιφέρειας μέσου προς περιφέρειας ισχίου) έδειξαν το 67,8% του δείγματος να έχει υπερβάλλον βάρος και τις γυναίκες να αντιμετωπίζουν μέτριο κίνδυνο για εμφάνιση νόσων που σχετίζονται με την κοιλιακή παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο. Στοιχεία για τον τρόπο ζωής και το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο μετά από σύγκριση των δύο φύλων φανέρωσε το χαμηλότερο εκπαιδευτικό επίπεδο των γυναικών, με πολύ μικρό ποσοστό τους να εργάζεται και την πλειοψηφία τους να παντρεύονται σε πολύ μικρή ηλικία. Όσον αφορά στις καπνιστικές συνήθειες, το 43,5% των ανδρών καπνίζει καθημερινά, έναντι του 2,8% των γυναικών. Το ποσοστό των ανδρών-μη καπνιστών είναι 26,6%, έναντι του 95,4% των γυναικών. Στοιχεία για τον αριθμό των μελών των οικογενειών, δείχνουν πως το 0,2% των εθελοντών ανήκουν σε τριμελείς οικογένειες, ενώ το 87,7% ανήκουν σε τρίτεκνες και πολύτεκνες οικογένειες.

1.1. Εισαγωγή

Το ανθρώπινο είδος περιλαμβάνει 7.016 δισεκατομμύρια άτομα [1] και υποδιαιρείται σε πολλούς διακριτούς υποπληθυσμούς, οι μεγαλύτεροι από τους οποίους ονομάζονται κοινώς φυλές. Ως φυλή ορίζεται μία μεγάλη πληθυσμιακή ομάδα, η δεξαμενή γονιδίων της οποίας διαφέρει από εκείνη των άλλων ομάδων. Υπάρχουν τρεις μείζονες φυλετικές υποδιαιρέσεις, η Καυκάσια φυλή, η Μαύρη φυλή και η Ασιατική φυλή, κάθε μία από τις οποίες αποτελείται από αναρίθμητες γενετικές διαφορετικές υποομάδες. Παρόλο που τα χρωμοσώματα και οι γενετικοί τόποι είναι ταυτόσημα σε όλα τα μέλη του ανθρώπινου είδους, οι συχνότητες των αλληλομόρφων σε πολλούς γενετικούς τόπους ποικίλουν σημαντικά ανάμεσα στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες. Συνηθέστερο είναι τα διάφορα αλληλόμορφα να έχουν διαφορετικές συχνότητες σε διαφορετικούς πληθυσμούς.

Βάση των γενετικών διαφορών μεταξύ των φυλών και των υποπληθυσμών τους είναι οι μεταλλάξεις. Την εγκαθίδρυση γενετικών διαφορών μεταξύ πληθυσμιακών ομάδων επέτρεψαν η επιλογή ευνοϊκών μεταλλάξεων, ως απόκριση σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, ή η τυχαία επιβίωση ορισμένων ουδέτερων ή και επιβλαβών μεταλλάξεων σε συνδυασμό με έναν βαθμό αναπαραγωγικής απομόνωσης μεταξύ των ομάδων. Η μετανάστευση των πληθυσμών και τα γεωγραφικά εμπόδια που διαχώριζαν τις περιοχές όπου κατοικούσαν οδήγησαν σε γεωγραφική απομόνωση και δημιουργία περισσότερων διακριτών φυλών, με ιδιαίτερα σύνολα γονιδιακών συχνοτήτων η κάθε μία. Συχνά υφίστανται τεράστιες διαφορές στις συχνότητες των αλληλομόρφων ανάμεσα στις πληθυσμιακές ομάδες. Οι διαφορές αυτές εντοπίζονται τόσο σε αλληλόμορφα που προκαλούν γενετικές ασθένειες όσο και σε επιλεκτικά

ουδέτερους γενετικούς δείκτες, όπως είναι οι ομάδες αίματος, πολυμορφισμοί πρωτεϊνών και πολυμορφισμοί του DNA [2].

1.2. Νόμος Hardy-Weinberg

Η θεμελιώδης αρχή Hardy-Weinberg αναφέρει πως οι γονότυποι κατανέμονται ανάλογα με τις συχνότητες των ατομικών αλληλομόρφων στον πληθυσμό και παραμένουν σταθεροί από γενεά σε γενεά και αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο της πληθυσμιακής γενετικής. Ο νόμος αυτός πήρε το όνομά του προς τιμήν του George Hardy, ενός Άγγλου μαθηματικού, και του Wilhelm Weinberg, ενός Γερμανού γιατρού, οι οποίοι διατύπωσαν τη συγκεκριμένη θεωρία ανεξάρτητα ο ένας από τον άλλο, το 1908. Πιο συγκεκριμένα, εάν p είναι η συχνότητα του ενός αλληλομόρφου και q η συχνότητα του άλλου, τότε οι συχνότητες των τριών συνδυασμών των αλληλομόρφων είναι $p^2 + 2pq + q^2$, αναλογίες που δεν μεταβάλλονται από γενεά σε γενεά. Στην γενεά που θα προέλθει από τυχαίες διασταυρώσεις σε έναν πληθυσμό στον οποίο οι γονότυποι βρίσκονται σε αναλογίες $p^2 : 2pq : q^2$, οι γονότυποι εμφανίζονται με τις ίδιες σχετικές αναλογίες. Εκείνη την εποχή θεωρήθηκε από ορισμένους παράξενο το ότι ένα επικρατές αλληλόμορφο δεν αυξάνει αυτομάτως τη συχνότητά του έως ότου αντικαταστήσει τον αντίστοιχο υπολειπόμενο, ή το ότι ένα επιβλαβές υπολειπόμενο αλληλόμορφο, δε μειώνει αυτόματα τη συχνότητά του μέχρι να εξαλειφθεί τελείως από τον πληθυσμό. Ο νόμος Hardy-Weinberg ερμήνευσε τα αίτια της σταθερότητας των γονιδιακών συχνοτήτων.[2]

1.3. Παράγοντες που διαφοροποιούν τις γονιδιακές συχνότητες

Ένας πληθυσμός που διέπεται από τα βασικά χαρακτηριστικά του νόμου, θεωρείται ότι βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg. Η αρχή των Hardy-Weinberg αποτελεί μία μόνο απλή προσέγγιση, επειδή ισχύει απόλυτα μόνο κάτω από ορισμένες ειδικές καταστάσεις που σπάνια συναντώνται στους ανθρώπινους πληθυσμούς. Ο νόμος ισχύει επακριβώς μόνο για μεγάλους πληθυσμούς, στους οποίους υπάρχει τυχαία σύζευξη και στους οποίους δεν υπάρχει επιλογή, μετάλλαξη ή μετανάστευση. [3] Συγκεκριμένα, οι παραδοχές που πρέπει να ισχύουν ώστε να ισχύει και η αρχή Hardy-Weinberg είναι οι εξής:

1. Ο πληθυσμός χαρακτηρίζεται από τυχαίο ζευγάρωμα, με μικρή ή καθόλου ομοιοτυπική σύζευξη ή ενδογαμία.
2. Ο υπό μελέτη γενετικός τόπος εμφανίζει σταθερό ρυθμό μετάλλαξης, και όσα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα χάνονται λόγω θανάτου, αντικαθίστανται από νέες μεταλλάξεις.
3. Δεν υπάρχει επιλογή υπέρ ή κατά ενός συγκεκριμένου φαινοτύπου. Όλοι οι γονότυποι ενός γενετικού τόπου είναι εξίσου βιώσιμοι.
4. Ο πληθυσμός είναι αρκετά μεγάλος ώστε να μην λαμβάνει χώρα τυχαία διακύμανση των συχνοτήτων λόγω τυχαίας μεταβίβασης κάποιου γονοτύπου.
5. Δεν έχει αλλάξει τίποτα στη δομή του πληθυσμού λόγω μετανάστευσης, η οποία μπορεί βαθμιαία να μεταβάλλει τις γονιδιακές συχνότητες, αυξάνοντας ή μειώνοντας τον αριθμό των ατόμων με κάποιο συγκεκριμένο γονότυπο.

Απόκλιση από οποιαδήποτε από τις συνθήκες αυτές μπορεί να μεταβάλει τη συχνότητα των αλληλομόρφων σε ένα πληθυσμό και να οδηγήσει σε αύξηση ή μείωση των συχνοτήτων των αλληλομόρφων από τη μία γενεά στην άλλη [3].

1.3.1. Μη τυχαία σύζευξη

Στους ανθρώπινους πληθυσμούς η σύζευξη είναι σπάνια τυχαία. Είναι συνήθως επιλεκτική, επειδή τα μέλη ενός ειδικού υποπληθυσμού επιλέγουν να ζευγαρώσουν με μέλη του ίδιου πληθυσμού, λόγω φυλετικών, εθνικών, θρησκευτικών ή άλλων κριτηρίων. Πιο συγκεκριμένα, παράγοντες που υπεισέρχονται στην επιλογή συντρόφου για τη σύζευξη, μεταξύ αυτών η στρωμάτωση, η ομοιοτυπική σύζευξη, η συνεκτική διασταύρωση και η συγγένεια εξ αίματος [3].

1.3.2. Στρωμάτωση

Στρωματοποιημένος πληθυσμός είναι εκείνος που περιέχει έναν αριθμό υποομάδων, οι οποίες έχουν παραμείνει διακριτές σε μεγάλο βαθμό κατά τη διάρκεια της εξέλιξης. Για παράδειγμα, ο πληθυσμός των ΗΠΑ είναι στρωματοποιημένος σε δύο μεγάλες υποομάδες, αυτή των Καυκάσιων και των Μαύρων/Νέγρων. Στην Ελλάδα η στρωμάτωση αυτή μπορεί να ευθύνεται στις θρησκευτικές πεποιθήσεις. Για παράδειγμα σπάνια συμβαίνουν γάμοι μεταξύ Χριστιανών και Μουσουλμάνων, γεγονός που διαχωρίζει τους δύο πληθυσμούς [3].

1.3.3. Ομοιοτυπική σύζευξη

Ομοιοτυπική σύζευξη ή συνεκτική διασταύρωση είναι η επιλογής κάποιου συντρόφου επειδή αυτός έχει ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό. Όταν το κοινό χαρακτηριστικό των δύο συντρόφων καθορίζεται γενετικά, το συνολικό γενετικό αποτέλεσμα είναι μία αύξηση της αναλογίας των ομόζυγων εις βάρος των ετερόζυγων γονοτύπων. Για παράδειγμα, η επιλογή συντρόφου με τα ίδια ιατρικά προβλήματα, όπως η συγγενής κώφωση ή ο νανισμός, ειδικά όταν αυτά οφείλονται στην ίδια μετάλλαξη, η ισορροπία Hardy-Weinberg διαταράσσεται και είναι πολύ

πιθανό να υπάρχουν σοβαρές επιπτώσεις στα παιδιά που θα γεννηθούν [3].

1.3.4. Συγγένεια εξ αίματος

Μία ειδική μορφή μη τυχαίας σύζευξης στον ανθρώπινο πληθυσμό είναι η σύζευξη ανάμεσα σε στενούς συγγενείς, ή αλλιώς αιμομιξία ή ενδογαμία. Η ύπαρξη της αιμομιξίας αυξάνει την αναλογία των ομοζυγωτών στην επόμενη γενιά, εις βάρος των ετεροζυγωτών, με αποτέλεσμα να επιλέγονται οι μειονεκτικοί υπολειπόμενοι φαινότυποι. Αυτή η επιλογή μπορεί στη συνέχεια να διαφοροποιήσει τις συχνότητες των αλληλομόρφων, επιτρέποντας σε σπανιότερα αλληλόμορφα να εμφανιστούν σε ομοζυγωτία. Από μία άποψη, όλες οι διασταυρώσεις είναι μακρινές τουλάχιστον ενδογαμίες, επειδή δύο τυχαία άτομα από τον γενικό πληθυσμό είναι πιθανόν να είχαν έναν τουλάχιστον κοινό πρόγονο πριν από πολλές γενεές. Ο βαθμός της αιμομιξίας μπορεί να περιγραφεί με τον συντελεστή συγγένειας, που εκφράζει την πιθανότητα να έχει δεχτεί και τα δύο αλληλόμορφα ενός ζεύγους από την ίδια προγονική πηγή [3].

1.4. Απομονωμένοι πληθυσμοί

Για πολιτικούς, θρησκευτικούς ή γεωγραφικούς λόγους, ένα υποσύνολο του πληθυσμού μπορεί να απομονωθεί φυσικά ή/και γεωγραφικά από τον υπόλοιπο πληθυσμό, δημιουργώντας μια γενετικά απομονωμένη κοινωνία. Τα ιδρυτικά μέλη μίας τέτοιας απομονωμένης κοινωνίας μπορεί τυχαία να είναι φορείς μεταλλαγμένων αλληλομόρφων για ορισμένα υπολειπόμενα χαρακτηριστικά, οπότε η συχνότητα των αλληλομόρφων στον μικρό αυτό πληθυσμό είναι πολύ υψηλότερη εάν συγκριθεί με το γενικό πληθυσμό. Στους πληθυσμούς αυτούς η συχνότητα ενός πολυμορφισμού μπορεί να διαφέρει πολύ από γενιά σε γενιά, καθώς είναι πιθανό ένα αλληλόμορφο να αποτύχει να μεταφερθεί στην επόμενη γενιά και έτσι να εξαφανιστεί εντελώς, αφήνοντας μόνο το εναλλακτικό αλληλόμορφο, φαινόμενο που ονομάζεται γενετική παρέκκλιση (genetic drift) [4]. Λόγω της απουσίας ενός αλληλόμορφου ο νέος πληθυσμός μπορεί να διαφέρει τόσο στον γονότυπο όσο και στον φαινότυπο από το γενικό πληθυσμό, μηχανισμός που ονομάζεται αποτέλεσμα της αρχής του ιδρυτή (founder effect) [5]. Με άλλα λόγια, έχουμε το αποτέλεσμα της αρχής του ιδρυτή, όταν μία μορφή γενετικής παρέκκλισης οδηγεί στη δημιουργία νέου είδους/πληθυσμού από πολύ λίγα ιδρυτικά μέλη [6]. Η αρχή του ιδρυτή μπορεί να εξηγήσει την υψηλή συχνότητα ορισμένων σπάνιων νοσημάτων στους γενετικά απομονωμένους πληθυσμούς.

1.4.1. Παραδείγματα γενετικά απομονωμένων πληθυσμών

1.4.1.1. Πληθυσμός των Amish

Η φυλή των Amish είναι μία ομάδα Ελβετών Χριστιανών που μετανάστευσαν στην Πενσυλβανία πριν 150-200 χρόνια, γνωστή για τον ιδιαίτερο τρόπο ζωής τους όσον αφορά στο ντύσιμο, τις συνήθειες αλλά και την αποποίηση των διευκολύνσεων που προσφέρει η μοντέρνα

τεχνολογία. Παρατηρείται σε σημαντικό βαθμό η ενδογαμία, καθώς τα μέλη της κοινότητας επιλέγουν συντρόφους αποκλειστικά μέσα από αυτήν. Κρατούν με μεγάλη αυστηρότητα αρχεία των γενεαλογικών τους δέντρων και τείνουν να δημιουργούν μεγάλες οικογένειες [7]. Στον πληθυσμό των Amish εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα ορισμένες γενετικές και μεταβολικές διαταραχές. Ένα παράδειγμα είναι το αυτοσωμικό υπολειπόμενο σύνδρομο Ellis-van Creveld, που χαρακτηρίζεται από νανισμό και κοντά άκρα, πολυδακτυλία και συγγενή καρδιοπάθεια. Η συχνότητα του αλληλομόρφου του συνδρόμου αυτού στον πληθυσμό των Amish είναι 0.07 αλλά είναι εξαιρετικά χαμηλή στον γενικό πληθυσμό (1 στις 60.000-200.000 γεννήσεις) [3, 8]. Έχουν ανιχνευτεί περίπου 39 κληρονομήσιμες διαταραχές στον πληθυσμό αυτό [9].

1.4.1.2. Φυλή των Afrikaner

Ακόμη ένα παράδειγμα πιθανού αποτελέσματος της αρχής του ιδρυτή εμφανίζεται στη φυλή των Afrikaner στη Νότιο Αφρική, και είναι η υψηλή συχνότητα της ποικιλόχρου πορφυρίας, μια αυτοσωμικής επικρατούς νόσου, που χαρακτηρίζεται από οξείς κοιλιακούς πόνους, αδυναμία και δερματικά προβλήματα που προκαλούνται από τον ήλιο. Η ασθένεια εμφανίζεται σε 1 άτομο ανά 400. [3] Ο επιπολασμός της νόσου στο γενικό πληθυσμό είναι 1/100.000 γεννήσεις [10].

1.4.1.3. Εβραϊκός πληθυσμός Ashkenazi

Ασθένειες όπως η Tay-Sachs, Canavan, Niemann-Pick, Gaucher, Familiar Sydaautonomie, σύνδρομο Boom, κυστική ίνωση, αναιμία Fanconi είναι κάποια από τα γενετικά νοσήματα που εμφανίζονται στον Εβραϊκό πληθυσμό των Ashkenazi σε μεγαλύτερη συχνότητα από ότι στον γενικό πληθυσμό, που αποτελεί άλλο ένα παράδειγμα του αποτελέσματος της «αρχής του ιδρυτή». [3, 11]

1.5. Γιατί μελετάμε Γενετικά Απομονωμένους Πληθυσμούς

Το Πρόγραμμα Χαρτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος ολοκληρώθηκε το 2003. Στόχος ήταν να ανακαλυφθεί η ύπαρξη και η θέση 20000-25000 γονιδίων και η να διερευνηθεί η αλληλουχία 3 εκατομμυρίων βάσεων που συνθέτουν το ανθρώπινο DNA. [12] Βέβαια η βιολογική λειτουργία ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων παραμένει ακόμα άγνωστη. Οι περισσότερες σημαντικές ασθένειες που ακολουθούν τη Μεντελική κληρονομικότητα έχουν διερευνηθεί. Είναι βέβαια σημαντική η συνεχής ανίχνευση νέων γονιδίων που συνδέονται με μονογονιδιακές διαταραχές ώστε να υπάρξει κατανόηση των βιοχημικών μονοπατιών που οδηγούν στην εμφάνιση μιας νόσου [13]. Σε διαταραχές που ακολουθούν τη Μεντελική κληρονομικότητα, οι μεταλλάξεις των γονιδίων είναι κατά κανόνα απλές και μονογονιδιακές και η μελέτη τους μπορεί να γίνει σε οικογενειακές μελέτες. Για πιο σύνθετες διαταραχές, οι γενετικές επιδράσεις είναι λιγότερο ξεκάθαρες και μέχρι στιγμής, η πρόοδος στην αναγνώριση των πολυμορφισμών που ευθύνονται γι αυτές είναι απογοητευτική. Λίγοι μόνο γενετικοί παράγοντες κινδύνου έχουν ανιχνευθεί.

Ο κύριος λόγος γι αυτή την περιορισμένη επιτυχία είναι ότι δεν είναι γνωστός ο τρόπος περιγραφής της γενετικής των σύνθετων διαταραχών [14]. Προσεγγίσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τις Μεντελικές διαταραχές δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πιο πολύπλοκες νόσους, που δεν ακολουθούν ακριβώς τους νόμους του Μέντελ, καθώς παράγοντες όπως η γενετική ετερογένεια, νέες μεταλλάξεις, πολυγονιδιακή κληρονομικότητα, ελλιπής διεισδυτικότητα και περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου υπεισέρχονται και καθορίζουν την έκφραση του γονότυπου, με αποτέλεσμα να είναι πολύ δύσκολος ο καθορισμός της θέσης και της λειτουργίας ενός γενετικού τόπου.

Ο βαθμός στον οποίο οι γενετικοί παράγοντες κινδύνου συμβάλλουν στην έναρξη των κοινών ασθενειών είναι σε μεγάλο ποσοστό άγνωστη. Οι μετρήσεις της κληρονομικότητας και του σχετικού αποδοτέου κινδύνου μετρούν την επίδραση του συνόλου των γενετικών παραγόντων κινδύνου, και επίσης περιλαμβάνουν τα αποτελέσματα των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου και των αλληλεπιδράσεών τους. Δεδομένου ότι οι μετρήσεις αυτές φανερώνουν το αποτέλεσμα όλων των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων δεν είναι σαφές το πόσο ισχυρή είναι η επίδραση των επιμέρους παραγόντων κινδύνου [15].

Σε γενικές γραμμές, η στατιστική δύναμη για την ανίχνευση μίας συσχέτισης μειώνεται από τον «θόρυβο» που δημιουργεί το σύνολο των άλλων παραγόντων και χαρακτηριστικών του πληθυσμού υπό μελέτη. Ο «θόρυβος» αυτός προκαλείται από το συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που χαρακτηρίζουν τον πληθυσμό. Επομένως, σε ετερογενείς πληθυσμούς, λήψη πληροφοριών από μεγάλο αριθμό δείγματος είναι αναγκαία ώστε να εξασφαλισθεί ικανοποιητική στατιστική ισχύς για την ανίχνευση των γενετικών παραγόντων που ευθύνονται για τους διάφορους φαινότυπους. Πληθυσμοί με μεγαλύτερη ομοιογένεια είναι οι γενετικά απομονωμένοι πληθυσμοί και έχουν προταθεί ως μία πιθανή εναλλακτική λύση που επιτρέπει τη λήψη μικρότερου δείγματος για την εξαγωγή συσχετίσεων, καθώς οι διακυμάνσεις των περιβαλλοντικών παραγόντων είναι πολύ μικρότερες όπως επίσης και του γενετικού υπόβαθρου, δεδομένης της ύπαρξης της αρχής του ιδρυτή. Αποτέλεσμα είναι η μείωση του «θορύβου» που προκαλούν οι πολλαπλές αλληλεπιδράσεις και η εξαγωγή αποτελεσμάτων με μεγαλύτερη στατιστική σημαντικότητα, χρησιμοποιώντας πολύ μικρότερο αριθμό δείγματος [13].

Η χρήση γενετικά απομονωμένων πληθυσμών δεν είναι πρόσφατη. Η μελέτη απομονωμένων πληθυσμών είναι πολύ χρήσιμη στην χαρτογράφηση σπάνιων νόσων με υπολειπόμενο χαρακτήρα. Βέβαια πολλοί ερευνητές πιστεύουν πως θα μπορούσε να είναι λύση και για τη μελέτη σύνθετων διαταραχών. Απομονωμένοι πληθυσμοί έχουν σχετικά

ομοιόμορφο γενετικό υπόβαθρο. Ακόμη, τα άτομα τέτοιων πληθυσμών έχουν έναν παρόμοιο τρόπο που ζουν και τρέφονται καθώς όλοι δέχονται τις ίδιες περιβαλλοντικές επιδράσεις και έχουν ίδια κουλτούρα και συνήθειες. Συχνά, οι πληθυσμοί αυτοί έχουν ιδρυθεί από μικρό αριθμό ατόμων που απομονώθηκαν γεωγραφικά, πολιτισμικά και γενετικά, με αποτέλεσμα να συμβεί γενετική παρέκκλιση και η αύξηση του πληθυσμού να γίνει λόγω ανάπτυξης του ίδιου του πληθυσμού χωρίς τη συνεισφορά της μετανάστευσης. Επιπρόσθετα, φαίνεται και από αρχεία γενεαλογικών δέντρων με τα οποία μπορεί να καθοριστεί ο συντελεστής συγγένειας, πως σε γενετικά απομονωμένους πληθυσμούς ο συντελεστής αυτός είναι υψηλότερος, σε σύγκριση με ετερογενείς πληθυσμούς. Η μεγάλη συγγένεια βοηθάει επίσης στην ανίχνευση κοινών παραγόντων κινδύνου με υπολειπόμενο χαρακτήρα.

Κάθε γενετικά απομονωμένος πληθυσμός έχει τη δική του δημογραφική ιστορία, με τα δικά του πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Πληθυσμοί που απομονώθηκαν πριν πολλά χρόνια, πριν περισσότερες από 100 γενεές, φέρουν πολύ παλιές κοινές μεταλλάξεις ή μεταλλάξεις που ανιχνεύονται μόνο στους πληθυσμούς αυτούς. Παράδειγμα αποτελεί ο πληθυσμός των Saami στη βόρεια Σκανδιναβία. Η γενετική παρέκκλιση έχει μειώσει σημαντικά την ετερογένεια στον γονότυπο των ατόμων που αποτελούν τον πληθυσμό αυτό.

Σε πληθυσμούς που είναι απομονωμένοι για μικρότερο χρονικό διάστημα, λιγότερες από 100 γενεές, όπως πληθυσμοί που βρίσκονται στη Φιλανδία, Ισλανδία, Σαρδηνία και Ιαπωνία με μικρή μετανάστευση και επέκταση, η ετερογένεια των αλληλομόρφων μπορεί να έχει μειωθεί λόγω της γενετικής παρέκκλισης πριν συμβεί κάποια επέκταση του πληθυσμού, αλλά η μείωση αυτή είναι μικρότερη από ότι σε παλαιότερους απομονωμένους πληθυσμούς.

Τα οφέλη της μελέτης των απομονωμένων πληθυσμών για τη διερεύνηση Μεντελικών και σύνθετων νόσων είναι πολλά. Μεταξύ αυτών συμπεριλαμβάνεται [16-18]:

- η μικρότερη η «δεξαμενή γονιδίων» και η εμφάνιση μικρής γενετικής ποικιλομορφίας, ως αποτέλεσμα της αρχής του ιδρυτή, της περιορισμένης μετανάστευσης, αλλά και του φαινομένου της ενδογαμίας και της έλλειψης τυχαίας σύζευξης,
- η ομοιογένεια των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου σε σύγκριση με πληθυσμούς που έχουν εξαπλωθεί με αποτέλεσμα να είναι πιο εμφανής η επίδραση του γενετικού υπόβαθρου και
- η δυνατότητα συλλογής δεδομένων και μελέτης μεγάλων γενεαλογικών δέντρων, γεγονός που διευκολύνει τη ανάλυση των γενετικών συσχετίσεων,
- Εμφανίζεται σε μεγάλο ποσοστό η ανισορροπία σύνδεσης, σε μεγαλύτερες περιοχές του γονιδιώματος σε σχέση με άλλους πληθυσμούς, αυξάνοντας τη στατιστική δύναμη των συσχετίσεων για την ανίχνευση γονιδίων.

Τα οφέλη της μελέτης απομονωμένων πληθυσμών συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 1 Οφέλη χρήσης απομονωμένων πληθυσμών

Χρήση απομονωμένων πληθυσμών έναντι του γενικού πληθυσμού	
Οφέλη απομονωμένων πληθυσμών	Οφέλη γενικού πληθυσμού
Υψηλότερο ποσοστό ανισορροπίας σύνδεσης	Μεγαλύτερος αριθμός ατόμων
Λιγότερες περιοχές με πολύ μικρή ανισορροπία σύνδεσης	Μεγαλύτερος αριθμός πολυμορφισμών
Ικανότητα χαρτογράφησης υπολειπόμενων γονιδίων	Μεγαλύτερη πιθανότητα επαναληψιμότητας
Μικρότερος αριθμός αιτιολογικών αλληλομόρφων	
Ομοιογένεια του περιβάλλοντος	
Λιγότερη μετανάστευση	
Υψηλό ποσοστό συμμετοχής στις μελέτες	
Τυποποίηση στη συλλογή φαινοτύπων	

Παρακάτω θα διερευνηθεί η έννοια της ανισορροπίας σύνδεσης (Linkage Disequilibrium), ο ορισμός της αλλά και η σημασία της στην γενετική επιστήμη.

1.6. Ανισορροπία σύνδεσης

Στη γενετική μελέτη πληθυσμών, ο όρος ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD) αναφέρεται στη μη τυχαία συσχέτιση αλληλομόρφων σε δύο ή περισσότερους γενετικούς τόπους, όχι απαραίτητα στο ίδιο χρωμόσωμα. Με άλλα λόγια, ανισορροπία σύνδεσης παρατηρείται όταν κάποιος γονότυπος σε έναν γενετικό τόπο δεν είναι ανεξάρτητος από έναν άλλο σε κάποιον άλλο γενετικό τύπο. Συνώνυμοι όροι είναι οι “allelic association” ή “gametic phase disequilibrium” [19].

Αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση κάποιων συνδυασμών των αλληλομόρφων ή γενετικών δεικτών σε έναν πληθυσμό πιο συχνά ή λιγότερο συχνά από ότι θα αναμενόταν από μία έναν τυχαίο σχηματισμό απλοτύπων δεδομένων των συχνοτήτων των αλληλομόρφων. Το επίπεδο της ανισορροπίας σύνδεσης επηρεάζεται από ένα σύνολο παραγόντων, όπως η φυσική επιλογή, το ποσοστό του ανασυνδυασμού, το ποσοστό της μετάλλαξης, γενετικής παρέκκλισης, μη τυχαία σύζευξης και δομής του πληθυσμού. Σε απομονωμένους πληθυσμούς, το φαινόμενο της γενετικής παρέκκλισης αλλά και της μη τυχαίας σύζευξης είναι εκτενές, με αποτέλεσμα να είναι περισσότερο εκτεταμένη και η ανισορροπία σύνδεσης. [20].

Υπάρχουν πολλοί λόγοι που είναι ενδιαφέρουσα η εκτίμηση του εάν η διαμόρφωση των αλληλομόρφων σε διάφορους γενετικούς τόπους σχετίζεται με το LD. Στον γενικό πληθυσμό τα γενετικά μοντέλα εμφανίζουν απλούστερη συμπεριφορά όταν δεν υπάρχει LD. Κάθε γενετικός τύπος είναι ανεξάρτητος. Από την άλλη μεριά, όταν υπάρχει σε μεγάλο βαθμό LD, η πληροφορία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της διαμόρφωσης του ανασυνδυασμού σε μία γεωγραφική περιοχή. Στη γενετική μελέτη πληθυσμών, το LD έχει χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της δημογραφικής και εξελικτικής διαδικασίας. Για παράδειγμα, μελέτες του LD χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της μετανάστευσης και ανάμιξης των πληθυσμών [19].

Οι Laan και Raabo επίσης αναφέρουν πως η δημογραφική ιστορία ενός πληθυσμού αναμένεται να επηρεάσει το ποσοστό του LD στο γονιδίωμα. Επομένως πληθυσμοί με σταθερό και μικρό μέγεθος θα εμφανίσουν υψηλότερα επίπεδα LD σε σύγκριση με πληθυσμούς που έχουν εξαπλωθεί και μεγαλώσει. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνεται από μελέτες μιτοχονδριακού DNA στον πληθυσμό των Saami στη Βόρεια Σκανδιναβία, που έχει σταθερό μέγεθος. Το γονιδίωμά τους συγκρίθηκε με αυτό γειτονικών φυλών με διαφορετική δημογραφική ιστορία και φάνηκαν σημαντικές διαφορές στο LD, με υψηλότερα επίπεδα στον πληθυσμό των Saami. Οι ερευνητές επίσης συμπεραίνουν πως πληθυσμοί που για μεγάλο χρονικό διάστημα παρέμειναν με σταθερό μέγεθος, είναι κατάλληλοι για ανίχνευση παλιών μεταλλάξεων[21]. Αντίθετα πληθυσμοί που πρόσφατα έχουν εξαπλωθεί είναι κατάλληλοι για την ανίχνευση μονογονιδιακών ασθενειών που οφείλονται σε νέες μεταλλάξεις [22].

1.7. Μελέτες απομονωμένων πληθυσμών

Η ανίχνευση γονιδίων που ευθύνονται για συχνές σύνθετες ασθένειες δεν απαιτεί πάντα μεγάλο αριθμό δείγματος από τον παγκόσμιο πληθυσμό. Δείγματά ατόμων από γενετικά απομονωμένους πληθυσμούς έχει αποδειχθεί πως είναι εξαιρετικά χρήσιμα στην ταυτοποίηση σπάνιων υπολειπόμενων γονιδίων. Σημαντικά ευρήματα γενετικών τόπων έχουν προέλθει από τη σάρωση του γονιδιώματος μικρού αριθμού ατόμων από τέτοιους πληθυσμούς και γίνεται πια ξεκάθαρο πως η μελέτη απομονωμένων πληθυσμών που προέρχονται από περιορισμένο αριθμό ιδρυτών είναι πολύ ωφέλιμη [23].

Πίνακας 2: Σημαντικά ευρήματα από μελέτες σε απομονωμένους πληθυσμούς ανά τον κόσμο [23].

Recent genetic studies of complex diseases and traits in special populations		
Complex disease/trait	Gene/locus	Population/isolate
Affective disorders	Several loci	Northern Sweden
Asthma	IRAK-M (interleukin-1 receptor-associated kinase M)	Sardinia
Asthma	CHI3L1 (chitinase 3-like 1)	Hutterites
Asthma	NPSR1 (neuropeptide S receptor 1)	Finland
Atrial fibrillation	4q25	Iceland
Bipolar disorder	5q31-34	Antioquia (Colombia), Central Valley of Costa Rica
Bone mineral density	Several loci	Iceland
Breast cancer	5p12, 2q35, 16q12	Iceland
Myocardial infarction	9p21	Iceland
Coronary heart disease	8p22	French Canadians
Crohn's disease	Several loci	French Canadians
Fasting glucose levels	G6PC2 (glucose-6-phosphatase, catalytic, 2)/ ABCB11 (ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11) region	Finland, Sardinia
Exfoliation glaucoma	LOXLI (lysyl oxidase-like 1)	Iceland
Height	Several loci	Iceland
Height	GDF5 (growth differentiation factor 5)/ UQCC (ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone) locus	Finland, Sardinia, Amish
Nicotine dependence and smoking-related diseases	15q24	Iceland
Obesity	FTO (fat mass and obesity associated), PFKF (phosphofructokinase, platelet)	Sardinia
Parkinson's disease	GBA (β -glucocerebrosidase)	Ashkenazi Jews
Pigmentation	Several genes	Iceland
Prostate cancer	Xp11.22, 2p15, 17q	Iceland
Psychotic and bipolar spectrum disorders	TSNAX (translin-associated factor X)/ DISC1 (disrupted in schizophrenia 1) locus	Finland
Psychosis	TGIF (TGFB-induced factor)	Central Valley of Costa Rica
Schizophrenia	DRD2 (dopamine D2 receptor)	Basques
Type 2 diabetes	CDKAL1 (CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1)	Iceland

1.7.1. Πληθυσμός Ισλανδίας

Ένα από τα πιο εντυπωσιακά παραδείγματα από τη χρήση της γενεαλογίας αποτελεί η μελέτη deCODE στην Ισλανδία, όπου μελετήθηκε το γενετικό και ιατρικό ιστορικό άνω του 50% ενός

πληθυσμού [24]. Παρόλο που ο πληθυσμός της Ισλανδίας δεν πληροί τα κριτήρια των απομονωμένων πληθυσμών παρατηρείται σημαντική γενετική παρέκκλιση με αποτέλεσμα να έχει μειωθεί σημαντικά η γενετική ποικιλομορφία σε σύγκριση με την υπόλοιπη Ευρώπη [25].

Με την πραγματοποίηση μελετών σάρωσης γονιδιώματος (genome wide association studies, GWAS) έχει προκύψει ένας εντυπωσιακός αριθμός μεταβλητών που συνεισφέρουν στην εξέλιξη σύνθετων ασθενειών. Ανάμεσα σε αυτές συμπεριλαμβάνονται γενετικοί τόποι που σχετίζονται με το έμφραγμα μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (*ALOX5AP* και η χρωμοσωμική περιοχή 9p21), ο διαβήτης τύπου 2 (*TCF7L2* και *CDKAL1*), η κολπική μαρμαρυγή (4q25) και ο καρκίνος του προστάτη (2p15 και Xp11.22). Εκτός από τα γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, ο πληθυσμός της Ισλανδίας έχει αποκαλύψει γονίδια που συνεισφέρουν σε έναν αριθμό σύνθετων χαρακτηριστικών, όπως το ενήλικο ανάστημα (αριθμός γενετικών τόπων συμπεριλαμβανομένου και του *ZBTB28*) όπως επίσης το χρώμα του δέρματος και των μαλλιών (*SLC24A4*, *KITLG*, *TYR*, *OCA2*, *MC1R* και 6p25.3). Η έρευνα deCODE συνεχίζεται ώστε να ανιχνευτούν περισσότερα γονίδια που συνεισφέρουν στην προδιάθεση για περισσότερες από 50 ασθένειες.

1.7.2.Πληθυσμός Φινλανδίας

Ένας ακόμη απομονωμένος πληθυσμός με αποδεδειγμένη αξία στη χαρτογράφηση γονιδίων είναι ο πληθυσμός της Φινλανδίας, όπου γονίδια 35 μονογονιδιακών ασθενειών εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα σε σύγκριση με άλλους πληθυσμούς [26]. Χαρακτηριστικά του πληθυσμού της Φινλανδίας έχουν ωφελήσει στη μελέτη της σχιζοφρένειας. Να σημειωθεί ότι η πρώτη μετατόπιση που σχετίστηκε με τη σχιζοφρένεια βρέθηκε σε μία μεγάλη οικογένεια Σκοτσέζων [27] και η απόδειξη πως ευθύνεται το γονίδιο *DISC1* βρέθηκε σε οικογένειες Φινλανδών με διαγνωσμένη σχιζοφρένεια [28]. Μεγάλα γενεαλογικά δένδρα από οικογένειες Φινλανδών επίσης χρησιμοποιήθηκαν επιτυχώς στη μελέτη

της οικογενούς υπερκολληστερολαιμίας και ανιχνεύθηκε το γονίδιο USF1 ως παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου [29]. Η συσχέτιση αυτή επιβεβαιώθηκε και από μελέτες σε άλλους πληθυσμούς.

1.7.3. Άλλοι πληθυσμοί

Μελέτες για τον διαβήτη τύπου 2 και την παχυσαρκία έχουν χρησιμοποιήσει τον πληθυσμό των Pima Indians [30]. Μελέτες για το άσθμα έγιναν στον πληθυσμό των Hutterites, στις βόρειες Ηνωμένες Πολιτείες και τον δυτικό Καναδά [31]. Γονίδια που συνεισφέρουν σε νευροψυχιατρικές διαταραχές βρέθηκαν σε μελέτες σε απομονωμένους πληθυσμούς στην Κολομβία και την Κοιλάδα της Κόστα Ρίκα, τους Basques στην Ισπανία, τον πληθυσμό των νησιών Kosrae, και Palau, των Bulgarian gypsies και μικρών απομονωμένων πληθυσμών στη Σουηδία και το Ισραήλ. Άλλοι ξεχωριστοί πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν σε πρόσφατες μελέτες σύνθετων ασθενειών συμπεριλαμβάνουν τους Γάλλους Καναδούς, τους Εβραίους Ashkenazi, τους Μενονίτες, τους Amish και πληθυσμούς από την Ολλανδία [23].

Η σημαντικότερη παρατήρηση από όλες αυτές τις μελέτες είναι ότι οι γενετικές μεταβλητές που αναγνωρίζονται σε απομονωμένους πληθυσμούς και εξηγούν μία συχνή διαταραχή δεν περιορίζονται μόνο στον πληθυσμό. Αντίθετα εμφανίζονται και σε άτομα του γενικού πληθυσμού, σε μικρότερη συχνότητα, με αποτέλεσμα να ανακαλύπτονται νέα μονοπάτια πίσω από τις διεργασίες που οδηγούν στις διαταραχές αυτές.

1.8. Μελέτες Γενετικής Ανάλυσης Σάρωσης Γονιδιώματος

Η όλο και αυξανόμενη πληροφορία σε δημόσιες βάσεις δεδομένων για μονο-νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) και οι τεχνολογικές εξελίξεις στην συλλογή δεδομένων ολόκληρου του γονιδιώματος έχουν διευκολύνει τη διεξαγωγή μελετών που «σαρώνουν» ολόκληρο το γονιδίωμα σε αναζήτηση γενετικών τόπων που επηρεάζουν την έκβαση ασθενειών (Genome Wide Association Studies, GWAS). Η GWAS αυτή προσέγγιση δεν περιλαμβάνει μία συγκεκριμένη υπόθεση. Αντίθετα, περισσότεροι από ένα εκατομμύριο πολυμορφισμοί στο γονιδίωμα αναλύονται ως προς την αλληλουχία τους και διερευνάται η οποιαδήποτε συσχέτισή τους με κάποια ασθένεια ή φαινοτυπικό χαρακτηριστικό.

Ως αποτέλεσμα του International HapMap Project [32] οι περιοχές του γονιδιώματος όπου ισχύει η ανισορροπία σύνδεσης είναι γνωστές και η τεχνολογία της χαρτογράφησης του γονιδιώματος έχει σχεδιαστεί ώστε να ανιχνεύει έναν περιορισμένο αριθμό απλότυπων, που όμως αποτυπώνουν μεγάλες περιοχές του γονιδιώματος [33]. Τελικά αυτό που ισχύει είναι πως το ποσό του LD κάθε προς εξέταση πληθυσμού καθορίζει και τον αριθμό των SNPs που χρειάζονται για την συνολική κάλυψη σε μία μελέτη GWAS.

Συμπερασματικά, η μελέτη σάρωσης του γονιδιώματος απομονωμένων πληθυσμών είναι κατά 30% λιγότερο σύνθετη και επιτρέπει την κάλυψη ολόκληρου το γονιδιώματος με μεγαλύτερη ευκολία και μικρότερο αριθμό κενών. Σε έναν απομονωμένο πληθυσμό υπάρχουν λιγότεροι απλότυποι διασκορπισμένοι στον πληθυσμό, σε συνδυασμό με περισσότερη ανισορροπία σύνδεσης. Αποτέλεσμα είναι η ελάττωση της ποικιλομορφίας στο γονιδίωμά τους, μειώνοντας ακόμη περισσότερο τον αριθμό των μεταβλητών που απαιτείται να μελετηθούν για τη διερεύνηση της αιτιολογίας των σύνθετων ασθενειών.

Το πρόβλημα που προκύπτει από τις μελέτες GWAS που γίνονται σε απομονωμένους πληθυσμούς είναι ότι το ισχυρό LD που αρχικά βοήθησε στην ταυτοποίηση του γενετικού τόπου της ασθένειας τελικά δυσκολεύει τις προσπάθειες να ανιχνευτεί ο ακριβής γενετικός τόπος που ευθύνεται μέσα σε ένα σύνολο πολυμορφισμών που σχετίζονται με αυτόν λόγω LD. Η σύγκριση των δεδομένων από μελέτες GWAS μεταξύ διαφορετικών απομονωμένων πληθυσμών θα μπορούσε να βοηθήσει στον ακριβή προσδιορισμό των μεταβλητών [23].

1.9. Πληθυσμός Πομάκων

Οι Πομάκοι είναι μία πληθυσμιακή ομάδα της παραμεθορίου της Ελλάδας, που κατοικεί στη Θράκη, στον ορεινό όγκο της Ροδόπης εδώ και χιλιάδες χρόνια. Η οροσειρά της Ροδόπης βρίσκεται στο μεγαλύτερο μέρος της μέσα στη Βουλγαρία και οι περισσότεροι Πομάκοι ζουν εκεί ενώ η πλειοψηφία τους στην Ελλάδα βρίσκεται στο νομό Ξάνθης. Ο πληθυσμός των Πομάκων υπολογίζεται γύρω στις 350.000 από αυτούς όμως μόνο οι 36.000 (απογραφή 1991) κατοικούν στην Ελλάδα [34]. Πιο συγκεκριμένα, το 63%, δηλαδή 23.000 κατοικούν στο νομό Ξάνθης, το 30,6%, δηλαδή 11.000 στο νομό Ροδόπης, και 5,6%, δηλαδή 2.000 στο νομό Έβρου. Οι υπόλοιποι βρίσκονται στη Βουλγαρία [35].

Εικόνα 1: Χάρτης Ορεινής Ροδόπης. Τα Πομακοχώρια στη λευκή περιοχή.



1.9.1. Η προέλευση της λέξης «Πομάκος»

Πολλοί προσπάθησαν να ερμηνεύσουν ετυμολογικά τη λέξη «Πομάκοι» με επικρατέστερη άποψη αυτή των Βουλγάρων, σύμφωνα με την οποία η προέλευση της λέξης οφείλεται στο ρήμα romagam που σημαίνει βοηθώ.

Οι Βούλγαροι αποκαλούσαν τους Πομάκους «πομαγκάστ» δηλαδή βοηθούς, υποτελείς, βασανισμένους, δούλους, χωρίς δική τους ατομική και συλλογική οντότητα. Κατά μία ελληνική εκδοχή, προέρχεται από το αρχαιοελληνικό ιππομάχος. Ήταν αυτοί που απάρτιζαν το φοβερό ιππικό του Μ. Αλεξάνδρου. Κατά μία άλλη ελληνική ερμηνεία, η λέξη προέρχεται από το ελληνικό Πομάξ (πότης) εξαιτίας της παλιάς συνήθειας των Θρακών να πίνουν πολύ. Οι ίδιοι όμως οι Πομάκοι τη θεωρούν προσβλητική και υβριστική ονομασία και θέλουν να αυτοαποκαλούνται «Αχριάν», δηλαδή «Αγριάνες», όνομα αρχαίας θρακικής φυλής, που κατοικούσε στα άγονα κι ορεινά μέρη του όρους Σκόμιο και στη Βορειοδυτική Ροδόπη και που λέγονταν κι αλλιώς «Αγρίες», «Αγραιίοι» κι «Αγριείς». [36].

1.9.2. Καταγωγή των Πομάκων

Η καταγωγή των Πομάκων παραμένει αμφιλεγόμενη. Τόσο η Βουλγαρία όσο και η Ελλάδα αλλά και η Τουρκία την έχουν διεκδικήσει, παρουσιάζοντας διαφορετικά ιστορικά στοιχεία. Για την προέλευση των Πομάκων έχουν διατυπωθεί οι παρακάτω θεωρίες:

1. Είναι απόγονοι του Παιονικού φύλου των Αγριάνων. Η άποψη αυτή είναι η επικρατέστερη μεταξύ των ελλήνων ιστορικών.
2. Είναι αρχαίο θρακικό φύλο, το οποίο διαδοχικά εκρωμαΐστηκε, εκσλαβίστηκε και εξισλαμίστηκε.
3. Είναι εξισλαμισμένοι Βούλγαροι. Η άποψη αυτή είναι η επικρατέστερη μεταξύ των βούλγαρων ιστορικών. Υποστηρίζεται η άποψη ότι λόγω της Ελληνικής πολιτικής οι Πομάκοι τα τελευταία 50 χρόνια αποκτήσει την Τουρκική συνείδηση ενώ η Βουλγάρικη συνείδηση έχει χαθεί.
4. Είναι Τούρκοι που λόγω της γειτνίασης με Σλάβους έμαθαν τη Βουλγάρικη γλώσσα. Η άποψη αυτή είναι η επικρατέστερη μεταξύ των τούρκων ιστορικών.

1.9.3. Γλώσσα

Τα μέλη του πληθυσμού των Πομάκων μιλούν την Πομακική γλώσσα, συγγενής της Βουλγαρικής με επιρροές από την Τούρκικη και την Ελληνική. Η γλώσσα των Πομάκων δεν διέθετε γραφή, δηλαδή είναι γλώσσα ομιλούμενη και όχι γραφόμενη. Για την απόδοση της πομακικής γλώσσας της πομακικής γλώσσας στον γραπτό λόγο χρησιμοποιήθηκαν γράμματα τόσο του ελληνικού όσο και του λατινικού αλφαβήτου και το 1996 εκδόθηκε ελληνο-πομακικό και πομακο-ελληνικό λεξικό και γραμματική της πομακικής γλώσσας [37]. Στην Πομακική γλώσσα διασώζονται πολλές αρχαίες ελληνικές λέξεις, πολλές θρακικές αλλά και τούρκικες λέξεις. Η Πομακική γλώσσα επίσης δεν διδάσκεται, καθώς τα σχολεία στα «Πομακοχώρια» διδάσκουν την τουρκική και την ελληνική γλώσσα [38]. Πρόσφατα η Κοινότητα των Πομάκων στην Ξάνθη ανακοίνωσε το αίτημά της να δέχεται ίση μεταχείριση και να δέχεται Ελληνική μόρφωση χωρίς την υποχρέωση της εκμάθησης της Τουρκικής γλώσσας [39]. Από την έρευνα είναι εντυπωσιακά τα στοιχεία της επιβίωσης της πομακικής γλώσσας και κουλτούρας στα χωριά αυτά. Θα περίμενε κανείς ότι οι Πομάκοι της περιοχής θα είχαν ξεχάσει τη γλώσσα και τον πολιτισμό τους. Όμως αυτό δεν ισχύει, καθώς υπάρχουν σοβαρές αντιστάσεις: σε αρκετά χωριά και η γλώσσα μιλιέται από αρκετούς χωρικούς και γίνονται προσπάθειες για διάσωση του πομακικού πολιτισμού από τους κατοίκους της περιοχής. Οι Πομάκοι ενδιαφέρονται για τις ρίζες τους αν και τα μέσα που έχουν στη διάθεσή τους για να μάθουν την ιστορία τους είναι λίγα.

1.9.4. Ο εξισλαμισμός των Πομάκων

Από τα έγγραφα της Μητροπόλεως Φιλιππούπολης, προκύπτει ότι τα μέσα του 17ου αιώνα οι πρόκριτοι των Πομάκων, για λόγους επιβίωσης αποφάσισαν ομαδικό εξισλαμισμό. Μεγάλος αριθμός χριστιανικών ναών γκρεμίστηκε, τα ερείπια των οποίων ανευρίσκονται σήμερα στα

Πομακοχώρια. Η ύπαρξη των ερειπίων αυτή αποδεικνύει ότι οι Πομάκοι ήταν Χριστιανοί.

Οι Βούλγαροι, στηριζόμενοι βασικά στο γλωσσικό τους ιδίωμα, τους διεκδικούν σαν Βούλγαρους, ενώ οι Τούρκοι, στηριζόμενοι στο γεγονός ότι είναι μουσουλμάνοι, τους θεωρούν Τούρκους. Βέβαια η κοινότητα των Πομάκων έχει κάνει πολλές προσπάθειες ώστε να ενταχθεί στον ελληνικό χώρο [40].

1.10. Μελέτες στον πληθυσμό των Πομάκων

1.10.1. Γενετικές μελέτες

Στοιχεία για την προέλευση των Πομάκων δίνει μία μελέτη που διερευνά έναν πολυμορφισμό που εμπλέκεται στο σύμπλεγμα της β-σφαιρίνης. Ο πολυμορφισμός HbO-Arab (HBB, E121K) προέκυψε πριν 2000 χρόνια περίπου σε έναν σπάνιο απλότυπο. Είναι χαρακτηριστικός του πληθυσμού των Πομάκων της Θράκης επειδή εμφανίζεται στον πληθυσμό αυτό με μεγαλύτερη συχνότητα, η οποία υπολογίζεται στο 0,0274 ($\pm 0,049$) [41]. Για τη διερεύνηση της προέλευσής της, προσδιορίστηκαν 20 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single nucleotide polymorphisms, SNPs) εκτός από τον HbO-Arab σε 52 χρωμοσώματα πομακικής προέλευσης (τα 21 έφεραν το αλληλόμορφο HbO-Arab και οι 31 όχι) και 7 χρωμοσωμάτων μη πομακικής προέλευσης (τα 2 έφεραν το αλληλόμορφο και οι 5 όχι). Τα 15 αυτών βρέθηκαν σε διαφορετικούς γενετικούς τόπους, διασκορπισμένοι στο σύμπλεγμα της β-σφαιρίνης και 5 από αυτούς δε συνδέονται με την περιοχή που απομονώθηκε. Στο σύνολο των 31 πολυμορφισμών, οι 13 σχετίστηκαν με τον ελληνικό απλότυπο VI και πομακικό απλότυπο I, που ήταν αντίστοιχα οι πιο ασυνήθιστοι ή και απόντες απλότυποι στον

ελληνικό πληθυσμό. Τα υπόλοιπα 18 φυσιολογικά χρωμοσώματα φανέρωσαν τους απλότυπους I, II και III που είναι συνήθεις στον φυσιολογικό ελληνικό πληθυσμό. Συμπερασματικά, βρέθηκε πως το 42% των φυσιολογικών χρωμοσωμάτων πομακικής προέλευσης φέρουν δύο μη συνήθεις απλότυπους στο σύμπλεγμα της β-σφαιρίνης, ο ένας εκ των οποίων σχετίζεται ισχυρά με τη μετάλλαξη HbO-Arab και το 33% των φυσιολογικών πολυμορφισμών πομακικής προέλευσης πλαισιώνονται από την αλληλουχία CCTCT, χαρακτηριστική για όλα τα αλληλόμορφα HbO-Arab. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως οι Πομάκοι αποτελούν έναν πολιτισμικά και γενετικά απομονωμένο πληθυσμό που χαρακτηρίζεται από σημαντική γενετική παρέκκλιση, η οποία εξηγείται από τη σημαντική φυσική απομόνωση και την έντονη ενδογαμία. Ο πολυμορφισμός αυτός έχει διασπαρθεί στη λεκάνη της Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής με μικρές παραλλαγές στην αλληλουχία του [42].

1.10.2. Μελέτες επιπολασμού χρόνιων νοσημάτων για τον πληθυσμό των Πομάκων

Μελέτη που διεξήχθη στο Κέντρο Υγείας (Κ.Υ.) Εχίνου διερευνήσε τον επιπολασμό ορισμένων χρόνιων νοσημάτων σε τρεις κοινότητες περιοχής ευθύνης του Κέντρου Υγείας, με διαφορετική σύνθεση πληθυσμού. Οι τρεις περιοχές ήταν: τα Κιμμέρια (αστική περιοχή με μικρό πληθυσμό), ο Εχίνος (ημιαστική περιοχή με Μουσουλμανικό πληθυσμό) και οι Θέρμες (ορεινή περιοχή με Μουσουλμανικό πληθυσμό). Για τη συλλογή των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν τα σελέχνη των συνταγολογίων των προσερχόμενων στο Κ.Υ. και στα περιφερειακά ιατρεία Θερμών και Κιμμερίων για διάστημα τριών μηνών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι επί συνόλου πληθυσμού 7251 ατόμων, καταγράφηκαν 1986 πάσχοντες (23,25%). Διερευνήθηκαν τα κυριότερα χρόνια νοσήματα: ψυχικά, στεφανιαία νόσος, υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και πνευμονοπάθειες [43]. Τα αποτελέσματα της μελέτης επιπολασμού φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3: Αποτελέσματα μελέτης επιπολασμού χρόνιων νοσημάτων σε τρεις περιοχές ευθύνης του Κέντρου Υγείας Εχίνου. (Χ.Π.: Χρόνιων πασχόντων, Γ.Π.: Γενικού πληθυσμού) [43]

ΝΟΣΟΣ	ΕΧΙΝΟΣ ΜΕΛΟΙΒΙΑ			ΚΙΜΜΕΡΙΑ			ΚΟΙΝ. ΘΕΡΜΩΝ		
		Χ.Π.	Γ.Π.		Χ.Π.	Γ.Π.		Χ.Π.	Γ.Π.
	ΣΥΝΟΛΟ	946	2853	ΣΥΝΟΛΟ	597	3222	ΣΥΝΟΛΟ	143	1176
	ΑΤΟΜΑ	Χ.Π.%	Γ.Π.%	ΑΤΟΜΑ	Χ.Π.%	Γ.Π.%	ΑΤΟΜΑ	Χ.Π.%	Γ.Π.%
ΨΥΧΙΚΕΣ	189	19,98	6,62	81	13,57	2,51	12	8,39	1,02
ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ	96	10,15	3,36	89	14,91	2,76	18	12,59	1,53
ΥΠΕΡΤΑΣΗ	430	45,45	15,07	353	59,13	10,96	37	25,87	3,15
ΣΑΚΧ. ΔΙΑΒΗΤΗΣ	105	11,1	3,68	108	18,09	3,35	33	23,08	2,81
Α.Ε.Ε.	39	4,12	1,37	29	4,86	0,9	5	3,5	0,43
ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΕΣ	27	2,85	0,95	37	6,2	1,15	4	2,8	0,34

Συμπερασματικά, στην περιοχή του Εχίνου τα ποσοστά των ψυχικών νοσημάτων, της στεφανιαίας νόσου και της υπέρτασης στο σύνολο των γενικού πληθυσμού ήταν υψηλότερα σε σχέση με την περιοχή των Θερμών και χαμηλότερα σε σύγκριση με την περιοχή των Κιμμερίων. Το ποσοστό του σακχαρώδη διαβήτη ήταν όμοιο και στις τρεις περιοχές, με ελαφρώς υψηλότερο ποσοστό στην περιοχή των Θερμών, ενώ το ποσοστό των πνευμονοπαθειών ήταν ελαφρώς αυξημένο στα Κιμμέρια [43].

1.10.3. Άλλες μελέτες

Μελέτη ερευνητών από το νομό Ξάνθης θέλησαν να συγκρίνουν την επίπτωση νόσων όπως το Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο (Α.Ε.Ε.) μεταξύ του πληθυσμού των Χριστιανών και Μουσουλμάνων στην Βόρεια Ξάνθη. Παρατήρησαν πως η έρευνα που αφορά τον πληθυσμό των Μουσουλμάνων παγκοσμίως είναι περιορισμένη και ως αποτέλεσμα δεν μπορεί να εξαχθεί κάποιο συμπέρασμα όσον αφορά στις φυλετικές διαφορές τους από τον υπόλοιπο πληθυσμό. Η περιοχή της Ξάνθης, χαρακτηρίζεται από μίξη του πληθυσμού των Μουσουλμάνων (Πομάκων και μη) και Χριστιανών, και θεωρείται κατάλληλη για μία τέτοιου τύπου

μελέτη. Στόχος λοιπόν της μελέτης ήταν η ανίχνευση πιθανών διαφορών στον τύπο, επίπτωση, ηλικία έναρξης, στην εξέλιξη και στους παράγοντες κινδύνου του Α.Ε.Ε. στον μικτό πληθυσμό της Ξάνθης.

Ο πληθυσμός της Ξάνθης, όπως μετρήθηκε στην Απογραφή του 2001 αποτελείται από 99.607 άτομα, το 52.81% των οποίων είναι Χριστιανοί και το 47.19% Μουσουλμάνοι. Η κατανομή τους ως προς το φύλο είναι γυναίκες: άνδρες, 49.54%:50.46% [44, 45]. Χρησιμοποιήθηκε δείγμα 530 ατόμων, πασχόντων από Α.Ε.Ε. Επιλέχθηκαν άτομα με πρώτη εμφάνιση εγκεφαλικού που νοσηλεύτηκαν στο τοπικό Νοσοκομείο στο χρονικό διάστημα μεταξύ 1998 και 2002. Στα δεδομένα που καταγράφηκαν συμπεριλαμβανόταν ιατρικό ιστορικό (υπέρταση, επίπεδα γλυκόζης, γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, υπερλιπιδαιμίας κτλ), και πληροφορίες για τις καπνιστικές συνήθειες, προηγούμενη καρδιακή ανεπάρκεια, έμφραγμα μυοκαρδίου ή κολπική μαρμαρυγή, προηγούμενο Α.Ε.Ε.

Πίνακας 2: Δημογραφικά δεδομένα και κύρια περιγραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης (mean $\pm$ -SD) [42]

Variable	True population	No. cases	Age of onset
Total	99 607	530	70.14 $\pm$ 10.71
Christians total	52 602	366	71.43 $\pm$ 10.88
Ischemic		325	71.69 $\pm$ 10.88
Hemorrhagic		41	69.33 $\pm$ 10.78
Christian men	26 059	192	71.91 $\pm$ 11.43
Ischemic		168	71.74 $\pm$ 11.68
Hemorrhagic		24	73.09 $\pm$ 9.61
Christian women	26 543	174	70.89 $\pm$ 10.24
Ischemic		157	71.63 $\pm$ 9.99
Hemorrhagic		17	73.09 $\pm$ 9.61
Muslims total	47 005	164	67.27 $\pm$ 9.77
Ischemic		134	66.93 $\pm$ 9.93
Hemorrhagic		30	73.09 $\pm$ 9.61
Muslim men	23 286	84	66.43 $\pm$ 9.00
Ischemic		69	66.49 $\pm$ 8.73
Hemorrhagic		15	66.13 $\pm$ 10.47
Muslim women	23 719	80	68.16 $\pm$ 10.51
Ischemic		65	68.26 $\pm$ 10.78
Hemorrhagic		15	67.73 $\pm$ 9.66

Τα αποτελέσματα έδειξαν μία υψηλότερη συχνότητα ΑΕΕ στον χριστιανικό πληθυσμό ($p=0.0486$). Όσον αφορά στην ηλικία έναρξης, ο πληθυσμός των Μουσουλμάνων φάνηκε να προηγείται, και κυρίως η ομάδα των ανδρών. Όσον αφορά στη συχνότητα του ΑΕΕ, φάνηκε να είναι χαμηλότερη στον πληθυσμό των Μουσουλμάνων, κυρίως στον αριθμό των ισχαιμικών επεισοδίων. Δεν φάνηκε κάποια διαφορά στη συχνότητα των αιμορραγικών επεισοδίων. Παρατηρήθηκε πως οι Μουσουλμάνοι που έπασχαν από ΑΕΕ εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα συστολικής ($p=0.037$) και διαστολικής πίεσης ($p=0.025$) κατά το πρώτο 48ωρο εισαγωγής τους σε σχέση με την άλλη ομάδα, παρόλο που υπήρχαν σημαντικές ομοιότητες στο ιστορικό υπέρτασης. Αντιθέτως, σακχαρώδης διαβήτης και κολπική μαρμαρυγή εμφανίστηκαν λιγότερο συχνά στους Μουσουλμάνους ($p=0.019$, $p<0.001$ αντίστοιχα). Οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου απέτυχαν να δείξουν κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη θρησκεία.

Συμπερασματικά, οι Μουσουλμάνοι της Θράκης εμφανίζουν ΑΕΕ σε χαμηλότερη συχνότητα σε σύγκριση με τους Χριστιανούς που κατοικούν στην ίδια περιοχή. Όταν συγκρίνονται οι Μουσουλμάνοι της Ξάνθης (87 περιστατικά ΑΕΕ/100.000/χρόνο) με αυτούς άλλων περιοχών, όπως αυτών που κατοικούν στην Τουρκία (137 περιστατικά/ 100.000/χρόνο) [46] φαίνεται πως πάσχουν από ΑΕΕ σε χαμηλότερη συχνότητα και μάλιστα χαμηλότερη και από αυτή του παγκόσμιου πληθυσμού [47]. Αντίθετα, η χριστιανική κοινότητα εμφάνισε παρόμοια ποσοστά με τον πληθυσμό της Αθήνας [48]. Σημειωτέον είναι επίσης ότι τόσο οι Πομάκοι όσο και οι Τουρκικής Καταγωγής Μουσουλμάνοι της Θράκης εμφάνισαν ηλικία έναρξης ΑΕΕ περίπου 5 έτη πριν τους Μουσουλμάνους της Τουρκίας, επομένως μπορούμε να συμπεράνουμε πως κάποιος κοινός επιγενετικός παράγοντας είναι υπεύθυνος για την διαφοροποίηση αυτή [42, 49].

Κάποιες πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά της Μουσουλμανικής κοινότητας που ίσως να δικαιολογούν τα χαμηλότερα ποσοστά σακχαρώδους διαβήτη και κολπικής μαρμαρυγής είναι ίσως ο τρόπος

ζωής τους, που ευνοεί την φυσική δραστηριότητα και τη χειρωνακτική εργασία, παρόλο που στην κουζίνα τους η κατανάλωση κορεσμένου λίπους φαίνεται υψηλή.

Οι ερευνητές παρατήρησαν πως η αρτηριακή υπέρταση είναι σημαντικότετος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΑΕΕ και πως η ηλικία εμφάνισης ΑΕΕ στους Μουσουλμάνους ήταν χαμηλότερη καθώς και τα σημαντικά αυξημένα επίπεδα συστολικής και διαστολικής πίεσης στο πρώτο 48ωρο. Συμπέραναν λοιπόν πως πιθανώς το φαινόμενο αυτό να οφείλεται σε λανθάνουσα αυξημένη αρτηριακή πίεση.

Μία υπόθεση των ερευνητών είναι πως αυτό μπορεί να οφείλεται στα υψηλότερα ποσοστά κατάθλιψης που εμφανίζεται στον Μουσουλμανικό πληθυσμό, ειδικά μεταξύ των γυναικών [50, 51]. Παρατηρήθηκαν επίσης υψηλότερα ποσοστά κατάθλιψης αλλά και αυτοκτονικών τάσεων στον αριθμό των ασθενών του Γενικού Νοσοκομείου Ξάνθης. Συγκεκριμένα, από αδημοσίευτα δεδομένα [52] φαίνεται πως το ποσοστό σοβαρής κατάθλιψης στον πληθυσμό των Χριστιανών είναι 44/100.000/χρόνο ενώ το ποσοστό αυτό για τον πληθυσμό των Μουσουλμάνων είναι 83/100.000/χρόνο, δηλαδή σχεδόν το διπλάσιο. Πιθανώς η ύπαρξη κατάθλιψης σε μεγαλύτερο κομμάτι του πληθυσμού να δικαιολογεί κάποια αμέλεια διερεύνησης της ύπαρξης ή αντιμετώπισης της υπέρτασης.

Άλλες διαφορές μεταξύ των δύο πληθυσμών που μελετήθηκαν είναι το επίπεδο μόρφωσης, καθώς ένα πολύ σημαντικό κομμάτι του Μουσουλμανικού πληθυσμού παραμένει ανεκπαιδευτο. Σημαντική διαφορά είναι η επαγγελματική απασχόληση, καθώς το μεγαλύτερο μέρος των Μουσουλμάνων ασχολούνται με τη γεωργία, την κτηνοτροφία και την χειρωνακτική εργασία αλλά και η οικονομική κατάσταση, που είναι χαμηλότερη στους Μουσουλμάνους. Έχει προταθεί πως το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο αλλά και το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο είναι αρνητικοί παράγοντες στη συχνότητα και σοβαρότητα του ΑΕΕ [53]. Τέλος, οι Μουσουλμάνοι λόγω των αυστηρών θρησκευτικών πεποιθήσεών

τους, το γεωγραφικά απομονωμένο περιβάλλον στο οποίο κατοικούν, διαφορές στη γλώσσα και προβλήματα επικοινωνίας εμφανίζουν διαφορετική προσκόλληση στη φαρμακευτική αγωγή τους.

Βέβαια η μελέτη αυτή δεν διαχώρισε τη φυλή των Πομάκων από τους Τουρκικής Καταγωγής Μουσουλμάνους, γεγονός που αποτελεί περιορισμό της μελέτης αλλά και της σημασίας της στην ερμηνεία των ιδιαιτεροτήτων της φυλής των Πομάκων.

1.11. Παράγοντες Κινδύνου χρόνιων νοσημάτων

1.11.1. Ορισμός

Με τον όρο «Παράγοντας κινδύνου» ορίζεται κάθε χαρακτηριστικό που συμβαίνει πριν και συν-διακυμαίνεται με τη συχνότητα της νόσου [54]. Κατά συνέπεια ένας παράγοντας κινδύνου μπορεί να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα ενός νοσήματος («αιτία») ή να συσχετίζεται πλασματικά με αυτό, χωρίς να έχει οποιαδήποτε αιτιολογική σημασία [55].

1.11.2. Κατηγοριοποίηση παραγόντων κινδύνου

Οι παράγοντες κινδύνου για χρόνια νοσήματα διακρίνονται σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους. Στην κατηγορία των μη τροποποιήσιμων παραγόντων κινδύνου ανήκουν το φύλο, η φυλή, η ηλικία, το γενετικό υπόβαθρο και το οικογενειακό ιστορικό.

Στους τροποποιήσιμους παράγοντες συμπεριλαμβάνονται:

- Οι κλινικοί παράγοντες, όπως παχυσαρκία, υπερλιπιδαιμία, υπέρταση, υπεργλυκαιμία,
- Οι συμπεριφοριστικοί παράγοντες, όπως οι διατροφικές συνήθειες, η φυσική δραστηριότητα, το κάπνισμα,
- Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως το οικογενειακό, εργασιακό, πολιτικό, σχολικό περιβάλλον κτλ. αλλά και οι
- Ψυχολογικοί παράγοντες, όπως το άγχος, το στρες κτλ.

Όπως είδαμε και παραπάνω, στη μελέτη επιπολασμού που έγινε για τον πληθυσμό των Πομάκων [43], τα κύρια χρόνια νοσήματα είναι τα εξής:

1. Στεφανιαία νόσος

2. Υπέρταση
3. Σακχαρώδης Διαβήτης
4. Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο
5. Πνευμονοπάθειες
6. Ψυχικές Διαταραχές

Παρακάτω, με μία σύντομη βιβλιογραφική ανασκόπηση θα εξετάσουμε τους κύριους παράγοντες κινδύνου, περιβαλλοντικούς, συμπεριφοριστικούς, κλινικούς, τροποποιήσιμους και μη, για τα χρόνια αυτά νοσήματα.

1.11.2.1. Στεφανιαία νόσος

Στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για την Ελλάδα δείχνουν πως η στεφανιαία νόσος αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου, τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες [56].

Συνοπτικά, οι κύριοι προδιαθεσικοί παράγοντες κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο είναι [57-60]

- Τα αυξημένα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης ορού αίματος
- Το κάπνισμα (>9 τσιγάρα ημερησίως)
- Η αρτηριακή υπέρταση (>140/90mmHg ή η λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων)
- Χαμηλή HDL χοληστερόλη (<40mg/dl). HDL>60mg/dl θεωρείται αρνητικός παράγοντας κινδύνου.
- Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου (σε 1^ο βαθμού συγγενή άνδρα <55 ετών ή γυναίκα <65 ετών)
- Ηλικία (άνδρες>45 ετών, γυναίκες >55 ετών)
- Η μειωμένη φυσική δραστηριότητα-καθιστική ζωή
- Ο Δείκτης Μάζας Σώματος

- Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.

1.11.2.2. Υπέρταση

Αριθμός μελετών δείχνει πως η συχνότητα της υπερχοληστερολαιμίας και άλλων μεταβολικών ανωμαλιών είναι μεγαλύτερη σε υπερτασικούς σε σχέση με νορμοτασικούς. Ο συνδυασμός πολλαπλών παραγόντων κινδύνου αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο στα άτομα με υπέρταση.

Κάποιες καταστάσεις και συνήθειες που συσχετίζονται σημαντικά με την εμφάνιση υπέρτασης είναι οι παρακάτω [61]:

- Ο Δείκτης Μάζας Σώματος
- Η Υπερχοληστερολαιμία
- Υπεργλυκαιμία
- Ηλικία-φύλο (άνδρες>γυναίκες)
- Καθιστική ζωή
- Κάπνισμα
- Διατροφικές συνήθειες (υψηλή κατανάλωση νατρίου, μειωμένη κατανάλωση καλίου και ασβεστίου, αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών, αυξημένη κατανάλωση οινοπνευματωδών ποτών)
- Οικογενειακό ιστορικό
- Στρες

1.11.2.3. Σακχαρώδης διαβήτης

Πολλοί παράγοντες κινδύνου για τον μη ινσουλινο-εξαρτώμενο διαβήτη έχουν ανιχνευτεί, όπως:

- Η παχυσαρκία
- Η καθιστική ζωή
- Η διαίτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος.

Ακόμη, μεταβολικές ανωμαλίες όπως η ινσουλινοαντίσταση και η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη αυξάνουν τον κίνδυνο για εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη και μπορούν να βελτιωθούν μέσω της αλλαγής της συμπεριφοράς (βελτίωση διατροφικών συνηθειών και αύξηση φυσικής δραστηριότητας) και τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής [62].

1.11.2.4. Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

Οι πιο σημαντικοί τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου για ΑΕΕ είναι:

- η υπέρταση (εξηγεί το 35-50% του κινδύνου για ΑΕΕ) [63]
- η κοιλιακή μαρμαρυγή (ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή εμφανίζουν κάθε χρόνο κίνδυνο 5% για να αναπτύξουν ΑΕΕ) [64].

Τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης [65], ο σακχαρώδης διαβήτης [66], το κάπνισμα (παθητικό και μη) [67], η έντονη κατανάλωση αλκοόλ [68], η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, η παχυσαρκία, η κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών [69].

1.11.2.5. Χρόνιες ασθένειες του αναπνευστικού

Στον όρο «χρόνιες ασθένειες του αναπνευστικού» συμπεριλαμβάνονται παθήσεις των αεραγωγών και άλλων δομών των πνευμόνων. Μερικές από τις πιο συνηθισμένες είναι το άσθμα, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ), αλλεργίες του αναπνευστικού, ασθένειες των πνευμόνων που οφείλονται στο εργασιακό περιβάλλον, η πνευμονική υπέρταση.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για χρόνιες πνευμονοπάθειες είναι το κάπνισμα, η αστική ρύπανση της ατμόσφαιρας, τα αλλεργιογόνα, η έκθεση σε αέρια

από στερεά καύσιμα και η έκθεση σε αερομεταφερόμενα σωματίδια στο εργασιακό περιβάλλον [70].

1.11.2.6. Ψυχικές Διαταραχές

Η περιγραφή της αιτιολογίας των ψυχικών διαταραχών είναι πολύ σύνθετη λόγω της πολύ μεγάλης ποικιλομορφίας. Κληρονομικότητα, τραύμα, λήψη φαρμακευτικών ουσιών, ασθένεια ή τραυματισμός, κοινωνία και κουλτούρα είναι όλοι παράγοντες που συνεισφέρουν στην εμφάνιση και ανάπτυξη των ψυχικών διαταραχών. Η πιο συχνή άποψη είναι ότι οι διαταραχές αυτές τείνουν να προέρχονται από γενετικές προδιαθέσεις και περιβαλλοντικούς στρεσογόνους παράγοντες.

- Το stress είναι ένας από τους κύριους παράγοντες κινδύνου που μπορούν να πυροδοτήσουν ψυχικές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένου του χρόνιου άγχους και της κατάθλιψης [71].
- Μελέτες διδύμων [72] έχουν δείξει πως η γενετική προδιάθεση παίζει έναν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ψυχικών διαταραχών. Οι μελέτες πάνω στη γενετική προδιάθεση των ψυχικών διαταραχών διερευνούν κυρίως την αλληλεπίδραση γονιδίων και ενδοφαινοτύπων [73] (νευροφυσιολογικοί, βιοχημικοί, ενδοκρινικών, συμπεριφορικών κτλ) και όχι τόσο με τις κατηγορίες των ασθενειών. Για τη σχιζοφρένεια για παράδειγμα έχουν ταυτοποιηθεί συγκεκριμένα υπεύθυνα γονίδια, στα οποία όμως δεν θα αναφερθούμε με λεπτομέρεια.
- Η εγκυμοσύνη και η γέννα έχουν επίσης συνδεθεί με αυξημένη πιθανότητα κάποιας ψυχικής διαταραχής του παιδιού. Η έκθεση σε αλκοόλης ή κοκαΐνης κατά την κύηση, οι διαταραχές της κύησης, η υποθρεψία της μητέρας πιθανώς να επηρεάζουν συγκεκριμένες περιοχές νευρώνων. Άτομα με αναπτυξιακές δυσκολίες, όπως η διανοητική υστέρηση, έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν κάποια ψυχική διαταραχή [74].

- Τα ιδιαίτερα νοητικά χαρακτηριστικά του ατόμου, όπως ο τρόπος που ένα άτομο αντιλαμβάνεται τα εξωτερικά του ερεθίσματα ή η προσωπικότητα του ατόμου και ο τρόπος που αντιμετωπίζει τις καταστάσεις έχουν επίσης συνδεθεί με την ανάπτυξη ψυχικών διαταραχών [75]. Τα διαταραγμένα επίπεδα της ντοπαμίνης, η μειωμένη έκκριση σεροτονίνης και άλλων νευροδιαβιβαστών είναι στοιχεία που εμφανίζονται σε αριθμό ψυχικών διαταραχών και επηρεάζονται συχνά από τον τρόπο που ένα άτομο κωδικοποιεί τα σημαντικά γεγονότα του εξωτερικού του περιβάλλοντος [76]. Κακομεταχείριση κατά την παιδική ηλικία αλλά και την ενήλικη ζωή, η ενδοοικογενειακή βία, η σεξουαλική κακοποίηση αλλά και η συναισθηματική κακοποίηση έχουν συνδεθεί με την ανάπτυξη ψυχικών διαταραχών [77].
- Προβλήματα στις κοινότητες και την κουλτούρα, όπως η πενία, η ανεργία, η έλλειψη κοινωνικοποίησης, η μετανάστευση έχουν συσχετισθεί με την ανάπτυξη ψυχικών διαταραχών [78]. Το στρες που πηγάζει από το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, την έλλειψη εκπαίδευσης, τον κοινωνικό ρατσισμό επιδεινώνουν την ευαισθησία και τον κίνδυνο [79].
- Συσχετίσεις μεταξύ κατανάλωσης συγκεκριμένων ουσιών και αυξημένο κίνδυνο για ψυχικές διαταραχές συμπεριλαμβάνουν την κάνναβη [80], το αλκοόλ [81] και την καφεΐνη [82].

ΜΕΡΟΣ 2^ο : ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μελέτης είναι η ανάδειξη της γενετικής ομοιογένειας του πληθυσμού των Πομάκων και η επιβεβαίωση της γενετικής του απομόνωσης. Ακόμη, σκοπός είναι η μελέτη ορισμένων χαρακτηριστικών φαινοτύπου του πληθυσμού των Πομάκων, όπως τα ανθρωπομετρικά δεδομένα και το κλινικό ιστορικό. Επιπρόσθετα, η μελέτη στοχεύει στην ανάδειξη των χαρακτηριστικών του τρόπου ζωής και του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου που διαμορφώνουν τις ιδιαιτερότητες του πληθυσμού αυτού.

3.1. Πληθυσμός και Δείγμα της Μελέτης

Η μελέτη HELIC (Hellenic Isolates Cohort) μελέτησε δύο πληθυσμούς γεωγραφικά και γενετικά απομονωμένους στην περιοχή της Ελλάδας. Ο ένας αυτός βρίσκεται στα χωριά του Ορεινού Μυλοπόταμου στην Κρήτη και ο άλλος είναι ο πληθυσμός των Πομάκων στα χωριά της Ροδόπης, στη Θράκη. Στη συγκεκριμένη διατριβή θα ασχοληθούμε μόνο με τον πληθυσμό των Πομάκων της Θράκης και συγκεκριμένα με 1195 εθελοντές.

Έγκριση για την πραγματοποίηση της μελέτης HELIC λήφθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και από τη Διοίκηση του Γενικού Νοσοκομείου Ξάνθης, στην οποία υπάγεται το Κέντρο Υγείας Εξίνου.

Δείγμα του προς μελέτη πληθυσμού λήφθηκε από 21 χωριά στην ορεινή περιοχή της Ροδόπης. Δίδεται παρακάτω λίστα των χωριών καταγωγής των εθελοντών καθώς και αριθμός των ατόμων από το κάθε ένα χωριό:



Πίνακας 4: Αριθμός ατόμων του δείγματος από κάθε χωριό, ποσοστό επί του συνόλου των κατοίκων.

Χωριό προέλευσης	Αριθμός ατόμων	Μόνιμος πληθυσμός (απογραφή 2001)	Ποσοστό (%)
Κένταυρος	426	2313	18.42
Εχίνος	234	2221	10.54
Γλαύκη	181	1181	15.33
Μύκη	77	1095	7.03
Μελίβοια	52	632	8.23
Θέρμες	39	621	6.28
Δημάριο	37	632	5.85
Κοτύλη	32	456	7.02
Σάτρες	30	541	5.55
Πάχνη	27	1193	2.26
Μέδουσα	11	311	3.54
Ωραϊόν	9	718	1.25
Αιμόνιο	7	150	4.67
Προσήλιο	2	150	1.33
Μάνταινα	1	280	0.36
Κύκνος	1	249	0.40
Κιμμέρια (δεν ανήκει στα Πομακοχώρια)	1	3222	0.03
Κοτάνη	1	43	2.33
Χρυσό	1	113	0.88
Αιώρα	1	238	0.42
Γοργόνα	1	205	0.49
Δεν καταγράφηκε η καταγωγή	24		

Ο πληθυσμός στόχος της μελέτης ήταν άνδρες και γυναίκες, ηλικίας άνω των 18 ετών.

Σύμφωνα με την απογραφή του 2011 ο μόνιμος πληθυσμός του Δήμου Μύκης, στον οποίο ανήκουν τα Πομακοχώρια είναι 15.530, 7.710 εκ των οποίων άρρενες και 7.820 θήλεις. 1197 εθελοντές συμμετείχαν στη μελέτη μέχρι το τέλος του 2011- οι 844 από αυτούς ήταν γυναίκες και οι

347 άνδρες- δηλαδή περίπου το 7,08% του πληθυσμού του Δήμου Μύκης.

Η συμμετοχή των ατόμων στη μελέτη ήταν εθελοντική, ύστερα από ενυπόγραφη συναίνεσή τους.

Η συλλογή δείγματος έγινε αρχικά στο Κέντρο Υγείας Εχίνου, από τον Ιούλιο του 2010 έως τον Μάιο του 2011. Άτομα που επισκέπτονταν το Κέντρο Υγείας Εχίνου είχαν καταγωγή από όλα τα παραπάνω χωριά. Από τον Ιούνιο έως τον Δεκέμβριο του 2011 οργανώθηκαν εξορμήσεις στα χωριά Μύκη, Κένταυρο και Γλαύκη. Για τις εξορμήσεις έγινε χρήση του Περιφερειακού Ιατρείου του εκάστοτε χωριού. Η προσέλκυση των εθελοντών γινόταν από τα άτομα της ερευνητικής ομάδας της μελέτης τα οποία είχαν ως έδρα ένα ξεχωριστό δωμάτιο/γραφείο μέσα στο χώρο του Κέντρου Υγείας. Για την οργάνωση των εξορμήσεων, αρχικά ειδοποιούνταν ο εφημερεύων ιατρός του εκάστοτε περιφερειακού ιατρείου ώστε να διαπιστωθεί η διαθεσιμότητα του ιατρείου. Στη συνέχεια με την ανάρτηση ανακοινώσεων ειδοποιούνταν ο πληθυσμός του χωριού για την πραγματοποίηση της εξόρμησης.

3.2. Ερευνητική ομάδα

Συγκεκριμένα στην ερευνητική ομάδα της μελέτης συμμετείχαν συνολικά 6 άτομα. Για τη συλλογή δείγματος, την επεξεργασία και αποθήκευση των βιολογικών δειγμάτων και της αρχειοθέτησης των ερωτηματολογίων συμμετείχαν 2 απόφοιτοι και 3 φοιτητές του τμήματος Επιστήμης και Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Στις αρμοδιότητές τους ήταν η λήψη του ερωτηματολογίου, των ανθρωπομετρικών δεδομένων, της αρτηριακής πίεσης καθώς και η ο διαχωρισμός των βιολογικών δειγμάτων σε ορό, πλάσμα και λευκά κύτταρα. Συμμετείχε ακόμη ένας Τεχνολόγος Ιατρικών εργαστηρίων, υπεύθυνος για την αιμοληψία, την επεξεργασία των βιολογικών δειγμάτων και την εξαγωγή των αιματολογικών εξετάσεων.

3.3. Κωδικοποίηση

Όλοι οι εθελοντές της μελέτης έλαβαν έναν μοναδικό επταψήφιο κωδικό. Στο πρώτο μέρος του κωδικού-ταυτότητας του κάθε εθελοντή υπήρχαν τα γράμματα HP, αρκτικόλεξα του **HELIC POMAKOCHORIA**. Ακολουθεί ο αριθμός 0001-1197 και στο τέλος του κωδικού προστίθεται η κατάληξη - 0 ή -1, που καθορίζει το φύλο του κάθε ατόμου. Ο αριθμός 0 αντιστοιχεί στις γυναίκες και ο 1 στους άνδρες. Η τελική μορφή του κωδικού είναι HP0001-1, HP0002-0, κτλ. Όλα τα δεδομένα, ερωτηματολόγιο, αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις, δείγματα ορού, πλάσματος, λευκών αιμοσφαιρίων και DNA έφεραν την ίδια κωδικοποίηση. Όλα τα ηλεκτρονικά αρχεία περιέχουν τον κωδικό του κάθε εθελοντή και όχι το όνομά του και τα προσωπικά του στοιχεία. Όλα τα προσωπικά στοιχεία των εθελοντών (ονοματεπώνυμο, ημερομηνία γέννησης) είναι απόρρητα, για την προστασία της ταυτότητας των εθελοντών.

3.4. Ανθρωπομετρία

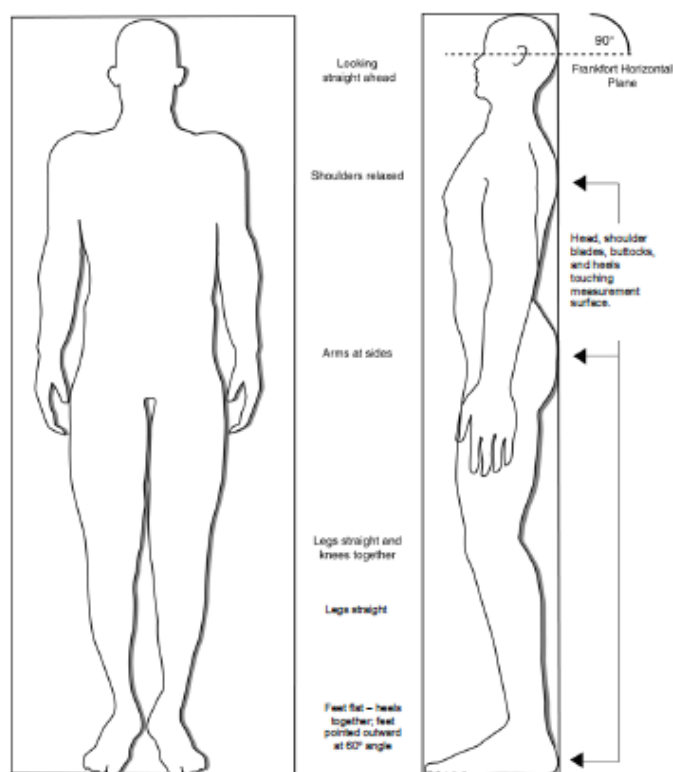
Για τη μέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών ζητήθηκε από τους εθελοντές να απαλλαγούν από τον βαρύ ρουχισμό και να αφαιρέσουν τα υποδήματά τους.

3.4.1. Σωματικό Βάρος

Το σωματικό βάρος μετρήθηκε με αναλογικό ζυγό. Ακολουθήθηκαν οι οδηγίες για τη μέτρηση του σωματικού βάρους: ο ζυγός πρέπει να βρίσκεται σε οριζόντια επιφάνεια και πριν τη μέτρηση να δείχνει ένδειξη ίση με το μηδέν. Ζητείται από τον εθελοντή να ανέβει στο ζυγό, με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια, και να παραμείνει ακίνητος. Καταγράφεται η μέτρηση [83].

3.4.2. Όρθιο και Καθήμενο ύψος

Όρθιο ύψος: Η μέτρηση γίνεται μετά από τοποθέτηση του εθελοντή σε οριζόντια πλατφόρμα, με την πλάτη να βρίσκεται σε κάθετη θέση, χωρίς παπούτσια, με τις πτέρνες ενωμένες, τα γόνατα ίσια, τους ώμους χαλαρούς και τις παλάμες να ακουμπούν στους μηρούς. Οι πτέρνες, οι γλουτοί, το θωρακικό κύρτωμα της σπονδυλικής στήλης και η οπίσθια επιφάνεια του κρανίου εφάπτονταν στον κατακόρυφο άξονα του αναστημόμετρου. Επίσης, ζητείται από τους εξεταζόμενους να τοποθετήσουν το κεφάλι τους στη θέση Frankfort Horizontal Plane, δηλαδή σε θέση ώστε η ευθεία γραμμή μεταξύ του χαμηλότερου σημείου του οφθαλμικού κόγχου και της χονδρικής προβολής μπροστά από το εξωτερικό άνοιγμα του πτερυγίου του αυτιού να είναι οριζόντια [84]. Σε αυτή τη θέση οι εξεταζόμενοι έπαιρναν μία αργή και βαθιά εισπνοή ώστε να εκταθεί η σπονδυλική στήλη. Τέλος, γίνεται η μέτρηση του ύψους σε εκατοστά (cm) [83].



Εικόνα 3: Θέση εξεταζόμενου κατά τη μέτρηση του όρθιου ύψους[85]

Καθήμενο ύψος: Το καθήμενο ύψος είναι η μέγιστη απόσταση από την κορυφή του κεφαλιού έως την επιφάνεια της καρέκλας στην οποία κάθεται ο εξεταζόμενος. Ο εθελοντής κάθεται σε οριζόντια καρέκλα γνωστού ύψους, με τα χέρια ακουμπισμένα πάνω στους μηρούς και την πλάτη σε όρθια, ευθεία στάση. Ζητείται από τον εθελοντή να πάρει μία βαθειά αναπνοή και τη στιγμή της μέγιστης εισπνοής μετράται το ύψος με τη χρήση ενός οργάνου με γωνιακό σχήμα που τοποθετείται στην κορυφή του κεφαλιού το εξεταζόμενου [86].

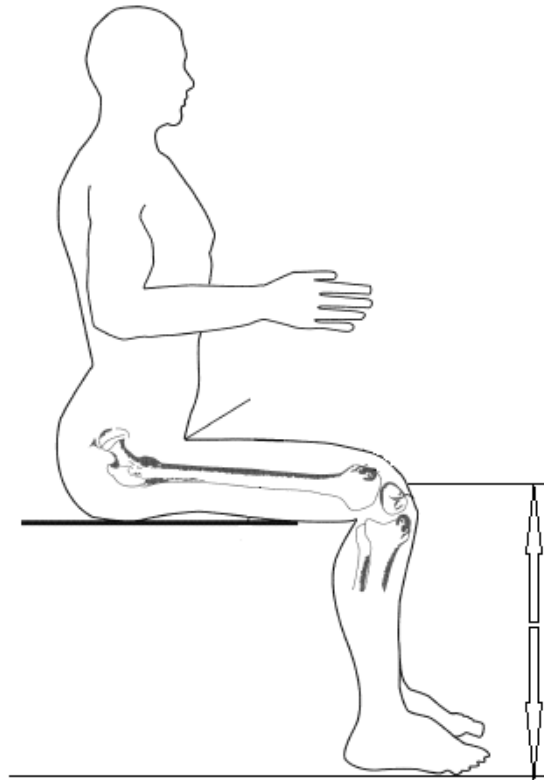
3.4.3. Δείκτης Μάζας Σώματος

Σύμφωνα με τις τιμές του βάρους και του όρθιου ύψους που μετρήθηκαν σε κάθε εθελοντή, υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), ο οποίος ορίζεται ως εξής: $\Delta\text{Μ}\Sigma = \text{Σωματικό βάρος (kg)} / \text{Υψος}^2 \text{ (m}^2\text{)}$.

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος αποτελεί έναν εύχρηστο δείκτη αξιολόγησης του σωματικού βάρους ανάλογα με το ύψος και κατάταξης του κάθε εθελοντή στην κατηγορία λιποβαρών, ατόμων με φυσιολογικό βάρος, υπέρβαρων και παχύσαρκων.

3.4.4. Απόσταση γονάτου από το πάτωμα

Καθώς ο εθελοντής βρίσκεται σε καθιστή θέση, του ζητείται να διατηρήσει τα πόδια του σε θέση ώστε τόσο το γόνατο όσο και ο αστράγαλος να βρίσκονται σε γωνία 90 μοιρών. Η απόσταση γονάτου από το πάτωμα μετράται με τη χρήση μη ελαστικής βαθμονομημένης ταινίας από το κέντρο του γονάτου ως τη φτέρνα του εξεταζόμενου.



Εικόνα 4: Θέση εξεταζόμενου κατά τη μέτρηση του ύψους γονάτου [85]

3.4.5. Περιφέρεια κεφαλής

Με τη χρήση μιας μεζούρας μετράται και η περιφέρεια κεφαλής. Το ύψος της κεφαλής στο οποίο γίνεται η μέτρηση είναι στην περιοχή πάνω από τα αυτιά, στο ύψος των φρυδιών, στην κορυφή της ινιακής περιοχής [83].



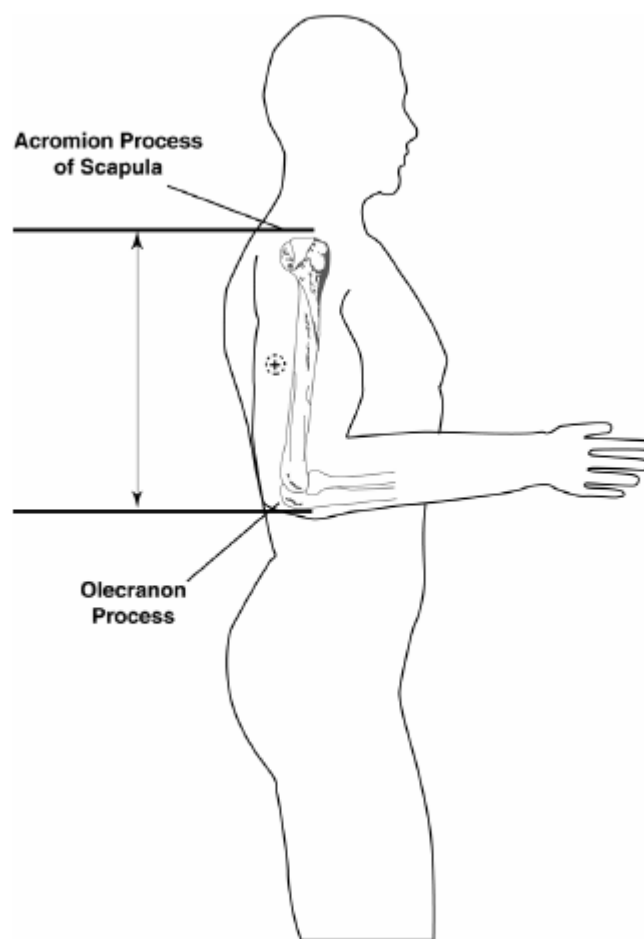
Εικόνα 5: Ύψος τοποθέτησης της μεζούρας για τη μέτρηση της περιφέρειας κεφαλής[85]

3.4.6. Περιφέρεια καρπού

Ζητείται από τον εξεταζόμενο να σηκώσει ελαφρώς το χέρι του και να απαλλαγεί από τον ρουχισμό στην περιοχή του καρπού. Ο εξεταστής με τη χρήση μεζούρας μετρά την περιφέρεια του καρπού.

3.4.7. Περιφέρεια μέσου βραχίονα

Ο εξεταζόμενος στέκεται σε όρθια θέση με τα πόδια ενωμένα και το δεξί χέρι σε θέση τέτοια ώστε να σχηματίζει γωνία 90 μοιρών στον αγκώνα, με την παλάμη στραμμένη προς τα επάνω. Ο εξεταστής βρίσκεται σε θέση πλάι και πίσω από τον εξεταζόμενο και με τη χρήση μεζούρας μετρά την περιφέρεια του βραχίονα στο ύψος που βρίσκεται στο κέντρο μεταξύ ακρωμίου και ωλέκρανου [87].



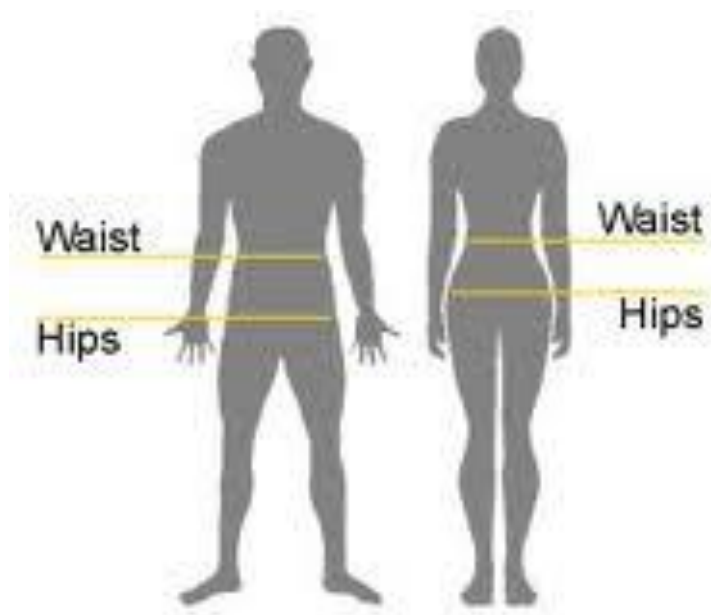
Εικόνα 6: Θέση εξεταζόμενου κατά τη μέτρηση της περιφέρειας μέσου βραχίονα[85]

3.4.8. Περιφέρεια μέσης

Ο εξεταζόμενος στέκεται σε όρθια θέση και του ζητείται να απαλλαγεί από τον ρουχισμό στην περιοχή της κοιλιάς. Τα πόδια βρίσκονται σε ευθεία θέση με την απόσταση μεταξύ τους να είναι περίπου ίση με 25-30 εκατοστά. Το βάρος τους πρέπει να είναι ίσα κατανεμημένο. Η μέτρηση έγινε στο μέσο της απόστασης μεταξύ της τελευταίας νόθας πλευράς και της υπερλαγώνιας ακρολοφίας. Ζητείται από τον εξεταζόμενο να εκπνεύσει ελαφρά καθώς γίνεται η μέτρηση, για την οποία χρησιμοποιείται μη ελαστική μεζούρα.

3.4.9. Περιφέρεια ισχίου

Ακριβώς μετά τη μέτρηση της περιφέρειας μέσης, καθώς ο εξεταζόμενος βρίσκεται στην ίδια θέση, ο εξεταστής με τη χρήση ανελαστικής μεζούρας μετρά την περιφέρεια στο ύψος όπου παρατηρείται η μέγιστη περιφέρεια των γλουτών.



Εικόνα 7: Ύψος τοποθέτησης της μεζούρας για τη μέτρηση περιφέρειας μέσης και ισχίου

3.4.10. Λόγος του μήκους δείκτη προς μήκους παράμεσου

Ζητείται από τον εθελοντή να σηκώσει το δεξί του χέρι ώστε η παλάμη του να είναι τεντωμένη, με φορά προς τον εξεταστή. Ο εξεταστής χρησιμοποιεί μεζούρα την άκρη της οποίας τοποθετεί στην εγκοπή του δείκτη και του παράμεσου αντίστοιχα. Η απόσταση από την εγκοπή του δακτύλου έως την κορυφή του παρατηρείται και καταγράφεται [83].

3.5. Μέτρηση αρτηριακής πίεσης και σφυγμού

Ο εθελοντής κάθεται σε χώρο με ήπια θερμοκρασία και ήσυχο περιβάλλον. Αφαιρείται ο ρουχισμός από το δεξί χέρι το οποίο στηρίζεται σε οριζόντια επιφάνεια στο επίπεδο της καρδιάς (4^ο μεσοπλευρίο διάστημα στο στήρνο), σε γωνία μεταξύ 0^ο και 45^ο από τον κορμό. Ο εξεταζόμενος καλό είναι να διατηρήσει τη στάση αυτή για 5' πριν τη μέτρηση. Η αρτηριακή πίεση και ο σφυγμός μετράται με τη χρήση ηλεκτρονικού σφυγμομανομέτρου. Η μέτρηση επαναλαμβάνεται δύο φορές και ο μέσος όρος των δύο μετρήσεων καταγράφεται. Εάν υπάρχει σημαντική απόκλιση μεταξύ των 2, γίνεται Τρίτη μέτρηση και υπολογίζεται ο μέσος όρος της 2^{ης} και 3^{ης} μέτρησης.

3.6. Πρωτόκολλο αιμοληψίας

1. Όλα τα δοχεία και μικροδοχεία κωδικοποιούνται με τον μοναδικό κωδικό, η μορφή του οποίου περιγράφηκε παραπάνω.
2. Η αιμοληψία γίνεται αποκλειστικά από προσωπικό εξειδικευμένο και πιστοποιημένο στη διαδικασία αυτή. Στην παρούσα μελέτη οι αιμοληψίες όλων των εθελοντών έγιναν από τον Υπεύθυνο του Ιατρικού Εργαστηρίου του Κ.Υ. Εχίνου.
3. Ζητείται από τον εθελοντή να καθίσει σε αναπαυτική καρέκλα και να τοποθετήσει το χέρι που θα φλεβοκεντηθεί πάνω στο ειδικό

- στήριγμα της καρέκλας αιμοληψιών. Να σημειωθεί ότι ο εθελοντής καλείται να τελέσει νηστεία 10-12 ωρών πριν την αιμοληψία.
4. Εφαρμόζεται το λάστιχο περιδέσης 7-8cm πάνω από την περιοχή που θα φλεβοκεντηθεί. Μετά την εφαρμογή του υπάρχει η δυνατότητα ψηλάφησης του κερκιδικού σφυγμού. Ζητείται από τον εθελοντή να ανοιγοκλείσει την παλάμη του και στη συνέχεια να παραμείνει με την παλάμη σε γροθιά.
 5. Επιλέγεται από τον εξεταστή η κατάλληλη φλέβα και με τη χρήση σύριγγας, πεταλούδας ή κλειστού κυκλώματος συλλογής αίματος γίνεται λήψη της απαραίτητης ποσότητας αίματος.
 6. Το αίμα τοποθετείται σε 3 περιέκτες: 2 K3E K3 EDTA και 1 SST Gel vacutainer.
 7. Ένας από τους EDTA περιέκτες χρησιμοποιείται για την γενική ανάλυση αίματος, που στη συνέχεια φυγοκεντρείται για την απομόνωση του πλάσματος και των λευκοκυττάρων.

3.6.1. Απομόνωση Ορού, Πλάσματος, Λευκοκυττάρων

Για την απομόνωση πλάσματος, ορού και λευκοκυττάρων φυγοκεντρούνται οι περιέκτες με το αντιπηκτικό EDTA και το SST Gel. Η φυγοκέντρηση των δειγμάτων γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου (22-25 °C), στις 2500 στροφές (rpm) για 15 λεπτά.

Το αντιπηκτικό EDTA δεσμεύει τα ιόντα Ca του αίματος εμποδίζοντας την πήξη του. Μετά την φυγοκέντρηση του φιαλιδίου παρατηρείται διαχωρισμός των συστατικών του αίματος. Χαμηλότερα στο φιαλίδιο παρατηρούνται τα ερυθροκύτταρα και ψηλότερα παρατηρείται το πλάσμα με τα αιωρούμενα σε αυτό αιμοπετάλια, ενώ ανάμεσά τους παρατηρείται μία λεπτή στιβάδα (Buffy coat) που περιέχει τα λευκοκύτταρα του αίματος. Το διαχωρισμένο πλέον πλάσμα από τα 2 EDTA vacutainers, μεταφέρεται με τη χρήση πιπέτας Pasteur σε 2 μικροδοχεία (ependorfs). Με χρήση της ίδιας πιπέτας μεταφέρονται και οι στιβάδες των λευκοκυττάρων σε 2 ακόμη ependorfs.

Για την απομόνωση του ορού φυγοκεντρείται το φιαλίδιο χωρίς το αντιπηκτικό στις ίδιες συνθήκες φυγοκέντρωσης, και μετά το τέλος της παρατηρείται ο διαχωρισμός του ορού από τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος. Με τη χρήση πιπέτας Pasteur απομακρύνεται ο ορός και μεταφέρεται σε 3 erpendorfs.

Όλα τα erpendorfs τοποθετούνται σε πλαστικά κουτιά 100 θέσεων και τοποθετούνται σε κατάψυξη στους -20°C .

Μεταφορά δειγμάτων και αποθήκευση στις εγκαταστάσεις του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Σε περίοδο ενός μήνα από την ημερομηνία αιμοληψίας, όλα τα δείγματα ορού, πλάσματος και λευκών αιμοσφαιρίων μεταφέρονται από τον καταψύκτη του Κ.Υ. Εχίνου με τη χρήση μεγάλου περιέκτη με ξηρό πάγου. Τα δοχεία-περιέκτες μεταφέρονται στις εγκαταστάσεις του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου με τη χρήση υπηρεσίας courier. Όλα τα δείγματα μετά τη μεταφορά τους τοποθετούνται σε καταψύκτη του Εργαστηρίου Βιολογίας, σε θερμοκρασία -80°C .

3.7. Βιοχημικές αναλύσεις

Ένα μικροδοχείο ορού αποστέλλεται στη Βιοιατρική όπου γίνονται οι βιοχημικές εξετάσεις. Συγκεκριμένα μετρούνται τα επίπεδα σακχάρου, χοληστερόλης (LDL, HDL και ολικής), ινσουλίνης και CRP, σιδήρου και φερριτίνης.

3.8. Απομόνωση γενετικού υλικού

Η απομόνωση του γενετικού υλικού γίνεται με τη χρήση του iPrep PureLink gDNA Blood Kit, που επιτρέπει γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση γενομικού DNA (gDNA) από δείγματα λευκοκυττάρων ή ολικού αίματος. Ο εξοπλισμός «iPrep Purification Instrument» έχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης απομόνωσης γενετικού υλικού από 13 δείγματα. Μία προ-προγραμματισμένη κάρτα ρυθμίζει τις παραμέτρους και το πρωτόκολλο, όπως τον όγκο των διαλυμάτων που θα χρησιμοποιηθούν, τα βήματα και τον χρόνο επώασης. Στην πλειονότητα των δειγμάτων έγινε χρήση της στιβάδας των λευκοκυττάρων (buffy coat) για την απομόνωση του γενετικού υλικού. Η διάρκεια διαδικασίας είναι 45 λεπτά (30 λεπτά της απομόνωσης + 15 λεπτά προετοιμασίας των δειγμάτων).

3.8.1. Σύνομο πρωτόκολλο

- Ο όγκος του δείγματος που απαιτείται είναι τουλάχιστον 150μL. Χρήση μικρότερης ποσότητας έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία αφρισμού, με αποτέλεσμα την μείωση της ποσότητας και ποιότητας του DNA που αποδίδεται τελικά. Το πρωτόκολλο έχει σχεδιαστεί για να απομονώνει γενετικό υλικό από 350μL ολικού αίματος ή 300μL buffy coat το μέγιστο.
- Για την προετοιμασία των δειγμάτων:
 - Λαμβάνεται η στιβάδα των λευκοκυττάρων από φυγοκεντρημένο αίμα, μετά την απομάκρυνση του πλάσματος. Στην περίπτωση που το buffy coat έχει ήδη διαχωριστεί και καταψυχθεί, τα δείγματα αποψύχονται.
 - Λαμβάνεται με αποστειρωμένη πιπέτα ποσότητα buffy coat 300μL. Το δείγμα αναμιγνύεται για τη λύση της γέλης που μπορεί να έχει δημιουργηθεί, και τοποθετείται σε ειδικό μικροδοχείο του iPrep PureLink gDNA Blood Kit.

- Το δείγμα του buffy coat αλλά και τα υπόλοιπα μέρη του Kit τοποθετούνται στον εξτράκτορα, με τη διάταξη που αναφέρεται σε ειδική οθόνη.
- Μετά το πέρας της διαδικασίας λαμβάνεται διάλυμα DNA όγκου 200μL, το οποίο καταψύχεται στους -20°C.

Περιεχόμενα του iPrep PureLink gDNA Blood Cartridge Kit

Αντιδραστήριο	Θέση	Λειτουργία
Lysis Buffer	1	Λύση των πρωτεϊνών
Proteinase K (20mg/ml) in storage buffer	2	Μετουσίωση πρωτεϊνών
Rinse buffer	3	Ξέπλυμα
Dynabeads My Ones SILANE (4,8mg/ml in Bead Storage Buffer)	4	Αλλαγή μαγνητικού πεδίου
100% Isopropanol	5	Κατακρίμνηση DNA
Wash Buffer 1	6	Ξέπλυμα
Wash Buffer 1	7	Ξέπλυμα
Wash Buffer 2	8	Ξέπλυμα
Wash Buffer 2	9	Ξέπλυμα
Elution Buffer	10	Ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης

3.9. Γενετική ανάλυση σάρωσης γονιδιώματος

Τα δείγματα του DNA αποστέλλονται στο Wellcome Trust Sanger Institute (ποσότητα 100μL σε plates 12*8 θέσεων), όπου γίνεται σε η σάρωση του DNA (GWAS). Μέχρι στιγμής έχει γίνει αλληλούχιση 747 δειγμάτων DNA με χρήση της πλατφόρμας Illumina OmniExpress.

3.10. Ερωτηματολόγιο

Το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιείται στην παρούσα μελέτη αποτελείται από 7 τμήματα:

1. Προσωπικές πληροφορίες: Αυτό το τμήμα περιέχει το όνομα, τη διεύθυνση, το τηλέφωνο, την καταγωγή και την ημερομηνία γέννησης του εθελοντή. Καταγράφονται επίσης οποιεσδήποτε παρατηρήσεις του εξεταστή όπως αποκλίσεις από το πρωτόκολλο των διαδικασιών ή ιδιαιτερότητες του εθελοντή.
2. Ανθρωπομετρικά δεδομένα: Περιέχει το παρόν και το σύνηθες σωματικό βάρος, πρόσφατες αλλαγές στο σωματικό βάρος, όρθιο και καθήμενο ύψος, απόσταση γονάτου από το πάτωμα, περιφέρεια κεφαλής, καρπού, μέσου βραχίονα, μέσης και ισχίου, προτίμηση χεριού, φυσικό χρώμα μαλλιών και ματιών, κατηγοριοποίηση αλωπεκίας (για τους άνδρες).
3. Ιατρικό ιστορικό: Το τμήμα αυτό περιέχει τη μέτρηση αρτηριακής πίεσης και πληροφορίες που αφορούν την ομάδα αίματος, τον έμμηνο κύκλο, την φαρμακευτική αγωγή, ιστορικό ασθενειών και χειρουργικών επεμβάσεων.
4. Οικογενειακό ιστορικό ασθενειών: Το τμήμα αυτό περιέχει την πληροφορία για τις ασθένειες που υπάρχουν στην οικογένεια (αδέρφια, γονείς) των εθελοντών.
5. Ερωτηματολόγιο τρόπου ζωής και οικογενειακής κατάστασης: Περιέχει πληροφορίες για την οικογενειακή κατάσταση, την επαγγελματική ιδιότητα, το εκπαιδευτικό επίπεδο και τις καπνιστικές συνήθειες (παθητικό και ενεργητικό κάπνισμα).
6. Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας: Περιέχει πληροφορίες για τις ώρες εργασίας, ύπνου, ανάπαυσης, διαβάσματος, αναψυχής, φυσικής άσκησης και άλλων δραστηριοτήτων του εθελοντή. Καταγράφεται επίσης το μέσο μεταφοράς που χρησιμοποιεί ο εθελοντής κατά κύριο λόγο. Η ποσοτικοποίηση της έντασης της φυσικής δραστηριότητας πραγματοποιήθηκε με τη μετατροπή σε μεταβολικά ισοδύναμα (metabolic Equivalent of

Task-MET). Η μονάδα MET που αποδόθηκε σε κάθε τύπο φυσικής δραστηριότητας πολλαπλασιάστηκε με την αντίστοιχη συχνότητα και διάρκεια της φυσικής δραστηριότητας και ακολούθως υπολογίστηκε το άθροισμα όλων των τύπων φυσικής δραστηριότητας.

7. Ερωτηματολόγιο διατροφικών συνηθειών: Περιέχει ανάκληση 24ώρου καθώς και πληροφορίες για τον τρόπο μαγειρέματος, τη χρήση ή μη συμπληρωμάτων ή προμαγειρευμένων τροφίμων.
8. Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (FFQ): Περιέχει πληροφορίες για τη συχνότητα κατανάλωσης των περισσότερων κατηγοριών τροφίμων κατά τον τελευταίο μήνα πριν τη συνέντευξη.

3.11. Εισαγωγή δεδομένων (Data entry)

Η εισαγωγή δεδομένων ολοκληρώθηκε δύο φορές, από δύο διαφορετικά άτομα. Σκοπός της διπλής εισαγωγής είναι η ελαχιστοποίηση του ανθρώπινου σφάλματος (human error) και η επίτευξη μίας βάσης δεδομένων όσο το δυνατόν πιο κοντά στην πραγματικότητα. Δεδομένα δείχνουν πως το human error φτάνει να οφείλεται για διαφοροποιήσεις από τα αρχικά δεδομένα περίπου κατά 5% [88]. Η διπλή εισαγωγή όμως ελαχιστοποιεί τις διαφοροποιήσεις και οδηγεί σε καλύτερης ποιότητας βάση δεδομένων, αυξάνοντας βέβαια το κόστος της μελέτης.

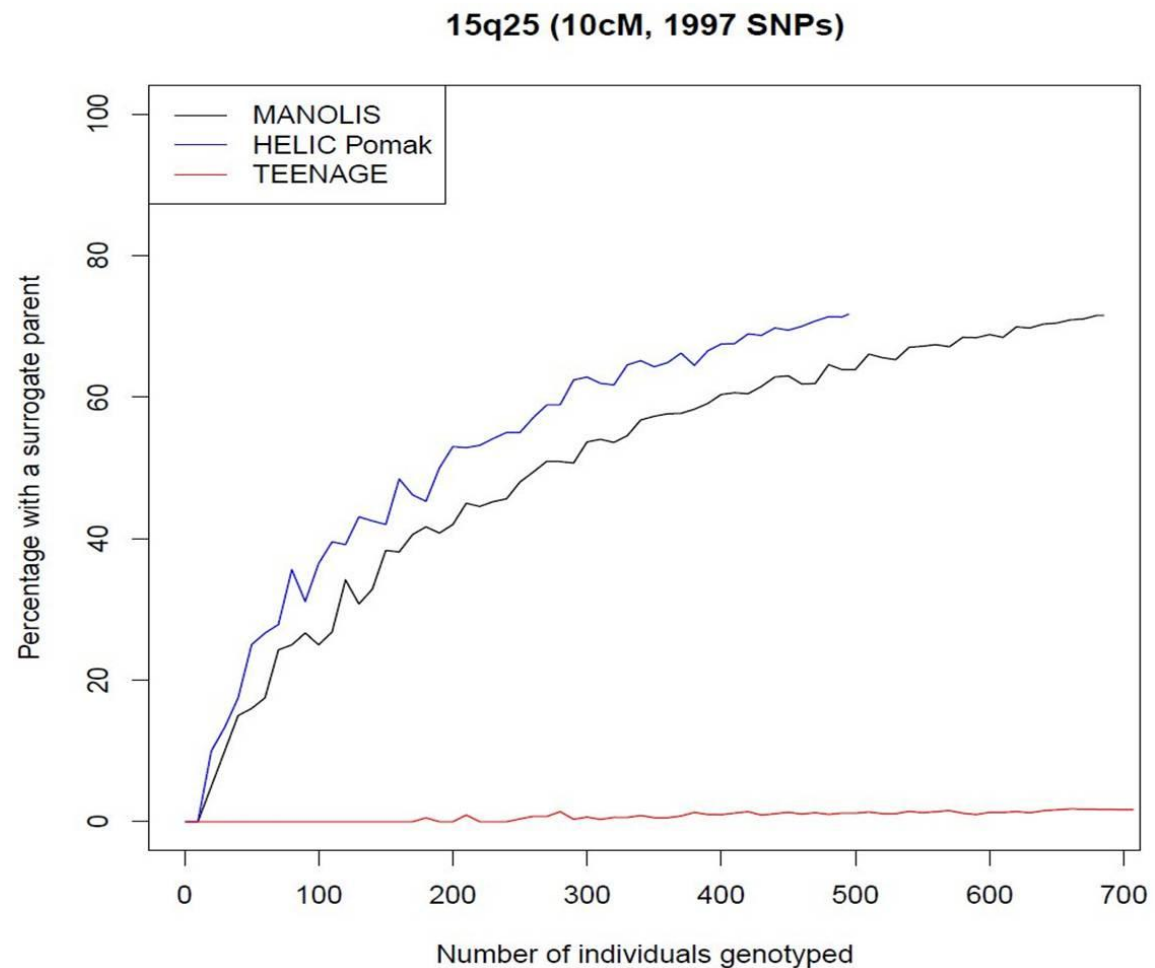
Πρακτικά, στη μελέτη HELIC οι 2 βάσεις δεδομένων εισήχθησαν σε λογισμικό σύγκρισης και προέκυψε 2^ο αρχείο με όλες τις διαφοροποιήσεις. Μετά τη διόρθωση, τα δεδομένα ενσωματώθηκαν στις αρχικές βάσεις δεδομένων και στη συνέχεια έγινε έλεγχος για ακραίες τιμές. Αποτέλεσμα να προκύψει μία πιο καλής ποιότητας βάση δεδομένων, απαλλαγμένη από λάθη που οφείλονται στον ανθρώπινο παράγοντα, όσο το δυνατόν πλησιέστερη στις αληθείς παρατηρήσεις που προέκυψαν από το δείγμα.

4.1. Επιβεβαίωση γενετικής ομοιογένειας

Τα 747 δείγματα του DNA από τον πληθυσμό των Πομάκων μετά την γενετική τους ανάλυση συγκρίθηκαν με τον γενικό ελληνικό πληθυσμό ως προς τη συγγένεια των ατόμων του πληθυσμού. Τον γενικό ελληνικό πληθυσμό εκπροσώπησαν 707 δείγματα της μελέτης TEENAGE, όπου συμμετείχαν έφηβοι από σχολεία της Αττικής. Για τη διερεύνηση του ποσοστού της συγγένειας μεταξύ των δειγμάτων υπολογίστηκε το ποσοστό των ατόμων που έχουν τουλάχιστον ένα «υποκατάστατο γονιού» (surrogate parent), δηλαδή συγγενείς που μοιράζονται πατρικό ή μητρικό απλότυπο. Οι συγγενείς αυτοί αναφέρονται ως υποκατάστατοι πατέρες/μητέρες. Η υποκατάστατη πατρότητα ή μητρότητα αφορά συγκεκριμένη θέση στο γονιδίωμα. Για παράδειγμα ένας αδερφός μπορεί να είναι υποκατάστατος πατέρας για έναν γενετικό τόπο και υποκατάστατη μητέρα για κάποιον άλλον, ανεξαρτήτως του δικού του φύλου [89].

Το αποτέλεσμα έδειξε πως το 80-82% των ατόμων που ανήκουν στον πληθυσμό των Πομάκων έχουν τουλάχιστον ένα υποκατάστατο γονιού σε σύγκριση με το γενικό ελληνικό πληθυσμό όπου η τιμή αυτή προσεγγίζει το 1%. Η έντονη συγγένεια των ατόμων του δείγματος αποτελεί μία ένδειξη πως ο πληθυσμός των Πομάκων είναι γενετικά απομονωμένος.

Γράφημα 1: Ποσοστό ύπαρξης υποκατάστατου γονιού, στη μελέτη HELIC στα Πομακοχώρια (POMAK), στα χωριά του Ορεινού Μυλοποτάμου (MANOLIS) και στον γενικό πληθυσμό (μελέτη TEENAGE), συναρτήσει του αριθμού των δειγμάτων στα οποία έγινε γονοτύπηση.



4.2. Φύλο και ηλικία δείγματος

Πίνακας 5: Αριθμός ανδρών και γυναικών του δείγματος

Φύλο	n	Ποσοστό (%)
Γυναίκες	844	70,9
Άνδρες	347	29,1
Σύνολο	1191	100

Το 70,9% του δείγματος είναι γένους θηλυκού και το 29,1% γένους αρσενικού.

Πίνακας 6: Μέση ηλικία των ατόμων του δείγματος

	N	Ελάχιστη	Μέγιστη	Μέσος όρος
Ηλικία	1154	18	87	43

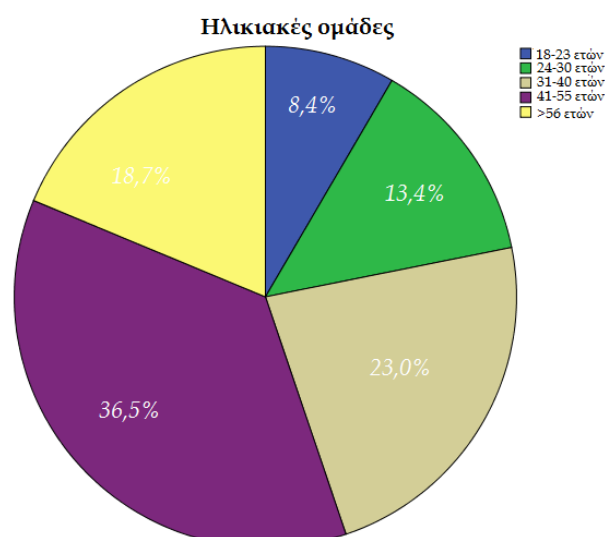
Στον πίνακα 6 αναφέρεται ο μέσος όρος ηλικίας του δείγματος, που είναι τα 43 έτη.

Πίνακας 7: Κατάταξη ατόμων του δείγματος ανά ηλικιακή ομάδα

Ηλικιακή ομάδα	n	Ποσοστό (%)
18-23	97	8,4
24-30	155	13,4
31-40	265	23
41-55	421	36,5
>56	216	18,7
Σύνολο	1154	100

Ο πίνακας 7 κατατάσσει το δείγμα σε ηλικιακές ομάδες. Συγκεκριμένα, το 8,4% του δείγματος είναι ηλικίας 18-23, το 13,4% είναι ηλικίας 24-30, το 23% ανήκει στην ηλικιακή ομάδα 31-40, το 36,5% είναι ηλικίας 41-55 και το 18,7% είναι ηλικίας άνω των 56 ετών.

Γράφημα 2: Διάγραμμα ποσοστών κάθε ηλικιακής ομάδας επί του συνόλου του δείγματος.



4.3. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά δείγματος

Πίνακας 8: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά δείγματος

		N	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Μέση τιμή ± SD	p-value
Βάρος	Άνδρες	337	51	122	79.4±13.1	<0.001
	Γυναίκες	813	36	134	70.9±14.6	<0.001
Ύψος	Άνδρες	334	152	196	172.9±7.5	<0.001
	Γυναίκες	805	120	188	158.5±7.2	<0.001
Περιφέρεια μέσου βραχίονα	Άνδρες	325	19.8	50	31.68±3.6	0.003
	Γυναίκες	782	17.2	48	30.8±4.5	0.001
Περιφέρεια μέσης	Άνδρες	314	52	126	94.6±12.2	<0.001
	Γυναίκες	758	58	147	88.6±15	<0.001
Περιφέρεια ισχίου	Άνδρες	318	47	160	101.9±15	<0.001
	Γυναίκες	766	75	154	106.9±11.5	<0.001
Δείκτης μάζας σώματος	Άνδρες	334	17.84	38.58	26.5±3.96	<0.001
	Γυναίκες	803	15.62	19.82	28.24±5.85	<0.001
Λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφ. Ισχίου	Άνδρες	318	0.59	1.29	0.93±0.87	<0.001
	Γυναίκες	765	0.65	1.19	0.83±0.88	<0.001

Στον πίνακα 8 βλέπουμε τα ανθρωπομετρικά δεδομένα του δείγματος. Το μέσο ύψος των ανδρών του δείγματος είναι 173cm ενώ των γυναικών 158,5cm. Αντίστοιχα για το βάρος, η μέση τιμή για τους άνδρες είναι τα 79,4kg ενώ για τις γυναίκες τα 70,9kg. Ο δείκτης μάζας σώματος για τους άνδρες είναι 26,5kg/m² και για τις γυναίκες 28,2kg/m². Ο μέσος λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίου είναι για τους άνδρες 0,93 ενώ για τις γυναίκες 0,83. Μάλιστα, το κριτήριο t-test έδειξε πως οι τιμές όλων των παραπάνω ανθρωπομετρικών δεικτών διαφέρουν μεταξύ ανδρών και γυναικών (p<0.005).

Πίνακας 9 Αριθμός ατόμων σε κάθε κατηγορία βάρους σύμφωνα με τον ΔΜΣ

Κατηγορία Δείκτη Μάζας Σώματος	n	Ποσοστό (%)
Ελλιποβαρείς (ΔΜΣ<18.5)	33	2,9
Φυσιολογικού βάρους (18.5<ΔΜΣ<25)	334	29,3
Υπέρβαροι (25<ΔΜΣ<30)	396	34,8
Παχύσαρκοι (ΔΜΣ>30)	376	33,0
Σύνολο (N)	1139	100

Το ποσοστό των ελλιποβαρών του δείγματος είναι 2,9%. Το 29,3% του δείγματος έχουν φυσιολογικό βάρος ενώ το 34,8% είναι υπέρβαροι. Στην ομάδα των παχύσαρκων ανήκει το 33,0% του δείγματος. Εάν προσθέσουμε τα ποσοστά των υπέρβαρων και παχύσαρκων του δείγματος, βλέπουμε πως το 67,8% του δείγματος έχουν υπερβάλλον βάρος.

4.4. Κλινικά χαρακτηριστικά δείγματος

Πίνακας 10: Μέσες τιμές αρτηριακής πίεσης ανά ηλικιακή ομάδα

Μέσος όρος αρτηριακής πίεσης	Ηλικιακή ομάδα				
	18-23 (N=40)	24-30 (N=100)	31-40 (N=164)	41-55 (N=269)	>56 (N=138)
Συστολική πίεση (mmHg)	124.8	124	131.56	138.2	148.4
Διαστολική πίεση (mmHg)	78.9	81	84.6	87	87.5
Αριθμός σφυγμών	83.4	82.6	81.7	78.8	77.2

Στοιχεία για την αρτηριακή πίεση ανά ηλικιακή ομάδα φαίνονται στον πίνακα 10. Η μέση συστολική πίεση για τη μεγαλύτερη σε αριθμό ατόμων ηλικιακή ομάδα 41-55 είναι 138,2mmHg και η μέση διαστολική πίεση είναι ίση με 87mmHg. Το αποτέλεσμα της ανάλυσης ANOVA έδειξε ότι οι μέσοι όροι της συστολικής και διαστολικής πίεσης, καθώς και οι μέσοι όροι των σφυγμών διαφέρουν στατιστικά σημαντικά στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες ($p < 0.001$).

Πίνακας 11: Συσχέτιση ηλικίας με επίπεδα συστολικής και διαστολικής πίεσης

		Συστολική πίεση	Διαστολική πίεση
Ηλικία	Pearson Correlation	0,419	0,197
	p-value	0,000	0,000

Στον πίνακα 11 φαίνεται η συσχέτιση μεταξύ ηλικίας με τα επίπεδα συστολικής και διαστολικής πίεσης. Ο έλεγχος γραμμικής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών ηλικία-συστολική πίεση και ηλικία-διαστολική πίεση έδειξε πως υπάρχει συσχέτιση και στις 2 περιπτώσεις.

Στον πίνακα 12 φαίνονται οι συχνότερες κλινικές καταστάσεις που καταγράφηκαν από το δείγμα και στον πίνακα 12 φαίνεται η κατανομή του φύλου στους ασθενείς των συχνότερων χρόνιων νοσημάτων.

Πίνακας 12: Συχνότερες κλινικές καταστάσεις του δείγματος και ποσοστά.

Ασθένεια (N=1197)	Νοσούντες (n)	Ποσοστό (%)
Υπέρταση	282	23.6
Υπερλιπιδαιμία	194	16.2
Άλλη ασθένεια	189	15.8
Ημικρανίες	109	9.1
Πρεσβυωπία	108	9
Χρόνιο άγχος - Κατάθλιψη	107	8.9
Υποθυρεοειδισμός	98	8.2
Διαβήτης τύπου 2	83	6.9
Αλλεργία	82	6.9
Μυωπία	65	5.4
Αρθρίτιδα	46	3.8
Γαστρικό έλκος	44	3.7
Στεφανιαία νόσος	39	3.3
Άσθμα	34	2.8
Καρδιακή αρρυθμία	33	2.8
Στένωση στεφανιαίων αρτηριών	29	2.4
Γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση	28	2.3
Έμφραγμα μυοκαρδίου	23	1.9
Οστεοπόρωση	23	1.9
Υπερθυρεοειδισμός	20	1.7
Βαρηκοΐα	16	1.3
Οζίδια στα δάκτυλα	16	1.3
Καρδιακή ανεπάρκεια	14	1.2
Καρκίνος	14	1.2
Σοβαρή δερματοπάθεια	12	1
Πνευμονία	7	0.6
Χρόνια βρογχίτιδα	7	0.6

Πίνακας 13: Οι συχνότερες κλινικές καταστάσεις και τα ποσοστά τους στα δύο φύλα

Συχνές κλινικές καταστάσεις, ανά φύλο	Άνδρες	Γυναίκες	Pearson's χ^2	P value
	n (%)	n (%)		
Υπέρταση	87 (25.0)	195 (23.1)	0,476	0,490
Υπερλιπιδαιμία	68 (19.5)	126 (14.9)	3,812	0,051
Σακχαρώδης διαβήτης 2	30 (8.6)	52 (6.2)	2,310	0,129
Υποθυρεοειδισμός	7 (2.0)	91 (10.8)	25,164	<0,001
Στεφανιαία νόσος	28 (8.0)	11 (1.3)	35,340	<0,001
Χρόνιο άγχος-Κατάθλιψη	28 (8.0)	78 (9.3)	0,442	0,506

Αναλυτικά, το 23,6% του δείγματος ανέφερε υψηλή αρτηριακή πίεση ή λήψη φαρμακευτικής αγωγής για την αντιμετώπιση της υπέρτασης. Το 16,8% του δείγματος ανέφερε υψηλά επίπεδα λιπιδίων στο αίμα. Ποσοστό ίδιο με 8,9 του δείγματος ανέφερε να πάσχει από χρόνια άγχος, κατάθλιψη ή άλλη ψυχική διαταραχή. Ποσοστό του δείγματος που ανέφερε πως έχει υποστεί έμφραγμα μυοκαρδίου είναι 1,9% ενώ το ποσοστό που υπέστη Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο είναι κάτω του 1%. Άλλες κλινικές καταστάσεις που καταγράφηκαν από μεγάλο αριθμό εθελοντών είναι ο υποθυρεοειδισμός (8,2%), οι ημικρανίες (9,1%), ο διαβήτης τύπου 2 (6,9%) και η αρθρίτιδα (3,8%). Όσον αφορά για τους εθελοντές με στεφανιαία νόσο, αυτοί καταλαμβάνουν το 3,3% του δείγματος.

Χωριστά για τα 2 φύλα, τα ποσοστά εμφάνισης των συχνότερων κλινικών καταστάσεων συγκρίθηκαν στον πίνακα 13. Συγκεκριμένα, τα ποσοστά της υπέρτασης και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και υπερλιπιδαιμίας είναι ελαφρώς υψηλότερα στους άνδρες, αλλά δεν φαίνεται στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση από τις γυναίκες. Οι άνδρες εμφανίζουν στεφανιαία νόσο σε υψηλότερα ποσοστά από τις γυναίκες ($p < 0,001$) ενώ οι γυναίκες εμφανίζουν σε υψηλότερα ποσοστά υποθυρεοειδισμό ($p < 0,001$). Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση ανάμεσα στα ποσοστά χρόνιου άγχους-κατάθλιψης ανάμεσα στα 2 φύλα. Οι συγκρίσεις της κατανομής του φύλου στους νοσούντες έγιναν με το χ^2 του Pearson.

4.5. Κοινωνικοοικονομικό επίπεδο δείγματος

Ο πίνακας 14 περιγράφει τη συζυγική κατάσταση των ατόμων του δείγματος, ανάλογα με το φύλο, ανά ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 14: Συζυγική κατάσταση δείγματος ανά ηλικιακή ομάδα και φύλο

Συζυγική κατάσταση	Ηλικιακή ομάδα									
	18-23		24-30		31-40		41-55		>56	
	Άνδρες	Γυναίκες	Άνδρες	Γυναίκες	Άνδρες	Γυναίκες	Άνδρες	Γυναίκες	Άνδρες	Γυναίκες
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Έγγαμος/η	2 (15.4)	40 (51.9)	22 (62.9)	106 (95.5)	51 (94.4)	187 (93)	130 (97.7)	256 (93.5)	88 (94.6)	89 (80.9)
Σταθερή σχέση	-	2 (2.5)	-	1 (0.9)	-	-	-	-	-	-
Χωρισμένος/η	-	-	-	-	-	3 (1.5)	-	-	-	-
Διαζευγμένος/η	-	1 (1.3)	-	1 (0.9)	-	-	-	2 (0.7)	-	-
Ελεύθερος/η	11 (84.6)	33 (42.9)	13 (37.1)	3 (2.7)	2 (3.8)	6 (3)	2 (1.5)	2 (0.7)	1 (1.1)	2 (1,8)
Χήρος/α		1 (1.3)	-	-	-	5 (2.5)	1 (0.8)	14 (5.1)	4 (4.3)	19 (17,3)
N	13	77	35	118	53	201	133	276	93	110

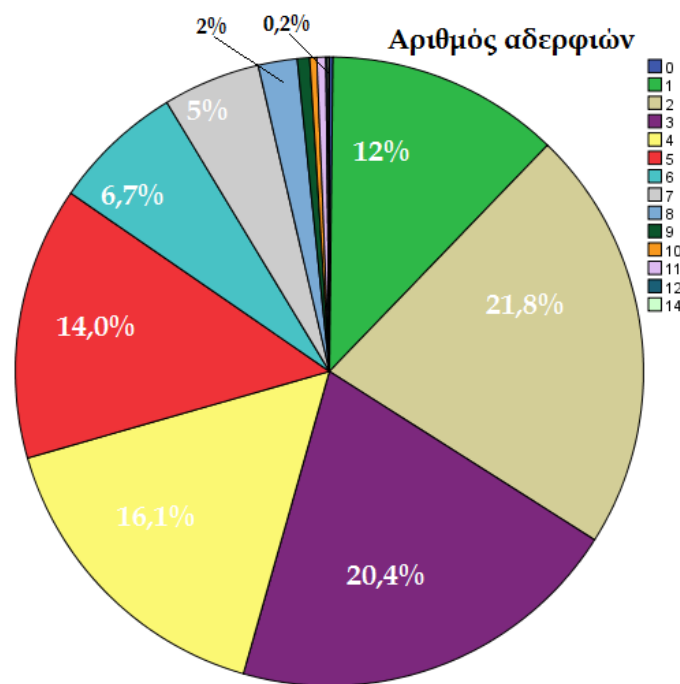
Πίνακας 15: Κριτήριο χ^2 του Pearson για Συζυγική κατάσταση και φύλο, ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικιακή ομάδα	Pearsons χ^2	p value
18-23	7,829	0,098
24-30	32,664	0,000
31-40	2,238	0,525
41-55	6,261	0,100
>56	8,759	0,013

Συγκεκριμένα, φαίνεται πως στην ηλικιακή ομάδα 18-23 ετών, το 52% των γυναικών έχουν ήδη παντρευτεί, ενώ στο υπόλοιπό τους είναι ελεύθερες. Στην επόμενη ηλικιακή ομάδα (24-30), σε έγγαμη συζυγική κατάσταση βρίσκονται το 95,5% των ανδρών και το 94,4% των γυναικών. Τα ποσοστά αυτά παραμένουν σχετικά σταθερά στις ηλικιακές ομάδες 31-40 ετών και 41-55. Στην τελευταία ηλικιακή ομάδα (>55 ετών) αυξάνεται το ποσοστό των χήρων, στο 4,3% των ανδρών και 17,3% των γυναικών.

Το χ^2 του Pearson (πίνακας 15) δείχνει πως η διαφορά στα ποσοστά μεταξύ φύλων είναι στατιστικά σημαντική μόνο όσον αφορά στις ηλικιακές ομάδες 24-30 και >56. Άρα μπορούμε να πούμε οι άνδρες ηλικίας 24-30 είναι σε μεγαλύτερο ποσοστό ελεύθεροι και σε μικρότερο ποσοστό έγγαμοι σε σχέση με τις γυναίκες. Αντίστοιχα, γυναίκες άνω των 56 είναι σε μικρότερο ποσοστό έγγαμες και σε μεγαλύτερο ποσοστό χήρες σε σχέση με τους άνδρες.

Γράφημα 3: Αριθμός των αδερφών των ατόμων του δείγματος



Στο γράφημα 3, παρατηρούμε τον αριθμό των αδερφών που αναφέρουν τα άτομα του δείγματος. Μόλις το 0,2% των εθελοντών ανήκουν σε τριμελείς οικογένειες. Το 12% των ατόμων αναφέρουν έναν/μία αδερφό/η, το 21,8% δύο αδέρφια, το 20,4%, 16,1% και 14% των ατόμων αναφέρουν να έχουν 3, 4 και 5 αδέρφια αντίστοιχα. Το υπόλοιπο 15,4% έχουν αριθμό αδελφών >5 (6-14 αδέρφια).

Πίνακας 16: Εκπαιδευτικό επίπεδο του δείγματος ($\chi^2=31,014$, $p<0.001$)

Εκπαιδευτικό επίπεδο	Φύλο	
	Άνδρες	Γυναίκες
	n (%)	n (%)
Καμία μόρφωση	19 (5,8)	98 (12,4)
Πρωτοβάθμια εκπαίδευση	219 (66,6)	569 (72,1)
Δευτεροβάθμια εκπαίδευση	77 (23,4)	108 (13,7)
Τριτοβάθμια εκπαίδευση	14 (4,3)	13 (1,6)
Άλλο	-	1 (0,1)
Σύνολο	329	789

Όσον αφορά τώρα στο εκπαιδευτικό επίπεδο των κατοίκων των Πομακοχωριών, όπως φαίνεται και στον πίνακα 16, το 6% των ανδρών και 12,4% των γυναικών δεν είχαν καμία μόρφωση ενώ το 67% των ανδρών και 72% των γυναικών έχουν παρακολουθήσει την πρωτοβάθμια εκπαίδευση. Το 23,4% των ανδρών και το 13,7% των γυναικών έχουν παρακολουθήσει δευτεροβάθμια εκπαίδευση ενώ τριτοβάθμια εκπαίδευση έχει λάβει μόλις το 4,3% των ανδρών και το 1,6% των γυναικών.

Πίνακας 17: Εκπαιδευτικό επίπεδο κάθε ηλικιακής ομάδας ($\chi^2=326,915$, $p<0.001$)

Εκπαιδευτικό επίπεδο	Ηλικιακή ομάδα				
	18-23	24-30	31-40	41-55	>56
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Καμία μόρφωση	2 (2.2)	5 (3.4)	12 (4.8)	45 (11.0)	52 (25.7)
Πρωτοβάθμια εκπαίδευση	20 (22.5)	96 (65.8)	194 (77.0)	330 (80.7)	141 (69.8)
Δευτεροβάθμια εκπαίδευση	56 (62.9)	37 (25.3)	44 (17.5)	30 (7.3)	6 (3.0)
Τριτοβάθμια εκπαίδευση	11 (12.4)	8 (5.5)	2 (0.8)	3 (0.7)	3 (1.5)
N	89	146	252	408	202

Σε ανάλυση διαχωρισμένη ανά ηλικιακή ομάδα, το εκπαιδευτικό επίπεδο μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία. Στην κατώτερη ηλικιακή ομάδα 18-23 μεγάλο ποσοστό 62,9% έχει δευτεροβάθμια εκπαίδευση.

Το ίδιο ποσοστό για την ομάδα 24-30 είναι 25,3%. Το 65,8% των ατόμων 24-30 έχει πρωτοβάθμια εκπαίδευση και το ποσοστό αυτό αυξάνεται στις επόμενες ηλικιακές ομάδες. Στην ηλικιακή ομάδα >56 μεγάλο είναι και το ποσοστό των ατόμων που δεν έχουν καμία εκπαίδευση (25,7%).

Πίνακας 18: Επαγγελματική κατάσταση των ατόμων του δείγματος ανά φύλο
($\chi^2=711,545$, $p<0.001$)

Επαγγελματική κατάσταση	Φύλο	
	Άνδρες	Γυναίκες
	n (%)	n (%)
Πλήρης απασχόληση- Δημόσιος υπάλληλος	5 (1.5)	7 (1,0)
Πλήρης απασχόληση- Ιδιωτικός υπάλληλος	64 (19.6)	6 (1,0)
Μερική απασχόληση- Δημόσιος υπάλληλος	2 (0.5)	-
Μερική απασχόληση- Ιδιωτικός υπάλληλος	39 (11.9)	3 (0.5)
Ελεύθερος επαγγελματίας	56 (17.1)	23 (3,0)
Άνεργος	73 (22.3)	37 (4.7)
Συνταξιούχος	84 (25.7)	39 (5)
Οικιακά	4 (1.2)	667 (85.3)
Σύνολο	327	782

Η επαγγελματική κατάσταση των εθελοντών καταγράφεται ως εξής (πίνακας 18): Το 33,7% των ανδρών είναι υπάλληλοι, το 17,1% είναι ελεύθεροι επαγγελματίες, το 22,3% είναι άνεργοι και το 25,7% είναι συνταξιούχοι. Για τις γυναίκες τώρα, μικρό ποσοστό αυτών είναι εργαζόμενες (5,5%), το 4,7% αυτών δηλώνουν άνεργες ενώ το 85,3% δηλώνουν ως απασχόληση τα οικιακά.

Ένα ακόμη ερώτημα για τον τρόπο ζωής των κατοίκων των Πομακοχωρίων, αφορά τις καπνιστικές τους συνήθειες. Συγκεκριμένα καταγράφηκε (πίνακας 19) πως το 43,5% των ανδρών καπνίζει καθημερινά, το 5,1% καπνίζει περιστασιακά, το 20,5% συνήθιζε να

καπνίζει αλλά στην παρούσα φάση είχε διακόψει το κάπνισμα και το 4,2% αφορούσε παλαιούς περιστασιακούς καπνιστές που όμως έχουν κόψει το κάπνισμα. Το 26,6% των ανδρών ανέφερε πως δεν έχει καπνίσει ποτέ. Το αντίστοιχο ποσοστό για τις γυναίκες είναι 95,4%. Το ποσοστό των γυναικών που καπνίζουν ή έχουν καπνίσει παλαιότερα, συστηματικά είτε περιστασιακά, είναι 4,7%.

Πίνακας 19: Καπνιστικές συνήθειες των ατόμων του δείγματος
($\chi^2=58,967$, $p<0.001$)

Καπνιστικές συνήθειες	Φύλο	
	Άνδρες	Γυναίκες
	n (%)	n (%)
Καπνίζω καθημερινά	144 (43.5)	22 (2.8)
Καπνίζω περιστασιακά, αλλά όχι καθημερινά	17 (5.1)	6 (0.8)
Συνήθιζα να καπνίζω καθημερινά, αλλά τώρα δεν καπνίζω καθόλου	68 (20.5)	6 (0.8)
Συνήθιζα να καπνίζω περιστασιακά, αλλά τώρα δεν καπνίζω καθόλου	14 (4.2)	2 (0.3)
Δεν έχω καπνίσει ποτέ	88 (26.6)	746 (95.4)
Σύνολο	348	782

Πίνακας 20: Ποσότητα καπνίσματος των καπνιστών του δείγματος
($\chi^2=13,680$, $p=0.033$)

Αριθμός τσιγάρων ημερησίως	Φύλο	
	Άνδρες	Γυναίκες
	n (%)	n (%)
<2 τσιγάρα	9 (3.9)	3 (8.8)
3-5 τσιγάρα	6 (2.6)	3 (8.8)
6-10 τσιγάρα	15 (6.6)	5 (14.7)
11-20 τσιγάρα	64 (28.1)	9 (26.5)
21-30 τσιγάρα	59 (25.9)	11 (32.4)
31-40 τσιγάρα	19 (8.3)	1 (2.9)
>40 τσιγάρα	56 (24.6)	2 (5.9)
Σύνολο ατόμων	228	34

Συγκεκριμένα για τους καπνιστές, διερευνήθηκε η συχνότητα καπνίσματος, με την καταγραφή των τσιγάρων που καταναλώνονται ημερησίως (πίνακας 20). Για τους άνδρες καπνιστές (ή παλαιότερους καπνιστές), η συχνότητα καπνίσματος είναι 11-20 τσιγάρα για το 28,1%, 21-30 τσιγάρα για το 25,9% των καπνιστών και >40 τσιγάρα για το 24,6% των καπνιστών. Για τις γυναίκες καπνίστριες, αντίστοιχα, το 14,7% καπνίζει 6-10 τσιγάρα, το 26,5% 11-20 τσιγάρα και το 32,4% 32-30 τσιγάρα ημερησίως.

ΜΕΡΟΣ 5^ο : ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία 5 χρόνια, μελέτες γενετικής ανάλυσης σάρωσης γονιδιώματος (GWAS) επιτυγχάνουν στην αναγνώριση γενετικών τόπων σπάνιων γνωρισμάτων. Ο τομέας αυτός μετατοπίζεται πια στην μελέτη απομονωμένων πληθυσμών που λόγω της αυξημένης συχνότητας σπάνιων πολυμορφισμών αυξάνουν την στατιστική ισχύ στη διερεύνηση σύνθετων και σπάνιων γνωρισμάτων. Η αυξημένη αυτή συχνότητα οφείλεται στο αποτέλεσμα της αρχής του ιδρυτή και της μεγάλης έκτασης της ανισορροπίας σύνδεσης, σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό. Το υψηλό ποσοστό συγγένειας των ατόμων του πληθυσμού των Πομάκων, αποτελεί ένδειξη της γενετικής απομόνωσης του πληθυσμού αυξάνοντας πολύ την πιθανότητα επιτυχίας στη μελέτη τέτοιων σπάνιων γνωρισμάτων. Βέβαια, η συμμετοχή μεγάλων οικογενειών, μέλη της οποίας παρακινούσαν τα υπόλοιπα για τη συμμετοχή τους στη μελέτη, πιθανώς να ευθύνεται για αυτό το αποτέλεσμα. Ο έλεγχος συγγένειας και ύπαρξης κοινών απλοτύπων στο γονιδίωμα ασυσχέτιστων-μη συγγενικών ατόμων θα επιβεβαιώσει τη γενετική απομόνωση του πληθυσμού και την καταλληλότητα του πληθυσμού των Πομάκων για τη μελέτη σπάνιων γονιδίων [90].

Όσον αφορά τώρα στη γνωριμία μας με τον πληθυσμό των Πομάκων, τα παραπάνω αποτελέσματα μας δίνουν κάποιες πληροφορίες για την ποιότητα και την κουλτούρα του. Η γενετική και γεωγραφική απομόνωσή τους διαμορφώνει έναν ιδιόμορφο πληθυσμό με πολιτιστικά και κοινωνικά χαρακτηριστικά, έντονα διαφοροποιημένα από αυτά του γενικού πληθυσμού. Αξίζει να παρατηρήσουμε πως υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ ανδρών και γυναικών, ειδικότερα στις συνήθειες και το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο.

Όπως είδαμε, η μέση ηλικία του δείγματος είναι τα 43 έτη, με την πλειοψηφία του δείγματος να ανήκει στην ηλικιακή ομάδα 41-55. Σημαντικό ποσοστό των ατόμων χαμηλότερης έχουν φύγει από τα χωριά της ορεινής Ροδόπης, αφήνοντάς τα να κατοικούνται κυρίως από άτομα μεγαλύτερης ηλικίας. Το γεγονός ότι η δειγματοληψία κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου γινόταν στο Κ.Υ. Εξίνου, πιθανώς να αύξησε το μέσο όρο ηλικίας, καθώς άτομα μέσης και τρίτης ηλικίας είναι αυτά που το επισκέπτονται κατά κύριο λόγο. Παρόλο που τα Πομακοχώρια κατοικούνται από μεγάλο αριθμό ατόμων που ανήκουν στην ηλικιακή ομάδα >56 ετών, το ποσοστό συμμετοχής τους στη μελέτη είναι μικρό (8,4%). Άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, συχνά απέφευγαν να συμμετάσχουν στη μελέτη, λόγω δυσκολιών στην επικοινωνία με τους ερευνητές, ενώ μεγάλος αριθμός αυτών παραμένουν στο σπίτι λόγω προβλημάτων υγείας.

Όσον αφορά στο φύλο των ατόμων του δείγματος, είδαμε τη συμμετοχή των ανδρών να είναι σημαντικά χαμηλότερη (29,1%) έναντι του 70,9% των γυναικών. Και εδώ την εξήγηση έρχεται να δώσει πιθανώς η μετανάστευση των ανδρών στο εξωτερικό με σκοπό την εύρεση εργασίας. Σημαντικά μεγαλύτερη ήταν όμως και η αντίσταση των ανδρών στη συμμετοχή στη μελέτη, σε αντίθεση με τις γυναίκες που ήταν περισσότερο δεκτικές στο να αφιερώσουν χρόνο στη συνέντευξη και τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου.

Έντονο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα που αφορούν το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο του πληθυσμού των Πομάκων. Συγκεκριμένα για το εκπαιδευτικό επίπεδο, βλέπουμε ότι στην πλειοψηφία τους οι γυναίκες έχουν παρακολουθήσει μόνο Δημοτική εκπαίδευση (72,1%), ενώ μεγάλο είναι και το ποσοστό των γυναικών χωρίς καμία εκπαίδευση (12,4%). Το ποσοστό των γυναικών που έχουν τελειώσει το Γυμνάσιο και το Λύκειο είναι μόλις 13,7% του δείγματός μας. Τα αντίστοιχα ποσοστά για τους άνδρες είναι σημαντικά διαφοροποιημένα, με το 66,6% να έχει 6 χρόνια εκπαίδευσης, το 23,4% να έχει παρακολουθήσει δευτεροβάθμια εκπαίδευση και 4,3% να έχει

και πανεπιστημιακή εκπαίδευση. Τα άτομα νεαρότερης ηλικίας στην πλειοψηφία τους έχουν εμφανώς περισσότερα χρόνια εκπαίδευσης ενώ οι εθελοντές μεγαλύτερης ηλικίας σε μεγάλο ποσοστό τους δεν έχουν καμία εκπαίδευση. Στη σύγκριση μεταξύ ανδρών και γυναικών, και εδώ οι γυναίκες φαίνεται να έχουν χαμηλότερο εκπαιδευτικό επίπεδο.

Τα στοιχεία για τον γενικό ελληνικό πληθυσμό από τα αποτελέσματα της απογραφής του 2001, χωρίς βέβαια να υπάρχουν στοιχεία ξεχωριστά για τα δύο φύλα ή ανά ηλικιακή ομάδα, αναφέρουν πως το 36,8% του πληθυσμού της χώρας έχουν απολυτήριο δημοτικού, το 4,42% δεν φοίτησε στο δημοτικό και δε γνωρίζει γραφή και ανάγνωση. Το ποσοστό των ατόμων του συνόλου της χώρας που έχουν απολυτήριο λυκείου είναι 17,57%. Το ποσοστό αυτό για τον πληθυσμό της κεντρικής Μακεδονίας είναι 15,61% ενώ για την Αττική είναι 23,05%. Το 8,12% έχουν πτυχίο κάποιας ανώτερης ή ανώτατης σχολής [91].

Η σύγκριση του πληθυσμού των Πομάκων και ειδικότερα των ατόμων με ηλικία ανώτερη του μέσου όρου (>43) με τα στοιχεία για την υπόλοιπη Ελλάδα, φανερώνει πως το εκπαιδευτικό επίπεδό τους είναι σημαντικά χαμηλότερο από αυτό του γενικού πληθυσμού. Η απουσία Γυμνασίου και Λυκείου στα χωριά της ορεινής Ροδόπης μέχρι πριν από λίγα χρόνια, η γεωγραφική τους απομόνωση που δυσχέραινε τις μετακινήσεις αλλά και η κουλτούρα του πληθυσμού που ενίσχυε την αγροτική ζωή και την κτηνοτροφία δικαιολογεί το χαμηλό εκπαιδευτικό επίπεδο των κατοίκων των Πομακοχωρίων.

Στοιχεία για την επαγγελματική κατάσταση έρχονται να μας βοηθήσουν λίγο περισσότερο να κατανοήσουμε το πληθυσμό που μελετάμε. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ανδρών είναι είτε αγρότες, είτε κτηνοτρόφοι, είτε εργάτες σε ναυπηγία σε χώρες του εξωτερικού. Οι γυναίκες, στο μεγαλύτερο ποσοστό τους (85,3%) ασχολούνται με τα οικιακά, ενώ πολλές από αυτές ασχολούνται επίσης με τις αγροτικές εργασίες, ταυτόχρονα με την φροντίδα του σπιτιού. Το 22,3% των ανδρών είναι άνεργοι. Το αντίστοιχο ποσοστό για τις γυναίκες είναι 4,7%. Η τιμή αυτή

εξηγείται λόγω του ότι πολύ λίγες γυναίκες αναζητούν εργασία και δηλώνουν άνεργες, καθώς οι περισσότερες από αυτές ασχολούνται με τα οικιακά. Στοιχεία της Ελληνικής Στατιστικής Υπηρεσίας για το 2011 (έτος ολοκλήρωσης της δειγματοληψίας) αναφέρουν πως η ανεργία για τον γενικό ελληνικό πληθυσμό ήταν περίπου 16,3%, και μάλιστα το ποσοστό των ανέργων γυναικών (20,0%) ήταν σημαντικά υψηλότερο από αυτό των ανδρών (13,7%) [92]. Συμπεραίνουμε λοιπόν πως το ποσοστό των ανέργων είναι σημαντικά υψηλότερο στον πληθυσμό των Πομάκων, τόσο στις γυναίκες όσο και στους άνδρες.

Όσον αφορά στις καπνιστικές συνήθειες του πληθυσμού των Πομακοχωρίων, βλέπουμε τις γυναίκες στην συντριπτική τους πλειοψηφία να απέχουν από το κάπνισμα (95,4%), ενώ τους άνδρες να καπνίζουν σε ποσοστό 48,6%. Ένα ποσοστό 25% συνήθιζε να καπνίζει αλλά έχει κόψει το κάπνισμα, ενώ το υπόλοιπο 26,6% δεν έχει καπνίσει ποτέ. Στοιχεία για το 2007 του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για τον γενικό πληθυσμό αναφέρουν πως στην Δυτική Ευρώπη το 34% των ανδρών και το 25% των γυναικών είναι καπνιστές. Η Ελλάδα συγκεκριμένα παρουσιάζει την υψηλότερη αναλογία καπνιστών μεταξύ των δυτικοευρωπαϊκών χωρών (37,6%) όχι μόνο στους άνδρες αλλά και στις γυναίκες. Τα ποσοστά που εμφανίζονται στον πληθυσμό των Πομάκων, πλησιάζουν περισσότερο τα ποσοστά της Ανατολικής Ευρώπης, όπου το 47% των ανδρών και το 20% των γυναικών καπνίζει. Βέβαια οι γυναίκες-καπνίστριες εθελόντριες της μελέτης ήταν πολύ λιγότερες. Μάλιστα, πολλές από αυτές μας ανέφεραν αυτή την πληροφορία με μυστικοπάθεια, ενώ αναμένεται και σημαντική υποκαταγραφή της πληροφορίας.

Γεγονός είναι ότι η μουσουλμανική θρησκεία των Πομάκων απαγορεύει στις γυναίκες να καπνίζουν αλλά και να εργάζονται. Η απομόνωση του πληθυσμού των Πομάκων και η διατήρηση του μουσουλμανικού θρησκευματος έχει συντελέσει στη διατήρηση του χαρακτηριστικού αυτού της κουλτούρας τους. Χαρακτηριστικά, το Κοράνι τονίζει ότι οι γυναίκες *«οφείλουν να εκπληρώσι τα εαυτών καθήκοντα ως αρμόζει, οι δε*

άνδρες να προσφέρονται προς αυτές μετά δικαιοσύνης, αλλ' έχουν την εαυτών εξουσίαν». Βέβαια, στην Πομακική παράδοση, η γυναίκα έχει σπουδαίο ρόλο στην οικογένεια, καθώς σε αυτήν οφειλόταν η ευημερία της οικογένειας.

Εκτός από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής του πληθυσμού των Πομάκων, μελετήσαμε και κάποια στοιχεία του κλινικού τους ιστορικού. Προηγούμενη μελέτη επιπολασμού που έγινε στο Κ.Υ. Εχίνου διερεύνησε τον επιπολασμό των συχνότερων χρονίων νοσημάτων [43], που είναι οι ψυχικές διαταραχές, η στεφανιαία νόσος, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, το Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο και οι πνευμονοπάθειες. Τα αποτελέσματα της μελέτης HELIC τείνουν να διαφοροποιούνται από τα προηγούμενα ευρήματα. Συγκεκριμένα, ποσοστό κοντά στο 3% για τη στεφανιαία νόσο δίδεται και από τις δύο. Σημαντικές διαφοροποιήσεις αφορούν τα ποσοστά της υπέρτασης, του σακχαρώδους διαβήτη, των πνευμονοπαθειών και των ψυχικών διαταραχών, τα οποία φαίνονται αρκετά υψηλότερα στα δεδομένα της μελέτης HELIC. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν επίσης ποσοστά του ΑΕΕ χαμηλότερα σε σχέση με την προηγούμενη μελέτη. Ερμηνεία της διαφοροποίησης αυτής μπορεί να δοθεί λόγω του ότι, όπως φάνηκε και από τον μέσο όρο ηλικίας του δείγματος, στο μεγαλύτερο ποσοστό τους οι εθελοντές είχαν ηλικία 41-55, ενώ αντίθετα, στη μελέτη επιπολασμού του Κ.Υ. πιθανώς η ηλικιακή κατανομή να ήταν διαφορετική.

Τα αποτελέσματα για την αρτηριακή πίεση, δείχνουν πως τα άτομα 41-55 είναι στο μέσο όρο τους σε κατάσταση προϋπέρτασης, ενώ τα άτομα >56 ετών είναι στο μέσο όρο τους υπέρτατικά. Όσον αφορά στο βάρος τους, από τις τιμές του δείκτη μάζας σώματος, φαίνεται πως τόσο οι άνδρες όσο και οι γυναίκες στο μεγαλύτερό τους ποσοστό ανήκουν στην κατηγορία του υπέρβαρου ($\Delta\text{ΜΣ}>25\text{kg/m}^2$). Μάλιστα, η πρόσθεση του ποσοστού των υπέρβαρων και παχύσαρκων εθελοντών δείχνει πως το 67,8% των εθελοντών έχουν υπερβάλλον βάρος. Οι τιμές του λόγου της

περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίου (περιφ. Μέσης/περιφ. Ισχίου= $0,83 > 0,80$) δείχνουν πως οι γυναίκες βρίσκονται σε μέτριο κίνδυνο για εμφάνιση προβλημάτων υγείας που σχετίζονται με το υπερβάλλον βάρος και την κοιλιακή παχυσαρκία, όπως ο διαβήτης, η στεφανιαία νόσος και η υψηλή αρτηριακή πίεση. Η τιμή για τους άνδρες είναι $0,93 (< 0,95)$, και επομένως φαίνεται να αντιμετωπίζουν χαμηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση των ασθενειών αυτών.

Η χαμηλή φυσική δραστηριότητα των γυναικών, ο μικρός αριθμός ασχολιών τους αλλά και η υποβαθμισμένη θέση τους πιθανώς να ευθύνονται για το μεγάλο ποσοστό του υπέρβαρου. Βέβαια η αιτιολόγηση αυτής της παρατήρησης αλλά και πολλών ακόμα θα μπορέσει να γίνει μετά την ολοκλήρωση της μελέτης, τη τελειοποίηση της βάσης δεδομένων που αφορά στα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και τον τρόπο ζωής, και μετά το πέρας όλων των γενετικών αναλύσεων, οπότε θα είναι δυνατή η μελέτη των συσχετίσεων όλων των περιβαλλοντικών και των γενετικών παραγόντων.

5.1. Περιορισμοί

Σημαντικές δυσκολίες υπήρχαν στην επικοινωνία των ερευνητών με τους εθελοντές. Τόσο λόγω του χαμηλού εκπαιδευτικού επιπέδου, όσο και λόγω του γεγονότος ότι η ελληνική δεν είναι η μητρική τους γλώσσα, συχνά η συμπλήρωση του ερωτηματολογίου ήταν δύσκολη ακόμη και αδύνατη, σίγουρα χρονοβόρα. Συχνά οι εθελοντές δεν γνώριζαν το ιατρικό ιστορικό και την ονομασία της διάγνωσής τους και ακόμη περισσότερο το ιατρικό ιστορικό της οικογένειάς τους. Σε κάποιες περιπτώσεις υπήρχε η ανάγκη διερμηνέα, οπότε και οι εθελοντές ήταν περισσότερο επιφυλακτικοί στο να μοιραστούν προσωπικές πληροφορίες.

Ένας ακόμη περιορισμός στη μεθοδολογία της μελέτης αφορά στον χειρισμό των δειγμάτων, κυρίως όταν η δειγματοληψία γινόταν εκτός Κέντρου Υγείας, στο Περιφερειακό Ιατρείο του εκάστοτε χωριού. Καθώς

μεσολαβούσαν 3-4 ώρες από τη λήψη του πρώτου δείγματος έως την στιγμή της επεξεργασία τους στο εργαστήριο του Κέντρου Υγείας, υπάρχει το ενδεχόμενο τροποποίησης των τιμών των βιοχημικών δεικτών και ειδικότερα της γλυκόζης.

Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως η ολοκληρωμένη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου απαιτούσε χρόνο περίπου ίσο με 25'. Ειδικότερα λόγω προβλημάτων στην επικοινωνία ο χρόνος της συνέντευξης αυξανόταν, μειώνοντας κατά πολύ τον αριθμό των νέων δειγμάτων ανά εξόρμηση, αλλά και αυξάνοντας τον αριθμό των ασυμπλήρωτων μεταβλητών (missing values).

Η εναλλαγή των ερευνητών, τέλος, πιθανώς να έχει προκαλέσει κάποιο τυπικό σφάλμα στη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων αλλά και τη λήψη των ανθρωπομετρικών δεικτών. Συγκεκριμένα για τους ανθρωπομετρικούς δείκτες, ο βαρύς ρουχισμός των εθελοντών λόγω των ψυχρών καιρικών συνθηκών δυσκόλεψε τη λήψη ακριβών μετρήσεων.

5.2. Μελλοντικοί στόχοι

Το επόμενο βήμα στη μελέτη HELIC για τον πληθυσμό των Πομάκων θα είναι η διόρθωση των τιμών όλων των μεταβλητών (οικογενειακό ιστορικό, διατροφικές συνήθειες/πρότυπα, επίπεδα φυσικής δραστηριότητας) και η τελειοποίηση της βάσης δεδομένων, καθώς και η γονοτύπηση του συνόλου των δειγμάτων DNA. Μετά το πέρας των διεργασιών αυτών, το σύνολο των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών και των περιβαλλοντικών παραγόντων θα μπορεί να μελετηθεί, όπως και οι μεταξύ τους συσχετίσεις. Επίσης, θα είναι η δυνατή η διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων κινδύνου, η ανίχνευση γονιδίων που σχετίζονται με συγκεκριμένους φαινότυπους, αλλά και οι επιδράσεις των περιβαλλοντικών παραγόντων στην έκφρασή τους.

Ένας ακόμη στόχος θα ήταν η συνέχιση της δειγματοληψίας, ώστε το να υπάρχει ισοκατανομή στα ποσοστά συμμετοχής των ατόμων από κάθε χωριό της Ορεινής Ροδόπης και ισοκατανομή στο φύλο. Η επίτευξη αυτού του στόχου θα μπορούσε να γίνει με την οργάνωση περειαίων εξορμήσεων στα χωριά με την χαμηλότερη συμμετοχή σε σχέση με τον πληθυσμό τους και την ενίσχυση της συμμετοχής των ανδρών, αντίστοιχα. Αποτέλεσμα θα είναι το δείγμα να είναι περισσότερο αντιπροσωπευτικό του πληθυσμού των Πομάκων και του κάθε χωριού ξεχωριστά, ενώ παράλληλα, με την αύξηση του συνόλου των εθελοντών της μελέτης, θα αυξηθεί η στατιστική ισχύς του δείγματος και η πιθανότητα εύρεσης στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων κινδύνου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Census., U.S.B.o.t., "*Census Population Estimates*" March 2012.
2. Thompson, T., *Genetics in Medicine*, ed. W.B.S. Company. 1991.
3. Thomas D. Gelehrter, M.D., *Principles of Medical Genetics*. 2nd ed. 2003: Williams & Wilkins.
4. Masel, J., *Genetic drift*. Current Biology. **21**(20): p. R837-R838.
5. Provine, W.B., *Ernst Mayr*. Genetics, 2004. **167**(3): p. 1041-1046.
6. Αλαχιώτης, Σ., *Εισαγωγή στη Γενετική*. 3η ed. 2005, Αθήνα: Ελληνικά Γράμματα.
7. Arcos-Burgos, M. and M. Muenke, *Genetics of population isolates*. Clinical Genetics, 2002. **61**(4): p. 233-247.
8. McKusick, V.A., *Ellis-van Creveld syndrome and the Amish*. Nat Genet, 2000. **24**(3): p. 203-204.
9. Morton, D.H., et al., *Pediatric medicine and the genetic disorders of the Amish and Mennonite people of Pennsylvania*. American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics, 2003. **121C**(1): p. 5-17.
10. Reference, G.H., *Porphyria*. 2009.
11. Charrow, J., *Ashkenazi Jewish genetic disorders*. Familial Cancer, 2004. **3**(3): p. 201-206.
12. *Human Genome Project Information*. 2011 July 25, 2011 [cited; Available from: http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml].
13. Heutink, P. and B.A. Oostra, *Gene finding in genetically isolated populations*. Human Molecular Genetics, 2002. **11**(20): p. 2507-2515.
14. Terwilliger, J.D. and K.M. Weiss, *Linkage disequilibrium mapping of complex disease: fantasy or reality?* Current Opinion in Biotechnology, 1998. **9**(6): p. 578-594.
15. Ober, C., et al., *A Second-Generation Genomewide Screen for Asthma-Susceptibility Alleles in a Founder Population*. American journal of human genetics, 2000. **67**(5): p. 1154-1162.
16. Lowe, J.K., et al., *Genome-Wide Association Studies in an Isolated Founder Population from the Pacific Island of Kosrae*. PLoS Genet, 2009. **5**(2): p. e1000365.
17. Peltonen, L., A. Palotie, and K. Lange, *Use of population isolates for mapping complex traits*. Nat Rev Genet, 2000. **1**(3): p. 182-190.
18. Bourgain, C. and E. Genin, *Complex trait mapping in isolated populations: Are specific statistical methods required?* Eur J Hum Genet, 2005. **13**(6): p. 698-706.
19. Mueller, J.C., *Linkage disequilibrium for different scales and applications*. Briefings in Bioinformatics, 2004. **5**(4): p. 355-364.
20. Weir, B.S., *Linkage Disequilibrium and Association Mapping*. Annual Review of Genomics and Human Genetics, 2008. **9**(1): p. 129-142.
21. Laan, M. and S. Pöδbo, *Mapping Genes by Drift-Generated Linkage Disequilibrium*. American journal of human genetics, 1998. **63**(2): p. 654-656.
22. Laan, M. and S. Paabo, *Demographic history and linkage disequilibrium in human populations*. Nat Genet, 1997. **17**(4): p. 435-438.
23. Kati Kristiansson, J.N.a.L.P., *Isolated populations and complex disease gene identification*. Genome Biol., 2008. **9**(8): p. 109.
24. genetics, d. [cited; Available from: <http://www.decode.com>].
25. Helgason, A., et al., *A Reassessment of Genetic Diversity in Icelanders: Strong Evidence from Multiple Loci for Relative Homogeneity Caused by Genetic Drift*. Annals of Human Genetics, 2003. **67**(4): p. 281-297.

26. Peltonen, L., A. Jalanko, and T. Varilo, *Molecular Genetics the Finnish Disease Heritage*. Human Molecular Genetics, 1999. **8**(10): p. 1913-1923.
27. Nimgaonkar, V.L., et al., *Schizophrenia and porphobilinogen deaminase gene polymorphisms: an association study*. Schizophrenia Research, 1992. **8**(1): p. 51-58.
28. Ekelund, J., et al., *Chromosome 1 loci in Finnish schizophrenia families*. Human Molecular Genetics, 2001. **10**(15): p. 1611-1617.
29. Pajukanta, P., et al., *Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1)*. Nat Genet, 2004. **36**(4): p. 371-376.
30. Baier, L.J. and R.L. Hanson, *Genetic Studies of the Etiology of Type 2 Diabetes in Pima Indians*. Diabetes, 2004. **53**(5): p. 1181-1186.
31. Ober, C., et al., *Effect of Variation in CHI3L1 on Serum YKL-40 Level, Risk of Asthma, and Lung Function*. New England Journal of Medicine, 2008. **358**(16): p. 1682-1691.
32. *The International HapMap Project*. Nature, 2003. **426**(6968): p. 789-796.
33. Cardon, L.R. and G.R. Abecasis, *Using haplotype blocks to map human complex trait loci*. Trends in Genetics, 2003. **19**(3): p. 135-140.
34. Ghodsee, K.R., *Muslim lives in Eastern Europe: gender, ethnicity, and the transformation of Isla in postsocialist Bulgaria*. 2009: Princeton University Press.
35. Θεοφάνης, Μ. Ανακοίνωση στο Διεθνές Επιστημονικό Συνέδριο. in *Χώρος και περιβάλλον: Παγκοσμιοποίηση-Διακυβέρνηση-Βιωσιμότητα*. Αθήνα, Πάντειο Πανεπιστήμιο.
36. Association for Balkan, A., et al., *Ethnologia balkanica*. Ethnologia balkanica., 1997.
37. Πέτρος Θεοχαρίδης, Π.Ε. 1996, Θεσσαλονίκη: Αίγειρος.
38. *Η προφορική παράδοση των Πομάκων της Ροδόπης*, in *Νατ Πρες*. 2009.
39. Demetriou, O., *Prioritizing 'ethnicities': The uncertainty of Pomak-ness in the urban Greek Rhodope*. Ethnic and Racial Studies, Jan 2004. **27**(1): p. 95-119.
40. Κηπουρός, Χ., *Οι συγγενείς μου, οι Πομάκοι*, in *Αντίβαρο*. Μάρτιος 2005.
41. Skaragas G, K.G., Repanta E, Zaphiriou K, Chatziachmet A, Dimitriadou A, Papazoglou N, Trakatellis A., *Haemoglobin O Arab in the Pomak population of Thrace*. Gene Geogr., 1996 Aug. **10**(2): p. 123-33.
42. Papadopoulos, V., et al., *HbO-Arab mutation originated in the Pomak population of Greek Thrace*. Haematologica, 2005. **90**(2): p. 255-257.
43. Μαρία Καραλευθέρη , Α.Α., Σημέλα Χατζηκωνσταντινίδου , Γιαλαμά Στυλιανή, *Επιπολασμός Ορισμένων Χρονίων Νοσημάτων σε τρεις κοινότητες περιοχής ευθύνης του Κ.Υ. Εχίνου Ξάνθης*.
44. Bulletin, G.N.S.S.-M.S. 2001, Greek Statistical Bureau Bulletin: Athens.
45. Zeginis, E., *Muslim minority of western Thrace*. Kathimerini, 1993. **14**(11).
46. Akhan, G., *Is there ant change of stroke incidence during Ramadan?* Acta Neurologica Scandinadia, 2000(101): p. 259-261.
47. Sarti, C., *International Trends in mortality from stroke, 1968-1994*. 2000(31): p. 1588-1601.
48. Vemmos, K.N., *The Athens stroke registry results of a five-year hospital based srudy*. Cerebrovascular disease, 2000(10): p. 133-141.
49. Kumral, *The Ege Stroke Registry: a hospital-based study in the Aegean region, Ismir, Tyrkey. Analysis of 2.000 stroke patients*. Cerebrovascular disease, 1998(8): p. 278-288.
50. D., H.-P., *American Mouslim women's experience of leaving abusive relationships*. Health Care Women International, 2001(22): p. 415-432.
51. Ali, A., *Self esteem as a predictor of attitudes toward wife abuse among Muslim women and men in Canada*. Journal of Social Psychology, 2001(141): p. 23-30.
52. Papadopoulos, V. 2005.

53. Howard G, H.V., *Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke (REGARDS) investigators. Ethnic disparities in stroke: the scope of the problem.* Ethnic Disease, 2001(11): p. 761-768.
54. Τριχόπουλος, *Επισημιολογία: Αρχές-Μέθοδοι-Εφαρμογές.* 1982, Αθήνα: Εκδόσεις Γ. Παρισιάνος.
55. Τριχόπουλος, *Γενική και Κλινική Επιδημιολογία-Εγχειρίδιο επιδημιολογίας και Αρχών Κλινικής Έρευνας.* 2002, Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου.
56. Mouloupoulos, S.D., et al., *CORONARY HEART DISEASE RISK FACTORS IN A RANDOM SAMPLE OF ATHENIAN ADULTS THE ATHENS STUDY.* American Journal of Epidemiology, 1987. **126**(5): p. 882-892.
57. Wilson, P.W.F., et al., *Prediction of coronary heart disease using risk factor categories.* Circulation, 1998. **97**(18): p. 1837-1847.
58. McGovern, P.G., et al., *Recent Trends in Acute Coronary Heart Disease β€ Mortality, Morbidity, Medical Care, and Risk Factors.* New England Journal of Medicine, 1996. **334**(14): p. 884-890.
59. Wood, D., *Established and emerging cardiovascular risk factors.* American Heart Journal, 2001. **141**(2, Part B): p. 49-57.
60. Tervahauta, M., J. Pekkanen, and A. Nissinen, *Risk factors of coronary heart disease and total mortality among elderly men with and without preexisting coronary heart disease: Finnish cohorts of the seven countries study.* Journal of the American College of Cardiology, 1995. **26**(7): p. 1623-1629.
61. Laurenzi, M., et al., *Multiple risk factors in hypertension: Results from the Gubbio study.* Journal of Hypertension, 1990. **8**(SUPPL. 1): p. S7-S12.
62. Knowler, W.C., et al., *Preventing non-insulin-dependent diabetes.* Diabetes, 1995. **44**(5): p. 483-488.
63. Whisnant, J.P., *Effectiveness versus efficacy of treatment of hypertension for stroke prevention.* Neurology, 1996. **46**(2): p. 301-307.
64. Wolf, P.A., R.D. Abbott, and W.B. Kannel, *Atrial Fibrillation: A Major Contributor to Stroke in the Elderly: The Framingham Study.* Arch Intern Med, 1987. **147**(9): p. 1561-1564.
65. Iso, H., et al., *Serum Cholesterol Levels and Six-Year Mortality from Stroke in 350,977 Men Screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial.* New England Journal of Medicine, 1989. **320**(14): p. 904-910.
66. *Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33).* The Lancet, 1998. **352**(9131): p. 837-853.
67. Hankey, G.J., *Smoking and risk of stroke.* Journal of Cardiovascular Risk, 1999. **6**(4): p. 207-211.
68. Reynolds, K., et al., *Alcohol Consumption and Risk of Stroke.* JAMA: The Journal of the American Medical Association, 2003. **289**(5): p. 579-588.
69. Larsson, S.C., J. Virtamo, and A. Wolk, *Red meat consumption and risk of stroke in Swedish men.* The American Journal of Clinical Nutrition. **94**(2): p. 417-421.
70. (WHO), W.H.O. *Risk factors for chronic respiratory diseases.* [cited.
71. Berry, A., et al., *Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety- and depression-like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice.* Psychoneuroendocrinology. **37**(6): p. 762-772.
72. Kendler, K.S., *Twin Studies of Psychiatric Illness: An Update.* Arch Gen Psychiatry, 2001. **58**(11): p. 1005-1014.
73. Bearden, C.E. and N.B. Freimer, *Endophenotypes for psychiatric disorders: ready for primetime?* Trends in Genetics, 2006. **22**(6): p. 306-313.

74. Fumagalli, F., et al., *Stress during development: Impact on neuroplasticity and relevance to psychopathology*. Progress in Neurobiology, 2007. **81**(4): p. 197-217.
75. Taylor, S.E. and A.L. Stanton, *Coping Resources, Coping Processes, and Mental Health*. Annual Review of Clinical Psychology, 2007. **3**(1): p. 377-401.
76. Iversen, S.D. and L.L. Iversen, *Dopamine: 50 years in perspective*. Trends in Neurosciences, 2007. **30**(5): p. 188-193.
77. Spataro, J., et al., *Impact of child sexual abuse on mental health*. The British Journal of Psychiatry, 2004. **184**(5): p. 416-421.
78. Muntaner, C., et al., *Socioeconomic Position and Major Mental Disorders*. Epidemiologic Reviews, 2004. **26**(1): p. 53-62.
79. Chakraborty, A.P.U. and K. McKenzie, *Does racial discrimination cause mental illness?* The British Journal of Psychiatry, 2002. **180**(6): p. 475-477.
80. *Cannabis and mental health*. [cited; Available from: <http://www.rcpsych.ac.uk/mentalhealthinfo/problems/alcoholanddrugs/cannabis.aspx>.
81. *Mental Health Effects of Alcohol Consumption*. [cited; Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Long-term_effects_of_alcohol#Mental_health_effects.
82. Winston, A.P., E. Hardwick, and N. Jaber, *Neuropsychiatric effects of caffeine*. Advances in Psychiatric Treatment, 2005. **11**(6): p. 432-439.
83. Weiner JS, L.J., *Practical Human Biology*. 1981, London: Academic Press.
84. Ι, Μ., *Διατροφική αξιολόγηση: Διαιτολογικό & Ιατρικό Ιστορικό, Σωματομετρικοί, Κλινικοί και Βιοχημικοί δείκτες*, ed. Ι.Ε.Π.Χ. Πασχαλίδης. 2006, Αθήνα.
85. (NHANES), N.H.a.N.E.S., *Anthropometry Procedures Manual*. January 2007.
86. Ross WD, M.-J.M., *Kinanthropometry, Physiological Testing of the High-Performance Athlete*. 1991: MacDougall JD, Wenger HA, Green HJ.
87. National Health and Nutrition Examination Survey, B.M.
88. Day, B.S., B.P. Fayers, and B.D. Harvey, *Double Data Entry: What Value, What Price?* Controlled Clinical Trials, 1998. **19**(1): p. 15-24.
89. Kong, A., et al., *Detection of sharing by descent, long-range phasing and haplotype imputation*. Nature Genetics, 2008. **40**(9): p. 1068-1075.
90. Lorraine Southam, I.T., Kimmo Palin, William Rayner, Aliko-Eleni Farmaki, Erica Daoutidou, Ioanna Ntalla, Kalliope Panoutsopoulou, George Dedousis, Eleftheria Zeggini, *Population isolates from Greece offer potential for powerful disease gene mapping: the HELIC-Pomak and MANOLIS studies*, in *International Conference of the Quantitative Genetics*. 2012.
91. 1991, Α.α. 1991 [cited; Available from: http://www.urenio.org/el/annual_report/indicators/2_1.pdf.
92. *Αποτελέσματα Ελληνικής Στατιστικής Υπηρεσίας για τα ποσοστά ανεργίας στην Ελλάδα, κατά το Β' τρίμηνο του 2011*. 2011 [cited; Available from: http://mae.dataarc.gr/index.php?option=com_content&view=article&id=429:--163:-----2011&catid=50:2010-10-08-12-54-20.