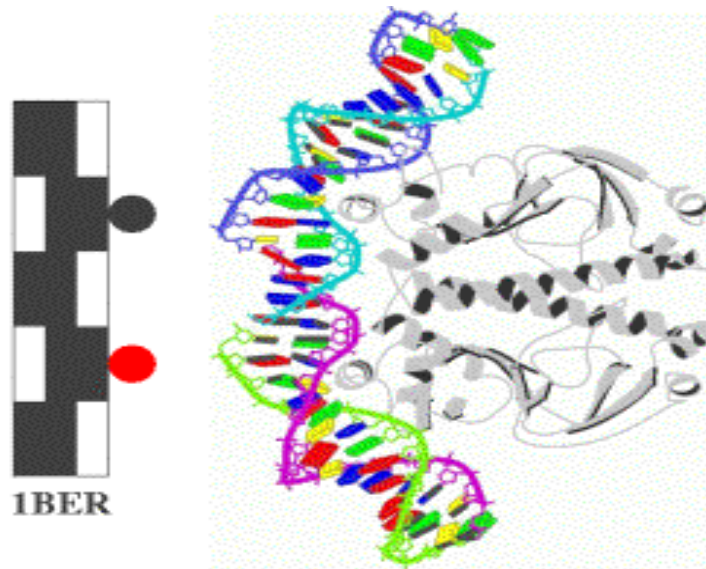


ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΑΡΟΑΝ, -1131T>C ΚΑΙ S19W,
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΕΠΠΕΔΑ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ ΚΑΙ
ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΚΟ
ΠΛΗΘΥΣΜΟ.**



ΑΝΔΡΙΩΤΗΣ ΚΩΝ/ΝΟΣ-ΑΝΤΩΝΙΟΣ

Επιβλέπων καθηγητής: Δεδούσης Γεώργιος

Τριμελής Επιτροπή:
Δεδούσης Γεώργιος
Γιαννακούλια Μαίρη
Παναγιωτάκος Δημοσθένης

EΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αυτή η σελίδα είναι αφιερωμένη σε όσα άτομα οφείλω ένα ευχαριστώ...Πρώτα από όλα, ευχαριστώ τον κο Δεδούση, ο οποίος θέλησε να μου αναθέσει αυτό το θέμα, στο οποίο αφιέρωσα ένα αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα από το τέταρτο και ελάχιστο από το πέμπτο έτος της φοιτητικής μου ζωής... Ακόμα, ένα μεγάλο ευχαριστώ σίγουρα αξίζει η Σταυρούλα, που χωρίς τη βοήθειά της δε θα κατάφερνα να ετοιμάσω την πτυχιακή μου. Αλλά ευχαριστώ και τη Γιώτα, την Εύα, τη Γαρυφαλλιά, την Ειρήνη, την Ελεάνα, τη Μαρία, τη Νικολέτα, τη Τζοβάννα και φυσικά το δικό μου κουράγιο...

Τέλος, ευχαριστώ προκαταβολικά τους επιβλέποντες καθηγητές μου, για το χρόνο τους που θα αφιερώσουν στην παρουσίαση των ευρημάτων μας. Ευχαριστώ!

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΕΛ. 1

1. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

ΣΕΛ. 2

1.1. ΠΑΙΔΙΚΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

ΣΕΛ. 3

1.1.1. Εισαγωγή

ΣΕΛ. 4

1.1.2. Ορισμός

ΣΕΛ. 5

1.1.3. Διαγνωστικά κριτήρια

ΣΕΛ. 6

1.1.4. Επιπολασμός

ΣΕΛ. 7

1.1.5. Αιτιολογικοί παράγοντες

ΣΕΛ. 11

1.1.6. Επιπτώσεις

ΣΕΛ. 16

1.2. ΑΡΟΑ-V

ΣΕΛ. 20

1.2.1. Γενικά

ΣΕΛ. 21

1.2.2. Υπεροικογένεια Απολιποπρωτεϊνών

ΣΕΛ. 21

1.2.3. ΑΡΟΑ-V

ΣΕΛ. 22

1.2.4. Δομή και σύνθεση

ΣΕΛ. 22

1.2.5. Λειτουργίες

ΣΕΛ. 23

1.2.5.1. Η apoA-V ως ενεργοποιητής της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων

ΣΕΛ. 23

1.2.5.2. Η apoA-V και η ενδοκυτταρική της δράση

ΣΕΛ. 25

1.2.6. Το γονίδιο της apoA-V

ΣΕΛ. 27

1.2.7. Πολυμορφισμοί

ΣΕΛ. 27

1.2.8. Απλότυποι

ΣΕΛ. 27

1.2.9. Ο πολυμορφισμός -1131T>C

ΣΕΛ. 29

1.2.10. Ο πολυμορφισμός c56C>G

ΣΕΛ. 30

1.2.11. Αποτελέσματα ερευνών

ΣΕΛ. 30

1.2.11.1. Έρευνες σε παιδιά και εφήβους

ΣΕΛ. 30

1.2.11.2. Έρευνες σε ενήλικους

ΣΕΛ. 31

2. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Σκοπός	ΣΕΛ. 39
2.2. ΜΕΘΟΛΟΓΙΑ	ΣΕΛ. 39
2.2.1. Πληθυσμός και δείγμα μελέτης	ΣΕΛ. 39
2.2.2. Ανθρωπομετρία	ΣΕΛ. 40
2.2.3. Εργαστηριακές αναλύσεις	ΣΕΛ. 42
2.2.4. Απομόνωση DNA	ΣΕΛ. 43
2.2.5. Έλεγχος πολυμορφισμού- διάκριση αλληλίων με τη μέθοδο TaqMan.	ΣΕΛ. 45
2.2.5.1. Εκκινητές και ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν	ΣΕΛ. 50
2.2.5.2. Διαλύματα	ΣΕΛ. 51
2.2.6. Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας	ΣΕΛ. 53
2.2.7. Δημογραφικά στοιχεία	ΣΕΛ. 54
2.2.8. Οικογενειακό ιστορικό	ΣΕΛ. 54
2.2.9. Στατιστική επεξεργασία	ΣΕΛ. 55
2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΣΕΛ. 56
2.3.1. Κατανομή των πολυμορφισμών	ΣΕΛ. 56
2.3.2. Χαρακτηριστικά του δείγματος μελέτης	ΣΕΛ. 58
2.3.3. Συσχέτιση γονότυπων με βιοχημικούς δείκτες και δείκτες παχυσαρκίας	ΣΕΛ. 60
2.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	ΣΕΛ. 72

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παιδική παχυσαρκία έχει λάβει επιδημικές διαστάσεις παγκοσμίως, καθώς περίπου 155.000.000 παιδιά σχολικής ηλικίας έχουν βάρος υψηλότερο του φυσιολογικού. Οι επιπτώσεις της παιδικής παχυσαρκίας είναι πολύ σοβαρές και περιλαμβάνουν την εμφάνιση χρόνιων ασθενειών όπως, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, υπέρταση και υπερλιπιδαιμία, ενώ δε θα πρέπει να παραβλέπονται και οι ψυχολογικές επιπτώσεις και η οικονομική επιβάρυνση του Εθνικού Συστήματος Υγείας. Ο αυξανόμενος επιπολασμός της παχυσαρκίας δεν μπορεί να αποδοθεί σε μία και μόνη αιτία. Αντιθέτως, φαίνεται να είναι αποτέλεσμα πολλαπλών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του γενετικού υπόβαθρου και των περιβαλλοντικών παραγόντων, που τελικά οδηγούν σε θετικό ενεργειακό ισοζύγιο και αύξηση του βάρους.

Το γονίδιο της apoA-V, μιας απολιποπρωτεΐνης, έχει φανεί ότι αποτελεί κομμάτι των μηχανισμών ρύθμισης της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων του πλάσματος. Επομένως, και η ομαλή έκφρασή της μπορεί να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης υπερτριγλυκεριδαιμίας, η οποία σε συνδυασμό με την ύπαρξη παχυσαρκίας σε ένα παιδί θα μπορούσε να οδηγήσει σε καρδιαγγειακή νόσο. Τα χαμηλά επίπεδα της apoA-V στον ορό έχουν συσχετιστεί με υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, σε διάφορες μελέτες που έχουν διεξαχθεί κυρίως σε ενήλικες. Το γονίδιο APOA5 εμφανίζει πολλούς πολυμορφισμούς, δύο από τους οποίους βρίσκονται στις θέσεις -1131T>C και c56C>G και έχουν σχετιστεί κυρίως με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα ενηλίκων ατόμων, που έχουν συμμετάσχει σε διάφορες μελέτες.

Σκοπός της δικής μας μελέτης ήταν η διερεύνηση του ρόλου των δύο προαναφερθέντων πολυμορφισμών, στην εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας, αλλά και παιδικής παχυσαρκίας. Στη μελέτη έλαβαν μέρος 723 παιδιά ηλικίας 10-12 ετών από δημοτικά σχολεία του νομού Αττικής. Έγινε αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας και των καθιστικών συνηθειών τους, ενώ πραγματοποιήθηκαν και ανθρωπομετρικές μετρήσεις, βιοχημικές εξετάσεις και γενετικός έλεγχος για τους δύο παραπάνω πολυμορφισμούς.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ύπαρξη του πολυμορφισμού -1131T>C συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και για τα δύο φύλα του δείγματος, αλλά και με μεγαλύτερες τιμές περιφέρειας γλουτών για τα αγόρια φορείς του πολυμορφισμού. Όσο για τον πολυμορφισμό c.56C>G, έδειξε ότι τα κορίτσια φορείς είχαν μεγαλύτερες τιμές περιφέρειας γλουτών, ενώ δε συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων, όπως έχει φανεί στις περισσότερες μελέτες.

1.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1.1. Παιδική παχυσαρκία

1.2. ΑΡΟΑ-V

1.1. ΠΑΙΔΙΚΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

1.1.1. Εισαγωγή

1.1.2. Ορισμός

1.1.3. Διαγνωστικά κριτήρια

1.1.4. Επιπολασμός

1.1.5. Αιτιολογικοί παράγοντες

1.1.6. Επιπτώσεις

1.1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παχυσαρκία είναι μια ασθένεια, η οποία λαμβάνει διαστάσεις πανδημίας, καθώς ανά τον κόσμο υπάρχουν περισσότεροι από 1 δισεκατομμύριο ενήλικες με βάρος υψηλότερο του φυσιολογικού και 155 εκατομμύρια παιδιά σχολικής ηλικίας, τα οποία χαρακτηρίζονται ως υπέρβαρα. Οι κυριότερες επιπτώσεις της είναι η εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, η υπέρταση, προβλήματα στο καρδιαγγειακό σύστημα και κάποιοι τύποι καρκίνου, οι οποίες αποτελούν χρόνιες καταστάσεις υψηλής σοβαρότητας, που συμβάλλουν στην πρόωγη θνησιμότητα και στη μείωση της ποιότητας ζωής. Ενώ, μέχρι τώρα, οι κυριότεροι υπαίτιοι για αυτή την ασθένεια θεωρούνταν η αυξημένη πρόσληψη ενέργειας και η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, τώρα τελευταία το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει στραφεί στον προσδιορισμό των γονιδίων που, σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, προδιαθέτουν τα άτομα που τα φέρουν για εμφάνιση παχυσαρκίας.⁽¹⁾

Η παχυσαρκία πλήττει ολοένα και νεαρότερες ηλικιακές ομάδες, με τον επιπολασμό της παιδικής παχυσαρκίας, συγκεκριμένα, να αυξάνεται συνεχώς και με καλπάζοντα ρυθμό, στην πλειοψηφία τόσο των ανεπτυγμένων όσο και των αναπτυσσόμενων χωρών. Υπάρχουν δε μεγάλες πιθανότητες, τα παχύσαρκα παιδιά να συνεχίσουν να είναι παχύσαρκα και κατά την ενήλικη ζωή τους και, επομένως, να αυξάνονται κατά πολύ οι πιθανότητες εμφάνισης χρόνιων παθήσεων και μάλιστα σε μικρότερες ηλικίες (εφηβεία, παιδική ηλικία). Για να μπορέσει να περιοριστεί αυτό το φαινόμενο, ιδιαίτερα όσο αφορά την ευαίσθητη παιδική ηλικία, έχει κριθεί απαραίτητο να εντοπιστούν και να μελετηθούν οι αιτιολογικοί παράγοντες, γενετικοί και περιβαλλοντικοί, που οδηγούν σε αυτό και, στη συνέχεια, να δοθεί έμφαση στην ανάπτυξη μεθόδων πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης.⁽¹⁾

1.1.2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World's Health Organization, WHO), η παχυσαρκία γενικά ορίζεται ως η νόσος στην οποία παρατηρείται υπερβολική συσσώρευση σωματικού λίπους, η οποία φτάνει σε τέτοιο βαθμό ώστε να βλάπτεται η υγεία του ατόμου. ⁽¹⁾

Στατιστικά έχουν δημιουργηθεί καμπύλες ανάπτυξης οι οποίες καθορίζουν τα όρια του υπέρβαρου και του παχύσαρκου με σκοπό να καθοριστούν οι φυσιολογικοί ρυθμοί ανάπτυξης των παιδιών προσαρμοσμένοι με βάση την ηλικία τους (1977). Το 1994 δημιουργήθηκε η Expert Committee, τα μέλη της οποίας για να μπορέσουν χρησιμοποιήσουν πιο γενικευμένα δεδομένα συγκέντρωσαν ερευνητικά δεδομένα από την Βραζιλία, το Ηνωμένο Βασίλειο, το Χονγκ Κονγκ, την Ολλανδία, την Σιγκαπούρη και τις Ηνωμένες Πολιτείες και μπόρεσαν να καθορίσουν τις οδηγίες και τα cut-off-points για τα υπέρβαρα και παχύσαρκα παιδιά με βάση το Δείκτη Μάζας Σώματος [Body Mass Index, BMI= βάρος (kg)/ ύψος (m)]. Χρησιμοποιήθηκαν τα εκατοστημόρια αντί για την συνηθισμένη χρήση του BMI που γίνεται για τους ενήλικες κι έτσι μπόρεσαν να λάβουν υπόψη την ανάπτυξη των παιδιών. Τα μέλη της κοινότητας όρισαν ότι υπέρβαρα χαρακτηρίζονται τα παιδιά που το BMI υπερβαίνει το 85^ο εκατοστημόριο, ενώ παχύσαρκα θα χαρακτηρίζονται όσα το BMI τους υπερβαίνει το 95^ο εκατοστημόριο για την ηλικία και το φύλο τους. Συχνά όμως παρατηρείται να γίνεται λανθασμένη κατάταξη ορισμένων παιδιών στην κατηγορία του υπέρβαρου ή του παχύσαρκου καθώς μπορεί για παράδειγμα να έχουν μεγάλη σκελετική και μυϊκή μάζα χωρίς να υπάρχει υπερβολική εναπόθεση λίπους. Λιπώδης μάζα σώματος περισσότερη του 30% χαρακτηρίζεται ως παχυσαρκία. ⁽²⁾

Το Center for Disease Control and Prevention όρισε το “υπέρβαρο” ως την τιμή εκείνη του BMI που είναι ίση ή μεγαλύτερη από το 95^ο εκατοστημόριο για την ηλικία και το “σε κίνδυνο για ανάπτυξη υπέρβαρου” την τιμή εκείνη του BMI που είναι μεταξύ του 85^{ου} και του 95^{ου} εκατοστημόριο για την ηλικία.⁽³⁾ Ο διπλός αυτός ορισμός έχει να κάνει με το ότι έχει προταθεί, καθαρά για ψυχολογικούς και κοινωνικούς λόγους, να μην χρησιμοποιείται ο όρος “παχύσαρκος” όταν αναφερόμαστε στα παιδιά.

Ένα ποσοστό βάρους προς ύψος 120% πάνω από τη διάμεσο για την ηλικία έχουν χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό της παχυσαρκίας.⁽⁴⁾

1.1.3. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό του βαθμού της παιδικής παχυσαρκίας, από τις οποίες η καλύτερη και πιο ευρέως διαδεδομένη και χρησιμοποιούμενη είναι ο Δείκτης Μάζας Σώματος (Body Mass Index, BMI), ο οποίος εξαρτάται από το βάρος και το ύψος του ατόμου ($BMI = \frac{\text{βάρος (kg)}}{(\text{ύψος (m)})^2}$). Όσο αφορά τα παιδιά, επειδή υπάρχουν διαφορές στο BMI ανάλογα με την ηλικία και το φύλο, η εκτίμηση γίνεται λαμβάνοντας υπόψη τις 2 αυτές μεταβλητές.⁽⁵⁾

Παγκοσμίως, οι μέθοδοι που έχουν αναγνωριστεί για να εκτιμηθεί η παιδική παχυσαρκία και βασίζονται στο BMI είναι 2: οι καμπύλες ανάπτυξης για το BMI, που έχουν οριστεί από το Center for Disease Control (CDC) των ΗΠΑ, και οι οριακές τιμές του BMI (Cole et al).

Η πρώτη μέθοδος βασίζεται στη χρήση εκατοστημορίων και έχει ορίσει ότι τα παιδιά με $BMI > 85^{\circ}$ εκατοστημόριο θα χαρακτηρίζονται ως υπέρβαρα ή “σε κίνδυνο για υπέρβαρο” και αυτά με $BMI > 95^{\circ}$ παχύσαρκα ή “υπέρβαρα”. Οι περισσότερες μέχρι στιγμής μελέτες συμφωνούν στο ότι τα παιδιά με αρκετά υψηλό BMI βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο νοσηρότητας, δεδομένων των επιπτώσεων της παχυσαρκίας, βραχυπρόθεσμων και

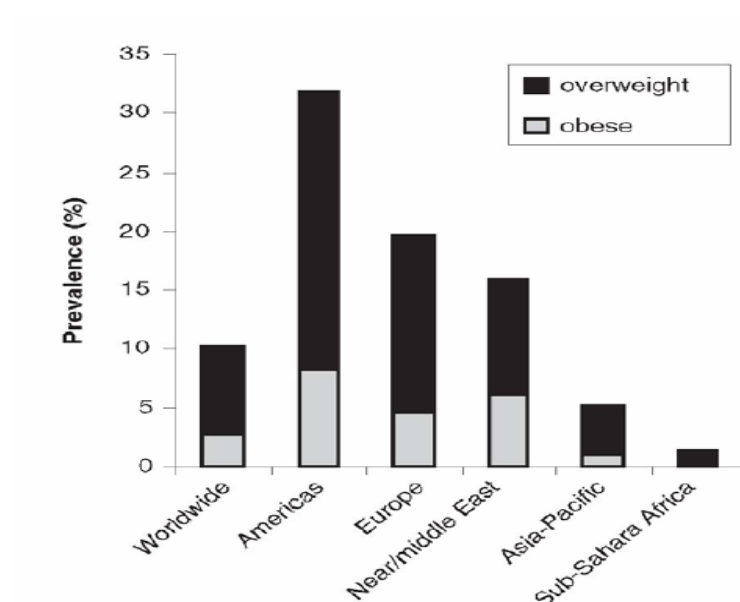
μακροπρόθεσμων. Μέσω αυτής της μεθόδου η διάγνωση της παχυσαρκίας γίνεται τόσο εύκολη όσο και εύστοχη, εμφανίζοντας παράλληλα υψηλή ειδικότητα κατά τη χρήση των εκάστοτε εθνικών δεδομένων για τις τιμές του BMI.(5)

Στη δεύτερη μέθοδο, η οποία έχει υιοθετηθεί από την International Obesity Task Force (IOTF), οι τιμές προέκυψαν από μια μεταανάλυση 6 εθνικών ερευνών, οι οποίες ανά χώρα είχαν συλλέξει μεγάλο (>10000 παιδιά) και αντιπροσωπευτικό δείγμα και εκφράζουν την τιμή εκείνη του BMI που για το φύλο και την ηλικία του ατόμου αντιστοιχεί σε 25 kg/ m² και 30 kg/ m², που ισχύουν για τους ενήλικες υπέρβαρους και παχύσαρκους αντίστοιχα.(5)

Παρά το γεγονός ότι, υπάρχει έλλειψη δεδομένων για τη δημιουργία άλλων μεθόδων εκτίμησης της παχυσαρκίας, που θα στηρίζονταν σε μέτρα εκτός του BMI, όπως είναι για παράδειγμα οι δερματοπτυχές ή η περιφέρεια μέσης (waist circumference, WC)(6), κάποιες ερευνητές χρησιμοποιούν τέτοιες μεθόδους, όπως είναι χαρακτηριστικά η εκτίμηση του ποσοστού του σωματικού λίπους μέσω εκτίμησης από μέτρηση δερματοπτυχών, όπου ως παχύσαρκα χαρακτηρίζονται τα αγόρια με ποσοστό >25% και τα κορίτσια με >30%.(3)

1.1.4. ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ

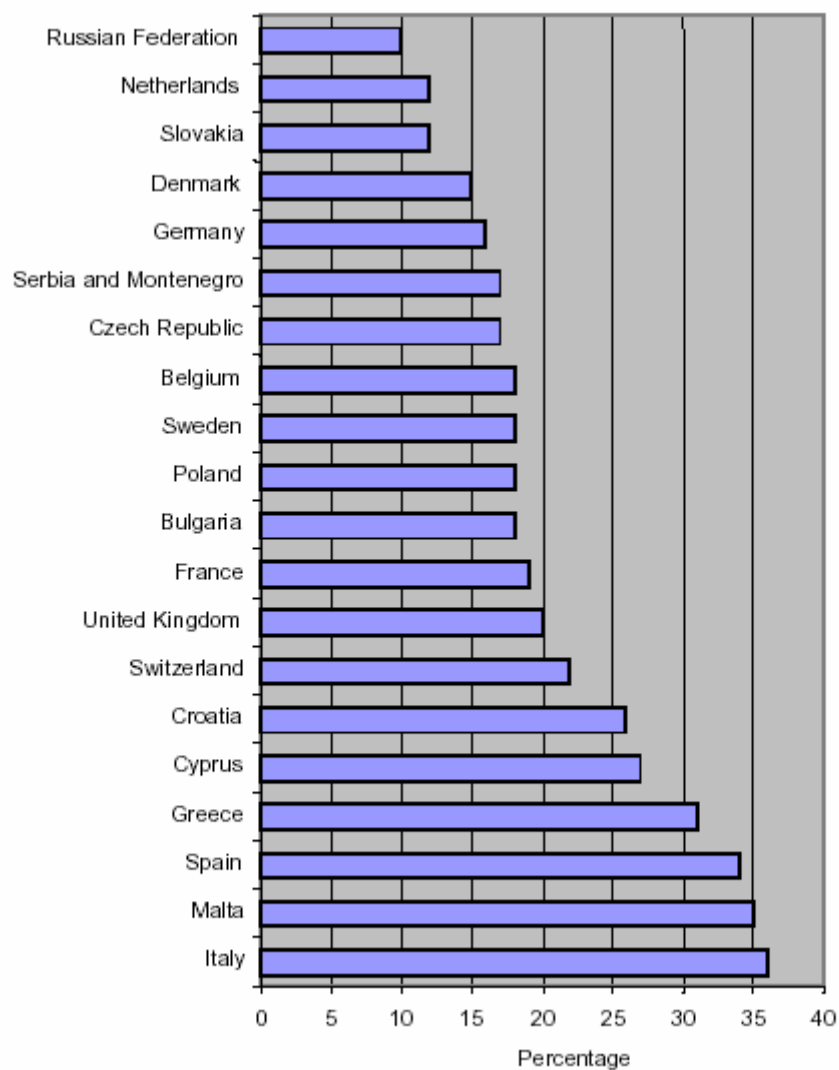
Βάση δεδομένων που συλλέχτηκαν από την IOTF (Childhood Obesity Report, May 2004) φάνηκε ότι, παγκοσμίως το 10% των παιδιών είναι υπέρβαρα και το 3% παχύσαρκα, ποσοστά τα οποία κυρίως τροφοδοτούνται από την Αμερική, 30% υπέρβαρα και 8% παχύσαρκα, και την Ευρώπη, 20% υπέρβαρα και 5% παχύσαρκα (βλ. εικόνα 1).⁽⁷⁾



Εικόνα 1: Επιπολασμός υπέρβαρου και παχυσαρκίας σε παιδιά ηλικίας 5-17 ετών παγκοσμίως βάση των κριτηρίων της IOFT.⁽⁷⁾

Συγκεκριμένα για την Ευρώπη, τα υπέρβαρα παιδιά ανέρχονται στα 14 εκατομμύρια, από τα οποία τα 3 εκατομμύρια είναι παχύσαρκα με σημαντικές διακυμάνσεις στα ποσοστά ανάλογα με το γεωγραφικό τόπο. Για παράδειγμα, στη Μεσόγειο το ποσοστό των υπέρβαρων και παχύσαρκων παιδιών κυμαίνεται από 20-35%, διπλάσιο από το αντίστοιχο των Σκανδιναβικών χωρών που είναι 10-20%. Όλες όμως τις περιπτώσεις παρουσιάζουν μια αυξητική τάση (βλ. εικόνα 2).⁽³⁾

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, σύμφωνα με πληροφορίες από την IOTF, την αντίστοιχη αύξηση του επιπολασμού της παιδικής παχυσαρκίας ετησίως, η οποία ανερχόταν μόλις στο 0,2% τη δεκαετία του '70, σκαρφάλωσε στο 0,6% τη δεκαετία του '80, αυξήθηκε στο 0,8% τη δεκαετία του '90, για να εκτιναχθεί στο 2% κατά την είσοδο στη 3^η χιλιετία.⁽⁸⁾



Εικόνα 2: Επιπολασμός υπέρβαρου και παχυσαρκίας σε παιδιά ηλικίας 7-11 ετών σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης.⁽⁹⁾

Στις ΗΠΑ, μέσα σε διάστημα 23 χρόνων, από το 1980-2003, τα υπέρβαρα παιδιά διπλασιάστηκαν και οι υπέρβαροι έφηβοι τριπλασιάστηκαν, ενώ ο επιπολασμός της παχυσαρκίας παιδιών ηλικίας 6-11 ετών έφτασε στη διπλάσια τιμή του, από το 1960 μέχρι το 2003. Ο αντίστοιχος επιπολασμός για την ηλικιακή ομάδα των 12-17 ετών, επίσης, έφτασε σε υψηλά ποσοστά από το 1966-70 μέχρι το 1988-91, με τα αγόρια να φτάνουν στο 13%, από ένα ποσοστό 5%, και τα κορίτσια στο 9%, από αρχικά 5%.(10)

Στην Ευρώπη επικρατεί επίσης μια σταθερή αύξηση της παιδικής παχυσαρκίας κατά τα τελευταία χρόνια, σύμφωνα με την IOTF και την Ευρωπαϊκή ομάδα για την παιδική παχυσαρκία (11), η οποία ανέρχεται στα 400000 παιδιά ανά έτος.(7) Συγκεκριμένα, στο

Ηνωμένο Βασίλειο τα υπέρβαρα παιδιά ηλικίας 7-12 ετών αύξησαν το ποσοστό τους από το 8% στο 20% (1984-1998), στην Ισπανία τα υπέρβαρα 6-7 ετών αυξήθηκαν από το 23% στο 35% (1985/86-1995/96), στη Γαλλία από το 10% στο 16% (1993-2000) (12) και στην Πολωνία από το 8% στο 18% (1994-2000) (8),

Στην Ελλάδα η εκτίμηση του επιπολασμού της παιδικής παχυσαρκίας έγινε σε 3 μεγάλες έρευνες.(11) Σύγκριση των αποτελεσμάτων από αυτές με στοιχεία από άλλες χώρες οδήγησε στο συμπέρασμα ότι, στη χώρα μας έχουμε έναν από τους υψηλότερους επιπολασμούς υπέρβαρου, σχετικά με τις δυτικές χώρες, ενώ ο αντίστοιχος επιπολασμός της παχυσαρκίας κυμαίνεται σε χαμηλότερα ή στα ίδια επίπεδα συγκριτικά με άλλες Ευρωπαϊκές χώρες.(4)

Στην πρώτη μετρήθηκε το BMI σε περίπου 2500 παιδιά ηλικίας 6-17 ετών, τα οποία προέρχονταν από την πόλη της Θεσσαλονίκης και, στη συνέχεια, τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά παιδιών σχολικής ηλικίας από έρευνες που είχαν γίνει το 1942, το 1982 και το 1984-85, όπου φάνηκε ότι, από το 1942 μέχρι το 2000, το BMI των αγοριών αυξήθηκε κατά 11,1% και των κοριτσιών κατά 4%, με την κορυφή της αύξησης αυτής να σημειώνεται το 1984-85, όπου το BMI των αγοριών αυξήθηκε κατά 6,5% και των κοριτσιών κατά 2,9%. Γενικά, βρέθηκε ότι, το 25,9% των αγοριών ήταν υπέρβαρα και το 5,1% παχύσαρκα, ενώ τα ποσοστά για τα κορίτσια έφταναν το 19,1% και 3,2%, αντίστοιχα. Όσο αφορά τις ξεχωριστές ηλικιακές ομάδες, ο επιπολασμός του υπέρβαρου και του παχύσαρκου ήταν 25,3% και 5,6% στα παιδιά 6-10 ετών και 19% και 2,6% στα παιδιά 11-17 ετών, αντίστοιχα (Krassas et al, 2001).(4)

Στη δεύτερη έρευνα έλαβαν μέρος 1000 παιδιά ηλικίας 6 ετών, στα οποία έγινε εκτίμηση του βαθμού της παχυσαρκίας τους, χρησιμοποιώντας τα εκατοστημόρια των καμπυλών ανάπτυξης του CDC. Οι μετρήσεις έγιναν σε 3 διαφορετικές χρονικές περιόδους, με την αρχική μέτρηση να γίνεται στην ηλικία των 6 ετών, μια ενδιάμεση στα 9 έτη και την τελική στην ηλικία των 12 ετών. Στην αρχική βρέθηκε ότι, τα υπέρβαρα ήταν το 23,2% των

αγοριών και το 28,8% των κοριτσιών και παχύσαρκα το 10,9% των αγοριών και το 9,2% των κοριτσιών, στη δεύτερη υπέρβαρο το 18,9% των αγοριών και το 18,1% των κοριτσιών και παχύσαρκα το 4,9% και 4,5% αντίστοιχα, ενώ τα τελικά ποσοστά που προέκυψαν ήταν υπέρβαρο το 24% των αγοριών και το 19,2% των κοριτσιών και παχύσαρκα το 8,2% και 5% αντίστοιχα (Mamalakos et al, 2000).(13)

Τέλος, εκτιμήθηκε ο επιπολασμός του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας σε έρευνα όπου συλλέχθηκε αντιπροσωπευτικό δείγμα 4299 παιδιών ηλικίας 11-16 ετών, στην οποία δεν μετρήθηκε το ύψος και το βάρος, αλλά οι συμμετέχοντες πληροφόρησαν τους ερευνητές για τις τιμές αυτές (αυτοδηλούμενα στοιχεία). Με βάση τις οριακές τιμές του BMI από τη IOTF, το ποσοστό των αγοριών και των κοριτσιών που κατατάχθηκαν στην κατηγορία του υπέρβαρου και του παχύσαρκου αντίστοιχα ήταν 21,7%, 2,5% και 9,1%, 1,2%, ενώ με βάση τα εκατοστημόρια των καμπυλών ανάπτυξης του CDC ο επιπολασμός του υπέρβαρου ήταν 18,8% στα αγόρια, 8,1% στα κορίτσια και του παχύσαρκου 5,8% στα αγόρια και 1,7% στα κορίτσια (Karayiannis et al, 2003).(14)

1.1.5. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Πλέον είναι γνωστό ότι, για να οδηγηθούμε στην εμφάνιση της παχυσαρκίας συντελείται διαταραχή του ενεργειακού ισοζυγίου, με την ενεργειακή πρόσληψη να υπερέχει της ενεργειακής κατανάλωσης (3). Λόγω του ότι η παχυσαρκία είναι μια πολυπαραγοντική νόσος δεν είναι αντίστοιχα μόνο μια η αιτία της ανάπτυξής της, αλλά πρόκειται για συνδυασμό παραγόντων, που έχουν γενετική και περιβαλλοντική προέλευση.(15)

Με εξαίρεση τις περιπτώσεις γενετικών ανωμαλιών, όπου έχουμε άμεση εμφάνιση της παχυσαρκίας, όπως είναι για παράδειγμα η συγγενής έλλειψη λεπτίνης ή η συγγενής έλλειψη του υποδοχέα της, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η ύπαρξη μόνο ενός γονιδίου που δημιουργεί προδιάθεση δεν αρκεί, αλλά χρειάζεται και η έκθεση του ατόμου σε περιβάλλον τέτοιο που να αυξάνει τις πιθανότητες, ή καλύτερα τον κίνδυνο, για την εμφάνιση της παχυσαρκίας (obesogenic environment).(15)

Οι γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της απάντησης της μάζας σώματος και των αποθηκών λίπους σώματος σε χρόνιες αλλαγές στην ενεργειακή ισορροπία.(16) Έχει βρεθεί ότι, το 70% της ποικιλίας στο BMI μπορεί να έχει γενετική αιτιολογία. Όταν υπερβολική ενέργεια είναι διαθέσιμη, μερικά άτομα είναι περισσότερο επιρρεπή στην εναπόθεση βάρους και τη συσσώρευση λίπος, και οι διαφορές φαίνεται να επηρεάζονται από το γενετικό υπόβαθρο του κάθε ατόμου.(4) Ο πιο πρόσφατος χάρτης γονιδίων παχυσαρκίας δείχνει ότι υπάρχουν > 100 γονίδια ή γεωμετρικοί τόποι δεικτών που έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν την παχυσαρκία.(16) Πολλές έρευνες έχουν εντοπίσει τα γονίδια εκείνα που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως είναι το γονίδιο του CART, πεπτίδιο ρυθμιζόμενο από τη λεπτίνη, που αλληλεπιδρώντας με το νευροπεπτίδιο Y και άλλους ρυθμιστές της όρεξης δίνει το σήμα του κορεσμού στον υποθάλαμο, ή το γονίδιο του PPAR γ 2, σημαντικού ρυθμιστή των προδρόμων μορφών των λιποκυττάρων (15). Επίσης, διάφοροι πολυμορφισμοί στο γονίδιο του Παράγοντα Νέκρωσης Όγκων- άλφα (TNF- α) φαίνεται να επηρεάζουν την έκθεσή του στα λιποκύτταρα, με αποτέλεσμα να οδηγούν στην εμφάνιση της παχυσαρκίας.(17)

Άλλος ένας παράγοντας, που επιβεβαιώνει ότι η γενετική προδιάθεση είναι απαραίτητο κίνητρο για την παχυσαρκία, είναι το γεγονός ότι, τα παιδιά παχύσαρκων σε σχέση με τα παιδιά μη παχύσαρκων γονέων έχουν υψηλότερο κίνδυνο να γίνουν επίσης παχύσαρκα.(15) Υπάρχει η τάση η παιδική παχυσαρκία να παραμένει κατά την ενηλικίωση, η οποία μάλιστα είναι πιθανότερο να παρατηρηθεί στα παιδιά που έχουν τουλάχιστον έναν παχύσαρκο γονέα, και να παραμείνει με την πάροδο του χρόνου. Η εφηβική παχυσαρκία έχει ακόμα μεγαλύτερες πιθανότητες να παραμείνει στην ενηλικίωση σε σχέση με την παιδική. Η διατήρηση της παιδικής παχυσαρκίας στην ενηλικίωση πρέπει τώρα να είναι πιθανότερη, συγκριτικά με το παρελθόν, λαμβάνοντας υπόψη την αρκετά υψηλότερη επικράτηση της ενήλικης παχυσαρκίας στους σύγχρονους πληθυσμούς. Περίπου το 40–70% των παχύσαρκων παιδιών στο προ-εφηβικό στάδιο θα γίνουν παχύσαρκοι ενήλικες. (18)

Απαραίτητο, όμως, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένα κατάλληλο περιβάλλον το οποίο θα ευνοήσει τη φαινοτυπική έκφραση των γονιδίων, με τις συνήθειες στη διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα να είναι οι κυριότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες.(19) Η επιστημονική κοινότητα οδηγήθηκε σε αυτή τη πεποίθηση λόγω της καλπάζουσας αύξησης της παχυσαρκίας από τη δεκαετία του '50 και έπειτα, η οποία δεν μπορεί να προέκυψε από μεταλλάξεις στο ανθρώπινο γονιδίωμα, καθώς μιλάμε για ένα σχετικά μικρό χρονικό διάστημα που σημειώθηκε αυτή η αλλαγή.(15)

Δυστυχώς είναι ελάχιστα τα δεδομένα που επιβεβαιώνουν το ρόλο που παίζει η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας, εφόσον είναι αρκετά δύσκολο να γίνει μέτρησή της σε πληθυσμιακό επίπεδο.(3) Στις ΗΠΑ από έρευνες που έχουν γίνει φάνηκε ότι, η πρόσληψη ενέργειας σε παιδιά και εφήβους έχει σημειώσει μια αύξηση της τάξης των 160 kcal περίπου, από τη δεκαετία του '70 μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '90.(20) Αρκετές έρευνες, όμως, δεν έχουν καταφέρει να επιβεβαιώσουν ότι τα παιδιά εμφανίζουν μια σταθερή αύξηση της ενεργειακής τους πρόσληψης. Η αντίθεση αυτή ίσως να οφείλεται στο ότι, τα υπέρβαρα παιδιά συνήθως υποεκτιμούν την ενεργειακή τους πρόσληψη ή αποκρύπτουν στοιχεία και στο ότι η σημερινή κοινωνία της εκβιομηχάνισης χαρακτηρίζεται από μειωμένες ενεργειακές απαιτήσεις και άρα χαμηλή οξείδωση λίπους.(15)

Άλλωστε, όπως προαναφέραμε, η παχυσαρκία είναι ένα αποτέλεσμα θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, το οποίο εκτός από την ενεργειακή πρόσληψη επηρεάζεται και από την κατανάλωσή της που εξαρτάται από το βασικό μεταβολικό ρυθμό, τη θερμογένεση λόγω της τροφής και τη θερμογένεση λόγω της φυσικής δραστηριότητας. Επειδή, όμως, οι τιμές των δυο πρώτων θεωρούνται σταθερές, καθώς σημειώνονται ελάχιστες μεταβολές από άτομο σε άτομο, η κύρια μεταβλητή που επηρεάζει την ενεργειακή κατανάλωση είναι η θερμογένεση λόγω της φυσικής δραστηριότητας.(3)

Σχετικά με τη φυσική δραστηριότητα, η επιστημονική κοινότητα έχει διατυπώσει την άποψη ότι, παγκοσμίως και ανεξαρτήτου ηλικιακής ομάδας, μια σταθερή μείωσή της σχετίζεται με την παχυσαρκία. Τα περισσότερα υπάρχοντα δεδομένα παρουσιάζουν τις καθιστικές δραστηριότητες, όπως η παρακολούθηση τηλεόρασης και η χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή, να επηρεάζουν θετικά την εμφάνιση της παχυσαρκίας και παράλληλα να παρατηρείται αύξηση του αριθμού των παιδιών που πλέον δεν πάνε σχολείο με τα πόδια, αλλά χρησιμοποιούν αυτοκίνητο, και δεν συμμετέχουν σε σχολικές ή εξωσχολικές αθλητικές δραστηριότητες, μειώνοντας έτσι περαιτέρω την ενεργειακή τους κατανάλωση.(3)

Υπάρχει, επίσης κάποια πιθανότητα να ασκούν κάποια επιρροή τα μακροθρεπτικά συστατικά, καθώς έρευνες σε παιδικούς πληθυσμούς στην Ευρώπη, που είχαν ως αντικείμενο μελέτης την κατανάλωση τροφής, έδειξαν ότι, υπάρχει μια αύξηση στην κατανάλωση λίπους και ζωικής πρωτεΐνης και μια παράλληλη μείωση στην κατανάλωση φυτικών ινών συγκριτικά με τις διεθνείς συστάσεις.(15) Όσο αφορά την αιτιολόγηση της αύξησης της παχυσαρκίας λόγω της αύξησης του διαιτητικού λίπους, δεν υπάρχει σαφής εικόνα, καθώς τα αποτελέσματα των ερευνών συγκρούονται. Η έρευνα NHANES έδειξε ότι, τα παιδιά στις ΗΠΑ έχουν μειώσει το λίπος που καταναλώνουν, στην διάρκεια των τελευταίων 30 χρόνων, ενώ συγχρονικές έρευνες παρουσιάζουν θετική συσχέτιση της πρόσληψης λίπους και της παχυσαρκίας στα παιδιά.(3) Σχετικά με την πρόσληψη της πρωτεΐνης έχει υποτεθεί ότι αυτή, διεγείροντας την έκκριση της ινσουλίνης, οδηγεί σε αποθήκευση λίπους και πολλαπλασιασμό των λιποκυττάρων.(15)

Ακόμα, ανάμεσα στα διάφορα φύλα και στις διάφορες φυλές σημειώνονται διαφορές ως προς την παχυσαρκία (Bogalusa Heart Study). Συγκεκριμένα, οι Ινδιάνοι της Αμερικής, οι Ισπανοί και οι Αφρο-Αμερικάνοι τείνουν να εμφανίζουν υψηλότερο σωματικό βάρος (National Health and Nutrition Examination Study, NHANES II). Σήμερα, οι Ινδιάνοι Pima θεωρούνται ο πιο παχύσαρκος πληθυσμός στις Ηνωμένες Πολιτείες και ίσως στον κόσμο, με το 50% του αντρικού και του γυναικείου πληθυσμού να βρίσκονται πάνω από το 95ο

εκατοστημόριο. Σημαντικά υψηλότερες τιμές BMI, δερματοπτυχών και αρτηριακής πίεσης παρατηρούνται στα μαύρα κορίτσια σε σύγκριση με τα λευκά.(2)

Επιπλέον, για να μπορεί να ερμηνευτεί η αλματώδης αύξηση της παιδικής, αλλά και της εφηβικής, παχυσαρκίας μελετήθηκαν και οι διαιτητικές συμπεριφορές. Παραδείγματος χάρη, έχει βρεθεί ότι, η αποφυγή γευμάτων, η μη κατανάλωση πρωινού και η κατανάλωση πολλών σνακ ανάμεσα στα κύρια γεύματα πιθανά σχετίζονται με κίνδυνο για εμφάνιση παχυσαρκίας στη παιδική και εφηβική ηλικία.(21) Επίσης, σημαντικός παράγοντας στη διαμόρφωση των διατροφικών συνηθειών των παιδιών, που προωθεί την αύξηση της παχυσαρκίας, είναι ο τρόπος ζωής και οι διατροφικές συνήθειες της οικογένειας.(15)

Τέλος, συνένοχοι για την ανάπτυξη της παχυσαρκίας είναι και διάφοροι κοινωνικοί παράγοντες, όπως η αστικοποίηση, που μεταβάλλει τη διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα, προωθώντας την κατανάλωση τροφίμων υψηλής ενεργειακής πυκνότητας και αναψυκτικών αντί για φρούτα και λαχανικά, τις καθιστικές αντί για τις ενεργές δραστηριότητες, ενώ παράλληλα δεν υπάρχουν ασφαλείς δρόμοι, πάρκα κλπ. Ακόμα, η κοινωνικό-οικονομική κατάσταση της οικογένειας παίζει καθοριστικό ρόλο, καθώς συχνό φαινόμενο είναι η αύξηση βάρους σε οικογένειες χαμηλού εισοδήματος που ζουν σε βιομηχανοποιημένες κοινωνίες και σε εκείνες υψηλού εισοδήματος που, όμως ζουν σε λιγότερο βιομηχανοποιημένες περιοχές.(12)

1.1.6. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Βάση δεδομένων που προέρχονται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World's Health Organization, WHO), οι σοβαρότερες συνέπειες της παχυσαρκίας είναι η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, η στεφανιαία νόσος, τα ισχαιμικά επεισόδια, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II (ΣΔ II), κάποιοι τύποι καρκίνου, η οστεοπόρωση, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, καθώς και διάφορα ψυχολογικά προβλήματα.(8)

Πλέον, και όσο ο επιπολασμός της παχυσαρκίας αυξάνεται, ασθένειες ενηλίκων, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, η υπέρταση και η υπερχοληστερολαιμία,

εμφανίζονται και στα παιδιά.(2) Έχει βρεθεί ότι, το υπερβάλλον βάρος κατά την εφηβεία αυξάνει τον κίνδυνο για υπέρταση 8,5 φορές, για εμφάνιση υψηλών τιμών ολικής χοληστερόλης ορού 2,4 φορές, για εμφάνιση υψηλών τιμών LDL-χοληστερόλης 3 φορές και χαμηλών τιμών HDL-χοληστερόλης 8 φορές. Έρευνες, που έχουν γίνει κυρίως στις ΗΠΑ, δείχνουν πως, καθώς αυξάνεται ο επιπολασμός της παχυσαρκίας θα αυξάνεται και ο επιπολασμός του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II.(11)

Βρέθηκαν υψηλότερες τιμές BMI σε παιδιά και εφήβους με εξασθενημένη ανοχή γλυκόζης ή διαβήτη. Η ινσουλίνη νηστείας και οι συγκεντρώσεις C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) είναι υψηλότερες στα άτομα με εξασθενημένη ανοχή γλυκόζης απ' ό, τι σε εκείνα με κανονικό μεταβολισμό γλυκόζης, μετά από ρύθμιση για το BMI. Η παχυσαρκία μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα με την πρόκληση μιας κατάστασης φλεγμονής χαμηλού βαθμού, η οποία μπορεί τελικά να οδηγήσει σε αντίσταση στην ινσουλίνη και σε δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Υψηλές τιμές C-αντιδρώσας πρωτεΐνης δρουν ως δείκτης για τέτοιες περιπτώσεις μη συγκεκριμένης φλεγμονής, και έτσι παιδιά με υψηλότερες συγκεντρώσεις διατρέχουν θεωρητικά αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακού νοσήματος αργότερα στη ζωή τους.(22)

Μελέτες έδειξαν ότι, υπάρχει σχέση μεταξύ της παχυσαρκίας και τους περισσότερους από τους σημαντικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου όπως είναι η υψηλή πίεση αίματος, η δυσλιπιδαιμία, ανωμαλίες στην αριστερή κοιλιακή μάζα ή/και τη λειτουργία, ανωμαλίες στην λειτουργία του ενδοθηλίου και υπερινσουλιναίμια ή/και αντίσταση στη ινσουλίνη. Επίσης, έχει παρατηρηθεί μια σημαντική συσσώρευση καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου στην παιδική παχυσαρκία, και έχει γίνει σαφές ότι ο βαθμός των ασυμπτωματικών αρτηριοσκληρυντικών τραυμάτων στην παιδική ηλικία και την εφηβεία προβλέπεται παροντικά από τον αριθμό καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου. Η παιδική παχυσαρκία και η κεντρική συσσώρευση λίπους έχουν δυσμενή αποτελέσματα

στο καρδιαγγειακό σύστημα, που είναι παρόμοια με εκείνα που καλά γνωρίζουμε στους ενηλίκους.(18)

Όπως φάνηκε από τη μελέτη NHANES III (1988-1994) των ΗΠΑ, το μεταβολικό σύνδρομο είναι ένα συχνό φαινόμενο στα παχύσαρκα παιδιά, καθώς παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με το βάρος, αφού ο επιπολασμός έτεινε στο μηδέν για τους εφήβους φυσιολογικού βάρους, σκαρφάλωνε στο 6,8% για τους υπέρβαρους, ενώ το ποσοστό για τους παχύσαρκους έφτανε στο 28,7%. Στα ίδια συμπεράσματα καταλήγουν και έρευνες σε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, στις οποίες, παράλληλα, φαίνεται ότι παχύσαρκοι ενήλικες με μεταβολικό σύνδρομο ήταν παχύσαρκοι και στην παιδική τους ηλικία.(11)

Μεγάλο είναι το ποσοστό των παχύσαρκων παιδιών και εφήβων που παραμένει παχύσαρκο κατά την είσοδο και πορεία στην ενήλικη ζωή. Σε διαχρονική μελέτη στην Ελλάδα φάνηκε ότι, από τα μη παχύσαρκα παιδιά ηλικίας 6 ετών μόλις το 2,1% ήταν παχύσαρκα στα 12 έτη, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τα παχύσαρκα ήταν 50% (Krassas et al, 4). Η διατήρηση αυτή της παιδικής παχυσαρκίας και στην ενήλικη ζωή οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των ενηλίκων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για εμφάνιση νόσων, όπως καρδιαγγειακά, οστεοαρθρίτιδα, καρκίνος.(2)

Παράλληλα, παρουσιάζονται και άλλες βιολογικές επιπτώσεις, με στόχο συστήματα όπως το αναπνευστικό, που περιλαμβάνει άσθμα, άπνοια ύπνου κλπ, το γαστρεντερικό, για παράδειγμα το λιπώδες ήπαρ, και το ενδοκρινολογικό με διαταραχές εμμηνορρυσίας και καθυστέρηση σεξουαλικής ωρίμανσης στα αγόρια.(11)

Οι ψυχολογικές επιπτώσεις της παιδικής παχυσαρκίας, οι οποίες είναι αρκετά συχνές, έχουν να κάνουν κυρίως με την αυτοεκτίμηση του ατόμου, επηρεάζοντας έτσι αρνητικά, ή και εμποδίζοντας, τη γνωστική και κοινωνική ανάπτυξη του ατόμου.(2) Στις Δυτικές κοινωνίες παρατηρείται συχνά στιγματισμός των υπέρβαρων και παχύσαρκων παιδιών, ο οποίος φτάνει στα όρια της περιθωριοποίησης στις μικροκοινωνίες των ανηλίκων. Παιδιά που έχουν γίνει αποδέκτες αρνητικών σχολίων, που έχουν να κάνουν με το βάρος ή το

σχήμα του σώματός τους και έχουν ενοχληθεί από αυτά, είναι πιο πιθανό και ως ενήλικες να μην είναι ικανοποιημένοι από την εξωτερική τους εμφάνιση και έτσι συχνά να παρουσιάζουν κάποια διαταραχή λήψης τροφής.(11)

Η παχυσαρκία κατά την εφηβεία ή την νεαρή ενήλικη ζωή έχει δυσμενή αποτελέσματα στις κοινωνικές και οικονομικές εκβάσεις της νέας ενήλικης ζωής, πχ εισόδημα, εκπαίδευση, επιτυχία, που ελέγχεται από έναν αριθμό άλλων μεταβλητών, συμπεριλαμβανομένου του δείκτη νοημοσύνης.(18)

Τέλος, αρκετά σημαντικές είναι και οι οικονομικές επιπτώσεις της παιδικής παχυσαρκίας καθώς, ο συνεχώς αυξανόμενος επιπολασμός της και η διατήρησή της στην ενήλικη ζωή οδηγούν ολοένα περισσότερους και νεαρότερους ενήλικες στη χρήση του Εθνικού Συστήματος Υγείας (ΕΣΥ) για τη θεραπεία τους από τις σχετικές ασθένειες. Το γεγονός αυτό δημιουργεί ένα οικονομικό φορτίο στο ΕΣΥ, το οποίο αυξάνεται ραγδαία, επιβαρύνοντας συνεχώς το εκάστοτε κράτος.(11)

1.2. APOA-V

1.2.1. Γενικά

1.2.2. Υπεροικογένεια Απολιποπρωτεϊνών

1.2.3. ApoA-V

1.2.4. Δομή και σύνθεση

1.2.5. Λειτουργίες

1.2.5.1. Η apoA-V ως ενεργοποιητής της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων

1.2.5.2 Η apoA-V και η ενδοκυτταρική της δράση

1.2.6. Το γονίδιο της apoA-V

1.2.7. Πολυμορφισμοί

1.2.8. Απλότυποι

1.2.9. Ο πολυμορφισμός -1131T>C

1.2.10. Ο πολυμορφισμός c.56C>G

1.2.11. Αποτελέσματα ερευνών

1.2.11.1. Έρευνες σε παιδιά και εφήβους

1.2.11.2. Έρευνες σε ανήλικους

1.2.1.ΓΕΝΙΚΑ

Η απολιποπρωτεΐνη άλφα πέντε (apolipoprotein alfa five-APOAV), είναι μια απολιποπρωτεΐνη, η οποία φαίνεται ότι ρυθμίζει την ποσότητα των τριγλυκεριδίων που υπάρχουν στο πλάσμα, ενώ παράγεται από κύτταρα του ήπατος και σχετίζεται με την αρχική φάση της ανάπλασης αυτού.(23)

Ανακαλύφθηκε πριν από έξι χρόνια, ανεξάρτητα, με συγκριτική ανάλυση(24) και από διαφορική απεικόνιση ως μία πρωτεΐνη που συναντάται κατά την αναγέννηση του ήπατος(23). Δεν άργησε να παρατηρηθεί η επίδραση της απολιπρωτεΐνης αυτής στη ρύθμιση των τριγλυκεριδίων ορού.

Διαταραχές στο μεταβολισμό της APOAV και πολυμορφισμοί στο γονίδιο της φαίνεται να συσχετίζονται κυρίως με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα(25).

1.2.2.ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος είναι υδατοδιαλυτά μακρομοριακά σύμπλοκα, τα οποία μεταφέρουν μια ποικιλία λιπιδίων στο αίμα και σε διάφορα τμήματα ιστών. Παραδοσιακά, χωρίζονται σε τέσσερις κυρίως τάξεις με βάση την πυκνότητά τους: τα χυλομικρά, οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες(VLDL), οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες(LDL) και οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL).

Ως απολιποπρωτεΐνες εννοούμε τα πρωτεϊνικά μέρη των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος. Η κύρια λειτουργία των απολιποπρωτεϊνών είναι η μεταφορά των λιπιδίων στα τμήματα και εντός και εκτός της κύριας κυκλοφορίας του αίματος. Πολλές απολιποπρωτεΐνες, κατά συνέπεια, έχουν αποκτήσει πολύ εξειδικευμένες λειτουργίες. Οι πιο σημαντικές είναι οι, η απολιποπρωτεΐνη B(apoB) η οποία είναι και η κύρια απολιποπρωτεΐνη της LDL, η απολιποπρωτεΐνη E(apoE) που αποτελεί καθοριστικό παράγοντα που χρειάζεται

για την αλληλεπίδραση μεταξύ λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την apoE και των επιφανειακών κυτταρουποδοχέων.(84-86) Μία άλλη απολιποπρωτεΐνη της οικογένειας είναι η apoC-II, η οποία ενεργοποιεί τη λιποπρωτεϊνική λιπάση(LPL) και είναι σημαντική για το μεταβολισμό στο μεταβολισμό των χυλομικρών και της VLDL(27,28). Από την άλλη, η apoC-III παρεμποδίζει τη δράση της προηγούμενης(29,30). Η apoA-I (31), και πιθανά και η apoC-I (32) και η apoA-IV (33), πιστεύεται ότι ενεργοποιούν την ακυλοτρανσφεράση της λεκιθίνης: χοληστερόλης (LCAT), η οποία φαίνεται ότι με τη δράση της σχηματίζονται οι χοληστερικοί εστέρες της ανθρώπινης LDL και HDL (34,26). Τελευταία ανακαλύφθηκε η απολιποπρωτεΐνηA-V (apoA-V), η οποία και φαίνεται ότι σχετίζεται με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων (TG) στο αίμα.

1.2.3.APOA-V

Η apoA-V, είναι μια απολιποπρωτεΐνη που έχει ανακαλυφθεί σχετικά πρόσφατα(2001), η οποία εκφράζεται αποκλειστικά από το συκώτι και φαίνεται ότι διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στην ομοιοστάση των τριγλυκεριδίων. Η απολιποπρωτεΐνη αυτή περιγράφηκε ανεξάρτητα από 2 ομάδες. Η πρώτη χρησιμοποίησε συγκριτική ανάλυση της γενωμικής αλληλουχίας ⁽²⁴⁾, και η δεύτερη επιστημονική ομάδα αναγνώρισε το γονίδιο ApoA5, αφού παρατήρησαν αυξημένη έκφραση του ApoA5 γονιδίου κατά τη διάρκεια της αναγέννησης του συκωτιού ⁽²³⁾.

Επειδή η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι περίπου μόνο το ένα χιλιοστό σε σχέση με τη συγκέντρωση κάποιων άλλων απολιποπρωτεϊνών (π.χ. APOA1 και APOA2)⁽³⁸⁾, η λειτουργία της δεν αναγνωρίστηκε ολοκληρωτικά από την αρχή.

Οι διάφοροι πολυμορφισμοί στο γονίδιο ApoA5 φαίνεται ότι συσχετίζονται με τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στην κυκλοφορία του αίματος ⁽³⁹⁻⁴³⁾ και με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία ^(44-45, 37).

1.2.4.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ

Η απολιποπρωτεΐνη αυτή παράγεται από τα κύτταρα του ήπατος και έχει υπολογιστεί ότι έχει μοριακή μάζα ίση με 38,905Da, ενώ αποτελείται από 343 αμινοξέα. Η ανθρώπινη απολιποπρωτεΐνη έχει τέσσερα αμινοξέα τρυπτοφάνης(στις θέσεις 5, 97, 147 και 325), πέντε αμινοξέα τυροσίνης(στις θέσεις 7, 87, 109, 171 και 270) και ένα αμινοξύ κυστεΐνης στη θέση 204. Όσο αφορά τη δομή της, εμφανίζει δομή α-έλικας με κάποια κενά, όπως μεταξύ των αμινοξέων 10 και 13, 191 και 194, 240 και 249, 293 και 299, όπως και δομές β-επιφάνειες και β-στροφής . Βέβαια, δε διακρίνεται τόσο καλά η δομή της, εκτός από τις πολύ καλά διακριτές α-έλικες μεταξύ των αμινοξέων 169 και 246. Σε σχέση με τις apoA-I και apoA-IV, είναι πιο υδροφοβική, παρότι είναι το ίδιο αμφιπαθητική με τις προηγούμενες. Όσο αφορά τη συγγένεια σύνδεσης με τα λιπαρά είναι ίση με αυτή της apoA-I.⁽¹⁵⁾ Εάν συγκεντρώσουμε όλα τα παραπάνω στοιχεία, θα δούμε ότι έχει μια πολύπλευρη δομή. Η περιοχή που αποτελείται από τα αμινοξέα 1-60, είναι μια υδροφιλική και μέτρια αμφιπαθητική περιοχή. Από 61-170, είναι μια περιοχή πολύ υδροφοβική και αδύναμα αμφιπαθητική. Το διάστημα μεταξύ των αμινοξέων 171 και 245 περιλαμβάνει 3 πολύ υδροφοβικές, ισχυρά αμφιπαθητικές α-έλικες, οι οποίες εμφανίζουν μεγάλη επιφανειακή δραστηριότητα.

Τα διαστήματα μεταξύ των αμινοξέων 246-295 και 296-343, τα οποία χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη πολλαπλών προλινών, συνθέτουν περιοχές σχετικά υδροφιλικές που δεν εμφανίζουν κάποιο άλλο ισχυρό χαρακτηριστικό. Ένα άλλο χαρακτηριστικό της είναι ότι στο πλάσμα κυκλοφορεί κυρίως στενά συνδεδεμένη στην HDL, VLDL και τα χυλομικρά, καθώς εμφανίζει χαμηλή διαλυτότητα σε PH από 3.5 έως

και 9.5, και αποτελεί μία μονομερή πρωτεΐνη . Τέλος, μια περιοχή που πιθανόν να είναι υπεύθυνη για τη σύνδεσή της με την επιφάνεια των λιπών είναι αυτή μεταξύ των αμινοξέων 171-188, ένα α-ελικοειδές τμήμα που είναι πολύ υδρόφοβο και ισχυρά αμφιπαθητικό.⁽³⁵⁾

1.2.5.ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

Από τη στιγμή που ανακαλύφθηκε, έχουν προταθεί δύο θεωρίες για τη λειτουργία της apoA-V. Η μία είναι ότι μπορεί να καθυστερεί ή και να μειώνει την ηπατική σύνθεση των VLDL λιποπρωτεϊνών ^(35,46-47) και η άλλη είναι ότι δρα ως ενεργοποιητής για την ενδοκυκλοφοριακή υδρόλυση των τριγλυκεριδίων από την LPL. ⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾

1.2.5.1.Η ΑΡΟΑΝ ΩΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗΣ ΤΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ

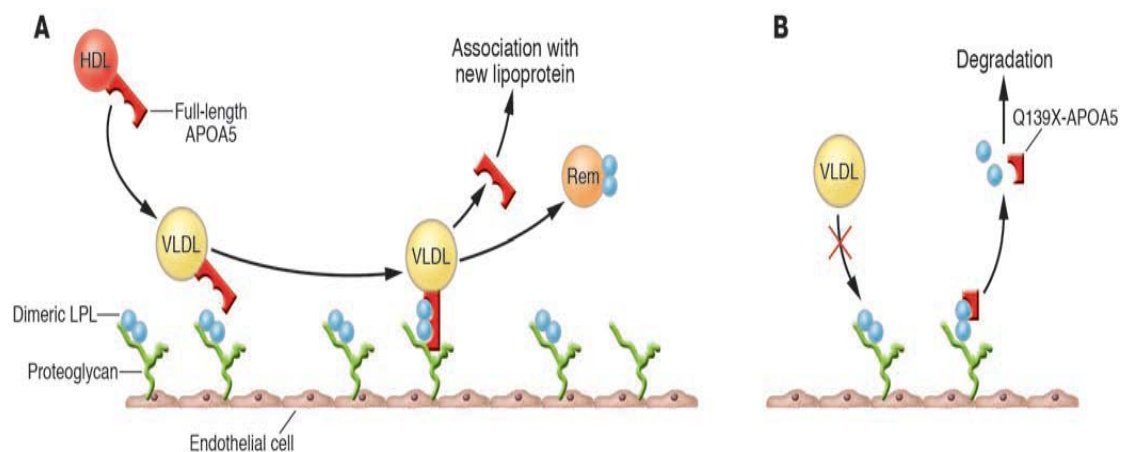
Η LPL αποτελεί το ένζυμο- κλειδί της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων στην κυκλοφορία του αίματος. Δεσμευμένη σε ενδοθηλιακές πρωτεογλυκάνες, δρα κυρίως στους σκελετικούς μύες και στο λιπώδη ιστό, προμηθεύοντας λιπαρά οξέα ως ενεργειακό υπόστρωμα για αυτούς τους ιστούς.

Είναι άξιο να αναρωτηθούμε πως η apoA-V, η οποία βρίσκεται σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση στο πλάσμα, μπορεί και επηρεάζει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Συνήθως, η LPL μετράται από την υδρολυτική της δραστηριότητα στο πλάσμα μετά από ένεσης ηπαρίνης. Στη μελέτη τους, οι Marcais et al. βρήκαν χαμηλότερη δραστηριότητα της LPL και της μάζας της σε άτομα που εμφάνιζαν έλλειψη της APOA5. ⁽³⁴⁾ Αξίζει να αναφερθεί ότι οι Fruchart-Najib et al δημοσίευσαν μια μελέτη στην οποία παρατήρησαν αυξημένη υδρόλυση της VLDL in vitro από ελεύθερη LPL, παρουσία μεγάλης ποσότητας ανασυνδυασμένης apoA-V(600μg/ml, περίπου 1000 φορές περισσότερη της αντίστοιχης

περιεκτικότητάς της στο αίμα).⁽⁴⁸⁾ Παρόμοια, οι Schaap et al έδειξαν ότι η apoA-V επηρεάζει την λιπόλυση των γαλακτωμάτων πλούσιων σε τριγλυκερίδια και ελεύθερα απολιποπρωτεϊνών από την LPL.⁽⁵⁰⁾

Από την άλλη, οι Lookene et al., χρησιμοποιώντας τρία διαφορετικά υποστρώματα δεν παρατήρησαν κάποια αλλαγή στην υδρόλυση των τριγλυκεριδίων που να οφείλονταν στην APOA5 από την LPL, που όμως δεν ήταν δεσμευμένη σε πρωτεογλυκάνες⁽⁵¹⁾.

Το μοντέλο που θέλει την APOA5 να δρα εξωκυτταρικά, προτείνει την εξής λειτουργία. Με το να συνδέεται σε χυλομικρά ή σε VLDL σε μια περιοχή της και σε ενδοθηλιακές πρωτεογλυκάνες και στην LPL στην άλλη, η apoA-V σταθεροποιεί το ενδοθηλιακό λιπολυτικό σύστημα και επομένως αυξάνει την εξαρτώμενη από την LPL υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Κατά συνέπεια, η apoA-V μπορεί να σταθεροποιήσει τη διμερή LPL, ή, παρόμοια, να καθορίσει το σχήμα των λιποπρωτεϊνών που είναι πλούσιες σε τριγλυκερίδια, ώστε να μετατραπούν σε ένα καλύτερο υπόστρωμα για την LPL. Από τη στιγμή που η apoA-V μπορεί να ξαναχρησιμοποιηθεί και να μεταφερθεί σε κάποια άλλο λιποπρωτεϊνικό μόριο μετά την υδρόλυση, πολύ μικρή συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι σε θέση να πραγματοποιήσει αυτό το έργο. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι σε φυσιολογική κατάσταση, 1 μόριο apoA-V αντιστοιχεί περίπου σε 24 μόρια VLDL.⁽³⁷⁾ Επίσης, αξίζει να αναφερθεί, ότι η μεταλλαγμένη apoA-V, η οποία προκύπτει από μια Q139X μετάλλαξη, δε συσχετίστηκε με κάποια λιποπρωτεΐνη και πιθανότατα συνδέεται στην LPL και/ ή στις πρωτεογλυκάνες σε ελεύθερη κυκλοφορούσα μορφή. Αυτή η μετάλλαξη έχει σαν αποτέλεσμα να ελευθερώνεται η LPL από τις ενδοθηλιακές πρωτεογλυκάνες και να αποδεσμεύεται και από την μεταλλαγμένη apoA-V⁽³⁷⁾.

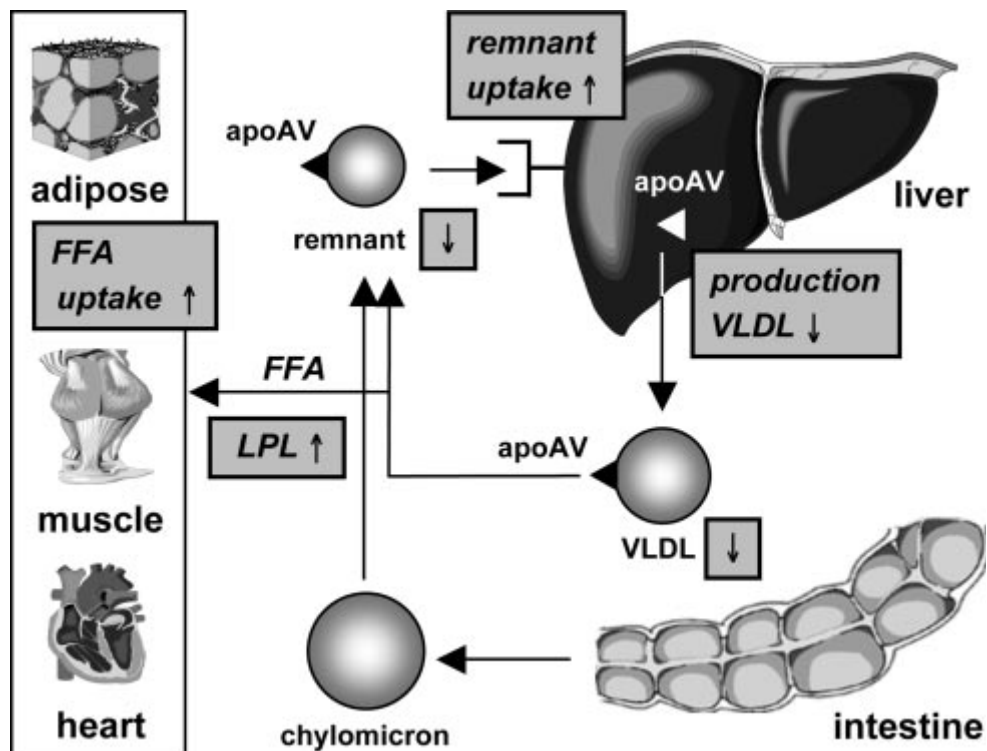


Εικόνα 3: Η μείωση των TGs από την APOA5. (Α) Λιποπρωτείνες, οι οποίες είναι πλούσιες σε TGs, όπως η VLDL, υδρολύονται από τη λιπολυτική δράση της διμερούς LPL, η οποία και είναι δεσμευμένη σε πρωτεογλυκάνες στο αγγειακό ενδοθήλιο. Η APOA5 κατευθύνει τα μόρια VLDL στις πρωτεογλυκάνες, και τα τοποθετεί κοντά στην LPL. Συγχρόνως, ενεργοποιεί τη δεσμευμένη LPL, είτε σταθεροποιώντας τη διμερή κατασκευή της είτε με το να συνδέεται σε κάποια αλλοστερική περιοχή της. Μετά την υδρόλυση, τα υπολείμματα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και η APOA5 μπορεί να μεταφερθεί και να ξαναχρησιμοποιηθεί από άλλα VLDL μόρια. Σε αυτή τη μεταγευματική φάση, η HDL δρα σαν δότης της APOA5, για την υδρόλυση χυλομικρών τα οποία προέρχονται από το έντερο. Έτσι, η APOA5 χαρακτηρίζεται δικαίως ως ένας ισχυρός ενεργοποιητής του φυσικού λιπολυτικού συστήματος. (Β) Το σχήμα αφορά την κατάσταση που συμβαίνει σε ασθενείς με μετάλλαξη Q139X της APOA5. Η μεταλλαγμένη απολιποπρωτεΐνη, αποτελείται από λιγότερα αμινοξέα, και έτσι δεν μπορεί να αλληλεπιδράσει και να κατευθύνει ικανοποιητικά τις πλούσιες σε TG λιποπρωτείνες, στις πρωτεογλυκάνες. Το αποτέλεσμα είναι να συνδέεται η απολιποπρωτεΐνη στην LPL και να την αποκόπτει από τις πρωτεογλυκάνες, και τελικά να αποσυντίθεται.⁽³⁷⁾

1.2.5.2. Η ΑΡΟΑ-V ΚΑΙ Η ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗ

Δεδομένου ότι η apoA-V δεν κυκλοφορεί ελεύθερη στο αίμα σε φυσιολογικό pH και η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι της τάξεως των $\mu\text{g/ml}$ ⁽²³⁾, είναι πιθανό να δρα και ενδοκυτταρικά και να μειώνει τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο αίμα. Έχει προταθεί ότι οι απολιποπρωτεΐνες που έχουν υψηλή συγγένεια σύνδεσης με τα λιπαρά και χαμηλή ελαστικότητα, όπως η apoA-V, μειώνουν το χρόνο του δεύτερου σταδίου συναρμολόγησης των VLDL μορίων ⁽⁵³⁾ στο ήπαρ. Στα παραπάνω στοιχεία μπορεί να προστεθεί και το ότι εμφανίζει αργή κινητική σύνδεσης σε υδροφοβικές επιφάνειες. Πιθανότατα, η apoA-V καθυστερεί τη σύνδεση των VLDL μορίων παρεμποδίζοντας την επέκταση των τμημάτων της VLDL ή καθυστερώντας την κίνηση των VLDL που μόλις έχουν παραχθεί και ετοιμάζονται να εκκριθούν, με το να συνδέεται σε αυτές ⁽³⁵⁾.

Αυτή της η δράση μπορεί να ενισχυθεί από την παρατήρηση ότι η έκφραση του γονιδίου APOA5 είναι αυξημένη κατά τα πρώτα στάδια αναγεννήσεως του ήπατος, μετά από κάποιο τραύμα ⁽²³⁾. Το συκώτι είναι το μόνο συκώτι ικανό να αναγεννηθεί μετά από μια τοξική ή μολυσματική προσβολή του, και μία από τις μεταβολικές του αποκρίσεις είναι η μείωση της έκκρισης της apoB και των τριγλυκεριδίων ⁽⁵⁴⁾. Και εφόσον παρατηρείται ταυτόχρονη αυξημένη έκφραση του APOA5 γονιδίου, η apoA-V μπορεί να δρα ως «ενδοκυτταρικό φρένο» στη συναρμολόγηση της VLDL και έκκριση, έτσι ώστε να διατηρηθούν τα λιπαρά για τη βιογένεση των μεμβρανών των νέων κυττάρων και ως ενεργειακό υπόστρωμα για να πραγματοποιηθεί η ηπατική αναγέννηση. Αυτή της η λειτουργία μπορεί να συμβαίνει και σε κανονικές συνθήκες, ως απόκριση στη δίαιτα και πρόσληψη εξωγενών λιπαρών ⁽³⁵⁾.



Εικόνα 4: Στην εικόνα φαίνονται οι προτεινόμενοι μηχανισμοί δράσης της APOA5, μέσα από τους οποίους μειώνονται τα επίπεδα των TGs. Επηρεάζει τις λιποπρωτείνες σε πολλά επίπεδα, τόσο στη σύνθεση όσο και στο καταβολισμό αυτών.⁽¹⁾ Μειώνει την ηπατική παραγωγή VLDL-TG, (2) Αυξάνει την παραγωγή υπολειμμάτων λιποπρωτεϊνών, με την ενίσχυση της δράσης της LPL. (3) Αυξάνει την επαναπρόσληψη των πυρηνικών λιποπρωτεϊνικών υπολειμμάτων, ενισχύοντας την ικανότητα σύνδεσης του υποδοχέα της LDL.⁽⁵²⁾

1.2.6.ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ ΑΡΟΑΝ

Το γονίδιο ΑΡΟΑ5 εντοπίζεται μέσα στο γονιδιακό **cluster** ΑΡΟΑΙ/С3/Α4 και απέχει περίπου 30Kb από το γονίδιο της ΑΡΟΑ-IV, στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 11q23. Περιέχει 4 εξώνια, με ένα υψηλά διατηρημένο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης ⁽²⁵⁾. Το γεγονός ότι το cluster αυτό, το οποίο αποτελείται από τα τέσσερα παραπάνω γονίδια, υπάρχει τόσο σε ανθρώπους, σε ποντίκια και στις κότες υποδεικνύει ότι τα γεγονότα διαχωρισμού του γονιδίου συνέβησαν πριν από το διαχωρισμό των ειδών θηλαστικά/ πτηνών (24, Pennacchio and Rubin, unpublished data 2002).

1.2.7.ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ

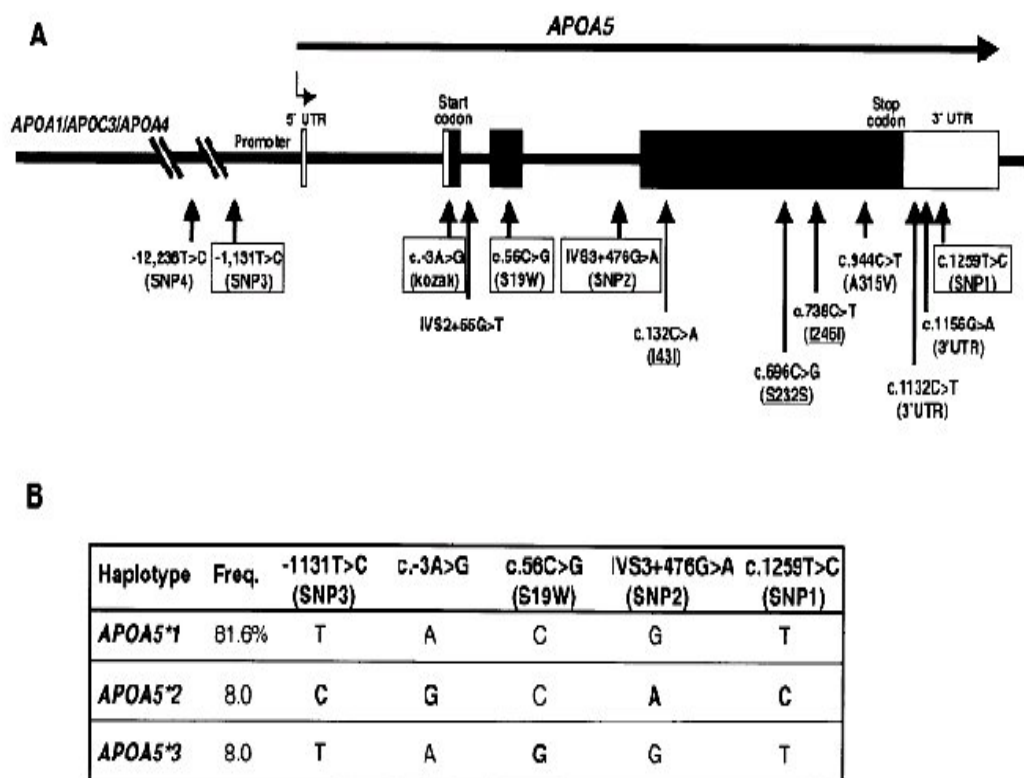
Έχουν παρατηρηθεί πολλοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο της ΑΡΟΑ-V. Παρακάτω παρουσιάζονται αυτοί, από τους οποίους αποτελούνται οι πέντε κοινοί απλότυποι, αλλά μόνο οι τρεις αναλύονται στην επόμενη παράγραφο(1.2.8.) ⁽⁵⁵⁾:

- -1131T>C
- -3A>G
- 751G>T
- 1891T>C
- C56C>G(S19W)
- 1746C>T
- V153M

1.2.8.ΑΠΛΟΤΥΠΟΙ

Έχουν αναγνωρισθεί πέντε κοινοί απλότυποι, οι οποίοι ορίζονται από επτά SNPs. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι απλότυποι APOA5*2 και APOA5*3, καθώς σχετίζονται με αξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Παρακάτω, αναλύονται οι τρεις πρώτοι απλότυποι, καθώς οι πολυμορφισμοί των υπόλοιπων απλοτύπων είτε δεν είναι συνηθισμένοι είτε δε συσχετίζονται με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα ⁽⁵⁷⁾.

1. ο wild-type απλότυπος APOA5*1, ο οποίος χαρακτηρίζεται από τα κοινά αλλήλια για τις παραπάνω επτά τοποθεσίες και παρατηρείται σε συχνότητα 69% σε Καυκάσιο πληθυσμό ⁽⁵⁶⁾.
2. ο APOA5*2, ο οποίος ορίζεται από τα σπάνια αλλήλια σε τέσσερις τοποθεσίες ⁽⁵⁷⁾, - 1131T>C, c.-3A>G, IVS3+476G>T και c.1259T>C, με συχνότητα εμφάνισης 4% σε μελέτη που περιλαμβάνει Καυκάσιους ⁽⁵⁸⁾
3. ο APOA5*3, ο οποίος ορίζεται από ένα σπάνιο αλλήλιο του πολυμορφισμού c.56C>G με συχνότητα εμφάνισης 4% σε μελέτη που περιλαμβάνει Καυκάσιους. ⁽⁵⁸⁾



Εικόνα 5:(A) Η γενωμική δομή του APOA5 και η τοποθεσία των πολυμορφισμών. Το γονίδιο αντιγράφεται από τα αριστερά στα δεξιά, όπως δείχνει και το βέλος. Τα εξόνια παριστάνονται ως κουτιά, με εκείνα τα οποία κωδικοποιούν την πρωτεΐνη να είναι με μαύρη σκίαση. Η τοποθεσία και η ταυτότητα για κάθε πολυμορφισμό υπάρχει κάτω από το σχήμα. Οι SNPs οι οποίοι βρίσκονται στο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης, φανερώνουν την αλλαγή του αμινοξέους σε παρένθεση(οι συνώνυμες αλλαγές είναι υπογραμμισμένες). Τα SNPs 1-4 έχουν αναγνωρισθεί από τους Pennachio et al.⁽²⁴⁾(B) Οι κοινοί απλότυποι της APOA5 και οι σχετικές συχνότητες τους από δείγμα 419 καυκάσιων αντρών(Berkeley Lipid Study Population). Οι 5 SNPs που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση περιέχονται στο σχέδιο A. Οι 3 παραπάνω απλότυποι αποτελούν το 97,6% όλων, και κανένας από τους άλλους απλότυπους δεν έχει συχνότητα εμφάνισης>1%. Όσο για τα υπολειπόμενα αλληλία που ορίζουν τους αππλότυπους είναι σκιασμένα.⁽⁴⁰⁾

Οι απλότυποι APOA5*2 και ο APOA5*3 εμφανίζουν συχνότητα εμφάνισης σε πληθυσμό λευκών, σε ποσοστό 15%^(24,57). Από μελέτες, έχει φανεί ότι τα σπάνια αλληλία των απλότυπων APOA5*2 και APOA5*3, των πολυμορφισμών -1131T>C και S19W, φανερώνουν ότι υπάρχουν σε μεγάλη συχνότητα σε μαύρους και ισπανικής καταγωγής άτομα και υποστηρίζουν την εικασία ότι αυτοί οι πολυμορφισμοί δημιουργήθηκαν νωρίς στην εξελικτική πορεία του ανθρώπινου είδους. Μαζί, οι APOA5*2 και APOA5*3 εμφανίζουν συχνότητα εμφάνισης από 25-50% σε μαύρους, ισπανικής καταγωγής άτομα, και λευκούς, υπογραμμίζοντας ότι υπάρχει μεγάλο ποσοστό ατόμων που εμφανίζουν υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων πλάσματος εξαιτίας των πολυμορφισμών στο γονίδιο της APOA-V. Ακόμα, οι απλότυποι εκτός από την ισχυρή επίδραση που έχουν στα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα για διαφορετικές ηλικίες, εθνικότητες και φύλο, παίζουν και σημαντικό ρόλο για την κατάσταση της οικογενούς συνδυασμένης υπερλιπιδαιμίας⁽²⁵⁾.

1.2.9.Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ -1131T>C

Ο πολυμορφισμός -1131T>C οφείλεται σε αντικατάσταση της θυμίνης από κυτοσίνη και εντοπίζεται στην περιοχή του εκκινητή του γονιδίου APOA5. Τα άτομα που εμφανίζουν τον πολυμορφισμό και στα δύο αλληλόμορφα γονίδια χαρακτηρίζονται ομοζυγώτες στον πολυμορφισμό(CC), ενώ αν η αντικατάσταση της θυμίνης από κυτοσίνη έχει γίνει μόνο στο ένα αλληλόμορφο ονομάζονται ετεροζυγώτες (TC). Τα άτομα χωρίς πολυμορφισμό είναι ομοζυγώτες φυσιολογικοί(TT). Οι ομοζυγώτες CC και οι ετεροζυγώτες TC αποτελούν τους φορείς του C αλληλίου. Οι ετερόζυγοι και οι ομόζυγοι φυσιολογικοί είναι φορείς του T αλληλίου.

Το σπάνιο αλληλίο εμφανίζεται σε συχνότητα 27-37% σε άτομα που κατοικούν στην Ανατολική Ασία ^(43,60-63), 13-16% σε Ισπανούς ^(43,57), 6-9% σε αφροαμερικανούς και δυτικούς Ευρωπαίους ^(24,41,57,64) και 12,8% στους Τούρκους ⁽⁵⁹⁾. Φαίνεται από διάφορες έρευνες ότι Ιάπωνες και Μαλαίσιοι, οι οποίοι είναι ομόζυγοι για το σπάνιο αλληλίο του πολυμορφισμού -1131T>C είχαν 10% και 69% υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων, αναφορικά με εκείνα τα άτομα τα οποία ήταν ομόζυγα στο κοινό αλληλίο ⁽⁵⁹⁾.

1.2.10.Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ c.56C>G

Ο πολυμορφισμός c.56C>G οφείλεται σε αντικατάσταση της κυτοσίνη από γουανίνη. Τα άτομα που εμφανίζουν τον πολυμορφισμό και στα δύο αλληλόμορφα γονίδια χαρακτηρίζονται ομοζυγώτες στον πολυμορφισμό (GG), ενώ αν η αντικατάσταση της κυτοσίνης από γουανίνη έχει γίνει μόνο στο ένα αλληλόμορφο ονομάζονται ετεροζυγώτες (CG). Τα άτομα χωρίς πολυμορφισμό είναι ομοζυγώτες φυσιολογικοί(CC). Οι ομοζυγώτες GG και οι ετεροζυγώτες CG αποτελούν τους φορείς του C αλληλίου. Οι ετερόζυγοι και οι ομόζυγοι φυσιολογικοί είναι φορείς του C αλληλίου.

Οι πρωτείνες που προκύπτουν εξαιτίας μιας μη συνώνυμης αλλαγής έχουν τρυπτοφάνη αντί για σερίνη στο κωδικόνιο 19 ⁽²⁵⁾. Η αλλαγή της σερίνης από την ογκώδη τρυπτοφάνη σε αυτήν τη θέση μπορεί να μειώνει το ρυθμό εξόδου της APOAV από το συκώτι, γεγονός που συντελεί στην αύξηση των τριγλυκεριδίων στους ανθρώπους.

Η συχνότητα εμφάνισης του αλληλίου του σπάνιου SNP είναι <0,1% στους Κινέζους⁽⁶²⁾ και Γιαπωνέζους⁽⁶⁰⁾, 4-8% σε αφρο-αμερικάνους και δυτικοευρωπαίους ^(41,57,59,65), 15% σε ισπανικής καταγωγής άτομα ⁽⁵⁷⁾ και 5,6% σε τούρκους ⁽⁵⁹⁾. Σε σχέση με το γονότυπο 19SS, ο 19SW σχετίστηκε με 8-16% υψηλότερα επίπεδα TG μεταξύ των Καυκάσιων ⁽⁴¹⁾ και 20-30% υψηλότερα σε Αφρο-αμερικάνους ⁽⁵⁷⁾.

1.2.11.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΩΝ

1.2.11.1.Έρευνες σε παιδιά και εφήβους

Στη μελέτη Japanese School Children Study, της οποίας το δείγμα αποτελούνταν από παιδιά που πήγαιναν σχολείο στην Ιαπωνία, εξετάστηκε η σχέση μεταξύ του -1131T>C πολυμορφισμού και της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων. Για άλλη μια φορά βρέθηκε περίπου 15% αύξηση στη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων σε άτομα που εμφάνιζαν τα μη επικρατή αλληλίου για τον SNP3 σε σχέση με τους ομόζυγους για το κύριο αλληλίο. Αυτή η μελέτη υποστηρίζει την ανεξάρτητη από ηλικία σχέση μεταξύ των επιπέδων τριγλυκεριδίων και των πολυμορφισμών του APOA5. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι σε αυτή τη μελέτη το 61% των ατόμων κουβαλούσαν τουλάχιστον ένα αντίγραφο του μη επικρατούς SNP3 αλληλίου, σε σχέση με το 15%, 30% και 22% που βρέθηκε στους άσπρους, Hispanics και μαύρους αντίστοιχα. Δεν εξετάστηκε ο c.56C>G πολυμορφισμός σε αυτόν τον πληθυσμό.⁽⁶⁶⁾

1.2.11.2.Έρευνες σε ενήλικους

Από τη μελέτη Berkeley Lipid Study Population, που έγινε σε δείγμα 500 άσπρων, βρέθηκαν ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ των 2 απλότυπων, APOA5*2 και APOA*3^(24,57) και αυξημένων συγκεντρώσεων τριγλυκεριδίων. Πιο συγκεκριμένα, κάθε ένας από τους απλότυπους συσχετίζονταν με μία περίπου 30% αύξηση στις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων, εάν τις συγκρίναμε με άτομα που δεν είχαν τα μη επικρατή αλληλίου που ορίζουν τους δύο παραπάνω απλότυπους⁽²⁵⁾.

Στη μελέτη Stratified Population Study, το δείγμα αποτελούνταν από άσπρους, αλλά ακολουθήθηκε διαφορετική πειραματική διαδικασία σε σχέση με την παραπάνω μελέτη^(24,57). Συγκρίθηκε η συχνότητα των αλληλίων -1131T>C και c.56C>G σε μια ομάδα που δε σχετίζονταν τα άτομα μεταξύ τους και είχαν κατηγοριοποιηθεί ανάλογα με το επίπεδο συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Οι δύο ομάδες αντιπροσώπευαν, η πρώτη πολλά εκατοντάδες άτομα με επίπεδα τριγλυκεριδίων στο ανώτερο δεκαδικό εκατοστημόριο και η δεύτερη πολλές εκατοντάδες άτομα από το κατώτερο δεκαδικό εκατοστημόριο ενός μεγαλύτερου πληθυσμού. Και για τους δύο πολυμορφισμούς, εμφανίστηκε περίπου μία αύξηση κατά 3 φορές παρουσία των μη επικρατών αλληλίων σε άτομα που είχαν υψηλές συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων στο αίμα, σε σχέση με αυτά που είχαν χαμηλές συγκεντρώσεις⁽²⁵⁾.

Από τη μελέτη The Dallas Heart Disease Prevention Program, στην οποία συμπεριλήφθηκαν περίπου 2600 τυχαία διαλεγμένα άτομα που αντιπροσώπευαν μαύρους, άσπρους και ισπανική ταυτότητα. Για άλλη μια φορά, βρέθηκαν ισχυροί γενετικοί συσχετισμοί μεταξύ τόσο των -1131T>C και c.56C>G πολυμορφισμών και των συγκεντρώσεων των τριγλυκεριδίων. Για τον c.56C>G, το φαινόμενο παρατηρήθηκε τόσο για τους άντρες όσο για τις γυναίκες για όλες τις εθνικότητες. Για τον -1131T>C, αυξημένες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων στο αίμα βρέθηκαν σε Hispanic άντρες και γυναίκες και σε άσπρους άντρες, αλλά όχι σε μαύρους άντρες και γυναίκες ή άσπρες γυναίκες. Είτε η έλλειψη μεταξύ ενός συσχετισμού σε αυτό το υποσύνολο ατόμων είναι εξαιτίας του μικρού μεγέθους δείγματος ή σε σημαντικές επιρροές λόγω φύλου και εθνικότητας, είναι παράγοντες που δεν έχουν ξεκαθαριστεί ακόμα⁽²⁵⁾.

Από στοιχεία της έρευνας Northwick Park Heart Study που έγινε σε 2800 άντρες, όσοι ήταν ομόζυγοι στο APOA5 19W ή στον SNP3 είχαν 52% και 40% υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων, σε σχέση με τους ομόζυγους για το κοινό αλληλίο⁽²⁵⁾.

Από τη μελέτη The Prospective Erik-Norfolk Population Study, στην οποία συμμετείχαν συνολικά 3,035 άτομα, έχουμε τα παρακάτω αποτελέσματα. Παραδόξως, βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της APOA-V ορού και των τριγλυκεριδίων ορού σε άντρες και γυναίκες ($r=0,36$ και $0,28$ με $p<0,001$ το κάθε ένα). Ακόμα, η συχνότητα του c.56C>G πολυμορφισμού δεν διέφερε μεταξύ της ομάδας κινδύνου και ελέγχου, παρότι ο πολυμορφισμός εμφάνιζε ισχυρό συσχετισμό μεταξύ τόσο με τα επίπεδα της APOAV όσο και των τριγλυκεριδίων ορού. Η ηλικία των συμμετεχόντων ήταν μεταξύ των ετών 45 και 79. Η ομάδα κινδύνου αποτελούνταν από άτομα τα οποία που ανέπτυξαν ένα θανατηφόρο ή μη θανατηφόρο CAD κατά τη διάρκεια ενός follow- up μέχρι το Νοέμβριο του 2003. Από την άλλη οι ομάδες ελέγχου αποτελούνταν από άτομα που στο follow-up δεν εμφάνισαν κάποιο καρδιαγγειακό πρόβλημα. Όσο αφορά τον πολυμορφισμό -1131T>C το υπολειπόμενο αλληλίο συσχετιζόνταν σημαντικά με χαμηλότερα επίπεδα APOAV και υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό και εμφανίζονταν σε μεγάλο βαθμό στην ομάδα κινδύνου ($p=0.047$). Όμως, ο συσχετισμός του πολυμορφισμού αυτού με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης CAD είναι ανεξάρτητος από τα επίπεδα APOAV ⁽⁶⁷⁾.

Σύμφωνα με τη μελέτη Framingham Heart Study, στην οποία συμμετείχαν 1129 άντρες και 1262 γυναίκες οι -1131T>C και 56C>G SNPs βρέθηκαν ισχυρά συσχετισμένοι με υψηλότερες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων ορού τόσο σε άντρες όσο και σε γυναίκες ⁽⁶⁴⁾.

Οι Harald Grallert et al. Με βάση τις μελέτες KORA survey S4($n=1354$), από τη νότια Γερμανία και SAPHIR study($n=1770$) από την Αυστρία, μελέτησαν τους διάφορους πολυμορφισμούς της APOAV και το κατά πόσο αυτοί σχετίζονταν με την εμφάνιση μεταβολικού συνδρόμου στους Καυκάσιους. Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν τα εξής στοιχεία. Για κάθε αντίγραφο του υπολειπόμενου αλληλίου του πολυμορφισμού -1131T>C αυξάνονταν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού κατά $13,3\%$ ($p=0,0005$). Από τη SAPHIR study φάνηκε μία ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του υπολειπόμενου αλληλίου του πολυμορφισμού 56C>G και υψηλότερης συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων στον ορό. Από όλους τους

συμμετέχοντες, 348 και 502 άτομα από τη KORA και SAPHIR, αντίστοιχα, πληρούσαν τα NCEP κριτήρια για την ύπαρξη μεταβολικού συνδρόμου. Προέκυψε ότι το αλληλίο του πολυμορφισμού 56C>G σχετίζεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου από τη μελέτη SAPHIR. Τέλος, και για τους δύο πολυμορφισμούς παρατηρήθηκε μείωση της HDL χοληστερόλης και αύξηση της LDL και ολικής χοληστερόλης ⁽⁶⁸⁾.

Από τη μελέτη των Giriraj R Chandak et al., στην οποία μελετήθηκε και συγκρίθηκε η συχνότητα εμφάνισης των υπολειπόμενων αλληλίων των πολυμορφισμών -1131T>C και 56C>G σε Ασιάτες Ινδούς που ζούσαν στην Pune της Ινδίας και άσπρους Βρετανούς ενήλικες βρέθηκαν τα εξής. Το -1131T>C αλληλίο εμφανίζεται πιο συχνά στον ινδικό πληθυσμό σε σχέση με το βρετανικό, με ποσοστά εμφάνισης 20% και 4% αντίστοιχα($p=0,00001$), ενώ το 19W αλληλίο εμφανίζεται πιο συχνά στους Βρετανούς, με συχνότητα 6% και 3% για τους Ινδούς($p=0,0015$). Ακόμα, η ύπαρξη του -1131T>C αλληλίου(TC και CC γονότυποι μαζί) συσχετίζεται με υψηλότερες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων κατά 0,25 τυπικές αποκλίσεις στους Ινδιάνους της Pune($p=0,17$, αν και όχι στατιστικά σημαντικό) και κατά 0,5 τυπικές αποκλίσεις στους Βρετανούς συμμετέχοντες($p=0,01$). Η παρουσία του 19W αλληλίου συσχετίστηκε με αύξηση των τριγλυκεριδίων κατά 0,25 τυπικές αποκλίσεις($p=0,17$, όχι στατιστικά σημαντικό) και 0,41 τυπικές αποκλίσεις για τους Άγγλους($p=0,008$) ⁽⁶⁹⁾.

Σχετικά με το αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού -1131T>C και της CRP μελέτησε η επιστημονική ομάδα των J.A.Hubáček et al., με δείγμα 1119 Καυκάσιων ανδρών, ηλικίας από 28 έως 67 ετών. Τα επίπεδα της CRP δε διέφεραν μεταξύ των ομόζυγων T/T($n=946$, $1.61\pm 2.05\text{mg/l}$) και τους φορείς του C αλληλίου($n=173$, $1.67\pm 1.95\text{mg/l}$). Έτσι, σύμφωνα με αυτήν τη μελέτη, δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της CRP και του πολυμορφισμού -1131T>C ⁽⁷⁰⁾.

Από μία άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν 28 άτομα με σοβαρή υπερχοληστερολαιμία και 42 φυσιολογικά άτομα ως ομάδα ελέγχου, βρέθηκε ότι τα πρώτα εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα APOAV και APOC-3 στο αίμα από ότι τα άτομα της ομάδας ελέγχου, ενώ εμφάνιζαν ταυτόχρονα και υψηλότερα επίπεδα TG, ένα παράδοξο φαινόμενο, αφού θα περιμέναμε η σχέση αυτών των δύο βιοχημικών δεικτών να είναι αντίστροφη. Αυτό μελέτησαν οι Frank G. Schaap et al. ⁽⁷¹⁾. Όμως, και οι Pruneta-Deloche et al. ⁽⁷²⁾, παρατήρησαν αυξημένη συγκέντρωση της APOAV μεταγευματικά και των TG σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Αλλά και οι Becker et al ⁽⁷³⁾ παρατήρησαν μια αύξηση τόσο στην απολιποπρωτεΐνη όσο και στα TG, σε ασθενείς που ανάρρωναν από σήψη. Αυτή η διαπίστωση δείχνει ότι και άλλοι παράγοντες μπορεί να επιδρούν στη ρύθμιση των τριγλυκεριδίων ορού. Τέλος, στη συγκεκριμένη μελέτη όταν έγινε έλεγχος για τα επίπεδα APOC-3, δε βρέθηκε ανεξάρτητη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων APOAV και TG.⁽⁷¹⁾

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Roberto Elosua et al., των οποίων η μελέτη βασίζονταν σε δείγμα 2,273 ατόμων που συμμετείχαν στον 6^ο κύκλο εξέτασης της Offspring Study της Framingham Heart Study, παρατηρήθηκε 22-27% αύξηση του ποσοστού των τριγλυκεριδίων στον ορό για κάθε σπάνιο αλληλίο των πολυμορφισμών -1131T>C και 56C>G, ανάμεσα σε άλλους πολυμορφισμούς της APOAV. Επίσης, τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης ήταν χαμηλότερα σε φορείς του σπάνιου αλληλίου του πολυμορφισμού 56C>G. Συμπληρωματικά, ο επιπολασμός του διαβήτη ήταν χαμηλότερος σε φορείς αλληλίου του πολυμορφισμού -1131T>C.⁽⁷⁴⁾

Οι Ugur Hodoglugil et al. μελέτησαν διάφορους πολυμορφισμούς της APOAV και τις επιπτώσεις αυτών στα επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού σε Τούρκικο πληθυσμό. Το δείγμα αποτελούνταν από 3020 Τούρκους, άντρες και γυναίκες και τα αποτελέσματα είναι τα εξής. Τόσο στους άντρες, όσο και στις γυναίκες τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ήταν πιο αυξημένα στους ετεροζυγώτες και ομοζυγώτες του σπάνιου αλληλίου του πολυμορφισμού -1131T>C σε σχέση με τους ομοζυγώτες για το σύννηθες αλληλίο ($p < 0,005$). Η επίδραση ήταν

δοσοεξαρτώμενη με την έκφραση του γονιδίου. Επίσης, όσα άτομα εμφάνιζαν το γονότυπο 19SW είχαν στατιστικά σημαντικά πιο υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων από ότι αυτά με γονότυπο 19WW ($P < 0,001$). Για τους άντρες, ο -1131T>C SNP είχε τη μεγαλύτερη επίδραση στο επίπεδο των τριγλυκεριδίων ορού. Η διαφορά μεταξύ των ομοζυγωτών CC και TT ήταν 86mg/dl(60%). Επίσης, παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι το σπάνιο αλληλίο του SNP -1131T>C είχε μεγαλύτερη επίδραση στα TG ορού στους άντρες από ότι στις γυναίκες(60Vs30% αύξηση). Ακόμα, παρατηρήθηκε ότι το ζευγάρι των SNPs S19W/-1131T>C είχε σημαντικές αυξητικές και ανεξάρτητες επιδράσεις στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων. Η πιο μεγάλη διαφορά μπορούσε να παρατηρηθεί σε γονότυπους 19SS/-1131TT και 19SS/-1131CC, με διαφορά 90mg/dl. Επίσης, άτομα οι οποίοι ήταν ετεροζυγώτες και για τους δύο πολυμορφισμούς, εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων από ότι άτομα οι οποίοι ήταν ετεροζυγώτες για τον ένα πολυμορφισμό μόνο.⁽⁵⁹⁾

Σύμφωνα με μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Mitsuaki Ishihara et al., στην οποία μετρήθηκε η συγκέντρωση της APOAV σε 302 άτομα, βρέθηκαν τα εξής αποτελέσματα. Η συγκέντρωση της APOAV στο αίμα ήταν μεγαλύτερη σε άτομα που έφεραν τα αλληλία C/C του πολυμορφισμού -1131T/C σε σχέση με αυτά που έφεραν τα T/T αλληλία ($p < 0,01$). Ακόμα, η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα ήταν μικρότερη για τα άτομα με γονότυπο C/C, από ότι αυτά με C/T ή T/T($p < 0.05$). Τέλος, η συγκέντρωση ήταν μικρότερη στα άτομα με σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 σε σχέση με την υγιή ομάδα ελέγχου($69,4 \pm 44,3 \text{ ng/ml } p < 0.01$).⁽⁷⁵⁾

Με τη σειρά τους, οι Kathy L.E. Klos et al., μέσα από τη μελέτη Cardia study, η οποία είχε ως συμμετέχοντες 1075 γυναίκες και 783 άντρες afro-αμερικάνους, όπως και 1041 γυναίκες και 932 άντρες άσπρους, ηλικίας από 20-30 ετών, δημοσίευσαν τα εξής αποτελέσματα. Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των σπάνιων αλληλίων των πολυμορφισμών -1131T>C και S19W στην ομάδα των άσπρων ήταν 0.058 και 0.019

αντίστοιχα, γενικά πιο χαμηλά από ότι αναφέρει η βιβλιογραφία(0.06-0.085 για τον -1131T>C)^(24,41,57,60,64-65). Για το δείγμα των Αφροαμερικανών η συχνότητα εμφάνισης του αλληλίου του -1131T>C πολυμορφισμού ήταν 0.066, χαμηλότερο από το 0.118, που ανέφεραν οι Pennacchio et al ⁽⁵⁷⁾. Δεν παρατηρήθηκε καμμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τριγλυκεριδίων πλάσματος και του -1131T>C στην Αφροαμερικάνικη ομάδα. Όμως, παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης του παραπάνω πολυμορφισμού και των τριγλυκεριδίων πλάσματος για τους λευκούς άντρες. Από την άλλη δε φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, όσο αναφορά τους 2 πολυμορφισμούς, στο γυναικείο πληθυσμό. Ακόμα, φάνηκε ότι ο πολυμορφισμός S19W επηρέασε τα TG ορού στις Αφροαμερικάνες και τους άσπρους συμμετέχοντες στη μελέτη.⁽⁷⁶⁾

Από τη μελέτη LOCAT(Lopid Coronary Angiography Trial), οι ερευνητές συμπεράναν τα εξής, οι φορείς του -1131T>C αλληλίου(n=54) σε σχέση με τους άντρες που είχαν το γονότυπο -1131TT(n=242) εμφάνιζαν στατιστικά υψηλότερα TG(P=0,03), αλλά και πιο αυξημένη μάζα VLDL(υψηλότερα VLDL-TG, VLDL-χοληστερόλη, VLDL-πρωτεΐνη, και επιφανειακά λιπίδια(για όλα P<0,05). Ακόμα, εάν συγκρίναμε τους άντρες 19SS(n=268) με τους φορείς(n=44) του 19W αλληλίου, οι δεύτεροι εμφάνιζαν υψηλότερη συγκέντρωση μεσαίας πυκνότητας λιποπρωτεϊνών(IDL)-TG, IDL-χοληστερόλη(P=0,04) και συστατικά της επιφάνειας της IDL {ελεύθερη χοληστερόλη(P=0,04) και φωσφολιπίδια(P=0,017)} αλλά όχι και στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο, υποστηρίζοντας μια αύξηση στο λιπιδαιμικό περιεχόμενο της IDL, που οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους αυτών των λιποπρωτεϊνών. Τέλος, οι φορείς του 19W αλληλίου εμφάνισαν μία τάση για αυξημένη πρόοδο της αθηρογένεσης(-0.46±0.011mm συγκρινόμενο με το -0,016±0,006mm) των 19SS ανδρών(P=0,08).⁽⁷⁷⁾

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Bradley E. Aouizerat et al., και δείγμα του αποτελούσαν 191 άτομα ως ομάδα ελέγχου, 167 άτομα με συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία, 75 με υποαλφαλιποπρωτεϊναιμία και 194 με υπεραλφαλιποπρωτεϊναιμία. Το δείγμα αποτελούνταν από Κινέζους, Ισπανούς και Ευρωπαίους. Μελετήθηκε ο πολυμορφισμός -1131T>C και το σπάνιο αλληλίο συνδέθηκε με αυξημένα TG πλάσματος(P=0,012), VLDL χοληστερόλη (P=0,0007) , VLDL TG(P=0,012) , LDL TG(P=0,003) και HDL TG(P=0,016). Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία ενός σπάνιου αλληλίου στον ανθρώπινο γονότυπο οδήγησε σε 21mg/dl αύξηση στα τριγλυκερίδια ορού(P=0,009) και 8mg/dl για τη VLDL χοληστερόλη(P=0,0001) και μειώνει τη HDL χοληστερόλη κατά 2mg/dl(P=0,017). Η συσχέτιση του πολυμορφισμού με την αλλαγή του λιποπρωτεϊνικού προφίλ παρατηρήθηκε σε όλα τα άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα, οπότε μπορεί να υποστηριχθεί ότι η APOAV αποτελεί ένα ισχυρό παράγοντα από τον οποίο εξαρτώνται τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό, αλλά και η λιποπρωτεϊνική χοληστερόλη.⁽⁴³⁾

Ενδιαφέρον παρουσιάζει μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα πληθυσμού της Σιγκαπούρης, το οποίο αποτελείται από Κινέζους, Μαλαισιανούς και Ινδούς κυρίως. Έτσι , παρατηρήθηκε η επίδραση των σπάνιων αλληλίων των πολυμορφισμών -1131T>C και S19W σε διαφορετικές εθνικότητες. Εξετάστηκαν 1833 άνδρες και 2138 γυναίκες, οι οποίοι συμμετείχαν στη “1998 Singapore National Health Survey”. Σε αυτή τη μελέτη, η συχνότητα εμφάνισης του υπολειπόμενου αλληλίου του πολυμορφισμού S19W ήταν μεταξύ 0,01 και 0,03, οπότε δεν έγινε συσχέτιση με τα επίπεδα των TG. Όσο για τον πολυμορφισμό -1131T>C, το μη επικρατές αλληλίο συνδέθηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και για τις τρεις εθνικότητες του πληθυσμού.⁽⁶²⁾

Οι Yangsoo Jang et al. μελέτησαν την επίδραση του πολυμορφισμού -1131T>C σε κορεάτικο πληθυσμό, υγιή και φυσιολογικού βάρους. Αποτελούνταν από 158 άτομα και

διαχωρίστηκαν σε 3 γκρουπ, με βάση το γονότυπό τους, TT, TC και CC, με συχνότητα εμφάνισης 0,28 του C αλληλίου. Βρήκαν ότι η ποσότητα των τριγλυκεριδίων στο αίμα σε κατάσταση νηστείας ήταν υψηλότερη σε άτομα με C αλληλίο από ότι σε άτομα με γονότυπο TT($P=0,05$). Επίσης, μετά από κατανάλωση μεικτού γεύματος, όσοι ήταν φορείς του C αλληλίου εμφάνισαν υψηλότερες αυξήσεις στη συνολική ποσότητα χυλομικρών και VLDL τριγλυκεριδίων σε σχέση με τα άτομα με TT γονότυπο.⁽⁷⁸⁾

Με βάση μια μελέτη η οποία είχε ως δείγμα 1001 άντρες και 1147 γυναίκες που συμμετείχαν στη Framingham heart Study, μελετήθηκε η επίδραση της κατανάλωσης ω-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη συγκέντρωση των TG ορού, σε άτομα που μπορεί να εμφανίσουν και τα σπάνια αλληλία των πολυμορφισμών -1131T>C και 56C>G. Έτσι, το -1131T>C αλληλίο συνδέθηκε με υψηλότερες συγκεντρώσεις νηστείας για τα TGs και τη RLP($P<0.01$), όπως και μεγαλύτερο μέγεθος των μορίων της VLDL και μειωμένο μέγεθος των μορίων LDL μόνο σε άτομα που κατανάλωναν μεγάλη ποσότητα PUFA(>6% της συνολικής καταναλισκόμενης ενέργειας.). Η σχέση βρέθηκε δοσο-εξαρτώμενη($P<0.01$).⁽⁷⁸⁾

Τέλος, Σε μία μελέτη με δείγμα 16 οικογένειες από τις οποίες 42 άτομα εμφανίζουν οικογενή υπερχοληστερολαιμία, μελετήθηκε ο -1131T>C πολυμορφισμός⁽⁷⁹⁾. Από τις αναλύσεις που έγιναν φάνηκε ότι τόσο άτομα που είχαν υπερχοληστερολαιμία, όσο και αυτά που δεν είχαν, εμφάνισαν υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων κατά 45% όταν μετέφεραν το -1131C αλληλίο σε σχέση με αυτούς που δεν το εμφάνιζαν. Ακόμα, το αλληλίο αυτό βρισκόταν 3 φορές περισσότερο σε άτομα με οικογενή υπερχοληστερολαιμία σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

2. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Σκοπός

2.2. Μεθοδολογία

2.2.1. Πληθυσμός και δείγμα μελέτης

2.2.2. Ανθρωπομετρία

2.2.3. Εργαστηριακές αναλύσεις

2.2.4. Απομόνωση DNA

2.2.5. Έλεγχος πολυμορφισμού-διάκριση αλληλίων με τη μέθοδο TaqMan

2.2.5.1. Εκκινητές και ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν

2.2.5.2. Διαλύματα

2.2.6. Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας

2.2.7. Δημογραφικά στοιχεία

2.2.8. Οικογενειακό Ιστορικό

2.2.9. Στατιστική επεξεργασία

2.3. Αποτελέσματα

2.3.1. Κατανομή των πολυμορφισμών

2.3.2. Χαρακτηριστικά του δείγματος μελέτης

2.3.3. Συσχέτιση γονότυπων με βιοχημικούς δείκτες και δείκτες παχυσαρκίας

2.4. Συζήτηση

\

2. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης των πολυμορφισμών -1131T>C και c.56C>G, στα επίπεδα τριγλυκεριδίων του πλάσματος, καθώς και σε διάφορους ανθρωπομετρικούς παράγοντες που σχετίζονται με την παιδική παχυσαρκία. Συγκεκριμένα, ερευνήθηκε εάν οι πολυμορφισμοί επηρεάζουν διάφορους βιοχημικούς δείκτες, κυρίως όσους αφορούν το λιπιδαιμικό προφίλ ενός ατόμου, καθώς και ανθρωπομετρικούς δείκτες, ώστε να εξεταστεί το ενδεχόμενο αυτοί οι πολυμορφισμοί να ευνοούν την ύπαρξη υπέρβαρου ή παχυσαρκίας. Επιμέρους σκοποί είναι επίσης ο έλεγχος των πολυμορφισμών στο δείγμα, αλλά και κατά κατηγορίες με χαρακτηριστικά κατηγοριοποίησης, το φύλο.

2.2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.2.1. Πληθυσμός και Δείγμα μελέτης

Στην μελέτη συμμετείχαν 728 παιδιά, μαθητές της πέμπτης και έκτης τάξης του δημοτικού, ηλικίας 10-12 ετών, από σχολεία των δήμων Καλλιθέας, Μοσχάτου, Αμαρουσίου, Χολαργού, Πεύκης και Νέας Ιωνίας, για τα οποία είχε ληφθεί η σχετική έγκριση από το Παιδαγωγικό Ινστιτούτο.

Η συγκεκριμένη ηλικιακή ομάδα επιλέχθηκε καθώς σε αυτήν είναι εφικτή η συνεργασία και καλή επικοινωνία των παιδιών με τους ερευνητές, κάτι που δεν θα ήταν εφικτό αν αυτά ήταν μικρότερης ηλικίας. Ταυτόχρονα, το μεγαλύτερο ποσοστό των παιδιών δεν είχε περάσει στο βιολογικό στάδιο της εφηβείας, ώστε να επηρεάζονται διάφοροι ορμονικοί και βιοχημικοί παράγοντες από τις φυσιολογικές βιολογικές αλλαγές που συντελούνται σε αυτό το στάδιο της ζωής.

Η διαδικασία επιλογής του δείγματος είχε ως εξής: Αρχικά, οι διευθυντές των σχολείων που είχαν επιλεγεί ενημερώνονταν για τους σκοπούς και τη μεθοδολογία της έρευνας μέσω ενημερωτικού εντύπου, ενώ ταυτόχρονα λάμβαναν και ένα αντίγραφο της έγκρισης του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου. Μια συνάντηση του επιστημονικού υπεύθυνου της έρευνας με το διευθυντή του σχολείου κατοχύρωνε τη συμμετοχή του σχολείου στη μελέτη. Στη συνέχεια, όλα τα παιδιά της πέμπτης και έκτης τάξης ενημερώνονταν από την ερευνητική ομάδα για τη μελέτη, μέσω παρουσίασης στο χώρο του σχολείου τους. Στο τέλος της παρουσίασης δινόταν σε κάθε παιδί ένα ενημερωτικό έντυπο, καθώς και ένα συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής. Τα παιδιά που τελικά συμμετείχαν στην έρευνα ήταν αυτά που είχαν επιστρέψει το συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής εντός του προβλεπόμενου χρόνου και υπογεγραμμένο από τον γονέα ή το κηδεμόνα.

2.2.2. Ανθρωπομετρία

Το σωματικό βάρος των παιδιών μετρήθηκε με ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας στο πλησιέστερο 0,5 kg και το ύψος μετρήθηκε με φορητό αναστημόμετρο προσαρμοσμένο στον κατακόρυφο τοίχο στο πλησιέστερο 0,5 cm. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (Body Mass Index, BMI) υπολογίστηκε με τον τύπο $BMI = \text{Βάρος (kg)} / \text{Ύψος}^2 (\text{m}^2)$.

Οι περιφέρειες μέσης, ισχίων και βραχίονα μετρήθηκαν με πλαστική μεζούρα στο πλησιέστερο 0,1 cm και ο δείκτης της περιφέρειας μέσης προς τη περιφέρεια ισχίων (Waist to Hip Ratio, WHR) υπολογίστηκε με τον τύπο $WHR = \text{περιφέρεια μέσης (cm)} / \text{περιφέρεια ισχίων (cm)}$. Η περιφέρεια μέσου βραχίονα (mid- upper arm circumference, MAC) μετρήθηκε σε γυμνό βραχίονα στη μισή απόσταση μεταξύ του ακρώμιου οστού της ωμοπλάτης και της εσωτερικής κορυφής του αγκώνα. Η περιφέρεια μέσης, μετρήθηκε απουσία ρουχισμού, στο μέσο της απόστασης μεταξύ του τελευταίου πλευρού και του άκρου

του λαγόνιου οστού, περίπου στο ύψος του αφαλού. Η περιφέρεια ισχίων μετρήθηκε στο σημείο που παρουσίαζε τη μεγαλύτερη περίμετρο.

Για την εκτίμηση του σωματικού λίπους μετρήθηκαν οι δερματοπτυχές τρικεφάλου και υποωμοπλατιαίου μύος, στο πλησιέστερο 0,2 mm, με δερματοπτυχόμετρο Lange (Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, MA, USA). Για την κάθε δερματοπτυχή πραγματοποιήθηκαν 2 μετρήσεις, που έγιναν στη δεξιά πλευρά του σώματος (δεξιός βραχίονας) και από τις τιμές που προέκυψαν υπολογίστηκε ο μέσος όρος. Η δερματοπτυχή τρικεφάλου προσδιορίστηκε ως εξής: με μεζούρα μετρήθηκε κάθετα στο πίσω μέρος του βραχίονα η απόσταση μεταξύ του κατώτερου ορίου του ακρώμιου οστού και του ωλέκρανου (εσωτερικής κορυφής του αγκώνα), ενώ το χέρι σχηματίζει ορθή γωνία. Με ένα στυλό σημειώθηκε το μέσο αυτής της απόστασης και στη συνέχεια ο εξεταστής, τοποθετώντας το δερματοπτυχόμετρο 1 cm πάνω από το συγκεκριμένο σημείο, με το ένα χέρι του να κρατάει τη δερματοπτυχή, πραγματοποίησε τη μέτρηση προσέχοντας να μην περιλαμβάνεται ο μυϊκός ιστός. Η υποωμοπλατιαία δερματοπτυχή μετρήθηκε 2 cm κάτω από την έσω γωνία του οστού της ωμοπλάτης σε μία νοητή διαγώνια γραμμή (45° με το οριζόντιο ή/ και κάθετο επίπεδο).

Τα παιδιά κατηγοριοποιήθηκαν ως φυσιολογικού σωματικού βάρους, υπέρβαρα ή παχύσαρκα, σύμφωνα με τις οριακές τιμές του BMI που έχουν αναπτύξει οι Cole et al και έχει υιοθετήσει η Διεθνής Ομάδα Δράσης για τη Παχυσαρκία (IOTF). Οι συγκεκριμένες τιμές προτιμήθηκαν από τα οριακά εκατοστημόρια των καμπυλών ανάπτυξης του CDC, γιατί θεωρήθηκε ότι αντιπροσωπεύουν καλύτερα τον ελληνικό πληθυσμό, καθώς προέρχονται από στοιχεία 6 μεγάλων ερευνών από διάφορα κράτη, μεταξύ των οποίων και δυο ευρωπαϊκά (Ολλανδία, Μεγάλη Βρετανία), ενώ οι καμπύλες έχουν σχεδιαστεί βάση στοιχείων του αμερικάνικου πληθυσμού. Επιπλέον, οι οριακές τιμές του Cole αντιστοιχούν στις διεθνώς αναγνωρισμένες και ευρέως χρησιμοποιούμενες οριακές τιμές του BMI για το υπερβάλλον βάρος (25 kg/ m²) και την παχυσαρκία (30 kg/ m²).⁽⁸¹⁾

2.2.3. Εργαστηριακές Αναλύσεις

Από κάθε παιδί λήφθηκαν περίπου 3 ml αίματος για :

- ✓ Γενική εξέταση αίματος: αιματοκρίτης, αιμοσφαιρίνη, λευκά και ερυθρά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια, μέσος όρος ερυθρών (MCV), μέση αιμοσφαιρίνη ερυθρών (MCH), μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ερυθρών (MCHC)
- ✓ Απομόνωση πλάσματος για ορμονικές εξετάσεις
- ✓ Απομόνωση DNA από τα λευκά αιμοσφαίρια.

Επίσης λήφθηκαν περίπου 8 ml αίματος για:

- ✓ Βιοχημικές εξετάσεις: γλυκόζη ορού, ολική χοληστερόλη ορού, HDL-χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια ορού.

2.2.4. Απομόνωση DNA

Το πρωτόκολλο της απομόνωσης DNA από λευκά αιμοσφαίρια είναι το εξής:

Ημέρα 1^η

- 1) Απομάκρυνση πλάσματος μετά από φυγοκέντρηση (10 min, 3000rpm, 4°C).
 - 2) Μεταφορά στοιβάδας λευκών αιμοσφαιρίων σε σωλήνα Falcon 15 ml.
 - 3) Προσθήκη δ/τος Lysis I (1x) μέχρι τελικό όγκο 15ml.
 - 4) Ισχυρή ανακίνηση και επώαση σε πάγο για 20 min (ανακίνηση κατά την διάρκεια των 20 min).
 - 5) Φυγοκέντρηση (10 min, 2000rpm, 20°C).
 - 6) Απομάκρυνση υπερκείμενου.
 - 7) Προσθήκη 10-12 ml Lysis I (1x) και ισχυρή ανακίνηση για διάλυση ιζήματος.
 - 8) Φυγοκέντρηση (10 min, 2500rpm, 20°C).
- Αν εξακολουθούν να υπάρχουν στο Falcon αρκετά ερυθρά αιμοσφαίρια (παρατηρείται κόκκινο-καφέ χρώμα) επαναλαμβάνονται τα βήματα 7 και 8.
- 9) Απομάκρυνση υπερκείμενου.
 - 10) Προσθήκη 1.5 ml δ/τος Lysis II και ισχυρή ανακίνηση.
 - 11) Προσθήκη 25 µl πρωτεΐνης K (20mg/ ml).
 - 12) Προσθήκη 75 µl SDS 20% και ήπια ανάδευση.
 - 13) Επώαση στους 56°C σε υδατόλουτρο.

Ημέρα 2η

- 1) Προσθήκη 0,5 ml NaCl 6M και ισχυρή ανακίνηση για 15-20 sec.
- 2) Φυγοκέντρηση (10 min, 3000rpm, 20°C).
- 3) Ισχυρή ανακίνηση για διάλυση του ιζήματος και ξανά φυγοκέντρηση (10 min, 3000rpm, 20°C).
- 4) Μεταφορά υπερκείμενου με πλαστική Pasteur (χωρίς να πάρουμε από τη στοιβάδα φούσκες ή ίζημα) σε σωλήνα Falcon 50 ml που περιέχει 12-15 ml αιθανόλη 96% και ήπια ανάδευση. Σε αυτή τη φάση γίνεται ορατό το DNA. Συγκέντρωση DNA σε κουβάρι rollerbench.
- 5) Απομάκρυνση DNA με πιπέτα και κίτρινο tip και τοποθέτηση για πλύσιμο σε eppendorf 1.5 ml που έχουμε προηγουμένως τοποθετήσει 1ml αιθανόλη 70%.
- 6) Προσθήκη 4-5 σταγόνες οξικό αμμώνιο.
- 7) Για eppendorf φυγοκέντρηση (15 min, 14000g, 20°C), ενώ για Falcon 50 ml φυγοκέντρηση (15 min, 4000rpm, 20°C).
- 8) Άδειασμα υπερκείμενου και στέγνωμα για 20-30 min έως ότου δεν υπάρχουν υπολείμματα αιθανόλης.
- 9) Προσθήκη 0,2-0,5 ml (ανάλογα με το μέγεθος του κουβαριού DNA) TE και επώαση 10 min στους 60°C ή παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου overnight.

Μετά την απομόνωση το DNA ελέγχεται για την παρουσία του πολυμορφισμού μέσω του συστήματος TaqMan, το οποίο είναι μια μέθοδος συνεχόμενης PCR σε πραγματικό χρόνο.

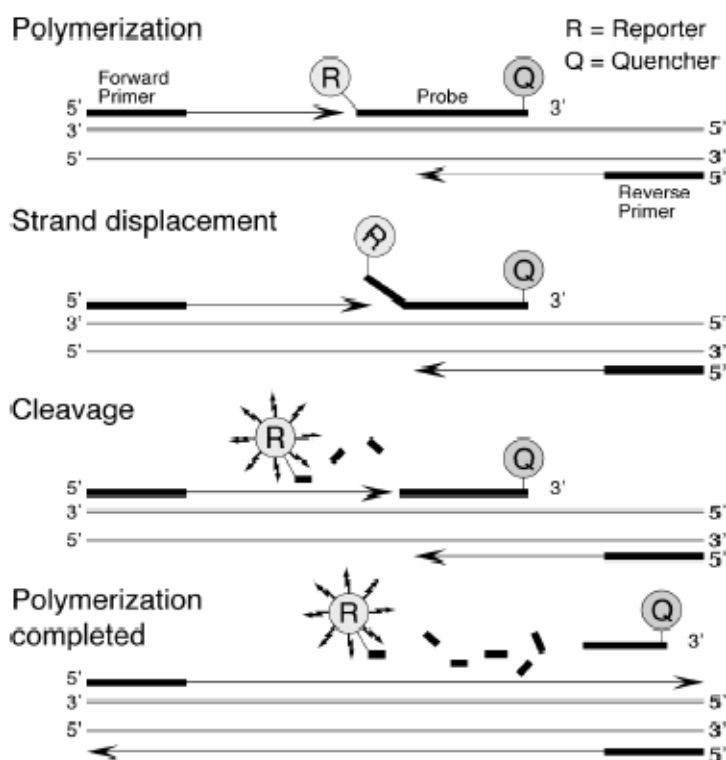
2.2.5.ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ-ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΑΛΛΗΛΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ TaqMaN

Η μέθοδος Taqman αποτελεί εξέλιξη της κλασικής μεθόδου ανίχνευσης πολυμορφισμών με αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης και πέψη με περιοριστική ενδονουκλεάση. Με τη μέθοδο Taqman μπορούν να προσδιοριστούν γνωστές μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε μια αλληλουχία, ακόμη κι αν πρόκειται για αλλαγή μιας μόνο βάσης.

Χρησιμοποιούνται δύο ανιχνευτές υβριδισμού συμπληρωματικοί ως προς την αλληλουχία-στόχο, για παρουσία και απουσία του πολυμορφισμού. Οι ανιχνευτές φέρουν χρωστική φθορισμού είτε 6-κάρβοξυ φλουορεσκίνη (FAM), είτε τη χρωστική VIC. Ο κάθε ανιχνευτής φέρει στο 5' άκρο του την χρωστική φθορισμού, ενώ στο 3' άκρο του φέρει μια άλλη χρωστική η τετραμέθυλροδαμίνη (TAMRA) που ονομάζεται παρεμποδιστής (quencher). Εξαιτίας της παρουσίας του παρεμποδιστή η χρωστική στο 5' άκρο δε δίνει σήμα φθορισμού. Πέρα από τους ανιχνευτές, χρησιμοποιούνται και εκκινητές όπως γίνεται στην κλασική PCR.

Η αντίδραση γίνεται σε θερμικό κυκλοποιητή, με βήματα αντίστοιχα αυτών της συμβατικής PCR. Κατά το στάδιο της υβριδοποίησης των εκκινητών (annealing), υβριδοποιούνται και οι ανιχνευτές. Στη συνέχεια, κατά το στάδιο της επιμήκυνσης (extension) η πολυμεράση υδρολύει τους υβριδοποιημένους ανιχνευτές, οπότε ο παρεμποδιστής απομακρύνεται από τη χρωστική, κι έτσι η τελευταία εκπέμπει σήμα φθορισμού (εικόνα 6). Το σήμα αυτό αυξάνεται σε κάθε κύκλο, καθώς αυξάνεται ποσοτικά το προϊόν της αντίδρασης, και στο τέλος μετράται από ειδικό μηχάνημα.

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε πλάκα 96 ή 384 θέσεων επιτρέποντας την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών δειγμάτων. Στο τέλος της αντίδρασης δέσμη laser συλλέγει από κάθε κελί το φθορίζον σήμα (που αποτελεί συνδυασμό των εκπομπών από κάθε μια χρωστική FAM και VIC) και με τη βοήθεια ειδικών αλγορίθμων μετράται η συμμετοχή κάθε χρωστικής φθορισμού στο συνολικό σήμα που λαμβάνεται. Τελικά, δημιουργείται από το μηχάνημα ένα διάγραμμα στο οποίο φαίνεται το σήμα φθορισμού που λήφθηκε από κάθε κελί της πλάκας. Αυξημένη εκπομπή χρωστικής FAM ή VIC υποδηλώνει ομοζυγωτία για το συγκεκριμένο αλληλόμορφο για το οποίο ο ανιχνευτής φέρει την αντίστοιχη χρωστική, ενώ ισόποση εκπομπή και από τις δύο χρωστικές υποδηλώνει ετεροζυγωτία.⁽⁸²⁾



Εικό

να

6.:

Στην

εικόν

α

φαίνε

ται η

αρχή

της

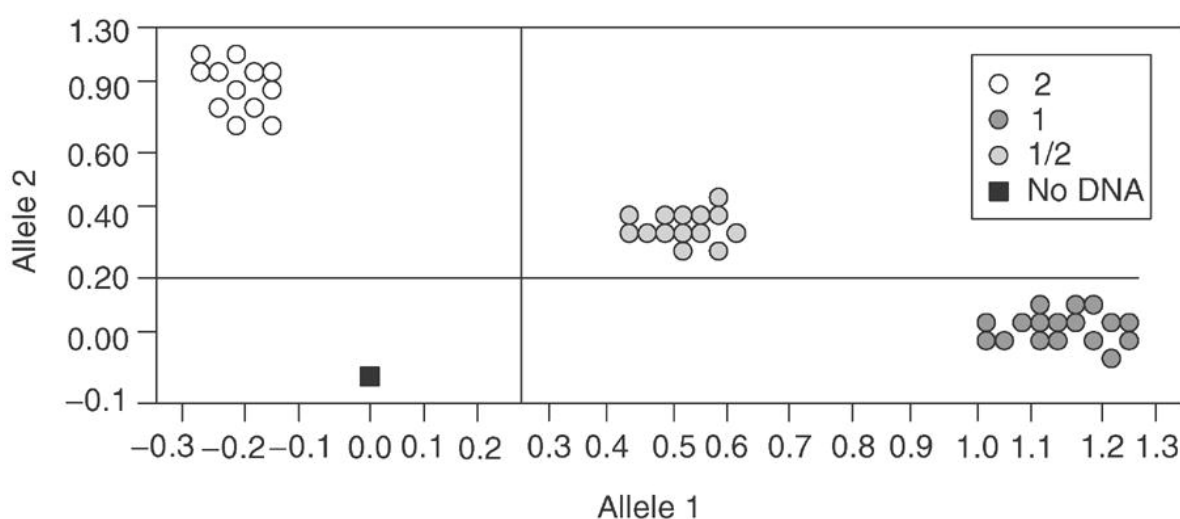
μεθό

δου Taqman. Όταν ο ανιχνευτής υβριδισμού (probe) δεν έχει υβριδοποιηθεί ακόμη στη συμπληρωματική του αλληλουχία ο παρεμποδιστής (quencher) εμποδίζει την εκπομπή σήματος φθορισμού από τη χρωστική φθορισμού (reporter). Όταν η πολυμεράση υδρολύσει τους υβριδοποιημένους ανιχνευτές εκπέμπεται σήμα φθορισμού.

Στην αντίδραση πέρα από τα δείγματα συμπεριλαμβάνονται και 3 διαφορετικοί μάρτυρες:

1. ένα κελί στο οποίο περιέχεται μίγμα των αντιδραστηρίων χωρίς όμως DNA. Από το κελί αυτό η εκπομπή φθορισμού οφείλεται σε ανιχνευτές που είναι ενωμένοι με παρεμποδιστή.
2. ένα κελί στο οποίο τοποθετείται δείγμα ομόζυγο για το ένα αλληλόμορφο. Το σήμα φθορισμού αντιπροσωπεύει την χρωστική που είναι συνδεδεμένη με το αντίστοιχο αλληλόμορφο.
3. ένα κελί στο οποίο τοποθετείται δείγμα ομόζυγο για το άλλο αλληλόμορφο. Το σήμα φθορισμού αντιπροσωπεύει την χρωστική που είναι συνδεδεμένη με το αλληλόμορφο αυτό.

Η εικόνα που λαμβάνεται τελικά από το μηχάνημα και με την οποία γίνεται ο προσδιορισμός των γονοτύπων φαίνεται παρακάτω (εικόνα 7).



Εικόνα 7.: Στην εικόνα φαίνεται το διάγραμμα με το οποίο γίνεται ο προσδιορισμός των γονοτύπων. Στον κάθετο άξονα φαίνονται τα δείγματα τα ομόζυγα για ένα υποθετικό αλληλόμορφο 2 (allele 2), ενώ στον οριζόντιο άξονα τα δείγματα τα ομόζυγα για ένα υποθετικό αλληλόμορφο 1 (allele 1). Ενδιάμεσα βλέπουμε τα ετερόζυγα άτομα. Το μαύρο τετράγωνο στην αρχή των αξόνων αντιστοιχεί στο κελί στο οποίο δεν έχουμε τοποθετήσει DNA.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την προετοιμασία των δειγμάτων έχει ως εξής:

1. Τοποθετούνται 10 μ l DNA συγκέντρωσης 5-20 μ l στα κελιά της πλάκας. Αφήνεται να στεγνώσει.
2. Παρασκευάζεται το μίγμα των αντιδραστηρίων της PCR. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα 2.1. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει PCR, συν 1 δείγμα για τυχόν απώλειες. Αφού παρασκευαστεί το μίγμα, αναδεύεται σε vortex.

Πίνακας 1: Μίγμα για PCR

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΟΓΚΟΣ (μ l)
Hot start Taq ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (5U/ μ l)	0.05
PCR BUFFER (10X)	1.1
MgCl ₂ (50mM)	0.65
dNTP's	0.45
ΔΕΞΙΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ (100mM)	0.0325
ΑΡΙΣΤΕΡΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ (100mM)	0.0325
VAM (100mM)	0.0325
FIC (100mM)	0.0325
ΝΕΡΟ ΑΠΕΣΤΑΓΜΕΝΟ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ	7.12

3. 5 μ l μίγματος τοποθετούνται σε κάθε κελί της πλάκας.
4. Η πλάκα μεταφέρεται σε θερμικό κυκλοποιητή (μηχάνημα PCR) και ακολουθείται το ακόλουθο πρόγραμμα:

BHMA 1^ο: 37°C για 10 min

BHMA 2^ο: 95°C για 10 min

BHMA 3^ο: 95°C για 15 seconds

BHMA 4^ο: 60°C για 1 min

BHMA 5^ο: (Βήμα 3^ο και Βήμα 4^ο) x 49

BHMA 7^ο: 25°C αποθήκευση

Μετά το τέλος της αντίδρασης η πλάκα μεταφέρεται στο μηχάνημα στο οποίο θα γίνει η ταυτοποίηση των γονοτύπων με τη χρήση ειδικού λογισμικού. Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε είναι το (ABI PRISM 7700). Τελικά σε αρχείο excel λαμβάνεται λίστα με τον αριθμό των κελιών και τον γονότυπο που αντιστοιχεί σε κάθε κελί.

2.2.5.1.ΕΚΚΙΝΗΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ

Πολυμορφισμός -1131T>C

Χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω εκκινητές:

- Μπροστινός, AVC-1131T-128F με αλληλουχία CCCTGCGAGTGGAGTTCA σε συγκέντρωση 36uM.
- Οπίσθιος, AVC-1131T-128R με αλληλουχία CTCTGAGCCCCAGGAACTG σε συγκέντρωση 36uM.

Και οι ανιχνευτές:

- AVC-1131T-128V2, με χρωστική VIC και αλληλουχία AGCGAAAGTGAGATTT σε συγκέντρωση 8uM και ο
- AVC-1131T-128M2, με χρωστική FAM και αλληλουχία AGCGAAAGTAAGATTT σε συγκέντρωση 8uM.

Πολυμορφισμός S19W

Χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω εκκινητές:

- Μπροστινός, AVS19W-128F με αλληλουχία CCAGGCCCTGA-TTACCTAGTC σε συγκέντρωση 36uM και ο
- Οπίσθιος, AVS19W-128R, με αλληλουχία GAAGTAGTCCCAG-AAGCCTTTCC σε συγκέντρωση 36uM

Και οι ανιχνευτές:

- AVS19W-128V1, με χρωστική VIC και αλληλουχία CAGCGTTTTCGGCCAC σε συγκέντρωση 8uM και
- AVS19W-128M1, με χρωστική FAM και αλληλουχία AGCGTTTTGGGCCAC σε συγκέντρωση 8uM.

2.2.5.2. ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

➤ Lysis I (20x)

- ο 82,9gr NH₄CL (3,1M).
- ο 10,01gr KHCO₃ (200mM).
- ο 20ml EDTA (0,5M).
- ο Ανάδευση.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- ο Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 7,4.
- ο Αποστείρωση.

➤ Lysis I (1x)

- ο 25ml Lysis I 20x.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.

- ο Ανάδευση.

➤ ***Lysis II***

- ο 0,61gr TrisHCL (10mM).
- ο 11,69gr NaCL (400mM).
- ο 2ml EDTA (0,5M).
- ο Ανάδευση.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- ο Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 8,4.
- ο Αποστείρωση.

➤ ***Πρωτεΐνάση K (20mg/ml)***

- ο 100mg πρωτεΐνάση K.
- ο 5ml αποστειρωμένο νερό.
- ο Ανάδευση σε Vortex.
- ο Κατανομή σε eppendorfs των 1,5ml.
- ο Αποθήκευση στους -20 °C.
- ο Ανάδευση.

➤ ***SDS 20%***

- ο 20gr SDS.
- ο 60ml απεσταγμένο νερό.
- ο Ανάδευση.

- **Tris-EDTA (TE)**
 - ο 0,61gr Tris Base 10Mm.
 - ο 1ml EDTA 0,05M.
 - ο Προσθήκη $\approx$ 400ml απεσταγμένο νερό.
 - ο Ανάδευση.
 - ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι $V_{\text{τελ}}=500\text{ml}$.
 - ο Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 7,4
 - ο Αποστείρωση.

- **Οξικό αμμώνιο 10M**
 - ο 77gr $\text{CH}_3\text{COONH}_4$.
 - ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι τελικού όγκου 100ml.
 - ο Ανάδευση.

2.2.6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Η φυσική δραστηριότητα των παιδιών αξιολογήθηκε με ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας του Sallis, το οποίο έχει ελεγχθεί για την εγκυρότητα και την ισχύ του.

Στο ερωτηματολόγιο τα παιδιά καλούνται να σημειώσουν όλες τις δραστηριότητες που είχαν κάνει το προηγούμενο 24ωρο από μια λίστα που περιείχε 21 δραστηριότητες, όπως διάφορα αθλήματα, δουλειές στο σπίτι, περπάτημα κλπ, και χώρο για καταγραφή 4 ακόμα δραστηριοτήτων.⁽⁸³⁾

Επίσης, τα παιδιά ανέφεραν τα λεπτά που ξόδεψαν στην κάθε δραστηριότητα κατά την διάρκεια 3 χρονικών περιόδων: πριν, κατά τη διάρκεια και μετά το σχολείο. Για να

εκτιμηθεί η ένταση της άσκησης έγινε χρήση συντελεστών διόρθωσης, οι οποίοι βασίζονταν στα συμπτώματα της άσκησης, δηλαδή λαχάνιασμα ή κούραση και μπορούσαν να απεικονίσουν τις ατομικές διαφορές στην ένταση. Συγκεκριμένα, αν μια δραστηριότητα ήταν ελαφριά ή μέτρια, τότε δεν αναμενόταν να παρατηρηθεί λαχάνιασμα, άρα δραστηριότητες με εύρος 1.1-5.9 MET score πολλαπλασιάζονται με το 1.1 (συντελεστής διόρθωσης) αν αναφέρουν τα παιδιά ότι λαχάνιασαν “λίγο” και με το 1.25 αν αναφέρουν ότι λαχάνιασαν “πολύ”. Για τις δραστηριότητες που ήταν έντονες (δηλ., 6 METs ή περισσότερο, βάση την κατηγοριοποίηση των Jacobs et Al), αναμενόταν τουλάχιστον “λίγο” λαχάνιασμα. Αν ανέφεραν τα παιδιά “πολύ ” λαχάνιασμα, τότε το MET score πολλαπλασιαζόταν με το 1.25. Αν όμως αναφερόταν “καθόλου” λαχάνιασμα, τότε η άσκηση ήταν λιγότερο έντονη από αυτό που αναμενόταν και έτσι η τιμή του MET πολλαπλασιαζόταν με το 0.75. ⁽⁸³⁾

Τέλος, στο ερωτηματολόγιο υπήρχε ένα επιπλέον κομμάτι όπου τα παιδιά κατέγραφαν και τις ώρες παρακολούθησης τηλεόρασης ή βίντεο και την ενασχόληση με ηλεκτρονικά παιχνίδια σε βίντεο ή υπολογιστή την προηγούμενη μέρα. ⁽⁸³⁾

Τα στοιχεία επεξεργάστηκαν σε ειδικό πρόγραμμα του Microsoft Excel, όπου εισάγονταν τα METs της φυσικής δραστηριότητας (πολλαπλάσιο του μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας, με αποτέλεσμα οι τιμές του να αντανakλούν το ενεργειακό κόστος των δραστηριοτήτων), η χρονική διάρκεια, ένας συντελεστής ανάλογα με το πόσο κουράστηκε το παιδί και η χρονική διάρκεια ενασχόλησης με καθιστικές δραστηριότητες. Το πρόγραμμα υπολόγιζε τη συνολική χρονική διάρκεια των δραστηριοτήτων και την ενεργειακή κατανάλωση του παιδιού, στοιχεία τα οποία τελικά εισάγονταν στη βάση δεδομένων.

2.2.7. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Οι γονείς των παιδιών κλήθηκαν να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο σχετικά με τα δημογραφικά στοιχεία της οικογένειας, δηλαδή την καταγωγή και την ηλικία των γονέων, την επαγγελματική τους κατάσταση, το μορφωτικό επίπεδο, την οικογενειακή κατάσταση και την οικονομική κατάσταση. Επίσης, το ερωτηματολόγιο περιείχε ένα σκέλος, όπου οι γονείς έπρεπε να συμπληρώσουν το βάρος, το ύψος τους και την ομάδα αίματός και τέλος ένα σκέλος, όπου έπρεπε να δώσουν πληροφορίες σχετικά με το βάρος γέννησης και το θηλασμό του συμμετέχοντος παιδιού.

2.2.8. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Οι γονείς των παιδιών κλήθηκαν να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο σχετικά με ασθένειες που πιθανόν να εμφανίζουν οι πρώτου βαθμού συγγενείς του παιδιού (γονείς, αδέρφια, παππούδες, γιαγιάδες), όπως παχυσαρκία, διαβήτη, καρδιαγγειακές ασθένειες και καρκίνο.

2.2.9.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 13.0. Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση ($M \pm SD$), ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτη τιμή ή/και ποσοστό (%). Η κανονική κατανομή ελέγχθηκε για όλες τις συνεχείς μεταβλητές με το τεστ Kolmogorov-Smirnov. Οι συγκρίσεις ανάμεσα σε κατηγορικές μεταβλητές πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο χ^2 . Οι συγκρίσεις ανάμεσα σε κατηγορικές και συνεχείς μεταβλητές πραγματοποιήθηκαν με t-test, ANOVA και ANCOVA όταν εξασφαλιζόταν η κανονικότητα και με Mann-Whitney και Kruskal-Wallis test όταν οι κατανομές δεν ήταν κανονικές. Η επίδραση των γενετικών δεικτών στα επίπεδα σωματομετρικών και βιοχημικών δεικτών εκτιμήθηκε με πολλαπλή παλινδρόμηση. Όλοι οι έλεγχοι θα πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

2.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.3.1. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ

Πίνακας 2. Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού -1131T/C.

	Γονότυποι		
	TT	TC	CC
N (%)	620 (85,2)	103 (14,1)	5 (0,7)

Η αναλογία των γονότυπων στο δείγμα είναι σύμφωνη με την ισορροπία Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,101$, $df=2$, $p=0,951$)

Συχνότητα εμφάνισης αλληλομόρφων: **T: 0,92, C: 0,08**

Πίνακας 3. Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού -1131T/C ανά φύλο.

	Γονότυποι			p
	TT	TC	CC	
Κορίτσια (n, %)	328 (85,6)	53 (13,9)	2 (0,5)	0,821
Αγόρια (n, %)	292 (84,6)	50 (14,5)	3 (0,9)	

Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα στη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού -1131T/C ($\chi^2=0,395$, $df=2$, $p=0,821$).

Πίνακας 4. Συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης c56C>G (S19W).

	Γονότυποι		
	CC	CG	GG
N (%)	651 (89,4)	75 (10,3)	2 (0,3)

Η αναλογία των γονότυπων στο δείγμα είναι σύμφωνη με την ισορροπία Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,011$, $df=2$, $p=0,995$)

Συχνότητα εμφάνισης αλληλομόρφων: **C: 0,95, G: 0,05**

Πίνακας 5. Συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης c56C>G ανά φύλο.

	Γονότυποι			p
	CC	CG	GG	
Κορίτσια (n, %)	341 (89,0)	41 (10,7)	1 (0,3)	0,929
Αγόρια (n, %)	310 (89,9)	34 (9,9)	1 (0,3)	

Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα στη συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης c56C>G ($\chi^2=0,146$, $df=2$, $p=0,929$).

2.3.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πίνακας 6. Σωματομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά κοριτσιών και αγοριών του δείγματος.

Χαρακτηριστικά	Σύνολο	Κορίτσια	Αγόρια	p [*]
N	728	383	344	
Ηλικία (έτη)	11,1±0,6 ^{**}	11,1±0,6	11,2±0,7	0,485
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	20,2±3,6	20,1±3,8	20,4±3,4	0,282
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	38,1	34,2	42,4	0,026
Περιφέρεια μέσης (cm)	69,0±9,8	67,5±9,6	70,6±9,8	<0,001
Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,5±8,7	85,7±9,0	85,2±8,4	0,451
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,79±0,1	0,83±0,1	<0,001
Περίμετρος βραχίονα (cm)	24,0±3,4	23,9±3,5	24,1±3,4	0,412
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	19,7±7,9	20,2±7,6	19,3±8,2	0,138
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	11,9±6,0	12,4±6,2	11,3±5,7	0,016
Σωματικό λίπος (%)	29,4±12,2	32,5±12,8	25,9±10,4	<0,001
Γλυκόζη (mg/dl)	86,0±9,1	85,1±9,0	86,9±9,2	0,011
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	64,8±24,1	68,4±25,5	60,8±21,7	<0,001
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	188,0±29,7	185,7±31,0	190,6±28,0	0,028
HDL-C (mg/dl)	52,8±10,8	51,5±10,2	54,3±11,4	<0,001
LDL-C (mg/dl)	122,3±24,2	120,6±25,4	124,1±22,6	0,050

* Για τη διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα.

** Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Τα αγόρια εμφάνιζαν υψηλότερο ποσοστό υπέρβαρου/ παχυσαρκίας, μεγαλύτερες τιμές περιφέρειας μέσης και λόγου περιφέρειας μέσης/ γλουτών, υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, ολικής χοληστερόλης, HDL-C και LDL-C σε σχέση με τα κορίτσια (Πίνακας 6). Αντίθετα, τα κορίτσια παρουσίαζαν υψηλότερες τιμές υποωμοπλάτιας δερματικής πτυχής, σωματικού λίπους και τριγλυκεριδίων σε σύγκριση με τα αγόρια (Πίνακας 6).

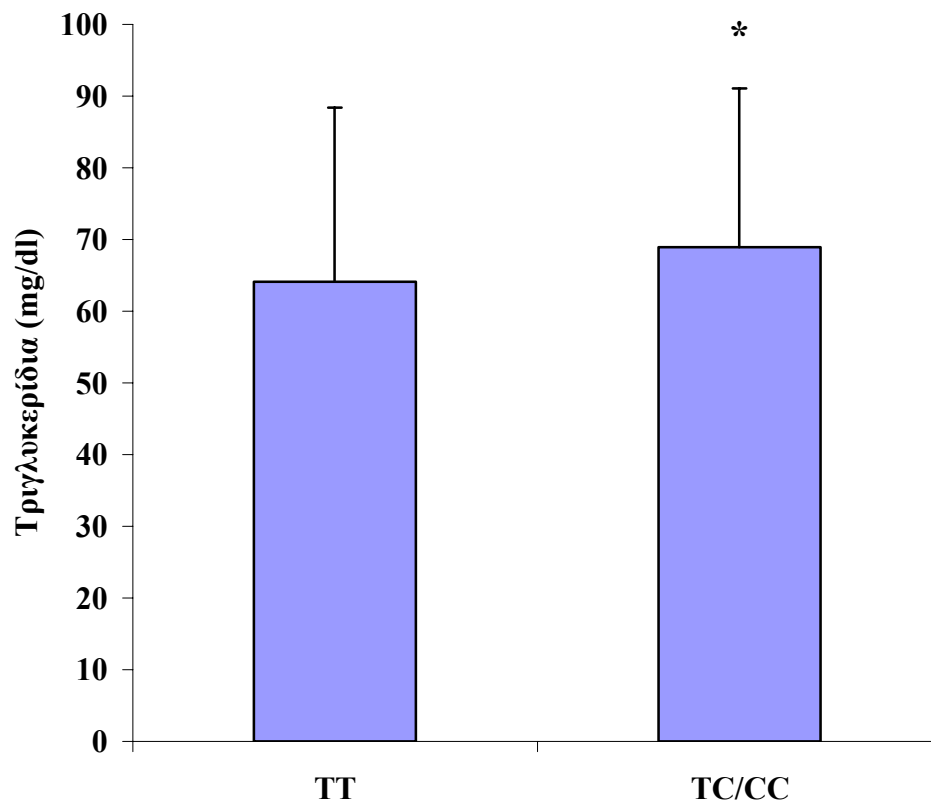
2.3.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΜΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Πίνακας 7. Σύγκριση σωματομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στους γονότυπους για τον πολυμορφισμό -1131T/C.

Χαρακτηριστικά	TT	TC/CC	p
N	620	108	
Ηλικία (έτη)	11,1±0,6	11,2±0,7	0,854
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	20,1±3,5	20,7±3,9	0,112
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	37,3	42,6	0,334
Περιφέρεια μέσης (cm)	68,8±9,5	70,1±11,2	0,215
Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,2±8,7	87,4±8,9	0,015
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,8±0,1	0,366
Περίμετρος βραχίονα (cm)	23,9±3,4	24,6±3,6	0,043
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	19,5±7,7	20,9±8,6	0,108
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	11,7±5,9	12,6±6,4	0,154
Σωματικό λίπος (%)	29,1±12,0	31,0±12,9	0,172
Γλυκόζη (mg/dl)	86,0±9,3	85,7±8,0	0,733
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	64,1±24,3	68,9±22,2	0,012
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	187,6±29,6	190,5±30,1	0,351
HDL-C (mg/dl)	52,8±11,0	52,9±9,7	0,866
LDL-C (mg/dl)	122,0±24,1	123,8±25,0	0,481

- Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Τα παιδιά με γονότυπο TT εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές περιφέρειας γλουτών, περιμέτρου βραχίονα και τριγλυκεριδίων σε σχέση με τα άτομα που έφεραν τουλάχιστον ένα σπάνιο αλληλίο (C) του πολυμορφισμού -1131T>C, δηλαδή τα άτομα με γονότυπους TC/CC.(πίνακας 7).



Εικόνα 8. Σημαντική διαφορά στα επίπεδα τριγλυκεριδίων ανάμεσα στους γονότυπους TT και TC/CC του πολυμορφισμού -1131T/C.

* $p=0,012$

Πίνακας 8. Αποτελέσματα μοντέλου πολλαπλής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της επίδρασης του πολυμορφισμού -1131T/C στα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο σύνολο του δείγματος.

	β συντελεστής (standardized)	p
TC/CC έναντι TT	0,076	0,031
Ηλικία (έτη)	0,010	0,776
Δ.Μ.Σ. (kg/m²)	0,301	<0,001
Φύλο (κορίτσια έναντι αγοριών)	-0,181	<0,001
R²	12,3%	<0,001

Από τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης (Πίνακας 8), φαίνεται θετική επίδραση των γονοτύπων TC/CC στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο σύνολο του δείγματος (n=728, $\beta=0,076$, $p=0,031$, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία, το Δ.Μ.Σ. και το φύλο). Ωστόσο, επειδή η επίδραση του φύλου είναι στατιστικά σημαντική, η επίδραση του πολυμορφισμού στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων εξετάζεται χωριστά για τα δύο φύλα (Πίνακας 11).

Πίνακας 9. Σύγκριση σωματομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στους γονότυπους για τον πολυμορφισμό -1131T/C, στα κορίτσια του δείγματος.

Χαρακτηριστικά	TT	TC/CC	p
<i>Κορίτσια</i>			
N	328	55	
Ηλικία (έτη)	11,1±0,6	11,2±0,7	0,431
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	20,2±3,6	20,3±4,3	0,575
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	35,4	27,3	0,284
Περιφέρεια μέσης (cm)	67,6±9,2	67,0±11,7	0,688
Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,5±8,8	87,0±10,1	0,260
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,79±0,1	0,77±0,1	0,018
Περίμετρος βραχίονα (cm)	23,9±3,4	24,0±3,7	0,864
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	20,2±7,5	19,9±8,1	0,811
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	12,4±6,1	12,2±6,6	0,855
Σωματικό λίπος (%)	32,5±12,5	32,2±14,2	0,864
Γλυκόζη (mg/dl)	85,2±9,3	85,0±7,0	0,886
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	67,6±25,6	73,2±24,2	0,064
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	185,2±31,0	188,8±31,1	0,428
HDL-C (mg/dl)	51,3±10,4	52,2±9,0	0,578
LDL-C (mg/dl)	120,4±25,4	122,0±25,5	0,658

* Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Πίνακας 10. Σύγκριση σωματομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στους γονότυπους για τον πολυμορφισμό -1131T/C, στα αγόρια του δείγματος.

Χαρακτηριστικά	TT	TC/CC	P
<i>Αγόρια</i>			
N	292	53	
Ηλικία (έτη)	11,2±0,7*	11,1±0,6	0,623
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	20,2±3,4	21,1±3,4	0,083
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	39,5	58,5	0,015
Περιφέρεια μέσης (cm)	70,1±9,7	73,2±9,8	0,033
Περιφέρεια γλουτών (cm)	84,8±8,5	87,8±7,5	0,017
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,8±0,1	0,728
Περίμετρος βραχίονα (cm)	23,9±3,4	25,3±3,4	0,006
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	18,8±7,9	21,9±9,2	0,013
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	11,0±5,6	13,1±6,3	0,016
Σωματικό λίπος (%)	25,2±10,1	29,7±11,3	0,012
Γλυκόζη (mg/dl)	86,9±9,2	86,4±9,0	0,700
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	60,2±22,1	64,2±19,0	0,036
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	190,3±27,8	192,4±29,2	0,629
HDL-C (mg/dl)	54,4±11,5	53,8±10,6	0,717
LDL-C (mg/dl)	123,8±22,3	125,7±24,4	0,587

* Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 9, τα κορίτσια με γονότυπο TT εμφανίζουν υψηλότερες τιμές του λόγου περιφέρειας μέσης/περιφέρεια γλουτών σε σύγκριση με τα κορίτσια που έφεραν το C αλληλίο (TC/CC).

Αντίθετα, τα αγόρια με γονότυπο TT εμφάνιζαν χαμηλότερες τιμές περιφέρειας μέσης και γλουτών, περιμέτρου βραχίονα, δερματικής πτυχής τρικεφάλου, υποωμοπλατιαίας δερματικής πτυχής και τριγλυκεριδίων πλάσματος, καθώς και χαμηλότερα ποσοστά σωματικού λίπους και υπέρβαρου/ παχυσαρκίας σε σύγκριση με τα αγόρια που έφεραν το C αλληλίο (TC ή CC), όπως φαίνεται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 11. Αποτελέσματα μοντέλου πολλαπλής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της επίδρασης του πολυμορφισμού -1131T/C στα επίπεδα τριγλυκεριδίων ανά φύλο.

	Κορίτσια		Αγόρια	
	β συντελεστής	p	β συντελεστής	P
	(standardized)		(standardized)	
TC/CC έναντι TT	0,081	0,089	0,072	0,178
Ηλικία (έτη)	0,071	0,138	-0,066	0,216
Δ.Μ.Σ. (kg/m²)	0,365	<0,001	0,220	<0,001
R²	14,5%	<0,001	5,3%	<0,001

Από τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης (Πίνακας 11), φαίνεται μια τάση για θετική επίδραση των γονοτύπων TC/CC στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στα κορίτσια (n=383, β=0,081, p=0,089, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία και το Δ.Μ.Σ.). Για τα αγόρια, η αντίστοιχη επίδραση του πολυμορφισμού δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 12. Αποτελέσματα μοντέλων πολλαπλής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της επίδρασης του πολυμορφισμού -1131T/C στις τιμές περιφέρειας γλουτών ανά φύλο.

	Κορίτσια		Αγόρια	
	β συντελεστής (standardized)	p	B συντελεστής (standardized)	p
TC/CC έναντι TT	0,022	0,318	0,062	0,049
Ηλικία (έτη)	0,146	<0,001	0,124	<0,001
Καθιστική δραστηριότητα (min/day)	0,040	0,076	0,054	0,089
Δ .Μ.Σ. (kg/m ²)	0,872	<0,001	0,802	<0,001
R^2	81,8%	<0,001	67,7%	<0,001

Από τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης (Πίνακας 12), φαίνεται μια σημαντική θετική επίδραση των γονοτύπων TC/CC στις τιμές περιφέρειας γλουτών στα αγόρια ($n= 345$, $\beta=0,062$, $p=0,049$, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία, την καθιστική δραστηριότητα και το Δ .Μ.Σ.). Για τα κορίτσια, η αντίστοιχη επίδραση του πολυμορφισμού δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

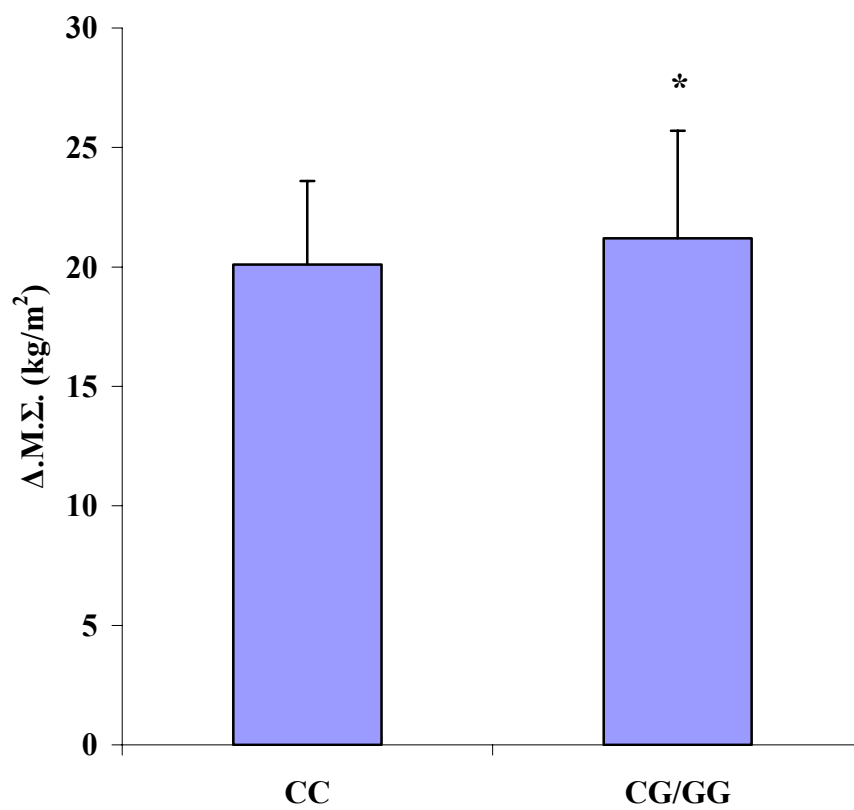
Πίνακας 13. Σύγκριση σωματομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στους γονότυπους για τη μετάλλαξη c56C>G (S19W).

Χαρακτηριστικά	CC	CG/GG	p [*]
N	651	77	
Ηλικία (έτη)	11,1±0,6 ^{**}	11,1±0,8	0,994
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	20,1±3,5	21,2±4,5	0,045
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	36,8	49,4	0,035
Περιφέρεια μέσης (cm)	68,7±9,6	71,4±11,0	0,021
Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,2±8,5	88,4±10,0	0,002
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,8±0,1	0,979
Περίμετρος βραχίονα (cm)	23,9±3,3	24,9±4,1	0,009
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	19,5±7,7	21,4±9,1	0,084
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	11,7±5,9	13,5±6,9	0,009
Σωματικό λίπος (%)	28,9±11,8	32,3±14,3	0,071
Γλυκόζη (mg/dl)	86,0±9,0	85,6±10,0	0,746
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	64,5±24,0	67,7±24,6	0,255
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	187,6±29,6	191,2±30,0	0,328
HDL-C (mg/dl)	52,8±10,8	52,6±11,1	0,834
LDL-C (mg/dl)	121,9±24,2	125,1±23,9	0,284

* Διορθωμένο για την επίδραση του φύλου.

** Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 13 για το σύνολο του δείγματος, φαίνεται ότι τα παιδιά με CC γονότυπος παρουσίαζαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές Δ.Μ.Σ., περιφέρειας μέσης και γλουτών, περιμέτρου βραχίονα και υποωμοπλατιαίας δερματικής πτυχής, καθώς και μικρότερα ποσοστά υπέρβαρου/ παχυσαρκίας, σε σύγκριση με τους γονότυπους CG/GG.



Εικόνα 9. Σημαντική διαφορά στα επίπεδα $\Delta.M.\Sigma.$ ανάμεσα στους γονότυπους CC και CG/GG της μετάλλαξης c56C>G.

* p=0,045

Πίνακας 14. Σύγκριση σωματομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών ανάμεσα στους γονότυπους για τη μετάλλαξη c56C>G (S19W), στα κορίτσια και αγόρια του δείγματος.

Χαρακτηριστικά	CC	CG/GG	p
<i>Κορίτσια</i>			
N	341	42	
Ηλικία (έτη)	11,1±0,6*	11,1±0,7	0,822
Δ.Μ.Σ. (kg/m²)	19,9±3,5	21,5±5,0	0,050
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	32,8	45,2	0,122
Περιφέρεια μέσης (cm)	67,1±9,4	70,8±10,9	0,019
Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,2±8,6	89,9±11,1	0,001
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,8±0,1	0,888
Περίμετρος βραχίονα (cm)	23,7±3,3	25,1±4,3	0,014
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	19,9±7,4	21,9±8,5	0,108
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	12,1±6,1	14,5±7,1	0,020
Σωματικό λίπος (%)	31,9±12,5	36,3±14,3	0,049
Γλυκόζη (mg/dl)	85,3±8,8	83,5±10,6	0,216
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	68,2±25,5	70,4±25,2	0,516
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	185,1±30,8	190,6±32,7	0,284
HDL-C (mg/dl)	51,4±10,1	52,0±10,9	0,702
LDL-C (mg/dl)	120,1±25,4	124,5±25,5	0,295
<i>Αγόρια</i>			
N	310	35	
Ηλικία (έτη)	11,2±0,6	11,1±0,9	0,875
Δ.Μ.Σ. (kg/m²)	20,3±3,4	20,8±3,8	0,422
Υπέρβαρο/ παχυσαρκία (%)	41,1	54,3	0,151
Περιφέρεια μέσης (cm)	70,4±9,6	72,2±11,2	0,320

Περιφέρεια γλουτών (cm)	85,1±8,4	86,5±8,3	0,356
Λόγος περιφέρειας μέσης/γλουτών	0,8±0,1	0,8±0,1	0,848
Περίμετρος βραχίονα (cm)	24,0±3,4	24,7±3,9	0,237
Δερματική πτυχή τρικεφάλου (mm)	19,1±7,9	20,8±9,8	0,239
Υποωμοπλάτια δερματική πτυχή (mm)	11,2±5,6	12,4±6,7	0,216
Σωματικό λίπος (%)	25,7±10,1	27,2±12,8	0,459
Γλυκόζη (mg/dl)	86,7±9,2	88,1±8,7	0,396
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	60,4±21,4	64,5±23,9	0,355
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	190,5±28,1	191,9±26,9	0,780
HDL-C (mg/dl)	54,5±11,4	53,2±11,5	0,540
LDL-C (mg/dl)	123,9±22,7	125,7±22,0	0,655

* Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (όλες οι τιμές αυτού του τύπου).

Από τον Πίνακα 14 προκύπτει ότι κορίτσια με CC γονότυπο εμφάνιζαν χαμηλότερες τιμές Δ.Μ.Σ., περιφέρειας μέσης και γλουτών, περιμέτρου βραχίονα, υποωμοπλατιαίας δερματικής πτυχής και σωματικού λίπους, σε σύγκριση με τα κορίτσια φορείς της μετάλλαξης (CG/GG).

Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στα ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στους γονότυπους της μετάλλαξης c56C>G, για τα αγόρια του δείγματος.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα μοντέλων πολλαπλής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της επίδρασης της μετάλλαξης c56C>G στις τιμές Δ.Μ.Σ. ανά φύλο.

	Κορίτσια		Αγόρια	
	β συντελεστής (standardized)	P	β συντελεστής (standardized)	p
CG/GG έναντι CC	0,115	0,026	0,048	0,381
Ηλικία (έτη)	0,071	0,169	-0,024	0,659
Καθιστική δραστηριότητα (min/day)	0,129	0,013	0,105	0,057
R²	2,8%	0,004	0,4%	0,233

Από τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης (Πίνακας 15), φαίνεται μια σημαντική θετική επίδραση των γονοτύπων CG/GG στις τιμές Δ.Μ.Σ. στα κορίτσια (n=383, β=0,115, p=0,026, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία και την καθιστική δραστηριότητα). Για τα αγόρια, η αντίστοιχη επίδραση της μετάλλαξης δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 16. Αποτελέσματα μοντέλων πολλαπλής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της επίδρασης της μετάλλαξης c56C>G στις τιμές περιφέρειας γλουτών ανά φύλο.

	Κορίτσια		Αγόρια	
	β συντελεστής (standardized)	P	β συντελεστής (standardized)	p
CG/GG έναντι CC	0,048	0,030	0,015	0,632
Ηλικία (έτη)	0,145	<0,001	0,122	<0,001
Καθιστική δραστηριότητα (min/day)	0,046	0.041	0,053	0,094
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	0,866	<0,001	0,807	<0,001
R ²	81,9%	<0,001	67,3%	<0,001

Από τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης (Πίνακας 16), φαίνεται μια σημαντική θετική επίδραση των γονοτύπων CG/GG στις τιμές περιφέρειας γλουτών στα κορίτσια (n=383, β=0,048, p=0,030, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία, την καθιστική δραστηριότητα και το Δ.Μ.Σ.). Για τα αγόρια, η αντίστοιχη επίδραση της μετάλλαξης δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

2.4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν 728 παιδιά από το νομό Αττικής, στα οποία πραγματοποιήθηκαν ανθρωπομετρικές μετρήσεις, βιοχημικές εξετάσεις, αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας και των καθιστικών συνηθειών, καθώς και γενετικός έλεγχος για τους πολυμορφισμούς -1131T>C και c56C>G(S19W) του γονιδίου της ApoA-V. Τα δεδομένα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για να διερευνηθεί η σχέση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με βιοχημικούς δείκτες (κυρίως των τριγλυκεριδίων πλάσματος) με ανθρωπομετρικούς δείκτες καθώς και με την εμφάνιση παχυσαρκίας.

Η συχνότητα εμφάνισης υπέρβαρου ή/ και παχυσαρκίας στο μελετούμενο δείγμα παιδιών ήταν 38,1%, ποσοστό μεγαλύτερο σε σύγκριση με τα αποτελέσματα άλλων ερευνών σε παιδικό πληθυσμό της Ελλάδας.^(4,13,14) Παράλληλα, βρέθηκε σημαντική διαφορά στο ποσοστό υπέρβαρου και παχυσαρκίας ανάμεσα στα δύο φύλα στην παρούσα μελέτη, καθώς το 42,4% των αγοριών έναντι του 34,2% των κοριτσιών ($p=0,026$) χαρακτηρίστηκαν ως υπέρβαρα ή παχύσαρκα.

Η συχνότητα εμφάνισης του σπάνιου αλληλίου C του πολυμορφισμού -1131T>C βρέθηκε ίση με 8%, χωρίς σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα. Μόνο μία δημοσιευμένη μελέτη έχει ερευνήσει τη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού -1131T>C σε παιδιά σχολικής ηλικίας στην Ιαπωνία, όπου το 61% του δείγματος ήταν φορείς του σπάνιου αλληλίου (CT ή TT)⁽⁶⁷⁾. Η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού στο δείγμα μας είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα από μελέτες σε ενήλικους πληθυσμούς Αφροαμερικανών και Δυτικοευρωπαίων, όπου ο πολυμορφισμός επιπολάζει σε ποσοστό 6-9%^(24,42,58,65). Αντίθετα, μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού καταγράφεται σε Ασιατικούς πληθυσμούς (27-37%)^(44,61-64), σε πληθυσμούς Ισπανικής καταγωγής (13-16%)^(44,58) και σε πληθυσμό Τούρκων (12,8%)⁽⁶⁰⁾. Η συχνότητα εμφάνισης

του σπάνιου αλληλίου G του πολυμορφισμού c.56C>G βρέθηκε ίση με 5%, χωρίς σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα.

Η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού στο δείγμα μας είναι παρόμοια με αντίστοιχες συχνότητες που έχουν καταγραφεί σε πληθυσμούς Αφροαμερικάνων, Δυτικοευρωπαίων, καθώς και σε πληθυσμό Τούρκων, και οι οποίες κυμαίνονται από 4% έως 8%^(42,58,60,66). Αντίθετα, μεγαλύτερη είναι η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού (15%) σε πληθυσμό Ισπανικής καταγωγής⁽⁵⁸⁾, ενώ μικρότερη (<0,1%) σε πληθυσμούς από την Κίνα και την Ιαπωνία^(61, 63).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (πίνακας 6, κεφάλαιο 2.3), οι φορείς του σπάνιου αλληλίου C του πολυμορφισμού -1131T>C εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων πλάσματος σε σύγκριση με τους ομόζυγους για το κοινό αλλήλιο T ($68,9 \pm 22,2$ έναντι $64,1 \pm 24,3$ mg/dl, $p=0,012$). Η θετική επίδραση του πολυμορφισμού στα επίπεδα τριγλυκεριδίων παρέμεινε σημαντική ($\beta=0,076$, $p=0,031$) ύστερα από έλεγχο για το Δ.Μ.Σ., την ηλικία και το φύλο. Η συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα και άλλων ερευνών. Συγκεκριμένα, στην «Japanese School Children Study», τα παιδιά που έφεραν τον πολυμορφισμό παρουσίαζαν αύξηση των επιπέδων τριγλυκεριδίων τους, σε ποσοστό 15%, σε σχέση με τα ομόζυγα ως προς το κοινό αλλήλιο παιδιά.⁽⁶⁷⁾ Επιπροσθέτως, οι Giriraj et al.⁽⁷⁰⁾ έδειξαν ότι η παρουσία του πολυμορφισμού σχετίζονταν με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε δείγμα Βρετανών, ενώ οι Elosua et al.⁽⁷⁵⁾ και οι Hodoglugil et al.⁽⁶⁰⁾ κατέγραψαν 60% αύξηση στις τιμές τριγλυκεριδίων μεταξύ των CC και TT γονότυπων, σε τούρκικο δείγμα 2273 ατόμων. Επίσης, οι Ishihara et al.⁽⁷⁶⁾ παρατήρησαν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων στους φορείς του πολυμορφισμού σε σχέση με τους ομόζυγους για το κοινό αλλήλιο, σε μελέτη 302 ατόμων. Τέλος, οι Lai et al.⁽⁶³⁾ κατέγραψαν ανάλογη αύξηση των επιπέδων τριγλυκεριδίων στο πλάσμα παρουσία του πολυμορφισμού -1131T>C, σε δείγμα Κινέζων, Μαλαισιανών και Ινδών της Σιγκαπούρης.

Εξετάζοντας την επίδραση του πολυμορφισμού -1131T>C στα επίπεδα τριγλυκεριδίων ανά φύλο, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα τριγλυκεριδίων για τα αγόρια, ενώ η αντίστοιχη διαφορά δεν ήταν σημαντική για τα κορίτσια (Πίνακες 9, 10). Για την περαιτέρω μελέτη της επίδρασης του πολυμορφισμού -1131T>C στα επίπεδα τριγλυκεριδίων, εφαρμόστηκαν ξεχωριστά μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης ανά φύλο, όπου συμπεριλήφθηκε η επίδραση της ηλικίας και του ΔΜΣ. Από αυτά τα μοντέλα προέκυψε ότι τα κορίτσια φορείς του πολυμορφισμού εμφάνιζαν μια τάση ($p=0,089$) για αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σχέση με τα κορίτσια που είχαν γονότυπο TT (Πίνακας 11). Ωστόσο, και στα δύο φύλα βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική επίδραση του Δ.Μ.Σ. στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ($p<0,001$).

Επιπλέον, βρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού -1131 T>C (TT έναντι CT/CC) με αυξημένες τιμές περιφέρειας γλουτών στα αγόρια ($\beta=0,062$, $p=0,049$, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία, την καθιστική δραστηριότητα και τον Δ.Μ.Σ.) (Πίνακας 12). Δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες που να επιβεβαιώνουν ή να αντικρούουν αυτό το εύρημα. Ωστόσο, μια πιθανή εξήγηση της συσχέτισης του T αλληλίου με την αυξημένη περιφέρεια γλουτών είναι η αυξημένη εναπόθεση λίπους στη περιοχή αυτή, που κατά ένα μέρος μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της κυκλοφορίας τριγλυκεριδίων στο αίμα, λόγω της μειωμένης δράσης της APOA-V στους φορείς του πολυμορφισμού.

Αναφορικά με τη μετάλλαξη c.56C>G (S19W), καταγράφηκαν στο δείγμα μας σημαντικά υψηλότερες τιμές ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών για τους φορείς της μετάλλαξης (CG/GG) σε σύγκριση με τους ομόζυγους για το φυσιολογικό αλληλίο (Πίνακας 13). Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα τριγλυκεριδίων ανάμεσα στους γονότυπους. Παρόμοιο αποτέλεσμα έχει δημοσιευτεί από τους Kathy Klos et al.⁽⁷⁷⁾, οι οποίοι δε βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μετάλλαξης S19W και των επιπέδων τριγλυκεριδίων σε δείγμα άσπρων γυναικών. Ωστόσο, σε άλλες μελέτες έχει βρεθεί σημαντική επίδραση της μετάλλαξης στα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Συγκεκριμένα, οι Elosua

et al.⁽⁷⁵⁾ εξετάζοντας το γονότυπο 2273 ατόμων έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων τριγλυκεριδίων στους φορείς της μετάλλαξης S19W. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των «Northwick park Heart Study»⁽²⁶⁾ και «Framingham Heart Study»⁽⁶⁵⁾, 2800 αντρών και 2391 ατόμων αντίστοιχα, οι φορείς του σπάνιου αλληλίου για την μετάλλαξη S19W εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων πλάσματος σε σχέση με τους ομόζυγους για το κοινό αλλήλιο.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η σημαντική θετική επίδραση του σπάνιου αλληλίου G της μετάλλαξης c.56C>G στα επίπεδα του Δ.Μ.Σ. και της περιφέρειας γλουτών στα κορίτσια του δείγματός μας ($\beta=0,115$, $p=0,026$, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία και την καθιστική δραστηριότητα και $\beta=0,048$, $p=0,030$, ύστερα από έλεγχο για την ηλικία, την καθιστική δραστηριότητα και το Δ.Μ.Σ., αντίστοιχα). Δεν υπάρχουν ανάλογα βιβλιογραφικά δεδομένα που να επιβεβαιώνουν ή να αντικρούουν τα αποτελέσματά μας. Ωστόσο, δεδομένης της μειωμένης λειτουργικότητας της πρωτεΐνης APOA-V παρουσία της μετάλλαξης S19W, μειώνεται ο ρυθμός της ηπατικής παραγωγής της VLDL, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη αποθήκευση τριγλυκεριδίων στο λιπώδη ιστό, λόγω και της μειωμένης δράσης της LPL. Επομένως, μέσω αυτού του μηχανισμού θα μπορούσε να εξηγηθεί η θετική συσχέτιση της μετάλλαξης με το Δ.Μ.Σ. και την περιφέρεια γλουτών που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη.

Συμπερασματικά, από την παρούσα μελέτη προέκυψαν τα εξής:

- Η ύπαρξη του πολυμορφισμού -1131T>C συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων πλάσματος.

- Η ύπαρξη του πολυμορφισμού S19W δεν εμφάνιζε σημαντική επίδραση στα επίπεδα τριγλυκεριδίων πλάσματος.

- Τα κορίτσια φορείς του πολυμορφισμού S19W εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές Δ.Μ.Σ. και περιφέρειας γλουτών σε σχέση με τους μη φορείς.

- Τα αγόρια φορείς του πολυμορφισμού -1131T>C είχαν υψηλότερες τιμές περιφέρειας γλουτών σε σχέση με τους μη φορείς.

Η επίδραση των πολυμορφισμών -1131T>C και S19W του γονιδίου της APOA-V, στα επίπεδα τριγλυκεριδίων και στην παχυσαρκία, δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς τόσο στον ελληνικό πληθυσμό, όσο και γενικότερα σε Μεσογειακούς πληθυσμούς. Θα ήταν χρήσιμη η επέκταση της παρούσας μελέτης σε μεγαλύτερο πληθυσμιακό δείγμα, ώστε να διερευνηθεί η συνδυασμένη επίδραση των δύο πολυμορφισμών (μέσω απλότυπου) σε βιοχημικούς και σωματομετρικούς δείκτες. Παράλληλα, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν διατροφικοί και άλλοι παράγοντες, προκειμένου να χαρακτηριστούν οι μελετούμενοι πολυμορφισμοί ως γενετικοί δείκτες της παιδικής παχυσαρκίας και υπερτριγλυκεριδαιμίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας. WHO technical Report Series 894. www.who.int
- 2) Paul J. Veugelers, Angela L. Fitzgerald. Prevalence of and risk factors for childhood overweight and obesity. CMAJ2005;173(6):607-13
- 3) Mahshid Dehghan¹, Noori Akhtar-Danesh^{*2} and Anwar T Merchant³.
Childhood obesity, prevalence and prevention. Nutrition Journal 2005, 4:24
- 4) G.E. Krassas, TH. Tzotzas, CH. Tsametis, TH. Konstantinidis. Prevalence and Trends in Overweight and Obesity among Children and Adolescents in Thessaloniki (Greece). Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism 2001; 14: 1319-1326
- 5) Cole TJ, Bellizzi MG, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international syrvey. BMJ 2000; 320:1240-3
- 6) John J. Reilly. Descriptive epidemiology and health
consequences of childhood obesity. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism
Vol. 19, No. 3, pp. 327–341, 2005
- 7) EU childhood obesity “out of control”. IOTF Childhood Obesity Report May 2004
- 8) The challenge of obesity in the WHO European Region. Fact sheet EURO/13/05 Obesity Reviews 2003; 4: 195-200

- 9) Wabitsch M. Overweight and obesity in European children and adolescents: causes and consequences, treatment and prevention. *Eur J Pediatr* (2000) 159: [Suppl 1] S5-S7
- 10) Obesity and overweight. Global strategy on diet, physical activity and health. World Health Organization. 2003
- 11) Φαρατζιάν Π, Γιαννακούλια Μ, Ρίσβας Γ, Μελίστας Λ, Κωνσταντινίδου Μ. Παιδική και εφηβική παχυσαρκία. Ένα κρίσιμο πρόβλημα για τη δημόσια υγεία. *Διατροφή-Διαιτολογία* 2004, Περίοδος Β, 8(3-4): 765-771
- 12) Lobstein T, Frelut M.-L, Prevalence of overweight among children in Europe. *Obesity reviews* (2003) 4, 195–200
- 13) Mamalakis G, Kafatos A, Manios Y, Anagnostopoulou T, Apostolaki I. Obesity indices in a cohort of primary School children in Crete: a six year prospectiva study. *International Journal of obesity* 2000; 24: 1319-1326
- 14) D Karayiannis¹, M Yannakoulia¹, M Terzidou², LS Sidossis^{1*} and A Kokkevi. Prevalence of overweight and obesity in Greek school-aged children and adolescents. *European Journal of Clinical Nutrition* (2003) 57, 1189–1192
- 15) Maffei Claudio. Aetiology of overweight and obesity in children and adolescents. Review. *European Journal of Pediatrics* 2000; 159: [Suppl 1] S35-S44
- 16) Louis Pérusse and Claude Bouchard. Gene-diet interactions in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(suppl):1285S–90S.
- 17) R.A. Norman, C. Bogardus, and E. Ravussin. Linkage between Obesity and a Marker Near the Tumor Necrosis Factor- α Locus in Pima Indians. *The Journal of Clinical Investigation*. 1995: 96 158-162
- 18) Kelnar J J Reilly, E Methven, Z C McDowell, B Hacking, D Alexander, L Stewart and C J H. Health consequences of obesity. 2003; 88;748-752 *Arch. Dis. Child*.

- 19) Loos F. Ruth, Rankinen Tuomo. Gene-Diet Interactions on Body Weight Changes. Review. J Am Diet Assoc. 2005; 105: S29-S34
- 20) Huang T-K terry, Howrth C. Nancy, Lin Biing-Hwan, Roberts B. Susan, and McCrory A. Megan. Energy iIntake and Meal Portions: Associations with BMI percentili in U.S. children. Obesity Research 2004 Vol. 12 No. 11: 1875-1885
- 21) Thompson OM, Ballew C, Resnocow K, Gillespie C, Must A, Bandini LG, Cyr H and Dietz WH. Dietary pattern as a predictor of change in BMI z-score among girls. International Journal of Obesity 2006; 30: 176-182
- 22) Marie-Pierre St-Onge, Kathleen L Keller, and Steven B Heymsfield. Changes in childhood food consumption patterns: a cause for concern in light of increasing body weights. Am J Clin Nutr 2003;78:1068 –73
- 23) Hendrik N. van der Vliet, Martijn Groenink Sammels, Aad C.J. Leegwater, Johannes H.M. Levels, Pieter H. Reitsma, Willem Boers, and Robert A.F.M. Chamuleau. Apolipoprotein A-V: A novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. The Journal of Biological Chemistry; 2001, vol 276, No. 48:44512-44520
- 24) Pennacchio, L. A., Olivier, M., Hubacek, J. A., Cohen, J. C., Cox, D. R., Fruchart, J. C., Krauss, R. M., and Rubin, E. M. (2001) *Science* 294, 169–173
- 25) Len A. Pennachio and Edward M. Rubin. Apolipoprotein A5, a Newly Identified Gene That Affects Plasma Triglyceride Levels in Humans and Mice. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2003;23;529-534
- 26) Wen-Hsiung Li, Masako Tanimura, Chi-Cheng Luo, Santanu Datta,t and Lawrence Chant. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationships, and evolution. Journal of lipid Research;1988,vol. 29, 245-271

- 27) LaRosa, J. C., R. I. Levy, P. Herbert, S. Z. Lux, and D. S. Frederickson. 1970. A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41: 57-62
- 28) Breckenridge, W. C., J. A. Little, G. Steiner, A. Chow, and M. Poapst. 1978. hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N. Engl. J Med.* 298:1265-1273
- 29) Brown, W-V., and M. L. Baginsky. 1972. Inhibition of lipoprotein lipase by an apolipoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 46:375-382.
- 30) Wang, C. S., W. J. McConathy, H. U. Kloer, and P. Alaupovic. 1985. Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-II. *J Clin. Invest* 75: 384-390
- 31) Fielding, C. J., V. G. Shore, and P. E. Fielding. 1972. A protein cofactor of lecithin:cholesterol acyltransferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46: 1493-1498
- 32) Soutar, A. K., C. W. Garner, H. N. Baker, J. T. Sparrow, R. L. Jackson, A. M. Gotto, Jr., and L.C. Smith. 1975. Effect of the human apolipoproteins and phosphatidylcholine acyl donor on the activity of lecithin:cholesterol acyltransferase. *Biochemistry.* 14: 3057-3064.
- 33) Steinmetz, A, and G. Utermann. 1985. Activation of lecithin:cholesterol acyltransferase by human apolipoprotein A-IV. *J Biol. Chem.* 260: 2258-2264.
- 34) Glomset, J. A. 1968. The plasma lecithin:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res.* 9: 155-167.
- 35) Richard B. Weinberg, Victoria R. Cook, Jennifer A. Beckstead, Dale D. O. Martin, James W. Gallagher, Gregory S. Shelness, and Robert O. Ryan. Structure and Interfacial Properties of Human Apolipoprotein A-V. *The Journal of Biological Chemistry*; 2003, Vol 278, No. 36: 34438-34444.

- 36) Martin Merkel, Britta Loeffler, Malte Kluger, Nathalie Fabig, Gesa Geppert, Len A. Pennacchio, Alexander Laatsch, and Joerg Heeren. Apolipoprotein A5 Accelerates Plasma Hydrolysis of Triglyceride rich Lipoproteins by Interaction with Proteoglycan-bound Lipoprotein Lipase. *The Journal of Biological Chemistry*; 2005, Vol. 280, No.22: 21553-21560.
- 37) Martin Merkel and Joerg Heeren. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J. Clin. Invest.* **115**:2694–2696 (2005). doi:10.1172/JCI26712.
- 38) O'Brien, P.J., et al. 2005. The novel apolipoprotein A5 is present in human serum, is associated with VLDL, HDL, and chylomicrons, and circulates at very low concentrations compared with other apolipoproteins. *Clin. Chem.* **51**:351–359.
- 39) Lee, K.W., Ayyobi, A.F., Frohlich, J.J., and Hill, J.S. 2004. APOA5 gene polymorphism modulates levels of triglyceride, HDL cholesterol and FFER(HDL) but is not a risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis*. **176**:165–172.
- 40) Pennacchio, L.A., et al. 2002. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum. Mol. Genet.* **11**:3031–3038.
- 41) Talmud, P.J., et al. 2002. Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Hum. Mol. Genet.* **11**:3039–3046.
- 42) Evans, D., Buchwald, A., and Beil, F.U. 2003. The single nucleotide polymorphism -1131T>C in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene is associated with associated with elevated triglycerides in patients with hyperlipidemia. *J. Mol. Med.* **81**:645–654.
- 43) Aouizerat, B.E., et al. 2003. Genetic analysis of a polymorphism in the human apoA-V gene: effect on plasma lipids. *J. Lipid Res.* **44**:1167–1173.
- 44) Eichenbaum-Voline, S., et al. 2004. Linkage and association between distinct variants of the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **24**:167–174.

- 45) Mar, R., et al. 2004. Association of the APOLIPOPROTEIN A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. *Circ. Res.* **94**:993–999.
- 46) Beckstead, J.A., et al. 2003. Structure-function studies of human apolipoprotein A-V: a regulator of plasma lipid homeostasis. *Biochemistry.* **42**:9416–9423.
- 47) Olofsson, S.O. 2005. ApoA-V: the regulation of a regulator of plasma triglycerides. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **25**:1097–1099.
- 48) Fruchart-Najib, J., et al. 2004. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **319**:397–404.
- 49) Merkel, M., et al. 2005. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan bound lipoprotein lipase. *J. Biol. Chem.* **280**:21553–21560.
- 50) Schaap, F.G., et al. 2004. ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein- triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J. Biol. Chem.* **279**:27941–27947.
- 51) Lookene, A., Beckstead, J.A., Nilsson, S., Olivecrona, G., and Ryan, R.O. 2005. Apolipoprotein A-V-heparin interactions: implications for plasma lipoprotein metabolism. *J. Biol. Chem.* **280**:25383–25387.
- 52) Patrick C.N. Rensen, Ko Willems van Dijk and Louis M. Havekes. Apolipoprotein AV: Low Concentration, High Impact. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25;2445-2447
- 53) Weinberg, R. B., Cook, V. R., DeLozier, J. A., and Shelness, G. S. (2000) *J. Lipid Res.* **41**, 1419–1427
- 54) Sparks, J. D., Corsetti, J. P., and Sparks, C. E. (1994) *Metabolism* **43**, 681–690
- 55) Philippa J. Talmud, Jutta Palmen, Wendy Putt, Laurence Lins, and Steve E. Humphries. Determination of the Functionality of Common

APOA5 Polymorphisms. The Journal of Biological Chemistry;2005, Vol.280, No.31:28215-28220.

56) Olivier, M., Wang, X., Cole, R., Gau, B., Kim, J., Rubin, E. M., and Pennacchio, L. A. (2004) *Genomics* **83**, 912–923

57) Pennacchio, L. A., Olivier, M., Hubacek, J., Krauss, R. M., Rubin, E. M., and Cohen, J. C. (2002) *Hum. Mol. Genet.* **11**, 3031–3038.

58) Eichenbaum-Voline, S., Olivier, M., Jones, E. L., Naoumova, R. P., Jones, B., Gau, B., Patel, H. N., Seed, M., Betteridge, D. J., Galton, D. J., Rubin, E. M., Scott, J., Shoulders, C. C., and Pennacchio, L. A. (2004) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **24**, 167–174

59) Ugur Hodoglugil,† Sinan Tanyolac, David W. Williamson, Yadong Huang, and Robert W. Mahley. Apolipoprotein A-V: a potential modulator of plasma triglyceride levels in Turks. *J. Lipid Res.* 2006. 47: 144–153.

60) Austin, M. A., P. J. Talmud, F. M. Farin, D. A. Nickerson, K. L. Edwards, D. Leonetti, M. J. McNeely, H-M. Viernes, S. E. Humphries, and W. Y. Fujimoto. 2004. Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim. Biophys. Acta.* 1688: 1–9.

61) Baum, L., B. Tomlinson, and G. N. Thomas. 2003. APOA5-1131T.C polymorphism is associated with triglyceride levels in Chinese men. *Clin. Genet.* 63: 377–379.

62) Lai, C-Q., E-S. Tai, C. E. Tan, J. Cutter, S. K. Chew, Y-P. Zhu, X. Adiconis, and J. M. Ordovas. 2003. The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *J. Lipid Res.* 44: 2365–2373.

63) Nabika, T., S. Nasreen, S. Kobayashi, and J. Masuda. 2002. The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. *Atherosclerosis.* 165: 201–204.

64) Lai, C-Q., S. Demissie, L. A. Cupples, Y. Zhu, X. Adiconis, L. D. Parnell, D. Corella,

and J. M. Ordovas. 2004. Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study. *J. Lipid Res.* 45: 2096–2105.

65) Martin, S., V. Nicaud, S. E. Humphries, and P. J. Talmud. 2003. Contribution of APOA5 gene variants to plasma triglyceride determination and to the response to both fat and glucose tolerance challenges. *Biochim. Biophys. Acta.* 1637: 217–225.

66) Endo K, Yanagi H, Araki J, Hirano C, Yamakawa-Kobayashi K, Tomura S. Association found between the promoter region polymorphism in the apolipoprotein A-V gene and the serum triglyceride level in Japanese schoolchildren. *Hum Genet.* 2002;111:570–572

67) Stefan F. C. Vaessen, Frank G. Schaap, Jan-Albert Kuivenhoven, Albert K. Groen, Barbara A. Hutten, S. Matthijs Boekholdt, Hiroaki Hattori, Manjinder S. Sandhu, Sheila A. Bingham, Robert Luben, Jutta A. Palmen Nicholas J. Wareham, Steve E. Humphries, John J. P. Kastelein, Philippa J. Talmud, and Kay-Tee Khaw. Apolipoprotein A-V, triglycerides and risk of coronary artery disease: the prospective Epic- Norfolk Population Study. *J. Lipid Res.* 2006. 47: 2064–2070.

68) Harald Grallert, Eva-Maria Sedlmeier, Cornelia Huth, Melanie Kolz, Iris M. Heid, Christa Meisinger, Christian Herder, Klaus Strassburger, Anke Gehringer, Markus Haak, Guido Giani, Florian Kronenberg, H.-Erich Wichmann, Jerzy Adamski, Bernhard Paulweber, Thomas Illig, Wolfgang Rathmann APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians. *Journal of Lipid Research.* <http://www.jlr.org/cgi/content/full/M700011-JLR200/DC1>.

69) Giriraj R Chandak†, Kirsten J Ward†, Chittaranjan S Yajnik†, Anand N Pandit, Ashish Bavdekar, Charu V Joglekar, Caroline HD Fall, P Mohankrishna, Terence J Wilkin, Bradley S Metcalf, Michael N Weedon, Timothy M Frayling² and Andrew T Hattersley. Triglyceride associated polymorphisms of the APOA5 gene have very different allele frequencies in Pune, India compared to Europeans. *BMC Medical Genetics* 2006, 7:76

- 70) J. A. HUBÁČEK, Z. ŠKODOVÁ, V. LÁNSKÁ, P. STÁVEK, V. ADÁMKOVÁ, R. POLEDNE. Apolipoprotein AV Variants Do Not Affect C-Reactive Protein Levels in Caucasian Males. *Physiol. Res.* 54: 687-689, 2005.
- 71) Frank G. Schaap, Melchior C. Nierman, Jimmy F. P. Berbe'e, Hiroaki Hattori, Philippa J. Talmud, Stefan F. C. Vaessen, Patrick C. N. Rensen, Robert A. F. M. Chamuleau, Jan Albert Kuivenhoven,[†] and Albert K. Groen, Evidence for a complex relationship between apoA-V and apoC-III in patients with severe hypertriglyceridemia. *J. Lipid Res.* 2006. 47: 2333–2339.
- 72) Pruneta-Deloche, V., G. Ponsin, L. Groisne, J. Fruchart-Najib, M. Lagarde, and P. Moulin. 2005. Postprandial increase of plasma apoA-V concentrations in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 181: 403–405.
- 73) Becker, S., L. Schomburg, K. Renko, M. Tolle, M. van der Giet, and U. J. Tietge. 2006. Altered apolipoprotein A-V expression during the acute phase response is independent of plasma triglyceride levels in mice and humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 339: 833–839.
- 74) Roberto Elosua, Jose M. Ordovas, L. Adrienne Cupples, Chao-Qiang Lai, Serkalem Demissie, Caroline S. Fox, Joseph F. Polak, Philip A. Wolf, Ralph B. D'Agostino Sr., and Christopher J. O'Donnell. Variants at the APOA5 locus, association with carotid atherosclerosis, and modification by obesity: the Framingham Study. *J. Lipid Res.* 2006. 47: 990–996.
- 75) Ishihara, M., T. Kujiraoka, T. Iwasaki, M. Nagano, M. Takano, J. Ishii, M. Tsuji, H. Ide, I. P. Miller, N. E. Miller, and H. Hattori. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein A-V concentration. *J. Lipid Res.* 2005. 46: 2015–2022.
- 76) Klos, K. L. E., S. Hamon, A. G. Clark, E. Boerwinkle, K. Liu, and C. F. Sing. APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *J. Lipid Res.* 2005. 46: 564–570.

- 77) Talmud, P. J., S. Martin, M-R. Taskinen, M. H. Frick, M. S. Nieminen, Y. A. Kesäniemi, A. Pasternack, S. E. Humphries, and M. Syväne. APOA5 gene variants, lipoprotein particle distribution, and progression of coronary heart disease: results from the LOCAT study. *J. Lipid Res.* 2004. 45: 750–756.
- 78) Yangsoo Jang, Ji Young Kim, Oh Yoen Kim, Jong Eun Lee, Hongkeun Cho, Jose M Ordovas, and Jong Ho Lee. The -1131T>C polymorphism in the apolipoprotein A5 gene is associated with postprandial hypertriacylglycerolemia; elevated small, dense LDL concentrations; and oxidative stress in nonobese Korean men. *Am J Clin Nutr* 2004;80:832–40.
- 79) Chao-Qiang Lai, Dolores Corella, Serkalem Demissie, L. Adrienne Cupples, Xian Adiconis, Yueping Zhu, Laurence D. Parnell, Katherine L. Tucker and Jose M. Ordovas. Dietary Intake of n-6 Fatty Acids Modulates Effect of Apolipoprotein A5 Gene on Plasma Fasting Triglycerides, Remnant Lipoprotein Concentrations, and Lipoprotein Particle Size: The Framingham Heart Study. *Circulation* 2006;113;2062-2070.
- 80) Ribalta J, Figuera L, Fernandez-Ballart J, Vilella E, Castro Cabezas M, Masana L, Joven J. Newly identified apolipoprotein AV gene predisposes to high plasma triglycerides in familial combined hyperlipidemia. *Clin Chem.* 2002;48:1597–1600.
- 81) Mahshid Dehghan, Noori Akhtar-Danesh and Anwar T Merchant Childhood obesity, prevalence and prevention. *Nutrition Journal* 2005,. 4:24
- 82) Fiona E.A. McGuigan and Stuart H. Ralston. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatr. Genet.* 12:133-136.
- 83) SALLIS, JAMES F.; STRIKMILLER, PATRICIA K.; HARSHA, DAVID W.; FELDMAN, HENRY A.; EHLINGER, SALLY; STONE, ELAINE J.; WILLISTON, JEAN; WOODS, SHERRY. Validation of interviewer- and self- administered physical activity checklists for fifth grade students. Psychology, San Diego State University, 6363 Alvarado Court, #103.

- 84) Innerarity, T. L., and R. W. Mahley. 1978. Enhanced binding by cultured human fibroblasts of apoE-containing lipoproteins as compared with low density lipoproteins. *Biochemistry*. 17: 1440-1447.
- 85) Sherrill, B. C., T. L. Innerarity, and R. W. Mahley. 1980. Rapid hepatic clearance of the canine lipoproteins containing only the E apoprotein by high affinity receptor. *J. Biol. Chem.* 255: 1804-1807.
- 86) Hui, D. Y., T. L. Innerarity, and R. W. Mahley. 1981. Lipoprotein binding to canine hepatic membranes: metabolically distinct apoE and apoB,E receptors. *J. Biol. Chem.* 256: 5646-5655.