

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του  
Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας  
«Τοξικολογία»**

*Ευθυμίου Νικόλαος*

**Έλεγχος για προδιάθεση παχυσαρκίας και  
σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 με χρήση ενός  
γενετικού σκορ**

**2017**

«Έλεγχος για προδιάθεση παχυσαρκίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2  
με χρήση ενός γενετικού σκορ»

Τριμελής Επιτροπή :

- 1) Δεδούσης Γεώργιος, Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
- 2) Κουρέτας Δημήτριος, Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών-Τοξικολογίας, τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 3) Στάγκος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών, τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

## Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Τοξικολογίας», του τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Πριν την παρουσίαση της εργασίας, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους, η συμβολή των οποίων ήταν καθοριστική για την ολοκλήρωσή της.

Πρώτον από όλους θέλω να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο του μεταπτυχιακού προγράμματος, καθηγητή Δημήτριο Κουρέτα, ο οποίος μου έδωσε την ευκαιρία μέσα από την παρακολούθηση του συγκεκριμένου προγράμματος να ανακαλύψω νέα πεδία έρευνας που με ενδιαφέρουν.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή της διπλωματικής μου, κ. Γεώργιο Δεδούση, καθώς και τις διδάκτορες Ειρήνη Μαρούλη και Έφη Κατσαρέλη, που με τις υποδείξεις τους κατέστησαν εφικτή την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στους φίλους μου, καθώς και σε ένα ακόμη πρόσωπο που έπαιξε καταλυτικό ρόλο για τη συγγραφή της διπλωματικής με την πολύτιμη στήριξη που μου έδωσε. Κάθε ένας ξεχωριστά από αυτούς είναι ο πολυτιμότερος αρωγός που θα μπορούσα να έχω.

Τέλος, θέλω να απευθύνω στους γονείς μου, Θανάση και Δήμητρα, που με την υπομονή τους και το κουράγιο τους μου προσέφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση ώστε να ολοκληρώσω την εργασία μου, τις μεγαλύτερες ευχαριστίες. Σε αυτούς είναι και αφιερωμένη η εργασία μου.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή.....	6
1.1 Γενικά για την παχυσαρκία.....	6
1.2 Αίτια της παχυσαρκίας.....	10
1.2.1 Ενδογενή αίτια.....	10
1.2.2 Εξωγενή αίτια.....	12
1.2.3 Άλλα αίτια.....	14
1.3 Γενικά για τον σακχαρώδη διαβήτη.....	15
1.4 Τύποι σακχαρώδους διαβήτη.....	20
2. Γενετική της παχυσαρκίας και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.....	28
2.1 Βασικές έννοιες γενετικής.....	28
2.2 Είδη πολυμορφισμών του DNA.....	33
2.2.1 Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs).....	34
2.2.2 Βραχείες διαδοχικές επαναλήψεις (STRs).....	39
2.2.3 Ποικίλου αριθμού διαδοχικές επαναλήψεις (VNTRs).....	41
2.3 Κατάταξη παχυσαρκίας με βάση τη γενετική της.....	42
2.3.1 Μονογονιδιακή παχυσαρκία.....	42
2.3.2 Συνδρομική παχυσαρκία.....	44
2.3.3 Πολυγονιδιακή παχυσαρκία.....	46
2.4 Βασικά γονίδια πολυγονιδιακής παχυσαρκίας.....	47
2.5 Στρατηγικές μελέτης για την αναγνώριση γονιδίων.....	49
2.6 Υποθέσεις που εξηγούν τη γενετική της παχυσαρκίας.....	53
2.7 Γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.....	55
2.8 Μονογονιδιακός σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.....	58
2.8.1 Έλλειψη ινσουλίνης.....	58
2.8.2 Αντίσταση στην ινσουλίνη.....	59
2.9 Πολυγονιδιακός σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.....	60
3. Σχετικά με την διπλωματική.....	63
3.1 Σκοπός της διπλωματικής.....	63
3.2 Τί είναι το γενετικό σκορ (Genetic Risk Score ή GRS).....	64

3.3 Ο ρόλος της γλουταθειόνης.....	66
3.4 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ορού (TAC).....	69
3.5 Οι πολυμορφισμοί που χρησιμοποιήθηκαν.....	70
3.5.1 Πολυμορφισμοί παχυσαρκίας.....	70
3.5.2 Πολυμορφισμοί σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.....	72
4. Υλικά-Μέθοδοι.....	76
5. Αποτελέσματα.....	82
5.1 Για τα SNPs της παχυσαρκίας.....	82
5.2 Για τα SNPs του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.....	87
5.3 Για το wGRS της παχυσαρκίας.....	92
5.4 Για το wGRS του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.....	94
5.5 Διαγράμματα των στατιστικά σημαντικών σχέσεων wGRS παχυσαρκίας και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 – φαινοτύπων.....	96
6. Συμπεράσματα – Συζήτηση.....	100
7. Βιβλιογραφία.....	103

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Γενικά για την παχυσαρκία

Η **παχυσαρκία** ορίζεται ως η πάθηση που προκαλείται από υπερβολική συσσώρευση λίπους στο σώμα και συνοδεύεται από σωματικές, ψυχολογικές και κοινωνικές επιπτώσεις στα πάσχοντα άτομα. Αναγνωρίστηκε επίσημα ως νόσος το 1948, όταν ιδρύθηκε ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας και τη συμπεριέλαβε στη Διεθνή Ταξινόμηση των Παθήσεων (International Classification of Diseases), όπου ως νόσο ορίζουμε κάθε κατάσταση που μειώνει τον προσδόκιμο χρόνο ζωής, καθώς και την ποιότητα αυτής.

Ως **παχύσαρκοι** χαρακτηρίζονται τα άτομα που ο δείκτης μάζας-σώματος (ΔΜΣ) -μια μέτρηση που λαμβάνεται διαιρώντας το βάρος ενός ατόμου σε κιλά, με το τετράγωνο του ύψους του σε μέτρα- ξεπερνά τα 30 kg/m.

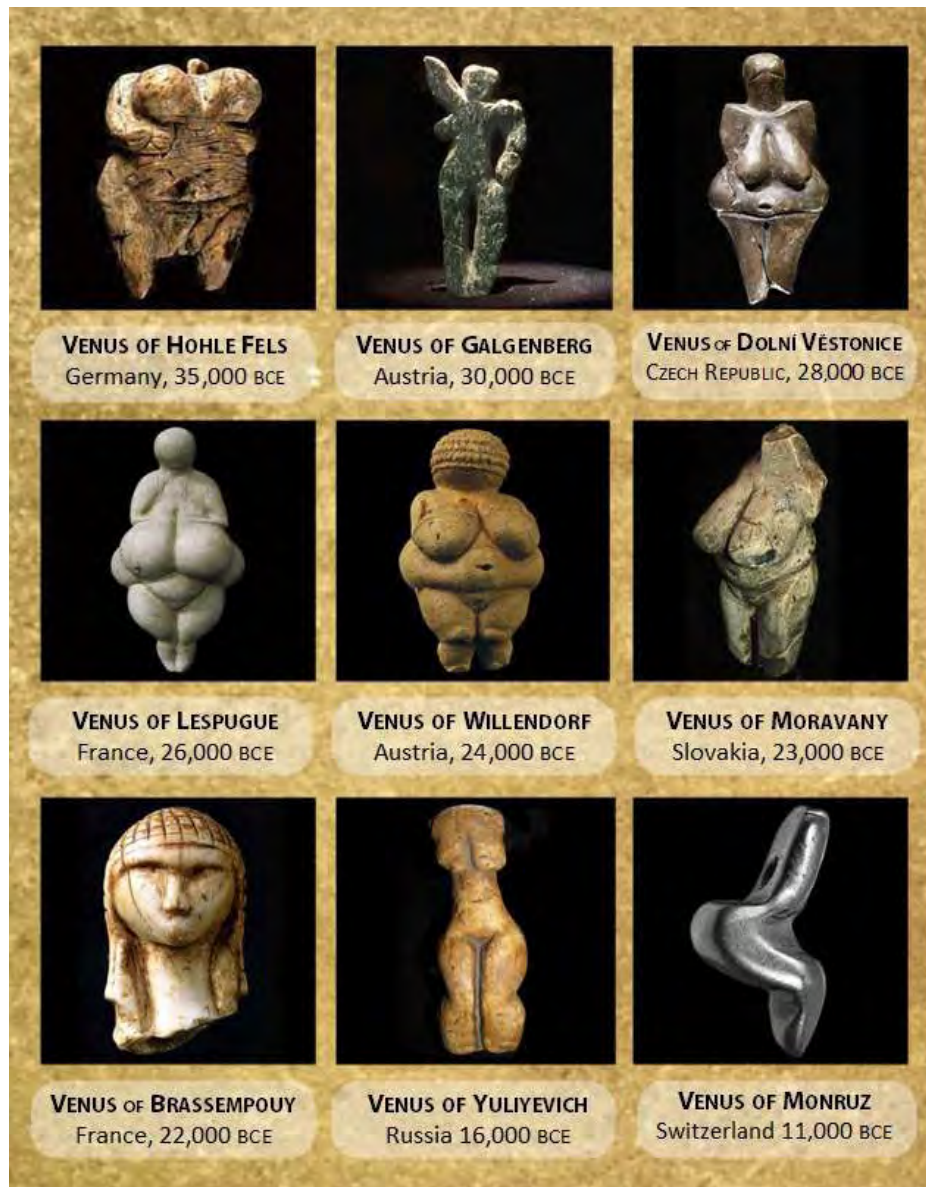
Η παχυσαρκία είναι ένα διαχρονικό πρόβλημα υγείας. Ήταν γνωστό από πάρα πολύ παλιά, αλλά εξακολουθεί να απασχολεί τα Συστήματα Υγείας, ακόμη περισσότερο σήμερα. Έχουν διασωθεί αγαλματίδια προϊστορικής εποχής που απεικονίζουν άτομα που πάσχουν από σοβαρή παχυσαρκία, με πιο γνωστό ίσως το κυκλαδικό αγαλματίδιο που βρίσκεται στο Μητροπολιτικό Μουσείο της Νέας Υόρκης. Στην προϊστορική εποχή, μάλιστα, όπως έχει προταθεί από ιστορικούς, η παχυσαρκία στα αγαλματίδια συμβολίζει την αφθονία και την ελπίδα για μακροζωία<sup>1</sup>. Αλλά και στη νεολιθική εποχή και αργότερα μέχρι την εποχή του Χαλκού (μέχρι το 3000 π.Χ.), βρίσκουμε πολλές Μητέρες-Θεές σε αγαλματίδια με την ίδια μορφή. Τα περισσότερα ευρήματα προέρχονται από την περιοχή της Ανατολίας και χρονολογούνται γύρω στο 5000 με 6000 π.Χ. Παρόμοιες μορφές υπάρχουν επίσης σε αγαλματίδια στη Μεσοποταμία αλλά και σε μούμιες Φαραώ και σε τοιχογραφίες τάφων στην Αίγυπτο. Ανάλογες αναφορές περί παχυσαρκίας υπάρχουν στην κινεζική, τη θιβετιανή και την ινδική ιατρική, αλλά και στην ιατρική των Μάγια και των Αζτέκων.

Φτάνοντας στους Ελληνορωμαϊκούς χρόνους, ο πατέρας της Ιατρικής, Ιπποκράτης, θεωρούσε την παχυσαρκία νόσο και χρησιμοποιούσε θεραπευτικές μεθόδους παρεμφερείς με τις σημερινές για την αντιμετώπισή της<sup>2</sup>. Ο Γαληνός, σημαντικός ιατρός των ρωμαϊκών χρόνων, είχε κατατάξει την παχυσαρκία σε δύο κατηγορίες: μέτρια (moderate) και υπερβολική (immoderate), όπου η πρώτη εθεωρείτο φυσιολογική και η δεύτερη νοσογόνος. Επίσης από τους ρωμαϊκούς χρόνους, υπάρχουν περιγραφές που συνδέουν την παχυσαρκία με την υπνηλία και την άπνοια ύπνου και αναφέρονται περιπτώσεις ανθρώπων που πέθαναν από υπερβολικό βάρος.

Το κοινό σημείο αναφοράς όλων των θεραπευτικών προσεγγίσεων, όσον αφορά στην παχυσαρκία στην αρχαιότητα, είναι η διαίτα και η άσκηση. Τόσο ο Ιπποκράτης τον 5ο αιώνα π.Χ., όσο και ο Γαληνός και ο Αβικέννας πολύ αργότερα, παρά τις διαφορές που υπάρχουν στις θεραπείες τους, προτείνουν με τον έναν ή τον άλλον τρόπο σχεδόν τα ίδια πράγματα:

- σκληρή δουλειά
- γρήγορο τρέξιμο
- σκληρή άσκηση
- λιτή διατροφή και εγκράτεια
- όχι τσιμπολογήματα





*Εικόνα 1. Αγαλματίδια προϊστορικών χρόνων που απεικονίζουν παχύσαρκες γυναίκες*

Στη σύγχρονη εποχή, η παχυσαρκία έχει πάρει διαστάσεις επιδημίας και μάλιστα χαρακτηρίζεται ως **η νέα παγκόσμια επιδημία**. Ευθύνεται για μια μεγάλη σειρά σοβαρών επιπλοκών και πρέπει να αντιμετωπίζεται έγκαιρα, πριν αυτές παρουσιαστούν.

Βασικές ασθένειες, όπου παρατηρείται αύξηση της εμφάνισής τους παρουσία παχυσαρκίας είναι:

- Καρδιαγγειακές παθήσεις
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
- Αποφρακτική άπνοια ύπνου
- Ορισμένα είδη καρκίνου
- Οστεοαρθρίτιδα
- Άσθμα



*Εικόνα 2. Ασθένειες που εμφανίζονται συχνότερα παρουσία παχυσαρκίας*

## 1.2 Αίτια της παχυσαρκίας

Τα αίτια εμφάνισης παχυσαρκίας διακρίνονται σε **ενδογενή** και **εξωγενή**. Τα μεν ενδογενή σε γενετικούς παράγοντες, σε υποθαλαμικά αίτια και σε ενδοκρινικά αίτια. Τα δε εξωγενή σε διαιτητικά αίτια, στη σωματική δραστηριότητα και σε φαρμακευτικά αίτια. Επιπλέον υπάρχουν και άλλα αίτια όπως η διακοπή του καπνίσματος και η ηλικία<sup>3</sup>.

### 1.2.1 Ενδογενή αίτια

**A) Γενετικοί παράγοντες:** Η παχυσαρκία τείνει να είναι κληρονομική, κάτι που υποδηλώνει ένα γενετικό αίτιο. Ο βαθμός κληρονομικότητας της ποσότητας του λιπώδους ιστού κυμαίνεται από 25-40%, ενώ του κοιλιακού (σπλαχνικού) λίπους στο 50%. Ωστόσο, μια οικογένεια υιοθετεί κοινές διατροφικές συνήθειες και κοινό τρόπο ζωής που μπορεί να συμβάλλουν στη παχυσαρκία. Ο διαχωρισμός των συνηθειών αυτών από τους γενετικούς παράγοντες δεν είναι εύκολος. Οι έρευνες δείχνουν ότι οι γενετικοί παράγοντες ευθύνονται κατά 80% περίπου για την προδιάθεση του ατόμου να εμφανίσει παχυσαρκία<sup>4</sup>. Σε συνδυασμό με διάφορες άλλες νόσους, οι παράγοντες αυτοί μπορούν να οδηγήσουν άμεσα στην παχυσαρκία. Ορισμένα γονίδια επιδρούν σε τμήματα του εγκεφάλου τα οποία ελέγχουν την όρεξη και την αίσθηση της πληρότητας στο φαγητό, ενώ άλλα μπορούν να καθορίσουν τον τρόπο με τον οποίο το σώμα αποθηκεύει ή καίει θερμίδες<sup>5</sup>. Τα παιδιά παχύσαρκων γονέων, ακόμη κι αν τα ίδια δεν είναι παχύσαρκα, έχουν χαμηλότερη ενεργειακή κατανάλωση από τα παιδιά ισχνών γονέων. Σε ορισμένες περιπτώσεις η παχυσαρκία οφείλεται στην ύπαρξη ενός γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ευθύνεται για την ποσότητα του λίπους στον οργανισμό, στέλνοντας σήμα στον εγκέφαλο, προκειμένου να ρυθμίσει την ανάγκη λήψης της τροφής<sup>6</sup>. Όταν η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης επηρεάζεται εξαιτίας μεταλλαγής του γονιδίου αυτού, απορυθμίζεται η συγκεκριμένη ρύθμιση και ο άνθρωπος καταναλώνει

περισσότερη τροφή από όση χρειάζεται, αυξάνοντας παράλληλα την ποσότητα του λίπους στο σώμα του.

**Β) Υποθαλαμικά αίτια:** Η όρεξη ρυθμίζεται από τον υποθάλαμο στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα<sup>8</sup>. Ο υποθάλαμος λαμβάνει νευρικά και ορμονικά σήματα από την περιφέρεια, που σχετίζονται με το ισοζύγιο ενέργειας, τη σίτιση και την πείνα. Η σίτιση, ιδιαίτερα με υδατάνθρακες, προκαλεί την έκκριση ινσουλίνης, η οποία οδηγεί σε λιποσύνθεση όταν υπάρχουν περισσεύματα ενέργειας. Κατά τη φάση της λιποσύνθεσης ο λιπώδης ιστός εκκρίνει τη λεπτίνη, μια ορμόνη που μειώνει την όρεξη. Προκαλείται έτσι αναστολή της όρεξης και διακοπή της σίτισης. Στη φάση νηστείας δεν υπάρχει ερέθισμα για έκκριση ινσουλίνης και τότε έχουμε λιπόλυση και απελευθέρωση λιπαρών οξέων για παροχή ενέργειας<sup>9</sup>. Παράλληλα διακόπτεται η έκκριση λεπτίνης και επανέρχεται η όρεξη για τροφή.

Ο υποθάλαμος είναι το νευρικό κέντρο ρύθμισης της ενεργειακής ισορροπίας. Στον υποθάλαμο βρίσκεται το κέντρο της πείνας και του κορεσμού. Αν και συμβαίνει πολύ σπάνια, βλάβες του τελευταίου κέντρου προκαλούν την εμφάνιση παθολογικής μορφής παχυσαρκίας. Οι βλάβες μπορεί να οφείλονται σε όγκους, φλεγμονές (μετά από εγκεφαλίτιδα), τραύματα ή αυξημένη ενδοκρανιακή πίεση. Η προπιομελανοκορτίνη αποτελεί πρόδρομη ουσία πολλών ορμονών του υποθαλάμου και συμμετέχει στη ρύθμιση της ενεργειακής κατανάλωσης και λήψης της τροφής. Μεταλλάξεις του γονιδίου που κωδικοποιεί τη σύνθεση της προπιομελανοκορτίνης εμποδίζουν τη σύνθεση της α-MSH, οδηγώντας έτσι σε παχυσαρκία σοβαρού βαθμού.

Στον υποθάλαμο γίνεται ο έλεγχος της κατανάλωσης ενέργειας μέσω του αυτόνομου νευρικού συστήματος και των ορμονών της υπόφυσης οι οποίοι ελέγχουν την θερμογένεση και την ρύθμιση του μεταβολισμού.

**Γ) Ενδοκρινικά αίτια:** Το σύνδρομο Cushing είναι μια μορφή ενδοκρινοπάθειας που οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή γλυκοκορτικοειδών (κορτιζόλη) από το φλοιό των επινεφριδίων ή στη

μακροχρόνια χορήγηση συνθετικών γλυκοκορτικοειδών (σκευασμάτων – ιατρογενής μορφή). Η παχυσαρκία είναι το πρωιμότερο και κυριότερο σημείο της νόσου. Η μορφή της παχυσαρκίας είναι ιδιάζουσα και εντοπίζεται στο πρόσωπο, τον κορμό, την κοιλιά, ενώ τα άκρα παραμένουν λεπτά. Η παχυσαρκία αυτή οφείλεται σε διαταραχή του μεταβολισμού, κατά την οποία καταστρέφονται τα λευκώματα, μειώνεται η ανοχή υδατανθράκων, αυξάνεται η απόθεση λίπους, ενώ στην αύξηση του βάρους συμβάλει και η κατακράτηση νερού που προκύπτει από τη νόσο.

### 1.2.2 Εξωγενή αίτια

**A) Διαιτητικά αίτια:** Η συσσώρευση περιττού λίπους στο σώμα οφείλεται είτε στην πολυφαγία, στην υπέρμετρη δηλ. κατανάλωση τροφής, είτε σε ορμονικά προβλήματα και διαταραχές του μεταβολισμού<sup>7</sup>. Βασική αιτία είναι η πολυφαγία. Υπολογίζεται ότι οι ενήλικες καλύπτουν τις ημερήσιες ενεργειακές ανάγκες τους όταν καταναλώνουν ο άντρας 2.800 kcal και η γυναίκα 2.300 Kcal. Όταν ένα άτομο καταναλώνει περισσότερες θερμίδες από όσες ξοδεύει καθημερινά ο οργανισμός του για να επιτελέσει τις βασικές του λειτουργίες τότε η πλεονάζουσα αυτή ενέργεια συσσωρεύεται στο σώμα με τη μορφή λίπους. Η κατανάλωση λίπους συμβάλλει κατά κύριο λόγο στην αυξημένη θερμιδική πρόσληψη. Σημαντικό ρόλο στην αύξηση του βάρους παίζει ο αριθμός και η κατανομή των γευμάτων, καθώς και η λήψη τροφής εκτός των κύριων γευμάτων. Μια μορφή παχυσαρκίας αποδίδει στα λίγα και μεγάλα γεύματα. Σε έρευνες που έγιναν βρέθηκε ότι τα άτομα που έτρωγαν 1-2 γεύματα την ημέρα, είχαν μεγαλύτερο βάρος από άτομα που έτρωγαν 3 ή περισσότερα γεύματα.

**B) Σωματική δραστηριότητα:** Η απουσία σωματικής δραστηριότητας σε συνδυασμό με την πολυφαγία αποτελούν συνήθειες που χαρακτηρίζουν κύρια τους πληθυσμούς των σύγχρονων καταναλωτικών κοινωνιών. Η υποκινητικότητα αυτή συμβάλει σημαντικά στο ενεργειακό πλεόνασμα, που

οδηγεί πρακτικά στην εναπόθεση λίπους και στην αύξηση του σωματικού βάρους. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τα παχύσαρκα άτομα έχουν μικρότερη φυσική δραστηριότητα στη καθημερινή τους ζωή, βαδίζουν λιγότερο και δαπανούν περισσότερο χρόνο αναπαυόμενοι σε σύγκριση με άτομα φυσιολογικού βάρους. Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ παχυσαρκίας και καθιστικής ζωής, όπως μαρτυρούν πολλοί δείκτες<sup>10</sup>. Η σωματική άσκηση είναι ο μόνος τρόπος για να αυξηθεί φυσιολογικά η ενεργειακή κατανάλωση. Ακόμα, η διακοπή έντονης αθλητικής δραστηριότητας ευθύνεται για την παχυσαρκία: πολλοί πρώην αθλητές αύξησαν το βάρος τους όταν αποσύρθηκαν από τον ενεργό αθλητισμό γιατί συνέχιζαν να καταναλώνουν τις ίδιες ποσότητες τροφών που καταλάωναν όταν προπονούταν μία ή δύο φορές την ημέρα.

**Γ) Φαρμακευτικά αίτια:** : Οι χρόνιες θεραπείες με ορισμένα φάρμακα (λ.χ. στεροειδή κορτιζόνη, αντικαταθλιπτικά, αντισυλληπτικά χάπια) έχουν ενοχοποιηθεί για πρόκληση παχυσαρκίας<sup>11</sup>. Ο ρόλος των ψυχολογικών παραγόντων, ιδιαίτερα της κατάθλιψης, είναι αναγνωρισμένος, όσον αφορά διαταραχές στη διατροφική συμπεριφορά.

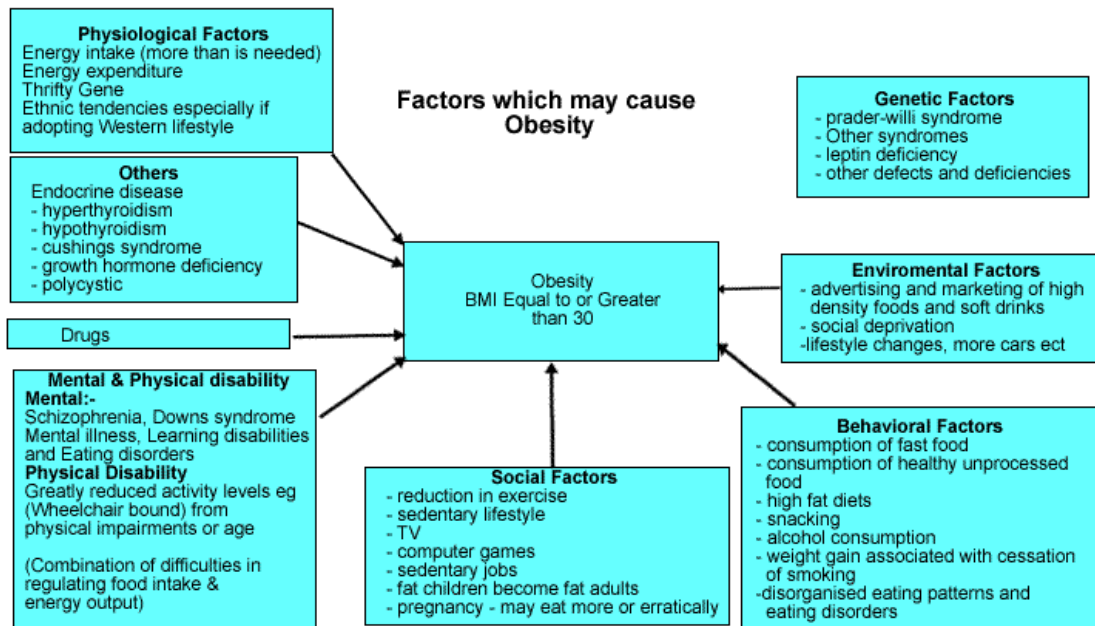
Φάρμακα που επιδρούν στο μεταβολισμό, κυρίως σκευάσματα για τον διαβήτη, επηρεάζουν με τη δράση τους την παχυσαρκία. Η αύξηση του σωματικού βάρους παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με διαβήτη που δεν παίρνουν ινσουλίνη, αλλά ποικίλα διαφορετικά αντιδιαβητικά φάρμακα. Τα δύσκολα, πάντως, αρχίζουν όταν ένας ασθενής είναι ήδη υπέρβαρος ή παχύσαρκος. Η αύξηση του σωματικού βάρους που παρατηρείται στους διαβητικούς είναι συνήθως ανάλογη με τη μείωση των επιπέδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης.

Οι ορμόνες, επίσης, αυξάνουν το σωματικό βάρος προκαλώντας κατακράτηση υγρών. Κύριοι εκπρόσωποι αυτών είναι η κορτιζόνη και τα αντισυλληπτικά. Η αύξηση του σωματικού βάρους που προκαλεί η κορτιζόνη συνήθως γίνεται αντιληπτή ως εκτεταμένα πρηξίματα σε όλο το 60 σώμα κυρίως όμως στο πρόσωπο, στον λαιμό, στην κοιλιά και στους ώμους.

### 1.2.3 Άλλα αίτια

**A) Κάπνισμα:** Η διακοπή του καπνίσματος προκαλεί αύξηση της όρεξης. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η νικοτίνη, το πιο ενεργό συστατικό του καπνού, προκαλεί καταστολή της όρεξης. Για τον λόγο αυτό οι διαιτητικές συμβουλές και οι οδηγίες σωματικής δραστηριότητας είναι απαραίτητες στα άτομα που πρόκειται να διακόψουν το κάπνισμα.

**B) Ηλικία:** Με την αύξηση της ηλικίας ο βασικός μεταβολισμός μειώνεται και οι ανάγκες του οργανισμού για ενέργεια περιορίζονται. Επιπλέον, οι μύες ελαττώνονται και αυξάνει το ποσοστό του λίπους στο σωματικό βάρος. Παράλληλα, με την πάροδο των χρόνων μειώνεται η φυσική άσκηση, αναπτύσσεται μυϊκή ατροφία ως αποτέλεσμα της μειωμένης κινητικότητας, γεγονός που δυσχεραίνει την καύση θερμίδων και ευνοεί τη συσσώρευση λίπους στον οργανισμό<sup>12</sup>.



Εικόνα 3. Αίτια της παχυσαρκίας

Από όλα τα αίτια που αναφέρθηκαν, θα δώσουμε ιδιαίτερη σημασία στα **ενδογενή αίτια** της παχυσαρκίας και συγκεκριμένα στους **γενετικούς παράγοντες**, μιας και κυρίως αυτοί θα μας απασχολήσουν στη συγκεκριμένη εργασία.

Επίσης, από τις βασικές ασθένειες όπου παρατηρείται αύξηση της εμφάνισής τους παρουσία παχυσαρκίας, θα ασχοληθούμε με τον **σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2)**. Όπως και στην παχυσαρκία, έτσι και στον ΣΔτ2, θα δώσουμε έμφαση στη γενετική του.

### **1.3 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ**

Ο **σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)** αποτελεί ομάδα μεταβολικών παθήσεων, γνωστές από αρχαιοτάτων χρόνων, που χαρακτηρίζονται από υπεργλυκαιμία, δηλαδή **αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης** στο αίμα, ως συνέπεια διαταραχών στην έκκριση ινσουλίνης, στη δράση της ή και στα δύο<sup>13</sup>. Η **ινσουλίνη** είναι μια ορμόνη που εκκρίνεται από το πάγκρεας και είναι απαραίτητη για τη μεταφορά της γλυκόζης που λαμβάνεται από τις τροφές, μέσα στα κύτταρα. Όταν το πάγκρεας δεν παράγει αρκετή ινσουλίνη, ή όταν η ινσουλίνη που παράγει δεν δρα σωστά, τότε η γλυκόζη που λαμβάνεται από τις τροφές δεν εισέρχεται στα κύτταρα ώστε να έχουν την απαραίτητη ενέργεια για τη λειτουργία τους και παραμένει στο αίμα με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της και άρα την εκδήλωση της νόσου. Η χρόνια υπεργλυκαιμία στον ΣΔ σχετίζεται με την πρόκληση μακροχρόνιων βλαβών, δυσλειτουργίας ή ανεπάρκειας διαφόρων οργάνων και ιδιαίτερα των οφθαλμών, των νεφρών, των νεύρων, της καρδιάς και των αγγείων.

Ποικιλία παθογενετικών μηχανισμών εμπλέκεται στην ανάπτυξη του ΣΔ, μεταξύ των οποίων η αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων του



παγκρέατος με επακόλουθο την ινσουλινοανεπάρκεια και οι διαταραχές που οδηγούν σε αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, του λίπους και των πρωτεϊνών που παρατηρούνται στον ΣΔ προέρχονται από την ανεπαρκή δράση της ινσουλίνης στους ιστούς-στόχους είτε λόγω ανεπαρκούς έκκρισής της είτε λόγω ελαττωμένης ανταπόκρισης των ιστών στην κυκλοφορούσα ινσουλίνη σε ένα ή περισσότερα σημεία των πολύπλοκων οδών δράσης της ορμόνης. Συχνά οι διαταραχές αυτές συνυπάρχουν στον ίδιο ασθενή, χωρίς να μπορεί να καθοριστεί με σαφήνεια ποια διαταραχή αποτελεί την κύρια αιτία της υπεργλυκαιμίας.

Αποτέλεσμα όλων αυτών, είναι να εμφανίζεται διαταραχή στον μεταβολισμό της γλυκόζης, των λιπαρών οξέων και των αμινοξέων, με συνέπεια την αύξηση της γλυκόζης στο αίμα και την δημιουργία των επιπλοκών του διαβήτη που είναι χαρακτηριστικές για αυτόν.

Η ιστορία του διαβήτη είναι πολύ παλιά, καθώς υπάρχουν αναφορές περιγραφής της νόσου σε πάπυρο του 1550 π.Χ (πάπυρος Ebers) από την αρχαία Αίγυπτο<sup>14</sup>. Η περιγραφή αναφέρει τη συχνή ούρηση ως σύμπτωμα μιας μυστηριώδους ασθένειας η οποία μάλιστα προκαλούσε μεταξύ άλλων και κατάπτωση. Παρατηρήθηκε επίσης ότι τα μυρμήγκια έλκονταν από τα ούρα των ατόμων που είχαν τη συγκεκριμένη ασθένεια. Αρκετά αργότερα, το 150 π.Χ, ο έλληνας ιατρός Αρεταίος, έδωσε την πρώτη ονομασία σε αυτό που αποκαλούμε σήμερα «διαβήτη», ονομασία που δώθηκε από το ρήμα «διαβαίνω» εξαιτίας του ότι το νερό που έπινε ο άρρωστος διάβαινε αναλλοίωτο στα ούρα. Πριν την ονομασία αυτή λέγονταν «δίψακο» από το όνομα φιδιού που όταν δαγκώνει προκαλεί ακατάσχετη δίψα και πίστευαν ότι ήταν και το αίτιο της νόσου. Ταυτόχρονα στην Κίνα ο διαβήτης ήταν γνωστός ως η νόσος της δίψας, ενώ στην Ινδία ως «νόσος με μελώδη ούρα». Ο άραβας γιατρός Aviceenna περιέγραψε πρώτος τη διαβητική γάγγραινα στο πόδι.

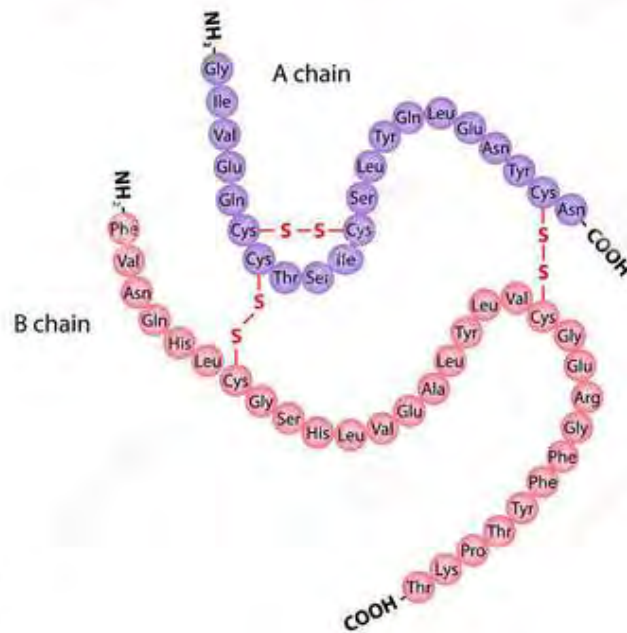
Μετά από πέντε αιώνες αδράνειας, τον 17ο αιώνα προστίθεται ο όρος «**mellitus**» (σακχαρώδης) μετά την διαπίστωση ότι τα ούρα έχουν γλυκιά γεύση από τον Thomas Willis, ενώ τον 18ο αιώνα ανακαλύπτεται η ύπαρξη γλυκόζης στα ούρα από τον Dobson<sup>15</sup>. Η συνέχεια γίνεται από έναν φοιτητή Ιατρικής στο Βερολίνο, τον Paul Langerhans ο οποίος παρατηρεί με το μικροσκόπιο του σωρούς κυττάρων στο πάγκρεας του κουνελιού που

αποκαλούμε νησίδια (λατινιστί *insulae*), όμως δεν τα συσχετίζει με τον διαβήτη. Όμως το 1889, μια ημερομηνία σταθμός για την περαιτέρω έρευνα του σακχαρώδη διαβήτη, δύο γιατροί από το Στρασβούργο οι Minkowski και Mering αφαιρούν το πάγκρεας από σκύλους και βλέπουν ότι εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά συμπτώματα του διαβήτη η πολυουρία και η πολυδιψία. Τα ούρα των σκύλων, έπειτα από χημική ανάλυση, αποκαλύπτουν την παρουσία τεράστιων ποσοτήτων γλυκόζης. Αποδεικνύεται με αυτόν τον τρόπο λοιπόν η σχέση του παγκρέατος και του σακχαρώδους διαβήτη και στη συνέχεια η σχέση παγκρέατος και ινσουλίνης από τους Banting και Best. Κορυφαία στιγμή της έρευνας για τον σακχαρώδη διαβήτη είναι το 1921, όπου οι γιατροί Banting και Best, στο Τορόντο του Καναδά, ανακαλύπτουν ότι η έλλειψη της ινσουλίνης προκαλεί τον διαβήτη. Οι ερευνητές απομόνωσαν τα νησίδια του Langerhans από πολλά παγκρέατα και με χημική επεξεργασία παρασκεύασαν εκχύλισμα που περιείχε ινσουλίνη και το οποίο χορήγησαν σε ετοιμοθάνατο σκυλάκι, την Μάρτζορι. Τα επίπεδα του σακχάρου έγιναν πλέον φυσιολογικά μετά τη χορήγηση και ανακαλύφθηκε με αυτόν τον τρόπο ότι η χορήγηση ινσουλίνης επαναφέρει σε φυσιολογικά επίπεδα τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα. Ακολουθούν πετυχημένες δοκιμές σε ανθρώπους, πράγμα που οδηγεί τους Banting και Best στην απονομή βραβείου Νόμπελ Ιατρικής<sup>16</sup>.



*Εικόνα 4. Οι ερευνητές που ανακάλυψαν τη σχέση ινσουλίνης-παγκρέατος*

# Insulin



## Insulin

Εικόνα 5. Η δομή της ινσουλίνης

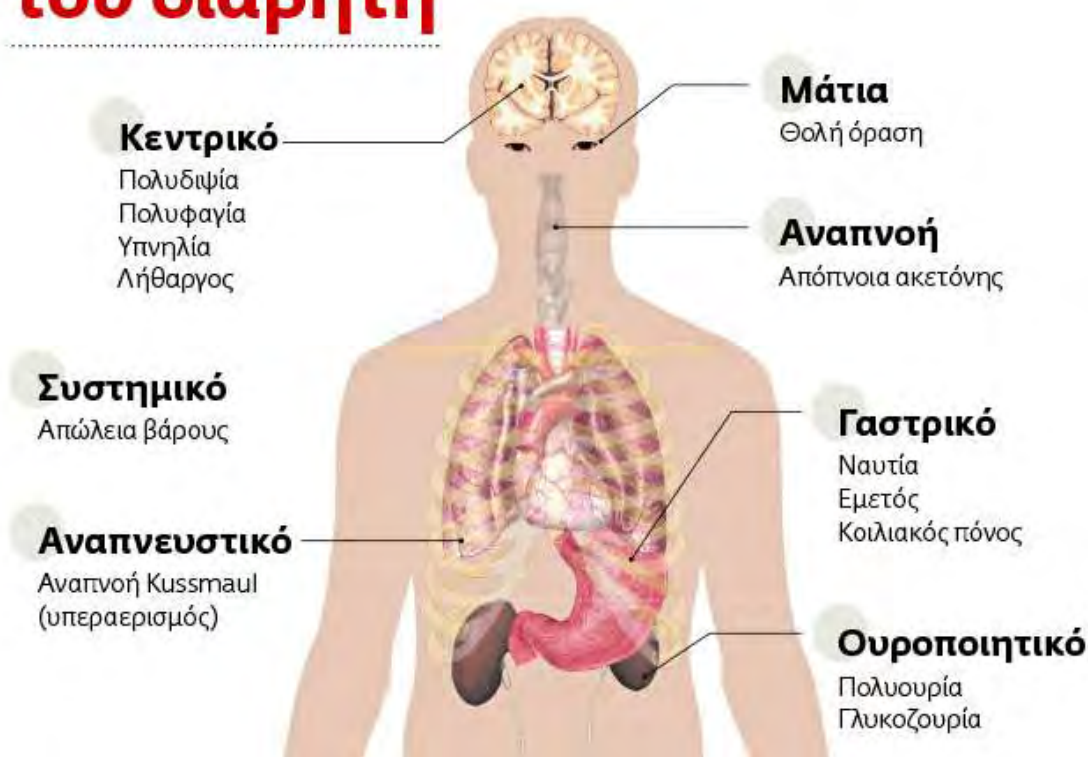
Ο σακχαρώδης διαβήτης εμφανίζει αρκετά συμπτώματα. Τα πιο συχνά συμπτώματα είναι τα εξής:

- Πολυουρία, που προκαλείται από την υπερβολική ποσότητα σακχάρου στο αίμα που δεν μπορεί να απορροφηθεί κι έτσι περνά από τα νεφρά και παρασύρει μαζί του πολύ νερό.
- Αυξημένη δίψα, λόγω του ότι ο οργανισμός χάνει πολύ νερό με τα πολλά ούρα και είναι φυσικό να δημιουργείται επίμονη δίψα.
- Έντονη πείνα που οδηγεί σε πολυφαγία. Εμφανίζεται γιατί η γλυκόζη δεν μπορεί να απορροφηθεί από τον οργανισμό για να του δώσει

ενέργεια κι έτσι ο οργανισμός αναγκάζεται να χρησιμοποιεί τα αποθέματά του, με αποτέλεσμα να ζητά συνέχεια τροφή για να τα συμπληρώσει.

- Απώλεια βάρους, λόγω της συνεχούς κατανάλωσης των αποθεμάτων ενέργειας του οργανισμού.
- Κούραση, σαν συνέπεια της μη απορρόφησης γλυκόζης για παραγωγή ενέργειας.
- Θάμπωμα στην όραση, εξαιτίας αλλοίωσης των αγγείων από την υψηλή συγκέντρωση σακχάρου στο αίμα και προσβολή του αμφιβληστροειδούς.

## Κύρια συμπτώματα του διαβήτη



Εικόνα 6. Κύρια συμπτώματα σακχαρώδους διαβήτη

## 1.4 Τύποι σακχαρώδους διαβήτη

**A) Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔτ1):** Ο διαβήτης αυτού του τύπου χαρακτηρίζεται από απόλυτη έλλειψη ινσουλίνης<sup>17</sup>. Παλιότερα ονομάζονταν νεανικός σακχαρώδης διαβήτης και ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης.

Ο ΣΔτ1 χρειάζεται απαραίτητα ινσουλίνη για την αντιμετώπισή του, αλλιώς ο διαβητικός θα πέσει σε διαβητικό κώμα. Στους πάσχοντες παράγεται πολύ λίγη ή καθόλου ινσουλίνη. Στις περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζεται σε άτομα νεαρής ηλικίας, μπορεί όμως και να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία, ακόμα και γεροντική. Διακρίνεται σε δύο μορφές τον **ιδιοπαθή** και τον **ανοσολογικό**.

**Ιδιοπαθής ΣΔτ1:** Χαρακτηρίζεται από ινσουλινοπενία και πιθανή εμφάνιση κετοοξέωσης χωρίς στοιχεία αυτοανοσίας. Είναι σπάνια μορφή ΣΔτ1 και εμφανίζεται σε αφρικανούς και ασιάτες.

**Ανοσολογικός ΣΔτ1:** Είναι ο συνηθέστερος τύπος για τον διαβήτη τύπου 1 και υπολογίζεται στο 5 – 10% του συνολικού αριθμού των ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη. Εμφανίζονται αυτοαντισώματα καταστροφής των **β-κύτταρων** (κύτταρα που εκκρίνουν την ινσουλίνη) των νησιδίων του Langerhan όπως αυτοαντισώματα στα νησιδιακά κύτταρα, αυτοαντισώματα στην ινσουλίνη, αυτοαντισώματα στο GAD, αυτοαντισώματα στην τυροσινική φωσφατάση IA 2 και IA 2b. Επίσης η νόσος έχει μια ισχυρή σχέση με το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας (HLA) και συγκεκριμένα με τα αντιγόνα DQA, DQB και DRB. Ο συνδυασμός αυτών των αλληλομόρφων μπορεί να οδηγεί είτε σε προστασία από την νόσο είτε σε προδιάθεση.

Ο ρυθμός καταστροφής των β κυττάρων μπορεί να κυμαίνεται από γρήγορος σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες, με κύρια εκδήλωση της νόσου την διαβητική κετοοξέωση και σε αργό κυρίως σε ενήλικες με εκδηλώσεις ήπιες, που όμως σε 2-4 χρόνια θα εκδηλώσουν πλήρη ανεπάρκεια των β κυττάρων και θα χρειαστούν ινσουλίνη. Αν και οι ασθενείς της ομάδας αυτής δεν είναι συνήθως παχύσαρκοι, η ύπαρξη παχυσαρκίας δεν αποκλείει την διάγνωση της νόσου.

Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 έχουν προδιάθεση εμφάνισης και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων όπως η νόσος του Graves, η θυρεοειδίτιδα του Hashimoto, η νόσος του Addison, η λεύκη, η κοιλιοκάκη, η αυτοάνοσος ηπατίτιδα και η κακοήθης αναιμία.

**Β) Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔτ2):** Είναι ο συχνότερος τύπος και χαρακτηρίζεται από τη συνύπαρξη διαταραχής της έκκρισης και της δράσης της ινσουλίνης. Παλιότερα ονομάζονταν σακχαρώδης διαβήτης των ενηλίκων και μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης. Οι πάσχοντες δεν χρειάζονται απαραίτητα ινσουλίνη, αυτό όμως δεν τον καθιστά λιγότερο επικίνδυνο από τον ΣΔτ1.

Η μορφή αυτή του διαβήτη αποτελεί την συνηθέστερη μορφή (περίπου το 80% του συνόλου των διαβητικών) και απαντάται κατά κύριο λόγο σε ενήλικες παχύσαρκους, χωρίς όμως να αποκλείεται και η παρουσία του σε μη παχύσαρκα άτομα, καθώς επίσης σε σχετικά σπάνιες περιπτώσεις και σε νεαρά άτομα. Στους διαβητικούς αυτούς παράγεται λιγότερη ινσουλίνη από αυτή που χρειάζεται, δεδομένου ότι παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη τιμή σακχάρου στο αίμα. Τα άτομα αυτά δεν παρουσιάζουν διαβητική οξέωση παρά μόνο σπάνια σε καταστάσεις stress ή σε λοιμώξεις.

Αυτή η μορφή του σακχαρώδη διαβήτη συχνά παραμένει αδιάγνωστη για πολλά χρόνια, επειδή η υπεργλυκαιμία αυξάνει βαθμιαία και τα πρώτα χρόνια είναι ήπια με αποτέλεσμα τα αβληχρά συμπτώματα που μπορεί να υπάρχουν αλλά να μην αναγνωρίζονται από τους ασθενείς.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη που υπάρχει είτε λόγω γενετικής προδιάθεσης είτε λόγω επίκτητων παραγόντων όπως η παχυσαρκία και δη η σπλαγχνική, οδηγούν το β-κύτταρο σε αυξημένη έκκριση ινσουλίνης. Στις περιπτώσεις αυτές μπορεί να μην εμφανίζεται διαβήτης ή άλλες μεταβολικές διαταραχές (διαταραχή ανοχής γλυκόζης (IGT) ή διαταραχή γλυκόζης νηστείας (IFG)), αλλά συνυπάρχει δυσλιπιδαιμία, αρτηριακή υπέρταση και πιθανόν καρδιαγγειακή νόσος. Σε περίπτωση που το β-κύτταρο δεν μπορεί να εκκρίνει την απαιτούμενη ποσότητα ινσουλίνης, προοδευτικά εμφανίζονται οι

μεταβολικές διαταραχές και ο σακχαρώδης διαβήτης.

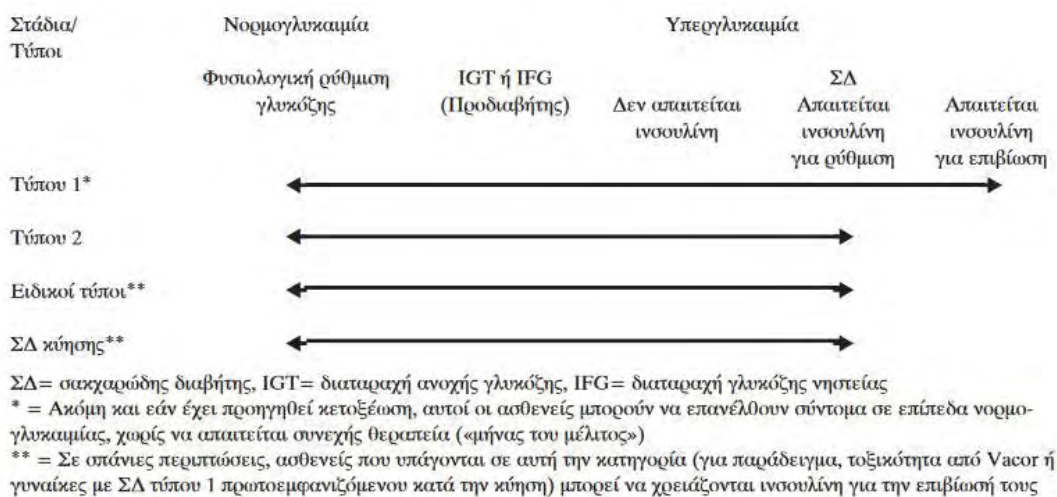
Ο κίνδυνος για την εμφάνιση αυτού του τύπου σακχαρώδη διαβήτη αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας, τον βαθμού παχυσαρκίας και την έλλειψη σωματικής άσκησης. Εμφανίζεται συχνότερα σε γυναίκες με προηγούμενο ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη της κύησης και σε άτομα με υπέρταση ή/και δυσλιπιδαιμία. **Στον ΣΔτ2 οι κληρονομικοί παράγοντες φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα σημαντικοί.** Η νόσος συνήθως προσβάλλει περισσότερα μέλη της ίδιας οικογενείας σε ποσοστό 25 με 50%.

**Γ) Σακχαρώδης διαβήτης της κύησης:** Πρόκειται για σακχαρώδη διαβήτη που εμφανίζεται κατά την διάρκεια της κύησης και είναι συνέπεια των διαβητογόνων επιδράσεων των ορμονών της κύησης σε άτομα που μειονεκτούν στην αντιμετώπιση των διαβητογόνων αυτών επιδράσεων. Οι γυναίκες αυτές ενδεχομένως θα εμφάνιζαν σακχαρώδη διαβήτη με την αύξηση του βάρους τους ή την πάροδο της ηλικίας. Είναι αρκετά συχνός, ξεπερνώντας το 18% των κύσεων σύμφωνα με τα πρόσφατα καθιερωμένα διαγνωστικά κριτήρια.

Οι επιπτώσεις από την μη σωστή αντιμετώπιση είναι για την μεν μητέρα η εμφάνιση πολυυδράμιου, προεκλαμψίας και η γέννηση του παιδιού με καισαρική τομή για το δε νεογνό η αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα, η μακροσωμία, το μαιευτικό τραύμα, η υπογλυκαιμία, η υπερχολερυθριναιμία και η υπασβεστιαμία.

Ο διαβήτης κύησης άλλοτε εξαφανίζεται μετά τον τοκετό, για να επανεμφανισθεί σε επόμενο τοκετό ή στο απώτερο μέλλον, και άλλοτε παραμένει. Έχει χαρακτηριστικά διαβήτη τύπου 2.

**Δ) Άλλοι ειδικοί τύποι σακχαρώδους διαβήτη:** Αυτοί μπορεί να οφείλονται σε γενετικές διαταραχές λειτουργίας των β-κυττάρων (**διαβήτης τύπου MODY**), σε γενετικές διαταραχές δράσης της ινσουλίνης, σε νοσήματα εξωκρινούς παγκρέατος, σε ενδοκρिनοπάθειες, σε φάρμακα ή χημικές επιδράσεις, καθώς και σε λοιμώξεις.



*Εικόνα 7. Διαταραχές γλυκαιμίας. Αιτιολογικοί τύποι και στάδια*

Γενικά για τους ειδικούς τύπους του σακχαρώδους διαβήτη, αναλόγως του πού οφείλονται:

**α) Γενετικές διαταραχές λειτουργίας β-κυττάρων:**

Αρκετές μορφές διαβήτη συνοδεύονται από μονογονική διαταραχή στην λειτουργία των β-κυττάρων που οδηγεί σε υπεργλυκαιμία σε νεαρή ηλικία μικρότερη των 25 ετών. Συνολικά ονομάζεται νεανικός διαβήτης ώριμης ηλικίας (Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY))<sup>18</sup> και χαρακτηρίζεται από διαταραχή στην έκκριση ινσουλίνης χωρίς διαταραχή στην δράση της. Κληρονομείται με τον επικρατούντα αυτοσωματικό χαρακτήρα που σημαίνει ότι σε μεγάλο ποσοστό υπάρχει ίδια μορφή διαβήτη σε προηγούμενες γενεές.

Μέχρι στιγμής έχουν βρεθεί διαταραχές σε 6 γενετικούς τόπους σε διαφορετικά χρωμοσώματα που επηρεάζουν είτε την μεταγραφή του γονιδίου της ινσουλίνης είτε τον μεταβολισμό της γλυκόζης στα β-κύτταρα και οδηγούν στους παρακάτω τύπους MODY:

- **MODY 1:** Υπάρχει διαταραχή στο γονίδιο HNF4α (Hepatocyte Nuclear Factor), που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 20q. Είναι σπάνια μορφή διαταραχής,



τα άτομα παρουσιάζουν υπεργλυκαιμία που μπορεί αρχικά να αντιμετωπισθεί με σουλφονουλιδίες, εν τούτοις στην πορεία θα χρειαστεί η χορήγηση ινσουλίνης, μπορεί δε να παρουσιάσουν τις επιπλοκές του διαβήτη εφόσον είναι αρρύθμιστοι.

- **MODY 2:** Είναι συνήθης μορφή διαβήτη τύπου MODY. Υπάρχει διαταραχή στο γονίδιο γλυκοκινάσης που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7p. Η γλυκοκινάση είναι απαραίτητη για την φωσφορυλίωση της γλυκόζης που χρειάζεται τόσο για την αποθήκευση της γλυκόζης με την μορφή γλυκογόνου όσο και για την έκκριση ινσουλίνης. Τα άτομα με ετερόζυγη μετάλλαξη παρουσιάζουν ήπια, μη προοδευτική υπεργλυκαιμία νηστείας (110-145 mg/dl) και δυσανεξία γλυκόζης, διαβήτη κύησης στο 50% των γυναικών-φορέων και σπάνια παρουσιάζουν επιπλοκές. Η θεραπεία συνίσταται στην σωστή διατροφή και την άσκηση και σε λίγες περιπτώσεις χορήγηση υπογλυκαιμικών δισκίων. Τα άτομα με ομόζυγη μετάλλαξη εμφανίζουν μόνιμο νεογνικό διαβήτη και απαιτείται πρώιμα ινσουλινοθεραπεία.

- **MODY 3:** Είναι η συχνότερη μορφή διαβήτη τύπου MODY. Οφείλεται σε μετάλλαξη του γονίδιο TCF1/HNF1α που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12q. Τα άτομα αυτά εφόσον είναι αρρύθμιστα μπορεί να παρουσιάσουν επιπλοκές, με ιδιαίτερη προτίμηση την προσβολή των νεφρών. Μπορεί για μεγάλο χρονικό διάστημα να χρειάζονται σουλφονουλιδίες για την ρύθμισή τους.

- **MODY 4:** Σπανιότατος τύπος MODY. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο IPF1 (Insulin Promoter Factor) που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 13q, διαδραματίζει δε σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή δημιουργία του παγκρέατος (αγενεσία παγκρέατος σε ομοζυγώτες).

- **MODY 5:** Σπανιότατος τύπος MODY. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο TCF2/HNF1β που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του νεφρού. Συνοδεύεται από ανάπτυξη κυστικών ανωμαλιών στους νεφρούς (Hypoplastic glomerulocystic kidney disease) και διαταραχές στην διάπλαση των έσω γεννητικών οργάνων σε γυναίκες φορείς.

- **MODY 6:** Σπανιότατος τύπος MODY. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο NEUROD1/BETA2 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2q32.

- **ΑΛΛΕΣ ΜΟΡΦΕΣ MODY:** Υπάρχουν μεμονωμένες βιβλιογραφικές αναφορές γονιδιακών μεταλλάξεων που οδηγούν στην εμφάνιση σακχαρώδη

διαβήτη MODY στην νεανική ηλικία (MODY 7 -11) όπως και περιπτώσεις ασθενών που μπορεί να χαρακτηρισθούν ως MODY αλλά μέχρι στιγμής δεν έχει βρεθεί γνωστή γονιδιακή μετάλλαξη.

### **β) Γενετικές διαταραχές δράσης ινσουλίνης:**

Υπάρχουν σπάνιες μορφές διαβήτη που οφείλονται σε γενετικές διαταραχές της δράσης της ινσουλίνης και μπορεί να προκαλούν υπερινσουλιναιμία ή και διαβήτη. Σε ορισμένα από αυτά τα άτομα υπάρχει μελανίζουσα ακάνθωση. Παλαιότερα το σύνδρομο αυτό ονομάζονταν τύπου A αντίσταση στην ινσουλίνη. Στον λεπρεχωνισμό και το σύνδρομο Rabson–Mendenhall υπάρχει μεταλλαγή στο γονίδιο του υποδοχέα της ινσουλίνης με αποτέλεσμα διαταραχές στην δράση της ινσουλίνης και πολύ μεγάλη αντίσταση στην ινσουλίνη. Το πρώτο χαρακτηρίζεται από δυσμορφία στο πρόσωπο και θνητότητα στην νεογνική ηλικία και το δεύτερο από διαταραχές στα δόντια και τα νύχια και υπερπλασία του κωναρίου. Στον λιποατροφικό διαβήτη πιθανολογείται ότι υπάρχει διαταραχή σε επίπεδο μετά τον υποδοχέα της ινσουλίνης.

### **γ) Νοσήματα εξωκρινούς παγκρέατος:**

Οποιαδήποτε διαταραχή προκαλεί καταστροφή του παγκρέατος μπορεί να οδηγήσει σε σακχαρώδη διαβήτη. Εδώ ανήκουν η παγκρεατίτιδα, η παγκρεατεκτομή, η κυστική ίνωση του παγκρέατος και η αιμοχρωμάτωση, στις οποίες θα πρέπει να καταστραφεί ένα μεγάλο μέρος του παγκρέατος για να εμφανισθεί η νόσος. Αντίθετα στον καρκίνο του παγκρέατος φαίνεται ότι συμβάλουν άλλοι παράγοντες δεδομένου ότι μπορεί να εμφανιστεί διαβήτης χωρίς να έχει καταστραφεί μεγάλο μέρος του παγκρέατος.

#### **δ) Ενδοκρινοπάθειες:**

Αρκετές ορμόνες όπως η αυξητική ορμόνη, η κορτιζόλη, η γλουκαγόνη ,οι κατεχολαμίνες η σωματοσταΐνη και η θυροξίνη ανταγωνίζονται την δράση της ινσουλίνης. Έτσι αδενώματα των οργάνων που εκκρίνουν τις ορμόνες αυτές μπορεί να προκαλέσουν υπεργλυκαιμία, που θεραπεύεται με την αντιμετώπιση της πρωταρχικής νόσου.

#### **ε) Φάρμακα ή χημικές επιδράσεις:**

Πολλά φάρμακα μπορεί να επηρεάσουν την έκκριση ινσουλίνης. Εν τούτοις δεν μπορούν να προκαλέσουν διαβήτη μόνα τους παρά μόνο αν υπάρχει προδιάθεση από την πλευρά του ασθενούς.

#### **στ) Λοιμώξεις:**

Ορισμένες ιογενείς λοιμώξεις μπορεί να οδηγήσουν στην καταστροφή των β-κυττάρων χωρίς να προκαλούν αυτοαντισώματα, όπως συμβαίνει στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1.

Υπάρχουν, επίσης, μερικές **ασυνήθιστες μορφές ανοσολογικού σακχαρώδους διαβήτη**. Το **σύνδρομο stiff man** είναι ένα ανοσολογικό σύνδρομο που προσβάλλει το κεντρικό νευρικό σύστημα με δυσκαμψία των κεντρικών μυών και επώδυνη σπαστικότητα. Συνήθως οι ασθενείς παρουσιάζουν υψηλούς τίτλους αυτοαντισωμάτων GAD και στο 1/3 αυτών παρουσιάζεται σακχαρώδης διαβήτης.

Αντισώματα έναντι των υποδοχέων της ινσουλίνης μπορεί να οδηγήσουν σε αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να εμφανισθούν σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και άλλα αυτοάνοσα νοσήματα και συγχρόνως να συνυπάρχει μελανίζουσα ακάνθωση.

Παλαιότερα το σύνδρομο αυτό ονομάζονταν τύπου Β αντίσταση στην ινσουλίνη.

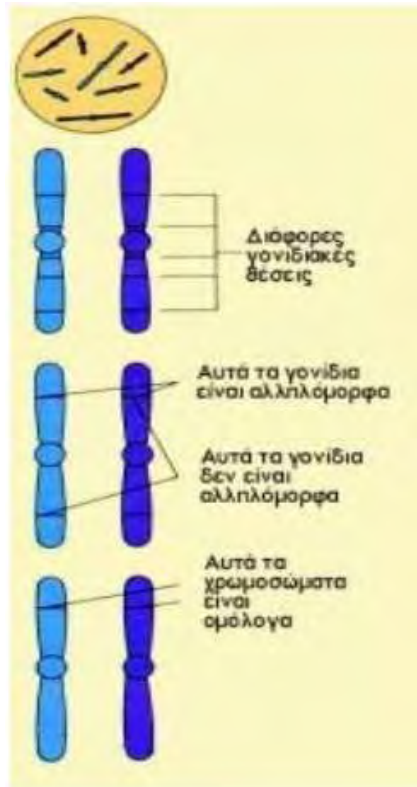
Τέλος, αρκετά **γενετικά σύνδρομα** μπορούν να συνοδεύονται από σακχαρώδη διαβήτη (π.χ Σύνδρομο Rabson–Mendenhall, Σύνδρομο Cushing, Σύνδρομο Down, Σύνδρομο Klinefelter, Σύνδρομο Turner, Σύνδρομο Wolfram, Σύνδρομο Laurence–Moon–Biedl, Σύνδρομο Prader–Willi).

Ο **σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2** είναι αυτός που θα μας απασχολήσει στη συγκεκριμένη εργασία, όπως έχει ήδη αναφερθεί.

## 2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

### 2.1 Βασικές έννοιες γενετικής

**Αλληλόμορφα γονίδια:** Τα αλληλόμορφα γονίδια είναι γονίδια που δρουν για το ίδιο γνώρισμα αλλά με διαφορετικό τρόπο<sup>19</sup>. Για παράδειγμα αν υπάρχουν δύο διαφορετικά γονίδια που ελέγχουν το χρώμα των ματιών, τότε μεταξύ τους είναι αλληλόμορφα. Τα αλληλόμορφα γονίδια βρίσκονται στην ίδια θέση των ομόλογων χρωμοσωμάτων. Το ζευγάρι των αλληλόμορφων συνιστά τον γονότυπο ενώ η έκφρασή τους συνιστά τον φαινότυπο. Συνήθως από τα δύο αλληλόμορφα, το ένα επικρατεί έναντι του άλλου και καθορίζει τον φαινότυπο. Αυτό το αλληλόμορφο ονομάζεται επικρατές και το άλλο υπολειπόμενο. Το επικρατές συνήθως το συμβολίζουμε με ένα κεφαλαίο γράμμα, ενώ το υπολειπόμενο με ένα μικρό. Αν "A" είναι το επικρατές αλληλόμορφο που ελέγχει ένα χαρακτηριστικό, το υπολειπόμενο θα συμβολίζεται με "a". Οι δυνατοί γονότυποι από τον συνδυασμό των δύο αλληλόμορφων είναι τρεις (AA, Aa, aa) και οι δυνατοί φαινότυποι δύο (A, a). Ο φαινότυπος A εκφράζεται σε δύο περιπτώσεις, για γονότυπο AA και για γονότυπο Aa αφού το A είναι επικρατές. Αντίθετα ο φαινότυπος a εκφράζεται μόνο όταν έχουμε γονότυπο aa.



Εικόνα 8. Αλληλόμορφα γονίδια

Τα γονίδια μιας γενετικής θέσης που καθορίζουν ένα χαρακτήρα και είναι περισσότερα από δύο ονομάζονται **πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια**. Για παράδειγμα στον άνθρωπο τα γονίδια που καθορίζουν τις ομάδες αίματος στο σύστημα ABO, είναι πολλαπλά αλληλόμορφα και είναι τρία: τα  $I^A$ ,  $I^B$  και  $i^0$ . Τα γονίδια  $I^A$  και  $I^B$  είναι συνεπικρατή, επειδή εκφράζονται και τα δύο στο φαινότυπο ενός ετερόζυγου ατόμου. Το γονίδιο  $i^0$  είναι υπολειπόμενο ως προς τα γονίδια  $I^A$  και  $I^B$  και επομένως υπάρχουν τέσσερις πιθανοί φαινότυποι του χαρακτήρα ομάδα αίματος, οι A, B, AB και O.

**Γονότυπος:** Γονότυπος (genotype) καλείται το σύνολο των γονιδίων ενός οργανισμού, δηλαδή το σύνολο των αλληλομόρφων που απαρτίζουν το DNA του<sup>19</sup>. Με αυτόν τον ορισμό, είναι ένα μέγεθος το οποίο δεν είναι παρατηρήσιμο. Για λόγους πρακτικούς ο γονότυπος μπορεί να αναφέρεται στη γονιδιακή σύσταση του οργανισμού σε έναν ή περισσότερους γονιδιακούς

τόπους, οι οποίοι συνήθως αφορούν μια συγκεκριμένη ιδιότητα του οργανισμού.

**Γενετικός τόπος:** Γενετικός τόπος ονομάζεται μια συγκεκριμένη θέση στην αλυσίδα του DNA, όπου εδρεύει ένα γονίδιο<sup>19</sup>.

**Φαινότυπος:** Φαινότυπος είναι όλα τα μορφολογικά, παραγωγικά, ηθολογικά κ.λ.π. χαρακτηριστικά που εκδηλώνει ένας οργανισμός σε μία δεδομένη στιγμή, δηλαδή το μέρος του γονότυπου του οργανισμού το οποίο μπορούμε (άμεσα ή έμμεσα) να παρατηρήσουμε<sup>19</sup>. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι ο φαινότυπος ενός ατόμου εξαρτάται:

- Από τον γονότυπο που κληρονόμησε από τους γονείς του
- Από μη κληρονομικές περιβαλλοντικές επιδράσεις
- Από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο προηγούμενων
- Κάποιοι συνυπολογίζουν και την τυχαία διαφοροποίηση

Έτσι, δύο άτομα με τον ίδιο ακριβώς γονότυπο, αλλά μεγαλωμένοι σε διαφορετικά περιβάλλοντα, πιθανότατα θα διαφέρουν στον φαινότυπό τους.



Εικόνα 9. Παράγοντες στην έκφραση του φαινοτύπου

**Μετάλλαξη ή μεταλλαγή:** Μετάλλαξη (ή μεταλλαγή) χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε αλλαγή στην ποσότητα ή την δομή του γενετικού υλικού ενός οργανισμού<sup>19</sup>. Οι αλλαγές αυτές είναι μόνιμες, κληρονομήσιμες και μπορεί να οδηγούν σε αλλαγή του φαινοτύπου. Οι μεταλλάξεις αφορούν μετατροπές της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας ενός γονιδίου, ομάδας γονιδίων ή ολόκληρων χρωματοσωμάτων.

Οι τύποι των μεταλλάξεων συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Τύπος μετάλλαξης	Περιγραφή
Σημειακή μετάλλαξη	Αλλαγή βάσης
Μετάλλαξη αφαίρεσης	Αφαίρεση μιας ή περισσότερων βάσεων
Μετάλλαξη παρεμβολής	Προσθήκη μιας ή περισσότερων βάσεων
Μετάλλαξη αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης (frameshift)	Αφαίρεση ή παρεμβολή ενός αριθμού βάσεων που δεν μπορεί να διαιρεθεί με το 3
Μετάλλαξη αναστροφής	Αναστροφή μιας ακολουθίας βάσεων (μπορεί να προκαλέσει αλλαγή του πλαισίου ανάγνωσης)

**Πολυμορφισμός:** Ο πολυμορφισμός (γενετικός ή φαινοτυπικός), είναι μια παραλλαγή στον πληθυσμό (γενετική ή φαινοτυπική) με συχνότητα μεγαλύτερη από κάποια αυθαίρετη τιμή, συνήθως μεγαλύτερη του 1%. Με άλλα λόγια, πρόκειται για πολλαπλές μορφές ενός γονιδίου που υπάρχουν σε ένα άτομο ή σε μια ομάδα ατόμων και που οι διαφορετικές αυτές μορφές του γονιδίου, καθώς και η ποικιλία στην έκφρασή του, είναι παρατηρήσιμες μέσα σε μια μεγάλη δειγματοληψία.





Εικόνα 10. Πολυμορφισμός στην *Anemone coronaria*



Εικόνα 11. Πολυμορφισμός στο φίδι *Lampropeltis getulus*

**Ομοζυγώτης/Ετεροζυγώτης:** Ένα άτομο το οποίο φέρει δύο όμοια αλληλόμορφα για έναν γενετικό πολυμορφισμό ορίζεται ως **ομοζυγώτης**, ενώ ένα άτομο που φέρει δυο διαφορετικά αλληλόμορφα για έναν γενετικό πολυμορφισμό ορίζεται ως **ετεροζυγώτης**.

## Πολυμορφισμός και μετάλλαξη

Θα μπορούσε πολύ εύκολα να γίνει σύγχυση μεταξύ πολυμορφισμού και μετάλλαξης. Παρόλες τις ομοιότητές τους όμως, δεν πρόκειται για έννοιες ταυτόσημες.

Οι μεταλλάξεις από μόνες τους δεν ταξινομούνται ως πολυμορφισμοί. Ένας πολυμορφισμός είναι μια παραλλαγή αλληλουχίας DNA που είναι κοινή στον πληθυσμό. Μια μετάλλαξη, από την άλλη πλευρά, είναι οποιαδήποτε αλλαγή σε μια ακολουθία DNA μακριά από την κανονική (υπονοώντας ότι υπάρχει ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο που εκφράζεται μέσα στον πληθυσμό και ότι η μετάλλαξη αλλάζει αυτό το κανονικό αλληλόμορφο σε μια σπάνια και μη φυσιολογική παραλλαγή).

Στους πολυμορφισμούς, υπάρχουν δύο ή περισσότερες εξίσου αποδεκτές εναλλακτικές παραλλαγές και για να ταξινομηθούν ως πολυμορφισμός, το λιγότερο κοινό αλληλόμορφο πρέπει να έχει συχνότητα 1% ή περισσότερο στον πληθυσμό<sup>20</sup>. Εάν η συχνότητα είναι χαμηλότερη από αυτή, το αλληλόμορφο θεωρείται μετάλλαξη. Με άλλα λόγια, η συχνότητα εμφάνισης είναι η ειδοποιός διαφορά μεταξύ πολυμορφισμού και μετάλλαξης.

## 2.2 Είδη πολυμορφισμών του DNA

Οι πολυμορφισμοί διακρίνονται σε:

- **Μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς** ( Single Nucleotide Polymorphisms – SNPs)
- **Βραχείες διαδοχικές επαναλήψεις** (Short Tandem Repeats – STRs)
- **Ποικίλου αριθμού διαδοχικές επαναλήψεις** ( Variable Number of Tandem Repeats - VNTRs)

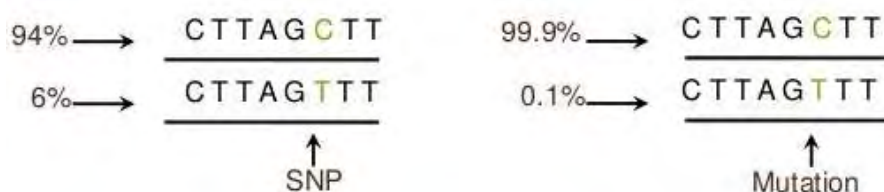
## 2.2.1 Μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (SNPs)

Ο μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός ή **SNP** είναι εκείνος ο πολυμορφισμός που προκαλείται από την αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου σε μια συγκεκριμένη θέση στην αλληλουχία του DNA από ένα άλλο. Πρόκειται δηλαδή, για μια γενετική παραλλαγή όπου ένα μοναδικό νουκλεοτίδιο μεταβάλλεται και διατηρείται από γενιά σε γενιά στην πορεία της κληρονομικότητας.

Χρωμόσωμα 1: A A C C A T A T C ... C G A T T ...  
Χρωμόσωμα 2: A A C C C T A T C ... C A A T T ...  
Χρωμόσωμα 3: A A C C A T A T C ... C A A T T ...

Τα SNPs έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά:

- Έχουν πολύ μεγάλη συχνότητα (1/350 bp).
- Είναι υπεύθυνα για το 90-95% της ποικιλομορφίας του ανθρώπινου DNA.
- Δημιουργούνται από αυθόρμητες μεταλλαγές κατά την αντιγραφή.
- Χωρίζονται σε κωδικούς (cSNPs) και μη κωδικούς SNPs, ανάλογα με το αν η αντικατάσταση του νουκλεοτιδίου έγινε σε κωδική ή μη κωδική περιοχή του DNA.
- Κάθε γονίδιο έχει περίπου 4 cSNPs.
- Είναι πιο σταθερά από τους μικροδορυφόρους.
- Τυποποιούνται εύκολα και γρήγορα σε μεγάλη κλίμακα.

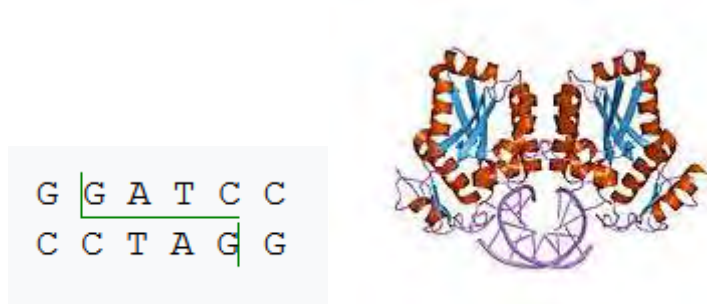


Εικόνα 12. Διάκριση μεταξύ SNP και μετάλλαξης

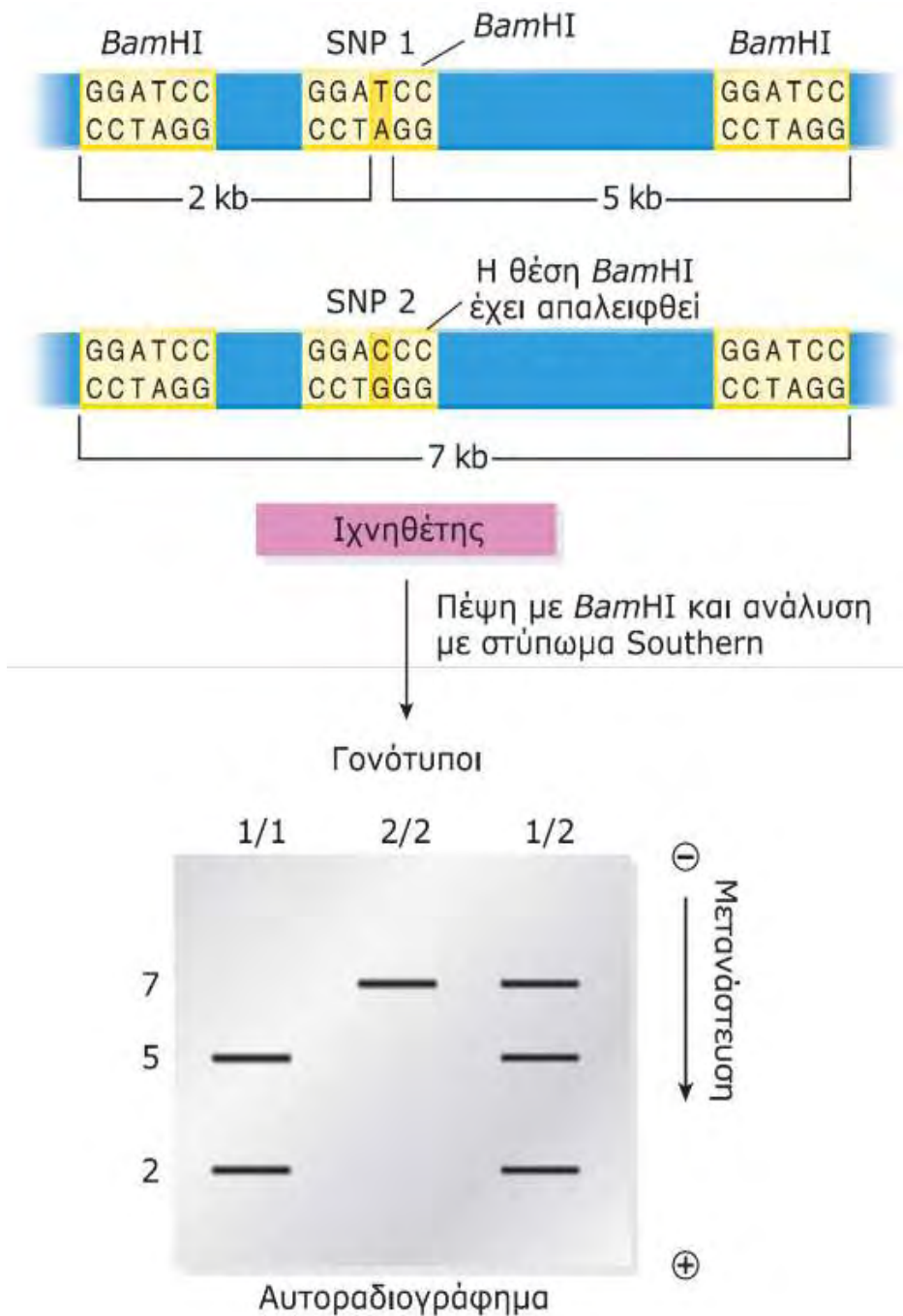
Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί μπορεί να επηρεάζουν θέσεις περιορισμού, οπότε η ανάλυσή τους γίνεται με **στύπωμα Southern**, ή με **αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)**<sup>24</sup>. Αν δεν υπάρχουν πολυμορφικές θέσεις περιορισμού, η γονοτύπηση ενός SNP γίνεται μέσω υβριδοποίησης με ένα αλληλομορφοειδικό ολιγονουκλεοτίδιο.

### **Ανάλυση SNP που επηρεάζουν θέσεις περιορισμού με στύπωμα Southern**

Για την πρώτη περίπτωση που αφορά την ανάλυση με στύπωμα Southern, ένα χρωμοσωμικό τμήμα μεγέθους 7 kb φέρει θέσεις περιοριστικής ενδονουκλεάσης *Bam*HI σε κάθε άκρο του. Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα, το αλληλόμορφο SNP 1 έχει μια τρίτη θέση *Bam*HI, σε απόσταση 2 kb από το αριστερό άκρο. Στο αλληλόμορφο SNP 2, ένα ζεύγος βάσεων TA έχει αντικατασταθεί από ένα ζεύγος βάσεων CG, με αποτέλεσμα η τρίτη θέση *Bam*HI να έχει εξαλειφθεί. Προκειμένου να γονοτυπηθεί ο γενετικός αυτός τύπος, το DNA πέπτεται με *Bam*HI και ακολουθεί στύπωμα Southern και υβριδοποίηση με τον ιχνηθέτη που υποδεικνύεται.



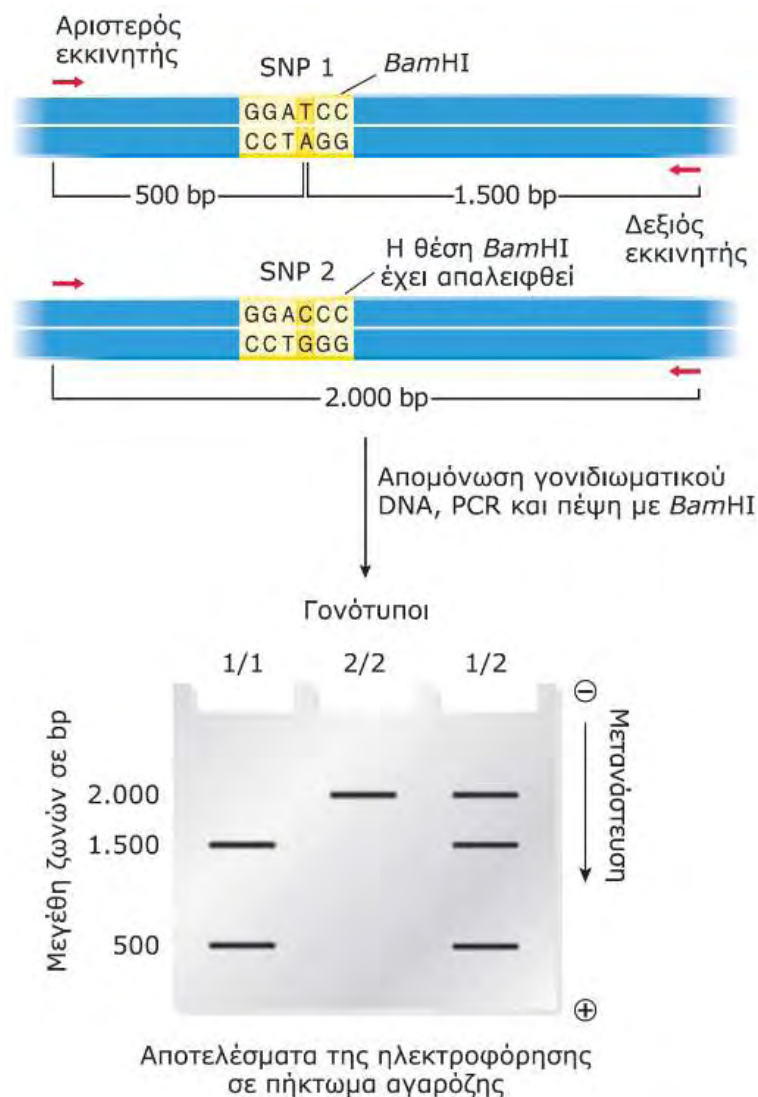
*Εικόνα 12. Η θέση αναγνώρισης και η δομή της BamHI*



Εικόνα 13. Ανάλυση SNP που επηρεάζουν θέσεις περιορισμού με στύπωμα Southern. Τα 1/1 και 2/2 αφορούν ομοζυγώτες και το 1/2 αφορά ετεροζυγώτες

## Ανάλυση SNP που επηρεάζουν θέσεις περιορισμού με PCR

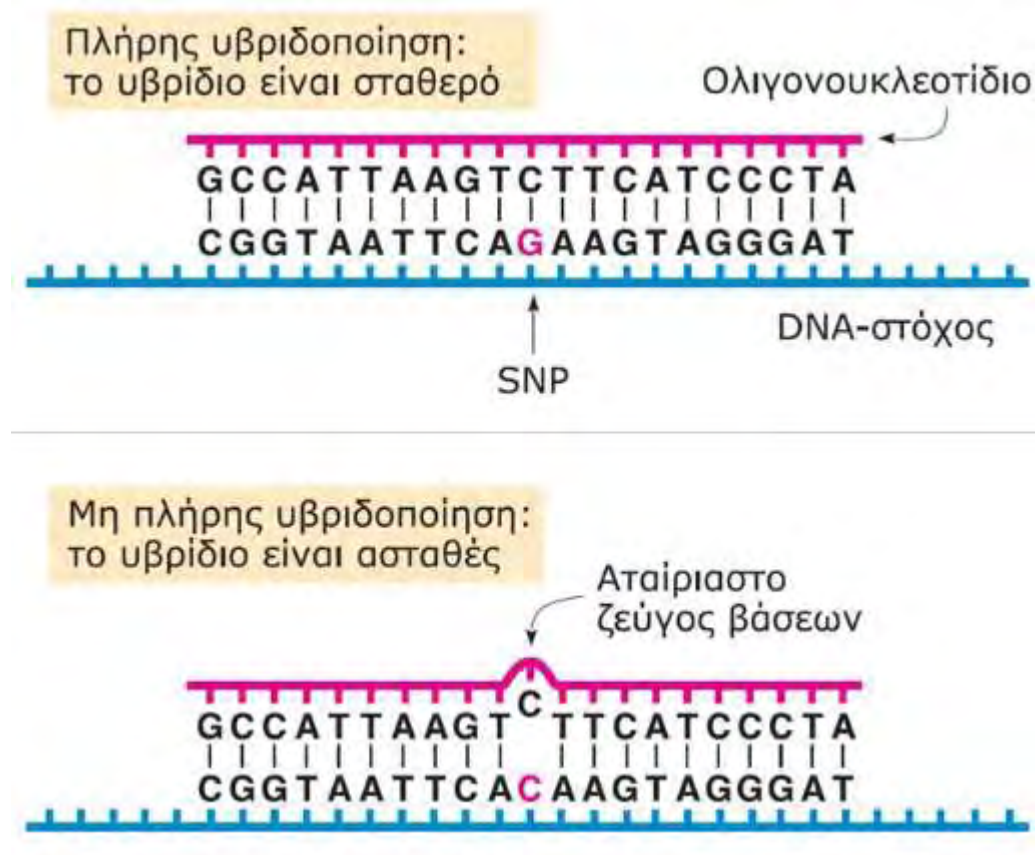
Για τη δεύτερη περίπτωση που αφορά ανάλυση με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, ένα χρωμοσωμικό τμήμα μεγέθους 2 kb φέρει έναν SNP σε απόσταση 500 bp από το αριστερό του άκρο<sup>23</sup>. Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα, στο αλληλόμορφο SNP1 υπάρχει μια θέση *Bam*HI η οποία απουσιάζει από το αλληλόμορφο SNP2, επειδή ένα ζεύγος βάσεων TA έχει αντικατασταθεί από ένα ζεύγος βάσεων CG. Προκειμένου να γονοτυπηθεί ο γενετικός αυτός τύπος, πραγματοποιείται πρώτα PCR, χρησιμοποιώντας τους εκκινητές που υποδεικνύονται με βέλη, ακολουθεί πέψη με *Bam*HI των προϊόντων της αντίδρασης και τελικά ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.



Εικόνα 14. Ανάλυση SNP που επηρεάζουν θέσεις περιορισμού με PCR. Τα 1/1 και 2/2 αφορούν ομοζυγώτες και το 1/2 αφορά ετεροζυγώτες

## Γονοτύπηση ενός SNP μέσω υβριδοποίησης με ένα αλληλομορφοειδικό ολιγονουκλεοτίδιο

Απουσία πολυμορφικών θέσεων περιορισμού, ένα ολιγονουκλεοτίδιο απόλυτα συμπληρωματικό προς το πιο κοινό αλληλόμορφο, υβριδοποιείται με το DNA-στόχο υπό συνθήκες που ευνοούν το ζευγάρι μόνο μεταξύ πλήρως συμπληρωματικών μορίων. Αν γίνει υβριδοποίηση, σημαίνει ότι το DNA-στόχος έχει το πιο κοινό αλληλόμορφο. Αν δεν γίνει υβριδοποίηση, σημαίνει ότι ανάμεσα στο DNA-στόχο και τον ιχνηθέτη υπάρχει ένα αταίριαστο ζεύγος βάσεων και επομένως το DNA-στόχος δε φέρει το πιο κοινό αλληλόμορφο.



Εικόνα 15. Γονοτύπηση ενός SNP μέσω υβριδοποίησης με ένα αλληλομορφικό ολιγονουκλεοτίδιο

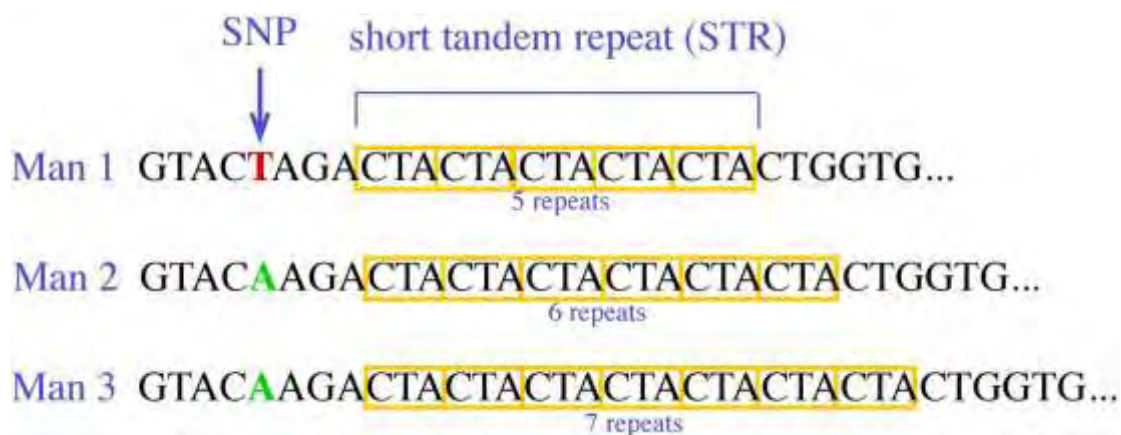
## 2.2.2 Βραχείες διαδοχικές επαναλήψεις (STRs)

Η βραχεία διαδοχική επανάληψη ή **STRs** είναι σύντομη ακολουθία DNA, συνήθως μήκους 2-5 ζευγών βάσεων, η οποία επαναλαμβάνεται πολλές φορές με τρόπο «κεφαλής-ουράς»<sup>21</sup>. Δηλαδή η ακολουθία 16 bp του "GATAGATAGATAGATA" θα αντιπροσωπεύει 4 αντίγραφα κεφαλής ουράς του τετραμερούς "GATA" .

Οι πολυμορφισμοί σε STRs οφείλονται στον διαφορετικό αριθμό αντιγράφων του επαναλαμβανόμενου στοιχείου που μπορούν να εμφανιστούν σε έναν πληθυσμό ατόμων. Ένα πολύ χαρακτηριστικό παράδειγμα STR είναι τα τελομερή, περιοχές του DNA, χωρίς μεγάλη πληροφοριακή αξία, που βρίσκονται στο τέλος των χρωμοσωμάτων και ουσιαστικά προστατεύουν τη χρήσιμη γενετική πληροφορία που φέρει το χρωμόσωμα από τη φθορά.

Μερικά χαρακτηριστικά των STRs είναι:

- Επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες 2-6 bp
- Επαναλαμβάνονται από λίγες έως 100 φορές
- Πολλές φορές υπάρχει ποικιλία στον αριθμό των επαναλήψεων σε κάποιες STRs
- Λόγω πολύ μικρού μεγέθους ανιχνεύονται με PCR

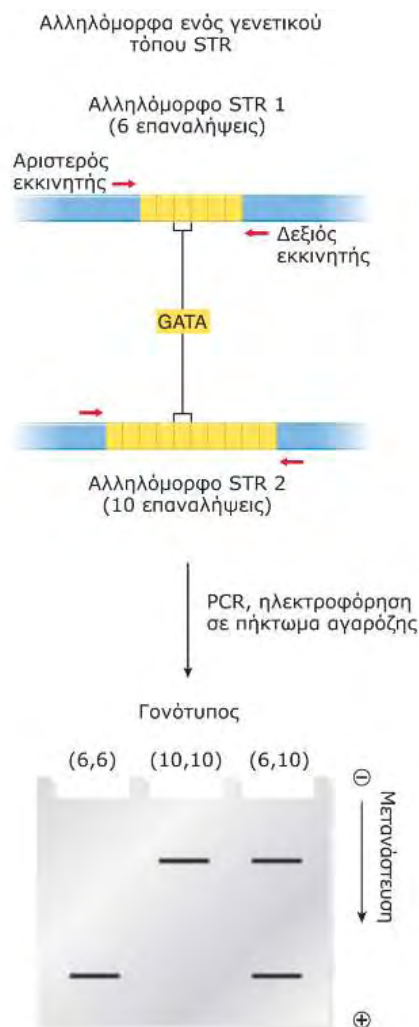


Εικόνα 16. Διάκριση μεταξύ SNP και STR



Για τη γονοτύπηση ενός STR, απομονώνεται γονιδιωματικό DNA και πραγματοποιείται PCR με εκκινητές που περιβάλλουν το γενετικό τόπο STR. Τα μεγέθη των προϊόντων της PCR προσδιορίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.

Στην εικόνα που ακολουθεί, το αλληλόμορφο STR1 έχει 6 επαναλήψεις GATA, ενώ το αλληλόμορφο STR2 έχει 10. Στο κάτω μέρος της εικόνας παρουσιάζονται τα αναμενόμενα πρότυπα ζωνών στο πήκτωμα για τους τρεις πιθανούς γονοτύπους: Το (6,6) είναι άτομο ομόζυγο ως προς το αλληλόμορφο με τις έξι επαναλήψεις, το (10,10) ομόζυγο ως προς εκείνο με τις 10 και (6,10) είναι ετερόζυγο άτομο. Στην πραγματικότητα, η ποικιλομορφία ως προς τον αριθμό των επαναλήψεων σε ένα γενετικό τόπο STR είναι συνήθως μεγάλη, υπάρχουν δηλαδή πολλά διαφορετικά αλληλόμορφα.



Εικόνα 17. Γονοτύπηση ενός γενετικού τόπου STR, με PCR

### 2.2.3 Ποικίλου αριθμού διαδοχικές επαναλήψεις (VNTRs)

Οι ποικίλου αριθμού διαδοχικές επαναλήψεις, ή αλλιώς **VNTRs**, είναι θέσεις σε ένα γονιδίωμα όπου μια σύντομες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων οργανώνονται ως επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες. Αυτές μπορούν να βρεθούν σε πολλά χρωμοσώματα και συχνά παρουσιάζουν μεταβολές στο μήκος (αριθμός επαναλήψεων) μεταξύ των ατόμων<sup>22</sup>. Κάθε παραλλαγή ενεργεί ως κληρονομικό αλληλίο, επιτρέποντάς τους να χρησιμοποιηθούν για προσωπική ή γονική αναγνώριση. Η ανάλυσή τους είναι χρήσιμη στην έρευνα της γενετικής και της βιολογίας, στην εγκληματολογία και στην αποτύπωση δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA.

Βασικά χαρακτηριστικά των VNTRs είναι:

- Επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μήκους 7 bp - δεκάδες bp
- Επαναλαμβάνονται λιγότερο από τα STRs
- Είναι μοναδική ή πολλαπλοί γενετικοί τόποι
- Ανιχνεύονται με μονοτοπικούς ή πολυτοπικούς ιχνηθέτες αντίστοιχα
- Λόγω μεγάλου μεγέθους ανιχνεύονται με πέψη/Southern



*Εικόνα 18. Παραλλαγές μήκους αλλήλων VNTR (D1S80) σε 6 άτομα*

Στην τρέχουσα εργασία ασχολούμαστε με 10 SNPs που σχετίζονται με την παχυσαρκία και με 10 SNPs που σχετίζονται με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

## 2.3 Κατάταξη παχυσαρκίας με βάση τη γενετική της

Όσον αφορά τη γενετική της παχυσαρκίας έχουμε την εξής κατάταξη<sup>25</sup>:

α) **μονογονιδιακή παχυσαρκία**, δηλαδή στην παχυσαρκία που οφείλεται σε μια μόνο μετάλλαξη ενός γονιδίου. Τέτοιου είδους πολυμορφισμοί είναι ικανοί να προκαλέσουν παχυσαρκία σε ένα περιβάλλον όπου αφθονεί η τροφή. Οι ασθενείς με μονογονιδιακή παχυσαρκία εκδηλώνουν ακραίους φαινότυπους, με έναρξη της παχυσαρκίας από την παιδική ηλικία, η οποία συχνά συνοδεύεται και με διαταραχές της συμπεριφοράς, της ανάπτυξης και του ενδοκρινικού συστήματος

β) **συνδρομική παχυσαρκία**, η οποία περιλαμβάνει Μεντελικές διαταραχές στις οποίες οι ασθενείς είναι κλινικά παχύσαρκοι και επιπλέον χαρακτηρίζονται από νοητική υστέρηση, δυσμορφίες και συγκεκριμένες αναπτυξιακές διαταραχές οργάνων

γ) **πολυγονιδιακή παχυσαρκία**, η οποία είναι η πιο συνηθισμένη μορφή παχυσαρκίας και η οποία αφορά την πλειοψηφία των παχύσαρκων παιδιών και ενηλίκων και εκδηλώνεται όταν το γενετικό προφίλ ενός ατόμου είναι επιρρεπές σε ένα περιβάλλον που προάγει την κατανάλωση ενέργειας έναντι των ενεργειακών δαπανών.

### 2.3.1 Μονογονιδιακή παχυσαρκία

Παρότι αυτός ο τύπος παχυσαρκίας είναι σπάνιος, αποτέλεσε αφετηρία για τη γενετική μελέτη. Είναι γνωστό ότι οι μεταλλάξεις γονιδίων, που κωδικοποιούν πρωτείνες οι οποίες συμβάλλουν στη ρύθμιση της όρεξης, είναι υπεύθυνες για Μεντελικές διαταραχές, που ο πιο συχνός φαινοτύπος τους είναι η παχυσαρκία<sup>26</sup>. Η διερεύνηση των παραγόντων για κάποιες απ' αυτές τις μονογονιδιακές μορφές παχυσαρκίας έχει υποβοηθηθεί από πειράματα σε ποντίκια, όπου κλωνοποιήθηκαν γονίδια σε συγκεκριμένες θέσεις που σχετίζονται με την παχυσαρκία<sup>27</sup>, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που κωδικοποιούν την λεπτίνη, τον υποδοχέα λεπτίνης (LEPR), την

καρβοξυπεπτιδάση E (υπεύθυνη για την επεξεργασία των προ-ορμονών, όπως η προ-ινσουλίνη) και την ορεξιγόνο πρωτεΐνη agouti<sup>29</sup>. Ο στοχευμένος γενετικός χειρισμός έχει επίσης εδραιώσει τον ρυθμιστικό ρόλο των μορίων όπως του υποδοχέα μελανοκορτίνης (MC4R)<sup>30,31</sup>, που είναι ζωτικής σημασίας στο μονοπάτι της μελανοκορτίνης, και την ορεξιγόνο πρωτεΐνη AGRP (agouti-related protein)<sup>28</sup>. Αυτές οι ανακαλύψεις ακολουθήθηκαν γρήγορα από την αναγνώριση σπάνιων μονογονιδιακών υπολειπόμενων μορφών ανθρώπινης παχυσαρκίας που προκαλούνται από μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν την λεπτίνη, τον υποδοχέα της (LEPR), την προ-ορμόνη convertase 1 (ένα ενδοπεπτιδίο που εμπλέκεται στην επεξεργασία προ-ορμονών συμπεριλαμβανομένης της ινσουλίνης και του POMC), τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα φαινότυπο αυξημένης πρόσληψης ενέργειας σε σχέση με την κατανάλωσή της.

Η έλλειψη λεπτίνης ήταν η πρώτη αιτία μονογονιδιακής παχυσαρκίας που βρέθηκε σε ασθενή. Στη συνέχεια, πολυμορφισμοί άλλων γονιδίων στο μονοπάτι λεπτίνης-μελανοκορτίνης αναγνωρίστηκαν ως υπαίτιοι για παχυσαρκία. Η λεπτίνη και άλλα γονίδια στο μονοπάτι της κωδικοποιούν πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την όρεξη. Ο σημαντικός ρόλος της λεπτίνης σε κάποιες μονογονιδιακές μορφές παχυσαρκίας φάνηκε και από την αποτελεσματικότητα της αντικατάστασής της σε ένα εξαιρετικά παχύσαρκο παιδί με εκ γενετής ανεπάρκεια στη λεπτίνη<sup>32</sup>. Σε αυτό το 9χρονο παιδί, η καθημερινή υποδόρια ένεση ανασυνδιασμένης ανθρώπινης λεπτίνης για ένα χρόνο οδήγησε σε πλήρη αναστροφή της παχυσαρκίας με συνεχή απώλεια λίπους. Ωστόσο, λίγες οικογένειες με ακραίες μορφές παχυσαρκίας σε μικρές ηλικίες έχουν μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια. Επιπλέον μεταλλάξεις σε τρία γονίδια (SIM1, BDNF και NTRK2) που συμμετέχουν στη νευρική ανάπτυξη, φαίνεται να προκαλούν σπάνια μονογονιδιακή παχυσαρκία<sup>33</sup>.

Οι πιο συχνές αυτοσωμικές-επικρατείς μορφές παχυσαρκίας, προκαλούνται από μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα 4 μελανοκορτίνης (MC4R). Η έλλειψη του MC4R οδηγεί στην πιο κοινή μονογονιδιακή μορφή παχυσαρκίας που έχει αναγνωριστεί μέχρι σήμερα<sup>34</sup>. Παρουσιάζεται στο 1-6% των παχύσαρκων ατόμων από διαφορετικές εθνικότητες με μεγαλύτερη επικράτηση σε περιπτώσεις με αυξημένη έλλειψη και με έναρξη παχυσαρκίας στη νεαρή ηλικία. Σε παιδιά με μεταλλάξεις στον

MC4R ο βαθμός της παχυσαρκίας και της υπερφαγίας συσχετίζεται με τον βαθμό της εξασθένησης του σήματος του MC4R, όμως η συσχέτιση αυτή εξαφανίζεται σε ενήλικες που φέρουν την μετάλλαξη, που δεν μπορούν φαινοτυπικά να ξεχωριστούν από τους παχύσαρκους μη φέροντες τη μετάλλαξη. Το χαρακτηριστικό έντονο αίσθημα της πείνας κατά την παιδική ηλικία των ασθενών με έλλειψη MC4R φαίνεται να ελαττώνεται στην ενηλικίωση και τα επίπεδα της υπερινσουλιναϊμίας (hyperinsulinaemia) γίνονται επίσης μικρότερα<sup>35</sup>. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι, ποντίκια με έλλειψη MC4R δεν ήταν υπερφαγικά όταν ακολούθησαν δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά, ενώ η υπερφαγία παρατηρείται έπειτα από έναρξη διαίτας με αυξημένα λιπαρά, υποδεικνύοντας την αλληλεπίδραση γονιδίων-περιβάλλοντος. Παρότι είναι δύσκολο να εκτιμηθεί για τους ανθρώπους, τέτοιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα γονίδια που εμπλέκονται στον έλεγχο της πρόσληψης τροφής ίσως συμβάλουν στην κατανόηση της αύξησης της παιδικής παχυσαρκίας η οποία έχει εμφανιστεί τα τελευταία 20 χρόνια.

### 2.3.2 Συνδρομική παχυσαρκία

Τουλάχιστον 20 σπάνια σύνδρομα που προκαλούνται από διακριτές γενετικές ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες που είναι αυτοσωμικές και συνδέονται με το χρωμόσωμα X ( X-linked), χαρακτηρίζονται από παχυσαρκία<sup>36</sup>. Τα περισσότερα από αυτά διακρίνονται από την παρουσία νοητικής καθυστέρησης. Ίσως είναι δύσκολο να προσδιοριστεί η προέλευση της παχυσαρκίας σε παιδιά με τέτοια σύνδρομα, τα οποία συχνά ζουν σε ιδρύματα στα οποία η υπερβολική εναπόθεση λίπους μπορεί να οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ωστόσο, τουλάχιστον τέσσερα σύνδρομα, φαίνεται να έχουν ως κοινό την εξαιρετική υπερφαγία και/ή άλλα σημάδια δυσλειτουργίας του υποθαλάμου που υποδεικνύουν την προέλευση από το επίπεδο του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Το πιο συχνό από αυτά τα σύνδρομα (1 στις 25.000 γεννήσεις) είναι το σύνδρομο Prader–Willi (Prader–Willi syndrome-PWS) μια αυτοσωμική-επικρατής

διαταραχή που χαρακτηρίζεται από παχυσαρκία, υπερφαγία, μειωμένη εμβρυική δραστηριότητα, μυική υποτονία, νοητική καθυστέρηση, μικρό ύψος και υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό. Συνήθως προκαλείται από μια πατρικά κληρονομούμενη έλλειψη της χρωμοσωμικής περιοχής 15q11-2q12, και λιγότερο συχνά από μητρική μονογονεϊκή δισωμία<sup>37</sup>. Σε σπάνιες περιπτώσεις προκαλείται από ελάττωμα που επηρεάζει την αποτύπωση σε αυτό το χρωμόσωμα. Η αιτία της υπερφαγίας στο PWS παραμένει άγνωστη, παρότι οι φαινότυποί του συνδέονται με εξασθενημένη λειτουργία του υποθαλάμου προκαλώντας διάφορες ενδοκρινικές ανωμαλίες. Θεωρείται ότι η αυξημένη έκκριση του πεπτιδίου της γρελίνης που παρατηρείται στο PWS αυξάνει την όρεξη αλληλεπιδρώντας με τους POMC/CART και NPY υποθαλαμικούς νευρώνες<sup>38</sup>. Η απώλεια του γονιδίου SIM1 (single minded homologue 1) έχει συνδεθεί με την υπερφαγία στη συνδρομική παχυσαρκία<sup>39</sup>. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μεταγραφικό παράγοντα που είναι απαραίτητος για τη διαφοροποίηση των νευρώνων στους πυρήνες του υποθαλάμου και μετέχει σε καταβολικά μονοπάτια του υποδοχέα 4 της μελανοκορτίνης. Μια εκ νέου ισοροπημένη μετατόπιση μεταξύ των χρωμοσωμικών περιοχών 1p22.1 και 6q16.2 (διακόπτεται η συνέχεια του γονιδίου SIM1) και παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις προκαλούν παχυσαρκία και αναπτυξιακή καθυστέρηση<sup>40</sup>, φαινότυπο παρόμοιο με εκείνον του συνδρόμου PWS ή μια μορφή πρώιμης παχυσαρκίας που σχετίζεται με αυξημένη πρόσληψη τροφής, όμοια με την υπερφαγία που παρουσιάστηκε σε αντίστοιχη μελέτη σε ποντίκια.

Το σύνδρομο του Ψευδο-υποπαραθυρεοειδισμού τύπου 1 A (Pseudohypoparathyroidism type 1A-PHP1A) οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου GNAS1 που κληρονομείται από τη μητέρα, το οποίο κωδικοποιεί την α-υπομονάδα της G πρωτεΐνης. Οι διαταραχές στην πρόσληψη τροφής στους ασθενείς με αυτό το σύνδρομο, πιθανότατα οφείλεται στην τελική έκφραση της G πρωτεΐνης στο δίκτυο του υποθαλάμου που ρυθμίζει το ενεργειακό ισοζύγιο και συμπεριλαμβάνει αρκετούς υποδοχείς των G-πρωτεϊνών<sup>41</sup>.

Η προέλευση της παχυσαρκίας είναι πιο πολύπλοκη στο σύνδρομο Bardet–Biedl (Bardet–Biedl syndrome-BBS) το οποίο χαρακτηρίζεται από έξι κύρια χαρακτηριστικά: ROD-CONE DYSTROPHY (ο πιο συχνός φαινότυπος), πολυδακτυλισμός, μαθησιακές δυσκολίες, υπογοναδισμό στα αγόρια, νεφρική

ανεπάρκεια και παχυσαρκία<sup>43</sup>. Στους ασθενείς με BBS η παχυσαρκία εμφανίζεται σε πρώιμα στάδια, συνήθως στα πρώτα χρόνια της ζωής τους. Ωστόσο μια μελέτη σε μετεφηβικούς ασθενείς με BBS βρέθηκε ότι μόνο το 52% ήταν κλινικά παχύσαρκοι<sup>42</sup>. Από τη άλλη, αυτό το σύνδρομο μπορεί να παρουσιάσει έναν ετερογενή φαινότυπο. Μεταλλάξεις σε επτά από τις οκτώ περιοχές των γονιδίων που σχετίζονται με το BBS έχουν ταυτοποιηθεί σε αρκετές γενιές (various pedigrees) αλλά η λειτουργία αυτών των γονιδίων δεν έχει κατανοηθεί πλήρως<sup>44</sup>. Η γενετική βάση του BBS έχει αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα, ωστόσο, η παρουσία κληρονομικότητας τριών αλληλόμορφων έχει παρατηρηθεί σε κάποιες οικογένειες<sup>45</sup>.

Είναι ξεκάθαρο από τα παραπάνω, πως οι μοριακές αιτίες της συνδρομικής παχυσαρκίας είναι πιο πολύπλοκες από τις μονογονιδιακές περιπτώσεις και περισσότερες μελέτες είναι αναγκαίες για τον προσδιορισμό της γενετικής τους βάσης.

### 2.3.3 Πολυγονιδιακή παχυσαρκία

Σε αντίθεση με τη μονογονιδιακή παχυσαρκία, η ανθρώπινη παχυσαρκία φαίνεται να είναι πολυγονιδιακή, χωρίς απλό μοντέλο κληρονομικότητας, ενώ επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες<sup>46</sup>. Το σωματικό βάρος πάντως καθορίζεται κατά 40-70% από γονιδιακούς παράγοντες. Η προδιάθεση στην παχυσαρκία φαίνεται να προκαλείται από μία πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ τουλάχιστον 250 γονιδίων που σχετίζονται με την παχυσαρκία και, ίσως, περιγεννητικών παραγόντων. Στην πολυγονιδιακή παχυσαρκία αρκετές γενετικές παραλλαγές αλληλεπιδρούν με ένα «επικίνδυνο» περιβάλλον. Σε αυτή την περίπτωση κάθε γονίδιο ευαισθησίας, σε ατομικό επίπεδο, θα έχει μόνο μία μικρή επίδραση στο βάρος, και η συσσωρευτική συνεισφορά αυτών των γονιδίων θα γίνει σημαντική μόνο όταν υπάρξει μία αλληλεπίδραση με περιβαλλοντικούς παράγοντες προδιαθέτοντας για τη φαινοτυπική τους έκφραση (υπερπρόσληψη τροφής, μείωση φυσικής δραστηριότητας). Αυτή η υπόθεση συνδέεται με τις συνήθειες παχυσαρκίας. Καθένα από τα γονίδια της παχυσαρκίας πιθανόν να έχει μόνο

μία μικρή συνεισφορά στο σωματικό βάρος, αλλά όλη μαζί η κληρονομούμενη ποικιλομορφία παίζει ένα μεγάλο ρόλο στον καθορισμό του πώς ένα άτομο ανταποκρίνεται στους περιβαλλοντικούς παράγοντες της διαίτας και της φυσικής δραστηριότητας.

Μονογονιδιακές μορφές παχυσαρκίας				
LEP	SIM1	PCSK1		
LEPR	BDNF	MC4R		
POMC	NTRK2	del16p112		
Πολυγονιδιακές μορφές παχυσαρκίας				
FTO	PTER	TNN13K	HMGA1	C12orf51
MC4R	PRL	LRRN6C	RSPO3	TBX15/WARS2
PCSK1	SEC16B	FLJ35779	HOXC13	NFE2L3
CTNBL1	ETV5	SLC39A8	ADAMTS9	GRB14
TMEM18	AIF1	TMEM160	ZNRF3/KREMEN1	DNM3/P1GC
GNPDA2	BDNF	CADM2	N1SCH/STAB1	1TPR2/SSPN
SH2B1	FAIM2	LRP1B	CPEB4	LY86
KCDT15	GPRC5BB	PRKD1	TNKS	SDCCAG8
MTCH2	POMC	MTIF3	TFAP2B	VEGFA
NEGR1	MAP2K5	ZNF608	MSRA	
NPC1	GIPR	PTBP2	LYPLAL1	
MAF	FANCL	TUB	NRXN3	

Εικόνα 19. Γονίδια που ευθύνονται για την εκδήλωση μονογονιδιακών και πολυγονιδιακών μορφών παχυσαρκίας

## 2.4 Βασικά γονίδια πολυγονιδιακής παχυσαρκίας

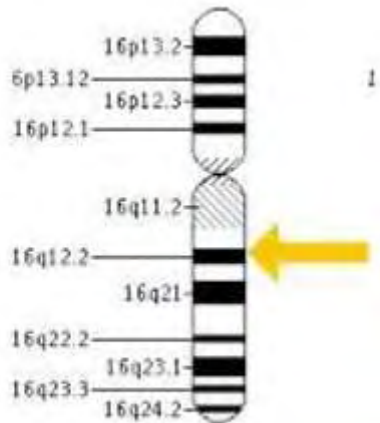
Δύο γονίδια, το **FTO** και **INSIG2**, έχουν εντοπιστεί από σχετικές μελέτες να είναι άμεσα συνδεδεμένα με την κοινή παχυσαρκία. Πολυμορφισμοί στο FTO (γονίδιο σχετικό με λιπώδη μάζα και παχυσαρκία) σχετίζονται με το **BMI (Δείκτης Μάζας Σώματος)** και αυξημένο κίνδυνο παχυσαρκίας. Μελέτες παρουσιάζουν ότι οι πολυμορφισμοί του FTO συνδέονται με αυξημένη πρόσληψη τροφής και κορεσμό καθώς και με μειωμένη λιπολυτική δράση στα λιποκύτταρα<sup>47</sup>. Το δίκτυο συνεργασίας Wellcome Trust Case Control



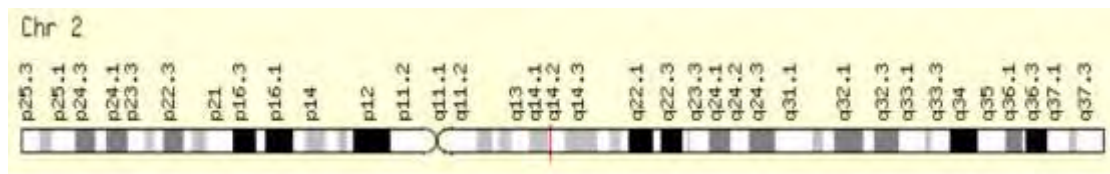
διεξήγαγε έναν γονιδιακό έλεγχο για τον διαβήτη τύπου 2 καταλήγοντας επίσης στην άμεση συσχέτιση του FTO.

Παρόλα αυτά, ρυθμίζοντας το BMI, η σχέση με τον διαβήτη έπαψε να υπάρχει, υποδεικνύοντας ότι υπάρχει σχέση με το BMI και όχι με τον διαβήτη τύπου 2<sup>48</sup>. Παρά το πολύ σημαντικό αυτό αποτέλεσμα, ο πολυμορφισμός στο FTO υπολογίστηκε ότι αφορά μόνο το ~1% της συνολικής κληρονομικότητας του BMI<sup>49</sup>. Η σύνδεση του FTO είχε παρουσιαστεί σε μεγάλες ομάδες παιδιών και ενηλίκων που έχουν μελετηθεί καθώς και σε πιο πρόσφατες έρευνες γονιδιακού ελέγχου για την παχυσαρκία. Το γονίδιο FTO εκφράζεται στον εγκέφαλο και με βάση στοιχεία από μελέτες σε ζώα φαίνεται η έκφραση να γίνεται σε μεγάλο βαθμό στους υποθαλαμικούς πυρήνες οι οποίοι συμμετέχουν στη ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου. Μελέτες τόσο σε ανθρώπους και σε ζώα υποδεικνύουν ότι το γονίδιο πιθανότατα έχει ρόλο στη ρύθμιση της όρεξης, με το υπεύθυνο αλληλόμορφο να συνδέεται με αυξημένη πρόσληψη τροφής και μειωμένη λιπολυτική δράση στα λιποκύτταρα στους ανθρώπους. Μεταξύ ομόζυγων φορέων με πολυμορφισμό του FTO που σχετίζεται με αυξημένο BMI, εκείνοι που ήταν φυσικά πιο ενεργοί παρουσίασαν BMI δύο μονάδες μικρότερο από αυτούς που ακολουθούσαν πιο καθιστική ζωή<sup>50</sup>.

Το INSIG2 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία ρυθμίζει τις πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση λιπαρών οξέων και τη λιπογένεση. Ένας πολυμορφισμός του INSIG2 σχετίζεται με αυξημένο BMI. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι παραλλαγές στον υποδοχέα της μελανοκορτίνης και στον εγκεφαλικό νευροτροφικό παράγοντα BDNF, που έχει ταυτοποιηθεί ότι προκαλούν μονογονιδιακή παχυσαρκία, φαίνεται να συμβάλουν επίσης σε σημαντικό αριθμό περιπτώσεων κοινής παχυσαρκίας. Ο φαινότυπος που συνδέεται με μεταλλάξεις στο INSIG2 εξαρτάται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Σε μια μικρή έρευνα για το γονίδιο INSIG2, η φυσική δραστηριότητα φάνηκε ρυθμίζει την επίδραση του γενετικού πολυμορφισμού στο BMI<sup>51</sup>. Υπάρχουν αρκετές γονιδιακές μεταλλάξεις οι οποίες αν συνδιαστούν προκαλούν αυξημένο κίνδυνο παχυσαρκίας. Η μελέτη αυτών των γονιδίων είναι δύσκολη καθώς περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η φυσική δραστηριότητα και η διατροφή παίζουν ρόλο.



Εικόνα 20. Το γονίδιο *FTO*



Εικόνα 21. Το γονίδιο *INSIG2*

## 2.5 Στρατηγικές μελέτης για την αναγνώριση γονιδίων

Δύο ευρείες στρατηγικές έρευνας έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση γονιδίων που καθορίζουν προδιάθεση<sup>52</sup>. Η πρώτη είναι «γονιδιακός έλεγχος ή κλωνοποίηση γενετικών τόπων» που επιχειρεί να συσχετίσει έκφραση γονιδίων ή δεικτών με φαινότυπους σε ξεχωριστούς πληθυσμούς. Αυτή η προσέγγιση έχει σχεδιαστεί για την αναγνώριση πολυμορφικών γονιδίων μεταξύ δύο στελεχών ποντικού και μπορεί να εξηγήσει το διαφορετικό υπό μελέτη φαινότυπο. Η δεύτερη στρατηγική είναι η

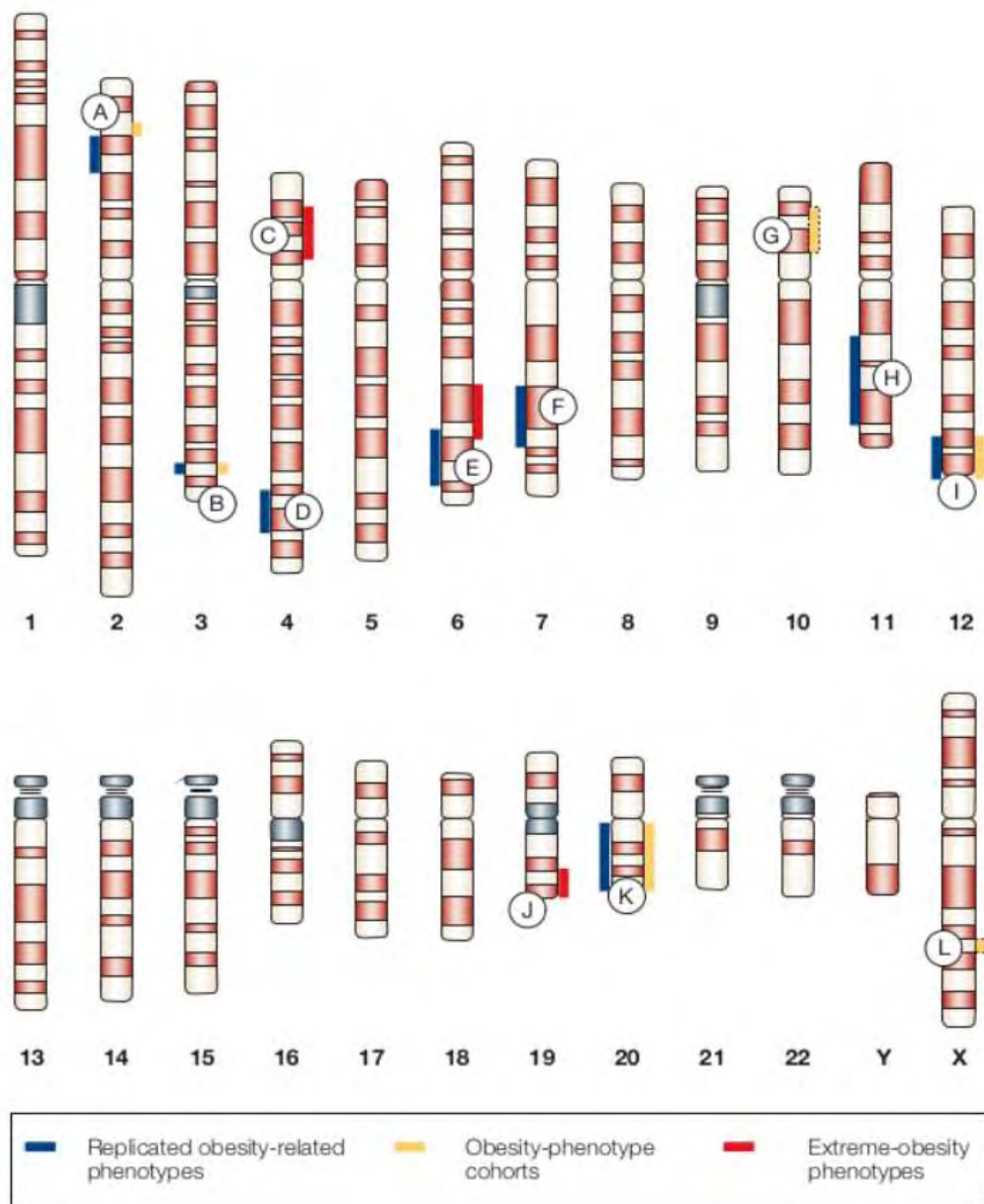
**«προσέγγιση υποψήφια γονιδίων»** στην οποία συγκεκριμένα γονίδια επιλέγονται εκ των προτέρων ως πιθανά για τον καθορισμό του υπό μελέτη φαινότυπου. Ακολούθως, καθορίζεται η συσχέτιση ανάμεσα στο φαινότυπο και σε δείκτες που γεινιάζουν με τα υποψήφια γονίδια ή και σε αυτά καθεαυτά τα υποψήφια γονίδια.

Τόσο η μελέτη υποψήφια γονιδίων όσο και ο γονιδιακός έλεγχος για την ταυτοποίηση γονιδίων που σχετίζονται με την παχυσαρκία έχουν υπάρξει επιτυχείς, παρότι είναι πιο δύσκολες απ' ό,τι είχε φανεί αρχικά. Η βελτίωση της ισχύος μιας έρευνας με στρατηγικές όπως: αύξηση του αριθμού των αντικειμένων, επιλογή του κατάλληλου φαινότυπου, αύξηση του αριθμού των διαθέσιμων φαινότυπων και χρήση ακραίων φαινότυπων, μπορεί να αποδειχθεί ακριβής. Οι συνεργασίες μεταξύ ομάδων που μοιράζονται δεδομένα έχει ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση στη στατιστική ισχύ σε άλλες περίπλοκες ασθένειες, παρά την πολυπλοκότητα της ανάλυσης των ετερογενών δεδομένων. Σημαντική είναι επίσης και η χρήση γονιδιακών «τραπεζών» με συλλογές από εκατομμύρια δείγματα DNA. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται το πλήθος των διαθέσιμων αντικειμένων προς ανάλυση και είναι παράλληλα απαραίτητη η αύξηση της ποιότητας και της ακρίβειας των φαινοτυπικών δεδομένων. Πολλοί φαινότυποι έχουν χρησιμοποιηθεί σε γενετικές μελέτες για την παχυσαρκία μιας και δεν μπορεί κανείς να διαλέξει κάποιον ως τον καλύτερο αφού ο καθένας έχει τα πλεονεκτήματά του και τα μειονεκτήματά του.

Όσο το πεδίο της σύνθετης γενετικής εξελίσσεται, είναι φανερό ότι οι κατανοητοί και ακριβείς φαινότυποι είναι απαραίτητοι. Τελικοί φαινότυποι όπως η παχυσαρκία ή το BMI είναι πολύτιμοι, αλλά αντιπροσωπεύουν το σύνολο όλων των γενετικών και περιβαλλοντικών επιδράσεων. Η σύγχρονη έρευνα έχει στραφεί στην αναγνώριση των γενετικών επιδράσεων μέσω ενδιάμεσων φαινότυπων, όπως η θέση του λίπους ή τα επίπεδα των ορμονών.

Μια άλλη τεχνική που συμβάλει ενεργά στον τομέα της σύνθετης ανθρώπινης γενετικής, είναι η **μελέτη της συσχέτισης όλου του γονιδιώματος**, που ενώνει αποτελεσματικά την προσέγγιση της συσχέτισης με την αναγνώριση γονιδίων. Μέχρι πρόσφατα οι μεγάλες ποσότητες γονοτυπικών αναλύσεων που απαιτούνταν για την επίτευξη ακόμη και μιας

μέτριας πυκνότητας κάλυψης κατά μήκος του γονιδιώματος ήταν πέρα από τις δυνατότητες μεγάλων εργαστηρίων. Πλέον, με την ανάπτυξη μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεων, η έλευση υψηλής απόδοσης τεχνολογιών για κατηγοριοποίηση των SNPs και οι νέες στρατηγικές συγκέντρωσης DNA όπως τα γενοτυπικά projects απασχολούν πολλούς ερευνητές.



Εικόνα 22. Γενετικός χάρτης για την παχυσαρκία

Most significant marker	Nearest gene (distance from gene)	Number of subjects*	Phenotype
rs9939609	<i>FTO</i>	28,587 adults 10,172 children	BMI
rs9930506	<i>FTO</i>	6148 subjects <sup>†</sup>	BMI
rs17782313	<i>MC4R</i> (188 kb)	77,228 adults 10,583 children	BMI
rs10508503	<i>PTER</i> (180 kb)	8,128 adults 8,855 children	BMI
rs1805081	<i>NPC1</i>	8,128 adults 8,855 children	BMI
rs1424233	<i>MAF</i> (48 kb)	8,128 adults 8,855 children	BMI
rs6548238	<i>TMEM18</i> (33 kb)	84,823 adults 9,320 children	BMI
rs7561317	<i>TMEM18</i> (23 kb)	69,593 adults	BMI
rs11084753	<i>KCTD15</i> (17 kb)	71,706 adults 9,156 children	BMI
rs29941	<i>KCTD15</i> (4.4 kb)	69,593 adults	BMI
rs7498665	<i>SH2B1</i>	86,677 adults 69,593 adults	BMI
rs10838738	<i>MTCH2</i>	80,917 adults	BMI
rs10938397	<i>GNPDA2</i> (600 kb)	81,758 adults 9,309 children	BMI
rs2815752	<i>NEGR1</i> (3.5 kb)	83,499 adults	BMI
rs2568958	<i>NEGR1</i> (16.7 kb)	69,593 adults	BMI
rs6013029	<i>CTNBL1</i>	1,000 adults 3,812 adults	BMI Obesity
rs10913469	<i>SEC16B</i>	69,593 adults	BMI
rs7647305	<i>ETV5</i> (7.4 kb)	75,043 adults	BMI
rs925946	<i>BDNF</i> (9.2 kb)	69,593 adults	BMI
rs7138803	<i>BCDIN3D</i> (10 kb)	69,593 adults	BMI

Εικόνα 23. Δείκτες που σχετίζονται με την παχυσαρκία και το BMI

## 2.6 Υποθέσεις που εξηγούν τη γενετική της παχυσαρκίας

- **Υπόθεση του “thrifty gene”:** Οι εξελικτικές πιέσεις έχουν διαμορφώσει ένα σύστημα που προωθεί την πρόσληψη βάρους σε περιόδους λιμού και φυσιολογικοί μηχανισμοί ελέγχου δρουν πρωτίστως για να αποτρέψουν την πείνα παρά για να ρυθμίσουν το βάρος. Επομένως όταν το φαγητό είναι άφθονο, αυτό οδηγεί στην αύξηση του βάρους. Με άλλα λόγια τα γονίδια που προδιαθέτουν για παχυσαρκία, ήταν «ευνοϊκά» για τον προϊστορικό άνθρωπο που περνούσε εναλλαγές περιόδων με πλούσια τροφή και στη συνέχεια πείνα. Επομένως αυτοί που ήταν πιο «αποτελεσματικοί» στην αποθήκευση και στο μεταβολισμό της τροφής, είχαν πολύ περισσότερες πιθανότητες να επιζήσουν και να αναπαραχθούν σε εποχές λιμού.
- **Υπόθεση του εμβρυϊκού προγραμματισμού:** Η κυρίαρχη δύναμη είναι το εμβρυϊκό περιβάλλον που σε συνδυασμό με τη μητρική υπερκατανάλωση τροφής ή τον υποσιτισμό προκαλούν μια κατάλληλη μεταγεννητική αντίδραση στο παιδί. Αυτό μπορεί να προκληθεί από επιγενετικούς μηχανισμούς όπως η γονιδιωματική αποτύπωση.
- **Υπόθεση της απελευθέρωσης από την αρπαγή:** Στις αρχές της εξέλιξης του ανθρώπου, η παχυσαρκία θα είχε απορριφθεί καθώς οι παχύσαρκοι άνθρωποι θα ήταν πιο εύκολη λεία για τα αρπακτικά. Όταν οι άνθρωποι βρήκαν τρόπους να υπερασπίζονται τον εαυτό τους, αυτή η εξελικτική πίεση μειώθηκε και τυχαία γενετική επιλογή οδήγησε στη συσσώρευση των γονιδίων προδιάθεσης στον πληθυσμό. Αυτή η υπόθεση έρχεται σε αντίθεση με την υπόθεση του “thrifty gene” υπαινίσσοντας ότι η πείνα δεν υπήρξε εξελικτικός παράγοντας πίεσης στην ανθρώπινη ιστορία.
- **Υπόθεση του καθιστικού τρόπου ζωής:** Τα τελευταία 50 χρόνια είναι γεγονός ότι ο μέσος τρόπος ζωής έχει επηρεαστεί από μεγάλες μειώσεις στην φυσική δραστηριότητα και αύξηση στην πρόσληψη

τροφών πλούσιων σε λιπαρά και υψηλής θερμιδικής αξίας. Παρόλα αυτά υπάρχει η ένδειξη ότι η φυσική δραστηριότητα δεν έχει μειωθεί σημαντικά, τοποθετώντας την κύρια επίδραση για την παχυσαρκία, τις ακραίες αλλαγές στη διατροφή. Αυτό θα σήμαινε ότι τα μεταβολικά ένζυμα θα είχαν σημαντικό ρόλο στην παχυσαρκία.

- **Υπόθεση της εθνικής μετατόπισης:** Κάποιες εθνικές ομάδες έχουν μεγαλύτερα ποσοστά παχυσαρκίας από άλλες, για παράδειγμα, οι Ισπανο-Αμερικάνοι σε σχέση με τους Ευρωπαίο-Αμερικάνους. Δεδομένου ότι το ποσοστό των Ισπανο-Αμερικάνων έχει αυξηθεί, τα συνολικά ποσοστά παχυσαρκίας έχουν αυξηθεί. Αυτό ίσως οφείλεται σε γενετικές διαφοροποιήσεις.
- **Υπόθεση του ταιριαστού ζευγαρώματος:** Παρότι η συσχέτιση των BMI μεταξύ των συζύγων είναι μικρή, παραμένει σημαντική στατιστικά και θεωρείται πως οφείλεται σε ταιριαστό ζευγάρι, δηλαδή στην τάση των ανθρώπων με παρόμοιους γονότυπους ή και φαινότυπους, να ζευγαρώνουν μεταξύ τους. Η υπόθεση αναφέρει ότι, με την πάροδο του χρόνου, το ταιριαστό ζευγάρι στα πλαίσια των γενετικών πολυμορφισμών που επηρεάζουν την παχυσαρκία, θα συντελέσει στην αύξηση της παχυσαρκίας.
- **Η συνδυαστική υπόθεση:** Αυτή αναφέρει ότι δεν υπάρχει μία μόνο γενετική βάση για την παχυσαρκία αλλά ότι είναι συνέπεια του συνδυασμού των υποθέσεων που περιγράφηκαν παραπάνω<sup>53</sup>.

## 2.7 Γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

Η προδιάθεση στην ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 καθορίζεται από δύο παράγοντες, **γενετικούς** και **περιβαλλοντικούς** και το γενετικό υπόβαθρο της συγκεκριμένης νόσου είναι ετερογενές.

Οι περισσότεροι ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 εκδηλώνουν δύο διαφορετικές ανωμαλίες: α) τη **μείωση στην έκκριση ινσουλίνης** και β) την **μειωμένη αντοχή στην ινσουλίνη**. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο διαφορετικές ομάδες γονιδίων που προδιαθέτουν για διαβήτη τύπου 2. Αποδείξεις για τη γενετική βάση του προέρχονται από μελέτες οικογενειών, διδύμων και πληθυσμών<sup>54</sup>.

Μελέτες οικογενειών έδειξαν ότι τα αδέρφια των μελών της οικογένειας με διαβήτη τύπου 2, έχουν τέσσερις φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν διαβήτη τύπου 2 στη διάρκεια της ζωής τους από ότι ο γενικός πληθυσμός. Η πιο πειστική απόδειξη ότι το είδος αυτό του διαβήτη έχει γενετική βάση, προέρχεται από μελέτες πληθυσμών, καθώς και από μελέτες διδύμων<sup>55</sup>. Για παράδειγμα, παρατηρείται μια υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 σε γηγενείς πληθυσμούς μιας φυλής στις ακτές της Αυστραλίας, 60 και άνω ετών, σε σχέση με μή γηγενείς, σε αναλογία 83% έναντι 17%. Επίσης, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από μελέτες διδύμων για το ρόλο των γονιδίων, δείχνουν ένα υψηλότερο βαθμό συμφωνίας για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ανάμεσα στα μονοζυγωτικά δίδυμα (41%-55%) σε σύγκριση με τα διζυγωτικά δίδυμα (10%-15%)<sup>54</sup>. Σε ένα δείγμα διδύμων στη Φινλανδία ο βαθμός συμφωνίας σε μονοζυγωτικά δίδυμα ήταν 34%, ενώ σε διζυγωτικά δίδυμα ήταν 16%<sup>56</sup>. Σε μια Ιαπωνική μελέτη ο βαθμός συμφωνίας ήταν ακόμη υψηλότερος, με 83% για μονοζυγωτικά δίδυμα και 40% για διζυγωτικά. Επιπλέον έρευνες μονοζυγωτικών διδύμων έδειξαν ότι αν το ένα άτομο έχει σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 το άλλο θα έχει μειωμένη αντοχή στην ινσουλίνη (IGT)<sup>57</sup>.

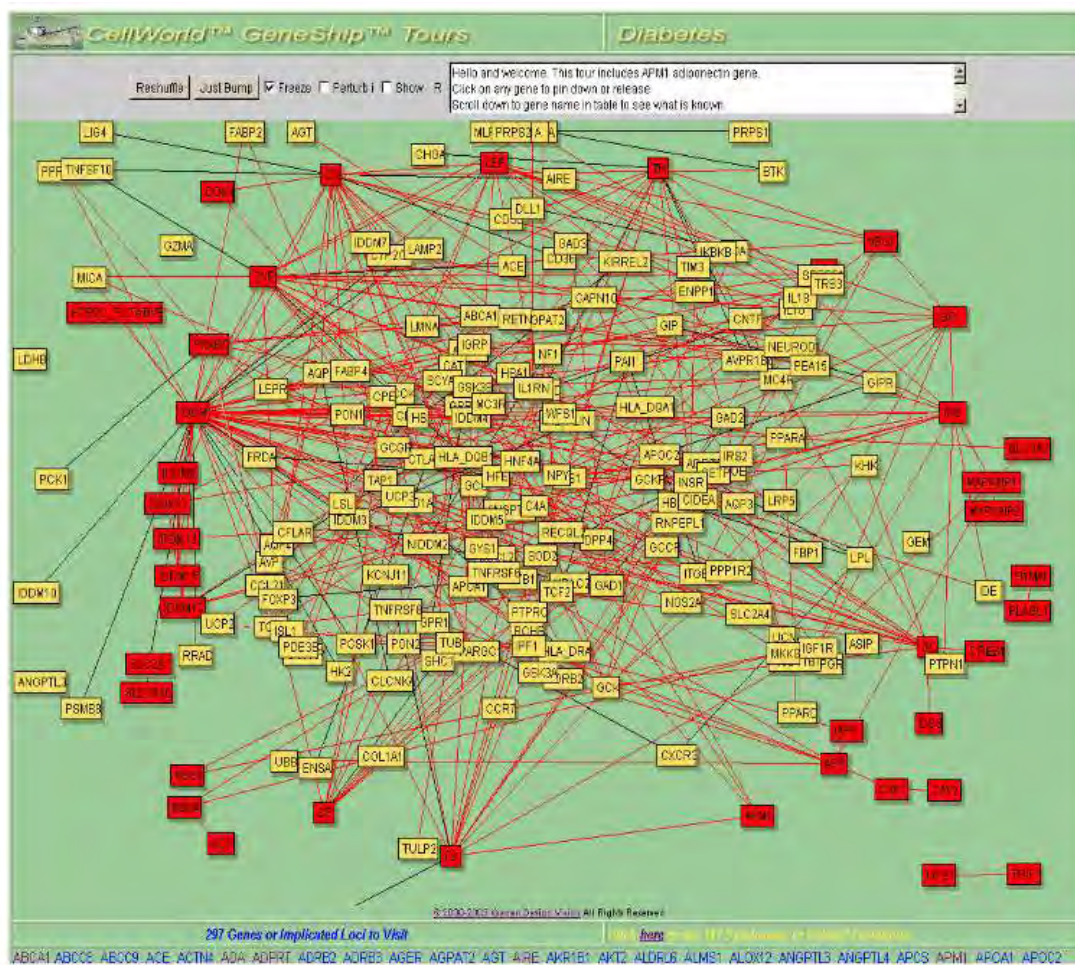
Οι μελέτες για την εύρεση υποψηφίων γονιδίων βασίζονται στην επιλογή γονιδίων με γνωστές βιολογικές λειτουργίες, που μπορεί να προδιαθέτουν για



την ασθένεια ή τον παρατηρούμενο φαινότυπο. Οι μελέτες αυτές βασίζονται, κυρίως, στο πρότυπο των συσχετίσεων περιπτώσεων-μαρτύρων. Αυτό επιτυγχάνεται συγκρίνοντας τυχαία άτομα που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, με μια ισοδύναμη ομάδα ατόμων ελέγχου. Μέχρι τώρα έχουν μελετηθεί πολλά υποψήφια γονίδια για το ρόλο τους στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, όπως είναι ο πολυμορφισμός P12A στο γονίδιο PPAR $\gamma$  (peroxisome-activated receptor  $\gamma$ ), καθώς και ο πολυμορφισμός E23K στο γονίδιο KCNJ11<sup>58</sup>.

Για την αναγνώριση των χρωμοσωματικών περιοχών που εδράζονται τόποι που προκαλούν προδιάθεση για σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδος διερεύνησης ολόκληρου του γονιδιώματος και η ανάλυση σύνδεσης. Υπάρχουν αρκετές χρωμοσωματικές περιοχές που συνδέονται με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, όπως είναι οι περιοχές στο 1q, 2q, 8q, 10q, 12q και 20q<sup>59</sup>. Επιπλέον έρευνα με την μέθοδο κλωνοποίησης θέσης έχει δείξει ότι οι γενετικοί πολυμορφισμοί της καλπαΐνης10 (CAPN10) συνδέονται με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς επίσης και το γονίδιο TCF7L2<sup>64</sup> που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 10q25<sup>62,63</sup>.

Η ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, όμως, σχετίζεται και με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η παχυσαρκία, η φυσική αδράνεια, η διαίτα, οι τοξικοί παράγοντες, οι ιικές μολύνσεις, το στρες και το κάπνισμα. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν με τους γενετικούς δημιουργώντας σχέσεις που οδηγούν στην ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Για παράδειγμα, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορεί να ευθύνονται για την έναρξη της καταστροφής των  $\beta$ -κυττάρων ή για άλλες μεταβολικές ανωμαλίες, ενώ τα γονίδια μπορεί να ρυθμίζουν την εξέλιξη αυτών των ανωμαλιών σε διαβήτη.



Εικόνα 24. Γονίδια που σχετίζονται με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Το γενετικό υπόβαθρο του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 αφορά τόσο μονογονιδιακή όσο και πολυγονιδιακή μορφή<sup>61</sup>. Η μονογονιδιακή μορφή είναι αποτέλεσμα σπάνιων μεταλλάξεων σε ένα μόνο γονίδιο και κληρονομείται σύμφωνα με το νόμο του Mendel. Οι μεταλλάξεις μπορεί να επηρεάσουν τη δομή και λειτουργία μιας πρωτεΐνης ή ενός tRNA. Σε μερικές περιπτώσεις, αυτές οι μεταλλάξεις μπορεί να βρίσκονται σε ρυθμιστική περιοχή ενός γονιδίου και να τροποποιούν πλήρως την έκφραση αυτού του γονιδίου. Η μονογονιδιακή μορφή χαρακτηρίζεται από υψηλή διεισδυτικότητα, πράγμα που σημαίνει ότι η παρουσία μιας μετάλλαξης, πρακτικά, μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση ασθένειας. Χαρακτηρίζεται επίσης από οξεία κλινική εικόνα και περιστασιακά, από την παρουσία πρόσθετων παγκρεατικών χαρακτηριστικών. Το γενετικό υπόβαθρο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην

παθογένεση, ενώ οι περιβαλλοντικοί παράγοντες τροποποιούν ελάχιστα την κλινική εικόνα. Οι γνωστές μορφές μονογονιδιακού διαβήτη χαρακτηρίζονται είτε από σοβαρά προβλήματα στην έκκριση ινσουλίνης, είτε από σημαντική μείωση στην αντοχή στην ινσουλίνη.

Η πολυγονιδιακή μορφή του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων. Παρατηρείται η συμμετοχή πολλών γονιδίων, ωστόσο ο συνολικός τους αριθμός και η σχετική τους συνεισφορά δεν έχει καθοριστεί. Τα διάφορα γονίδια μπορεί να συμμετέχουν στο ίδιο, ή σε διαφορετικά μονοπάτια. Μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε αυτά τα γονίδια μπορεί να εμφανίζονται σε μεγάλη συχνότητα σε έναν πληθυσμό και ελάχιστα σε κάποιον άλλο. Αλληλόμορφα αυτών των πολυμορφισμών ανιχνεύονται τόσο σε υγιή όσο και σε διαβητικά άτομα. Αλληλόμορφα των πολυμορφισμών προκαλούν μόνο προδιάθεση αλλά δεν αποτελούν τους αιτιολογικούς παράγοντες που ευθύνονται για την ανάπτυξη της νόσου και συνδέονται με μικρό κίνδυνο εμφάνισής της.

## **2.8 Μονογονιδιακός σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2**

### **2.8.1 Έλλειψη ινσουλίνης**

Η ινσουλίνη, συντίθεται και εκκρίνεται από τα παγκρεατικά β-κύτταρα, ως απόκριση στην πρόσληψη γλυκόζης και άλλων διατροφικών συστατικών. Η γλυκόζη μεταφέρεται μέσα στα κύτταρα με έναν ειδικό μεταφορέα (GLUT2), έπειτα φωσφορυλιώνεται από τη γλυκοκινάση και τελικά, μεταβολίζεται μέσω της διαδικασίας της γλυκόλυσης και στον κύκλο του Krebs. Μια αύξηση στην ενδοκυτταρική παραγωγή ενέργειας οδηγεί σε αναστολή των ATP-εξαρτώμενων καναλιών καλίου, με αποτέλεσμα η αποπόλωση να ανοίγει τα κανάλια  $Ca^{+2}$  της μεμβράνης, πράγμα που προκαλεί μια αύξηση στη συγκέντρωση του κυτοπλασματικού  $Ca^{+2}$ , σύντηξη των κοκκίων ινσουλίνης με την πλασματική μεμβράνη και απελευθέρωση ινσουλίνης. Τα παγκρεατικά β-κύτταρα αντιδρούν επίσης στο σήμα γλυκόζης μέσω της αύξησης παραγωγής προ-προϊνσουλίνης στο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Όλα τα γονίδια που εμπλέκονται σε αυτά τα μονοπάτια, όπως επίσης και τα γονίδια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των παγκρεατικών β-κυττάρων, μπορεί να θεωρηθούν υποψήφια γονίδια για την ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, που κατά κύριο λόγο οφείλεται στην έλλειψη ινσουλίνης.

Η πιο συχνή μορφή σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, που χαρακτηρίζεται από σοβαρά προβλήματα στην έκκριση ινσουλίνης, είναι ο **αυτοσωμικά επικρατής διαβήτης των ενηλίκων που εμφανίζεται σε νεαρά άτομα (MODY)**. Παράλληλα με τον αυτοσωμικά επικρατή τύπο κληρονομικότητας, ο MODY χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό διεισδυτικότητας, πρόωμη εμφάνιση της ασθένειας (συνήθως δεύτερη ή τρίτη δεκαετία ζωής), μη παχυσαρκία, καθώς επίσης βιοχημικά και κλινικά χαρακτηριστικά της ελαττωμένης έκκρισης ινσουλίνης. Οι τύποι MODY περιγράφησαν στο 1<sup>ο</sup> κεφάλαιο.

Μια άλλη περίπτωση μονογονιδιακής μορφής διαβήτη είναι ο **μητρικά κληρονομούμενος διαβήτης**, που προέρχεται από μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό DNA. Η διάγνωση για αυτή τη μορφή διαβήτη γίνεται σε μικρή ηλικία, συνήθως στην τρίτη με πέμπτη δεκαετία και χαρακτηρίζεται από ελάττωση στην έκκριση ινσουλίνης. Ο μητρικά κληρονομούμενος διαβήτης συνοδεύεται συχνά από προβλήματα ακοής και κώφωση. Έχουν βρεθεί αρκετές μεταλλάξεις που συνδέονται με διαβήτη στο μιτοχονδριακό DNA. Η πιο συχνή από αυτές είναι η αντικατάσταση A3243G στο γονίδιο του tRNA της λευκίνης<sup>54</sup>.

## 2.8.2 Αντίσταση στην ινσουλίνη

Η δράση της ινσουλίνης σε κυτταρικό επίπεδο είναι μια πολύπλοκη διαδικασία. Το πρώτο βήμα είναι η σύνδεση της ινσουλίνης στον ειδικό υποδοχέα της. Αυτό ενεργοποιεί την κινάση τυροσίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης και οδηγεί σε φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης στα υποστρώματα του υποδοχέα. Τα ενεργά υποστρώματα του υποδοχέα της ινσουλίνης, στη συνέχεια, συνδέονται και ενεργοποιούν ολόκληρη την ομάδα πρωτεϊνών που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης. Μερικές από αυτές τις πρωτεΐνες είναι σημαντικές στις μεταβολικές επιδράσεις της ινσουλίνης, όπως η φωσφατιδυλινοσιτόλη 3-κινάση, ενώ άλλες στα

σηματοδοτικά μεταγωγικά μονοπάτια, όπως η μετατόπιση μεταφορέων γλυκόζης στην πλασματική μεμβράνη.

Όλα αυτά τα γονίδια είναι υποψήφια για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 που οφείλεται κυρίως στην ανοχή στην ινσουλίνη. Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 με εξαιρετική ανοχή στην ινσουλίνη λόγω μεταλλάξεων σε ένα ή και στα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου του υποδοχέα της ινσουλίνης. Έχει, επίσης, βρεθεί ότι η μετάλλαξη στο γονίδιο της κινάσης σερίνης/θρεονίνης AKT2, γνωστό και ως PKBβ, συνδέεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη. Άλλο γονίδιο που σχετίζεται είναι ο υποδοχέας PPARγ, γονίδιο που κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα από την οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων. Ακόμη, έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις στο γονίδιο της λαμίνης σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη<sup>54</sup>.

## 2.9 Πολυγονιδιακός σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Διαφορετικές στρατηγικές έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση γονιδίων που σχετίζονται με σύνθετες ασθένειες. Σε μια από αυτές τις τεχνικές επιλέγονται γονίδια για τα οποία υπάρχουν σημαντικές πληροφορίες για τον βιολογικό τους ρόλο, ενώ άλλη στρατηγική αναφέρεται στην εύρεση θέσης, όπου το γονίδιο που ενδιαφέρουν εντοπίζονται με βάση το πρότυπο συγκληρονόμησης με γνωστούς γενετικούς δείκτες που παρατηρείται σε οικογένειες και πληθυσμούς.

Στην περίπτωση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 υπάρχουν τουλάχιστον δύο κύρια προβλήματα στην εύρεση των υπεύθυνων γονιδίων. Πρώτον, μόνο μία μικρή ομάδα ανθρώπινων γονιδίων έχει γνωστή βιολογική δράση. Δεύτερον, οι γνώσεις μας γύρω από τα κυτταρικά μονοπάτια που εμπλέκονται στη δράση και την έκκριση της ινσουλίνης δεν είναι ολοκληρωμένες. Αυτός είναι και ο λόγος που η μέθοδος της διερεύνησης του ανθρώπινου γονιδιώματος καθώς και οι αναλύσεις σύνδεσης χρησιμοποιούνται, κυρίως, για να αποκαλύψουν στα χρωμοσώματα τους πιθανούς υπεύθυνους τόπους για σύνθετες ασθένειες, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η

παχυσαρκία<sup>77</sup>.

Η σάρωση του γονιδιώματος, βασίζεται στην αναζήτηση ενός στατιστικού σήματος που να δείχνει την πιθανότητα συσχέτισης μιας συγκεκριμένης χρωμοσωματικής θέσης με την ασθένεια. Μετά την αναγνώριση της πιθανής χρωμοσωματικής περιοχής όπου εντοπίζεται το γονίδιο που σχετίζεται με την ασθένεια, γίνεται κλωνοποίηση της περιοχής αυτής, διαδικασία που βασίζεται στην εύρεση της συγκεκριμένης θέσης του γονιδίου με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών και γεγονότων ανασυνδυασμού<sup>54,55</sup>. Ο σκοπός είναι να ανακαλυφθεί η θέση του υπεύθυνου γονιδίου σε σχέση με διάφορους πολυμορφικούς δείκτες που έχουν γνωστή θέση. Αυτό σήμερα είναι εύκολο, καθώς χρησιμοποιούνται πυκνοί χάρτες από υψηλά πολυμορφικούς δείκτες (μικροδορυφορικοί). Η παρουσία θετικού σήματος είναι ένδειξη σύνδεσης ανάμεσα στο γονίδιο της ασθένειας που ερευνάται και σε μια συγκεκριμένη χρωμοσωματική θέση. Γενετική σύνδεση σημαίνει ότι οι γενετικοί τόποι κληρονομούνται μαζί. Γενετικοί τόποι που βρίσκονται κοντά, έχουν την τάση να μεταβιβάζονται μαζί πιο συχνά από ότι γενετικοί τόποι που βρίσκονται μακριά μεταξύ τους κατά τη διάρκεια της μείωσης. Όσο πιο κοντά είναι δυο τόποι, τόσο πιο μεγάλη είναι η πιθανότητα οι τόποι αυτοί να είναι συνδεδεμένοι, αφού είναι λιγότερο πιθανό να συμβεί διασκελισμός ανάμεσά τους<sup>77</sup>. Τα υπεύθυνα γονίδια της ασθένειας χαρτογραφούνται με τη μέτρηση του ποσοστού ανασυνδυασμού με ένα πλήθος διαφορετικών δεικτών που είναι διάσπαρτοι σε όλο το γονιδίωμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το υπεύθυνο γονίδιο της ασθένειας και ο δείκτης βρίσκονται μακριά, με αποτέλεσμα να παρατηρείται συχνά διασκελισμός. Κάποιοι δείκτες, ωστόσο, λόγω της εγγύτητάς τους τείνουν να μην ανασυνδυάζονται με το γονίδιο της ασθένειας και αυτοί θεωρούνται ότι είναι συνδεδεμένοι. Οι περισσότερες αναλύσεις του γονιδιώματος βασίζονται σε 400 δείκτες που εντοπίζονται σε απόσταση 10 cM.

Οι γενετικές αναλύσεις συσχέτισης είναι σημαντικές για την αναγνώριση και τον χαρακτηρισμό των πολυμορφισμών που εντοπίζονται στο γονιδίωμα και σχετίζονται με προδιάθεση για σύνθετες ασθένειες. Στις γενετικές αναλύσεις συσχέτισης μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο οικογενειακό υλικό, όσο και πληθυσμιακό. Συγκεκριμένα, σε αυτές τις αναλύσεις συγκρίνονται γονιδιώματα ατόμων που πάσχουν από κάποια νόσο με γονιδιώματα ατόμων

που δεν έχουν τη συγκεκριμένη νόσο. Μέσω αυτής της σύγκρισης αναγνωρίζονται οι γενετικές διαφορές ανάμεσα στα ασθενή και τα υγιή άτομα, ακόμη και αν οι γενετικές διαφορές είναι μικρές. Είναι πιθανό, για κοινές ασθένειες, οι γενετικές διαφορές να έχουν ήπιες επιδράσεις στα άτομα, ο συνδυασμός, ωστόσο, αρκετών ελαφρώς αλλαγμένων γονιδίων και περιβαλλοντικών ερεθισμάτων να οδηγήσει σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου.

Η προσέγγιση του υποψήφιου γονιδίου είναι πιο απλή στρατηγική και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην μελέτη της γενετικής βάσης σύνθετων ασθενειών, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. Το υποψήφιο γονίδιο επιλέγεται με βάση προηγούμενη γνώση για την βιολογική του λειτουργία. Στην περίπτωση του διαβήτη τύπου 2 για παράδειγμα, επιλέγονται γονίδια που συνδέονται με την έκκριση και τη δράση της ινσουλίνης. Στη συνέχεια γίνεται αναζήτηση μετάλλαξης, συνήθως με απευθείας σάρωση. Αρχικά σαρώνονται οι κωδικές και ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου. Όταν εντοπιστεί κάποια μετάλλαξη ακολουθεί η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως. Αυτή η προσέγγιση περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- συλλογή των κατάλληλων ασθενών για μελέτη
- επιλογή των κατάλληλων γονιδίων για μελέτη
- συναρμολόγηση και χρήση των εργαλείων για αναγνώριση των SNPs στα υποψήφια γονίδια
- εκτέλεση γενοτυπικών πειραμάτων
- στατιστικές αναλύσεις<sup>54,77,65</sup>

Τέλος, τα αποτελέσματα διαφόρων ανεξάρτητων μελετών που πραγματοποιούνται το ίδιο αντικείμενο έρευνας, είναι δυνατόν να συγκεντρωθούν και να αναλυθούν ως αποτέλεσμα μια μεγάλης μελέτης. Αυτός ο τύπος ανάλυσης, στη στατιστική καλείται μετα-ανάλυση.

## 3. ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

### 3.1 Σκοπός της διπλωματικής

Η συγκεκριμένη εργασία έχει σκοπό να ελέγξει κατά πόσο υπάρχει προδιάθεση παχυσαρκίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, με τη χρήση ενός **γενετικού σκορ**. Η εργασία αφορά 10 συγκεκριμένους μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς για την παχυσαρκία και άλλους 10 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Στόχος είναι η διερεύνηση συσχετισμών της αθροιστικής επίδρασης των SNPs που σχετίζονται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 με συγκεκριμένους φαινοτύπους, οι οποίοι είναι το **BMI**, η **λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού**, καθώς και η **λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού ανά εξάμηνο**, το **ποσοστό επί τοις εκατό της λιπομέτρησης (επίσης και ανά εξάμηνο)**, τα επίπεδα **γλουταθειόνης** και η **ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος** σε ένα δείγμα 333 ατόμων.

Για τις ανάγκες της εργασίας, πριν συνεχίσουμε στα αποτελέσματα, θα εξετάσουμε την έννοια του γενετικού σκορ, τον ρόλο της γλουταθειόνης και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ορού, μιας και πρόκειται για φαινότυπους που μας απασχόλησαν στην διπλωματική εργασία.



## 3.2 Τί είναι το γενετικό σκορ (Genetic Risk Score ή GRS)

Τα αποτελέσματα από μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος (**Genome-wide associations study** ή **GWAS**) αντιπροσωπεύουν μια δυνητικά πλούσια πηγή πληροφόρησης, αν αξιολογηθούν σωστά, ώστε να ερευνηθεί η αιτιολογία και να βρεθούν πιθανές θεραπείες για διάφορες ασθένειες. Σκοπός είναι η δημιουργία γεφυρών μεταξύ της επιστήμης του γονιδιώματος και της κλινικής και δημόσιας υγείας. Δεδομένου του μεγάλου αριθμού τέτοιων μελετών, υπάρχουν επαρκή δεδομένα GWAS για να υποστηρίξουν μια τέτοια έρευνα για ορισμένες κοινές χρόνιες παθήσεις υγείας, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας. Η υποδομή είναι εγκατεστημένη στην αρχή ενός translational pipeline με δεδομένα GWAS αποθηκευμένα και επιμελημένα σε συνεχώς ενημερωμένες βάσεις δεδομένων με δυνατότητα αναζήτησης. Παρομοίως, στην άλλη άκρη του pipeline, αξιολογούνται στοιχεία από για να διαπιστωθεί η κλινική χρησιμότητα των γονιδιωματικών πληροφοριών και να εκδοθούν κατευθυντήριες γραμμές για την κλινική πρακτική. Ωστόσο, παραμένουν σημαντικά κενά στη μέση του translational pipeline και απαιτούνται προσεγγίσεις ώστε να υποστηρίξουν την έρευνα σε αυτή τη φάση, όπου δείγματα βάσει πληθυσμού με πλούσιες περιβαλλοντικές και φαινοτυπικές μετρήσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση των δεικτών νόσου που προσδιορίζονται στο GWAS. Συγκεκριμένα, απαιτούνται συστηματικές προσεγγίσεις ώστε να φιλτραριστούν τα αποτελέσματα πολλών μελετών σύνδεσης και να συγκρατηθούν τα πλέον υποσχόμενα σύνολα σημείων για περαιτέρω διερεύνηση. Αυτές οι προσεγγίσεις πρέπει να είναι σε θέση να αξιοποιήσουν τη δύναμη των πόρων που έχουμε στη διάθεσή μας και να προσαρμόσουν με ευελιξία τα νέα δεδομένα που παράγονται από τον ταχύ ρυθμό της ανακάλυψης στην επιστήμη του γονιδιώματος.

Ένα βασικό εμπόδιο για την έρευνα που χρησιμοποιεί τα αποτελέσματα του GWAS, είναι ότι οι SNPs κινδύνου (**risk SNPs**) που εντοπίζονται στο GWAS μπορεί να μην προκαλούν αρνητικά αποτελέσματα στην υγεία, αλλά

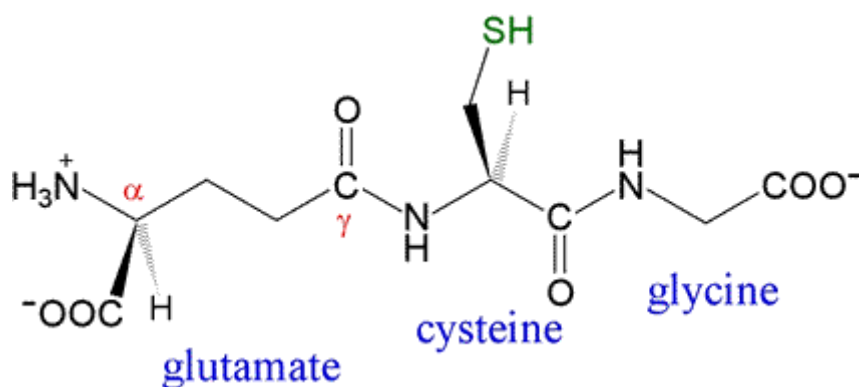
από την άλλη μπορεί να ελέγχουν πλήρως παραλλαγές στο γονιδίωμα που προκαλούν μια ασθένεια μη μετρούμενη. Οι μέθοδοι GWAS εκμεταλλεύονται τη διαταραχή ισορροπίας σύνδεσης ή αλλιώς το **LD (Linkage disequilibrium)** σε όλο το γονιδίωμα για να αξιοποιήσουν τη μέτρηση των 100.000-1 εκατομμυρίων SNPs και να καταγράψουν τη διακύμανση των πάνω από 10 εκατομμύρια SNPs που υπολογίζεται ότι περιέχει το γονιδίωμα. Τα πολύ μεγάλα μεγέθη δειγμάτων στο GWAS επιτρέπουν την ανίχνευση συσχετισμών κινδύνου. Τα ευρήματα GWAS γενικά εφαρμόζονται σε μικρότερα δείγματα που έχουν σχεδιαστεί για να διασαφηνίζουν τις αιτιολογικές και κλινικές συσχετίσεις των ανακαλυφθέντων γονιδίων. Όταν οι SNPs μεταφράζονται στην έρευνα χρησιμοποιώντας μικρότερα δείγματα, το σφάλμα μέτρησης που προκύπτει από ατελή LD με παραλλαγές που προκαλούν ασθένειες μπορεί να εξασθενήσει τις ενώσεις κάτω από τα επίπεδα που αυτά τα δείγματα τροφοδοτούνται για ανίχνευση. Το **γενετικό σκορ** ή **Genetic Risk Score (GRS)** συνοψίζει τη διακύμανση που σχετίζεται με τον κίνδυνο σε όλο το γονιδίωμα, συγκεντρώνοντας πληροφορίες από SNPs πολλαπλού κινδύνου (τα απλούστερα αλληλόμορφα που σχετίζονται με ασθένειες)<sup>66</sup>. Επειδή το γενετικό σκορ συγκεντρώνει πληροφορίες από πολλαπλούς SNPs, κάθε SNP είναι λιγότερο σημαντικό για την συνοπτική μέτρηση και το "σήμα" από το γενετικό σκορ είναι ανθεκτικό σε ατελή σύνδεση για οποιοδήποτε SNP. Για τον ίδιο λόγο, το γενετικό σκορ είναι λιγότερο ευαίσθητο στις δευτερεύουσες συχνότητες αλληλόμορφων για μεμονωμένα SNP. Δεδομένου ότι ο αριθμός των SNP που περιλαμβάνονται σε ένα γενετικό σκορ αυξάνεται, η κατανομή των τιμών πλησιάζει την κανονικότητα, ακόμη και όταν τα επιμέρους αλληλόμορφα κινδύνου είναι σχετικά ασυνήθιστα. Ως εκ τούτου, το γενετικό σκορ μπορεί να αποτελέσει ένα αποτελεσματικό μέσο για την κατασκευή μετρήσεων κινδύνου σε επίπεδο γονιδιώματος από ευρήματα GWAS.

Για τους σκοπούς της εργασίας χρησιμοποιήθηκε το **σταθμισμένο γενετικό σκορ (weighted genetic score - wGRS)**, που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό του αριθμού αλληλομόρφων κινδύνου για κάθε πολυμορφισμό με την επίδραση ( $\beta$ ) που έχει το καθένα από αυτά (βάση δημοσιευμένων αποτελεσμάτων από GWAS).

### 3.3 Ο ρόλος της γλουταθειόνης

Κατά τη διάρκεια των φυσιολογικών ανθρώπινων διεργασιών και την παραγωγή ενέργειας, την αποτοξίνωση από τοξικές ουσίες καθώς και εξαιτίας ανοσολογικής απόκρισης, παράγονται από τον οργανισμό **ελεύθερες ρίζες**. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθή μόρια τα οποία μπορούν να αφαιρέσουν ένα ηλεκτρόνιο από γειτονικά μόρια, προκαλώντας βλάβη σε αυτά και τον ιστό στον οποίο βρίσκονται. Η μη ελεγχόμενη παραγωγή ελευθέρων ριζών επιταχύνει την παθογένεση των ασθενειών και τη γήρανση. Οι ελεύθερες ρίζες αντισταθμίζονται από τις αντιοξειδωτικές ουσίες οι οποίες βρίσκονται στις τροφές. Τα διαιτητικά αντιοξειδωτικά (όπως οι προανθοκυανιδίνες που βρίσκονται σε κάποια φρούτα και τα βιοφλαβονοειδή), όπως επίσης και τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, δισμουτάση του σουπεροξειδίου και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, προσφέρουν σημαντική προστασία έναντι της βλάβης που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Το οξειδωτικό στρες προκύπτει όταν το ισοζύγιο προοξειδωτικών/ αντιοξειδωτικών γέρνει υπέρ των προοξειδωτικών, δηλαδή από τη μεριά των ελευθέρων ριζών<sup>68,69</sup>.

Η **γλουταθειόνη** (glutathione, GSH), γνωστή και ως **γλουταθειό**, είναι οργανική χημική ένωση με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στους ζωντανούς οργανισμούς. Από βιοχημικής πλευράς είναι ένα τριπεπτιδίο, το μόριο του οποίου αποτελείται από μόρια τριών διαφορετικών αμινοξέων: του γλουταμινικού οξέος, της κυστεΐνης (που περιέχει και το μοναδικό άτομο θείου σε όλη την ένωση) και της γλυκίνης.

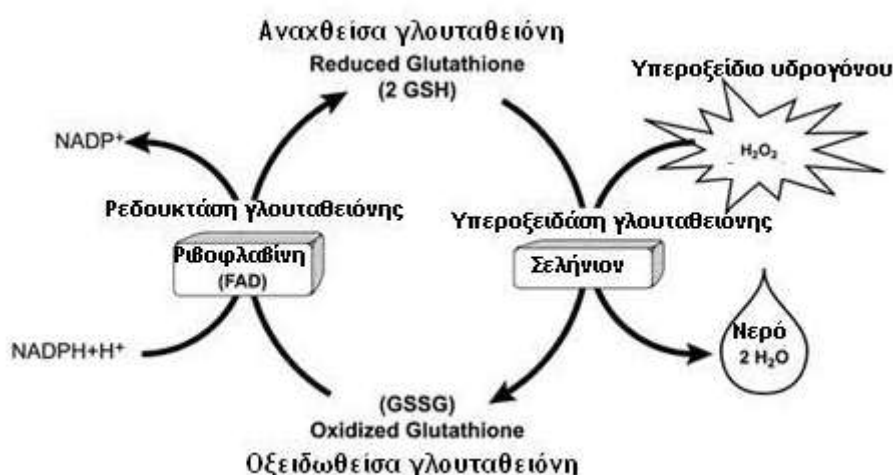


Εικόνα 25. Το μόριο της γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη ανήκει στις χρήσιμες για τον οργανισμό ουσίες που μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός μόνος του από τα αμινοξέα που την αποτελούν. Η υδροθειομάδα (SH) της κυστεΐνης χρησιμεύει ως δότης πρωτονίων και είναι υπεύθυνη για τη βιολογική της δράση. Η κυστεΐνη καθορίζει τον ρυθμό της κυτταρικής βιοσυνθέσεως της γλουταθειόνης, καθώς αυτό το αμινοξύ είναι το σπανιότερο από τα τρία στην τροφή<sup>67</sup>.

Μέσα στους οργανισμούς η γλουταθειόνη υπάρχει σε δύο καταστάσεις, την ανηγμένη (**GSH**) και την οξειδωμένη (**GSSG**). Στην πρώτη, η υδροθειομάδα (SH) της κυστεΐνης είναι ικανή να δώσει ένα αναγωγικό ισοδύναμο ( $H^+ + e^-$ ) σε άλλα ασταθή μόρια, όπως οι δραστικές ρίζες του οξυγόνου. Με την παροχή ενός ηλεκτρονίου η ίδια η γλουταθειόνη καθίσταται δραστική, αλλά γρήγορα αντιδρά με ένα άλλο μόριο δραστικής γλουταθειόνης και σχηματίζει διθειούχο γλουταθειόνη (GSSG). Μία τέτοια αντίδραση γίνεται αρκετά πιθανή εξαιτίας της σχετικώς υψηλής συγκεντρώσεως γλουταθειόνης μέσα στα κύτταρα (μέχρι και 5 mM στο ήπαρ).

Η GSH μπορεί να αναδημιουργηθεί από την GSSG με τη μεσολάβηση του ενζύμου **αναγωγάση της γλουταθειόνης (GSR)**. Στα υγιή κύτταρα και ιστούς, περισσότερο από το 90% του ολικού αποθέματος γλουταθειόνης βρίσκεται στην ανηγμένη κατάσταση και λιγότερο από το 10% στην οξειδωμένη. Αυξημένος λόγος GSSG προς GSH θεωρείται ένδειξη οξειδωτικού στρες.



Εικόνα 26. Τρόπος δράσης της γλουταθειόνης

Ο ρόλος της γλουταθειόνης είναι ιδιαίτερα σημαντικός:

- Είναι ο σημαντικότερος ρυθμιστής της ενδοκυττάριας οξειδοαναγωγικής κατάστασης και συμμετέχει στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις μέσω της οξείδωσης της ενεργής της θειολικής ομάδας.
- *In vitro* αντιδρά άμεσα και εξουδετερώνει τη ρίζα υδροξυλίου, το υποχλωριώδες οξύ, το υπεροξυνιτρώδες, υπεροξυλικές και αλκοξυλικές ρίζες, ελεύθερες ρίζες με κέντρο το άτομο του άνθρακα και το μονήρες οξυγόνο.
- Ανάγει το οξειδωμένο ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), είτε άμεσα είτε μέσω της αναγωγάσης του διϋδροασκορβικού.
- Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι συμμετέχει στην ανακύκλωση της βιταμίνης E σε ορισμένα μεμβρανικά συστήματα.
- Εμποδίζει την οξείδωση των -SH ομάδων στις πρωτεΐνες. Έχει βρεθεί ότι η γλουταθειόνη αναστέλλει την καταλάση, ενώ εμπλέκεται και σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως στη μεταγωγή κυτταρικών σημάτων, στην έκφραση γονιδίων και στην απόπτωση.
- Η γλουταθειόνη σχηματίζοντας S-νιτρωδογλουταθειόνη (S-nitrosoglutathione, GSNO), χρησιμεύει ως αποθήκη και μεταφορέας μονοξειδίου του αζώτου (NO) και εμπλέκεται επίσης στην μεταφορά του χαλκού στο εσωτερικό του κυττάρου καθώς τον δεσμεύει και εμποδίζει ταυτόχρονα την αντίδρασή του με ελεύθερες ρίζες.
- Αποτελεί ραδιοπροστατευτικό παράγοντα και επιπλέον δρα ως συμπαράγοντας στη λειτουργία των γλυοξυλασών και των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση των λευκοτριενίων.
- Πολύ σημαντικός ρόλος της είναι ότι αποτελεί υπόστρωμα σημαντικών αντιοξειδοτικών ενζύμων όπως οι υπεροξειδάσες και τρανσφεράσες της GSH, καθώς και η αναγωγάση του GSSG.
- Το κοιλεντερωτό *Hydra* αναγνωρίζει το τραυματισμένο θήραμά του από την απελευθέρωση γλουταθειόνης από τα τραυματισμένα κύτταρα, καθώς αυτή δεσμεύεται σε εξειδικευμένους υποδοχείς<sup>70</sup>.

### 3.4 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ορού (TAC)

Τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα αντιπροσωπεύουν τη γενική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού οφείλεται κατά κύριο λόγο στο ασκορβικό οξύ (50-60  $\mu\text{mol/L}$ ), στην α-τοκοφερόλη (10-40  $\mu\text{mol/L}$ ), στη γλουταθειόνη (325-650  $\mu\text{mol/L}$ ), στο λιποϊκό οξύ (0,1-0,7  $\mu\text{mol/L}$ ), στο ουρικό οξύ και στην ουρία (260-450  $\mu\text{mol/L}$ ), στο  $\beta$ -καροτένιο (0,5-1  $\mu\text{mol/L}$ ), στην ουβικινόνη (συνένζυμο Q10) (5  $\mu\text{mol/L}$ ) και στη χολερυθρίνη (4-7  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>71,75</sup>. Αρκετές έρευνες έχουν συσχετίσει τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών με διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι ο καρκίνος, η νόσος Alzheimer, η νόσος Parkinson, ο διαβήτης<sup>73</sup>, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η υπέρταση, οι καρδιοπάθειες, καθώς και με τη γήρανση<sup>72</sup>. Ωστόσο, το ερώτημα κατά πόσο τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση της νόσου ή είναι αποτέλεσμα αυτής εξακολουθεί να παραμένει υπό διερεύνηση.

Ο μεγάλος αριθμός αντιοξειδωτικών στα ανθρώπινα υγρά και τους ιστούς κάνει δύσκολη τη μέτρηση κάθε αντιοξειδωτικού ξεχωριστά. Επομένως, πολλοί μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) ενός βιολογικού δείγματος. Η χρήση ενός προοξειδωτικού με σκοπό να ποσοτικοποιήσουμε την ικανότητα απορρόφησης της ρίζας οξυγόνου είναι μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές<sup>74,75</sup>.

## 3.5 Οι πολυμορφισμοί που χρησιμοποιήθηκαν

### 3.5.1 Πολυμορφισμοί παχυσαρκίας

**α) rs9939609:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Science, 2007 May 11;316(5826):889-94, στην μελέτη με τίτλο “A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity” από έρευνες που έγιναν σε 17.508 Δανούς<sup>79</sup>, προκύπτει ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με την παχυσαρκία και η συσχέτιση αυτή γίνεται ακόμη πιο έντονη όταν συνδυάζεται με μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Εντοπίζεται στο FTO γονίδιο, στο 16<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το A.

**β) rs17782313:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Nature Genetics 40, 768-775 (2008) 4 May, στην μελέτη με τίτλο “Common variants near *MC4R* are associated with fat mass, weight and risk of obesity”, από μετρήσεις που έγιναν σε 60.000 άτομα, προκύπτει ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με την παχυσαρκία και μάλιστα έχει μεγαλύτερη επίδραση στα παιδιά από ότι στους ενήλικες. Εντοπίζεται στο MC4R γονίδιο, στο 18<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το C.

**γ) rs6548238:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Obesity journal, 2010 June, στην μελέτη με τίτλο “ Novel Obesity Risk Loci Do Not Determine Distribution of Body Fat Depots: A Whole-body MRI/MRS study”, από έρευνες που έγιναν σε 1469 άτομα χωρίς διαβήτη, βρέθηκε ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με την παχυσαρκία και μάλιστα συνδέεται με την μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης και το συνολικό σωματικό λίπος. Εντοπίζεται στο γονίδιο TMEM18, στο 2<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το C.

**δ) rs6013029:** Όπως δημοσιεύτηκε στο BMC Medical Genetics 10(1):17, March 2009, στην μελέτη με τίτλο “ Studies of CTNNB1 and FDFT1 variants and measures of obesity: Analyses of quantitative traits and case-control

studies in 18,014 Danes”, από έρευνες που έγιναν σε 18.014 Δανούς, ο πολυμορφισμός αυτός έδειξε πως αυξάνει τον κίνδυνο για νοσηρή παχυσαρκία. Εντοπίζεται στο CTNNB1 γονίδιο, στο 20<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**ε) rs1424233:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Nature Genetics 41, 115-159 (2009) 18 January, στην μελέτη με τίτλο “Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations”, από έρευνες που έγιναν σε 1.380 Ευρωπαίους, ο σχετιζόμενος με την παχυσαρκία πολυμορφισμός αυτός φάνηκε να επηρεάζει τη συμπεριφορά πρόσληψης τροφής και την πείνα και όχι τον μεταβολισμό και την κατανάλωση ενέργειας<sup>80</sup>. Εντοπίζεται κοντά στο MAF γονίδιο, στο 16<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το T.

**στ) rs2815752:** Όπως δημοσιεύτηκε στο BMC Medical Genetics, 1 February 2013, στην μελέτη με τίτλο “ Analysis of the contribution of *FTO*, *NPC1*, *ENPP1*, *NEGR1*, *GNPDA2* and *MC4R* genes to obesity in Mexican children”, από έρευνες που έγιναν σε 1.464 παιδιά στο Μεξικό, ο πολυμορφισμός αυτός έδειξε σημαντική επίδραση στα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης νηστείας. Εντοπίζεται κοντά στο NEGR1 γονίδιο, στο 1<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το A.

**ζ) rs10938397:** Όπως δημοσιεύτηκε στο European Journal of Endocrinology, (2011), 164 381-388, στη μελέτη με τίτλο “Genetic variants associated with persistent central obesity and the metabolic syndrome in a 12-year longitudinal study”, ο πολυμορφισμός αυτός έδειξε να συσχετίζεται με επίμονη παχυσαρκία στην κοιλιακή περιοχή, καθώς και με το μεταβολικό σύνδρομο (MetS). Εντοπίζεται κοντά στο GNPDA2 γονίδιο, στο 4<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**η) rs7498665:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Obes Facts, 2011;4(6):473-7, στην μελέτη με τίτλο “Replication of the SH2B1 rs7498665 association with obesity



in a Belgian study population”, από έρευνες που έγιναν σε 1.045 ενήλικες με παχυσαρκία, ο πολυμορφισμός αυτός έδειξε πως σχετίζεται με την παχυσαρκία στους Καυκάσιους. Εντοπίζεται στο SH2B1 γονίδιο, στο 16<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**θ) rs10838738:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Plos One, February 15, 2012, στην μελέτη με τίτλο “ Longitudinal Replication Studies of GWAS Risk SNPs Influencing Body Mass Index over the Course of Childhood and Adulthood”, από έρευνες που έγιναν σε 658 καυκάσιους, φάνηκε ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με αυξημένο BMI στους ενήλικες. Εντοπίζεται στο MTCH2 γονίδιο, στο 11<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**ι) rs11084753:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Gene, 15 April 2015, pages 149-155, στην μελέτη με τίτλο “Genetic variations in *SEC16B*, *MC4R*, *MAP2K5* and *KCTD15* were associated with childhood obesity and interacted with dietary behaviors in Chinese school-age population”, από έρευνες που έγιναν σε περίπου 3.000 παιδιά στην Κίνα ηλικίας 7-17 ετών, ενισχύθηκε η σχέση του πολυμορφισμού αυτού με χαρακτηριστικά της παχυσαρκίας. Εντοπίζεται κοντά στο KCTD15 γονίδιο, στο 19<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

### 3.5.2 Πολυμορφισμοί σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

**α) rs340874:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Genes and Nutrition, March 2015, στην μελέτη με τίτλο “The rs340874 *PROX1* type 2 diabetes mellitus risk variant is associated with visceral fat accumulation and alterations in postprandial glucose and lipid metabolism”, από έρευνες που έγιναν σε 945 άτομα Πολωνικής καταγωγής, φάνηκε η συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με τη συσσώρευση σπλαχνικού λίπους και τον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων μετά τα γεύματα. Εντοπίζεται στο PROX1-AS1 γονίδιο, στο 1<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το C.

**β) rs780094:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Plos One, July 22 2010, στην μελέτη με τίτλο “ Association of rs780094 in *GCKR* with Metabolic Traits and Incident Diabetes and Cardiovascular Disease: The ARIC Study”, από έρευνες που έγιναν σε περίπου 15.000 άτομα ηλικίας 45-64, αποδείχτηκε ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός σχετίζεται με μια σειρά μεταβολικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένων υψηλότερων επιπέδων τριγλυκεριδίων και βελτιωμένης γλυκαιμικής ρύθμισης κυρίως σε άτομα Ευρωπαϊκής καταγωγής. Εντοπίζεται στο *GCKR* γονίδιο, στο 2<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το C.

**γ) rs11708067:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Plos One, 20 March 2015, στην μελέτη με τίτλο “ADCY5 gene expression in adipose tissue is related to obesity in men and mice”, προκύπτει ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2, καθώς και υψηλότερη γλυκόζη νηστείας. Εντοπίζεται στο *ADCY5* γονίδιο, στο 3<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**δ) rs4607517:** Όπως δημοσιεύτηκε στο European Youth Heart Study, 2009, στην μελέτη με τίτλο “Common Genetic Determinants of Glucose Homeostasis in Healthy Children”, από έρευνες που έγιναν σε 2.025 παιδιά και εφήβους της Καυκάσιας φυλής, αποδείχτηκε ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με σημαντικά χαμηλότερη λειτουργία β-κυττάρων. Εντοπίζεται κοντά στο *GCK* γονίδιο, στο 7<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το A.

**ε) rs2191349:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Plos One, 2011, στην μελέτη με τίτλο “Glucose-raising genetic variants in *MADD* and *ADCY5* impair conversion of proinsulin to insulin”, από έρευνες που έγιναν σε 1782 άτομα φάνηκε η σχέση του πολυμορφισμού αυτού με τη μειωμένη έκκριση ινσουλίνης και χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με τη γλυκόζη της νηστείας. Εντοπίζεται στο *DGKB* γονίδιο, στο 7<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**στ) rs11558471:** Όπως δημοσιεύτηκε στο *Clinical Epigenetics*, 18 March 2015, στην μελέτη με τίτλο “Increased DNA methylation of the *SLC30A8* gene promoter is associated with type 2 diabetes in a Malay population”, από έρευνες που έγιναν 992 άτομα από την Μαλαισία, φάνηκε η σχέση που έχει ο πολυμορφισμός αυτός με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Εντοπίζεται στο *SLC30A8* γονίδιο, στο 8<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**ζ) rs4506565:** Όπως δημοσιεύτηκε στο *Mutagenesis* vol. 28,2013, στην μελέτη με τίτλο “TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 121174 subjects”, από έρευνες που περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό ατόμων, φάνηκε η σχέση του πολυμορφισμού αυτού με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Εντοπίζεται στο *TCF7L2* γονίδιο, στο 10<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το A.

**η) rs10830963:** Όπως δημοσιεύτηκε στο *Plos One*, January 10 2017, στην μελέτη με τίτλο “Association Study with 77 SNPs Confirms the Robust Role for the rs10830963/G of *MTNR1B* Variant and Identifies Two Novel Associations in Gestational Diabetes Mellitus Development”, από έρευνες που έγιναν σε 960 έγκυες γυναίκες, επιβεβαιώνεται η συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος, καθώς και με τον διαβήτη κύησης. Επίσης από έρευνες που έγιναν σε 1073 άτομα θηλυκού γένους από την Κίνα έδειξε ότι σχετίζεται και με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών<sup>81</sup>. Εντοπίζεται στο *MTNR1B* γονίδιο, στο 11<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το G.

**θ) rs10811661:** Όπως δημοσιεύτηκε στο *Acta Diabetologica*, October 2013, στην μελέτη με τίτλο “Association between type 2 diabetes and rs10811661 polymorphism upstream of *CDKN2A/B*: a meta-analysis”, φάνηκε η συσχέτιση αυτού του πολυμορφισμού με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 μετά από

έρευνες σε μεγάλο αριθμό ατόμων. Επίσης πρόσφατες μελέτες δείχνουν τη σχέση του με τον διαβήτη της κύησης<sup>82</sup>. Εντοπίζεται κοντά στο CDKN2A/2B γονίδιο, στο 9<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το C.

**ι) rs1111875:** Όπως δημοσιεύτηκε στο Molecular Genetics and Metabolism, February 2012, στην μελέτη με τίτλο “Quantitative assessment of the influence of hematopoietically expressed homeobox variant (rs1111875) on type 2 diabetes risk”, από έρευνες που έγιναν σε 110.875 άτομα διαφόρων εθνικοτήτων, έγινε εμφανές ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, αλλά φαίνεται επίσης ότι η εθνικότητα παίζει μεγάλο ρόλο στη συσχέτιση αυτή. Εντοπίζεται κοντά στο HHEX γονίδιο, στο 10<sup>ο</sup> χρωμόσωμα και το αλληλόμορφο κινδύνου είναι το T.

## 4. ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Για τους σκοπούς της εργασίας έγινε απομόνωση DNA από δείγμα σίελου 333 ατόμων σε ειδική συσκευή διατήρησης. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη συλλογή και διατήρηση του σίελου από το κάθε άτομο ήταν η εξής:



Ξεπλένουμε το στόμα με νερό και με το πέρας 10 λεπτών φτύνουμε στο χωνί μέχρι η ποσότητα του υγρού σίελου, χωρίς φυσαλίδες, φτάσει τη γραμμή των 2 mL στον σωλήνα συλλογής.



Περιστρέφουμε και αφαιρούμε την άκρη της αμπούλας που περιέχει το συντηρητικό.



Αδειάζουμε το περιεχόμενο της αμπούλας στον σωλήνα που έχουμε συλλέξει το σίελο πιέζοντας την αμπούλα και κλείνουμε σφιχτά το καπάκι του σωλήνα.



Αναδεύουμε καλά για 10 sec ώστε να γίνει η ανάμειξη του δείγματος σίελου και του υλικού συντήρησης.



Το περιεχόμενο του σωλήνα είναι έτοιμο να σταλεί για απομόνωση DNA. Μπορεί να διατηρηθεί χωρίς αλλοιώσεις στον σωλήνα σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 5 χρόνια.

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν 0,5 mL από το διατηρημένο δείγμα σίελου του κάθε σωλήνα συλλογής. Τα στάδια της απομόνωσης ήταν τα εξής:

- 1) Ήπια ανάδευση των σωλήνων με το διατηρημένο δείγμα σίελου για μερικά δευτερόλεπτα.
- 2) Μεταφορά 0,5 mL δείγματος σε σωλήνες φυγοκέντρησης των 2 mL.
- 3) Προσθήκη στους σωλήνες φυγοκέντρησης 10  $\mu$ L Proteinase K, ανάδευση στο vortex για μερικά δευτερόλεπτα και επώαση στους 55 °C για μία ώρα.
- 4) Μετά την επώαση προσθήκη 6  $\mu$ L προσθετικού καθαρισμού (Purification Additive) σε κάθε σωλήνα και ανάδευση στο vortex για μερικά δευτερόλεπτα.
- 5) Προσθήκη 60  $\mu$ L Isopropanol και ανάδευση για μερικά δευτερόλεπτα στο vortex.
- 6) Φυγοκέντρηση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min στις 14.000 στροφές.
- 7) Μεταφορά του υπερκείμενου σε νέο σωλήνα φυγοκέντρησης των 2 mL.

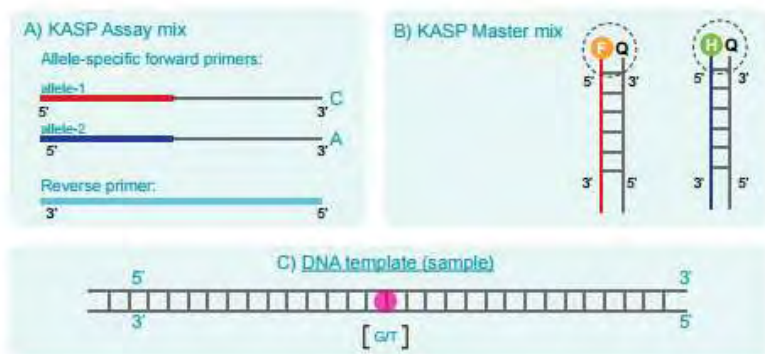
- 8) Προσθήκη ίσων όγκων αιθανόλης 95-100% θερμοκρασίας δωματίου στους νέους σωλήνες φυγοκέντρωσης με το υπερκείμενο και ήπια ανάδευση αναστρέφοντας τους σωλήνες μερικές φορές.
- 9) Αφήνουμε τον σωλήνα με το δείγμα όρθιο να ηρεμήσει σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min ώστε να επιτρέψουμε στο DNA να κατακρημνιστεί πλήρως.
- 10) Φυγοκεντρούμε για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου στις 14.000 στροφές.
- 11) Αφαιρούμε προσεκτικά το υπερκείμενο προσέχοντας να μην διαταράξουμε το ίζημα που περιέχει το DNA.
- 12) Προσεκτικά προσθέτουμε 500  $\mu\text{L}$  διαλύματος 70% αιθανόλης στην επιφάνεια του ιζήματος σε κάθε σωλήνα. Αναδεύουμε ήπια με κυκλικές κινήσεις και αφήνουμε όρθιους τους σωλήνες για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 13) Φυγοκέντρωση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 min στις 14.000 στροφές και απομάκρυνση του υπερκείμενου (αιθανόλης) χωρίς να διαταράξουμε το ίζημα.
- 14) Αφήνουμε ανοιχτούς τους σωλήνες που περιέχουν το κατακρημνισμένο DNA και τους επωάζουμε στους 65 °C για 30 min ώστε να ξεραθεί εντελώς το ίζημα. Πρέπει να εξασφαλιστεί πλήρης ξηρότητα πριν προχωρήσουμε στο επόμενο στάδιο της επανυδάτωσης.
- 15) Επανυδάτωση του DNA με προσθήκη 100  $\mu\text{L}$  TE Buffer.
- 16) Εξασφάλιση πλήρους ενυδάτωσης του απομονωμένου DNA με την επώαση των σωλήνων στους 55 °C για μία ώρα.
- 17) Το καθαρισμένο πλέον δείγμα DNA μπορεί να φυλαχτεί στους 4 °C για έως 2 μήνες. Για μακρόχρονη φύλαξη των δειγμάτων προτείνεται η διατήρησή τους στους -20 °C.

Για τους σκοπούς της εργασίας έγινε γονοτύπηση σε panel που περιείχε δέκα (10) πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την παχυσαρκία και δέκα (10) πολυμορφισμούς που έχουν συσχετιστεί με τον διαβήτη τύπου 2. Η γονοτύπηση έγινε με βάση την τεχνολογία Kasp. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία βασίζεται στην kompetitive allele-specific PCR (KASP) ειδική για την αλληλόμορφο-ανταγωνιστική PCR που επιτρέπει την αναγνώριση και των δύο αλληλομόρφων για μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) καθώς και για προσθήκες και αφαιρέσεις βάσεων σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους. Το SNP-ειδικό KASP mix και ένα KASP Master mix προστίθενται σε δείγματα DNA, στη συνέχεια πραγματοποιείται η αντίδραση στον θερμικό κυκλοποιητή, και ακολουθεί ανάγνωση του φθορισμού σε ένα τελικό σημείο που προκαλεί φθορισμό. Το KASP mix περιέχει τρία ειδικά για αναλύσεις ολιγονουκλεοτίδια χωρίς σήμανση: δύο εκκινητές ειδικούς για τα αλληλόμορφα, με κατεύθυνση εκείνη της οδηγού αλυσίδος και έναν ακόμα κοινό εκκινητή αντίστροφης κατεύθυνσης. Η διάκριση των δύο αλληλόμορφων επιτυγχάνεται μέσω της ανταγωνιστικής σύνδεσης των δύο ειδικών για κάθε αλληλόμορφο εκκινητών, κάθε ένας από τους οποίους φέρει στο άκρο του μια μοναδική αλληλουχία που αντιδρά με δύο κασέτες FRET (fluorescence resonant energy transfer) και δίνει ισχυρό σήμα λόγω του τελικού σημείου φθορισμού. Η αναγνώριση γίνεται με τη βοήθεια δύο διαφορετικών δεικτών που σηματοδοτούν κασέτες FRET. Ο ένας είναι ο FAM™ και ο άλλος είναι ο HEX™. Αναλυτικότερα, στον θερμικό κυκλοποιητή ο ειδικός για το κάθε αλληλόμορφο εκκινητής δεσμεύεται από την περιοχή σύνδεσης και επιμηκύνεται, προσαρμόζοντας την αλληλουχία που φέρει στο άκρο του στον νεο-συντιθέμενο κλώνο. Η συμπληρωματική αλληλουχία δημιουργείται σε ακόλουθους κύκλους PCR επιτρέποντας στην κασέτα FRET να συνδεθεί στο DNA. Η κασέτα FRET δεν θα αποσιωπάται πλέον και θα εκπέμπει φθορισμό. Αν σε έναν δεδομένο SNP έχουμε μονοζυγωτία, τότε μόνο ένα από τα δύο σήματα φθορισμού θα ενεργοποιηθεί, ενώ αν έχουμε ετεροζυγωτία τότε θα έχουμε έναν μικτό φθορισμό.

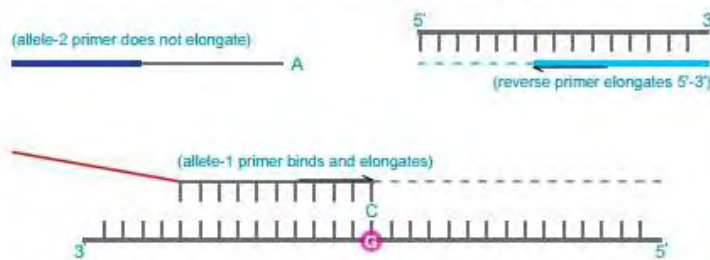


### 1) Assay components:

KASP uses three components: test DNA with the SNP of interest; KASP Assay Mix containing two different, allele-specific, competing forward primers with unique tail sequences and one reverse primer; the KASP Master mix containing FRET cassette plus Taq polymerase in an optimised buffer solution.



### 2) Denatured template and annealing components – PCR round 1:



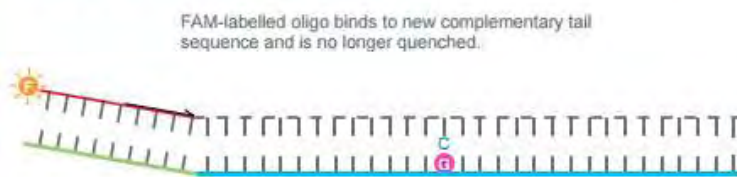
In the first round of PCR, one of the allele-specific primers matches the target SNP and, with the common reverse primer, amplifies the target region.

### 3) Complement of allele-specific tail sequence generated – PCR round 2:

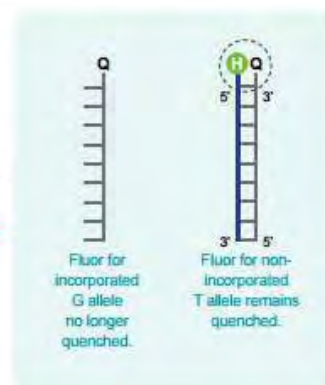


(Reverse primer binds, elongates and makes a complementary copy of the allele-1 tail.)

### 4) Signal generation – PCR round 3:



In further rounds of PCR, levels of allele-specific tail increase. The fluor labelled part of the FRET cassette is complementary to new tail sequences and binds, releasing the fluor from the quencher to generate a fluorescent signal.



Εικόνα 27. Τα βήματα της τεχνολογίας KASP

## Στατιστική ανάλυση

Στη συνέχεια έγινε υπολογισμός του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) για κάθε άτομο στο σύνολο των 10 SNPs παχυσαρκίας και των 10 SNPs σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ξεχωριστά. Για τον υπολογισμό αυτόν έγινε πολλαπλασιασμός του αριθμού των αλληλομόρφων κινδύνου με την επίδραση ( $\beta$ ) που έχει το καθένα από αυτά (βάση δημοσιευμένων αποτελεσμάτων από GWAS) και εν συνεχεία προστέθηκαν τα γινόμενα που υπολογίστηκαν.

Για την στατιστική ανάλυση έγινε γραμμική παλινδρόμηση με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, ώστε να βρεθούν πιθανές συσχετίσεις των σταθμισμένων γενετικών σκορ της παχυσαρκίας και του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 με τους επτά (7) φαινοτύπους που αναφέρθηκαν στο υποκεφάλαιο 3.1, υπολογίζοντας το  $\beta$ , το standard error (SE) και το P-value. Οι στατιστικές αναλύσεις, εκτός από τα σταθμισμένα γενετικά σκορ, έγιναν και για κάθε έναν πολυμορφισμό ξεχωριστά, ώστε να υπάρχει μια εικόνα για τον συσχετισμό του κάθε πολυμορφισμού με τον κάθε έναν από τους υπό εξέταση φαινότυπους. Υπολογίστηκαν επίσης τα σταθμισμένα γενετικά σκορ ξεχωριστά για τα άτομα αρσενικού φύλου και για τα άτομα θηλυκού φύλου στο δείγμα. Η ανάλυση και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο Stata/SE 12.

## Περιγραφικά του δείγματος

Το δείγμα των ατόμων που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση αποτελείται από 333 άτομα διαφορετικών ηλικιών (10-74 ετών), με μέση τιμή τα 37 έτη και από τα δύο φύλα. Η μέση τιμή για τον καθένα φαινότυπο που εξετάστηκε είναι για την λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού 21,13, για την λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού ανά εξάμηνο 15,57, για την λιπομέτρηση % 25,64, για την λιπομέτρηση % ανά εξάμηνο 19,91, για το BMI 26,48, για τα επίπεδα γλουταθειόνης 2,63, για την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος 0,87 και οι αντίστοιχες τυπικές τους αποκλίσεις 12,03, 9,73, 10,01, 9,33, 7,35, 1,15 και 0,12.

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 5.1 Για τα SNPs της παχυσαρκίας

**Πίνακας 1:** Σχέσεις του *rs9939609* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,951	0,746	0,204	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,442	1,241	0,246	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά δμηνο</b>	1,618	1,187	0,175	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,808	1,035	0,436	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά δμηνο</b>	0,938	1,144	0,414	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,007	0,120	0,956	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,015	0,012	0,213	190

**Πίνακας 2:** Σχέσεις του *rs17782313* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,883	0,816	0,281	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	2,576	1,353	0,058*	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά δμηνο</b>	1,985	1,310	0,132	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	1,710	1,130	0,132	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά δμηνο</b>	1,721	1,258	0,174	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,006	0,133	0,962	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,007	0,014	0,616	190

**Πίνακας 3:** Σχέσεις του *rs6548238* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	1,126	0,937	0,231	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,321	1,551	0,396	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,971	1,558	0,534	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,681	1,293	0,599	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,038	0,150	0,980	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,077	0,153	0,614	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,010	0,016	0,532	190

**Πίνακας 4:** Σχέσεις του *rs6013029* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,779	1,532	0,611	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,207	2,600	0,643	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,638	2,331	0,785	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	2,535	2,157	0,241	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	1,908	2,230	0,394	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,171	0,237	0,470	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,024	0,024	0,324	190

**Πίνακας 5:** Σχέσεις του *rs1424233* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,250	0,766	0,745	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	0,447	1,286	0,729	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,084	1,305	0,949	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,115	1,071	0,914	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,189	1,251	0,880	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,047	0,122	0,702	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,005	0,012	0,697	190

**Πίνακας 6:** Σχέσεις του *rs2815752* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,334	0,795	0,675	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	0,905	1,311	0,491	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,381	1,317	0,773	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,922	1,090	0,399	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,643	1,262	0,611	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,094	0,128	0,464	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,011	0,013	0,411	190

**Πίνακας 7:** Σχέσεις του *rs10938397* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,173	0,784	0,826	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-1,371	1,292	0,290	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	1,317	1,286	0,571	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,446	1,078	0,679	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,108	1,235	0,931	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,135	0,129	0,294	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	$6 \times 10^{-4}$	0,013	0,964	190

**Πίνακας 8:** Σχέσεις του *rs7498665* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,451	0,810	0,578	198
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-1,527	1,333	0,254	193
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-0,858	1,258	0,496	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-1,053	1,110	0,344	193
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,544	1,208	0,653	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,048	0,129	0,711	188
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,017	0,013	0,187	188

**Πίνακας 9:** Σχέσεις του *rs10838738* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,887	0,796	0,266	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,192	1,362	0,888	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,259	1,329	0,846	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,693	1,133	0,541	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,024	1,274	0,985	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,100	0,131	0,449	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	$7 \times 10^{-4}$	0,013	0,955	190

**Πίνακας 10:** Σχέσεις του *rs11084753* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-1,233	0,812	0,130	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,443	1,241	0,246	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-1,206	1,330	0,366	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,832	1,128	0,462	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,148	1,279	0,908	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,141	0,138	0,306	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	$1 \times 10^{-4}$	0,014	0,993	190

## 5.2 Για τα SNPs του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

**Πίνακας 11:** Σχέσεις του *rs340874* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	1,260	0,725	0,084*	198
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,497	1,204	0,215	193
<b>Λιπομέτρηση kg ανά δμηνο</b>	2,408	1,172	0,042**	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,917	1,003	0,362	193
<b>Λιπομέτρηση % ανά δμηνο</b>	1,838	1,131	0,106*	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,036	0,121	0,769	188
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,006	0,012	0,637	188

**Πίνακας 12:** Σχέσεις του *rs780094* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,095	0,841	0,910	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-2,875	1,345	0,034	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά δμηνο</b>	-2,696	1,391	0,055*	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-2,767	1,115	0,014**	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά δμηνο</b>	-3,129	1,325	0,020**	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,002	0,132	0,986	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,008	0,013	0,540	190



**Πίνακας 13:** Σχέσεις του *rs11708067* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	1,404	1,023	0,171	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,538	1,755	0,382	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	1,926	1,625	0,238	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,820	1,463	0,576	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	1,824	1,559	0,244	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,518	0,162	0,002***	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,013	0,017	0,444	190

**Πίνακας 14:** Σχέσεις του *rs4607517* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,216	0,868	0,804	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,298	1,463	0,839	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,645	1,414	0,649	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,357	1,217	0,770	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,710	1,356	0,601	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,007	0,140	0,958	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,015	0,014	0,277	190

**Πίνακας 15:** Σχέσεις του *rs2191349* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,189	0,776	0,808	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,740	1,277	0,563	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-0,313	1,304	0,811	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,791	1,063	0,457	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,291	1,251	0,817	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,193	0,128	0,132	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,012	0,013	0,353	190

**Πίνακας 16:** Σχέσεις του *rs11558471* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,304	0,826	0,713	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	0,419	1,382	0,762	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,234	1,331	0,861	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,557	1,150	0,629	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,754	1,275	0,555	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,123	0,132	0,351	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,003	0,013	0,808	190

**Πίνακας 17:** Σχέσεις του *rs4506565* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,564	0,824	0,495	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,172	1,344	0,898	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-0,598	1,349	0,658	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,482	1,118	0,667	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,118	1,295	0,928	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,181	0,130	0,167	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,001	0,013	0,918	190

**Πίνακας 18:** Σχέσεις του *rs10830963* με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,167	0,909	0,854	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,215	1,479	0,884	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	1,183	1,521	0,438	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,854	1,230	0,488	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,906	1,460	0,536	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,023	0,150	0,877	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	$5 \times 10^{-4}$	0,015	0,974	190

**Πίνακας 19:** Σχέσεις του *rs10811661* με τους φαινότυπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,062	0,996	0,950	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,458	1,586	0,773	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-0,857	1,510	0,571	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,783	1,319	0,554	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,696	1,449	0,632	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,163	0,147	0,270	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,019	0,015	0,201	190

**Πίνακας 20:** Σχέσεις του *rs1111875* με τους φαινότυπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,139	0,774	0,857	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-1,607	1,300	0,218	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-1,167	1,275	0,362	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-1,003	1,084	0,356	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-0,125	1,227	0,919	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,182	0,124	0,143	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,002	0,013	0,873	190

### 5.3 Για το wGRS της παχυσαρκίας

**Πίνακας 21:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) παχυσαρκίας με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,257	0,344	0,455	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	0,655	0,564	0,247	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	0,669	0,553	0,229	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,566	0,470	0,230	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,603	0,531	0,258	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,043	0,056	0,442	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	$7 \times 10^{-4}$	0,006	0,901	190

**Πίνακας 22:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) παχυσαρκίας μόνο για άτομα του αρσενικού φύλου με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	0,088	0,622	0,877	73
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	1,470	0,944	0,124	65
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	1,237	0,998	0,222	46
<b>Λιπομέτρηση %</b>	1,280	0,650	0,053*	65
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	1,152	0,784	0,149	46
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,065	0,093	0,486	68
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,017	0,010	0,099*	68

**Πίνακας 23:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) παχυσαρκίας μόνο για άτομα του θηλυκού φύλου με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

<b>Φαινότυποι</b>	<b>Beta</b>	<b>SE</b>	<b>P-value</b>	<b>N</b>
<b>BMI</b>	0,066	0,457	0,886	94
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-0,095	0,762	0,901	97
<b>Λιπομέτρηση kg ανά δμηνο</b>	0,202	0,662	0,761	71
<b>Λιπομέτρηση %</b>	0,054	0,598	0,929	97
<b>Λιπομέτρηση % ανά δμηνο</b>	0,206	0,628	0,743	71
<b>Γλουταθειόνη</b>	-0,103	0,086	0,237	89
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,013	0,007	0,074*	89

## 5.4 Για το wGRS του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

**Πίνακας 24:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) σακχαρώδη διαβήτη με τους φαινότυπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	1,252	1,917	0,514	199
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-2,021	3,162	0,523	194
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-0,231	2,984	0,939	133
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-2,116	2,630	0,422	194
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	0,404	2,862	0,888	133
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,538	0,291	0,066*	190
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,014	0,030	0,649	190

**Πίνακας 25:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) σακχαρώδη διαβήτη μόνο για άτομα αρσενικού φύλου με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

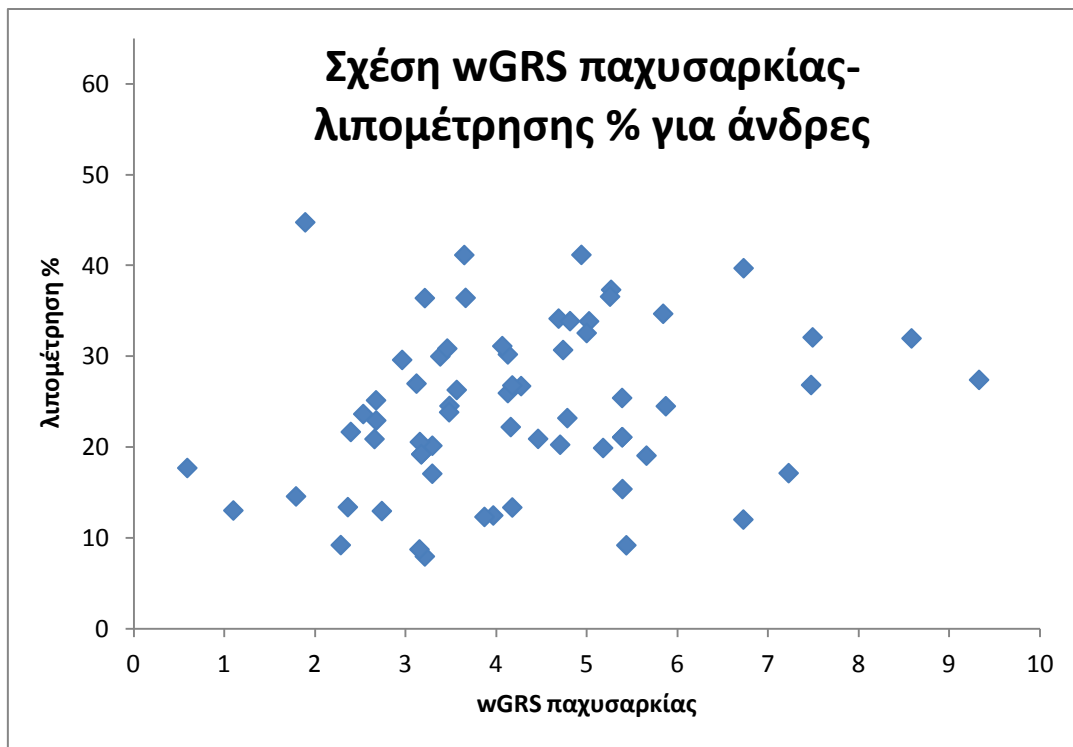
Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	3,709	3,486	0,291	73
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	2,102	5,587	0,708	65
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	4,583	5,362	0,397	46
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-0,816	3,894	0,835	65
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	3,130	4,251	0,465	46
<b>Γλουταθειόνη</b>	1,225	0,474	0.012**	68
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	-0,105	0,055	0,058*	68

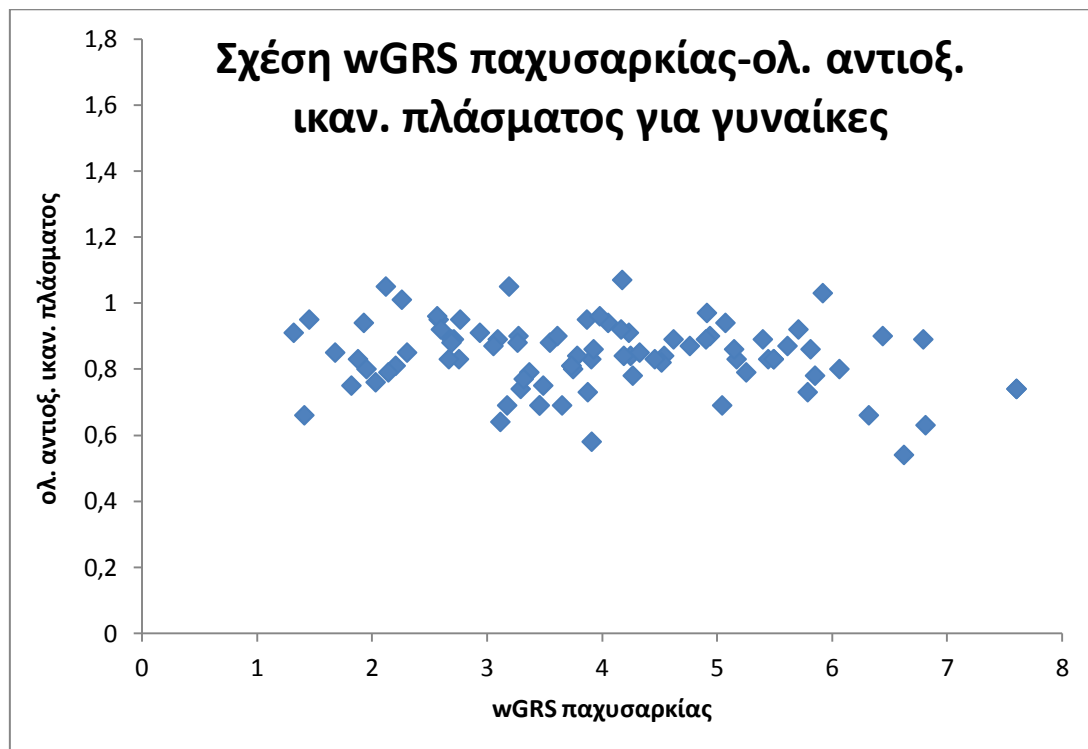
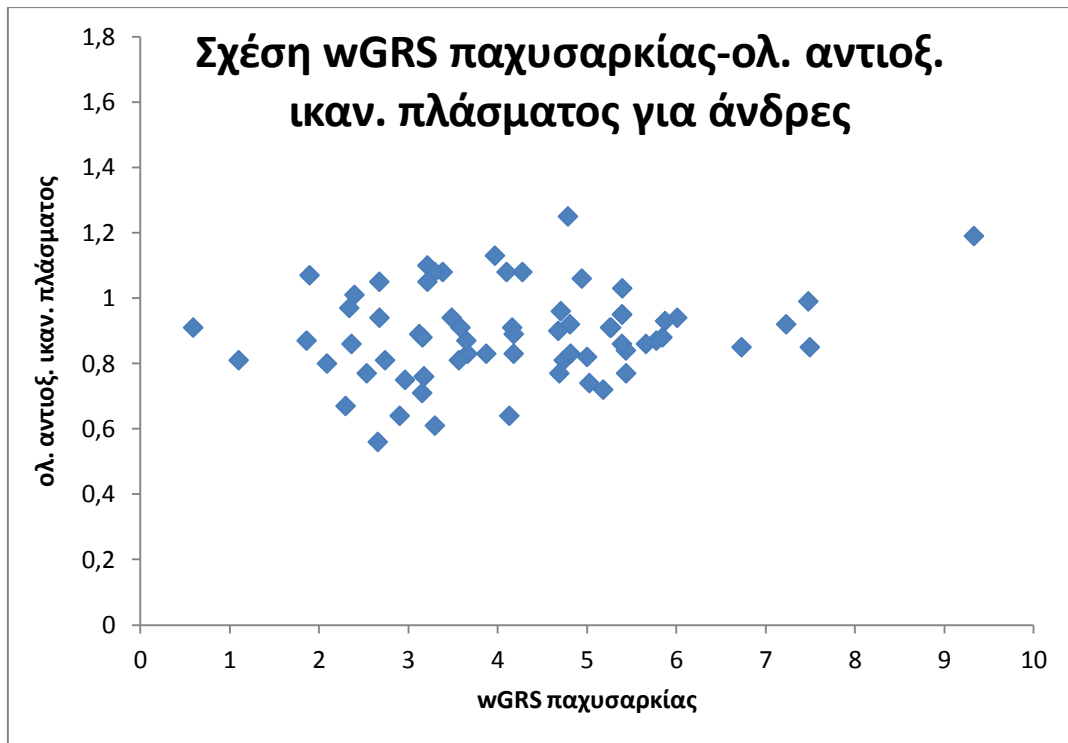
**Πίνακας 26:** Σχέσεις του σταθμισμένου γενετικού σκορ (wGRS) σακχαρώδη διαβήτη μόνο για άτομα θηλυκού φύλου με τους φαινοτύπους, όπου N το μέγεθος του δείγματος και οι μετρήσεις σε kg αφορούν τον λιπώδη ιστό.

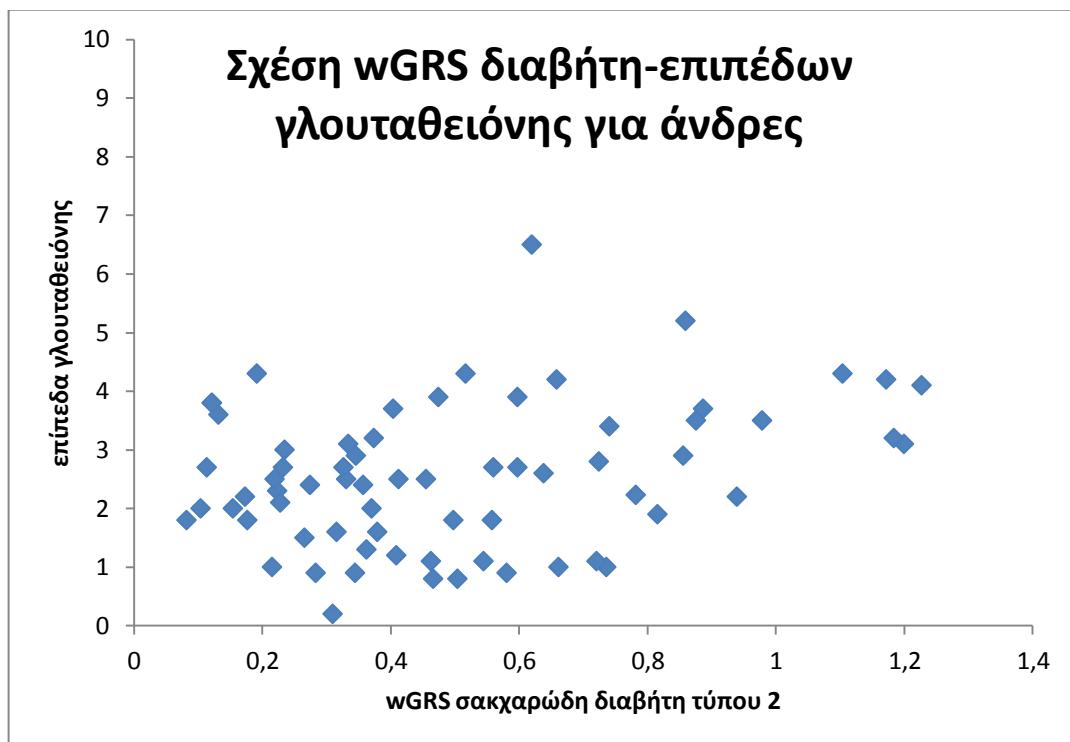
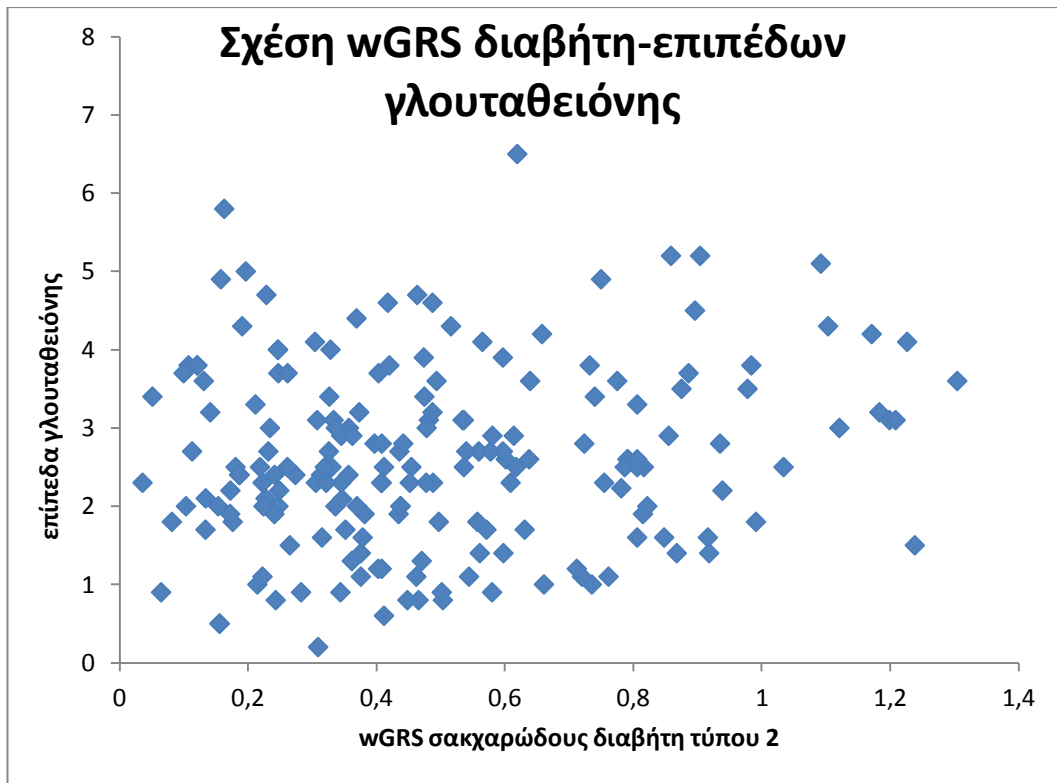
Φαινότυποι	Beta	SE	P-value	N
<b>BMI</b>	-0,135	2,456	0,956	94
<b>Λιπομέτρηση kg</b>	-3,440	4,011	0,393	97
<b>Λιπομέτρηση kg ανά 6μηνο</b>	-4,542	3,511	0,200	71
<b>Λιπομέτρηση %</b>	-3,167	3,147	0,317	97
<b>Λιπομέτρηση % ανά 6μηνο</b>	-4,747	3,320	0,157	71
<b>Γλουταθειόνη</b>	0,218	0,442	0,623	89
<b>Ολ. Αντιοξ. Ικαν. Πλάσματος</b>	0,053	0,038	0,161	89

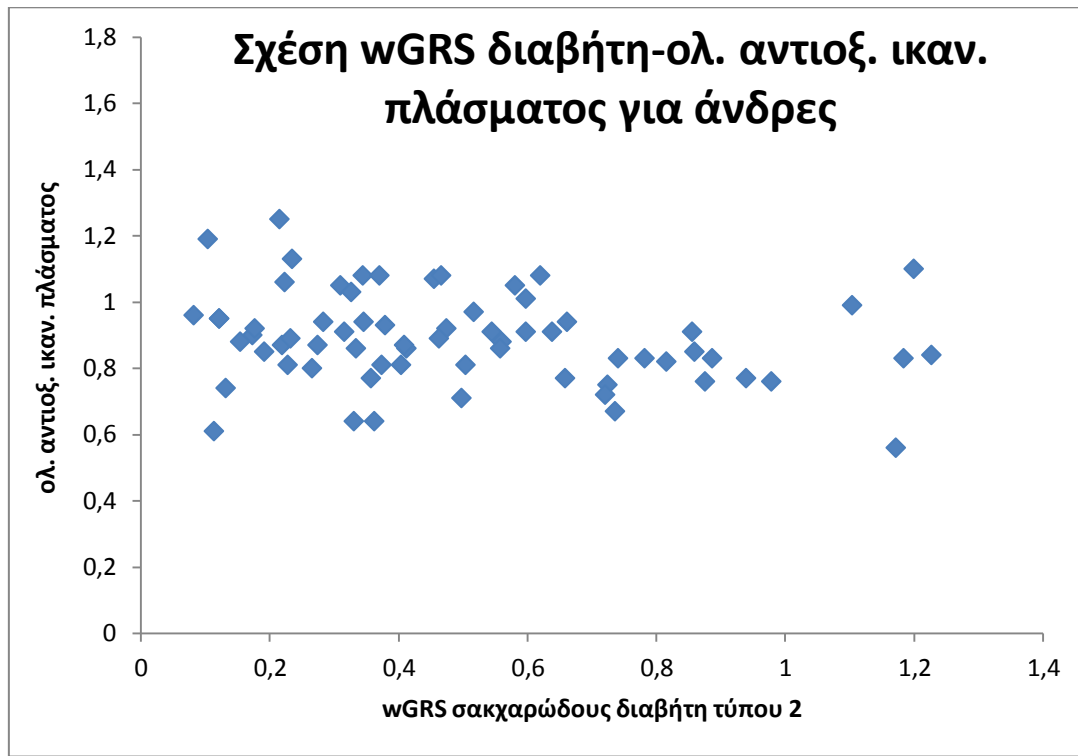


## 5.5 Διαγράμματα των στατιστικά σημαντικών σχέσεων wGRS παχυσαρκίας και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 - φαινοτύπων









## 6. Συμπεράσματα-Συζήτηση

### Για τους πολυμορφισμούς της παχυσαρκίας:

- *rs17782313*: Παρατηρούμε ότι για κάθε μονάδα που αυξάνεται το wGRS, η λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού αυξάνεται κατά 2,576 (SE=1,353) με P-value 0,058.
- Για τους υπόλοιπους πολυμορφισμούς δεν παρατηρούμε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

### Για τους πολυμορφισμούς του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2:

- *rs340874*: Παρατηρούμε ότι για κάθε μονάδα που αυξάνεται το wGRS, το BMI αυξάνεται κατά 1,260 (SE=0,725) με P-value 0,084, η λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού ανά εξάμηνο αυξάνεται κατά 2,408 (SE=1,172) με P-value 0,042 και το ποσοστό της λιπομέτρησης % ανά εξάμηνο αυξάνεται κατά 1,838 (SE=1,131) με P-value 0,106.
- *rs780094*: Παρατηρούμε ότι για κάθε μονάδα που αυξάνεται το wGRS, η λιπομέτρηση σε kg λιπώδους ιστού ανά εξάμηνο μειώνεται κατά 2,696 (SE=1,391) με P-value 0,055, το ποσοστό της λιπομέτρησης % μειώνεται κατά 2,767 (SE=1,115) με P-value 0,014 και η λιπομέτρηση % ανά εξάμηνο μειώνεται κατά 3,129 (SE=1,325) με P-value 0,020.
- *rs11708067*: Παρατηρούμε ότι για κάθε μονάδα που αυξάνεται η wGRS, τα επίπεδα γλυταθειόνης αυξάνονται κατά 0,518 (SE=0,162) με P-value 0,002.
- Για τους υπόλοιπους πολυμορφισμούς δεν παρατηρούμε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

## Για το σταθμισμένο γενετικό σκορ της παχυσαρκίας:

- Το wGRS της παχυσαρκίας δεν εμφάνισε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα για κάποιον από τους φαινότυπους. Ωστόσο, όταν εξετάστηκαν ξεχωριστά τα σκορ για τους άνδρες και για τις γυναίκες, παρατηρήθηκε ότι στους άνδρες με την αύξηση μιας μονάδας του wGRS, αυξάνεται το ποσοστό της λιπομέτρησης % κατά 1,280 (SE=0,650) με P-value 0,053.
- Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος παρουσιάζει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες και μάλιστα η αύξηση του wGRS κατά μια μονάδα έχει αντίθετο αποτέλεσμα στους άνδρες από ότι στις γυναίκες. Στους άνδρες παρατηρείται αύξηση κατά 0,017 (SE=0,010) με P-value 0,099, ενώ στις γυναίκες παρατηρείται μείωση κατά 0,013 (SE=0,007) με P-value 0,074, αλλαγές πολύ μικρές και αντίθετες μεταξύ τους, που όταν τις πήραμε μαζί στη μέτρηση δεν έδειξαν κάποιο σημαντικό αποτέλεσμα.

## Για το σταθμισμένο γενετικό σκορ του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2:

- Το wGRS του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έδειξε ότι για κάθε μονάδα που αυξάνεται, τα επίπεδα γλουταθειόνης αυξάνονται κι εκείνα κατά 0,538 μονάδες (SE=0,291) με P-value 0,066. Όταν εξετάστηκε ξεχωριστά η σχέση του για άνδρες και γυναίκες, παρατηρήθηκε ότι για τις γυναίκες δεν υπήρχε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, όμως για τους άνδρες η αύξηση των επιπέδων γλουταθειόνης ήταν μεγαλύτερη (αύξηση κατά 1,225 μονάδες με SE=0,474 και P-value 0,012). Η αύξηση των επιπέδων γλουταθειόνης με την αύξηση του wGRS του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 στους άνδρες δείχνει πιθανή αντιοξειδωτική δράση.
- Το wGRS του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έδειξε επίσης ότι επηρεάζει την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των ανδρών με μείωσή της κατά 0,105 μονάδες (SE=0,055) και P-value 0,058 για κάθε μονάδα που αυτό αυξάνεται.

Από τα αποτελέσματα βλέπουμε πως εκτός λίγων εξαιρέσεων υπάρχει από μικρή έως καθόλου συσχέτιση των πολυμορφισμών και των σταθμισμένων γενετικών σκορ, τόσο της παχυσαρκίας όσο και του σακχαρώδη διαβήτη, με τους επτά (7) φαινοτύπους που εξετάστηκαν. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι έχουμε μικρό μέγεθος δείγματος και όσον αφορά τα wGRS, στο ότι χρησιμοποιήσαμε μόνο 10 πολυμορφισμούς για τον υπολογισμό τους. Αν χρησιμοποιηθούν και άλλοι πολυμορφισμοί από εκείνους που συσχετίζονται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 πιθανότατα οι συσχετίσεις να αυξηθούν.

Η αύξηση των επιπέδων γλουταθειόνης με την αύξηση του wGRS του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 στους άνδρες δείχνει πιθανή αντιοξειδωτική δράση.

Το κύριο πρόβλημα των μελετών γονιδιακού ελέγχου που χρησιμοποιούν SNPs έγκειται στην ανάλυση των δεδομένων. Η τεχνολογία της γονοτυπικής ανάλυσης είναι σήμερα μπροστά από τα στατιστικά εργαλεία που είναι διαθέσιμα και μένει να δούμε πόσο γρήγορα θα λυθεί το πρόβλημα των δοκιμών πολλαπλών υποθέσεων με τη χρήση μεγάλου αριθμού δεικτών που δείχνουν σημαντική ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους.

## 7. Βιβλιογραφία

- 1) Οι παχύτερες «Αφροδίτες της Ευρώπης» και οι κομψές «κυρίες της κυκλαδικής τέχνης» Μια σύγκριση με νικητή τον πολιτισμό, Μηχανή του χρόνου, 22-3-2017
- 2) Hellenical Medical Association for Obesity. Η ιστορία της Παχυσαρκίας: Από τον Ιπποκράτη στην ορλιστάτη
- 3) Αίτια εμφάνισης της παχυσαρκίας, Επιστημονικά Χρονικά, Ταχτσόγλου Κ. Ηλιάδης Χ. 2015;20(1): 54-63
- 4) PH Wilding, J. Causes of obesity, Practical Diabetes International, 2001;18(8): 288-292
- 5) Wangensteen T. Undlien D. Tonstad S. Retterstol L. [Genetic causes of obesity]. Tidsskrift for den Norske legeförening:tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke, 2005;125(22): 3090-3093
- 6) Yang W. Kelly T. He J. Genetic epidemiology of obesity, Epub 2007 Jun 12
- 7) Puhl R. M. Heuer C.A. The stigma of obesity: a review and update. Obesity, 2009;17(5): 941-964
- 8) Gregoire F.M. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. Experimental Biology and Medicine, 2001;226(11): 997-1002
- 9) Flier J. S. Harris M. Hollenberg A. N. Leptin, nutrition and the thyroid: the why, the wherefore, and the wiring. Journal of Clinical Investigation, 2000;105(7): 859
- 10) Fishbein L. Causes of obesity. The Lancet, 2001;357(9272): 1977-1978
- 11) Kopelman P. G. Obesity as a medical problem. Nature, 2000;404(6778): 635-643
- 12) Freedman, D. S., Khan, L. K., Serdula, M. K., Dietz, W. H., Srinivasan, S. R., Berenson, G. S. The relation of menarcheal age to obesity in childhood and adulthood: the Bogalusa heart study. BMC pediatrics, 2003; 3(1): 3



- 13) American Diabetes Association, *Diabetes Care* 2009; 32 [Suppl 1], S62-S67
- 14) Papaspyros NS. The history of diabetes. In: Verlag GT, ed. *The History of Diabetes Mellitus*. Stuttgart: Thieme; 1964:4
- 15) Jacek Zajac, Anil Shrestha, Parini Patel, Leonid Poretsky. *The Main Events in the History of Diabetes Mellitus*
- 16) Ritu Lakhtakia, *The History of Diabetes Mellitus*, Sultan Qaboos Univ Med J. 2013 Aug;13(3): 368-370
- 17) Ιατρικό Κέντρο Αρεταίος, Ορισμός και Ταξινόμηση του Σακχαρώδη Διαβήτη, 2015
- 18) Harvard Health Publications, Harvard Medical School, *Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)*, January 2014
- 19) Γκέλη Δούκα Ελένη, Τύπας Μιλτιάδης, Βασική Γενετική, Τρίτη διορθωμένη ανατύπωση, 2004
- 20) Ford, E. B. (1940). "Polymorphism and Taxonomy". In Julian Huxley (ed.). *The New Systematics*. Oxford:Clarendon Pr. pp. 493–513
- 21) The biology project, Human Biology, Blackett Family DNA Activity 2, "What is a Short Tandem Repeat Polymorphism (STR)", University of Arizona, [www.biology.arizona.edu/](http://www.biology.arizona.edu/)
- 22) <https://www.nlm.nih.gov/visibleproofs/education/dna/vntr.pdf>
- 23) [http://users.auth.gr/~palexios/N539E/Courses\\_files/GeneticsI%2012\\_recombinant%20DNA%20technology.pdf](http://users.auth.gr/~palexios/N539E/Courses_files/GeneticsI%2012_recombinant%20DNA%20technology.pdf), p. 10-15
- 24) Peter J. Russell, *iGenetics «Μια Μεντελική προσέγγιση»*, Κεφάλαιο 17 "Εφαρμογές της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA", Ακαδημαϊκές εκδόσεις 2009, p. 18-28
- 25) Christopher G. Bell, Andrew J. Walley and Philippe Froguel, *THE GENETICS OF HUMAN OBESITY*, 2005
- 26) Zhang, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–432. The identification of the leptin gene, 1994
- 27) Tartaglia, L. A. et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83, 1263–1271. The identification of the leptin receptor gene, 1995

- 28) Naggert, J. K. et al. Hyperproinsulinaemia in obese fat/fat mice associated with a carboxypeptidase E mutation which reduces enzyme activity. *Nature Genet.* 10, 135–142, 1995
- 29) Bultman, S. J., Michaud, E. J. & Woychik, R. P. Molecular characterization of the mouse agouti locus. *Cell* 71,1195–1204, 1992
- 30) Huszar, D. et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 88, 131–141, 1997
- 31) Ollmann, M. M. et al. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 278, 135–138, 1997
- 32) Farooqi, I. S. et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N. Engl. J. Med.* 341,879–884, 1999
- 33) Farooqi, I. S. et al. Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature* 414, 34–35, 2001
- 34) Lubrano-Berthelier, C. et al. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated MC4R mutations. *Hum. Mol. Genet.* 12, 145–153, 2003
- 35) Farooqi, I. S. et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N. Engl.J. Med.* 348, 1085–1095, 2003
- 36) Delrue, M. A. & Michaud, J. L. Fat chance: genetic syndromes with obesity. *Clin. Genet.* 66, 83–93, 2004
- 37) Jiang, Y., Tsai, T. F., Bressler, J. & Beaudet, A. L. Imprinting in Angelman and Prader–Willi syndromes. *Curr. Opin. Genet.Dev.* 8, 334–342, 1998
- 38) Cummings, D. E. et al. Elevated plasma ghrelin levels in Prader–Willi syndrome. *Nature Med.* 8, 643–644, 2002
- 39) Holder, J. L. Jr, Butte, N. F. & Zinn, A. R. Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum. Mol. Genet.* 9, 101–108, 2000
- 40) Faivre, L. et al. Deletion of the SIM1 gene (6q16. 2) in a patient with a Prader–Willi-like phenotype. *J. Med. Genet.*39, 594–596, 2002
- 41) Spiegel, A. M. & Weinstein, L. S. Inherited diseases involving G proteins and G protein-coupled receptors. *Annu. Rev.Med.* 55, 27–39, 2004

- 42) Ristow, M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. *J. Mol. Med.* 82, 510–529, 2004
- 43) Kim, J. C. et al. The Bardet–Biedl protein BBS4 targets cargo to the pericentriolar region and is required for microtubule anchoring and cell cycle progression. *Nature Genet.* 36, 462–470, 2004
- 44) Kulaga, H. M. et al. Loss of BBS proteins causes anosmia in humans and defects in olfactory cilia structure and function in the mouse. *Nature Genet.* 36, 994–998, 2004
- 45) Beales, P. L. et al. Genetic interaction of BBS1 mutations with alleles at other BBS loci can result in non-Mendelian Bardet–Biedl syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 72,1187–1199, 2003
- 46) The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 447, 661–678, 2007
- 47) Loos, R. J. & Bouchard, C. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes. Rev.* 9, 246–50, 2008
- 48) Gerken, T. et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science* 318, 1469–1472, 2007
- 49) Speakman, J. R., Rance, K. A. & Johnstone, A. M. Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure. *Obesity (Silver Spring)* 16, 1961–1965, 2008
- 50) Wardle, J., Llewellyn, C., Sanderson, S. & Plomin, R. The FTO gene and measured food intake in children. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 2008
- 51) Wahlen, K., Sjolín, E. & Hoffstedt, J. The common rs9939609 gene variant of the fat mass- and obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis. *J. Lipid Res.* 49, 607–611, 2008
- 52) Genetics of Obesity, AMA, American Medical Association
- 53) Andrew J. Walley, Julian E. Asher and Philippe Froguel. The genetic contribution to non-syndromic human obesity, 2009
- 54) Malecki M. T, Klupa T. Type 2 diabetes mellitus: from genes to disease, *Pharmacological Reports*, 57:20-32, 2005
- 55) Hitman G. A, J. Sudagani. Searching for genes in diabetes and the metabolic syndrome, *J Clin Pract*, 58:3-8, 2004

- 56) Frayling T. M. A new era in finding type 2 diabetes genes-the unusual suspects, *Diabetes UK, Diabet Med*, 24:696-701, 2007
- 57) Tilburg J, Haefliger T. W, Pearson P, Wijmenga C. Defining the genetic contribution of type 2 diabetes mellitus, *J Med Genet*, 38:569-578, 2004
- 58) Altshuler D, Hirschhorn J. N, Klannemark M, Lindgren C. M, Vohl M. C, Nemesh J. The common PPAR gamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes, *Nat Genet*, 26:76-80, 2000
- 59) Gloyn A, Weedon M. N, Owen K. R, Turner M. J, Knight B. A, Hitman G, Walker M, Levy J. C, Sampson M, Halford S, McCarthy M. I, Hattersley A. T, Frayling T. M. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes, *Diabetes*, 52:568-572, 2003
- 60) Nielsen EM. D, Hansen L, Carstensen B, Echwald S. M, Drivsholm T, Glümer C, Thorsteinsson B, Borch-Johnsen K, Hansen T, Pedersen O. The E23K variant of Kir6.2 associates with impaired post-OGTT serum insulin response and increased risk of type 2 diabetes, *Diabetes*, 52:573-577, 2003
- 61) Hansen L. et al, Pedersen O. Genetics of type 2 diabetes mellitus: status and perspectives, *Diabetes Obes Metabol*, 7:122-135, 2005
- 62) Horikawa Y, Oda N, Cox N, Li X, Orcho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner T. H, Mashima H, Schwarz P. E.H, Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky K. S, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier L, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis G. L, Bell G. I. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus, *Nat Genet*, 26:163-175, 2000
- 63) Tsuchiya T, Schwarz P. E. H, Bosque-Plata L Del, Geoffrey Hayes M, Dina C, Froguel P, Wayne T. G, Bell G. I. Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes in Europeans: results of pooled and meta-analyses, *Mol Genet Metab*, 89:174-184, 2006

- 64) Grant S. FA, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, Helgason A, Stefansson H, Emilsson V, Helgadóttir A, Styrkarsdóttir U, Mangusson K. P, Walters B, Palsdóttir E, Jonsdóttir T, Gudmundsdóttir T, Gylfason A, Saemundsdóttir J, Wilensky R. L, Reilly M. P, Rader D. J, Bagger Y, Christiansen C, Gudnason V, Sigurdsson G, Thorsteinsdóttir U, Gulcher J. R, Kong A, Stefansson K. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes, *Nat Genet*, 38:320-323, 2006
- 65) Goldstein D. B, Weale Michael E. Linkage disequilibrium holds the key, *Curr biol*, 11:R576-R579, 2001
- 66) Daniel W. Belsky, Terrie E. Moffitt, Karen Sugden, Benjamin Williams, Renate Houts, Jeanette McCarthy, Avshalom Caspi. Development and Evaluation of a Genetic Risk Score for Obesity, *Biodemography and Social Biology*, Volume 59 - Issue 1: The Use of Genetic Information within Biodemographic Studies, 2013
- 67) Mendoza-Cozatl D, et al. Sulfur assimilation and glutathione metabolism under cadmium stress in yeast, protists and plants. *FEMS Microbiol Rev* 29(4):653-71, 2005
- 68) Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, 1999
- 69) May, M. J., Qu, C. Z. and Neel, R. D. Recycling of vitamin C from its oxidized forms by human endothelial cells. *Biochim. Biophys. Acta*. 1640:153-161, 2003
- 70) Sies, H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* 27:916-921, 1999
- 71) Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. 1. Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004, 567:1–61
- 72) Mezzeti A, Lapenna D, Romano F, Costantini F, Pierdomenico SD, De Cesare D. et al. Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *Associazione Medica "Sabin" J. Am Geriatr Soc* 1996, 44:823-827
- 73) Dierckx N, Horvath G, Van Gils C, Vertommen J, Van De Vliet J, De Leeuw I et al. Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus: Relationship to diet. *Eur J Clin Nutr* 2003, 57:999–1008

- 74) Prior RL, Cao G. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review, *J AOAC Int.* 2000 Jul-Aug;83(4):950-6
- 75) Ε. Λυμπεράκη, Φ. Ελευθερίου, Σ. Μακρή, Χ. Πέτρου. Determination of serum antioxidants following a diet rich in antioxidants, *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2011, 28(1):57-62
- 76) E. Marouli, S. Kanoni, M. Dimitriou, G. Kolovou, P. Deloukas, G. Dedousis. Lifestyle may modify the glucose-raising effect of genetic loci. A study in the Greek population, *ELSEVIER*, November 2015
- 77) Nordman S. Identification of susceptibility genes in type 2 diabetes, Department of molecular medicine and surgery, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, 2008
- 78) Knigge A, Klötting N, Schön MR, Dietrich A, Fasshauer M, Gärtner D, Lohmann T, Dreßler M, Stumvoll M, Kovacs P, Blüher M, *PLoS One.* 2015 Mar 20;10(3):e0120742. doi: 10.1371/journal.pone.0120742. eCollection 2015. ADCY5 gene expression in adipose tissue is related to obesity in men and mice
- 79) Camilla H. Andreasen, Kirstine L. Stender-Petersen, Mette S. Mogensen, Signe S. Torekov, Lise Wegner, Gitte Andersen, Arne L. Nielsen, Anders Albrechtsen, Knut Borch-Johnsen, Signe S. Rasmussen, Jesper O. Clausen, Anneli Sandbæk, Torsten Lauritzen, Lars Hansen, Torben Jørgensen, Oluf Pedersen, Torben Hansen. Low Physical Activity Accentuates the Effect of the *FTO* rs9939609 Polymorphism on Body Fat Accumulation, *Diabetes* 2008, Jan;57(1):95-101
- 80) Sebastian Haller, Juliane Spiegler, Claudia Hemmelmann, Helmut Küster, Matthias Vochem, Jens Möller, Dirk Müller, Angela Kribs, Thomas Hoehn, Christoph Härtel, Egbert Herting, Wolfgang Göpel. Polymorphisms in *FTO* and *MAF* Genes and Birth Weight, BMI, Ponderal Index, Weight Gain in a Large Cohort of Infants with a Birth Weight below 1500 Grams, *Plos One*, June 26, 2013
- 81) Chao Li, Yuhua Shi, Li You, Laicheng Wang, Zi-Jiang Chen. Association of rs10830963 and rs10830962 SNPs in the melatonin receptor (*MTNR1B*) gene among Han Chinese women with polycystic

ovary syndrome, *Molecular Human Reproduction*, Vol.17, No.3 pp. 193–198, 2011

- 82) M. Tarnowski, D. Malinowski, K. Safranow, V. Dziedziejko and A. Pawlik. CDC123/CAMK1D gene rs12779790 polymorphism and rs10811661 polymorphism upstream of the CDKN2A/2B gene in women with gestational diabetes, *Journal of Perinatology* **37**, 345-348 (April 2017)