

## Περίληψη

**Εισαγωγή** Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει σχεδόν τριπλασιαστεί παγκοσμίως τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες. Έχει ισχυρό γενετικό υπόβαθρο και η επιδημική εξάπλωσή της οφείλεται στην αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Στο πλαίσιο της κατανόησης των μοριακών μηχανισμών της παχυσαρκίας, οι κύριες προσεγγίσεις που εφαρμόζονται στον τομέα της γονιδιωματικής, κατά την τελευταία δεκαετία, είναι κυρίως μελέτες συσχέτισης πολυμορφισμών σε επίπεδο γονιδιώματος (Genome-Wide Association Studies, GWAS) και, πιο πρόσφατα, ο προσδιορισμός του μοριακού προφίλ σε όλα τα επίπεδα της βιολογικής πληροφορίας. Οι GWAS έχουν εντοπίσει πολυάριθμα SNPs και γονίδια που συσχετίζονται με την παχυσαρκία. Το *FTO* είναι το πρώτο και επαναλαμβανόμενο επαληθευμένο γονίδιο, που συμβάλλει περισσότερο από τους άλλους γενετικούς τόπους στην εμφάνιση της παχυσαρκίας. Από την άλλη, οι μελέτες διαφορικής γονιδιακής έκφρασης στο λιπώδη ιστό έχουν δώσει σημαντικές αλλά περιορισμένες πληροφορίες για το προφίλ έκφρασης διαφόρων γονιδίων ενώ δεν υπάρχει διαθέσιμη μετα-ανάλυση αυτών των δεδομένων.

**Σκοπός** Ένας στόχος αυτής της διατριβής ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης πολυμορφισμών του γονιδίου *FTO* με αυξημένο BMI και μεγαλύτερο κίνδυνο για εμφάνιση παχυσαρκίας σε Έλληνες ενήλικες, με σκοπό την ανάδειξή τους ως γενετικούς δείκτες για τον κίνδυνο ανάπτυξης παχυσαρκίας. Όσον αφορά την Ελλάδα, οι αντίστοιχες μελέτες συσχέτισης, επικεντρώνονται κυρίως στην παιδική παχυσαρκία. Επιπλέον στόχος της μελέτης ήταν η μετα-ανάλυση δεδομένων από διάφορα αρχεία γονιδιακής έκφρασης διαφορετικών τύπων λιπώδους ιστού, στοχεύοντας στην ανάδειξη γονιδίων που εμφανίζουν διαφορική έκφραση καθώς και στην ταυτοποίηση γονιδιακών υπογραφών, μονοπατιών και δικτύων που συσχετίζονται με την παχυσαρκία.

**Μεθοδολογία** Το δείγμα για τη μελέτη συσχέτισης αποτελείται από 203 ενήλικα άτομα ελληνικής καταγωγής ηλικίας  $68,53 \pm 9,38$  ετών από το διαβητολογικό κέντρο του ΑΧΕΠΑ Π.Γ.Ν. Θεσσαλονίκης. Ελήφθησαν ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά και κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με τα διεθνή πρότυπα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας με βάση την τιμή του BMI σε μη παχύσαρκα ( $BMI < 25$ ), υπέρβαρα ( $BMI \geq 25 < 30$ ) και παχύσαρκα ( $BMI \geq 30$ ). Πραγματοποιήθηκε απομόνωση γονιδιωματικού DNA και γονοτύπηση για τους πολυμορφισμούς *rs9939609*, *rs9930506* και *rs3751812* του γονιδίου *FTO* με PCR-SSCP σε συνδυασμό με RFLP. Ακολούθησε έλεγχος ισορροπίας Hardy-Weinberg και ανάλυση συσχέτισης των γονοτύπων και αλληλομόρφων με το BMI. Για την πραγματοποίηση της μετα-ανάλυσης έγινε ανάκτηση δεδομένων γονιδιακής έκφρασης στο λιπώδη ιστό από τη βάση δεδομένων GEO. Επιλέχθηκαν 3 μελέτες με πρωτογενή δεδομένα και τα δείγματα κατηγοριοποιήθηκαν σε μη παχύσαρκα ( $BMI < 30$ ) και παχύσαρκα ( $BMI \geq 30$ ). Ακολούθησε προεπεξεργασία των δεδομένων από διαφορετικές πλατφόρμες καθώς και αντιστοίχιση μεταξύ ανιχνευτών (probes) και ονομάτων γονιδίων. Η μετα-ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία με το Τμήμα

Πληροφορικής και Βιοϊατρικής Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν διάφορες μέθοδοι διόρθωσης πολλαπλών συγκρίσεων ενώ για τη βιοπληροφορική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα εργαλεία αναζήτησης PANTHER και STRING.

**Αποτελέσματα** Συνολικά, 24,6% , 28,6% και 46, 8% των ατόμων της μελέτης ήταν μη παχύσαρκοι, υπέρβαροι και παχύσαρκοι αντίστοιχα. Εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του αλληλομόρφου κινδύνου 'G' του *rs9930506* (A/G) με την παχυσαρκία ( $P=0.011$ ) η οποία παρέμεινε στατιστικά σημαντική ( $P_c=0.022$ ) ακόμα και μετά από διόρθωση πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni correction). Η συχνότητα του αλληλομόρφου 'G' βρέθηκε αυξημένη στα παχύσαρκα άτομα (53,7) σε σύγκριση με τα μη παχύσαρκα (38,0) ενώ ο λόγος πιθανοτήτων (odds ratio, OR) για το αλληλόμορφο κινδύνου του *rs9930506* μεταξύ παχύσαρκων και μη παχύσαρκων ατόμων έδειξε ότι τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο 'G' έχουν 2,77 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να είναι παχύσαρκα (OR=2.77, 95% CI=1.32-5.79,  $P=0.006$ ). Επίσης, η συχνότητα του γονότυπου GG του *rs9930506* βρέθηκε πιο αυξημένη (0,29) στα παχύσαρκα σε σύγκριση με τα μη παχύσαρκα άτομα (0,20) όπως και το BMI των ατόμων με γονότυπο GG. Από την ανάλυση δεν προέκυψε συσχέτιση του πολυμορφισμού *rs9939609* με την παχυσαρκία (BMI) ενώ το SNP *rs3751812* δεν ήταν σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

Από τη μετα-ανάλυση εντοπίστηκαν 821 στατιστικά σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια ( $p\text{-value}<0.05$ ). Από αυτά, τα 108 κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχηματίζουν ένα ενιαίο δίκτυο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (PPIs) το οποίο σχηματίζει τέσσερα υπο-δίκτυα (clusters). Το 1<sup>ο</sup> cluster περιέχει πρωτεΐνες του ριβοσώματος, το 2<sup>ο</sup> πρωτεΐνες του σωματίου συναρμογής (spliceosome), το 3<sup>ο</sup> πρωτεΐνες της μεταγραφής και εναλλακτικής συναρμογής και το 4<sup>ο</sup> πρωτεΐνες της αναπνευστικής αλυσίδας. Η ανάλυση εμπλουτισμού στο ενιαίο δίκτυο ταυτοποίησε 10 βιολογικά μονοπάτια KEGG. Επίσης, με όλες τις μεθόδους διόρθωσης πολλαπλών συγκρίσεων, εντοπίστηκαν 5 στατιστικά σημαντικά γονίδια σε επίπεδο σημαντικότητας 1% που συσχετίζονται με την παχυσαρκία από τα οποία τρία, τα *NDUFA12*, *SFII* και *SSB*, υποεκφράζονται στο λιπώδη ιστό των παχύσαρκων ατόμων και δύο, τα *FAR2* και *LACE1*, υπερεκφράζονται.

**Συμπεράσματα** Η ανάλυση συσχέτισης ανέδειξε το SNP *rs9930506* ως γενετικό δείκτη προδιάθεσης για παχυσαρκία στους Έλληνες ενήλικες ενώ από τη μετα-ανάλυση αναδείχθηκαν νέα υποψήφια γονίδια η υποέκφραση των οποίων συσχετίζεται με την παχυσαρκία πιθανόν λόγω μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας (*NDUFA12*), δυσλειτουργίας των πρωτογενών βλεφαρίδων (*SFII*), αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης και του όγκου των λιποκυττάρων (*SSB*) ενώ η υπερέκφρασή τους συσχετίζεται με την παχυσαρκία ως συνέπεια μεταβολικών διαταραχών (*FAR2*) και μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας (*LACE1*). Απαιτούνται περισσότερα δείγματα για την αύξηση της ισχύος της μελέτης συσχέτισης και περαιτέρω έρευνα σε λειτουργικό επίπεδο τόσο των γονιδίων που εντοπίστηκαν στη μετα-ανάλυση όσο και του συγκεκριμένου SNP του *FTO*.