

# Maksan rasvapitoisuus ja keskivartalorasva metabolisessa oireyhtymässä - magneettikuvauksesta uusia riskimarkkereita?

Juho Kuula LK

HUS-Röntgen

28.05.2012

Tutkielma

Ohjaaja: Nina Lundbom

Helsingin yliopisto

Lääketieteellinen tiedekunta

[juho.kuula@helsinki.fi](mailto:juho.kuula@helsinki.fi)

## HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty		Laitos – Institution – Department	
Lääketieteellinen tiedekunta		Kliininen laitos	
Tekijä – Författare – Author			
Juho Kuula			
Työn nimi – Arbetets titel – Title			
Maksan rasvapitoisuus ja keskivartalarasva metabolisessa oireyhtymässä - magneettikuvauksesta uusia riskimarkkereita?			
Oppiaine – Läroämne – Subject			
Lääketiede			
Työn laji – Arbetets art – Level	Aika – Datum – Month and year	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages	
Syventävä tutkielma	28.05.2012	27	
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Metabolinen oireyhtymä suurentaa voimakkaasti kardiovaskulaarisairauksien riskiä, ja rasvamaksa on yksi sen ilmentymä. Metabolisen oireyhtymän diagnostiikka perustuu kliinisiin parametreihin ja laboratoriomäärityksiin. Familiaalista kombinoitua hyperlipidemiaa sairastavilla potilailla on alttius sairastua metaboliseen oireyhtymään. Tässä tutkimuksessa selvitettiin familiaalisen kombinoidun hyperlipidemian merkitystä sekä metabolisen oireyhtymän diagnoosikriteerien toimivuutta rasvamaksan tunnistamisessa protonimagneettispektroskopiolla ja keskivartalarasvan segmentaatiolla. Familiaalisen kombinoidun hyperlipidemian ei todettu vaikuttavan keskivartalon rasvapooleihin. Laboratoriomääritysten todettiin olevan osuvuudeltaan heikkoja rasvamaksan tunnistamisessa. Sen sijaan normaalin vyötärön ympäröityksen todettiin sulkevan pois rasvamaksan. Protonimagneettispektroskopia tarjoaa kajoamattoman ja luotettavan menetelmän maksan rasvoittumisen arviointiin. (80 sanaa)</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords			
Magnetic Resonance Spectroscopy; Magnetic Resonance Imaging; Abdominal Fat; Metabolic Syndrome X; Fatty Liver; Hyperlipidemia, Familial Combined			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

1	Johdanto .....	1
1.1	Metabolisen oireyhtymän historia, etiologia ja epidemiologia .....	1
1.2	Keskivartalon rasvat ja aineenvaihduntahäiriöiden diagnostiikka .....	2
1.3	Magneettikuvaus .....	3
1.4	Magneettiresonanssispektroskopia.....	5
1.5	Tutkimuksen tavoitteet ja menetelmien soveltuvuus .....	6
2	Aineisto .....	7
3	Menetelmät.....	8
3.1	Maksan NMR-spektroskopia.....	9
3.2	Keskivartalorasvan segmentointi .....	10
3.3	Tilastomenetelmät ja pilottitutkimus.....	12
4	Tulokset.....	12
4.1	MBO-kriteerit, maksan rasvapitoisuus ja keskivartalorasva .....	14
4.2	Rasvapolien väliset erot koehenkilöryhmittäin .....	18
5	Pohdinta.....	20
5.1	Johtopäätökset .....	22
	Lähteet.....	23

## 1 Johdanto

Elintasosairaudet yleistyvät jatkuvasti niin maailmalla kuin Suomessa. Etenkin metabolinen oireyhtymä tutkimuksineen, hoitoineen ja komplikaatioineen kuormittaa merkittävästi terveydenhuoltojärjestelmäämme, koska siihen liittyy runsaasti elinmuutoksia ja pitkäaikaisia kroonisia sairauksia. Tässä tutkimuksessa tarkastellaan metabolisen oireyhtymän aiheuttamia rasva-aineenvaihdunnan muutoksia ja niiden mittaamiseen käytettäviä menetelmiä.

### 1.1 Metabolisen oireyhtymän historia, etiologia ja epidemiologia

Metabolisella oireyhtymällä (MBO) tarkoitetaan kardiovaskulaaristen ja aineenvaihdunnallisten sairauksien riskitekijöiden yhteenkeräystä. Metabolista oireyhtymää on tutkittu jo 1920-luvulta, mutta vakiintuneeksi käsitteeksi se otettiin käyttöön vasta 1970-80-luvulla. (1) Oireyhtymän diagnoosikriteerit ovat muuttuneet aika ajoin, ja käytössä on ehtinyt olla useita kriteeristöjä. Vuonna 2005 Suomessa otettiin käyttöön International Diabetes Federationin laatimat uudet metabolisen oireyhtymän kriteerit. Kriteeristöön kuuluvat ehdottomana suurentunut vyötärön ympärys (miehillä >94 cm ja naisilla >80 cm) sekä kaksi seuraavista: matala seerumin HDL-kolesteroli (miehillä <1,03 mmol/l ja naisilla <1,29 mmol/l), kohonnut verenpaine (>130/85 mmHg), korkea paastoverensokeri (>5,6 mmol/l) tai triglyseridipitoisuus (>1,70 mmol/l). (2),(3)

Maksan rasvoittumisen yleisiä syitä ovat liiallinen alkoholinkäyttö, tietyt lääkkeet sekä metaboliset tekijät. Alkoholista riippumatonta maksan rasvoittumista (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) voidaan pitää MBO:n hepaattisena ilmentymänä, joka ilmenee oireyhtymän edetessä. NAFLD-potilaista 90%:lla täyttyy jokin MBO:n kriteereistä ja 30%:lla koko MBO-kriteeristö. (4) Toisaalta maksan rasvapitoisuus

korreloi MBO:n kaikkien komponenttien kanssa, joista parhaiten vyötärönympäryksen (5). NAFLD myös ennustaa itsenäisesti 2-tyyppin diabeteksen puhkeamista (6). NAFLD voidaan käsittää tautijatkumona, joka kulkee rasvoittumisesta steatohepatiitin kautta kirroosiin. NAFLD:n patogeneesiä ei vielä täysin tunneta, mutta keskeisenä seikkana pidetään insuliiniresistenssiä, jonka seurauksena maksaan alkaa kertyä triglyseridejä, jolloin se rasvoittuu. Steatohepatiitin käynnistymiseen ja siten nekro-inflammatoristen muutosten syntyyn vaaditaan oksidatiivista vauriota. Myös rasvakudoksen erittämillä hormoneilla on esitetty olevan oma vaikutuksensa maksan rasvoittumiseen. (7) Steatoosin ja siten NAFLD:n alarajaksi on sovittu maksan rasvaprosentti 5.56% (8). NAFLD:ia sairastavien potilaiden ennusteesta on ristiriitaisia tuloksia, ja aihe on edelleen kiistanalainen (9), (10).

Metabolisen oireyhtymän syntyyn myötävaikuttavat geneettiset ja ympäristötekijät. Aterogeeniseen ja MBO:lle altistavaan lipidiprofiiliin kuuluvat veren korkea triglyseridipitoisuus, matala HDL-pitoisuus sekä korkea LDL- ja VLDL-pitoisuus. Tällainen lipidiprofiili on tyypillinen familiaalista kombinoitua hyperlipidemiaa (FKHL) sairastaville potilaille (11). FKHL:n esiintyvyys on noin 1%, ja sillä on selvä yhteys tyyppin 2 diabetekseen ja MBO:ään (12). Metabolisen oireyhtymän esiintyvyydeksi on arvioitu maailmanlaajuisesti 30% ja NAFLD:n Suomessa 21% (13), (14). NAFLD:n esiintyvyys maailmanlaajuisesti on suurinta alueilla, joilla on eniten obeseettia. (15) Alkoholin aiheuttaman maksan rasvoittumisen esiintyvyydeksi on arvioitu Suomessa 7% (14).

## 1.2 Keskivartalon rasvat ja aineenvaihduntahäiriöiden diagnostiikka

Tässä tutkimuksessa tarkastellaan vartalon kolmen eri rasvapolin keskinäisiä suhteita. Arsenault ym. (15) pääättelevät katsausartikkelissaan maksan rasvan ja viskeraalisen rasvan olevan yhteydessä toisiinsa ja molempien olevan aterogeenisiä. Ihonalaisrasvan

on ajateltu olevan harmittomampaa ja toimivan ylimääräisen energian hyvänlaatuisena varastona. Ihonalaisrasvalla on jopa esitetty olevan verenkiertoelimistöä suojaava rooli. On mahdollista, että tämä osaltaan selittäisi niin sanottua ”healthy obese” -ilmiötä. Viskeraalirasva puolestaan on itsenäinen riskitekijä metaboliselle oireyhtymälle, inflammaatiolle ja kardiovaskulaarisairastavuudelle. Viskeraalirasvan määrän kasvaessa kudosten, etenkin maksan, insuliiniherkkyys vähenee. Maksan rasva on näistä rasvapooleista haitallisin ja vahvimmin yhteydessä metaboliseen riskiprofiiliin. Viskeraalirasvan määrällä on selvä positiivinen yhteys maksan rasvan määrään. Viskeraalirasvan ja maksan rasvoittumisen väliseksi yhteydeksi on esitetty porttilaskimoteoriaa. Tämän mukaan suoliliepeeseen ja vatsapaitaan kertyvät ylenmääräiset vapaat rasvahapot laskisivat porttilaskimoon ja sitä kautta päätyisivät maksaan. Maksan rasvoittuminen voi johtaa myös steatohepatiittiin ja kirroosiin.

Rasva-aineenvaihdunnan häiriöiden sekä niiden komplikaatioiden havaitseminen ja seuraaminen pohjautuu nykyään pitkälti laboratoriotutkimuksiin. Diagnostiikassa keskeisimpiä työkaluja ovat vyötärön ympärysmitta, painoindeksi ja veren rasva-aineenvaihdunnan merkkiaineet. Ultraääntä on totuttu käyttämään ensisijaisena kuvausmenetelmänä rasvamaksan selvittelyssä. Ultraäänellä toki pystytään toteamaan runsaskaikuinen maksa, mutta sen vaikeusastetta saati maksan todellista rasvapitoisuutta on vaikea arvioida, koska menetelmä ei ole kvantitatiivinen. Ultraääni siis toimii laadullisena mittarina, mutta taudin etenemisen havaitsemiseen tai hoitovasteen mittaamiseen tarvitaan muita menetelmiä. Koepalan ottaminen maksasta on toistaiseksi ollut ainoa menetelmä, jolla maksan rasvapitoisuus on voitu kvantitoida.

### 1.3 Magneettikuvaus

Magneettikuvaus perustuu elimistön kudosten veteen ja rasvan vety-ytimien eli protonien käyttäytymiseen voimakkaassa magneettikentässä. Protonit värähtelevät eli resonoivat

magneettikentässä taajuudella, joka riippuu kentän voimakkuudesta. Protoni on akselinsa ympäri pyörivä positiivisesti varautunut hiukkanen, jolla on oma magneettinen momenttinsa. Kun yksittäinen protoni päätyy voimakkaaseen magneettikenttään, se pyrkii asettamaan magneettisen momenttinsa magneettikentän suuntaiseksi tai sen vastaiseksi. Kvanttimekaanisista ja energiataloudellisista syistä suurempi osa protoneista asettuu kentän suuntaisiksi kuin vastaisiksi. Protoni ja sen magneettinen momentti pyörii eli prekessoi tässä tilanteessa magneettikentän akselin ympäri tietyllä taajuudella (Larmor-taajuus) hyrrämäisellä liikkeellä. Tämä taajuus riippuu ulkoisen magneettikentän voimakkuudesta. Voimakkaassa häiriöttömässä magneettikentässä protonit prekessoivat keskenään eri vaiheissa, jolloin niiden yhteenlaskettu nettomagnetisaatio  $M_0$  asettuu kentän suuntaiseksi.  $M_0$  voidaan kääntää  $90^\circ$  Larmor-taajuuksisella radiotaajuuspulssilla (RF-pulssi), jolloin  $M_0$  on ulkoiseen magneettikenttään nähden poikittain ja kentän suuntainen pitkittäinen magnetisaatio katoaa. Kvanttimekaanisen tulkinnan mukaan poikittainen magnetisaatio selittyy yksittäisten protonien prekession asettumisella keskenään samaan vaiheeseen RF-pulssin vaikutuksesta. Tätä kutsutaan vaihekoherenssiksi. Poikittainen magnetisaatio indusoi signaalin vastaanottimeen sähkövirran, joka voidaan mitata. Pulssin vaikutus häviää nopeasti, minkä jälkeen vaihekoherenssi ja siten poikittainen magnetisaatio häviää, ja pitkittäinen magnetisaatio palautuu.

Pitkittäisen magnetisaation palautumista kutsutaan T1-relaksaatioksi (spin-lattice-relaksaatio) ja poikittaisen katoamista T2-relaksaatioksi (spin-spin-relaksaatio). T1-relaksaatioajalla tarkoitetaan aikaa, jolloin 63% alkuperäisestä pitkittäisestä magnetisaatiosta on palautunut. T2-relaksaatioajalla tarkoitetaan aikaa, jolloin 37% poikittaisesta magnetisaatiosta on jäljellä. T1-relaksaatio kestää sadoista tuhansiin millisekunteihin, kun taas T2-relaksaatioaika on tyypillisesti lyhyt, kymmenistä satoihin millisekunteihin. Pitkittäisen ja poikittaisen magnetisaation palautumista voidaan manipuloida gradienttipulsseilla, joilla saadaan aikaan magnetisaation kaikuja, joita voidaan mitata. Magneettikuvaa muodostaessa kontrastia pystytään muuttamaan manipuloimalla pulssisekvenssien muuttujia, joista tärkeimmät ovat TR (toisto-aika) ja TE (kaikuaika). TR on aika kahden perättäisen  $90^\circ$  asteen RF-pulssin välillä ja TE aika

ensimmäisen 90 asteen pulssin ja signaalinkeruun välillä. Eri kudoksissa veden T1- ja T2-relaksaatioajat eroavat toisistaan. Manipuloimalla viritysten antotaajuutta ja signaalinkeruuhetkeä voidaan korostaa kudosten välisiä T1- ja T2-relaksaatioeroja. Rasvaprotoneilla on lyhyt T1- ja pitkä T2-aika, ja vesiprotoneilla on pitkä T1- ja T2-aika, joten rasvan erottelemiseksi vesipitoisista kudoksista valitaan lyhyt TR ja lyhyt TE, eli T1-painotteinen sekvenssi. Ulkoisen magneettikentän voimakkuus säädetään vaihtelevaksi eri mitattavilla alueilla (kenttägradientti), minkä ansiosta eri kuvattavien alueiden protonit eroavat toisistaan prekessiotaajuksiltaan. Kuvaukseen saadaan tällä tavoin mukaan paikkaresoluutio. (16)

#### 1.4 Magneettiresonanssispektroskopia

Magneettiresonanssispektroskopian (MR-spektroskopia) perustuu samaan periaatteeseen kuin tavanomainen magneettikuvantaminen. Molekyylit aiheuttavat välittömään läheisyyteensä pieniä magneettikentän epähomogeenisuuksia, minkä takia niiden protonien Larmor-taajuus eroaa hieman muista protoneista. Ero on kuitenkin niin pieni, että Larmor-taajuuksinen RF-pulssi kääntää myös eri taajuudella prekessoivat protonit. Eri taajuuksilla prekessoivien protonien signaalit kerätään kuten magneettikuvauksessa, mutta veden signaalin sijasta spektroskopiassa pyritään havaitsemaan useiden yhdisteiden aiheuttamia taajuuksia signaalissa. Spektrissä x-akselilla on taajuus ja y-akselilla signaalin voimakkuus. Koska magneettikuvauksessa tai MR-spektroskopiassa signaalin voimakkuus ei ole helposti kvantitoitavissa, y-akselilla ei ole absoluuttista asteikkoa, joten spektroskopiolla kyetään luotettavasti arvioimaan ainoastaan kahden signaaliresonanssin keskinäisiä suhteita. Eri yhdisteiden protonit resonovat eri taajuuksilla, ja kerättävässä spektrissä nämä resonanssit erottuvat omina signaalipiikkeinä. Signaaliresonanssilla on spektrissä sekä leveyttä että korkeutta, ja mittauksella tavoiteltava resonanssin määrä saadaan integroimalla sen pinta-ala spektristä. Taajuuseroa kahden signaalin välillä nimitetään kemialliseksi siirtymäksi, ja tämän perusteella spektristä voidaan erottaa eri yhdisteet toisistaan.



Kemiallisen siirtymän avulla voidaan myös arvioida esiintykö valitussa vokselissa tiettyjä yhdisteitä, eli onko tietyn kemiallisen siirtymän päässä olevia signaaleja mitattavissa.

Vesi on kudoksissa runsaimmin esiintyvä molekyyli (60-80%) (17), ja sen signaalia käytetään yleisesti referenssinä arvioitaessa kemiallista siirtymää. Veden signaali voidaan suppressoida käyttämällä saturaatio-RF-pulssia, jolloin vedelle ei synny havaittavaa nettomagnetisaatiota. Yksinään kudoksen veden signaali on jopa tuhatkertainen verrattuna muiden molekyylien signaaleihin, joten suppressiota tarvitaan pienten resonanssien löytämiseksi ja resoluution parantamiseksi. (16,18)

Spektri-resonanssin pinta-ala kuvaa kyseisen yhdisteen magneettikentän muutoksen vaikutuspiirissä olevien protonien määrää. Spektroskopia on menetelmänä varsin herkkä virhelähteille ja häiriöille. Signaali-kohinasuhde paranee suurempaa ulkoista magneettikenttää käytettäessä, koska erot Larmor-taajuuteen kasvavat. Menetelmä on herkkä artefaktoille, kuten verisuonen virtaukselle ja hengitysliikkeelle. T1- ja T2-relaksaatiot vaikuttavat myös osaltaan signaaliin. Usein spektrejä joudutaan keräämään useita ja nämä keskiarvoistetaan, jotta signaali-kohinasuhde paranisi. Spektroskopia vaatii runsaasti analysointia ennen tuloksen valmistumista. Laitteistolta vaaditaan hyvää kentän homogeenisuutta. (16,18)

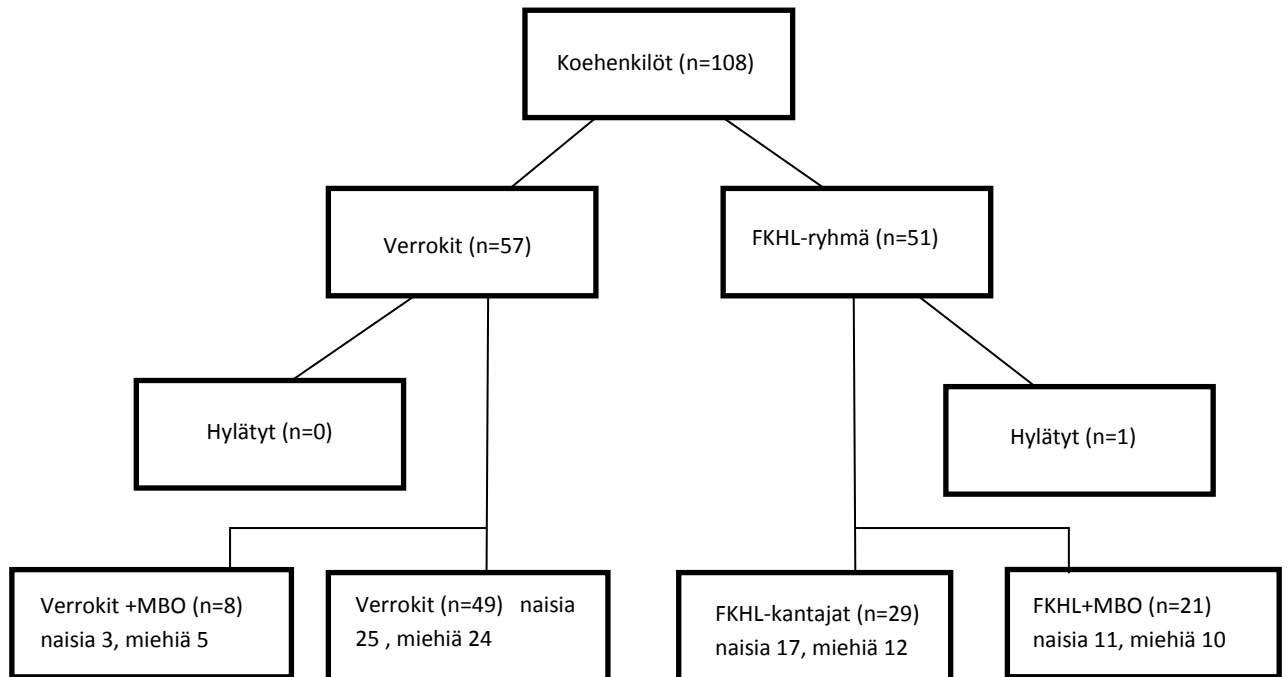
## 1.5 Tutkimuksen tavoitteet ja menetelmien soveltuvuus

Tässä tutkimuksessa pyritään kvantitatiivisesti ja kajoamattomasti selvittämään viskeraalirasvan ja ihonalaisrasvan suhdetta maksan rasvapitoisuuteen FKHL:aa sairastavilla potilailla ja FKHL-sukuihin kuuluvilla terveillä henkilöillä. Kvantitaatiossa käytetään maksan NMR-spektroskopiaa ja vatsan alueen magneettikuvantamista.

Spektroskopia on validoitu menetelmä maksan rasvapitoisuuden arvioinnissa, ja sen tulokset korreloivat sekä maksabiopsialla että tietokonetomografialla selvitettyihin maksan rasvapitoisuuksiin (19), (20).

## 2 Aineisto

Tämä tutkimus toteutettiin osana laajempaa tutkimuskokonaisuutta, jolloin koehenkilöt (n=108) valikoituivat sen kriteeristön mukaan. Koehenkilöinä toimivat familiaalista dyslipidemiaa sairastavat potilaat sekä sairaalan henkilökunnasta ja lehti-ilmoituksin kerätyt verrokkikoehenkilöt. Koehenkilöt valikoitiin iän, painoindeksin ja sukupuolen mukaan. Koehenkilöistä naisia oli 57 ja miehiä 51, iältään  $45\pm 11$  (SD) vuotta ja painoindeksiltään  $25\pm 3$  (SD) kiloa. Koehenkilöitä pyydettiin kuukausi ennen tutkimuksen alkua keskeyttämään mahdollisesti käytössä oleva lipidilääkitys, joka aloitettiin uudestaan tutkimuksen päätyttyä. Lisäksi koehenkilöiltä vaadittiin alle 70 vuoden ikää ja riittävän hyvää terveydentilaa, jotta lipidilääkityksessä saattoi turvallisesti pitää tauon tutkimuksen ajaksi. Koehenkilöiden jako alaryhmiin FKHL-geenivirheen kantajuuden ja metabolisen oireyhtymän kriteerien täyttymisen mukaan esitetään kuvassa 1.



Kuva 1. Koehenkilöt jaettuna alaryhmiin MBO:n ja FKHL-kantajuuden perusteella.

Yhden koehenkilön tulokset jätettiin analyysin ulkopuolelle kuvauksen epäonnistumisen vuoksi.

### 3 Menetelmät

Tämä tutkimus koostui kahdesta osasta: maksakudoksen NMR-spektroskopiasta sekä keskivartalon alueen ihonalais- ja viskeraalirasvan segmentoinnista magneettikuvien perusteella. Koehenkilöistä oli käytettävissä useita aineenvaihdunnallisia parametreja, joista tämän tutkimuksen osalta keskeisiä olivat vyötärön ympäryys, verenpaine, plasman paastoverensokeri, HDL-kolesterolipitoisuus ja triglyseridipitoisuus. Tämän tutkimuksen yhteydessä toteutettuja mittauksia olivat spektroskopiolla määritetty maksan rasvapitoisuus sekä ihonalaisrasvan ja vatsaontelon rasvan tilavuus. Näiden lisäksi laskennallisesti määritettiin vatsaontelon rasvan suhteellinen osuus jakamalla vatsaontelon rasvamäärä keskivartalon kokonaisrasvalla. Mittausvaihe ja tulosten

analysointi toteutettiin sokkoutettuna. Tutkimuksen luonne, tarkoitus, riskit ja hyödyt oli selostettu koehenkilöille.

### 3.1 Maksan NMR-spektroskopia

Eri molekyylit esiintyvät eri taajuuksilla spektrissä riippuen siitä missä konfiguraatiossa molekyylin tai yhdisteen protonit sijaitsevat. Elävässä kudoksessa eri molekyylit tunnistetaan niiden värähtelytaajuuden suhteesta kudoksessa runsaasti esiintyvän vertailukohtana toimivan veden värähtelytaajuuteen. Tätä värähtelytaajuuden eroa kutsutaan kemialliseksi tai taajuussiirtymäksi, jonka perusteella spektrin eri resonanssit voidaan erottaa toisistaan. Kudokset eroavat spektriprofiililtaan toisistaan, mitä voidaan hyödyntää kudosten karakterisoinnissa. Maksan protoni-MR-spektroskopiassa verrataan triglyserideissä runsaasti esiintyvien metyleeniryhmien (CH<sub>2</sub>-) intensiteettiä veden intensiteettiin.

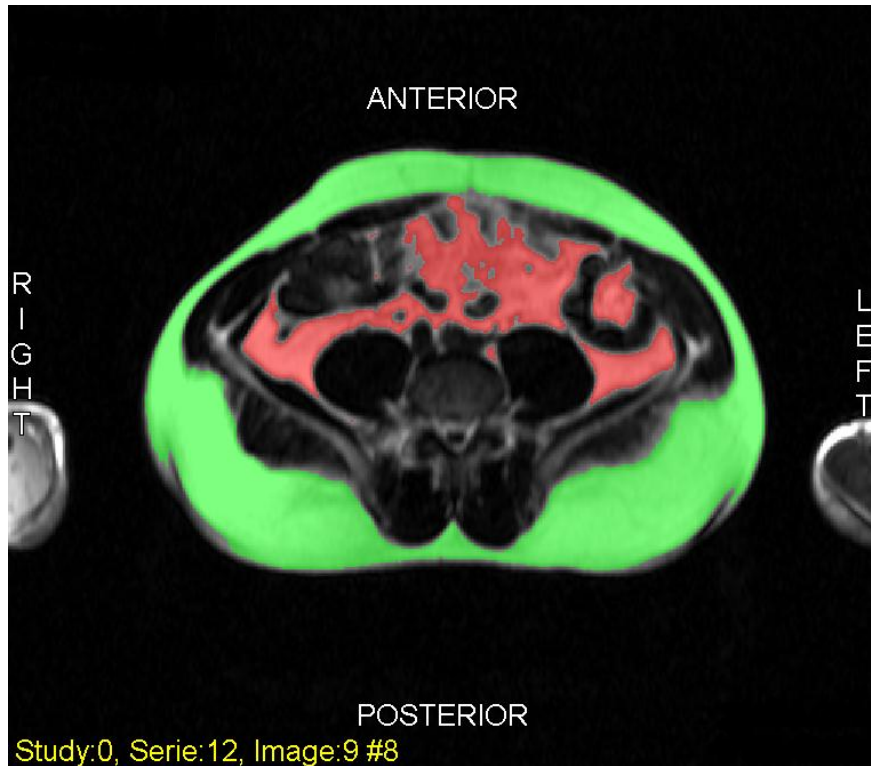
Maksan rasvapitoisuus mitattiin käyttämällä 1,5 Teslan magneettikuvauslaitetta (Siemens). Keskivartalosta kerättiin T1-painotteisia kohdennuskuvia käyttäen standardin mukaisesti 1H-vartalokelaa. 8-27 cm<sup>3</sup>:n kokoinen spektroskopiavokseli valittiin maksaparenkyymistä manuaalisesti välttämällä suuria verisuonia, sappiteitä ja sappirakkoa. Sekvenssin aikana koehenkilöä pyydettiin pidättämään hengitystään 20 sekunnin ajan liikeartefaktin minimoimiseksi. TR:na (toisto-aika) käytettiin 3000 millisekuntia ja TE:na (kaikuaika) 30 millisekuntia. Pitkän TR:n ja lyhyen TE:n ansiosta kyettiin minimoimaan T1- ja T2-relaksaation vaikutus signaali-intensiteettiin. Spektrejä kerättiin kustakin koehenkilöstä 16, jotka lopuksi keskiarvoistettiin tulosten luotettavuuden parantamiseksi.

Spektristä analysoitiin jMRUI3.0-ohjelmalla vokselin sisältämän veden protonien intensiteetti ja rasvahappoketjujen metyleeniryhmien (CH<sub>2</sub>-) protonien intensiteetti (21), (22). Metyleeniresonanssi edustaa solunsisäisten triglyseridien osuutta maksaspektristä. Maksan rasvapitoisuus ilmaistiin metyleenisignaalin suhteena metyleeni- ja vesisignaalin kokonaissummaan.

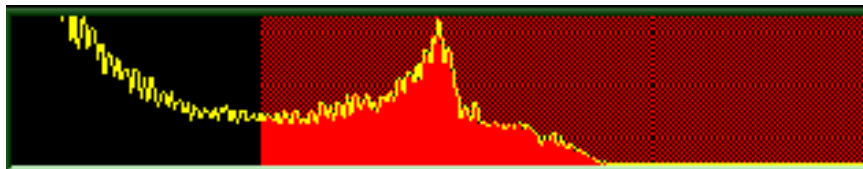
$$\text{Maksan rasvaprosentti LFAT\%} = \frac{L(\text{rasva})}{L(\text{rasva})+L(\text{vesi})} \times 100\%$$

### 3.2 Keskiportalorasvan segmentointi

Segmentaatioanalyysia varten kerättiin kahdeksan aksiaalista T1-painotteista yhden cm:n paksuista rasvaviritettyä magneettikuvaa L4/L5-välilevyn molemmin puolin. Samassa yhteydessä kerättiin spektri maksakudoksesta. Kuvaus kesti 45 minuuttia. Leikkeistä määritettiin region growing algorithm -ohjelmalla manuaalisesti ihonalaisrasvan ja viskeraalirasvan pinta-alat (kuva 2). Pikseli-intensiteettiä kuvaavan histogrammin avulla asetettiin rasvalle raja-arvo viskeraalirasvan erottamiseksi muista vatsaontelon anatomisista rakenteista. Raja-arvo määritettiin histogrammissa rasvan pikseli-intensiteettiä edeltävän tasanteen puoliväliin, jolloin rasvaksi tulkittiin pikselit, joiden sisällöstä yli puolet oli rasvaa (kuva 3). Viskeraalirasvan ulkopuolelle rajattiin retroperitoneaalinen sekä intramuskulaarinen ja munuaisytimen rasva. Region growing algorithm -ohjelmalla laskettiin leikkeistä rasvapoolien tilavuudet kuvausalueella, ja määritettiin niiden suhde koehenkilössä.



Kuva 2. Segmentoitu leike L4/L5-tasolta, jossa ihonalaisrasva on leimattu vihreällä ja vatsaontelon rasva punaisella.



Kuva 3. Histogrammi kuvan 2 leikkeestä. Punaisella värjäytyvien pikseleiden raja-arvo on määritetty histogrammissa esiintyvää rasvapiikkiä edeltävän tasanteen puoliväliin.

Segmentaatioanalyysia voi tehdä täysin manuaalisesti tai käyttäjän osittain valvomana eli puoliautomaattisesti. Segmentaation ongelmana on rajanveto rasvan ja muun kudoksen välille. Histogrammilla määritetty tasanne on arvio tilanteesta, joissa puolet pikselin sisällöstä on rasvaa ja puolet muuta kudosta. Subkutaani- ja viskeraalirasvan raja täytyy myös usein määrittää käsin. Kentän epähomogeenisuus lisääntyy kuvattavan kohteen muodosta riippuen ja koon kasvaessa. Tällöin kuvaintensiteetti heikkenee, ja tarvitaan analysoijan manuaalista otetta. Kuvausteknisistä syistä myös artefaktat tulevat tehokkaasti huomioiduiksi käsin tehtävällä segmentaatiolla. Täysin automaattinen

segmentaatio ei kykene ylläolevaan, joten segmentaatiota tehdessä käyttäjältä vaaditaan aktiivista osallistumista.

### 3.3 Tilastomenetelmät ja pilottitutkimus

Sokkouden purkamisen jälkeen koehenkilöt jaettiin tautistatuksen mukaan metabolista oireyhtymää sairastaviin ja terveisiin sekä FKHL-sukuihin kuuluviin ja verrokkeihin. Kustakin ryhmästä määritettiin taulukossa 1 kuvatuista parametreista keskiarvo ja keskihajonta. Kaikkien neljän ryhmän välisten erojen tilastollista merkitsevyyttä arvioitiin yksisuuntaisella ANOVA:lla kunkin parametrin osalta. Verratessa kahta ryhmää keskenään käytettiin Studentin t-testiä. Tilastollisesti merkitsevä erona pidettiin arvoa  $p < 0,05$ . Tilastolaskentaan käytettiin Microsoft Excel 14.0-ohjelmistoa.

Analyysitekniikan oikeellisuuden varmistamiseksi suoritettiin pilottitutkimus, jossa kokenut tutkija analysoi pienen osan ( $n=5$ ) aineistosta. Tuloksia verrattiin tässä tutkimuksessa saatuihin tuloksiin, ja niiden havaittiin olevan vertailukelpoisia keskenään 4 %:n erolla lopputuloksissa.

## 4 Tulokset

Koehenkilöiden kliinisiä ja laboratorioparametrejä sekä mittaustuloksia kuvataan taulukossa 1. FKHL-ryhmästä metabolisen oireyhtymän kriteerit täytyivät 21:llä ja verrokkiryhmästä 8:lla. Metabolista oireyhtymää sairastavat ryhmät ja verrokkiryhmät erosivat toisistaan kaikkien parametrien suhteen. FKHL-kantajuudella ei ollut merkitystä. Ryhmien keskinäisiä suhteita käsitellään tarkemmin kappaleessa 4.2.

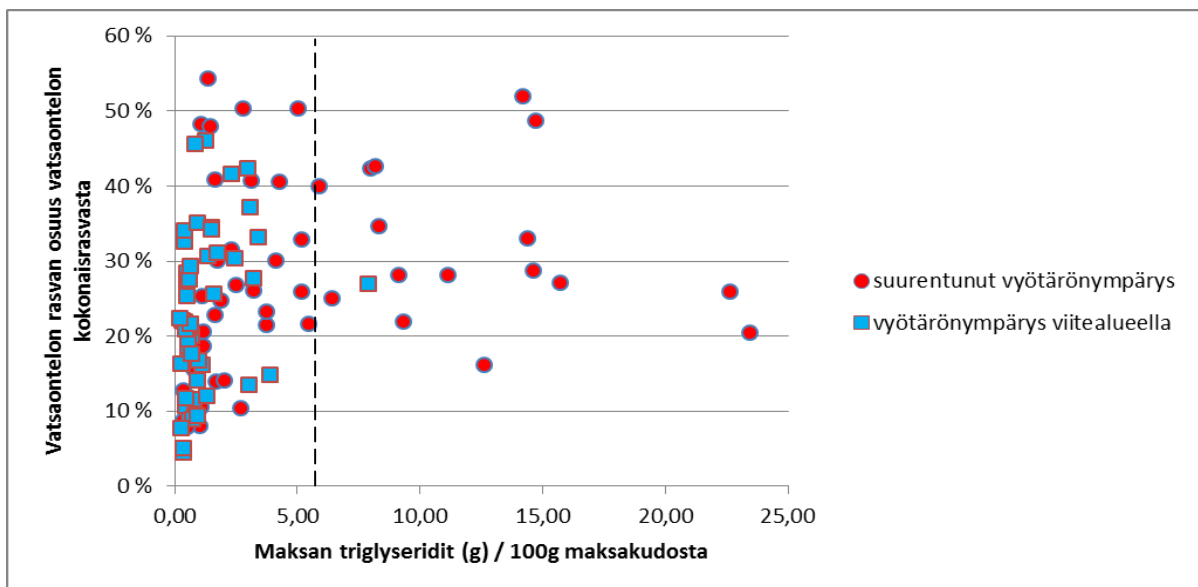
	FKHL+MBO (n=21)	MBO (n=8)	FKHL (n=29)	verrokit (n=49)	p-arvo
	keskiarvo±SD	keskiarvo±SD	keskiarvo±SD	keskiarvo±SD	
ikä	44±12	54±9	43±13	46±9	0,07
vyötärönympärys (cm)					
naiset	99±11	89±5 *	80±12	79±7	<0,001
miehet	103±4	105±7 *	88±8	89±9	<0,001
HDL-pitoisuus (mmol/l)					
naiset	1,30±0,45	1,22±0,09 *	1,65±0,29	1,79±0,36	0,001
miehet	1,16±0,38	1,30±0,31 *	1,52±0,35	1,56±0,41	0,04
triglyseridipitoisuus (mmol/l)	2,01±0,96	1,77±1,59 *	0,92±0,30	0,85±0,32	<0,001
systolinen RR (mmHg)	138±18	145±25 *	130±17	121±15	<0,001
diastolinen RR (mmHg)	88±12	87±9 *	81±9	80±9	0,01
fP-Gluk (mmol/l)	5,5±0,5	5,5±0,4 *	5,1±0,6	5,4±0,4	0,003
LFAT%	7,8±6,8	7,1±4,9 *	2,0±2,9	1,4±1,4	<0,001
VAT%	32±11	34±13 *	21±10	24±12	0,001
VAT (cm <sup>3</sup> )	2355±783	2230±1162 *	922±740	1011±689	<0,001
SAT (cm <sup>3</sup> )	5174±1896	4284±1580 *	3233±1758	3185±1272	<0,001

Taulukko 1. Kliinisten ja laboratorioparametrien sekä MK- ja MRS-mittaustulosten keskiarvot ja keskihajonnat koehenkilöryhmittäin. P-arvot on laskettu ANOVA:lla. \*=tilastollisesti merkitsevä ero

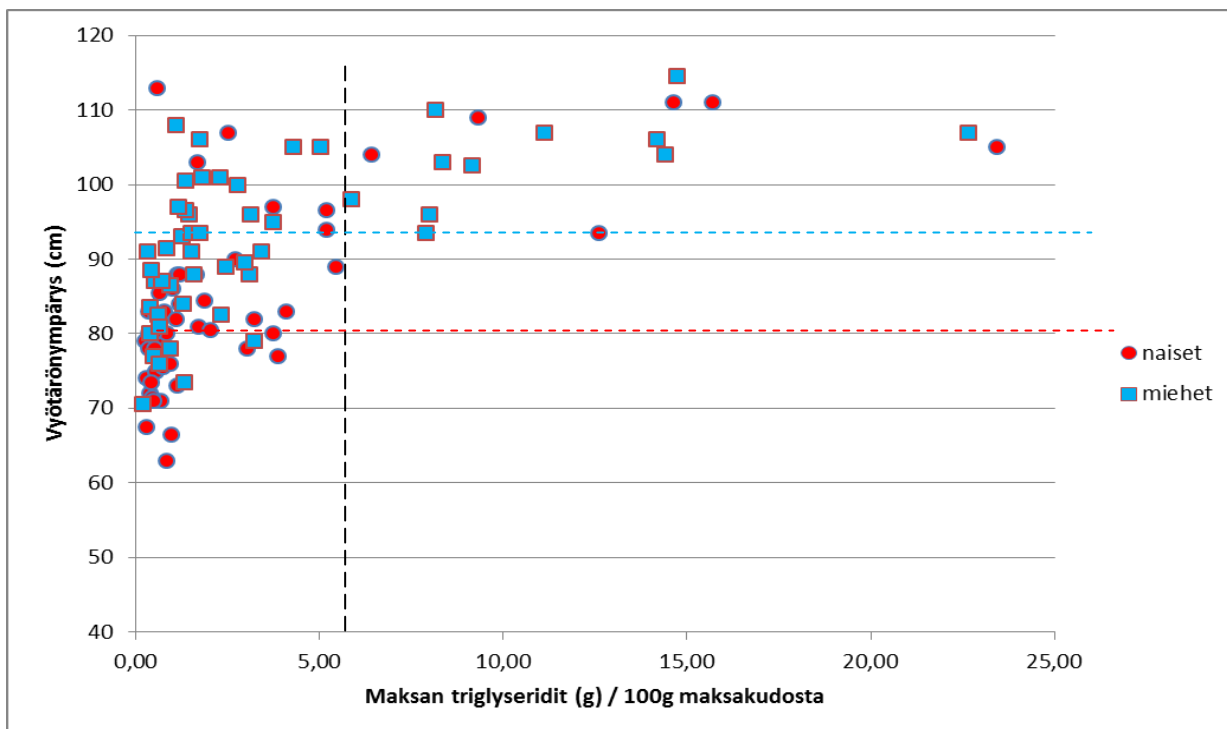


#### 4.1 MBO-kriteerit, maksan rasvapitoisuus ja keskivartalorasva

Viitealueella olevalla vyötärönympäryys korreloi hyvin normaaliin maksaan, ja ainoastaan yhdellä normaalivyötäröisellä koehenkilöllä oli rasvamaksa. Suurentuneella vyötärönympäryksellä ennustearvoa sen sijaan ei ole, koska sitä esiintyi sekä normaali-että rasvamaksaisilla. Kun vatsaontelon rasvan suhteellinen osuus pysyi alle 20%:n, myös maksan rasvapitoisuus oli normaali yhtä koehenkilöä lukuunottamatta. Vatsaontelon rasvan suhteellinen osuus sen sijaan saattoi olla pieni myös jos maksassa oli runsaasti rasvaa.



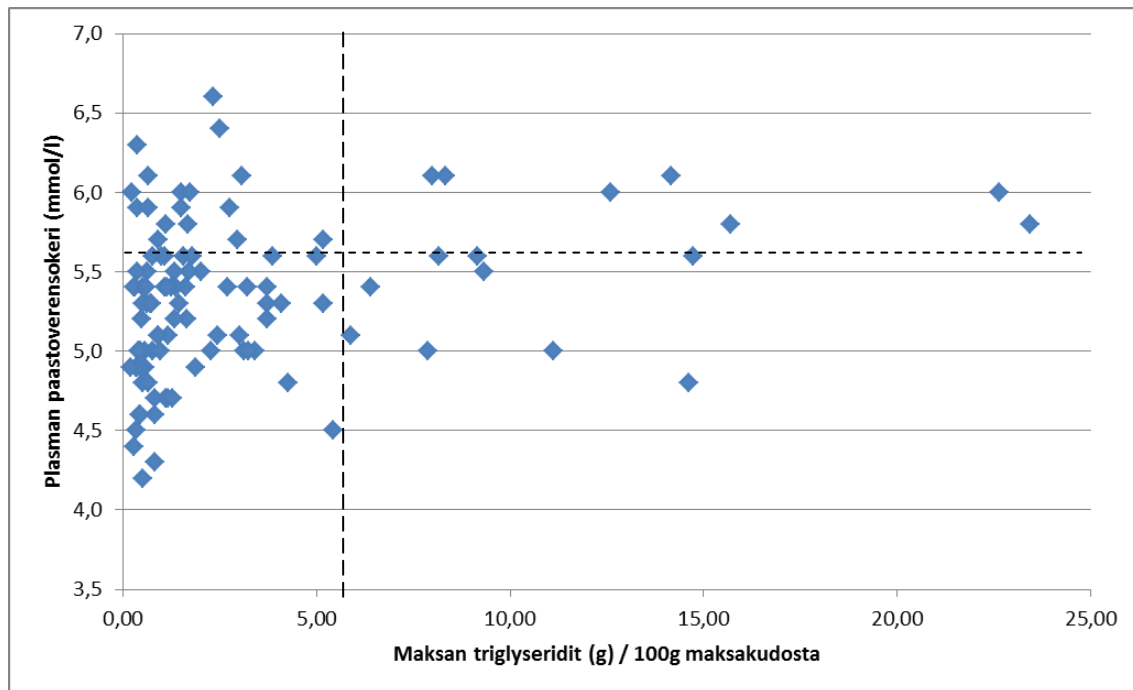
Kuva 4. Vyötärönympäryys, maksan rasvapitoisuus ja vatsaontelon rasvan prosentuaalinen osuus vatsaontelon kokonaisrasvasta.



Kuva 5. Vyötärön ympärys ja maksan rasvapitoisuus eri sukupuolten välillä

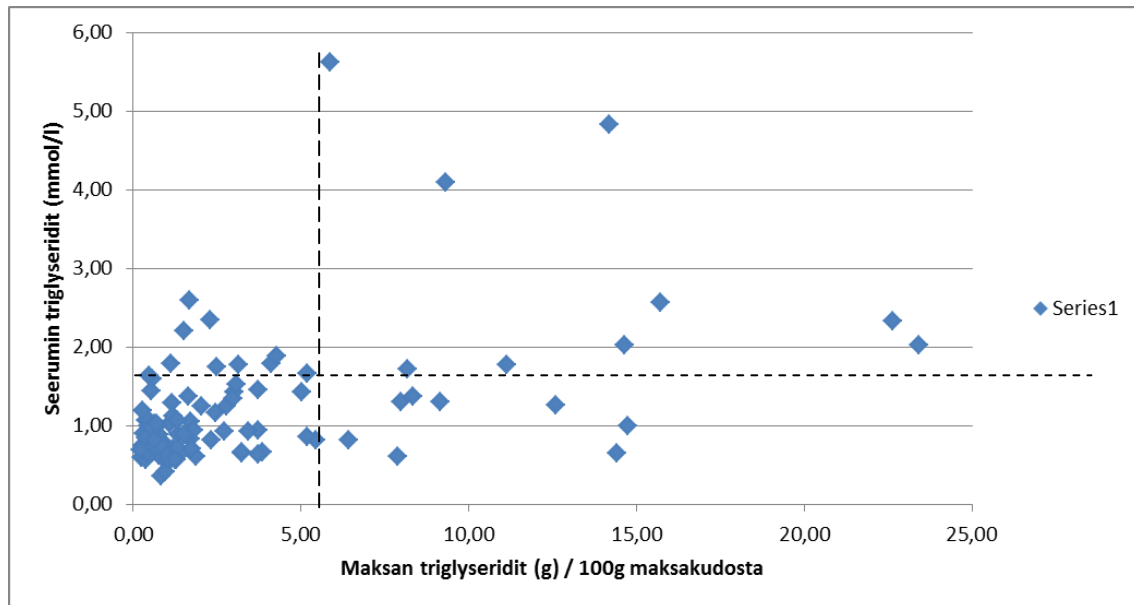
Vyötärön ympärys on hyvä kriteeri myös maksan rasvoittumisen suhteen. Rasvamaksaa ilmenee vasta kohonneen vyötärön ympäryksen myötä kummallakin sukupuolella. Naisilla esiintyi rasvamaksaa vasta miehillä käytetyn 94 cm:n rajan ylittämisen jälkeen. Miesten ja naisten rajojen välissä ei esiinny rasvamaksaa kummallakaan sukupuolella. Rasvamaksa ei kuitenkaan ilmene läheskään kaikilla koehenkilöillä, joilla on suurentunut vyötärön ympärys. Suuri vyötärön ympärys on siis sensitiivinen mutta epäspesifinen rasvamaksan suhteen. Systolisen ja diastolisen verenpaineen osalta MBO-kriteerien ja maksan rasvoittumisen välillä ei havaita korrelaatiota.

#### 4.1.1 Maksan rasvapitoisuus ja laboratorioparametrit



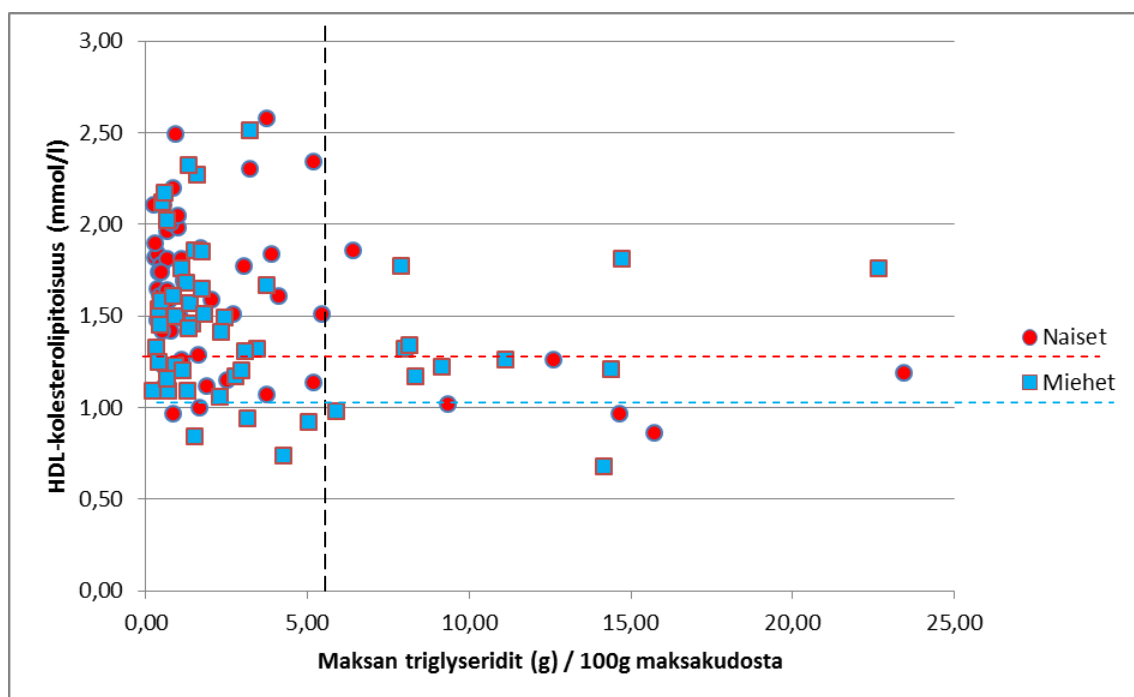
Kuva 6. Plasman paastoglukoosi ja maksan rasvapitoisuus.

Plasman paastoglukoosiarvoja ja maksan rasvaisuutta vertaamalla näyttää siltä, että paastoglukoosilla ja rasvamaksalla ei ole korrelaatiota. Rasvamaksaa ei todeta, jos paastoglukoosiarvo on alle 4,7 mmol/l. MBO:n paastoglukoosiraja kuitenkin on 5,6 mmol/l, joten paastoglukoosin arvo MBO:n yhteydessä tavattavan maksan rasvoittumisen arvioinnissa on heikko. Toisaalta korkea paastoverensokeri ei aina liity rasvamaksaan.



Kuva 7. Seerumin triglyseridit ja maksan rasvapitoisuus.

Seerumin triglyseridit niin ikään ovat heikkoja maksan rasvoittumisen asteen arvioinnissa.



Kuva 8. Seerumin HDL-pitoisuus ja maksan rasvapitoisuus.

MBO:n kriteeristössä käytetyt rajat seerumin HDL-kolesteroli pitoisuudelle eivät myöskään näytä olevan hyvä mittari maksan rasvoittumista arvioitaessa. Rasvamaksa

assosioituu matalaan HDL-pitoisuuteen, mutta matalaa HDL-pitoisuutta esiintyy myös tervemaksaisilla. Naisten matalan HDL-pitoisuuden rajana pidetään 1,29 mmol/l ja miesten 1,03 mmol/l. Miesten raja toimii huonosti, koska rasvamaksaa esiintyy runsaasti sen yläpuolella. Naisten raja sen sijaan on kohdallaan ja rasvamaksaa esiintyy pääsääntöisesti sen alapuolella molemmilla sukupuolilla.

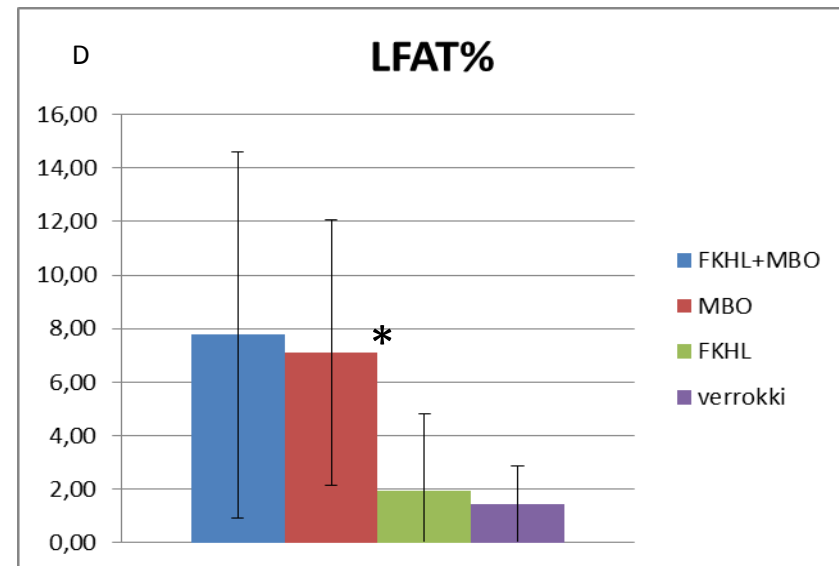
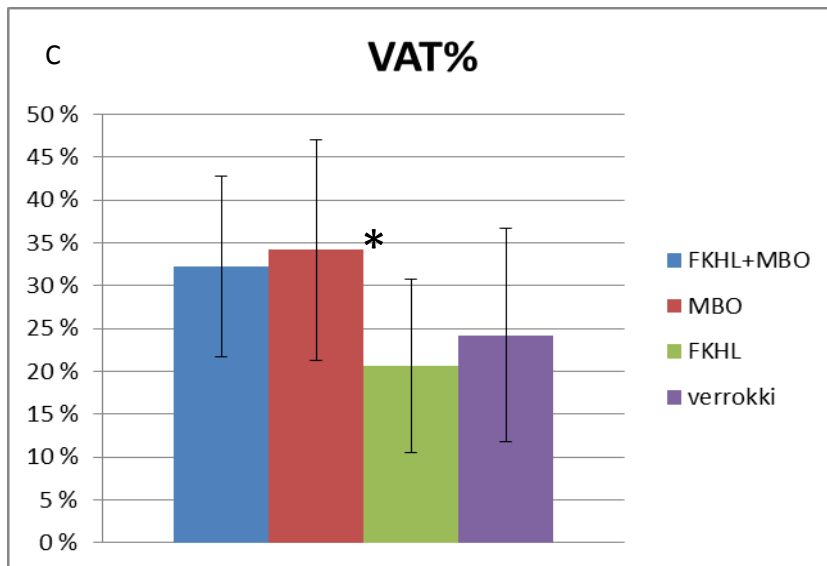
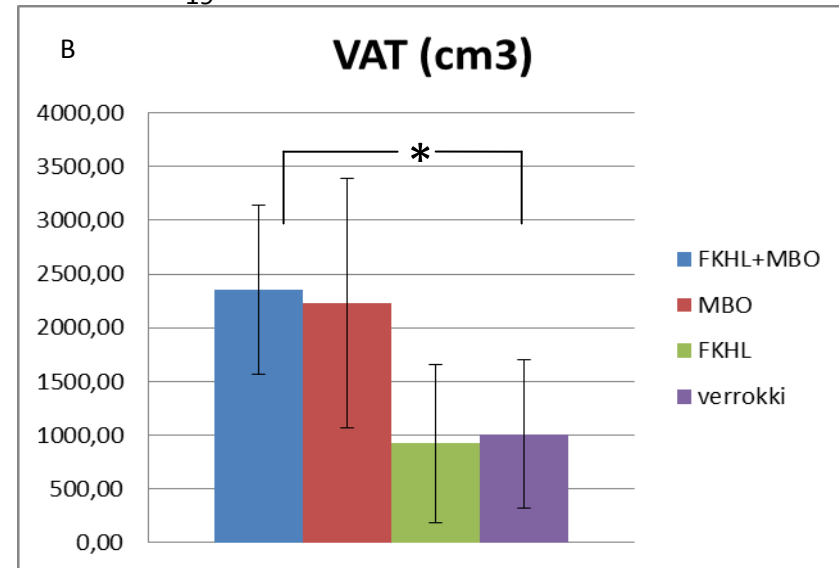
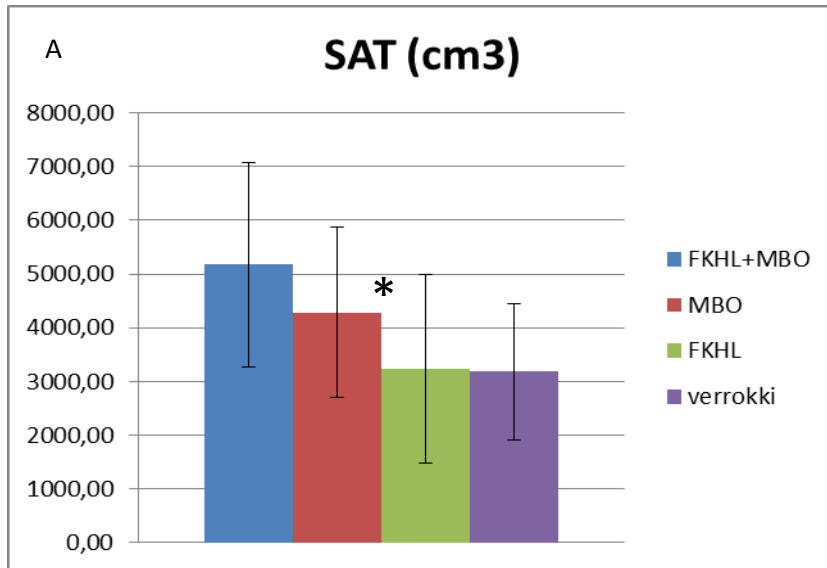
## 4.2 Rasvapolien väliset erot koehenkilöryhmittäin

Koehenkilöryhmien keskinäiset suhteet kunkin rasvapolin osalta esitetään kuvassa 9. Ihonalaisrasvan (SAT) määrä oli suurempi ainoastaan metabolista oireyhtymää sairastavilla FKHL-kantajilla kuin verrokeilla ( $p = <0,001$ , kuva 9A). Ihonalaisrasvaa oli geenivirhettä kantavalla MBO-ryhmällä 1,5-kertainen määrä verrokeihin nähden. Ilman geenivirhettä oleva MBO-ryhmä ei eronnut verrokeista SAT:n suhteen. Terveillä FKHL-kantajilla ja verrokeilla ei ollut eroa SAT:n määrässä.

Vatsaontelon rasvan (VAT) määrä oli kaksinkertainen metabolista oireyhtymää sairastavilla koehenkilöillä kuin terveillä koehenkilöillä ( $p = <0,001$ ). FKHL-kantajuus ei vaikuttanut VAT:iin (kuva 9B).

Vatsaontelon rasvan osuus keskivartalon kokonaisrasvasta (VAT%) oli suurempi metabolisessa oireyhtymässä kuin terveillä verrokeilla ( $p = <0,001$ ). FKHL-kantajuudella ei havaittu vaikutusta VAT%:iin (kuva 9C).

Maksan rasvapitoisuus (LFAT%) oli nelinkertainen metabolisessa oireyhtymässä terveisiin verrattuna ( $p = <0,001$ ), mutta FKHL-kantajuudella ei ollut merkitystä rasvoittumiseen (kuva 9D). Metabolista oireyhtymää sairastavilla rasvamaksan esiintyvyys oli 48%, kun taas terveillä esiintyvyys oli vain 4%.



Kuva 9. Keskiarvot  $\pm$ 1SD A) vatsaontelorasvalle (VAT), B) ihonalaisrasvalle (SAT), C) vatsaontelorasvan suhteelliselle osuudelle (VAT%) ja D) maksan rasvapitoisuudelle (LFAT%) koehenkilöryhmittäin. \* = tilastollisesti merkitsevä ero

## 5 Pohdinta

Tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään MBO:n kriteerien soveltuvuutta rasvamaksan diagnostiikassa sekä miten maksan rasvapitoisuus ja keskivartalon rasvapolit käyttäytyvät metabolisessa oireyhtymässä. Lisäksi arvioitiin familiaalisen kombinoidun hyperlipidemian vaikutusta keskivartalon eri rasvapooleihin ja metaboliseen oireyhtymään.

Rasva-aineenvaihduntaa ja sen häiriöitä on totuttu arvioimaan laboratorionkokein ja maksan osalta histologisesti ja kuvantaen ultraäänellä. Koepalan ottamisen ongelmia ovat menetelmän kajoavuus sekä näytteen rasvaisuuden asteen arvioinnin subjektiivisuus. Histologisesta näytteestä pystytään arvioimaan inflammaation ja fibroosin astetta, mihin muut menetelmät eivät pysty. Ultraääni on kajoamaton, mutta sen osalta subjektiivisuus on vielä suurempi ongelma, koska menetelmä on kvalitatiivinen maksan kaikuisuuden suhteen. Metabolisen oireyhtymän diagnostisina laboratorionkokeina käytetään Suomessa plasman paastoglukoosia sekä seerumin triglyseridi-, LDL- ja HDL-pitoisuuksia. HDL-pitoisuuden raja-arvot eivät korreloi rasvamaksan suhteen. Etenkin miesten raja on liian alhainen, koska rasvamaksaa jää runsaasti sen yläpuolelle. Naisten rajaa käytettäessä HDL-pitoisuuden ennustearvo paranee myös miesten osalta, eli miesten HDL-pitoisuuden rajan tiukentaminen MBO-kriteeristöissä parantaisi sen osuvuutta rasvamaksaan. Tutkitussa potilasaineistossa näistä merkkiaineista yhdelläkään ei ollut ennustearvoa rasvamaksan suhteen. MBO:n diagnoosikriteereitä ei siis voi suoraan soveltaa maksan rasvoittumisen arviointiin, vaikka rasvamaksa onkin vahvasti kytköksissä metaboliseen oireyhtymään. Selityksenä tälle voi olla, että laboratoriomääritykset kertovat ainoastaan rasva-aineenvaihdunnan tilanteen heijastumisesta verenkiertoon.

Kliinisistä parametreista myöskään verenpaineella ei ole korrelaatiota rasvamaksaan. Sen sijaan vyötärön ympärys on tämän tutkimuksen valossa toimiva poissulkututkimus rasvamaksan arvioinnissa, koska normaalivyötäröisillä tutkittavilla ei ollut rasvamaksaa. Suurentunut vyötärön ympärys sen sijaan ei vielä tarkoita, että potilaalla olisi rasvamaksa. Vyötärön ympäryksen mittaaminen on kliinisesti helppoa, halpaa ja nopeaa, joten se on suositeltavaa. Naisille ja miehille on MBO-kriteeristöissä asetettu eri raja-arvot vyötärön ympärykselle. Näyttää siltä, että naisten 80 cm:n vyötärön ympärysraja on hyvin tiukka, koska rasvamaksaa esiintyy tässä ryhmässä naisilla vasta miehillä käytetyn 94 cm:n rajan yläpuolella. Pelkkää vyötärön ympärystä parempi ennustearvo kardiometabolisiin sairauksiin on havaittu, jos vyötärön ympärys suhteutetaan muihin vartalon mittoihin. Vyötärön ympäryksen suhde lantion ympärykseen on pelkkää vyötärön ympärystä tarkempi ja herkempi, mutta se on myös mittaajariippuvaisempi ja vähemmän toistettava. Parhaaksi kliiniseksi mittariksi on havaittu vyötärön ympäryksen ja pituuden suhde. MBO:n kriteerit ovat kuitenkin asetettu vain vyötärön ympärykselle. (23,24)

FKHL-kantajuudella ei näytä olevan merkitystä MBO-ryhmien välisten rasvapoolien suhteen eikä myöskään terveiden ja verrokkien rasvapoolien suhteen. Vaikuttaa siis siltä, että pelkkä FKHL-kantajuus ei merkittävästi muuta minkään rasvapoolin rasva-aineenvaihduntaa suhteessa verrokkeihin. Myöskään MBO:ksi edennyt FKHL ei eroa rasvapooliltaan muista MBO-ryhmäläisistä, eli geenivirhe ei ainakaan tämän tutkimuksen perusteella näytä vaikuttavan MBO:n rasvapoolien kertymiseen.

Ihonalaisrasvan ajatellaan olevan ensimmäinen rasvareservi, johon ravinnon rasva kertyy. Tämän poolin täytyessä yhä suurempi osa kertyy vatsaonteloon viskeraalirasvaksi. Rasvan määrän edelleen lisääntyessä se kulkeutuu vatsaontelosta porttilaskimoteorian mukaan maksaan, johon se kertyy aiheuttaen metabolisia muutoksia. Arvioitaessa eri rasvapoolia MBO-potilailla ja verrokeilla todetaan rasvapoolien käyttäytyvän oletetusti. Metabolinen oireyhtymä vaikuttaa selvästi rasvapooleihin, joista eniten aineenvaihdunnallisesti haitallisiin. Ihonalaisrasvaa on



MBO-ryhmässä 1,5-kertaisesti, viskeraalirasvaa 2-kertaisesti ja maksan rasvaa peräti 3-4-kertaisesti. Myös viskeraalirasvan suhteellinen osuus keskivartalorasvasta on MBO-ryhmässä verrokkeja korkeampi. MBO-potilailla on maksassaan verrokkeja enemmän rasvaa, ja tässä ryhmässä rasvamaksadiagnoosin pystyi asettamaan peräti 48%:lle.

Magneettispektroskopia on todettu yhtä hyväksi maksan rasvapitoisuuksien selvittämisessä kuin koepala. Spektroskopian etuihin lukeutuu sen kajoamattomuus ja kvantitatiivisuus. Lisäksi saadaan selville tilanne itse kudoksessa, toisin kuin laboratoriomäärityksillä. Varjopuolena tälle on mitatun signaalin vaatima raskas analysointi ja virheherkkyys. Protonipektroskopiolla ei liioin pysty arvioimaan inflammaatiota tai fibroosia. Kvanttamismenetelmin ei siis ainakaan vielä päästä in vivo -histologiaan. Magneettikuvien segmentoinnin ongelmana on vielä käyttäjäriippuvaisuus: automatoitu segmentaatio ei riitä ottamaan huomioon kuvausartefaktoja tai kuvauskohteen ääreisosien heikentyvää signaalia. Segmentaatiolla saadaan kuitenkin selville tarkkaa tietoa rasvapolien suhteista ja kokoeroista, joiden kliininen merkitys voi porttilaskimoteorian pohjalta nousta tärkeäksi tekijäksi MBO:n patogeneesin ymmärtämisessä.

## 5.1 Johtopäätökset

Laboratoriomääritykset ovat rasvamaksan arvioinnissa heikkoja, mutta vyötärön ympäristä voidaan käyttää seulomaan tervemaksaiset. Familiaalinen kombinoitu hyperlipidemia ei näytä vaikuttavan rasvan kertymiseen eri pooleihin metabolisessa oireyhtymässä tai ilman sitä. Magneettikvantamisessa ja rasvan segmentoinnissa tarvitaan manuaalista työtä automaattisen segmentaation asemesta. Spektroskopia on hyvä ja kvantitatiivinen menetelmä maksan rasvapitoisuuden arviointiin, mutta se on virheille herkkä ja vaatii paljon signaalinkäsittelyä.

## Lähteet

- (1) Sarafidis PA, Nilsson PM. The metabolic syndrome: a glance at its history. *J Hypertens* 2006 Apr;24(4):621-626.
- (2) Laakso M. Metabolisen oireyhtymän uudet kriteerit ja hoito. *Duodecim* 2005;121:1521-1530.
- (3) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006 May;23(5):469-480.
- (4) McCullough AJ. Epidemiology of the metabolic syndrome in the USA. *J Dig Dis* 2011 Oct;12(5):333-340.
- (5) Kotronen A, Westerbacka J, Bergholm R, Pietilainen KH, Yki-Jarvinen H. Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Sep;92(9):3490-3497.
- (6) Kotronen A, Yki-Jarvinen H. Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008 Jan;28(1):27-38.
- (7) Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis* 2007 Feb;11(1):75-104, ix.
- (8) Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005 Feb;288(2):E462-8.
- (9) Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006 Oct;44(4):865-873.
- (10) Lazo M, Hernaez R, Bonekamp S, Kamel IR, Brancati FL, Guallar E, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults: prospective cohort study. *BMJ* 2011 Nov 18;343:d6891.
- (11) Castro Cabezas M. Postprandial lipaemia in familial combined hyperlipidaemia. *Biochem Soc Trans* 2003 Oct;31(Pt 5):1090-1093.
- (12) Brouwers MC, de Graaf J, van Greevenbroek MM, Schaper N, Stehouwer CD, Stalenhoef AF. Novel drugs in familial combined hyperlipidemia: lessons from type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Lipidol* 2010 Dec;21(6):530-538.
- (13) Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008 Apr;28(4):629-636.
- (14) Kotronen A, Yki-Jarvinen H, Mannisto S, Saarikoski L, Korpi-Hyovalti E, Oksa H, et al. Non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease - two diseases of affluence

associated with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: the FIN-D2D survey. *BMC Public Health* 2010 May 10;10:237.

(15) Arsenault BJ, Beaumont EP, Despres JP, Larose E. Mapping body fat distribution: A key step towards the identification of the vulnerable patient? *Ann Med* 2011 Dec 12.

(16) McRobbie D, Moore E, Graves M, Prince M. *MRI from Picture to Proton*. 2nd ed. United States of America: Cambridge University Press; 2006.

(17) Kiricuta IC, Jr, Simplaceanu V. Tissue water content and nuclear magnetic resonance in normal and tumor tissues. *Cancer Res* 1975 May;35(5):1164-1167.

(18) Qayyum A. *MR spectroscopy of the liver: principles and clinical applications*. *Radiographics* 2009 Oct;29(6):1653-1664.

(19) Longo R, Ricci C, Masutti F, Vidimari R, Croce LS, Bercich L, et al. Fatty infiltration of the liver. Quantification by <sup>1</sup>H localized magnetic resonance spectroscopy and comparison with computed tomography. *Invest Radiol* 1993 Apr;28(4):297-302.

(20) Thomsen C, Becker U, Winkler K, Christoffersen P, Jensen M, Henriksen O. Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging* 1994;12(3):487-495.

(21) Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J Magn Reson* 1997 Nov;129(1):35-43.

(22) Naressi A, Couturier C, Castang I, de Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for MRUI, a software package for quantitation of in vivo/medical magnetic resonance spectroscopy signals. *Comput Biol Med* 2001 Jul;31(4):269-286.

(23) Lee CM, Huxley RR, Wildman RP, Woodward M. Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. *J Clin Epidemiol* 2008 Jul;61(7):646-653.

(24) Ashwell M, Gunn P, Gibson S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2012 Mar;13(3):275-286.