



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Επίδραση συμπληρώματος φυσικού προϊόντος σε δείκτες φλεγμονής ασθενών
με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος**

Πτυχιακή εργασία

Ευφημία Κιαχάκη

Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπουσα καθηγήτρια

Ανδριάννα Καλιώρα

**Επίκουρη Καθηγήτρια στη Διατροφή του Ανθρώπου και Τρόφιμα, Τμήμα
Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Γεώργιος Δεδούσης

**Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, Τμήμα
Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Νικόλαος Καλογερόπουλος

**Αναπληρωτής Καθηγητής Χημείας Τροφίμων και Περιβάλλοντος,
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Ευφημία Κιαχάκη δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επίκουρη καθηγήτρια κ. Καλιώρα για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση και το χρόνο της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Ευχαριστώ θερμά τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ. Δεδούση και τον κ. Καλογερόπουλο για την προσοχή που έδωσαν στον έλεγχο της εργασίας μου και τις χρήσιμες συμβουλές τους.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τη Χαρά Αμερικάνου, για την πολύτιμη βοήθεια της και τις συμβουλές τις καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για τη διαρκή υποστήριξη τους καθ' όλη την διάρκεια της φοίτησης μου στην σχολή.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	12
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	13
1. Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος.....	14
1.1 Ορισμοί NAFLD και NASH.....	14
1.2 Επιδημιολογία	14
1.2.1 Επιπολασμός της νόσου	14
1.2.2 Παράγοντες Κινδύνου	15
1.3 Παθογένεια της NAFLD	17
1.3.1 Η θεωρεία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων.....	17
1.3.2 Ηπατική στεάτωση	19
1.3.3 Γενετική προδιάθεση	21
1.3.4 Ρόλος της διατροφής.....	22
1.3.5 Κυτοκίνες - Αντιποκίνες.....	24
1.3.6 Ρόλος της μικροβιακής χλωρίδας	27
1.4 Διάγνωση.....	28
1.4.1 Κλινική εικόνα	28
1.4.2 Ιστολογικά χαρακτηριστικά NAFLD/NASH	29
1.4.3 Εργαστηριακά ευρήματα	31
1.4.4 Απεικονιστικές τεχνικές.....	33
1.4.5 Βιοψία ήπατος.....	34
1.5 Διαχείριση της νόσου	35
1.5.1 Παρέμβαση στον τρόπο ζωής	35
1.5.2 Συμπληρώματα διατροφής	38
1.5.3 Φαρμακευτική θεραπεία	40
1.5.4 Ο ρόλος των φυτοχημικών	41
2. Μαστίχα Χίου	45
2.1 Χαρακτηριστικά της μαστίχας	45
2.2 Το μαστιχόδεντρο και η παραγωγή της μαστίχας	46
2.3 Ευεργετικές ιδιότητες της μαστίχας.....	47
2.3.1 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες.....	47

2.3.2 Αντιμικροβιακές ιδιότητες	48
2.3.3 Αντιοξειδωτικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες	49
3. Σκοπός μελέτης	51
4. Μεθοδολογία	52
4.1 Καταληκτικά σημεία.....	52
4.2 Πληθυσμός μελέτης	52
4.3 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού	52
4.4 Τυφλοποίηση – Τυχαιοποίηση.....	53
4.5 Πλάνο μελέτης.....	54
4.5.1 Δειγματοληψία.....	54
4.5.2 Πρώτη συνάντηση	54
4.5.3 Δεύτερη συνάντηση	55
4.5.4 Έναρξη παρέμβασης.....	55
4.5.5 Συνάντηση 3 ^{ου} μήνα	56
4.5.6 Ολοκλήρωση της παρέμβασης.....	56
4.6 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Ιντερλευκίνης-10 (IL-10)	57
4.6.1 Απομόνωση ορού	57
4.6.2 Πρωτόκολλο ELISA.....	57
5. Αποτελέσματα - Συζήτηση	59
5.1 Περιγραφή του δείγματος.....	59
5.2 Στατιστική ανάλυση	61
5.2.1 Βιοχημικοί δείκτες.....	61
5.2.2 Ιντερλευκίνη-10.....	67
Βιβλιογραφία	69

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) καθώς και η προχωρημένη μορφή της, δηλαδή η μη αλκοολική λιπώδης στεατοηπατίτιδα (NASH), συνιστούν ένα όλο και αυξανόμενο πρόβλημα της δημόσιας υγείας καθότι αποτελούν από τις πιο συνήθεις χρόνιες ασθένειες του ήπατος. Το φάσμα των ιστολογικών αλλαγών στην NAFLD ποικίλλει αλλά το βασικό χαρακτηριστικό της ασθένειας είναι η εναπόθεση λίπους στο ήπαρ. Για τη NAFLD δεν υπάρχει κατοχυρωμένη φαρμακοθεραπεία και ως εκ τούτου η παρέμβαση στον τρόπο ζωής, μέσω της απώλειας βάρους, της τροποποίησης της διατροφής και της ενίσχυσης της άσκησης, αντιπροσωπεύει την πιο κοινή θεραπευτική προσέγγιση της νόσου. Επομένως, η ανάγκη για τη διερεύνηση νέων θεραπευτικών μεθόδων κρίνεται απαραίτητη. Η μαστίχα Χίου αποτελεί μια αρωματική ρητίνη που συνιστάται από μία πληθώρα βιοδραστικών ουσιών, αιθέριων ελαίων, τερπενίων και πολυφαινόλων και έχει αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές αντιφλεγμονώδεις και καρδιοπροστατευτικές δράσεις. Δεδομένων των δράσεων της μαστίχας, σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας υπήρξε η διερεύνηση της επίδρασης της χορήγησης συμπληρώματος μαστίχας Χίου στους δείκτες φλεγμονής του ήπατος παχύσαρκων ασθενών με NAFLD/NASH. Επίσης, διερευνήθηκε η επίδραση του συμπληρώματος σε βιοχημικούς δείκτες όπως: τα αιμοπετάλια, τα τριγλυκερίδια, η LDL, η HDL, η φερριτίνη, ο σίδηρος, η αλβουμίνη, η γ-GT, οι SGOT και SGPT.

Η MAST4HEATH μελέτη συνιστά μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή έναντι εικονικού σκευάσματος κλινική δοκιμή για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της χορήγησης μαστίχας σαν μη φαρμακολογική θεραπεία στους ασθενείς με NAFLD/NASH. Στα πλαίσια της μελέτης επιλέχθηκαν 22 εθελοντές, αφού είχαν υποβληθεί σε μαγνητική τομογραφία και εξετάσεις αίματος, και τυχαιοποιήθηκαν στις 2 ομάδες της μελέτης (verum και placebo). Για τους 17 εθελοντές που ολοκλήρωσαν την τρίμηνη θεραπεία αξιολογήθηκε η επίδραση της μαστίχας στην αντιφλεγμονώδη κυτοκίνη, ιντερλευκίνη-10 και σε ορισμένους βιοχημικούς δείκτες.

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό εργαλείο SPSS, και έγινε έλεγχος t-test μεταξύ του χρόνου προτού ξεκινήσει η παρέμβαση και μετά το πέρας των 3 μηνών στις διάφορες μεταβλητές. Για τους βιοχημικούς δείκτες δε φάνηκε καμία στατιστικά σημαντική αλλαγή μεταξύ των δύο χρόνων της παρέμβασης. Επίσης, συγκρίθηκαν τα δύο γκρουπ της παρέμβασης, το verum και το placebo, χωρίς να παρατηρηθεί στατιστικά σημαντική διαφορά. Για την IL-10 σημειώθηκαν οι αλλαγές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των δύο χρόνων.

Από τα αποτελέσματα δεν μπορούν να βγουν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση της μαστίχας στους ασθενείς με NAFLD.

Λέξεις-κλειδιά: Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, Μαστίχα, Κλινική δοκιμή, Ιντερλευκίνη-10, IL-10

ABSTRACT

Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and its advanced form, Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH), are a growing problem of public health as they are one of the most common chronic liver diseases. The spectrum of histological changes in NAFLD varies, but the main feature of the disease is fat deposition in the liver. There is no patented drug therapy for NAFLD and therefore lifestyle intervention, through weight loss, diet modification and exercise enhancement, represents the most common therapeutic approach to the disease. Therefore, the need to investigate new therapeutic methods is necessary. Chios mastic is an aromatic resin, which consists of a variety of bioactive substances, essential oils, terpenes and polyphenols and its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cardioprotective properties have been proven. Given the effects of mastic, the aim of this thesis was to investigate the effect of mastic supplementation on inflammation markers of obese patients with NAFLD/NASH. Also, the effect of mastic supplementation on biochemical markers such as: platelets, triglycerides, LDL, HDL, ferritin, iron, albumin, γ -GT, SGOT and SGPT, was investigated.

MAST4HEALTH study is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial that investigates the efficacy of mastic administration as non-pharmacological therapy in patients with NAFLD / NASH. 22 volunteers were selected to take part in the study, after having undergone MRI and blood tests, and were randomly assigned to two groups: placebo and verum. Patients of the first group ingested capsules with no therapeutic effect in contrary to patients of the second group who ingested 2.1 g of mastic daily. 17 out of 22 volunteers completed the 3-month treatment. In this current thesis, the effect of mastic supplementation on the anti-inflammatory cytokine, interleukin-10 and some biochemical markers, were evaluated for the volunteers who completed the 3-month treatment.

SPSS statistical tool was used for the statistical analysis of the data. For biochemical markers there was no statistically significant difference in both groups. Also, no changes were found between the two groups: verum and placebo. Similarly, no changes were noted in IL-10 concentrations in both groups. As a result, safer conclusions could be made when MAST4HEALTH study is completed.

Keywords: Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Mastic, Clinical Trial, Interleukin-10, IL-10

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.3.1.1. Η θεωρεία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων στην εξέλιξη της NAFLD. **σ. 19**

Εικόνα 1.3.2.2. Ο κυρίαρχος ρόλος της ινσουλινοαντίστασης στην ηπατική στεάτωση. Παράγοντες που οδηγούν στην ηπατική στεάτωση: Αύξηση της de novo λιπογένεσης, αύξηση της γλυκογονόλυσης και γλυκονεογένεσης και αυξημένη λιπόλυση και σύνθεση ελεύθερων λιπαρών οξέων. **σ. 20**

Εικόνα 1.4.2.1. Στεάτωση στη NAFLD. Μακροφυσσαλιδώδης στεάτωση στη ζώνη 3. (Χρώση Masson) **σ. 29**

Εικόνα 1.4.2.2. Λοβιακή φλεγμονή στη NASH. **σ.30**

Εικόνα 1.4.2.3. Διογκωμένα ηπατοκύτταρα (μαύρο βελάκι) και Mallory Denk Bodies (άσπρο βελάκι) στη NASH. **σ. 30**

Εικόνα 1.4.2.4. Περιημιτονοειδής ίνωση στη NASH, η οποία ξεκινάει από τη ζώνη 3. **σ. 31**

Εικόνα 1.4.4.1. Φωτογραφίες από υπερηχογραφία δείχνουν τα στάδια της στεάτωσης. Α: Στάδιο 1: ήπια στεάτωση, Β: Στάδιο 2: μέτρια στεάτωση, Στάδιο 3: σημαντική στεάτωση. **σ. 33**

Εικόνα 2.1.1. Η μαστίχα σε μορφή δακρύου. **σ. 45**

Εικόνα 2.2.1. Καθάρισμα της μαστίχας. **σ. 46**

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 5.1.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος (n=22) στο χρόνο 0. **σ. 59**

Πίνακας 5.1.2. Κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος στο χρόνο 0. **σ. 61**

Πίνακας 5.2.1.1. Σύγκριση των μέσων όρων των βιοχημικών δεικτών στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3. **σ. 64**

Πίνακας 5.2.1.2. Σύγκριση των μέσων όρων των Δmean % κάθε βιοχημικού δείκτη της ομάδας Α σχέση με την ομάδα Β. **σ. 63-64**

Πίνακας 5.2.2.1. Οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων της IL-10 στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3. **σ. 67**

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 5.1.1. Καπνιστικές συνήθειες δείγματος. **σ. 60**

Σχήμα 5.1.2. Μορφωτικό επίπεδο δείγματος. **σ. 60**

Σχήμα 5.2.1.1. Ραβδόγραμμα των μεταβολών των μεταβλητών στις ομάδες Α και Β. **σ. 65**

Σχήμα 5.2.2.1. Μεταβολές στη συγκέντρωση της IL-10 στους 4 εθελοντές του επανελέγχου στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3. **σ. 67**

Σχήμα 5.2.2.2. Μεταβολές στη συγκέντρωση της IL-10 στους 7 εθελοντές του επανελέγχου στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3. **σ. 67**

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Non-Alcoholic Steatohepatitis
PNPLA3	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος
SREBP1c	Sterol regulatory element-binding protein 1c
ChREBP	Carbohydrate response element binding protein
VLDL	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
GCKR	Ρυθμιστική πρωτεΐνη της γλυκοκινάσης
IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13	Ιντερλευκίνες-4,5,6,10,12,13
TNF-α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων α
ROS	Reactive oxygen species
MDB's	Mallory Denk Bodies
ALT, SGPT	Αμινοτρανσφεράση της αλανίνης
AST, SGOT	Αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού
GSH	Γλουταθειόνη
HDL	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
LDL	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
γ-GT	γ-Γλουταμυλτρανσφεράση

1. Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

1.1 Ορισμοί NAFLD και NASH

Το 1980, ο Ludwig πρώτος περιέγραψε μια σειρά από κλινικές και ιστολογικές αλλαγές οι οποίες χαρακτηρίζονται από την συσσώρευση λίπους στο ήπαρ, χωρίς να οφείλεται στην υπερβάλλουσα κατανάλωση αλκοόλ, γνωστή σήμερα ως μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD).[1] Η NAFLD καθώς και η προχωρημένη μορφή της, δηλαδή η μη αλκοολική λιπώδης στεατοηπατίτιδα (NASH) είναι ένα όλο και αυξανόμενο πρόβλημα της δημόσιας υγείας καθώς αποτελούν από τις πιο συνήθεις χρόνιες ασθένειες του ήπατος. Ενώ ακόμη εκτιμάται ότι μέσα στα επόμενα χρόνια θα είναι η πρώτη αιτία μεταμόσχευσης του ήπατος στην Αμερική.

Το φάσμα των ιστολογικών αλλαγών στην NAFLD ποικίλλει και κυμαίνεται από απλή στεάτωση, χωρίς την ύπαρξη ίνωσης ή φλεγμονής έως την στεατοηπατίτιδα και την ηπατική κίρρωση. [2] Το βασικό χαρακτηριστικό της ασθένειας είναι η εναπόθεση λίπους στο ήπαρ (στεάτωση), η οποία υπερβαίνει το 5% του βάρους του, ενώ παράλληλα οι ασθενείς απέχουν από την υπέρμετρη κατανάλωση αλκοόλ η οποία ορίζεται ως >30 gr/ημέρα για τους άντρες και >20 gr/ημέρα για τις γυναίκες. [3,4] Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ιστολογικά η NAFLD και η σχετιζόμενη με το αλκοόλ διήθηση του ήπατος είναι αδύνατον να διακριθούν. Συνεπώς, η διάκριση γίνεται μόνο με τον αποκλεισμό της λήψης αλκοόλ πάνω από τα όρια που έχουν ορισθεί. [5]

Όπως αναφέρθηκε η NAFLD χαρακτηρίζεται από στεάτωση, δηλαδή παρουσία λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων [3]. Στη NASH, από την άλλη πλευρά, που αποτελεί υποκατηγορία της NAFLD, η στεάτωση συνυπάρχει με φλεγμονή, η οποία τελικά οδηγεί σε ηπατοκυτταρική νέκρωση. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, στους ασθενείς με απλή στεάτωση η ασθένεια έχει αργή εξέλιξη, αν αυτή υπάρξει. Η NASH όμως είναι πιο πιθανό να έχει εξέλιξη επιφέροντας επιπλοκές όπως είναι η κίρρωση και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. [4] Συγκεκριμένα, σε λιγότερο από το 1% έως 4% των ασθενών με απλή στεάτωση θα υπάρξει εξέλιξη της νόσου σε ίνωση, ενώ περίπου το 10-29% των ασθενών με NASH θα εμφανίσουν κίρρωση μέσα σε μία περίοδο 10 ετών. [3,4]

1.2 Επιδημιολογία

1.2.1 Επιπολασμός της νόσου

Η ασθένεια, καθώς και όλα τα παρακλάδια της, έχουν παρατηρηθεί σε όλες τις εθνικότητες ανά τον κόσμο, όπως επίσης και στα δύο φύλα. Οι διαφορετικοί τρόποι που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της παράλληλα με το γεγονός ότι πολλοί ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί,

καθιστούν πολύ δύσκολο τον υπολογισμό του επιπολασμού και της επίπτωσης της. Λόγω της συσχέτισης της νόσου με την παχυσαρκία την αντίσταση στην ινσουλίνη, την δυσλιπιδαιμία και την υπέρταση, θεωρείται ότι αποτελεί την ηπατική εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου και ως εκ τούτου με την αύξηση του επιπολασμού του μεταβολικού συνδρόμου και της παχυσαρκίας, αναμένεται μια συνεπακόλουθη αύξηση στον επιπολασμό της NAFLD. [5]

Εκτιμάται ότι περίπου ένα δισεκατομμύριο άνθρωποι έχουν NAFLD παγκοσμίως. Για τον δυτικό κόσμο η NAFLD είναι η συχνότερη νόσος του ηπάτος και υπολογίζεται ότι περίπου πάνω από το 30% του γενικού πληθυσμού πάσχει από τη νόσο. [6] Σύμφωνα με μελέτες, για την Ασία ο επιπολασμός κυμαίνεται περίπου στα ίδια επίπεδα, όμως για την Ινδία, ενώ ο επιπολασμός είναι ίδιος στις αστικές περιοχές είναι αισθητά χαμηλότερος, κάτω από 10%, στις αγροτικές περιοχές. Όσον αφορά την Αφρικανική ήπειρο δεν είναι γνωστός ο επιπολασμός, ωστόσο σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας Νιγηριανής έρευνας, το ποσοστό είναι κάτω από 10%. Ο επιπολασμός της νόσου στα παιδιά είναι 3 – 10 %, ενώ αυξάνεται στο 40 – 70% στα παχύσαρκα παιδιά. Αναφορικά με τη NASH, ο επιπολασμός της είναι δύσκολο να εκτιμηθεί διότι προϋποθέτει ιστολογική διάγνωση, που είναι ανέφικτη σε όλους τους ασθενείς με NAFLD.[4]

1.2.2 Παράγοντες Κινδύνου

Ηλικία

Αν και η νόσος έχει βρεθεί σε όλες τις ηλικίες, ακόμη και σε μικρά παιδιά, ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι ο επιπολασμός της τείνει να αυξάνεται με την ηλικία. Επιπλέον, έχει φανεί ότι σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας είναι πιο πιθανή η εξέλιξη της νόσου σε προχωρήμενη ίνωση ενώ παράλληλα έχει παρατηρηθεί αυξημένη θνησιμότητα. Παρ' όλα αυτά σε αρκετές περιπτώσεις είναι δύσκολο να διαπιστωθεί αν η ηλικία λειτουργεί ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι με την αύξηση της ηλικίας αυξάνεται παράλληλα και η επίπτωση άλλων παραγόντων όπως του μεταβολικού συνδρόμου, του διαβήτη τυπου II και της παχυσαρκίας.[5] Ακόμη, επιπλέον μελέτες είναι απαραίτητες προκειμένου να διερευνηθεί αν η σχέση μεταξύ ηλικίας και NAFLD είναι αποτέλεσμα της διάρκειας της ασθένειας και όχι της ηλικίας ως ανεξάρτητου παράγοντα. [7]

Φύλο

Πολλές πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι οι άνδρες είναι πιο πιθανό να εμφανίσουν NAFLD. Για παράδειγμα, μελέτη σε ασιάτικο πληθυσμό έδειξε ότι ο επιπολασμός στους άνδρες ήταν 31% σε αντίθεση με τις γυναίκες που ήταν υποδιπλάσιος. [8] Σε άλλη έρευνα στις Η.Π.Α. φάνηκε

ότι οι ασθενείς με NAFLD ήταν πιο πιθανό να είναι άνδρες (58,9%). Παρ'όλα αυτά, σε άλλες μελέτες στον δυτικό πληθυσμό, ο επιπολασμός της NASH ήταν υψηλότερος στις γυναίκες, οι οποίες εκπροσωπούσαν το 60-83% των διαγνώσεων.[5] Δεδομένου τις διαφορές στην βιβλιογραφία, είναι πιθανό ότι η NAFLD και η εξέλιξη της να λειτουργεί διαφορετικά στους άνδρες και στις γυναίκες. Περισσότερες μελέτες, με μεγάλο δείγμα χρειάζονται επί του θέματος. [7]

Εθνικότητα

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία ο επιπολασμός της NAFLD παρουσιάζει διαφορές ανάλογα με την εθνικότητα. Συγκεκριμένα, τα μεγαλύτερα ποσοστά της νόσου εμφανίζουν οι Ισπανοί, μετά οι καυκάσιοι, ενώ τα χαμηλότερα έχουν οι Αφρο-Αμερικανοί. Επίσης, μεταξύ των ασθενών της NAFLD οι Αφρο-Αμερικανοί έχουν λιγότερες πιθανότητες να εξελιχθεί η νόσος σε NASH σε αντίθεση με τους Ισπανούς. Αυτές οι διαφορές δεν είναι πλήρως κατανοητές. Μια λογική εξήγηση μπορεί να είναι το αυξημένο BMI και η συσσώρευση λίπους στα σπλάχνα που παρατηρούνται κυρίως στους Ισπανούς σε αντίθεση με τους Αφρο-Αμερικανούς.[6] Από την άλλη πλευρά, μπορεί να αντιπροσωπεύουν κάποια γενετική προδιαθεση. Βάσει δεδομένων από γονότυπους, ο πιο σημαντικός γενετικός παράγοντας που σχετίζεται με την εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου είναι ένας μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός σε ένα γονίδιο της PNPLA3 (patatin-like phospholipase domain-containing protein 3).[5,7] Ο ισπανικός πληθυσμός φέρει αυτό το γονίδιο σε υψηλότερη συχνότητα από άλλες εθνικότητες.[5]

Διαβήτης τύπου II

Είναι γνωστό εδώ και πολλά χρόνια ότι ο διαβήτης τύπου II είναι στενά συνδεδεμένος με τη NAFLD.[7] Ο επιπολασμός της νόσου αυξάνεται στους ασθενείς με διαβήτη τύπου II ενώ επίσης έχουν υψηλότερες πιθανότητες για εξέλιξη της νόσου σε κίρρωση, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και αυξημένη θνησιμότητα σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς διαβήτη. [4,5] Σε μια πρόσφατη έρευνα σε ασθενείς με διαβήτη τύπου II βρέθηκε ότι ο επιπολασμός της NAFLD ήταν 69%, επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι ο διαβήτης είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την NAFLD [7]. Επιπλέον, φαίνεται ότι η σχέση μεταξύ των δύο ασθενειών είναι αμφίδρομη, καθώς οι ασθενείς με NAFLD έχουν σε μεγάλο ποσοστό προδιαβήτη και σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο να αναπτύξουν διαβήτη τύπου II. [4]

Παχυσαρκία

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η παχυσαρκία είναι από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την ηπατική στεάτωση. [6,9] Σε δείγμα υπέρβαρων ο επιπολασμός της NAFLD είναι τουλάχιστον διπλάσιος συγκριτικά με ένα δείγμα νορμόβαρων και είναι ανάλογος με την αύξηση του ΔΜΣ.[6,10] Σε παχύσαρκους ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε βαριατρική επέμβαση, ο επιπολασμός της NAFLD μπορεί να υπερβεί το 90%, ενώ έως και το 5% των ασθενών μπορεί να έχει κίρρωση. [8] Μεταξύ των παχύσαρκων ασθενών ο επιπολασμός της NASH κυμαίνεται από 10% έως και 56%. [7] Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το σπλαχνικό λίπος καθώς και ο αυξημένος ΔΜΣ είναι δύο ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για την NAFLD [8]. Η κεντρικού τύπου παχυσαρκία, ακόμη και αν ο ΔΜΣ είναι φυσιολογικός θεωρείται ως παράγοντας κινδύνου για την NAFLD και συσχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση. [5]

Δυσλιπιδαιμία

Αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης και υπερτριγλυκεριδαιμία, όπως αυτά ορίζονται από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH), φαίνεται να παρουσιάζουν από το 20% έως το 80% των ασθενών με NAFLD.[9] Υπερτριγλυκεριδαιμία φαίνεται ότι παρουσιάζει το 64% των ασθενών με στεάτωση, ενώ χαμηλά ποσοστά HDL αναφέρονται στο 30 - 42% των περιπτώσεων. [6] Επίσης, η σχέση μεταξύ των δύο νόσων είναι και αντίστροφη καθώς σύμφωνα με μια άλλη μελέτη σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία βρέθηκε ότι το 50% του δείγματος παρουσίαζε στεάτωση στο ήπαρ.[11]

Άλλοι παράγοντες

Άλλα νοσήματα όπως το σύνδρομο της αποφρακτικής υπνικής άπνοιας (obstructive sleep apnea) και το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (polycystic ovarian syndrome) αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την NAFLD. [9] Επιπλέον, άλλες καταστάσεις που έχουν συσχετιστεί με τη νόσο είναι η ολική παρεντερική διατροφή, η ταχεία απώλεια βάρους, η ασιτία, εκ γενετής βλάβες στο μεταβολισμό, το σύνδρομο επανασίτισης, η βακτηριακή υπερανάπτυξη και η έκθεση σε πετροχημικά. Τέλος, ορισμένα φάρμακα έχουν ενοχοποιηθεί και θεωρούνται πλέον παράγοντες κινδύνου για την NAFLD και τη NASH. [6]

1.3 Παθογένεια της NAFLD

1.3.1 Η θεωρία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων

Ο βασικός μηχανισμός της εκδήλωσης και εξέλιξης της NAFLD είναι περίπλοκος και οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Αρχικά, είχε προταθεί η υπόθεση των δύο χτυπημάτων» προκειμένου

να δοθούν εξηγήσεις για την παθογένεια της νόσου. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, το «πρώτο χτύπημα» είναι η συσσώρευση των λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα ως αποτέλεσμα πρωτογενών αιτιών όπως η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υψηλή σε λιπαρά δίαιτα. Στην συνέχεια το «δεύτερο χτύπημα» αποτελούν περαιτέρω αντιδράσεις του οργανισμού οι οποίες σχετίζονται κυρίως με την αύξηση του οξειδωτικού στρες και της φλεγμονής. Ωστόσο, αυτή η θεωρία πλέον θεωρείται αρκετά ανεπαρκής και απλοϊκή ώστε να περιγράψει τον τόσο πολύπλοκο και πολυπαραγοντικό μηχανισμό δράσης της νόσου. Ως εκ τούτου, έχει αντικατασταθεί από τη «θεωρία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων». [12,13]

Σύμφωνα με την «θεωρία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων» διάφοροι παράγοντες λειτουργούν παράλληλα και συνεργιστικά για την εκδήλωση της νόσου σε γενετικά προδιαθετημένα άτομα. Οι διατροφικές συνήθειες και το γενετικό υπόβαθρο σε συνδυασμό με την παχυσαρκία μπορούν να οδηγήσουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη, την αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης και των ελεύθερων λιπαρών οξέων, τον πολλαπλασιασμό των λιποκυττάρων, τη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού και σε αλλαγές στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου, αποτελώντας κάποιους από τους καθοριστικούς παράγοντες για την εκδήλωση και την εξέλιξη της NAFLD.

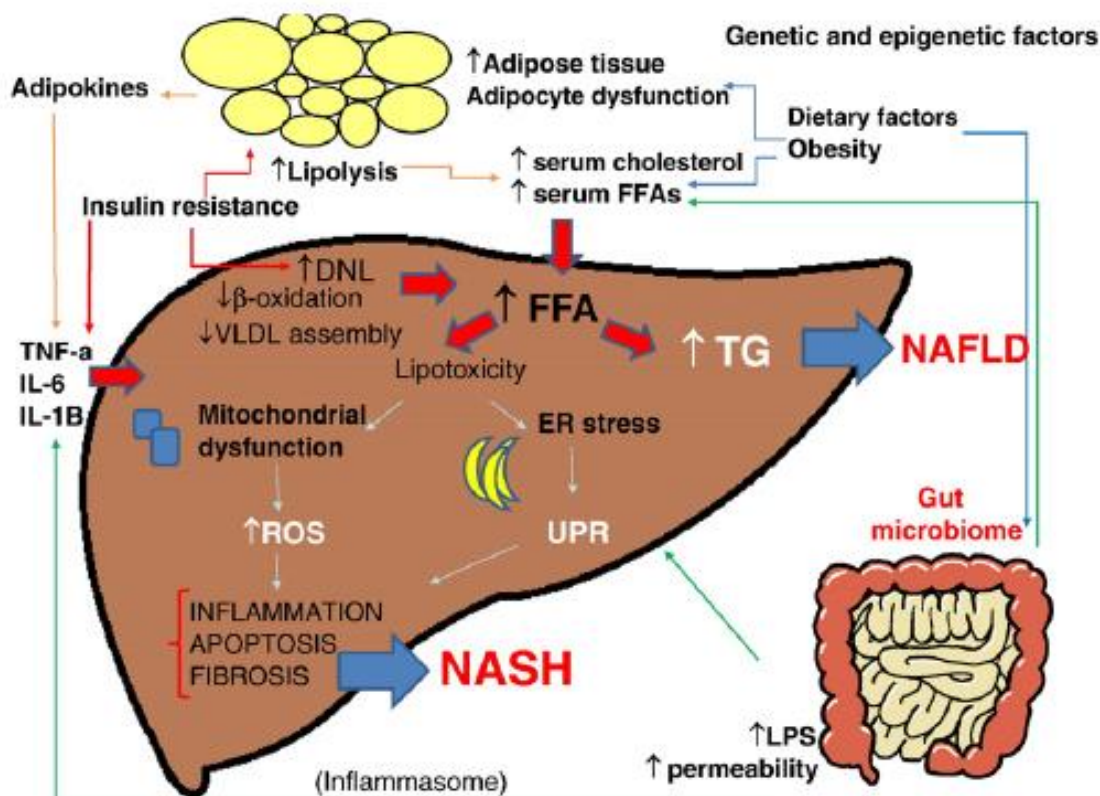
Η αντίσταση στην ινσουλίνη οδηγεί σε αυξημένη de novo λιπογένεση και λιπόλυση του λιπώδους ιστού που έχουν ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση λιπαρών οξέων στο ήπαρ, ενώ επίσης ενισχύει τη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού με συνέπεια τη διαταραγμένη παραγωγή και έκκριση αδιποκινών και φλεγμονοδών κυτοκινών.

Στη συνέχεια, τα υψηλά ποσοστά ελεύθερων λιπαρών οξέων, χοληστερόλης και άλλων μεταβολιτών των λιπιδίων που εναποθέτονται στο ήπαρ οδηγούν στην ενεργοποίηση μηχανισμών όπως η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία με αυξημένο οξειδωτικό στρες και παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου.

Ακόμη, η αλλαγή του μικροβιώματος του εντέρου οδηγεί στην επιπλέον παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ, στην αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου και ως εκ τούτου στην αυξημένη απορρόφηση λιπαρών οξέων και μορίων που κυκλοφορούν στον οργανισμό τα οποία συμβάλλουν στην ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών.[12] (Εικόνα 1.3.1.1.)

Παρότι θεωρούνταν δεδομένο ότι η ηπατική στεάτωση προηγούταν της φλεγμονής, πλέον σύμφωνα με την βιβλιογραφία υποστηρίζεται ότι η φλεγμονή σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί

να προηγηθεί της στεάτωσης. Ασθενείς με NASH είναι πιθανό να μην παρουσιάζουν στεάτωση σε μεγάλο βαθμό, ενώ η φλεγμονή μπορεί να προκαλέσει την στεάτωση σε δεύτερη φάση. [14]

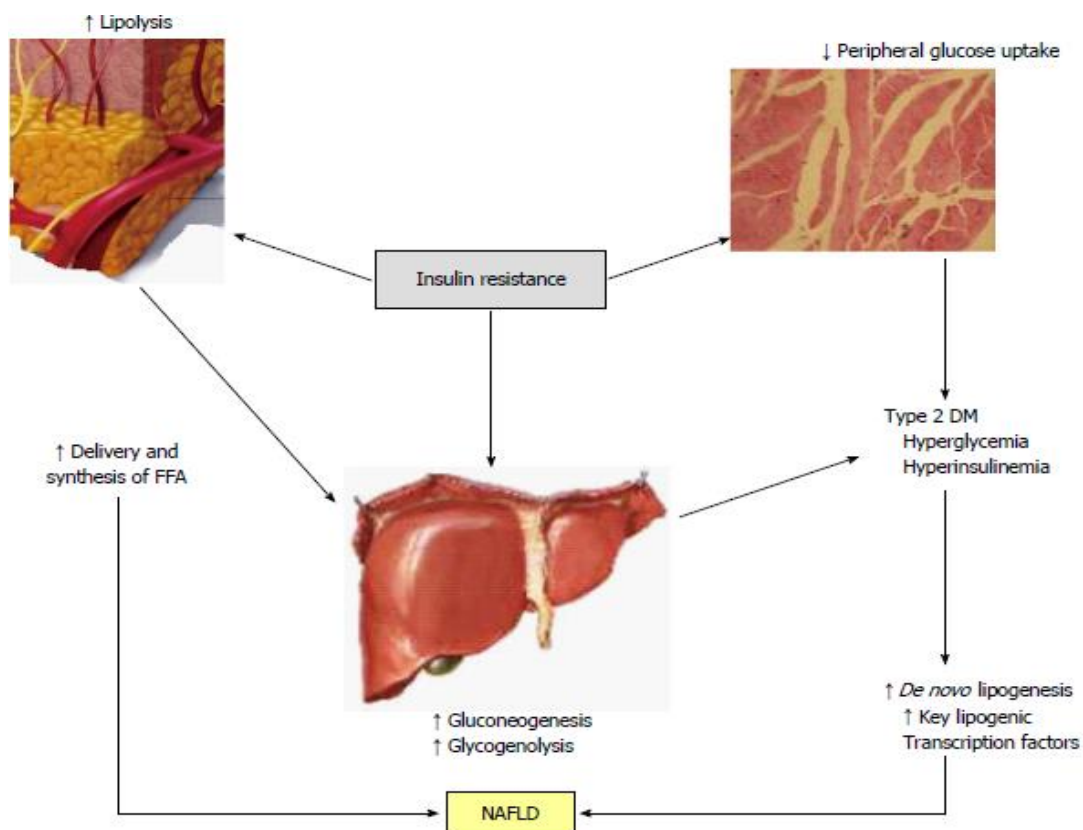


Εικόνα 1.3.1.1. Η θεωρία των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων στην εξέλιξη της NAFLD. Διατροφικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, σε συνδυασμό με την παχυσαρκία, οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων και χοληστερόλης στον ορό, αντίσταση στην ινσουλίνη, πολλαπλασιασμό των λιποκυττάρων, αλλαγές και δυσλειτουργία στο εντερικό μικροβίωμα. Η αντίσταση στην ινσουλίνη επιδρά στον λιπώδη ιστό επιφέροντας τη δυσλειτουργία του, με την αύξηση της διαδικασίας της λιπόλυσης και την έκκριση αδιποκινών και προφλεγμονώδων κυτοκινών όπως η TNF-α και η IL-6, που με τη σειρά τους συνεισφέρουν στη διατήρηση της ινσουλινοαντίστασης. Η αυξημένη ποσότητα ελεύθερων λιπαρών οξέων που προέρχεται από τις διαδικασίες που αναφέρθηκαν καθώς και από την αλλαγή της δραστηριότητας του εντερικού μικροβιώματος οδηγεί σε δύο διαφορετικές καταστάσεις: στη σύνθεση και εναπόθεση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και σε τοξικά επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων, χοληστερόλης και μεταβολιτών των λιπιδίων τα οποία προκαλούν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία με οξειδωτικό στρες και παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, όλα εκ των οποίων επιφέρουν την φλεγμονή στο ήπαρ. Επίσης η διαπερατότητα του λεπτού εντέρου αυξάνεται, με αποτέλεσμα αυξανόμενα επίπεδα μορίων να κυκλοφορούν (όπως οι λιποπολυσακχαρίτες) στον οργανισμό τα οποία συνεισφέρουν στην ενεργοποίηση της φλεγμονής, του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και της έκκρισης προ-φλεγμονώδων κυτοκινών.

1.3.2 Ηπατική στεάτωση

Ο κύριος παθολογικός μηχανισμός που οδηγεί στην στεάτωση είναι η συνεχής διαδικασία της λιπόλυσης, ως συνέπεια της ινσουλινοαντίστασης, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα

ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα. [15] Ο μυϊκός ιστός καθώς και το ήπαρ παραλαμβάνουν τα ελεύθερα λιπαρά οξέα σε υψηλότερες ποσότητες με αποτέλεσμα τη μειωμένη δράση της ινσουλίνης. Ως εκ τούτου, οι διαδικασίες της γλυκογονόλυσης και της γλυκονεογένεσης αυξάνονται στο ήπαρ, ενώ η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα μειώνεται. Οι καταστάσεις αυτές οδηγούν στην υπεργλυκαιμία και στη συνέχεια στην υπερσουλιαιμία, οι οποίες ρυθμίζουν ορισμένες πρωτεΐνες-κλειδιά των λιπιδίων όπως η sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c) και η carbohydrate response element binding protein (ChREBP) αυξάνοντας τη *de novo* λιπογένεση και τη σύνθεση λιπιδίων.[4] Επίσης η διατροφή, η μειωμένη έκκριση των τριγλυκεριδίων στις VLDL και η ανεπαρκής οξείδωση των λιπαρών οξέων συσχετίζονται με την εναπόθεση λίπους στο ήπαρ. (Εικόνα 1.3.1) Μάλιστα, με τεχνική που χρησιμοποιήθηκαν ισότοπα έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 60% των λιπιδίων του ήπατος προέρχεται από τον λιπώδη ιστό, το 25% από τη *de novo* λιπογένεση, ενώ το 15% από την διατροφή.[15] Τέλος, να σημειωθεί ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη διαδραματίζει κομβικό ρόλο στην εξέλιξη της στεάτωσης, αλλά επίσης η στεάτωση με τη σειρά της ευνοεί την αντίσταση στην ινσουλίνη, δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο.[6]



Εικόνα 2.3.2.2. Ο κυρίαρχος ρόλος της ινσουλινοαντίστασης στην ηπατική στεάτωση. Παράγοντες που οδηγούν στην ηπατική στεάτωση: Αύξηση της *De novo* λιπογένεσης, αύξηση της γλυκογονόλυσης και γλυκονεογένεσης και αυξημένη λιπόλυση και σύνθεση ελεύθερων λιπαρών οξέων.

Τα λίπος αποθηκεύεται στο ήπαρ με την μορφή των τριγλυκεριδίων, τα οποία συντίθενται από ελεύθερα λιπαρά οξέα, όταν η έκκριση και η παραγωγή των λιπαρών οξέων είναι μεγαλύτερη από την αποβολή τους από το ήπαρ είτε μέσω της έκκρισης τους στις VLDL είτε με την οξείδωση τους.[4] Αν και αρχικά επικρατούσε η άποψη ότι τα τριγλυκερίδια επιδεινώνουν την υγεία του ήπατος, σύμφωνα με πειράματα σε ποντίκια φαίνεται ότι η συσσώρευση των τριγλυκεριδίων δρα προστατευτικά. Συγκεκριμένα, η αναστολή του τελευταίου σταδίου της σύνθεσης τους δείχνει να βελτιώνει τη στεάτωση αλλά να έχει αρνητική επίδραση στην υγεία του ήπατος.[14] Αυτό οφείλεται στα ενδιάμεσα των τριγλυκεριδίων όπως οι διακυλογλυκερόλες και τα κεραμίδια τα οποία είναι τοξικά για το ήπαρ και μπορεί να συμβάλλουν στην απόπτωση των κυττάρων και την εξέλιξη της νόσου σε NASH.[4]

1.3.3 Γενετική προδιάθεση

Το γενετικό υπόβαθρο της NAFLD έχει διερευνηθεί από μια πληθώρα μελετών στις οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικές ερευνητικές προσεγγίσεις και υποστηρίζουν ότι το κληρονομικό στοιχείο αποτελεί μια πολύ σημαντική συνιστώσα για την εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου. [16,17] Παρά το γεγονός ότι οι διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην εμφάνιση της στεάτωσης, οι διακυμάνσεις που εκδηλώνονται στο φαινότυπο ανθρώπων με παρόμοιους παράγοντες κινδύνου κάνουν εμφανές ότι η γενετική προδιάθεση είναι πολύ στενά συνδεδεμένη με τη NAFLD και τη NASH. [18] Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η κληρονομικότητα της νόσου κυμαίνεται από 20% έως 70%, ανάλογα με το είδος της μελέτης, την εθνικότητα του δείγματος και τρόπο διάγνωσης του φαινοτύπου.

Την τελευταία δεκαετία έχουν μελετηθεί εκτενώς διάφοροι πολυμορφισμοί με σημαντικότερο τον πολυμορφισμό rs738409 G>C στο γονίδιο της PNPLA3, ή αλλιώς ονομαζόμενη αδιπονουτρίνη, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με 481 αμινοξέα που εντοπίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στην επιφάνεια των λιπιδίων. Ο πολυμορφισμός αυτός οδηγεί στην υποκατάσταση της μεθειονίνης από την ισολευκίνη στη θέση 148 (I148M) και έχει την ισχυρότερη συσχέτιση για την εμφάνιση της NAFLD συγκριτικά με άλλους πολυμορφισμούς. Το rs738409 συσχετίζεται με την εναπόθεση λίπους στο ήπαρ, καθώς για τους φορείς του ομοζυγωτικού γονότυπου GG η συσσώρευση του λίπους είναι κατά 73% υψηλότερη από τους φορείς του γονότυπου CC, ενώ επίσης συνδέεται και με αυξημένο κίνδυνο των φορέων του για εξέλιξη της NAFLD σε κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Το PNPLA3 είναι ένα πολυλειτουργικό ένζυμο του οποίου η ενεργότητα ρυθμίζεται από τη συγκέντρωση της

γλυκόζης. Έχει βρεθεί ότι το αλληλόμορφο που δημιουργείται με την υποκατάσταση της μεθειονίνης από την ισολευκίνη συσχετίζεται με απώλεια της λειτουργικότητας του, γεγονός που οδηγεί σε αλλαγές στον καταβολισμό των λιπιδίων, στη διαμόρφωση των σταγονιδίων λίπους και στις εκκρίσεις των VLDL, επιπλοκές οι οποίες τελικά ευνοούν την αποθήκευση των τριακυλογλυκερολών στο ήπαρ. [16,17]

Ένας άλλος πολυμορφισμός που έχει μελετηθεί είναι ο rs58542926 ο οποίος βρίσκεται στο γονίδιο TM6F2 και έχει θετική συσχέτιση με την NAFLD. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης και του εν λόγω γονιδίου στους ασθενείς, που συνεπάγεται με εναπόθεση των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, μειωμένη έκκριση VLDL και αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών του ορού. Βέβαια, τα επίπεδα των AST και ALT εμφανίζουν μόνο μια μικρή αύξηση συγκρινόμενα με την επίδραση του πολυμορφισμού rs738409 στο γονίδιο της PNPLA3 σε αυτά. Ο πολυμορφισμός rs780094 στο γονίδιο της GCKR, η οποία αποτελεί τη ρυθμιστική πρωτεΐνη της γλυκοκινάσης, φάνηκε ότι και αυτός εμπλέκεται στην ηπατική βλάβη. Μέχρι στιγμής, θεωρείται ότι η συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με την συσσώρευση του λίπους εξηγείται από αλλαγή στην ικανότητα της GCKR να ρυθμίζει το ένζυμο της γλυκοκινάσης παρουσία μορίων της 6-φώσφο-φρουκτόζης. Αυτό οδηγεί στην αυξημένη αποθήκευση γλυκόζης στο ήπαρ, που έχει ως συνέπεια τα μειωμένα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης στην κυκλοφορία. Από την άλλη πλευρά όμως, ευνοείται η γλυκόλυση και η παραγωγή του μηλονυλο-CoA, βασικού μεταβολίτη για την βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων τα οποία τελικά εναποτίθενται στο ήπαρ. Οι τρεις πολυμορφισμοί που αναφέρθηκαν παραπάνω θεωρούνται ως οι βασικοί γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν την παθογένεια της NAFLD και συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση της. [16,17]

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, άλλοι πολυμορφισμοί που έχουν μελετηθεί και συσχετίζονται με την NAFLD βρίσκονται στο γονίδιο της PPP1R3B που εμπλέκεται στην γλυκογονογένεση στο ήπαρ και στους μύες, στο γονίδιο της F6DFT1 που παίζει ρόλο στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης, στο γονίδιο της ERLIN1, στο γονίδιο LTBP3 και στο γονίδιο PARVB. [17]

1.3.4 Ρόλος της διατροφής

Οι διατροφικοί παράγοντες, όσον αφορά τη σύσταση της δίαιτας σε μακροθρεπτικά συστατικά, την συνολική ενεργειακή πρόσληψη αλλά και τη πρόσληψη ή έλλειψη συγκεκριμένων ουσιών, συμβάλλουν στην εκδήλωση της NAFLD και της NASH.[12]

Η αυξημένη κατανάλωση απλών υδατανθράκων, όπως φρουκτόζης και σουκρόζης είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες κινδύνου για την NAFLD και έχει μελετηθεί εκτενώς.[19] Τα σάκχαρα συμβάλλουν σε αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης και τριγλυκερίδιων, οδηγώντας σε αυξημένη de novo λιπογένεση και αντίσταση στην ινσουλίνη κυρίως λόγω των δράσεων της φρουκτόζης που ευνοεί την σύνθεση λιπιδίων.[20] Η κατανάλωση αναψυκτικών, συμπεριλαμβανομένων αυτών που περιέχουν φρουκτόζη και σουκρόζη, όλο και αυξάνεται παγκοσμίως. Στους ασθενείς με NAFLD παρατηρείται διπλάσια κατανάλωση αναψυκτικών συγκριτικά με τους υγιείς, ενισχύοντας την άποψη ότι αποτελούν έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου της νόσου. Επίσης η καθημερινή πρόσληψη φρουκτόζης στους ασθενείς με NAFLD συνδέεται με αυξημένη ίνωση, ενώ θεωρείται ότι οφείλεται στη φρουκτόζη που προέρχεται από βιομηχανική επεξεργασία. [19]

Οι ασθενείς με NAFLD καταναλώνουν αυξημένη ποσότητα κορεσμένων λιπαρών οξέων και μειωμένη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.[20] Σε μελέτες σε πειραματόζωα έχει φανεί ότι η διατροφή πλούσια σε λιπαρά μπορεί να προκαλέσει στεάτωση, φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη. Επιπλέον, η κατανάλωση της χοληστερόλης έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση της NAFLD, καθώς παρατηρείται αυξημένη κατανάλωση σε ασθενείς με NAFLD και NASH συγκριτικά με τους υγιείς. Μάλιστα, μία μελέτη έδειξε ότι η αυξημένη κατανάλωση χοληστερόλης πιθανόν αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Συγκεκριμένα, το δείγμα χωρίστηκε σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD και μη παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD και φάνηκε ότι οι ασθενείς οι οποίοι δεν ήταν παχύσαρκοι καταλάωναν μεγαλύτερη ποσότητα χοληστερόλης. [19]

Ελλείψεις στη βιταμίνη D μπορούν να οδηγήσουν σε αντίσταση στην ινσουλίνη, στο μεταβολικό σύνδρομο και στη NAFLD. Πιο συγκεκριμένα, η έλλειψη της βιταμίνης D έχει συσχετιστεί με τη σοβαρότητα της NAFLD και την ίνωση, γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στο αυξημένο οξειδωτικό στρες λόγω αυτής της έλλειψης. Μειωμένη πρόσληψη της βιταμίνης E έχει επίσης εντοπιστεί σε ασθενείς με NAFLD/NASH σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό. Μάλιστα, σε παιδιά η πρόσληψη της βιταμίνης E συσχετίστηκε αρνητικά με βαθμό της στεάτωσης.[19]

Η καφεΐνη έχει βρεθεί ότι δρα προστατευτικά στους ασθενείς με NAFLD και συνδέεται με χαμηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου. Ακόμη, η κατανάλωση καφεΐνης συσχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο ίνωσης στους ασθενείς με NASH. [20] Τέλος, υπάρχει η υπόθεση ότι η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ δρα επίσης προστατευτικά. Σε μελέτη σε πειραματόζωα, φάνηκε ότι μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη στεάτωση, φλεγμονή και

χαμηλότερα επίπεδα τρανσαμινασών. Σε ανθρώπους, σε μια μετα-ανάλυση σε περισσότερα από 40.000 άτομα η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ συσχετίστηκε με χαμηλότερο επιπολασμό της NAFLD στο γενικό πληθυσμό. Ωστόσο αυτά τα ευρήματα θα πρέπει να επιβεβαιωθούν από περαιτέρω μελέτες. [12]

1.3.5 Κυτοκίνες - Αντιποκίνες

Ο ρόλος του λιπώδους ιστού έχει μελετηθεί αρκετά την τελευταία 20ετία λόγω της έντονης ενδοκρινικής δραστηριότητας του μέσω της παραγωγής διαφόρων μεσολαβητών όπως οι αντιποκίνες και οι κυτοκίνες. Οι συγκεντρώσεις τέτοιων ουσιών μπορούν να επηρεάσουν όχι μόνο το λιπώδη ιστό αλλά και όργανα-στόχους όπως το ήπαρ.[14] Η αντιπονεκτίνη είναι μια ινσουλινοευαίσθητη αντιφλεγμονώδης ορμόνη που παράγεται από τα λιποκύτταρα.[21] Έχει τη δυνατότητα να εμποδίσει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, ενώ επίσης οι δράσεις της αποτρέπουν την εναπόθεση του λίπους στο ήπαρ, καθώς αυξάνουν την οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων, μειώνουν τη γλυκονεογένεση και τη de novo λιπογένεση στο ήπαρ.[21] Επιπλέον, ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι επιφέρει την έκκριση κάποιων αντιφλεγμονωδών κυτοκινών όπως της IL-10 και του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1. [22] Επίσης ιδιαίτερα σημαντικό για την εξέλιξη της NAFLD είναι το γεγονός ότι η αντιπονεκτίνη προστατεύει τα ηπατοκύτταρα από την απόπτωση.[21] Μειωμένες συγκεντρώσεις της αντιπονεκτίνης στον ορό συνδέονται με καταστάσεις όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης τύπου II και η αντίσταση στην ινσουλίνη. [22] Σε μια πρόσφατη μετά-ανάλυση 27 μελετών, (Polyzos *et al*), παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης στους ασθενείς με NAFLD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και ακόμα χαμηλότερες συγκεντρώσεις στους ασθενείς με NASH συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου και τους ασθενείς με NAFLD.[21]

Η λεπτίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη όπου η έκκριση της είναι ανάλογη της λιπώδους μάζας του σώματος και οι δράσεις της είναι κυρίως ανορεξιογόνες.[12,21] Μπορεί να μειώσει την πρόσληψη φαγητού και να αυξήσει την ενεργειακή δαπάνη σε καταστάσεις ενεργειακής υπερπρόσληψης δίνοντας σήματα μέσω του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. [21] Επίσης αποτρέπει την συσσώρευση λίπους σε διάφορους ιστούς, στο ήπαρ το επιτυγχάνει αυτό κυρίως μέσω της μείωσης της έκφρασης της SREBP-1.[12] Υψηλά επίπεδα λεπτίνης παρατηρούνται σε ασθενείς με NAFLD και NASH, γεγονός που υπονοεί ότι οι ασθενείς έχουν αντίσταση στην δράση αυτής της αδιποκίνης. Τέλος, η λεπτίνη έχει προ-φλεγμονώδεις δράσεις, καθώς ευνοεί την έκκριση των IL-6, IL-12 και TNF-α ενισχύοντας την φλεγμονή και την εξέλιξη της ίνωσης στους ασθενείς με NAFLD.[21]

Οι κυτοκίνες ταξινομούνται σε δύο υποκατηγορίες την TH1 και την TH2. Οι κύριες TH1 προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες είναι η TNF-α, η IL-6 και η ιντερφερόνη, ενώ στις κύριες TH2 αντί-φλεγμονώδεις κυτοκίνες ανήκουν οι IL-4 και IL-10. Γενικά, οι TH1 αναστέλλουν την παραγωγή των TH2 κυτοκινών και το αντίστροφο. Με αυτόν τον τρόπο, υπό φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει μια ισορροπία στις συγκεντρώσεις των προ-φλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτοκινών στον οργανισμό. Ως εκ τούτου, αυτή η ισορροπία μεταξύ των δύο κατηγοριών κυτοκινών φαίνεται πως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην δράση της ινσουλίνης στο ήπαρ αλλά και στους ιστούς και θεωρείται πως έχουν σημαντική θέση στην παθογένεια της NAFLD.[23]

Όπως αναφέρθηκε η TNF-α και η IL-6 είναι δύο πολύ σημαντικές προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, των οποίων η έκκριση αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό στα λιποκύτταρα του παχύσαρκου πληθυσμού και σε άτομα με ινσουλινοαντίσταση. Η TNF-α μπορεί να εκκριθεί από μακροφάγα διηθημένα στο λιπώδη ιστό και από το ήπαρ ως απάντηση στη χρόνια φλεγμονή. Έχουν βρεθεί συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί της οι οποίοι συσχετίζονται με υψηλό κίνδυνο εκδήλωσης της NAFLD και της NASH. Υψηλή έκφραση της TNF-α, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, συσχετίζεται με αυξημένη λιπόλυση, στεάτωση, φλεγμονή, απόπτωση κυττάρων και ίνωση. Από την άλλη πλευρά, η IL-6 έχει προστατευτικό ρόλο για το ήπαρ καταστέλλοντας το οξειδωτικό στρες και αποτρέποντας τη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. Ωστόσο, η αυξημένη έκφραση της μπορεί να καταστήσει το ήπαρ ευαίσθητο σε πιθανές βλάβες και να συμβάλει στη δημιουργία φλεγμονής. Υψηλά επίπεδα στην κυκλοφορία παρατηρούνται σε ασθενείς με NAFLD ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις συνδέονται με προχωρημένα ιστολογικά ευρήματα. [21,22]

Η ιντερλευκίνη-10 είναι μία αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη η οποία λειτουργεί ως ενδογενής ρυθμιστής της φλεγμονώδους διαδικασίας σε διάφορους ιστούς και όργανα σε διαφορετικές παθολογικές και φυσιολογικές καταστάσεις. Η IL-10, η οποία αρχικά αναγνωρίστηκε για την ικανότητα της να αναστέλλει την ενεργοποίηση των T κυττάρων, των μονοπύρηνων και των μακροφάγων, είναι μία πολυλειτουργική κυτοκίνη με ποικίλες δράσεις στα περισσότερα είδη των αιμοποιητικών κυττάρων. Η βασική λειτουργία της φαίνεται πως είναι ο περιορισμός και τελικά η αναστολή των φλεγμονωδών αποκρίσεων. Επιπροσθέτως, ρυθμίζει την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των B κυττάρων, των κυττάρων φυσικοί φονείς, των T βοηθητικών κυττάρων, των κοκκιοκυττάρων, των δενδριτικών κυττάρων, των κερατινοποιημένων κυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η IL-10 έχει

παρόμοια ομόλογα στα γονιδιώματα διάφορων ιών, γεγονός που δικαιολογεί τον πρωταρχικό ρόλο της, δηλαδή τη ρύθμιση των ανοσολογικών και φλεγμονωδών αποκρίσεων. [24]

Αν και αρχικά η IL-10 θεωρούνταν ότι παράγεται από το ανοσοποιητικό σύστημα, στην πορεία φάνηκε πως και άλλα είδη κυττάρων και όργανα παρήγαγαν την κυτοκίνη, κάτω από συγκεκριμένες καταστάσεις. Στο ήπαρ η έκφραση της IL-10 εντοπίστηκε στα ηπατοκύτταρα, στα αστεροειδή κύτταρα, στα κύτταρα Kupffer και σε ενδοηπατικά λεμφοκύτταρα. Σε συνδυασμό με τη γνωστή ανοσολογική δράση της IL-10 σε άλλους ιστούς, ορισμένες μελέτες έχουν επισημάνει έναν ηπατοπροστατευτικό ρόλο της IL-10 έναντι της ηπατικής βλάβης σε ασθένειες όπως η αλκοολική ηπατίτιδα, η σχιστοσωμίαση, η ιογενής ηπατίτιδα C και η NAFLD.[25] Επιπλέον, η αναστολή της IL-10 έχει συνδεθεί με ενίσχυση της έκφρασης προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, ενεργοποίησης μονοπατιών λιπογένεσης και γλυκονόγενεσης και επιπλοκές στην έκκριση και ευαισθησία στην ινσουλίνη.[26]

Σε μία μελέτη από τους Walid E. Zahran et al., το 2012 ερευνήθηκαν τα επίπεδα της TNF-α και της IL-10 κατά την εξέλιξη της NAFLD από απλή στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα με ίνωση σε διαβητικούς ασθενείς. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι ασθενείς με NAFLD είχαν υψηλότερα επίπεδα TNF-α και χαμηλότερες τιμές IL-10 σε σύγκριση με το υγιές δείγμα. Ακόμη βρέθηκε αρνητική συσχέτιση της IL-10 με τα τριγλυκερίδια και θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της HDL. Οι αναλύσεις στις κυτοκίνες έδειξαν μία ανισορροπία στις συγκεντρώσεις των TNF-α και IL-10 στους ασθενείς με NAFLD, η οποία παρατηρήθηκε πως αυξανόταν καθώς εξελισσόταν η νόσος, ιδιαίτερα στους παχύσαρκους - διαβητικούς ασθενείς.[23] Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώθηκαν από μία ακόμη μελέτη το 2015 όπου εξετάστηκαν τα επίπεδα των TNF-α και IL-10 σε ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία ($\Delta\text{MΣ} > 40 \text{ kg/m}^2$), οι οποίοι παρουσίαζαν διαφορετικά στάδια της NAFLD. Το στάδιο της NAFLD εκτιμήθηκε με υπερηχογραφία. Συγκριτικά με τους παχύσαρκους ασθενείς χωρίς στεάτωση, οι ασθενείς με στεάτωση είχαν αυξημένα επίπεδα TNF-α, και μειωμένα επίπεδα IL-10 στον ορό. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίαζε το γεγονός ότι τα επίπεδα της TNF-α αυξανόντουσαν και της IL-10 μειωνόντουσαν ανάλογα με την σοβαρότητα της ασθένειας. Τα στοιχεία αυτά υποστηρίζουν το ρόλο των φλεγμονωδών μεσολαβητών στην εξέλιξη της στεάτωσης, αλλά οι ερευνητές τονίζουν την ανάγκη επιπλέον ερευνών προκειμένου να διασαφηνιστεί ο ρόλος της IL-10 και της TNF-α στην εξέλιξη της NAFLD.[27] Ακόμη μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της IL-10 συσχετίζονται άμεσα με τη δράση της ινσουλίνης, *in vivo*, ενώ επίσης η εξωγενής IL-10 μπορεί να βελτιώσει τη δράση της ινσουλίνης στο μύες και στο ήπαρ.[65,66] Ωστόσο, σε μία άλλη μελέτη που ερευνήθηκε η δράση της ενδογενούς IL-10 στην

ινσουλίνη, δεν επιβεβαιώθηκε ο προστατευτικός ρόλος της IL-10 στην ινσουλινοαντίσταση, παραμόνο στην ηπατική στεάτωση. [28]

1.3.6 Ρόλος της μικροβιακής χλωρίδας

Η ανθρώπινη μικροβιακή χλωρίδα αποτελείται από 100 τρισεκατομμύρια μικροοργανισμούς παρέχοντας στον άνθρωπο μεταβολικές και βιολογικές λειτουργίες. [15] Όμως η σύσταση της μικροβιακής χλωρίδας θεωρείται ότι μπορεί να συμβάλει στη παθογένεια της παχυσαρκίας αλλά και της NAFLD.[12] Η σύνδεση μεταξύ του ήπατος και της μικροβιακής χλωρίδας του έντερου οφείλεται στον λεγόμενο «άξονα ήπατος-εντέρου». Το 75% της αιματικής παροχής του ήπατος προέρχεται από την πυλαία κυκλοφορία, γεγονός που σημαίνει ότι η αιματική ροή που προέρχεται από το έντερο, προτού περάσει στην συστηματική κυκλοφορία, διέρχεται από το ήπαρ, το οποίο λειτουργεί ως το πρώτο «φίλτρο». Κατά συνέπεια, το ήπαρ είναι εκτεθειμένο σε όλα τα μεταβολικά και φλεγμονώδη προϊόντα των βακτηρίων τα οποία μεταφέρονται εκεί. [29] Οι λιποπολυσακχαρίτες είναι από τα κύρια τοξικά προϊόντα των βακτηρίων οι οποίο συσχετίζονται με την παχυσαρκία και την εκδήλωση της NAFLD.[15]

Στοιχεία από μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι η μικροβιακή χλωρίδα μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου, ενώ επίσης έχει φανεί ότι ο φαινότυπος που έχει προκληθεί από ένα δεδομένο μικροβίωμα μπορεί να είναι διαβιβάσιμος. Σε μια πρόσφατη μελέτη από τους Le Roy *et al.* έδειξε ότι ποντίκια χωρίς μικροβιακή χλωρίδα στα οποία μεταφέρθηκε η χλωρίδα ποντικών με υψηλά επίπεδα γλυκόζης, τα οποία βρισκότουσαν σε υψηλή σε λιπαρά δίαιτα, είχαν περισσότερες πιθανότητες να εμφανίσουν στεάτωση και αντίσταση στην ινσουλίνη, σε σύγκριση με τα ποντίκια στα οποία μεταφέρθηκε το μικροβίωμα υγιών ποντικών. Στις λίγες μελέτες που έχουν γίνει σε ανθρώπους έχουν δείξει επίσης συσχέτιση της μικροβιακής χλωρίδας με τη NAFLD. Σε μελέτη με 61 ασθενείς με NAFLD/NASH και 54 υγιείς βρέθηκαν συγκεκριμένα μικρόβια τα οποία συσχετιζόντουσαν με τη NAFLD και την εξέλιξη της σε NASH. Σε μια άλλη μελέτη από τους Mouzaki *et al.* βρέθηκε μειωμένο ποσοστό των Bacteroidetes στους ασθενείς με NASH, διαγνωσμένη με βιοψία ήπατος, σε σύγκριση με τους υγιείς και ασθενείς με NAFL.[29]

Στους ασθενείς με NAFLD παρατηρείται αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου, φαινόμενο το οποίο μπορεί να οφείλεται σε αλλαγές στις στεγανές συνδέσεις των κυττάρων του εντέρου. [29] Μάλιστα, συγκριμένα είδη μικροβιώματος μπορούν να αυξήσουν την διαπερατότητα του βλεννογόνου και να οδηγήσουν σε λιποπολυσακχαριδαιμία.[12] Ακόμη, η αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου φαίνεται ότι συνδέεται με τη βακτηριακή υπερανάπτυξη και με

αλλαγές στο μικροβίωμα. Ως γνωστόν η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου μπορεί επίσης να αποικοδομήσει ορισμένα συστατικά των τροφών ώστε να γίνουν απορροφήσιμα από τον ανθρώπινο οργανισμό. Με αυτό τον τρόπο διαμορφώνουν την ενεργειακή πρόσληψη του οργανισμού και μπορούν να συμβάλουν στην παχυσαρκία και σε στενά συνδεόμενες ασθένειες όπως η NAFLD. [15] Επιπροσθέτως η NAFLD έχει συσχετιστεί με τη χολίνη, ένα συστατικό των μεμβρανών το οποίο μπορεί να προσληφθεί από διάφορες τροφές αλλά και να συντεθεί ενδογενώς. Στο ήπαρ η χολίνη χρησιμοποιείται για τη σύνθεση των VLDL, μέσω των οποίων εξέρχονται τα λιπαρά από το ήπαρ. Έχει προταθεί ότι η μικροβιακή χλωρίδα μπορεί να μειώσει τη βιοδιαθεσιμότητα της χολίνης επηρεάζοντας τις ανάγκες του οργανισμού σε χολίνη και εμποδίζοντας την εξαγωγή των λιπιδίων από το ήπαρ. Τέλος, ένας άλλος πιθανός μηχανισμός που μπορεί να συμβάλει στην εκδήλωση της NAFLD είναι μέσω της παραγωγής αιθανόλης από τη μικροβιακή χλωρίδα. Η ακετόνη και η ακεταλδεΐδη είναι δύο από τους βασικούς μεταβολίτες της αιθανόλης που μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό ROS ελεύθερων ριζών οξυγόνου, ενώ η ακετόνη αποτελεί υπόστρωμα για τη σύνθεση λιπιδίων.[29]

1.4 Διάγνωση

Η διάγνωση της NAFLD απαιτεί α) την ύπαρξη στεάτωσης μέσω ιστολογικής ή απεικονιστικής μεθόδου, β) την απουσία της υπερβάλλουσας κατανάλωσης αλκοόλ, γ) τον αποκλεισμό άλλων αιτιολογιών για την εμφάνιση της ηπατικής στεάτωσης και δ) τον αποκλεισμό άλλων αιτιών για χρόνια νόσου του ήπατος. Άλλες κοινές αιτίες της ηπατικής στεάτωσης μπορεί να είναι η υπέρμετρη κατανάλωση αλκοόλ, η ηπατίτιδα C, κάποια φαρμακευτική θεραπεία, η παρεντερική διατροφή, η νόσος Wilson και ο υποσιτισμός. Επίσης, όταν γίνεται η διάγνωση της NAFLD είναι σημαντικό να αποκλειστούν συνυπάρχουσες αιτιολογίες για τη χρόνια νόσο του ήπατος συμπεριλαμβανομένων της αιμοχρωμάτωσης, της αυτοάνοσης νόσου του ήπατος, της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας και της νόσου του Wilson.[8]

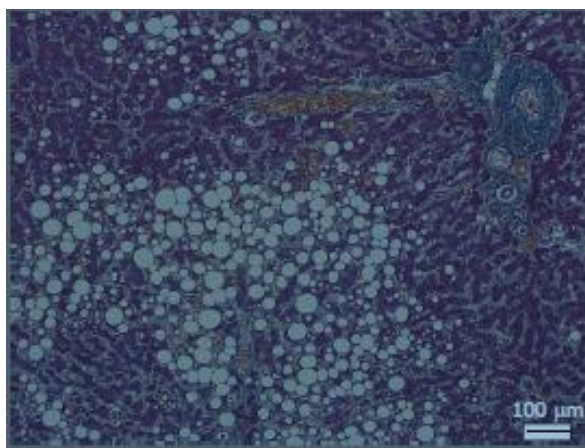
1.4.1 Κλινική εικόνα

Η πλειοψηφία των ασθενών με NAFLD είναι ασυμπτωματικοί ή αναφέρουν γενικά συμπτώματα, όπως η κούραση. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται σε NASH και στη συνέχεια σε κίρρωση, η διόγκωση του ήπατος δίνει ένα αίσθημα επιπρόσθετου βάρους και δυσφορίας στη δεξιά και άνω πλευρά της κοιλίας. Ακόμη και τότε όμως τα συμπτώματα δεν είναι ειδικά με αποτέλεσμα η ασθένεια να παραμείνει αδιάγνωστη ως ότου μέσω απεικονιστικής μεθόδου ή βιοχημικών δεικτών να υπάρχει κάποια για ένδειξη για πιθανή νόσο του ήπατος.[12]

Η φυσική εξέταση συνήθως δείχνει κεντρικού-τύπου παχυσαρκία και κάποιες φορές ηπατομεγαλία στους ασθενείς με NAFLD. Εκδηλώσεις του διαβήτη όπως οι δερματοπάθειες και η λιποειδική νεκροβίωση ή κλινικά συμπτώματα της δυσλιπιδαιμίας όπως το ξανθέλασμα και το ξάνθωμα μπορεί επίσης να εντοπιστούν. Ωστόσο κανένα από τα παραπάνω ευρήματα δεν είναι αρκετά για να υποπτευθεί κάποιος κλινικός την ύπαρξη της NAFLD. Με την εξέλιξη της νόσου σε NASH, άλλα κλινικά σημεία τα οποία μπορεί να εμφανιστούν είναι η μελανίζουσα ακάνθωση που υποδεικνύει την ινσουλινοαντίσταση και η συσσώρευση λίπους στο πίσω μέρος του λαιμού. Εν συνέχεια, περισσότερα κλινικά ευρήματα μπορούν να βρεθούν σε κίρρωτικούς ασθενείς. [12]

1.4.2 Ιστολογικά χαρακτηριστικά NAFLD/NASH

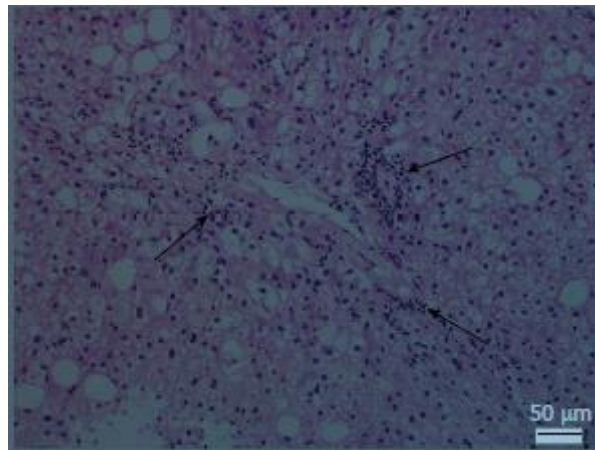
Στεάτωση: Η στεάτωση είναι το βασικό χαρακτηριστικό της NAFLD, και στεάτωση σε πάνω από το 5% των ηπατοκυττάρων απαιτείται για τη διάγνωση της νόσου. Η ηπατοκυτταρική στεάτωση ταξινομείται σε δύο είδη: τη μακροφουσαλιδώδη και τη μικροφουσαλιδώδη. Στη μακροφουσαλιδώδη, μία μεγάλη φουσαλίδα λίπους ή μικρότερες φουσαλίδες βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων σπρώχνοντας τον πυρήνα προς την περιφέρεια. Στη μικροφουσαλιδώδη στεάτωση, το κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων είναι γεμάτο με πολύ μικρές φουσαλίδες λιπιδίων ενώ ο πυρήνας βρίσκεται στη μέση του κυττάρου. Η στεάτωση στη NAFLD είναι συνήθως μακροφουσαλιδώδης και ξεκινάει από τη ζώνη 3.[30]



Εικόνα 1.4.2.1. Στεάτωση στη NAFLD. Μακροφουσαλιδώδης στεάτωση στη ζώνη 3. (Χρώση Masson)

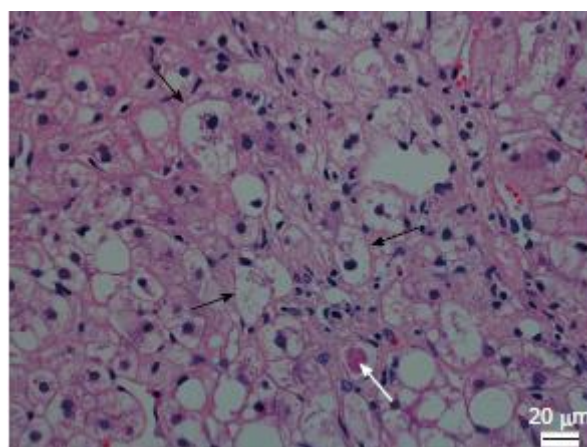
Φλεγμονή: Στη NASH επίσης παρατηρείται περιλοβιακή φλεγμονή (Εικόνα 2); Είναι συνήθως ήπια και αποτελείται από διάφορα διηθημένα φλεγμονώδη κύτταρα (λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και κύτταρα Kupffer). Πυλαία φλεγμονή πολύ σπάνια παρατηρείται ή είναι ήπια στη NAFLD/NASH, και αποτελείται κυρίως από λεμφοκύτταρα. Όταν η περιφλεβική

φλεγμονή είναι δυσαναλόγως εκτεταμένη, τότε η πιθανότητα συνύπαρξης κάποιας άλλης ηπατικής νόσου (όπως ηπατίτιδας C και αυτοάνοσης ηπατίτιδας) θα πρέπει να διερευνηθεί.[30]



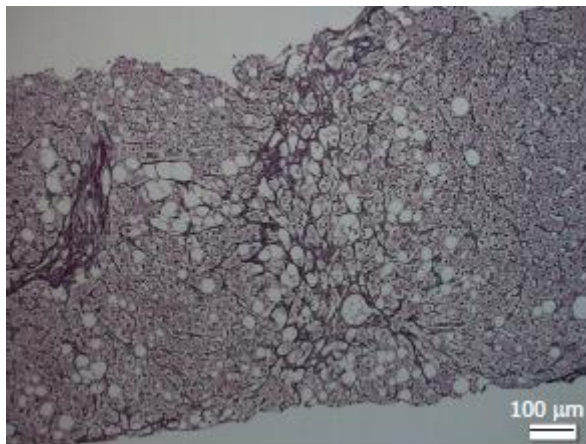
Εικόνα 1.4.2.2. Λοβιακή φλεγμονή στη NASH.

Διόγκωση ηπατοκυττάρων: Η διόγκωση των ηπατοκυττάρων στην ουσία χαρακτηρίζεται ως «πρησμένα» ηπατοκύτταρα με αραιωμένο κυτταρόπλασμα και αντικατοπτρίζει τον τραυματισμό των ηπατοκυττάρων. Φυσαλίδες λιπιδίων ή και Mallory Denk Bodies (MDB's), τα οποία είναι ηωσινόφιλα αδρανή προσμίγματα ακανόνιστου σχήματος που συνήθως συνιστώνται από τις κυτοκερατίνες 8/18, ουμπικιτίνη και p62 μπορεί να παρατηρηθούν στο κυτταρόπλασμα των διογκωμένων ηπατοκυττάρων. Στα διογκωμένα ηπατοκύτταρα, η κυτοκρεατίνη-8 και η κυτοκερατίνη-18 δεν βρίσκονται σε όλη την επιφάνεια του κυτταροπλάσματος αλλά είναι διασκορπισμένες στην περιφέρεια. Η αναγνώριση των διογκωμένων ηπατοκυττάρων μπορεί να είναι δύσκολη σε slides με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, αλλά η απουσία των κυτοκερατινών 8/18 στην ανοσόχρωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης των διογκωμένων ηπατοκυττάρων.[30]



Εικόνα 1.4.2.3. Διογκωμένα ηπατοκύτταρα (μαύρο βελάκι) και Mallory Denk Bodies (άσπρο βελάκι) στη NASH.

Ίνωση: Το χαρακτηριστικό πρότυπο της ίνωσης στη NASH είναι η περιημιτονοειδής ίνωση που ξεκινάει από τη ζώνη 3. Η τριχρωμη χρώση Masson ή η χρώση με ρετικουλίνη είναι χρήσιμες στην αξιολόγηση της ίνωσης. Καθώς η NASH εξελίσσεται, πυλαία ίνωση, γεφυροποιός ίνωση και κίρρωση μπορεί να παρατηρηθούν.[30]



Εικόνα 1.4.2.4. Περιημιτονοειδής ίνωση στη NASH, η οποία ξεκινάει από τη ζώνη 3.

1.4.3 Εργαστηριακά ευρήματα

Οι τρανσαμινάσες που έχουν χρησιμοποιηθεί ως δείκτες ηπατοπάθειας είναι η αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (AST) και η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT). Οι δύο αυτές μεταβλητές έχουν συσχετιστεί με τη NASH. Σε ορισμένες μελέτες, η NASH έχει βρεθεί ότι είναι ο κύριος λόγος αυξημένων επιπέδων της ALT σε αιμοδότες ενώ επίσης η ALT έχει φανεί ότι είναι δείκτης της προχωρημένης ίνωσης. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, άλλες μελέτες έχουν δείξει φυσιολογικά επίπεδα της ALT στον ορό στην πλειοψηφία των ασθενών. Σε μελέτη στον αμερικάνικο πληθυσμό το 79% των ενηλίκων με λιπώδες ήπαρ είχαν φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφερασών. Λόγω της μικρής ευαισθησίας και ειδικότητας των δεικτών αυτών δεν ενδείκνυται η χρήση τους για τη διάγνωση της νόσου. [31]

Άλλοι δείκτες οι οποίοι έχουν αξιολογηθεί για τη διάγνωση της NAFLD είναι οι αντιποκίνες, αδιπονεκτίνη και λεπτίνη και οι κυτοκίνες, TNF- α και IL-6, οι οποίες εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου.[31] Η αδιπονεκτίνη, η οποία έχει αντιφλεγμονώδη δράση, παρουσιάζει χαμηλά επίπεδα στην ύπαρξη στεάτωσης και ακόμη χαμηλότερα στην στεατοηπατίτιδα. Ωστόσο, σύμφωνα με την βιβλιογραφία τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών αναφορικά με την προγνωστική της αξία είναι αντικρουόμενα.[3] Τα επίπεδα των TNF- α και IL-6 είναι αυξημένα σε ασθενείς με NASH συγκριτικά με ασθενείς που παρουσιάζουν στεάτωση χωρίς την ύπαρξη όμως φλεγμονής. Το μειονέκτημα σε αυτήν την περίπτωση είναι ότι οι δείκτες αυτοί μπορούν να αυξηθούν και σε άλλες καταστάσεις φλεγμονής ή και σε άλλες ασθένειες.[32]

Δύο πρωτεΐνες οξείας φάσης που έχουν μελετηθεί ως διαγνωστικοί δείκτες για την NAFLD και τη NASH είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και η PTX-3.[3] Σε ορισμένες μελέτες, η CRP έχει θεωρηθεί ως αρκετά υποσχόμενος διαγνωστικός δείκτης της NASH, ενώ επίσης φάνηκε ότι μπορεί να διευκρινίσει το βαθμό της ηπατικής ίνωσης στους ασθενείς με NASH. Παρομοίως, η συγκέντρωση της PTX-3 στον ορό είναι υψηλότερη σε ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο της NAFLD και υψηλότερα επίπεδα της πρωτεΐνης συνδέονται με προχωρημένο βαθμό της ίνωσης. Η μηλονική αλδεϋδη (MDA) έχει επίσης μελετηθεί δείχνοντας ότι τα αυξημένα επίπεδα της συσχετίζονται με τη NASH. Επιπλέον, τα επίπεδα της φερρίτινης φαίνεται ότι αυξάνονται κατά 20 – 50% και ο κορεσμός της τρανσφερίνης αυξάνεται κατά 5 – 10% σε ασθενείς με NAFLD.[31]

Η κυτοκρεατίνη-18 είναι μια πρωτεΐνη η οποία εμπλέκεται στην απόπτωση των κυττάρων σε προχωρημένο στάδιο της NAFLD. Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης, θραύσματα της κυτοκρεατίνης-18 απελευθερώνονται στο αίμα με αποτέλεσμα τα υψηλά επίπεδα της να συνδέονται με την ηπατική ίνωση. Όπως είναι αναμενόμενο, η ουσία αυτή υπάρχει σε υψηλές συγκεντρώσεις στους ασθενείς με NASH. Σύμφωνα με μελέτες, θεωρείται ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την διάκριση της NAFLD από τη NASH, το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον ως μη παρεμβατική μέθοδος διάγνωσης της NASH. Τέλος, η χρήση του υαλουρονικού οξέος ως δείκτη για τη διάγνωση της NASH είναι πολλά υποσχόμενη.[31]

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι προς το παρόν κανένας από τους δείκτες που αναφέρθηκαν δεν είναι αρκετά αξιόπιστος ώστε να χρησιμοποιηθεί ως ανεξάρτητος βιοδείκτης για τη διάγνωση και την σταδιοποίηση της νόσου. Κατά συνέπεια, διάφορες προσπάθειες έχουν γίνει προκειμένου να βρεθεί ένα συνδυαστικό μη παρεμβατικό μοντέλο διάγνωσης για την NAFLD και πιο ειδικά για το βαθμό της ίνωσης και το στάδιο της νόσου.

Το NAFLD fibrosis score προτάθηκε από τους Angulo *et al.* το 2007 και είναι ένα μοντέλο το οποίο έχει ερευνηθεί εκτενώς.[32] Περιλαμβάνει κλινικές και εργαστηριακές μεταβλητές όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ, ο λόγος AST/ALT, η αλβουμίνη και ο αριθμός των αιμοπεταλίων και μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας μια δημοσιευμένη φόρμουλα (<http://nafldscore.com>).[8] Το μοντέλο αυτό είναι αποτελεσματικό στην πρόβλεψη της ίνωσης έχοντας 89% ευαισθησία και 98% ειδικότητα.[3]

Το Fibrotest μπορεί να εκτιμήσει την ηπατική ίνωση και χρησιμοποιείται για διάφορες ασθένειες που εμπλέκουν το ήπαρ, όπως η NAFLD, η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα και η αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος. Χρησιμοποιεί τις παραμέτρους ηλικία και φύλο σε συνδυασμό με 5

δείκτες στον όρο του αίματος. Η διαγνωστική ακρίβεια αυτού του μοντέλου είναι πολύ κοντά με αυτή του NAFLD fibrosis score. [32]

Ένα ακόμη αξιόπιστο εργαλείο είναι το ELF score, το οποίο αποτελεί μια τροποποιημένη εκδοχή του “European Liver Fibrosis panel”. Το μοντέλο αυτό περιλαμβάνει τους δείκτες, υαλουρονικό οξύ, αμινοτελικό προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου III και τον ιστικό αναστολέα της μεταλλοπρωτεΐνάσης-1. Το μοντέλο ήταν αποτελεσματικό στην πρόβλεψη της NAFLD στα παιδιά. [32]

Άλλα συνδυαστικά μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ίνωση είναι το FIB-4 score, το οποίο θεωρείται ως ένα φθινό και ακριβές εργαλείο στην πρόβλεψη της ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, το BARD score, το HAIR test, το NASH test, το NICE model και το APRI το οποίο δημιουργήθηκε ως ένα απλό και γρήγορο εργαλείο για την πρόβλεψη της προχωρημένης ίνωσης ή κίρρωσης σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα. [3,32]

1.4.4 Απεικονιστικές τεχνικές

Όπως οι βιοδείκτες οι απεικονιστικές τεχνικές είναι επίσης μη παρεμβατικές μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση και διάγνωση της στεάτωσης και της NASH. [3] Η πρώτη και πιο κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η υπερηχογραφία (US) καθώς αποτελεί μία χαμηλού κόστους, εύκολα διαθέσιμη, μη παρεμβατική τεχνική με ευαισθησία και ειδικότητα που κυμαίνονται από 60-94% και 66-97% αντίστοιχα. Μπορεί να διαχωρίζει το βαθμό της στεάτωσης ποιοτικά σε τέσσερα στάδια: φυσιολογική, ήπια, μέτρια και σημαντική. [33]



Εικόνα 1.4.4.1. Φωτογραφίες από υπερηχογραφία δείχνουν τα στάδια της στεάτωσης. A: Στάδιο 1: ήπια στεάτωση, B: Στάδιο 2: μέτρια στεάτωση, Στάδιο 3: σημαντική στεάτωση.

Ωστόσο η τεχνική αυτή είναι υποκειμενική, έχει μικρή ευαισθησία στην ανίχνευση ήπιας στεάτωσης, κάτω από 20-30%, περιορισμένη χρήση στους παχύσαρκους ασθενείς και δεν είναι ικανή να διαχωρίσει το βαθμό της ίνωσης και το στάδιο της NAFLD.[33] Η ενισχυμένη αντίθεσης

υπερηχογραφία φαίνεται πως παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία στην αξιολόγηση της στεάτωσης αλλά προς το παρόν στερείται κλινικής επιβεβαίωσης. [3]

Η αξονική τομογραφία είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την αξιολόγηση και ποσοτικοποίηση της στεάτωσης με ευαισθησία που κυμαίνεται από 82-95% και ειδικότητα που αγγίζει το 100%. Παρά το γεγονός ότι είναι μια μέθοδος εύκολα εφαρμόσιμη και επικυρωμένη, οι αξονικές τομογραφίες έχουν υψηλό κόστος ενώ παράλληλα εκθέτουν τους ασθενείς σε ιονίζουσα ακτινοβολία. Άλλοι περιορισμοί της τεχνικής αυτής είναι το γεγονός ότι δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε ασθενείς με αιμοσιδήρωση και αιμοχρωμάτωση και επιπλέον, όπως και η υπερηχογραφία, δεν είναι τόσο ακριβής στην ανίχνευση της ήπιας στεάτωσης. [33,34]

Η μαγνητική τομογραφία και η μαγνητική φασματοσκοπεία είναι οι πιο ακριβείς μη παρεμβατικές τεχνικές για την αξιολόγηση του λιπώδους ήπατος με ευαισθησίες και ειδικότητες πάνω από 80%. Η μαγνητική τομογραφία μπορεί να ανιχνεύσει ως και το 3% της στεάτωσης ενώ η μαγνητική φασματοσκοπεία ως και το 5%. Σημαντικότερη θέση στην κλινική πράξη έχει η μαγνητική τομογραφία καθώς αποτελεί μια τεχνική πιο γρήγορη και πιο εύκολα εφαρμόσιμη σε αντίθεση με τη μαγνητική φασματοσκοπεία που απαιτεί ανάλυση από ειδικό ενώ ταυτόχρονα είναι αρκετά πολύπλοκη και χρονοβόρα. Τεχνική βελτιστοποίηση της MRI και MRS μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση της βιοψίας του ήπατος ως της μεθόδου αναφοράς για τη διάγνωση και ποσοτικοποίηση της στεάτωσης.[33]

Η ελαστογραφία είναι ένα σχετικά πρόσφατο εργαλείο το οποίο μετράει την ακαμψία του ήπατος με τη βοήθεια υπερηχογραφίας.[3] Το εργαλείο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της ίνωσης και της NASH και μπορεί να ανιχνεύσει την κίρρωση του ήπατος με μεγάλη ακρίβεια, ωστόσο η ακρίβεια μειώνεται σε χαμηλότερα στάδια της ίνωσης. Μελέτες έχουν δείξει πολύ υψηλή διαγνωστική αξία στο διάκριση της προχωρημένης και της μέτριας ίνωσης με ευαισθησία που κυμαίνεται από 88.9-100% και ειδικότητα 75-100%.[33] Η τεχνική αυτή έχει μελετηθεί κυρίως για τη χρήση της σε άλλες ασθένειες, όπως η χρόνια ηπατίτιδα C, αλλά πλέον η χρήση της έχει επικυρωθεί και για την αξιολόγηση της ίνωσης στη NAFLD. [35]

1.4.5 Βιοψία ήπατος

Η βιοψία ήπατος αποτελεί την «χρυσή μέθοδο» για τη διάγνωση της NASH αφού συνιστά τη μόνη μέθοδο διάκρισης της στεάτωσης από τη στεατοηπατίτιδα μέσω της ιστολογικής εξέτασης του ήπατος. Η στεάτωση χαρακτηρίζεται από την παρουσία λιπιδίων σε πάνω από το 5% ηπατοκυττάρων. Στη στεατοηπατίτιδα από την άλλη πλευρά, πέρα από την παρουσία στεάτωσης

παρατηρούνται επιπλέον μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως η φλεγμονή και η αύξηση του μεγέθους των ηπατοκυττάρων. Παρόλα αυτά, η βιοψία έχει κάποια πολύ σημαντικά μειονεκτήματα. Καταρχάς, αποτελεί μία εξαιρετικά ακριβή, παρεμβατική μέθοδο διάγνωσης που ενέχει τον κίνδυνο λάθους κατά τη δειγματοληψία, ενώ επίσης η ερμηνεία των αποτελεσμάτων μπορεί να ποικίλλει. Επιπροσθέτως, έχει πολύ μικρό κίνδυνο θνησιμότητας. Σύμφωνα με τις οδηγίες του AGA (American Gastroenterological Association) η βιοψία του ήπατος θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν μόνο σε περιπτώσεις ασθενών με NAFLD που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο εμφάνισης στεατοηπατίτιδας και προχωρημένης ίνωσης ή όταν υπάρχει υποψία για άλλη συνυπάρχουσα χρόνια ηπατοπάθεια. Σε περίπτωση αβεβαιότητας ως προς τη διάγνωση, η ελαστογραφία σε πρώτη φάση θα μπορούσε να καθορίσει την παρουσία προχωρημένης ίνωσης, στην οποία περίπτωση θα ενδεικνυόταν μία βιοψία ήπατος.[3,34]

1.5 Διαχείριση της νόσου

1.5.1 Παρέμβαση στον τρόπο ζωής

Χωρίς να υπάρχει μία κατοχυρωμένη θεραπεία για τη NAFLD, η παρέμβαση στον τρόπο ζωής, μέσω της απώλειας βάρους, της τροποποίησης της διατροφής και της ενίσχυσης της άσκησης, αντιπροσωπεύει την πιο κοινή θεραπευτική προσέγγιση της νόσου. [36]

Απώλεια βάρους

Οι ασθενείς με NAFLD έχει βρεθεί ότι έχουν αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη σε σύγκριση με τους υγιείς. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η απώλεια βάρους μπορεί να επιτύχει μειωμένα ηπατικά ένζυμα, μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, βελτίωση στην ιστολογία του ήπατος και μείωση της στεάτωσης και της φλεγμονής. Σύμφωνα με τις ευρωπαϊκές οδηγίες, οι συστάσεις για τους υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς είναι μια απώλεια βάρους 7-10%, μέσω της οποίας μπορεί να παρατηρηθεί σημαντική βελτίωση στην ιστολογία του ήπατος και στα ηπατικά ένζυμα. [36,37] Αναφορικά με τις αμερικάνικες οδηγίες για την διαχείριση της νόσου, συνιστούν μια απώλεια βάρους που μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω υποθερμιδικής δίαιτας ή σε συνδυασμό με αυξημένη φυσική δραστηριότητα και θα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της στεάτωσης. Ωστόσο, απώλεια βάρους τουλάχιστον της τάξης του 3-5% απαιτείται για τη βελτίωση της στεάτωσης, ενώ απώλεια βάρους πάνω από 10% είναι απαραίτητη για τη βελτίωση της φλεγμονής. Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η απώλεια του βάρους δεν είναι εφικτή από όλους τους ασθενείς, ενώ η διατήρηση ενός μειωμένου σωματικού βάρους αποτελεί και αυτό μία πρόκληση.[20]

Μια μετά-ανάλυση τυχαιοποιημένων μελετών από τους Muto et al. υπέδειξε ότι η απώλεια βάρους μέσω αλλαγών του τρόπου ζωής ήταν ασφαλής και είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση του καρδιομεταβολικού προφίλ των ασθενών. Μία απώλεια βάρους $\geq 7\%$ βελτίωσε την ιστολογία του ήπατος αλλά επιτεύχθηκε από λιγότερο από το 50% του δείγματος. Επιπροσθέτως, σύμφωνα με τη US Food and Drug Administration, η απώλεια του 5% του βάρους θεωρείται κλινικά σημαντική για την μείωση της ηπατικής στεάτωσης.[20]

Δεν υπάρχουν συγκεκριμένες οδηγίες για τη σύσταση της δίαιτας αλλά ούτε για το ποσό των θερμίδων που θα πρέπει να περιοριστεί προκειμένου να μειωθεί το σωματικό βάρος καθώς δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες που να έχουν αξιολογήσει το συγκεκριμένο θέμα. [38] Σε μια μετα-ανάλυση 6 τυχαιοποιημένων μελετών δεν βρέθηκε καμία διαφορά μεταξύ τριών ειδών δίαιτας, χαμηλή σε λιπίδια, χαμηλή σε υδατάνθρακες και υποθερμιδική.[20] Να σημειωθεί όμως ότι, παρά το γεγονός ότι η απώλεια βάρους αποτελεί τη σημαντικότερη θεραπεία για τη NAFLD, η ταχεία απώλεια του βάρους έχει αντίθετα αποτελέσματα.[38] Μεγάλες διακυμάνσεις του σωματικού βάρους επιδεινώνουν την ηπατοπάθεια και μπορούν να προκαλέσουν την ενεργοποίηση φλεγμονωδών διαδικασιών στον οργανισμό. [20]

Μακροθρεπτικά συστατικά

Εκτός από τη ρύθμιση του βάρους, διάφορα μακροθρεπτικά συστατικά μπορούν να επιδράσουν άμεσα την εκδήλωση και εξέλιξη της NAFLD. Μία τροποποίηση στη σύσταση διατροφής μπορεί να επηρεάσει την έκβαση της νόσου, ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους.

Η αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων από μονοακόρεστα (MUFA) μπορεί να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στους ασθενείς με NAFLD. Συγκεκριμένα η κατανάλωση των MUFA μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ και το γλυκαιμικό έλεγχο στους διαβητικούς. Σε μία τυχαιοποιημένη μελέτη από τους Bozzeti et. Al, 45 διαβητικοί ασθενείς μοιράστηκαν σε 4 διαφορετικές δίαιτες εκ των οποίων η μία ήταν υψηλή σε MUFA. Στην κατηγορία των ασθενών που ακολούθησαν τη συγκεκριμένη δίαιτα παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη μείωση του λίπους στο ήπαρ συγκριτικά με τις υπόλοιπες. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν μελέτες που να αξιολογούν τη δράση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων σε ασθενείς με NAFLD.[39]

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί για στη θεραπεία των καρδιαγγειακών και της υπερλιπιδαιμίας ενώ πιο πρόσφατα έχουν αξιολογηθεί και για τις δράσεις τους στη NAFLD. Μετά από ανάλυση των αποτελεσμάτων εννέα τυχαιοποιημένων μελετών στις οποίες

χορηγήθηκαν συμπληρώματα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε 355 ασθενείς, παρατηρήθηκε βελτίωση στη στεάτωση και στα επίπεδα της ALT. Ωστόσο, η βελτίωση στη περιέχομενο του λίπους στο ήπαρ παρατηρήθηκε μόνο στις τέσσερις μελέτες. Δεδομένης της ετερογένειας των υπαρχόντων ερευνών, δεν υπάρχουν συγκεκριμένες οδηγίες αλλά ούτε δοσολογία για τη χρήση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη θεραπεία της NAFLD.[37,39]

Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενη ενότητα, η αυξημένη κατανάλωση συστατικών που ορίζουν το δυτικό μοντέλο διατροφής, όπως τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, η φρουκτόζη και τα αναψυκτικά φαίνεται πως συσχετίζονται με την εκδήλωση της νόσου. Από την άλλη πλευρά, μια ισορροπημένη διατροφή έχει δείξει ότι μπορεί να επηρεάσει την ινσουλινοαντίσταση και το λιπιδαιμικό προφίλ. Ως εκ τούτου, ορισμένες μελέτες έχουν αξιολογήσει τη μεσογειακή διατροφή ως πιθανή θεραπεία για τους ασθενείς με NAFLD. Η μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει τρόφιμα όπως φρούτα, λαχανικά, όσπρια, το ελαιόλαδο, καρπούς και ψάρια. Ενδεικτικά, σε μία μελέτη όπου συμμετείχαν 73 ασθενείς με NAFLD, εκ των οποίων οι 34 υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος, έδειξε ότι η προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή συσχετιζόταν με χαμηλά επίπεδα της ALT, μειωμένη στεάτωση και με αυξημένα επίπεδα της αντιπονεκτίνης. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν φανεί και σε άλλες μελέτες και έτσι το διαιτητικό αυτό πρότυπο δείχνει να έχει τη δυνατότητα να μειώσει τα επίπεδα της στεάτωσης χωρίς την απώλεια του σωματικού βάρους, που είναι βασικό εμπόδιο στην προσπάθεια παρέμβασης του τρόπου ζωής των ασθενών. Ωστόσο, οι μέχρι τώρα πολλά υποσχόμενες ενδείξεις για τη μεσογειακή διατροφή και τη NAFLD βασίζονται σε μικρές, βραχυπρόθεσμες κλινικές δοκιμές, με αποτέλεσμα να απαιτείται επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων αυτών από μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες. [38,40]

Φυσική δραστηριότητα

Είναι γνωστό ότι η φυσική δραστηριότητα μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης της ινσουλινοαντίστασης, του διαβήτη τύπου II, της υπέρτασης, της δυσλιπιδαιμίας και του μεταβολικού συνδρόμου, παθολογικές καταστάσεις που συνήθως συνυπάρχουν με τη NAFLD και εμπλέκονται στη παθογένεια της.[37] Επιπλέον, οι ασθενείς με NAFLD επιδίδονται σε λιγότερη φυσική δραστηριότητα, έχοντας φυσική κατάσταση κάτω από το επιθυμητό επίπεδο με λιγότερο από το 20% των ασθενών να ακολουθεί τις συνιστώμενες οδηγίες για τη φυσική δραστηριότητα.[39] Γενικά, ο ρόλος της φυσικής δραστηριότητας στη μείωση της στεάτωσης είναι κοινώς αναγνωρισμένος, ωστόσο σύμφωνα με τελευταίες μελέτες φαίνεται ότι η συχνότητα όπως και η ένταση της άσκησης είναι δύο βασικοί παράγοντες για τη βελτίωση της

ιστολογικής εικόνας του ήπατος ιδιαίτερα στους ασθενείς με NASH. [38,41]. Σύμφωνα με μία μελέτη με δείγμα 813 ασθενείς με NASH (cross-sectional cohort), το οποίο χωρίστηκε σε τρεις κατηγορίες, αναφορικά με τα επίπεδα της φυσικής τους δραστηριότητας, μόνο η κατηγορία των ασθενών που αθλούνταν τακτικά είχε σημαντική μείωση στις πιθανότητες για εμφάνιση της NASH και εκδήλωση ίνωσης. Παρόμοια αποτελέσματα, είχε μια άλλη μελέτη σε ασιατικό πληθυσμό: υγιείς που επιδίδονταν τακτικά σε κάποιου είδους άσκηση (διάρκεια περισσότερο από 30 λεπτά και συχνότητα τουλάχιστον 3 φορές τη βδομάδα) φάνηκε ότι είχαν μειωμένο κίνδυνο διάγνωσης της NAFLD, ενώ στους ασθενείς με NAFLD παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα αμινοτρανφερασών. [41]

Η επίδραση της άσκησης ως ανεξαρτήτου παράγοντα στη διαχείριση του λιπώδους ήπατος, χωρίς την τροποποίηση της διατροφής, έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής έρευνας. Σε τέσσερις μελέτες όπου οι ασθενείς ακολούθησαν προγράμματα γυμναστικής διάρκειας 30-60 λεπτών για 2-3 φορές τη βδομάδα, έδειξαν όλες, εκτός της μίας, ότι η στεάτωση υποχώρησε χωρίς σημαντική αλλαγή στο σωματικό βάρος. [8] Επίσης, ένα άλλο ζήτημα το οποίο είναι ακόμα υπό διερεύνηση είναι αν το είδος της γυμναστικής (αερόβια ή ασκήσεις ενδυνάμωσης με αντιστάσεις) έχει διαφορετικά αποτελέσματα στην ιστολογική εικόνα των ασθενών. Σε μια μελέτη που σύγκρινε τα δύο είδη άσκησης έδειξε ότι και στις δύο περιπτώσεις μειώθηκε το ποσοστό του λίπους στο ήπαρ ενώ βελτιώθηκαν η ινσουλινοαντίσταση και το λιπιδαιμικό προφίλ. Παρ' όλα αυτά παρατηρήθηκε παράλληλη μείωση του σωματικού βάρους.[41]

Συμπερασματικά, η άσκηση μπορεί να μειώσει την ηπατική στεάτωση ενώ αν συνδυαστεί με την διατροφή τα αποτελέσματα είναι πολύ καλύτερα. Σύμφωνα με τις οδηγίες της EASL (European Association of the Liver), συστήνεται 150-200 λεπτά/βδομάδα μέτριας έντασης αερόβιας ή άσκησης με αντιστάσεις. Και οι δύο μορφές άσκησης συστήνονται ανάλογα με τις προτιμήσεις του ασθενούς. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι η καθιστική ζωή και η γενική αδράνεια των ασθενών ευνοεί συμπτώματα όπως η κούραση και η υπνηλία κατά τη διάρκεια της ημέρας που μειώνουν τη συμμόρφωση σε προγράμματα γυμναστικής.[36]

1.5.2 Συμπληρώματα διατροφής

Αντιοξειδωτικά

Η χορήγηση αντιοξειδωτικών στους ασθενείς με NAFLD έχει προταθεί ως μία θεραπευτική προσέγγιση, καθώς το οξειδωτικό στρες θεωρείται ένας βασικός παράγοντας της ηπατικής

βλάβης. Η βιταμίνη Ε είναι το πιο ευρέως μελετημένο αντιοξειδωτικό.[3] Συνοπτικά, (α) η βιταμίνη Ε έχει συσχετιστεί με μία μείωση στα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών στους ασθενείς με NASH, (β) μελέτες στις οποίες έγινε ιστολογική αξιολόγηση έδειξαν ότι η βιταμίνη Ε μπορεί να βελτιώσει τη στεάτωση, τη φλεγμονή καθώς και να οδηγήσει στην υποχώρηση της στεατοηπατίτιδας και (γ) η επίδραση της βιταμίνης Ε στην ίνωση έχει δείξει αντικρουόμενα αποτελέσματα. [8,38]. Η πιο σημαντική, ως τώρα, είναι η μελέτη PIVENS στην οποία χορηγήθηκε υψηλή δόση (800 UI) της βιταμίνης Ε για 96 μέρες σε ασθενείς με NASH χωρίς διαβήτη. Τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση της φλεγμονής και των επιπέδων της ALT, αλλά δε βρέθηκε κάποια μείωση στο βαθμό της ίνωσης. Η δράση της βιταμίνης Ε έχει επίσης αξιολογηθεί ως συνδυασμός θεραπείας με την βιταμίνη C. Στη μελέτη από τους Harrison et. Al δόθηκαν 1000 UI βιταμίνης Ε και 1000 mg βιταμίνης C ημερησίως, για 6 μήνες σε ασθενείς με NASH, επιβεβαιωμένη με βιοψία, με τα αποτελέσματα να δείχνουν βελτίωση στο βαθμό της ίνωσης αλλά καμία αλλαγή στην φλεγμονή και στα επίπεδα της ALT.[38] Ωστόσο, η χορήγηση της βιταμίνης Ε θα πρέπει να γίνεται με επιφύλαξη διότι μελέτες που έχουν αξιολογήσει τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις της λήψης της βιταμίνης Ε, έχουν δείξει αυξημένη θνησιμότητα και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε υγιείς άνδρες.[37] Οι αμερικάνικες οδηγίες για τη διαχείριση της NAFLD αναφέρουν ότι η ημερήσια δόση των 800 UI της βιταμίνης Ε βελτιώνει την ιστολογία του ήπατος σε μη διαβητικούς ασθενείς με NASH, επιβεβαιωμένη με βιοψία, και θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ως πρώτη γραμμής θεραπεία για το συγκεκριμένο πληθυσμό. Από την άλλη πλευρά, δεν συστήνεται η χορήγηση της σε διαβητικούς ασθενείς, σε ασθενείς με NAFLD χωρίς βιοψία, σε ασθενείς με κίρρωση ή κρυπτογενή κίρρωση.[9]

Προβιοτικά

Τα προβιοτικά αποτελούν μια σχετικά νέα και πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή για τους ασθενείς με NAFLD. Η βακτηριακή υπερανάπτυξη στο έντερο παρατηρείται σε περισσότερο από το 50% των ασθενών με NASH και αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα συνδέονται με τη παθογένεια της νόσου. Σύμφωνα με το Διεθνή Οργανισμό Υγείας (WHO), τα προβιοτικά ορίζονται ως «οι ζωντανοί οργανισμοί, οι οποίοι όταν χορηγηθούν στις κατάλληλες ποσότητες επιφέρουν ευεργετικά αποτελέσματα στον ξενιστή». Τα προβιοτικά θεωρείται ότι μπορεί να έχουν θετικά αποτελέσματα στη θεραπεία της νόσου μέσω μιας πληθώρας μηχανισμών. Καταρχάς, αναστέλλουν τη μετακίνηση διαφόρων συστατικών του μικροβιώματος από το έντερο στο ήπαρ καθώς διατηρούν τη χαμηλή διαπερατότητα του εντέρου. Ακόμη, επιφέρουν

την παραγωγή ορισμένων αντιμικροβιακών πεπτιδίων με αποτέλεσμα τη μείωση της φλεγμονής και τη ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού.[15,38]

Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 9 τυχαιοποιημένων μελετών επιβεβαίωσε ότι τα προβιοτικά βελτιώνουν τις λειτουργίες του ήπατος, την ινσουλινοαντίσταση, την ολική χοληστερόλη, την HDL και την TNF- α , χωρίς τη μείωση του ΔΜΣ. Συγκεκριμένα, ενώ μελετήθηκαν περισσότερα από ένα είδη προβιοτικών, οι περισσότερες θεραπευτικές αγωγές περιλάμβαναν τα Bifidobacteria και τα Lactobacilli. Μάλιστα, η χορήγηση του γένους Lactobacilli έδειξε ότι μπορούσε να καταστείλει το φλεγμονώδες μονοπάτι της TLR-4 και την ενδοτοξιναιμία. Επίσης, σε μία κλινική μελέτη φάνηκε ότι τα Bifidobacteria βελτίωσαν την ηπατική στεάτωση και την ενδοτοξιναιμία, μόνο όμως όταν συνδυάστηκαν με πρεβιοτικά.[15]

Οι ενδείξεις, ως τώρα, για τα προβιοτικά είναι αρκετά ενθαρρυντικές καθώς έχει φανεί ότι είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τους ασθενείς με NASH και NAFLD. Ωστόσο χρειάζονται περισσότερες μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες σε ανθρώπους προκειμένου να βγουν ασφαλή συμπεράσματα και να καθοριστούν η θεραπευτική δόση όπως και η σύσταση των προβιοτικών.[37]

1.5.3 Φαρμακευτική θεραπεία

Τα φάρμακα τα οποία χρησιμοποιούνται για τη διαχείριση της NAFLD είναι κατεχοχίν φάρμακα τα οποία συνήθως χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών στενά συνυφασμένων με τη NAFLD. Δεδομένου ότι ακόμη διερευνάται η παθοφυσιολογία της νόσου, το ίδιο συμβαίνει και με ορισμένα νέα φάρμακα τα οποία είναι προς το παρόν υπό ανάπτυξη. [42]

Η μετφορμίνη χρησιμοποιείται για τη αντιμετώπιση του διαβήτη τύπου II καθώς βελτιώνει την ινσουλινοαντίσταση μειώνοντας τη διαδικασία της γλκονεογένεσης και την οξείδωση των λιπαρών οξέων ενώ παράλληλα αυξάνοντας την ινσουλινοευαισθησία στους ιστούς και στο ήπαρ. Αρκετές μελέτες έχουν αξιολογήσει τις δράσεις της μετφορμίνης στους ασθενείς με NAFLD, αλλά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει μείωση των επιπέδων των τρανσαμινασών αλλά στις περισσότερες μελέτες δεν έχει φανεί ιστολογική βελτίωση. Επομένως, δε συστήνεται η χορήγηση της ως πρώτης γραμμής θεραπεία για τη NAFLD.[38,42]

Από τα αντιδιαβητικά φάρμακα, καλύτερα αποτελέσματα στη NAFLD φαίνεται πως έχει η πιογλιταζόνη. Παρά το γεγονός ότι οι περισσότερες μελέτες δε δείχνουν μείωση της ίνωσης με τη λήψη της πιογλιταζόνης, θεωρείται ότι ίσως διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην καθυστέρηση

της εξέλιξης της ίνωσης. Γενικά, η βιβλιογραφία υποστηρίζει ότι η πιογλιταζόνη μπορεί να είναι αποτελεσματική για τη θεραπεία της NASH και συσχετίζεται με σημαντική βελτίωση διαφόρων βιοδεικτών αλλά και ιστολογικών δεικτών όπως η στεάτωση και η φλεγμονή. Ωστόσο, η διακοπή της φαρμακευτικής αγωγής έχει συνδεθεί με υποτροπή της νόσου ενώ επίσης η μακροχρόνια λήψη της πιογλιταζόνης είναι γνωστό ότι αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Οι αμερικάνικες οδηγίες για τη διαχείριση της NAFLD αναφέρουν ότι η πιογλιταζόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της NASH που είναι επιβεβαιωμένη με βιοψία αλλά επισημαίνουν ότι οι επιπτώσεις της μακροχρόνιας χρήσης του φαρμάκου δεν είναι σαφείς. [8,38]

Αντιλιπιδαιμικά φάρμακα όπως οι στατίνες έχουν ερευνηθεί για τους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία και NAFLD. Οι ασθενείς με NAFLD βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι είναι η πιο κοινή αιτία θανάτου για αυτό τον πληθυσμό. Επομένως η θεραπεία της δυσλιπιδαιμίας θα πρέπει είναι εξέχουσας σημασίας στους ασθενείς με NAFLD προκειμένου να μειωθεί ο καρδιαγγειακός κίνδυνος. Οι ευεργετικές ιδιότητες των στατινών θεωρείται ότι οφείλονται στις αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις τους. Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν αρκετές μελέτες με στατίνες και τη NAFLD, στις περισσότερες απουσιάζει η ιστολογική αξιολόγηση. Κατά γενική ομολογία, οι μελέτες δείχνουν βελτίωση της στεάτωσης και αναστολή της εξέλιξης της NAFLD σε NASH. Κατά καιρούς η μακροχρόνια λήψη στατινών έχει ενοχοποιηθεί για την αύξηση των ηπατικών ενζύμων, η χρήση τους όμως σε ασθενείς με NAFLD και NASH φαίνεται πως είναι ασφαλής, καθώς δεν υπάρχουν στοιχεία για ηπατική βλάβη προερχόμενη από τη χορήγηση τους. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η βιβλιογραφία υποστηρίζει τη χρήση των στατινών στους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία και NAFLD. [8,38]

Διάφορες μελέτες έχουν αξιολογήσει τη δράση του ουρσοδεοξυλικού οξέος για τη βελτίωση των επιπέδων των αμινοτρανσφερασών και της στεάτωσης στους ασθενείς με NAFLD. Τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών ήταν αντικρουόμενα και σε κάποιες περιπτώσεις απογοητευτικά και ως εκ τούτου, δεν συστήνεται η χορήγηση του για τη θεραπεία της NAFLD και της NASH. Ακόμη, φαίνεται πως έχει τοξική δράση στον οργανισμό λόγω της δράσης του στην αναστολή του συνενζύμου A, του κυκλικού AMP καθώς και της επιδιόρθωσης του DNA.[42]

1.5.4 Ο ρόλος των φυτοχημικών

Τα φυτοχημικά αποτελούν μια μεγάλη ομάδα συστατικών που απαντούν φυσικά σε φρούτα, λαχανικά, βότανα και εκχυλίσματα βοτάνων. Είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και ταξινομούνται με βάση τις δομικές τους και λειτουργικές τους ιδιότητες σε πολυφαινόλες,

καροτενοειδή, αλκαλοειδή και τερπένια. Η πρόσληψη τους δεν κρίνεται απαραίτητη από τον ανθρώπινο οργανισμό κατά τη διάρκεια της ζωής και κατ' επέκταση η έλλειψη τους δεν παρουσιάζει κλινικά συμπτώματα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η πρόσληψη τους μπορεί να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στον οργανισμό και να συμβάλλει στη μείωση πολλών χρόνιων ασθενειών όπως των καρδιαγγειακών και του σακχαρώδους διαβήτη. Τα πιθανά οφέλη των φυτοχημικών έχουν επίσης αξιολογηθεί για τη θεραπεία της NAFLD.

Η ρεβεστερόλη είναι μία πολυφαινόλη η οποία βρίσκεται στα σταφύλια, στο κόκκινο κρασί, στα φυστίκια και σε κάποια μούρα. Στοιχεία έχουν δείξει τα ευεργετικά οφέλη της ρεβεστερόλης, όπως η βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας και της ανοχής στη γλυκόζη, η μείωση των επιπέδων των λιπιδίων του ορού και η υποχώρηση της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες. Προσφάτως, έχει μελετηθεί και η επίδραση της σε πειραματόζωα με λιπώδες ήπαρ με τα αποτελέσματα να δείχνουν ότι η ρεβεστερόλη έχει ηπατοπροστατευτική δράση, μειώνοντας το βάρος του ήπατος και την εναπόθεση των τριγλυκεριδίων. Ενδεικτικά, σε μια μελέτη από τους Ahn *et. al* η χορήγηση συμπληρώματος με ρεβεστερόλη για 8 βδομάδες σε ποντίκια, στα οποία είχε γίνει επαγωγή στεάτωσης με αθηρογόνο δίαιτα, έδειξε ότι η έκφραση παραγόντων που επιφέρουν τη λιπογένεση (Fdft1, Fasn, and PPAR-γ) και την οξείδωση των λιπιδίων (Pon1, PPAR-α) μειώθηκε. Ωστόσο, οι μελέτες σε ανθρώπους είναι αρκετά περιορισμένες. Σε μία μελέτη όπου χορηγήθηκαν 3000 mg ρεβεστερόλης ημερησίως για 12 βδομάδες σε ασθενείς με NAFLD, παρατηρήθηκε βελτίωση των ηπατικών ενζύμων, της φλεγμονής και της ινσουλινοαντίστασης. Σε γενικές γραμμές, φαίνεται πως η ρεβεστερόλη είναι αποτελεσματική στη μείωση της de novo λιπογένεσης στο ήπαρ και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη των χρόνιων ηπατοπαθειών.[43,44]

Οι ανθοκυανίνες ανήκουν στις πολυφαινόλες και αποτελούν υποκατηγορία των φλαβονοειδών. Είναι υπεύθυνες για το κόκκινο, μωβ και μπλε χρώμα πολλών φρούτων, λαχανικών και δημητριακών. Έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό για τις πιθανές δράσεις τους στην πρόληψη και θεραπεία διάφορων ασθενειών, ενώ προσφάτως μελέτες έχουν επισημάνει τη δυνατότητα τους να μειώνουν την εναπόθεση του λίπους στο ήπαρ. Για να αξιολογηθεί η δράση των ανθοκυανινών στον ανθρώπινο οργανισμό πρέπει να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι μεταβολίζονται πολύ γρήγορα και παραμένουν μόνο λίγες ώρες στην κυκλοφορία του αίματος. Παρόλα αυτά, η κατανάλωση τους έχει συσχετιστεί με βελτίωση της υπεργλυκαιμίας, μείωση της φλεγμονής και ρύθμιση της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Σε μία μελέτη, ασθενείς με NAFLD χορηγήθηκαν 320gr ανθοκυανινών για 12 βδομάδες και τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της

αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης και των θραυσμάτων κυτοκρεατίνης-18 και γενική βελτίωση της ινσουλινοαντίστασης. Ωστόσο, οι μελέτες σε ανθρώπους είναι ελάχιστες με τις περισσότερες μελέτες που έχουν διεξαχθεί να έχουν γίνει *in vitro* και σε πειραματόζωα. Σε μία μελέτη από τους Guo *et. al* παρατηρήθηκε ότι η πρόσθεση 100γρ ανθοκυανινών ημερησίως στη διαίτα των ποντικών βελτίωσε τη στεάτωση ύστερα από δωδεκάμηνη θεραπεία. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι οι ανθοκυανίνες ρύθμισαν τη διαδικασία της λιπογένεσης και επισήμαναν το γεγονός ότι μπορεί να έχουν εφαρμογή στη θεραπεία της στεάτωσης.

Η ασταξανθίνη και η β-κρυπτοξανθίνη είναι δύο καροτενοειδή με αντιοξειδωτικές ιδιότητες των οποίων η δράση σε ότι αφορά την πρόληψη και τη θεραπεία της NAFLD είναι υπό διερεύνηση. Όσον αφορά την ασταξανθίνη, βρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα σε πολλούς μικροοργανισμούς και θαλάσσιους οργανισμούς όπως ο σολωμός, οι γαρίδες και οι καραβίδες και μάλιστα είναι υπεύθυνη για το ροζ-κόκκινο χρώμα τους. Οι Ni *et al* αξιολόγησαν την επίδραση της ασταξανθίνης στην εναπόθεση του λίπους στο ήπαρ σε δύο είδη ποντικών. Στα πειραματόζωα δόθηκε διαίτα υψηλή σε λιπαρά ή κανονικής σύστασης διαίτα με ή χωρίς ασταξανθίνη 0,02% για 10 βδομάδες. Παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση της ασταξανθίνης είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της στεάτωσης και της εναπόθεσης των τριγλυκεριδίων χωρίς την αλλαγή του σωματικού βάρους ή του λιπώδους ιστού. Ακόμη, η δράση της ασταξανθίνης φαίνεται πως είναι δοσο-εξαρτώμενη καθώς σε μελέτη που χορηγήθηκαν δύο διαφορετικές δόσεις της ασταξανθίνης, τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των συγκεντρώσεων των ηπατικών ενζύμων με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, με τη δόση που είχε περιεκτικότητα 0,02% να είναι πιο αποτελεσματική συγκριτικά με την περιεκτικότητα 0,0067%.[45]

Η καφεΐνη είναι αλκαλοειδές το οποίο αποτελεί βασικό συστατικό του καφέ. Ο καφές είναι το πιο δημοφιλές ποτό παγκοσμίως και η πρόσληψη του συνδέεται με χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας. [46] Αρκετές μελέτες έχουν επισημάνει την αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης του καφέ και της ίνωσης και κίρρωσης του ήπατος. Η καφεΐνη θεωρείται ότι έχει αντί-ινωτική δράση καθώς αποτελεί ανταγωνιστή των υποδοχέων της αδενosίνης A2a, που προκαλεί την αναστολή των ηπατικών κυψελιδικών κυττάρων, τα οποία συνιστούν βασικούς μεσολαβητές της ίνωσης. Ωστόσο, σε μία πρόσφατη μετά-ανάλυση από τους Shen *et. al* δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ της συνολικής κατανάλωσης της καφεΐνης (κατανάλωση καφεΐνης από καφέ και οποιοδήποτε άλλο αναψυκτικό που περιέχει καφεΐνη) και του επιπολασμού της ίνωσης ή της NAFLD. Τα αποτελέσματα όμως έδειξαν ότι η συστηματική κατανάλωση του καφέ συσχετίζεται με μειωμένο βαθμό ίνωσης NAFLD. [47] Επίσης, είναι

σημαντικό να γίνει αναφορά στο γεγονός ότι η καφεΐνη, ίσως, δεν είναι το μόνο συστατικό του καφέ στο οποίο αποδίδονται οι ευεργετικές δράσεις του. Συγκεκριμένα, σε μία πρόσφατη μελέτη που αξιολόγησε την επίδραση της κατανάλωσης καφέ χωρίς καφεΐνη σε ηπατοπάθειες, παρατηρήθηκαν μειωμένα ηπατικά ένζυμα, υποδεικνύοντας τη συνεισφορά και των υπόλοιπων συστατικών του καφέ.[46]

2. Μαστίχα Χίου

2.1 Χαρακτηριστικά της μαστίχας

Η μαστίχα είναι η ρητινώδης έκκριση του δέντρου *Pistacia Lentiscus* var. *Chia* το οποίο καλλιεργείται στην νότια πλευρά της Χίου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι ενώ το μαστιχόδεντρο μπορεί να καλλιεργηθεί και σε άλλα μέρη του κόσμου, συμπεριλαμβανομένης και της βόρειας πλευράς της Χίου, η ρητίνη δεν είναι δυνατόν να παραχθεί. [48] Οι αναφορές για τη μαστίχα χρονολογούνται από την αρχαιότητα με το Γαληνό και το Διοσκουρίδη να προωθούν τη χρήση της για τη θεραπεία γαστρικών παθήσεων ενώ παράλληλα επεσήμαναν ότι η καλύτερη μαστίχα παραγόταν στη Χίο. Εκτός από την ιατρική, η μαστίχα έχει βρει εφαρμογές και σε άλλους τομείς, όπως τη μαγειρική, την παρασκευή ποτών και καλλυντικών. (<https://www.gummastic.gr/el/mastixa-chiou/polytimo-dakry>, 19/06/2017)



Εικόνα 2.1.1. Η μαστίχα σε μορφή δακρύου.

Η μαστίχα συνιστά μια κρυσταλλική, αρωματική ρητίνη που εκκρίνεται με τη μορφή δακρύου από τις σχισμές που έχουν ειδικά δημιουργηθεί με ένα αιχμηρό εργαλείο στον κορμό και στα μεγάλα κλαδιά του μαστιχόδεντρου.[48] Από χημικής άποψης η μαστίχα αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό συστατικών όπως αιθέρια έλαια, τερπένια, πολυφαινόλες ενώ ορισμένες από τις ουσίες που την αποτελούν απαντώνται στη φύση για πρώτη φορά. Τα βασικά συστατικά της μαστίχας είναι το α-πινένιο (40%), το β-πινένιο (1,5%), το β-μυρκένιο (9%), το λιμονένιο (1%) και το β-καρυοφυλλένιο (5%) . Το μαστιχέλαιο, το οποίο είναι παράγωγο της μαστίχας αποτελείται από τα ίδια συστατικά σε διαφορετικές αναλογίες.[49] Η μαστίχα αρχικά εκκρίνεται ως ένα

κολλώδες διαυγές υγρό με υποκίτρινο χρώμα, το οποίο στερεοποιείται σε διάφορα σχήματα ύστερα από 15-20 μέρες. Η γεύση της μαστίχας είναι αρχικά πικρή, αλλά στη συνέχεια αποκτά τη χαρακτηριστική της γεύση και το ιδιαίτερο άρωμα της. Με την πάροδο του χρόνου αλλάζει επίσης το χρώμα της από υποκίτρινο σε κίτρινο λόγω της οξείδωσης της από την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. (<https://www.gummastic.gr/el/mastixa-chiou/polytimo-dakry>, 19/06/2017)

2.2 Το μαστιχόδεντρο και η παραγωγή της μαστίχας

Το μαστιχόδεντρο είναι ένας αειθαλής θάμνος της οικογενείας Anacardiaceae με σύνηθες ύψος τα 2-3 μέτρα. Ζει πάνω από 100 χρόνια, έχει αργή ανάπτυξη και η παραγωγή της μαστίχας είναι δυνατόν να ξεκινήσει μόνο μετά το 5-6 έτος της φύτευσης του με τη μέγιστη απόδοση να παρατηρείται από το 12^ο έως το 15^ο έτος της ηλικίας του. Η μέση απόδοση μαστίχας ανά δέντρο είναι 150-180 γρ με αρκετά μεγάλες διακυμάνσεις ανάμεσα στα φυτά. Στην καλλιέργεια προτιμώνται τα αρσενικά δέντρα καθώς είναι πιο αποδοτικά με καλύτερη ποιότητα μαστίχας. Το μαστιχόδεντρο είναι ανθεκτικό χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις στην καλλιέργεια του, για αυτό το λόγο ευδοκμεί σε εδάφη άγονα και πετρώδη. Η πολλή υγρασία δυσχεραίνει την ανάπτυξη του καθώς δεν αερίζονται επαρκώς οι ρίζες του και το ψύχος με θερμοκρασίες μικρότερες του 0 °C καταστρέφει το δέντρο. (<https://www.gummastic.gr/el/mastixa-chiou/sxinos-tis-chiou>, 19/06/2017)

Η παραγωγή της μαστίχας αποτελεί μια διαδικασία που διαρκεί όλο το χρόνο. Αρχικά γίνεται η προεργασία η οποία περιλαμβάνει την λίπανση και το κλάδεμα των δέντρων και την περιποίηση του εδάφους μέχρι την Άνοιξη. Στη συνέχεια τον Ιούνιο καθαρίζεται και ισοπεδώνεται το έδαφος και ακολουθεί η διαδικασία του χωματίσματος. Το έδαφος καλύπτεται από ασπρόχωμα το οποίο αποτελείται από ανθρακικό ασβέστιο, μια αδρανής ουσία που δεν επηρεάζει την καθαρότητα της μαστίχας. Το πρώτο κέντημα, δηλαδή η χάραξη τομών βάθους 4-5 χιλιαστών



Εικόνα 2.2.1 Καθάρισμα της μαστίχας.

στον κορμό και τα κλαδιά του δέντρου αποτελεί τη σημαντικότερη διαδικασία κατά την παραγωγή και διαρκεί από τον Ιούλιο έως τον Αύγουστο. Η πρώτη συλλογή της μαστίχας ξεκινά μετά τις 15 Αυγούστου. Η μαστίχα συλλέγεται αρχικά από το έδαφος και στη συνέχεια μαζεύεται από τους κορμούς και τα κλαδιά του δέντρου εφόσον έχει

στερεοποιηθεί. Το δεύτερο κέντημα ακολουθεί για 5-6 εβδομάδες μέχρι το Φθινόπωρο. Κατά τη δεύτερη και τελική συλλογή μαζεύεται όλη μαστίχα που έχει παραχθεί ακόμα και τα πιο μικρά κομμάτια. Η συγκομιδή και από τις δύο συλλογές αποθηκεύεται σε δροσερό μέρος. Με την ολοκλήρωση της δεύτερης συλλογής ακολουθεί το καθάρισμα της μαστίχας μια διαδικασία που διαρκεί μέχρι και την Άνοιξη και έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση οποιωνδήποτε ξένων σωμάτων έχουν κολλήσει πάνω. Τέλος, ύστερα από την πρώτη κατεργασία του παραγωγού η μαστίχα παραδίδεται στην ένωση μαστιχοπαραγωγών όπου γίνεται η επεξεργασία και η συσκευασία του προϊόντος. (<https://www.gummastic.gr/el/mastixa-chiou/paradosiaki-kalliergia>, 19/06/2017)

2.3 Ευεργετικές ιδιότητες της μαστίχας

2.3.1 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες

Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της μαστίχας αξιολογήθηκαν από τους M. Mahmoudi et al. το 2010 όπου τα ευρήματα υποστήριξαν τη χρήση της ρητίνης για αυτό το σκοπό. [67] Στη συνέχεια, το 2009, Li Zhou et al. εξέτασαν αν η μαστίχα μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία των ενεργοποιημένων μακροφάγων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μαστίχα και σε υγρή αλλά και σε στερεή δομή μπορεί να αναστείλει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών ουσιών όπως το νιτρικό οξύ (NO) και τη προσταγλανδίνη (PGE2) με ενεργοποιημένο λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ενεργών μακροφάγων κυττάρων τύπου RAW264.7. Οι Western blot και (RT-PCR) αναλύσεις έδειξαν ότι η μαστίχα αναστέλλει την έκφραση της συνθάσης του NO (iNOS) και της COX-2 σε επίπεδο mRNA αλλά και σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Τα στοιχεία αυτά έδειξαν ότι η μαστίχα αναστέλλει την παραγωγή την δύο προ-φλεγμονωδών ουσιών μέσω της κυτταροτοξικής δράσης ενεργοποιημένων μακροφάγων. Επομένως επιβεβαιώθηκε η υπόθεση ότι η μαστίχα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας.[50]

Λόγω των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της μαστίχας, ορισμένες μελέτες αξιολόγησαν τη χρήση της για τη μείωση και ανακούφιση συμπτωμάτων ορισμένων ασθενειών. Η παθογένεια του αλλεργικού άσθματος χαρακτηρίζεται από φλεγμονή των αεραγωγών, ηωσινοφιλία και υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών. Σε μία μελέτη των Jianou Qiao et al. σε πειραματόζωα στα οποία είχε γίνει επαγωγή του αλλεργικού άσθματος αξιολογήθηκε η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε αναστολή της ηωσινοφιλίας, υποχώρηση της υπεραντιδραστικότητας των αεραγωγών και μείωση της παραγωγής των φλεγμονωδών κυτοκινών IL-5 και IL-13, όπως επίσης και ορισμένων χημειοκινών.[51]

Η δράση της μαστίχας έχει ακόμη αξιολογηθεί στη νόσο του Crohn, μία χρόνια φλεγμονώδη ασθένεια του γαστρεντερικού σωλήνα. Η μελέτη διεξήχθη σε ασθενείς με ήπια ή μέτρια ενεργή νόσο του Crohn και σε ένα υγιές δείγμα. Οι ασθενείς και υγιείς έλαβαν θεραπεία με κάψουλες μαστίχας (2,2 γρ/ημέρα) για 4 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα, στους ασθενείς που έλαβαν την αγωγή, έδειξαν μείωση της έκκρισης της TNF-α και αυξημένη απελευθέρωση του παράγοντα αναστολής της μεταφοράς των μακροφάγων (MIF), γεγονός που υποδεικνύει ότι η μεταφορά των μακροφάγων περιοριστεί. Μη στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στις συγκεντρώσεις των IL-6, MCP-1 και GSH. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν την αντιφλεγμονώδη δράση της μαστίχας και δείχνουν ότι η μαστίχα μπορεί να είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ανοσολογικής λειτουργίας στη νόσο του Crohn.[52]

2.3.2 Αντιμικροβιακές ιδιότητες

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η μαστίχα κατέχει αντιβακτηριδιακή δράση. Έρευνες έχουν μελετήσει τη δράση της μαστίχας σε βακτήρια τα οποία θεωρούνται υπεύθυνα για διάφορες ασθένειες.[48] Στην δεκαετία του '80 έγινε η πρώτη αναφορά για την πιθανή επίδραση της μαστίχας στη θεραπεία του δωδεκαδακτυλικού έλκους. Στη διπλά τυφλή κλινική μελέτη που διεξήχθη σε 38 ασθενείς με δωδεκαδακτυλικό έλκος, διαγνωσμένο με ενδοσκόπηση, 20 ασθενείς χορηγήθηκαν με 1 γρ./ημέρα μαστίχα για 2 βδομάδες ενώ 18 ασθενείς χορηγήθηκαν με 1 γρ./ημέρα λακτόζης για 2 βδομάδες. Βελτίωση των συμπτωμάτων παρατηρήθηκε στο 80% των ασθενών που έλαβαν τη μαστίχα και στο 50% των ασθενών που έλαβαν τη λακτόζη, ενώ θεραπεία, ενδοσκοπικά αποδεδειγμένη, έλαβε χώρα στο 70% των ασθενών υπό την επίδραση της μαστίχας και μόλις στο 22% των ασθενών που έλαβε τη λακτόζη. Με αυτά τα αποτελέσματα οι ερευνητές συμπέραναν θεραπευτική δράση της μαστίχας, αλλά επισήμαναν την ανάγκη για επιπλέον κλινικές δοκιμές.[53]

Στη συνέχεια, σε επόμενες μελέτες αξιολογήθηκε η αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας έναντι του βακτηρίου *Helicobacter pylori*, το οποίο έχει ενοχοποιηθεί για μια σειρά ασθενειών συμπεριλαμβανομένων της γαστρίτιδας, του γαστρικού και δωδεκαδακτυλικού έλκους όπως και του καρκίνου του στομάχου.[48] Ενδεικτικά, μία από τις πρώτες μελέτες που είχαν θετικά αποτελέσματα πραγματοποιήθηκε από τους Huwez et al. όπου η μαστίχα προκάλεσε την αναστολή της βακτηριακής ανάπτυξης σε όλες τις καλλιέργειες συμπεριλαμβανομένων και των καλλιεργειών με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις της ρητίνης. Οι ερευνητές πρότειναν τη δραστηριότητα της ρητίνης έναντι του *Helicobacter pylori* ως πιθανό μηχανισμό της θεραπευτικής δράσης της στις γαστρικές παθήσεις.[54,55] Ωστόσο, τα αποτελέσματα των ερευνών είναι

αντικρουόμενα με ορισμένες μελέτες να μην μπορούν να επιβεβαιώσουν τα παραπάνω ευρήματα.[48,55] Ενδεικτικά, σε μία μελέτη με 9 ασθενείς οι οποίοι ήταν θετικοί στο *pylori*, ύστερα από θεραπεία 14 ημερών με μαστίχα όλοι παρέμειναν θετικοί στο μικρόβιο.[56] Παρά το γεγονός ότι ο μηχανισμός της αντιβακτηριακής ιδιότητας της μαστίχας δεν είναι ακόμη σαφής, η πλειοψηφία των πιο πρόσφατων ευρημάτων υποστηρίζουν ότι η μαστίχα μπορεί να αποτρέψει ή και να εξαλείψει τα γαστροδωδεκαδακτυλικά έλκη.[48,54]

2.3.3 Αντιοξειδωτικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες

Τα πρώτα αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική δράση της μαστίχας ήρθαν από τους Andrikopoulos *et al.* το 2003. Στη μελέτη αξιολογήθηκε η δράση διάφορων φυτικών ουσιών όπως κομμένων και ρητινών έναντι της οξείδωσης της LDL *in vitro* και φάνηκε ότι η μαστίχα Χίου είναι η πιο αποτελεσματική στην αναστολή της οξείδωσης της LDL με δοσοεξαρτώμενο, μάλιστα, τρόπο. Τα 2.5 mg είναι η ελάχιστη απαιτούμενη δόση προκειμένου να παρατηρηθεί η τροποποίηση, ενώ τα 50 mg είναι η μέγιστη δόση όπου απαιτείται για πλήρη οξείδωση. [57] Επίσης, η αντιοξειδωτική δράση της μαστίχας επιβεβαιώθηκε από μία ακόμη μελέτη των Α.Ν. Assimoroulou, το 2005, όπου ορισμένες ρητίνες, συμπεριλαμβανομένης της μαστίχας Χίου, μαζί με το ουρσολικό οξύ και το ελαιολικό οξύ, ελέγχθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση σε υποστρώματα με 3 διαφορετικά είδη ελαίου. Η μαστίχα παρουσίασε σημαντική αντιοξειδωτική δράση και στα τρία έλαια. [58]

Λόγω των αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της μαστίχας το ενδιαφέρον στράφηκε στις πιθανές καρδιοπροστατευτικές δράσεις της. Οι Dedousis *et al.* σε μία μελέτη το 2004, ερεύνησαν τους μοριακούς μηχανισμούς μέσω των οποίων ένα πολικό εκχύλισμα μαστίχας μπορεί να αναστείλει την οξείδωση της oxLDL σε καλλιέργεια PBMC. Πιο συγκεκριμένα, η έκθεση των κυττάρων στην oxLDL είχε ως αποτέλεσμα την απόπτωση και τελικά τη νέκρωση τους, φαινόμενα τα οποία αναστέλλοντουσαν παρουσία του εκχυλίσματος μαστίχας. Ακολούθως, οι ερευνητές μέτρησαν τη συγκέντρωση της γλουταθειόνης (GSH), ενός αντιοξειδωτικού που υπάρχει στον ανθρώπινο οργανισμό και την έκφραση του CD36, δηλαδή του υποδοχέα της oxLDL στα μακροφάγα, ο οποίος παίζει καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων στην αθηροσκλήρωση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η oxLDL μειώνει τα επίπεδα της GSH στον οργανισμό, ενώ παράλληλα ενισχύει την έκφραση του CD36. Αντιθέτως, το εκχύλισμα της μαστίχας επανέφερε τη GSH σε φυσιολογικά επίπεδα και μείωνε την έκφραση του CD36, ακόμη και σε επίπεδο mRNA. Ως εκ τούτου, τα παραπάνω αποτελέσματα ήταν αρκετά ισχυρά για να αποδείξουν την καρδιοπροστατευτική δράση της μαστίχας.[59]

Στη συνέχεια, μία μελέτη των A. Triantafyllou et. al το 2007, επιβεβαίωσε τα παραπάνω ευρήματα καθώς παρατηρήθηκε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία ύστερα από χορήγηση μαστίχας.[60] Τέλος, έπειτα από 2 χρόνια μία μελέτη σε πειραματόζωα από τους Paraschos S. επεσήμανε τις υπολιπιδαιμικές και αντιαθηρογόνες ιδιότητες της μαστίχας σε πειραματόζωα με υπερχοληστερολαιμία. [61]

3. Σκοπός μελέτης

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος είναι μία πολυπαραγοντική ασθένεια που έχει συγκεντρώσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας καθώς ο επιπολασμός της νόσου αυξάνεται συνεχώς. Η αντιμετώπιση της νόσου στοχεύει κυρίως στη θεραπεία των άλλων ασθενειών που συνήθως συνυπάρχουν με τη NAFLD, όπως της υπέρτασης και του διαβήτη τύπου II, παράλληλα με αλλαγές στη διατροφή του ασθενούς, καθώς δεν υπάρχει κατοχυρωμένη φαρμακοθεραπεία που να μειώνει τη στεάτωση και να βελτιώνει φλεγμονή και την ίνωση. Η μαστίχα Χίου έχει αξιολογηθεί για τις αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες της οι οποίες είναι τεκμηριωμένες. Ακόμη, έχει αξιολογηθεί ως θεραπεία σε ασθένειες όπως η νόσος του Crohn και το αλλεργικό άσθμα με θετικά αποτελέσματα. Ωστόσο, καμία μελέτη δεν έχει ερευνήσει την επίδραση της μαστίχας στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος.

Έτσι, σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας υπήρξε η διερεύνηση της επίδρασης της χορήγησης συμπληρώματος μαστίχας Χίου στους βιοχημικούς δείκτες και στους δείκτες φλεγμονής του ήπατος παχύσαρκων ασθενών με NAFLD/NASH.

4. Μεθοδολογία

4.1 Καταληκτικά σημεία

Η μελέτη MAST4HEALTH συνιστά μια πολυκεντρική (έχει 4 κέντρα, σε 4 διαφορετικές χώρες), τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή έναντι εικονικού σκευάσματος (placebo) κλινική δοκιμή για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της συμπληρωματικής, εξάμηνης χορήγησης μαστίχας στη δόση των 2.1 γρ ημερησίως σε κάψουλες των 350 mg/κάψουλα σαν μη φαρμακολογική θεραπεία στους ασθενείς με NAFLD/NASH.

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης είναι η βελτίωση της ιστοπαθολογίας του ήπατος, όπως αυτή παρατηρείται με τη μαγνητική τομογραφία και από την τιμή του LIF Score, όπως προκύπτει από χρήση του πρωτοκόλλου LiverMultiScan. Ως δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ορίζονται η βελτίωση των τιμών των ηπατικών ενζύμων, η μείωση φλεγμονής και οξειδωτικού στρες, η βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και της ινσουλινοευαισθησίας των συμμετεχόντων. Επίσης, θα διερευνηθεί η ανταπόκριση των ασθενών στη χορήγηση μαστίχας στη συγκεκριμένη δόση και για διάστημα τριών μηνών με βάση το γενετικό τους προφίλ και συγκεκριμένα με την παρουσία ή όχι κάποιων πολυμορφισμών, ενώ ακόμη θα γίνει η καταγραφή τυχόν αλλαγών στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας πριν και μετά την τρίμηνη και εξάμηνη παρέμβαση, θα συγκριθεί το μεταβολομικό/μεταβολονομικό αποτύπωμα των συμμετεχόντων πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση αλλά και με τον υγιή πληθυσμό και θα μελετηθούν επιγενετικές αλλαγές, ως απόκριση στη θεραπεία με μαστίχα. Τέλος, θα σημειωθούν οι αλλαγές στο σωματικό βάρος των συμμετεχόντων και στην ποσότητα του σωματικού λίπους καθώς και στην κατανομή αυτού.

4.2 Πληθυσμός μελέτης

Η MAST4HEALTH αφορά ενήλικες, παχύσαρκους ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD/NASH. Πιο συγκεκριμένα, στα πλαίσια της μελέτης στρατολογούνται ασθενείς άνω των 18 ετών και έως την ηλικία των 67, με BMI > 30 kg/m² και επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH με τη βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας και τη χρήση του πρωτοκόλλου MultiLiverScan.

4.3 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Τα κριτήρια ένταξης της μελέτης είναι τα εξής:

- ηλικία >18 έτη και <67 έτη
- επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH
- Δ.Μ.Σ. > 30 kg/m²

Τα κριτήρια αποκλεισμού είναι τα εξής:

- λήψη ηπατοτοξικής φαρμακευτικής αγωγής, συνυπάρχουσα ηπατική νόσος
- αρρύθμιστος σακχαρώδης διαβήτης
- υποθυρεοειδισμός, υπερθυρεοειδισμός, υποφυσιακή ανεπάρκεια, σύνδρομο Cushing
- κατάχρηση ουσιών ή αλκοόλ
- κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένη συστηματική νόσος με εξαίρεση τη ρυθμισμένη υπέρταση
- αυστηρή χορτοφαγία, γαλακτο- χορτοφαγία, ωό-γαλακτο-χορτοφαγία
- εγκυμοσύνη, θηλασμός
- ψυχιατρική ή πνευματική διαταραχή
- πρόσφατη σημαντική απώλεια βάρους ή σε πρόγραμμα απώλειας βάρους
- λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή πλουσίων σε φυτοχημικά συστατικά, προβιοτικών ή πρεβιοτικών τους τελευταίους 3 μήνες
- λήψη αντιβιοτικών τους τελευταίους 2 μήνες

Αναφορικά με τους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη η συμμετοχή τους στο πρωτόκολλο εγκρίνεται μόνο εφόσον ο σακχαρώδης διαβήτης είναι τουλάχιστον μετρίως καλά ελεγχόμενος -τιμές HbA1c $\leq 7\%$, σύμφωνα με την Αμερικάνικη Ένωση για το Σακχαρώδη Διαβήτη, και η φαρμακευτική τους αγωγή είναι σταθερή τόσο ως προς το είδος όσο και ως προς τη δοσολογία για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 3 μηνών πριν την έναρξη της μελέτης. Από τη μελέτη αποκλείονται ασθενείς με κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένες συστηματικές νόσους με εξαίρεση τους ασθενείς με ρυθμισμένη υπέρταση υπό σταθερή αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή για τουλάχιστον 3 μήνες πριν την παρέμβαση και καθόλη τη διάρκεια αυτής. Η υπέρταση θεωρείται ρυθμισμένη όταν οι τιμές της συστολικής πίεσης δεν ξεπερνούν την τιμή των 140 mmHg και της διαστολικής την τιμή των 90 mmHg στο γενικό πληθυσμό αλλά και στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, με εξαίρεση άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών όπου τιμές συστολικής < 150 mmHg και διαστολικής < 90 mmHg είναι επίσης αποδεκτές. Τέλος, γυναίκες σε εγκυμοσύνη αποκλείονται από τη μελέτη, ενώ σε περίπτωση εγκυμοσύνης κατά τη διάρκεια της μελέτης συστήνεται η διακοπή του συμπληρώματος και η παρακολούθηση της κύησης μέχρι αυτή να έρθει σε πέρας. Παράλληλα οφείλει να ενημερωθεί η αντίστοιχη επιτροπή Βιοηθικής.

4.4 Τυφλοποίηση – Τυχαιοποίηση

Στη μελέτη γίνεται τυφλοποίηση των τεσσάρων ομάδων της κλινικής δοκιμής δηλαδή των συμμετεχόντων, των κλινικών, των ατόμων που εμπλέκονται στη συλλογή και των ατόμων που εμπλέκονται στην ανάλυση των δεδομένων, σε καθένα από τα κέντρα της MAST4HEALTH. Η

τυφλοποίηση επιτυγχάνεται με τη χρήση πανομοιότυπων ως προς την εμφάνιση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κάψουλων τόσο στην ομάδα του verum όσο και στην ομάδα του placebo. Η τυφαιοποίηση κρίνεται επίσης αναγκαία για την αποφυγή της μερολοψίας. Γίνεται απλή τυφαιοποίηση με τη βοήθεια κατάλληλου λογισμικού το οποίο τοποθετεί έναν ένα τους εθελοντές στην ομάδα verum ή στην ομάδα placebo. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι μετά από την τυφαιοποίηση τα άτομα τα οποία θα αποσυρθούν από την μελέτη θα αντικατασταθούν αν ο αριθμός των drop-outs υπερβαίνει το ποσοστό που είχε υπολογιστεί στο σχεδιασμό της στατιστικής ανάλυσης.

4.5 Πλάνο μελέτης

4.5.1 Δειγματοληψία

Δυσνητικά υποψήφιοι εθελοντές, νοσηλευόμενοι και ασθενείς εξωτερικών ιατρείων με επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH προσέρχονται στα κέντρα της κλινικής δοκιμής. Στην Ελλάδα, οι υποψήφιοι εθελοντές επιλέχθηκαν από μία βάση με ασθενείς με NAFLD από προηγούμενη μελέτη που είχε διεξήχθη στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Επίσης, η ερευνητική ομάδα της μελέτης συνεργάστηκε με γιατρούς είτε στον ιδιωτικό, είτε στο δημόσιο τομέα για την παραπομπή ασθενών κατάλληλων για συμμετοχή στην παρούσα κλινική μελέτη. Ακόμη, υπήρχαν αφίσες σε διάφορα σημεία στην περιοχή της Αττικής αλλά και ενημέρωση στο ίντερνετ προκειμένου να ενημερωθούν τυχόν ενδιαφερόμενοι.

4.5.2 Πρώτη συνάντηση

Οι υποψήφιοι εθελοντές προσέρχονται σε προγραμματισμένο ραντεβού στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο μετά από 12ωρη νηστεία. Ενημερώνονται εκτενώς για την κλινική μελέτη καθώς και για τις υποχρεώσεις τους και εφόσον είναι σύμφωνοι με αυτά δίνουν την έγγραφη συγκατάθεση τους για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Στη συνέχεια, γίνεται η λήψη αίματος για μία γενική αίματος αλλά και για τον προσδιορισμό βιοχημικών δεικτών που απαιτούνται για τον υπολογισμό των FIB-4 και NFS scores. Ακολούθως, γίνονται οι ανθρωπομετρήσεις που συμπεριλαμβάνουν τη μέτρηση του σωματικού βάρους, τη μέτρηση του ύψους, τη ανάλυση της σύστασης του σώματος με ηλεκτρονική ζύγο ακριβείας, τη μέτρηση της περιφέρειας μέσης και περιφέρειας ισχίου σύμφωνα με τις οδηγίες Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Η συνάντηση ολοκληρώνεται με τη συμπλήρωση δύο ερωτηματολόγιων. Το πρώτο ερωτηματολόγιο συλλέγει πληροφορίες όπως το προσωπικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, τη φαρμακευτική αγωγή (εάν υπάρχει), δημογραφικά χαρακτηριστικά και καπνιστικές συνήθειες του εθελοντή. Το

επόμενο ερωτηματολόγιο εκτιμά τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τα επόμενα χρόνια.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω στοιχεία καθώς και τα αποτελέσματα των εξετάσεων (γενική αίματος και βιοχημικές εξετάσεις), επιλέγονται ορισμένοι εθελοντές για την επόμενη φάση της μελέτης.

4.5.3 Δεύτερη συνάντηση

Στην επόμενη συνάντηση, έλαβε χώρα η μαγνητική τομογραφία μέσω της οποίας προσδιορίζεται το στάδιο της νόσου αλλά και το LIF score. Ένας εθελοντής θεωρείται επιλέξιμος για τη μελέτη αν η συνολική τιμή του LIF score είναι > 2 ή τουλάχιστον δύο εκ των εξεταζόμενων τμημάτων (slices) του ήπατος εμφανίζουν LIF score μεταξύ των τιμών 2 και 3 σε ποσοστό $> 30\%$ με ταυτόχρονη παρουσία λίπους σε ποσοστό $> 5,6\%$. Στη συνέχεια γίνεται μία ακόμη αιμοληψία προκειμένου να γίνουν κάποιες περαιτέρω βιοχημικές εξετάσεις όπως μέτρηση ολικής, HDL, LDL χοληστερόλης και TGs καθώς και γλυκόζης νηστείας, ινσουλίνης, υπολογισμός HOMA-IR (homeostasis model assesment) και καμπύλη γλυκόζης (OGTT). Ακόμη, μία ποσότητα αίματος χρησιμοποιήθηκε για την αποθήκευση ορού, πλάσματος και buffy coat και ερυθροκυττάρων τα οποία μαζί με ένα δείγμα κοπράνων από τον εκάστοτε εθελοντή στάλθηκαν σε συνεργαζόμενα ερευνητικά κέντρα για την αξιολόγηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων της μελέτης. Σε αυτή τη φάση της μελέτης, συμπληρώθηκαν κάποια επιπλέον ερωτηματολόγια τα οποία αξιολογούν τη φυσική δραστηριότητα με το επικυρώμενο ερωτηματολόγιο IPAQ (International Physical Activity Questionnaire) και τις διατροφικές συνήθειες με μία ανάκληση 24ώρου και μέσω ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 69 ερωτήσεων (69-item FFQ) το οποίο αφορά το τελευταίο 6μηνο. Οι εθελοντές κλήθηκαν επίσης να συμπληρώσουν ένα 3-ήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων για μία καθημερινή μέρα και δύο ημέρες Σαββατοκύριακου. Η ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης έγινε με χρήση του Nutritionist Pro και περιλαμβάνει τον υπολογισμό της θερμιδικής πρόσληψης, του ποσοστού των μακροθρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπιδίων συμπεριλαμβανομένων κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων καθώς και χοληστερόλης), των διαιτητικών ινών και των συστατικών με αντιοξειδωτική δράση.

4.5.4 Έναρξη παρέμβασης

Οι εθελοντές οι οποίοι επιλέχθηκαν χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες: verum και placebo. Κατά την έναρξη της μελέτης, κάθε συμμετέχοντας έλαβε 180 κάψουλες, οι οποίες επαρκούσαν για 1 μήνα. Στο τέλος του κάθε μήνα οι συμμετέχοντες ανεφοδιάζονται με το συμπλήρωμα μαστίχας.

Κατά τον ανεφοδιασμό, το είδος της χορηγούμενης θεραπείας (placebo ή verum) οφείλει να μην τροποποιηθεί. Παράλληλα καθένας εξ αυτών έλαβε καθοδήγηση από εξειδικευμένους διαιτολόγους-διατροφολόγους, μέλη της ερευνητικής ομάδας, για την απώλεια σωματικού βάρους σε ποσοστό μέχρι 5% του παρόντος σωματικού βάρους, για τη μείωση της διαιτητικής πρόσληψης λίπους σε ποσοστό μέχρι 35% της ενεργειακής πρόσληψης και υδατανθράκων σε ποσοστό μέχρι 50% αυτής. Η παρακολούθηση της συμμόρφωσης στο πρωτόκολλο καθώς και η καταγραφή οποιονδήποτε ανεπιθύμητων παρενεργειών σχετιζόμενων με τη λήψη του συμπληρώματος γίνεται μηνιαία.

4.5.5 Συνάντηση 3^{ου} μήνα

Στον 3ο μήνα, οι συμμετέχοντες προσήλθαν και πάλι στο χώρο του Χαροκοπείου για να επαναληφθούν οι ανθρωπομετρήσεις που έλαβαν χώρα κατά την πρώτη συνάντηση. Οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να συμπληρώσουν πάλι ένα ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων για 1 καθημερινή και 2 ημέρες του Σαββατοκύριακου μέχρι την επόμενη συνάντησή τους με τους διαιτολόγους- διατροφολόγους. Έγινε εκ νέου αξιολόγηση της σωματικής δραστηριότητας με τη σύντομη μορφή του Διεθνούς Ερωτηματολογίου Φυσικής Δραστηριότητας (IPAQ Short) που λαμβάνει πληροφορίες για τις τελευταίες 7 ημέρες. Τέλος, έγινε λήψη αίματος για γενική αίματος, μέτρηση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, σιδήρου, φερριτίνης και παραλαβή ορού, πλάσματος και buffy coat.

4.5.6 Ολοκλήρωση της παρέμβασης

Η συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο ολοκληρώθηκε μετά το πέρας 6 μηνών. Οι εθελοντές επανέλαβαν τη μαγνητική τομογραφία όπου επανεκτιμήθηκε το LIF score. Επίσης έγινε η λήψη αίματος για γενική αίματος, βιοχημικές εξετάσεις και για την απομόνωση ορού, πλάσματος ερυθροκυττάρων και buffy coat για την αξιολόγηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων. Ακόμη οι εθελοντές κλήθηκαν να προσκομίσουν δείγμα κοπράνων και επαναλήφθηκαν όλες οι ανθρωπομετρήσεις και η συμπλήρωση των ερωτηματολογίων όπως στην πρώτη και τη δεύτερη συνάντηση. Στο τέλος τη μελέτης αξιολογείται και η συμμόρφωση των συμμετεχόντων. Ως συμμόρφωση στο πρωτόκολλο ορίζεται ο αριθμός των ημερών της μελέτης κατά τις οποίες το εξεταζόμενο φαρμακευτικό προϊόν πραγματικά λήφθηκε από το συμμετέχοντα προς το συνολικό αριθμό των ημερών του follow-up, επιτρέποντας την πρόωρη διακοπή της θεραπείας κατά περίπτωση. Η διακοπή της θεραπείας ορίζεται ως η παράλειψη λήψης του συμπληρώματος για τουλάχιστον 7 συνεχόμενες ημέρες. Τέλος, καταγράφονται τυχόν

παρενέργειες από τη λήψη του συμπληρώματος όπως επίσης και η συχνότητα λήψης συγκεκριμένων παράλληλων φαρμακευτικών αγωγών.

4.6 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Ιντερλευκίνης–10 (IL–10)

Στα πλαίσια της παρούσας πτυχιακής εργασίας προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της ιντερλευκίνης-10, η οποία αποτελεί δείκτη φλεγμονής του ήπατος.

4.6.1 Απομόνωση ορού

Αρχικά συλλέγονται δείγματα αίματος από τους συμμετέχοντες στα οποία γίνεται ο διαχωρισμός του πλάσματος και του ορού μέσω φυγοκέντρησης στις 3000 στροφές/λεπτό, για 10 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου, με τη φυγόκεντρο Eppendorf 5810R. Στη συνέχεια, ο ορός του κάθε δείγματος μεταφέρεται σε ειδικό φιαλίδιο και αποθηκεύεται στους -80 C, τα οποία μετέπειτα θα χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της IL-10.

4.6.2 Πρωτόκολλο ELISA

Ο προσδιορισμός της IL-10 στα δείγματα έγινε με την μέθοδο ELISA τύπου sandwich, με τη χρήση του κιτ “EA 101245 Human IL-10 High Sensitivity ELISA Kit Version 3”. Παρακάτω παρατίθενται τα βήματα που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό της IL-10.

1. Προσθήκη 100μl δείγματος, standards και τυφλό σε κάθε πηγάδι
2. Κάλυψη με πλαστικό κάλυμμα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου με αργό κούνημα για 1 ώρα
3. Απομάκρυνση του καλύμματος και ξέπλυμα του δίσκου ως εξής:
 - Αφαίρεση του υγρού και κάθε υπολειμματικού σταγονιδίου από το πηγάδι
 - Προσθήκη 0.3 ml διαλύματος πλύσης σε κάθε πηγάδι
 - Αφαίρεση του υγρού από το κάθε πηγάδι
 - Επανάληψη των 2 τελευταίων σταδίων άλλες 2 φορές
4. Προσθήκη 50 μl διαλυμένου biotinylated anti-IL-10 σε όλα τα πηγάδια
5. Κάλυψη με πλαστικό κάλυμμα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου με αργό κούνημα για 1 ώρα
6. Επανάληψη ξέπλυματος όπως στο 3^ο βήμα
7. Προσθήκη 100μl Streptavidin-HRP solution 1 σε όλα τα πηγάδια
8. Κάλυψη με πλαστικό κάλυμμα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου με αργό κούνημα για 20 λεπτά
9. Επανάληψη ξέπλυματος όπως στο 3^ο βήμα
10. Προσθήκη 100 μl του ενισχυτή σε όλα τα πηγάδια
11. Κάλυψη με πλαστικό κάλυμμα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου με αργό κούνημα για 15 λεπτά

12. Επανάληψη ξεπλύματος όπως στο 3ο βήμα
13. Προσθήκη 100μl Streptavidin-HRP solution 2 σε όλα τα πηγάδια
14. Κάλυψη με πλαστικό κάλυμμα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου με αργό κούνημα για 20 λεπτά
15. Επανάληψη ξεπλύματος όπως στο 3ο βήμα
16. Προσθήκη 100μl έτοιμο για χρήση TMB Substrate Solution σε όλα τα πηγάδια
17. Επώαση στο σκοτάδι για 15-20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
18. Διακοπή της αντίδρασης με προσθήκη 100μl H₂SO₄: Stop Reagent σε όλα τα πηγάδια
19. Φωτομέτρηση στα 450 nm αμέσως μετά το βήμα 18

5. Αποτελέσματα - Συζήτηση

5.1 Περιγραφή του δείγματος

Στη μελέτη επιλέχθηκαν 22 εθελοντές και τυχαιοποιήθηκαν είτε στην ομάδα Α είτε στην ομάδα Β. Στους 3 μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης οι 17 ασθενείς προσήλθαν για τον τρίμηνο επανέλεγχο, ενώ 5 εθελοντές αποχώρησαν από τη μελέτη λόγω δικής τους επιθυμίας.

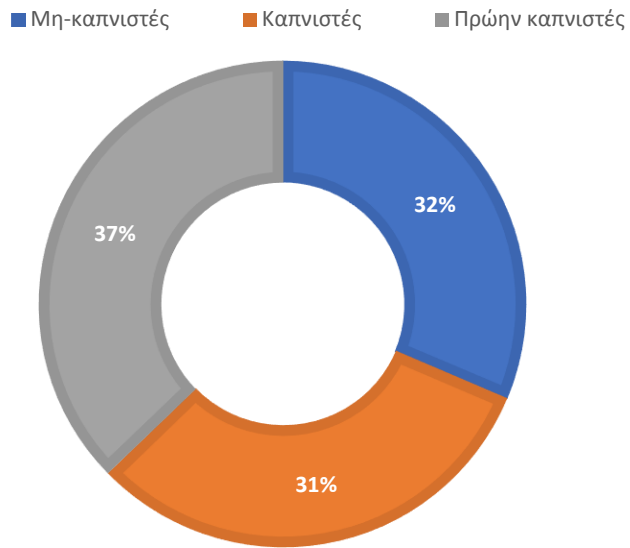
Πίνακας 5.1.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος (n=22) στο χρόνο 0.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	Μ.Ο. ± ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ
Ηλικία (έτη)	48,5±7,8
Βάρος (kg)	103,6±31,4
ΔΜΣ (kg/m ²)	34,4±9,8
Φύλο - Γυναίκες (%)	41%
Περιφέρεια μέσης (cm)	110,9±38,2
Περιφέρεια ισχύος (cm)	114,4±39,0

Στον πίνακα που παρατίθεται παραπάνω απεικονίζονται ορισμένα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος (των 22 ατόμων) τα οποία μετρήθηκαν μόλις πριν την έναρξη της παρέμβασης. Οι άντρες αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό του δείγματος κατά 59%. Κατά μέσο όρο η ηλικία των εθελοντών είναι τα 48,5 έτη, ενώ ο δείκτης μάζας σώματος είναι 34,4 kg/m². Οι εθελοντές επίσης φαίνεται πως έχουν αυξημένες τιμές στην περιφέρεια μέσης και περιφέρεια ισχύος, γεγονός το οποίο είναι αναμενόμενο λόγω της παχυσαρκίας καθώς της συσχέτισης της NAFLD με το μεταβολικό σύνδρομο.

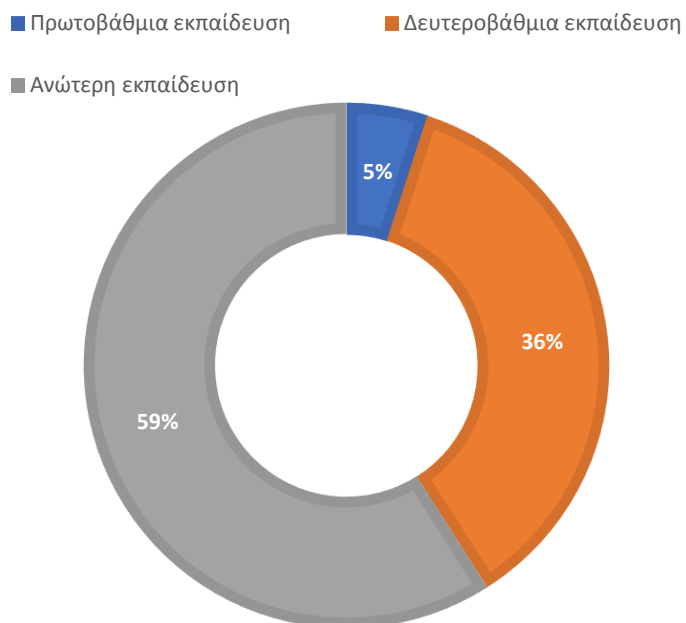
Αναφορικά με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος, το μεγαλύτερο ποσοστό των εθελοντών έχουν υπάρξει καπνιστές έστω για κάποια χρόνια κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Συγκεκριμένα, το 32% των εθελοντών δήλωσαν ότι είναι καπνιστές, το ίδιο ποσοστό δήλωσε ότι είναι μη-καπνιστές, ενώ το 38% του δείγματος είναι πρώην καπνιστές.

Σχήμα 5.1.1. Καπνιστικές συνήθειες δείγματος



Το μορφωτικό επίπεδο των εθελοντών είναι υψηλό με το 59% των εθελοντών να έχει ανώτερη εκπαίδευση. Μόλις το 5% των εθελοντών έχει πρωτοβάθμια εκπαίδευση, ενώ το υπόλοιπο 36% έχει ολοκληρώσει τα 12 έτη φοίτησης στο σχολείο.

Σχήμα 5.1.2. Μορφωτικό επίπεδο δείγματος



Στον πίνακα 5.1.2. φαίνονται τα κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος τα οποία θα αναλυθούν στο επόμενο υποκεφάλαιο.

Πίνακας 5.1.2. Κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος στο χρόνο 0.

Μεταβλητές	Μ.Ο. ± Τυπικοί απόκλιση
Ολική χοληστερόλη	187,2±46,0
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	160,6±71,7
HDL-χοληστερόλη	44,5±11,6
LDL-χοληστερόλη	112,1±31,3
Γλυκόζη (mg/dl)	98,4±22,9
Ινσουλίνη (μIU/ml)	29,2±19,1
Σίδηρος (ug/ml)	83,6±26,7
Φερριτίνη (ng/ml)	110,6±61,0
Αλβουμίνη (g/dl)	4,4±1,0
SGOT (iu/l)	20,8±7,1
SGPT (iu/l)	30,7±13,6
γ-GT (iu/l)	58,5±73,9

5.2 Στατιστική ανάλυση

Στις στατιστικές αναλύσεις της παρούσας εργασίας λήφθηκαν υπόψιν τα αποτελέσματα των 17 εθελοντών που ολοκλήρωσαν τον 3μηνο επανέλεγχο και πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS version 23.0.

5.2.1 Βιοχημικοί δείκτες

Αναφορικά με το λιπιδαιμικό προφίλ των συμμετεχόντων, όπως φαίνεται από τον πίνακα 5.2.2, στο χρόνο 0 η μέση τιμή της ολικής χοληστερόλης στους εθελοντές της Α ομάδας είναι οριακά αυξημένη, ενώ στους εθελοντές της Β ομάδας βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Ο μέσος όρος των τριγλυκεριδίων των ασθενών της ομάδας Α είναι αυξημένος, σε αντίθεση με την πλειονότητα των ασθενών της Β ομάδας που παρουσιάζει φυσιολογικές τιμές. Οι τιμές της LDL

χοληστερόλης και HDL χοληστερόλης κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα και για τις δύο ομάδες παρέμβασης. Όπως αναφέρθηκε στο 1^ο κεφάλαιο, η δυσλιπιδαιμία είναι συνήθης παράγοντας κινδύνου της NAFLD, καθώς αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης και υπερτριγλυκεριδαιμία φαίνεται να παρουσιάζουν από το 20% έως το 80% των ασθενών με NAFLD.[9] Επίσης σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, χαμηλά επίπεδα της HDL μπορούν να παρατηρηθούν στο 30 – 42 % των ασθενών.[6] Επομένως, όπως ήταν αναμενόμενο παρατηρήθηκε υπερτριγλυκεριδαιμία και αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης σε ένα μέρος του δείγματος.

Ακόμη όπως φαίνεται στον πίνακα 5.2.2, κατά μέσο όρο οι τιμές της γλυκόζης νηστείας στο πλάσμα είναι οριακές και οι τιμές της ινσουλίνης βρίσκονται πάνω από τα φυσιολογικά επίπεδα. Τα ευρήματα αυτά αντικατοπτρίζουν την παθογένεια της νόσου η οποία σχετίζεται πολύ στενά με την ινσουλινοαντίσταση. Στη συνέχεια, τα επίπεδα του σιδήρου και της φερριτίνης βρίσκονται μέσα στα όρια και στις δύο ομάδες της παρέμβασης. Σύμφωνα, με τη βιβλιογραφία, μπορεί να παρατηρηθούν αυξημένες συγκεντρώσεις φερριτίνης στο ένα τρίτο και παράπανω των ασθενών με NAFLD. [62]

Οι τρανσαμινάσες SGOT και SGPT κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα και στις δύο ομάδες Α και Β. Οι τρανσαμινάσες αποτελούν δείκτες ηπατικής βλάβης, οι οποίοι όπως επισημάνθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο δεν αποτελούν αξιόπιστους προγνωστικούς δείκτες της νόσου, καθώς είναι σύνηθες οι ασθενείς με NAFLD να παρουσιάζουν φυσιολογικές τιμές, Η πλειοψηφία των εθελοντών παρουσίασε φυσιολογικές τιμές της γ-GT, της οποίας αυξημένες συγκεντρώσεις συνεπάγονται με παρουσία ηπατικής νόσου.

Τα επίπεδα της αλβουμίνης εμφανίζονται φυσιολογικά στο δείγμα της μελέτης. Η αλβουμίνη έχει συσχετιστεί με τη στεατοηπατίτιδα καθώς και σαν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης της θνησιμότητας οφειλόμενης σε ηπατική νόσο.[31] Σε μία μελέτη από τους Kaneda H. et al υψηλότερα επίπεδα της αλβουμίνης βρέθηκαν σε ασθενείς με ήπια ίνωση, ενώ χαμηλότερα επίπεδα παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με εκτεταμένη ίνωση και η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική.[63] Τέλος, τα αιμοπετάλια βρίσκονται εντός των φυσιολογικών ορίων στο δείγμα της μελέτης. Στη NAFLD, τα αιμοπετάλια είναι σημαντικά ως προς τον αριθμό τους αλλά και τον όγκο τους. Σε διαφορετικές μελέτες, η μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων κάτω από τις 160.000 έχει θεωρηθεί ως ανεξάρτητος δείκτης του σταδίου της ηπατικής ίνωσης. [31]

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος t-test για κάθε γκρουπ παρέμβασης ξεχωριστά (Α και Β) μεταξύ του μέσου όρου κάθε βιοχημικού δείκτη και του χρόνου της παρέμβασης, δηλαδή time 0 και time 3. Με λίγα λόγια, συγκρίθηκαν οι μέσοι όροι των βιοχημικών δεικτών στην έναρξη της παρέμβασης και στον επανέλεγχο κατά τον 3^ο μήνα και ελέγχθηκε αν υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο χρόνων στην ομάδα του verum αλλά και στην ομάδα του placebo ξεχωριστά. Οι μέσοι όροι των μεταβλητών καθώς και τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5.2.1.1. Σύγκριση των μέσων όρων των βιοχημικών δεικτών στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3.

	GROUP A			GROUP B		
	ΜΟ±Τυπική απόκλιση time 0	ΜΟ±Τυπική απόκλιση time 3	p- value	ΜΟ±Τυπική απόκλιση time 0	ΜΟ±Τυπική απόκλιση time 3	p- value
Αιμοπετάλια (x10 ⁹ /l)	266,4±58,8	236,7±46,7	0,31	314,1±67,2	274,1±67,8	0,20
Ολική χοληστερόλη	200,3±24,3	208,7±82,2	0,52	193,1±26,3	204,0±29,7	0,39
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	210,6±73,7	327,7±343,3	0,60	125,8±58,3	137,8±40,7	0,28
HDL- χοληστερόλη	43,7±7,1	42,0±16,8	0,28	48,9±7,6	45,2±8,0	0,30
LDL- χοληστερόλη	114,4±28,6	121,2±58,1	0,67	118,6±24,3	131,2±29,6	0,31
Γλυκόζη (mg/dl)	103,7±6,4	105,7±6,1	0,56	103,4±5,2	98,9±8,7	0,17
Ινσουλίνη (μIU/ml)	31,9±24,8	22,4±10,6	0,23	27,5±17,5	24,6±13,0	0,67
γ-GT (iu/l)	72,4±112,1	67,2±81,4	0,64	42,0±42,0	38,0±32,7	0,81
Σίδηρος (ug/ml)	92,0±14,5	92,3±51,2	0,07	83,8±26,4	87,3±21,8	0,75
Φερριτίνη (ng/ml)	91,7±45,1	85,9±53,9	0,56	130,4±68,6	131,8±74,3	0,96

SGOT (iu/l)	19,3±5,5	21,1±5,5	0,53	23,6±6,7	21,5±6,6	0,48
SGPT (iu/l)	27,4±13,4	26,6±12,9	0,90	35,1±13,7	29,6±16,6	0,42
Αλβουμίνη (g/dl)	4,5±0,2	4,2±0,6	0,30	4,7±0,3	4,6±0,2	0,43

Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανέναν από τους βιοχημικούς δείκτες μεταξύ των δύο χρόνων της παρέμβασης ούτε στην ομάδα Α αλλά ,ούτε στην ομάδα Β.

Σε μελέτη των Α. Triantafyllou et. al το 2007, χορηγήθηκαν στην πρώτη ομάδα της παρέμβασης 5 γρ μαστίχας, σε μορφή σκόνης, ημερησίως, για 18 μήνες και πολύ μικρή ποσότητα μαστίχας στην δεύτερη ομάδα (σχεδόν το ένα έβδομο της ποσότητας που χορηγούταν στην πρώτη ομάδα) για 12 μήνες. Τα αποτελέσματα στην ομάδα που χορηγήθηκε η υψηλή δόση της μαστίχας έδειξαν μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης, της LDL, της SGOT, της SGPT καθώς και της γ-GT [60]. Επίσης, σε μελέτη των Athanasios Kartalis et al το 2015 με εθελοντές με αυξημένα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, στην ομάδα στην οποία χορηγήθηκε 1 γρ. μαστίχας σε μορφή κάψουλας παρατηρήθηκε έπειτα από 8 βδομάδες στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης. Καμία αλλαγή δεν σημειώθηκε σε άλλους λιπιδαιμικούς δείκτες. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντιπαράθεση με τα παραπάνω ευρήματα που δεν σημειώθηκε κάποια αλλαγή σε κάποιον από τους ηπατικούς ή λιπιδαιμικούς δείκτες έπειτα από τη χορήγηση 2.1 γρ. μαστίχας για 3 μήνες. [64]

Έπειτα, υπολογίστηκε το «Δmean %» της κάθε μεταβλητής για τις συγκεντρώσεις στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3 βάσει του τύπου: [(συγκέντρωση time 3 - συγκέντρωση time 0)/συγκέντρωση time 0] x 100. Στο σχήμα 5.2.1.1. αποτυπώνονται οι μεταβολές σε κάθε μεταβλητή στην ομάδα Α και στην ομάδα Β. Τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης αυξήθηκαν κατά 5,2 % της αρχικής τιμής στην ομάδα Α και κατά 5,7 % στην ομάδα Β. Παρομοίως, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της LDL σημείωσαν αύξηση και στις δύο ομάδες. Τα επίπεδα της HDL έμειναν σχεδόν σταθερά για την ομάδα Α, ενώ μειώθηκαν κατά 7,5% για τη Β ομάδα. Οι τιμές της γλυκόζης σημείωσαν θετική μεταβολή για την Α ομάδα και αρνητική μεταβολή για την Β ομάδα. Για την ινσουλίνη, στην Α ομάδα υπήρξε μία μείωση της τάξης του 6,9%, ενώ οι τιμές της στην ομάδα Β παρέμειναν σταθερές. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι οι τιμές των SGOT και SGPT αυξήθηκαν στην ομάδα Α ενώ μειώθηκαν στην ομάδα Β. Οι συγκεντρώσεις του σιδήρου

παρουσίασαν αύξηση κατά 7,2 % και 8,7 % για την ομάδα A και B αντίστοιχα. Η Τα επίπεδα της φερριτίνης μειώθηκαν κατά 12,4 % στην ομάδα A και αυξήθηκαν κατά 7,3 % στην ομάδα B. Οι τιμές της αλβουμίνης και της γ-GT μειώθηκαν και για τις δύο ομάδες.



Σχήμα 5.2.1.1.Ραβδόγραμμα των μεταβολών των μεταβλητών στις ομάδες A και B.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε έλεγχος t-test του μέσο όρου του «Δmean %» κάθε βιοχημικού δείκτη μεταξύ της ομάδας Α και της ομάδας Β. Με αυτόν τον τρόπο, συγκρίθηκαν οι μεταβολές των βιοχημικών δεικτών μεταξύ των δύο ομάδων της παρέμβασης. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα 5.2.1.2. Με τον έλεγχο t-tet δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις μεταβολές των μεταβλητών μεταξύ των δύο ομάδων.

Πίνακας 5.2.1.2 Σύγκριση των μέσων όρων των Δmean % κάθε βιοχημικού δείκτη της ομάδας Α σχέση με την ομάδα Β..

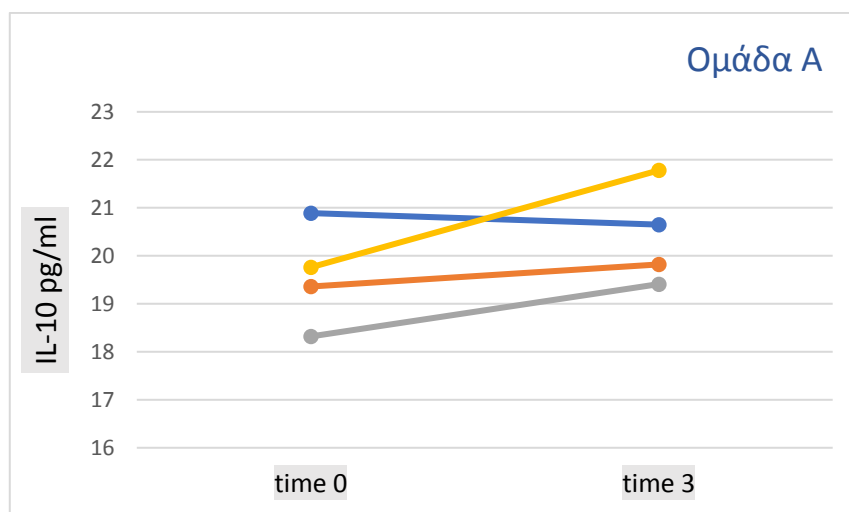
	Group A M.O.± Τυπική απόκλιση Δmean %	Group B M.O. ± Τυπική απόκλιση Δmean %	p-value
Αιμοπετάλια ($\times 10^9/l$)	-10,6±5,9	-13,0±9,3	0,54
Ολική χοληστερόλη	5,2±10,3	5,7±5,0	0,76
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	39,4±84,4	18,6±28,3	0,55
HDL- χοληστερόλη	-0,8±7,7	-7,5±8,2	0,10
LDL- χοληστερόλη	5,2±11,4	10,4±7,8	0,21
Γλυκόζη (mg/dl)	2,3±9,7	-4,2±8,3	0,15
Ινσουλίνη ($\mu IU/ml$)	-6,9±47,7	0,1±40,6	0,78
Σίδηρος ($\mu g/ml$)	7,2±14,7	8,7±27,8	0,70
Φερριτίνη (ng/ml)	-12,4±10,7	7,3±29,3	0,23
γ -GT (iu/l)	-12,1±13,8	-4,6±10,3	0,49
SGOT (iu/l)	26,5±72,2	-6,7±25,1	0,19
SGPT (iu/l)	40,1±151,6	-16,7±34,5	0,26
Αλβουμίνη (g/dl)	-5,9±10,6	-1,6±4,4	0,25

5.2.2 Ιντερλευκίνη-10

Πίνακας 5.2.2.1. Οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων της IL-10 στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3.

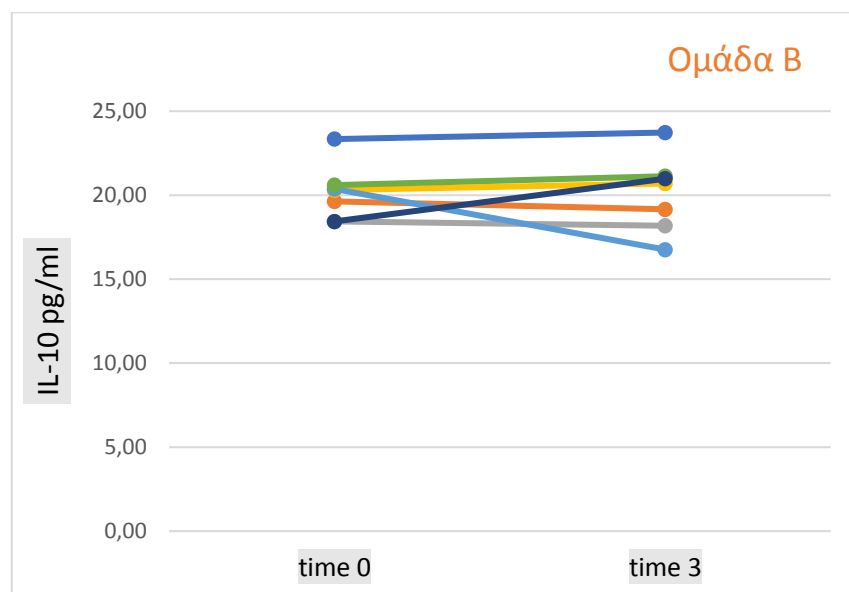
	IL-10 (pg/ml) Μ.Ο±Τυπική Απόκλιση	
	Time 0	Time 3
Group A (n=4)	19,58±1,06	20,42±1,04
Group B (n=7)	19,63±1,66	19,55±2,27

Σχήμα 5.2.2.1 Μεταβολές στη συγκέντρωση της IL-10 στους 4 εθελοντές του επανελέγχου στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3.



Όπως φαίνεται στο σχήμα 5.2.2.1. στην ομάδα Α παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της IL-10 στους 3 εθελοντές, ενώ παρατηρήθηκε μείωση στον τέταρτο.

Σχήμα 5.2.2.2. Μεταβολές στη συγκέντρωση της IL-10 στους 7 εθελοντές του επανελέγχου στο χρόνο 0 και στο χρόνο 3.



Σύμφωνα με το σχήμα 5.2.2.2. στην ομάδα Β, η συγκέντρωση της IL-10 αυξήθηκε για ένα εθελοντή, μειώθηκε για έναν και έμεινε σχεδόν στα ίδια επίπεδα για τους υπόλοιπους 5 εθελοντές.

Όπως αναφέρθηκε στο 1^ο κεφάλαιο, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι ασθενείς με NAFLD παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές IL-10 σε σύγκριση με το υγιές δείγμα ενώ επίσης τα επίπεδα της IL-10 μειώνονται καθώς αυξάνεται η σοβαρότητα της νόσου. Τέλος, η συγκέντρωση της IL-10 έχει συσχετιστεί αρνητικά με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και θετικά με τα επίπεδα της HDL.[23,27]

Από τα πρώτα αποτελέσματα είναι αδύνατον να αξιολογηθεί η χορήγηση της μαστίχας ως μη φαρμακολογική θεραπεία σε ασθενείς με NAFLD. Περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτελεί το μικρό δείγμα καθώς και το μικρό διάστημα της παρέμβασης. Με τη διεύρυνση του δείγματος με τη προσθήκη των αποτελεσμάτων από τα υπόλοιπα κέντρα της μελέτης θα έχουμε τη δυνατότητα για την αξιολόγηση της επίδρασης της μαστίχας σε βιοχημικούς δείκτες αλλά και σε δείκτες φλεγμονής όπως η ιντερλευκίνη-10. Ακόμη, εκτός από την ενίσχυση του δείγματος, η ολοκλήρωση της 6μηνης παρέμβασης είναι επίσης απαραίτητη για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και τη διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Βιβλιογραφία

1. Marchesini, G., et al., Obesity-Associated Liver Disease. *J Clin. Endocrinol Metab*, 2008. 93(11): p. S74–S80.
2. Chen, G., et al., Micronutrient Antioxidants and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*, 2016. 17(9).
3. Hassan, K., et al., Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 2014. 20(34): p. 12082-12101.
4. Leite, C.N., et al., Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes: From physiopathological interplay to diagnosis and treatment. *World Journal of Gastroenterology*, 2014. 20(26): p. 8377-8392.
5. Mishra, A., Younossi, Z.M., Epidemiology and Natural History of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 2012. 2(2): p. 135-144.
6. Machado, M.V., and H.Cortez-Pint, Non-alcoholic fatty liver disease: What the clinician needs to know. *World Journal of Gastroenterology*, 2014. 20(36): p. 12956-12980.
7. Vernon, G., et al., Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011. 34(3): p. 274-85.
8. Chalasani, N., et al., The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 2012. 55(6): p. 2005-23.
9. Souza, M.R., et al., Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol*, 2012. 49(1): p. 89-96.
10. Fabbrini, E. et al., Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic, and Clinical Implications. *Hepatology*, 2010. 51(2): p. 679–689.
11. Dietrich, P., and Hellerbrand, C., Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2014 28(4): p. 637-53.
12. Buzzetti, E., et al., The multiple-hit pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 2016. 65(8): p. 1038-48.
13. Gusdon, A.M., et al., Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis and Therapeutics from a Mitochondria-Centric Perspective. *Oxid Med Cell Longev*, 2014. 2014: 637027.
14. Tilg, H. and Moschen, A.R., Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, 2010. 52(5): p. 1836-46.
15. Doulberis, M., et al., Non-alcoholic fatty liver disease: An update with special focus on the role of gut microbiota. *Metabolism*, 2017. 71: p. 182-197.
16. Dongiovanni, P., et al., Genetic Factors in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver and Steatohepatitis. *Biomed Res Int*, 2015. 2015: p. 460190.
17. Sookoian, S., et al., Genetic predisposition in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*, 2017. 23(1): p. 1–12.

18. Dongiovanni, P., Genetic Predisposition in NAFLD and NASH: Impact on Severity of Liver Disease and Response to Treatment. *Current Pharmaceutical Design*, 2013. 19: p. 5219-5238.
19. Yasutake, K., et al., Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2014. 20(7): p. 1756-67.
20. Fan, J.G. and Cao, H.X., Role of diet and nutritional management in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013. 28 Suppl 4: p. 81-7.
21. Abenavoli, L., et al., Metabolic aspects of adult patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2016. 21;22(31): p. 7006-16.
22. Berlanga, A., et al., Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Gastroenterol*, 2014. 7: p. 221-39.
23. Zahran, W.E., et al., Efficacy of Tumor Necrosis Factor and Interleukin-10 Analysis in the Follow-up of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression. *Indian J Clin Biochem*, 2013. 28(2): p. 141-146.
24. Moore, K.W., Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 2001. 19: p. 683-765.
25. Cintra, D.E., et al., Interleukin-10 is a protective factor against diet-induced insulin resistance in liver. *Journal of Hepatology*, 2008. 48(4): p. 628-37.
26. Das, S.K., and V. Balakrishnan, Role of Cytokines in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Indian J Clin Biochem*, 2011. 26(2): p. 202–209.
27. Paredes-Turrubiarte, G. Severity of non-alcoholic fatty liver disease is associated with high systemic levels of tumor necrosis factor alpha and low serum interleukin 10 in morbidly obese patients. *Clin Exp Med*, 2016. 16(2): p. 193-202.
28. Marion A.M. den Boer, et al., Endogenous interleukin- 10 protects against hepatic steatosis but does not improve insulin sensitivity during high-fat feeding in mice. *Endocrinology*, 2006. 147(10): p. 4553-4558.
29. Koukias, N., et al., Intestinal hormones, gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease. *Minerva Endocrinologica*, 2017. 42(2): p. 184-94.
30. Takahashi, Y. and T. Fukusato, Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/ nonalcoholic steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 2014. 20(42): p. 15539-15548.
31. Hadizadeh, F., et al., Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2017. 8(2): p. 11–26.
32. Sanal, M.G., Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease-the emperor has no clothes? *World J Gastroenterol*, 2015. 21(11): p. 3223-31.
33. Koplay, M., et al., Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 2015. 7(5): p. 769-76.
34. Hashimoto, E., et al., Characteristics and diagnosis of NAFLD/NASH. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2013. 28: p. 64-70.

35. Dowman, J.K., et al., Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011. 33(5): p. 525-40.
36. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Obes Facts*, 2016. 9(2): p. 65-90.
37. Schwenger, K.J.P. and J.P. Allard, Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2014. 20(7): p. 1712-1723.
38. Hossain, N., et al., A Comprehensive Updated Review of Pharmaceutical and Nonpharmaceutical Treatment for NAFLD. *Gastroenterol Res Pract*, 2016. 2016: p. 7109270.
39. Hannah, W.N., et al., Lifestyle and Dietary Interventions in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*, 2016. 61(5): p. 1365-74.
40. Zelber-Sagi, S., et al., The Mediterranean pattern as the diet of choice for nafld. Evidence and plausible mechanisms. *Liver International*, 2017. 37(7): p. 936-949.
41. Ratzl, V., Non-pharmacological interventions in non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver International*, 2017. 37(1): p. 90–96.
42. Dajani, A. and A. AbuHammour, Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Where do we Stand? An Overview. *Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 2016. 22(2): p. 91-105.
43. Dongiovanni, P., et al., Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016. 29: p. 1-11.
44. Shin, JH., and Jung, JH., Non-alcoholic fatty liver disease and flavonoids: Current perspectives. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2017. 41(1): p. 17-24.
45. Murillo, A.G., et al., The Potential of Non-Provitamin A Carotenoids for the Prevention and Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Biology (Basel)*, 2016. 5(4): p. 42.
46. Salomone, F., et al., Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives. *Liver International*, 2016. 36(1): p 5-20.
47. Shen, H., et al., Association between caffeine consumption and nonalcoholic fatty liver disease: a systemic review and meta-analysis. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2016. 9(1): p. 113-120.
48. Dimas, K.S., P. Pantazis, and R. Ramanujam, Review: Chios mastic gum: a plant-produced resin exhibiting numerous diverse pharmaceutical and biomedical properties. *In Vivo*, 2012. 26(5): p. 777-85.
49. Koutsoudaki, C., et al., Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil and the Gum of *Pistacia lentiscus* Var. *chia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20): p. 7681-7685.
50. Li, Z., et al., Re-evaluation of Anti-inflammatory activity of Mastic Using Activated Macrophages. *In Vivo*, 2009. 23(4): p. 583-589.
51. Qiao, J., et al., Mastic alleviates allergic inflammation in asthmatic model mice by inhibiting recruitment of eosinophils. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 2011. 45(1): p. 95-100.

52. Kaliora, A.C., et al., Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2007. 13(5): p. 748-753.
53. Al-Habbal, M.J., et al., A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1984. 11(5): p. 541-544.
54. Kaliora A.C., et al., Mastic gum and gastrointestinal diseases. *Annals of Gastroenterology*, 2005. 18(2): p. 110-111.
55. Huwez, F.U., et al., Mastic Gum Kills *Helicobacter pylori*. *The New England Journal of Medicine*, 1998. 339(26): p. 1946-1946.
56. Bebb, J.R., et al., Mastic gum has no effect on *Helicobacter pylori* load in vivo. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003. 52(3): p. 522-523.
57. Andrikopoulos, N.K., et al., Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytother Res*, 2003. 17(5): p. 501-7.
58. Assimopoulou, A.N., Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chemistry*, 2005. 92(4): p. 721-727.
59. Dedoussis, G.V., et al., Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 2004. 174(2): p. 293-303.
60. Triantafyllou, A., et al., Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of ethnopharmacology*, 2007. 111(1): p. 43-49.
61. Paraschos, S., et al., Antiatheromatic and hypolipidemic activity of Chios Mastic Gum in anesthetized rabbits. *Planta Medica*, 2008.
62. Boga, S., et al., The relationship of serum hemojuvelin and hepcidin levels with iron overload in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 2015. 24(3), p. 293-300.
63. Kaneda, H., et al., Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006. 21: p. 1459-1465.
64. Kartalis, A., et al., Effects of Chios mastic gum on cholesterol and glucose levels of healthy volunteers: A prospective, randomized, placebo-controlled, pilot study (CHIOS-MASTIHA). *European journal of preventive cardiology*, 2016. 23(7): p. 722- 729.
65. Strackowski, M., et al., Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. *Diabetes Care*, 2005. 28: p. 2036-2037.
66. Kim, H.J., et al. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. *Diabetes*, 2004. 53: p. 1060-1067.
67. Mahmoudi, M., et al., Antiinflammatory and antioxidant activities of gum mastic. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2010. 14(9): p. 765-9.

Διαδίκτυο:

<https://www.gummastic.gr/el/>, 19/06/2017