



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
« ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ – ΔΙΑΤΡΟΦΗ »

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ « ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ »

Διπλωματική Εργασία

« Επίδραση διατροφικού συμπληρώματος με φυσική μαστίχα Χίου στη σύσταση σώματος και δείκτες παχυσαρκίας σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD »

Μαγδαληνή Τζούμα

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2018





ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΣΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
« ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ – ΔΙΑΤΡΟΦΗ »

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ « ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ »

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Τσίγκος Κωνσταντίνος (επιβλέπων), Καθηγητής Ενδοκρινολογίας, Διατροφής και Μεταβολισμού, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Δεδούσης Γεώργιος, Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Καλιώρα Ανδριάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Διατροφής του Ανθρώπου και Τρόφιμα, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η **Μαγδαλινή Τζούμα** δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δεν 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.

*Αφιερωμένο,
στα δύο αδελφάκια μου*

« Του μαστιχόδεντρου την ευωδιά θα
χρησιμοποιήσω, για την πληγή του έρωτα
μήπως και τηνε κλείσω »

(παραλλαγή από Κρητική Μαντινάδα)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους καθηγητές κ. Δεδούση Γεώργιο και κ. Καλιώρα Ανδριάνα για την εμπιστοσύνη τους και την ένταξη μου στο ερευνητικό πρόγραμμα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Mast4Health. Θερμές ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Τσίγκο Κωνσταντίνο για την άμεση ανταπόκριση του καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, τις υποδείξεις, το χρόνο και εύστοχα σχόλια του.

Η καθοδηγητική συμβουλευτική της υποψήφιας Διδάκτορος Χαράς Αμερικάνου κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας από την πρώτη έως την τελευταία στιγμή ήταν για μένα ανεκτίμητη. Η υπομονή της στην εργαστηριακή εκπαίδευση της ομάδας, η διαρκής διαθεσιμότητα της για οποιαδήποτε δυσκολία μας αλλά και η επιστημονική και κριτική όψη των πεπραγμένων αποτέλεσε για εμάς σπουδαίο μάθημα.

Δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω καρδιακά όλη την ομάδα του Mast4Health, τις αγαπημένες συναδέλφους (mastihagirls) που μοιραστήκαμε στον ένα αυτό χρόνο το βίωμα ενός ερευνητικού προγράμματος με όλες τις χαρές και δυσκολίες. Το να αισθάνεται κανείς ότι η ομάδα που δουλεύει είναι μία αγκαλιά, πρόθυμη να καλύψει προσωπικές αδυναμίες είναι Δώρο ανεκτίμητο. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να αναφέρω την Victoria Bruns που ήρθε στην Ελλάδα και στο πανεπιστήμιο μας στα πλαίσια ανταλλαγών ερευνητικού προσωπικού, εργαζόμενη στην ερευνητική ομάδα της Sanofi - Aventis Deutschland GmbH, στη Γερμανία. Η εργαστηριακή της εμπειρία και η από κοινού εκτέλεση μέρους πειραματικών διαδικασιών, η προτροπή της και ο ενθαρρυντικός της λόγος λειτούργησαν καταλυτικά στην εξοικείωσή μου και στο χώρο αυτό.

Τίποτα δεν θα είχε ολοκληρωθεί αν δεν είχα δίπλα μου την στήριξη των δικών μου ανθρώπων τους οποίους ευχαριστώ θερμά! Εμφανώς και αφανώς συνετέλεσαν ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας αλλά κυρίως στον πόθο για αναζήτηση της αλήθειας!

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
ABSTRACT	11
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
1.1 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος	13
1.1.1 Ορισμός	14
1.1.2 Επιπολασμός	16
1.1.3 Φυσική Ιστορία	18
1.1.4 Φυσική εξέλιξη της νόσου	20
1.1.5 Παθοφυσιολογία της νόσου	21
1.1.6 Διάγνωση	34
1.1.7 Θεραπεία	48
1.2 Σύσταση Σώματος και Μέθοδοι Ανάλυσης Σύστασης Σώματος	56
1.2.1 Ιστοί του ανθρώπινου σώματος	56
1.2.2 Μοντέλα Σύστασης Σώματος	68
1.2.3 Μέθοδοι Ανάλυσης σύστασης σώματος	71
1.3 Σύσταση Σώματος και Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος	84
1.3.1 Παχυσαρκία και NAFLD	84
1.3.2 Μη λιπώδεις ιστοί και NAFLD	89
1.4 Μαστίχα Χίου	99
1.4.1 Η παράδοση της μαστίχας	101
1.4.2 Τα είδη της μαστίχας	102
1.4.3 Η διαδικασία παραγωγής της μαστίχας	103
1.4.4 Ευεργετικές δράσεις της μαστίχας	106
2. ΣΚΟΠΟΣ	111
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	112
3.1 Σχεδιασμός της μελέτης MAST4HEALTH	112
3.2 Πρωτεύοντα και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία	112
3.3 Πληθυσμός της μελέτης	114
3.4 Διεξαγωγή της μελέτης	117
3.4.1 Τυχαιοποίηση - Τυφλοποίηση	117
3.4.2 Δειγματοληψία ασθενών, επισκέψεις και παρακολούθηση συμμόρφωσης	117
3.4.3 Συνοπτική παρουσίαση εξεταζομένων παραμέτρων της μελέτης	123
3.4.4 Πρωτόκολλο Ανάλυσης Σύστασης Σώματος της μελέτης	124

3.4.5	Διαδικασία στρατολόγησης των εθελοντών της μελέτης και παρουσίαση του διαγράμματος ροής.....	126
3.4.6	Στατιστική Ανάλυση	128
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	129
5.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	146
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	152

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Στηριζόμενοι στην όλο και εμπλουτιζόμενη βιβλιογραφία που συνδέει τη σύσταση του σώματος με την εμφάνιση ή/και εξέλιξη της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος (NAFLD), **σκοπός** της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της μαστίχας Χίου στη σύσταση του σώματος και τους δείκτες παχυσαρκίας σε παχύσαρκους ασθενείς με τη νόσο, στα πλαίσια της μελέτης Mast4Health.

Μεθοδολογία: Η μελέτη Mast4Health συνιστά μία πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή έναντι εικονικού σκευάσματος κλινική δοκιμή, στόχος της οποίας είναι να διερευνήσει την επίδραση εξάμηνης χορήγησης Μαστίχας Χίου, στη δόση των 2,1g ημερησίως, στη NAFLD. Η διάγνωση της ηπατικής νόσου έγινε με τη χρήση της μαγνητικής τομογραφίας (μέθοδος LiverMultiScan), και υπολογισμό του Liver Fibrosis (LIF) score. Από τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας, 22 άτομα κρίθηκαν κατάλληλα για τη συμμετοχή στη μελέτη, εκ των οποίων τα 17 ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο. Αναλύθηκαν οι μεταβολές στο σωματικό βάρος, Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), περιφέρεια μέσης, λόγο περιφέρειας μέσης / ισχίου, και στη σύσταση σώματος (λιπώδη μάζα, μυϊκή μάζα, οστική μάζα, δείκτη σπλαχνικού λίπους), χρησιμοποιώντας τον λιπομετρητή TANITA SC-330. Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης κατά Pearson μεταξύ του LIF score και των μεταβλητών σύστασης σώματος, διορθώνοντας για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες στα μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης. Χρησιμοποιήθηκε το Paired - Sample t -Test για τη διερεύνηση ύπαρξης διαφοράς στη μέση τιμή των υπό εξέταση μεταβλητών πριν και μετά από την παρέμβαση στις δύο ομάδες, ενώ για τη διερεύνηση ύπαρξης διαφοράς στην εκατοστιαία μεταβολή των υπό εξέταση μεταβλητών μεταξύ των ομάδων Α και Β πραγματοποιήθηκε Independent t-Test.

Αποτελέσματα: Στο σύνολο των ασθενών με μαγνητική τομογραφία, (n=32) προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του LIF skor με το βάρος, το ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης ($p < 0,005$), αρνητική συσχέτιση με την οστική μάζα (% σωματικού βάρους, $p = 0,039$) και τάση αρνητικής αλλά μη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ του LIF skor με τη μυϊκή μάζα και ολικό νερό εκφρασμένα ως ποσοστό σωματικού βάρους ($p = 0,07$ και $p = 0,075$ αντίστοιχα). Μετά από διόρθωση για

πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, η περίμετρος μέσης διατήρησε τη στατιστική σημαντικότητα της ($p=0,009$).

Όσον αφορά τις μεταβολές στη σύσταση σώματος, μετά το πέρας της παρέμβασης φάνηκε για την ομάδα Α ($n=7$) μείωση της λιπώδους μάζας και της περιμέτρου μέσης, προσεγγίζοντας τη στατιστική σημαντικότητα ($p=0,052$ και $p=0,06$ αντίστοιχα), ενώ δεν καταγράφηκαν σημαντικές μεταβολές στην ομάδα Β ($n=10$). Ο έλεγχος για την ύπαρξη διαφοράς στην εκατοστιαία μεταβολή των υπό εξέταση μεταβλητών για τις δύο ομάδες μεταξύ τους δεν έδειξε στατιστικά σημαντικό εύρημα. Λόγω του μικρού μεγέθους και μεμονωμένου εκ του συνολικού δείγματος, δεν είναι εφικτή η εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων. Απαιτείται η ολοκλήρωση της παρέμβασης από όλα τα ερευνητικά κέντρα, ώστε να γίνει δυνατή η στατιστική ανάλυση και ερμηνεία τους. Τότε αναμένεται να αποκαλυφθεί η κωδικοποίηση Α και Β, ώστε να αξιολογηθούν συνολικά τα αποτελέσματα και η επίδραση της μαστίχας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Μη Αλκοολική Λιπώδης Διήθηση του Ήπατος, Μαστίχα, Κλινική Δοκιμή, Σύσταση Σώματος, Δείκτες Παχυσαρκίας, Παχυσαρκία

ABSTRACT

Objective: There is an increasing body of evidence that links body composition with the appearance and/or progression of non alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The aim of this study was to examine the effect of Chios natural Mastiha on body composition and indices of adiposity in obese patients with NAFLD taking part in the Mast4Health study.

Method: The Mast4Health study is a multicentre, randomized, double blind, placebo controlled clinical trial, which investigates the effects of Mastiha administration (2,1g per day) for a 6 month period in obese patients with NAFLD. Diagnosis of liver disease was based on magnetic resonance imaging (using LiverMultiScan method) and calculation of LiverFibrosis (LIF) score. Based on the MRI results, 22 subjects met the criteria and were recruited for the study, of whom 17 completed the protocol. Changes in anthropometric characteristics were evaluated: body weight, body mass index (BMI), waist circumference, waist /hip ratio, fat mass, muscle mass, bone mass, and visceral fat, using the body composition analyzer TANITA SC-330. Statistical analysis of the data between LIF score and body composition variables was performed using the Pearson correlation test, adjusting for potential confounders in multiple regression models. Paired Sample t-Test was used to examine the difference between the means of the measured variables before and after intervention in both groups, while for the difference in percent change between groups A and B, Independent t-Test was performed.

Results: In the total group of patients screened with MRI (n=32), there was a statistically significant positive correlation of the LIF score, with weight, BMI and waist circumference ($p<0,005$), negative correlation with bone mass (% of body weight, $p=0,039$) and a trend for negative but not statistically significant correlation of LIF score with muscle mass and total water, expressed as % of body weight ($p=0,07$ and $p=0,075$ respectively). Adjusting for potential confounders, only waist circumference maintained statistical significance with LIF score ($p=0,009$).

Regarding changes on body composition, after the intervention, in group A (n=7), we observed a near significant decrease of fat mass and waist circumference, (p=0,052, and p=0,06 respectively), but not in group B (n=10). We also found no significant difference in percent changes of the studied variables between groups A and B.. The small size of our sample (only fraction of the total multicenter one) and the fact that coding A and B will not be revealed before the intervention is completed in all participating centers of the Mast4Health study, does not allow us to proceed to further analysis and interpretation of the results and the effects of Mastiha.

KEY WORDS

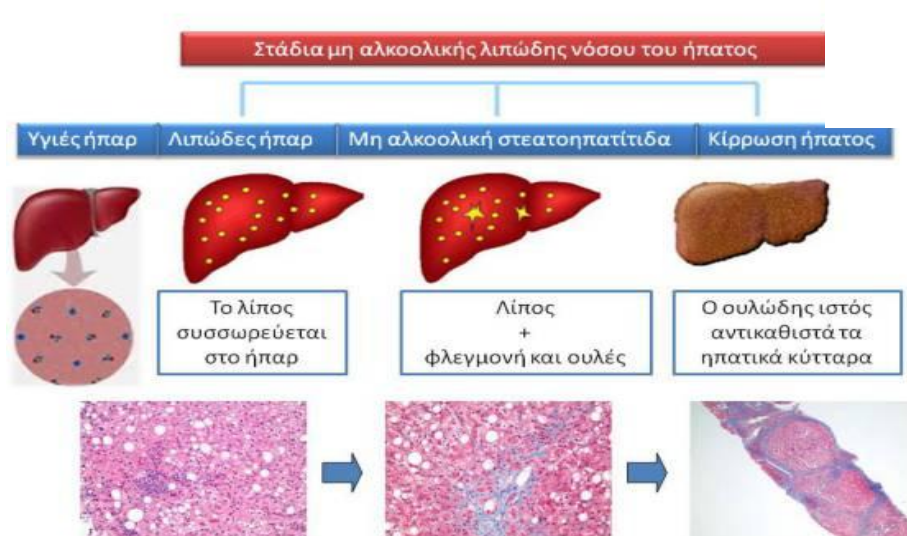
Non Alcoholic Fatty Liver Disease , Mastiha, Clinical Trial, Body Composition Analysis, Indices of adiposity, obesity

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (Non-alcoholic fatty liver disease-NAFLD) αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο ως η συνιστώσα ηπατικής νόσου του μεταβολικού συνδρόμου [1, 3-5]. Αποτελεί την πιο κοινή αιτία χρόνιας ηπατοπάθειας [6], με επιπολασμό που κυμαίνεται στο 20-30% του πληθυσμού των δυτικών χωρών [7]. Πρόκειται για μία σύνθετη νόσο που περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων από την απλή στεάτωση (συσσώρευση λίπους, ειδικότερα τριγλυκεριδίων στο ηπατοκύτταρο), τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (Non-alcoholic steatohepatitis - NASH) με φλεγμονή, ηπατοκυτταρικό τραυματισμό (ballooning) με ή χωρίς ίνωση και μπορεί να εξελιχθεί σε τελικού σταδίου ηπατική νόσο με κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο [4, 8]. Μια ήπια στεάτωση αφορά βλάβη σε < 30% των ηπατοκυττάρων, ενώ η σοβαρή στεάτωση αφορά βλάβη έως και ποσοστό 60% των ηπατοκυττάρων [9]. Η απλή στεάτωση συνήθως εξελίσσεται αργά και δεν αποτελεί κίνδυνο για τον ασθενή. Αντίθετα η στεατοηπατίτιδα (NASH) μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο [4].

Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση σταδίων μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος



1.1.1 Ορισμός

Ο επίσημος ορισμός της NAFLD [10] απαιτεί i) την παρουσία ηπατικής στεάτωσης, είτε απεικονιστικά είτε ιστολογικά. Ως κατώφλι για την εκτίμηση της στεάτωσης έχει ορισθεί η λιπώδης διήθηση του 5% των ηπατοκυττάρων ii) τη μη ύπαρξη αιτίας δευτεροπαθούς ηπατικής συσσώρευσης λίπους, όπως σημαντική κατανάλωση αλκοόλ, χρήση φαρμακευτικής αγωγής με αντίστοιχη δράση ή κληρονομικές διαταραχές (**πίνακας 1**). Όσον αφορά το αλκοόλ, δεν υπάρχει ένα επίσημο όριο για να θεωρηθεί αμελητέα η επίδραση της πρόσληψης του στη νόσο. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες συστάσεις της AASLD (American Association for the Study of Liver Disease) για τη Μη Αλκοολική Λιπώδη Νόσο του Ήπατος [4], ορίζεται ως ανώτατο όριο για τη μη αλκοολική φύση της νόσου, πρόσληψη <21 ποτά/εβδομάδα για τους άνδρες και <14 ποτά/εβδομάδα για τις γυναίκες. Το 1 ποτό ισοδυναμεί με κατανάλωση 10g αιθανόλης. Ωστόσο, υπάρχει και βιβλιογραφία που υποστηρίζει ότι για τον ορισμό της NAFLD, μέγιστη αποδεκτή πρόσληψη είναι τα 2 ποτά/ημέρα για τους άνδρες (140g αιθανόλης/ εβδομάδα) και 1 ποτό/ημέρα για τις γυναίκες (70g αιθανόλης/ εβδομάδα) [6]. Στην πλειοψηφία των ασθενών, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος συνδέεται με μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου όπως η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης και η δυσλιπιδαιμία [4]. Ιστολογικά κατηγοριοποιείται περεταίρω σε μη αλκοολικής αιτιολογίας **λιπώδες ήπαρ** (NAFL) και μη αλκοολικής αιτιολογίας **στεατοηπατίτιδα** (NASH) (**πίνακας 2**). Το NAFL ορίζεται ως η παρουσία ηπατικής στεάτωσης χωρίς ένδειξη ηπατοκυτταρικού τραυματισμού (σχηματισμό ουλών- ballooning). Η NASH ορίζεται ως η παρουσία στεάτωσης και φλεγμονής με ηπατοκυτταρικό τραυματισμό (ballooning) με ή χωρίς ίνωση.

Πίνακας 1: Συνήθεις αιτίες δευτεροπαθούς ηπατικής στεάτωσης

Μεγαφουσαλιδώδης στεάτωση	Μικροφουσαλιδώδης στεάτωση
Υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ	Σύνδρομο Reye's
Ηπατίτιδα C (γονότυπος 3)	Φάρμακα (βαλπροϊκό, αντιρετροϊκό)
Νόσος Wilson	Οξύ λιπώδες ήπαρ της κύησης
Λιποδυστροφία	Σύνδρομο HELLP
Ασιτία	Εγγενή σφάλματα του μεταβολισμού (έλλειψη LCAT, νόσος αποθήκευσης εστέρα χοληστερόλης, νόσος Wolman)
Παρεντερική Διατροφή	
Αβήτα - λιποπρωτεϊναιμία	
Φάρμακα (πχ αμιοδαρόνη, μεθοτρεξάτη, ταμοξιφένη, κορτικοστεροειδή)	

Πίνακας 2: Μη αλκοολική λιπώδη νόσος του ήπατος και σχετικοί ορισμοί

Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD- Non alcoholic fatty liver disease)	Περιλαμβάνει όλο το εύρος της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος σε άτομα χωρίς σημαντική κατανάλωση αλκοόλ, από λιπώδες ήπαρ έως στεατοηπατίτιδα και κίρρωση.
Μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδες ήπαρ (NAFL- Non alcoholic fatty liver)	Παρουσία ηπατικής στεάτωσης χωρίς ένδειξη ηπατοκυτταρικού τραυματισμού υπό την μορφή ουλών (ballooning) ή ένδειξη ίνωσης. Ο κίνδυνος εξέλιξης σε κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια είναι ελάχιστος.
Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH- Non alcoholic steatohepatitis)	Παρουσία ηπατικής στεάτωσης και φλεγμονής με ηπατοκυτταρικό τραυματισμό (ballooning) με ή χωρίς ίνωση. Αυτό μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση, ηπατική ανεπάρκεια, και σπανιότερα σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο.
Κίρρωση ήπατος (NASH cirrhosis)	Παρουσία κίρρωσης με τρέχουσα ή προηγούμενη ιστολογική ένδειξη στεάτωσης ή στεατοηπατίτιδας.

1.1.2 Επιπολασμός

Ο επιπολασμός της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος δεν είναι εύκολο να αποτυπωθεί με ακρίβεια αφενός λόγω ετερογένειας στις μεθόδους διάγνωσης της (διαφορετική ευαισθησία για κάθε μέθοδο διάγνωσης), αφετέρου λόγω έλλειψης συμπτωμάτων της νόσου, με αποτέλεσμα πολλά περιστατικά στα πρώτα στάδια να μην εντοπίζονται [11]. Οι εκτιμήσεις φαίνεται επιπλέον να επηρεάζονται από τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε πληθυσμού που μελετάται (δημογραφικά, κλινικά κλπ).

Ωστόσο, παρά τους περιορισμούς που περιγράφηκαν παραπάνω, η εκτίμηση για τον επιπολασμό της NAFLD κυμαίνεται από 6,3 – 33% παγκοσμίως και 10 – 35 % στην Αμερική με μέσο όρο 20% στο γενικό πληθυσμό, βάση πολλών διαφορετικών μεθόδων εκτίμησης. Σύμφωνα μάλιστα με μία πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση εκτιμήθηκε ότι ο συνολικός παγκόσμιος επιπολασμός ανέρχεται στο 25,2% [3]. Η φυλή φαίνεται να προσδίδει επιπλέον κίνδυνο όπως βρέθηκε από την Dallas Heart Study, με τον επιπολασμό της νόσου να είναι υψηλότερος στους Ισπανούς συγκρινόμενοι με τη λευκή ή μαύρη φυλή. Αν και η ασιατική καταγωγή έχει συνδεθεί με χαμηλότερο επιπολασμό της NAFLD συγκρινόμενη με την ισπανική, μαύρη ή λευκή εθνικότητα, ο αυξημένος επιπολασμός της παχυσαρκίας και του μεταβολικού συνδρόμου σε συνδυασμό με γενετικούς παράγοντες θεωρούνται ότι είναι οι πρωτεύοντες παράγοντες κινδύνου που οδήγησαν στην αύξηση της NAFLD και στις ασιατικές χώρες [11]. Η νόσος προσβάλλει δυνητικά κάθε ηλικία ακόμη και παιδιά, με συχνότητα εμφάνισης στον Ευρωπαϊκό χώρο για την παιδιατρική NAFLD να κυμαίνεται στο 2,6-10% (WHO Guidelines, 2012) και ειδικότερα στο 40-70% για τα παχύσαρκα παιδιά. Αξίζει να σημειωθεί, ότι ο επιπολασμός της NAFLD στα παιδιά αυξήθηκε την προηγούμενη δεκαετία από το 3 στο 5%. Ωστόσο, συχνότερα αφορά άτομα ηλικίας 40-60 ετών, χωρίς να γίνεται διάκριση στο φύλο.

Αναφορικά με την επιδημιολογία της NASH υπάρχουν λιγότερα δεδομένα, με τον γενικό παγκόσμιο επιπολασμό της να κυμαίνεται στο 3-5%, αλλά πιθανότατα να φθάνει και το 12,2%. Ωστόσο, ο επιπολασμός της NASH έχει εκτιμηθεί να βρίσκεται στο 59,1% των ατόμων με NAFLD [11].

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 3) συνοψίζονται οι εκτιμήσεις επιπολασμού για τη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους που αφορούν τη γεωγραφική περιοχή, τη μέθοδο διάγνωσης και τους παράγοντες κινδύνου για τη νόσο [11].

Πίνακας 3: Εκτιμήσεις επιπολασμού για τη NAFLD

Κατηγοριοποίηση	Ομάδα	Επιπολασμός NAFLD	Σχόλιο
Γεωγραφική περιοχή	Γενικός πληθυσμός	6% - 33%	
	Βόρεια Αμερική	11% - 46%	
	Ευρώπη	4% - 49%	
	Νότια Αμερική	27% - 35%	
	Ασία	15% - 44%	
	Σαουδική Αραβία	15% - 55%	
	Αφρική	9% - 20%	
Μέθοδος Διάγνωσης	Ιστολογικά (βιοψία)	20% - 51%	
	Υπερηχογράφημα	17% - 46%	Πιο εύκολα διαθέσιμη μέθοδος – υποεκτιμά τον πραγματικό επιπολασμό
	Μαγνητική τομογραφία	31%	
	Μη φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφερασών	7% - 11%	>79% των ασθενών με NAFLD έχουν φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφερασών
Πληθυσμοί υψηλού κινδύνου	Ισπανική φυλή	45%	Η λευκή φυλή υψηλότερο επιπολασμό από τη μαύρη φυλή (33% & 24% αντίστοιχα)
	Παχυσαρκία	>90%	51% με NAFLD έχουν παχυσαρκία
	Σακχαρώδης Διαβήτης	69%	30% - 50% με NAFLD έχουν ΣΔ
	Δυσλιπιδαιμία	50%	>90 % με NAFLD έχουν δυσλιπιδαιμία

1.1.3 Φυσική Ιστορία

Άτομα με απλή στεάτωση εξελίσσονται σε στεατοηπατίτιδα και στεατοηπατίτιδα – συνδεόμενη με κίρρωση σε έναν εκτιμώμενο ρυθμό μόλις 1,7 ανά 1000 ανθρωποέτη, υπογραμμίζοντας το εύρημα ότι η πλειοψηφία των ασθενών με NAFLD δεν αναπτύσσει στεατοηπατίτιδα [11, 12]. Ο συνολικός επιπολασμός της στεατοηπατίτιδας – συνδεόμενης με κίρρωση είναι άγνωστος, αλλά παραμένει η κυριότερη επιπλοκή της μακροχρόνιας ηπατικής φλεγμονής συνδεόμενη με τη νόσο [11, 13]. Η επίπτωση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου (HCC) προκαλούμενη από NAFLD, NASH, NASH-σχετιζόμενη με κίρρωση αυξάνεται στην Αμερική και την Ιαπωνία, με την προχωρημένη ίνωση να αποτελεί τον κυριότερο γνωστό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκίνου [14].

Η επίπτωση της ηπατικής κίρρωσης δευτερογενώς από NAFLD και NASH αυξάνεται και είναι σήμερα η δεύτερη αιτία ένδειξης για ηπατική μεταμόσχευση στις ΗΠΑ[11]. Το ποσοστό των ενηλίκων με NASH- συνδεόμενη με κίρρωση αναμένοντας μόσχευμα έχει αυξηθεί 170% μεταξύ 2004 και 2013[15]. Αν και η θνησιμότητα σχετιζόμενη με το ήπαρ είναι συχνή στους ασθενείς με NAFLD, η κυριότερη αιτία παραμένει η καρδιαγγειακή νόσος και για αυτό τα αποτελέσματα των ασθενών με λιπώδη νόσο του ήπατος συσχετίζονται ισχυρά με τις μεταβολικές συνθήκες [4]. Επιπλέον, εξωηπατικές νόσοι έχουν συσχετιστεί με τη NAFLD [4, 16]. Η όλο και αυξανόμενη επικράτηση των παραγόντων κινδύνου για NAFLD και NASH θεωρείται ότι παίζει ρόλο στον αυξημένο επιπολασμό και επίπτωση τους [17]. Στο σχήμα που ακολουθεί (**σχήμα 1**) περιγράφονται οι παράγοντες κινδύνου, οι συννοσηρότητες και οι επιπλοκές της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος.

Σχήμα 1: Συσχετιζόμενοι παράγοντες κινδύνου, συννοσηρότητες και επιπλοκές της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος [11].

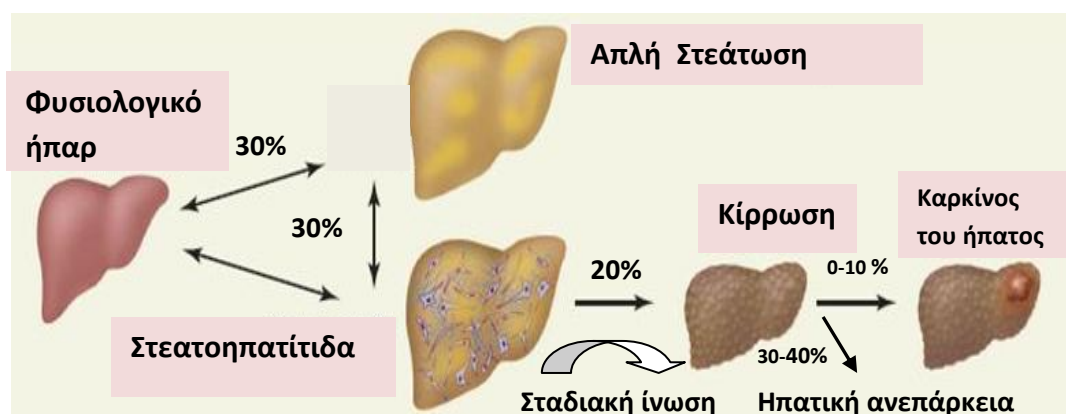
Δημογραφικά χαρακτηριστικά	Συσχετιζόμενοι lifestyle παράγοντες	Συσχετιζόμενες ιατρικές συνθήκες
<u>Γενετικοί παράγοντες</u> <u>Φυλή:</u> Ισπανική-Αμερικάνικη, Μεξικανή-Αμερικάνικη, μη - Ισπανική λευκή <u>Μεγαλύτερη ηλικία</u> <u>Ανδρικό φύλο</u> <u>Ασιατική φυλή:</u> μικρότερος επιπολασμός και επίπτωση <u>Παιδιά:</u> μικρότερος επιπολασμός και επίπτωση	<u>Παχυσαρκία:</u> αυξημένος δείκτης μάζας σώματος, σπλαχνική παχυσαρκία <u>Διατροφή:</u> αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη, υψηλή πρόσληψη υδατανθράκων και λίπους <u>Μειωμένη Σωματική Δραστηριότητα</u>	<u>Μεταβολικό Σύνδρομο</u> <u>Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II</u> <u>Άλλες χρόνιες ηπατικές νόσοι, ειδικότερα χρήση αλκοόλ</u> <u>Καρδιαγγειακά:</u> υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, εγκεφαλικό <u>Άλλα:</u> υποθυροειδισμός, υποποφυσισμός, υπογοναδισμός, αποφρακτική άπνοια ύπνου, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Ηπατικές επιπλοκές	Εξωηπατικές επιπλοκές
• <u>NASH και συσχετιζόμενη κίρρωση</u> • <u>Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα</u>	• <u>Καρδιαγγειακή νόσος:</u> στεφανιαία νόσος, εγκεφαλικό, υπέρταση • <u>Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II</u> • <u>Χρόνια Νεφρική Νόσος</u> • <u>Καρκίνος του παχέος εντέρου:</u> αδένωμα του παχέος εντέρου και αδενοκαρκίνωμα

1.1.4 Φυσική εξέλιξη της νόσου

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος περιλαμβάνει ένα ευρύ ιστολογικό φάσμα [10]. Εκτείνεται από την απλή στεάτωση, έως τη NASH, την ηπατική ίνωση, την κίρρωση και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Το αρχικό στάδιο της απλής στεάτωσης του ήπατος χαρακτηρίζεται από την αποθήκευση τριγλυκεριδίων με τη μορφή λιπιδικών σταγόνων στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων σε περισσότερο από το 5% των ηπατοκυττάρων. Η ηπατική στεάτωση μπορεί να εξελιχθεί σε NASH. Η NASH διακρίνεται από την απλή στεάτωση λόγω της παρουσίας ηπατικού τραύματος (διόγκωση ηπατοκυττάρων και απόπτωση), φλεγμονώδους διήθησης και/ή εναπόθεσης κολλαγόνου (ίνωση). Ωστόσο, δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί εάν η στεάτωση προηγείται της NASH ή αν η στεάτωση και η NASH αποτελούν διαφορετικές διαταραχές [18]. Η NASH είναι δυνατόν να εξελιχθεί σε κίρρωση. Στην κίρρωση τα ηπατοκύτταρα αντικαθίσταται από ουλώδη ιστό που συνίσταται κυρίως από κολλαγόνο τύπου I. Η κίρρωση μπορεί να εξελιχθεί τελικά σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και ηπατική ανεπάρκεια. Η φυσική εξέλιξη της νόσου παρουσιάζεται στο σχήμα 2.

Σχήμα 2: Φυσική πορεία της NAFLD. Η εναπόθεση TG στις λιπιδικές σταγόνες των ηπατοκυττάρων προκαλεί στεάτωση. Στεάτωση που σχετίζεται με φλεγμονή, κυτταρικό θάνατο και ίνωση αναφέρεται ως NASH, και μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση. Τα άτομα με κίρρωση έχουν αυξημένο κίνδυνο για ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (Cohen et al., 2011)

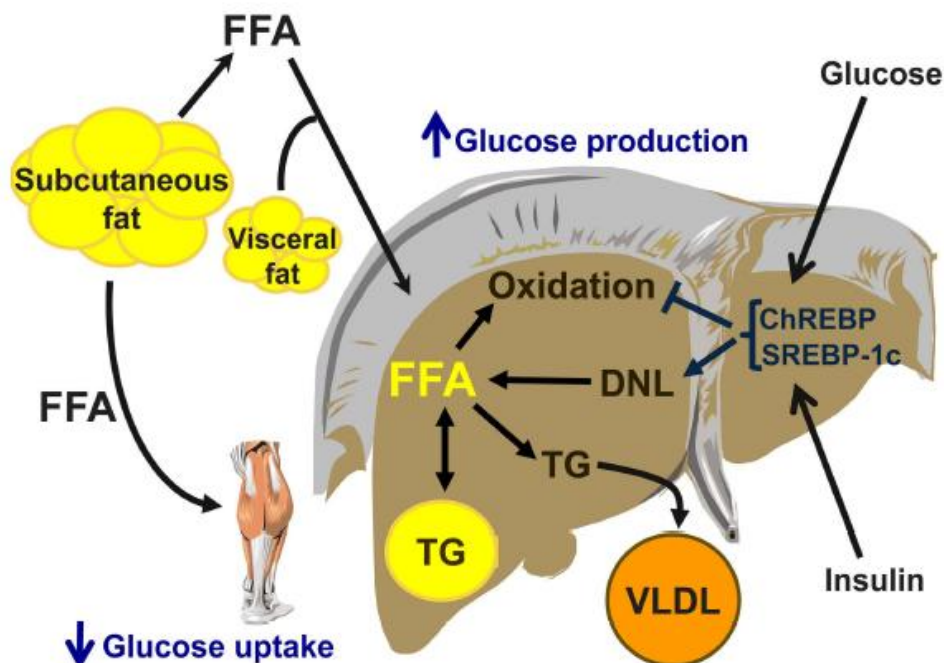


1.1.5 Παθοφυσιολογία της νόσου

1.1.5.1 Διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων

Η στεάτωση αναπτύσσεται όταν ο ρυθμός εισόδου των λιπαρών οξέων στο ήπαρ (από πρόσληψη και de novo σύνθεση με επακόλουθη εστεροποίηση σε τριγλυκερίδια) είναι μεγαλύτερη από τον ρυθμό εξόδου τους (οξειδωση και έκκριση) [19, 20]. Για το λόγο αυτό και η ποσότητα των τριγλυκεριδίων στα ηπατοκύτταρα αντιπροσωπεύει μία πιο περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ 1) ηπατικής πρόσληψης ελεύθερων λιπαρών οξέων, από το πλάσμα (free fatty acid- FFA) που προκύπτουν τόσο από την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων του λιπώδους ιστού και όσο και από την υδρόλυση των κυκλοφορούντων τριγλυκεριδίων 2) de novo σύνθεσης λιπαρών οξέων (de novo λιπογένεσης) 3) οξειδωσης λιπαρών οξέων 4) εξόδου λιπαρών οξέων μέσω των VLDL (Σχήμα 6).

Σχήμα 6: Σχηματική απεικόνιση των διαταραχών στον ηπατικό μεταβολισμό των λιπιδίων [19]



1. Πρόσληψη λιπαρών οξέων από το ήπαρ

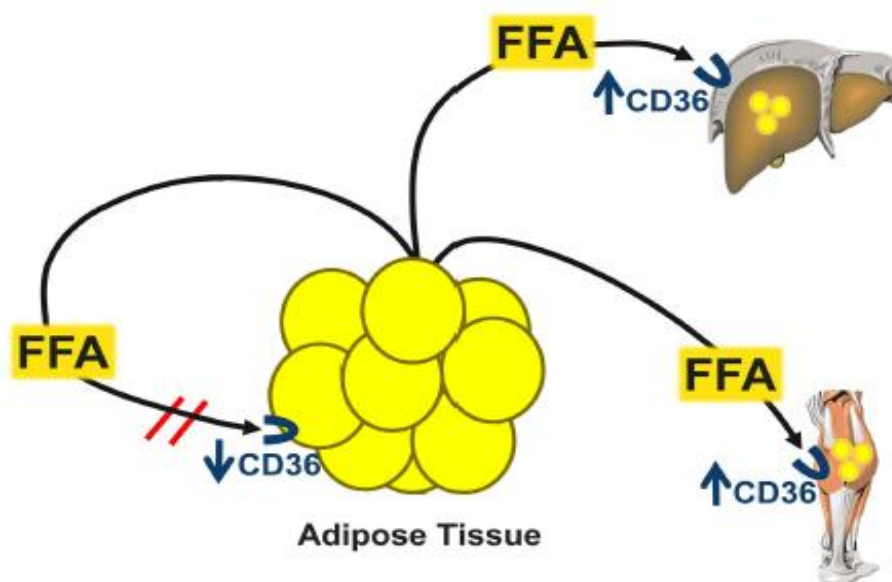
Ο ρυθμός πρόσληψης ελεύθερων λιπαρών οξέων από το ήπαρ εξαρτάται από το ποσό αυτών που φθάνουν στο ήπαρ και από την ικανότητα μεταφοράς τους εντός αυτού [19]. Σε μεταπορροφητικές συνθήκες, η κυριότερη πηγή ελεύθερων λιπαρών οξέων που φθάνουν στο ήπαρ προέρχονται από λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται από τον υποδόριο λιπώδη ιστό, τα οποία εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία και εν συνεχεία μεταφέρονται στο ήπαρ από την ηπατική αρτηρία και την πυλαία φλέβα, αφού περάσουν από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό. Αν και η λιπόλυση των τριγλυκεριδίων του σπλαχνικού λιπώδους ιστού απελευθερώνει επιπλέον τριγλυκερίδια απευθείας στην πυλαία φλέβα, η σχετική συνεισφορά των λιπαρών οξέων της πυλαίας φλέβας που προέρχονται από το σπλαχνικό λίπος είναι μικρό συγκρινόμενο με τα λιπαρά οξέα που προέρχονται από το υποδόριο λίπος. Περίπου το 5% και το 20% των λιπαρών οξέων της πυλαίας φλέβας προέρχονται από το σπλαχνικό λίπος σε αδύνατα και παχύσαρκα άτομα αντίστοιχα. Έχει βρεθεί ότι ο ρυθμός απελευθέρωσης λιπαρών οξέων στη συστηματική κυκλοφορία αυξάνεται με την αύξηση της λιπώδους μάζας και στους άνδρες και στις γυναίκες, έτσι ώστε ο ρυθμός απελευθέρωσης ελεύθερων λιπαρών οξέων συναρτήσει της άλιπης μάζας είναι μεγαλύτερη στους παχύσαρκους συγκρινόμενοι με τους αδύνατους.

Επιπλέον, η έκφραση γονιδίων της ηπατικής λιπάσης και της ηπατικής λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) είναι υψηλότερη στα παχύσαρκα άτομα με NAFLD σε σύγκριση με τα άτομα χωρίς NAFLD, προτείνοντας ότι η απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων από τη λιπόλυση των κυκλοφορούντων τριγλυκεριδίων επίσης συνεισφέρουν στην συσσώρευση ηπατοκυτταρικών ελεύθερων λιπαρών οξέων και στη στεάτωση [19]. Είναι πιθανό αυτές οι αυξήσεις στην ηπατική λιπάση και την LPL, μαζί με τη μεταγευματική λιπαιμία και τις συγκεντρώσεις ελεύθερων λιπαρών οξέων που αναφέρονται σε ασθενείς με NAFLD να ευθύνονται για την αυξημένη μεταγευματική ενσωμάτωση διατροφικών λιπαρών οξέων σε ενδοηπατικά τριγλυκερίδια παρατηρούμενα σε παχύσαρκα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Μεμβρανικές πρωτεΐνες που κατευθύνουν την πορεία των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το πλάσμα στους ιστούς εμπλέκονται πιθανότατα στην αυξημένη ηπατική πρόσληψη των

ελεύθερων λιπαρών οξέων. Η έκφραση γονιδίων και/ή το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του FAT/CD36, το οποίο είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής πρόσληψης ελεύθερων λιπαρών οξέων από το πλάσμα είναι αυξημένα στο ήπαρ και το σκελετικό μυ αλλά μειωμένα στο λιπώδη ιστό παχύσαρκων ατόμων με NAFLD συγκρινόμενα με παχύσαρκα άτομα τα οποία έχουν φυσιολογικό περιεχόμενο ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων, προτείνοντας ότι οι μεταφορείς πρωτεϊνικής φύσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων ανακατευθύνουν την πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων του πλάσματος από το λιπώδη ιστό προς τους άλλους ιστούς (Σχήμα 7) .

Λαμβάνοντας υπόψη όλα αυτά τα στοιχεία οι μεταβολές στη λιπολυτική δραστηριότητα του λιπώδους ιστού, η περιφερική ηπατική λιπόλυση των κυκλοφορούντων τριγλυκεριδίων, και οι πρωτεΐνες-μεταφορείς των ελεύθερων λιπαρών οξέων εμπλέκονται στην παθογένεια της στεάτωσης και της έκτοπης συσσώρευσης λίπους.

Σχήμα 7: Σχηματική απεικόνιση των μεταβολών στην κυτταρική μεταφορά των ελεύθερων λιπαρών οξέων [19]



2. De novo λιπογένεση

Όπως έχει ήδη περιγραφεί το ήπαρ συνθέτει λιπαρά οξέα de novo διαμέσου ενός περίπλοκου πολυμερισμού στο κυτοσόλιο, κατά τον οποίο το ακέτυλο-συνένζυμο Α μετατρέπεται σε μηλόνυλο-συνένζυμο Α από την καρβοξυλάση του ακέτυλο-συνενζύμου Α (acetyl-CoA carboxylase- ACC [19]). Εν συνεχεία, το μηλόνυλο- CoA παίρνει μέρος σε αρκετές κυκλικές μεταβολικές αντιδράσεις για να σχηματιστεί ένα μόριο παλμιτικού. Ο ρυθμός της de novo λιπογένεσης ρυθμίζεται από τη συνθάση των λιπαρών οξέων, την καρβοξυλάση 1 και 2 του ακέτυλο συνενζύμου Α, την ακυλοτρασφεράση των διακυλογλυκερολών (DGAT), τη stearyl-CoA desaturase 1 (SCD1) και αρκετούς πυρηνικούς μεταγραφικούς παράγοντες (SREBPs, ChREBP, LXRα, FXR, PPARs) [21-23]. Η ηπατική de novo λιπογένεση ρυθμίζεται ανεξάρτητα από την ινσουλίνη και τη γλυκόζη διαμέσου της ενεργοποίησης των SREBP-1c και ChREBP τα οποία μεταγραφικά ενεργοποιούν σχεδόν όλα τα γονίδια που εμπλέκονται στη de novo λιπογένεση. Δεδομένα από μελέτες που διεξήχθησαν σε ζωικά μοντέλα δείχνουν ότι η ηπατική υπερέκφραση του SREBP-1c ή η υπερινσουλιναμία ενεργοποιούν τη λιπογένεση και προκαλούν ηπατική στεάτωση [24, 25] ενώ τα επίπεδα όλων των ενζύμων που εμπλέκονται στη de novo λιπογένεση μειώνονται στα ποντίκια χωρίς τον μεταγραφικό παράγοντα ChREBP [26]. Στους ανθρώπους, η NAFLD συνδέεται με αυξημένη ηπατική έκφραση αρκετών γονιδίων που εμπλέκονται στην de novo λιπογένεση [27, 28].

Η συνεισφορά της de novo λιπογένεσης στη συνολική παραγωγή ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων σε φυσιολογικά άτομα είναι μικρή και εκτιμάται σε λιγότερο από 5% των λιπαρών οξέων που ενσωματώνονται στις εκκρινόμενες VLDL-TG (1-2g/d)[29]. Ωστόσο, η συνεισφορά της de novo λιπογένεσης στην συνολική παραγωγή ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων σε ασθενείς με NAFLD είναι αρκετά υψηλότερη και αντιπροσωπεύει το 15%-23% των λιπαρών οξέων ενδοηπατικά και εκκρινόμενα στις VLDL-TG [29, 30]. Επιπλέον, αποτελέσματα από μία μελέτη που χρησιμοποίησε εξελιγμένες τεχνικές φασματοσκοπίας μαγνητικού συντονισμού για την αξιολόγηση του μεταγευματικού μεταβολισμού της γλυκόζης in vivo, προτείνει ότι η αύξηση της de novo λιπογένεσης προηγείται της ανάπτυξης μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος [31]. Συγκρινόμενα με ινσουλινοευαίσθητα άτομα, η κατανάλωση ενός γεύματος πλούσιου σε υδατάνθρακες συνδέθηκε με πολύ χαμηλότερο βαθμό σύνθεσης μυϊκού γλυκογόνου και μία εκτροπή του μεγαλύτερου ποσοστού της απορροφούμενης

γλυκόζης προς τη de novo λιπογένεση και την ενδοηπατική σύνθεση τριγλυκεριδίων σε ινσουλινοανθεκτικά άτομα με φυσιολογικό περιεχόμενο ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων. Αυτά τα στοιχεία προτείνουν ότι η ινσουλινοαντίσταση στους σκελετικούς μύες θα μπορούσε να προωθήσει την συσσώρευση ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων ευνοώντας τη μετατροπή των απορροφήσιμων υδατανθράκων όχι σε μυϊκό γλυκογόνο αλλά προς τη de novo βιοσύνθεση λιπαρών οξέων.

Αν και η ηπατική de novo λιπογένεση είναι ποσοτικά μικρή οδός για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων, ο ρυθμός της de novo λιπογένεσης ίσως να έχει σημαντικές μεταβολικές ρυθμιστικές λειτουργίες [19]. Για παράδειγμα, ενδοηπατικά λιπαρά οξέα τα οποία έχουν συντεθεί de novo ενεργοποιούν τον PPARα ώστε να διατηρηθεί η ομοιόσταση της γλυκόζης και των λιπιδίων[32]. Επιπλέον, το μηλόνυλο-συνένζυμο Α, το πρώτο ενδιάμεσο της de novo λιπογένεσης, αναστέλλει τη δραστηριότητα της παλμιτοϋλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης (CTP-1), αποτρέποντας κατά αυτόν τον τρόπο την είσοδο των λιπαρών οξέων στο μιτοχόνδριο και την οξείδωσή τους[33]. Αυτή η δυνητική αλλοστερική αναχαίτιση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων από την de novo λιπογένεση υποστηρίζεται από αποτελέσματα μελετών που βρήκαν ότι η ηπατική έκφραση του CTP-1 είναι μειωμένη σε άτομα με NAFLD [28].

3.Οξείδωση λιπαρών οξέων

Οι περίπλοκες μεταβολικές διαδικασίες που πραγματοποιούνται από το ήπαρ απαιτούν μία σημαντική ποσότητα ενέργειας. Ο μεταβολικός ρυθμός του ήπατος (~0,28kcal/g ιστού την ημέρα) είναι παρόμοιος με εκείνον του εγκεφάλου, και σχεδόν 20 φορές μεγαλύτερος από τον μεταβολικό ρυθμό των υπόλοιπων σκελετικών μυών και 50 φορές μεγαλύτερος από τον μεταβολικό ρυθμό του λιπώδους ιστού[34]. Για το λόγο αυτό, αν και το ήπαρ ζυγίζει μόλις 1,5kg στους ενήλικες, αντιπροσωπεύοντας ένα μικρό ποσοστό του συνολικού ανθρωπίνου σώματος (~2,5% στα αδύνατα άτομα) καταναλώνει ~450 θερμίδες της ημέρα, αντανakλώντας περίπου το 20% της συνολικής ενεργειακής κατανάλωσης [34]. Το μίγμα των καυσίμων που χρησιμοποιούνται in vivo από το ήπαρ είναι δύσκολο να ποσοτικοποιηθούν με ακρίβεια εξαιτίας της περίπλοκης ανταλλαγής μεταβολιτών μεταξύ πολλαπλών βιοχημικών μονοπατιών και τεχνικών

περιορισμών. Εκτιμάται ότι η οξείδωση των λιπαρών οξέων και αμινοξέων παρέχουν το ~90% του καυσίμου για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων του ήπατος και ότι η χρήση των ελεύθερων λιπαρών οξέων ως καύσιμο μειώνεται κατά τη φάση τραφέντος οργανισμού.

Η οξείδωση των ενδοηπατικών λιπαρών οξέων συμβαίνει πρωτίστως στα μιτοχόνδρια και σε μικρότερο βαθμό στα περοξυσώματα και μικροσώματα [19]. Η μεταφορά των λιπαρών οξέων στη μήτρα του μιτοχονδρίου ρυθμίζεται από το σύστημα της καρνιτίνης (διαδοχικά CTP1, τρανσλοκάση καρνιτίνης και CTP2). Η μιτοχονδριακή β-οξείδωση σταδιακά μικραίνει το ακυλο-CoA κατά 2 άνθρακες σε κάθε κύκλο (απελευθερούμενο ως ακέτυλο-CoA), διαμέσου μιας σειράς αφυδρογόνωσης, ενυδάτωσης και αντιδράσεις διάσπασης που περιλαμβάνουν ένζυμα μεμβρανικά και διαλυτά ρυθμιζόμενα από τον PPAR-α [35]. Το ακέτυλο-CoA προερχόμενο από την οξείδωση των λιπαρών οξέων μπορεί είτε να προχωρήσει στον κύκλο του Krebs για πλήρη καύση και παραγωγή ενέργειας, είτε μπορεί να συμπυκνωθεί για τον σχηματισμό κετονικών σωμάτων (ακετοξικό και β-υδροξυβουτυρικό) τα οποία εξάγονται για να προμηθεύσουν καύσιμα τους υπόλοιπους ιστούς [33, 36].

Δεδομένα μελετών που διεξήχθησαν σε ζωικά μοντέλα, δείχνουν ότι η αναχαίτιση ή η ενεργοποίηση της οξείδωσης των ενδοηπατικών ελεύθερων λιπαρών οξέων μπορεί να επηρεάσει το περιεχόμενο των ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων. Γενετικές ή πειραματικές επαγόμενες βλάβες στα οξειδωτικά ένζυμα των μιτοχονδρίων οδηγούν στην ηπατική στεάτωση [37, 38], ενώ αυξάνοντας την έκφραση ή δραστηριότητα των ηπατικών ενζύμων που εμπλέκονται στην οξείδωση των λιπαρών οξέων, μειώνεται η συσσώρευση των ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων [39-42]. Ωστόσο, δεν είναι γνωστό εάν η οξείδωση των λιπαρών οξέων είναι ελαττωματική σε ανθρώπους με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος διότι δεν υπάρχουν έως σήμερα αξιόπιστες μέθοδοι για την μέτρηση της ηπατικής οξείδωσης των λιπαρών οξέων *in vivo*. Έμμεσοι μέθοδοι μέτρησης της μιτοχονδριακής οξείδωσης των λιπαρών οξέων, αξιολογούμενες από την συγκέντρωση κετονικών σωμάτων, προτείνουν ότι η ηπατική οξείδωση λιπαρών οξέων είναι είτε αυξημένη, είτε φυσιολογική σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος [43-46]. Επιπλέον, αν και η έκφραση της CTP1 είναι μειωμένη, η γονιδιακή έκφραση άλλων ηπατικών οξειδωτικών ενζύμων των λιπαρών οξέων είναι γενικά αυξημένη σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος σε σύγκριση με εκείνους με φυσιολογικό περιεχόμενο ενδοηπατικών

τριγλυκεριδίων [28, 47]. Αντίθετα, τα άτομα με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος έχουν ενδείξεις ηπατικών δομικών και λειτουργικών ανωμαλιών στα μιτοχόνδρια, συμπεριλαμβανομένων απώλειας μιτοχονδριακών ακρολοφιών και παρακρυσταλικών εγκλεισμάτων [44, 48], μείωση της μιτοχονδριακής δραστηριότητας της αναπνευστικής αλυσίδας [49], διαταραγμένη ικανότητα επανασύνθεσης ATP μετά από δοκιμασία φρουκτόζης [50] και αυξημένη παρουσία ηπατικής ασύζευκτης πρωτεΐνης (UCP2)[28], τα οποία επηρεάζουν την παραγωγή ενέργειας αλλά όχι την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Αυτές οι ανωμαλίες θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν μία ασύζευκτη προσαρμογή της οξείδωσης των λιπαρών οξέων και της παραγωγής ενέργειας, το οποίο επιτρέπει στο ήπαρ να οξειδώνει την περίσσεια των λιπαρών οξέων χωρίς παραγωγή άσκοπης ενέργειας.

1.1.5.2 Θεωρία των δύο χτυπημάτων

Προκειμένου να εξηγηθεί η ανάπτυξη της NAFLD και η εξέλιξη της από την απλή στεάτωση στη στεατοηπατίτιδα, την ίνωση και την κίρρωση οι Day & James το 1998 πρότειναν την «υπόθεση των δύο χτυπημάτων». Σύμφωνα με την παραδοσιακή αυτή θεωρία αναγνωρίζονται δύο στάδια [51, 52].

Το “πρώτο χτύπημα” (first hit) συνίσταται στην αυξημένη εναπόθεση λίπους στο ηπατικό παρέγχυμα λόγω διατάραξης του μεταβολισμού κατά την πρόσληψη, σύνθεση και έκκριση των λιπιδίων. Πρωταρχική σημασία σε αυτό το στάδιο έχει η αντίσταση στην ινσουλίνη. Ο όρος ινσουλινοαντίσταση περιλαμβάνει την κατάσταση που η σχετική έλλειψη ινσουλίνης, παρά τα αυξημένα επίπεδα της στο αίμα, δεν επαρκεί για την κάλυψη των αναγκών του μεταβολισμού, λόγω παρεμπόδισης της δράσης της στους περιφερικούς ιστούς. Φυσιολογικά κατά το μεταγευματικό στάδιο παράγεται ινσουλίνη από τα β-κύτταρα του παγκρέατος με στόχο την εισαγωγή της γλυκόζης στους ινσουλινοεξαρτώμενους ιστούς, και κατά συνέπεια την παραγωγή ενέργειας. Παράλληλα επί παρουσίας ινσουλίνης αναστέλλεται η λιπόλυση δεδομένου ότι ο οργανισμός δεν απαιτεί καταβολισμό ενδογενών πηγών ενέργειας. Με την ύπαρξη όμως ινσουλινοαντίστασης, μειώνεται η παροχή γλυκόζης στους ιστούς με αποτέλεσμα την εκτροπή της στο ήπαρ όπου η ινσουλίνη διεγείρει τη λιπογένεση. Επιπλέον, δεν αναστέλλεται η λιπόλυση, με αποτέλεσμα την υπερπροσφορά ελεύθερων λιπαρών

οξέων στο ήπαρ. Υπάρχουν μάλιστα ενδείξεις ότι ο ενδοκοιλιακός λιπώδης ιστός (σπλαχνικό λίπος) συμμετέχει περισσότερο στην υπερπροσφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ σε σχέση με τον περιφερικό λιπώδη ιστό, λόγω αφενός της μειωμένης αντί-λιπολυτικής δράσης οφειλόμενη στη μειωμένη δράση της ινσουλίνης, αφετέρου της αυξημένης λιπόλυσης οφειλόμενη στην αυξημένη δράση των κατεχολαμινών.

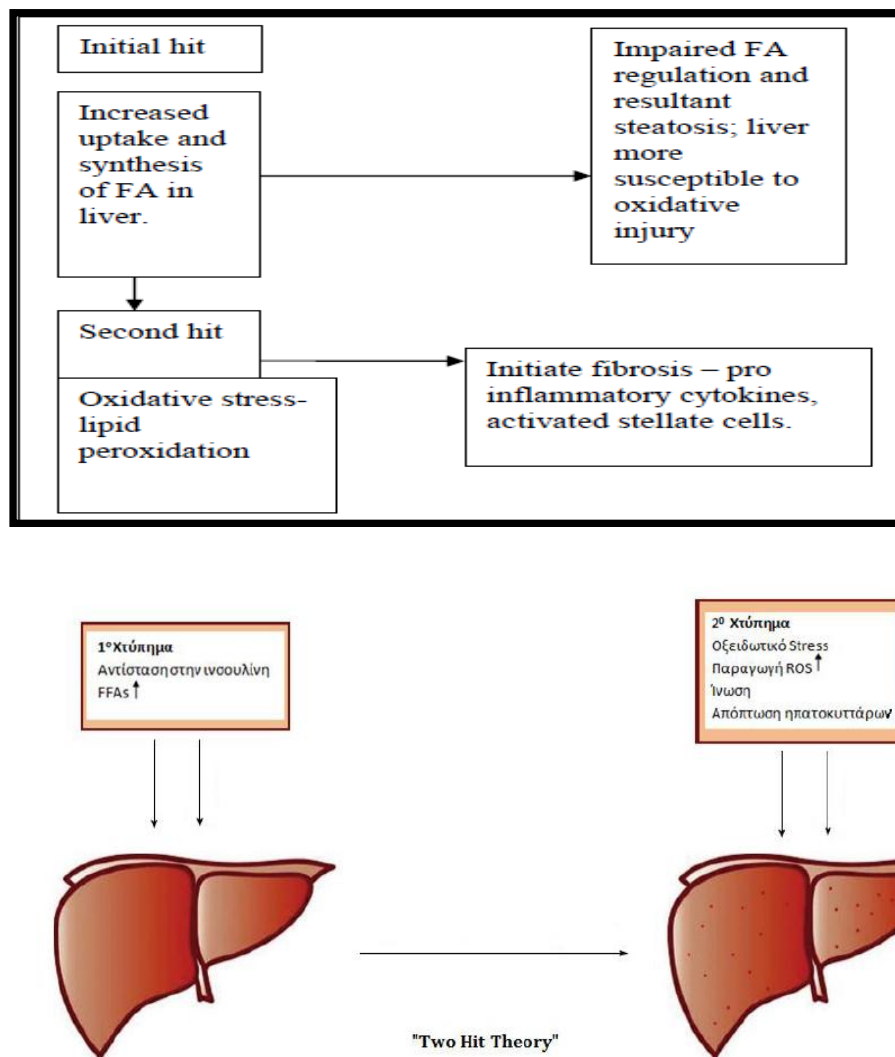
Συνοπτικά λοιπόν, οι αλλαγές που πραγματοποιούνται σε επίπεδο ηπατοκυττάρου είναι οι εξής [20, 44, 53]:

- Αυξημένη μεταφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων από τις αποθήκες του λίπους προς το ήπαρ
- Αυξημένη de novo λιπογένεση
- Αυξημένη σύνθεση γλυκόζης αλλά και γλυκόλυσης
- Αυξημένη παραγωγή τριακυλογλυκερολών από τα λιπαρά οξέα στο ήπαρ
- Μείωση της απελευθέρωσης τριγλυκεριδίων με τη μορφή VLDLs. Σημειώνεται πως η έκκριση της απολιποπρωτεΐνης B, απαραίτητης για το σχηματισμό των VLDLs, είναι μειωμένη στους ασθενείς με NAFLD. Ως αποτέλεσμα, η μετατροπή των τριγλυκεριδίων σε VLDLs, δηλαδή ο κυριότερος μηχανισμός προστασίας του ήπατος από την τοξικότητα των FFA, παρεμποδίζεται.

Οι αλλαγές που περιγράφηκαν παραπάνω φαίνεται να καθιστούν το ήπαρ ευάλωτο στο “δεύτερο χτύπημα” (**second hit**) το οποίο οδηγεί σε φλεγμονώδη απάντηση και εξέλιξη της ηπατικής βλάβης [53, 54]. Χαρακτηρίζεται από οξειδωτικό στρες, το οποίο προκύπτει από την είσοδο των ελεύθερων λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια των ηπατοκυττάρων και τη διαταραχή της προοξειδωτικής - αντιοξειδωτικής ισορροπίας στο ήπαρ. Η μιτοχονδριακή δομή παρουσιάζεται διαφοροποιημένη με εμφάνιση μεγάλου μεγέθους και μικρού αριθμού μιτοχονδρίων με διαταραγμένη λειτουργία. Κι αυτό γιατί η ινσουλinoαντίσταση οδηγεί σε αυξημένη χρήση της β-οξείδωσης για παραγωγή ενέργειας, σε είσοδο των ελεύθερων λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια και σε παραγωγή ελεύθερων ριζών. Μιτοχονδριακές ανωμαλίες παρουσιάζονται μόνο σε ασθενείς με NASH και όχι με απλή στεάτωση, γεγονός που φανερώνει την σημασία της ινσουλinoαντίστασης συνδυαστικά με την μιτοχονδριακή βλάβη για την προαγωγή της νόσου. Επίσης, παρουσιάζεται αυξημένη η δραστηριότητα

του κυτοχρώματος P450 E1 (CYP2E1). Όλα αυτά οδηγούν σε παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου με παράλληλη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Οι επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες είναι η υπεροξείδωση των λιπιδίων, η έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , TGF- β , IL-8), η απόπτωση των ηπατοκυττάρων, η ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων (stellate cells) και κατά συνέπεια η ανάπτυξη ινώδους ιστού (stellate cells).

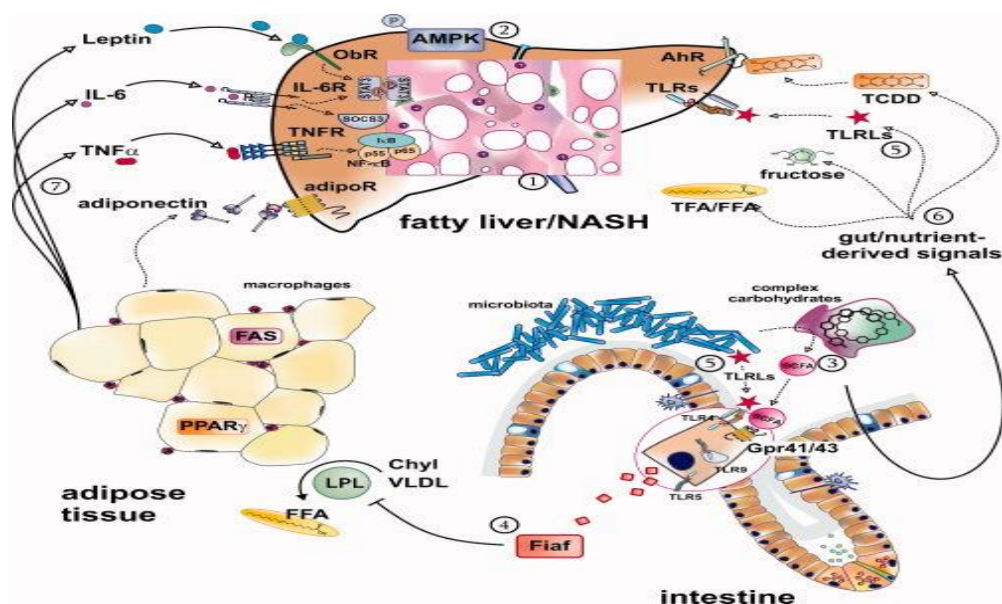
Σχήμα 8: Σχηματική απεικόνιση της θεωρίας των “δύο χτυπημάτων” [53, 55]



1.1.5.3 Θεωρία των «πολλαπλών – παράλληλων χτυπημάτων»

Παρά το γεγονός ότι η παραδοσιακή υπόθεση των “δύο χτυπημάτων” κυριάρχησε στη βιβλιογραφία για περισσότερο από μία δεκαετία σήμερα έχει αντικατασταθεί από την υπόθεση των “πολλαπλών – παράλληλων χτυπημάτων” (**The Multiple Parallel Hits Hypothesis**) καθώς η σχέση μεταξύ της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης, των αντιποκινών, της φλεγμονής του ήπατος, της απόπτωσης των ηπατοκυττάρων αλλά και πολλών άλλων παθογενετικών συνιστωσών έχουν μελετηθεί και εμπλουτιστεί τα τελευταία χρόνια [55, 56]. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή πολλαπλά χτυπήματα δρουν παράλληλα, με τελικό αποτέλεσμα την ηπατική φλεγμονή, ενώ παράγοντες που σχετίζονται με το πεπτικό σύστημα και το λιπώδη ιστό φαίνεται να κατέχουν πρωταγωνιστικό ρόλο. Επιπλέον, οι ερευνητές αναγνωρίζουν την σπουδαιότητα του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (ER) σε διάφορες πτυχές της νόσου. Στο σχήμα 9 που ακολουθεί παρουσιάζεται το μοντέλο των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων όπως περιγράφηκε από τον Tilg, 2010..

Σχήμα 9: Το μοντέλο των πολλαπλών – παράλληλων χτυπημάτων σύμφωνα με τον Tilg et al [56]



Λιποτοξικότητα: (1) ήπαρ επιφορτισμένο με λιπίδια που συνίστανται κυρίως σε TG πιθανόν αντικατοπτρίζει μια καλοήγη διεργασία αφού τα TG πιθανόν ασκούν κυρίως προστατευτική επίδραση. Επιπλέον, η υπερλεπτιναιμία οδηγεί σε οξείδωση των ηπατικών λιπιδίων, προστατεύοντας επίσης το όργανο από την λιποτοξικότητα. Όταν η ικανότητα

των περιφερικών και κεντρικών οργάνων να αποτοξικοποιούν τα «επιθετικά λιπίδια» περιορίζεται, είναι δυνατόν να ξεκινήσει η λιποτοξική προσβολή του ήπατος. Η φλεγμονή μπορεί να προηγείται της στεάτωσης στη NASH. Σήματα από το πεπτικό σύστημα: πολλά σήματα πέραν της ενδοτοξίνης είναι δυνατόν να επηρεάζουν την ηπατική στεάτωση και φλεγμονή. Πολλά μονοπάτια έχουν αναγνωριστεί σχετικά με το πώς η μικροχλωρίδα του πεπτικού συστήματος μπορεί να επηρεάζει τον ενεργειακό μεταβολισμό του ξενιστή: (2) απουσία μικροχλωρίδας σε μη γόνιμα ποντίκια σχετίζεται με αυξημένη δραστηριότητα της φωσφοριλιωμένης AMPK στο ήπαρ και τους μύες (δεν εικονίζεται). (3) κάποια από τα προϊόντα διάσπασης των πολυσακχαριτών μεταβολίζονται σε SCFAs. SCFAs όπως το προπιονικό και η οξική κυτταρίνη είναι προσδέτες για τους υποδοχείς G-πρωτεΐνης Gpr41 and Gpr43. Έλλειψη SCFAs πιθανόν επιτρέπει εξέλιξη γεγονότων συστηματικής φλεγμονής. Τέτοιοι μηχανισμοί συνδυάζουν τη διατροφή, τη μικροχλωρίδα και τα επιθηλιακά κύτταρα ως «διατροφικούς αισθητήρες». (4) η μικροχλωρίδα μειώνει την επιθηλιακή έκφραση του παράγοντα Fiaf, που δρα ως αναστολέας της λιποπρωτεϊνική λιπάση του ορού (LPL) και ως εκ τούτου αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της περιφερικής αποθήκευσης του λίπους. (5) πολλοί TLRs, όπως ο TLR5 ή ο TLR9, μπορούν όχι μόνο να επηρεάζουν τη μικροχλωρίδα αλλά και να ρυθμίζουν το μεταβολισμό, τη συστηματική φλεγμονή, και την IR, τονίζοντας έτσι το ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος στη μεταβολική φλεγμονή όπως παρατηρείται στη NASH. (6) διάφορα θρεπτικά συστατικά όπως τα trans λιπαρά οξέα (TFAs), φρουκτόζη ή προσδέτες των AhR υποδοχέων όπως η TCDD, πιθανόν οδηγεί άμεσα στη στεάτωση/ηπατική φλεγμονή. **Σήματα από το λιπώδη ιστό:** τα σήματα που προέρχονται από το λιπώδη ιστό πέρα από τα τοξικά λιπίδια, πιθανόν παίζουν κεντρικό ρόλο στην NAFLD/NASH. (7) εδώ, οι αδιποκίνες όπως η αδιπονεκτίνη και η λεπτίνη, συγκεκριμένες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως ο TNFα ή IL-6 και άλλες (Fas, PPARc) έχουν θεμελιώδη σημασία. Το περιβάλλον κυτταροκινών/αδιποκινών πιθανόν να είναι κρίσιμο, αφού διαγονιδιακά ποντίκια ob/ob-αδιπονεκτίνη, αν και γίνονται σοβαρά παχύσαρκα, δεν εμφανίζουν IR. Αυτό δείχνει ότι στην ιεραρχία των διεργασιών διαλυτοί μεσολαβητές παίζουν τον κεντρικό ρόλο. Μεσολαβητές που προέρχονται από το λιπώδη ιστό μπορεί πράγματι να επηρεάζουν όργανα στόχους όπως το ήπαρ, αφού τα JNK1 ποντίκια χωρίς λιπώδη ιστό εμφανίζονται προστατευμένα από παχυσαρκία που προκαλείται από τη διατροφή, και πειράματα έχουν αποδείξει ότι αυτό το αποτέλεσμα διαμεσολαβείται κυρίως από την IL-6, που είναι καθοριστικής σημασίας στην ανθρώπινη παχυσαρκία.

Παρόμοιο περίπλοκο μοντέλο έχει περιγραφεί από τον Krawczyk, 2010 [5]. Όπως φαίνεται στο **σχήμα 10** το υπέρβαρο, η παχυσαρκία, η αυξημένη ενδοκοιλιακή συσσώρευση λίπους με την παραγωγή λιποκυτταροκινών και ορμονών, η αυξημένη λιπόλυση και ροή ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ αποτελούν τα εναρκτήρια γεγονότα. Η παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF-α), μειώνει την ινσουλινοευαισθησία, μέσω μείωσης της έκφρασης του υποδοχέα της ινσουλίνης GLUT4 και μείωσης της φωσφορυλίωσης του υποδοχέα της ινσουλίνης IRS-1. Εν συνεχεία, ο TNF-α αυξάνει την ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer που παράγουν ενδοτοξίνες. Η απελευθέρωση διαφόρων κυτταροκινών από τα μακροφάγα είναι καθοριστική για την βαθμιαία αύξηση της φλεγμονής.

Τουλάχιστον τρία πεπτίδια του λιπώδους ιστού σχετίζονται με τον παθογενετικό μηχανισμό της NAFLD [5]. Η αντίσταση στην λεπτίνη προκαλεί φωσφορυλίωση των υποδοχέων της ινσουλίνης IRS-1 και οδηγεί στην αύξηση της ινσουλινοαντίστασης των ηπατοκυττάρων. Επίσης, η ρεζιστίνη πιθανά να παίζει ρόλο στην εμφάνιση της νόσου. Αντιθέτως, η αδιπονεκτίνη φαίνεται να έχει προστατευτικό ρόλο. Η συγκεκριμένη ορμόνη προωθεί την οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στους μύες και έχει αντιφλεγμονώδη δράση. Τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης βρέθηκαν μειωμένα σε άτομα με έλλειψη λεπτίνης ή σε ασθενείς με NAFLD.

Η εντερική μικροβιακή υπερανάπτυξη φαίνεται να συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της NAFLD, μέσω της παραγωγής αιθανόλης, ακεταλδεϋδης και ενδοτοξινών [5]. Η εντερική μικροχλωρίδα είναι ικανή να παράγει αισθητές ποσότητες αυτών των ουσιών χωρίς να είναι απαραίτητη η εξωγενής πρόσληψη [57]. Μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας, το ήπαρ δέχεται μεγάλες ποσότητες ακεταλδεϋδης με αποτέλεσμα τον τραυματισμό του [58]. Παράλληλα φαίνεται η βακτηριακή ανάπτυξη να αυξάνει και την παραγωγή ενδοτοξινών όπως λιποπολυσακχαρίτες και TNF-α.

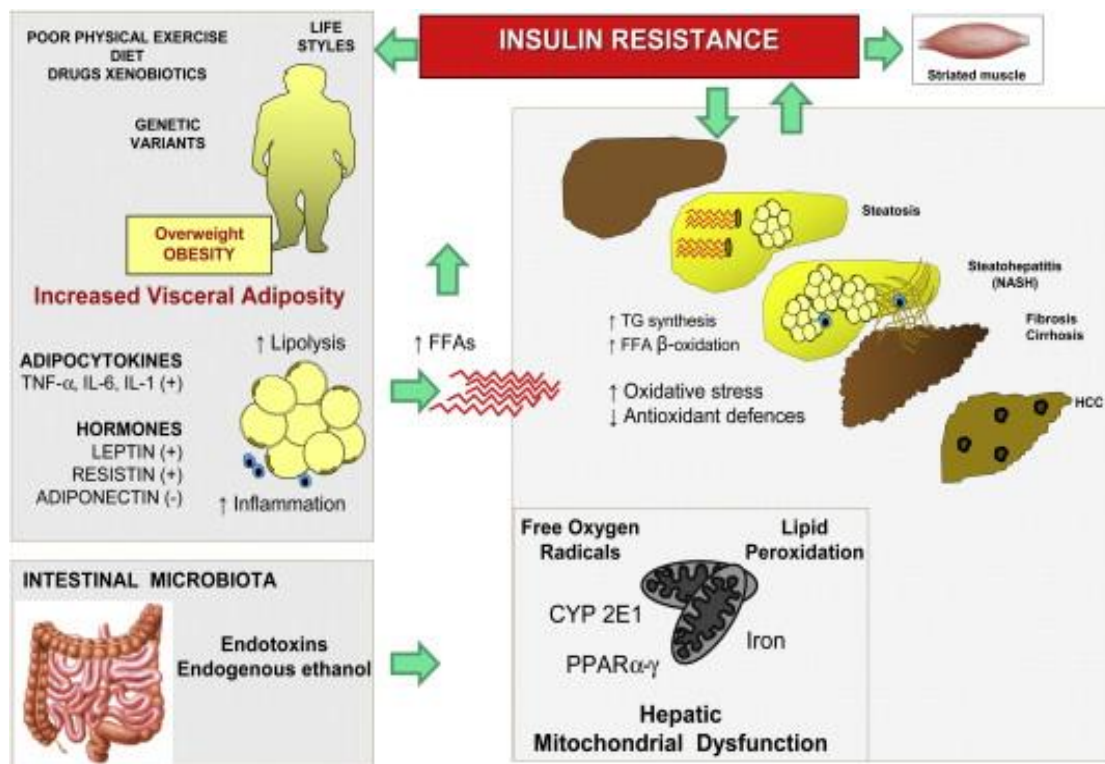
Ένας άλλος παράγοντας εμφάνισης NAFLD είναι η επαναλαμβανόμενη υποξία που συμβαίνει κατά την υπνική άπνοια και που εμφανίζεται σε παχύσαρκους ή σε άτομα με ινσουλινοαντίσταση [5]. Η συμβολή της παρατηρείται μέσω της αύξησης έκφρασης λιπογενών γονιδίων, τη μείωση της ρύθμισης των γονιδίων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό του λίπους και τη μείωση της ινσουλινοευαισθησίας.

Όλα αυτά τα γεγονότα επιδρούν στο ήπαρ, όπου η συσσώρευση ελεύθερων λιπαρών οξέων και η ινσουλινοαντίσταση, μαζί με την εντερική παραγωγή τοξινών οδηγούν στην εξέλιξη της νόσου [5]. Ο ρόλος επίσης της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας απεικονίζεται και σχετίζεται με διάφορους παράγοντες ικανούς να επάγουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και την λιπιδική υπεροξειδωση.

Εάν ο αυξημένος ηπατικός σίδηρος παίζει ρόλο στην NASH είναι ακόμα αντικείμενο μελέτης. Η στεάτωση σχετίζεται με αυξημένο ηπατικό σίδηρο και η ινσουλινοαντίσταση συμβάλλει σε αυτό [59-61]. Ο επιπολασμός των γονιδίων HFE της αιμοχρωμάτωσης είναι αυξημένος μεταξύ ασθενών με NASH και σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα τρανσαμινάσης της αλανίνης (ALT), σιδήρου ορού και φερριτίνης. Οι μηχανισμοί που προκαλείται βλάβη λόγω του σιδήρου είναι η πρόκληση οξειδωτικού στρες [62] και η υπερινσουλιναίμία [63]. Παρ' όλα αυτά οι μελέτες συνεχίζουν να μην θεωρούν το σίδηρο ως παράγοντα για την εμφάνιση της νόσου.

Όσον αφορά το γενετικό υπόβαθρο φαίνεται πως το 20% των ασθενών με NASH έχουν συγγενή πρώτου βαθμού που παρουσιάζει την ίδια νόσο[5]. Πολλές μελέτες παρουσιάζουν μια λίστα με γονίδια που σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου. Σε έρευνα όπου εξετάστηκαν 9229 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) 2111 ατόμων με φαινότυπο τη στεάτωση του ήπατος, η παρουσία του πολυμορφισμού I148M που κωδικοποιεί την αδιπονουτρίνη συσχετίστηκε ισχυρά με την NAFLD[64]. Η αδιπονουτρίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο PNPLA3 [65, 66]. Τελευταία, δυο άλλοι πολυμορφισμοί (rs2854116 και rs2854117) στο APOC3 που κωδικοποιούν την απολιποπρωτεΐνη C3 σχετίστηκαν με την ινσουλινοαντίσταση και την εμφάνιση της νόσου [65].

Σχήμα 10: Το μοντέλο των πολλαπλών – παράλληλων χτυπημάτων σύμφωνα με τον Krawczyk et al, 2010 [5]



1.1.6 Διάγνωση

Οι ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος είναι τυπικά ασυμπτωματικοί και γι' αυτό τις περισσότερες φορές η διάγνωση καθυστερεί αρκετά [6, 20, 67]. Ασαφή συμπτώματα που μπορούν να εκδηλωθούν είναι η κόπωση, η δυσφορία και ο πόνος στο άνω δεξί τεταρτημόριο της κοιλιάς. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην πλειοψηφία των ασθενών υπάρχει ηπατομεγαλία. Σπάνια, σε προχωρημένου σταδίου περιπτώσεις, υπάρχει εμφάνιση συμπτωμάτων χαρακτηριστικών ηπατοπάθειας όπως ίκτερος και ασκίτης. Επίσης, είναι σημαντικό να αποκλειστούν δευτερογενείς αιτίες ηπατικού τραυματισμού όπως αυτές παρουσιάστηκαν στον πίνακα 1 [κατανάλωση αλκοόλ, φαρμάκων, αιμοχρωμάτωση, νόσος Wilson, ηπατίτιδα C και άλλα][4, 6].

Στην κλινική εξέταση είναι χρήσιμο να εξεταστούν παράγοντες κινδύνου για NAFLD, όπως αυξημένος δείκτης μάζας σώματος (BMI), βάρος και αυξημένη αρτηριακή πίεση. Επιπλέον, καθώς υπάρχει μία σχέση μεταξύ μεταβολικού συνδρόμου και NAFLD, η κλινική ένδειξη ινσουλινοαντίστασης θα μπορούσε να αυξήσει την

υποψία για NAFLD [6]. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της NAFLD σήμερα θα μπορούσαν να διαχωριστούν σε επεμβατικές και μη επεμβατικές [4, 6]. Στις επεμβατικές συγκαταλέγεται η βιοψία ήπατος ενώ στις μη επεμβατικές ανήκουν

1) βιοχημικοί δείκτες: ηπατικά ένζυμα: ALT , AST, γ-GT, **δείκτες οξειδωτικού στρες:** IL-6, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη- CRP, TNF-α και αδιπονεκτίνη **2) απεικονιστικές τεχνικές:** υπερηχογράφημα, αξονική τομογραφία, μαγνητική τομογραφία, μαγνητική φασματοσκοπία, δείκτης αιμάτωσης Doppler και ελαστογραφία **3) συνδυαστικά μοντέλα**

ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ

Η βιοψία ήπατος αποτελεί μέχρι και σήμερα τη μέθοδο εκλογής «gold standard» για την ιστολογική διάγνωση και ποσοτική αξιολόγηση της NAFLD/NASH [6, 68]. Είναι η μοναδική μέθοδος που μπορεί να διακρίνει μεταξύ απλής στεάτωσης και στεατοηπατίτιδας. Επίσης, επιτρέπει την αξιολόγηση του βαθμού φλεγμονής και του επιπέδου της ίνωσης. Εξυπηρετεί στον αποκλεισμό ατόμων με άλλες ιστολογικές διαγνώσεις που μπορεί να συγχέονται με αυτή της NAFLD. Η παρουσία παχυσαρκίας, ΣΔ2, αρτηριακής υπέρτασης, υψηλών επιπέδων ALT (τουλάχιστον >2 ΑΦΤ), τριγλυκεριδίων πλάσματος και λόγου AST/ALT>1, υπό συνθήκες, δικαιολογούν τη βιοψία ήπατος, καθώς σε αυτές τις ομάδες των ασθενών έχει υψηλή προγνωστική αξία.

Ωστόσο, τα μειονεκτήματα της μεθόδου αφορούν το υψηλό κόστος, τη διαφοροποίηση της ιστολογικής εικόνας ανάλογα με τη θέση διενέργειάς της, τη διαφορετική εκτίμηση της βαρύτητας των βλαβών μεταξύ των παθολογοανατόμων που τη μελετούν (ιδιαίτερα εάν το μέγεθος της βιοψίας είναι μικρό ή το τεμάχιο είναι κατακερματισμένο) , καθώς και τη νοσηρότητα και θνησιμότητα που σχετίζονται με αυτήν [6]. Μολονότι θεωρείται ασφαλής, στο 1-3% των περιπτώσεων μπορεί να εμφανίσει επιπλοκές, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται ο κίνδυνος αιμορραγίας λόγω της επεμβατικής φύσης της τεχνικής, ακόμη και ο θάνατος σε ποσοστό 0,01%.

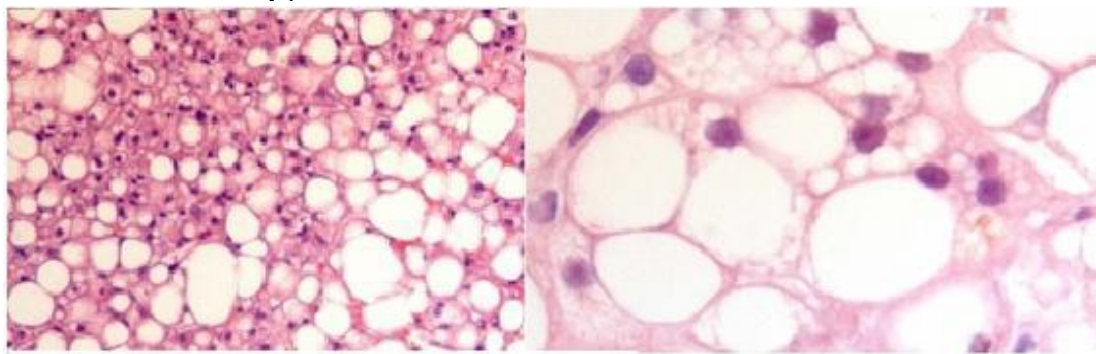
Μάλιστα, τα τελευταία χρόνια χάρη στην ανακάλυψη και τελειοποίηση των απεικονιστικών τεχνικών που θα αναλυθούν παρακάτω, άρχισε να αμφισβητείται η ανάγκη για ιστολογική επιβεβαίωση της NAFLD/NASH με βιοψία, δεδομένου ότι δεν υπάρχει αποδεδειγμένα αποτελεσματική θεραπευτική φαρμακευτική αγωγή της νόσου [69].

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Σε ασθενείς με NAFLD/NASH, στη χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης πολλά ηπατοκύτταρα είναι διογκωμένα, με σταγονίδια λίπους στο πρωτόπλασμα και κενотоπιώδη πυρήνα που παρεκτοπίζεται προς τη μεμβράνη των κυττάρων [70]. Οι αλλοιώσεις είναι περισσότερο έκδηλες γύρω από τα πυλαία διαστήματα (ζώνη 1 του ηπατικού λοβίου). Τα σταγονίδια του λίπους κατά τη μονιμοποίηση των παρασκευασμάτων σε διάλυμα φορμόλης, διαλύονται κι έτσι παρουσιάζονται ως άδειες περιοχές εντός των ηπατοκυττάρων.

Το κύριο ιστολογικό χαρακτηριστικό της NAFLD είναι η συσσώρευση του λίπους, με τη μορφή τριγλυκεριδίων εντός ηπατοκυττάρων, αλλοίωση που ονομάζεται στεάτωση. Προϋπόθεση για την ιστολογική διάγνωση της στεάτωσης είναι η παρουσία στεάτωσης σε >5% των ηπατοκυττάρων στη βιοψία ήπατος. Στη φάση αυτή, ο κίνδυνος εξέλιξης σε κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια είναι ελάχιστος (**Σχήμα 11**).

Σχήμα 11: Στεάτωση. Χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης. Τροποποιήθηκε από τους Wanless IR και συνεργάτες [70]

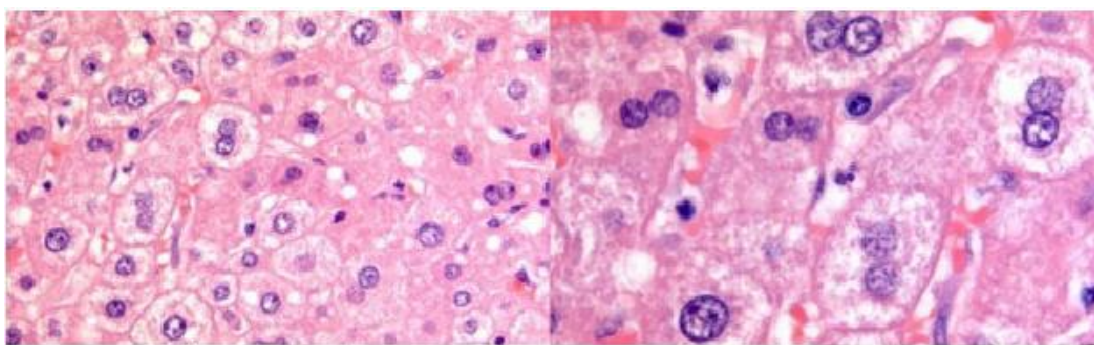


Η σταδιοποίηση της στεάτωσης μπορεί να γίνει ημιποσοτικά με βάση το ποσοστό των προσβεβλημένων ηπατοκυττάρων από τη στεάτωση (πίνακας 4).

Πίνακας 4: Ημιποσοτική κατηγοριοποίηση της στεάτωσης	
Ήπια	5-33%
Μέτρια	33-66%
Σοβαρή	> 66%

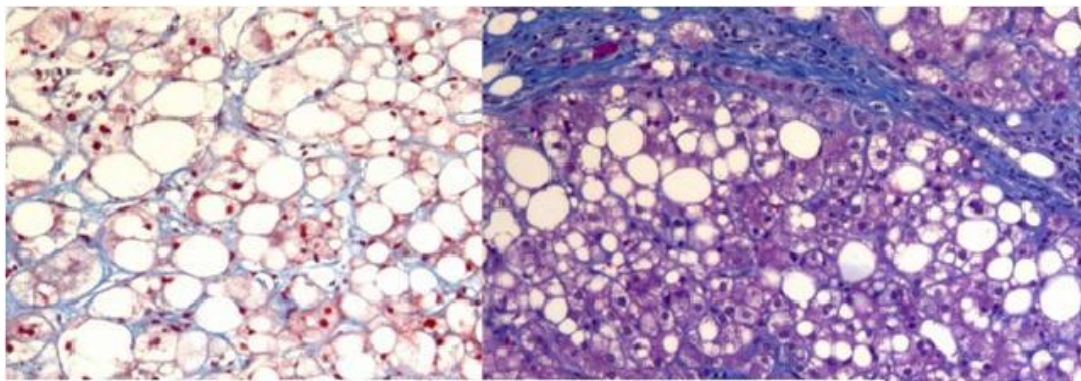
Σε ασθενείς με NASH, ιστολογικά εκτός από την εναπόθεση λίπους, υπάρχουν στοιχεία χρόνιας φλεγμονής, με διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από λεμφοκύτταρα, μεγάλα μονοπύρρηνα ή ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, ηπατοκυτταρική εκφύλιση (ballooning), διαβρωτική νέκρωση, σωματίδια Mallory, περικεντρική περικολποειδική ίνωση (στο χώρο του Disse) και λοβιώδη-πυλαία φλεγμονή [70]. Οι ασθενείς με NASH παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εξέλιξης σε σοβαρή ίνωση (**Σχήμα 12**)

Σχήμα 12: Στεατοηπατίτιδα. Εκφύλιση ηπατοκυττάρων (Ballooning). Χρώση αιμοτοξυλίνης-ηωσίνης. Τροποποιήθηκε από τους Wanless IR και συνεργάτες [70]



Η ίνωση οφείλεται σε παραγωγή συνδετικού ιστού από τα αστεροειδή κύτταρα και μπορεί να ακολουθείται από συσσώρευση υλικού παρόμοιου με τη σύσταση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών, με τελική κατάληξη την κίρρωση του ήπατος (τριχοειδοποίηση των κολποειδών). Η ίνωση είναι πλέον εμφανής στη ζώνη 3 του ηπατικού λοβίου (γύρω από την κεντρική φλέβα) και αποτελεί την ενδιάμεση βλάβη μεταξύ στεάτωσης και κίρρωσης του ήπατος. Η περικεντρική, περικολποειδική ίνωση μπορεί να επεκτείνεται στα πυλαία διαστήματα ή σε άλλα κεντρικά αγγεία, σχηματίζοντας γέφυρες. Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της NAFLD μπορεί να είναι πανομοιότυπα με αυτά της αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (**Σχήμα 13**).

Σχήμα 13: Ίνωση περικυτταρική/περιφλεβική στη ζώνη 3. Τρίχρωμη χρώση Masson. Τροποποιήθηκε από τους Wanless IR και συνεργάτες [70]



Για μια ενιαία ιστολογική ταξινόμηση της NAFLD/NASH, δημιουργήθηκε το 2005 ένα σύστημα ιστολογικής βαθμολόγησης με 14 ιστολογικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 5** [71]. Οι τέσσερις παράμετροι αξιολογήθηκαν ημιποσοτικά: στεάτωση (0-3), λοβιακή φλεγμονή (0-2), ηπατοκυτταρική εκφύλιση (ballooning) (0-2), και ίνωση (0-4). Ενώ, οι υπόλοιπες εννιά χαρακτηρίστηκαν παρούσες ή όχι. Ο βαθμός υποδηλώνει τη δραστηριότητα της στεατοηπατιτιδικής αλλοίωσης, ενώ το στάδιο αντανακλά το βαθμό της ίνωσης. Βιοψίες με σκορ ≥ 5 συσχετίζεται με θετική διάγνωση NASH, σκορ=3-4 υποδηλώνει οριακή ή πιθανή διάγνωση NASH, ενώ σκορ<3 ερμηνεύεται ως "όχι NASH".

Πίνακας 5. Ιστολογικοί Παράμετροι	Σκορ
1. Στεάτωση - βαθμός	0-3
2. Στεάτωση - θέση	0-3
3. Μικροφυσαλιδώδης στεάτωση	0-1
4. Ίνωση	0-4
5. Λοβιακή φλεγμονή	0-3
6. Μικροκοκκιώματα	0-1
7. Λιποκοκκιώματα	0-1
8. Περιπυλαία φλεγμονή	0-1
9. Ηπατοκυτταρική εκφύλιση (Ballooning)	0-1
10. Οξεόφιλα σωματίδια	0-1
11. Μελαγχρωματικά μακροφάγα	0-1
12. Μεγαμιτοχόνδρια	0-1
13. Mallory Υαλίνη	0-1
14. Γλυκοζυλιωμένοι πυρήνες	0-1

Όταν εγκατασταθεί η κίρρωση, τα ιστολογικά ευρήματα της NAFLD/NASH μπορεί να μη διαπιστώνονται πλέον («κρυψιγενής» κίρρωση) [72]. Ενώ, δεν υπάρχει συσχέτιση των ιστολογικών αλλοιώσεων με τις τρανσαμινάσες του ορού [73]. Η

προγνωστική σημασία της NASH για την ανάπτυξη της κίρρωσης καθιστά την ιστολογική εξέταση πολύ χρήσιμη. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η συμβολή της βιοψίας σε μη ξεκάθαρες περιπτώσεις, που συνυπάρχουν και άλλα κλινικό-εργαστηριακά ευρήματα (π.χ. αυξημένη φερριτίνη, μετάλλαξη HFE, υψηλός τίτλος αυτοαντισωμάτων, χρήση φαρμάκων κ.λπ.).

ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Υπάρχουν αρκετοί δείκτες που μπορούν να φανερώσουν μια διαταραχή στο ήπαρ που σχετίζεται με τη NAFLD. Σε κάθε περίπτωση όμως, οι δείκτες αυτοί δεν είναι ειδικοί της νόσου. Ένα από τα πιο βασικά εργαστηριακά ευρήματα είναι αύξηση στα ηπατικά ένζυμα αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT) και ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST). Σε ποσοστό των ασθενών μεγαλύτερο του 78%, οι συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων είναι φυσιολογικές. Η πιθανή αύξηση είναι ήπια με μέγιστη τιμή που δεν ξεπερνά το πενταπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου [74]. Σε ασθενείς με NAFLD χωρίς προχωρημένη ίνωση ο λόγος AST:ALT είναι τυπικά μικρότερος του 1, αλλά τείνει να αυξηθεί καθώς η ίνωση εξελίσσεται σε κίρρωση [75]. Λόγος μεγαλύτερος του 1 υποδεικνύει βλάβη. Αξίζει να σημειωθεί ότι βελτίωση στα ένζυμα δεν συνεπάγεται απαραίτητα βελτίωση της κλινικής εικόνας της νόσου. Η γ-γλουταμιλοτρανσπεπτιδάση (γ-GT) πιθανόν εμφανίζει ήπια αύξηση στο μοτίβο των τρανσαμινασών για την NAFLD. Επίσης και η αλκαλική φωσφατάση (ALP) υφίσταται ήπια αύξηση στο 38-70% των περιπτώσεων, με μέγιστη τιμή που δεν ξεπερνά το διπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, όμως σπάνια αυξάνεται μεμονωμένα [74]. Επιπρόσθετα, σε πολλά άτομα με NAFLD τα επίπεδα φερριτίνης του ορού είναι 1,5 φορές υψηλότερα από το ανώτατο όριο φυσιολογικών ατόμων και σχετίζεται με πιο προχωρημένο ιστολογικό στάδιο της νόσου (NASH). Τέλος, τα επίπεδα της κυττοκερατίνης 18 (CK-18) στον ορό, ενός δείκτη της απόπτωσης, είναι στις μέρες μας το πιο έγκυρο εργαλείο για τη μη επεμβατική διάγνωση της NASH, όμως δεν χρησιμοποιείται ευρέως και η ακρίβειά του θεωρείται απλά καλή.

Ένας μεγάλος αριθμός δεικτών μελετώνται για την εύρεση ενός ειδικού για την ασθένεια βιοχημικού δείκτη. Συγκεκριμένα, οι έρευνες προσανατολίζονται σε ενώσεις που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της νόσου. Παραδείγματος χάρη, έχουν εξεταστεί δείκτες που αφορούν το οξειδωτικό στρες χωρίς πολλά αποτελέσματα. Επίσης μελετήθηκαν δείκτες φλεγμονής όπως η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), η C-αντιδρώσα

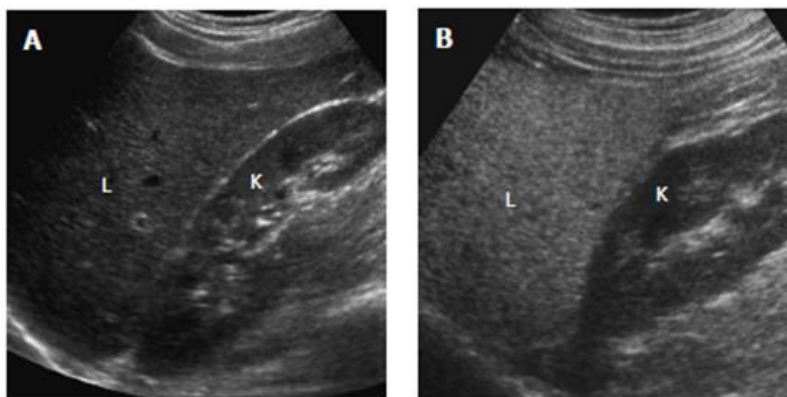
πρωτεΐνη (CRP), ο TNF-α και η αδιπονεκτίνη, με μη ξεκάθαρα αποτελέσματα. Φαίνεται πως εκτός από την αδιπονεκτίνη όλα τα άλλα αυξάνονται στην NASH [76].

ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Υπερηχογράφημα: Μια από τις πιο συνηθισμένες μεθόδους διάγνωσης είναι το υπερηχογράφημα [77, 78].

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος του ήπατος, κατά τον οποίο παρατηρείται χαρακτηριστική αύξηση της ηπατικής ηχογένειας ("**Bright Liver**"), συμβάλλει στη διάγνωση της NAFLD[68]. Η αυξημένη ηχογένεια του ηπατικού παρεγχύματος οφείλεται στην ενδοκυτταρική συσσώρευση κενотоπίων λίπους. Η αξιολόγηση της ηπατικής στεάτωσης περιλαμβάνει την ποιοτική οπτική εκτίμηση της ηπατικής ηχογένειας, μετρήσεις της διαφοράς της μεταξύ του ήπατος και δεξιού νεφρού, εκτίμηση της ηχητικής διείσδυσης στο βαθύ τμήμα του ήπατος, και τον προσδιορισμό της σαφήνειας των τοιχωμάτων των ενδοηπατικών αγγείων (**Σχήμα 14**). Η σοβαρότητα της ηπατικής στεάτωσης ταξινομείται κλινικά με τη χρήση μίας κλίμακας τεσσάρων βαθμίδων, ως ακολούθως [79] : **βαθμός 0** (φυσιολογική ηχογένεια), **βαθμός 1** (ήπια λιπώδης διήθηση, διάχυτη αύξηση της ηχογένειας στο ηπατικό παρέγχυμα με φυσιολογική απεικόνιση του διαφράγματος και των ενδοηπατικών αγγείων) **βαθμός 2** (μέτρια λιπώδης διήθηση, διάχυτη αύξηση της ηχογένειας στο ηπατικό παρέγχυμα με ελαφρά διαταραγμένη απεικόνιση των ενδοηπατικών αγγείων και του διαφράγματος), **βαθμός 3** (σοβαρή λιπώδης διήθηση, σημαντική αύξηση της ηχογένειας με φτωχή ή μη απεικόνιση των ενδοηπατικών αγγείων, του διαφράγματος, και του οπισθίου δεξιού λοβού του ήπατος).

Σχήμα 14: Υπερηχογραφική αξιολόγηση της ηπατικής στεάτωσης **A:** Εικόνα φυσιολογικού ήπατος, η ηχογένεια του ηπατικού παρεγχύματος (L) και νεφρικού φλοιού είναι παρόμοια. **B:** Εικόνα λιπώδους ήπατος, με αυξημένη ηχογένεια του ήπατος (L) και σαφώς φωτεινότερο σε σχέση με το φλοιό του νεφρού (K). Τροποποιήθηκε από τους Lee SS και συνεργάτες.



Η διαγνωστική ακρίβεια του υπερηχογραφήματος ποικίλει, ανάλογα με τη **βαρύτητα της στεάτωσης** και την παρουσία **συνυπάρχουσας χρόνιας ηπατικής νόσου** [68] . Σε ασθενείς χωρίς συνυπάρχουσα ηπατική νόσο, ο υπέρηχος προσφέρει μια αρκετά ακριβή διάγνωση σε μέτρια έως σοβαρή ηπατική στεάτωση (που ιστολογικά αντιστοιχεί σε $\geq 30\%$ ή 33% ηπατοκυττάρων), και με ευαισθησία που κυμαίνεται από $81,8\%$ έως $100,0\%$ και η ειδικότητα στο 98% . Αντίθετα, η διαγνωστική ακρίβεια της μεθόδου μειώνεται σε μεγάλο βαθμό επί παχυσαρκίας και όταν περιλαμβάνονται όλες οι βαθμίδες της ηπατικής στεάτωσης, ιδίως οι πιο χαμηλές (δηλαδή, από $\geq 3\%$ ή 5%), με ευαισθησία που κυμαίνεται από $53,3\%$ έως $66,6\%$ και ειδικότητα από $77,0\%$ έως $93,1\%$. Σε μια έρευνα 100 εθελοντών το υπερηχογράφημα δεν κατάφερε να εντοπίσει στεάτωση όταν αυτή παρουσιαζόταν σε έκταση μικρότερη του 10% των ηπατοκυττάρων, ενώ εντόπισε μόνο το 55% και 72% των ασθενών με στεάτωση $10-19\%$ και $20-29\%$ αντίστοιχα. Επίσης, σε περίπτωση που συνυπάρχει μία υποκείμενη χρόνια ηπατική νόσος, μπορεί να μειωθεί η διαγνωστική ακρίβεια του υπέρηχου στη διάγνωση και σταδιοποίηση της ηπατικής στεάτωσης. Για παράδειγμα, σε μελέτη με ασθενείς με ηπατίτιδα C, διαπιστώθηκε ότι ο υπέρηχος είχε ευαισθησία 60% και ειδικότητα 73% σε ιστολογικά αποδεδειγμένη μέτρια έως σοβαρή ηπατική στεάτωση.

Ένας σημαντικός περιορισμός της υπερηχογραφικής μεθόδου είναι η μεταβλητότητα μεταξύ των παρατηρητών, καθιστώντας τη μέθοδο αυτή πολύ εξαρτώμενη από το χειριστή και την εμπειρία του [68]. Μια αναδρομική μελέτη με 168 υπερηχογραφικές εξετάσεις ανέδειξε τα ποσοστά συμφωνίας για την εκτίμηση της σοβαρότητας της ηπατικής στεάτωσης σε επίπεδο ενδο- και δια-παρατηρητή, να κυμαίνονται μεταξύ του $54,7\% - 67,9\%$ και $47,0\% - 63,7\%$, αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας το παραδοσιακό οπτικό σύστημα ταξινόμησης των τεσσάρων σημείων.

Ένας άλλος περιορισμός της μεθόδου είναι η ποιοτική φύση αυτού του συστήματος ταξινόμησης. Αν και είναι το πιο ευρέως διαδεδομένο μέσο στην αξιολόγηση της ηπατικής στεάτωσης στην κλινική πράξη, λόγω χαμηλού κόστους, ευκολίας και απουσίας ανεπιθύμητων παρενεργειών, εντούτοις αδυνατεί να αποδώσει ακόμα και τις πιο μικρές μεταβολές στη βαρύτητα της στεάτωσης στο follow-up. Έτσι, ο υπέρηχος μπορεί να αποτελεί ένα αποδεκτό εργαλείο στην πρώτη διαλογή για στεάτωση στην κλινική πρακτική [80] ωστόσο, είναι ανεπαρκής στην αξιολόγηση των ασθενών με NAFLD μετά από θεραπευτική παρέμβαση [4, 68] .

Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, νέες ποσοτικές υπολογιστικές απεικονιστικές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια, με προεξέχουσα θέση την Ελαστογραφία, Αξονική τομογραφία (CT) και μαγνητική τομογραφία (MRI) με πολύ αισιόδοξα αποτελέσματα, αυξάνοντας την ευαισθησία και την ειδικότητα >90% ακόμα και σε πολύ χαμηλού βαθμού στεάτωση ήπατος $\geq 5\%$ [68] .

Αξονική τομογραφία (CT): Μια άλλη μέθοδος διάγνωσης είναι η αξονική τομογραφία [68]. Η εκτίμηση της ηπατικής στεάτωσης με CT, βασίζεται στις τιμές εξασθένισης (αραιώσης) του ηπατικού παρεγχύματος, με μονάδα μέτρησης Hounsfield Unit (HU). Στη στεάτωση, λόγω της διάχυτης εναπόθεσης λίπους που είναι λιγότερο πυκνός ιστός (-100 HU), το ηπατικό παρέγχυμα εμφανίζεται στην εξέταση λιγότερο πυκνό. Με τη μέθοδο αυτή μπορεί να προσδιοριστεί τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά ο βαθμός στεάτωσης.

Η ακρίβεια της CT στη διάγνωση ηπατικής στεάτωσης ποικίλλει. Είναι αρκετά ακριβής στη διάγνωση της μέτριας έως σοβαρής στεάτωσης, αλλά όχι τόσο ακριβής στην ανίχνευση της ήπιας, καθιστώντας την ακατάλληλη για την εκτίμηση της NAFLD, που είναι συνήθως ήπιας βαρύτητας. Η ακρίβεια, επίσης, επηρεάζεται από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται, τον πληθυσμό που μελετάται και τον παρατηρητή. Γι' αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί κάποιοι ποσοτικοί CT δείκτες για τη διαβάθμιση της στεάτωσης, με πιο γνωστούς την απόλυτη τιμή ηπατικής εξασθένισης (HU_{liver}) και τη διαφορά πυκνότητας ήπατος - σπληνός (CT L-S).

Οι περιορισμοί για τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι [68]: α) η έκθεση σε ραδιενέργεια και για το λόγο αυτό αντενδείκνυται τόσο σε παιδιά όσο και σε μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών με NAFLD β) ο ηπατικός σίδηρος που μπορεί να διαφοροποιήσει το αποτέλεσμα γ) το ότι δεν είναι συγκρίσιμη με άλλες μεθόδους καθώς και ότι δεν μπορεί να διαχωρίσει την στεάτωση από την στεατοηπατίτιδα, ούτε και να ανιχνεύσει μικρές μεταβολές στη βαρύτητα της ηπατικής στεάτωσης. Ως εκ τούτου δεν φαίνεται να αποτελεί κατάλληλο εργαλείο επαναξιολόγησης των ασθενών με NAFLD.

Μαγνητική τομογραφία (MRI) – Μαγνητική φασματογραφία (MRS): Σε αντίθεση με τις προηγούμενες τεχνικές, η MRI και MRS μπορούν να πραγματοποιήσουν άμεσα ποσοτική μέτρηση του ηπατικού λίπους χρησιμοποιώντας έναν ποσοτικό δείκτη, τον PDFF (proton density fat fraction) με μεγάλη συμφωνία υπολογισμού του ανάμεσα στα εργαστήρια [68, 81]. Ο PDFF υπολογίζει το κλάσμα του ποσού των πρωτονίων που

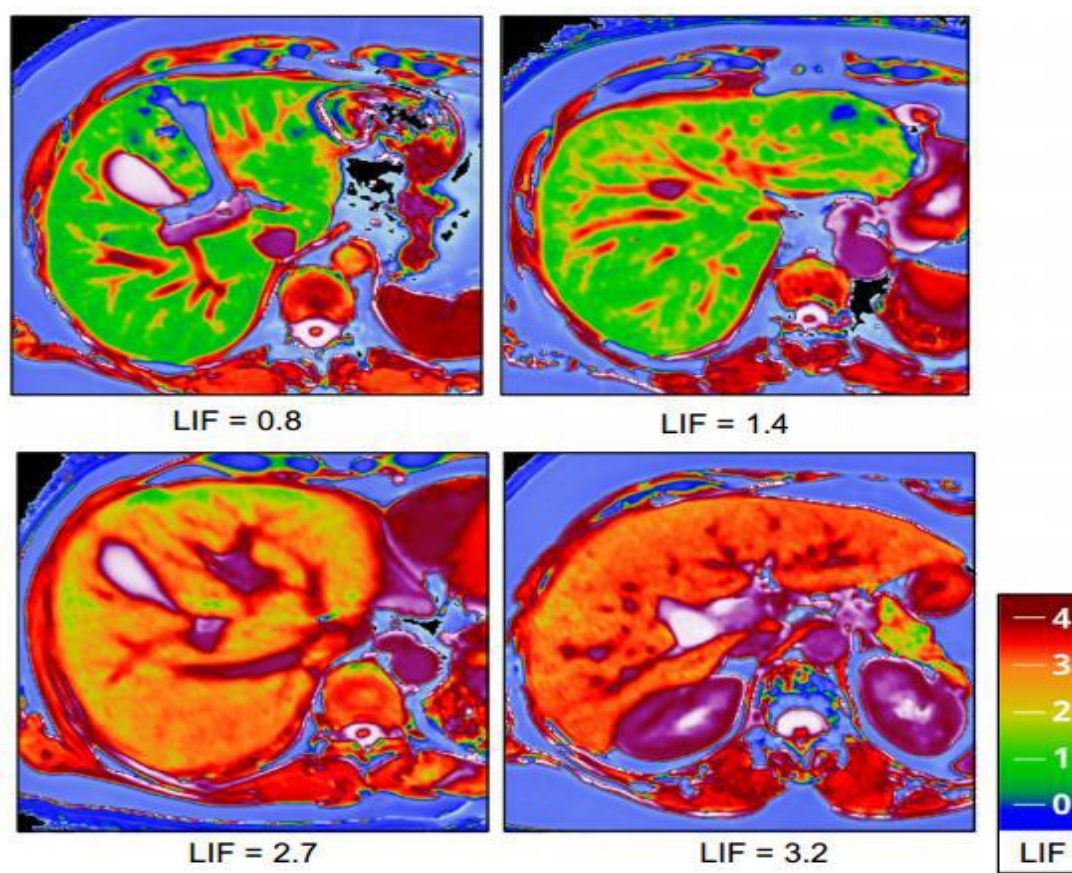
συνδέονται στο λίπος διαιρεμένο με το ποσό όλων των πρωτονίων του ήπατος, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που συνδέονται με το λίπος και το νερό.

Η Μαγνητική Τομογραφία υπερέρχει σταθερά σε όλες τις συγκριτικές μελέτες, από τη CT και τη US στη διάγνωση και στην ταξινόμηση της ηπατικής στεάτωσης. Συγκεκριμένα, η MRI εμφανίζει ευαισθησία και ειδικότητα στην ανίχνευση της ελάχιστης ιστολογικά στεάτωσης $\geq 5\%$,76,7%-90,0% και 87,1%-91,0% αντίστοιχα. Ενώ, για τη MRS οι αντίστοιχες επιδόσεις είναι 80,0%-91,0% και 80,2%-87,0%.

Η Μαγνητική Τομογραφία αποτελεί πλέον την εξέταση αναφοράς για την ποσοτικοποίηση του ηπατικού λίπους και προτιμάται σε σχέση με τη βιοψία στην κλινική πράξη, αλλά και στην έρευνα, κυρίως μετά από μακροχρόνιες θεραπευτικές παρεμβάσεις [68]. Τα πλεονεκτήματα της έναντι των άλλων μεθόδων είναι τα εξής: η υψηλή ακρίβεια (μελετάται όλο το ηπατικό παρέγχυμα και όχι ένα δείγμα), η τεχνική ευκολία, η επαναληψιμότητα της μεθόδου, η απουσία ακτινοβολίας σε σχέση με τη CT και η απουσία ανεπιθύμητων παρενεργειών και επιπλοκών. Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συγκαταλέγεται το υψηλό κόστος.

Το 2014, οι Banerjee et al [82], λαμβάνοντας υπόψιν τις τελευταίες εξελίξεις στον τομέα της Μαγνητικής Τομογραφίας, ανέπτυξαν τη μέθοδο του LiverMultiScan, ένα πολυπαραμετρικό εργαλείο, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου καθώς και της NASH. Η συγκεκριμένη τεχνική μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση, υπολογίζοντας ένα σκορ, το οποίο καλείται LIF score και το οποίο ενδείκνυται για τη διάκριση της ηπατικής στεάτωσης από τη NASH και την επιλογή κατάλληλων εθελοντών για εισαγωγή σε κλινικές μελέτες. Η κατηγοριοποίηση του LIF σκορ βασίζεται στο σύστημα σταδιοποίησης Ishak, όπου η απουσία ίνωσης αντιστοιχεί στο στάδιο F0, η ήπια ίνωση τα στάδια F1-F2, η μετρίου βαθμού ίνωση στα στάδια F3-F4 και η σοβαρού βαθμού στα στάδια F5-F6. Κατά αντιστοιχία με τα παραπάνω, οι τιμές του LIF score κυμαίνονται από 0 έως 4, με μικρότερες τιμές του 1 να υποδεικνύουν απουσία ηπατικής νόσου, τιμές από 1-1,99 ήπια νόσο, τιμές από 2-2,99 μέτρια και τιμές από 3-4 σοβαρή (σχήμα 15).

Σχήμα 15: Παραδείγματα δεδομένων με τη χρήση του *LiverMultiScan MR*. Αντιπροσωπευτικές εικόνες από ασθενείς από κάθε κατηγορία σοβαρότητας ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης (*Liver Inflammation and Fibrosis, LIF*) [82]



Δείκτης αιμάτωσης Doppler: Ο δείκτης αυτός υπολογίζεται ως το πηλίκο της ηπατικής αρτηριακής ροής προς τη συνολική ηπατική ροή αίματος. Διαφοροποίηση στην τιμή του σχετίζεται με ανωμαλίες στην περιοχή του παρεγχύματος. Έτσι κατά την αξιολόγηση του προσδιορίζεται ποιοτικά η στεάτωση [81].

Ελαστογραφία: Η ελαστογραφία είναι μια σύγχρονη τεχνική που χρησιμοποιείται για την εύρεση ίνωσης στο ήπαρ [68, 81]. Βασίζεται στην παραγωγή ενός μηχανικού κύματος το οποίο διαπερνά το ηπατικό παρέγχυμα. Έτσι αξιολογείται η ελαστικότητα του ήπατος που σχετίζεται με την ίνωση. Τα μειονεκτήματα της εμφανίζονται σε ασθενείς με αυξημένο σωματικό βάρος και σε άτομα που βρίσκονται στα αρχικά στάδια της ίνωσης όπου η διάγνωση στερείται ευαισθησίας.

ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

Διάφορα μοντέλα διάγνωσης έχουν σχεδιαστεί για τη διάγνωση της στεάτωσης, στεατοηπατίτιδας και ίνωσης. Στους δείκτες αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες παράμετροι όπως βιοχημικοί δείκτες, τα φύλο, η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος, η περιφέρεια μέσης καθώς και η παρουσία παραγόντων κινδύνου [6].

Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο με κλινική χρησιμότητα είναι το **NAFLD Fibrosis Score (NFS)**, το οποίο λαμβάνει υπόψιν 6 παραμέτρους: ηλικία, υπεργλυκαιμία, BMI, AST/ALT, αριθμό αιμοπεταλίων και αλβουμίνη [69, 77] και η σύγκριση του έναντι της βιοψίας ήπατος έδειξε ότι ταξινομεί με ακρίβεια ασθενείς με NAFLD με ή χωρίς προχωρημένη ίνωση [69]. Η αναφερόμενη ευαισθησία είναι 82% και ειδικότητα 98%. Ένα άλλο μοντέλο είναι το **Fibrotest**, το οποίο περιλαμβάνει την ηλικία του ασθενούς, την α2 μακροσφαιρίνη, την ολική χολερυθρίνη, τη γ-GT και την απολιποπρωτεΐνη A1 [83]. Η ευαισθησία και ειδικότητα του μοντέλου βρίσκεται στο 77% και 98% αντίστοιχα. Σημαντικοί περιορισμοί είναι η αδυναμία να κατατάξει το 1/3 των ασθενών και να κάνει το διαχωρισμό μεταξύ ήπιας και μέτριας ίνωσης [6, 83]. Ο **Fatty Liver Index (FLI)** αποτελεί αλγόριθμο 4 παραμέτρων (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, TG, γ-GT) [84] και φαίνεται να ταυτοποιεί την ύπαρξη NAFLD [85]. Ο αλγόριθμος **FibroMeter** αξιολογεί 7 παραμέτρους (ηλικία, βάρος, γλυκόζη νηστείας, AST, ALT, φερριτίνη, αριθμό αιμοπεταλίων) (Festi et al., 2013; Calès et al., 2009; Wong et al., 2010), και σύγκριση του με τον NFS έδειξε ότι FibroMeter παρέχει πιο αξιόπιστη διάγνωση για τη σημαντική ίνωση έναντι του NFS (Cales et al, 2009).

Άλλα μοντέλα διάγνωσης περιλαμβάνουν το **FIB-4**, το **European Liver Fibrosis Test (ELF)**, το **BARD**, το μοντέλο **NICE** και το **NASH test**. Καθένα από αυτά τα προγνωστικά μοντέλα ενσωματώνουν διάφορες εργαστηριακές εξετάσεις και χαρακτηριστικά ασθενών τα οποία φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα (**πίνακας 6**).

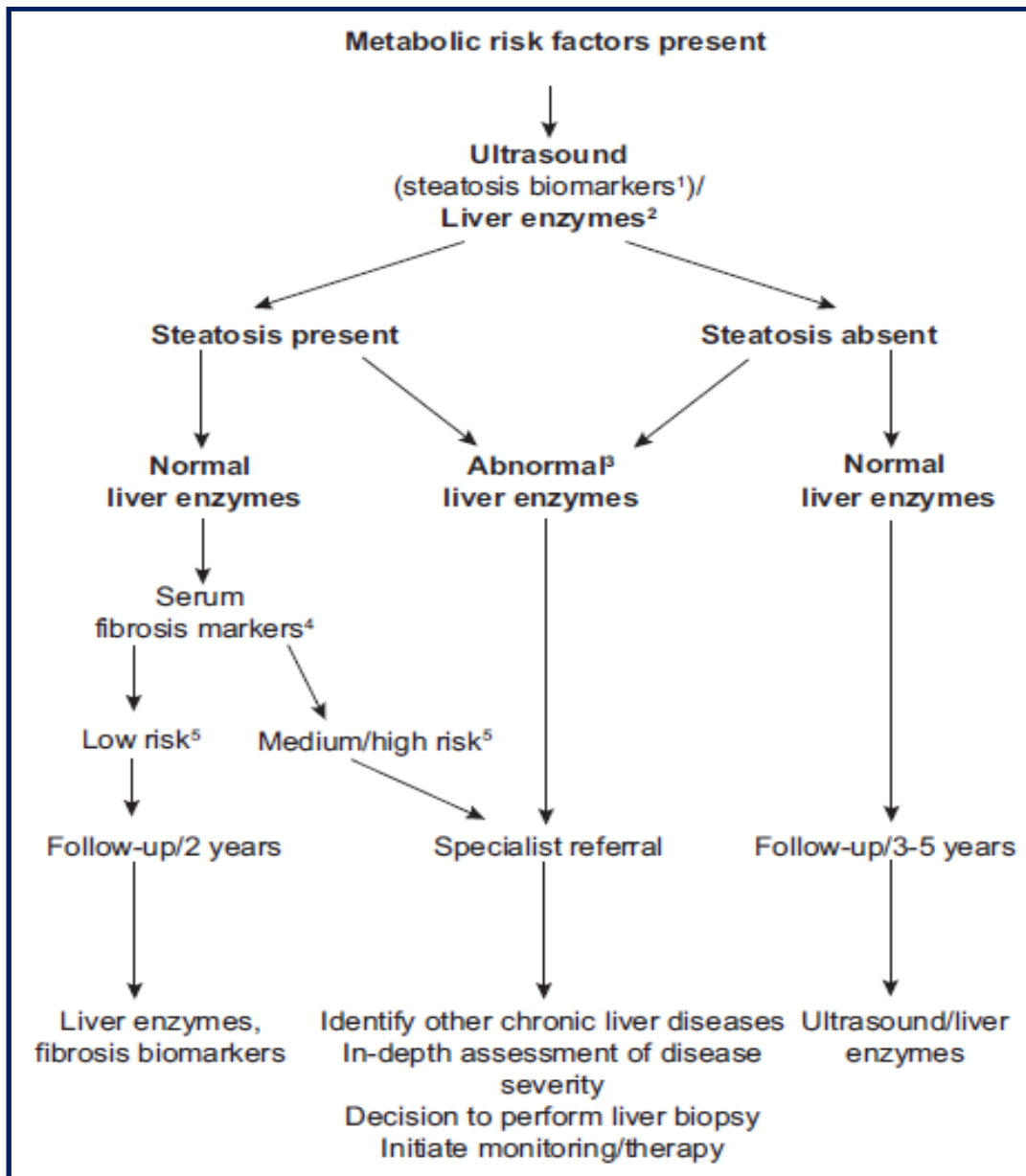
Πίνακας 6: Συνοπτική παρουσίαση των παραμέτρων που συμπεριλαμβάνουν τα κυριότερα συνδυαστικά μοντέλα διάγνωσης της NAFLD

	NAFLD Fibrosis Score	Fibrotest	FIB-4	ELF	BARD	NICE	NASH test
Age	x	x	x	x			x
BMI	x				x		
AST	x		x		x		x
ALT	x		x		x	x	x
Platelet Count	x		x				
Albumin	x						
α 2-MG		x					x
Total bilirubin		x					x
Apo A1		x					x
GGT		x					x
PIIINP				x			
HA				x			
TIMP				x			
DM					x		
MS						x	
CK-18						x	
Sex							x
Height							x
Weight							x
HG							x
TGL							x
CL							x

α 2-MG: α 2 μακροσφαιρίνη, **ALT:** αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, **AST:** ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, **BMI:** Body Mass Index, **CK-18:** Κυττοκερατίνη-18, **CL:** επίπεδα χοληστερόλης, **DM:** Σακχαρώδης Διαβήτης, **ELF:** European Liver Fibrosis Test, **GGT:** γ-γλουταμυλ- τρανσπεπτιδάση, **HA:** υαλουρονικό οξύ **HG:** Haptoglobin (απτοσφαιρίνη), **MS:** μεταβολικό σύνδρομο, **PIIINP:** aminoterminal propeptide of type III collagen, **TG:** επίπεδα τριγλυκεριδίων, **TIMP:** tissue inhibitor of metalloproteinase, **NASH:** Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα

Συμπερασματικά, όλες αυτές οι μη επεμβατικές μετρήσεις για την αξιολόγηση της NAFLD/NASH πρέπει να εφαρμόζονται πριν την βιοψία ήπατος μιας και ενέχουν τον ελάχιστο κίνδυνο για τον ασθενή. Παρακάτω παρατίθεται ένας πρακτικός διαγνωστικός αλγόριθμος (**Διάγραμμα 1**) όπως προτείνεται από τις κατευθυντήριες οδηγίες 2016 των EASL (European Assosiation for the Study of the Liver), EASD (European Assosiation for the Study of Diabetes) και EASO (European Assosiation for the Study of Obesity) [10].

Διάγραμμα 1: Διαγνωστικός αλγόριθμος αξιολόγησης και ελέγχου της παρουσίας Μη Αλκοολικής Διπώδους Διήθησης [10].



1: Steatosis biomarkers: Fatty Liver Index, SteatoTest, NAFLD Fat Score, **2: Liver tests:** ALT, AST, γ -GT **3: any increase in ALT, AST or γ -GT.** **4: Serum fibrosis markers:** NAFLD Fibrosis Score, FIB-4, Commercial tests (FibroTest, FibroMeter, ELF) **5: Low risk:** indicative of no/mild fibrosis, **Medium/high risk:** Indicative of significant fibrosis or cirrhosis

1.1.7 Θεραπεία

Το θεραπευτικό οπλοστάσιο για την αντιμετώπιση της NAFLD βασίζεται σε αλλαγές του τρόπου ζωής με τις δύο κύριες συνιστώσες να είναι η διατροφή και η άσκηση [6]. Δεδομένου ότι δεν είναι διαθέσιμες μέχρι και σήμερα αποδεδειγμένες και αποτελεσματικές θεραπείες για τη NAFLD, η θεραπευτική αντιμετώπιση πρέπει να είναι εξατομικευμένη και να περιλαμβάνει τη θεραπεία των επιμέρους παραγόντων κινδύνου όπως κεντρική παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, που στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ευθύνονται για την εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου [86]. Οι στρατηγικές αυτές είναι οι ακόλουθες:

1) Σταδιακή απώλεια βάρους με δίαιτα, άσκηση ή συνδυασμό τους

Προγράμματα παρέμβασης που οδηγούν σε σημαντική απώλεια βάρους (μείωση 5-10% του αρχικού σωματικού βάρους) δείχνουν βελτίωση της στεάτωσης [8, 87-89] ενώ μεγαλύτερη απώλεια (τουλάχιστον 10%) απαιτείται για τη βελτίωση της φλεγμονής.

Στην έρευνα των Promrat και συν.[90], οι ασθενείς ήταν χωρισμένοι στην ομάδα παρέμβασης (συνδυασμός δίαιτας, άσκησης και τροποποίησης συμπεριφοράς) και στην ομάδα ελέγχου σε αναλογία 2:1, με στόχο τη μείωση του βάρους τους κατά 7-10%. Το καταληκτικό σημείο ήταν η βελτίωση του NAFLD Activity Score ύστερα από 48 εβδομάδες θεραπείας. Οι ασθενείς στην ομάδα παρέμβασης (n=21) υιοθέτησαν δίαιτα συγκεκριμένων θερμίδων ανάλογα το αρχικό τους βάρος (1000-1200 θερμίδες/ημέρα αν < 90 κιλά και 1200-1500 θερμίδες αν >90 κιλά) με ποσοστό λίπους 25%. Οι συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου (n=10) έλαβαν βασική εκπαίδευση για τη NASH, την υγιεινή διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα. Η ομάδα παρέμβασης είχε μια μέση απώλεια 9,3% του βάρους της ενώ η ομάδα έλεγχου μόλις 0,2%. Επιπλέον, στην ομάδα παρέμβασης υπήρξε βελτίωση και στην ιστολογική εικόνα της NASH. Αυτοί που έχασαν $\geq 7\%$ του βάρους τους συγκριτικά με αυτούς που είχαν απώλεια <7% είχαν στατιστικά σημαντική βελτίωση σε κάθε μία από τις συνιστώσες του NAFLD Activity Score, δηλαδή τη στεάτωση, τη φλεγμονή και τον ηπατοκυτταρικό τραυματισμό.

Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν και από μία άλλη τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή [91]. Ο Harrison και συν. κατέληξαν σε βελτίωση στην ινσουλινοευαισθησία και στο δείκτη NAS (NAFLD Activity Score) στους ασθενείς που έχασαν >5% του σωματικού βάρους και οι βελτιώσεις ήταν ακόμη μεγαλύτερες για αυτούς που έχασαν >9% του βάρους τους.

Πρόσφατες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τη μέθοδο της μαγνητικής φασματογραφίας για να αξιολογήσουν μεταβολές στο ηπατικό λίπος σε απάντηση αλλαγών του τρόπου ζωής [4]. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών που χρησιμοποιούν ποικιλία παρεμβάσεων είτε με δίαιτα μόνο, είτε με συνδυασμό διαίτας και άσκησης, δείχνουν μία σημαντική μείωση του ηπατικού λίπους ~40% (κυμαινόμενη από 20-81%). Ο βαθμός μείωσης του ηπατικού λίπους φαίνεται να είναι ανάλογος με την ένταση της παρέμβασης και γενικά απαιτείται μείωση του σωματικού βάρους μεταξύ 5-10%. Μελέτες που εξετάζουν την επίδραση της άσκησης αυτής κάθε αυτήν, χωρίς αλλαγές στις διατροφικές συνήθειες και στο σωματικό βάρος, καταλήγουν σε βελτίωση της νόσου [92]. Ωστόσο, το όφελος φαίνεται να έγκειται στη μείωση της ηπατικής στεάτωσης, ενώ είναι άγνωστη ακόμη η επίδραση της στη βελτίωση της ιστολογικής εικόνας [4]. Αξίζει να αναφερθεί μία πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση 23 μελετών που εξέτασε την επίδραση της διαίτας και της φυσικής δραστηριότητας σε ενήλικες με NAFLD και έδειξε ότι αυτές οι αλλαγές του τρόπου ζωής συστηματικά μειώνουν το ηπατικό λίπος και βελτιώνουν τον γλυκαιμικό έλεγχο και την ινσουλινοευαισθησία [93].

Συστήνεται η απώλεια βάρους να μην είναι μεγαλύτερη από 1kg την εβδομάδα, διότι η γρήγορη απώλεια μπορεί να επιταχύνει τη στεάτωση [53]. Ομοίως, δίαιτες πολύ χαμηλών θερμίδων θα πρέπει να αποφεύγονται ως μέθοδος απώλειας βάρους, εξαιτίας του κινδύνου επιδείνωσης της ίνωσης. Γι' αυτό και ο προτεινόμενος στόχος σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες είναι απώλεια 7-10% του αρχικού σωματικού βάρους σε διάστημα 6 μηνών [10].

Είναι σημαντικό επίσης να σημειωθεί ότι η προσκόλληση στις αλλαγές του τρόπου ζωής δεν είναι πάντα η επιθυμητή [8, 94]. Σε αρκετές μελέτες, μόνο το 15% των ασθενών πέτυχαν μία απώλεια βάρους $\geq 10\%$ και οι περισσότεροι επανέκτησαν το βάρος τους, με την καλύτερη μέση απώλεια να είναι 3-4 κιλά στα 2 και 4 χρόνια [94]. Προγράμματα παρέμβασης που στοχεύουν στην τροποποίηση των διατροφικών

συνηθειών και των συνηθειών άσκησης φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικά όταν συνοδεύονται παράλληλα από τροποποίηση της συμπεριφοράς [95]. Με αυτό τον τρόπο οι στόχοι για τη διατροφή και την άσκηση εντάσσονται στην καθημερινότητα των ασθενών και τα αποτελέσματα διατηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η γνωσιακή συμπεριφορική θεραπεία θα πρέπει, λοιπόν, να παρέχεται σε ασθενείς με προχωρημένου σταδίου ηπατική νόσο [10, 95]. Η αποτελεσματικότητα της συμβουλευτικής σχετίζεται με τη συχνότητα που γίνονται οι συνεδρίες καθώς και με τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται. Σε έρευνα των Moscatiello και συν., μελετήθηκε η επίδραση της συμβουλευτικής σε σχέση με την απλή παροχή διατροφικών οδηγιών [96]. Η συμβουλευτική βασισμένη στη γνωσιακή συμπεριφορική θεραπεία είχε διάρκεια 13 εβδομάδες, με εβδομαδιαίες συναντήσεις διάρκειας 120 λεπτών. Στα 2 χρόνια, η ομάδα της συμβουλευτικής σχετίστηκε με αυξημένη απώλεια βάρους, αυξημένη πιθανότητα διατήρησής του και βελτίωση των ηπατικών ενζύμων.

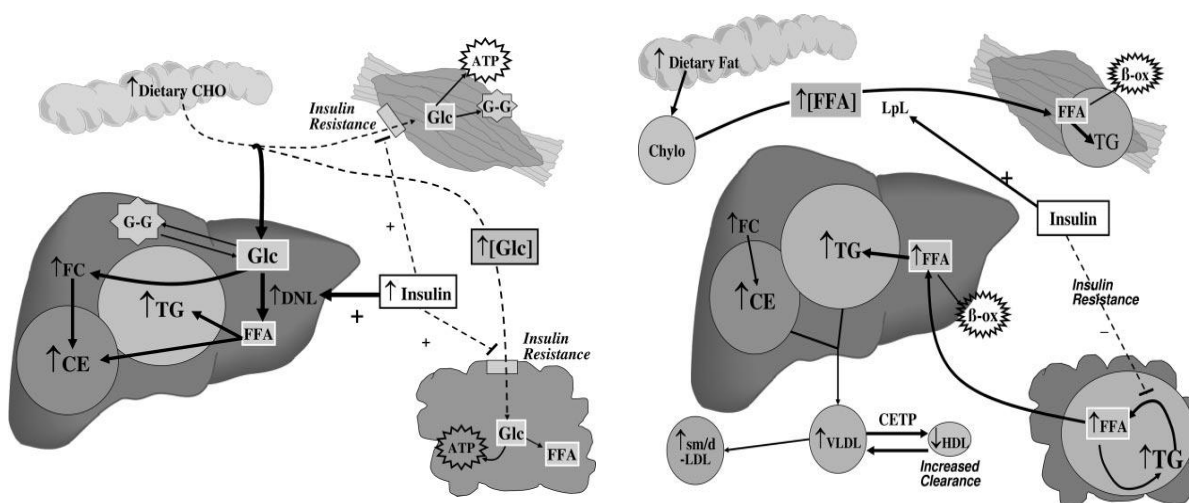
2) Επίδραση της σύστασης της δίαιτας στην αντιμετώπιση της νόσου

Σύμφωνα με μία πολύ πρόσφατη μετα-ανάλυση παραμένει αμφιλεγόμενο εάν οι υδατάνθρακες ή το λίπος έχουν μία πιο επιβλαβή επίδραση στην ηπατική λειτουργία [97]. Τόσο το παραπάνω λίπος, όσο και οι υδατάνθρακες (κυρίως ως σάκχαρα, συνοδευόμενα από πλεονάζουσα ενεργειακή πρόσληψη) έχουν προταθεί ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη και εξέλιξη της NAFLD.

Αναφορικά με τη μακροθρεπτική σύσταση της διατροφής, μέτρια πρόσληψη υδατανθράκων ($\leq 45\%$ της καθημερινής ενεργειακής πρόσληψης) και χαμηλή – μέτρια πρόσληψη λίπους ($\leq 30\%$ της καθημερινής ενεργειακής πρόσληψης) μπορούν ισοδύναμα να βελτιώσουν την ηπατική λειτουργία, όπως αντανakλάται από τις μειώσεις στα ηπατικά ένζυμα ALT και AST. Ωστόσο, η σύγκριση μεταξύ διαιτών χαμηλών υδατανθράκων ($< 40\%$ της ενεργειακής πρόσληψης) και χαμηλού λίπους ($< 25\%$ της ενεργειακής πρόσληψης) δεν είναι εφικτή λόγω απουσίας επαρκών τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών [97].

Όσον αφορά την ποιοτική σύσταση της διατροφής συστήνεται η αποφυγή ροφημάτων και τροφίμων υψηλά σε φρουκτόζη και trans λιπαρά οξέα καθώς αυτά συνδέονται με ινσουλινοαντίσταση και ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης ως συνέπεια εξάντλησης του ATP, λιποτοξικότητας και έκφρασης του TNF- α (**σχήμα 16**) [98-100].

Σχήμα 16: Μεταβολισμός υδατανθράκων υπό περιφερική ινσουλινοαντίσταση και λιπώδες ήπαρ (αριστερά). Μεταβολισμός λίπους υπό περιφερική ινσουλινοαντίσταση και λιπώδες ήπαρ (δεξιά)[101].



Αναφορικά με την πρόσληψη καφεΐνης, φαίνεται να είναι ευεργετική για τους ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος. Αν και μερικά ευρήματα είναι αντιφατικά, συνολικά έχει βρεθεί μία προστατευτική επίδραση στη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα μέσω της μείωσης της ηπατικής φλεγμονής και της ίνωσης. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί, με τον πιο πρόσφατο να σχετίζεται με την UDP – γλυκουρονοτρανσφεράση [8, 102].

Η κατανάλωση αλκοόλης είναι μία ακόμη υγιεινοδιαιτητική αλλαγή που μελετάται[6]. Αν και οι επιζήμιες επιδράσεις της σημαντικής κατανάλωσης αλκοόλης στο ήπαρ είναι βιβλιογραφικά τεκμηριωμένες, η μέτρια κατανάλωση φαίνεται να είναι προστατευτική και στους ασθενείς με NAFLD βελτιώνοντας την ιστολογική εικόνα. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η μέτρια πρόσληψη κρασιού, συσχετίστηκε με μειωμένο επιπολασμό της NAFLD. Επιπλέον, συγκρίσεις μεταξύ μη κατανάλωσης και κατανάλωσης έδειξαν χαμηλότερο ποσοστό στεατοηπατίτιδας στην περίπτωση της μέτριας πρόσληψης [103]. Αν και κάποια οφέλη ίσως να υπάρχουν για τη μέτρια κατανάλωση, αυτό που επισημαίνεται από τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες είναι εφόσον υπάρχει πρόσληψη αλκοόλης, αυτή αυστηρά να βρίσκεται <30g για τους άνδρες και <20g για τις γυναίκες [10], ενώ η διακοπή της πρόσληψης είναι αναγκαία για τους ασθενείς με στεατοηπατίτιδα-συνδεόμενη με κίρρωση με σκοπό τη μείωση του κινδύνου ηπατοκυτταρικού καρκίνου [104].

Παρακάτω παρατίθεται πίνακας με τις τροποποιήσεις που πρέπει να πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες συστάσεις των EASL – EASD – EASO για την αντιμετώπιση της νόσου (**πίνακας 7**)

Πίνακας 7: Προτεινόμενες τροποποιήσεις στη διαίτα και τη φυσική δραστηριότητα στα άτομα με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος ή μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα [10]

	Προτεινόμενη Παρέμβαση	Προτεινόμενη Βιβλιογραφία
Ενεργειακός περιορισμός	• 500-1000 kcal ενεργειακό έλλειμμα για απώλεια 500-1000 g/ εβδομάδα • Στόχος 7-10% απώλεια του αρχικού σωματικού βάρους • Μακροχρόνια διατήρηση συνδυάζοντας τη φυσική δραστηριότητα σύμφωνα με τις αρχές της γνωσιακής συμπεριφορικής θεραπείας.	Ο θερμιδικός περιορισμός καθοδηγεί την απώλεια βάρους και τη μείωση του λίπους στο ήπαρ, ανεξάρτητα από τη μακροθρεπτική σύσταση της διατροφής [105]. Μία 12μηνη εντατική παρέμβαση του τρόπου ζωής με μέσο όρο απώλειας 8%, οδηγεί σε σημαντική μείωση της ηπατικής στεατώσεως [106]. Το λίπος στο ήπαρ αυξάνεται με την επαναπρόσληψη του βάρους, αλλά οι περισσότερες από τις ευεργετικές μεταβολικές επιδράσεις διατηρούνται και η εξέλιξη σε ΣΔ2 καθυστερεί [107].
Σύσταση μακροθρεπτικών συστατικών	• Μέτρια προς χαμηλή πρόσληψη λίπους & μέτρια προς υψηλή πρόσληψη υδατανθράκων • Δίαιτες χαμηλών υδατανθράκων κετογονικές ή υψηλής πρωτεΐνης	Προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή έχει αναφερθεί ότι μειώνει το λίπος στο ήπαρ, συγκρινόμενη με μία διαίτα χαμηλή σε λίπος/ υψηλή υδατανθράκων σε cross-over σύγκριση.
Πρόσληψη φρουκτόζης	• Αποφυγή ροφημάτων και τροφίμων υψηλών σε φρουκτόζη	Στο γενικό πληθυσμό, έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ πρόσληψης φρουκτόζης και NAFLD.
Πρόσληψη αλκοόλ	• Αυστηρά κάτω από την συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (30g/άνδρες, 20g/γυναίκες)	Σε επιδημιολογικές μελέτες, μέτρια πρόσληψη αλκοόλ (κυρίως κρασί) σχετίζεται με χαμηλότερο επιπολασμό της NAFLD, NASH και μικρότερη ίνωση ιστολογικά. Η αποχή είναι υποχρεωτική στην κίρρωση για την μείωση του κινδύνου ηπατοκυτταρικού καρκίνου.
Πρόσληψη καφέ	Δεν υπάρχουν περιορισμοί όσον αφορά το ήπαρ	Προστατευτικός στη NAFLD, μειώνοντας την ιστολογική σοβαρότητα
Άσκηση/ Φυσική δραστηριότητα	150-200λεπτά/εβδ.μέτριας έντασης αεροβική 3-5φ/ εβδομ. Ασκήσεις αντιστάσεων: προωθούν την μυοσκελετική υγεία, με επίδραση στους μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου Καθιστική ζωή- προωθεί την κόπωση και την υπνηλία μέσα στην ημέρα, μειώνει την προσκόλληση στην άσκηση	Δοσοεξαρτώμενη σχέση άσκησης – οφέλους Κάθε ενασχόληση με φυσική δραστηριότητα ή αύξηση προηγούμενου επιπέδου είναι προτιμότερη από την συνεχόμενη καθιστική συμπεριφορά.

3) Φαρμακευτική αγωγή – συμπληρώματα θρεπτικών συστατικών

Έως σήμερα, δεν υπάρχει καμία φαρμακευτική αγωγή που να συστήνεται επισήμως ως θεραπεία για τη νόσο αυτήν κάθε αυτήν, συνεπώς οποιαδήποτε τέτοια στρατηγική θεωρείται off label [10]. Σε περίπτωση που ακολουθείται κάποια φαρμακευτική αγωγή, η ασφάλεια και η ανοχή αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις.

Μετφορμίνη: Η μετφορμίνη, ένα φάρμακο γνωστό για την επίδραση του στην ινσουλινοαντίσταση, έχει επίσης μελετηθεί σε ασθενείς με NASH [108]. Υπάρχει ελλιπής βιβλιογραφία που να υποστηρίζει την ιστολογική αποτελεσματικότητα της μετφορμίνης στη νόσο [109]. Η επίδραση της μετφορμίνης στο λίπος του ήπατος είναι μικρή, εξαιτίας της αδυναμίας της να επαναφέρει τα επίπεδα αδιπονεκτίνης ορού βραχυχρόνια [110]. Μερικά προ-κλινικά δεδομένα, υποστηρίζουν την αντινεοπλασματική δραστηριότητα της μετφορμίνης στον καρκίνο του ήπατος[111], ενώ το μειωμένο ποσοστό ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε ανθρώπους, περιορίζεται σε αναδρομικές μελέτες [112]. Αν και η μετφορμίνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε διαβητικούς ασθενείς με NASH, δεν υπάρχει συνολικά επαρκής επιστημονική τεκμηρίωση που να υποστηρίζει την αποτελεσματικότητα της αποκλειστικά από την σκοπιά της NASH. Συνεπώς, σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες δεν υπάρχει σύσταση του φαρμάκου για τη νόσο [10].

Θειαζολινεδιόνες: Φάρμακα γνωστά για την βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας δρώντας ως αγωνιστές των PPAR-γ [10]. Η κλινική δοκιμή PIVENS συνέκρινε χαμηλή δόση πιογλιταζόνης έναντι βιταμίνης E, έναντι placebo για 2 χρόνια σε μη διαβητικούς ασθενείς μετά από 96 εβδομάδες θεραπείας [113]. Η πιογλιταζόνη βελτίωσε τα ιστολογικά χαρακτηριστικά (στεάτωση και ηπατική φλεγμονή), εκτός από την ίνωση. Επίσης, σημειώθηκε μείωση των ηπατικών ενζύμων και μερική διόρθωση της ινσουλινοαντίστασης. Αξίζει, ωστόσο, να αναφερθεί ότι οι ασθενείς της ομάδας πιογλιταζόνης πήραν περισσότερο βάρος συγκριτικά με την ομάδα της βιταμίνης E ή την placebo. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από δύο μικρότερες και βραχύτερες κλινικές δοκιμές [114, 115]. Λαμβάνοντας υπόψιν τα οφέλη αλλά και τις πιθανές ανεπιθύμητες δράσεις της πιογλιταζόνης: αύξηση βάρους, κατάγματα στις γυναίκες, και πιο σπάνια συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, η πιογλιταζόνη μπορεί να αποτελέσει θεραπευτική επιλογή επιλεγμένων ασθενών με NASH, ιδίως διαβητικούς για τους οποίους υπάρχει ήδη ένδειξη [8, 10].

Αντιοξειδωτικά - κυτταροπροστατευτικά - αντιλιπιδαιμική αγωγή: Καθώς το οξειδωτικό στρες είναι σημαντική συνιστώσα της παθολογίας του ηπατικού τραυματισμού και της βλάβης, η συμπληρωματική πρόσληψη αντιοξειδωτικών θα μπορούσε θεωρητικά να αποτελεί θεραπευτική προσέγγιση για αυτούς τους ασθενείς [6]. Η βιταμίνη Ε είναι ίσως η πιο καλά μελετημένη μεταξύ των αντιοξειδωτικών. Ενώ οι περισσότερες παλιότερες μελέτες τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες απέτυχαν στο να δείξουν θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τα ηπατικά ένζυμα, τη στεάτωση και φλεγμονή [10], πιο πρόσφατες όπως η μελέτη PIVENS το 2010 (σε δόση 800IU/ημέρα βιταμίνης Ε) έδειξαν βελτίωση της στεάτωσης και φλεγμονής, μείωση της ALT αλλά όχι της ίνωσης [113]. Ωστόσο, υπάρχει ανησυχία για την μακροχρόνια ασφάλεια χορήγησης βιταμίνης Ε καθώς έχει συνδεθεί με αυξημένη θνησιμότητα, αιμορραγικό εγκεφαλικό και καρκίνο του προστάτη σε άνδρες άνω των 50ετών [116-118]. Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, η βιταμίνη Ε μπορεί να αποτελέσει πρώτης γραμμής θεραπεία για τους μη διαβητικούς – μη κίρρωτικούς ασθενείς με NASH (επιβεβαιωμένη με βιοψία), αλλά όχι για τους διαβητικούς με NASH, δεδομένου ότι δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα μακροχρόνιας ασφάλειας και αποτελεσματικότητας [6, 8, 10]. Αναμφισβήτητα, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για να εξαχθούν επίσημες συστάσεις.

Αρκετά ακόμη συμπληρώματα έχουν προταθεί ως θεραπευτική επιλογή στη NAFLD, χωρίς κανένα από αυτά να έχει αρκετή βιβλιογραφική υποστήριξη ώστε να συσταθεί επίσημα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον φαίνεται να αποκτά η μελέτη των προβιοτικών και η επίδραση τους στη νόσο [113]. Η μικροχλωρίδα του εντέρου φαίνεται να παίζει ρόλο στην ενεργειακή ρύθμιση, συνεπώς και στην εναπόθεση λίπους [8]. Επιπλέον, οι ενδοτοξίνες από το έντερο μπορούν να μεταφερθούν στο ήπαρ διαμέσου της πυλαίας φλέβας και να επάγουν το δεύτερο χτύπημα. Η δράση των προβιοτικών έγκειται στην αύξηση του ωφέλιμου μικροβιακού περιβάλλοντος στο έντερο καθώς και την αντιφλεγμονώδη προστασία που παρέχουν. Παρότι σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση τα προβιοτικά φαίνεται να μειώνουν τις αμινοτρανσφεράσες, την ολική χοληστερόλη, τον TNF- α , να βελτιώνουν την ινσουλινοαντίσταση στη μη αλκοολική λιπώδη διήθηση [119] δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα από καλά τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές ώστε να αποτελέσουν μέχρι σήμερα επίσημη θεραπευτική προσέγγιση [6].

Το ουρσοδεοξυχολικό οξύ έχει μελετηθεί σε αρκετές κλινικές δοκιμές, σε διαφορετικές δόσεις και πάνω από 2χρόνια, αλλά έδειξε μόνο κάποιες βιοχημικές αλλά όχι ιστολογικές βελτιώσεις [120, 121]. Πρώιμα δεδομένα από μικρές ή μη

τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές προτείνουν ότι τα ω3 λιπαρά οξέα ίσως να μειώνουν το λίπος στο συκώτι [122], αλλά δύο κλινικές δοκιμές που εξέτασαν τα πολυακόρεστα στην ιστολογική έκβαση ήταν αρνητικές [123, 124]. Τα διαθέσιμα δεδομένα πάνω στην πεντοξιφυλλίνη και ορλιστάτη είναι περιορισμένα ή μη καταληκτικά [10]. Επίσης, τα δεδομένα όσον αφορά τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα είναι φτωχά. Οι πιο πρόσφατες μελέτες με εξετιμίμπη ήταν αρνητικές, ενώ οι στατίνες δεν έχουν εξεταστεί κατάλληλα. Σε κάθε περίπτωση φαίνεται η χρήση τους στη NAFLD να είναι ασφαλής, χωρίς κίνδυνο ηπατοτοξικότητας και ίσως με το όφελος βελτίωσης των ηπατικών ενζύμων.

4) Βαριατρική χειρουργική

Για τους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στις υγιεινοδιατροφικές αλλαγές και στη φαρμακοθεραπεία, η βαριατρική αποτελεί μία εναλλακτική για τη μείωση του βάρους και των μεταβολικών επιπλοκών, με σταθερά αποτελέσματα μακροχρονίως [125]. Η βαριατρική φαίνεται να είναι αποτελεσματική όσον αφορά τον ηπατικό τραυματισμό σχετιζόμενο με NAFLD, και υπάρχει επίσης αρχική ένδειξη για βελτίωση της φλεγμονής και ίνωσης [126]. Μία πρόσφατη προοπτική μελέτη στον πρώτο χρόνο follow up επιβεβαίωσε ότι η βαριατρική σχετιζόμενη με απώλεια βάρους υπέστρεψε τη NASH στο 85% των ασθενών και βελτίωσε την ίνωση στο 34% [127], αν και τα πιθανά οφέλη θα πρέπει να αντισταθμιστούν με τις περι/μετεγχειρητικές επιπλοκές [10]. Δεν υπάρχουν καταληκτικά δεδομένα για τη σύγκριση των επιδράσεων των διαφορετικών βαριατρικών μεθόδων στο λίπος του ήπατος.

Εύλογα προκύπτει, λοιπόν, ότι υπάρχει ένα κενό όσον αφορά την φαρμακευτική διαχείριση της νόσου αυτής κάθε αυτήν. Περισσότερη έρευνα και καλά τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές πάνω σε ουσίες που θεωρητικά θα μπορούσαν να επιδράσουν στην παθοφυσιολογία της νόσου ίσως αναδείξουν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Μέσα σε αυτά τα πλαίσια η μαστίχα, μία ρητίνη αποτελούμενη από σχεδόν 70 διαφορετικά συστατικά, και βιβλιογραφικά τεκμηριωμένες αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες παρουσιάζει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον. Δεδομένου ότι η παχυσαρκία αποτελεί μία κατάσταση χρόνιας φλεγμονής, ενδεχόμενη επίδραση της μαστίχας στη σύσταση του σώματος και κυρίως τη σπλαχνική εναπόθεση του λίπους, θα μπορούσε να αναδείξει παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς δράσης της στη νόσο.

1.2 Σύσταση Σώματος και Μέθοδοι Ανάλυσης Σύστασης Σώματος

Η σύσταση του ανθρώπινου σώματος είναι άμεσα συνυφασμένη με τη μεταβολική και λειτουργική κατάσταση του οργανισμού αντανακλώντας το συνολικό επίπεδο υγείας του οργανισμού [128]. Η σύσταση αυτή δεν παραμένει σταθερή σε όλη τη διάρκεια της ζωής, καθώς το ανθρώπινο σώμα και κατ' επέκταση οι επιμέρους ιστοί υπόκεινται σε συνεχείς αλλαγές. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι τα αποτελέσματα φυσιολογικών διεργασιών, όπως για παράδειγμα η γήρανση, αποτέλεσμα παθολογικών καταστάσεων και νόσων ή αποτέλεσμα μιας θεραπευτικής – διαιτητικής αγωγής.

1.2.1 Ιστοί του ανθρώπινου σώματος

Οι διάφοροι ιστοί επιτελούν σημαντικές λειτουργίες και η ικανότητα τους να ανταπεξέρχονται στις απαιτήσεις του οργανισμού εξαρτάται από την ποιοτική και ποσοτική τους σύσταση [1]. Αν και οι διαφορετικοί ιστοί είναι εξειδικευμένοι για μια ορισμένη σειρά λειτουργιών, μεμονωμένες αλλαγές στη σύσταση του ενός μπορούν να έχουν επιπτώσεις στη λειτουργία και άλλων εξαιτίας της λειτουργικής σύνδεσης και συνεργασίας των διαφόρων ιστών μεταξύ τους.

Η ανάλυση της σύστασης σώματος μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ατομικό, μοριακό, κυτταρικό επίπεδο ή ακόμη και επίπεδο ιστών ή και ολόκληρου του σώματος με τη χρήση ποικίλων μεθοδολογικών τεχνικών [129, 130]. Ανεξαρτήτως του τρόπου προσέγγισης, αυτό που κρίνεται ζωτικής σημασίας είναι ο ποσοτικός και σε ορισμένες περιπτώσεις ο ποιοτικός προσδιορισμός του μυϊκού ιστού και των δύο τύπων συνδετικού ιστού, λιπώδους και οστίτη ιστού [1]. Και αυτό, διότι η ποσότητα και η αναλογία των ιστών αυτών στο ανθρώπινο σώμα σχετίζονται με τη διατήρηση καλής υγείας και ποιότητας ζωής, ενώ οι ποιοτικές και ποσοτικές διαταραχές της σύστασης τους σχετίζονται με την εμφάνιση και την κλινική πορεία συγκεκριμένων νόσων. Στον πίνακα που ακολουθεί (**πίνακας 8**) δίνονται κάποιες ορολογίες που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην περιγραφή της σύστασης του ανθρώπινου σώματος [1].

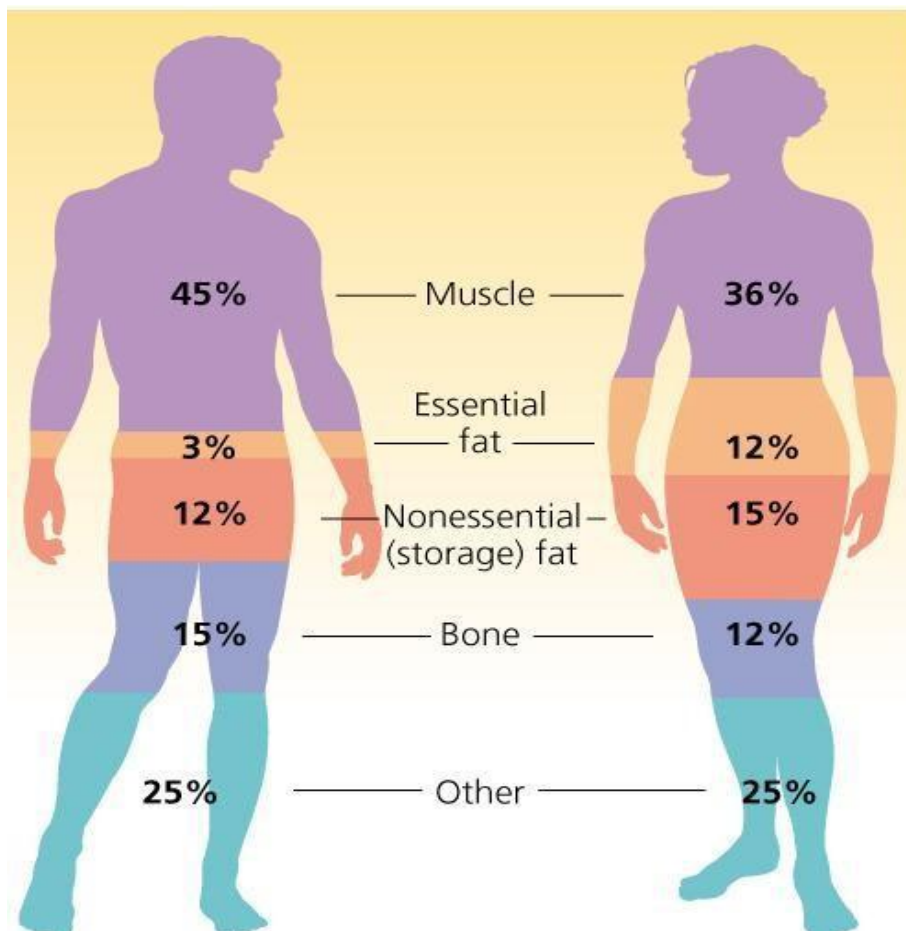
Πίνακας 8: Ορολογία της σύστασης σώματος [1]

ΟΡΟΛΟΓΙΑ	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ
Λιπώδης μάζα σώματος	Όλα τα λιπίδια που μπορούν να εκχυλιστούν από το λιπώδη ιστό και τους υπόλοιπους ιστούς του σώματος.
Άλιπη μάζα σώματος	Όλα τα υπόλοιπα άλιπα χημικά στοιχεία και οι ιστοί, συμπεριλαμβάνοντας το νερό, τους μύες, το συνδετικό ιστό, τα μέταλλα των οστών και τα εσωτερικά όργανα.
Λιπώδης ιστός	Το λίπος (~83%) συν τις υποστηρικτικές δομές του (~2% πρωτεΐνη και ~15% νερό)
Ισχνή μάζα σώματος	Η άλιπη μάζα σώματος και τα απαραίτητα λιπίδια
Απαραίτητα λιπίδια	Τα φωσφολιπίδια που χρειάζονται για τον σχηματισμό της κυτταρικής μεμβράνης (~10% των ολικών λιπιδίων του σώματος) και τα σφιγγολιπίδια.
Μη απαραίτητα λιπίδια	Τα τριγλυκερίδια που βρίσκονται κυρίως στο λιπώδη ιστό. Αποτελούν περίπου το 90% των ολικών λιπιδίων του σώματος.
Ποσοστό λίπους σώματος	Η λιπώδης μάζα ως ποσοστό του ολικού σωματικού βάρους [(ΛΜΣ/Σωματικό βάρος) * 100]
Ολική πυκνότητα σώματος	Η ολική μάζα σώματος εκφρασμένη σχετικά με τον ολικό όγκο του σώματος (βάρος / όγκο)
Υποδόριοι λίπος	Ο λιπώδης ιστός που βρίσκεται αποθηκευμένος κάτω από την επιδερμίδα.
Σπλαχνικό λίπος	Ο λιπώδης ιστός που βρίσκεται μεταξύ των οργάνων και γύρω από τα όργανα στη θωρακική κοιλότητα (πχ. καρδιά, πνεύμονες) και στην κοιλιακή χώρα (πχ. ήπαρ, νεφροί)
Ενδο-κοιλιακό λίπος	Το σπλαχνικό λίπος της κοιλιακής χώρας
Κοιλιακό λίπος	Το υποδόριο και το σπλαχνικό λίπος της κοιλιακής χώρας

1.2.1.1 Λιπώδης μάζα σώματος - Λιπώδης ιστός

Η λιπώδης μάζα σώματος περιλαμβάνει το απαραίτητο και αποθηκευτικό λίπος [1]. Το απαραίτητο λίπος είναι αναγκαίο για τη λειτουργία ορισμένων δομών του σώματος όπως ο εγκέφαλος, ο μυελός των οστών, ο νευρικός ιστός και οι κυτταρικές μεμβράνες. Περιλαμβάνει τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών αλλά και άλλα λιποειδή όπως η σφιγγομυελίνη. Όπως απεικονίζεται στο σχήμα 17, το απαραίτητο λίπος του ενήλικου άνδρα αναφοράς, σύμφωνα με το θεωρητικό μοντέλο του Behnke, αποτελεί το 3% του σωματικού βάρους. Στην ενήλικη γυναίκα αναφοράς το αντίστοιχο ποσοστό είναι σημαντικά μεγαλύτερο και φθάνει το 9-12% του σωματικού βάρους επειδή το απαραίτητο λίπος στις γυναίκες περιλαμβάνει και το ειδικό για το φύλο λίπος. Το ειδικό για το φύλο λίπος βρίσκεται στην περιοχή του στήθους, του ισχίου και των μηρών και σχετίζεται με ορμονικούς παράγοντες καθώς και αναπαραγωγικές διαδικασίες.

Σχήμα 17: Το θεωρητικό μοντέλο του Behnke.



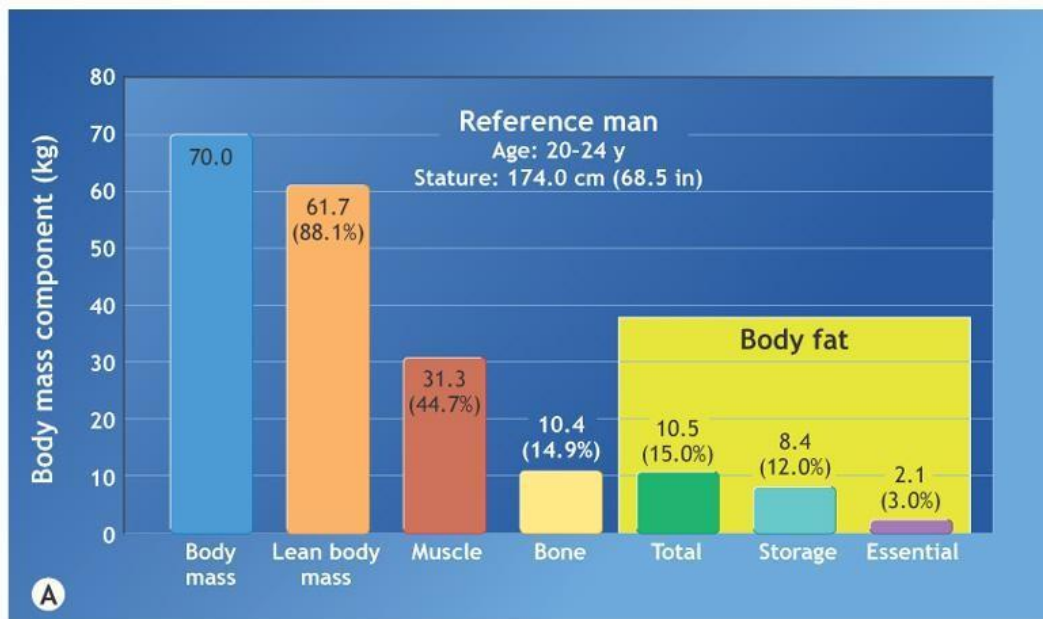


Figure 27.5A. Behnke's theoretical model for the body composition of the reference man. Values in parenthesis indicate percentage of total body mass.

Copyright © 2001 Lippincott Williams & Wilkins

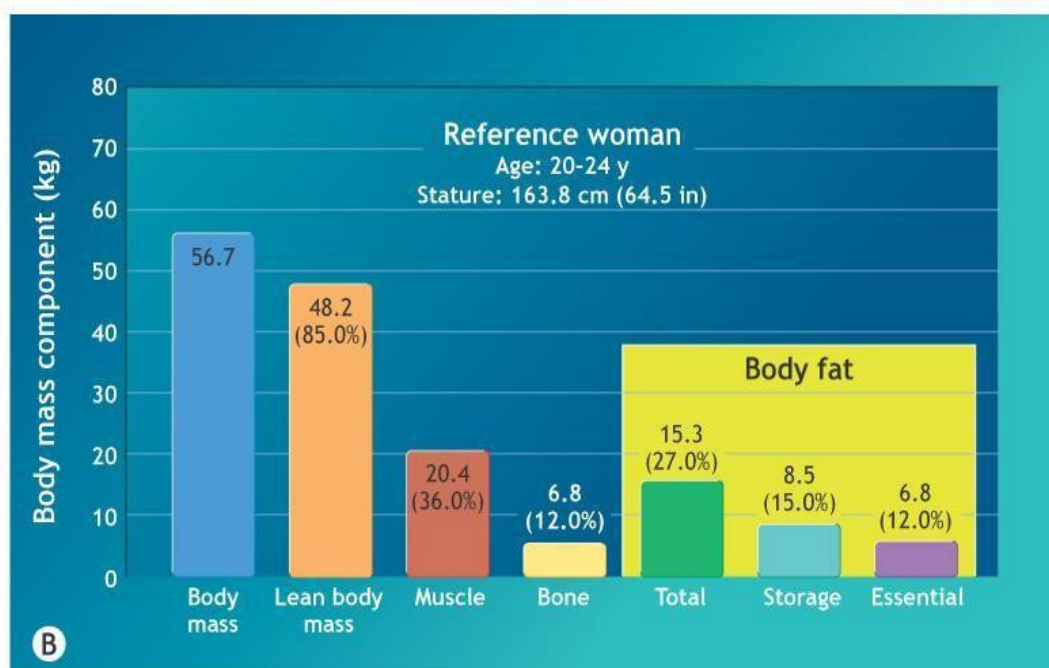


Figure 28.5B. Behnke's theoretical model for the body composition of the reference woman. Values in parenthesis indicate percentage of total body mass.

Copyright © 2001 Lippincott Williams & Wilkins

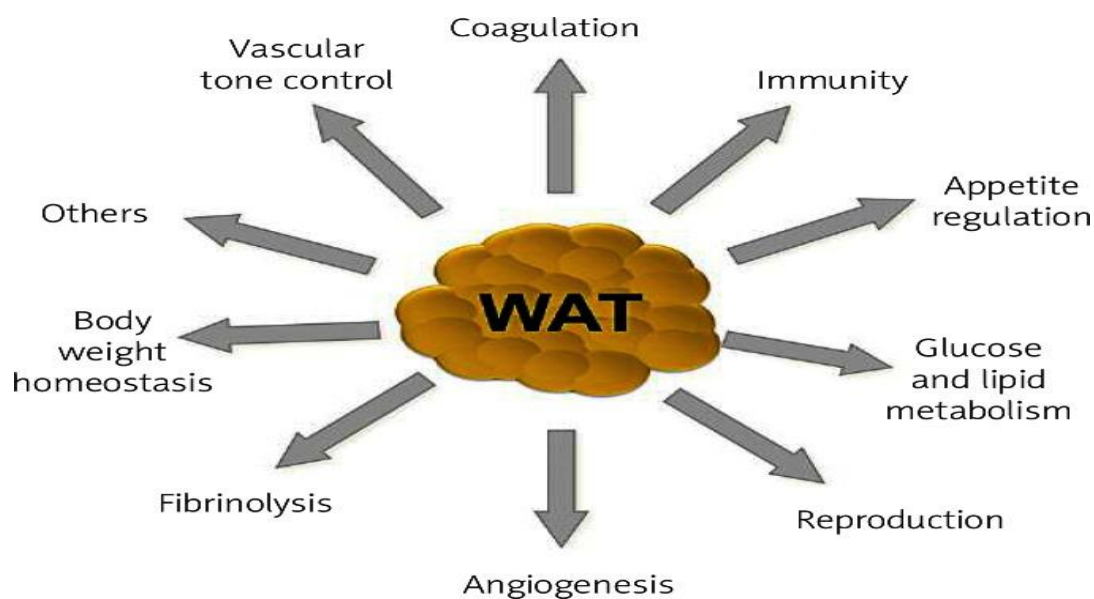
Τα βασικά ενεργειακά αποθέματα του σώματος είναι το λίπος, το οποίο βρίσκεται αποθηκευμένο με τη μορφή των τριγλυκεριδίων στο λιπώδη ιστό. Αυτό το αποθηκευμένο λίπος συσσωρεύεται κάτω από το δέρμα και γύρω από τα εσωτερικά όργανα προστατεύοντάς τα από τους τραυματισμούς. Αποτελεί μία μορφή συνδετικού

ιστού και περιλαμβάνει τα λιποκύτταρα, τι φλέβες και διάφορα δομικά στοιχεία (κυρίως ίνες συνδετικού ιστού), ενώ η χημική του σύσταση είναι κατά προσέγγιση 83% λίπος, 15% νερό και 2% πρωτεΐνη. Το σύνολο του αποθηκευμένου στα λιποκύτταρα λίπους υπόκειται σε μεγάλες διαφοροποιήσεις, ανάλογα με τις εκάστοτε μεταβολές των ενεργειακών αναγκών κατά την ανάπτυξη, την αναπαραγωγική ηλικία και τη γήρανση, καθώς και ανάλογα με τις διακυμάνσεις στις συνθήκες του περιβάλλοντος και του ίδιου του οργανισμού, όπως είναι η διαθεσιμότητα τροφής και οι ενεργειακές απαιτήσεις της σωματικής δραστηριότητας.

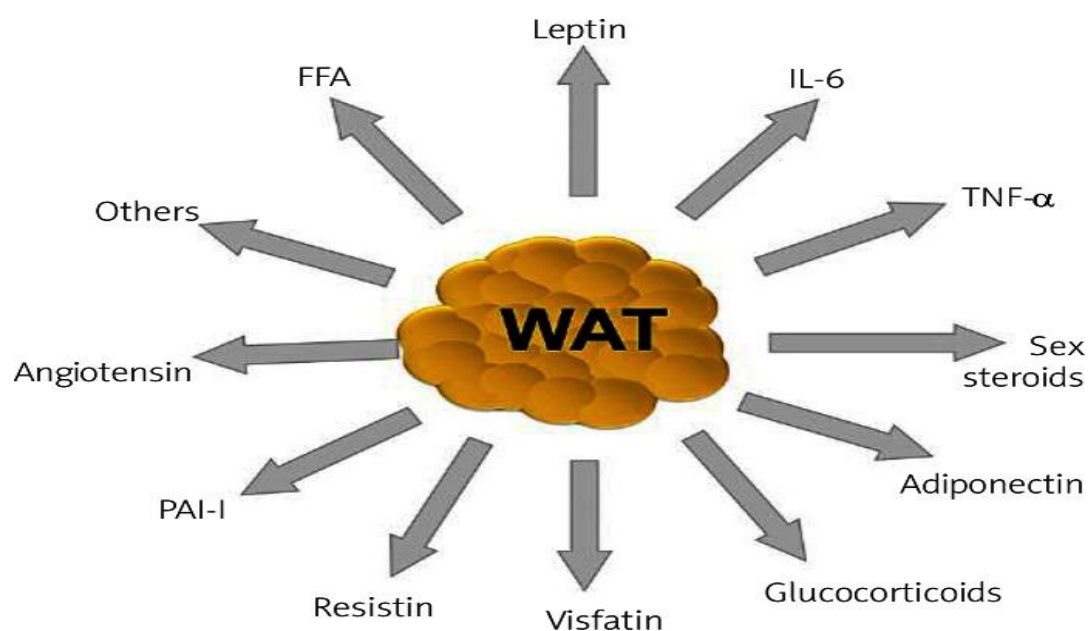
Η ποσότητα του σωματικού λίπους (απαραίτητου και αποθηκευμένου), εκφραζόμενη ως ποσοστού του ολικού σωματικού βάρους, η οποία είναι συμβατή με τη βέλτιστη υγεία, είναι 8-24% για τους άνδρες και 21-35% για τις γυναίκες (Gallagher et al, 2000), αν και στην περίπτωση των επαγγελματιών και υψηλού επιπέδου αθλητών το ποσοστό του σωματικού λίπους είναι πολύ χαμηλότερο από αυτό των μέσων ανθρώπων.

Στα θηλαστικά υπάρχουν δύο τύποι λιπώδους ιστού: ο λευκός λιπώδης ιστός και ο φαιός λιπώδης ιστός [131]. Ο λευκός λιπώδης ιστός αποθηκεύει ενέργεια με τη μορφή τριγλυκεριδίων, χρησιμεύει ως προστατευτικό περίβλημα των οργάνων της κοιλιακής χώρας, αλλά και ως μονωτικό υλικό διατηρώντας τη θερμότητα. Αν και παλιότερα επικρατούσε η άποψη ότι η κύρια λειτουργία του λιποκυττάρου είναι μόνο η αποθηκευτική, η άποψη αυτή έχει αναθεωρηθεί και τα επιστημονικά δεδομένα πλέον ενισχύουν και την ενδοκρινολογική δράση του. Πλήθος μελετών έχουν αποδείξει ότι ο λιπώδης ιστός εκκρίνει βιολογικά ενεργά τα οποία μπορούν να επηρεάσουν το αίσθημα πείνας και κατ' επέκταση την πρόσληψη της τροφής, τη δράση άλλων κύριων ορμονών, να ρυθμίσουν το μεταβολισμό του ίδιου του λιπώδους ιστού ή και να επηρεάσουν την έκφραση παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, σακχαρώδη διαβήτη και ινσουλινοαντίσταση (**Σχήμα 18**). Στα βιολογικά αυτά μόρια περιλαμβάνονται η λεπτίνη, η αντιπονεκτίνη, η ρεζιστίνη, ο αναστολέας ενεργοποίησης πλασμινογόνου-1, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-α) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) (**Σχήμα 19**).

Σχήμα 18: Ενδοκρινολογική δράση λιπώδους ιστού [131]



Σχήμα 19: Βιολογικά ενεργά μόρια εκκρινόμενα από τον λιπώδη ιστό [131]

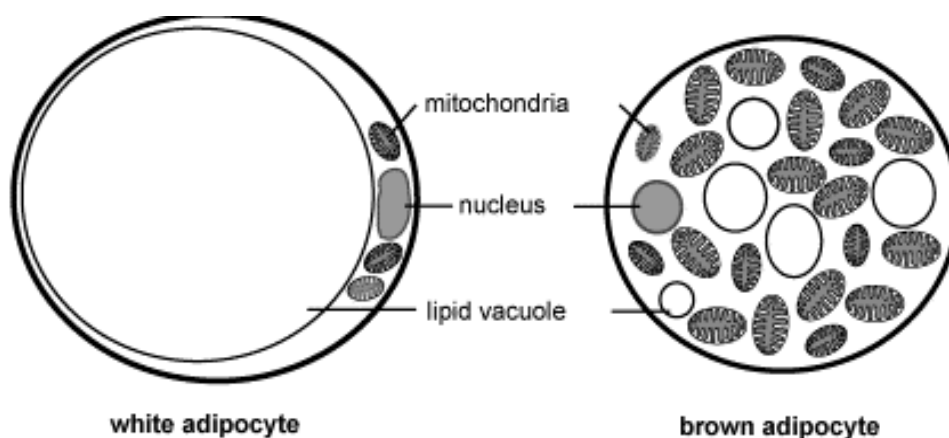


Αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα του λιπώδους ιστού και κατανέμεται σχεδόν σε όλο το ανθρώπινο σώμα, στα υποδόρια και σπλαχνικά διαμερίσματα του [1]. Συγκροτείται από λευκά λιποκύτταρα εκ των οποίων το ώριμο, λευκό λιποκύτταρο περιέχει ένα κεντρικό σταγονίδιο τριγλυκεριδίων που αποτελεί το 80-90% του όγκου του κυττάρου. Αυτό περιβάλλεται από μία λεπτή στρώση κυτοπλάσματος που περιέχει εκτοπισμένα στην περιφέρεια του κυττάρου τον πυρήνα και τα μιτοχόνδρια. Τα μικρότερα κύτταρα είναι αυτά που δεν έχουν γεμίσει με τριγλυκερίδια και

χαρακτηρίζονται ως μη ώριμα. Ο λευκός λιπώδης ιστός διαθέτει σχετικά πλούσια αγγείωση (0,2-0,6L αίμα ανά λεπτό), ενώ η νεύρωση του επιτελείται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Ορμόνες, όπως η νοραδρεναλίνη, η αυξητική ορμόνη, η ινσουλίνη, τα γλυκοκορτικοειδή και αυτές του θυροειδούς αδένος ρυθμίζουν την πρόσληψη και την απελευθέρωση λίπους, με τη μορφή ελεύθερων λιπαρών οξέων από ή προς την κυκλοφορία του αίματος, αντίστοιχα.

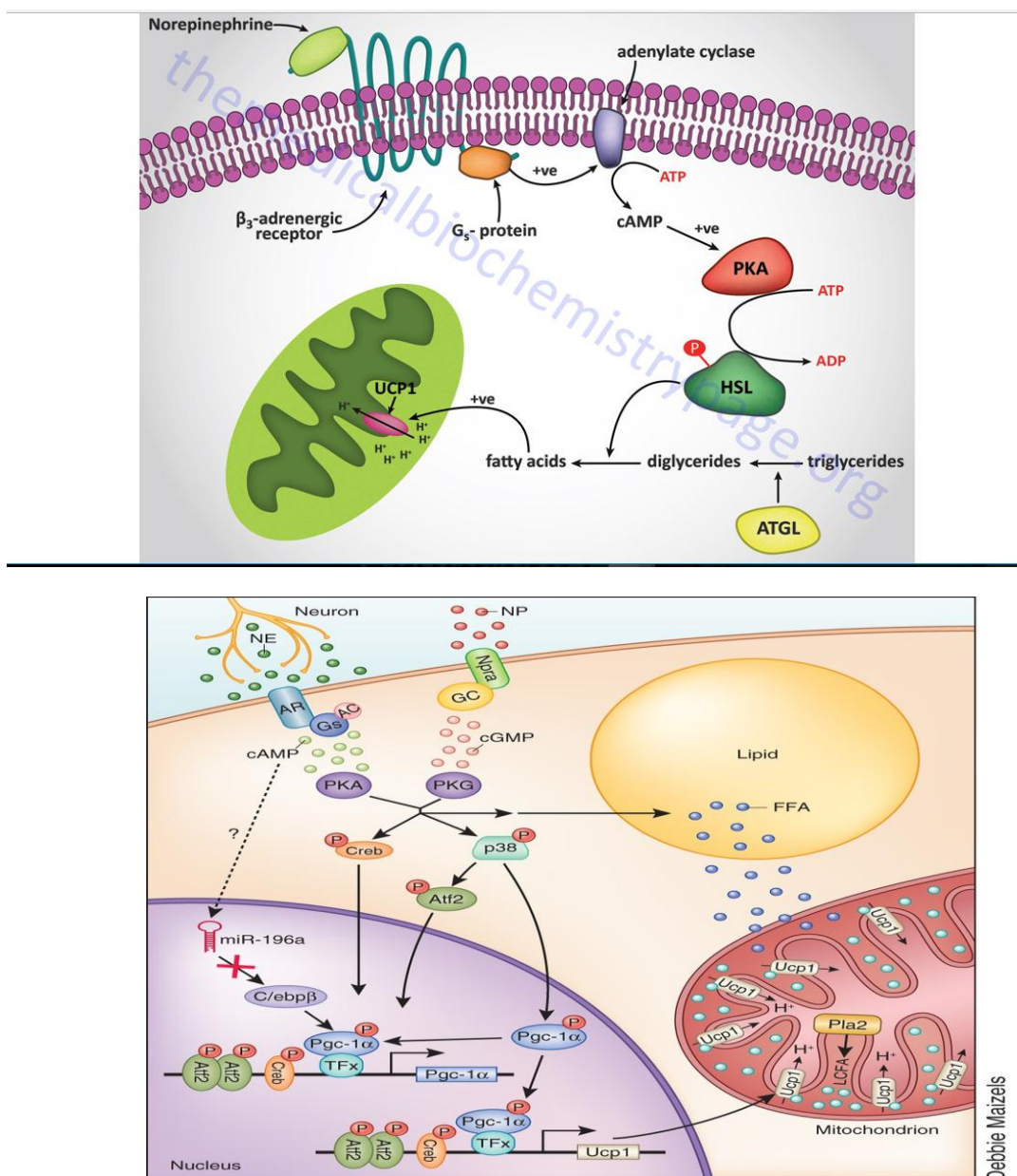
Ο **φαιός λιπώδης ιστός**, ο οποίος απαντάται στα βρέφη και σε πολύ μικρές ποσότητες στους ενήλικες, εντοπίζεται κυρίως στην ωμοπλατιαία και υποωμοπλατιαία περιοχή [132]. Τα κύτταρα του φαιού λιπώδους ιστού διαφέρουν σημαντικά από τα αντίστοιχα του λευκού (**Σχήμα 20**). Το μέγεθος τους είναι μικρότερο από τα κύτταρα του λευκού λίπους, ενώ περιέχουν πολλά σταγονίδια λίπους καθώς και μιτοχόνδρια με πιο πολύπλοκη δομή σε σχέση με τα μιτοχόνδρια του λευκού λιπώδους ιστού. Το σκούρο χρώμα τους φαίνεται να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση κυτοχρωμικών ενζύμων, στα πολυάριθμα μιτοχόνδρια αλλά και στην πλούσια αιμάτωση και την υψηλή περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη

Σχήμα 20: Κυτταρικές διαφορές μεταξύ λευκού και φαιού λιπώδους ιστού



Ο φαιός λιπώδης ιστός εμπλέκεται στη λειτουργία της θερμογένεσης, συνεπώς στην κατανάλωση ενέργειας και τη ρύθμιση του σωματικού βάρους [133]. Στα θηλαστικά, ο φαιός λιπώδης ιστός είναι το πρωτεύον σημείο θερμογένεσης χωρίς να συνοδεύεται από μυϊκή σύσπαση. Αυτή η διαδικασία διεγείρεται από την έκθεση στο κρύο και μεσολαβείται από την ενεργοποίηση συγκεκριμένης μιτοχονδριακής ασύζευκτης πρωτεΐνης 1 (UCP-1), η οποία είναι παρούσα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων (**Σχήμα 21**).

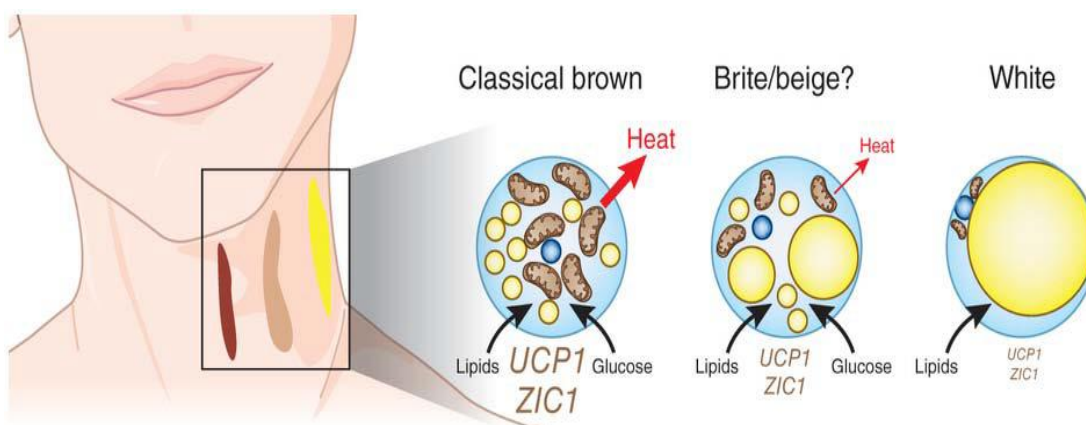
Σχήμα 21: Σηματοδοτικός μηχανισμός θερμογένεσης [133]



Η παρουσία λειτουργικά ενεργού φαιού λιπώδους ιστού στα ποντίκια είναι γνωστό εδώ και πολλά χρόνια. Στους ανθρώπους, η πρώτη ένδειξη φαιού λιπώδους ιστού σχετίστηκε με τη διατήρηση της θερμοκρασίας μετά τη γέννηση και στη νεαρή ενήλικη ζωή [133]. Ωστόσο, αρκετά δεδομένα από δείγματα λιπώδους ιστού μαζί με στοιχεία που παρέχονται από PET/CT (Positron Emission Tomography / Computerized Tomography) απέδειξαν την ύπαρξη λειτουργικώς ενεργού φαιού λιπώδους ιστού σε ενήλικες ανθρώπους. Επιπλέον, κάποιες από αυτές τις μελέτες συσχέτισαν δεδομένα μεταξύ του εύρους της ενεργοποίησης αυτών των περιοχών με φαιό λιπώδη ιστό και χαμηλότερο Δείκτη Μάζα Σώματος, αυξημένη ενεργειακή κατανάλωση και

καθυστερημένη έναρξη του διαβήτη. Διαφορετικές ποσότητες φαιού λιπώδους ιστού σε ενήλικες μπορούν να βρεθούν στην αυχενική και υποκλείδια περιοχή. Ωστόσο, κύτταρα φαιού λιπώδους ιστού μπορούν να παρατηρηθούν στο σκελετικό μυ και σε διαφορετικές περιοχές του λευκού λιπώδους ιστού. Ως εκ τούτου, ορίζεται μία τρίτη κατηγορία λιπώδους ιστού (beige adipocyte) [134] .

Σχήμα 22: Οι τρεις κατηγορίες λιπώδους ιστού [134]



1.2.1.2 Μυϊκός ιστός

Ο μυϊκός ιστός είναι ο μεγαλύτερος σε μάζα ιστός του ανθρώπινου σώματος [1, 135]. Συγκεκριμένα αποτελεί το 45% περίπου του σωματικού βάρους στους άνδρες και το 36% στις γυναίκες. Τρεις είναι οι κύριες κατηγορίες μυϊκών ιστών: ο σκελετικός, ο λείος και ο καρδιακός ιστός. Οι περισσότεροι σκελετικοί μύες, όπως ορίζει και το όνομα τους, προσδένονται στα οστά, και η συστολή τους είναι υπεύθυνη για την υποστήριξη και κίνηση του σκελετού. Η συστολή του σκελετικού μυός αρχεται με ώσεις των κινητικών νεύρων προς το μυ και βρίσκεται συνήθως κάτω από εθελούσιο έλεγχο. Φύλλα λείου μυός περιβάλλουν διάφορα κοίλα όργανα και σωλήνες, όπως ο στομάχος, ο εντερικός σωλήνας, η ουροδόχος κύστη, η μήτρα, τα αιμοφόρα αγγεία και οι αεραγωγοί των πνευμόνων. Μονά κύτταρα λείου μυός βρίσκονται επίσης διασπαρμένα μέσα σε όργανα και μικρές δέσμες λείων κυττάρων προσδένουν τις τρίχες στο δέρμα και την ίριδα στο μάτι. Η συστολή του λείου μυός προωθεί το εντερικό περιεχόμενο και ρυθμίζει την αιμάτωση ενός οργάνου, αλλάζοντας τη διάμετρο των αιμοφόρων αγγείων. Η συστολή του λείου μυός ελέγχεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα, ορμόνες, παρακρινείς και αυτοκρινείς ουσίες και άλλους τοπικούς φυσικούς

και χημικούς παράγοντες. Κάποιοι λείοι μύες, όμως συστέλλονται αυθόρμητα παρά την απουσία τέτοιων διεγερτικών σημάτων. Ο τρίτος τύπος μυϊκού ιστού, είναι ο καρδιακός (μυς της καρδιάς) που αποτελεί μία μορφή γραμμωτού μυός. Ωστόσο, ο καρδιακός μυς δε βρίσκεται υπό τον εκούσιο έλεγχο μας καθώς η συστολή του ελέγχεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα, ενώ μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες ορμόνες.

Η σύσταση του σκελετικού μυός κατά προσέγγιση είναι: 75% νερό, 20% πρωτεΐνη και το υπόλοιπο 5% περίπου αποτελείται από ανόργανα άλατα, ιόντα νατρίου, καλίου, χλωρίου, ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφόρου, ενδομυϊκά τριγλυκερίδια και γλυκογόνο.

Τα σκελετικά μυϊκά κύτταρα αποτελούν τη βασική δομική μονάδα των σκελετικών μυών και ονομάζονται μυϊκές ίνες. Κάθε μυϊκή ίνα σχηματίζεται κατά το στάδιο της ανάπτυξης από τη συγχώνευση ενός αριθμού αδιαφοροποίητων, μονοπυρηνικών κυττάρων, γνωστά ως μυοβλάστες, σε μία απλή κυλινδρική, πολυπυρηνική δομή. Οι μυϊκές ίνες έχουν διάμετρο από 10 έως 100μm και μήκος μέχρι 20cm. Κάθε σκελετική μυϊκή ίνα αποτελείται από μερικές εκατοντάδες ή ακόμη και χιλιάδες μυοϊνίδια, που διατάσσονται παράλληλα με τον επιμήκη άξονα της και είναι τα περισταλτά στοιχεία των σκελετικών μυών. Ο όρος μυς αναφέρεται σε έναν αριθμό (δέσμη) μυϊκών ινών δεμένες όλες μαζί με συνδετικό ιστό.

Με το μικροσκόπιο φωτός, παρατηρείται ότι τα μυοϊνίδια διαιρούνται σε λειτουργικές μονάδες, που ονομάζονται σαρκομέρια. Το κάθε σαρκομέριο αποτελείται από περίπου 3000 νημάτια ακτίνης (λεπτά νημάτια) και 1500 νημάτια μυοσίνης (παχιά νημάτια), τα οποία είναι υπεύθυνα για τη μυϊκή συστολή και αποτελούν το 84% περίπου των μυοϊνιδίων. Το υπόλοιπο 16% αποτελείται από άλλους τύπους πρωτεϊνών και κυρίως την τροπομυοσίνη και την τροπονίνη. Τα νημάτια ακτίνης είναι προσκολλημένα στους δίσκους Z από τις δύο πλευρές των οποίων επεκτείνονται για να διαπλεχθούν με τα νημάτια της μυοσίνης. Λόγω αυτής της χαρακτηριστικής διάταξης, παρουσιάζει σε όλη την έκταση της φωτεινές και σκοτεινές ζώνες που της προσδίδουν τη γραμμωτή της εμφάνιση.

1.2.1.3 Οστίτης ιστός

Τα οστά αποτελούνται από το στερεότερο τύπο συνδετικού ιστού του ανθρώπινου σώματος [1, 135]. Αποτελούν περίπου το 15 και 12% του σωματικού βάρους στους ενήλικες άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα και η σύσταση τους κατά προσέγγιση είναι 70% μεταλλικά άλατα, 22% πρωτεΐνη και περίπου 8% νερό. Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε μικροστοιχεία, ο σκελετός περιέχει το 99% του συνολικού ασβεστίου του σώματος, το 35% του νατρίου και περίπου το 60% του μαγνησίου.

Ο οστίτης ιστός στο σύνολο του αποτελείται από:

- α) **τρεις κύριους τύπους κυττάρων:** οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα και οστεοκλάστες
β) **θεμέλια εξωκυττάρια ουσία** που αποτελείται από:

- οργανική εξωκυττάρια ουσία που ονομάζεται αλλιώς **οστεοειδές**
- ανόργανα άλατα που εναποτίθενται στην εξωκυττάρια ουσία με τη μορφή κρυστάλλων του **υδροξυαπατίτη** $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

Το 90% των πρωτεϊνών του οστεοειδούς αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I. Η σκληρότητα όμως της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας και κατά συνέπεια του οστού οφείλεται στο κρυσταλλικό σύμπλεγμα ασβεστίου και φωσφορικών του υδροξυαπατίτη. Η ελαστικότητα του δικτύου που σχηματίζουν οι ίνες κολλαγόνου και η σταθερότητα του υδροξυαπατίτη συνδυάζονται για να δώσουν στο οστό τη μεγάλη ισχύ του. Άλλα συστατικά της θεμέλιας ουσίας του οστού είναι η οστεοκαλσίνη, η οστεοποντίνη και πολλές άλλες πρωτεΐνης.

Ο οστίτης ιστός διακρίνεται σε δύο τύπους : το φλοιώδες και το σπογγώδες, ανάλογα με τη διάταξη της θεμέλιας ουσίας. Το 80% περίπου του σκελετού αποτελείται από συμπαγή ή φλοιώδη οστίτη ιστό, στον οποίο η θεμέλια ουσία έχει πυκνή δομή με μικρά κενά και οι δοκίδες των οστεοκυττάρων βρίσκονται σε στενή επαφή μεταξύ τους. Ο φλοιώδης οστίτης ιστός σχηματίζει ένα άκαμπτο εξωτερικό περίβλημα στα οστά, στηρίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο το σωματικό βάρος και παρέχοντας αντιστάσεις στις εξωτερικές μηχανικές δυνάμεις παραμόρφωσης. Συναντάται στις διαφύσεις των μακρών οστών όπου και το πάχος του είναι μεγάλο, ενώ στα σημεία που περιβάλλει σπογγώδες ιστό το πάχος του είναι μειωμένο.

Το υπόλοιπο 20% του σκελετού αποτελείται από σπογγώδη οστίτη ιστό, όπου η διάταξη της θεμέλιας ουσίας είναι πιο αραιή και υπάρχουν μεγαλύτερα κενά μεταξύ των οστικών δοκίδων. Βρίσκεται κυρίως στα πεπλατυσμένα άκρα των μακρών οστών, της λαγόνιας ακρολοφίας της λεκάνης, των καρπών, της ωμοπλάτης, των σπονδύλων και των περιοχών των οστών που καλύπτουν τον μυελό.

Το οστό είναι ένας δυναμικός ιστός, ο οποίος υφίσταται αλλαγές καθ' όλη την διάρκεια της ζωής. Κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, το μέγεθος και το σχήμα των οστών αλλάζουν, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται σχηματισμός. Η οστική μάζα αυξάνεται ταχέως κατά την διάρκεια της εφηβείας και συσχετίζεται με την αύξηση των ορμονών του φύλου, και τη σύγκλιση των επιφυσιικών πλακών. Η ηλικία που ολοκληρώνεται η μέγιστη οστική μάζα είναι η 2η με 3η δεκαετία της ζωής. Συνεπώς, το μέγεθος της κορυφαίας οστικής μάζας που επιτυγχάνεται στα πρώιμα στάδια της ζωής έχει σημασία για την υγεία των οστών στη μετέπειτα ζωή. Αυτό καθιστά τις δύο πρώτες δεκαετίες της ζωής καίριας σημασίας για την υγεία των οστών. Όταν επιτευχθεί η κορυφαία οστική μάζα, συμβαίνει σταδιακή απώλεια του οστού με αργό ρυθμό που αυξάνει με την ηλικία

Η παραγωγή ή η αποδόμηση της θεμέλιας ουσίας και κατά συνέπεια και η ποιοτική σύσταση της σχετίζεται άμεσα με τις λειτουργίες των κυττάρων των οστών. Οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες είναι οι δύο τύποι κυττάρων που είναι υπεύθυνοι για δύο αντίθετες δράσεις που είναι στενά συνδεδεμένες τόσο χρονικά όσο και τοπικά. Οι δράσεις αυτές είναι γνωστές ως σχηματισμός και απορρόφηση του οστού (Πίνακας 9).

Πίνακας 9: Λειτουργίες των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών [1]

ΟΣΤΕΟΒΛΑΣΤΕΣ (σχηματισμός οστού)	ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΕΣ (απορρόφηση οστού)
• Σύνθεση πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας Κολλαγόνο τύπου I (90%) Οστεοκαλσίνη και άλλες πρωτεΐνες (10%) Μετάλλωση • Επικοινωνία Απέκκριση κυτταροκινών οι οποίες δρουν στους οστεοβλάστες	• Αποδόμηση του οστίτη ιστού μέσω της έκκρισης ενζύμων και οξέων • Επικοινωνία Απέκκριση κυτταροκινών οι οποίες δρουν στους οστεοκλάστες

1.2.2 Μοντέλα Σύστασης Σώματος

Με βάση τα μοντέλα σύστασης σώματος, το σώμα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε διαφορετικά μοντέλα ανάλυσης όπως το ατομικό, το μοριακό, το κυτταρικό, το επίπεδο ιστών ή και το επίπεδο ανάλυσης ολόκληρου του σώματος [129, 130]. Επίσης το ανθρώπινο σώμα μπορεί να χωριστεί σε δύο ή περισσότερα θεωρητικά ευρύτερα διαμερίσματα τα οποία περιλαμβάνουν ομάδες διαφορετικών συστατικών. Παράδειγμα αυτού του τρόπου κατηγοριοποίησης αποτελεί το μοντέλο των δύο διαμερισμάτων που διαχωρίζει το σώμα στη λιπώδη μάζα σώματος και την άλιπη μάζα σώματος και στο οποία ουσιαστικά βασίστηκαν οι περισσότερες μέθοδοι ανάλυσης σύστασης σώματος.

1.2.2.1 Μοριακά Μοντέλα Σύστασης Σώματος

Το ανθρώπινο σώμα σε μοριακό επίπεδο αποτελείται από τα εξής συστατικά: λίπος, νερό, πρωτεΐνες, μέταλλα και γλυκογόνο [1, 129].

Το μοντέλο των δύο διαμερισμάτων

Το κλασικό μοντέλο των δύο διαμερισμάτων χωρίζει το σωματικό βάρος στα διαμερίσματα της λιπώδους μάζας σώματος και άλιπης μάζας σώματος. Η λιπώδης μάζα συνίσταται από όλες τις υποομάδες λίπους του σώματος, ενώ η άλιπη μάζα σώματος περιλαμβάνει το νερό, τις πρωτεΐνες, το γλυκογόνο και τα μεταλλικά στοιχεία. Οι παραδοχές του συγκεκριμένου μοντέλου είναι οι ακόλουθες:

- 1) Η πυκνότητα της λιπώδους μάζας σώματος είναι $0,901 \text{ g/cm}^3$
- 2) Η πυκνότητα της άλιπης μάζας σώματος είναι $1,10 \text{ g/cm}^3$
- 3) Οι πυκνότητες της λιπώδους μάζας σώματος και των επιμέρους συστατικών της άλιπης μάζας (νερό, πρωτεΐνη, μέταλλα) είναι ίδιες για όλους τους ανθρώπους
- 4) Η ποσοστιαία συμμετοχή των επιμέρους συστατικών της άλιπης μάζας σώματος παραμένει σταθερή ανάμεσα σε διαφορετικά άτομα. Συγκεκριμένα η άλιπη μάζα του σώματος αναφοράς και των μετρούμενων ατόμων αποτελείται από 73,8% νερό, 19,4 % πρωτεΐνη και 6,8% μέταλλα. Οι αναλογίες αυτές των επιμέρους συστατικών
- 5) θεωρείται ότι παραμένουν σταθερές ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία, και τη φυλή του εξεταζόμενου ατόμου.

- 6) Το άτομο που υπόκειται σε μέτρηση διαφέρει από το σώμα αναφοράς μόνο ως προς την ποσότητα της λιπώδους και της άλιπης μάζας σώματος, επομένως και ως προς το ποσοστό κάθε διαμερίσματος επί του σωματικού βάρους.

Ένα βασικό μειονέκτημα της εφαρμογής των μεθόδων εκτίμησης της σύστασης σώματος που βασίζονται στο μοντέλο των δύο διαμερισμάτων, είναι ότι δεν ποσοτικοποιούν τα επιμέρους συστατικά της άλιπης μάζας (ολική πρωτεΐνη, ολικό νερό σώματος, οστική μεταλλική μάζα), καθένα από τα οποία έχει μεγάλη σημασία για την εκτίμηση της κατάστασης των επιμέρους ιστών και της υγείας του ανθρώπου.

Πλέον, μπορεί να γίνει εκτίμηση των επιμέρους συστατικών της άλιπης μάζας σώματος με τη διαμόρφωση πολυδιαμερισματικών μοριακών μοντέλων πάνω στα οποία βασίζονται οι σύγχρονες τεχνικές ανάλυσης σύστασης σώματος.

Μοντέλο τριών διαμερισμάτων στο οποίο το σωματικό βάρος = ΛΜΣ + ΟΛΙΚΟ ΝΕΡΟ ΣΩΜΑΤΟΣ + ΑΛΙΠΗ ΞΗΡΗ ΜΑΖΑ (άθροισμα των μεταλλικών στοιχείων και των πρωτεϊνών)

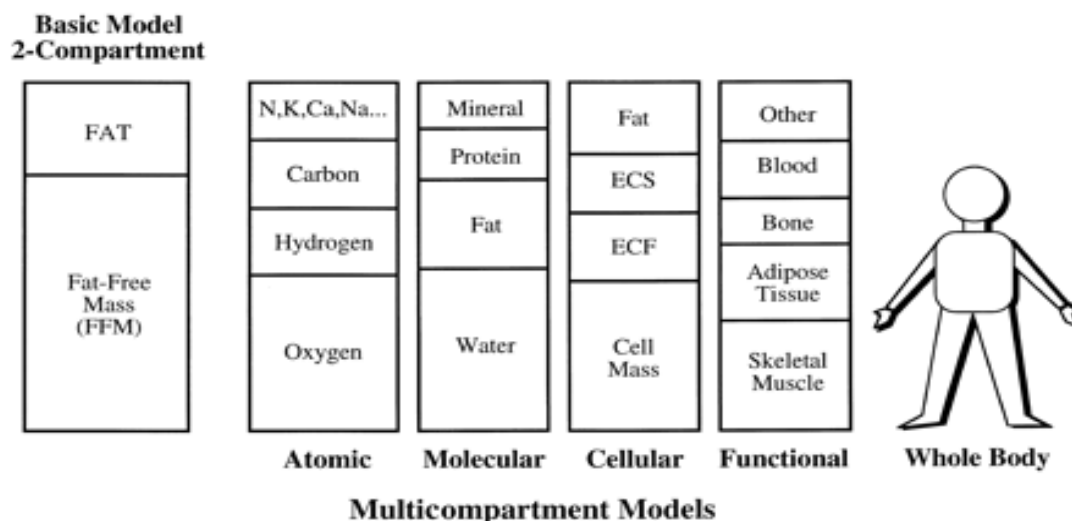
Μοντέλο τεσσάρων διαμερισμάτων στο οποίο το σωματικό βάρος = ΛΜΣ + ΝΕΡΟ + ΟΣΤΙΚΑ ΜΕΤΑΛΛΑ + ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (πρωτεΐνες & μη οστικά μέταλλα)

Μοντέλο πέντε διαμερισμάτων στο οποίο το σωματικό βάρος = ΛΜΣ + ολικό νερό σώματος + οστικά μέταλλα + μη οστικά μέταλλα + ολική πρωτεΐνη σώματος

1.2.2.2 Το Μοντέλο των πέντε επιπέδων

Το μοντέλο των 5 επιπέδων οργανώνει περισσότερα από 30 διαφορετικά συστατικά σε 5 ξεχωριστά επίπεδα (Σχήμα 23) αυξανόμενης πολυπλοκότητας: ατομικό, μοριακό, κυτταρικό, σύστημα ιστών και ολικό σώμα (Wang 1992).

Σχήμα 23: Το μοντέλο των πέντε επιπέδων [130]



ΜΟΡΙΑΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Τα διαμερίσματα του μοριακού επιπέδου όπως περιγράφηκαν και παραπάνω περιλαμβάνουν το λίπος, το νερό, τα μεταλλικά στοιχεία των οστών, τις πρωτεΐνες και τα μη οστικά μεταλλικά στοιχεία. Τα μοριακά διαμερίσματα που δεν είναι δυνατόν να μετρηθούν άμεσα, μπορούν να εκτιμηθούν έμμεσα από τις σταθερές σχέσεις των συστατικών των διαφορετικών επιπέδων.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Το κυτταρικό επίπεδο περιλαμβάνει τα κύτταρα του σώματος, το εξωκυτταρικό υγρό και τα εξωκυτταρικά στερεά. Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη κατηγοριοποίηση των επιμέρους συστατικών του κυτταρικού επιπέδου έχει προταθεί από τον Moore και τους συνεργάτες του (1963). Σύμφωνα με αυτή, η μάζα των κυττάρων του σώματος μπορεί να διαιρεθεί σε δύο διαμερίσματα: τη λιπώδη και την άλιπη κυτταρική μάζα. Η άλιπη κυτταρική μάζα αναφέρεται ως «κυτταρική μάζα σώματος» και θεωρείται ως υπεύθυνη για τις περισσότερες μεταβολικές διεργασίες του σώματος καθώς τα συστατικά της συμμετέχουν στην κατανάλωση οξυγόνου και επομένως την παραγωγή ενέργειας και θερμότητας. Συνεπώς, σύμφωνα με το μοντέλο του Moore, το σωματικό βάρος ισούται με : λιπίδια + κυτταρική μάζα σώματος + εξωκυττάρια υγρά + εξωκυττάρια στερεά.

ΕΠΙΠΕΔΟ ΙΣΤΩΝ

Το τέταρτο επίπεδο οργάνωσης περιλαμβάνει τους ιστούς του οργανισμού. Από τη σκοπιά της σύστασης σώματος οι κυριότεροι ιστοί του ανθρωπίνου σώματος είναι ο μυϊκός, ο λιπώδης και ο οστίτης. Ο λιπώδης και ο οστίτης ιστός αποτελούν ειδικές κατηγορίες του συνδετικού ιστού.

ΟΛΙΚΟ ΣΩΜΑ

Το επίπεδο του ολικού σώματος περιλαμβάνει τις κύριες ανθρωπομετρικές διαστάσεις, όπως είναι το σωματικό βάρος, το ανάστημα, τις περιφέρειες, τις διαμέτρους διαφόρων ανατομικών σημείων και το πάχος των δερματικών πτυχών. Οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εκτιμηθούν έμμεσα συστατικά άλλων επιπέδων. Για παράδειγμα, οι τιμές από τις μετρήσεις δερματικών πτυχών μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εξισώσεις υπολογισμού των ολικών λιπιδίων του σώματος. Επίσης, οι μετρήσεις περιφέρειας μέσου βραχίονα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εκτιμήτριες του μυϊκού ιστού και της μυϊκής μάζας.

1.2.3 Μέθοδοι Ανάλυσης σύστασης σώματος

1.2.3.1 ΥΔΡΟΠΥΚΝΟΜΕΤΡΙΑ

Η υδροπυκνομετρία είναι μία μέθοδος μέτρησης του όγκου του σώματος του εξεταζόμενου για τον υπολογισμό της ολικής πυκνότητας του σώματος του. Η εκτίμηση της λιπώδους μάζας σώματος γίνεται με ειδικές εξισώσεις μετατροπής των μετρούμενων τιμών πυκνότητας σε ποσοστό λίπους σώματος. Θεωρείται η πιο αξιόπιστη μέθοδος εκτίμησης της πυκνότητας σώματος και συχνά η εγκυρότητα νεότερων και πιο σύγχρονων μεθόδων εκτίμησης της λιπώδους μάζας κρίνονται έναντι αυτής [2].

Σχήμα 24: Μέτρηση όγκου σώματος [2]



Η ολική πυκνότητα του σώματος υπολογίζεται από τη σχέση [1]:

$$D_b = M_b / V_b$$

Όπου D_b = πυκνότητα σώματος,

M_b = Μάζα σώματος,

V_b = όγκος σώματος

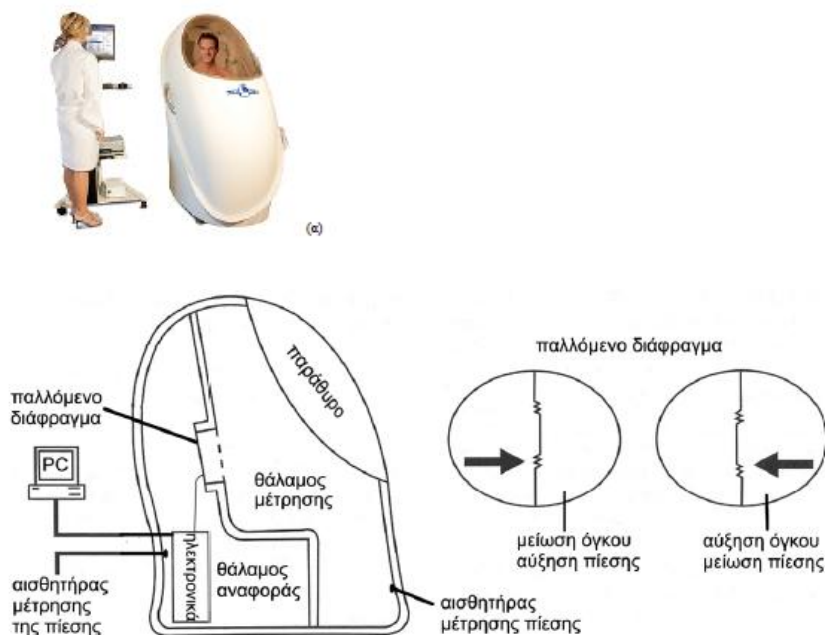
Η μάζα του σώματος μετράται με απλή ζύγιση στο έδαφος, ενώ ο υπολογισμός του όγκου του σώματος βασίζεται στην αρχή του Αρχιμήδη, σύμφωνα με την οποία, ο όγκος σώματος είναι ίσος με τον όγκο του νερού που υπερχειλίζεται κατά την πλήρη βύθιση στο νερό.

Για τον ακριβή υπολογισμό του όγκου σώματος λαμβάνεται υπόψη και η πυκνότητα του νερού στη θερμοκρασία που έλαβε χώρα η υποβρύχια ζύγιση, ενώ πρέπει παράλληλα να υπολογίζεται ο υπολειπόμενος πνευμονικός όγκος, καθώς και ο όγκος αέρα που βρίσκεται παγιδευμένος στον γαστρεντερικό σωλήνα.

1.2.3.2 ΑΕΡΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΓΡΑΦΙΑ

Είναι παραλλαγή της υδροπυκνομετρίας και βασίζεται όχι στην παρεκτόπιση νερού αλλά στην παρεκτόπιση αέρα. Αποτελείται από έναν ειδικό κλωβό όπου μπαίνει ο ασθενής και το πλεονέκτημα της σε σχέση με την υδροπυκνομετρία είναι ότι δεν χρειάζεται εμβύθιση σε νερό. Η μέθοδος είναι ασφαλής, γρήγορη, ακριβής και ενδείκνυται για όλες τις ηλικίες ακόμη και για παιδιά. Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν πολύ καλή συσχέτιση της μεθόδου ως προς τις μεθόδους αναφοράς για την εκτίμηση του σωματικού λίπους και ο συντελεστής διακύμανσης είναι της τάξης του 1-2%. Είναι κατάλληλη για την ανίχνευση μεταβολών της σύστασης σώματος κατά την απώλεια βάρους αν και υπερεκτιμά ελαφρώς τις μεταβολές του σωματικού λίπους, ιδίως σε καταστάσεις με υψηλό ποσοστό ενυδάτωσης. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο μεγάλος όγκος της χρησιμοποιούμενης συσκευής και το υψηλό κόστος της εξέτασης [136].

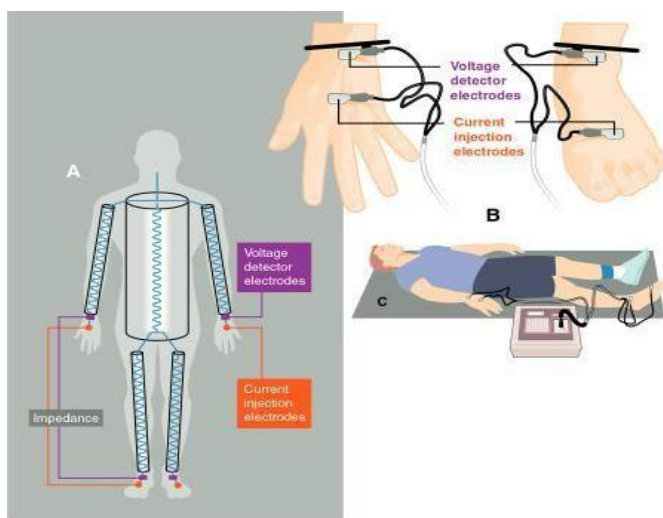
Σχήμα 25 (α) Ένα εμπορικό σύστημα εκτοπίσματος αέρα ή πλεθυσμογραφίας ή *Bod Pod* (β) Παραστατική απεικόνιση της μεθόδου με τα διάφορα μέρη του συστήματος [129]



1.2.3.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΒΙΟΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΕΜΠΕΔΗΣΗΣ

Κατά τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής εμπέδησης εφαρμόζεται μικρής έντασης εναλλασσόμενο ρεύμα στο ανθρώπινο σώμα και μετράται η αγωγιμότητα του [137, 138]. Όταν εφαρμοστεί εναλλασσόμενο ρεύμα σε ένα κύκλωμα, η αντίσταση στη διέλευση του ρεύματος εκφράζεται από τη σύνθετη αντίσταση ή όπως αλλιώς εμπέδηση Z .

Σχήμα 26: Μέθοδος βιοηλεκτρικής εμπέδησης [138]



Ο λιπώδης ιστός περιέχει λιγότερο νερό από τον άλιπο ιστό και συνεπώς έχει μεγαλύτερη ηλεκτρική αντίσταση. Το σωματικό λίπος είναι κακός αγωγός του ηλεκτρικού ρεύματος, ενώ η άλιπη μάζα με το νερό και τους ηλεκτρολύτες καλός αγωγός. Διοχετεύεται στο σώμα του εξεταζόμενου, μέσω ηλεκτροδίων, πολύ χαμηλής τάσεως ηλεκτρικό ρεύμα και καταγράφεται η αντίσταση που συναντά το ρεύμα κατά τη δίοδο του από τους ιστούς. Από την υπολογιζόμενη αντίσταση, μέσω ειδικών εξισώσεων, προσδιορίζεται το ποσοστό του λιπώδους ιστού σε σχέση με το σωματικό βάρος [138].

Εναλλακτικά, η ποσότητα νερού αποτελεί το 73% της άλιπης μάζας, η οποία και προσδιορίζεται έμμεσα με τη χρήση των κατάλληλων εξισώσεων. Η διαφορά της άλιπης μάζας από το σωματικό βάρος μας δίνει το σωματικό λίπος. Παρέχεται, λοιπόν, εκτίμηση της άλιπης μάζας σώματος αλλά και του ολικού σωματικού νερού. Η μέθοδος αποτελείται από φορητή συσκευή, έχει πολύ καλή επαναληψιμότητα και θεωρείται σχετικά αξιόπιστη (τυπικό σφάλμα 2-3%) [138].

ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ [1]

- Ο εξεταζόμενος πρέπει να βρίσκεται σε στάδιο νηστείας (να μην έχει καταναλώσει φαγητό και υγρά) για τουλάχιστον 2-3 ώρες πριν τη μέτρηση.
- Τα σημεία επικόλλησης των ηλεκτροδίων πρέπει να έχουν καθαριστεί προηγουμένως με οινόπνευμα
- Ο εξεταζόμενος δεν πρέπει να έχει καταναλώσει αλκοόλ για τουλάχιστον 24 ώρες πριν τη μέτρηση.
- Η μέτρηση δεν πρέπει να γίνεται σε πολύ ζεστό ή κρύο περιβάλλον και η θερμοκρασία του σώματος πρέπει να είναι κανονική
- Απομακρύνονται τα μεταλλικά αντικείμενα που έρχονται σε επαφή με τον κορμό
- Η μέτρηση πρέπει να γίνεται μέσα σε 5-10 λεπτά από τη στιγμή που ξαπλώνει ο εξεταζόμενος γιατί στη συνέχεια συμβαίνει ανακατανομή υγρών από τα πόδια στον κορμό.
- Η μέτρηση γίνεται συνήθως στη δεξιά πλευρά του εξεταζόμενου.
- Οι γυναίκες σε αναπαραγωγική περίοδο πρέπει να βρίσκονται στην ίδια φάση του καταμήνιου κύκλου, όταν πρόκειται να επαναληφθεί η μέτρηση.

Φυσιολογικές τιμές λιπώδους ιστού

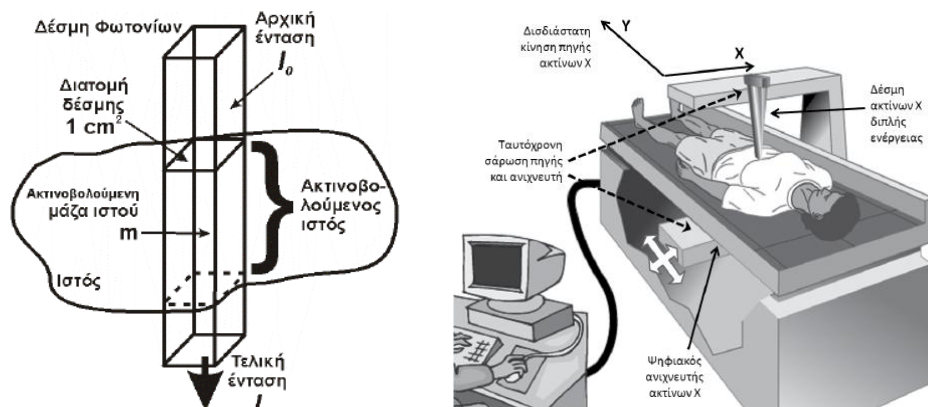
- **Άνδρες:** 8-13% έως 20-25%
- **Γυναίκες:** 21-24% έως 33-36%

Οι διακυμάνσεις των ποσοστών αυτών, διαφοροποιούνται ανάλογα με την ηλικία, το φύλο αλλά και την φυσική κατάσταση του ατόμου.

1.2.3.4 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΙΟΜΕΤΡΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ ΔΙΠΛΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ (Dual Energy X-ray Absorptiometry - DXA)

Η μέθοδος DEXA χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας, αλλά με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την ανάλυση της σύστασης του σώματος [139, 140]. Στη μέθοδο αυτή μία πηγή φωτονίων σαρώνει το σώμα. Η δέσμη φωτονίων απορροφάται διαφορετικά από τον οστίτη, το λιπώδη και το μη λιπώδη ιστό. Ο λιπώδης ιστός αποτελείται κυρίως από στοιχεία με χαμηλό ατομικό αριθμό που απορροφούν σε μικρό βαθμό τα φωτόνια, ενώ αντίθετα ο μη λιπώδης αποτελείται από στοιχεία με υψηλό ατομικό βάρος που απορροφούν σε μεγαλύτερο βαθμό τη δέσμη φωτονίων. Η διάρκεια της εξέτασης είναι 10-20 λεπτά και η ακτινοβολία που δέχεται το άτομο είναι ελάχιστη, μόλις το 1/10 μιας ακτινοβολίας θώρακος. Η μέθοδος επιτρέπει την εκτίμηση της σύστασης του σώματος συνολικά αλλά και κατά περιοχές. Κατά συνέπεια είναι ιδανική για την εκτίμηση της κοιλιακής παχυσαρκίας.

Σχήμα 27: Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης μεταξύ δέσμης ακτίνων Χ και ιστού (αριστερά) - του συστήματος DXA (δεξιά) [129]



1.2.3.5 ΑΞΟΝΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ

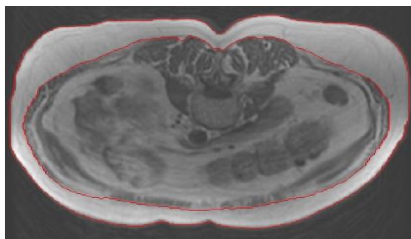
Με την αξονική τομογραφία υπολογίζεται η απορρόφηση των ακτίνων X σε μία τομή του σώματος και στη συνέχεια γίνεται από τον υπολογιστή ανασύνθεση της εικόνας, που επιτρέπει τη διάκριση σε οστίτη, λιπώδη και μη λιπώδη ιστό [141]. Ανάλογα με τη σύνθεση κάθε ιστού υπάρχει και διαφορετική απορρόφηση των ακτίνων X. Το ποσοστό απορρόφησης της ακτινοβολίας μετρείται με τις μονάδες Hounsfield (HU). Η απορρόφηση της ακτινοβολίας κυμαίνεται από -1000HU για τον αέρα ως +1000HU για τα οστά. Το λίπος έχει ποσοστό απορρόφησης ακτινοβολίας μεταξύ -190 HU και -30HU. Η αξονική τομογραφία έχει το πλεονέκτημα ότι είναι ακριβής μέθοδος για την εκτίμηση του λίπους και μπορεί να διαχωρίσει το υποδόριο από το σπλαχνικό λίπος.

Ένα ακόμη πλεονέκτημα είναι ότι παρέχει πληροφορίες για την οστική μάζα, το σχήμα των οστών, αλλά και τη μικροαρχιτεκτονική δομή τους. Έτσι, είναι δυνατός ο ποιοτικός και ποσοτικός διαχωρισμός του οστού σε σπογγώδες και φλοιώδες σε κάθε ανατομικό σημείο, καθιστώντας την ιδιαίτερα χρήσιμη σε ερευνητικό επίπεδο για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας της οστεοπορωτικής νόσου [1]. Έχει όμως το μειονέκτημα του υψηλού κόστους και της μεγάλης δόσης ακτινοβολίας στην οποία εκτίθεται ο εξεταζόμενος [141].

1.2.3.6 ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ

Μαγνητικά κύματα και ραδιοκύματα χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση των ιστών του σώματος. Η μαγνητική τομογραφία είναι χρήσιμη για τον καθορισμό του μεγέθους των οργάνων, τον ποσοτικό προσδιορισμό της μυϊκής μάζας, τον ποσοτικό προσδιορισμό και την κατανομή της λιπώδους μάζας αλλά και για το διαχωρισμό της σε υποδόριο και σπλαχνικό λίπος [1]. Μπορεί να διακρίνει τοπικές μεταβολές του λιπώδους ιστού και να υπολογίσει μέχρι και το ενδομυϊκό λίπος. Το μεγάλο πλεονέκτημα της μαγνητικής τομογραφίας σε σχέση με την αξονική είναι η απουσία ακτινοβολίας, από την άλλη είναι πολύ πιο δαπανηρή μέθοδος. Το κόστος μπορεί να ελαττωθεί εάν υπολογιστεί το λίπος στο επίπεδο O4-O5, καθώς έχει βρεθεί πολύ καλή συσχέτιση του λιπώδους ιστού σε αυτήν την περιοχή με το συνολικό λίπος σώματος [142, 143].

Σχήμα 28 : Απεικόνιση τομής κοιλιακής χώρας ασθενούς με Μαγνητική Τομογραφία. Οι κόκκινες γραμμές οριοθετούν το υποδόριο λίπος [129] .



1.2.3.7 ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΝΕΤΡΟΝΙΩΝ

Η μέθοδος ενεργοποίησης των νετρονίων επιτρέπει την ανάλυση του ζωντανού ανθρώπινου οργανισμού σε ατομικό επίπεδο. Σήμερα με την εξέλιξη της μεθόδου σχεδόν όλα τα στοιχεία που δομούν τον ανθρώπινο οργανισμό μπορούν να ανιχνευθούν και να ποσοτικοποιηθούν. Δύο από τα στοιχεία που μετρούνται συχνότερα με αυτή τη μέθοδο είναι το άζωτο και το ασβέστιο [1].

Η τεχνική μπορεί να περιγραφεί ως εξής: Όταν ένα άτομο παγιδεύσει ένα νετρόνιο, το άτομο μεταβάλλεται σε μία πυρηνική κατάσταση του ίδιου όμως στοιχείου. Το νέο άτομο μπορεί να είναι σταθερό ή ραδιενεργό. Έχει όμως πλεόνασμα ενέργειας το οποίο μπορεί να το αποβάλλει αμέσως με τη μορφή ακτινοβολίας. Επομένως, αμέσως μετά και λίγο ακόμη χρονικό διάστημα αφού το σώμα βομβαρδιστεί με νετρόνια, εκπέμπονται ακτίνες γ.

1.2.3.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ^{40}K

Το κάλιο είναι ένα ενδοκυττάριο ιόν, το οποίο βρίσκεται αποκλειστικά στην άλιπη μάζα. Βασίζεται στην παραδοχή ότι η μέση ποσότητα του καλίου στην άλιπη μάζα σώματος είναι σταθερή και ισούται με περίπου 69,4mmol/ kg [130, 144]. Η μέτρηση της συγκέντρωσης του ολοσωματικού καλίου με τη βοήθεια του ραδιοσημασμένου K, του καλίου 40, δίνει τη δυνατότητα υπολογισμού της άλιπης μάζας. Ο συντελεστής διακύμανσης της μεθόδου είναι 2-3%. Οι περιορισμοί της μεθόδου οφείλονται στο γεγονός ότι κάλιο υπάρχει σε μεγαλύτερες ποσότητες στους μύες από ότι στους άλλους ιστούς της άλιπης μάζας και στο ότι η συγκέντρωση του αλλάζει με την πάροδο της ηλικίας.

1.2.3.9 Ανθρωπομετρία

Η ανθρωπομετρία περιλαμβάνει τη μέτρηση του βάρους, του ύψους, των περιφερειών του σώματος, τα μήκη και πλάτη σε διάφορα ανατομικά σημεία και τέλος τις μετρήσεις δερματικών πτυχών [129, 137]. Οι μετρήσεις αυτές μπορούν να γίνουν εύκολα, γρήγορα χωρίς μεγάλο κόστος και επιβάρυνση των εξεταζομένων.

Ύψος

Το ύψος μετριέται σε όρθια στάση με τη βοήθεια ενός αναστημομέτρου. Κατά τη διαδικασία της μέτρησης του ύψους, το άτομο στέκεται ίσια, χωρίς παπούτσια και κάλτσες, με το κεφάλι να τοποθετείται στη θέση Frankfort horizontal plane. Επίσης, οι πτέρνες πρέπει να είναι ενωμένες, τα γόνατα ευθεία, οι ώμοι χαλαροί, οι παλάμες να βλέπουν προς τους μηρούς και το κεφάλι, οι γλουτοί και η ωμοπλάτη να εφάπτονται στο αναστημόμετρο. Πριν τη μέτρηση, ζητείται από τους εξεταζόμενους να πάρουν βαθιά ανάσα, για να εκταθεί η σπονδυλική στήλη και να την κρατήσουν μέχρι να ολοκληρωθεί η μέτρηση.

Σωματικό βάρος

Η μέτρηση του σωματικού βάρους μπορεί να γίνει είτε με τη χρήση ηλεκτρονικών ζυγαριών, είτε με ζυγούς με δοκό ισορροπίας και μη αποσπώμενα βάρη. Οι ηλεκτρονικοί ζυγοί αν και θεωρούνται λιγότεροι ακριβείς και αξιόπιστοι από τους ζυγούς με τη δοκό ισορροπίας, είναι ελαφρύτεροι, φορητοί και ευκολότεροι στη χρήση. Κατά τη μέτρηση του βάρους, ο ζυγός πρέπει να έχει τοποθετηθεί σε μία σταθερή επιφάνεια και ο εξεταζόμενος να έχει βγάλει τα παπούτσια του, να φορά ελαφρύ ρουχισμό, να στέκεται ακίνητος στο κέντρο της πλατφόρμας του ζυγού και να κοιτάζει μπροστά, χωρίς να στηρίζεται κάπου. Επίσης, θα πρέπει να καταγράφεται και ο ρουχισμός του εξεταζόμενου καθώς και η ώρα ζύγισης, ώστε όταν μετρηθεί ξανά το σωματικό βάρος να φορά τον ίδιο ελαφρύ ρουχισμό, και η μέτρηση να γίνει την ίδια ώρα.

Δείκτης βάρους – ύψους

Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης βάρους – ύψους είναι ο Δείκτης Μάζας Σώματος. Ορίζεται ως το βάρος προς το τετράγωνο του ύψους (kg/m^2) και αποτελεί σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας τον θεμέλιο λίθο για το σύστημα κατηγοριοποίησης της παχυσαρκίας.

Πίνακας 10: Κατηγοριοποίηση των ενηλίκων ανάλογα με το Δείκτη Μάζας Σώματος (WHO 2006)

Classification	BMI (kg/m ²)	Chronic disease risk
Underweight	<18.5	Low (but increased mortality and morbidity from other causes)
Severe thinness	<16.0	
Moderate thinness	16.0 - 16.9	
Mild thinness	17.0 - 18.5	
Normal range	18.5 - 24.9	Average
Overweight	≥25.0	
Pre-obese	25.0 - 29.9	Increased
Obese	≥30.0	
Obese class I	30.0 – 34.9	Moderate
Obese class II	35.0 - 39.9	Severe
Obese class III	≥40.0	Very Severe
Cut offs may not be appropriate for >65 year olds, see page over for further detail.		

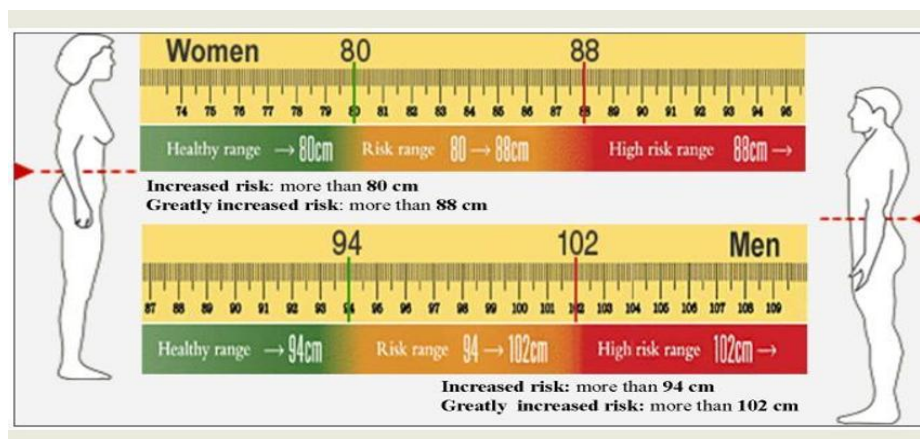
Ο Δείκτης Μάζας Σώματος παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα ως δείκτης. Οι μετρήσεις βάρους- ύψους είναι απλές και ο εξοπλισμός που απαιτείται δεν είναι σύνθετος και ακριβός. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει συσχετίσεις μεταξύ ΔΜΣ και κινδύνου νοσηρότητας και θνητότητας καθώς και συσχετίσεις με καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτη τύπου 2, υπερλιπιδαιμίες και διάφορες μορφές καρκίνου [145].

Ένα προφανές μειονέκτημα, είναι ότι αποτελεί δείκτη αξιολόγησης του αυξημένου ή μειωμένου σωματικού βάρους σε σχέση με το ύψος και όχι δείκτη προσδιορισμού της λιπώδους και άλιπης μάζας σώματος. Συνεπώς η χρήση της να μην επαρκεί στους ηλικιωμένους και στα άτομα με αυξημένη μυϊκή μάζα (όπως οι αθλητές) [146].

Περιφέρειες σώματος και σχετικοί δείκτες

Περιφέρεια μέσης & ισχίου: Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εκτιμηθεί η κατανομή λίπους στο σώμα και ο κίνδυνος εμφάνισης παθήσεων που σχετίζονται με την κεντρικού τύπου παχυσαρκία [1]. Η μέτρηση της **περιφέρειας μέσης** σχετίζεται ισχυρά με τις αποθήκες ενδο-κοιλιακού λίπους στο σώμα (σπλαχνικό λίπος της κοιλιακής χώρας). Για την μέτρηση, ο εξεταζόμενος πρέπει να στέκεται όρθιος με την κοιλιά χαλαρή, τα πόδια ενωμένα και τα χέρια στο πλάι. Η μέτρηση γίνεται στο τέλος μιας φυσιολογικής εκπνοής, στην πιο στενή περιοχή της μέσης δηλαδή στη μεσότητα της αποστάσεως μεταξύ τελευταίας πλευράς και λαγονίου ακρολοφίας (σε μη παχύσαρκα άτομα αντιστοιχεί στο επίπεδο του ομφαλού) [1, 129, 147].

Σχήμα 30: Σχηματική απεικόνιση ορίων για μετρήσεις περιφέρειας μέσης που υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο και ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση μεταβολικών διαταραχών που σχετίζονται με την παχυσαρκία [147]



Η μέτρηση της **περιφέρειας ισχίου** γίνεται γύρω από την περιοχή των γλουτών σε επίπεδο που εξασφαλίζεται ότι μετράται η μέγιστη περιφέρεια του ισχίου. Ο εξεταζόμενος πρέπει να στέκεται όρθιος και εξεταστής να βρίσκεται πλάγια του, για να εξασφαλιστεί ότι η ταινία έχει τοποθετηθεί παράλληλα με το οριζόντιο επίπεδο και ότι μετράται η μέγιστη περιφέρεια του ισχίου [1].

Το **πηλίκο της περιφέρειας μέσης προς την περιφέρεια ισχίου** είναι ένας άλλος δείκτης προσδιορισμού του κινδύνου που διατρέχει ένα άτομο για την εμφάνιση παθήσεων που σχετίζονται με την παχυσαρκία εξαιτίας της κεντρικής κατανομής του λίπους. Η κεντρική ή ανδρικού τύπου κατανομή σχετίζεται με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμίες, καρδιαγγειακές παθήσεις [148]. Τιμές πηλίκου μεγαλύτερες του 0,9 και 0,85 για τους άνδρες και τις γυναίκες αντίστοιχα, είναι ενδεικτικές κεντρικής παχυσαρκίας και αυξημένου κινδύνου νοσηρότητας από ασθένειες που συνδέονται με αυτήν [147].

Δερματικές πτυχές

Η μέτρηση των δερματικών πτυχών είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος εκτίμησης της λιπώδους μάζας σώματος και κατ' επέκταση του ποσοστού λίπους σώματος. Και αυτό διότι, το μεγαλύτερο μέρος του σωματικού λίπους βρίσκεται υπό τη μορφή υποδορίου λίπους, το οποίο μπορεί να μετρηθεί εύκολα και γρήγορα με ένα δερματοπτυχόμετρο [1, 129].

Σχήμα 31: Απεικόνιση δερματοπτυχομέτρου

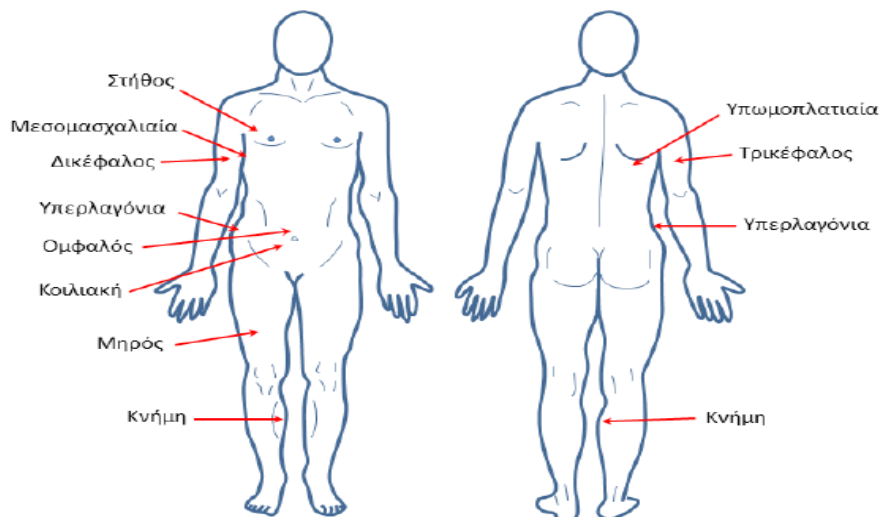


Η τεχνική περιλαμβάνει το διαχωρισμό μιας δερματικής πτυχής από τον υποκείμενο μυ και τη μέτρηση του πάχους της.

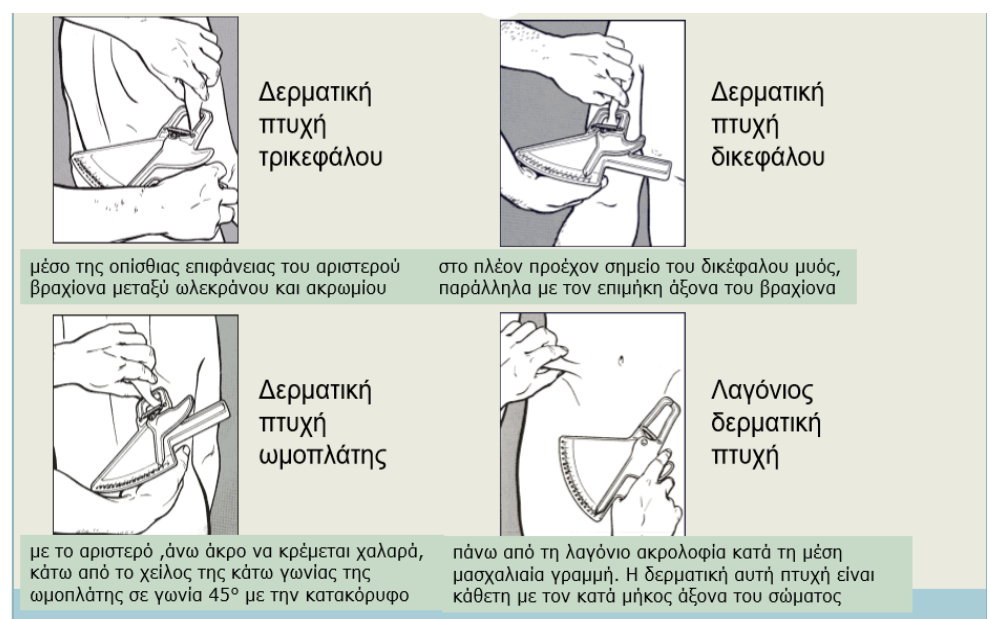
Η μέτρηση για να είναι έγκυρη και ακριβής απαιτεί προσοχή στον εντοπισμό του ανατομικού σημείου που πραγματοποιείται η μέτρηση και πιστή εφαρμογή ενός πρωτοκόλλου μέτρησης.

Σχήμα 32: α) Τα σημεία των δερματοπτυχών που χρησιμοποιούνται συχνότερα στην πράξη β) Τεχνική μέτρησης των 4 δερματικών πτυχών [129, 149-151]

α)



β)



Για τη χρήση των κατάλληλων εξισώσεων, κάποιες από τις παραπάνω δερματοπτυχομετρήσεις αθροίζονται (σε κάθε εξίσωση εμπεριέχεται μια συγκεκριμένη ομάδα δερματοπτυχών) και το άθροισμα, μετρούμενο συνήθως σε mm, χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της πυκνότητας σώματος (D_b).

ΕΞΙΣΩΣΕΙΣ ΔΕΡΜΑΤΟΠΤΥΧΩΝ

- 7 δερματοπτυχές (στήθος, μεσομασχαλιαία, τρικέφαλος, υποπλάτιος, κοιλιά, υπερλαγόνιος, τετρακέφαλος)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.112 - 0.00043499 (\text{άθροισμα } 7 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.00000055 (\text{άθροισμα } 7 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.00028826 (\text{ηλικία}).$
- 3 δερματοπτυχές (στήθος, κοιλιά, τετρακέφαλος)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.10938 - 0.0008267 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.0000016 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.0002574 (\text{ηλικία}).$
- 3 δερματοπτυχές (στήθος, τρικέφαλος, υποπλάτιος)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.1125025 - 0.0013125 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.0000055 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.000244 (\text{ηλικία}).$

Γυναίκες

- 7 δερματοπτυχές (στήθος, μεσομασχαλιαία, τρικέφαλος, υποπλάτιος, κοιλιά, υπερλαγόνιος, τετρακέφαλος)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.097 - 0.00046971 (\text{άθροισμα } 7 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.00000056 (\text{άθροισμα } 7 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.00012828 (\text{ηλικία}).$
- 3 δερματοπτυχές (τρικέφαλος, υπερλαγόνιος, τετρακέφαλος)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.099421 - 0.0009929 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.0000023 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.0001392 (\text{ηλικία}).$
- 3 δερματοπτυχές (τρικέφαλος, υπερλαγόνιος, κοιλιά)
 $\text{Πυκνότητα σώματος} = 1.089733 - 0.0009245 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών}) + 0.0000025 (\text{άθροισμα } 3 \text{ δερματοπτυχών})^2 - 0.0000979 (\text{ηλικία}).$

Για την μετατροπή της πυκνότητας σώματος σε ποσοστό λίπους (%ΛΣ), μπορεί να χρησιμοποιηθεί η εξίσωση του Siri (1961) για άνδρες και γυναίκες:

A) για άνδρες: % ΛΣ=[(4,95/ΠΣ)]- 4,50] *100

B) για γυναίκες: %ΛΣ= [(5,01/ΠΣ)- 4, 57] *100

Σε μία άλλη κατηγορία εξισώσεων, το % BF υπολογίζεται απευθείας με το άθροισμα των 4 δερματικών πτυχών, χωρίς τον ενδιάμεσο υπολογισμό του D_b [152].

Body Fat Interpretation Chart For Women																	
AGE	SKINFOLD MEASUREMENT IN MILLIMETERS																
	2-3	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-17	18-19	20-21	22-23	24-25	26-27	28-29	30-31	32-33	34-35
UP TO 20	11.3	13.5	15.7	17.7	19.7	21.5	23.3	24.8	26.3	27.7	29.0	30.2	31.3	32.3	33.1	33.9	34.6
21-25	11.9	14.2	16.3	18.4	20.3	22.1	23.8	25.5	27.0	28.4	29.6	30.8	31.9	32.9	33.8	34.5	35.2
26-30	12.5	14.8	16.9	19.0	20.9	22.7	24.5	26.1	27.6	29.0	30.3	31.5	32.5	33.5	34.4	35.2	35.8
31-35	13.2	15.4	17.6	19.6	21.5	23.4	25.1	26.7	28.2	29.6	30.9	32.1	33.2	34.1	35.0	35.8	36.4
36-40	13.8	16.0	18.2	20.2	22.2	24.0	25.7	27.3	28.8	30.2	31.5	32.7	33.8	34.8	35.6	36.4	37.0
41-45	14.4	16.7	18.8	20.8	22.8	24.6	26.3	27.9	29.4	30.8	32.1	33.3	34.4	35.4	36.3	37.0	37.7
46-50	15.0	17.3	19.4	21.5	23.4	25.2	26.9	28.5	30.1	31.5	32.8	34.0	35.0	36.0	36.9	37.6	38.3
51-55	15.6	17.9	20.0	22.1	24.0	25.9	27.6	29.2	30.7	32.1	33.4	34.6	35.6	36.6	37.5	38.3	38.9
56 & UP	16.3	18.5	20.7	22.7	24.6	26.5	28.2	29.8	31.3	32.7	34.0	35.2	36.3	37.2	38.1	38.9	39.5
LEAN				IDEAL				AVERAGE				OVERFAT					

Body Fat Interpretation Chart For Men																	
AGE	SKINFOLD MEASUREMENT IN MILLIMETERS																
	2-3	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-17	18-19	20-21	22-23	24-25	26-27	28-29	30-31	32-33	34-35
UP TO 20	2.0	3.9	6.2	8.5	10.5	12.5	14.3	16.0	17.5	18.9	20.2	21.3	22.3	23.1	23.8	24.3	24.9
21-25	2.5	4.9	7.3	9.5	11.6	13.6	15.4	17.0	18.6	20.0	21.2	22.3	23.3	24.2	24.9	25.4	25.8
26-30	3.5	6.0	8.4	10.6	12.7	14.6	16.4	18.1	19.6	21.0	22.3	23.4	24.4	25.2	25.9	26.5	26.9
31-35	4.5	7.1	9.4	11.7	13.7	15.7	17.5	19.2	20.7	22.1	23.4	24.5	25.5	26.3	27.0	27.5	28.0
36-40	5.6	8.1	10.5	12.7	14.8	16.8	18.6	20.3	21.8	23.2	24.4	25.6	26.5	27.4	28.1	28.6	29.0
41-45	6.7	9.2	11.5	13.8	15.9	17.8	19.6	21.3	22.8	24.2	25.5	26.6	27.6	28.4	29.1	29.7	30.1
46-50	7.7	10.2	12.6	14.8	16.9	18.9	20.7	22.4	23.9	25.3	26.6	27.7	28.7	29.5	30.2	30.7	31.2
51-55	8.8	11.3	13.7	15.9	18.0	20.0	21.8	23.4	25.0	26.4	27.6	28.7	29.7	30.6	31.2	31.8	32.2
56 & UP	9.9	12.4	14.7	17.0	19.1	21.0	22.8	24.5	26.0	27.4	28.7	29.8	30.8	31.6	32.3	32.9	33.3
LEAN				IDEAL				AVERAGE				OVERFAT					

Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. Durnin JVGA Womersley J. Br J Nutrition 1974; 32: 77

Εναλλακτικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ακόλουθες εξισώσεις [151]

Ποσοστό λίπους = $0,55*(A) + 0,31*(B) + 6,1321$ (**Νέες γυναίκες 17-26 ετών**)

Ποσοστό λίπους = $0,43*(A) + 0,58 * (B) + 1,47$ (**Νέοι άνδρες 17-26 ετών**)

Όπου A= πτυχή τρικεφάλου μύς σε mm

B= πτυχή υποπλάτιας σε mm

1.3 Σύσταση Σώματος και Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

1.3.1 Παχυσαρκία και NAFLD

Η μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος φαίνεται να συνδέεται ισχυρά με την παχυσαρκία, με τον επιπολασμό όπως έχει ήδη αναφερθεί να βρίσκεται στο 80% στους παχύσαρκους ασθενείς και μόλις το 16% σε άτομα με φυσιολογικό Δείκτη Μάζας Σώματος και χωρίς μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου [153, 154]. Η σοβαρότητα της ηπατικής στεάτωσης στη νοσογόνο παχυσαρκία επίσης συσχετίζεται με το βαθμό της διαταραγμένης γλυκαιμικής κατάστασης [155]. Η ηπατική στεάτωση συσχετίζεται με τον Δείκτη Μάζας Σώματος, αλλά πιο πολύ συνδέεται με την σπλαχνική παχυσαρκία (μετρημένη ως περίμετρος μέσης), καθώς ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός είναι λιπολυτικά πιο ενεργός ανά μονάδα βάρους συγκριτικά με τον υποδόριο λιπώδη ιστό [156]. Ωστόσο, η ερευνητική ομάδα του Stefan [157] αναγνώρισε μία ομάδα μεταβολικά υγιών παχυσάρκων όπου τα ινσουλινοευαίσθητα άτομα, έχουν χαμηλότερο ποσοστό ηπατικού λίπους σε σύγκριση με τα ινσουλινοανθεκτικά άτομα. Αυτό συνεπάγεται ότι η πρόληψη και μείωση της ηπατικής συσσώρευσης λίπους ίσως μειώνει την ινσουλινοαντίσταση ακόμη και σε άτομα με αυξημένο σωματικό βάρος [157, 158].

Τόσο το ήπαρ όσο και ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός περιέχουν ηπατοκύτταρα και λιποκύτταρα σε στενή εγγύτητα με ανοσολογικά κύτταρα, ηπατικά αστεροειδή κύτταρα, κύτταρα Kupffer, ενδοθηλιακά κύτταρα και μακροφάγα, με άμεση γειτνίαση σε αιμοφόρα αγγεία και παρόμοια βιοχημικά σηματοδοτικά μονοπάτια [159, 160]. Ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός αποτελεί πηγή ενός μεγάλου αριθμού εκκρινόμενων κυτοκινών ονομαζόμενες αδιποκίνες [161]. Οι πιο καλά περιγραφόμενες αδιποκίνες με καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος είναι η αδιπονεκτίνη, ένας ευαισθητοποιητής ινσουλίνης και η λεπτίνη, μία ορμόνη κυρίως παραγόμενη από τα λιποκύτταρα [162].

Η παχυσαρκία θεωρείται μια κατάσταση κεντρικής και περιφερικής αντίστασης στη λεπτίνη και παχύσαρκα άτομα καθώς και άτομα με NAFLD ή NASH έχουν υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούσας λεπτίνης [163, 164]. Η λεπτίνη φαίνεται να

ρυθμίζει την ενεργειακή πρόσληψη και κατανάλωση, το μεταβολισμό και τις αναπαραγωγικές λειτουργίες [165] και επίσης παρεμποδίζει την συσσώρευση λιπιδίων σε μη λιπώδεις ιστούς όπως το ήπαρ [166]. Η λεπτίνη ίσως παίζει σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της ηπατικής ινσουλινοαντίστασης, καθώς καταστέλλει τη δραστηριότητα της δισμουτάσης της στεαροϋλο-CoA, ένζυμο που παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και καταλύει την αντίδραση περιορισμού της σύνθεσης μονοακόρεστων λιπαρών οξέων [167]. Η λεπτίνη έμμεσα μεσολαβεί στην ενεργοποίηση των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων και της ηπατικής ίνωσης στα ζώα επάγοντας την παραγωγή του αυξητικού παράγοντα β και του αυξητικού παράγοντα του συνδετικού ιστού στα κύτταρα Kupffer [165].

Τα μακροφάγα του λιπώδους ιστού εκκρίνουν υψηλές ποσότητες TNF-α και IL-6, οι οποίες καταστέλλουν την παραγωγή αδιπονεκτίνης [168, 169]. Τα μειωμένα επίπεδα κυκλοφορούσας αδιπονεκτίνης στη NAFLD συσχετίζεται με την ηπατική ινσουλινοαντίσταση και την ποσότητα του λίπους στο συκώτι [170]. Η αδιπονεκτίνη δρα ως ρυθμιστής της φλεγμονώδους απόκρισης, καθώς αυξάνει την ηπατική οξείδωση λιπαρών οξέων, απενεργοποιώντας την καρβοξυλάση του ακετυλο-CoA, και ενεργοποιώντας την πρωτεϊνική κινάση του AMP και αυξάνοντας την έκφραση του γονιδίου του PPAR-α (proliferator-activated receptor-α) [171]. Η αδιπονεκτίνη επίσης μειώνει την δραστηριότητα ενός άλλου ενζύμου που εμπλέκεται στην σύνθεση λιπαρών οξέων, τη συνθάση των λιπαρών οξέων [172].

Άλλες αδιποκίνες έχουν προσφάτως αναφερθεί στη NAFLD [173]. Μία μελέτη του Pagano [174], έδειξε υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούσας ρεζιστίνης σε μία ομάδα ασθενών με NAFLD συγκρίνοντας αδύνατους και παχύσαρκους. Ωστόσο, άλλες μελέτες έδειξαν ποικιλόμορφα επίπεδα. Η βισφατίνη, μία πρωτεϊνική εκφραζόμενη κυρίως στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό μπορεί να προβλέψει την παρουσία πυλαίας φλεγμονής στους ασθενείς με NAFLD [175]. Επιπλέον, τα κυκλοφορούντα επίπεδα ομεντίνης και αδιπολίνης, απελευθερούμενα από κύτταρα του σπλαχνικού λιπώδους ιστού, είναι αυξημένα στους ασθενείς με NAFLD και προβλέπουν ηπατοκυτταρικό τραυματισμό "ballooning" [176].

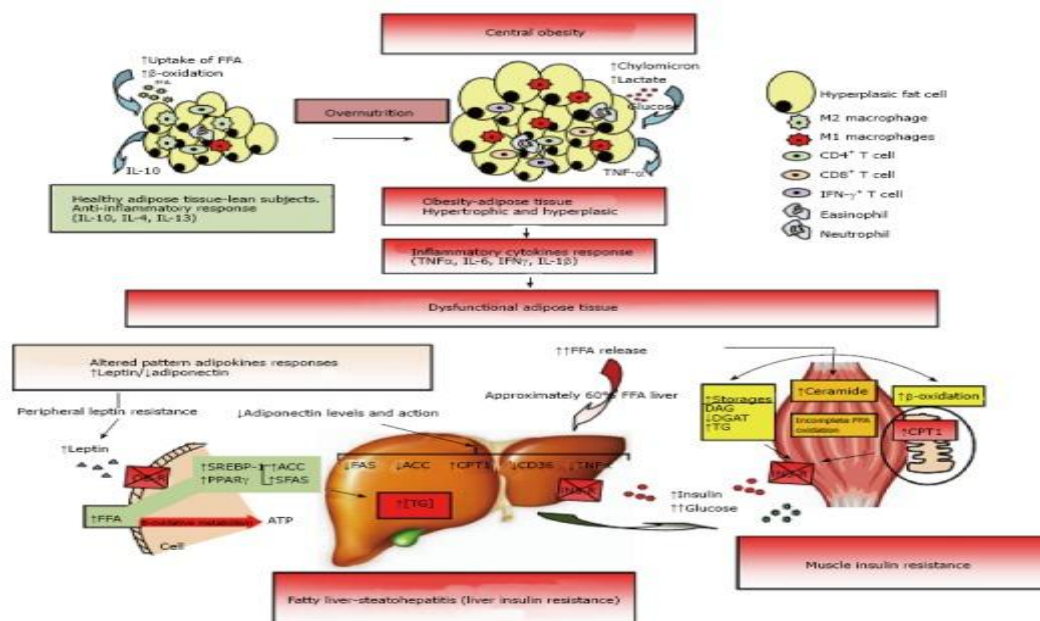
Πρώιμα στάδια κεντρικής παχυσαρκίας συνδέονται με μία χαμηλού βαθμού χρόνιας φλεγμονώδους κατάσταση χαρακτηριζόμενη από αργή διήθηση των μακροφάγων, τα οποία αποτελούν σημαντική πηγή φλεγμονής στο λιπώδη ιστό [177].

Έχουν εντοπιστεί αρκετοί υπότυποι μακροφάγων που με αδρή ταξινόμηση θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε προφλεγμονώδη M1 ή εναλλακτικά ενεργοποιημένα M2, αν και οι *in vivo* μελέτες αποκαλύπτουν ένα φάσμα φαινοτύπου μακροφάγων. Τα λιποκύτταρα και ανοσολογικά κύτταρα όπως τα T-κύτταρα και τα μακροφάγα συμμετέχουν στην ενεργοποίηση και παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών. Τα M1 μακροφάγα κυρίως εντοπισμένα σε παχυσαρκία, επάγονται από τον πρόδρομο M0 μακροφάγα έπειτα από διέγερση από συστατικά βακτηρίων (λιποπολυσακχαρίτες) και τα T1-βοηθητικά κύτταρα (Th-1) που εκκρίνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως IFN- γ και TNF- α . Τα M2 μακροφάγα ενεργοποιούνται από κυτοκίνες T2-βοηθητικών κυττάρων (Th-2) όπως IL-4 και IL-13. Τα M2 μακροφάγα είναι άφθονα στην λιπώδη ιστό αδύνατων ατόμων και φαίνεται να εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση, ιστική επιδιόρθωση και διατήρηση της ινσουλινοευαισθησίας μέσω της απελευθέρωσης IL-10, ανταγωνιστή των υποδοχέα της IL-1 και αργινάσης 1. Ενώ τα μακροφάγα M1 χρησιμοποιούν τη γλυκόζη για ενέργεια, τα M2 ενεργοποιούν την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Τέλος τα M1 μακροφάγα είναι η κύρια πηγή φλεγμονωδών κυτταροκινών μεταξύ των οποίων η κυτοκίνη TNF- α , η οποία αναστέλλει τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων ενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt και καταστέλλοντας την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα PPAR- γ , σημαντικό για την ανάπτυξη και λειτουργία των λιποκυττάρων και μειώνοντας την επίδραση του στα αποθηκευμένα τριγλυκερίδια.

Ο υποδόριος λιπώδης ιστός θα συνεχίσει να επεκτείνεται ως ένα σημείο ισορροπίας. Όταν ξεπεραστεί αυτό το σημείο, η πρόσληψη γλυκόζης και λιπιδίων αρχίζει να μειώνεται και τα επίπεδα ινσουλίνης ανεβαίνουν με σκοπό να διατηρήσουν τα επίπεδα γλυκόζης σε φυσιολογικό εύρος. Επιπλέον, όταν ο λευκός λιπώδης ιστός είναι αδύνατον να επεκταθεί σε συνδυασμό με κατάσταση ινσουλινοαντίστασης, ξεκινάει μία συνεχής απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, δημιουργώντας μία συστηματική λιποτοξική επίδραση στους μύες, ήπαρ κλπ (λιποτοξικότητα). Αυτός καθ' αυτός ο λιπώδης ιστός ξεκινάει μία αργή διαδικασία χαμηλού βαθμού χρόνιας φλεγμονής (μακροφάγα, λεμφοκύτταρα κλπ) η οποία αυξάνει την τοπική απελευθέρωση TNF- α και IL-6. Οι κυτοκίνες TNF- α και IL-6 συσχετίζονται αντίστροφα με την περιφερική και ηπατική πρόσληψη γλυκόζης η οποία είναι ινσουλινοεξαρτώμενη. Το ήπαρ διατηρεί την αυξημένη πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων με ικανότητα σύνδεσης σε γλυκερόλη (τριάκυλογλυκερόλες) και οδηγώντας σταδιακά στην ανάπτυξη του λιπώδους ήπατος.

Έχει φανεί ότι τα περιφερικά λιπαρά οξέα συνεισφέρουν περίπου 60% των συνολικών τριγλυκεριδίων αποθηκευμένων στο ήπαρ, ενώ η de novo λιπογένεση στο ήπαρ είναι περίπου 26% και περίπου 15% προέρχεται από τη διατροφή. Αντίθετα, τα επίπεδα λεπτίνης απαντούν άμεσα στην επέκταση του λιπώδους ιστού, ενώ τα επίπεδα αδιπονεκτίνης τείνουν να μειώνονται όταν το μεταβολικό σύνδρομο αναπτύσσεται. Τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης θα έπρεπε να αυξήσουν τη λιπόλυση στους μη λιπώδεις ιστούς, μειώνοντας την περίσσεια λιπαρών οξέων σε αυτά τα κύτταρα. Ωστόσο, αυτή η δράση της λεπτίνης ίσως μερικώς να μπλοκάρεται από την αναβολική επίδραση εγκατεστημένη από την υπερινσουλιναίμια (περιφερική αντίσταση στη λεπτίνη). Επιπλέον, τα μειωμένα επίπεδα αδιπονεκτίνης αντιστρόφως συσχετίζονται με την περιφερική πρόσληψη γλυκόζης και άμεσα με την προοδευτική ανάπτυξη λιπώδους ήπατος λόγω της διήθησης του λίπους. Η αδιπονεκτίνη ασκεί μία προστατευτική δράση στη συσσώρευση του λίπους στο συκώτι, ευνοώντας τη λιπόλυση με την προώθηση της δράσης της CTP-1 (carnitine palmitoyltransferase-1), και αναστέλλοντας τη δράση της συνθάσης των λιπαρών οξέων, της καρβοξυλάσης του ακυλο-CoA και της κυτοκίνης TNF- α και μειώνοντας την έκφραση και δράση του πρωτεϊνικού υποδοχέα που προωθεί την μεταφορά των λιπαρών οξέων. Τέλος, η λεπτίνη και αδιπονεκτίνη φυσιολογικά φαίνεται να ρυθμίζουν την εναπόθεση λίπους σε ινσουλινοευαίσθητους ιστούς αυξάνοντας την οξείδωση του λίπους. Στη σχηματική απεικόνιση που ακολουθεί [σχήμα 33] παρουσιάζεται συνοπτικά η αναπτυσσόμενη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού επί παχυσαρκίας.

Σχήμα 33: Δυσλειτουργικός λιπώδης ιστός [177]

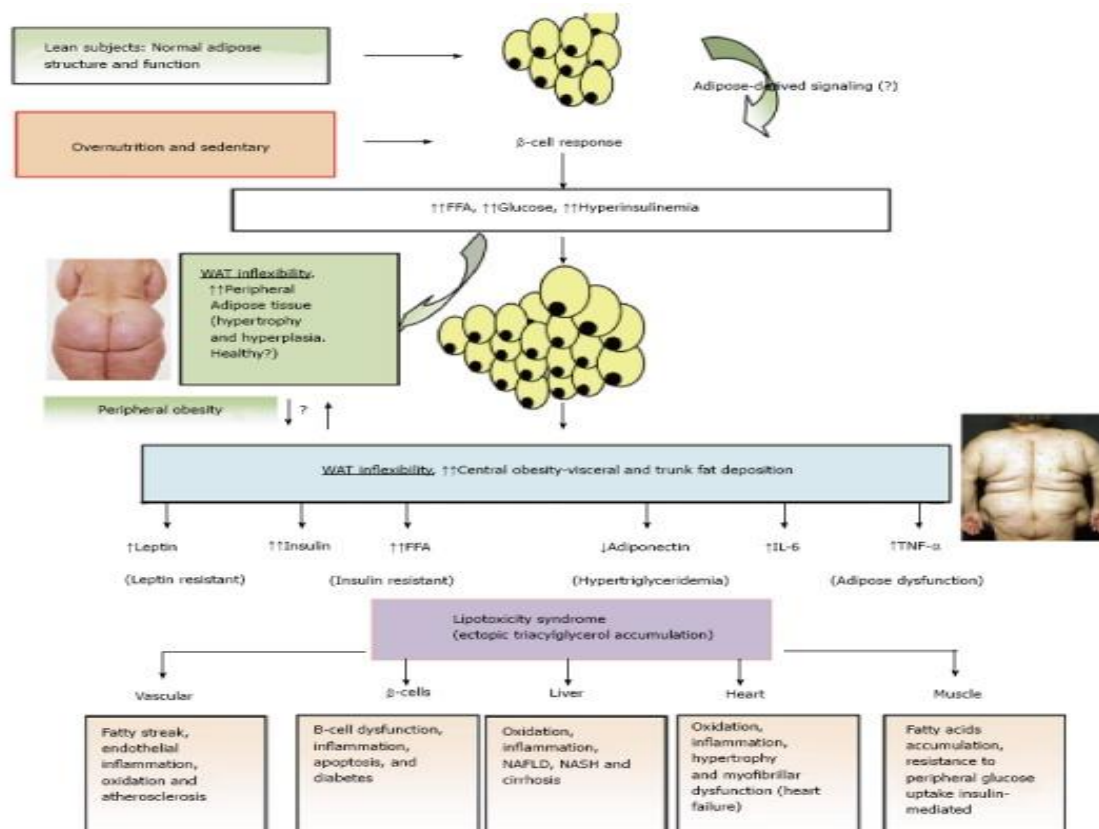


Μετά από μία μακρά περίοδο θετικού ενεργειακού ισοζυγίου, συνδεδεμένη με αυξημένα επίπεδα ορμονών όπως ινσουλίνη, ο λιπώδης ιστός ανταποκρίνεται αυξάνοντας την αποθηκευτική του ικανότητα, το οποίο καθορίζεται από πλήθος παραγόντων [177].

Άτομα με αυξημένη ικανότητα αποθήκευσης λίπους, κυρίως όταν ο περιφερικός λευκός λιπώδης ιστός αυξάνεται (ελαστικότητα λευκού λιπώδους ιστού) θα παραμείνουν μεταβολικά υγιή για μεγαλύτερη χρονική περίοδο, παρότι η παχυσαρκία αυξάνεται. Αυτά τα άτομα φαίνεται να είναι μεταβολικά υγιή. Η χρόνια φλεγμονώδης απόκριση οδηγεί σε δυσλειτουργικό λιπώδη ιστό με αυξημένη τοπική και ενδοκρινική έκκριση οξείας φάσης αντιδρώντων και φλεγμονωδών σηματοδοτικών μονοπατιών. Η μη φυσιολογική παραγωγή κυτοκινών και αδιποκινών συσχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση, υπεργλυκαιμία, διαταραγμένο λιπιδαιμικό προφίλ και καρδιαγγειακές ασθένειες [σχήμα 34]. Η ινσουλινοαντίσταση αναπτύσσεται αργά από την αυξημένη συσσώρευση λιπιδίων σε μη λιπώδεις ιστούς όπως μύες (λιποτοξικότητα) οφειλόμενη στην αυξημένη απελευθέρωση λιπαρών οξέων από υπερτροφικά και υπερπλαστικά λιποκύτταρα. Επιπλέον, όταν τα λιποκύτταρα φθάνουν στο μέγιστο αποθηκευτικό του σημείο, ξεκινάει να μεταβάλλεται το προφίλ έκκρισης αδιποκινών. Παρατηρείται, λοιπόν, ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον με την αύξηση της ιντερλευκίνης 6 και του TNF-α, διαταραγμένο προφίλ αδιποκινών, με μείωση της αδιπονεκτίνης και αύξηση των επιπέδων λεπτίνης, με περιφερική αντίσταση στη λεπτίνη σε ένα δυσλειτουργικό λιπώδες σύστημα. Ο περιορισμός της αποθηκευτικής ικανότητας φαίνεται να απαιτείται και να προάγει την ανάπτυξη μεταβολικών παραγόντων.

Η έκτοπη εναπόθεση λίπους σε μη λιπώδη κύτταρα προκαλεί λιποτοξικότητα σε αυτά τα όργανα και τους ιστούς, συμπεριλαμβανομένης φλεγμονής και τελικά απόπτωσης. Γι' αυτό και η λιποτοξικότητα στο β-κύτταρο μπορεί να μειώσει την κυτταρική μάζα των β-κυττάρων (δυσλειτουργία στην έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα) με απότοκο το διαβήτη. Αυξημένο λίπος στο ήπαρ μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική στεάτωση και στεατοηπατίτιδα με απότοκο ηπατική δυσλειτουργία, στην καρδιά μπορεί να προκαλέσει μυοκαρδιακή δυσλειτουργία, στο ενδοθήλιο οι λιπαρές ραβδώσεις μπορεί να αποτελέσει πρόδρομο γενικευμένης αρτηριοσκλήρωσης. Το σημείο πάνω από το οποίο ο λιπώδης ιστός αρχίζει να γίνεται δυσλειτουργικός είναι αντικείμενο μελέτης και φαίνεται να καθορίζεται από γενετικούς και επιγενετικούς παράγοντες.

Σχήμα 34: Δυσλειτουργικός λιπώδης ιστός και Μεταβολικό Σύνδρομο [177]



1.3.2 Μη λιπώδεις ιστοί και NAFLD

Όπως έχει ήδη περιγραφεί, η περίσσεια λιπώδους ιστού και η ινσουλινοαντίσταση αποτελούν δύο από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για τη NAFLD [178]. Τα τελευταία χρόνια υποστηρίζεται ότι το ήπαρ βρίσκεται στο κέντρο μιας περίπλοκης αλληλεπίδρασης οργάνων και συστημάτων, πέραν του λιπώδους ιστού και της ομοιόστασης γλυκόζης [179]. Τα οστά και οι σκελετικοί μύες είναι μη λιπώδεις ιστοί που φαίνεται να συσχετίζονται ανεξάρτητα με τη NAFLD σε αρκετές συγχρονικές μελέτες. Η επιδείνωση της οστικής πυκνότητας και της άλιπης μάζας σώματος, που οδηγεί σε οστεοπόρωση και σαρκοπενία αντίστοιχα είναι διαδικασίες που σχετίζονται με την ηλικία. Εκτός της φυσιολογικής επίδρασης της ηλικίας, οι τρεις αυτές συνθήκες μοιράζονται μερικούς κοινούς μηχανισμούς και η κατανόηση τους μπορεί να φανεί υψίστης σημασίας για το σχεδιασμό πιο αποτελεσματικών θεραπευτικών στρατηγικών με σκοπό τη διαχείριση της NAFLD.

Στις μέχρι τώρα μελέτες, η σχέση μεταξύ NAFLD και οστικής μάζας, καθώς και NAFLD με σαρκοπενία, έχουν εξεταστεί ξεχωριστά.

Αναφορικά με την διαθέσιμη βιβλιογραφία που εξετάζει τη σχέση μεταξύ οστικής μάζας και λιπώδους ήπατος, η πλειοψηφία των μελετών έχει διεξαχθεί στον Ασιατικό πληθυσμό και ο υπέρηχος ήπατος είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη διάγνωση της NAFLD [179]. Η μέτρηση οστικής πυκνότητας σε όλες τις μελέτες γίνεται μέσω DXA, αλλά εξετάζονται διαφορετικά σημεία του σκελετού ή το ολικό σώμα.

Η σχέση μεταξύ NAFLD και μειωμένης οστικής πυκνότητας έχει αναφερθεί και στα δύο φύλα, και επίσης επιβεβαιώνεται στα παιδιά και τους εφήβους στην πλειοψηφία των μελετών με λίγες εξαιρέσεις [180-182]. Η Xia et al [183], ανέφερε μία αρνητική συσχέτιση μεταξύ NAFLD και της σκελετικής μάζας στους άνδρες και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 46-93 χρονών. Αντίστοιχα αποτελέσματα έδειξε και η ερευνητική ομάδα του Cui [184]. Ωστόσο, και τα δύο φύλα με NAFLD, έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα οστικής πυκνότητας στα ισχία συγκριτικά με τους control, ενώ καμία διαφορά δεν φάνηκε στην οσφυϊκή χώρα. Σε μία μεγάλη Κορεατική προοπτική μελέτη που συμπεριέλαβε άνδρες ηλικίας 40 χρονών και άνω και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η ερευνητική ομάδα του Lee [180], παρατήρησε αρνητική συσχέτιση μεταξύ NAFLD και της οστικής πυκνότητας στην περιοχή του αυχένα στους άνδρες, ενώ θετική συσχέτιση εμφανίστηκε μεταξύ NAFLD και οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης στις γυναίκες. Ο Moon [185] ανέφερε ότι μία αρνητική συσχέτιση μεταξύ NAFLD και οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης είναι παρούσα στις μετεμμηνοπαυσιακές, αλλά όχι τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, σε αυτές τις μελέτες τρόπος διάγνωσης είναι ο υπέρηχος. Είναι γνωστό ότι η υπερηχογραφική μέθοδος εξαρτάται από τον χειριστή, και έχει περιορισμένη επαναληψιμότητα καθώς εκτιμά το περιεχόμενο του λιπώδους ήπατος στη βάση της υποκειμενικής εκτίμησης των στοιχείων ηχογένειας [186]. Σήμερα δεν είναι ξεκάθαρο εάν η παρουσία NAFLD συνδέεται με υψηλότερη ευαισθησία στη χειροτέρευση της οστικής μάζας σε οποιοδήποτε τμήμα του σκελετού, και αυτό το ερώτημα αναζήτησης μαζί με μία πιο εις βάθος έρευνα των διαφορών μεταξύ των δύο φύλων πρέπει να διευκρινιστεί στο μέλλον [179].

Ωστόσο, τα στοιχεία από παιδιατρικό πληθυσμό, στον οποίο η NAFLD είναι αποδεδειγμένη με βιοψία προτείνουν ότι οι επιδράσεις της σχέσης μεταξύ NAFLD και

οστικής μάζας είναι ήδη παρούσες στις πρώτες δεκαετίες της ζωής και ολόκληρη η οστική μάζα φαίνεται να επηρεάζεται [187] [188] .

Η ομάδα του Pacifico [187] εκτίμησε την οστική μάζα της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και την οστική μάζα ολόκληρου του σώματος στα παχύσαρκα παιδιά με λιπώδη διήθηση του ήπατος, όπως αξιολογήθηκε με MRI και βιοψία ήπατος. Συγκρινόμενοι με controls, τα παιδιά με NAFLD είχαν χαμηλότερα επίπεδα οστικής μάζας. Η συσχέτιση μεταξύ NAFLD και BMD διατηρήθηκε μάλιστα λαμβάνοντας υπόψη το λίπος του σώματος ή επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης.

Αναφορικά με τη διαθέσιμη βιβλιογραφία που εξετάζει τη σχέση μεταξύ σκελετικής μυϊκής μάζας και λιπώδους ήπατος, έχει περιγραφεί η άμεση εμπλοκή της σκελετικής μυϊκής μάζας στη χρόνια ηπατική νόσο, ειδικά στην κίρρωση [179]. Η πτώση της άλιπης μάζας, ονομαζόμενη σαρκοπενία, έχει αναγνωριστεί σαν μία από τις κυριότερες συννοσηρότητες που συνοδεύουν την ηπατική κίρρωση, πιθανώς σχετιζόμενη με την κακή διατροφή που συμβαίνει στους κίρρωτικούς ασθενείς [189] . Πίσω από κάθε χρόνια ηπατική νόσο, ιογενούς ή αυτοάνοσης προέλευσης, αρκετές μελέτες έχουν περιγράψει το φαινότυπο της σαρκοπενίας στους ασθενείς με NAFLD [179].

Δεδομένα που να αφορούν τη μείωση της σκελετικής μυϊκής μάζας στη NAFLD είναι ελλιπή. Πρώτον, η σαρκοπενία είναι μία διεργασία σχετιζόμενη με την ηλικία, με επιπολασμό που αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας [190]. Ωστόσο, η συνύπαρξη παραγόντων κινδύνου όπως παχυσαρκία και σωματική αδράνεια, ίσως είναι υπεύθυνοι για μία πιο πρόωρη έναρξη της κλινικής συνθήκης. Δεύτερον, αντίθετα με την οστεοπόρωση και τη μείωση της οστικής πυκνότητας στον προ-γηριατρικό πληθυσμό, παγκόσμια αποδεχόμενα κριτήρια για τη διάγνωση της σαρκοπενίας είναι ακόμη under debate [191].

Στις μέχρι τώρα μελέτες, η σκελετική μυϊκή μάζα, αξιολογείται με DXA, ή βιοηλεκτρική εμπέδιση (BIA) και διαφορετικοί δείκτες σαρκοπενίας χρησιμοποιούνται. Η πλειοψηφία των μελετών βασίζεται στους δείκτες ορού για την αναγνώριση της NAFLD και ίνωσης στη NAFLD. Επιπλέον, ο Ασιατικός πληθυσμός έχει μελετηθεί κυρίως, ενώ τα στοιχεία από άλλους πληθυσμούς είναι ελλιπή. Στην κορεάτικη μελέτη σαρκοπενικής παχυσαρκίας [192] φάνηκε ότι οι συμμετέχοντες στο χαμηλότερο τεταρτημόριο μυϊκού σκελετικού δείκτη έδειξαν υψηλότερο σχετικό λόγο για NAFLD συγκριτικά με τα άτομα σε υψηλότερα τεταρτημόρια. Μάλιστα αυτή η σχέση

διατηρήθηκε λαμβάνοντας υπόψη ηλικία, φύλο, επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, HOMA-IR, C- αντιδρώσα πρωτεΐνη, και επίπεδα βιταμίνης D. Σε μία διαφορετική προοπτική μελέτη [193] με Κορεάτες εθελοντές έχοντας επιβεβαιωμένη NAFLD βρέθηκε ότι ο επιπολασμός της σαρκοπενίας αυξανόταν σύμφωνα με τον ιστολογικό βαθμό της NAFLD και της ίνωσης. Επιπλέον, ο σχετικός λόγος ύπαρξης NASH αυξάνεται στα σαρκοπενικά άτομα συγκριτικά με τα μη σαρκοπενικά, ανεξάρτητα από παχυσαρκία και ινσουλινοαντίσταση. Σε μία μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη, εν ονόματι KHANES 2008-2011 [194] παρατηρήθηκε περίπου διπλάσιος κίνδυνος ηπατικής ίνωσης σε σαρκοπενικά άτομα με NAFLD, ανεξαρτήτως παχυσαρκίας και HOMA-IR. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από άλλες μελέτες που διεξήχθησαν στην Κορέα, Ιαπωνία και Ιταλία [195-199], δείχνοντας ότι η σχέση που συνδέει τη NAFLD και τη σαρκοπενία είναι ανεξάρτητη των κλασικών παραγόντων όπως παχυσαρκία, ινσουλινοαντίσταση ή άλλες μεταβολικές μεταβλητές. Αξιοσημείωτα, αυτές οι μελέτες συμπεριέλαβαν κυρίως μέσης ηλικίας και ηλικιωμένους συμμετέχοντες. Συνεπώς, η σχέση NAFLD και σκελετικής μυϊκής μάζας τις πρώτες δεκαετίες της ζωής πρέπει να διευκρινιστούν.

Οι πιθανοί μηχανισμοί που συνδέουν τη μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος με την οστική και σκελετική μάζα αφορούν τον άξονα GH/IGF-1, την έλλειψη βιταμίνης D, τα χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης, την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης, τη χρόνια φλεγμονή καθώς και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας [179].

Αναφορικά με το σύστημα GH / IGF-1, είναι γνωστό πως εμπλέκεται στον πρωτεϊνικό μεταβολισμό στους σκελετικούς μύες, καθώς και στην οστική ανάπτυξη και αναδιαμόρφωση [200, 201]. Η σχετιζόμενη με την ηλικία, μείωση της δραστηριότητας του άξονα σωματοτροπίνης - αυξητικής ορμόνης - IGF-1, αναπαριστά έναν κύριο καθοριστή της ανάπτυξης οστεοπόρωσης και σαρκοπενίας [201]. Πιο πρόσφατα δεδομένα υπογραμμίζουν τον κρίσιμο ρόλο της σηματοδότησης από τον IGF-1, για την δια-επικοινωνία μεταξύ σκελετικών μυών και οστών [202]. Επιπλέον, η NAFLD είναι μία συχνή συννοσηρότητα παρατηρούμενη στους ασθενείς με έλλειψη αυξητικής ορμόνης, με μία πιο γρήγορη εξέλιξη σε NASH [203]. Αρκετές μελέτες έχουν επίσης αναφέρει μειωμένα επίπεδα IGF-1, που είναι ο κύριος ρυθμιστής της δράσης της αυξητικής ορμόνης, σε άτομα με NAFLD [204]. Η αυξητική ορμόνη και η IGF-1 επηρεάζουν το μεταβολισμό των υδατανθράκων και λιποειδών με αντίθετες δράσεις: ο IGF-1 επάγει την πρόσληψη γλυκόζης ευνοώντας την σηματοδότηση της ινσουλίνης, ενώ η GH επάγει την λιπόλυση, καθορίζοντας την ινσουλινοαντίσταση που επάγεται

από αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων [205]. Ωστόσο, η σχέση μεταξύ NAFLD και IGF-1 φαίνεται ανεξάρτητη της ινσουλινοαντίστασης [206]. Αν και ο επιπολασμός της ηπατικής στεάτωσης, και η μείωση της άλιπης μάζας σώματος και της οστικής πυκνότητας τείνει να αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας [190, 207], παραλληλίζοντας τη μείωση της σωματοτροπίνης, ο άξονας αυξητική ορμόνη - IGF-1 επηρεάζει το ήπαρ, τους σκελετικούς μύες και την οστική υγεία ακόμη και σε νεότερα στάδια ζωής. Στην πραγματικότητα, ο IGF-1 είναι γνωστό ότι διεγείρει μακροπρόθεσμα την ανάπτυξη των οστών, και πρόσφατα μια αντίστοιχη δράση έχει αποδοθεί επίσης στην αυξητική ορμόνη, ανεξάρτητα από την IGF-1[208]. Μία αδρή συσχέτιση μεταξύ επιπέδων IGF-1 και οστικής μάζας έχει φανεί να συμβαίνει στα πρώιμα εφηβικά στάδια και για τα δύο φύλα [209].

Η ερευνητική ομάδα του Cianfarani [210] κατέληξε ότι τα επίπεδα IGF-1 συσχετίζονται με το NAFLD-activity score και ιστολογικά μοντέλα σε παχύσαρκα παιδιά με NAFLD επιβεβαιωμένη με βιοψία. Μία πρόσφατη μελέτη της Cabrera και των συνεργατών [211] μελέτησε τους μηχανισμούς που συνδέουν τον IGF-1, NAFLD και σαρκοπενία. Στα ποντίκια προκλήθηκε NAFLD μέσω του διατροφικού μοντέλου ALIOS (American lifestyle-induced obesity syndrome), βασισμένο σε δυτικού τύπου διατροφικό πρότυπο συνδυασμένο με περίσσεια φρουκτόζης. Το μέγεθος των μυϊκών ινών και η μυϊκή δύναμη, καθώς και τα επίπεδα IGF-1, μειώθηκαν στα ζώα με NAFLD προκαλούμενη από τη διατροφή. Το ενδιαφέρον είναι ότι η φαινοτυπική όψη της σαρκοπενίας παρατηρήθηκε πριν την ανάπτυξη ηπατικής ίνωσης, υποδεικνύοντας να συμβαίνει στα πρώτα στάδια της φυσικής πορείας της NAFLD.

Έλλειψη βιταμίνης D

Η έλλειψη βιταμίνης D έχει προταθεί ότι παίζει ρόλο στην παθογένεση της NAFLD. Δύο πρόσφατες μετα-αναλύσεις (συμπεριλαμβάνοντας 23 και 9 μελέτες αντίστοιχα) κατέληξαν ότι τα επίπεδα της 25-υδροξύ-βιταμίνης D ήταν χαμηλότερα στα άτομα με NAFLD ή NASH σε σύγκριση με τα άτομα χωρίς λιπώδες ήπαρ [212]. Παρότι συγχρονικές μελέτες υποστηρίζουν την πιθανή επίδραση της βιταμίνης D στη NAFLD [213], λίγα δεδομένα αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της συμπληρωματικής πρόσληψης βιταμίνης D στους ασθενείς με NAFLD [214] .

Ωστόσο, ευρήματα από ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι η βιταμίνη D, παρεμβαίνει στην ενεργοποίηση των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την απόθεση του κολλαγόνου και την εξωκυττάρια διαμόρφωση, οδηγώντας σε ίνωση

[215]. Η βιταμίνη D φαίνεται να εμποδίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων, συνεπώς κλινικές μελέτες χρειάζονται για να επιβεβαιώσουν ότι η συμπληρωματική πρόσληψη βιταμίνης D μπορεί να ελαττώσει την εξέλιξη από NAFLD σε NASH.

Η βιταμίνη D είναι γνωστή για τις πλειοτροπικές της δράσεις. Παίζει ρόλο στην οστική ομοιοστάση: η έλλειψη βιταμίνης D επάγει τον δευτεροπαθή υπερπαραθυροειδισμό και επιταχύνει την οστική αποδόμηση [216]. Μη επαρκή επίπεδα βιταμίνης D έχουν αναφερθεί σε άτομα με οστεοπόρωση, αν και μέτριες ωφέλιμες επιδράσεις συμπληρωματικής πρόσληψης βιταμίνης D έχουν φανεί στην πρόληψη των καταγμάτων [217]. Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο ενδιαφέρον υπάρχει σχετικά με δράση της βιταμίνης D στους σκελετικούς μύες. Μειωμένα επίπεδα βιταμίνης D, έχουν συνδεθεί με σαρκοπενία, δυσκινησία και πτώσεις στους ηλικιωμένους [197].

Στους ενήλικες με έλλειψη βιταμίνης D, έχουν περιγραφεί ιστολογικές αλλοιώσεις στη σύνθεση των μυικών ινών και τη διάμετρο [218]. Ωστόσο, η ερευνητική ομάδα του Hong [192] δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ επιπέδων 25-OH-βιταμίνηD και δείκτη σκελετικής μυικής μάζας ή δείκτη ηπατικής εξασθένησης σε Κορεάτες άνδρες και γυναίκες. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε αυτές τις μελέτες που εξετάζουν την κατάσταση βιταμίνης D υπάρχουν μεθοδολογικά θέματα που σχετίζονται με την εποχικότητα, την μεταβλητότητα ως προς την ηλιακή έκθεση, συνύπαρξη παχυσαρκίας καθώς και την έλλειψη σωματικής δραστηριότητας [179]. Η παρουσία αυτών των συγχυτικών παραγόντων περιορίζουν την ερμηνεία των διαθέσιμων δεδομένων.

Μειωμένα επίπεδα οστεοκαλσίνης

Η οστεοκαλσίνη είναι μία ορμόνη παραγόμενη από τα οστά, κυρίως από τους οστεοβλάστες. Θεωρείται δείκτης ορού για τον οστικό σχηματισμό [179]. Σε έναν αριθμό μελετών μία αρνητική συσχέτιση έχει περιγραφεί μεταξύ επιπέδων οστεοκαλσίνης ορού και μειωμένης οστικής πυκνότητας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [219].

Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία φαίνεται πως η οστεοκαλσίνη εμπλέκεται σε μηχανισμούς ομοιοστάσης εκτός από την οστική υγεία [220]. Παρεμβαίνει στον μεταβολισμό ενέργειας και γλυκόζης, ρυθμίζοντας τη δραστηριότητα

των β-παγκρεατικών κυττάρων. Η ενεργός μορφή της οστεοκαλσίνης είναι υπεύθυνη για την έκκριση της ινσουλίνης και την αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας στους σκελετικούς μύες και το λιπώδη ιστό. Μάλιστα, φαίνεται πως η οστεοκαλσίνη εμπλέκεται και στη λιπώδη διήθηση. Χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης έχουν συσχετιστεί με NAFLD. Σε μία μελέτη ασθενών – μαρτύρων ο Yilmaz και οι συνεργάτες [221] βρήκαν ότι η οστεοκαλσίνη συσχετίζεται αντιστρόφως με τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της NAFLD. Επιπλέον, αυτή η αντίστροφη σχέση μεταξύ οστεοκαλσίνης και NAFLD έχει αναφερθεί σε άνδρες και γυναίκες συμμετέχοντες με φυσιολογική οστική πυκνότητα [222]. Από πειραματικά μοντέλα φάνηκε η συμβολή της στη μείωση του ηπατικού περιεχομένου σε τριγλυκερίδια, προτείνοντας τον προστατευτικό ρόλο της οστεοκαλσίνης στην ανάπτυξη της NAFLD [223].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος της οστεοκαλσίνης στην ενδο-οργανική επικοινωνία μεταξύ σκελετού και σκελετικών μυών [224]. Η σηματοδότηση από την οστεοκαλσίνη στις μυικές ίνες φαίνεται να είναι σημαντικός μεσολαβητής των μεταβολικών προσαρμογών στην άσκηση. Επιπλέον, πρόσφατα η ομάδα του Mera και συνεργατών έδειξε ότι σε ποντίκια η εξωγενής χορήγηση οστεοκαλσίνης, προώθησε την πρωτεϊνοσύνθεση, αποτρέποντας την απώλεια μυικής μάζας σχετιζόμενη με την ηλικία [225]. Ασφαλώς, απαιτούνται επιπλέον μελέτες που να επιβεβαιώνουν το ρόλο της οστεοκαλσίνης όσον αφορά την αντιστάθμιση της μυικής φθοράς και της λιπώδους διήθησης.

Ινσουλινοαντίσταση

Η NAFLD είναι γνωστή ως η ηπατική έκφραση του μεταβολικού συνδρόμου, εξαιτίας των αξιοσημείωτων επιδράσεων της ινσουλινοαντίστασης στην παθογένεια της ηπατικής στεάτωσης [226]. Ενδοηπατική συσσώρευση λιπιδίων έχει συσχετισθεί με τη μείωση της ινσουλινοευαισθησίας στο επίπεδο του ήπατος, των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού. Επιπλέον, η παρουσία λίπους στο συκώτι προβλέπει τον κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, ανεξάρτητα από ηλικία και παχυσαρκία. Επιπλέον, η ινσουλινοαντίσταση είναι ο παράγοντας κλειδί σε αναβολικές διαδικασίες που γίνονται στους σκελετικούς μύες και τα οστά. Ο σκελετικός μυς είναι ο κύριος ιστός στόχος της δράσης της ινσουλίνης [227]. Από την μία πλευρά, η ινσουλινοαντίσταση εμποδίζει την αποτελεσματικότητα της πρωτεϊνοσύνθεσης, οδηγώντας στη μείωση της άλιπης μάζας σώματος που σχετίζεται με την ηλικία [228].

Από την άλλη πλευρά, η παρουσία μειωμένης άλιπης μάζας μπορεί περαιτέρω να ευνοήσει την ανάπτυξη ινσουλinoαντίστασης.

In vivo και in vitro μελέτες έδειξαν ότι η ινσουλίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην οστική ομοιόσταση. Προωθεί τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, την παραγωγή αναβολικών σημάτων και τη σύνθεση κολλαγόνου, επηρεάζοντας τις μικροαρχιτεκτονικές και μηχανικές ιδιότητες του οστού [229]. Μία περίπλοκη σύνδεση υπάρχει μεταξύ του οστικού μεταβολισμού και της ινσουλinoαντίστασης με την περίσσεια λιπώδους ιστού να είναι κύριος συγχυτικός παράγοντας. Εξαιτίας του αυξημένου μηχανικού φορτίου στο σκελετό, η παχυσαρκία φαίνεται να παρέχει προστασία έναντι της μείωσης της οστικής μάζας. Επιπλέον, η οστική απορρόφηση φάνηκε να είναι χαμηλότερη στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο και διαβήτη τύπου2 [230]. Ακόμη και αν τα στοιχεία δεν είναι καταληκτικά, αυτή η υπόθεση έχει εξασθενήσει από έναν αριθμό μελετών στις οποίες η σχέση μεταξύ μεταβολικού συνδρόμου και οστικών αποτελεσμάτων (όπως η οστική δύναμη) ήταν αρνητική σε μοντέλα που έλαβαν υπόψιν το BMI [231]. Στην πραγματικότητα, αρκετές μελέτες ανέφεραν αρνητική συσχέτιση μεταξύ ινσουλinoαντίστασης και οστικής πυκνότητας καθώς και δεικτών οστικής δύναμης και σχηματισμού [232]. Καινοτόμα ευρήματα από μελέτες ζώων αποκάλυψαν ότι το οστό αντιπροσωπεύει ένα τόπο ινσουλinoαντίστασης, και οι οστεοβλάστες είναι οι κύριοι εμπλεκόμενοι στη σηματοδότηση ινσουλίνης στο οστό. Πιο λεπτομερειακά, στα ποντίκια που δόθηκε μία δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, η ινσουλinoαντίσταση στους οστεοβλάστες ήταν υπεύθυνη για τη μειωμένη παραγωγή οστεοκαλσίνης, η οποία με τη σειρά της επηρέασε αρνητικά την ινσουλinoευαισθησία όλου του σώματος [233]. Επιπλέον, σε ένα μοντέλο διαίτας υψηλής σε λίπος που επέφερε παχυσαρκία στα ποντίκια, η ανάπτυξη ινσουλinoαντίστασης οδήγησε στο μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, καθώς και αυξημένη απόπτωση των οστεοβλαστών καταλήγοντας σε μειωμένη οστική πυκνότητα [234].

Χρόνια Φλεγμονή

Ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον αντιπροσωπεύει ένα ακόμη πρόσφορο έδαφος για την ανάπτυξη των τριών συνθηκών της NAFLD, οστεοπόρωσης και σαρκοπενίας. Η συστηματική φλεγμονή είναι μία από τις κύριες αιτίες εξέλιξης από τη NAFLD σε NASH [235]. Τα κύτταρα του ήπατος όπως τα αστεροειδή, τα κύτταρα Kupffer, και τα δενδριτικά, παράγουν προφλεγμονώδη σήματα που εμπλέκονται στον καταρράκτη ο

οποίος οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο [236]. Επιπλέον, ο TNF-α είναι ακόμη ένας μεσολαβητής του ηπατοκυτταρικού θανάτου. Επιπλέον, σε μεγάλης ηλικίας σκελετικούς μύες η σηματοδότηση από τον TNF-α εμπλέκεται στην ενεργοποίηση της απόπτωσης οδηγώντας στην απώλεια μυικών ινών και τη σαρκοπενία [237]. Επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν τη σχέση μεταξύ χρόνιας-χαμηλού βαθμού φλεγμονής και σαρκοπενίας σχετιζόμενης με την ηλικία [238]. Η αλληλεπίδραση μεταξύ TNF-α και συστήματος RANKL / RANK / οστεοπροτεγερίνη είναι καίριας σημασίας για τη ρύθμιση της δραστηριότητας των οστεοκλαστών και της οστικής απορρόφησης. Πρόσφατα χαμηλά επίπεδα οστεοπροτεγερίνης έχουν περιγραφεί στη NAFLD, ανεξαρτήτως συγχυτικών παραγόντων [239]. Συμπερασματικά, τα παραπάνω δεδομένα υπογραμμίζουν τις συνδέσεις που συνδέουν την ανοσολογική απάντηση, τη φλεγμονή και την οστική φυσιολογία στη NAFLD.

Έλλειψη σωματικής δραστηριότητας

Η καθιστική ζωή είναι ένας γνωστός παράγοντας κινδύνου για την πρόσληψη βάρους και οι συνέπειες που σχετίζονται με περίσσεια λίπους περιλαμβάνουν την έναρξη λιπώδους ήπατος [240]. Πράγματι, οι παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής που συνδυάζουν διατροφή και σωματική δραστηριότητα, έχει φανεί να είναι ωφέλιμες υπό το πρίσμα της μείωσης του λίπους στο συκώτι, λόγω της απώλειας βάρους. Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, η άσκηση αυτή καθ' εαυτήν επιδρά στην παθοφυσιολογία της NAFLD [241]. Στην πραγματικότητα, βασισμένη σε συγκεντρωμένα δεδομένα από 6 μελέτες, μία πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέληξε ότι η άσκηση από μόνη της επέφερε μείωση στο ενδοηπατικό λιπιδικό περιεχόμενο ακόμη και επί μη αλλαγής του βάρους ή επί ελάχιστης απώλειας βάρους [242].

Η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας αποτελεί επίσης έναν παράγοντα κινδύνου για σαρκοπενία και οστεοπόρωση. Η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας ευνοεί τη μείωση της άλιπης μάζας, προκαλώντας έναν φαύλο κύκλο που οδηγεί προοδευτικά σε αδράνεια και σαρκοπενία [243]. Αντίθετα, η σωματική δραστηριότητα αναγνωρίζεται ως παράγοντας προώθησης της οστικής υγείας κατά την διάρκεια της ζωής [244]. Σύμφωνα με την μηχανοστατική θεωρία, τα οστά και οι σκελετικοί μύες συνδέονται με μηχανικές συνδέσεις. Τα τελευταία χρόνια, οι σκελετικοί μύες και τα οστά φαίνεται να δρουν ως ενδοκρινή όργανα, εκκρίνοντας αρκετούς παράγοντες υπεύθυνους για αυτήν την ενδο-οργανική επικοινωνία [245].

Μεταξύ αυτών των παραγόντων, η ιριζίνη είναι μία πρόσφατη περιγραφόμενη ορμόνη-μυοκίνη. Τα επίπεδα ιριζίνης πλάσματος αυξάνονται ως απόκριση στην άσκηση. Επιπλέον, η ιριζίνη φαίνεται να αυξάνει την ενεργειακή κατανάλωση. Αυτοκρινικά ρυθμίζει μερικές μεταβολικές λειτουργίες στο σκελετικό μυ, και επιπλέον ασκεί ενδοκρινικές επιδράσεις στα λιποκύτταρα και τους οστεοβλάστες. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να μετατρέπει το λευκό λιπώδη ιστό σε φαιόχρωμο και να ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που επάγουν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών[246]. Η ερευνητική ομάδα του Zhang [247] έδειξε ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα ιριζίνης συσχετίστηκαν αρνητικά με το ενδοηπατικό περιεχόμενο τριγλυκεριδίων σε Κινέζους ενήλικες παχύσαρκους με NAFLD, ανεξάρτητα από άλλους μεταβολικούς παράγοντες. Εξαιτίας των πλειοτροπικών επιδράσεων στον ενεργειακό μεταβολισμό, την ομοιόσταση γλυκόζης, την ινσουλινοαντίσταση και παχυσαρκία η ιριζίνη φαίνεται να αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό μεσολαβητή της περίπλοκης επικοινωνίας μεταξύ ήπατος, σκελετικής μυικής μάζας και οστού [248].

Συμπερασματικά, λοιπόν, η όλο και διαρκώς αυξανόμενη βιβλιογραφία αποκαλύπτει τη σχέση που συνδέει τη σύσταση του σώματος με την εμφάνιση ή/και εξέλιξη της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος. Τα τρέχοντα δεδομένα φαίνεται να μην περιορίζονται στην παχυσαρκία (περίσσεια λιπώδους ιστού) αλλά να επεκτείνονται στη γενικότερη ποιότητα των ιστών, σκελετικού και οστικού ιστού φέρνοντας στο φως νέους μηχανισμούς σύνδεσής τους, τόσο μεταξύ τους όσο και με τη νόσο. Συνεπώς, η μελέτη συστατικών που ενδέχεται να επιδρούν στη σύσταση του σώματος κρίνεται ζωτικής σημασίας καθώς μπορεί να αποτελέσουν ακόμη ένα όπλο στη φαρέτρα μας για την αντιμετώπιση της νόσου. Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετάται η μαστίχα Χίου σε ασθενείς με Μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος όσον αφορά την επίδραση της στη σύσταση του σώματος με σκοπό να εμπλουτιστούν οι ήδη τεκμηριωμένες ωφέλιμες αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές επιδράσεις της.

1.4 Μαστίχα Χίου

Μαστίχα ονομάζεται η αρωματική φυσική ρητίνη που εξάγεται από το μαστιχόδεντρο (***Pistacia lentiscus* var. *chia***) το οποίο μεγαλώνει στη Χίο [249]. Το φυτό της μαστίχας, ο σχίνος, (*Pistacia lentiscus*) είναι αειθαλής πυκνόφυλλος θάμνος, ο οποίος ανήκει στην οικογένεια της τερεβίνθου (*Terebinthus lentisca Chia*), ύψους 2-3 μέτρων που αναπτύσσεται αργά για να πάρει την τελική του μορφή ύστερα από 40-50 χρόνια. Η παραγωγή της Μαστίχας είναι δυνατή μετά τον πέμπτο χρόνο της φύτευσης του. Έχει απλωμένα κλαδιά και ανοιχτό ή σκούρο σταχτί κορμό, ανάλογα -με την ηλικία του. Στο νότιο τμήμα του νησιού, ευδοκίμει και καλλιεργείται μία ιδιαίτερη ποικιλία σχίνου, ο μαστιχοφόρος σχίνος (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*), από τον οποίο εξάγεται η φυσική ρητίνη ή **μαστίχα**. Ο συνδυασμός της ποικιλίας του δέντρου, του εδάφους, του μικροκλίματος, της τοπολογίας και του ανάγλυφου της περιοχής συμβάλλουν στην ευδοκίμηση του.

Σχήμα 33: Μαστιχοφόρος σχίνος [249]



Η συλλογή της μαστίχας γίνεται με **παραδοσιακό τρόπο** [250] . Εργάτες ισοπεδώνουν το χώρο γύρω από το δέντρο και σχίζουν τον κορμό του δέντρου σε συγκεκριμένα σημεία. Η μαστίχα αρχίζει να ρέει σαν δάκρυ, και σε 15 περίπου μέρες σταθεροποιείται και είναι έτοιμη προς συλλογή. Αυτή γίνεται από το Δεκαπενταύγουστο μέχρι τα μέσα Σεπτεμβρίου. Κατά την έκκριση της έχει τη μορφή

κολλώδους και διαυγούς υγρού και στερεοποιείται σε ακανόνιστα σχήματα με την πάροδο 15-20ημερών, υπό την επίδραση των καιρικών συνθηκών που επικρατούν στην περιοχή κατά την καλοκαιρινή περίοδο δηλαδή την έντονη ξηρασία και ηλιοφάνεια. Η μορφή της, αφού στερεοποιηθεί είναι **κρυσταλλική**, ενώ η πικράδα που έχει αρχικά, υποχωρεί αφήνοντας ένα ιδιαίτερο άρωμα που της προσδίδει μοναδικότητα. Αυτό το «στερεοποιημένο» πλέον, προϊόν **συλλέγεται** και **καθαρίζεται** από τους μαστιχοπαραγωγούς για να δώσει τη φυσική μαστίχα Χίου. Ο βαθμός σκληρότητας της μαστίχας εξαρτάται από τη θερμοκρασία της ατμόσφαιρας, το χρόνο έκθεσης στη φύση, καθώς και το μέγεθος που έχει το δάκρυ. Όταν η ροή της μαστίχας είναι συνεχής, το δάκρυ είναι μεγάλο και σχετικά μαλακό, ενώ η μη συνεχής ροή, αποδίδει μικρό δάκρυ, αλλά μεγαλύτερης σκληρότητας. Το χρώμα της ρητίνης είναι αρχικά υποκίτρινο. Με το πέρασμα του χρόνου χάνει το χρώμα αυτό και σε 12 με 18 μήνες γίνεται κιτρινωπή λόγω της οξείδωσης.

Σχήμα 34: Σταγόνα μαστίχας (αριστερά) - κρυσταλλική μορφή (κάτω δεξιά)



Στην μοναδική αυτή ρητίνη απαντάται μια εξαιρετική ποικιλία από θεραπευτικά και αρωματικά συστατικά [250]. Πιο συγκεκριμένα, περιέχονται φυσικό πολυμερές, πτητικά και αρωματικά συστατικά που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο (το μαστιχέλαιο), τερπενικά οξέα, φυτοστερόλες, πολυφαινολικά μόρια και ένας μεγάλος αριθμός από άλλα δραστικά συστατικά, μερικά από τα οποία απαντώνται στην φύση για πρώτη

φορά. Αυτός ο μοναδικός συνδυασμός 80 και πλέον συστατικών δικαιολογεί τις πολλαπλές χρήσεις της μαστίχας Χίου, τόσο στον τομέα των τροφίμων, όσο και στον τομέα της υγείας και προσωπικής περιποίησης, σε παγκόσμια κλίμακα.

Η μαστίχα Χίου από το 1997, έχει χαρακτηριστεί ως Προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.), βάσει του υπ' αριθμ. 123/1997 Κανονισμού (L0224/24-1-97) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και έχει καταχωρηθεί στον σχετικό Κοινοτικό Κατάλογο των Προϊόντων Π.Ο.Π. Ως Π.Ο.Π χαρακτηρίζεται το προϊόν, του οποίου τα χαρακτηριστικά οφείλονται κυρίως ή αποκλειστικά στο γεωγραφικό περιβάλλον, ενώ η παραγωγή, η μεταποίηση και η επεξεργασία του λαμβάνουν χώρα σε οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή. Σύμφωνα με τον παραπάνω κανονισμό, η μαστίχα Χίου προστατεύεται από την πώληση οιασδήποτε ανταγωνιστικής απομίμησης που θα υπεξαιρούσε τη φήμη της Ονομασίας Προέλευσης.

1.4.1 Η παράδοση της μαστίχας

Σύμφωνα με την παράδοση οι σχίνοι άρχισαν να δακρύζουν όταν μαρτύρησε ο Άγιος Ισίδωρος από τους Ρωμαίους, περί το 250 μ Χ [250]. Οι Ρωμαίοι κυνήγησαν τον Άγιο Ισίδωρο επειδή ήταν λάτρης της Χριστιανικής θρησκείας. Ο Άγιος για να ξεφύγει, τράπηκε σε φυγή κοντά στα Μεστά. Εκείνη τη στιγμή εμφανίστηκε ένας άσπρος ίππος με τον οποίο έφτασε ως τα Νότια χωριά της Χίου επειδή δεν άντεχε άλλο αφού είχε τραυματιστεί σοβαρά. Τότε κάθισε κάτω από ένα σχίνο. Ο σχίνος τον λυπήθηκε για τα βασανιστήρια του και δάκρυσε. Τα δάκρυα του ευωδίασαν και τότε δημιουργήθηκε το δάκρυ του Αγίου Ισιδώρου που μέχρι σήμερα το ονομάζουμε μαστίχα.

1.4.2 Τα είδη της μαστίχας

ΕΙΔΟΣ [250]	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ
Πίττα	Είναι τα μεγαλύτερα τεμάχια μαστίχας που προκύπτουν όταν πέσουν πολλές σταγόνες μαστίχας η μία πάνω στην άλλη
Φλισκάρι ή καντηλέρα	Κομμάτια μαστίχας μικρότερα από την πίττα, περισσότερο διαυγή που κρέμονται από την τομή που γίνεται το κέντημα. Είναι απαλλαγμένα από ξένες ουσίες επειδή δεν έρχονται σε επαφή με το έδαφος.
Δακτυλιδόπετρα	Μικρότερα τεμάχια από το φλισκάρι που έχουν το σχήμα πέτρας δακτυλιδιού
Δάκρυ	Μαστίχα μικρότερη από τη δακτυλιδόπετρα και το φλισκάρι, που κρέμεται σαν δάκρυ.
Κυλιστό ή ψιλό	Πολύ μικρά κομμάτια τα οποία πέφτουν από την τομή και κυλούν στο έδαφος. Έτσι αποκτούν σφαιρικό σχήμα και ξηραίνονται γρήγορα.
Αναπινάδα ή νεροπινάδα	Κατώτερης ποιότητας μαστίχα που βράχθηκε ή έχει χρώμα και κατά συνέπεια μειώθηκε η εμπορική της αξία
Βωλαρίδα ή αποβωλιάρικη	Είναι η μαστίχα που συσσωματώθηκε, κόλλησε και έγινε βώλος. Αυτό συμβαίνει όταν η συλλογή γίνεται πρόωρα, πριν πήξει καλά η μαστίχα με αποτέλεσμα την μείωση της εμπορικής της αξίας.
Σκόνη	Είναι τα υπολείμματα της κατεργασίας.

1.4.3 Η διαδικασία παραγωγής της μαστίχας

Σήμερα, μαστίχα παράγουν 24 χωριά τα οποία είναι χαρακτηρισμένα ως παραδοσιακοί ή διατηρητέοι οικισμοί από το Ελληνικό Υπουργείο Πολιτισμού [250]. Το χωριό αυτά είναι: ο Άγιος Γεώργιος, τα Αρμόλια, οι Βαβύλοι, η Βέσσα, το Βουνό, η Ελάτα, η Έξω Διδύμα, το Θολοποτάμι, τα Θυμιανά, η Καλαμωτή, η Καλλιμασιά, ο Καταρράκτης, το Λιθί, η Μέσα Διδύμα, τα Μεστά, το Μυρμήγκι, τα Νένητα, το Νεχώρι, οι Ολύμποι, η Παγίδα, τα Πατρικά, το Πυργί και τα Φλατσιά.

Οι κάτοικοι των 24 χωρών την άνοιξη καλλιεργούν τα χωράφια τους κλαδεύοντας τους σχίνους από το Δεκέμβρη, μέχρι τις 20 Μαρτίου [249, 250]. Το κλάδεμα γίνεται για να δοθεί το κατάλληλο σχήμα στο σκίνο, ώστε να αερίζεται και να φωτίζεται σωστά. Προς τα τέλη Μαΐου φτιάχνουν τους σχίνους καθαρίζοντας το μέρος γύρω από τη βάση του κορμιού τους, από τα χόρτα και τα φύλλα. Τον Ιούνιο αρχίζει η εντατική προετοιμασία των σχίνων. Τον Ιούλιο ξεκινά η ισοπέδωση και οι αγρότες αρχίζουν να ρίχνουν καλά κοσκινισμένο ασπρόχωμα, που στρώνεται κάτω από το δένδρο και πιέζεται καλά στο έδαφος, για να δημιουργηθεί μια λεία επιφάνεια. Εκεί θα πέσουν τα δάκρυα της μαστίχας για να στεγνώσουν. Το ασπρόχωμα αποτελείται από ανθρακικό ασβέστιο είναι αδρανές υλικό, δεν επηρεάζει τις φυσικές και χημικές ιδιότητες αλλά ούτε και την καθαρότητα της. Λόγω του μεγάλου ειδικού του βάρους δεν το παίρνει ο αέρας. Σε περίπτωση που δεν στρωθεί το ασπρόχωμα κάτω από τον σχίνο, η Μαστίχα που πέφτει κάτω σκουραίνει και χάνει την εμπορική της αξία. Η Μαστίχα αυτή αποκαλείται «μαυρομαστίχα».

Σχήμα 35: Απεικόνιση μαστιχόδεντρων με το κοσκινισμένο ασπρόχωμα [250]



Μετά τις 15 Ιουλίου αρχίζουν το κέντημα δηλαδή χαράζουν με το κεντητήρι το μαστιχόδεντρο για να δακρύσει [250]. Το κέντημα γίνεται πρωινές ώρες, μία φορά την εβδομάδα για 6-8 εβδομάδες. Ο αριθμός των τομών ποικίλει από 20 έως 100 ανάλογα με την ηλικία και το μέγεθος του δέντρου. Αυτή η διαδικασία ολοκληρώνεται στα τέλη του Αυγούστου.

Η πρώτη συλλογή γίνεται από τα μέσα Αυγούστου [250]. Όταν η Μαστίχα σταθεροποιηθεί αρχίζει το μάζεμα της με ένα ειδικό εργαλείο που λέγεται «τιμητήρι». Πρώτα συλλέγεται η χοντρή Μαστίχα από το έδαφος και μετά με το ίδιο εργαλείο η Μαστίχα που έχει πήξει στον κορμό του δέντρου που έχει σχηματίσει «δάκρυα». Η υπόλοιπη Μαστίχα μαζεύεται από το έδαφος με σκούπα μαζί με ξερόφυλλα και πετραδάκια. Το δεύτερο μάζεμα γίνεται από τα μέσα του Σεπτεμβρίου οπότε και συλλέγεται η ψιλή μαστίχα (τα μικρά δάκρυα) από τον κορμό και το έδαφος.

Σχήμα 36: Παραγωγή της μαστίχας (κέντημα στα αριστερά και μάζεμα στα δεξιά)



Αφού στερεοποιηθεί, είναι κρυσταλλική και η αρχική της γεύση είναι μάλλον πικρή, για να φύγει σύντομα, αφήνοντας ένα ιδιαίτερο άρωμα που προσδίδει μοναδικότητα [250]. Μετά την τελική συλλογή της αρχίζει η διαδικασία του καθαρίσματος. Ο κάθε παραγωγός συγκεντρώνει την παραγωγή του και κοσκινίζει τη Μαστίχα, το λεγόμενο « ταχάρισμα » για να την ξεχωρίσει από τα φύλλα, τα κλαδάκια και τα χώματα. Κατόπιν, αφού διαλύσει μέσα σε κρύο νερό σαπούνι, την ξεπλένει καλά και την απλώνει για να στεγνώσει. Όταν στεγνώσει η Μαστίχα γίνεται το καθάρισμα της που είναι παραδοσιακό έργο των γυναικών. Με μυτερά μαχαίρια καθαρίζουν κάθε κόκκο από τις ξένες ύλες που είναι κολλημένες επάνω. Αυτή είναι μία διαδικασία που ξεκινάει το φθινόπωρο και διαρκεί μέχρι την άνοιξη. Επειδή είναι κουραστική και μονότονη, γίνεται ομαδικά με τις λεγόμενες δανεικές. Κάθε γυναίκα φωνάζει τις φίλες της για να την βοηθήσουν και μετά ανταποδίδει. Συνήθως δουλεύουν τρίωρα ή

τετράωρα. Μόλις ολοκληρωθεί η πρώτη αυτή κατεργασία, το έτοιμο προϊόν καταλήγει στην Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. Στη συνέχεια, η ίδια η Ε.Μ.Χ που συγκεντρώνει το σύνολο της παραγωγής του προϊόντος, το επεξεργάζεται το συσκευάζει και εμπορεύεται διεθνώς διάφορες κατηγορίες Μαστίχας, τις τσίχλες, το μαστιχέλαιο, και τη σκόνη Μαστίχας.

Σχήμα 37: Κοσκίνισμα και καθάρισμα της μαστίχας [250]



1.4.4 Ευεργετικές δράσεις της μαστίχας

Ήδη από την αρχαιότητα η μαστίχα Χίου ήταν γνωστή για τις ιατροφαρμακευτικές της ιδιότητες [251]. Σήμερα, είναι επιστημονικά τεκμηριωμένη η αντιμικροβιακή, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδης δράση της καθώς και η συμβολή της κατά των παθήσεων του πεπτικού συστήματος και τη στοματική υγιεινή. Αποτελεί φυσικό αντιοξειδωτικό, συμβάλλει στην επούλωση τραυμάτων και στην ανάπλαση της επιδερμίδας.

Αντιφλεγμονώδεις και Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες

Η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας οφείλεται στη μεγάλη ποικιλία τερπενίων που περιέχει όπως είναι το ολεανόνιο, το ευφάνιο, η λουπεόλη, η α-τοκοφερόλη, και οι πολυφαινόλες [252, 253]. Οι μηχανισμοί που φαίνεται να εμπλέκονται αφορούν τη παρεμπόδιση της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) και της κυκλοξυγενάσης-2 (COX-2) τόσο σε επίπεδο mRNA όσο και σε επίπεδο πρωτεΐνης. Επιπλέον, η μαστίχα φαίνεται να παρεμποδίζει την πρωτεϊνική κινάση C, η οποία με τη σειρά της μειώνει την παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου μέσω αναστολής της οξειδάσης του NADPH, υποστηρίζοντας και την αντιοξειδωτική της δράση.

Λόγω των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της η μαστίχα θα μπορούσε να δοθεί σε φλεγμονώδη νοσήματα, όπως κυστική ίνωση, άσθμα, ρευματοειδή αρθρίτιδα, συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, ψωρίαση και νόσο Crohn [252, 253]. Όσον αφορά τη **νόσο Crohn**, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η μαστίχα Χίου, ασκεί διάφορες βιολογικές ιδιότητες in vitro [254], σε πειραματικά ζωικά μοντέλα [253], και σε ανθρώπους [255]. Σύμφωνα με την πιλοτική μελέτη των Kaliora et al [256], η ημερήσια πρόσληψη 2,2 g μαστίχας Χίου για τέσσερις εβδομάδες βελτίωσε την κλινική εικόνα ασθενών με νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας βαρύτητας. Πιο συγκεκριμένα φάνηκε αποτελεσματική στη μείωση της φλεγμονής, με στατιστικά σημαντική μείωση του TNF-α και τάση μείωσης άλλων δεικτών όπως ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και CRP.

Επίσης, το 2011 οι Gioixari et al [257], εξετάζοντας ένα πειραματικό μοντέλο με TNBS- κολίτιδα, παρατήρησαν ότι η μαστίχα Χίου, οδηγεί σε μείωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6 και IL-8, TNF-α και διακυτταρικό συνδετικό

μόριο (Intracellular Adhesion Molecule 1, ICAM) στο εντερικό επιθήλιο ποντικού, σε επίπεδο mRNA και προστατεύει τον εντερικό επιθηλιακό φραγμό. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα των Paralois et al [258], επιβεβαιώνοντας την αντιφλεγμονώδη δράση της μαστίχας μέσω της απενεργοποίησης του NF- κ B, και έτσι την έκφραση αντι-αποπτωτικών γονιδίων, την παρεμπόδιση της καταστροφής του ιστού και την προστασία του εντερικού φραγμού.

Η παθογένεια του αλλεργικού άσθματος, χαρακτηρίζεται από φλεγμονή των αεραγωγών, ηωσινοφιλία και υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών. Σε μία μελέτη, οι Qiao et al [259], διερεύνησαν την αντιφλεγμονώδη επίδραση της μαστίχας στο αλλεργικό άσθμα. Σε ζωικό μοντέλο στο οποίο είχε γίνει επαγωγή ασθματικής αντίδρασης, η χορήγηση μαστίχας οδήγησε σε σημαντική αναστολή της ηωσινοφιλίας, μείωση της υπεραντιδραστικότητας των αεραγωγών και καταστολή της παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-5 και IL-13) και χημειοκινών.

Καρδιοπροστατευτικές Ιδιότητες

Λόγω των αντιφλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων, η μαστίχα έχει μελετηθεί για την ικανότητα της να τροποποιεί μόρια συνδεδεμένα με την καρδιαγγειακή λειτουργία και συγκεκριμένα την **προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος** [252]. Κάτω από παθολογικές συνθήκες υπερλιπιδαιμίας, οξειδωτικού στρες, και/ή γενετικών διαταραχών, η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) οξειδώνεται και η χοληστερόλη πλέον εκτρέπεται προς συσσώρευση της στα μακροφάγα στο αγγειακό τοίχωμα. Αυτές οι παθολογικές εναποθέσεις των λιποπρωτεϊνών και οι προφλεγμονώδεις αντιδράσεις στην αρτηρία θα οδηγήσουν στην ανάπτυξη αθηροματικών πλακών με τελικό αποτέλεσμα τη ρήξη και θρόμβωση, προκαλώντας έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό [260, 261]. Η μαστίχα προστατεύει το καρδιαγγειακό σύστημα αφενός μέσω αποτελεσματικής μείωσης των επιπέδων χοληστερόλης στον ορό, αφετέρου μέσω προστασίας της LDL από οξείδωση στους ανθρώπους. Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο και η επακόλουθη μετανάστευση των κυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα είναι εναρκτήρια γεγονότα της αθηρογένεσης, και αυτή η διαδικασία απαιτεί την έκφραση ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης. Σε μία πρόσφατη μελέτη, η έκφραση μορίων προσκόλλησης VCAM-1 και ICAM-1 φαίνεται να παρεμποδίζεται σημαντικά με την χορήγηση μαστίχας. Ήδη από το 2004, οι Dedousis et al [254], μελέτησαν την επίδραση μεθανολικού εκχυλίσματος μαστίχας σε καλλιέργεια με PBMC (peripheral blood

mononuclear cell). Τα κύτταρα τα οποία ήταν εκτεθειμένα σε ox-LDL οδηγούνταν σε απόπτωση και νέκρωση, ανάλογα τον χρόνο της έκθεσης. Όταν τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν με την ox-LDL και το πολικό εκχύλισμα ταυτόχρονα, παρατηρήθηκε αναστολή των δύο φαινομένων. Πιο συγκεκριμένα παρατήρησαν ότι η έκθεση των BPMC σε ox-LDL προκαλεί κυτταροτοξικότητα, αλλά αυτή αποτρέπεται μετά από προσθήκη εκχυλίσματος μαστίχας ($90,0 \pm 2,4\%$ επιβίωση). Ύστερα από ανάλυση κυτταρομετρίας ροής (FACS), η μείωση νέκρωσης των κυττάρων από 73,5% σε 4,04 % σηματοδοτεί την αντιοξειδωτική προστασία της ρητίνης. Επιπλέον, μέτρησαν την έκφραση του CD36, έναν υποδοχέα class B scavenger, που φαίνεται να λειτουργεί ως υποδοχέας της ox-LDL στα ενεργοποιημένα μακροφάγα και πιθανώς να παίζει καθοριστικό ρόλο στην δημιουργία των αφρωδών κυττάρων. Η ox-LDL μειώνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης (GSH) και ενισχύει την έκφραση του CD-36. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το εκχύλισμα της μαστίχας Χίου αναγέννησε τα επίπεδα της GSH και μείωσε τα επίπεδα τα επίπεδα του CD36 ακόμη και σε επίπεδο mRNA. Από περαιτέρω ανάλυση φάνηκε ότι αυτή η αντιοξειδωτική δράση με την αξιοσημείωτη αύξηση της GSH οφείλεται στο τριτερπενοειδές κλάσμα. Οι ερευνητές καταλήγουν στο ότι η αναγέννηση της γλουταθειόνης και η μείωση της έκφρασης του CD36 είναι οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα τριτερπένια της ρητίνης ασκούν την αντιοξειδωτική /αντιαθηρογόνο τους δράση.

Η καρδιοπροστατευτική δράση πρόσληψης μαστίχας επιβεβαιώνεται από μία ακόμη κλινική μελέτη της Triantafyllou et al.[262] στην οποία συμμετείχαν 133 ασθενείς (40 άνδρες και 93 γυναίκες) με υψηλό λιπιδαιμικό προφίλ και ηλικία άνω των 50 ετών. Οι αιματολογικές εξετάσεις στο τέλος της παρέμβασης (18 μήνες) έδειξαν ότι το λιπιδαιμικό προφίλ των εθελοντών βελτιώθηκε σημαντικά ύστερα από ημερήσια κατανάλωση 5g μαστίχας διαλυμένης σε νερό. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις στην ολική χοληστερόλη, στην LDL, στην αναλογία ολικής χοληστερόλης/ HDL, στην λιποπρωτεΐνη α, καθώς και στις απολιποπρωτεΐνες A1 και B ορού ($p < 0,05$). Επίσης μειώθηκαν τα επίπεδα των τρανσαμινασών SGOT, SGPT και γ-GT. Τα επίπεδα γλυκόζης, τριγλυκεριδίων και HDL παρέμειναν αμετάβλητα. Χαμηλότερη δόση των 5g δεν φαίνεται να επιφέρει ευεργετικά αποτελέσματα. Η μελέτη CHIOS-MASTIHA το 2015 [263], στην οποία συμμετείχαν 156 ασθενείς με αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης ($>200\text{mg/dl}$) έδειξε ότι μετά από 8 εβδομάδες ημερήσιας κατανάλωσης 1g μαστίχας η ολική χοληστερόλη και τα επίπεδα γλυκόζης μειώθηκαν. Πιο συγκεκριμένα η ολική χοληστερόλη μειώθηκε κατά

11,5mg/dl ($p<0,05$) και η γλυκόζη νηστείας κατά 4,5mg/dl ($p<0,05$). Η επίδραση αυτή ήταν ισχυρότερη στους υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με ΔΜΣ $>25 \text{ kg/m}^2$. Καμία επίδραση δεν παρατηρήθηκε στην LDL, HDL, τριγλυκερίδια, ουρικό οξύ και CRP.

Αντικαρκινικές Ιδιότητες

Αρκετές φυσικές διαιτητικές ενώσεις μπορούν να καθυστερήσουν, αποτρέψουν ή αναστρέψουν την ανάπτυξη των αδενωμάτων καθώς και την εξέλιξη από αδένωμα σε καρκίνωμα και αυτά τα γεγονότα έχουν συσχετιστεί με διαμόρφωση σηματοδοτικών καταρρακτών, γονιδιακή έκφραση που εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της απόπτωσης και της καταστολής της χρόνιας φλεγμονής, μετάστασης και αγγειογένεσης.

Το 2005 οι Balan et al [264], δείχνουν ότι 50% αιθανολικό εκχύλισμα μαστίχας προκαλεί την απόπτωση των HCT116 καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου *in vitro*. Οι Dimas et al, ανέφεραν παρόμοια αποτελέσματα σε πειραματόζωα με καρκίνο παχέος εντέρου επιβεβαιώνοντας τον αντινεοπλασματικό ρόλο της μαστίχας [252]. Αν και δεν έχει αποσαφηνιστεί ο μηχανισμός δράσης, η ρητίνη φαίνεται να διεγείρει έναν καταρράκτη αντιδράσεων, που καταλύεται από μία οικογένεια πρωτεασών, τις κασπάσες. Απόρροια αυτού, είναι να κατακερματίζεται το DNA των καρκινικών κυττάρων και να αυξάνεται ο ρυθμός της απόπτωσης τους. Το αιθανολικό εκχύλισμα μαστίχας έχει παρόμοιες ιδιότητες, ενώ η παρατήρηση ότι τα κύτταρα εξακολουθούν να θανατώνονται ακόμη και επί απουσία μαστίχας μετά από αγωγή τεσσάρων συνεχόμενων ημερών (δόση 200mg/kg την ημέρα) ακολουθούμενη από διακοπή τριών ημερών χωρίς θεραπεία, σημαίνει ότι η απόπτωση είναι πλέον προγραμματισμένη [265]. Παρόμοιος μηχανισμός δράσης παρατηρήθηκε και σε καρκινικά κύτταρα προστάτη και σε καρκινικές κυτταρικές σειρές ανθρώπινων παγκρεατικών κυττάρων [266, 267].

Αντιμικροβιακές Ιδιότητες

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες της μαστίχας Χίου έχουν καταδειχθεί έναντι διαφόρων βακτηριδίων, συμπεριλαμβανομένου του *Helicobacter Pylori*, ενός gram (-) αερόβιου βακτηρίου που ευθύνεται για την εμφάνιση χρόνιας ενεργούς γαστρίτιδας, καθώς και μιας σειράς άλλων στομαχικών διαταραχών όπως εξέλκωση, ατροφία, αδenoκαρκίνωμα και λέμφωμα [268]. Οι πρώτες μελέτες που αφορούσαν χορήγηση μαστίχας σε αρουραίους με πειραματικά επαγόμενα γαστρικά και δωδεκαδακτυλικά

έλκη έδειξαν σημαντική μείωση της οξύτητας [269]. Το 1980 η μαστίχα αναφέρθηκε για πρώτη φορά ως δυνητική θεραπευτική αγωγή για το δωδεκαδακτυλικό έλκος σε ανθρώπους [270]. Μία διπλά – τυφλή κλινική δοκιμή, διεξήχθη σε 38 ασθενείς με συμπτωματικό και ενδοσκοπικά αποδεδειγμένο έλκος δωδεκαδακτύλου και έδειξε αυξημένη ανακούφιση από τα συμπτώματα στους ασθενείς που έλαβαν 1g μαστίχας ημερησίως για δύο εβδομάδες σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο, ενώ έδειξε ενδοσκοπικά σημαντική επούλωση των πληγών στο 70% των ασθενών της ομάδας παρέμβασης, έναντι 22% των ασθενών στην ομάδα ελέγχου. Σε δύο πιο πρόσφατες μελέτες έχει αναφερθεί η αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας κατά του *Helicobacter pylori* in vitro [271, 272]. Η δράση της μαστίχας in vivo κατά του *Helicobacter Pylori* παρουσιάζει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Το 2010 οι Dabos et al [273] σε μία τυχαιοποιημένη πιλοτική μελέτη με 52 ασθενείς επιβεβαιώνουν ότι η μαστίχα έχει αντιμικροβιακή δράση έναντι του *H.Pylori* in vivo. Μία επιπλέον μελέτη έδειξε ότι τόσο το συνολικό εκχύλισμα μαστίχας χωρίς πολυμερή όσο και τα κυριότερα καθαρά τριτερπενικά οξέα εξ' αυτού ήταν ενεργά εναντίον του *H.Pylori* [274]. Το κλάσμα των τριτερπενικών οξέων φάνηκε να είναι το πιο δραστικό, ενώ εκ του κλάσματος το πιο ενεργό συστατικό ήταν το ισομαστιχοδιενολικό. Ωστόσο, υπάρχουν και αναφορές που δεν επιβεβαιώνουν αυτή τη δράση της μαστίχας έναντι του *H.Pylori*. Σε μία πιο πρόσφατη in vivo μελέτη λοίμωξης από *H.Pylori*, η δραστικότητα της μαστίχας συγκρίθηκε με τα αντιβιοτικά σχήματα εκρίζωσης και μετά από θεραπεία 7 ημερών δεν παρατηρήθηκε εξάλειψη του βακτηρίου από το στομάχι των ποντικών που έλαβαν μαστίχα [275]. Παρόμοια τα αποτελέσματα από μία ακόμη μελέτη, στην οποία 9 ασθενείς θετικοί στο *H.Pylori* έλαβαν 1g μαστίχας, 4 φορές την ημέρα για 14 ημέρες [276]. Όλοι παρέμειναν θετικοί στο *H.Pylori* μετά τη χορήγηση.

Επιπλέον, το μαστιχέλαιο εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας του σε μονοτερπένια εμφανίζει αντιμικροβιακή in vitro δράση έναντι διαφόρων βακτηρίων όπως *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Bacillus subtilis* [251, 277].

Όσον αφορά την προστατευτική δράση της μαστίχας Χίου στην στοματική υγεία, δεδομένα δείχνουν ότι η συστηματική μάσηση μαστίχας αφαιρεί ή περιορίζει σημαντικά το σχηματισμό των μικροβιακών πλακών [251, 252]. Με αυτόν τον τρόπο προλαμβάνεται η τερηδόνα και οι περιοδοντικές παθήσεις [278]. Επιπλέον, σε ασθενείς με προχωρημένη τερηδόνα η μάσηση μαστίχας για 15 λεπτά ελαττώνει το συνολικό βακτηριακό φορτίο, ενώ στατιστικά σημαντικές διαφορές εμφανίζονται μετά από 135 λεπτά μάσησης [279].

2. ΣΚΟΠΟΣ

Στηριζόμενοι στη γνώση ότι η Μαστίχα Χίου είναι μία φυσική ρητίνη, με πληθώρα βιοδραστικών φυτοχημικών συστατικών με τεκμηριωμένες αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, η αρχική υπόθεση της μελέτης ήταν η εν δυνάμει ευεργετική επίδραση της στην υγεία του ήπατος ασθενών με NAFLD/NASH. Λαμβάνοντας υπόψη την αυξανόμενη βιβλιογραφία που συνδέει τη σύσταση του σώματος με την εμφάνιση ή/και εξέλιξη της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος, η υπόθεση της παρούσας εργασίας ήταν ότι η μαστίχα Χίου θα μπορούσε να έχει ευεργετική επίδραση στη σύσταση του σώματος.

Έτσι, σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν να μελετήσουμε την επίδραση ημερήσιας πρόσληψης διατροφικού συμπληρώματος με μαστίχα Χίου, έναντι εικονικού φαρμάκου, σε ανθρωπομετρικές παραμέτρους παχύσαρκων ασθενών με NAFLD/NASH, στα πλαίσια της πολυκεντρικής μελέτης Mast4Health. Η χρονική διάρκεια χορήγησης του συμπληρώματος ορίστηκε σε 6 μήνες. Στο τέλος της μελέτης αξιολογήθηκαν οι μεταβολές των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών:

- Σωματικό βάρος
- Δείκτης Μάζας Σώματος
- Περιφέρεια μέσης
- Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχίου
- Λιπώδης μάζα σώματος (σε kg και % ΣΒ)
- Μυϊκή μάζα σώματος (σε kg και % ΣΒ)
- Οστική μάζα (σε kg και % ΣΒ)
- Δείκτης σπλαχνικού λίπους

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Σχεδιασμός της μελέτης MAST4HEALTH

Η μελέτη MAST4HEALTH συνιστά μία πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή έναντι εικονικού σκευάσματος (placebo) κλινική δοκιμή με στόχο να ελέγξει την αποτελεσματικότητα της συμπληρωματικής εξάμηνης χορήγησης μαστίχας στη δόση των 2,1g ημερησίως σε κάψουλες των 350mg/ κάψουλα σαν μη φαρμακολογική θεραπεία στους ασθενείς με NAFLD/ NASH. Η μελέτη βασίζεται στη συνεργασία πολλών ειδικοτήτων μεταξύ των οποίων διαιτολόγοι, κλινικοί, βιολόγοι, βιοχημικοί και βιοπληροφορικοί με επαγγελματικό σχεδιασμό, εφαρμογή και έλεγχο.

3.2 Πρωτεύοντα και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία

Η μελέτη MAST4HEALTH αντανακλά την τρέχουσα επιστημονική προσπάθεια εύρεσης και καθιέρωσης μιας καινοτόμου, μη φαρμακολογικής προσέγγισης των ασθενών με διαγνωσμένη NAFLD-NASH, ώστε να εμπλουτιστεί η επιστημονική κοινότητα με νέα « όπλα στη φαρέτρα της », για τη διαχείριση των συγκεκριμένων ατόμων.

Το **πρωτεύον καταληκτικό σημείο** είναι η βελτίωση της ιστοπαθολογίας του ήπατος, όπως αυτή παρατηρείται με τη βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας και ορίζεται με τη μείωση της τιμής του LIF score, όπως προκύπτει από χρήση του πρωτοκόλλου LiverMultiScan.

Ως **δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία** ορίζονται:

- η βελτίωση των τιμών των ηπατικών ενζύμων στον ορό των συμμετεχόντων
- η μείωση των επιπέδων δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες στον ορό των συμμετεχόντων
- η μείωση των τιμών της LDL χοληστερόλης , ή / και των τιμών της ολικής χοληστερόλης ή/και των τιμών τριγλυκεριδίων ή/και η αύξηση των τιμών της HDL χοληστερόλης.
- Η βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας και/ η επίτευξη καλύτερου γλυκαιμικού ελέγχου, όπως υποδηλώνονται από τη διόρθωση των τιμών της γλυκόζης νηστείας ή/και της ινσουλίνης ή/και των τιμών της καμπύλης γλυκόζης ή/και των τιμών HOMA-IR-homeostatic model assessment- για την αξιολόγηση της ινσουλινοαντίστασης και της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος.
- Η εξατομικευμένη μείωση της τιμής του NFS score ή/και του FIB4 score.
- Η διερεύνηση της ανταπόκρισης των ασθενών στη χορήγηση μαστίχας στη συγκεκριμένη δόση και για το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα στο οποίο λαμβάνει χώρα η παρέμβαση με βάση το γενετικό τους προφίλ και την παρουσία συγκεκριμένων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών.
- Η μελέτη επιγενετικών αλλαγών – αλλαγών στα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA – ως απόκριση στη θεραπεία με μαστίχα.
- Η σύγκριση του μεταβολομικού/ μεταβολονομικού αποτυπώματος των συμμετεχόντων πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση αλλά και τον υγιή πληθυσμό
- Η καταγραφή τυχόν αλλαγών στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση με τη βοήθεια της μεταγενομικής.
- Οι αλλαγές στο σωματικό βάρος των συμμετεχόντων ή /και στο % ποσοστό σωματικού λίπους ή/και στην κατανομή αυτού, όπως υποδηλώνεται με αλλαγές στις τιμές της περιφέρειας μέσης ή /και του λόγου περιφέρειας μέσης/ισχίου.
- Η εύρεση και καθιέρωση ενός βιοδείκτη κατάλληλου για τον εντοπισμό των ατόμων με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου ή /και για την διάγνωση της νόσου ή/και για την παρακολούθηση της εξέλιξης της ή /και για την πρόγνωση της ανταπόκρισης των ασθενών στη χορηγούμενη θεραπεία.

Απώτερος σκοπός της μελέτης είναι ο προσδιορισμός του προφίλ των ασθενών που ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπεία συμπληρωματικής χορήγησης Μαστίχας Χίου. Η “χαρτογράφηση” των κλινικών χαρακτηριστικών, της γονιδιακής έκφρασης, των επιγενετικών τροποποιήσεων, των επιπέδων φλεγμονής και οξειδωτικού στρες καθώς και του μεταβολομικού / μεταβολονομικού και μεταγενομικού προφίλ των συγκεκριμένων ασθενών θα συμβάλει στην εξασφάλιση της μελλοντικής ικανότητας πρόβλεψης της απόκρισης ενός ασθενούς στην εν λόγω θεραπεία με βάση το ιατρικό του ιστορικό, τα χαρακτηριστικά του κατά την έναρξη της θεραπευτικής προσέγγισης και το είδος της θεραπείας.

Η εκάστοτε κλινική δοκιμή που λαμβάνει χώρα σε κάθε ένα από τα κέντρα της MAST4HEALTH έχει λάβει έγκριση από την αντίστοιχη Επιτροπή Βιοηθικής. Το ερευνητικό πρωτόκολλο, το φυλλάδιο ενημέρωσης των ασθενών καθώς και τα έγγραφα συναίνεσης για συμμετοχή στην κλινική δοκιμή έχουν ήδη μεταφραστεί στην ελληνική γλώσσα και στις αντίστοιχες γλώσσες των κέντρων στα οποία διεξάγεται η μελέτη. Όλα τα έγγραφα έχουν υποβληθεί στις αντίστοιχες επιτροπές Βιοηθικής και όλες οι εγκρίσεις έχουν ληφθεί πριν την έναρξη της μελέτης.

3.3 Πληθυσμός της μελέτης

Η MAST4HEALTH είναι εστιασμένη σε ενήλικες, παχύσαρκους ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD/NASH. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του χορηγούμενου συμπληρώματος έχει διαπιστωθεί σε ενήλικα άτομα, και όχι σε παιδιά και εφήβους. Κατά συνέπεια, για τους σκοπούς της μελέτης στρατολογούνται άνδρες και γυναίκες ηλικίας άνω των 18 ετών, με Δείκτη Μάζας Σώματος μεγαλύτερο από 30kg/m^2 και επιβεβαιωμένη με τη βοήθεια μαγνητικής τομογραφίας και με τη χρήση της τεχνολογίας LiverMultiScan NAFLD/NASH.

Στον πίνακα που ακολουθεί (**πίνακας 11**) παρατίθενται αναλυτικά τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού στο συγκεκριμένο ερευνητικό πρωτόκολλο.

Πίνακας 11: Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Κριτήρια Ένταξης	Κριτήρια Αποκλεισμού
Επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH	Λήψη ηπατοτοξικής φαρμακευτικής αγωγής, συνυπάρχουσα ηπατική νόσος
18έτη < Ηλικία < 67 έτη	Αρρύθμιστος Σακχαρώδης Διαβήτης
$\Delta\text{ΜΣ} > 30\text{kg/m}^2$	Υπερθυρεοειδισμός ή Υποθυρεοειδισμός, Υποφυσιακή ανεπάρκεια, Σύνδρομο Cushing
	Κατάχρηση αλκοόλ ή ουσιών
	Κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένη συστηματική νόσος
	Εγκυμοσύνη, Θηλασμός
	Αυστηρή χορτοφαγία, Γαλακτο-χορτοφαγία, Ωο-γαλακτο-χορτοφαγία
	Ψυχιατρική ή πνευματική διαταραχή
	Πρόσφατη σημαντική απώλεια σωματικού βάρους ή σε πρόγραμμα απώλειας σωματικού βάρους
	Λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή συμπληρωμάτων πλούσιων σε φυτοχημικά συστατικά, προβιοτικών ή πρεβιοτικών τους τελευταίους 3 μήνες
	Λήψη αντιβιοτικής αγωγής τους τελευταίους 2 μήνες

Άτομα ηλικίας άνω των 67 ετών καθώς και άτομα που λαμβάνουν ηπατοτοξική ή φαρμακευτική αγωγή ή έχουν διαγνωστεί με κάποιο άλλο νόσημα του ήπατος, ασθενείς με αρρυθμιστο σακχαρώδη διαβήτη, υποθυροειδισμό ή υπερθυροειδισμό, υποφυσιακή ανεπάρκεια ή σύνδρομο Cushing εξαιρούνται από τη μελέτη. Όσον αφορά τους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, η συμμετοχή τους στο πρωτόκολλο εγκρίνεται μόνο εφόσον i) ο σακχαρώδης διαβήτης είναι καλά ελεγχόμενος (τιμές HbA1c $\leq$ 7%), σύμφωνα με την Αμερικάνικη Ένωση για το Σακχαρώδη Διαβήτη και ii) 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. Ασθενείς με κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένες συστηματικές νόσους δεν δύνανται να συμμετέχουν στη μελέτη.

Εξαίρεση αποτελούν οι ασθενείς με ρυθμισμένη υπέρταση υπό σταθερή αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή για τουλάχιστον 3 μήνες πριν την παρέμβαση και καθ' όλη τη διάρκεια αυτής. Ρυθμισμένη φαίνεται να θεωρείται η υπέρταση όταν οι τιμές συστολικής πίεσης δεν ξεπερνούν την τιμή των 140mm Hg και διαστολικής την τιμή των 90 mm Hg στο γενικό πληθυσμό, αλλά και στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, με εξαίρεση άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών όπου τιμές συστολικής < 150mmHg και διαστολικής < 90mm Hg είναι επίσης αποδεκτές. Από τη μελέτη αποκλείονται επίσης οι ασθενείς με οποιαδήποτε ψυχιατρική ή πνευματική διαταραχή, οι αυστηρά χορτοφάγοι, οι γαλακτο- και ωο-γαλακτο- χορτοφάγοι καθώς και τα άτομα με πρόσφατη σημαντική απώλεια σωματικού βάρους ή σε πρόγραμμα απώλειας σωματικού βάρους. Άτομα τα οποία κάνουν κατάχρηση αλκοόλ ή άλλων ουσιών επίσης δεν μπορούν να συμμετέχουν στο πρωτόκολλο.

Η λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή συμπληρωμάτων πλούσιων σε φυτοχημικά συστατικά καθώς και η λήψη προβιοτικών και πρεβιοτικών το τελευταίο τρίμηνο, πριν την έναρξη της παρέμβασης και αντιβιοτικών το τελευταίο δίμηνο πριν από αυτή θεωρούνται επιπλέον κριτήρια αποκλεισμού. Ιδιαίτερη προσοχή δίνεται κατά τη συλλογή του δείγματος καθώς και καθ' όλη τη διάρκεια της παρέμβασης στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Σε περίπτωση εγκυμοσύνης συστήνεται η διακοπή του συμπληρώματος και η παρακολούθηση της κύησης μέχρι αυτή να έρθει σε πέρας, ενώ οφείλει να ενημερωθεί και η αντίστοιχη επιτροπή Βιοηθικής.

3.4 Διεξαγωγή της μελέτης

3.4.1 Τυχαιοποίηση - Τυφλοποίηση

Με στόχο την ενίσχυση της εγκυρότητας των αποτελεσμάτων και την αποφυγή της υιοθέτησης λανθασμένης μεθοδολογίας και παραπλανητικών αποτελεσμάτων, γίνεται τυφλοποίηση της κλινικής δοκιμής σε κάθε ένα εκ των κέντρων της MAST4HEALTH: των συμμετεχόντων, των κλινικών, των ατόμων που εμπλέκονται στη συλλογή και των ατόμων που εμπλέκονται στην ανάλυση των δεδομένων.

Με σκοπό την αποφυγή της μεροληψίας, η τυχαιοποίηση είναι επίσης αναγκαία. Σε αυτή τη μελέτη λαμβάνει χώρα απλή τυχαιοποίηση με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού, όπου οι διαγνωσμένοι με NAFLD/NASH ασθενείς κατανέμονται ένας προς έναν είτε στην ομάδα του verum, είτε στην ομάδα του placebo.

3.4.2 Δειγματοληψία ασθενών, επισκέψεις και παρακολούθηση συμμόρφωσης

Δυνητικά υποψήφιοι εθελοντές, νοσηλευόμενοι αλλά και ασθενείς εξωτερικών ιατρείων με επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH προσέρχονται σε κάθε ένα εκ των κέντρων της κλινικής δοκιμής. Όσον αφορά την Ελλάδα, οι ενδιαφερόμενοι ενημερώνονται για τη διεξαγωγή της μελέτης από σχετικές ανακοινώσεις σε στοχευμένα σημεία στην περιοχή της Αττικής, καθώς και στο διαδίκτυο, ενώ υπάρχει συνεργασία της ερευνητικής ομάδας του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου και με ιατρούς σε δημόσιους ή ιδιωτικούς φορείς για τον εντοπισμό και την παραπομπή υποψηφίων κατάλληλων προς συμμετοχή στο πρωτόκολλο. Υποψήφιοι εθελοντές επιλέχθηκαν και από βάση προηγούμενης ερευνητικής εργασίας η οποία απευθυνόταν σε ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD και η οποία είχε λάβει χώρα στο παρελθόν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, αφού εξετάστηκε εκ νέου η καταλληλότητα συμμετοχής τους στην συγκεκριμένη μελέτη.

Αφού προηγηθεί τηλεφωνική επικοινωνία των ενδιαφερομένων με μέλη της ερευνητικής ομάδας ορίζεται η **πρώτη συνάντηση**, η οποία λαμβάνει χώρα στη

Μονάδα Μεταβολισμού του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Οι ενδιαφερόμενοι προσέρχονται στο προγραμματισμένο ραντεβού μετά από 12ωρη νηστεία. Αφού ενημερωθούν εκτενώς από την ερευνητική ομάδα για τη μελέτη, τις υποχρεώσεις και τα οφέλη που σχετίζονται με τη συμμετοχή τους σε αυτή και εφόσον είναι σύμφωνοι δίνουν την έγγραφη συγκατάθεση τους.

Πριν την αιμοληψία γίνεται αξιολόγηση της αρτηριακής πίεσης και καρδιακής συχνότητας με τη χρήση ηλεκτρονικού πιεσόμετρου. Στη συνέχεια παραλαμβάνεται μικρή ποσότητα αίματος για τον προσδιορισμό των βιοχημικών δεικτών που απαιτούνται για τον υπολογισμό των NFS και FIB4 scores, σύμφωνα με τις εξισώσεις (1) και (2) και την πραγματοποίηση γενικής αίματος. Ακολουθούν οι ανθρωπομετρήσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν τη μέτρηση του αναστήματος και του σωματικού βάρους για τον υπολογισμό του δείκτη μάζα σώματος, καθώς και την μέτρηση της περιφέρειας μέσης και της περιφέρειας ισχίου για τον υπολογισμό του λόγου περιφέρειας μέσης/ περιφέρεια ισχίου. Η μέτρηση του σωματικού βάρους γίνεται με χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας, ο οποίος χρησιμοποιείται και για την ανάλυση σύστασης σώματος (TANITA SC-330). Οι περίμετροι μέσης και ισχίων μετρώνται σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

Τέλος, μέσω ερωτηματολογίου συλλέγονται πληροφορίες σχετικές με το ατομικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, ιστορικό εμμηνορρυσίας για τις γυναίκες, πιθανή φαρμακευτική αγωγή που λαμβάνουν τα άτομα, καπνιστικές συνήθειες και δημογραφικά χαρακτηριστικά.

$$(1) \text{ NFS} = (-1.675 + 0.037 \times \text{age (yr)} + 0.094 \times \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 \times \text{IFG/diabetes (yes = 1, no = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT ratio} - 0.013 \times \text{platelet count (x10}^9\text{/L)} - 0.66 \times \text{albumin [g/dl]})$$

$$(2) \text{ FIB-4} = \text{age (yr)} \times \text{AST Level (U/L)} / \text{Platelet Count (10}^9\text{/L)} \times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}$$

Σε **δεύτερη συνάντηση**, λαμβάνει χώρα η μαγνητική τομογραφία τα αποτελέσματα της οποίας αξιολογούνται για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου και τον υπολογισμό του LIF score. Αν η εξατομικευμένη, συνολική τιμή του LIF score είναι >2 ή τουλάχιστον 2 εκ των εξεταζομένων τμημάτων (slices) του ήπατος εμφανίζουν LIF score μεταξύ των τιμών 2 και 3 σε ποσοστό >30% με ταυτόχρονη

παρουσία λίπους σε ποσοστό $>5,6\%$, τότε ο εκάστοτε εθελοντής θεωρείται επιλέξιμος για τη μελέτη. Γίνεται επίσης αιμοληψία για την περεταίρω αξιολόγηση του βιοχημικού προφίλ καθενός εκ των υποψηφίων: μέτρηση ολικής, HDL, LDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων καθώς και γλυκόζης νηστείας, ινσουλίνης, υπολογισμός HOMA-IR (homeostasis model assessment) και καμπύλη γλυκόζης (OGTT). Γίνεται επίσης συλλογή 25ml αίματος για την παραλαβή ορού, πλάσματος, ερυθροκυττάρων και DNA καθώς και παραλαβή δείγματος κοπράνων τα οποία αποστέλλονται σε συνεργαζόμενα ερευνητικά κέντρα για την αξιολόγηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων της μελέτης.

Ακολουθεί αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών και της φυσικής δραστηριότητας. Η **αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών** γίνεται με συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 69 ερωτήσεων (69-item FFQ), το οποίο αφορά το τελευταίο εξάμηνο, και με μία ανάκληση 24ώρου, ενώ ο συμμετέχοντας λαμβάνει επίσης καθοδήγηση για την τήρηση ενός 3ήμερου ημερολογίου καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης, ώστε συνολικά να έχει καταγραφεί η διαιτητική πρόσληψη για 4 ημέρες (2 καθημερινές και 2 ημέρες Σαββατοκύριακου) μέχρι την επόμενη συνάντηση στην ερευνητική ομάδα. Η ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης γίνεται με τη 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.

Η **αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας** γίνεται με συμπλήρωση του επικυρωμένου ερωτηματολογίου IPAQ - Long (International Physical Activity Questionnaire - εκτενής μορφή), το οποίο περιλαμβάνει ερωτήσεις σχετικές με τη φυσική δραστηριότητα του συμμετέχοντα κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών.

ΕΝΤΑΞΗ ΣΤΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Οι επιλέξιμοι συμμετέχοντες χωρίζονται τυχαία σε 2 ομάδες, placebo ή verum. Κάθε συμμετέχοντας λαμβάνει κατά την έναρξη της μελέτης 1 κουτί στο οποίο περιέχονται 6 συσκευασίες, με συνολική περιεκτικότητα 540 κάψουλες. Οι κάψουλες αυτές επαρκούν για ένα διάστημα 3 μηνών, στο τέλος του οποίου έχει προγραμματιστεί

η επίσκεψη του συμμετέχοντα στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για τον ανεφοδιασμό του με το συμπλήρωμα. Κατά τον ανεφοδιασμό του, το είδος της χορηγούμενης θεραπείας (placebo ή verum) οφείλει να μην τροποποιηθεί. Παράλληλα, καθένας εξ αυτών λαμβάνει 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 έως 35% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης και υδατανθράκων σε ποσοστό μέχρι 50% αυτής.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗΣ

Η παρακολούθηση της συμμόρφωσης στο πρωτόκολλο καθώς και η καταγραφή οποιονδήποτε ανεπιθύμητων παρενεργειών σχετιζόμενων με τη λήψη του συμπληρώματος γίνεται μηνιαία, ως επί το πλείστον μέσω τηλεφωνικής επικοινωνίας των συμμετεχόντων με την ερευνητική ομάδα. Μετά το πέρας του 3^{ου} μήνα ένταξης στην παρέμβαση, όπως περιγράφηκε και παραπάνω, οι συμμετέχοντες προσέρχονται στο χώρο του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου για ανεφοδιασμό του συμπληρώματος (verum ή placebo, ανάλογα με την ομάδα στην οποία έχουν τυχαιοποιηθεί). Η ερευνητική ομάδα αξιολογεί τη συμμόρφωση τους, καταγράφονται τυχόν ανεπιθύμητες παρενέργειες ενώ επαναλαμβάνονται οι ανθρωπομετρήσεις που έλαβαν χώρα κατά την πρώτη συνάντηση. Οι συμμετέχοντες λαμβάνουν επίσης ένα τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής της διαιτητικής τους πρόσληψης το οποίο καλούνται να συμπληρώσουν για 1 καθημερινή και 2 ημέρες του Σαββατοκύριακου μέχρι την επόμενη συνάντησή τους με τους διαιτολόγους – διατροφολόγους. Επιπλέον αξιολογείται η φυσική τους δραστηριότητα μέσω συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου IPAQ - phone (σύντομη τηλεφωνική μορφή τελευταίων 7 ημερών).

ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

Η συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο ολοκληρώνεται μετά το πέρας 6 μηνών. Στην τελευταία συνάντηση οι εθελοντές καλούνται να επαναλάβουν τη μαγνητική τομογραφία για την εκ νέου εκτίμηση του LIF score και τη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη. Παραλαμβάνεται επίσης, εκ νέου, δείγμα κοπράνων και επαναλαμβάνεται η αιμοληψία τόσο για τον προσδιορισμό των NFS και FIB-4 scores όσο και για την αξιολόγηση του βιοχημικού προφίλ και την παραλαβή ορού πλάσματος, ερυθροκυττάρων και DNA για την εκτίμηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων της μελέτης. Επαναλαμβάνονται επίσης όλες οι ανθρωπομετρήσεις, η μέτρηση

της αρτηριακής πίεσης και καρδιακής συχνότητας. Οι διαιτολόγοι -διατροφολόγοι παραλαμβάνουν τα συμπληρωμένα ημερολόγια καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης και γίνεται εκ νέου 1 ανάκληση 24ώρου. Επαναξιολογείται η φυσική δραστηριότητα και ο κίνδυνος εμφάνισης Σακχαρώδους Διαβήτη όμοια με τη δεύτερη συνάντηση. Λαμβάνεται εκ νέου το ιατρικό ιστορικό και συλλέγονται πληροφορίες σχετικά με τις αλλαγές στις καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων. Ελέγχεται, τέλος, η συμμόρφωση στο πρωτόκολλο και καταγράφονται τυχόν παρενέργειες από τη λήψη του συμπληρώματος. Η διαδικασία στρατολόγησης και παρακολούθησης των εθελοντών καθώς και οι επισκέψεις συνοψίζονται στον πίνακα 12.

Μέτρηση της συμμόρφωσης: Ως συμμόρφωση στο πρωτόκολλο ορίζεται ο αριθμός των ημερών της μελέτης κατά τις οποίες το εξεταζόμενο φαρμακευτικό προϊόν πραγματικά λήφθηκε από τον 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. Το ποσοστό των ασθενών οι οποίοι εμφανίζουν τουλάχιστον 80% συμμόρφωση επίσης θα καταγράφεται.

Παράλληλη φαρμακευτική αγωγή: Η συχνότητα λήψης συγκεκριμένων φαρμακευτικών αγωγών θα καταγραφεί και θα συνοψιστεί ανά ομάδα της μελέτης

Παρενέργειες / Δυσάρεστα Συμβάντα: Στο τέλος της μελέτης θα συνοψιστούν ο αριθμός και το ποσοστό των ασθενών με οποιοδήποτε δυσάρεστο συμβάν, ο αριθμός και το ποσοστό των ασθενών με οποιοδήποτε σοβαρό δυσάρεστο συμβάν καθώς και ο αριθμός και το ποσοστό των ασθενών που διέκοψαν τη συμμετοχή τους στο πρωτόκολλο εξαιτίας δυσάρεστων συμβάντων. Τα δυσάρεστα συμβάντα τα οποία οδήγησαν ή όχι σε διακοπή της συμμετοχής στο πρωτόκολλο επίσης θα συνοψιστούν γενικά αλλά και ανά κατηγορία. Ανά ομάδα της μελέτης θα παρουσιαστούν η συνολική συχνότητα εμφάνισης ασθενών με δυσάρεστα συμβάντα καθώς και η συχνότητα των ασθενών με συμβάντα σε κάθε κατηγορία.

Πίνακας 12: Σχεδιάγραμμα του ερευνητικού πρωτοκόλλου

ΠΛΑΝΟ ΕΠΙΣΚΕΨΕΩΝ	ΕΝΤΑΣΗ		ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ				ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ
	1 ^η ΕΠΙΣΚΕΨΗ	2 ^η ΕΠΙΣΚΕΨΗ	3 ^η ΕΠΙΣΚΕΨΗ				4 ^η ΕΠΙΣΚΕΨΗ
ΜΗΝΑΣ		1	2	3	4	5	6
Συγκατάθεση	X						
Χορήγηση verum ή placebo		X					
Ιατρικό Ιστορικό	X						X
Δημογραφικά Δεδομένα	X						
Οικογενειακό Ιστορικό	X						
Καπνιστικές Συνήθειες	X						X
FINDRISK	X						X
69-Item FFQ		X					
Ανάκληση 24ώρου		X					X
3ημερο ημερολόγιο καταγραφής		X		X			
IPAQ		X					X
IPAQ – Phone				X			
Ανθρωπομετρία	X			X			X
MRI		X					X
Διατροφική παρακολούθηση							
NFS score	X						X
FIB-4 score	X						X
Βιοχημικό προφίλ		X					X
OGTT		X					X
Συλλογή αίματος (ορός, πλάσμα, ερυθροκύτταρα, DNA)		X					X
Δείγμα κοπράνων		X					X
Συμμόρφωση στο πρωτόκολλο			X	X	X	X	X
Δυσάρεστες παρενέργειες			X	X	X	X	X

3.4.3 Συνοπτική παρουσίαση εξεταζόμενων παραμέτρων της μελέτης

Κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης θα ληφθούν υπόψιν ως ανεξάρτητες μεταβλητές τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τα κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και το ιατρικό ιστορικό των συμμετεχόντων. Ως κύρια μεταβλητή της μελέτης ορίζεται η τιμή του **LIF score**. Επιπρόσθετες μεταβλητές της MAST4HEALTH είναι:

- **Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά:** σωματικό βάρος, δείκτης μάζας σώματος, περιφέρεια μέσης και λόγος περιφέρειας μέσης/ισχίου, λιπώδης μάζα σώματος (σε kg και % ΣΒ), μυϊκή μάζα σώματος (σε kg και % ΣΒ), οστική μάζα (σε kg και % ΣΒ), δείκτης σπλαχνικού λίπους
- **Εργαστηριακοί δείκτες**
 - Δοκιμασία ανοχής γλυκόζης (OGTT)
 - **Ηπατικά ένζυμα:** γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (γ-GT), αμινοτρασφεράση της αλανίνης (ALT), αμινοτρασφεράση του ασπαρτικού (AST)
 - **Λιπιδικό προφίλ:** ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια
 - Γλυκόζη νηστείας, ινσουλίνη, HOMA-IR, σίδηρος ορού, φερριτίνη
 - Γενική εξέταση αίματος

Τα αποτελέσματα όλων των παραπάνω εργαστηριακών εξετάσεων λήφθηκαν από το εκάστοτε συνεργαζόμενο κέντρο ανάλυσης βιοχημικών αποτελεσμάτων.

- **Κυτταροκίνες:** ιντερλευκίνες (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1A, IL-1B), παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-α), αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού (TGF-β), ιντερφερόνη γ (IFN-γ), χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων-1 (MCP-1), αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), αδιπονεκτίνη, λεπτίνη
- **Ποσοτικοποίηση της έκφρασης γονιδίων** των IL-6, IL-1A, TNF-α, VEGF σε ολικό RNA από αίμα εθελοντών πριν και μετά την παρέμβαση με την τεχνική της Real-time PCR

- **Δείκτες αντιοξειδωτικής λειτουργίας:** συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAS), γλουταθειόνη (GSH), υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Gpx), καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)
- **Αλλαγές στη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος** πριν και μετά την παρέμβαση με τη μέθοδο της γονοτύπησης.
- **Αλλαγές στα επίπεδα μεταβολιτών** όπως αυτές προκύπτουν από τη μεταβολομική ανάλυση πριν και μετά την παρέμβαση
- **Γενετικοί δείκτες** που εμπλέκονται στην ανταπόκριση στη θεραπεία με μαστίχα και πιθανές επιγενετικές αλλαγές σαν αποτέλεσμα της παρέμβασης.

3.4.4 Πρωτόκολλο Ανάλυσης Σύστασης Σώματος της μελέτης

Για την ανάλυση της σύστασης σώματος των εθελοντών της μελέτης χρησιμοποιήθηκε ο λιπομετρητής TANITA SC-330



TANITA SC -330

Το εν λόγω μοντέλο βασίζεται στη μέθοδο της βιοηλεκτρικής εμπέδησης, κατά την οποία εφαρμόζεται μικρής έντασης εναλλασσόμενο ρεύμα (συχνότητας 50 kHz) και μετράται η αγωγιμότητα του. Στηρίζεται στο γεγονός ότι η άλιπη μάζα σώματος, η οποία περιέχει μεγάλη ποσότητα υγρών και ηλεκτρολυτών, είναι καλός αγωγός του ηλεκτρικού ρεύματος, ενώ ο λιπώδης ιστός είναι κακός αγωγός. Η δίοδος αυτή γίνεται μέσω ειδικών ηλεκτροδίων, τα οποία έρχονται σε επαφή με τα κάτω άκρα του ασθενούς μετά την τοποθέτηση των ποδιών του σε πλήρη εφαρμογή πάνω στις ειδικές μεταλλικές επιφάνειες της βάσης. Ουσιαστικά, η μέτρηση εκτιμά τη συνολική

αντίσταση που προκαλούν οι ιστοί στη διέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος μέσα από το σώμα. Με τη χρήση κατάλληλων εξισώσεων είναι δυνατή εν συνεχεία η εκτίμηση της συνολικής σύστασης του σώματος σε νερό και δεδομένου ότι το νερό αποτελεί το 73% της άλιπης μάζας (παραδοχή του μοντέλου των δύο διαμερισμάτων), υπολογίζεται έμμεσα η συνολική άλιπη μάζα. Βασιζόμενοι και πάλι στο μοντέλο των δύο διαμερισμάτων, η λιπώδης μάζα σώματος υπολογίζεται από τη σχέση :

$$\text{Λιπώδης Μάζα Σώματος (kg)} = \text{Σωματικό Βάρος (kg)} - \text{Άλιπη Μάζα (kg)}$$

Για την αξιοπιστία των μετρήσεων τηρήθηκαν οι ακόλουθες **προϋποθέσεις**:

- **από τους ασθενείς**
 - Την ημέρα της μέτρησης μη κατανάλωση φαγητού ή υγρών 3 ώρες πριν
 - Μη κατανάλωση αλκοολούχων ποτών τουλάχιστον 12 ώρες πριν την μέτρηση
 - Μη πραγματοποίηση έντονης άσκησης 12 ώρες πριν την μέτρηση
- **Από τους ερευνητές που πραγματοποίησαν τη μέτρηση**
 - Καθαρισμός με οινόπνευμα κάθε μεταλλικής επιφάνειας με την οποία έρχεται σε επαφή ο ασθενής και μέσω της οποίας γίνεται η δίοδος της μικρής έντασης ρεύματος
 - Όχι πολύ ζεστό ή κρύο περιβάλλον και κανονική θερμοκρασία σώματος
 - Έλεγχος φάσης καταμήνιου κύκλου στις γυναίκες (μη μέτρηση κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως.)

Έγινε υπενθύμιση των προϋποθέσεων στους εθελοντές την προηγούμενη μέρα της εκάστοτε μέτρησης.

Τα **αποτελέσματα** της εκάστοτε λιπομέτρησης καταγράφηκαν στην καρτέλα του ασθενούς . Αναλυτικότερα περιλαμβάνουν:

- **Βάρος (σε kg)**
- **BMI (σε kg/m²)**
- **Λιπώδης μάζα (σε kg και σε % ποσοστό σωματικού βάρους)**
- **Μυϊκή μάζα (σε kg και σε % ποσοστό σωματικού βάρους)**
- **Οστική μάζα (σε kg και σε % ποσοστό σωματικού βάρους)**
- **Δείκτης σπλαχνικού λίπους**

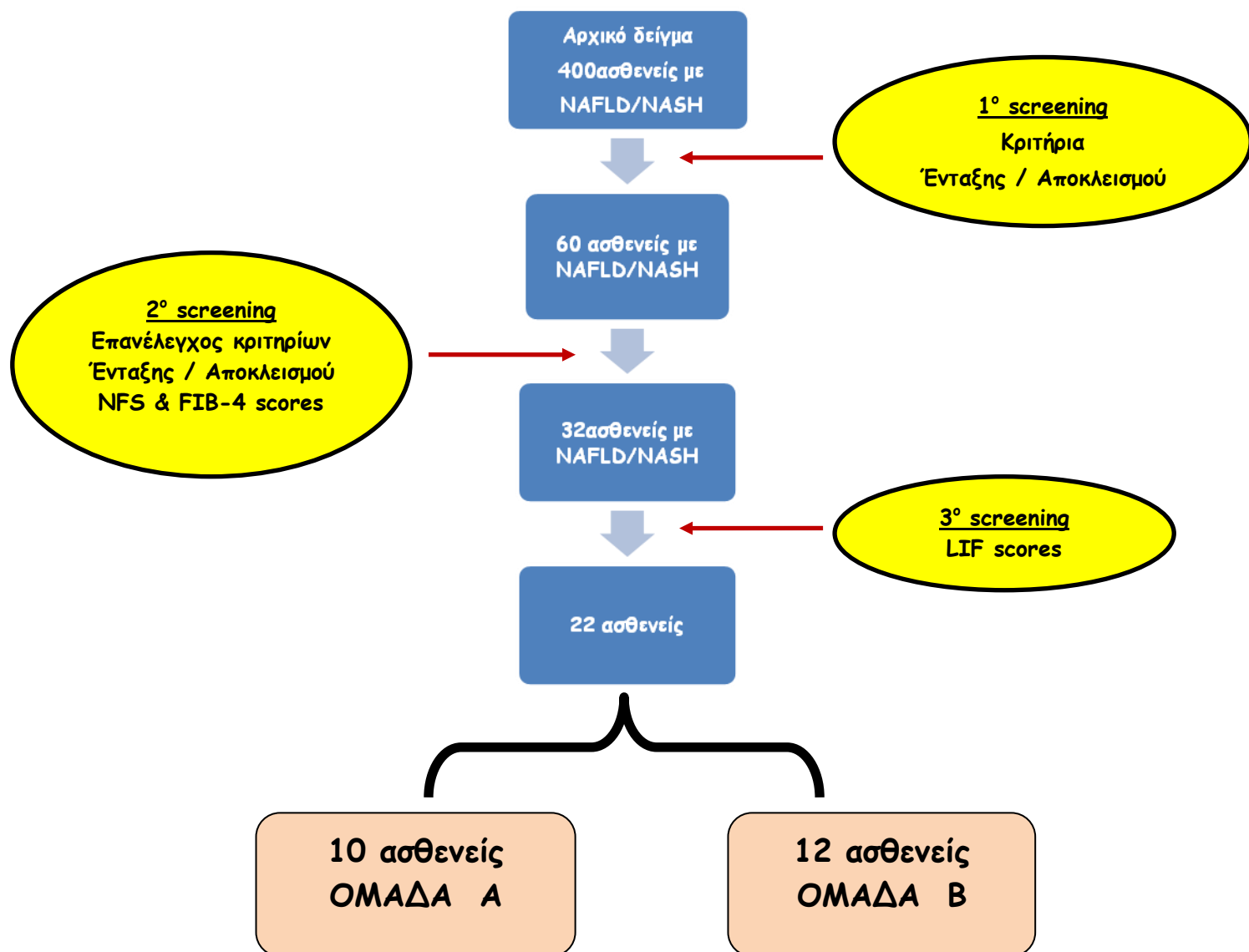
3.4.5 Διαδικασία στρατολόγησης των εθελοντών της μελέτης και παρουσίαση του διαγράμματος ροής

Από ένα αρχικό δείγμα 400 ατόμων με διαγνωσμένη NAFLD / NASH, με βάση τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού της μελέτης «Mast4Health» επιλέχθηκαν **60 δυνητικά υποψήφιοι εθελοντές** οι οποίοι προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Μετά από συνέντευξη επανεξετάστηκαν τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού και υπολογίστηκαν τα NFS και FIB-4 scores για όλους τους συμμετέχοντες. Αφού συνεκτιμήθηκαν οι τιμές των NFS και FIB-4, καθώς και το BMI και η ηλικία των υποψηφίων επιλέχθηκαν **32 από τους 60** προκειμένου να πραγματοποιήσουν μαγνητική τομογραφία ώστε να υπολογιστεί το εξατομικευμένο LIF score τους και να κριθεί η καταλληλότητα συμμετοχής τους στη μελέτη. Εξ αυτών, τα **22 άτομα** επιλέχθηκαν τελικά να συμμετάσχουν στη μελέτη, με βάση τα εκτιμώμενα LIF scores και το % ποσοστό λίπους. Οι επιλέξιμοι συμμετέχοντες χωρίζονται με τυχαιοποιημένο τρόπο σε δύο ομάδες A (n=10) και B (n=12), με τη χρήση ειδικά σχεδιασμένου λογισμικού. Μία από τις 2 ομάδες περιέχει το placebo και η άλλη το verum. Το λογισμικό χρησιμοποιείται για την ενσωμάτωση όλων των δεδομένων που προκύπτουν από τη μελέτη, κλινικά, μοριακά, γενετικά και επιγενετικά καθώς και metadata, όπως και εξατομικευμένα προφίλ ανταπόκρισης της αποτελεσματικής θεραπείας.

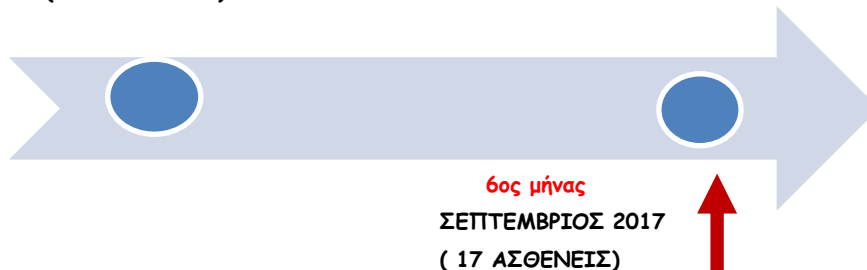
Ο έλεγχος του εξαμήνου ολοκληρώθηκε τον Σεπτέμβριο του 2017, φθάνοντας και στο πέρας του ερευνητικού πρωτοκόλου. Επανεξετάστηκαν 17 από τα 22 άτομα, ενώ τα υπόλοιπα 5 επέλεξαν να αποχωρήσουν από το πρωτόκολλο κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων μηνών, για προσωπικούς λόγους.

Στο σχήμα που ακολουθεί (**Σχήμα 38**) παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της διαδικασίας στρατολόγησης των εθελοντών.

Σχήμα 38: Διάγραμμα ροής διαδικασίας στρατολόγησης των εθελοντών.



BASELINE
(22 ΑΣΘΕΝΕΙΣ)



3.4.6 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα SPSS, έκδοση 18.0. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατηγορικές και συνεχείς (ποσοτικές). Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά, δηλαδή συχνότητα (%), ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Η κανονικότητα της κατανομής των υπό εξέταση ποσοτικών μεταβλητών καθορίστηκε με τον **έλεγχο Kolmogorov – Smirnov**. Για τη συσχέτιση δύο ποσοτικών μεταβλητών που ακολουθούν και οι δύο κανονική κατανομή προσδιορίστηκε ο **συντελεστής συσχέτισης κατά Pearson**. Επί ύπαρξης στατιστικής σημαντικότητας αρχικά πραγματοποιήθηκε **απλή γραμμική παλινδρόμηση** (χωρίς διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες). Στη συνέχεια προσδιορίστηκαν οι Διορθωμένοι για διάφορους συγχυτικούς παράγοντες Συντελεστές Συσχέτισης β από **πολυπαραγοντικές γραμμικές παλινδρομήσεις**. Χρησιμοποιήθηκε το **Paired-Sample - t - Test** για τη διερεύνηση της διαφοράς της μέσης τιμής των υπό εξέταση παραμέτρων πριν και μετά την 6μηνη παρέμβαση στην εκάστοτε ομάδα. Ενώ για τη διερεύνηση της μέσης διαφοράς στην εκατοστιαία (%) μεταβολή των υπό εξέταση παραμέτρων μεταξύ των ομάδων Α και Β πραγματοποιήθηκε το **Independent t-Test**, έχοντας εξασφαλίσει την προϋπόθεση της κανονικότητας και στις δύο ομάδες για την εξεταζόμενη κάθε φορά ποσοτική μεταβλητή. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ορίστηκε το **$p < 0,05\%$** .

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΟ 1^ο SCREENING

Πίνακας 13: Φύλο των εθελοντών του αρχικού δείγματος μετά το 1^ο screening

	<u>ΣΥΝΟΛΟ</u> N= 60	
	Συχνότητα (ν)	(%)
ΦΥΛΟ		
Άνδρες	38	63,3
Γυναίκες	22	36,7

Στον **πίνακα 13** φαίνεται η κατανομή του φύλου των 60 δυνητικά υποψηφίων εθελοντών μετά το 1^ο screening. Οι άνδρες ήταν 38, αποτελώντας το 63,3% του δείγματος, ενώ οι γυναίκες 22, αποτελώντας το υπόλοιπο 36,7%.

Πίνακας 14: Ηλικία των εθελοντών του αρχικού δείγματος μετά το 1^ο screening

	Σύνολο N= 60	Άνδρες N= 38	Γυναίκες N=22	p-value*
	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	
ΗΛΙΚΙΑ	50,3 ± 9,9	50,0 ± 10,5	50,7 ± 9,1	0,81

*Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

ΤΑ: Τυπική απόκλιση

Στον **πίνακα 14** φαίνεται ο μέσος όρος της ηλικίας ($\pm$ τυπική απόκλιση) του αρχικού δείγματος των 60 ασθενών μετά το πρώτο screening, στο σύνολο τους και ανά φύλο. Ο μέσος όρος της ηλικίας στο σύνολο του δείγματος ήταν $50,3 \pm 9,9$ έτη. Μεταξύ των δύο φύλων δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,81$).

Πίνακας 15: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και σύσταση σώματος του αρχικού δείγματος μετά το 1^ο screening

	Σύνολο N= 60	Άνδρες N= 38	Γυναίκες N=22	p- value*
ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ & ΣΥΣΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	
Βάρος (kg)	$102,2 \pm 2,3$	$107,5 \pm 20,9$	$93,2 \pm 16,1$	<0,01
BMI (kg/m^2)	$34,4 \pm 4,8$	$34,0 \pm 5,7$	$35,2 \pm 6,0$	0,44
Περιφέρεια μέσης (cm)	$114,4 \pm 14,2$	$117,6 \pm 14,1$	$108,5 \pm 12,7$	0,02
Περιφέρεια ισχίων (cm)	$119,8 \pm 11,0$	$117,6 \pm 9,7$	$123,7 \pm 12,4$	0,04
Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχίου	$0,9 \pm 0,1$	$0,99 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,7$	<0,001
Λίπος (% ΣΒ)	$37,4 \pm 8,5$	$33,6 \pm 7,9$	$43,9 \pm 4,8$	<0,001
Λιπώδης μάζα (kg)	$38,9 \pm 13,9$	$37,6 \pm 15,4$	$41,5 \pm 10,8$	0,265
Άλιπη μάζα (kg)	$63,3 \pm 12,5$	$70,3 \pm 9,6$	$51,7 \pm 6,7$	<0,001
Μυϊκή μάζα (kg)	$60,3 \pm 11,9$	$66,7 \pm 9,2$	$48,9 \pm 6,5$	<0,001
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	$59,5 \pm 8,1$	$63,0 \pm 7,5$	$53,2 \pm 4,7$	<0,001
Ολικό νερό (kg)	$45,1 \pm 9,2$	$50,4 \pm 7,2$	$37,1 \pm 5,3$	<0,001
Ολικό νερό (% ΣΒ)	$45,4 \pm 5,0$	$48,7 \pm 2,7$	$40,1 \pm 3,0$	<0,001
Οστική μάζα (kg)	$3,1 \pm 0,5$	$3,47 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,3$	<0,001
Δείκτης σπλαχνικού λίπους	$15,5 \pm 6,5$	$17,8 \pm 6,8$	$11,5 \pm 3,3$	<0,001

Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

TA: Τυπική απόκλιση

% ΣΒ: % του Σωματικού Βάρους

Στον **πίνακα 15** παρουσιάζονται τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και οι συνιστώσες της σύστασης σώματος τόσο στο σύνολο του αρχικού δείγματος μετά το 1^ο screening, όσο και ανά φύλο. Μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) στο μέσο όρο του βάρους, του λίπους (εκφρασμένου σε % του σωματικού βάρους), στην άλιπη μάζα σώματος, στη μυϊκή μάζα (εκφρασμένη τόσο σε kg όσο και σε % του σωματικού βάρους), στο ολικό νερό (εκφρασμένο τόσο σε kg όσο και σε % του σωματικού βάρους), στην οστική μάζα, στο δείκτη σπλαχνικού λίπους, στην περιφέρεια μέσης και ισχίων καθώς και στο λόγο τους. Αναφορικά με τη λιπώδη μάζα και το Δείκτη Μάζα Σώματος ο μέσος όρος στο σύνολο του δείγματος ήταν $38,9 \pm 13,9$ kg, και $34,4 \pm 4,8$ kg/m² αντίστοιχα χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων (σε κάθε περίπτωση $p > 0,05$).

ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΟ 2^ο SCREENING

Πίνακας 16: Φύλο των εθελοντών του δείγματος μετά το 2^ο screening

	<u>ΣΥΝΟΛΟ</u> N= 32	
	Συχνότητα (ν)	(%)
ΦΥΛΟ		
Άνδρες	21	65,6
Γυναίκες	11	34,4

Στον **πίνακα 16** φαίνεται η κατανομή του φύλου των 32 δυνητικά υποψηφίων εθελοντών μετά το 2^ο screening. Οι άνδρες ήταν 21, αποτελώντας το 65,6% του δείγματος, ενώ οι γυναίκες 11, αποτελώντας το υπόλοιπο 34,4%.

Πίνακας 17: Ηλικία των εθελοντών του δείγματος μετά το 2^ο screening

	Σύνολο N= 32	Άνδρες N= 21	Γυναίκες N=11	p-value*
	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	
ΗΛΙΚΙΑ	50,4 ± 8,3	50,4 ± 7,5	50,4 ± 9,9	0,993

**Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.*

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

ΤΑ: Τυπική απόκλιση

Στον **πίνακα 17** φαίνεται ο μέσος όρος της ηλικίας ($\pm$ τυπική απόκλιση) του δείγματος των 32 ασθενών μετά το δεύτερο screening, στο σύνολο τους και ανά φύλο. Ο μέσος όρος της ηλικίας στο σύνολο του δείγματος ήταν $50,4 \pm 8,3$ έτη. Μεταξύ των δύο φύλων δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,993$).

Πίνακας 18: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και σύσταση σώματος του δείγματος μετά το 2^ο screening

	Σύνολο N= 32	Άνδρες N= 21	Γυναίκες N=11	p- value*
ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ & ΣΥΣΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	
Βάρος (kg)	$104,4 \pm 21,5$	$110,0 \pm 22,9$	$94,3 \pm 14,9$	0,029
BMI (kg/m^2)	$34,7 \pm 5,6$	$34,3 \pm 6,1$	$35,6 \pm 4,7$	0,549
Περιφέρεια μέσης (cm)	$114,2 \pm 13,4$	$117,9 \pm 13,1$	$107,6 \pm 11,5$	0,04
Περιφέρεια ισχίων (cm)	$120,1 \pm 10,7$	$118,1 \pm 9,4$	$123,7 \pm 12,5$	0,168
Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχίου	$0,9 \pm 0,1$	$0,99 \pm 0,05$	$0,85 \pm 0,07$	<0,001
Λίπος (% ΣΒ)	$37,3 \pm 8,5$	$33,0 \pm 7,2$	$45,0 \pm 4,1$	<0,001
Λιπώδης μάζα (kg)	$39,4 \pm 13,5$	$37,4 \pm 15,0$	$43,0 \pm 10,2$	0,284
Άλιπη μάζα (kg)	$65,0 \pm 14$	$72,5 \pm 11,3$	$51,3 \pm 5,2$	<0,001
Άλιπη μάζα (%ΣΒ)	$62,6 \pm 8,5$	$66,9 \pm 7,2$	$54,9 \pm 4,1$	<0,001
Μυϊκή μάζα (kg)	$62,1 \pm 13,5$	$68,9 \pm 10,8$	$48,3 \pm 5,0$	<0,001
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	$59,7 \pm 10,8$	$63,5 \pm 6,9$	$52,1 \pm 4,1$	<0,001
Ολικό νερό (kg)	$46,4 \pm 10,3$	$52,0 \pm 8,5$	$36,9 \pm 4,3$	<0,001
Ολικό νερό (% ΣΒ)	$45,3 \pm 5,1$	$48,4 \pm 2,7$	$39,3 \pm 2,5$	<0,001
Οστική μάζα (kg)	$3,2 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,2$	<0,001
Οστική μάζα (%ΣΒ)	$3,1 \pm 0,4$	$3,3 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,2$	<0,001
Δείκτης σπλαχνικού λίπους	$15,7 \pm 5,7$	$17,8 \pm 6,0$	$12,0 \pm 2,6$	0,005

Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

TA: Τυπική απόκλιση

% ΣΒ: % του Σωματικού Βάρους

BMI: Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)

Στον **πίνακα 18** παρουσιάζονται τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και οι συνιστώσες της σύστασης σώματος τόσο στο σύνολο του δείγματος μετά το 2^ο screening, όσο και ανά φύλο. Μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) στο μέσο όρο του βάρους, του λίπους (εκφρασμένου σε % του σωματικού βάρους), στην άλιπη μάζα σώματος, στη μυϊκή μάζα (εκφρασμένη τόσο σε kg όσο και σε % του σωματικού βάρους), στο ολικό νερό (εκφρασμένο τόσο σε kg όσο και σε % του σωματικού βάρους), στην οστική μάζα, στο δείκτη σπλαχνικού λίπους, στην περιφέρεια μέσης και ισχίων καθώς και στο λόγο τους. Αναφορικά με τη λιπώδη μάζα και το Δείκτη Μάζα Σώματος ο μέσος όρος στο σύνολο του δείγματος ήταν $39,4 \pm 13,5$ kg, και $34,7 \pm 5,6$ kg/m² αντίστοιχα χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων (σε κάθε περίπτωση $p > 0,05$).

ΛΙΠΕΥΝΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ LIF SCORE & ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ Σ ΣΩΜΑΤΟΣ

Πίνακας 19: Αποτελέσματα ελέγχου συσχέτισης κατά Pearson μεταξύ του LIF σκορ και των μεταβλητών της σύστασης σώματος για τους 32 εθελοντές που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία (MRI).

LIF SCORE		
ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ κατά Pearson	p-value
Βάρος (kg)	0,566	0,001
BMI (kg/m ²)	0,555	0,001
Περιφέρεια μέσης (cm)	0,622	<0,001
Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχία	0,244	0,186
Λίπος (% ΣΒ)	0,285	0,120
Άλιπη μάζα (% ΣΒ)	-0,285	0,121
Μυϊκή μάζα (%ΣΒ)	-0,330	0,074
Οστική μάζα (%ΣΒ)	-0,379	0,039
Ολικό νερό (% ΣΒ)	-0,335	0,075

Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

% ΣΒ: % του Σωματικού Βάρους

BMI: Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)

Στον **πίνακα 19** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της συσχέτισης κατά Pearson μεταξύ του LIF score και των διαφόρων μεταβλητών για τους 32 εθελοντές που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία (MRI). Παρατηρήθηκε μία μέτρια στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση του LIF score με το βάρος, το Δείκτη μάζας σώματος και την περιφέρεια μέσης. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την % σύσταση του σώματος σε λίπος, και τον λόγο περιφέρειας μέσης προς ισχία. Η ποσοστιαία σύσταση του σώματος σε νερό και στους μη λιπώδεις ιστούς (άλιπη μάζα, μυϊκή μάζα, οστική μάζα) έδειξε μία μέτρια αρνητική συσχέτιση με το LIF score. Στην περίπτωση της οστικής μάζας η συσχέτιση αυτή φθάνει τη στατιστική σημαντικότητα, ενώ στην περίπτωση της μυϊκής μάζας (% του Σωματικού Βάρους) και του ολικού σωματικού νερού (% του Σωματικού Βάρους) την πλησιάζει ($p=0,074$ και $p=0,075$ αντίστοιχα).

Πίνακας 20: Αδρές συσχετίσεις μεταξύ του LIF score με μεταβλητές της σύστασης σώματος: Αποτελέσματα από απλές γραμμικές παλινδρομήσεις στο σύνολο του δείγματος των 32 ασθενών (αδρόι παράμετροι β).

ΕΞΕΡΤΗΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΕΞΕΡΤΗΤΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	LIF SCORE	
	<u>Crude b</u>	<u>P-value</u>
Βάρος (kg)	0,026	0,001
BMI (kg/m²)	0,099	0,001
Περιφέρεια μέσης (cm)	0,047	<0,001
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	- 0,04	0,07
Οστική μάζα (% ΣΒ)	- 0,896	0,039
Ολικό νερό (% ΣΒ)	- 0,066	0,075

Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p<0,05$

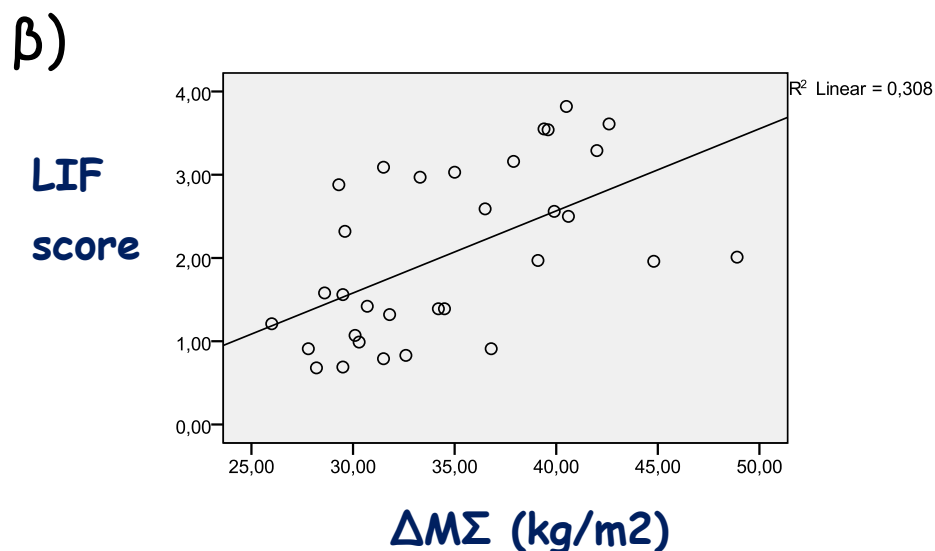
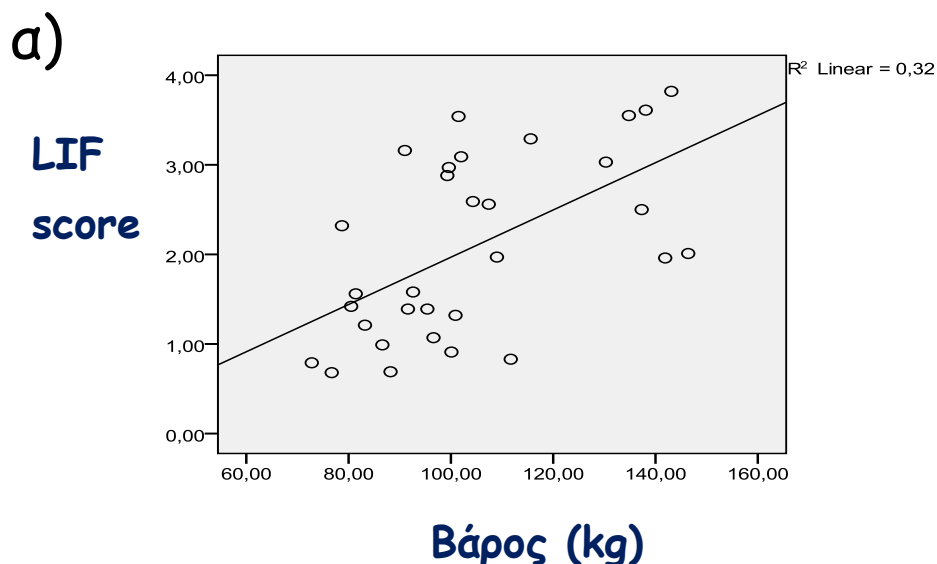
% ΣΒ: % του Σωματικού Βάρους

BMI: Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)

***Crude b:** αδρή παράμετρος γραμμικής συσχέτισης*

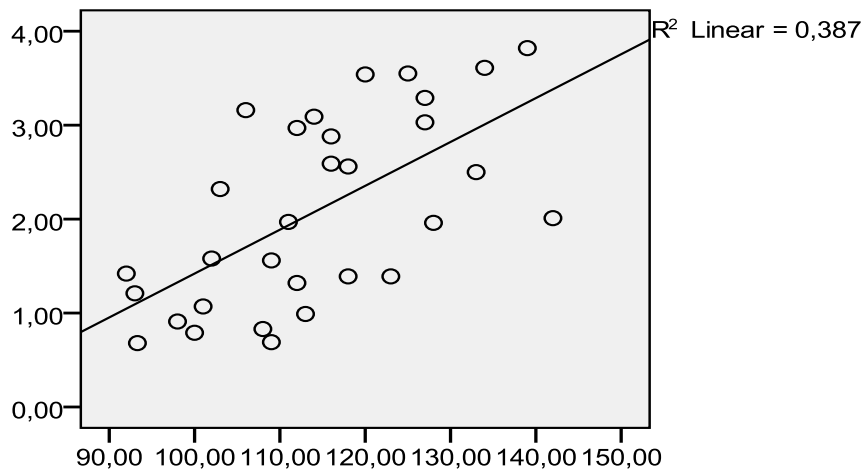
Στον **πίνακα 20** συσχετίστηκαν οι μεταβλητές της σύστασης σώματος (ανεξάρτητες μεταβλητές) με το LIF score (ως εξαρτημένη μεταβλητή). Από την απλή γραμμική παλινδρόμηση προέκυψε θετική συσχέτιση και μάλιστα στατιστικά σημαντική για το βάρος, το BMI και την περιφέρεια μέσης. Αρνητική συσχέτιση και μάλιστα στατιστικά σημαντική προέκυψε για την % οστική μάζα του σώματος ($p=0,039$), ενώ πλησίασε τη στατιστική σημαντικότητα η συσχέτιση του LIF score με τη μυϊκή μάζα (% ΣΒ) και το ολικό νερό (% ΣΒ). Τα αντίστοιχα Scatter - Plots παρουσιάζονται στο σχήμα 39 που ακολουθεί.

Σχήμα 39: Scatter Plots α) LIF score - βάρος (kg) β) LIF score – Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m^2) γ) LIF score - περιφέρεια μέσης (cm) δ) LIF score - μυϊκή μάζα (% Σωματικού Βάρους) ε) LIF score - οστική μάζα (% Σωματικού Βάρους)



γ)

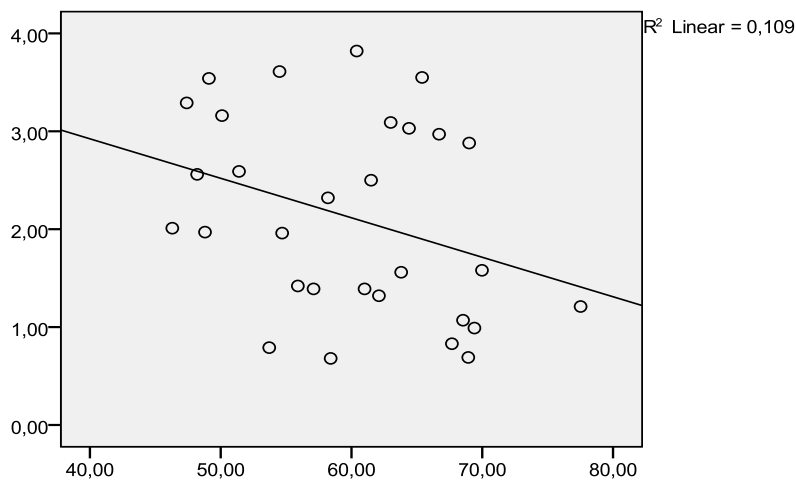
LIF
score



Περιφέρεια μέσης (cm)

δ)

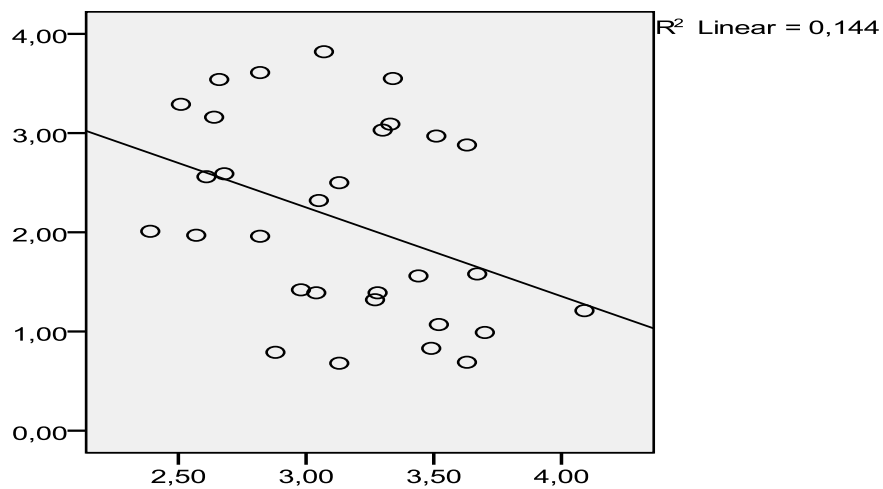
LIF
score



Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)

ε)

LIF
score



Οστική μάζα (% ΣΒ)

Πίνακας 21: Διορθωμένες συσχετίσεις μεταξύ του LIF score με μεταβλητές της σύστασης σώματος. Αποτελέσματα από πολλαπλές γραμμικές παλινδρομήσεις στο σύνολο του δείγματος (Διορθωμένοι παράμετροι b για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες*).

ΕΞΑΡΤΗΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	LIF SCORE	
	<u>Adjusted b *</u>	<u>P-value</u>
Βάρος (kg)	0,029	0,003
BMI (kg/m²)	0,087	0,007
Περιφέρεια μέσης (cm)	0,05	<0,001
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	-0,05	0,059
Οστική μάζα (% ΣΒ)	-1,09	0,041
Ολικό νερό (% ΣΒ)	-0,203	0,001

Adjusted b: διορθωμένη παράμετρος γραμμικής συσχέτισης

Το επίπεδο στατιστική σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

**Πραγματοποιήθηκε διόρθωση για φύλο και ηλικία*

Στον **πίνακα 21** παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ του LIF score και των μεταβλητών σύστασης σώματος στο σύνολο του δείγματος των 32 εθελοντών μετά από προσαρμογή του μοντέλου για τους συγχυτικούς παράγοντες: φύλο και ηλικία. Σκοπός ήταν να εξεταστεί αν οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν από την απλή γραμμική παλινδρόμηση θα παρέμεναν όταν οι συγχυτικοί παράγοντες του φύλου και της ηλικίας λαμβάνονταν υπόψη. Όλες οι συσχετίσεις μεταξύ του LIF score και των μεταβλητών σύστασης σώματος διατήρησαν τη στατιστική σημαντικότητά τους.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση για κάθε μεταβλητή σύστασης σώματος λαμβάνοντας υπόψη το φύλο, την ηλικία, τη λιπώδη μάζα, το BMI, την περιφέρεια μέσης, καθώς και τη μυϊκή μάζα εκφρασμένη ως % σωματικού βάρους (**πίνακας 22**). Στο πλήρες μοντέλο, μόνο η περιφέρεια μέσης παρέμεινε στατιστικά σημαντική ($p=0,058$).

Πίνακας 22: Διορθωμένες συσχετίσεις μεταξύ του LIF score με μεταβλητές της σύστασης σώματος. Αποτελέσματα από πολλαπλές γραμμικές παλινδρομήσεις στο σύνολο του δείγματος (Διορθωμένοι παράμετροι b για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες**).

ΕΞΑΡΤΗΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	LIF SCORE	
	<u>Adjusted b *</u>	<u>P-value</u>
Βάρος (kg)	0,052	0,188
BMI (kg/m²)	0,019	0,866
Περιφέρεια μέσης (cm)	0,076	0,009
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	0,071	0,304
Ολικό νερό (%ΣΒ)	-0,263	0,188
Οστική μάζα (% ΣΒ)	-1,360	0,754

Adjusted b: διορθωμένη παράμετρος γραμμικής συσχέτισης

Το επίπεδο στατιστική σημαντικότητας ορίστηκε $p<0,05$

******Πραγματοποιήθηκε διόρθωση για φύλο, ηλικία, λιπώδης μάζα, BMI, περιφέρεια μέσης, μυϊκή μάζα (%ΣΒ)

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ MAST4HEALTH

Πίνακας 23: Φύλο των εθελοντών του τελικού δείγματος των 22 εθελοντών μετά το 3^ο screening

	<u>ΣΥΝΟΛΟ</u>		<u>ΟΜΑΔΑ Α</u>	<u>ΟΜΑΔΑ Β</u>
	N= 22		N=10	N=12
	Συχνότητα (v)	(%)	(v)	(v)
ΦΥΛΟ				
Άνδρες	14	63,6	4	10
Γυναίκες	8	36,4	6	2

Στον **πίνακα 23** φαίνεται η κατανομή του φύλου των 23 εθελοντών μετά το 3^ο screening, τόσο συνολικά όσο και ανά ομάδα. Οι άνδρες ήταν 14, αποτελώντας το 63,6% του δείγματος, ενώ οι γυναίκες 8, αποτελώντας το υπόλοιπο 36,4%.

Πίνακας 24: Ηλικία των εθελοντών του τελικού δείγματος των 22 εθελοντών μετά το 3^ο screening

	Σύνολο	Ομάδα Α	Ομάδα Β	p-value*
	N= 22	N= 10	N=12	
	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	
ΗΛΙΚΙΑ	48,7 ± 7,6	48,4±9,0	49±6,6	0,86

**Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.*

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

ΤΑ: Τυπική απόκλιση

Πίνακας 25: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και σύσταση σώματος του τελικού δείγματος μετά το 3^ο screening

	Σύνολο N= 22	Ομάδα Α N= 10	Ομάδα Β N=12	p- value*
Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά & Σύσταση Σώματος	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	
Βάρος (kg)	110,4 ± 21,9	101,7 ± 17,2	117,6±23,4	0,082
BMI (kg/m²)	36,8 ± 5,3	35,7 ± 4,6	37,8±5,9	0,376
Περιφέρεια μέσης (cm)	119,3 ± 12,0	113,4 ± 11,7	124,2 ± 10,3	0,032
Περιφέρεια ισχίων (cm)	123,2 ± 9,3	121,4 ± 10,0	124,8 ± 8,9	0,412
Λίπος (% ΣΒ)	39,7 ± 7,3	41,8 ± 6,4	38,0±7,8	0,236
Λιπώδης μάζα (kg)	44,0 ± 12,6	42,6 ± 9,8	45,3±14,9	0,625
Άλιπη μάζα (kg)	66,3 ± 14,8	59,1 ± 12,5	72,3±14,4	0,035
Μυϊκή μάζα (kg)	63,0 ± 14,1	56,2 ± 11,9	68,7±13,7	0,035
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	57,2 ± 6,9	55,2 ± 6,1	58,8 ± 7,4	0,230
Ολικό νερό (kg)	47,9 ± 10,9	42,9 ± 9,1	52,5 ± 10,9	0,043
Ολικό νερό (% ΣΒ)	44,0 ± 4,5	42,1 ± 4,5	45,6 ± 4,0	0,078
Οστική μάζα (kg)	3,3 ± 0,6	2,9 ± 0,5	3,5 ± 0,6	0,03
Δείκτης σπλαχνικού λίπους	17,2 ± 6,0	14,7 ± 4,7	19,4 ± 6,4	0,069

Το p-value έχει προκύψει από το στατιστικό κριτήριο T-test.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $p<0,05$

TA: Τυπική απόκλιση

% ΣΒ: % του Σωματικού Βάρους

BMI: Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)

Στον **πίνακα 25** παρουσιάζονται τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και οι συνιστώσες της σύστασης σώματος τόσο στο σύνολο του δείγματος των 22 ασθενών που αποτέλεσαν και το τελικό δείγμα της μελέτης (3^ο screening), όσο και ανά group. Μεταξύ των δύο ομάδων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) στο μέσο όρο της άλιπης μάζας, της μυϊκής μάζας (kg), του ολικού νερού (σε kg), της οστικής μάζας (kg) και της περιφέρειας μέσης.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΞΑΜΗΝΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Πίνακας 26: Αποτελέσματα από **Paired-Sample t-Test** για την αξιολόγηση των διαφορών στις μεταβλητές σύστασης σώματος μετά την 6μηνη παρέμβαση στην εκάστοτε ομάδα.

Μεταβλητές Σύστασης Σώματος	GROUP A			GROUP B		
	TIME 0 M.O ± TA	TIME 6 M.O ± TA	P- value	TIME 0 M.O ± TA	TIME 6 M.O ± TA	P- value
Βάρος (kg)	103,9 ±18,8	103,5 ± 18,1	0,639	118,0 ±24,9	117,6 ±25,8	0,732
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m ²)	36,5 ± 4,8	36,4 ±4,5	0,618	37,9 ±6,4	37,6 ±7,01	0,577
Περιφέρεια μέσης (cm)	117,0 ±10,6	114,5 ±8,8	0,06	124,4 ±11,3	121,0 ±15,3	0,193
Περιφέρεια ισχίων (cm)	121,8 ±10,4	120,7 ±9,9	0,304	123,8 ±9,4	122,6 ±11,1	0,239
Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχίου	0,96 ± 0,07	0,95 ±0,05	0,321	1,00 ±0,06	0,98 ±0,07	0,342
Λίπος (% ΣΒ)	42 ± 6,7	40,8 ±7,4	0,136	37,5 ±7,7	36,6 ±8,8	0,294
Λιπώδης μάζα (kg)	43,57 ±10,0	42,3 ±10,8	0,052	45,3 ±16,4	44,4 ±18,7	0,543
Άλιπη μάζα (kg)	60,3 ±14,1	61,2 ±13,5	0,345	72,7 ±13,4	73,2 ±13,3	0,646
Μυϊκή μάζα (kg)	57,3 ±13,5	58,1 ±12,9	0,333	69,1 ±12,8	69,6 ±12,7	0,658
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	55,0 ±6,4	56,2 ±7,0	0,123	59,3 ±7,3	60,1 ±8,4	0,318

Ολικό νερό (kg)	43,9 ±10,2	44,3 ±9,6	0,539	53,1 ±10,6	53,2 ±10,5	0,901
Οστική μάζα (kg)	3,0 ±0,6	3,0 ±0,6	0,356	3,6 ±0,6	3,6 ±0,6	0,423
Δείκτης Σπλαχνικού Λίπους	15,4 ±4,8	15,0 ±4,8	0,200	20,3 ±6,6	19,9 ±7,5	0,545

Στον **πίνακα 26** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης **Paired-Sample t-Test** για κάθε ομάδα ξεχωριστά με σκοπό να αξιολογηθούν αρχικά για κάθε ομάδα οι διαφορές στη μέση τιμή ($\pm$ τυπική απόκλιση) πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση σε κάθε μία από τις εξεταζόμενες μεταβλητές ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και μεταβλητών σύστασης σώματος. Παρατηρούμε ότι για την **ομάδα Α** προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά **στη λιπώδη μάζα σώματος** ($p=0,052$), κάτι που δεν φάνηκε για την ομάδα Β. Επίσης η μέση τιμή της **περιφέρειας μέσης** για την ομάδα Α μετά την εξάμηνη παρέμβαση φάνηκε μειωμένη, πλησιάζοντας την στατιστική σημαντικότητα ($p=0,06$).

Όσον αφορά την **ενεργειακή πρόσληψη** έγινε έλεγχος της μεταβολής στη μέση τιμή ($\pm$ τυπική απόκλιση) στην αρχή και στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης για κάθε ομάδα ξεχωριστά (**πίνακας 27**). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή σε καμία από τις δύο ομάδες ($p>0,05$).

Πίνακας 27: Αποτελέσματα από **Paired-Sample t-Test** για την αξιολόγηση των διαφορών στην ενεργειακή πρόσληψη στην αρχή ($t=0$) και στο τέλος ($t=6$) της εξάμηνης παρέμβασης για κάθε ομάδα ξεχωριστά.

Εξεταζόμενη Μεταβλητή	GROUP A			GROUP B		
	TIME 0 M.O $\pm$ TA	TIME 6 M.O $\pm$ TA	P-value	TIME 0 M.O $\pm$ TA	TIME 6 M.O $\pm$ TA	P-value
Ενεργειακή πρόσληψη (Kcal)	1904,21 ± 324,4	2295,65 ±540,8	0,111	2311,38 ±723,0	2301,5 ±647,4	0,996

Πίνακας 28: Αποτελέσματα από **Independent t-Test** για την αξιολόγηση των ποσοστιαίων διαφορών στις μεταβλητές σύστασης σώματος στο τέλος της **6μηνης** παρέμβασης μεταξύ των δύο ομάδων Α και Β

Μεταβλητές Σύστασης Σώματος	GROUP A	GROUP B	p-value
	Μέσος Όρος Ποσοστιαίας Μεταβολής ± ΤΑ	Μέσος Όρος Ποσοστιαίας Μεταβολής ± ΤΑ	
Βάρος (kg)	-0,2 ± 1,7	-0,4 ± 3,0	0,832
BMI (kg/m²)	-0,2 ± 1,7	-0,8 ± 3,5	0,712
Περιφέρεια μέσης (cm)	-2,0 ± 2,3	-2,8 ± 6,1	0,742
Περιφέρεια ισχίων (cm)	-0,8 ± 2,0	-1,0 ± 2,4	0,849
Λόγος περιφέρειας μέσης / ισχίου	-1,1 ± 3,5	-1,7 ± 6,1	0,810
Λίπος (% ΣΒ)	-3,0 ± 4,5	-2,8 ± 6,2	0,943
Λιπώδης μάζα (kg)	-3,3 ± 3,8	-3,2 ± 8,2	0,976
Άλιπη μάζα (kg)	1,8 ± 4,4	0,7 ± 4,0	0,619
Μυϊκή μάζα (kg)	1,8 ± 4,4	0,7 ± 4,0	0,603
Μυϊκή μάζα (% ΣΒ)	2,0 ± 3,1	1,2 ± 4,6	0,706
Ολικό νερό (kg)	1,3 ± 4,5	0,1 ± 2,6	0,542
Οστική μάζα (kg)	2,3 ± 5,9	1,2 ± 3,7	0,641
Δείκτης Σπλαχνικού Λίπους	-3,4 ± 6,6	-2,5 ± 7,8	0,812

Στον **πίνακα 28** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης **Independent Samples t-Test** με σκοπό να αξιολογηθεί η ποσοστιαία μεταβολή στη μέση τιμή ($\pm$ τυπική απόκλιση) κάθε εξεταζόμενης μεταβλητής και αν αυτή διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων Α και Β. Παρατηρούμε ότι σε καμία εξεταζόμενη μεταβλητή δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέση τιμή της λιπώδους μάζας φάνηκε από τον προηγούμενο στατιστικό έλεγχο να μειώνεται στατιστικά σημαντικά στην ομάδα Α μετά το πέρας της 6μηνιας παρέμβασης. Όταν όμως η μέση τιμή της ποσοστιαίας μεταβολής της συγκρίνεται με την ποσοστιαία μεταβολή στην ομάδα Β ($-3,3\% \pm 3,8$ και $-3,2\% \pm 8,2$ για τις ομάδες Α και Β αντίστοιχα), δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,976$). Το ίδιο παρατηρείται και για την ποσοστιαία μεταβολή της περιφέρειας μέσης με μη στατιστικά σημαντική διαφορά της μεταβολής μεταξύ των δύο ομάδων ($-2,0\% \pm 2,3$ για την ομάδα Α και $-2,8\% \pm 6,1$ για την ομάδα Β με $p=0,810$).

Πίνακας 29: Αποτελέσματα από **Paired-Sample t-Test** για την αξιολόγηση των διαφορών στις τιμές του LIF score και ποσοστού ηπατικού λίπους όπως αυτές προκύπτουν από την μέτρηση με MRI σε χρόνο 0 (time 0) και στο τέλος της 6μηνιας παρέμβασης (time 6) για την κάθε ομάδα ξεχωριστά.

Εξεταζόμενες Μεταβλητές	GROUP A			GROUP B		
	TIME 0 M.O $\pm$ TA	TIME 6 M.O $\pm$ TA	P- value	TIME 0 M.O $\pm$ TA	TIME 6 M.O $\pm$ TA	P- value
LIF score (MRI)	2,61 $\pm$ 0,65	2,72 $\pm$ 0,51	0,632	2,63 $\pm$ 0,87	2,68 $\pm$ 0,73	0,828
% Ηπατικό Λίπος (MRI)	12,78 $\pm$ 6,00	12,34 $\pm$ 6,36	0,795	16,1 $\pm$ 9,14	15,8 $\pm$ 8,84	0,799

Πίνακας 30: Αποτελέσματα από **Independent t-Test** για την αξιολόγηση των ποσοστιαίων διαφορών στις μεταβλητές του LIF score και ποσοστού ηπατικού λίπους όπως αυτές προκύπτουν από τη μέτρηση με MRI στο τέλος της **6μηνιας** παρέμβασης μεταξύ των δύο ομάδων A και B.

Εξεταζόμενες Μεταβλητές	GROUP A	GROUP B	p-value
	Μέσος Όρος Ποσοστιαίας Μεταβολής ± TA	Μέσος Όρος Ποσοστιαίας Μεταβολής ± TA	
LIF score (MRI)	8,8 ± 27,11	8,2± 37,55	0,975
% Ηπατικό Λίπος (MRI)	-2,3 ± 38,27	0,5 ± 29,6	0,866

Όπως παρατηρείται στον **πίνακα 29** δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στη μέση τιμή του LIF σκορ και του ποσοστού ηπατικού λίπους στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης για καμία από τις δύο ομάδες που εξετάστηκαν ξεχωριστά. Παρομοίως, η σύγκριση στο μέσο όρο της ποσοστιαίας μεταβολής για τις μεταβλητές του LIF score και του ποσοστού ηπατικού λίπους μεταξύ των δύο ομάδων A και B δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα στο τέλος της εξάμηνιας παρέμβασης (**πίνακας 30**, και στις δύο μεταβλητές $p>0,05$).

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης Mast4Health για την Ελλάδα, μετά την εξάμηνη χορήγηση συμπληρώματος μαστίχας όσον αφορά την επίδραση της στη σύσταση του σώματος. Από το συνολικό δείγμα των 400 εθελοντών στη χώρα μας επιλέχθηκαν 22 ασθενείς με NAFLD/NASH με βάση τα κριτήρια ένταξης/αποκλεισμού, τις τιμές NFS και FIB4 scores και τελικά τις τιμές LIF score που προέκυψαν από τη μαγνητική τομογραφία με τη μέθοδο LiverMultiScan. Οι 22 ασθενείς χωρίστηκαν με βάση κατάλληλο λογισμικό στις δύο ομάδες Α και Β, χωρίς να γνωρίζουν ούτε οι ίδιοι, ούτε και η ερευνητική ομάδα, το group ένταξης τους (παρέμβασης ή placebo). Αναμφίβολα ο διπλά τυφλός σχεδιασμός της μελέτης αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα σχεδιασμού της κλινικής δοκιμής MAST4HEALTH.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η μελέτη μετά το πέρας των έξι μηνών συνεχίζεται με σκοπό να ενταχθούν στο πρωτόκολλο επιπλέον άτομα και να ενισχυθεί η στατιστική ισχύς αλλά και η ομοιομορφία των δύο δειγμάτων Α και Β για την εξαγωγή αξιόπιστων συμπερασμάτων. Εφόσον η μελέτη συνεχίζεται τόσο στη χώρα μας όσο και στα υπόλοιπα ερευνητικά κέντρα (Ιταλία και Σερβία), δεν έχει γίνει ανακοινώσιμη η ομάδα παρέμβασης και placebo (διπλά τυφλή μελέτη).

Είναι αναγκαίο να ληφθεί υπόψιν ότι το παρόν μη επαρκές δείγμα της κλινικής δοκιμής με την ανισοκατανομή των φύλων μεταξύ των δύο ομάδων φαίνεται να αποτρέπει την ανάδειξη στατιστικής σημαντικότητας. Συνεπώς, δεν είναι εφικτή και επιστημονικά ορθή η εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων, παρά μόνο τάσεων και ερευνητικών υποθέσεων στηριζόμενοι στην υπάρχουσα βιβλιογραφία. Το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο αποτελεί ένα εκ των τριών ερευνητικών κέντρων που διεξάγεται ταυτόχρονα η εισροή εθελοντών στην κλινική δοκιμή (Ελλάδα, Ιταλία, Σερβία), γι' αυτό και το παρόν μεμονωμένο δείγμα είναι μη αντιπροσωπευτικό του συνολικού τυχαιοποιημένου, με στόχο τα 100 άτομα, για την εξαγωγή αξιόπιστων καταληκτικών συμπερασμάτων.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος φαίνεται να συσχετίζεται με τη σύσταση του σώματος [173] . Οι μελέτες δείχνουν ότι η ηπατική στεάτωση συσχετίζεται με το Δείκτη Μάζα Σώματος, αλλά πιο πολύ συνδέεται με τη σπλαχνική παχυσαρκία (μετρημένη ως περίμετρος μέσης) καθώς ο

σπλαχνικός λιπώδης ιστός είναι λιπολυτικά πιο ενεργός συγκριτικά με τον υποδόριο. Στις αναλύσεις μας αρχικά χρησιμοποιήθηκε το δείγμα των 32 εθελοντών (2^ο screening) που πραγματοποίησε μαγνητική τομογραφία με τη μέθοδο LiverMultiScan, για να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση με τους ανθρωπομετρικούς δείκτες παχυσαρκίας και τις μεταβλητές σύστασης σώματος. Η συγκεκριμένη τεχνική μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση, υπολογίζοντας ένα σκορ, το οποίο καλείται LIF score και το οποίο ενδείκνυται για τη διάκριση της ηπατικής στεάτωσης από τη NASH [82]. Πράγματι, και στην παρούσα μελέτη προέκυψε θετική συσχέτιση και μάλιστα στατιστικά σημαντική μεταξύ του LIF score με το βάρος (kg), το ΔΜΣ (kg/m²) και την περιφέρεια μέσης (cm) **,πίνακας 19 και 20**, κάτι που έρχεται σε πλήρη συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Το μικρό δείγμα του πληθυσμού (n=32) πιθανότατα να μην επέτρεψε την ανάδειξη στατιστικά σημαντικής θετικής συσχέτισης μεταξύ του LIF score με τη λιπώδη μάζα εκφρασμένη ως % του σωματικού βάρους.

Επιπλέον, σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύνδεση της άλιπης μάζας με τη μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος [179]. Αν και η βιβλιογραφία σε αυτό το πεδίο είναι ελλιπής με αρκετούς περιορισμούς, μεθοδολογικούς, σύγκρισης και ερμηνείας, φαίνεται ότι η οστική πυκνότητα (όπως αυτή αξιολογείται από DXA) και η σκελετική μάζα (όπως αυτή αξιολογείται από DXA ή βιοηλεκτρική εμπέδηση) συσχετίζονται ανεξάρτητα και αρνητικά με τη NAFLD. Πράγματι, και στον παρόν δείγμα που μελετήθηκε προκύπτει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του LIF score με τη μυϊκή μάζα, την οστική μάζα και το ολικό νερό (εκφρασμένα ως % του σωματικού βάρους). Αξίζει, ωστόσο, να αναφερθεί ότι στην παρούσα ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η οστική μάζα όπως προκύπτει από την μέτρηση βιοηλεκτρικής εμπέδησης, ενώ στη διαθέσιμη βιβλιογραφία χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο η οστική πυκνότητα καθώς και δείκτες δύναμης και σχηματισμού [179].

Όπως έχει ήδη αναφερθεί πιθανοί μηχανισμοί που συνδέουν τη μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος με την σκελετική και οστική μάζα αφορούν τον άξονα σωματοτροπίνης - αυξητικής ορμόνης - IGF-1, την έλλειψη βιταμίνης D, τα χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης, την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης, τη χρόνια φλεγμονή καθώς και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας [179].

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διόρθωση για φύλο και ηλικία και όλες οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που προέκυψαν από τις πολλαπλές γραμμικές παλινδρομήσεις (πίνακας 21) διατήρησαν τη σημαντικότητα τους. Στο πλήρες μοντέλο που πραγματοποιήθηκε διόρθωση για φύλο, ηλικία, λιπώδη μάζα, BMI, περιφέρεια μέσης, μυϊκή μάζα (% του σωματικού βάρους), μόνο η περιφέρεια μέσης διατήρησε τη στατιστική σημαντικότητα. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία που υπογραμμίζει το ρόλο της **σπλαχνικής εναπόθεσης** λίπους ως επιβαρυντικός παράγοντας εμφάνισης/εξέλιξης της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος [173, 280]. Γι' αυτό και παρατηρούμε ότι η συσχέτιση του βάρους με το LIF score εξασθενεί ($p > 0,05$), όταν στο μοντέλο εισάγεται η σπλαχνική παχυσαρκία εκφραζόμενη ως περιφέρεια μέσης.

Στη συνέχεια, προχωρήσαμε στη διερεύνηση της επίδρασης της εξάμηνης παρέμβασης στους ανθρωπομετρικούς δείκτες και τις μεταβλητές σύστασης σώματος για τους ασθενείς των δύο ομάδων που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο. Το τελικό δείγμα της μελέτης αποτελείται από 22 ασθενείς, εκ των οποίων οι 14 είναι άνδρες και 8 γυναίκες αποτελώντας το 63,6% και 36,4% αντίστοιχα. Η κατανομή τους στις δύο ομάδες Α και Β έγινε με κατάλληλο λογισμικό ώστε να εξασφαλιστεί η τυχαιοποίηση και τυφλοποίηση τόσο για τους ασθενείς όσο και την ερευνητική ομάδα (διπλά τυφλή). Αξίζει να αναφερθεί ότι το παρόν δείγμα είναι ένα εκ των τριών ερευνητικών κέντρων που διεξάγεται ταυτόχρονα η κλινική δοκιμή, γι' αυτό και δεν ικανοποιείται η ισοκατανομή των φύλων στις δύο ομάδες. Πιο συγκεκριμένα, συμπεριλήφθησαν 4 άνδρες και 6 γυναίκες για την ομάδα Α (σύνολο 10 ασθενείς) και 10 άνδρες και 2 γυναίκες για την ομάδα Β (σύνολο 12 ασθενείς) με τον μέσο όρο των ηλικιών τους να μην διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ομάδων ($48,4 \pm 9,0$ έτη για την ομάδα Α και $49 \pm 6,6$ έτη για την ομάδα Β, $p = 0,86$).

Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί ότι μέχρι το τέλος της παρέμβασης παρέμειναν στο πρωτόκολλο τα 17 άτομα εκ των 22. Σημειώθηκαν τρεις αποχωρήσεις από την ομάδα Α και δύο από την ομάδα Β. Συνεπώς, το μη επαρκές του παρόντος δείγματος δεν επιτρέπει όπως έχει ήδη τονιστεί την εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων.

Από την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στο τέλος των έξι μηνών παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση στο μέσο όρο του βάρους , μη στατιστικά σημαντική και για τις δύο υπό μελέτη ομάδες. Στόχος ήταν η διατήρηση του σωματικού βάρους ή η μεταβολή του σε ποσοστό έως 5%, ποσοστό πάνω από το οποίο φαίνεται να επιδρά

στην φλεγμονή/ίνωση είτε επιβαρυντικά, εάν η μεταβολή είναι ανοδική, είτε προστατευτικά, εάν η μεταβολή είναι καθοδική [4, 10]. Επειδή στόχος της κλινικής δοκιμής είναι να αναδείξει την ωφέλιμη δράση της μαστίχας στην φλεγμονή/ίνωση πρέπει να εξασφαλιστεί η διατήρηση ή έστω μεταβολή του βάρους από τους εθελοντές σε ποσοστό που να μην είναι αιτιολογικός της βελτίωσης της ιστοπαθολογίας του λιπώδους ήπατος. Σε κάθε περίπτωση, οι εθελοντές και των δύο ομάδων έλαβαν εξατομικευμένες οδηγίες διατροφής από τους διαιτολόγους της ερευνητικής ομάδας για τη βελτίωση των συνηθειών διατροφής και άσκησης και τον έλεγχο της απώλειας στο αποδεκτό επίπεδο. Αξίζει να αναφερθεί ότι οι κατευθυντήριες οδηγίες αναφέρουν την σταδιακή απώλεια βάρους για τους ασθενείς με NAFLD, ώστε να μην επηρεάζεται αρνητικά το λιπώδες ήπαρ [53]. Δεδομένου ότι οι εθελοντές είχαν την απαραίτητη υγιεινοδιαιτητική καθοδήγηση, η μη στατιστικά σημαντική μεταβολή του βάρους (και μάλιστα μείωση και στις δύο ομάδες) ήταν από τους επιθυμητούς στόχους που είχαν εξαρχής οριστεί. Έγινε μάλιστα έλεγχος της ενεργειακής πρόσληψης και δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στον μέσο όρο της θερμιδικής πρόσληψης, στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης για κάθε ομάδα ξεχωριστά.

Όσον αφορά τη σύσταση σώματος μετά το πέρας της παρέμβασης φάνηκε για την ομάδα Α, μείωση της λιπώδους μάζας (σε kg) και της περιμέτρου μέσης (σε cm), προσεγγίζοντας την στατιστική σημαντικότητα ($p=0,052$ και $p=0,06$ αντίστοιχα). Όπως έχει ήδη αναφερθεί δεδομένου ότι η μελέτη βρίσκεται σε εξέλιξη δεν έχει γίνει γνωστή η ομάδα (verum) που λαμβάνει τη μαστίχα για να μπορούμε να δώσουμε ερμηνείες και μηχανισμούς και να αξιολογήσουμε αυτά τα ευρήματα. Ωστόσο, αυτό που προσδοκούμε σύμφωνα με την ερευνητική μας υπόθεση είναι η ομάδα παρέμβασης να δείξει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ $t=0$ (έναρξη της παρέμβασης) και $t=6$ (ολοκλήρωση εξάμηνης παρέμβασης).

Η αντιφλεγμονώδης και αντιοξειδωτική επίδραση της μαστίχας είναι αρκετά μελετημένη[252]. Δεδομένου ότι η NAFLD και η παχυσαρκία εμπλέκουν κοινούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς χρόνιας φλεγμονής, οξειδωτικού στρες και διαταραγμένης μεταβολικής λειτουργίας, ενδεχόμενη αντιφλεγμονώδης επίδραση της μαστίχας θα μπορούσε να λειτουργεί ευεργετικά και στην λιπώδη διήθηση και στη σύσταση του σώματος με επακόλουθο τη βελτίωση στην τιμή του LIF σκορ, το προφίλ των λιποκινών (μείωση του TNF- α , αύξηση της αδιπονεκτίνης) καθώς και βελτίωση της σύστασης σώματος. Η λιπώδης μάζα και η σπλαχνική παχυσαρκία (εκφραζόμενη ως περίμετρος μέσης) αντανakλούν κύριους δείκτες παχυσαρκίας, οι οποίοι παρατηρούμε

στην ομάδα A να μειώνονται στο τέλος της παρέμβασης μας . Όσον αφορά το LIF score και το ποσοστό ηπατικού λίπους, προχωρήσαμε στη διερεύνηση της ύπαρξης διαφοράς στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης τόσο για κάθε ομάδα ξεχωριστά όσο και στη μεταξύ τους ποσοστιαία μεταβολή, με μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Αναφορικά με τους δείκτες φλεγμονής η αξιολόγηση της μεταβολής τους δεν αποτελεί αντικείμενο της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας. Ωστόσο, είναι σημαντικό να αξιολογηθούν και να ληφθούν υπόψιν για την πληρέστερη ερμηνεία των ευρημάτων μας.

Η βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της μαστίχας στη σύσταση του σώματος και σε δείκτες παχυσαρκίας είναι φτωχή. Αξίζει να αναφερθεί μία κλινική δοκιμή με μαστίχα Χίου που μελέτησε την επίδραση της κατανάλωσης της στη γλυκαιμική ρύθμιση και στα λιπίδια σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [281]. Στην διασταυρούμενη αυτή μελέτη εξετάστηκαν 24 άτομα (9 γυναίκες και 15 άνδρες) ηλικίας $64,1 \pm 8,6$ ετών, με μέση διάρκεια διαβήτη $11,7 \pm 5,7$ έτη και γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, $HbA1c = 7,3 \pm 0,8\%$. Στους συμμετέχοντες χορηγήθηκαν με τυχαία σειρά caps placebo ή caps μαστίχας Χίου περιεκτικότητας 350mg 3 φορές την ημέρα για 2 μήνες, με ένα μεσοδιάστημα μεταξύ των φάσεων διάρκειας 2 εβδομάδων. Μετρήθηκαν το σωματικό βάρος, η περίμετρος μέσης, η αρτηριακή πίεση, η τιμή της $HbA1c$, του σακχάρου, των λιπιδίων και της CRP στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης. Το είδος της αντιδιαβητικής, αντιυπερτασικής και υπολιπιδαιμικής αγωγής παρέμεινε το ίδιο σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Τα πρόδρομα αποτελέσματα έδειξαν ότι η βραχυχρόνια χορήγηση μαστίχας Χίου σχετίζεται με μικρή βελτίωση της γλυκαιμικής ρύθμισης και με μείωση της περιμέτρου της μέσης σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη 2, ανεξάρτητα από την αντιδιαβητική αγωγή.

Τέλος, η σύγκριση των ποσοστιαίων διαφορών στις μεταβλητές σύστασης σώματος και ανθρωπομετρικών δεικτών μεταξύ των δύο ομάδων δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Ωστόσο, οι περιορισμοί που έχουν ήδη αναφερθεί στο παρόν δείγμα και στα χαρακτηριστικά των δύο ομάδων A και B από την έναρξη της παρέμβασης πιθανώς να μην επέτρεψαν την ανάδειξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι ενώ για τη λιπώδη μάζα και την περιφέρεια μέσης φάνηκε μείωση στην ομάδα A στο τέλος της παρέμβασης, όταν η ποσοστιαία μεταβολή συγκρίθηκε με της ομάδας B δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αξίζει να αναφερθεί ότι για την ομάδα B (10 εθελοντές της ομάδας B έναντι 7 της ομάδας A) παρατηρήθηκε επίσης μείωση στη μέση τιμή των δεικτών

αυτών, βέβαια μη στατιστικά σημαντική. Οπότε είναι δύσκολη η ανάδειξη στατιστικής σημαντικότητας σε ένα μη επαρκές δείγμα ακόμη και εάν αυτή υπάρχει. Αναδεικνύεται, λοιπόν, η ανάγκη μεγαλύτερου δείγματος και συνολικά και ισόποσα για τις δύο ομάδες Α και Β. Αναμφισβήτητα, τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δεν επιτρέπουν την εξαγωγή καταληκτικών συμπερασμάτων. Απαιτείται η ολοκλήρωση της παρέμβασης απ' όλα τα ερευνητικά κέντρα ώστε να γίνει δυνατή η στατιστική ανάλυση και ερμηνεία τους. Τότε αναμένεται να αποκαλυφθεί η κωδικοποίηση των δύο ομάδων Α και Β, ώστε να αξιολογηθούν συνολικά τα αποτελέσματα και η επίδραση της μαστίχας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ΜΑΝΙΟΣ, Γ., ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ 2006.
2. Jebb, S.A. and M. Elia, *Techniques for the measurement of body composition: a practical guide*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1993. **17**(11): p. 611-21.
3. Younossi, Z.M., et al., *Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes*. Hepatology, 2016. **64**(1): p. 73-84.
4. 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.
5. Krawczyk, M., L. Bonfrate, and P. Portincasa, *Nonalcoholic fatty liver disease*. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010. **24**(5): p. 695-708.
6. Hassan, K., et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: a comprehensive review of a growing epidemic*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(34): p. 12082-101.
7. Sattar, N., E. Forrest, and D. Preiss, *Non-alcoholic fatty liver disease*. BMJ, 2014. **349**: p. g4596.
8. Younossi, Z.M., et al., *Systematic review with meta-analysis: non-alcoholic steatohepatitis - a case for personalised treatment based on pathogenic targets*. Aliment Pharmacol Ther, 2014. **39**(1): p. 3-14.
9. Ploeg, R.J., et al., *Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis*. Transplantation, 1993. **55**(4): p. 807-13.
10. *EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2016. **64**(6): p. 1388-402.
11. Albert Do, J.K.L., *Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Primer*. CLINICAL LIVER DISEASE,, 2016. **7**(5): p. 106-108.
12. Vernon, G., A. Baranova, and Z.M. Younossi, *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.
13. Bedogni, G., et al., *Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study*. Hepatology, 2007. **46**(5): p. 1387-91.
14. Oda, K., et al., *Clinical features of hepatocellular carcinoma associated with nonalcoholic fatty liver disease: a review of human studies*. Clin J Gastroenterol, 2015. **8**(1): p. 1-9.
15. Wong R, A.M., *Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States*. Gastroenterology 2015.
16. Armstrong, M.J., et al., *Extrahepatic complications of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2014. **59**(3): p. 1174-97.
17. Lazo, M., et al., *Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994*. Am J Epidemiol, 2013. **178**(1): p. 38-45.
18. Szczepaniak, L.S., et al., *Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **288**(2): p. E462-8.
19. Fabbrini, E., S. Sullivan, and S. Klein, *Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications*. Hepatology, 2010. **51**(2): p. 679-89.
20. Gibney M.J, E.M., ed. *Κλινική Διατροφή*. 2010.
21. Musso, G., R. Gambino, and M. Cassader, *Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Prog Lipid Res, 2009. **48**(1): p. 1-26.

22. Shimomura, I., et al., *Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(24): p. 13656-61.
23. Yamashita, H., et al., *A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(16): p. 9116-21.
24. Shimano, H., et al., *Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells*. J Clin Invest, 1997. **99**(5): p. 846-54.
25. Shimomura, I., Y. Bashmakov, and J.D. Horton, *Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus*. J Biol Chem, 1999. **274**(42): p. 30028-32.
26. Iizuka, K., et al., *Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(19): p. 7281-6.
27. Mitsuyoshi, H., et al., *Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatol Res, 2009. **39**(4): p. 366-73.
28. Kohjima, M., et al., *Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease*. Int J Mol Med, 2007. **20**(3): p. 351-8.
29. Diraison, F., P. Moulin, and M. Beylot, *Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during non-alcoholic fatty liver disease*. Diabetes Metab, 2003. **29**(5): p. 478-85.
30. Donnelly, K.L., et al., *Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. J Clin Invest, 2005. **115**(5): p. 1343-51.
31. Petersen, K.F., et al., *The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(31): p. 12587-94.
32. Chakravarthy, M.V., et al., *"New" hepatic fat activates PPARalpha to maintain glucose, lipid, and cholesterol homeostasis*. Cell Metab, 2005. **1**(5): p. 309-22.
33. McGarry, J.D. and D.W. Foster, *Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production*. Annu Rev Biochem, 1980. **49**: p. 395-420.
34. Klein, S., ed. *The malnourished patient: nutritional assessment and management*. 2002.
35. Desvergne, B. and W. Wahli, *Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism*. Endocr Rev, 1999. **20**(5): p. 649-88.
36. Δημόπουλος Κ., Α.Σ., ed. *ΒΑΣΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ* 2009: ΑΘΗΝΑ
37. Zhang, *Mitochondrial dysfunction due to long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency causes hepatic steatosis and hepatic insulin resistance*. . Proc Natl Acad Sci 2007.
38. Ibdah, J.A., et al., *Mice heterozygous for a defect in mitochondrial trifunctional protein develop hepatic steatosis and insulin resistance*. Gastroenterology, 2005. **128**(5): p. 1381-90.
39. Xu, A., et al., *The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice*. J Clin Invest, 2003. **112**(1): p. 91-100.
40. Seo, Y., *PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes*. J Gastroenterol Hepatol., 2008.
41. Stefanovic-Racic, M., *A moderate increase in carnitine palmitoyltransferase 1a activity is sufficient to substantially reduce hepatic triglyceride levels*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008.
42. Savage, D.B., et al., *Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2*. J Clin Invest, 2006. **116**(3): p. 817-24.
43. Bugianesi, E., et al., *Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms*. Diabetologia, 2005. **48**(4): p. 634-42.

44. Sanyal, A.J., et al., *Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities*. Gastroenterology, 2001. **120**(5): p. 1183-92.
45. Chalasani, N., et al., *Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2003. **37**(3): p. 544-50.
46. Kotronen, A., et al., *Liver fat and lipid oxidation in humans*. Liver Int, 2009. **29**(9): p. 1439-46.
47. Greco, D., et al., *Gene expression in human NAFLD*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008. **294**(5): p. G1281-7.
48. Caldwell, S.H., et al., *Mitochondrial abnormalities in non-alcoholic steatohepatitis*. J Hepatol, 1999. **31**(3): p. 430-4.
49. Perez-Carreras, M., et al., *Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2003. **38**(4): p. 999-1007.
50. Cortez-Pinto, H., et al., *Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study*. JAMA, 1999. **282**(17): p. 1659-64.
51. Day, C.P. and O.F. James, *Steatohepatitis: a tale of two "hits"?* Gastroenterology, 1998. **114**(4): p. 842-5.
52. Angulo, P. and K.D. Lindor, *Non-alcoholic fatty liver disease*. J Gastroenterol Hepatol, 2002. **17 Suppl**: p. S186-90.
53. Raman, *Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Clinical Approach and Review*. Can J Gastroenterol 2006.
54. Baran, B. and F. Akyuz, *Non-alcoholic fatty liver disease: what has changed in the treatment since the beginning?* World J Gastroenterol, 2014. **20**(39): p. 14219-29.
55. Bhala, N., R.I. Jouness, and E. Bugianesi, *Epidemiology and natural history of patients with NAFLD*. Curr Pharm Des, 2013. **19**(29): p. 5169-76.
56. Tilg H. , M.A., *Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis*. HEPATOLOGY 2010.
57. Miele, L., et al., *Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2009. **49**(6): p. 1877-87.
58. Salaspuro, M., *Bacteriocolonic pathway for ethanol oxidation: characteristics and implications*. Ann Med, 1996. **28**(3): p. 195-200.
59. Vigano, M., et al., *Insulin resistance influence iron metabolism and hepatic steatosis in type II diabetes*. Gastroenterology, 2000. **118**(5): p. 986-7.
60. George, D., *Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis*. Gastroenterology, 1998.
61. Mendler, M.H., et al., *Insulin resistance-associated hepatic iron overload*. Gastroenterology, 1999. **117**(5): p. 1155-63.
62. Woods, J.D., *An introduction to reactive oxygen species and their possible roles in substance abuse*. Obstet Gynecol Clin North Am, 1998.
63. Facchini, F.S., N.W. Hua, and R.A. Stoohs, *Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease*. Gastroenterology, 2002. **122**(4): p. 931-9.
64. Sookoian, *A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity*. J Lipid Res, 2009.
65. Valenti, L., et al., *Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **51**(4): p. 1209-17.
66. Wang, *The PNPLA3 I148M polymorphism is associated with insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in a normoglycaemic population*. Liver Int, 2011.
67. LaBrecque, D.R., et al., *World Gastroenterology Organisation global guidelines: Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis*. J Clin Gastroenterol, 2014. **48**(6): p. 467-73.
68. Lee, S.S. and S.H. Park, *Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(23): p. 7392-402.

69. Angulo, P., et al., *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-54.
70. Wanless, I.R. and J.S. Lentz, *Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors*. Hepatology, 1990. **12**(5): p. 1106-10.
71. Kleiner, D.E., et al., *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. **41**(6): p. 1313-21.
72. Brunt, E.M., *Pathology of nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatol Res, 2005. **33**(2): p. 68-71.
73. Mofrad, P., et al., *Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values*. Hepatology, 2003. **37**(6): p. 1286-92.
74. Adams, L.A. and J.A. Talwalkar, *Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease*. J Clin Gastroenterol, 2006. **40 Suppl 1**: p. S34-8.
75. Angulo, P., et al., *Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 1999. **30**(6): p. 1356-62.
76. Haukeland, J.W., et al., *Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2*. J Hepatol, 2006. **44**(6): p. 1167-74.
77. Dowman, J.K., J.W. Tomlinson, and P.N. Newsome, *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.
78. Festi, D., et al., *Review article: the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease -- availability and accuracy of non-invasive methods*. Aliment Pharmacol Ther, 2013. **37**(4): p. 392-400.
79. Saadeh, S., et al., *The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease*. Gastroenterology, 2002. **123**(3): p. 745-50.
80. Ratziu, V., et al., *A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference*. J Hepatol, 2010. **53**(2): p. 372-84.
81. Machado, M.V. and H. Cortez-Pinto, *Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal*. J Hepatol, 2013. **58**(5): p. 1007-19.
82. Pavlides, M., et al., *Multiparametric magnetic resonance imaging predicts clinical outcomes in patients with chronic liver disease*. Journal of hepatology, 2016.
83. Ratziu, V., et al., *Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. BMC Gastroenterol, 2006. **6**: p. 6.
84. Lemoine, M., et al., *Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease*. Liver Int, 2009. **29**(9): p. 1431-8.
85. Koehler, E.M., et al., *External validation of the fatty liver index for identifying nonalcoholic fatty liver disease in a population-based study*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2013. **11**(9): p. 1201-4.
86. Bellentani, S., et al., *Behavior therapy for nonalcoholic fatty liver disease: The need for a multidisciplinary approach*. Hepatology, 2008. **47**(2): p. 746-54.
87. Marra, F. and S. Lotersztajn, *Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment*. Curr Pharm Des, 2013. **19**(29): p. 5250-69.
88. Schuppan, D. and J.M. Schattenberg, *Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches*. J Gastroenterol Hepatol, 2013. **28 Suppl 1**: p. 68-76.
89. Attar, B.M. and D.H. Van Thiel, *Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease*. ScientificWorldJournal, 2013. **2013**: p. 481893.
90. Promrat, K., et al., *Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2010. **51**(1): p. 121-9.
91. Harrison, S.A., et al., *Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial*. Hepatology, 2009. **49**(1): p. 80-6.
92. Bhat, G., et al., *Life style modification improves insulin resistance and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. World J Hepatol, 2012. **4**(7): p. 209-17.

93. Thoma, C., C.P. Day, and M.I. Trenell, *Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review*. J Hepatol, 2012. **56**(1): p. 255-66.
94. Peng, L., J. Wang, and F. Li, *Weight reduction for non-alcoholic fatty liver disease*. Cochrane Database Syst Rev, 2011(6): p. CD003619.
95. Centis, E., et al., *The effect of lifestyle changes in non-alcoholic fatty liver disease*. Dig Dis, 2010. **28**(1): p. 267-73.
96. Moscatiello, S., et al., *Cognitive-behavioral treatment of nonalcoholic Fatty liver disease: a propensity score-adjusted observational study*. Obesity (Silver Spring), 2011. **19**(4): p. 763-70.
97. Katsagoni, C.N., et al., *Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis*. Metabolism, 2017. **68**: p. 119-132.
98. Musso, G., et al., *Impact of sterol regulatory element-binding factor-1c polymorphism on incidence of nonalcoholic fatty liver disease and on the severity of liver disease and of glucose and lipid dysmetabolism*. Am J Clin Nutr, 2013. **98**(4): p. 895-906.
99. Petta, S., et al., *Industrial, not fruit fructose intake is associated with the severity of liver fibrosis in genotype 1 chronic hepatitis C patients*. J Hepatol, 2013. **59**(6): p. 1169-76.
100. Simopoulos, A.P., *Dietary omega-3 fatty acid deficiency and high fructose intake in the development of metabolic syndrome, brain metabolic abnormalities, and non-alcoholic fatty liver disease*. Nutrients, 2013. **5**(8): p. 2901-23.
101. Zivkovic, A.M., J.B. German, and A.J. Sanyal, *Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(2): p. 285-300.
102. Saab, S., et al., *Impact of coffee on liver diseases: a systematic review*. Liver Int, 2014. **34**(4): p. 495-504.
103. Dunn, W., R. Xu, and J.B. Schwimmer, *Modest wine drinking and decreased prevalence of suspected nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2008. **47**(6): p. 1947-54.
104. Ascha, M.S., et al., *The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2010. **51**(6): p. 1972-8.
105. Boden, G., *High- or low-carbohydrate diets: which is better for weight loss, insulin resistance, and fatty livers?* Gastroenterology, 2009. **136**(5): p. 1490-2.
106. Lazo, M., et al., *Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes*. Diabetes Care, 2010. **33**(10): p. 2156-63.
107. Perreault, L., et al., *Effect of regression from prediabetes to normal glucose regulation on long-term reduction in diabetes risk: results from the Diabetes Prevention Program Outcomes Study*. Lancet, 2012. **379**(9833): p. 2243-51.
108. Haukeland, J.W., et al., *Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial*. Scand J Gastroenterol, 2009. **44**(7): p. 853-60.
109. Bugianesi, E., et al., *A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease*. Am J Gastroenterol, 2005. **100**(5): p. 1082-90.
110. Tiikkainen, M., et al., *Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes*. Diabetes, 2004. **53**(8): p. 2169-76.
111. Bhalla, K., et al., *Metformin prevents liver tumorigenesis by inhibiting pathways driving hepatic lipogenesis*. Cancer Prev Res (Phila), 2012. **5**(4): p. 544-52.
112. Zhang, Z.J., et al., *Metformin for liver cancer prevention in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(7): p. 2347-53.
113. Sanyal, A.J., et al., *Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis*. N Engl J Med, 2010. **362**(18): p. 1675-85.

114. Ratzliff, V., et al., *Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial*. Gastroenterology, 2008. **135**(1): p. 100-10.
115. Ratzliff, V., et al., *Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial*. Hepatology, 2010. **51**(2): p. 445-53.
116. Miller, E.R., 3rd, et al., *Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality*. Ann Intern Med, 2005. **142**(1): p. 37-46.
117. Schurks, M., et al., *Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ, 2010. **341**: p. c5702.
118. Klein, E.A., et al., *Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT)*. JAMA, 2011. **306**(14): p. 1549-56.
119. Kwok, R., et al., *Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease--the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments*. Aliment Pharmacol Ther, 2014. **39**(3): p. 254-69.
120. Lindor, K.D., et al., *Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial*. Hepatology, 2004. **39**(3): p. 770-8.
121. Leuschner, U.F., et al., *High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial*. Hepatology, 2010. **52**(2): p. 472-9.
122. Parker, H.M., et al., *Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis*. J Hepatol, 2012. **56**(4): p. 944-51.
123. Sanyal, A.J., et al., *No significant effects of ethyl-eicosapentanoic acid on histologic features of nonalcoholic steatohepatitis in a phase 2 trial*. Gastroenterology, 2014. **147**(2): p. 377-84 e1.
124. Argo, C.K., et al., *Effects of n-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial*. J Hepatol, 2015. **62**(1): p. 190-7.
125. Schauer, P.R., D.L. Bhatt, and S.R. Kashyap, *Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes*. N Engl J Med, 2014. **371**(7): p. 682.
126. Caiazzo, R., et al., *Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce nonalcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study*. Ann Surg, 2014. **260**(5): p. 893-8; discussion 898-9.
127. Lassailly, G., et al., *Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients*. Gastroenterology, 2015. **149**(2): p. 379-88; quiz e15-6.
128. Μανιός, Γ., ed. *Διατροφική Αξιολόγηση*. ed. Ι.Ε. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ. 2006.
129. Ζαφειρόπουλος, ed. *Μέτρηση σύστασης του ανθρώπινου σώματος*, ed. Ε. Κάλλιπος. 2015.
130. Ellis, K.J., *Human body composition: in vivo methods*. Physiol Rev, 2000. **80**(2): p. 649-80.
131. Coelho, M., T. Oliveira, and R. Fernandes, *Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ*. Arch Med Sci, 2013. **9**(2): p. 191-200.
132. K.A. V., *Functional brown adipose tissue in healthy adults*. N Engl J Med., 2009.
133. Harms, M., *Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential*. Nature Medicine, 2013.
134. Jan Nedergaard, B.C., *How brown is brown fat? It depends where you look*. Nature Medicine 2013.
135. Vander, ed. *Φυσιολογία του Ανθρώπου Ι*. ed. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ. 2001: ΑΘΗΝΑ
136. Fields, D.A., M.I. Goran, and M.A. McCrory, *Body-composition assessment via air-displacement plethysmography in adults and children: a review*. Am J Clin Nutr, 2002. **75**(3): p. 453-67.
137. Μερόπη Κοντογιάννη, Μ.Γ., ed. *Εγχειρίδιο Κλινικής Διατροφής* ed. Ε.Α.κ.Η.Σ.κ. Βοηθήματα. 2015.

138. Buch, E., et al., *Effect of bioimpedance body composition analysis on function of implanted cardiac devices*. Pacing Clin Electrophysiol, 2012. **35**(6): p. 681-4.
139. Bertin, E., et al., *Measurement of visceral adipose tissue by DXA combined with anthropometry in obese humans*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2000. **24**(3): p. 263-70.
140. Park, Y.W., S.B. Heymsfield, and D. Gallagher, *Are dual-energy X-ray absorptiometry regional estimates associated with visceral adipose tissue mass?* Int J Obes Relat Metab Disord, 2002. **26**(7): p. 978-83.
141. Kobayashi, J., et al., *A novel method of measuring intra-abdominal fat volume using helical computed tomography*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2002. **26**(3): p. 398-402.
142. Mallard, J.R., *Magnetic resonance imaging-the Aberdeen perspective on developments in the early years*. Phys Med Biol, 2006. **51**(13): p. R45-60.
143. Bassen, H., et al., *IEEE Committee on Man and Radiation (COMAR) Technical Information Statement "exposure of medical personnel to electromagnetic fields from open magnetic resonance imaging systems"*. Health Phys, 2005. **89**(6): p. 684-9.
144. McCargar, L., *New insights into body composition and health through imaging analysis. 2007 Ryley-Jeffs memorial lecture*. Can J Diet Pract Res, 2007. **68**(3): p. 160-5.
145. Gonzalez, B.d., *Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults*. N Engl J Med, 2010.
146. QueenslandHealth, *Nutrition Education Materials Online (NEMO)*. Oct 2016.
147. Nishida, C., G.T. Ko, and S. Kumanyika, *Body fat distribution and noncommunicable diseases in populations: overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist-Hip Ratio*. Eur J Clin Nutr, 2010. **64**(1): p. 2-5.
148. McKinney, L., *Diagnosis and Management of Obesity*, A.A.o.F.P. 2013, Editor. 2013.
149. Kanaley, J.A., I. Giannopoulou, and L.L. Ploutz-Snyder, *Regional differences in abdominal fat loss*. Int J Obes (Lond), 2007. **31**(1): p. 147-52.
150. Τζώτζας, Θ. *Ανάλυση σύστασης σώματος στην παχυσαρκία: Ραδιονουκλιδικές και μη ραδιονουκλιδικές μέθοδοι εκτίμησης*. HELLENIC JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, 2008.
151. Α. Κατσώρη, Μ.Κ., Μ. Γκουβέρου, *Παχυσαρκία και μέθοδοι μέτρησης σωματικού λίπους*. Επιστημονικά Χρονικά 2015.
152. Durnin, J.V. and J. Womersley, *Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years*. Br J Nutr, 1974. **32**(1): p. 77-97.
153. **CD, W., *Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study*. . Gastroenterology, 2011.**
154. Bellentani, *Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy*. . Ann Intern Med. , 2000.
155. Silverman, *Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes*. Am J Gastroenterol, 1990.
156. Hsiao, *Insulin resistance and ferritin as major determinants of nonalcoholic fatty liver disease in apparently healthy obese patients*. . Int J Obes Relat Metab Disord., 2004.
157. N, S., *Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans*. . Arch Intern Med. , 2008.
158. Stefan N, H.H., *The metabolically benign and malignant fatty liver*. Diabetes, 2011.
159. A, W., *Obesity affects the liver - the link between adipocytes and hepatocytes*. . Digestion, 2011.
160. Lonardo A, C.S., Loria P., *Clinical physiology of NAFLD: a critical overview of pathogenesis and treatment*. . Expert Rev Endocrinol Metab, 2010.
161. Monsour HP, F.C., Wyne K., *Fatty liver: a link to cardiovascular disease--its natural history, pathogenesis, and treatment*. . Methodist DeBakey Cardiovasc J, 2012.

162. Buechler C, W.J., Neumeier M., *Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases.* . World J Gastroenterol 2011.
163. Chitturi S, F.G., Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J., *Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity?* . Hepatology 2002.
164. Huang XD, F.Y., Zhang H, Wang P, Yuan JP, Li MJ, Zhan XY. , *Serum leptin and soluble leptin receptor in non-alcoholic fatty liver disease.* . World J Gastroenterol, 2008.
165. Wang J, L.I., Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J., *Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis.* . Gastroenterology 2009.
166. Buechler C, W.J., Neumeier M., *Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases.* . World J Gastroenterol, 2011.
167. Biddinger SB, M.M., Boucher J, Ntambi JM, Kahn CR., *Leptin suppresses stearyl-CoA desaturase 1 by mechanisms independent of insulin and sterol regulatory elementbinding protein-1c.* . Diabetes, 2006.
168. Weisberg SP, M.D., Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, *Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue.* . J Clin Invest 2003.
169. Zoico E, G.U., Oliosio D, Mazzali G, Fratta Pasini AM, Di Francesco V, Sepe A, Cominacini L, Zamboni M, *The effects of adiponectin on interleukin-6 and MCP-1 secretion in lipopolysaccharide-treated 3T3-L1 adipocytes: role of the NF-kappaB pathway.* . Int J Mol Med 2009.
170. Bugianesi E, P.U., Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de lasio R, Gentilcore E, Natale S, Cassader M, Rizzetto M, Pasquali R, Marchesini G, *Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity.* . J Clin Endocrinol Metab, 2005.
171. Tomas E, T.T., Saha AK, Murrey HE, Zhang Cc Cc, Itani SI, Lodish HF, Ruderman NB. , *Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation.* . Proc Natl Acad Sci 2002.
172. Xu A, W.Y., Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ, *The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice.* . J Clin Invest 2003.
173. Milić, S., *Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations.*, World J Gastroenterol. , 2014.
174. Pagano C, S.G., Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, Donnini D, Faggian D, Mussap M, Plebani M, Avellini C, Federspil G, Sechi LA, Vettor R, *Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance.* . J Clin Endocrinol Metab 2006.
175. Aller R, d.L.D., Izaola O, Sagrado MG, Conde R, Velasco MC, Alvarez T, Pacheco D, González JM., *Influence of visfatin on histopathological changes of non-alcoholic fatty liver disease.* . Dig Dis Sci 2009;.
176. Yilmaz Y, Y.O., Kurt R, Alahdab YO, Eren F, Ozdogan O, Celikel CA, Imeryuz N, Kalayci C, Avsar E, *Serum levels of omentin, chemerin and adipsin in patients with biopsyproven nonalcoholic fatty liver disease.* . Scand J Gastroenterol, 2011.
177. Paniagua, J.A., *Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome.* . World J Diabetes., 2016.
178. Fabbri E, S.S., Klein S, *Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications.* . Hepatology, 2010.
179. Poggiogalle, E., *Non-alcoholic fatty liver disease connections with fat-free tissues: A focus on bone and skeletal muscle* World J Gastroenterol., 2017.
180. Lee SH, Y.J., Kim SH, Seo YG, Min H, Chung E, Bae YS, Ryou IS, Cho B, *Association between bone mineral density and nonalcoholic fatty liver disease in Korean adults.* . J Endocrinol Invest, 2016.

181. Bhatt SP, N.P., Misra A, Guleria R, Qadar Pasha MA, *Independent associations of low 25 hydroxy vitamin D and high parathyroid hormonal levels with nonalcoholic fatty liver disease in Asian Indians residing in north India.* . Atherosclerosis 2013.
182. Chang EJ, Y.D., Yang HR., *Vitamin D Status and Bone Mineral Density in Obese Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease.* . J Korean Med Sci 2015.
183. Xia MF, L.H., Yan HM, Bian H, Chang XX, Zhang LS, He WY, Gao X, *The association of liver fat content and serum alanine aminotransferase with bone mineral density in middle-aged and elderly Chinese men and postmenopausal women.* J Transl Med 2016.
184. Cui R, S.H., Rui XF, Cheng XY, Sheng CJ, Wang JY, Qu S., *Low bone mineral density in chinese adults with nonalcoholic Fatty liver disease.* . Int J Endocrinol 2013.
185. Moon SS, L.Y., Kim SW, *Association of nonalcoholic fatty liver disease with low bone mass in postmenopausal women.* . Endocrine, 2012.
186. Strauss S, G.E., Gottlieb P, Katsnelson L, *Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver.* . AJR Am J Roentgenol, 2007.
187. Pacifico L, B.M., Lombardo CV, Romaggioli S, Ferraro F, Bascetta S, Chiesa C., *Adipokines and C-reactive protein in relation to bone mineralization in pediatric nonalcoholic fatty liver disease.* . World J Gastroenterol 2013.
188. Pardee PE, D.W., Schwimmer JB, *Non-alcoholic fatty liver disease is associated with low bone mineral density in obese children.* . Aliment Pharmacol Ther 2012.
189. Sinclair M, G.P., Grossmann M, Angus PW, *Review article: sarcopenia in cirrhosis--aetiology, implications and potential therapeutic interventions.* . Aliment Pharmacol Ther 2016.
190. Curtis E, L.A., Cooper C, Dennison E., *Determinants of Muscle and Bone Aging.* . J Cell Physiol, 2015.
191. Dawson-Hughes B, B.-F.H., *Considerations concerning the definition of sarcopenia: response to comments.* . Osteoporos Int 2016.
192. Hong HC, H.S., Choi HY, Yoo HJ, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Baik SH, Choi DS, Choi KM, *Relationship between sarcopenia and nonalcoholic fatty liver disease: the Korean Sarcopenic Obesity Study.* . Hepatology, 2014.
193. Koo BK, K.D., Joo SK, Kim JH, Chang MS, Kim BG, Lee KL, Kim W., *Sarcopenia is an independent risk factor for nonalcoholic steatohepatitis and significant fibrosis.* . J Hepatol 2017.
194. Lee YH, J.K., Kim SU, Yoon HJ, Yun YJ, Lee BW, Kang ES, Han KH, Lee HC, Cha BS, *Sarcopaenia is associated with NAFLD independently of obesity and insulin resistance: Nationwide surveys (KNHANES 2008-2011).* . J Hepatol 2015.
195. Hashimoto Y, O.T., Fukuda T, Tanaka M, Yamazaki M, Fukui M, *The relationship between hepatic steatosis and skeletal muscle mass index in men with type 2 diabetes.* . Endocr J, 2016.
196. Moon JS, Y.J., Won KC, Lee HW. , *The role of skeletal muscle in development of nonalcoholic Fatty liver disease.* . Diabetes Metab J 2013.
197. Kim HY, K.C., Park CH, Choi JY, Han K, Merchant AT, Park YM. , *Low skeletal muscle mass is associated with non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults: the Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey.* . Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2016.
198. Lee YH, K.S., Song K, Park JY, Kim do Y, Ahn SH, Lee BW, Kang ES, Cha BS, Han KH., *Sarcopenia is associated with significant liver fibrosis independently of obesity and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease: Nationwide surveys (KNHANES 2008-2011).* . Hepatology 2016.
199. One., P., *Fatty Liver Index Associates with Relative Sarcopenia and GH/ IGF- 1 Status in Obese Subjects.*

Poggiogalle E. PLoS One., 2016.

200. Tahimic CG, W.Y., Bikle DD, *Anabolic effects of IGF-1 signaling on the skeleton*. . Front Endocrinol (Lausanne), 2013.
201. Perrini S, L.L., Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F., *The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis*. J Endocrinol Invest, 2010.
202. Bikle DD, T.C., Chang W, Wang Y, Philippou A, Barton ER., *Role of IGF-I signaling in muscle bone interactions*. . Bone, 2015.
203. Loria P, C.L., Bertolotti M, Lonardo A., *Endocrine and liver interaction: the role of endocrine pathways in NASH*. . Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2009.
204. Y., T., *Essential roles of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the liver*. . Endocr J 2012.
205. Aguirre GA, D.I.J., de la Garza RG, Castilla-Cortazar I., *Insulin-like growth factor-1 deficiency and metabolic syndrome*. . J Transl Med 2016.
206. Ichikawa T, N.K., Hamasaki K, Furukawa R, Tsuruta S, *Role of growth hormone, insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3 in development of non-alcoholic fatty liver disease*. . Hepatol Int 2007.
207. Bertolotti M, L.A., Mussi C, Baldelli E, Pellegrini E, Ballestri S, Romagnoli D, Loria P., *Nonalcoholic fatty liver disease and aging: epidemiology to management*. . World J Gastroenterol 2014.
208. Wu S, Y.W., De Luca F. , *Insulin-Like Growth Factor-Independent Effects of Growth Hormone on Growth Plate Chondrogenesis and Longitudinal Bone Growth*. . Endocrinology 2015.
209. Matar M, A.-S.L., Maalouf J, Nabulsi M, Arabi A, *The Relationship Between Calciotropic Hormones, IGF-1, and Bone Mass Across Pubertal Stages*. . J Clin Endocrinol Metab 2016.
210. Cianfarani S, I.E., Alisi A, Germani D, Puglianiello A, Nobili V., *Insulin-like growth factor-I and -II levels are associated with the progression of nonalcoholic fatty liver disease in obese children*. J Pediatr Health Care, 2014.
211. Cabrera D, R.A., Cabello-Verrugio C, Brandan E, Estrada L, *Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Associated with Sarcopenia and Decreased Serum Insulin-Like Growth Factor-1*. Dig Dis. Dig Dis Sci., 2016.
212. Wang X, L.W., Zhang Y, Yang Y, Qin G. , *Association between vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: results from a meta-analysis*. . Int J Clin Exp Med 2015.
213. Kwok RM, T.D., Harrison SA., *Vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): is it more than just an association?*. Hepatology, 2013.
214. Foroughi M, M.Z., Askari G., *The effect of vitamin D supplementation on blood sugar and different indices of insulin resistance in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. . Iran J Nurs Midwifery Res 2016.
215. Abramovitch S, S.E., Weisman Y, Bentov A., *Vitamin D inhibits development of liver fibrosis in an animal model but cannot ameliorate established cirrhosis*. . Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2015.
216. Anderson PH, S.R., Moore AJ, May BK, O'Loughlin PD, Morris HA, *Vitamin D depletion induces RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone loss in a rodent model*. . J Bone Miner Res 2008.
217. Reid IR, B.M., Grey A., *Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis*. . Lancet 2014.
218. L., C., *Vitamin D and its role in skeletal muscle*. . Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2009.
219. Singh S, K.D., Lal AK., *Serum Osteocalcin as a Diagnostic Biomarker for Primary Osteoporosis in Women*. J Clin Diagn Res 2015.
220. Oldknow KJ, M.V., Farquharson C., *Endocrine role of bone: recent and emerging perspectives beyond osteocalcin*. J Endocrinol Invest, 2015.

221. Yilmaz Y, K.R., Eren F, Imeryuz N, *Serum osteocalcin levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with ballooning degeneration.* . Scand J Clin Lab Invest 2011.
222. Liu JJ, C.Y., Mo ZN, Tian GX, Tan AH, Gao Y, Yang XB, Zhang HY, Li ZX. , *Relationship between serum osteocalcin levels and non-alcoholic fatty liver disease in adult males, South China.* . Int J Mol Sci 2013.
223. Du J, Z.M., Lu J, Zhang X, Xiong Q, Xu Y, Bao Y, Jia W, *Osteocalcin improves nonalcoholic fatty liver disease in mice through activation of Nrf2 and inhibition of JNK.* . Endocrine, 2016.
224. Mera P, L.K., Ferron M, Confavreux C, *Osteocalcin Signaling in Myofibers Is Necessary and Sufficient for Optimum Adaptation to Exercise.* . Cell Metab, 2016.
225. Mera P, L.K., Wei J, Berger JM, Karsenty G, *Osteocalcin is necessary and sufficient to maintain muscle mass in older mice.* . Mol Metab, 2016.
226. Bugianesi E, M.S., Ciaravella MF, Marchesini G, *Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease.* . Curr Pharm Des 2010.
227. P, D.M., *The Insulin Receptor and Its Signal Transduction Network.* In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A, editors. . Endotext [Internet] South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc, 2000-2016 2016.
228. Cleasby ME, J.P., Atherton PJ. , *Insulin resistance and sarcopenia: mechanistic links between common co-morbidities.* J Endocrinol Invest 2016.
229. Thrall KM, L.C., Bunn RC, Kemp SF, Fowlkes JL., *Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues.* . Am J Physiol Endocrinol Metab 2005.
230. Lerchbaum E, S.V., Nauck M, Völzke H, Wallaschofski H, Hannemann A, *Lower bone turnover markers in metabolic syndrome and diabetes: the population-based Study of Health in Pomerania.* Nutr Metab Cardiovasc Dis 2015.
231. Laurent MR, C.M., Gielen E, Ward KA, , *Lower bone turnover and relative bone deficits in men with metabolic syndrome: a matter of insulin sensitivity? The European Male Ageing Study.* . Osteoporos Int 2016.
232. Srikanthan P, C.C., Miller-Martinez D, Seeman TE, *Insulin resistance and bone strength: findings from the study of midlife in the United States.* . J Bone Miner Res, 2014.
233. Riddle RC, C.T., *Insulin, osteoblasts, and energy metabolism: why bone counts calories.* . J Clin Invest 2014.
234. Pramojanee SN, P.M., Kumphune S, Chattipakorn N, Chattipakorn SC., *Decreased jaw bone density and osteoblastic insulin signaling in a model of obesity.* J Dent Res 2013.
235. Seki E, S.R., *Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways.* . Hepatology 2015.
236. Brenner C, G.L., Kepp O, Kroemer G., *Decoding cell death signals in liver inflammation.* . J Hepatol 2013.
237. Dirks AJ, L.C., *Tumor necrosis factor alpha signaling in skeletal muscle: effects of age and caloric restriction.* . J Nutr Biochem, 2006.
238. Beyer I, M.T., Bautmans I, *Chronic low-grade inflammation and age-related sarcopenia.* . Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2012.
239. Niu Y, Z.W., Yang Z, Li X, Fang W, , *Plasma osteoprotegerin levels are inversely associated with nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: A case-control study in China.* . Metabolism 2016.
240. Rector RS, T.J., *Does physical inactivity cause nonalcoholic fatty liver disease?* . J Appl Physiol 2011.
241. Johnson NA, G.J., *Fitness versus fatness: moving beyond weight loss in nonalcoholic fatty liver disease.* . Hepatology 2010.
242. Johnson NA, G.J., *Fitness versus fatness: moving beyond weight loss in nonalcoholic fatty liver disease.* . Hepatology 2010.

243. Rolland Y, C.S., Abellan Van Kan G, Morley JE, *Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future perspectives*. . J Nutr Health Aging, 2008.
244. Xu J, L.G., Jiao W, Banfi G., *Effects of Exercise on Bone Status in Female Subjects, from Young Girls to Postmenopausal Women: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses*. . Sports Med 2016.
245. Brotto M, B.L., *Bone and muscle: Interactions beyond mechanical*. . Bone, 2015.
246. Colaianni G, M.T., Colucci S, Cinti S, Grano M., *Crosstalk Between Muscle and Bone Via the Muscle-Myokine Irisin*. . Curr Osteoporos Rep 2016.
247. Zhang HJ, Z.X., Ma ZM, Pan LL, , *Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults*. . J Hepatol, 2013.
248. Berzigotti A, S.U., Dufour JF, *Physical activity and liver diseases*. . Hepatology 2016.
249. http://www.e-anemos.gr/contents/el/d37_Chios_natural_gum_mastic_info.html.
Χιώτικη εταιρία ANEMOS.
250. <https://www.gummastic.gr/el/>. Ένωση μαστιχοπαραγωγών Χίου
251. Χίου, Έ.Μ., *Μαστίχα Χίου. Ιατρικές και επιστημονικές αναφορές*
252. K., D., *Review: Chios Mastic Gum: A Plant - produced Resin Exhibiting Numerous Diverse Pharmaceutical and Biomedical Properties In vivo* 2012.
253. Ljubuncic, P., et al., *The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of Pistacia lentiscus in experimental liver disease*. Journal of ethnopharmacology, , 2005.
254. Dedoussis G., K.A., *Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression Atherosclerosis*, 2004.
255. Lee, R.G., *Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients*. . Human pathology, 1989.
256. Kaliora, A.C., et al.,, *Alterations in the function of circulating mononuclear cells derived from patients with Crohn's disease treated with mastic*. . World journal of Gastroenterology, 2007.
257. Gioxari, A., et al., *Pistacia lentiscus Resin Regulates Intestinal Damage and Inflammation in Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis*. Journal of medicinal food, 2011.
258. Papalois, A., et al., *Chios mastic fractions in experimental colitis: implication of the nuclear factor κB pathway in cultured HT29 cells*. . Journal of medicinal food, 2012.
259. 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.
260. Miller YI, C.S., Fang L and Tsimikas S, *Lipoprotein modification and macrophage uptake: role of pathologic cholesterol transport in atherogenesis*. . Subcell Biochem, 2010.
261. JL, S.D.a.W., *Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis*. . Arterioscler Thromb Vasc Biol 2010.
262. Triantafyllou, A., et al, *Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population*. . Journal of ethnopharmacology, 2007.
263. 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.
264. Balan, K.V., et al., *Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product, Chios mastic gum*. In vivo, 2005.
265. Balan, K., et al., *Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from Pistacia lentiscus L. var. chia*. . Phytomedicine, 2007.
266. He, M.L., et al., , *Gum mastic inhibits the expression and function of the androgen receptor in prostate cancer cells*. . Cancer 2006.
267. ZHANG, P.j., et al., *Gum mastic increases maspin expression in prostate cancer cells*. Acta pharmacologica sinica, 2007.

268. Peek, R.M.a.J.E.C., *Helicobacter infection and gastric neoplasia*. . The Journal of pathology, 2006.
269. Al-Said, M.S., et al., *Evaluation of mastic, a crude drug obtained from Pistacia lentiscus for gastric and duodenal anti-ulcer activity*. Journal of ethnopharmacology, 1986.
270. Al-Habbal MJ, A.-H.Z.a.H.F., *A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer*. . Clin Exp Pharmacol Physiol 1984.
271. Al-Said MS, A.A., Parmar NS and Tariq M, *Evaluation of mastic, a crude drug obtained from Pistacia lentiscus for gastric and duodenal anti-ulcer activity*. . J Ethnopharmacol 1986.
272. Aebischer T, M.T.a.A.L., *Inflammation, immunity, and vaccines for Helicobacter*. . Helicobacter 15 (Suppl 1), 2010.
273. Dabos KJ, S.E.V.L.a.G.G., *The effect of mastic gum on Helicobacter pylori: a randomized pilot study*. Phytomedicine 2010.
274. Paraschos S, M.P., Mitakou S, Petraki K, Kalliaropoulos A, Maragkoudakis P, Mentis A, Sgouras D and Skaltsounis AL, *In vitro and in vivo activity of Chios mastic gum extracts and constituents against Helicobacter pylori*. . Antimicrob Agents Chemother 2007.
275. Loughlin, M.F., D.A. Ala'Aldeen, and P.J. Jenks, *Monotherapy with mastic does not eradicate Helicobacter pylori infection from mice*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy,, 2003.
276. Bebb, J.R., et al., *Mastic gum has no effect on Helicobacter pylori load in vivo*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003.
277. Koutsoudaki, C., M. Krsek, and A. Rodger, *Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of Pistacia lentiscus Var. chia*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005.
278. Sterer, N., *Antimicrobial effect of mastic gum methanolic extract against Porphyromonas gingivalis*. . Journal of medicinal food, 2006.
279. Aksoy, A., et al., *Short-term effect of mastic gum on salivary concentrations of cariogenic bacteria in orthodontic patients*. . The Angle orthodontist, 2007.
280. Paniagua, J.A., *Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome*. World J Diabetes, 2016.
281. Eleutheria, P., *Η επίδραση της κατανάλωσης της μαστίχας Χίου στη γλυκαιμική ρύθμιση και στα λιπίδια σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 in 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εταιρίας Μελέτης Παθήσεων Διαβητικού Ποδιού*. 2016: Athenaem Intercontinental, Αθήνα.