

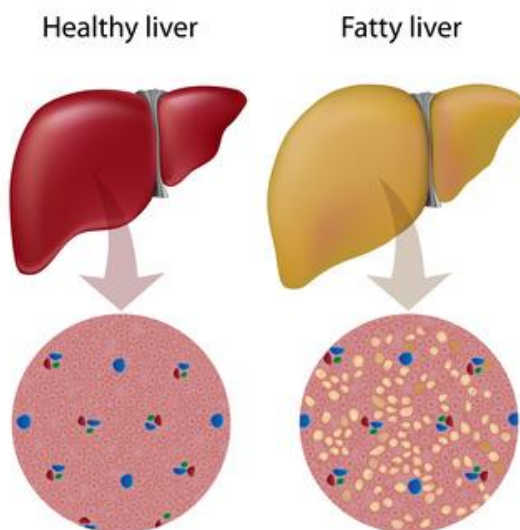


ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Αξιολόγηση μοντέλων πρόγνωσης της μη αλκοολικής λιπώδης διήθησης του ήπατος.

Διπλωματική Εργασία

Σταματία Αγγελική Κλεφτάκη



Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Γεώργιος Δεδούσης

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

Ηρακλής Βαρλάμης

**Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Πληροφορικής και Τηλεματικής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο**

Αλέξανδρος Κόκκινος

Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ

Η Σταματία Αγγελική Κλεφτάκη δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα, αρχικά, να εκφράσω τις ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Δεδούση Γεώργιο, για την υποστήριξη και εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

Αναμφισβήτητα, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα του τμήματος, Χαρά Αμερικάνου, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της, καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Νάνα Καλαφάτη για τη βοήθεια που μου προσέφερε.

Κλείνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους που έχω κοντά μου όλα αυτά τα χρόνια, για την υπομονή και την ειλικρινή στήριξη τους.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	9
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	10
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
Κεφάλαιο 1: Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος (NAFLD).....	11
1.1 Ορισμός και Φυσική Εξέλιξη	11
1.2 Επιπολασμός	12
1.3 Παράγοντες Κινδύνου	14
1.3.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	14
1.3.1.1 Ηλικία	14
1.3.1.2 Φύλο.....	14
1.3.1.3 Φυλή / Εθνικότητα	14
1.3.2 Τροποποιήσιμοι Παράγοντες Κινδύνου	15
1.3.2.1 Διατροφή.....	15
1.3.2.2 Φυσική Δραστηριότητα	16
1.3.2.3 Κάπνισμα.....	17
1.3.4.1 Μεταβολικό Σύνδρομο	20
1.3.4.2 Παχυσαρκία.....	20
1.3.4.3 Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II	21
1.3.4.4 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών	21
1.3.4.5 Αποφρακτική Άπνοια Ύπνου	21
1.4 Παθοφυσιολογία.....	22
1.4.1 Θεωρία δύο χτυπημάτων.....	22
1.4.2 Θεωρία Πολλαπλών Χτυπημάτων	23
1.5 Αντιμετώπιση	25
1.5.1 Διατροφή.....	25
1.5.2 Φυσική Δραστηριότητα	27
1.5.3 Συμπληρώματα διατροφής	27
1.5.4 Φαρμακευτική αγωγή	28
1.5.5 Βαριατρική Χειρουργική	28
Κεφάλαιο 2: Πρόγνωση – Διάγνωση της NAFLD	29
2.1 Κλινική Εικόνα	29

2.2 Εργαστηριακά Ευρήματα	29
2.3 Απεικονιστικές Τεχνικές	30
2.4 Συνδυαστικά Μοντέλα	33
2.4.1 NAFLD Fibrosis Score (NFS)	34
2.4.2 Fibrotest	34
2.4.3 FIB-4.....	35
2.4.4 BARD.....	35
2.4.5 Fatty Liver Index (FLI)	35
2.4.6 NASH Score.....	35
2.5 Ανάλυση GNOSIS's tool JAD BIO	36
2. ΣΚΟΠΟΣ	38
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	39
3.1 Σχεδιασμός	39
3.2 Δείγμα μελέτης.....	39
3.3. Αξιολόγηση.....	39
3.3.1 Ιστορικό	39
3.3.2 Ανθρωπομετρία.....	40
3.3.3 Φυσική Δραστηριότητα	41
3.3.4 Διατροφική Πρόσληψη	41
3.3.5 Αρτηριακή Πίεση	41
3.3.6 Αιμοληψία	41
3.3.7 Διάγνωση NAFLD.....	44
3.3.8 Στατιστική Ανάλυση	44
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	45
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	54
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	58

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η NAFLD αποτελεί μια ασυμπτωματική νόσο όλο και συχνότερη παγκοσμίως. Η καλύτερη μέθοδος διάγνωσης της NAFLD είναι η βιοψία ήπατος, που αποτελεί μια επεμβατική μέθοδο. Γι αυτό το λόγο, φαίνεται αναγκαία η χρήση μη επεμβατικών μεθόδων πρόγνωσης και διάγνωσης της NAFLD, όπως είναι τα συνδυαστικά μοντέλα – μοντέλα πρόβλεψης.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να γίνει η αξιολόγηση των μοντέλων πρόγνωσης της NAFLD στους ήδη γνωστούς αλγορίθμους που υπάρχουν στη βιβλιογραφία. Στη συνέχεια, θα πραγματοποιηθεί αξιολόγηση στα μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το εργαλείο GNOSIS's tool JAD BIO.

Μεθοδολογία: Η ελληνική NAFLD μελέτη αποτελεί μια μελέτη με 134 NAFLD ασθενείς και 217 μάρτυρες. Η διάγνωση της νόσου έγινε με υπερηχογράφημα άνω κοιλίας. Πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της διατροφής με χρήση FFQ, γενετική ανάλυση, βιοχημική και αιματολογική ανάλυση.

Αποτελέσματα / Συμπεράσματα: Οι ασθενείς με NAFLD παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τους υγιείς, τόσο στα σκορ NFS, FLI και NASH, όσο και στα 2 μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool. Στη συνέχεια, συγκρίθηκαν τα 2 μοντέλα με τους γνωστούς αλγόριθμους και βρέθηκε ισχυρή αρνητική συσχέτιση (0,782 και 0,836 αντίστοιχα) μεταξύ των μοντέλων και του αλγορίθμου FLI. Ακόμη, φάνηκε μέτρια συσχέτιση μεταξύ των μοντέλων και του αλγορίθμου NASH, καθώς και ασθενής συσχέτιση μεταξύ των μοντέλων και του αλγορίθμου NFS. Έπειτα, ελέγχθηκαν όλα τα μοντέλα ως προς την ευαισθησία, ειδικότητα, ΘΔΑ, ΑΔΑ και ακρίβεια τους, μέσω της καμπύλης ROC και φάνηκε ότι το καλύτερο μοντέλο είναι το FLI και ακολουθούν τα 2 μοντέλα που δημιουργήθηκαν. Τέλος, έγινε εκτίμηση των μοντέλων σε έναν άλλον πληθυσμό με NAFLD ασθενείς και βρέθηκε ότι τα μοντέλα έχουν μέτρια ευαισθησία (47,0% και 58,8%) και πολύ καλή ειδικότητα (100%). Βρέθηκε και μια τάση συσχέτισης των 2 μοντέλων με τις παραμέτρους της μαγνητικής τομογραφίας (LIFscore, cT1).

Λέξεις-κλειδιά: Μη αλκοολική Λιπώδης Διήθηση Ηπάτος, Μοντέλο Πρόβλεψης, υπερηχογράφημα

ABSTRACT

Introduction: NAFLD is a worldwide increasingly asymptomatic disease. The best diagnostic model of NAFLD is the liver biopsy, which is an invasive method. Therefore, it seems necessary to use non-invasive methods of prognosis and diagnosis of NAFLD, such as combination of predictive models.

Purpose: The aim of this thesis is to evaluate the NAFLD prognostic models, which are already known. Then, it will be an evaluation of two new models created by the JAD BIO tool.

Methodology: The Greek NAFLD study is a study included 134 NAFLD patients and 217 controls. The diagnosis of the disease was conducted with ultrasound,. Dietary evaluation was performed using FFQ. Also, there was genetic analysis, biochemical and haematological analysis.

Results / Conclusions: NAFLD patients showed statistically significant differences compared to healthy at NFS, FLI and NASH scores. Similar effects were shown at the 2 models created by GNOSIS's tool, too. Then, the 2 models were compared with the known algorithms. A strong negative correlation (0.782 and 0.836 respectively) was found between the models and the FLI algorithm. Furthermore, there was a moderate correlation between NASH models and the algorithms, as well as a weak correlation between the NFS models and the algorithms. Then, all the models were tested for sensitivity, specificity, PDV, NDV and accuracy, through the ROC curve, and it was shown that the best model is FLI. Finally, all the models were evaluated in an other population with NAFLD patients. The models were found to have moderate sensitivity (47.0% and 58.8%) and very good specificity (100%). A trend of correlation between the 2 models and the imaging parameters (LIFscore, cT1) were also found.

Key words: *Nonalcoholic fatty liver disease, predictive model, ultrasound*

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Γενετικοί Πολυμορφισμοί σχετιζόμενοι με NAFLD	17
Πίνακας 2: Περιγραφικά Χαρακτηριστικά Δείγματος που συμμετείχαν στη μελέτη	45
Πίνακας 3: Σύγκριση Μέσων Όρων σε Ασθενείς με NAFLD - Μάρτυρες	45
Πίνακας 4: Διαφορά μέσων όρων μεταξύ των αλγορίθμων πρόβλεψης NAFLD.....	46
Πίνακας 5: Συσχέτισεις μεταξύ μοντέλων πρόβλεψης NAFLD.....	47
Πίνακας 6: Έλεγχος Μοντέλων στον πληθυσμό NAFLD.....	47
Πίνακας 7: Έλεγχος μοντέλων στον πληθυσμό MAST4HEALTH	51
Πίνακας 8: Συσχέτισεις μεταξύ μοντέλων και παραμέτρων μαγνητικής τομογραφίας.	53

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Φυσική Εξέλιξη της NAFLD.....	12
Σχήμα 2: Κριτήρια Διάγνωσης Μεταβολικού Συνδρόμου	20
Σχήμα 3: Σχηματική Απεικόνιση της Θεωρίας των δύο Χτυπημάτων	23
Σχήμα 4: Σχηματική Απεικόνιση της Θεωρίας των Πολλαπλών Χτυπημάτων	23
Σχήμα 5: Υπερηχογράφημα για διάγνωση NAFLD.....	31
Σχήμα 6: Παράδειγμα LiverMultiScan.....	32
Σχήμα 7: Αλγόριθμοι διάγνωσης NAFLD.....	33
Σχήμα 8: Στατιστική Ανάλυση Διαγνωστικών Μοντέλων για τη NAFLD.....	34
Σχήμα 9: Διάγραμμα JAD Bio	37
Σχήμα 10: Καμπύλη ROC για NFS.....	48
Σχήμα 11: Καμπύλη ROC για FIB4	48
Σχήμα 12: Καμπύλη ROC για FLI.....	49
Σχήμα 13: Καμπύλη ROC για NASH.....	49
Σχήμα 14: Καμπύλη ROC για BARD	50
Σχήμα 15: Καμπύλη ROC για Model 1.....	50
Σχήμα 16: Καμπύλη ROC για Model 2.....	51
Σχήμα 17: Καμπύλη ROC για Model1	52
Σχήμα 18: Καμπύλη ROC για Model2	52

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

NAFLD	Non Alcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Non Alcoholic Steatohepatitis
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
HDL	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
LDL	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
VLDL	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
TNF-α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων α
AST	Αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού
ALT	Αμινοτρανσφεράση της αλανίνης
γGT	γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση
NFS	NAFLD Fibrosis score
GWAS	Μελέτη ανάλυσης όλου του γονιδιώματος
IL6	Ιντερλευκίνη 6
IR	Ινσουλινοαντίσταση
PUFA	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
ROS	Ενεργές ρίζες οξυγόνου
TG	Τριγλυκερίδια
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος
ΜΣ	Μεταβολικό σύνδρομο
ΣΔ2	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κεφάλαιο 1: Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος (NAFLD)

1.1 Ορισμός και Φυσική Εξέλιξη

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (Non Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) αποτελεί τη συχνότερη αιτία χρόνιας ηπατικής νόσου παγκοσμίως και φαίνεται να είναι ένα νόσημα το οποίο εμφανίζεται όλο και συχνότερα. (1)

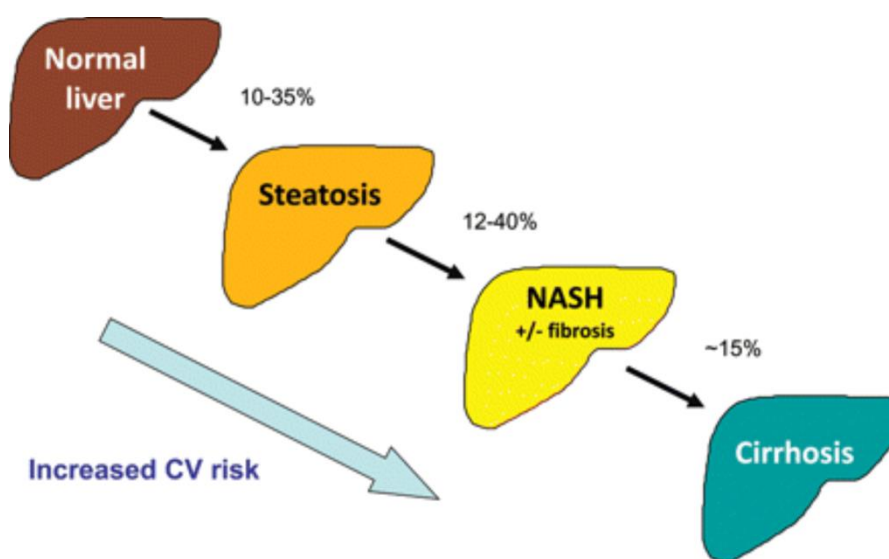
Η νόσος χαρακτηρίζεται από υπέρμετρη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ, η οποία σχετίζεται με την παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη και ορίζεται από την ύπαρξη στεάτωσης σε ποσοστό >5% των ηπατοκυττάρων. Αυτή η κατάσταση δεν αποδίδεται σε υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ ή σε φαρμακευτική αγωγή και ιογενείς αιτιολογίες. Το ανώτατο όριο κατανάλωσης αλκοόλ για την διάγνωση της NAFLD και το διαχωρισμό της από την αλκοολικής αιτιολογίας ηπατική στεάτωση και στεατοηπατίτιδα, όπως αναφέρεται από την EASL είναι <20 g/ημέρα αιθανόλης για τις γυναίκες και <30 g/ημέρα για τους άνδρες. (2)

Η NAFLD περιλαμβάνει δύο διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις με διαφορετική πρόγνωση η κάθε μια, όπως φαίνεται και στο ακόλουθο σχήμα.

Στην πρώτη κατάσταση, υπάρχει απλή συσσώρευση λίπους, η οποία είναι καλοήθης, μη προοδευτική και χωρίς παρουσία ηπατοκυτταρικής βλάβης. Συνήθως δε συνοδεύεται ή συνοδεύεται από μικρό βαθμό φλεγμονής και ίνωσης.

Από την άλλη, στη δεύτερη κατάσταση, γνωστή και ως μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH), υπάρχει ηπατική στεάτωση και φλεγμονή με ηπατοκυτταρική βλάβη. Η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH) είναι μια προοδευτική κατάσταση, η οποία μπορεί να εξελιχθεί και να επιδεινωθεί. Πιο συγκεκριμένα, η NASH καλύπτει ένα ευρύ φάσμα ηπατικών βλαβών, συμπεριλαμβανομένης της προοδευτικής ίνωσης του ήπατος που οδηγεί σε κίρρωση, με αποτέλεσμα την ηπατική ανεπάρκεια, μια κατάσταση που χρήζει μεταμόσχευσης ή την κατάληξη του ασθενούς ή πιθανή εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκίνου (HCC) . (3)

Σχήμα 1: Φυσική Εξέλιξη της NAFLD



Σε μία πρόσφατη μεταανάλυση, φαίνεται πως ο χρόνος για τη μετάπτωση από NAFLD σε πρώτου σταδίου κίρρωση είναι 14,3 έτη, ενώ από NASH είναι 7,1 έτη. Ωστόσο, ο ρυθμός εξέλιξης του νοσήματος γενικά είναι εξατομικευμένος με ορισμένα περιστατικά. (4) Η καλύτερη πρόγνωση εμφανίζεται σε ασθενείς με απλή στεάτωση, καθώς η κατάσταση μπορεί να βελτιωθεί και η νόσος να υποχωρήσει ή να μένει σταθερή για χρόνια. Αντίθετα, χειρότερη πρόγνωση έχουν οι ασθενείς με NASH. (5)

Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ασθενείς με NAFLD έχουν γενικά μεγαλύτερο κίνδυνο θνησιμότητας συγκριτικά με άλλους πληθυσμούς οι οποίοι φέρουν τα ίδια χαρακτηριστικά αλλά όχι τη συγκεκριμένη νόσο. (6) Ακόμη, η συγκεκριμένη νόσος σχετίζεται με μια σειρά από μεταβολικές διαταραχές, όπως είναι ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2, η Χρόνια Νεφρική Νόσος και η Καρδιαγγειακή Νόσος. (7)

1.2 Επιπολασμός

Η NAFLD συνιστά τη συνηθέστερη ασθένεια του ήπατος στο δυτικό κόσμο. (8) Παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις στις διάφορες ηλικιακές ομάδες και πληθυσμούς, γι' αυτό και είναι δύσκολη η εκτίμηση της. (2) Ωστόσο, έχουν γίνει προσπάθειες να εκτιμηθεί ο επιπολασμός της νόσου.

Σε γενικές γραμμές, στο δυτικό κόσμο, ο επιπολασμός φαίνεται να ανέρχεται στο 25% του γενικού πληθυσμού και στο 70% των παχύσαρκων και των ασθενών με ΣΔ2. Η διακύμανση εξαρτάται από τη διαγνωστική μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε κατά την εκτίμηση, την ηλικία, το

φύλο, και την εθνικότητα του πληθυσμού. (2) Ειδικότερα στην Ελλάδα, μελέτη έδειξε πως η NAFLD έχει συχνότητα εμφάνισης 31%. (9)

Από την άλλη, ο επιπολασμός της NAFLD στις ΗΠΑ κυμαίνεται 30-32% στον πληθυσμό, ενώ τα ποσοστά φτάνουν στο 90% για τους παχύσαρκους, ενώ για τους υπέρβαρους φτάνει στο 58%. (10)

Η φυλή φαίνεται να προσδίδει επιπλέον κίνδυνο όπως βρέθηκε από την Dallas Heart Study, με τον επιπολασμό της νόσου να είναι υψηλότερος στους Ισπανούς. Στην Κίνα, την Κορέα και την Ιαπωνία ο αριθμός των περιστατικών με NAFLD έχει αυξηθεί κατά τρεις με τέσσερις φορές στη διάρκεια των τελευταίων τριών ετών. (8) Ακόμη, η διακύμανση είναι μεταξύ 15-45% του πληθυσμού, με στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά να εμφανίζονται στα άτομα που ζουν σε αστικές περιοχές, σε σχέση με τις αγροτικές. (1)

Το σημαντικό είναι ότι ο επιπολασμός της νόσου έχει ανοδική πορεία τα τελευταία χρόνια και κινείται παράλληλα με το διαβήτη, την παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο. Με μελέτες στον γενικό πληθυσμό φάνηκε ότι σε διαβητικούς ασθενείς, η ηπατική στεάτωση ανευρίσκεται σε ποσοστό 40%-70%. Στην Ασία, παρά τα μειωμένα ποσοστά των υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων, εμφανίζονται υψηλά ποσοστά ασθενών με διαβήτη. Σύμφωνα με μελέτη στην Ιαπωνία, από την νόσο πάσχει το 27% των ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης, το 43% των ατόμων με διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης και το 62% των ατόμων με νεοδιαγνωσμένο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. (11)

Για τη σύνδεση της νόσου με την παχυσαρκία, μεγάλη επιδημιολογική μελέτη καταγραφής του επιπολασμού της NAFLD στο γενικό αιμοδοτικό πληθυσμό που έγινε στην Ελλάδα το 2004 έδειξε πως ο επιπολασμός ανέρχεται στο 17,6% και υπάρχει συσχέτιση μεταξύ διαταραγμένης ηπατικής βιοχημείας και, επομένως, ύπαρξης ασυμπτωματικής μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος και σωματομετρικών παραγόντων, όπως το βάρος σώματος, το δείκτη βάρους-μάζας σώματος (BMI, Body-Mass Index) και την ύπαρξη κεντρικής παχυσαρκίας. (12)

Τέλος, φαίνεται να υπάρχει αντίστοιχη θετική σχέση μεταξύ NAFLD και των άλλων συνιστωσών του μεταβολικού συνδρόμου, όπως είναι η δυσλιπιδαιμία και η αρτηριακή υπέρταση. Από τους ασθενείς με NAFLD το 64% πάσχει από υπερτριγλυκεριδαιμία, το 30-42% από χαμηλή HDL χοληστερόλη και το 34-83% από αρτηριακή υπέρταση.

Κλείνοντας, η NAFLD φαίνεται να εμφανίζεται και σε ένα ποσοστό της τάξης του 7% των ατόμων φυσιολογικού σωματικού βάρους και κλινικής εικόνας και συχνότερα σε γυναίκες νεαρής ηλικίας με φυσιολογικά ηπατικά ένζυμα. (2) Φαίνεται λοιπόν πως 1 στους 4 ανθρώπους σήμερα νοσεί από NAFLD και γι αυτό είναι ανάγκη για έγκαιρη διάγνωση και αποτελεσματική αντιμετώπιση της νόσου.

1.3 Παράγοντες Κινδύνου

Οι παράγοντες κινδύνου που φαίνονται να σχετίζονται με τη NAFLD χωρίζονται σε μη τροποποιήσιμους παράγοντες, όπως είναι η ηλικία, το φύλο, η φυλή, σε τροποποιήσιμους παράγοντες, όπως είναι η διατροφή, η φυσική δραστηριότητα και το κάπνισμα, σε γενετικούς παράγοντες και σε κλινικούς παράγοντες, όπως είναι το μεταβολικό σύνδρομο, η παχυσαρκία, ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II, το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και η Αποφρακτική Άπνοια Ύπνου.

1.3.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

1.3.1.1 Ηλικία

Όσον αφορά την ηλικία, η νόσος είναι πιο συχνή όσο αυξάνεται η ηλικία. Περιστασιακά, κάποιες μελέτες δείχνουν ότι η NAFLD πιθανόν να ξεκινά και από την εμβρυική ζωή, καθώς έχουν παρατηρηθεί σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά στεάτωσης σε βρέφη από μητέρες με διαβήτη κύησης σε σχέση με βρέφη από υγιείς μητέρες. (3)

1.3.1.2 Φύλο

Σχετικά με το φύλο, οι σύγχρονες μελέτες δείχνουν ότι η νόσος είναι πιο συχνή στους άνδρες και φαίνεται να αυξάνεται στους νεαρής και μέσης ηλικίας άνδρες με μια μείωση μετά την ηλικία των 50-60 ετών. Αντίθετα, η NAFLD εμφανίζεται λιγότερο συχνά σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ η επίπτωσή της αυξάνεται μετά την ηλικία των 50 ετών, όπου πιθανά σταματά η προστατευτική επίδραση των οιστρογόνων στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. (13)

1.3.1.3 Φυλή / Εθνικότητα

Η νόσος φαίνεται να επηρεάζει άτομα όλων των εθνικοτήτων, αλλά στους Ισπανόφωνους πληθυσμός ο επιπολασμός είναι 45% έναντι των μη Ισπανόφωνων λευκών όπου ο

επιπολασμός ανέρχεται στο 33% και των Αφρικανών Αμερικάνων όπου ο επιπολασμός αγγίζει το 24%. (7)

1.3.2 Τροποποιησιμοι Παράγοντες Κινδύνου

1.3.2.1 Διατροφή

Η διατροφή φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου. Η συνολικά αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη οδηγεί σε θετικό ισοζύγιο ενέργειας και επομένως βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα σε υπέρβαρο και παχυσαρκία, φαινότυπος που σχετίζεται με τη NAFLD. (14) Μάλιστα, ασθενείς με NAFLD φαίνεται πως έχουν σημαντικά υψηλότερη μέση ενεργειακή πρόσληψη κατά 500-600 Kcal σε σχέση με υγιή άτομα. (15) Ακόμη, τα άτομα με NAFLD έχει δείχθει από επιδημιολογικές μελέτες ότι καταναλώνουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα σακχαρούχων ροφημάτων, αναψυκτικών, γλυκών, κόκκινου κρέατος, και επεξεργασμένων δημητριακών και χαμηλότερα επίπεδα φρούτων λαχανικών και ολικής άλεσης δημητριακών σε σχέση με υγιή άτομα. (16) (17) Παρακάτω, φαίνεται η σύνδεση συγκεκριμένων μακρο και μικροθρεπτικών συστατικών στην εμφάνιση της νόσου.

Μακροθρεπτικά Συστατικά

Το **λίπος** αποτελεί ένα μακροθρεπτικό συστατικό που σχετίζεται με τη NAFLD. Οι ασθενείς τόσο με NAFLD, όσο και με NASH, φαίνεται να έχουν υψηλότερη πρόσληψη από το γενικό πληθυσμό. (18) Πιο συγκεκριμένα, η πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι υψηλότερη στους NASH ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. (19) Για την πρόσληψη των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων έχει αναφερθεί ότι βρίσκεται κάτω από το συνιστώμενο επίπεδο στους NAFLD ασθενείς (20) ενώ άλλες μελέτες δεν έχουν δείξει διαφορά. (19) Σε μελέτη για τη NAFLD, φάνηκε ότι διατροφή με περισσότερο από 20% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης σε MUFA, αποδίδει όφελος για τη NAFLD καθώς αυξάνει την οξείδωση των λιπαρών οξέων. (21) Ακόμη, μελέτη έχει δείξει ότι NAFLD ασθενείς καταναλώνουν περισσότερο κρέας το οποίο περιέχει ω-6 λιπαρά οξέα και τείνουν να καταναλώνουν λιγότερο ψάρι το οποίο είναι πλούσιο σε ω-3 λιπαρά οξέα σε σχέση με του υγιείς. (22)

Η πρόσληψη **υδατανθράκων** φαίνεται να είναι αυξημένη στους NAFLD ασθενείς. (23) Επιπλέον, η πρόσληψη τροφίμων με υψηλό γλυκαιμικό δείκτη έχει αρνητική επίδραση σε όσους έχουν τη νόσο, καθώς επίσης συσχετίζονται με υψηλότερο βαθμό ηπατικής στεάτωσης. (24)

Ακόμη, οι NASH ασθενείς έχουν υψηλότερη πρόσληψη απλών υδατανθράκων σε σχέση με τους ασθενείς με απλή ηπατική στεάτωση, καθώς επίσης και η φρουκτόζη ειδικά έχει φανεί πως η πρόσληψη της είναι 2-3 φορές υψηλότερη στους NAFLD ασθενείς. (25)

Τέλος, αναφορικά με την πρόσληψη **πρωτεϊνών** στους ασθενείς με NAFLD, δεν υπάρχει καθορισμένη σύνδεση. Από τη μία, σε κλινική μελέτη, μια υποθερμιδική δίαιτα υψηλή σε πρωτεΐνη φάνηκε να βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ, το μεταβολισμό της γλυκόζης και τα ηπατικά ένζυμα ακόμη και χωρίς ταυτόχρονη απώλεια βάρους. (26) Από την άλλη πλευρά, σε μελέτη, η πρόσληψη πρωτεϊνών συσχετίστηκε με τη νόσο. (22)

Μικροθρεπτικά Συστατικά

Σχετικά με την πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών, φαίνεται αρχικά ότι οι NAFLD ασθενείς έχουν χαμηλή πρόσληψη **βιταμίνης Ε**. (19) Η χαμηλή πρόσληψη βιταμίνης Ε σε συνδυασμό με την υπεροξειδωση λίπους και το οξειδωτικό στρες μπορεί να συνεισφέρει στο ηπατοκυτταρικό τραύμα, τη φλεγμονή και την ίνωση σε NASH ασθενείς. (19)

Ακόμη, **η χολίνη**, που αποτελεί απαραίτητο θρεπτικό συστατικό, όταν βρίσκεται σε έλλειψη, οδηγεί σε ηπατική συσσώρευση λίπους και οργανική δυσλειτουργία στην πλειοψηφία των ατόμων, καταστάσεις οι οποίες είναι αναστρέψιμες έπειτα από χορήγηση της. Η επίδραση της ανεπάρκειας εκτείνεται από την ηπατική στεάτωση έως το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. (27)

Τέλος, **οι πολυφαινόλες**, με κυριότερες τις κατεχίνες και τις ανθοκυανίνες, είναι μια ομάδα φυτοχημικών με αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση οι οποίες περιέχονται στα φρούτα και τα λαχανικά. Γι αυτό το λόγο, προστατεύουν τα ηπατοκύτταρα από το τραύμα το οποίο προκαλείται από το οξειδωτικό στρες βελτιώνοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού και αναστέλλοντας τα μονοπάτια απόπτωσης των μιτοχονδρίων. (28)

1.3.2.2 Φυσική Δραστηριότητα

Η φυσική κατάσταση και η καθιστική ζωή έχουν συσχετιστεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD και NASH. Υψηλότερα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας έχουν συσχετιστεί με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης NAFLD ενώ παράλληλα, χαμηλότερα επίπεδα σωματικής δραστηριότητας έχουν συσχετιστεί θετικά και με τη βαρύτητα της NAFLD. (3) (29)

1.3.2.3 Κάπνισμα

Σε μια αναδρομική μελέτη με 2029 συμμετέχοντες, το κάπνισμα βρέθηκε να αποτελεί επίσης ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για NAFLD. Μετέπειτα και άλλες μελέτες έδειξαν όμοια αποτελέσματα. (30) Η χρήση καπνού γενικά φαίνεται ότι προδιαθέτει ένα άτομο για την εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη. Επιπρόσθετα, μια μελέτη σε εφήβους στις Ηνωμένες Πολιτείες έδειξε ότι η παθητική και ενεργητική έκθεση στον καπνό είναι ισχυροί ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου. (3)

1.3.3 Γενετικοί Παράγοντες

Πολυάριθμες μελέτες δείχνουν ότι διάφοροι γενετικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με τον μεταβολισμό της γλυκόζης, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τον μεταβολισμό των λιπιδίων, τη φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες και την ίνωση φαίνεται να επηρεάζουν και την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης. (31) Παρακάτω, αναφέρονται μερικοί από τους πιο μελετημένους γενετικούς τόπους που έχουν συσχετιστεί με ηπατική στεάτωση.

Πίνακας 1: Γενετικοί Πολυμορφισμοί σχετιζόμενοι με NAFLD

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Αλληλόμορφο κινδύνου	Χρωμόσωμα
PNPLA3	rs738409	G	22
TM6SF2	rs58542926	A	19
GCKR	rs780094	A	2
MBOAT7	rs641738	T	19
GC	rs222054	C	4
LCP-1	rs7324845	A	13
TNF-a	Variant 238	A	19
APOC3	rs2854116	C	11
APOC3	rs2854117	T	11

Το γονίδιο PNPLA3 κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη με 481 αμινοξέα, την αδιπονουτρίνη η οποία εκφράζεται στο ήπαρ και το λιπώδη ιστό. (32) Στην πρώτη GWAs ανάλυση για τη NAFLD που έγινε στη μελέτη «Dallas Heart», αξιολογήθηκαν 9000 απλοί γενετικοί πολυμορφισμοί σε 2111 άτομα. Από όλους, μόνο ο rs738409 του γονιδίου PNPLA3 συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με το ενδοηπατικό λίπος. (33) Ο πολυμορφισμός προκύπτει από αντικατάσταση της ισολευκίνης από μεθειονίνη στο κωδικόνιο 148 και προκύπτει το αλληλόμορφο I148M. (32) Ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την ηπατική συσσώρευση λίπους. Σύμφωνα με μετα-ανάλυση οι φορείς για το G

αλληλόμορφο έχουν 73% περισσότερο ηπατικό λίπος, 3,2 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για νεκροφλεγμονή και 3,2 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για ίνωση σε σχέση με τους μη φορείς. (34) Ένας από τους πιο μελετημένους γενετικούς πολυμορφισμούς που έχει συσχετιστεί με ηπατική στεάτωση είναι η μετάλλαξη I148M του γονιδίου PNPLA3 που εμφανίζεται συχνότερα σε άτομα Ισπανικής καταγωγής τα οποία έχουν και μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης NAFLD σε σχέση με άλλους πληθυσμούς. (3) Γενετικές αναλύσεις έδειξαν ότι οι Ισπανόφωνοι πληθυσμοί είχαν διπλάσια περιεκτικότητα λίπους στο ήπαρ εάν ήταν ομόζυγοι για το αλληλόμορφο PNPLA3. Επιπλέον, η οικογένεια των γονιδίων PNPLA3 έχειδειχθεί ότι επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων και οι ασθενείς που διαθέτουν αυτόν τον πολυμορφισμό βρέθηκε ότι έχουν αυξημένη περιεκτικότητα λίπους στο ήπαρ, αποθηκευμένα τριγλυκερίδια και επίπεδα φλεγμονής. Τέλος, άτομα που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο αυτό έχουν και τα σοβαρότερα ιστολογικά χαρακτηριστικά της NAFLD. (3)

Το γονίδιο TM6SF2 κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη η οποία ρυθμίζει τη φυσιολογική έκκριση των VLDL από το ήπαρ. Η πρωτεΐνη εκφράζεται έντονα στο ήπαρ, τους νεφρούς και το λεπτό έντερο. (32) Από την ίδια μελέτη «Dallas Heart», φάνηκε πως το αλληλόμορφο A του πολυμορφισμού rs5854926 του γονιδίου TM6SF2 σχετίζεται με υψηλό ηπατικό περιεχόμενο TG και υψηλά επίπεδα ηπατικών ενζύμων. (35) Ο πολυμορφισμός προκύπτει από αντικατάσταση του γλουταμινικού από λυσίνη στο κωδικόνιο 167 και προκύπτει το αλληλόμορφο 167K. (32) Σε μια έρευνα φάνηκε πως ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με το ηπατικό περιεχόμενο σε λίπος και μάλιστα η επίδραση του ήταν ανεξάρτητη από την επίδραση του πολυμορφισμού rs738409 του γονιδίου PNPLA3, της παχυσαρκίας και της IR. (36) Ακόμη, σε κάποιες μελέτες έχει φανεί ότι υπάρχει αθροιστική επίδραση μεταξύ των αλληλόμορφων κινδύνου των πολυμορφισμών των γονιδίων TM6SF2 και PNPLA3 ως προς το μεταβολισμό του λίπους και τη NAFLD. (37)

Το γονίδιο GCKR κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία είναι ρυθμιστής του ενζύμου γλυκοκινάση. Η πρωτεΐνη αυτή αναστέλλει τη γλυκοκινάση (GC), το ένζυμο που καταλύει το πρώτο στάδιο της γλυκόλυσης. (32) Μια σειρά από μελέτες έδειξαν την επίδραση του πολυμορφισμού rs780094 στην εμφάνιση της NAFLD και πιο συγκεκριμένα, το αλληλόμορφο A του πολυμορφισμού σχετίζεται με μέτριο κίνδυνο για ηπατική στεάτωση, με σοβαρότητα ίνωσης και με τα αυξημένα επίπεδα TG. (38)

Το γονίδιο MBOAT7 κωδικοποιεί μια ακυλοτρανσφεράση λυσοφωσφατιδυλοινοσιτόλης, ένζυμο το οποίο καταλύει την αναδιαμόρφωση της αλυσίδας των ακυλο-ομάδων στα μόρια φωσφατιδυλοινοσιτόλης. (32) Σε μελέτη, φάνηκε συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού αυτού και της εμφάνισης και εξέλιξης της NAFLD σε Ευρωπαίους. Πιο συγκεκριμένα, το αλληλόμορφο κινδύνου T συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την ηπατική στεάτωση, τη σοβαρότητα του ηπατικού τραύματος και τον κίνδυνο για ίνωση. (38)

Το γονίδιο GC κωδικοποιεί την πρωτεΐνη σύνδεσης της βιταμίνης D, η οποία είναι η κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς της. (39) Η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου C συσχετίστηκε με 2.54 φορές υψηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση της NAFLD σε σχέση με την παρουσία 2 συχνών αλληλόμορφων. Η συχνότητα της NAFLD αυξήθηκε από 9.7% στους ομόζυγους για το συχνό αλληλόμορφο, σε 16.8% στους ετερόζυγους και σε 21.4% στους ομόζυγους για το αλληλόμορφο C. (40)

Το γονίδιο LCP1 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη δέσμευσης ακτίνης, η οποία κυρίως εκφράζεται στα αιμοποιητικά κύτταρα. Συμμετέχει στην ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. (41) Ο πολυμορφισμός rs7324845 έχει συσχετιστεί με την προκαλούμενη από χημειοθεραπεία υπερτριγλυκεριδαιμία, προτείνοντας πως ίσως έχει κάποιο ρόλο στο μεταβολισμό του λίπους. (42)

Το γονίδιο TNF-α κωδικοποιεί τον TNF-α, μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη η οποία αυξάνει την IR μέσω της αναστολής της δράσης της κινάσης στον υποδοχέα της ινσουλίνης. Τα υψηλά επίπεδα TNF-α συνδέονται με τη NAFLD και τη σοβαρότητα της NASH. (32) Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση αναγνώρισε συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού 238 του εκκινητή στο γονίδιο TNF-α και της NAFLD. Η συχνότητα των ομόζυγων και των ετερόζυγων για το αλληλόμορφο A ήταν 23.7% στους NAFLD ασθενείς και 13.9% στους υγιείς. Επομένως, προτάθηκε πως ο πολυμορφισμός αυτός αυξάνει τον κίνδυνο για τη νόσο. (43)

Το γονίδιο APOC3 κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη C3, η οποία είναι συστατικό των VLDL και αναστέλλει την λιποπρωτεϊνική λιπάση και την κάθαρση των TG. Οι πολυμορφισμοί rs2854116 και rs2854117 του γονιδίου APOC3 έχουν συσχετιστεί με υπερτριγλυκεριδαιμία και τη NAFLD.. Επιπλέον, σε μελέτη φάνηκε ότι οι πολυμορφισμοί αυτοί επιδρούσαν προσθετικά με τον πολυμορφισμό του PNPLA3 προκαλώντας υψηλότερη ηπατική συσσώρευση λίπους. (44)

1.3.4 Κλινικοί Παράγοντες Κινδύνου

1.3.4.1 Μεταβολικό Σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί ένα σύνολο συνιστωσών που προδιαθέτει ένα άτομο να αναπτύξει καρδιαγγειακά νοσήματα και ΣΔΙΙ. Τα διαγνωστικά κριτήρια φαίνονται στο ακόλουθο σχήμα. Ένα άτομο χαρακτηρίζεται από Μεταβολικό Σύνδρομο, όταν τηρούνται τα 3 από τα 5 κριτήρια. (45)

Σχήμα 2: Κριτήρια Διάγνωσης Μεταβολικού Συνδρόμου

metabolic syndrome*	
Risk Factor	Defining Level
Abdominal obesity (waist circumference)	
Men	>102 cm (>40 in)
Women	>88 cm (>35 in)
Triglycerides [†]	≥150 mg/dL
HDL cholesterol [‡]	
Men	<40 mg/dL
Women	<50 mg/dL
Blood pressure	≥130/≥85 mm Hg
Fasting glucose	≥100 mg/dL [§]
HDL = high-density lipoprotein. *Diagnosis is established when ≥3 of these risk factors are present. ² [†] 1 mg/dL = 0.01129 mmol/L. [‡] 1 mg/dL = 0.02586 mmol/L. [§] Updated fasting glucose guidelines. ⁴⁵ 1 mg/dL = 0.0555 mmol/L. Adapted with permission from JAMA. ⁴³	

Η συχνότητα εμφάνισης NAFLD αυξάνεται όταν υπάρχει το Μεταβολικό Σύνδρομο, ενώ ο κίνδυνος εμφάνισης NAFLD και η βαρύτητα της νόσου αυξάνονται όσο περισσότερα διαγνωστικά κριτήρια του ΜΣ πληρούνται. (3)

1.3.4.2 Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία είναι ένας από τους σημαντικότερους ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση NAFLD. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μετα-ανάλυση στην οποία λήφθηκαν υπόψη 21 αναδρομικές μελέτες, φάνηκε ότι τα παχύσαρκα άτομα έχουν 3,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν NAFLD ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε μια δόσοεξαρτώμενη σχέση του δείκτη BMI και του κινδύνου για NAFLD. (46) Ακόμη, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η κεντρική παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για NAFLD, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες. (47) Επίσης, δεδομένα σύγχρονων επιδημιολογικών μελετών υποστηρίζουν ότι ο επιπολασμός της NAFLD στα παχύσαρκα παιδιά και τους παχύσαρκους ενήλικες κυμαίνεται από 57 ως 74 %

και από 22 ως 58% αντίστοιχα, ανάλογα πάντα με τον πληθυσμό αναφοράς. (48) Τέλος, δεδομένου ότι η πιθανότητα λιπόλυσης στον κοιλιακό λιπώδη ιστό είναι μεγαλύτερη από ότι στον υποδόριο, τα άτομα με κεντρικού τύπου παχυσαρκία φαίνεται να έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου. Κατά συνέπεια, η τιμή της περιφέρειας μέσης καθώς και η τιμή του λόγου περιφέρειας μέσης/ισχύου συνιστούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση της NAFLD, με αποτέλεσμα τα άτομα με κεντρική εναπόθεση λίπους να έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου, ακόμη και ανεξάρτητα από την τιμή του δείκτη μάζας σώματός τους. (48) (49)

1.3.4.3 Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II

Οι μελέτες δείχνουν ότι οι διαβητικοί ασθενείς έχουν κατά 80% πιο αυξημένα επίπεδα λίπους στο ήπαρ σε σχέση με τους μη διαβητικούς, ακόμη και όταν γίνεται διόρθωση ως προς την ηλικία, το φύλο και το βάρος. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με ΣΔτ2 εμφανίζουν πολύ υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης NASH καθώς και 2-3 φορές αυξημένο κίνδυνο επιπλοκών σχετιζόμενων με το λιπώδες ήπαρ. (3)

1.3.4.4 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών είναι μια κοινή ενδοκρινική διαταραχή σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας το οποίο τυπικά χαρακτηρίζεται από παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη και ως εκ τούτου, οι γυναίκες με ΣΠΩ διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔτ2. Σε μια μελέτη στην οποία αξιολογήθηκαν 600 γυναίκες με ΣΠΩ και 125 υγιείς γυναίκες εξομοιωμένες ως προς το ΔΜΣ, ο επιπολασμός της NAFLD βρέθηκε υψηλότερος σε εκείνες με ΣΠΩ. (3)

1.3.4.5 Αποφρακτική Άπνοια Ύπνου

Η αποφρακτική άπνοια ύπνου χαρακτηρίζεται από πλήρη ή μερική απόφραξη των αεραγωγών κατά τη διάρκεια του ύπνου. Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να παρατηρείται μια σχέση της AAY με τον σακχαρώδη διαβήτη, το μεταβολικό σύνδρομο και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Αυτό φαίνεται να εξηγείται από τη χρόνια διαλείπουσα υποξία που παρουσιάζουν τα άτομα αυτά, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, οξειδωτικό στρες, μεταβολική δυσλειτουργία, και σε αντίσταση στην ινσουλίνη. Μάλιστα θεωρείται πως η AAY πιθανό να είναι ένα από τα στοιχεία που προάγουν την εξέλιξη της NAFLD από την απλή στεάτωση στη NASH, καθώς τα ερευνητικά

δεδομένα δείχνουν ότι η χρόνια υπολειπόμενη υποξία μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό του ήπατος, φλεγμονή και ίνωση. (3)

1.4 Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία για την εμφάνιση και εξέλιξη της NAFLD είναι αρκετά πολύπλοκος. Έχουν διατυπωθεί διάφορες θεωρίες, με τη πιο γνωστή να είναι αυτή των 2 χτυπημάτων. Αργότερα όμως, φάνηκε πως αυτή η θεωρία είναι αρκετά απλοϊκή και έτσι πρόσφατα αντικαταστάθηκε από την υπόθεση πολλαπλών χτυπημάτων η οποία δίνει πιο έγκυρη και ολοκληρωμένη επεξήγηση για την παθοφυσιολογία της νόσου. (50)

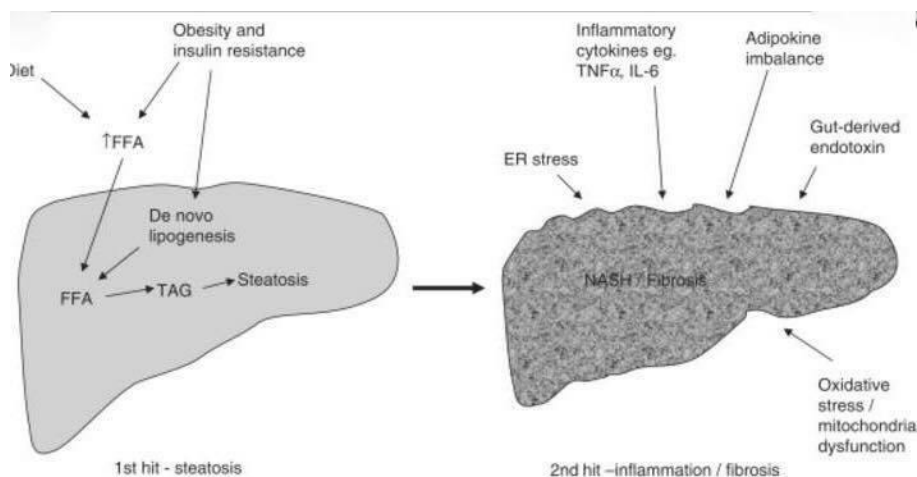
1.4.1 Θεωρία δύο χτυπημάτων

Σύμφωνα με την παραδοσιακή αυτή θεωρία αναγνωρίζονται δύο στάδια. 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 (υψηλή σε λίπος δίαιτα ή/και παρουσία παχυσαρκίας ή/και ινσουλινοαντίσταση). Σημασία έχει σε αυτό το στάδιο η αντίσταση στην ινσουλίνη. Έτσι, γίνεται αυξημένη μεταφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων από τις αποθήκες του λίπους προς το ήπαρ, υπάρχει αυξημένη de novo λιπογένεση, αυξάνεται η σύνθεση γλυκόζης αλλά και γλυκόλυσης, υπάρχει αυξημένη παραγωγή τριακυλογλυκερολών από τα λιπαρά οξέα στο ήπαρ και τέλος μειώνεται η απελευθέρωση τριγλυκεριδίων με τη μορφή VLDLs. (51) (52)

Λόγω των παραπάνω συμβάντων δημιουργείται στεάτωση και το ήπαρ γίνεται ευάλωτο στο “δεύτερο χτύπημα” (second hit) το οποίο οδηγεί σε φλεγμονώδη απάντηση και εξέλιξη της ηπατικής βλάβης. (52) (53) Εμφανίζεται 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. 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). Με λίγα λόγια, όλα αυτά οδηγούν στη φλεγμονή, στην ίνωση και τον κυτταρικό θάνατο, που είναι χαρακτηριστικά της NASH. (54)

Στο παρακάτω σχήμα, φαίνεται η απεικόνιση της θεωρίας των δύο χτυπημάτων. (52)

Σχήμα 3: Σχηματική Απεικόνιση της Θεωρίας των δύο Χτυπημάτων

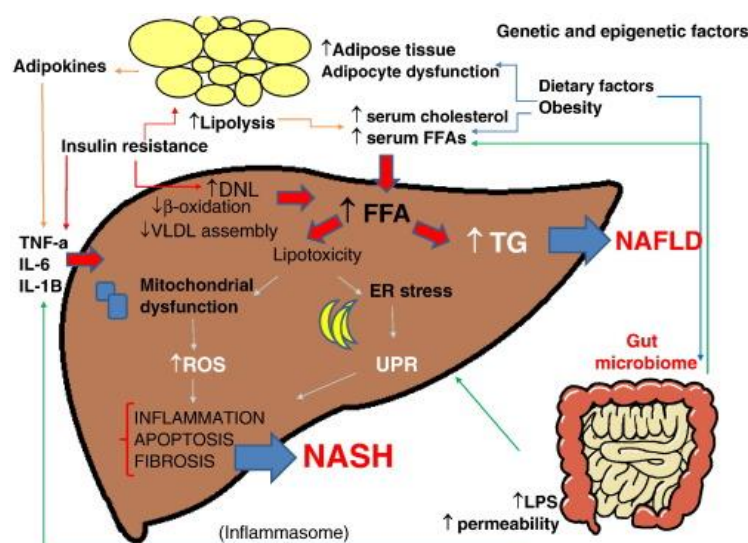


1.4.2 Θεωρία Πολλαπλών Χτυπημάτων

Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί 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. Γι αυτό το λόγο κυριαρχεί η θεωρία των πολλαπλών χτυπημάτων. (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.

Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η απεικόνιση της θεωρίας των πολλαπλών χτυπημάτων. (50)

Σχήμα 4: Σχηματική Απεικόνιση της Θεωρίας των Πολλαπλών Χτυπημάτων



Τα χτυπήματα που παίζουν ρόλο στη θεωρία αυτή, αναλύονται παρακάτω και αφορούν την ινσουλινοαντίσταση, το οξειδωτικό στρες, τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, τη φλεγμονή και κυτταρική απόπτωση και τέλος την εντερική μικροχλωρίδα.

1.4.2.1 Ινσουλινοαντίσταση

Σε κατάσταση ινσουλινοαντίστασης, παρατηρείται υπεργλυκαιμία, υπερινσουλιναίμία και αυξημένη λιπόλυση στο λιπώδη ιστό. (57) Η υπερινουλιναίμία επάγει τη μεταγραφική ρύθμιση γονιδίων που προάγουν τη de νονολιπογένεση στο ήπαρ, ενώ παράλληλα η αυξημένη λιπόλυση στο λιπώδη ιστό προκαλεί αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) στο ήπαρ. Τα FFA αυτά μπορούν είτε να υποστούν β-οξείδωση με σκοπό την παραγωγή ενέργειας, είτε να μεταφερθούν εκτός του ήπατος μέσω των VLDL λιποπρωτεϊνών, είτε να επανεστεροποιηθούν προς σχηματισμό τριακυλογλυκερολών για αποθήκευση ενέργειας μέσα στο ήπαρ. Ως αποτέλεσμα, δημιουργείται ηπατική στεάτωση. Η ινσουλινοαντίσταση είναι επίσης ικανή να προωθήσει την εξέλιξη από ηπατική στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα και ίνωση. (50) (58)

1.4.2.2 Οξειδωτικό Στρες – Μιτοχονδριακή Δυσλειτουργία

Η αυξημένη συσσώρευση FFA επιδρά αρνητικά στη δομή και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων του ήπατος. Πιο συγκεκριμένα, εξαντλείται το μιτοχονδριακό DNA, διαταράσσεται η αναπνευστική αλυσίδα και η β-οξείδωση, και επιβαρύνεται η οξειδωτική τους ικανότητα. (50) Για να μπορέσει να αντισταθμιστεί η υπερβολική αποθήκευση λίπους στο ήπαρ, ξεκινάει η οξείδωση λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Με αυτό τον τρόπο, προκαλείται υπεροξείδωση λιπιδίων και κατά συνέπεια υπερπαραγωγή τοξικών μεταβολιτών και ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), που συνδέονται με τη μιτοχονδριακή βλάβη. (59) Εν συνεχεία, μειώνεται ο ρυθμός πρωτεϊνοσύνθεσης και αύξησης της αποδόμησης των πρωτεϊνών και έτσι τα κύτταρα ωθούνται στην απόπτωση και στη νέκρωση, με τελικό αποτέλεσμα το ηπατοκυτταρικό τραύμα. (50)

1.4.2.3 Φλεγμονή και Κυτταρική Απόπτωση

Η αύξηση των επιπέδων FFA και η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλούν επιπλέον δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού με αποτέλεσμα να επηρεάζονται μια σειρά από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. (50) Το σπλαχνικό λίπος αποτελεί μια μεγάλη πηγή τέτοιων παραγόντων και παρουσία παχυσαρκίας εγκαθίσταται χαμηλού βαθμού φλεγμονή. (60)

Πολλοί από τους παράγοντες που εκκρίνονται στον λιπώδη ιστό, όπως η αδιπονεκτίνη, η ρεζιστίνη, η λεπτίνη, η βισφατίνη, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α) και η ιντελευκίνη6 (IL-6) έχουν συσχετιστεί με την παθογένεια της NAFLD. (61) Πιο συγκεκριμένα, σε ασθενείς με NAFLD έχουν βρεθεί μειωμένα επίπεδα αδιπονεκτίνης, η οποία διαθέτει αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ υψηλά είναι τα επίπεδα λεπτίνης [41], TNF-α και IL-6. (60) Όλα τα παραπάνω οδηγούν στην ενεργοποίηση ειδικών συμπλεγμάτων πρωτεϊνών του κυταροπλάσματος, τα “φλεγμονοσώματα”, τα οποία είναι υπεύθυνα για την ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών και συνδέονται με την ανάπτυξη και εξέλιξη της NAFLD. (50)

1.4.2.4 Εντερική Μικροχλωρίδα

Όλο και περισσότερες μελέτες δείχνουν τη σχέση της εντερικής μικροχλωρίδας και συγκεκριμένα της βακτηριακής υπερανάπτυξης στην ανάπτυξη και την εξέλιξη της NAFLD. Το ήπαρ αποτελεί ένα από τα πιο εκτεθειμένα όργανα στους τοξικούς παράγοντες του εντέρου, δηλαδή τα βακτήρια και τα υποπροϊόντα τους. (62) Μελέτες δείχνουν ότι ασθενείς με NAFLD έχουν σημαντικά αυξημένη εντερική διαπερατότητα και υψηλότερο επιπολασμό βακτηριακής υπερανάπτυξης στο λεπτό έντερο συγκριτικά με υγιή άτομα. Παράλληλα, φαίνεται ότι αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να επάγουν την ηπατική φλεγμονή και την εμφάνιση NASH. (63) Ακόμη, οι επαγόμενες της βακτηριακής υπερανάπτυξης παραγωγή αιθανόλης και απελευθέρωση λιποπολυσακχαριτών από το εντερικό μικροβίωμα μπορεί να ενεργοποιήσουν τον TNF-α στα κύτταρα Kupffer και να επάγουν την ηπατική φλεγμονή. (54)

1.5 Αντιμετώπιση

Οι στρατηγικές που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της NAFLD βασίζονται σε αλλαγές του τρόπου ζωής, όπως είναι η διατροφή και η άσκηση. Σε δεύτερο επίπεδο, δίνεται στους ασθενείς φαρμακευτική αγωγή και σε κάποιες περιπτώσεις ασθενών συστήνεται και βαριατρική χειρουργική. (64)

1.5.1 Διατροφή

1.5.1.1 Διατροφή με σκοπό την απώλεια βάρους

Η πρώτη γραμμή θεραπείας για τους νοσούντες με NAFLD είναι η απώλεια σωματικού βάρους, με σκοπό να βελτιωθεί η στεάτωση, να μειωθεί η ηπατική φλεγμονή και η ηπατοκυτταρική βλάβη. (65) Φαίνεται ότι η απώλεια βάρους δρα ευεργετικά στους ασθενείς, αλλά δεν πρέπει

να είναι απότομη η απώλεια, καθώς οι απότομες διακυμάνσεις μπορεί να επιδεινώσουν την ηπατική βλάβη. (66) Έτσι, σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς, συστήνεται απώλεια 3%-5% του υπάρχοντος βάρους σε απλή στεάτωση και 7%-10% σε ασθενείς με NASH. (66) Επιπλέον, σε μια μετα-ανάλυση 8 τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων κλινικών μελετών φάνηκε ότι απώλεια βάρους $\geq 5\%$ βελτίωσε την ηπατική στεάτωση. Παράλληλα, απώλεια βάρους $\geq 7\%$ βελτίωσε το δείκτη NAS που προκύπτει από τη βιοψία, χωρίς να παρουσιάζεται βελτίωση στην ίνωση. (67) Σε άλλη μελέτη με ασθενείς NASH, παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς που έχασαν $\geq 10\%$ του σωματικού τους βάρους, μειώθηκε το ποσοστό ίνωσης. (68) Με βάση τα παραπάνω, οι σύγχρονες συστάσεις από την Αμερικάνικη Εταιρία για τη μελέτη των Ασθενειών του Ήπατος (AASLD) προτείνουν απώλεια της τάξης του 3-5% του σωματικού βάρους μέσω της υιοθέτησης ενός υποθερμιδικού διαιτολογίου με ή χωρίς την ενίσχυση της φυσικής δραστηριότητας για βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης. Απώλεια μεγαλύτερη του 10% συστήνεται για βελτίωση του βαθμούς της ίνωσης. (69)

1.5.1.2 Διατροφή με αλλαγές στη σύσταση δίαιτας

Σε περιπτώσεις που δεν είναι εύκολη η απώλεια βάρους, επιλέγεται η αλλαγή της σύστασης της δίαιτας με σκοπό την αντιμετώπιση της νόσου. Τέτοιες δίαιτες, είναι η δίαιτες χαμηλές σε λίπος ή/και υδατάνθρακες. Σε μια μελέτη στην οποία διερευνήθηκε η επίδραση μιας χαμηλής σε υδατάνθρακες δίαιτα και μιας χαμηλής σε λίπος στα ηπατικά λιπίδια υπέρβαρων ή παχύσαρκων ατόμων, φάνηκε ότι και οι δύο δίαιτες πέτυχαν παρόμοια μείωση του σωματικού βάρους και των ενδοηπατικών τριγλυκεριδίων. (59) Επιπλέον, μια δίαιτα, υψηλή σε ω-3 λιπαρά οξέα, φαίνεται να συμβάλλει στη μείωση του σωματικού βάρους, της ηπατικής συσσώρευσης τριγλυκεριδίων, στη βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας και της ηπατικής στεάτωσης. (70)

Ακόμη, τα τελευταία χρόνια έχει διερευνηθεί και η σχέση κάποιων διατροφικών προτύπων με τη NAFLD. Συγκεκριμένα, η μεσογειακή διατροφή, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλή πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, φρούτων, δημητριακών ολικής άλεσης και γαλακτοκομικών χαμηλών σε λιπαρά σε συνδυασμό με τη μειωμένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος, έχει σημαντικά οφέλη στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Επομένως, μπορεί να δράσει και θεραπευτικά σε ασθενείς με NAFLD. (66)

1.5.2 Φυσική Δραστηριότητα

Η σωματική άσκηση φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη νόσο. Συγκεκριμένα, μελέτες έχουν δείξει ότι η σωματική αδράνεια έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για NAFLD και αυξημένη σοβαρότητα της NASH. (71) Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση, διερευνήθηκε η επίδραση παρεμβάσεων τροποποίησης του τρόπου ζωής μόνο με άσκηση σε ασθενείς με NAFLD. Φάνηκε, λοιπόν, ότι η φυσική δραστηριότητα συσχετίζεται με σημαντική μείωση των ενδοηπατικών λιπιδίων και των ηπατικών ενζύμων ALT και AST. (72) Ακόμη, μελέτες υποστηρίζουν τη συμβολή της αερόβιας άσκησης στη μείωση της ηπατικής και κοιλιακής εναπόθεσης λίπους ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους. Τέλος, σε κάποιες από αυτές τις μελέτες επισημαίνεται η υπεροχή της αερόβιας άσκησης συγκριτικά με τις ασκήσεις αντιστάσεων ως προς την ικανότητα μείωσης του κοιλιακού λίπους. (73)

1.5.3 Συμπληρώματα διατροφής

Η βιταμίνη Ε είναι μια αντιοξειδωτική ουσία που έχει δείξει θετικές επιδράσεις σε ασθενείς με NAFLD. Σε πολυάριθμες μελέτες, φαίνεται η βελτίωση της στεάτωσης και της φλεγμονής, έπειτα από τη συμπληρωματική χορήγηση της βιταμίνης. Ακόμη, σε μια μεταανάλυση φάνηκε ότι η βιταμίνη Ε μειώνει σημαντικά τα ηπατικά ένζυμα AST, ALT, και ALP, την στεάτωση, την φλεγμονή και το ηπατοκυτταρικό τραύμα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. (74) Πρέπει να σημειωθεί ότι οι μελέτες που κάνουν λόγο για τη βιταμίνη Ε, είναι ετερογενείς, δοκιμάζονται διαφορετικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Ε έναντι διαφορετικών παραγόντων και εμφανίζουν περιορισμούς μιας και πιθανά ταυτόχρονη απώλεια σωματικού βάρους των συμμετεχόντων δυσχεραίνει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. (75) Γενικότερα, σύμφωνα με τις Αμερικάνικες Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη διάγνωση και διαχείριση των ασθενών με NAFLD, η καθημερινή χορήγηση βιταμίνης Ε σε δόση 800 IU βελτιώνει την ιστολογία του ήπατος σε μη διαβητικούς ενήλικες με επιβεβαιωμένη με βιοψία NASH και θα πρέπει να βρίσκεται στην πρώτη γραμμή φαρμακοθεραπείας στο συγκεκριμένο πληθυσμό.

Επιπλέον, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς για το αν έχουν αποτελεσματική δράση στη νόσο, αλλά σε μια πρόσφατη μεταανάλυση φάνηκε μείωση της ALT στην ομάδα συμπληρωματικής χορήγησης PUFA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. (76) Τέλος, άλλα συστατικά που έχουν διερευνηθεί είναι η βιταμίνη C και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, όπως η βιταμίνη D και η καρνιτίνη, τα αποτελέσματα των οποίων όμως είναι αβέβαια. (77)

1.5.4 Φαρμακευτική αγωγή

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για το αυξημένο σάκχαρο και την αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως είναι η ροσιγλιταζόνη και η πιογλιταζόνη, αυξάνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη και έχει φανεί ότι βελτιώνουν τη στεάτωση και τις αμινοτρανσφεράσες σε ασθενείς με NASH. (78) Επιπλέον, τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με NASH, έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη βελτιώνει σημαντικά τις αμινοτρανσφεράσες, την ηπατική στεάτωση και τη φλεγμονή σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς όμως να βελτιώνεται η ίνωση. (79) (80) Από την άλλη, η μετφορμίνη αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη μειώνοντας την ηπατική γλυκονεογένεση και περιορίζοντας την παραγωγή τριγλυκεριδίων. (81)

Οι στατίνες, που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της δυσλιπιδαιμίας εμποδίζουν την ενδογενή σύνθεση χοληστερόλης αλλά έχουν και αντιφλεγμονώδεις δράσεις και χρησιμοποιούνται και στη NAFLD. (82) Η ατορβαστατίνη, έχει δείξει σημαντική μείωση στις αμινοτρανσφεράσες και τα λιπιδία του ορού σε ασθενείς με NAFLD. Επίσης, η ροσουβαστατίνη έχει δείξει θετική δράση σε δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς με NAFLD και μεταβολικό σύνδρομο. (83)

1.5.5 Βαριατρική Χειρουργική

Σύμφωνα με πρόσφατη μετα-ανάλυση, παχύσαρκα άτομα τα οποία υποβλήθηκαν σε βαριατρική χειρουργική, έδειξαν σημαντική βελτίωση τόσο σε ιστολογικά χαρακτηριστικά της NAFLD όπως η στεάτωση, η ίνωση και η ηπατοκυτταρική φλεγμονή, όσο και σε βιοχημικά χαρακτηριστικά της, μειώνοντας τα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων ALT και AST, την αλκαλική φωσφατάση και τη γ-γλουταμυλοτρανσφεράση. Βέβαια, χρειάζεται περεταίρω διερεύνηση για την πιθανότητα χρήσης της μεταβολικής χειρουργικής ως θεραπεία σε άτομα με NAFLD παρουσία παχυσαρκίας. (64)

2.1 Κλινική Εικόνα

Οι ασθενείς με NAFLD δεν παρουσιάζουν μια συγκεκριμένη κλινική εικόνα, ώστε να μπορεί να γίνει έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Συνήθως, γίνεται αντιληπτή η ύπαρξη της νόσου από κάποιες εργαστηριακές εξετάσεις ή υπέρηχο που έχει πραγματοποιηθεί για άσχετο λόγο.

Αρχικό βήμα για τη διάγνωση της νόσου είναι ο αποκλεισμός άλλων ασθενειών που συνδέονται με το ήπαρ, όπως είναι η ιογενής ηπατίτιδα, η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα, η ηπατίτιδα τύπου I - II και η νόσος Wilson. (4) Επιπλέον, πρέπει να αποκλειστούν τα περιστατικά που σχετίζονται με υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ (λιπώδης διήθηση αλκοολικής αιτιολογίας). (85)

Παρόλ' αυτά, κάποιοι ασθενείς με NAFLD παραπονιούνται στα αρχικά στάδια της νόσου για πόνο στο άνω δεξί τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας, καθώς επίσης και για δυσπεψία και κόπωση. (86) Σε προχωρημένη ίνωση, εμφανίζονται συμπτώματα όπως σπληνομεγαλία, θρομβοπενία, ασκίτης και ίκτερος. (87)

Επιπλέον, τα άτομα που νοσούν μπορεί να παρουσιάζονται με διάγνωση παχυσαρκίας ή / και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία, γεγονός το οποίο μπορεί να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση. (88)

2.2 Εργαστηριακά Ευρήματα

Οι εργαστηριακές εξετάσεις που οδηγούν στην υποψία ύπαρξης της νόσου είναι τα αυξημένα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων και συγκεκριμένα των αμινοτρανσφερασών. Επιπλέον, η τιμή της τρανσαμινάσης της αλανίνης, ALT, μπορεί να είναι μεγαλύτερη από την τιμή της τρανσαμινάσης του ασπαραγινικού οξέος, AST, και έτσι ο λόγος AST/ALT να είναι >1,5 στα άτομα με NAFLD. (89) Επιπλέον, τα άτομα με NAFLD μπορεί να έχουν αυξημένα επίπεδα γ-GT, καθώς και αλκαλικής φωσφατάσης. (75)

Ακόμη, τιμές που φαίνεται να συσχετίζονται με την ύπαρξη της νόσου είναι οι χαμηλές τιμές αλβουμίνης, καθώς και οι αυξημένες τιμές χολερυθρίνης και φερριτίνης. Τέτοιες τιμές φαίνεται να υποδηλώνουν παρουσία προχωρημένης ηπατικής νόσου, αλλά μερικές φορές συνδέονται και με την ύπαρξη ηπατικής κίρρωσης. (75)

Επίσης, υπάρχουν και κάποιοι άλλοι δείκτες που διαδραματίζουν ρόλο στην παθογένεση της νόσου, αλλά δεν έχουν ισχυρή προγνωστική αξία, καθώς παρουσιάζουν μεταβολές παρουσία και άλλων φλεγμονωδών καταστάσεων. Τέτοιοι δείκτες είναι η IL-6, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η αντιπονεκτίνη, η ρεζιστίνη και η λεπτίνη. (85)

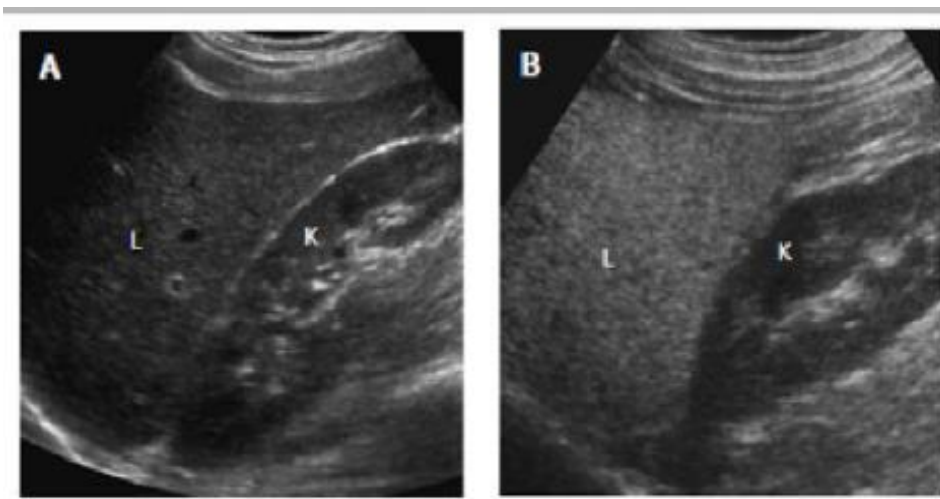
Τέλος ένας δείκτης υποσχόμενος για τη διάγνωση της NAFLD είναι τα κλάσματα κυτοκερατίνης-18. Η κυτοκερατίνη-18 είναι μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την απόπτωση των ηπατοκυττάρων. Τα επίπεδά της στο αίμα των ασθενών αυξάνονται παρουσία ηπατικής βλάβης. (90)

Όλοι οι παραπάνω δείκτες έχουν μικρή ευαισθησία, ειδικότητα και προγνωστική αξία και γι' αυτό η χρήση τους δεν ενδείκνυται για διάγνωση της νόσου. Είναι εμφανές, συνεπώς, ότι είναι αναγκαίο να δημιουργηθούν κατάλληλοι βιοδείκτες για την έγκαιρη πρόγνωση άλλα και διάγνωση της νόσου. (2)

2.3 Απεικονιστικές Τεχνικές

Η διάγνωση της NAFLD μπορεί να επιτευχθεί με πιο αποτελεσματικό τρόπο με τη χρήση απεικονιστικών τεχνικών. Η πιο εύκολη και οικονομική μη επεμβατική μέθοδος είναι η χρήση **υπερήχου**, με την οποία μπορεί να φανεί η συσσώρευση του λίπους στο συκώτι. Πιο συγκεκριμένα, η μέθοδος βασίζεται στο γεγονός ότι το μη στεατωτικό ηπατικό παρέγχυμα έχει ομοιογενή ηχογένεια παρόμοια με αυτή του παρεγχύματος της σπλήνας και του νεφρικού φλοιού. Όμως, στις περιπτώσεις που το ήπαρ είναι λιπώδες, υπάρχει μεγαλύτερη ηχογένεια εξαιτίας της ενδοκυτταρικής συσσώρευσης λίπους. (92) Όπως φαίνεται και στο σχήμα, στην εικόνα Α έχουμε ένα φυσιολογικό ήπαρ, ενώ στην εικόνα Β έχουμε ένα λιπώδες ήπαρ, με αυξημένη ηχογένεια καθώς και φωτεινότερο νευρικό φλοιό. Η σοβαρότητα της ίνωσης ταξινομείται σε μια κλίμακα 4 βαθμίδων: βαθμός 0 (φυσιολογική ηχογένεια), βαθμός 1 (ήπια λιπώδης διήθηση), βαθμός 2 (μέτρια λιπώδης διήθηση), βαθμός 3 (σοβαρής λιπώδης διήθηση). Σε γενικές γραμμές, η μέθοδος του υπερήχου έχει ευαισθησία που κυμαίνεται από 60 έως 94% και ειδικότητα που κυμαίνεται από 66 έως 95%. Παρόλ' αυτά, η ευαισθησία της μεθόδου είναι αρκετά χαμηλή στις περιπτώσεις ήπιας στεάτωσης ή νοσογόνου παχυσαρκίας. (85) Τέλος, ένα ακόμη μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι το γεγονός ότι το αποτέλεσμα του υπερήχου εξαρτάται από τον χειριστή του υπερήχου, καθώς και τον εξοπλισμό. (93)

Σχήμα 5: Υπερηχογράφημα για διάγνωση NAFLD

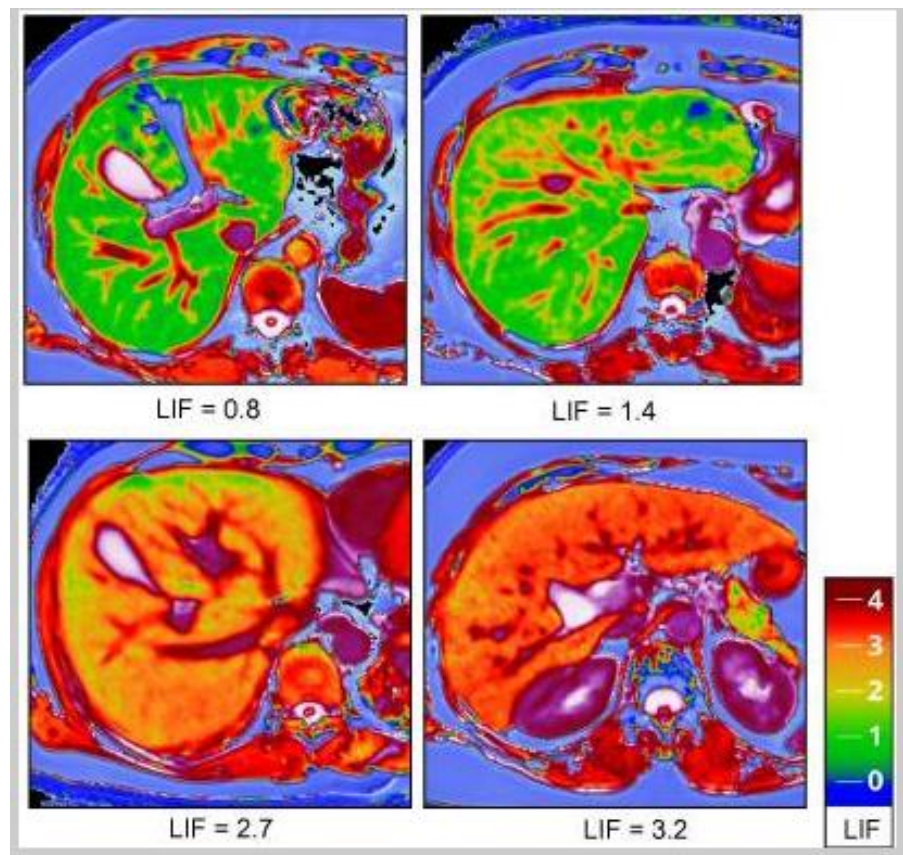


Με μεγαλύτερο κόστος, η διάγνωση μπορεί να γίνει και με τη χρήση αξονικής ή μαγνητικής τομογραφίας. Με την **αξονική τομογραφία**, αξιολογείται η παρουσία και ο βαθμός ηπατικής στεάτωσης. Γίνεται χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας και η ευαισθησία κυμαίνεται από 82 ως 95% και η ειδικότητα αγγίζει το 100%. Για τη διάγνωση της νόσου με τη βοήθεια της συγκεκριμένης μεθόδου υπολογίζεται ο λόγος της εξασθένησης του ήπατος προς τη σπλήνα. Ωστόσο, μπορεί να υπάρξει σφάλμα σε περιπτώσεις ασθενών με αιμοχρωμάτωση και αιμοσιδήρωση, μιας και φαίνεται να επηρεάζονται από την παρουσία περίσσειας σιδήρου και γλυκογόνου στο ήπαρ. Σφάλμα μπορεί να προκύψει ακόμα και από τη λήψη ορισμένων φαρμάκων όπως η αμιοδαρόνη και η μεθοτρεξάτη καθώς και από την παρουσία οξείας ηπατίτιδας ή οξείας τοξικής ηπατικής βλάβης και κίρρωσης. (85) (92)

Αντίστοιχα, με τη **μαγνητική τομογραφία**, που αποτελεί ακόμα πιο ευαίσθητη και ειδική μέθοδο, η διάγνωση γίνεται μέσω χημικής μετατόπισης, η οποία προκαλείται από τη διαφορά της συχνότητας κινητικότητας μεταξύ των πρωτονίων των 36 μορίων νερού και λίπους. Έχει μεγαλύτερο κόστος, αλλά η ευαισθησία που κυμαίνεται μεταξύ 75 έως 90% και η ειδικότητα μεταξύ 87 έως 91%. (90) Με τη χρήση της μαγνητικής τομογραφίας, οι Banerjee et al. ξεκίνησαν να χρησιμοποιούν τη μέθοδο 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 (LIF score). Η κατηγοριοποίηση του LIF score βασίζεται στο σύστημα σταδιοποίησης Ishak. Σύμφωνα με το σύστημα αυτό, απουσία ίνωσης, το άτομο βρίσκεται στο στάδιο F0 (τιμές <1), σε ήπια ίνωση στο στάδιο F1-F2 (τιμές 1-1,99), σε μέτρια

ίνωση στο στάδιο F3-F4 (τιμές 2-2,99) και σε σοβαρού βαθμού, στο στάδιο F5-F6 (τιμές 3-4). (95)

Σχήμα 6: Παράδειγμα LiverMultiScan



Ακόμη, υπάρχει μια μέθοδος, πολλά υποσχόμενη, που έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται για την τεχνική Fibroscan, **παροδική ελαστογραφία** (TE), η οποία χρησιμοποιεί την ελαστικότητα του ήπατος για τη μέτρηση της ακαμψίας του ήπατος με τη βοήθεια υπερηχογραφίας. Με τη μέθοδο αυτή, μετριέται η ακαμψία του ηπατικού ιστού σε kilopascals εφαρμόζοντας χαμηλής συχνότητας δονήσεις στον προς εξέταση ιστό και μετρώντας την ταχύτητα διάδοσης της ενέργειας σε αυτόν. (93) Η ελαστογραφία μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου και άρα τη διάκριση της απλής στεάτωσης από την στεατοηπατίτιδα, ωστόσο και αυτή παρουσιάζει περιορισμούς παρόμοιους με αυτούς της υπερηχογραφίας. (85)

Τέλος, η πιο ακριβής μέθοδος είναι η **βιοψία ήπατος**. Αποτελεί μια επεμβατική μέθοδο, η οποία μπορεί να προκαλέσει και επιπλοκές, όπως αιμορραγία και πόνο, αλλά αποτελεί τη μόνη μέθοδο που μπορεί να κάνει διαφορική διάγνωση μεταξύ απλής στεάτωσης και NASH, καθώς επίσης και να διακρίνει τα στάδια και το βαθμό της ηπατικής ίνωσης και το βαθμό φλεγμονής. (97)

2.4 Συνδυαστικά Μοντέλα

Η ανάγκη χρήσης μη επεμβατικών μεθόδων πρόγνωσης και διάγνωσης της NAFLD, οδήγησε στη δημιουργία συνδυαστικών μοντέλων. Μέχρι στιγμής, έχουν βρεθεί αρκετοί αλγόριθμοι, που χρησιμοποιούν κάποιες μετρήσεις (εργαστηριακές και μη) και στη συνέχεια αξιολογούν την ηπατική ίνωση.

Για να δημιουργεί ένας κατάλληλος αλγόριθμός, πρέπει να υπάρχουν κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Για αρχή, πρέπει ο δείκτης αυτός να έχει διαγνωστική αποτελεσματικότητα, δηλαδή να μπορεί να εντοπίσει την παρουσία μίας ασθένειας με υψηλή αξιοπιστία. Επιπλέον, πρέπει να έχει υψηλή ευαισθησία και εξειδίκευση, καθώς και να βασίζεται σε μετρήσεις που γίνονται από ιστούς, η συλλογή των οποίων γίνεται με μη επεμβατικές μεθόδους. Τέλος, είναι αρκετά βασικό να είναι σε χαμηλό κόστος αλλά και η ευκολία χρήσης του να είναι τέτοια , ώστε να μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στην καθημερινή ρουτίνα ενός εργαστηρίου. Στο ακόλουθο σχήμα, φαίνονται οι πιο γνωστοί αλγόριθμοι που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι στιγμής για τη διάγνωση της NAFLD, συμπεριλαμβανομένων και των παραμέτρων που χρησιμοποιούν. (85)

Σχήμα 7: Αλγόριθμοι διάγνωσης NAFLD

	NAFLD Fibrosis Score	Fibrotest	FIB-4	ELF	BARD	NICE	NASH test
Age	×	×	×	×			×
BMI	×				×		
AST	×		×		×		×
ALT	×		×		×	×	×
Platelet Count	×		×				
Albumin	×						
α2-MG		×					×
Total bilirubin		×					×
Apo A1		×					×
GGT		×					×
PIIINP				×			
HA				×			
TIMP				×			
DM					×		
MS						×	
CK-18						×	
Sex							×
Height							×
Weight							×
HG							×
TGL							×
CL							×

α2-MG: α2 macroglobulin; ALT: Alanine aminotransferase; ApoA1: Apolipoprotein A1; AST: Aspartate aminotransferase; BMI: Body mass index; CK-18: Cytokeratin-18; CL: Cholesterol levels; DM: Diabetes mellitus; ELF: European Liver Fibrosis Test; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidase; HA: Hyaluronic acid; HG: Haptoglobin; MS: Metabolic syndrome; PIIINP: Aminoterminal propeptide of type III collagen; TGL: Triglyceride levels; TIMP: Tissue inhibitor of metalloproteinases; NASH: Nonalcoholic steatohepatitis.

Table 3 Statistical analysis of various scoring methods for non-alcoholic fatty liver disease

	NAFLD fibrosis score	Fibrotest	FIB-4	ELF	BARD	NICE	NASH test
AUROC	0.84	0.75-0.86	0.86	0.87	0.81	0.88	0.79
Sens (%)	82	77	85	89		84	33
Spec (%)	98	98	65	96		86	94
PPV (%)	90	90	36	80	43	44	66
NPV (%)	93	73	95	98	96	98	81

NAFLD: Nonalcoholic fatty liver disease; AUROC: Area under the receiver operating characteristic curve; ELF: European Liver Fibrosis Test; PPV: Positive predictive value; NPV: Negative predictive value; Sens: Sensitivity; Spec: Specificity; NASH: Nonalcoholic steatohepatitis.

2.4.1 NAFLD Fibrosis Score (NFS)

Αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη, ο οποίος χρησιμοποιεί 7 μεταβλητές: ηλικία, BMI, ύπαρξη διαβήτη, AST, ALT, αιμοπετάλια, αλβουμίνη. Ο δείκτης αυτός ορίζει δύο κατωφλικές τιμές. Όταν το σκορ είναι μεγαλύτερο από 0,676, υπάρχει σημαντική ίνωση (επίπεδα ίνωσης F3-F4 βάση της κατηγοριοποίησης κατά Brunt et al.), ενώ για τιμές μικρότερες από -1,455 απουσιάζει η ίνωση (επίπεδα ίνωσης F0-F2). Η ευαισθησία φαίνεται να είναι 82% και η ειδικότητα φτάνει στο 98%. Αποτελεί έναν αρκετά αντιπροσωπευτικό δείκτη, καθώς δημιουργήθηκε σε μελέτη με NAFLD ασθενείς από τις ΗΠΑ, οι οποίοι ήταν διαγνωσμένοι με βιοψία. (85)

Η εξίσωση για τη χρήση αυτού του αλγόριθμου είναι η ακόλουθη (98) :

$$\text{NFS} = -1.675 + 0.037 * \text{age (years)} + 0.094 * \text{BMI(kg/m}^2\text{)} + 1.13 * \text{IFG/diabetes (yes = 1, no = 0)} \\ + 0.99 * \text{AST/ALT ratio} - 0.013 * \text{platelet (*10}^9\text{/l)} - 0.66 * \text{albumin (g/dl)}$$

2.4.2 Fibrotest

Πρόκειται για έναν αλγόριθμο, ο οποίος συνδυάζει έξι δείκτες του ορού αίματος (α2-μακροσφαιρίνη, απολιποπρωτεΐνη α1, γ-GT, χολερυθρίνη, ALT) μαζί με την ηλικία και του φύλου του ασθενούς. Η διαγνωστική του αξία φαίνεται να είναι παρόμοια για τη διάγνωση τόσο της ενδιάμεσης όσο και της σοβαρής ίνωσης, με ευαισθησία και ειδικότητα ίσες με 98 και 99% αντίστοιχα. Το μειονέκτημα αυτού του αλγορίθμου είναι ο δύσκολος διαχωρισμός μεταξύ ήπιας και μέτριας ίνωσης. Οι τιμές που μπορεί να πάρει είναι 0 – 0.27 (F0-F1), 0.28 – 0.48 (F1-F2), 0.49 – 0.72 (F2-F3), 0.73 – 1 (F4). (93)

Η εξίσωση για τη χρήση αυτού του αλγορίθμου είναι η ακόλουθη:

$$z = 4.467 \times \log_{10}[\alpha 2\text{macroglobulin}(g/L)] - 1.357 \times \log_{10}[\text{Haptoglobin}(g/L)] + 1.017 \times \log_{10}[\text{GGT}(IU/L)] + 0.0281 \times [\text{Age}(years)] + 1.737 \times \log_{10}[\text{Bilirubin}(\mu\text{mol}/L)] - 1.184 \times [\text{ApoA1}(g/L)] + 0.301 \times \text{Sex}(\text{female} = 0, \text{male} = 1) - 5.54$$

2.4.3 FIB-4

Ο αλγόριθμος FIB-4 αποτελείται από 4 παραμέτρους, την ηλικία, τον αριθμό αιμοπεταλίων και τις τιμές ALT και AST. Τιμές μικρότερες από 1.45 υποδηλώνουν μη εμφάνιση της νόσου, με ευαισθησία 81%. Αντίστοιχα, τιμές μεγαλύτερες από 3,25 υποδηλώνουν NAFLD. (99)

Η εξίσωση για την χρήση αυτού του αλγορίθμου είναι:

$$\text{FIB-4} = (\text{Age} * \text{AST}) / (\text{Platelets} * \sqrt{\text{ALT}})$$

2.4.4 BARD

Ο αλγόριθμος BARD χρησιμοποιήθηκε σε πληθυσμό στην Πολωνία και περιέχει τρεις μεταβλητές, το λόγο AST/ALT, το BMI και την παρουσία διαβήτη. Η βαθμολόγηση γίνεται ως εξής: άτομα που έχουν λόγο AST/ALT μεγαλύτερο από 0.8, παίρνουν 2 βαθμούς, άτομα με BMI > 28, παίρνουν 1 βαθμό και τέλος άτομα που είναι διαγνωσμένα με διαβήτη παίρνουν πάλι 1 βαθμό. Το σκορ είναι μεταξύ 1 έως 4, με τιμές 2 έως 4 να σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα NAFLD. (100)

2.4.5 Fatty Liver Index (FLI)

Πρόκειται για έναν αλγόριθμο ο οποίος χρησιμοποιεί τέσσερις μεταβλητές, το ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, την τιμή της γ-GT και τα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Μπορεί να εντοπίζει άτομα με λιπώδες ήπαρ στο γενικό πληθυσμό, με ακρίβεια 84%. Φέρει τιμές από 0 έως 100 και πιο συγκεκριμένα τιμές μικρότερες από 30, αποκλείουν την ύπαρξη NAFLD, ενώ τιμές μεγαλύτερες από 60, επιβεβαιώνουν την ύπαρξη της νόσου. (93)

Η εξίσωση για τη χρήση αυτού του αλγορίθμου είναι:

$$\text{FLI} = \left(e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745} \right) / \left(1 + e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745} \right) \times 100$$

2.4.6. NASH Score

Το 2014 δημιουργήθηκε το NASH Score από ένα μεγάλο δείγμα Φιλανδών και Ιταλών ασθενών με NAFLD και NASH. Οι συνιστώσες του μοντέλου είναι η τιμή AST, η παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3 και η τιμή της ινσουλίνης. Η τιμή που έχει προταθεί σαν κατώφλι

είναι το -1,054. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του σκορ είναι 71,6% και 73,5%, αντίστοιχα. (101)

Η εξίσωση του αλγορίθμου είναι:

$$\text{NASH Score} = -3,05 + 0,562 * \text{PNPLA3 genotype (CC=1, GC=2, GG=3)} - 0,0092 * \text{insulin(mU/L)} + 0,0023 * \text{AST (IU/L)} + 0,0019 * (\text{insulin} * \text{AST})$$

2.5 Ανάλυση GNOSIS's tool JAD BIO

Το εργαλείο JAD BIO χρησιμοποιεί τεχνικές τελευταίας τεχνολογίας, ώστε να μπορέσει να πραγματοποιήσει διάφορες μεθόδους, όπως είναι η *ταξινόμηση*, δηλαδή να μπορέσει έχοντας δεδομένα να προβλέψει εάν κάποιος έχει για παράδειγμα μια ασθένεια. Επιπλέον, με το εργαλείο αυτό, μπορεί να πραγματοποιηθεί *παλινδρόμηση*, όπως για παράδειγμα να γίνει πρόβλεψη για την έκφραση μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης και τέλος μπορεί να γίνει και *ανάλυση επιβίωσης*, όπως για παράδειγμα η πρόβλεψη για την πρώτη στιγμή επανεμφάνισης καρκίνου. Στόχος είναι να δημιουργηθεί ένα μοντέλο που θα κάνει πρόβλεψη σε νέα δεδομένα που δεν χρησιμοποιήθηκαν στο εργαλείο.

Για αρχή, όπως φαίνεται και στο ακόλουθο σχήμα, κατασκευάζεται μια βάση δεδομένων, που περιέχει όλες τις βασικές μεταβλητές που πρόκειται να μελετηθούν. Στη συνέχεια γίνεται μια επιλογή μεταβλητών (**feature selection**). Με απλά λόγια, επιλέγονται οι σημαντικότερες μεταβλητές και δημιουργούνται μικρά σύνολα υπογραφών (με τον αλγόριθμο SES). (102) Κάθε υπογραφή περιέχει τον ελάχιστο αριθμό μεταβλητών για να γίνει η βέλτιστη ταξινόμηση και σκοπός είναι να δημιουργηθούν όσες περισσότερες υπογραφές γίνεται από τις ίδιες πληροφορίες (ισοδύναμες υπογραφές). Έπειτα, γίνεται «κ» φορές μια διαδικασία, που ονομάζεται **k-fold cross validation** έτσι ώστε να τεσταριστεί το μοντέλο για τη μετέπειτα γενίκευση του σε ανεξάρτητο σύνολο δεδομένων. (103) Ακολουθεί το **model learning**, στο οποίο δοκιμάζονται οι διάφοροι αλγόριθμοι και εκτιμάται η προβλεπτική ικανότητα του καθενός. Στο τέλος, βρίσκεται ο καλύτερος, με τη βέλτιστη επίδοση. Μαζί με την εμφάνιση του καλύτερα ερμηνεύσιμου μοντέλου, δίνονται effect sizes για κάθε μεταβλητή που παίρνει μέρος στο μοντέλο, καθώς και κάποιες μετρήσεις επίδοσης, όπως είναι η καμπύλη AUC, η ακρίβεια (accuracy), η ευαισθησία (sensitivity / recall), η ειδικότητα (specificity / True Negative Value), το F1 σκορ (F1 score). Σημαντική είναι και η μέθοδος **Bootstrap Bias Corrected CV (BBC-CV)**, η οποία αφαιρεί το ποσοστό «υπεραισιοδοξίας» στις προβλέψεις, γεγονός το οποίο βοηθάει στην καλύτερη δυνατή πρόβλεψη των νέων δεδομένων. (103)

Το πρώτο μοντέλο έχει την ακόλουθη εξίσωση:

$$y = a_0 + a_1 \text{BMI} + a_2 \text{TGmgdL} + a_3 \text{ASTALT} + a_4 \text{GlumgdL} + a_5 \text{WHR} + a_6 \text{Age}$$

	Feature	α_i	Effect size
0	Intercept	a_0	0.788
1	BMI	a_1	-1.17
2	TGmgdL	a_2	-0.565
3	ASTALT	a_3	0.569
4	GlumgdL	a_4	-0.478

5	<i>WHR</i>	a_5	-0.333
6	<i>Age</i>	a_6	-0.319

Από την παραπάνω, εξίσωση υπολογίζεται η πιθανότητα p να είναι ένα άτομο υγιές. Όσο η πιθανότητα αγγίζει το 1, αυξάνεται η πιθανότητα να είναι ένα άτομο υγιές, ενώ όσο η πιθανότητα αγγίζει το 0, αυξάνεται η πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD.

$$p = \frac{1}{1 + e^{-y}}$$

Το δεύτερο μοντέλο έχει την ακόλουθη εξίσωση:

$$y = a_0 + a_1 BMI + a_2 TGmgdL + a_3 ASTALT + a_4 Age + a_5 WHR$$

	<i>Feature</i>	α_i	<i>Effect size</i>
0	<i>Intercept</i>	a_0	0.959
1	<i>BMI</i>	a_1	-1.714
2	<i>TGmgdL</i>	a_2	-0.789
3	<i>ASTALT</i>	a_3	0.824
4	<i>Age</i>	a_4	-0.503
5	<i>WHR</i>	a_5	-0.564

Από την παραπάνω εξίσωση, υπολογίζεται και πάλι η πιθανότητα p να είναι ένα άτομο υγιές.

Σχήμα 9: Διάγραμμα JAD Bio

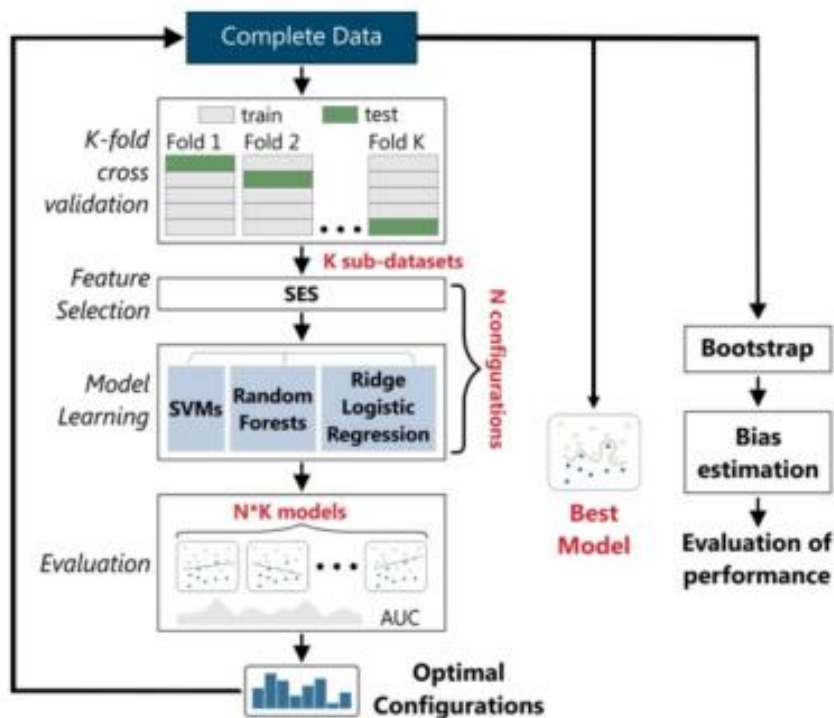


Figure 1 – Workflow of JAD Bio

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να γίνει η αξιολόγηση των μοντέλων πρόγνωσης της NAFLD στους ήδη γνωστούς αλγορίθμους που υπάρχουν στη βιβλιογραφία. Στη συνέχεια, θα πραγματοποιηθεί αξιολόγηση στα δύο νέα μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το εργαλείο JAD BIO.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Σχεδιασμός

Η NAFLD μελέτη είναι μια ελληνική συγχρονική (cross-sectional) επιδημιολογική μελέτη η οποία υλοποιήθηκε στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο) σε συνεργασία με το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

3.2 Δείγμα μελέτης

Η μελέτη περιλαμβάνει 351 άτομα, τα οποία πραγματοποίησαν επίσκεψη στα εξωτερικά ιατρεία του ηπατολογικού και της παχυσαρκίας του Λαϊκού Νοσοκομείου. Η συμμετοχή στη μελέτη ήταν εθελοντική και απαιτούσε την ενυπόγραφη συναίνεση των ατόμων.

Η έγκριση για την υλοποίηση της μελέτης έγινε από την επιτροπή έρευνας του Επιστημονικού Συμβουλίου του Λαϊκού Νοσοκομείου και από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου.

Τα **κριτήρια επιλογής** των συμμετεχόντων ήταν να είναι ενήλικες ηλικίας 18 - 65 έτη. Στη συνέχεια, οι εθελοντές διαχωρίστηκαν σε υγιείς και ασθενείς, έπειτα από διεξαγωγή υπερηχογραφήματος άνω κοιλίας.

Τα **κριτήρια αποκλεισμού** των συμμετεχόντων ήταν η τρέχουσα ή πρόσφατη συστηματική πρόσληψη αλκοόλ (>20γρ/ημέρα για τις γυναίκες, >30γρ/ημερα για τους άνδρες), η ύπαρξη ηπατίτιδας A, B, C, D, E καθώς και αυτοάνοσης ηπατικής νόσου, η κατανάλωση ηπατοξικών φαρμάκων (αμιοδαρόνη, μεθοτρεξάτη, ισονιαζίδη, περεξιλίνη, κορτικοστεροειδή, οιστρογόνα) και τέλος η ύπαρξη μεταβολικών διαταραχών (έλλειψη α1 αντιθρυψίνης, αιμοχρωμάτωση, ν. Wilson).

3.3. Αξιολόγηση

3.3.1 Ιστορικό

Κατά τη διάρκεια της έρευνας έγινε καταγραφή των δημογραφικών χαρακτηριστικών και λήψη του ατομικού και του οικογενειακού ιστορικού με συνέντευξη. Καταγράφηκαν πληροφορίες για την καταγωγή, το τόπο διαμονής, τα έτη εκπαίδευσης, το μορφωτικό επίπεδο, το ετήσιο οικογενειακό εισόδημα και την επαγγελματική και οικογενειακή κατάσταση. Επιπλέον, έγινε καταγραφή για το ιστορικού του ασθενούς, όπως είναι το

κάπνισμα, οι φαρμακευτική αγωγή, διάφορες παθήσεις, οι κυριότερες από τις οποίες ήταν ο ΣΔ, η υπερλιπιδαιμία, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η ηπατίτιδα, η νόσος Wilson και το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Αντίστοιχη καταγραφή γινόταν για το οικογενειακό ιστορικό για διάφορες παθήσεις, όπως η NAFLD, η παχυσαρκία, ο ΣΔ, η υπερλιπιδαιμία, τα καρδιαγγειακά νοσήματα και η υπέρταση. Σε περίπτωση που οι γονείς των ατόμων είχαν καταλήξει, σημειωνόταν η αιτία.

3.3.2. Ανθρωπομετρία

Η ανθρωπομετρία περιλάμβανε ζύγιση, εκτίμηση σύστασης σώματος, μέτρηση της περιφέρειας μέσης και της περιφέρειας ισχίου. Το ύψος ήταν αυτό-δηλούμενο.

Η **εκτίμηση της σύστασης σώματος και η ζύγιση** υλοποιήθηκαν με τη συσκευή BC-418 (Body composition analyzer BC-418, Japan) η οποία υπολογίζει το ποσοστό σωματικού λίπους, τη λιπώδη, άλιπη και μυϊκή μάζα του σώματος μέσω βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) με βάση δεδομένα από τη μέθοδο DXA. Η BIA εκτιμά αυτές τις παραμέτρους υπολογίζοντας την αντίσταση του σώματος. Το λίπος δεν είναι διαπερατό στον ηλεκτρισμό σε αντίθεση με το νερό, το περισσότερο από το οποίο βρίσκεται στο μυϊκό ιστό. Ο βαθμός δυσκολίας με τον οποίο ο ηλεκτρισμός διαπερνά μια ουσία είναι γνωστός ως ηλεκτρική αντίσταση και το ποσοστό λίπους και άλλοι παράμετροι μπορούν να εκτιμηθούν μετρώντας τα επίπεδα της. Αποτελεί ένα απλό, γρήγορο και μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της σύστασης σώματος. Ωστόσο, η αντίσταση του σώματος μπορεί να ποικίλει λόγω αλλαγών στη θερμοκρασία, την ποσότητα και την κατανομή του σωματικού νερού (60% του σωματικού βάρους) αλλά και να μεταβάλλεται μέσα στην ημέρα. Απαραίτητο επομένως είναι να εξασφαλίζονται ομοιόμορφες συνθήκες κατά την μέτρηση. Στην παρούσα μελέτη, για να μειωθεί το σφάλμα από τη διακύμανση, η μέτρηση πραγματοποιήθηκε τουλάχιστον 3 ώρες μετά την αφύπνιση και το τελευταίο γεύμα, τουλάχιστον 12 ώρες μετά από έντονη σωματική δραστηριότητα και έπειτα από διούρηση.

Η **μέτρηση της περιφέρειας της μέσης** έγινε με χρήση εκτατής ταινίας με ανατομικό σημείο το πιο στενό σημείο την πιο στενή περιοχή της μέσης. Σε παχύσαρκους εθελοντές, η μέτρηση γινόταν στην περιοχή του ομφαλού. Ο εθελοντής στεκόταν όρθιος με την κοιλιά χαλαρή, τα πόδια ενωμένα και τα χέρια στο πλάι, μετά το τέλος μια φυσιολογικής εκπνοής.

Η **μέτρηση της περιφέρειας του ισχίου** έγινε με χρήση εκτατής ταινίας σε ανατομικό σημείο που εξασφάλιζε να μετράται η μέγιστη περιφέρεια ισχίου.

3.3.3 Φυσική Δραστηριότητα

Τα επίπεδα σωματικής δραστηριότητας αξιολογήθηκαν με χρήση του HAPAQ (Harokopio Physical Activity Questionnaire), το οποίο αποτελεί ένα έγκυρο και αξιόπιστο ερωτηματολόγιο για εκτίμηση της ενεργειακής δαπάνης από σωματική δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, συλλέγονται πληροφορίες για τη σωματική δραστηριότητα του ατόμου κατά τη διάρκεια της τελευταίας εβδομάδας και περιλαμβάνει ερωτήσεις για τη δραστηριότητα μέσα στην εργασία, στο σπίτι και στον ελεύθερο χρόνο.

3.3.4 Διατροφική Πρόσληψη

Για την εκτίμηση των διατροφικών συνηθειών χρησιμοποιήθηκε ημι-ποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης 172 τροφίμων (FFQ), το οποίο συμπληρώθηκε μέσω συνέντευξης με τα άτομα. Το ερωτηματολόγιο περιλαμβάνει ερωτήσεις σχετικά με τη συχνότητα και την ποσότητα με την οποία καταναλώθηκαν τρόφιμα και ποτά κατά τη διάρκεια του προηγούμενου έτους.

3.3.5 Αρτηριακή Πίεση

Η εκτίμηση της αρτηριακής πίεσης έγινε με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο μπράτσου. Λαμβάνονταν δυο μετρήσεις και η τελική τιμή ήταν ο μέσος όρων των μετρήσεων. Σε περίπτωση που υπήρχε μεγάλη απόκλιση στις πρώτες δυο μετρήσεις, γινόταν και τρίτη μέτρηση.

3.3.6 Αιμοληψία

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε από γιατρό έπειτα από 12ωρη νηστεία. Έγινε συλλογή δειγμάτων αίματος για βιοχημική, αιματολογική και γενετική ανάλυση.

3.3.6.1 Βιοχημική και αιματολογική ανάλυση

Η βιοχημική και αιματολογική ανάλυση των δειγμάτων αίματος έγινε στα εργαστήρια του Λαϊκού Νοσοκομείου. Εκτιμήθηκε η γλυκόζη, η ινσουλίνη, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, η ολική χοληστερόλη, η HDL-c χοληστερόλη, η LDL-c χοληστερόλη, τα TG, η ALT, η AST, η GGT, η κρεατινίνη, η CRP, η ολική χολερυθρίνη, το νάτριο, το κάλιο, ο σίδηρος, η φερριτίνη, το ουρικό οξύ και η ουρία.

Επιπλέον, στο τέλος της διαδικασίας πραγματοποιήθηκε απομόνωση πλάσματος και ορού αίματος, καθώς και λευκών αιμοσφαιρίων. Η διαδικασία έγινε με φυγοκέντρηση (4°C, 3000rpm, 10min) και αποθηκεύτηκαν στους -80°C.

3.3.6.2 Γενετική ανάλυση

Η γενετική ανάλυση περιελάμβανε την απομόνωση λευκών αιμοσφαιρίων, την απομόνωση γενετικού υλικού από τα λευκά αιμοσφαίρια και τη γονοτύπηση, όπως θα αναλυθεί και παρακάτω.

Απομόνωση λευκών αιμοσφαιρίων

Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση των δειγμάτων αίματος (3000rpm, 10 λεπτά, 4°C). Στη συνέχεια έγινε απομάκρυνση του υπερκείμενου και συγκέντρωση του ιζήματος με τα λευκά αιμοσφαίρια. Τέλος, έγινε αποθήκευση των δειγμάτων με τα λευκά αιμοσφαίρια σε βαθιά κατάψυξη (-80°C).

Απομόνωση γενετικού υλικού

Η απομόνωση του γενετικού υλικού από λευκά αιμοσφαίρια περιφερικού αίματος έγινε με το αντιδραστήριο iPrepTMPurelinkTMgDNA Blood Kit της Invitrogen σε αυτοματοποιημένο εξτράκτορα iPrepTMPurification Instrument. Το απομονωμένο γενετικό υλικό αποθηκεύτηκε στους -20°C με σκοπό τη γονοτύπηση σε μελλοντικό χρόνο.

Αναφορικά με την αρχή της μεθόδου, γίνεται γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση gDNA από ανθρώπινο αίμα (ολικό αίμα, διαλύματα λευκών αιμοσφαιρίων). Η έκλουση του gDNA βασίζεται στη χρήση των μαγνητικών μικροσφαιριδίων Dynabeads MyOneTMSILANE. Το καθαρό gDNA που εκλύεται είναι κατάλληλο για εφαρμογές όπως η PCR, η γονοτύπηση και η ανάλυση του γονιδιώματος. Το αυτοματοποιημένο σύστημα εκχύλισης DNA iPrepTMPurification Instrument είναι ρομποτικό σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων. Χάρη στην ενσωματωμένη μαγνητική μονάδα και με τη χρήση τεχνολογίας μαγνητικών μικροσφαιριδίων υπάρχει δυνατότητα εκχύλισης 13 δειγμάτων ταυτόχρονα. Τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOneTMSILANE είναι μαγνητικά σφαιρίδια (1μm) διοξειδίου του πυριτίου (SiO₂) στην επιφάνεια των οποίων προσφύεται ειδικά το DNA. Η χρήση της τεχνολογίας των μικροσφαιριδίων για την έκλουση του gDNA δεν απαιτεί φυγοκέντρηση ή χρήση αντλίας κενού. Το προγραμματισμένο πρωτόκολλο, το οποίο βρίσκεται στην κάρτα

iPrep™ Card:gDNA blood, είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο των παραμέτρων της μεθόδου όπως ο όγκος των αντιδραστηρίων, τα βήματα ανάμειξης και οι χρόνοι επώασης.

Επιπλέον, υπάρχει μια ακόμη μέθοδος, η τεχνολογία μαγνητικών μικροσφαιριδίων. Η τεχνολογία μαγνητικών μικροσφαιριδίων παρέχει μια επιφάνεια εναλλασσόμενου φορτίου το οποίο εξαρτάται από το pH του περιβάλλοντος διαλύματος και διευκολύνει το διαχωρισμό του DNA. Σε χαμηλό pH, τα σφαιρίδια έχουν θετικό φορτίο και έτσι προσδένονται στο αρνητικά φορτισμένο DNA. Προκειμένου να παραληφθεί το DNA, το φορτίο στην επιφάνεια των σφαιριδίων εξουδετερώνεται αυξάνοντας το pH στο 8.5 με τη χρήση ενός διαλύματος έκπλυσης χαμηλής αλατότητας.

Γονοτύπηση

Η γονοτύπηση έγινε με τη μέθοδο των μικροσυστοιχιών DNA με χρήση του Infinium CoreExome-24 v1.2 BeadChip της Illumina.

Η αρχή της μεθόδου των μικροσυστοιχιών στηρίζεται στο συνδυασμό της φυσικής ιδιότητας της υβριδοποίησης του DNA και στη νανοτεχνολογία η οποία επιτρέπει την ακινητοποίηση μεγάλου αριθμού μορίων σε μικροπλακίδια με εξαιρετικά μεγάλη ακρίβεια. Μια μικροσυστοιχία DNA περιέχει ένα πολύ μεγάλο αριθμό τμημάτων μονόκλωνου γονιδιωματικού DNA τα οποία έχουν ακινητοποιηθεί σε ένα στερεό υπόστρωμα. Τα τμήματα αυτά έχουν τη φυσική τάση να ζευγαρώνουν με τα συμπληρωματικά τους μονόκλωνα μόρια, μέσω της υβριδοποίησης, εφόσον αυτά εντοπίζονται σε διάλυμα που διέρχεται πάνω από το υπόστρωμα (πλακίδιο ή chip). Σε ένα πείραμα γονιδιακής έκφρασης σε μικροσυστοιχία DNA, το πλακίδιο σχεδιάζεται με τέτοιο τρόπο ώστε να περιέχει χαρακτηριστικά τμήματα DNA απ' όσο το δυνατόν περισσότερα γονίδια του υπό μελέτη οργανισμού. Τα τμήματα αυτά ονομάζονται ανιχνευτές (probes) και μπορούν να υβριδοποιηθούν με συμπληρωματικά τμήματα cDNA των αντίστοιχων γονιδίων. Η ποιοτική ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του mRNA γίνεται μέσω της μέτρησης του φθορισμού που εκπέμπεται από τη στιγμή που τα δύο συμπληρωματικά μόρια υβριδοποιηθούν. Ο φθορισμός προκύπτει καθώς το δείγμα, πριν περάσει πάνω από το πλακίδιο, έχει σημειωθεί με μια συγκεκριμένη φθορίζουσα χρωστική, η οποία ενεργοποιείται και εκπέμπει μόνο σε δίκλωνα διαμόρφωση. Το τελικό αποτέλεσμα του πειράματος συνίσταται από μια μακριά σειρά μετρήσεων φθορισμού οι οποίες αντιστοιχούν στη σχετική αφθονία mRNA μορίων στο δείγμα και που ταυτοποιούνται με βάση τη συμπληρωματικότητά τους για συγκεκριμένους ανιχνευτές.

3.3.7 Διάγνωση NAFLD

Ο διαχωρισμός του δείγματος σε ασθενείς ως προς τη NAFLD και μάρτυρες έγινε με υπερηχογράφημα άνω κοιλίας το οποίο καταλήγει σε διάγνωση για λιπώδη νόσο του ήπατος με κάποια κριτήρια διάγνωσης. Τα κριτήρια αυτά ήταν η διάχυτη ηχογένεια του ήπατος, η αυξημένη ηχογένεια του ήπατος σε σύγκριση με αυτή των νεφρών και η ασαφopoίηση των αγγειακών τοιχωμάτων. Με βάση αυτά τα κριτήρια, τα άτομα κατατάχθηκαν ως προς την ηπατική στεάτωση σε τέσσερις κατηγορίες (καθόλου, ήπια, μέτρια, έντονη). Σε περαιτέρω ομαδοποίηση, τα άτομα με καθόλου ή ήπια ηπατική στεάτωση κατατάχθηκαν ως μάρτυρες καθώς είχαν κοινά χαρακτηριστικά μεταξύ τους και τα άτομα με μέτρια ή έντονη ηπατική στεάτωση κατατάχθηκαν ως ασθενείς εξίσου επειδή είχαν κοινά χαρακτηριστικά μεταξύ τους. Παράλληλα, έγινε κλινική αξιολόγηση για παρουσία χολολιθίασης και Debris και εκτίμηση του μεγέθους του ήπατος.

Κατάταξη	Κριτήρια
Βαθμός 0: Απουσία Στεάτωση	Φυσιολογική ηχογένεια
Βαθμός 1: Ήπια Στεάτωση	Ελαφρά αυξημένη ηχογένεια με φυσιολογική απεικόνιση διαφράγματος και αγγείων
Βαθμός 2: Μέτρια Στεάτωση	Μέτρια αυξημένη ηχογένεια με ελαφρά διαταραχή απεικόνισης διαφράγματος και αγγείων
Βαθμός 3: Σοβαρή Στεάτωση	Μεγάλη αύξηση ηχογένειας με περιορισμένη απεικόνιση τοιχώματος αγγείων και διαφραγμάτων

3.3.8 Στατιστική Ανάλυση

Η ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 23.0. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος±τυπική απόκλιση και οι ποιοτικές μεταβλητές ως απόλυτες τιμές και ποσοστά. Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών ελέγχθηκε με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov και αξιολογήθηκε γραφικά. Για τη σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 του Pearson ενώ για τη σύγκριση των κανονικών ποσοτικών μεταβλητών ο έλεγχος t-test. Επιπλέον, δημιουργήθηκε καμπύλη ROC για τα διαφορετικά μοντέλα. Η στατιστική σημαντικότητα σε όλους τους ελέγχους εκτιμήθηκε σε επίπεδο $p=0.05$.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον Πίνακα 2, φαίνονται τα βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος. Οι συνολικοί συμμετέχοντες στη μελέτη ήταν 351 άτομα. Από αυτά, τα 146 άτομα ήταν άνδρες, ποσοστό 41,6%, ενώ τα υπόλοιπα 205 ήταν γυναίκες με ποσοστό 58,4%. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 46,3 έτη με τυπική απόκλιση 11,4 έτη. Η μικρότερη ηλικία ήταν τα 18 έτη και η μέγιστη ηλικία συμμετέχοντα ήταν τα 68 έτη. Επιπλέον, το BMI είχε μέσο όρο 27,3kg/m², με μικρότερο BMI το 17,5kg/m² και μέγιστο BMI το 44.5kg/m². Ο μέσος όρος για την περιφέρεια μέσης ήταν 92,12±14,12cm και για την αναλογία μέσης/ισχίων 0,86 ± 0,99. Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα είχαν τιμή κατά μέσο όρο 88,16±12,75mg/dL, τα επίπεδα ινσουλίνης ήταν 11.5±5,08μU/mL. Τέλος, βιοχημικοί δείκτες, όπως τα τριγλυκερίδια, η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση και η γGT έχουν μέσες τιμές αντίστοιχα 97,29 ± 54,07mg/dL, 22,11 ± 7,55U/L, 24,80 ± 13,54U/L και 23,16 ± 19,66U/L.

Πίνακας 2: Περιγραφικά Χαρακτηριστικά Δείγματος που συμμετείχαν στη μελέτη

	Μέσος Όρος (± τυπική απόκλιση)
Αριθμός Ατόμων	351
Ηλικία (έτη)	46,3 ± 11,4
BMI (kg/m ²)	27,3 ± 4,9
WC (cm)	92,1 ± 14,1
WHR	0,9 ± 0,9
Glucose (mg/dL)	88,2 ± 12,8
Insulin(μU/mL)	11,5 ± 5,1
TG (mg/dL)	97,3 ± 54,1
AST (U/L)	22,1 ± 7,6
ALT (U/L)	24,8 ± 13,5
γGT (U/L)	23,2 ± 19,7
Platelets (K/uL)	244,8 ± 56,6
Albumin (g/dL)	4,6 ± 0,3

Στον Πίνακα 3 φαίνεται ο διαχωρισμός των συμμετεχόντων σε ασθενείς κα μάρτυρες και η σύγκριση των μέσων όρων για τις δύο αυτές κατηγορίες. Από τους 351 συνολικούς συμμετέχοντες, οι 217 ήταν υγιείς – μάρτυρες με ποσοστό 61,8%, ενώ οι υπόλοιποι 134 ήταν ασθενείς με NAFLD, με ποσοστό 38,2%. Στις περισσότερες μεταβλητές, φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ μαρτύρων και ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, το t-test έδειξε ότι οι ασθενείς με NAFLD έχουν μεγαλύτερη ηλικία, BMI και περιφέρεια μέσης. Επιπλέον, οι τιμές σε γλυκόζη, ινσουλίνη, τριγλυκερίδια, AST, ALT και γGT είναι αυξημένες στους νοσούντες. Τα αιμοπετάλια και η αλβουμίνη δε φαίνεται να διαφέρουν στις δύο κατηγορίες του δείγματος.

Πίνακας 3: Σύγκριση Μέσων Όρων σε Ασθενείς με NAFLD - Μάρτυρες

	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση	p-value
--	---------------------------------	---------

	Μάρτυρες	Ασθενείς	
	N=217	N=134	
Ηλικία (έτη)	43,8 ± 11,2	50,4 ± 10,5	0,00*
BMI (kg/m ²)	24,9 ± 3,3	31,1 ± 4,7	0,00*
WC (cm)	84,9 ± 10,2	103,6 ± 11,7	0,00*
WHR	0,8 ± 0,09	0,9 ± 0,08	0,00*
Glucose (mg/dL)	85 ± 11,7	93,3 ± 12,6	0,00*
Insulin(μU/mL)	10,3 ± 6,2	16,6 ± 11,9	0,00*
TG (mg/dL)	78,5 ± 37,3	127,4 ± 62,6	0,00*
AST (U/L)	21,1 ± 6,8	23,8 ± 8,4	0,00*
ALT (U/L)	21,4 ± 11,7	30,3 ± 14,5	0,00*
γGT (U/L)	20,0 ± 17,6	28,3 ± 21,7	0,00*
Platelets (K/uL)	241,5 ± 59,6	249,9 ± 51,3	0,19
Albumin (g/dL)	4,5 ± 0,2	4,6 ± 0,2	0,15

Παρακάτω, αξιολογούνται οι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται για τη πρόγνωση και διάγνωση της NAFLD με την χρήση t-test. Για αρχή, βλέπουμε στον Πίνακα 4, τις διαφορές των μέσων όρων των αλγορίθμων στις δύο κατηγορίες, ασθενών και μαρτύρων. Όπως φαίνεται, ο αλγόριθμος NFS εμφανίζει χαμηλότερες τιμές στους μάρτυρες, παρά στους ασθενείς. Αντίστοιχα, και οι τιμές των αλγορίθμων FLI και NASH διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο κατηγοριών. Επιπλέον, οι μέσες τιμές των αλγορίθμων FLI και BARD δε διαφέρουν μεταξύ ασθενών και υγιών. Τέλος, αξιολογήθηκαν οι μέσοι όροι μεταξύ των δύο μοντέλων που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool, όπου φαίνονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και υγιών με μεγαλύτερες τιμές να εμφανίζονται στους υγιείς.

Πίνακας 4: Διαφορά μέσων όρων μεταξύ των αλγορίθμων πρόβλεψης NAFLD

	Μέσος Όρος ± Τυπική Απόκλιση		p-value
	Μάρτυρες	Ασθενείς	
	N=217	N=134	
NFS	-2,8 ± 0,9	-2,2 ± 1,2	0,00*
FIB4	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,46	0,13
FLI	20,7 ± 19,4	64,5 ± 25,2	0,00*
NASH	-2,1 ± 0,3	-1,7 ± 0,7	0,00*
BARD	1,8 ± 0,9	1,7 ± 1,1	0,35
Model 1	1,7 ± 1,5	-0,8 ± 1,7	0,00*
Model 2	2,2 ± 2,0	-1,3 ± 2,4	0,00*

Στον Πίνακα 5, συσχετίζονται τα μοντέλα πρόβλεψης του NAFLD που υπάρχουν στη βιβλιογραφία με τα δύο μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool (Pearson's correlation). Υπάρχει αρνητική ασθενής συσχέτιση μεταξύ των 2 μοντέλων και του NFS, δηλαδή όσο αυξάνεται η τιμή των μοντέλων 1 και 2 (αύξηση πιθανότητας ατόμου να είναι υγιής), μειώνεται η τιμή του NFS (όσο μικρότερη τιμή, τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα για απουσία ίνωσης). Αντίστοιχα, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση, μεταξύ των μοντέλων και των

αλγορίθμου FLI, καθώς και μέτρια συσχέτιση μεταξύ των μοντέλων και του αλγορίθμου NASH. Για τους αλγόριθμους FIB-4 και BARD δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση που να είναι στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 5: Συσχέτισεις μεταξύ μοντέλων πρόβλεψης NAFLD

	NFS		FIB4		FLI		NASH		BARD	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	P
Model 1	-0,181	0,01*	0,032	0,56	-0,782	0,00*	-0,364	0,00*	0,052	0,35
Model 2	-0,205	0,00*	0,024	0,67	-0,836	0,00*	-0,395	0,00*	0,038	0,49

Στον Πίνακα 6, ελέγχονται όλοι οι αλγόριθμοι ως προς την ευαισθησία, ειδικότητα, θετική προγνωστική αξία και την αρνητική προγνωστική αξία. Φαίνεται πως η ευαισθησία, δηλαδή η πιθανότητα να κάνει το μοντέλο σωστή διάγνωση για NAFLD, είναι αρκετά μικρή στα περισσότερα μοντέλα, με μεγαλύτερη ευαισθησία να εμφανίζουν τα μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool. Αντίθετα, η ειδικότητα, που δείχνει την πιθανότητα να κάνει το μοντέλο σωστή διάγνωση για τους υγιείς, αγγίζει το 90-100% στα περισσότερα μοντέλα. Ακόμη, η θετική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD, με το μοντέλο να προβλέπει το ίδιο, είναι αρκετά υψηλή στα μοντέλα FLI (86%), NASH (84,6%), ακολουθούν τα μοντέλα που δημιουργήθηκαν με 77% και 79,3%, ενώ χαμηλότερες τιμές ΘΔΑ εμφανίζονται στα υπόλοιπα μοντέλα. Τέλος, η αρνητική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα ένα άτομο να μην έχει NAFLD με το μοντέλο να κάνει την ίδια πρόβλεψη, είναι χαμηλή στα περισσότερα μοντέλα.

Συνεπώς, τα 2 μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το εργαλείο GNOSIS's tool, έχουν σχετικά καλή ευαισθησία, υψηλή ειδικότητα, καλή θετική διαγνωστική αξία, αλλά μικρή αρνητική διαγνωστική αξία.

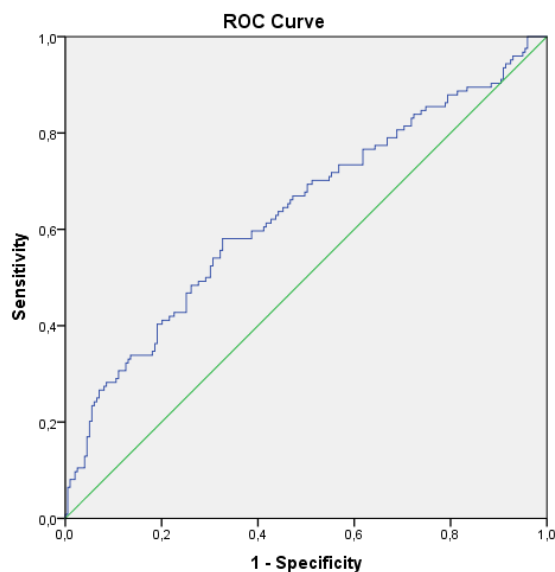
Πίνακας 6: Έλεγχος Μοντέλων στον πληθυσμό NAFLD.

	NFS	FIB4	FLI	NASH	BARD	Model 1	Model 2
Sensitivity	2.1%	0.8%	41.7%	8.7%	50.0%	62.7%	68.7%
Specificity	99.5%	99.5%	91.9%	99.0%	16.9%	88.5%	88.9%
Positive Predictive Value	66.7%	50.0%	86.0%	84.6%	26.8%	77.0%	79.3%
Negative Predictive Value	33.3%	38.4%	7.5%	35.5%	64.3%	20.7%	17.9%

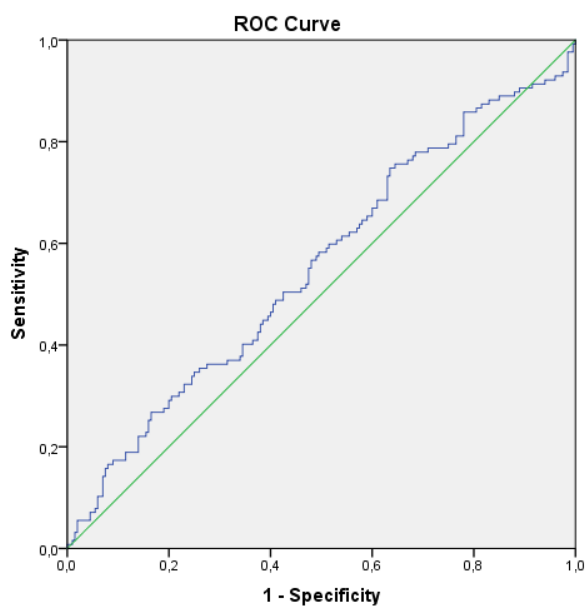
Στα Σχήματα 8-14, φαίνονται οι καμπύλες ROC για το κάθε μοντέλο, όπως δημιουργήθηκαν από το στατιστικό πρόγραμμα, ώστε να ελεγχθεί πόσο καλό είναι το κάθε μοντέλο. Η ακρίβεια για το κάθε τεστ υπολογίζεται από την περιοχή κατώ από την καμπύλη (Area Under the Curve,

AUC). Τα μοντέλα BARD με $AUC=0,541$, NFS με $AUC=0,636$ και FIB4 με $AUC=0,553$, αποτελούν κακά μοντέλα για πρόβλεψη NAFLD. Ακολουθεί το μοντέλο NASH με $AUC=0,726$, ένα μοντέλο που θεωρείται μέτρια καλό. Αντίθετα, το μοντέλο FLI έχει $AUC=0,910$ και γι' αυτό αποτελεί ένα τέλειο μοντέλο διάγνωσης για το πληθυσμό που μελετάται. Τα μοντέλα που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool, έχουν $AUC=0,874$ για το model1 και $AUC=0,886$ για το model2, γεγονός το οποίο καθιστά τα δύο μοντέλα πολύ καλά τεστ πρόγνωσης της NAFLD.

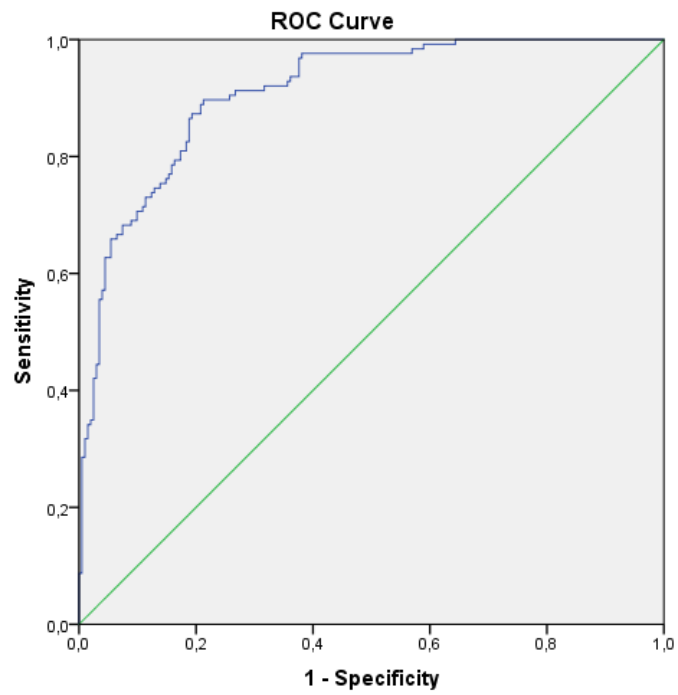
Σχήμα 10: Καμπύλη ROC για NFS



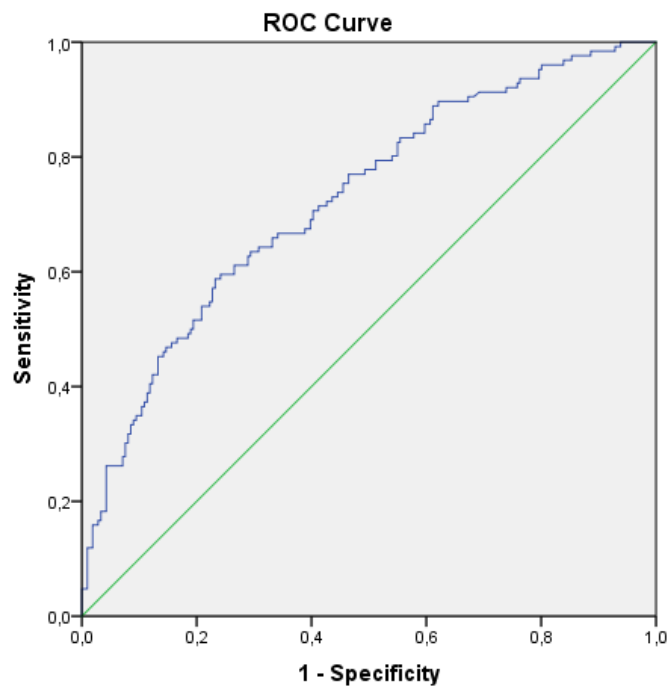
Σχήμα 11: Καμπύλη ROC για FIB4



Σχήμα 12: Καμπύλη ROC για FLI

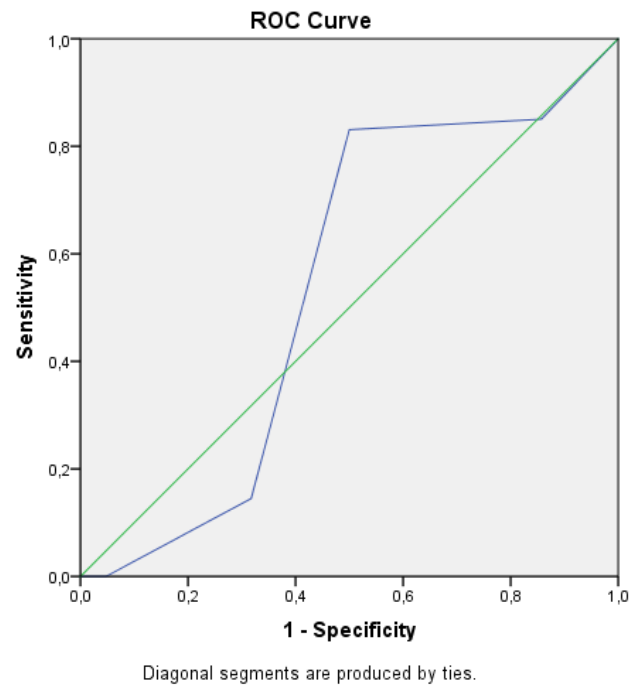


Σχήμα 13: Καμπύλη ROC για NASH

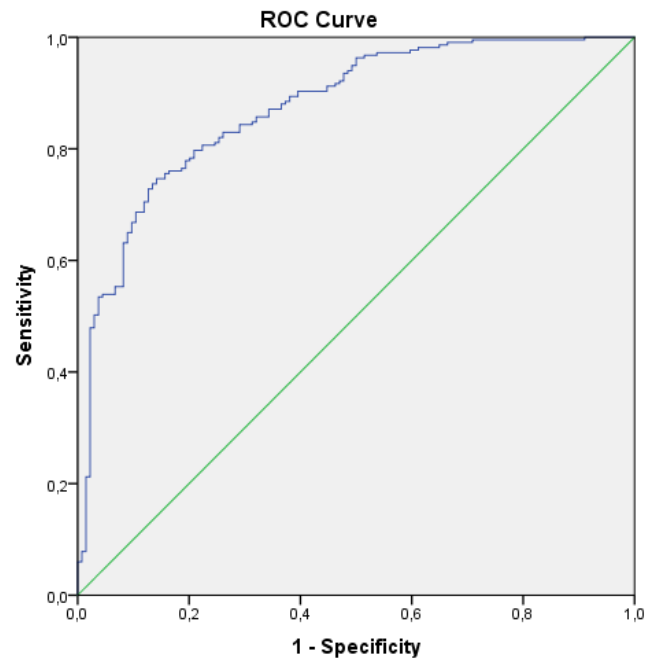


Diagonal segments are produced by ties.

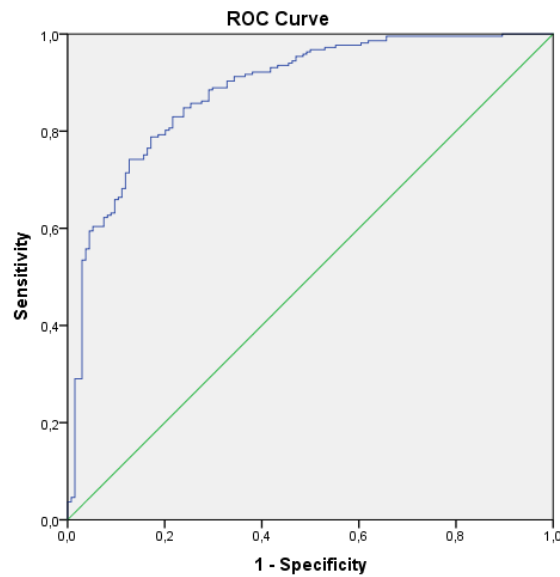
Σχήμα 14: Καμπύλη ROC για BARD



Σχήμα 15: Καμπύλη ROC για Model 1



Σχήμα 16: Καμπύλη ROC για Model 2



Αφού δημιουργήθηκαν τα 2 μοντέλα αυτά, που θεωρούνται αρκετά αξιόπιστα, είναι σημαντικό να ελεγχθούν τα δύο μοντέλα αυτά, σε έναν άλλον πληθυσμό με NAFLD. Επιλέχθηκε ένα σύνολο ασθενών που ήταν διαγνωσμένοι με NAFLD/NASH από τον πληθυσμό MAST4HEALTH. Σκοπός είναι να φανεί το κατά πόσο τα 2 μοντέλα του εργαλείου GNOSIS's tool μπορούν να κάνουν καλή πρόβλεψη στους ασθενείς αυτούς.

Για αρχή, φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα ο έλεγχος των 2 μοντέλων αυτών, ως προς την ευαισθησία, την ειδικότητα, τη ΘΔΑ και την ΑΔΑ στον πληθυσμό του MAST4HEALTH. Η ευαισθησία των 2 μοντέλων στο νέο δείγμα είναι μέτρια (47,0% και 58,8%), άρα μπορεί να κάνει εν μέρει σωστή διάγνωση στους πάσχοντες με τη νόσο. Η ειδικότητα από την άλλη είναι αρκετά μεγάλη, αλλά δεν υπήρχαν πολλοί υγιείς (μόλις 2 άτομα στο σύνολο των 19 ατόμων που μελετήθηκαν από τον πληθυσμό MAST4HEALTH). Ακόμη, η θετική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD, με το μοντέλο να προβλέπει το ίδιο, είναι αρκετά υψηλή στα δύο αυτά μοντέλα. Τέλος, η αρνητική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα ένα άτομο να μην έχει NAFLD με το μοντέλο να κάνει την ίδια πρόβλεψη, είναι αρκετά υψηλή στα δύο αυτά μοντέλα, με ποσοστά 81,8% και 77,8%.

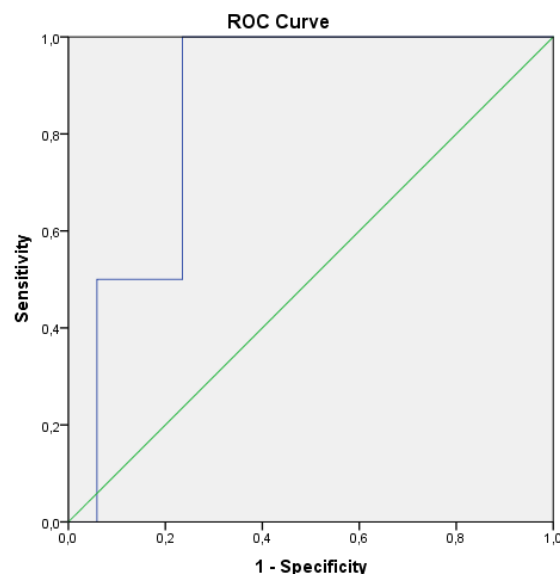
Πίνακας 7: Έλεγχος μοντέλων στον πληθυσμό MAST4HEALTH

	Model 1	Model 2
Sensitivity	47.0%	58.8%
Specificity	100.0%	100.0%
Positive Predictive Value	100.0%	100.0%

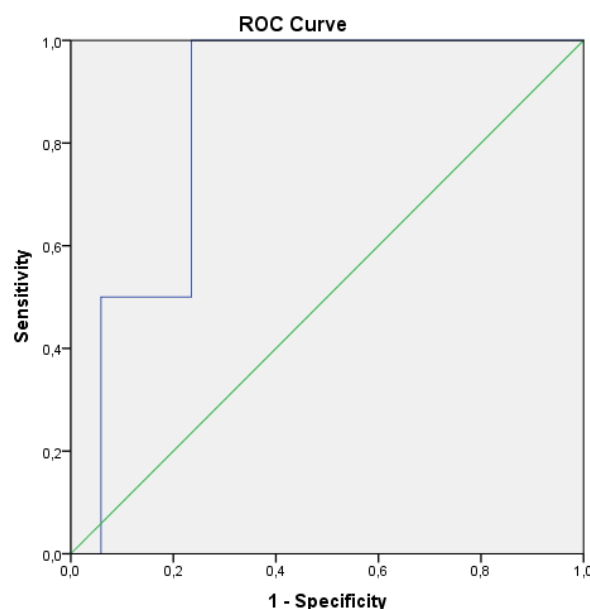
Negative Predictive Value	81.8%	77.8%
---------------------------	-------	-------

Στα 2 επόμενα σχήματα, φαίνονται οι καμπύλες ROC για τα δύο αυτά μοντέλα. Και τα δύο μοντέλα έχουν $AUC = 0,853$, που θεωρείται ότι αποτελούν δύο αρκετά καλά μοντέλα πρόβλεψης. Όμως, δεν υπήρχε επαρκής αριθμός εθελοντών για να ελεγχθούν τα συγκεκριμένα μοντέλα.

Σχήμα 17: Καμπύλη ROC για το Model1



Σχήμα 18: Καμπύλη ROC για το Model2



Τέλος, γίνεται έλεγχος για τυχόν συσχετίσεις μεταξύ των δύο μοντέλων που δημιουργήθηκαν από το GNOSIS's tool και των παραμέτρων της μαγνητικής τομογραφίας που πραγματοποιήθηκε στο πληθυσμό MAST4HEALTH (Pearson's Correlation). Όπως φαίνεται, για

το μοντέλο 1, υπάρχει μέτρια αρνητική συσχέτιση μεταξύ του μοντέλου και της παραμέτρου LIFscore, η οποία είναι οριακά στατιστικά σημαντική. Αντίστοιχα, και για το δεύτερο μοντέλο, υπάρχει μέτρια αρνητική συσχέτιση και για τις δύο παραμέτρους (LIFscore, cT1), εξίσου οριακά στατιστικά σημαντικές.

Πίνακας 8: Συσχετίσεις μεταξύ μοντέλων και παραμέτρων μαγνητικής τομογραφίας.

	MODEL1		MODEL2	
	r	p	r	P
LIF score	-0,394	0,07	-0,326	0,17
cT1	-0,418	0,07	-0,398	0,09

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 351 άτομα, από τα οποία τα 217 ήταν υγιείς εθελοντές, ενώ οι υπόλοιποι 134 ήταν ασθενείς με NAFLD. Οι ασθενείς με NAFLD φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη ηλικία, γεγονός το οποίο ισχύει με βάση τη βιβλιογραφία, καθώς τα περισσότερα περιστατικά εμφανίζονται όσο αυξάνεται η ηλικία. (3) Επιπλέον, οι ασθενείς έχουν υψηλότερο BMI και περιφέρεια μέσης, γεγονός το οποίο συνδέει τη νόσο με την παχυσαρκία και το αυξημένο σωματικό βάρος. (46) Ακόμη, οι τιμές σε γλυκόζη, ινσουλίνη έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών και υγιών, γεγονός το οποίο υποδηλώνει τη σχέση της νόσου με το σακχαρώδη διαβήτη. (3) Τα τριγλυκερίδια είναι εξίσου αυξημένα στους νοσούντες. Τέλος, οι δείκτες που σχετίζονται με την ηπατική λειτουργία, όπως είναι οι AST, ALT και γGT είναι αυξημένες στους νοσούντες, υποδηλώνοντας την ύπαρξη ηπατικής νόσου. (75)

Ένας τρόπος, μη επεμβατικός, για τη διάγνωση της NAFLD, είναι με τη χρήση συνδυαστικών μοντέλων, δηλαδή αλγορίθμων που δείχνουν την πιθανότητα του ατόμου να έχει τη νόσο ή όχι. Οι αλγόριθμοι που υπάρχουν στη βιβλιογραφία είναι αρκετοί και βασίζονται σε πληθυσμό που έχει μελετηθεί. Για αρχή, ένας γνωστός αλγόριθμος είναι ο NFS, ο οποίος περιέχει παραμέτρους την ηλικία, το BMI, το λόγο AST/ALT, την παρουσία διαβήτη, τα αιμοπετάλια και την αλβουμίνη και κατηγοριοποιεί το άτομο με βάση το αν έχει αυξημένη πιθανότητα για ίνωση. (85) Ο αλγόριθμος αυτός έχει στατιστικά σημαντικές μεγαλύτερες τιμές στους ασθενείς, παρά στους υγιείς στον πληθυσμό μας. Όσο μεγαλύτερη τιμή NFS έχει ένα άτομο, και ειδικά τιμή μεγαλύτερη από το 0,676 υποδηλώνει πιθανότητα για ίνωση βαθμού 3-4. Στη συνέχεια, ο αλγόριθμος FIB-4, ο οποίος περιέχει για παραμέτρους την ηλικία, AST, ALT και αιμοπετάλια δε φαίνεται να αποτελεί κατάλληλο μοντέλο για πρόγνωση NAFLD στο συγκεκριμένο πληθυσμό. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι ο συγκεκριμένος αλγόριθμος δείχνει την πιθανότητα να έχει ένα άτομο αυξημένη ίνωση και όχι αν το άτομο έχει αυξημένες πιθανότητες να έχει NAFLD. (99) Ακόμη, έχουμε τον αλγόριθμο FLI, ο οποίος περιέχει ως παραμέτρους τα τριγλυκερίδια, το BMI, την περιφέρεια μέσης και τη γGT. Ο συγκεκριμένος αλγόριθμος δείχνει την πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD και στο συγκεκριμένο πληθυσμό βλέπουμε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και υγιών, με μεγαλύτερες να εμφανίζονται στους νοσούντες. (93) Έπειτα, υπάρχει ο αλγόριθμος NASH, ο οποίος αποτελεί έναν αλγόριθμο με παραμέτρους το γονότυπο PNPLA3, την ινσουλίνη και τη AST και κατηγοριοποιεί τα άτομα ανάλογα με την πιθανότητα να έχουν NASH. Στον πληθυσμό μας, φαίνεται να εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και

μαρτύρων. (101) Τέλος, υπάρχει ο αλγόριθμος BARD, ο οποίος λαμβάνει υπόψη το BMI, το λόγο AST/ALT και την παρουσία διαβήτη και υπολογίζει την πιθανότητα να έχει κάποιος NAFLD. Στον πληθυσμό μας, δεν βγάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 κατηγοριών, γεγονός λογικό, καθώς δεν είναι ένας καλός «κατασκευασμένος» αλγόριθμος. (100)

Η ανάγκη χρήσης ενός μοντέλου, αντιπροσωπευτικού για τον ελληνικό πληθυσμό, που να κάνει την καλύτερη δυνατή πρόγνωση για την πιθανότητα παρουσίας ή όχι NAFLD, οδήγησε στη δημιουργία ενός πρότυπου μοντέλου πρόγνωσης/διάγνωσης. Στην προσπάθεια αυτή, έχουν δημιουργηθεί δύο μοντέλα με το εργαλείο GNOSIS's tool, που θεωρούνται τα καλύτερα ερμηνεύσιμα και όχι τα ιδανικά, με βάση τις μεταβλητές του πληθυσμού NAFLD study. Τα μοντέλα αυτά υπολογίζουν μια τιμή, που δείχνει την πιθανότητα ένα άτομο να έχει ή να μην έχει NAFLD. Οι μεταβλητές που συνιστούν το πρώτο μοντέλο είναι το BMI, τα τριγλυκερίδια, ο λόγος AST/ALT, η γλυκόζη, ο λόγος WHR και η ηλικία, ενώ για το δεύτερο μοντέλο, περιέχονται όλες οι προηγούμενες μεταβλητές εκτός από την γλυκόζη. Τα δύο αυτά μοντέλα, φαίνονται αρχικά, όπως είναι λογικό, να έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ υγιών και ασθενών. Όσο μεγαλύτερη τιμή έχει το μοντέλο, τόσο περισσότερο αυξάνεται η πιθανότητα να είναι το άτομο υγιές, χωρίς ύπαρξη NAFLD.

Στη συνέχεια, συσχετίστηκαν τα δύο μοντέλα που δημιουργήθηκαν με τα γνωστά μοντέλα από τη βιβλιογραφία. Βρέθηκε ασθενής συσχέτιση μεταξύ των δύο μοντέλων και του αλγορίθμου NFS, καθώς και μέτρια συσχέτιση με το μοντέλο NASH. Θεωρείται λογικό να μην υπάρχει ισχυρή συσχέτιση, καθώς τα δύο γνωστά μοντέλα αφορούν διάγνωση για NASH και όχι για NAFLD. Παρολ' αυτά, υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των δύο μοντέλων και του αλγορίθμου FLI που πραγματοποιεί διάγνωση για NAFLD, γεγονός που δίνει στα 2 νέα μοντέλα μας ισχυρή αξία.

Σε επόμενο βήμα, έγινε έλεγχος σε όλους τους αλγορίθμους ως προς την ευαισθησία, την ειδικότητα, τη ΘΔΑ και την ΑΔΑ. Τα δύο μοντέλα από το GNOSIS's tool έχουν την καλύτερη ευαισθησία (62,7% και 68,7% αντίστοιχα), σχετικά καλή ειδικότητα (88,5% και 88,9% αντίστοιχα), καλή ΘΔΑ (77% και 79,3%) και σχετικά χαμηλή ΑΔΑ (20,7% και 17,9%). Ακόμη, ελέγχθηκαν όλα τα μοντέλα με την καμπύλη ROC για το κατά πόσο αποτελούν «καλά – ακριβή μοντέλα». Το καλύτερο μοντέλο αποτελεί το FLI με AUC= 0,910. Στη συνέχεια, ακολουθούν τα

μοντέλα 1-2 που δημιουργήθηκαν με $AUC = 0,874$ και $AUC = 0,886$ αντίστοιχα. Ακολουθεί το μοντέλο NASH με $AUC = 0,726$, ένα μοντέλο που θεωρείται μέτρια καλό.

Τελευταίο βήμα για να φανεί η αξία των μοντέλων που δημιουργήθηκαν από τη NAFLD study είναι να χρησιμοποιηθούν τα δύο αυτά μοντέλα σε ένα διαφορετικό πληθυσμό. Επιλέχθηκε ο πληθυσμός από τη μελέτη MAST4HEALTH, που περιλαμβάνει άτομα διαγνωσμένα με NAFLD/NASH. Στο σύνολο των εθελοντών που συμμετείχαν στην εν λόγω μελέτη, επιλέχθηκαν 19 άτομα διαγνωσμένα ή μη με NAFLD/NASH, τα οποία όμως δεν συμμετείχαν και στη μελέτη NAFLD study. Από τα 19 άτομα, τα 17 άτομα είναι διαγνωσμένα με NAFLD/NASH, ενώ τα 2 είναι υγιή. Για καλύτερα αποτελέσματα, θα έπρεπε να υπήρχαν περισσότεροι εθελοντές για να ελεγχθούν τα 2 μοντέλα. Μετά την χρήση των 2 αλγόριθμων, υπολογίστηκε η ευαισθησία, η ειδικότητα, η ΘΔΑ και η ΑΔΑ των μοντέλων στα νέα δεδομένα. Η ευαισθησία των 2 μοντέλων στο νέο δείγμα είναι μέτρια (47% και 58,8%), άρα μπορεί να κάνει εν μέρει σωστή διάγνωση στους πάσχοντες με τη νόσο. Η ειδικότητα από την άλλη είναι αρκετά μεγάλη (100%), αλλά δεν υπήρχαν πολλοί υγιείς για να γίνει κατάλληλος έλεγχος. Βέβαια, είναι αρκετά σημαντικό το γεγονός ότι η ειδικότητα είναι ιδιαίτερη υψηλά, καθώς μπορεί να ξεκαθαρίσει τα «φυσιολογικά» άτομα. Ακόμη, η θετική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD, με το μοντέλο να προβλέπει το ίδιο, είναι αρκετά υψηλή στα δύο αυτά μοντέλα (100%). Τέλος, η αρνητική διαγνωστική αξία, δηλαδή η πιθανότητα ένα άτομο να μην έχει NAFLD με το μοντέλο να κάνει την ίδια πρόβλεψη, είναι αρκετά υψηλή στα δύο αυτά μοντέλα, με ποσοστά 81,8% και 77,8%. Ακόμη, έγινε έλεγχος για την ακρίβεια του μοντέλου, μέσω της καμπύλης ROC και βρέθηκε ότι τα δύο μοντέλα έχουν $AUC = 0,853$, γεγονός που θεωρείται ότι αποτελούν δύο αρκετά καλά μοντέλα πρόβλεψης. Η καμπύλη όμως δεν είναι ιδιαίτερα αντιπροσωπευτική, καθώς δεν υπήρχε μεγάλος αριθμός εθελοντών για να ελεγχθούν τα 2 μοντέλα. Τελευταίος έλεγχος έγινε για να ελεγχθεί η συσχέτιση μεταξύ των δύο μοντέλων και των παραμέτρων μαγνητικής τομογραφίας (LIFscore, cT1). Οι συγκεκριμένοι παράμετροι αντικατοπτρίζουν το βαθμό ίνωσης και φλεγμονής. Φάνηκε λοιπόν πως υπάρχει μέτρια αρνητική συσχέτιση μεταξύ του πρώτου μοντέλου και της παραμέτρου LIFscore, η οποία είναι οριακά στατιστικά σημαντική. Αντίστοιχα, και για το δεύτερο μοντέλο, υπάρχει μέτρια αρνητική συσχέτιση και για τις δύο παραμέτρους (LIFscore, cT1), εξίσου οριακά στατιστικά σημαντικές. Από τα παραπάνω, γίνεται κατανοητό ότι υπάρχει μια τάση συσχέτισης μεταξύ δύο μοντέλων πρόγνωσης NAFLD, με δύο δείκτες που σχετίζονται με ίνωση, δηλαδή NASH.

Συμπερασματικά, από τα παραπάνω, φαίνεται η αξία χρήσης αλγορίθμων πρόβλεψης για τη εμφάνιση της νόσου. Οι αλγόριθμοι, που χρησιμοποιούνται από τη βιβλιογραφία, με εξαίρεση τον αλγόριθμο FLI, δεν είναι αρκετά αξιόπιστοι για τον ελληνικό πληθυσμό. Η δημιουργία δύο νέων μοντέλων πρόβλεψης της νόσου, φαίνεται να αποτελούν μια καλή προσπάθεια για την πρόγνωση/ διάγνωση της NAFLD. Στον νέο πληθυσμό που θελήσαμε να χρησιμοποιήσουμε τα μοντέλα, φάνηκε ότι τα δύο αυτά μοντέλα αποτελούν μέτρια μοντέλα πρόγνωσης, καθώς η ευαισθησία δεν είναι αρκετά μεγάλη. Περιορισμός της διαδικασίας αυτής ήταν το μικρό δείγμα του πληθυσμού που επιλέχθηκε. Είναι αναγκαίο, οπότε, να χρησιμοποιηθούν τα 2 νέα αυτά μοντέλα, σε ένα μεγαλύτερο δείγμα υγιών – ασθενών με NAFLD, για να ελεγχθεί με καλύτερο τρόπο η ακρίβεια τους. Στη συνέχεια, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν αυτά τα μοντέλα και σε άλλους πληθυσμούς, μεγαλύτερους, για να βγει ένα ακόμα πιο έγκυρο αποτέλεσμα για την αξιοπιστία τους.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Perumpail, B.J et al. An Overview of Dietary Interventions and Strategies to Optimize the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Diseases*. 2017, 5(4).
2. EASL, EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management. *Hepatology*. 2016.
3. Benedict, M et al. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol*. 2017, 9(16): p. 715-732.
4. Ngu, J.H. et al. Managing non-alcoholic fatty liver disease. *Singapore Med J*. 2016, 57(7): p. 368-71.
5. Hossain, N., et al. Independent predictors of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009, 7(11): p. 1224-9, 1229 e1-2.
6. 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.
7. Byrne, C.D et al. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*. 2015, 62(1 Suppl): p. S47-64.
8. Chen, G., et al. Micronutrient Antioxidants and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016, 17(9).
9. Chiloiri, M., et al. Ultrasound evaluation and correlates of fatty liver disease: a population study in a Mediterranean area. *Metab Syndr Relat Disord*. 2013, 11(5): p.349-58.
10. Bellentani S et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med*. 2000, 132(2): p. 112-7.
11. Marchesini, G. et al., Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003, 37(4): p. 917-23.
12. Caballeria, L. et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 22, 24–32 (2010).

13. Shin, J.H. et al., Non-alcoholic fatty liver disease and flavonoids: Current perspectives. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*. 2017, 41(1): p. 17-24.
14. Marchesini, G et al. Diet, weight loss, and liver health in nonalcoholic fatty liver disease: Pathophysiology, evidence, and practice. *Hepatology*. 2016, 63(6): p. 2032-43.
15. Wehmeyer, M.H., et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with excessive calorie intake rather than a distinctive dietary pattern. *Medicine (Baltimore)*. 2016, 95(23): p. e3887.
16. Georgoulis, M., et al. The impact of cereal grain consumption on the development and severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Nutr*. 2014, 53(8): p. 1727-35.
17. Assy, N., et al. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Can J Gastroenterol*. 2008, 22(10): p. 811-6.
18. Vilar, L., et al. High-fat diet: a trigger of non-alcoholic steatohepatitis? Preliminary findings in obese subjects. *Nutrition*. 2008, 24(11-12): p.1097-102.
19. Musso, G., et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003, 37(4): p. 909-16.
20. Ferolla, S.M., et al. Dietary patterns in Brazilian patients with nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study . *Clinics (Sao Paulo)*. 2013. 68(1): p. 11-7.
21. Zivkovic, A.M. et al. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. . *Am J Clin Nutr*. 2007, 86(2): p. 285-300.
22. Zelber-Sagi, S. et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study . *J Hepatol*. 2007, 47(5): p. 711-7.
23. Sathiaraj E. et al. A case-control study on nutritional risk factors in non-alcoholic fatty liver disease in Indian population. *Eur J Clin Nutr*. 2011, 65(4): p. 533-7.
24. Godos, J. et al. Mediterranean diet and nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms of protection. *Int J Food Sci Nutr*. 2017, 68(1): p. 18-27.
25. Yasutake K. et al. Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014, 20(7): p. 1756-67.

26. Bezerra Duarte, S.M., et al. Hypocaloric high-protein diet improves clinical and biochemical markers in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Nutr Hosp.* 2014, 29(1): p. 94-101.
27. Corbin, K.D et al. Choline metabolism provides novel insights into nonalcoholic fatty liver disease and its progression. *Curr Opin Gastroenterol.* 2012, 28(2): p. 159-65.
28. Jiang, X., et al. Cyanidin-3-O-beta-glucoside protects primary mouse hepatocytes against high glucose-induced apoptosis by modulating mitochondrial dysfunction and the PI3K/Akt pathway. *Biochem Pharmacol.* 2014, 90(2): p. 135-44.
29. Katsagoni, C.N., et al. Associations Between Lifestyle Characteristics and the Presence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Case-Control Study . *Metab Syndr Relat Disord.,* 2017, 15(2): p. 72-79.
30. Liu, Y., et al. Active smoking, passive smoking, and risk of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population-based study in China. *J Epidemiol.* 2013, 23(2): p. 115-21.
31. Hijona, E., et al. Inflammatory mediators of hepatic steatosis. *Mediators Inflamm.* 2010, p. 837419.
32. Umano, G.R. et al. The Association between Pediatric NAFLD and Common Genetic Variants. *Children (Basel).* 2017, 4(6).
33. Romeo, S., et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008, 40(12): p. 1461-5.
34. Sookoian, S et al. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2011, 53(6): p.1883-94.
35. Scott, L.J., et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 2007, 316(5829): p. 1341-5.
36. Kozlitina, J., et al., Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2014, 46(4): p. 352-6.

37. Wang, X., et al., Additive Effects of the Risk Alleles of PNPLA3 and TM6SF2 on Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in a Chinese Population. *Front Genet.* 2016, 7: p. 140.
38. Petta, S., et al., Glucokinase regulatory protein gene polymorphism affects liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2014, 9(2): p. e87523.
39. Speeckaert, M., et al., Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta.* 2006, 372(1-2): p. 33-42.
40. Adams, L.A., et al., Association between liver-specific gene polymorphisms and their expression levels with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2013, 57(2): p. 590-600.
41. Delanote, V. et al. Plastins: versatile modulators of actin organization in (patho)physiological cellular processes. *Acta Pharmacol Sin.* 2005, 26(7): p. 769-79.
42. Luo, W., et al. Identification of polymorphisms associated with hypertriglyceridemia and prolonged survival induced by bexarotene in treating non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 2011, 31(6): p. 2303-11.
43. Wang, J.K., et al. Association of tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012, 27(4): p. 670-6.
44. Petersen, K.F., et al. Increased prevalence of insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in Asian-Indian men. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006, 103(48): p. 18273-7.
45. Bays, Harold E. "Sick Fat," Metabolic Disease, and Atherosclerosis. *The American Journal of Medicine.* 2009, 122 (1) : p.26-37.
46. Li, L. et al. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies. *Obes Rev.* 2016, 17(6): p. 510-9.
47. Pang, Q., et al. Central obesity and nonalcoholic fatty liver disease risk after adjusting for body mass index. *World J Gastroenterol.* 2015, 21(5): p. 1650-62.
48. Souza, M.R., et al. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol.* 2012, 49(1): p. 89-96.

49. Paschos, P. et al. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia*. 2009, 13(1): p. 9-19.
50. Buzzetti, E. et al. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016, 65(8): p. 1038-48.
51. Sanyal, A.J., et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001. 120(5): p. 1183-92.
52. Raman. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Clinical Approach and Review. . *Can J Gastrenterol*. 2006.
53. Baran, B et al. Non-alcoholic fatty liver disease: what has changed in the treatment since the beginning? . *World J Gastroenterol*. 2014, 20(39): p. 14219-29.
54. Dowman, J.K. et al. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2010, 103(2): p. 71-83.
55. Bhala, N. et al. Epidemiology and natural history of patients with NAFLD. *Curr Pharm Des*. 2013, 19(29): p. 5169-76.
56. Tilg H et al. Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis. *Hepatology*. 2010.
57. Browning, J.D. et al. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest*. 2004, 114(2): p. 147-52.
58. Koo, S.H. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. *Clin Mol Hepatol*. 2013, 19(3): p. 210-5.
59. Haufe, S., et al. Randomized comparison of reduced fat and reduced carbohydrate hypocaloric diets on intrahepatic fat in overweight and obese human subjects. *Hepatology*. 2011, 53(5): p. 1504-14.
60. Stojšavljević S et al. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014, 20(48): p. 18070-91.

61. Abenavoli L et al. Role of adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Recent Clin Trials*. 2014, 9(3): p. 134-40.
62. Compare, D., et al. Gut--liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012, 22(6): p. 471-6.
63. Manne V et al. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2018, 22(1): p. 23-37.
64. Pappachan, J.M et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Clinical Update. *J Clin Transl Hepatol*. 2017, 5(4): p. 384-393.
65. Dongiovanni, P., et al.,. Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*. 2016, 29: p. 1-11.
66. Hannah, W.N. et al. Lifestyle and Dietary Interventions in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*. 2016, 61(5): p. 1365-74.
67. Musso, G., et al., Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*. 2012, 55(4): p. 885-904.
68. Glass, L.M., et al. Total body weight loss of $\geq 10\%$ is associated with improved hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2015, 60(4): p. 1024-30.
69. Fan, J.G. et al. Role of diet and nutritional management in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013, 28 Suppl 4: p. 81-7.
70. Capanni, M., et al. Prolonged n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation ameliorates hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006, 23(8): p. 1143-51.
71. Ni, Y., et al.,. Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Scientific Reports*. 2015, 5: p. 17192.
72. Pisonero-Vaquero, S., et al. Quercetin ameliorates dysregulation of lipid metabolism genes via the PI3K/AKT pathway in a diet-induced mouse model of nonalcoholic fatty liver disease. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015, 59(5): p. 879-893.

73. Hossain, N. et al. A Comprehensive Updated Review of Pharmaceutical and Nonpharmaceutical Treatment for NAFLD. *Gastroenterology Research and Practice*. 2016, p. 7109.
74. Sato, K., et al. Vitamin E has a beneficial effect on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition*. 2015, 31(7-8): p. 923-30.
75. Townsend, S.A. et al. Non-alcoholic fatty liver disease in 2016. *Br Med Bul*. 2016, Τόμ. 119(1), p. 143-56.
76. Yu, L., M. et al. The effect of omega-3 unsaturated fatty acids on non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Pak J Med Sci*. 2017, 33(4): p. 1022-1028.
77. Del Ben, M., et al. The role of nutraceuticals for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Br J Clin Pharmacol*. 2017, 83(1): p. 88-95.
78. Takahashi, Y., et al. Current pharmacological therapies for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2015, 21(13): p. 3777-85.
79. Belfort, R., et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006, 355(22): p. 2297-307.
80. Sanyal, A.J., et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010, 362(18): p. 1675-85.
81. Ratziu, 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.
82. Dima, A. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and the statins treatment. *Rom J Intern Med*. 2012, 50(1): p. 19-25.
83. Kargiotis, K., et al. Effect of rosuvastatin on non-alcoholic steatohepatitis in patients with metabolic syndrome and hypercholesterolaemia: a preliminary report. *Curr Vasc Pharmacol*. 2014, 12(3): p. 505-11.

85. Hassan, K., et al. Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014, 20(34): p. 12082-12101.
86. M.E., Rinella. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review 313. *JAMA*. 2015, 2263-73.
87. Torres, D. M. et al., Noninvasive methods of assessing nonalcoholic fatty liver disease: what the clinician needs to know. . *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013, 11, 1205-7.
88. Milic C et al. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol*. 2014., 20, 9330-7.
89. Sattar N et al. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ*. 2014, 349, 4596.
90. Sanal, M.G. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease-the emperor has no clothes. *World J Gastroenterol*. 2015, 21(11), p. 3223-31.
92. Koplay, M., et al. Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2015, 7(5), p. 769-76.
93. Dowman, J.K. et al. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011, 33(5), p. 525-40.
95. Pavlides, M., et al. Multiparametric magnetic resonance imaging predicts clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *J Hepato*. 2016, 64(2), p. 308-15.
97. P., Bedossa. *Histological Assessment of NAFLD*. 2016, 61, p:1348-55.
98. Angulo P et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007, 45(4):846-54.
99. Richard K. Sterling et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 43, 2006, 6, p.1317-1325.
100. Halina Cichoż-Lach et al. The BARD score and the NAFLD fibrosis score in the assessment of advanced liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Med Sci Monit*. 2012, 18(12): CR735–CR740.

101. Hyysalo J. et al. A population-based study on the prevalence of NASH using scores validated against liver histology. *J Hepatol*. 2014, Apr;60(4):839-46.
102. Vincenzo Lagani et al. Feature Selection with the R Package MXM: Discovering Multiple, Statistically-Equivalent Predictive Feature Subsets. *Journal of Statistical Software*. 2016.
103. Ioannis Tsamardinos et al. Bootstrapping the Out-of-sample Predictions for Efficient and Accurate Cross-Validation. *Machine Learning Journal*.
105. Charles J et al. Classification and Regression Trees. *Wadsworth International Group, Belmont, California*. 1984.
106. Bhatia LS et al. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? *Eur Heart J*. 2012 May, 33(10):1190-200.
107. Dongiovanni, P. et al. Genetic predisposition in NAFLD and NASH: impact on severity of liver disease and response to treatment. *Curr Pharm Des*. 2013, 19(29): p. 5219-38.